



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E TECNOLOGIA
MESTRADO EM SAÚDE E TECNOLOGIA



WANDERSON BARROS RODRIGUES

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS
DE COBRE (II) ASSOCIADO COM FENANTROLINA E AMINOÁCIDOS**

Imperatriz - MA

2021

WANDERSON BARROS RODRIGUES

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS
DE COBRE (II) ASSOCIADO COM FENANTROLINA E AMINOÁCIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Área de Concentração: Interdisciplinar

Orientador: Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis
Coorientador: Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha

Imperatriz - MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Barros Rodrigues, Wanderson.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS DE
COBRE II ASSOCIADO COM FENANTROLINA E AMINOÁCIDOS /
Wanderson Barros Rodrigues. - 2021.
76 f.

Coorientador(a): Jefferson Almeida Rocha.

Orientador(a): Aramys Silva dos Reis.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde e Tecnologia/ccsst, Universidade Federal do
Maranhão, Imperatriz, 2021.

1. Atividade Antitumoral. 2. Cobre. 3. Complexos
Organometálicos. 4. Docking Molecular. I. Almeida Rocha,
Jefferson. II. Silva dos Reis, Aramys. III. Título.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE COBRE (II) COM FENANTROLINA E AMINOÁCIDOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Área de Concentração: Interdisciplinar

Aprovada em: 16 / 09 / 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Aramys da Silva dos Reis
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Paulo Vitor Soeiro Pereira
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Aos meus pais, Vilma Barros Rodrigues e Raimundo Rodrigues Lopes (in memoriam), por sempre me incentivarem a estudar. Aos meus irmãos, Railson Barros Rodrigues e Railma Barros Rodrigues, por sempre acreditarem em mim. À minha esposa, Thaíse Almeida Rodrigues, por ser uma companheira em todas as horas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, porque em tudo Ele nos dá forças.

Ao Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis, pelos ensinamentos e por toda ajuda ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos e seu aluno João Oliveira, por terem nos cedido os complexos organometálicos, os quais foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha, pela coorientação e por ter ajudado imensamente com os estudos *in silico*.

Ao Prof. Dr. Guilherme Graziany Camelo de Carvalho, que nos ajudou de forma maestra em vários experimentos.

À Dra. Claudia Pessoa, do Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, por nos ceder gentilmente as células tumorais.

À Dra. Silvia Uliana, do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, por nos ceder de bom grado as células RAW 264.7.

A todos os professores do Mestrado em Saúde e Tecnologia, que ao longo das disciplinas nos cederam seus conhecimentos de forma exemplar.

Aos colegas da linha de pesquisa Tecnologias em Saúde (Marcos, Guilherme, Simone e Gislane), pela troca de experiências e conhecimento.

Ao pessoal do laboratório LaFIT (Will, Vinicius e Edson), pela disponibilidade de sempre ajudar.

“Você não pode mudar o vento, mas
pode ajustar as velas do barco para
chegar aonde quer”.

Confúcio

RESUMO

O câncer é um grupo de doenças multifatoriais oriundas de mutações genéticas provocadas por substâncias químicas, infecções virais, exposição à radiação, doenças inflamatórias resultantes de infecção, doenças autoimunes ou herdadas da linhagem progenitora. Embora os complexos organometálicos a base de platina sejam usados como fármacos de primeira linha no combate ao câncer, eles acarretam uma série de problemas como efeitos colaterais graves, incluindo nefrotoxicidade, neurotoxicidade e ototoxicidade. Nesse sentido, surgem novos estudos com complexos metálicos a base de cobre, esses apresentam uma menor toxicidade, maior espectro de ação e podem ser eficazes contra tumores resistentes ao tratamento padrão com cisplatina. Assim, esse trabalho avaliou a atividade antitumoral *in vitro* de complexos organometálicos de fenantrolina associado com cobre (II) e aminoácidos, sua interação com moléculas de DNA *in silico* e realizou predição das suas propriedades farmacocinéticas a partir de estudos *in silico*. Foram utilizadas linhagens celulares de cânceres humanos HL-60, PC-3 e SNB-19 e a linhagem não tumoral RAW 264.7 (macrófago murino). A citotoxicidade foi avaliada usando o ensaio MTT, após exposição das células aos complexos CuPhG e CuPhS por 72 horas. Em seguida, foi realizado o docking molecular para observar a afinidade com o possível alvo. Por último, foi realizada a predição dos parâmetros farmacocinéticos dos complexos de cobre (II), incluindo parâmetros físico-químicos, perfil farmacocinético (ADME) e toxicidade. A citotoxicidade avaliada pelo método de redução do MTT mostrou que os complexos CuPhG e CuPhS apresentaram atividade citotóxica para todas as linhagens avaliadas. Os resultados de docking molecular dos ligantes CuPhG e CuPhS mostraram que os complexos se intercalam com os sulcos de DNA e apresentam boa afinidade molecular com os alvos. Além disso, a predição farmacocinética indica que os complexos possuem propriedades vantajosas, como menor interação com os citocromos P450 e com as glicoproteínas P. Ambos os complexos mostraram ter atividade antitumoral, contudo o complexo CuPhS se mostrou mais seletivo para as células tumorais quando comparado com o complexo CuPhG.

Palavras-chave: Complexos Organometálicos, Atividade Antitumoral, Cobre, Docking Molecular.

