

TIOSSEMICARBAZONAS E SEUS COMPLEXOS METÁLICOS COM ATIVIDADE FARMACOLÓGICA: ESTUDOS NO ESTADO SÓLIDO E TESTES DE ATIVIDADE

Aluno: Thays S. Silva
Orientadores: Leticia R. Teixeira

Introdução

Tiossemicarbazonas (Figura 1) são compostos que apresentam um amplo perfil farmacológico e constituem uma importante classe cujas propriedades têm sido extensivamente estudadas na Química Medicinal e, particularmente, na Química Medicinal Inorgânica [1]. Tiossemicarbazonas apresentam, entre outras, atividades como agentes antitumorais, antivirais, antifúngicos, antibacterianos e antimaláricos, sendo hoje a segunda classe mais importante de compostos antitumorais depois dos derivados do cisplatina [1].

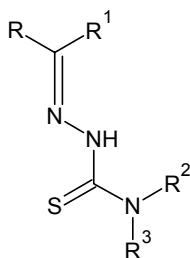


Figura 1: Estrutura genérica das tiossemicarbazonas (R, R₁, R₂, R₃ = H, grupos arila ou grupos alquila)

O mecanismo de ação biológica das tiossemicarbazonas, em muitos casos, envolve os complexos metálicos destes compostos, o que torna o estudo destes tão, ou mais importante que o estudo dos ligantes livres [2]. Além disso, em alguns casos o complexo é mais ativo que o ligante livre ou o complexo pode ativar o ligante como agente citotóxico e fazer decrescer a resistência celular à droga. Alguns efeitos colaterais causados pelos ligantes podem também ser diminuídos pela complexação.

Sabe-se que tiossemicarbazonas derivadas da piridina, que contém o sistema quelante tridentado (N-N-S), são mais ativas como antitumorais que os derivados bidentados (N-S) [3]. Sabe-se ainda que tiossemicarbazonas com grupos volumosos no nitrogênio terminal apresentam maior atividade antitumoral do que aquelas não substituídas. Desse modo preparamos complexos de Fe(III) de N(4)-para-toluil-tiossemicarbazonas derivadas de 2-formil (H₂Fo4pT), 2-acetil (H₂Ac4pT) e 2-benzoilpiridina (H₂Bz4pT) (Figura 2). Os complexos foram caracterizados por microanálises, infravermelho, condutimetria, medidas de susceptibilidade magnética, voltametria cíclica e de pulso diferencial. Além disso, a atividade citotóxica das tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe(III) foi testada utilizando *Artemia salina*.

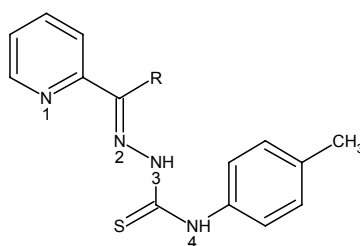


Figura 2: N(4)-para-toluiltiossemicarbazonas derivadas de 2-formilpiridina (R = H, H₂Fo4pT), 2-acetilpiridina (R = CH₃, H₂Ac4pT) e de 2-benzoilpiridina (R = C₆H₅, H₂Bz4pT).

McLaughlin e al. [4] relatam que o ensaio utilizando *Artemia salina* tem boa correlação com atividade citotóxica em alguns tumores sólidos humanos e levou à descoberta dos Annonaceous acetogenins como nova classe de agentes antitumorais ativos.

Essa etapa do trabalho envolveu, portanto, sínteses, testes de atividade citotóxica e estudos eletroquímicos visando uma melhor compreensão de mecanismos de ação.

Objetivos

Obter e caracterizar complexos de Fe(III), inéditos, de N(4)-para-toluitiossemicarbazonas. Estudar o comportamento eletroquímico dos complexos obtidos e comparar a toxicidade dos ligantes e de seus respectivos complexos frente à *Artemia salina*.

Materiais e Métodos

Os ligantes foram cedidos pela professora Heloisa Beraldo do Departamento de Química da UFMG. Os complexos foram obtidos pela adição de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o respectivo ligante, em acetona, na proporção M:L 1:1. A mistura permaneceu sob refluxo por 3 horas. Os sólidos marrons obtidos foram filtrados e lavados com éter a quente.

As medidas de eletroquímica (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) foram feitas utilizando-se o potenciostato/galvanostato Electrochemical Analyzer, modelo BAS 100B. Utilizou-se eletrodos de trabalho e auxiliar de Pt e Ag/AgCl como eletrodo de referência. Perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) foi usado como eletrólito suporte ($10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_2Cl_2).

Os dados de análise elementar foram obtidos utilizando um analisador CHN-O modelo EA 1110 da CE Instruments. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro Bomem-Michelson, modelo MB - 102 e pastilhas de KBr (Brometo de Potássio) preparadas minutos antes das análises. As medidas de condutimetria foram feitas utilizando-se um condutivímetro Tecnonon, modelo MCA 150. As medidas de susceptibilidade magnética foram feitas em uma balança Johnson Matthey MSB/AUTO balance.

Os testes de atividade de toxicidade frente a *Artemia salina* foram feitos em colaboração com a Profa. Roberta Ziolli do Departamento de Química da PUC-Rio, de acordo com metodologia baseada em Meyer et al. [5] e Nascimento et al [6].

Resultados e Discussão

Medidas de condutividade mostram a formação de complexos neutros. Dados de C,H,N indicam a obtenção de complexos do tipo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{Fo}_4\text{pT})\text{Cl}_3] \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (**1**), $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{Ac}_4\text{pT})\text{Cl}_3] \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (**2**) e $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{Bz}_4\text{pT})\text{Cl}_3]$ (**3**). Medidas de susceptibilidade magnética indicam tratar-se de complexos de Fe^{3+} , octaédricos, alto spin. A Figura 3 mostra a estrutura proposta para os complexos (**1**)-(3).

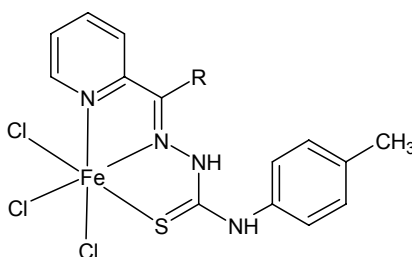


Figura 3 – Estrutura proposta para os complexos de Fe(III) de N(4)-para-toluitiossemicarbazonas (R=H, CH₃ ou C₆H₅)

Tabela 1: Dados de C,H,N, condutividade e de susceptibilidade magnética para os complexos de Fe(III) de N(4)-para-toluiltiossemicarbazonas

Compostos	%C	%H	%N	Cond. $\mu\text{S}/\text{cm}^*$	μ_{ef} (BM)
[Fe(Fo4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (1)	46,9 (41,6)	4,8 (4,1)	15,2 (11,4)	12	5,14
[Fe(Ac4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (2)	45,3 (42,8)	4,3 (4,4)	13,9 (11,1)	17	4,87
[Fe(Bz4pT)Cl ₃] (3)	49,4 (47,2)	3,9 (3,6)	11,1 (11,0)	7	4,53

Valores calculados entre parênteses, * solução $1,0 \times 10^{-3}$ em CH₂Cl₂

Os espectros de infravermelho dos ligantes e dos complexos foram obtidos na região entre 4000 - 280 cm^{-1} . No espectro das tiossemicarbazonas livres as bandas características das vibrações $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\nu(\text{C}=\text{S})$ e $\rho(\text{py})$ foram observadas na faixa de 1582-1595 cm^{-1} , 777-796 cm^{-1} e 599-612 cm^{-1} , respectivamente. No espectro dos complexos, essas bandas deslocam-se para 1538-1548 cm^{-1} , 763-788 cm^{-1} e 612-613 cm^{-1} , respectivamente, indicando a coordenação do ferro ao nitrogênio imínico, ao enxofre e ao nitrogênio da piridina (ver Tabela 2). Observa-se que a banda referente a vibração $\nu(\text{C}=\text{S})$ desloca-se de 8 a 14 cm^{-1} nos espectros dos complexos indicando a coordenação do ferro ao enxofre de tiona, ou seja, as tiossemicarbazonas encontram-se protonadas em N(2) nos complexos. Novas bandas surgem pela coordenação na região de 502 – 507 cm^{-1} , 366 – 382 cm^{-1} , 283-285 cm^{-1} , atribuídas as vibrações $\nu(\text{Fe} - \text{N})$, $\nu(\text{Fe} - \text{S})$ e $\nu(\text{Fe} - \text{N}_{\text{py}})$. A vibração entre 302-325 cm^{-1} foi atribuída a $\nu(\text{Fe}-\text{Cl})$ (ver Tabela 2).