ABSTRACT

Cancer is a group of multifactorial diseases arising from genetic mutations caused by chemical substances, viral infections, radiation exposure, inflammatory diseases resulting from infection, autoimmune diseases or inherited from the progenitor line. Although platinum-based organometallic complexes are used as first-line drugs in the fight against cancer, they cause a number of problems as serious side effects, including nephrotoxicity, neurotoxicity and ototoxicity. In this sense, new studies with copper-based metal complexes appear, they present a lower toxicity, a greater spectrum of action and can be effective against tumors resistant to the standard treatment with cisplatin. Thus, this work evaluated the antitumor activity in vitro of organometallic complexes of Phenanthroline associated with copper (II) and amino acids, their interaction with DNA molecules in silico and predict their pharmacokinetic properties from in silico studies. Human cancer cell lines HL-60, PC-3 and SNB-19 and the non-tumor line RAW 264.7 (murine macrophage) were used. Cytotoxicity was assessed using the MTT assay after 72-hour exposure of the cells to the CuPhG and CuPhS complexes. Then, molecular Docking was performed to observe the affinity with the possible target. Finally, the prediction of the pharmacokinetic parameters of copper (II) complexes was carried out, including physical-chemical parameters, pharmacokinetic profile (ADME) and toxicity. The cytotoxicity evaluated by the MTT reduction method showed that the CuPhG and CuPhS complexes showed cytotoxic activity for all strains evaluated. The results of molecular docking of the CuPhG and CuPhS ligands show that the complexes are interspersed with the DNA grooves and have good molecular affinity with the targets. In addition, the pharmacokinetic prediction indicates that complexes have advantageous properties such as less interaction with Cytochrome P450 and P glycoproteins. Both complexes were shown to have antitumor activity, however the CuPhS complex was more selective for tumor cells when compared to the CuPhG complex.

Keywords: Organometallic Complexes, Antitumor Activity, Copper, Molecular Docking.

LISTA DE ABREVIATURAS

Bax e Bak – Proteínas pró-apoptóticas
BCL-2 e BCL-XL – Proteínas relacionadas ao processo de apoptose
BH3-only – Proteínas que participam do processo de apoptose
Caco2 – Células de adenocarcinoma colorretal
CagA – Fator de virulência do H. pylori
CD95 – Receptor Fas, associado com o processo de apoptose
CSF-1 – Fator estimulante de colônia macrófago
DMEM – Meio de cultura para células animais
G1 – Primeiro intervalo do ciclo celular
MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade
MTT – Sal tetrazólico
p53 – Gene supressor de tumor
PDB – Banco de dados de proteínas
ras, myc – Oncogenes humanos
Rb – Proteína do retinoblastoma
RPMI – Meio de cultura para células animais
S – Fase de síntese do ciclo celular
SMAD – Proteína transdutora de sinal
SNAIL e TWIST – Fatores de transcrição
TERT – Gene da transcriptase reversa da telomerase
TGF-Beta – Fator de crescimento transformante beta
TH4 – Enzima tetraidrofolato
VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular
VEGFR – Receptor do VEGF

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Características do Câncer (Hallmark of Cancer).

Figura 2 - Estimativa da incidência e da mortalidade dos diferentes tipos de câncer no mundo em 2018.

Figura 3 - Estimativa dos 10 tipos de cânceres mais incidentes no Brasil no ano de 2020.

Figura 4 - Molécula de 1,10-Fenantrolina e Complexo Organometálico contendo Fenantrolina, Glicina e Cobre (II).

Figura 5 - Estruturas moleculares dos complexos PGCu e PSCu.

Figura 6 - Docking molecular 3D do complexo proteína-ligante com a molécula de DNA tipo B e ligante CuPhS.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de IC_{50} e de S.I dos complexos CuPhG e CuPhS frente às linhagens tumorais HL-60, SNB-19 e PC-3 e a linhagem não tumoral RAW 264.7.

Tabela 2 - Predição das características farmacocinéticas, toxicológicas e *Druglikeness* dos complexos organometálicos CuPhG e CuPhS.

Tabela 3 - Parâmetros de afinidade molecular dos ligantes CuPhG e CuPhS com 355D em dois sítios ativos diferentes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Câncer	15
2.1.1 O que é o câncer?	15
2.1.2 Características das células tumorais	16
2.1.2.1 Autossuficiência dos sinais de crescimento	17
2.1.2.2 Insensibilidade aos sinais supressores de crescimento	17
2.1.2.3 Resistência à morte celular	18
2.1.2.4 Potencial ilimitado de replicação	20
2.1.2.5 Indução da angiogênese	21
2.1.2.6 Invasão e metástase	23
2.1.2.7 Características possibilitadoras do tumor: instabilidade genômica e inflamação	25
2.1.2.8 Características emergentes: desregulação do metabolismo energético e evasão do sistema imune	26
2.1.3 Etiologia do câncer	28
2.1.4 Epidemiologia do câncer	33
2.2 Quimioterápicos	36
2.2.1 Agentes quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer	36
2.2.2 Classes dos agentes quimioterápicos	37
2.2.2.1 Agentes alquilantes	37
2.2.2.2 Complexos de platina	38
2.2.2.3 Antimetabólicos	38
2.2.2.4 Produtos naturais	39
2.2.2.5 Outros agentes	39
2.3 Complexos organometálicos/Complexos de cobre	40
Referências	43
3. ARTIGO	47
Resumo	47
3.1 Introdução	48

3.2 Métodos	49
3.2.1 Complexos organometálicos	49
3.2.2 Linhagens celulares	50
3.2.3 Avaliação da citotoxicidade dos complexos	51
3.2.4 Ensaio de MTT	51
3.2.5 Predição das propriedades farmacocinéticas (ADMET) ..	52
3.2.6 Docagem molecular	52
3.3 Resultados	53
3.3.1 Atividade antitumoral, in vitro, dos complexos organometálicos	53
3.3.2 Interação dos complexos com moléculas de DNA por docking molecular	54
3.3.3 Predição das propriedades farmacocinéticas dos complexos	56
3.4 Discussão	58
3.5 Conclusão	61
Conflito de interesse	61
Reconhecimento	61
Referências	62
Anexos	67