Tabela 2: Bandas características dos ligantes H2R4pT (R = H, Me e Ph) e de seus complexos de Fe(III)

	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{S})$	$\rho(\text{py})$	$\nu(\text{Fe}-\text{N})$	$\nu(\text{Fe}-\text{S})$	$\nu(\text{Fe}-\text{N}_{\text{py}})$	$\nu(\text{Fe}-\text{Cl})$
H2Fo4pT	1589 F	777 m	599 f				
[Fe(Fo4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (1)	1545 F	763 m	612 f	502 m	369 m	283 f	302 f
H2Ac4pT	1582 F	782 m	601 f				
[Fe(Ac4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (2)	1538 F	772 m	612 f	504 m	382 m	285	310 f
H2Bz4pT	1595 F	796 m	612 m				
[Fe(Bz4pT)Cl ₃] (3)	1548 F	788 m	613 f	507 m	366 m	285 f	325 f

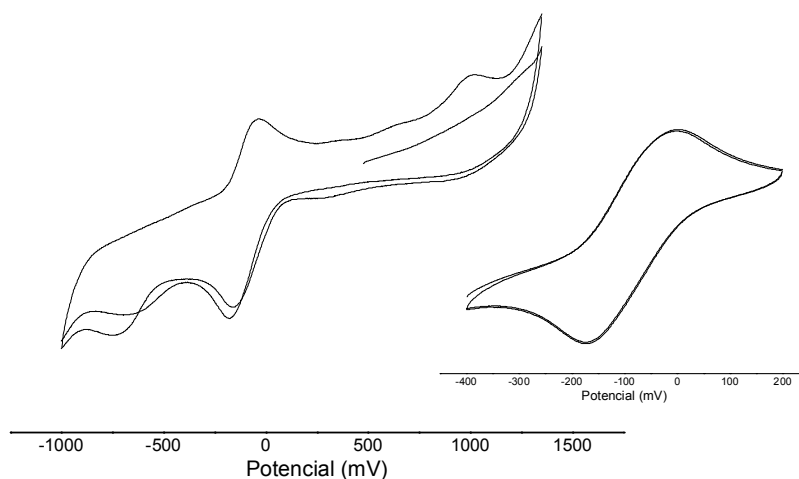
Legenda: F: forte; m: média; f: fraca.

Foram obtidos voltamogramas cíclicos e voltamogramas de pulso diferencial para os complexos de Fe(III) de N(4)-p-toluiltiossemicarbazonas.

Nos voltamogramas dos complexos (1)-(3) os valores de $i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}}$ indicam que os processos observados são quasi-reversíveis. O processo entre -0,002 e 0,073 V foi atribuído à oxidação $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ e o processo observado entre -0,053 e -0,174 V à sua sucessiva redução $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$. Os demais processos, em todos os casos, são atribuídos à redução do ligante (**Error! Reference source not found.**3) [7]. Os voltamogramas de pulso diferencial confirmaram as atribuições feitas. A Figura 4 mostra, como exemplo, o voltamograma cíclico do complexo (2).

Tabela 3: Dados de voltametria cíclica (V) para os complexos de Fe(III) de N(4)-p-toluitiossemicarbazonas em solução de CH₂Cl₂, 0,1 mol L⁻¹ de PTBA, 0,100 Vs⁻¹

Complexo	Fe ^{III} /Fe ^{II} (V)	Fe ^{II} /Fe ^{III} (V)	i _{pa} /i _{pc}
[Fe(Fo4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (1)	-0,053	0,073	0,7
[Fe(Ac4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (2)	-0,174	-0,002	0,7
[Fe(Bz4pT)Cl ₃] (3)	-0,076	0,045	0,8

**Figura 4:** Voltamograma cíclico de [Fe(Ac4pT)Cl₃].C₃H₆O

A atividade citotóxica das N(4)-para-toluitiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe(III) foi testada utilizando *Artemia salina*. Os testes foram feitos em triplicata. Para H₂Fo4pT e H₂Ac4pT os valores de DL₅₀ encontrados são de 7,44 e 1,35 mg L⁻¹, respectivamente. Para seus respectivos complexos de Fe(III), (1) e (2), os valores de DL₅₀ são de 0,94 e 2,40 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os compostos estudados apresentam significativa toxicidade aguda frente à *Artemia salina*, em baixas concentrações, quando comparados ao Lapachol que é a droga de referência (DL₅₀=68 ppm). Os testes de toxicidade com H₂Bz4pT e seu respectivo complexo de Fe(III), (3), não foram conclusivos devido a baixa solubilidade desses compostos.

A Tabela 4, mostra, para as N(4)-para-toluitiossemicarbazonas e para seus complexos de Fe(III) os valores de DL₅₀ e os limites de confiança obtidos em cada ensaio de toxicidade, assim como, a média dos valores de DL₅₀, o desvio padrão e a covariância (%). Observa-se que, em geral, não houve grandes variações nos valores de DL₅₀ entre as replicatas de um mesmo composto.

Quanto menor o valor de DL₅₀, mais tóxico é o composto frente ao organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica, sugerindo maior potencial como antitumoral. Desse modo, dentre os compostos estudados o complexo [Fe(Fo4pT)Cl₃].C₃H₆O mostra ser o mais promissor (0,94 mg L⁻¹). Nesse caso, há um aumento significativo da atividade complexação.

Tabela 4: Valores de DL₅₀, limites de confiança, média dos valores de DL₅₀, desvio padrão e covariância (%) para as N(4)-para-toluitiossemicarbazonas e para seus complexos de Fe(III) frente a *Artemia salina*

Composto	DL ₅₀ (mg L ⁻¹)	Limite de confiança
H2Fo4pT	6,15	4,06 < DL < 8,4
	7,89	6,04 < DL < 9,43
	8,27	6,47 < DL < 9,77
Média DL₅₀ ± DP	7,44 ± 1,13	
CV (%)	1,28 %	
[Fe(Fo4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (1)	0,75	1,13 < DL < 3,57
	0,95	0,16 < DL < 1,95
	1,14	0,29 < DL < 0,16
Média DL₅₀ ± DP	0,94 ± 0,19	
CV (%)	3,67%	
H2Ac4pT	1,44	1,19 < DL < 1,92
	1,31	1,03 < DL < 1,55
	1,31	1,03 < DL < 1,55
Média DL₅₀ ± DP	1,35 ± 0,08	
CV (%)	0,01 %	
[Fe(Ac4pT)Cl ₃].C ₃ H ₆ O (2)	2,63	1,27 < DL < 3,99
	2,32	1,13 < DL < 3,57
	2,24	0,86 < DL < 4,12
Média DL₅₀ ± DP	2,40 ± 0,20	
CV (%)	4,12%	

Conclusão

N(4)-para-toluitiossemicarbazonas formam complexos octaédricos de Fe(III), alto spin, do tipo [Fe(HL)₂Cl₃] (HL = H2FopT, H2AcpT e H2BzpT). Testes preliminares indicam que as tiossemicarbazonas e seus complexos de Fe(III) têm atividade citotóxica, sugerindo que poderiam igualmente apresentar ação antitumoral. Dentre os compostos estudados [Fe(Fo4pT)Cl₃] mostrou ser o mais promissor.

Referências

- 1 - BERALDO, Heloisa, GAMBINO, Dinorah. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.**, v.4, n.1, p. 31-39, 2004.
- 2 - RIGOL, Carolina, OLEA-AZAR, C., MENDIZÁBAL, Fernando, OTERO, Lucía, GAMBINO, Dinorah, GONZÁLEZ, Mercedes, CERECETTO, Hugo. Electrochemical and ESR study of 5-nitrofuryl-containing thiosemicarbazones antiprotozoal drugs. **Spectrochimica Acta Part A.**, v.61, n.13-14, p. 2933-2938, 2005.
- 3 - BORGES, Ruth, ABRAS, Anuar, BERALDO Heloisa, **J. Braz. Chem. Soc.**, v.8, p. 33-38, 1997.
- 4 - MCLAUGHLIN, J.L., ROGERS L.L., ANDERSON J.E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals, **Drug Information Journal** v. 32, p. 513-524, 1998.

5 - MEYER, B. N., FERRIGNI N. R., PUTNAM J. E., JACOBSEN L. B., NICHOLS D.E., MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v.45, p. 31-34, 1982.

6 - NASCIMENTO, I. A., ARAÚJO, M. M. S. Testes Ecotoxicológicos Marinhos: Análise de Sensibilidade. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v.2, n. 1, p. 41-47, 1999.

7 - PESSOA, M.M.B., ANDRADE, G.F.S., DOS SANTOS, M.R., TEMPERINI, M.L.A., The electrochemical reduction of 2-formylpyridine thiosemicarbazone monitored by SERS and UV-vis spectroscopies. **J. Electroanal. Chem.** V. 545, p. 117-122, 2003.