



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANDRÉ FLORENCIO FERNANDES

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE
PENTACIANOFERRATO(II) COMO POSSÍVEIS ATIVADORES DA GUANILATO
CICLASE SOLÚVEL**

FORTALEZA

2016

ANDRÉ FLORENCIO FERNANDES

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PENTACIANOFERRATO(II)
COMO POSSÍVEIS ATIVADORES DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química como requisito parcial para obtenção do grau de mestre. Área de Concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F398s Fernandes, André Florencio.
 Síntese e caracterização de complexos de pentacianoferrato(II) como possíveis ativadores da guanilato
 ciclase solúvel / André Florencio Fernandes. – 2016.
 83 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2016.
Orientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.
Coorientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

1. Síntese de fármacos. I. Título.

CDD

ANDRÉ FLORÊNCIO FERNANDES

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PENTACIANOFERRATO(II)
COMO POSSÍVEIS ATIVADORES DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química como requisito parcial para obtenção do grau de mestre. Área de Concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa. (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Nilberto Falcão Robson do Nascimento
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

RESUMO

A enzima guanilato ciclase solúvel (sGC) é o receptor do óxido nítrico no organismo humano, o qual aumenta em 200 a 400 vezes sua atividade enzimática, levando a produção de cGMP a partir de GTP. Por desempenhar papel biológico importante no organismo, a sGC se tornou um alvo molecular para a investigação de diversas patologias. Desta forma, o desenvolvimento de compostos que possam atuar como ativadores/estimuladores ou inibidores da sGC é de grande importância farmacológica. Com base nisso, este trabalho teve como objetivo a síntese e caracterização e o estudo da reatividade química de compostos de pentacianoferrato(II) com ligantes aromáticos nitrogenados que possam apresentar propriedades ativadoras/estimuladoras ou inibidoras frente à sGC. Desta forma, foram sintetizados complexos de pentacianoferrato(II) contendo os ligantes indazol (FOR112), 7-azaindol (FOR117), 6-carboxaldeído-indazol (FOR112A) e 4-benzoilpiridina (FOR119). As técnicas utilizadas na caracterização dessas espécies foram voltametria cíclica, espectroscopia na região do infravermelho e na região do ultravioleta-visível, cromatografia líquida de alta eficiência e ressonância magnética nuclear de hidrogênio. Ensaio de citotoxicidade foi realizado com os complexos FOR112, FOR117 e FOR119, empregando três linhagens tumorais, HCT-116, OVCAR-8, e SF-295. Os complexos apresentaram baixa ou nenhuma citotoxicidade frente às três linhagens de células. Adicionalmente, realizou-se ensaios de vasodilatação em anéis de aorta de ratos machos da raça Wistar. Neste screening, foram selecionados os compostos FOR112 (IC_{50} 1,72 μ M e E_{max} 126,998 \pm 6,88) e FOR119 (IC_{50} 2,08 μ M e E_{max} 186,160 \pm 23,26) para posteriores estudos. Todavia, todos complexos preparados apresentaram valores de IC_{50} para vasodilatação melhores que os ligantes nitrogenados livres. Realizou-se ainda estudos mecanísticos de vasodilatação empregando os complexos mais potentes, FOR112 e FOR119, tendo sido verificado a dependência da capacidade vasodilatadora com o grupo heme da enzima sGC, bem como da dependência ao NO endógeno, sustentando suas atividades como estimuladores da sGC. Tais resultados abrem interessantes perspectivas para o rápido desenvolvimento de novos agentes não doadores de NO com atividade vasodilatadora e identificar futuramente relação estrutura-atividade.

Palavras-chave: Cianoferratos. Estimuladores. Vasodilatação. Guanilato ciclase solúvel.

ABSTRACT

The enzyme soluble guanylate cyclase (sGC) is a nitric oxide receptor in the human body, which upon NO binding increases from 200 up to 400 times its enzymatic activity, leading to the production of cGMP from GTP. This enzyme is involved many important biological events in the body, which has made sGC a molecular target for the investigation and treatment of various cardiovascular, endothelial, pulmonary diseases among others. Thus, reaching a better understanding of the structure-reactivity of compounds that can act as sGC activators-, inhibitors or stimulators is of great importance to have treat those conditions. Based on this, we have synthesized and studied the chemical reactivity of pentacyanoferrate(II) compounds with N-heterocyclic ligands as potential agents to activate, stimulate or inhibit sGC. First of all, iron complexes were synthesized using pentacyanoferrate (II) moiety bound to the ligands: indazole (FOR112), 7-azaindole (FOR117), 1H-indazol-6-carboxaldehyde (FOR112A) and 4-benzoylpyridine (FOR119). These compounds were characterize by cyclic voltammetry, spectroscopy in the infrared and the ultraviolet-visible region, high-performance liquid chromatography and hydrogen nuclear magnetic resonance measurements. Cytotoxicity assays were conducted with the complexes FOR112, FOR117 and FOR119 using three tumor cell lines, HCT116 (human colon), OVCAR-8 (human ovary) and SF-295 (human glioblastoma). These complexes exhibited very little cytotoxicity across the three cell lines. Furthermore, vasodilation assays were carried out in aorta of male Wistar rats. Two compounds were selected based on that screen, FOR112 ($IC_{50} = 1.72 \mu\text{M}$ and $E_{\text{max}} = 127.00 \pm 6.88$) and FOR119 ($IC_{50} = 2.08 \mu\text{M}$ and $E_{\text{max}} = 186.16 \pm 23.26$). However, all complexes have improved vasodialtaion IC_{50} values if compared to their free N-heterocyclic ligands. So, for the two most potent compounds it was preliminarily investigated the mechanism of vasodilation, which has showed both complexes activate sGC in a heme-dependent manner, and requires of endogenous NO. These exciting results open up new avenues for the quick development of new non NO-based agents and the understanding of their structure-activity..

Keywords: Cyanoferrate. Stimulators. Vasodilation. Soluble guanylate cyclase.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	ASPECTOS GERAIS SOBRE HIPERTENSÃO E A VIA NO-sGC-cGMP	13
1.2	USO DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO EM PROCESSOS DE VASODILATAÇÃO	18
2	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	20
3	PARTE EXPERIMENTAL	22
3.1	REAGENTES E SOLUÇÕES	22
3.2	LIGANTES	23
3.3	EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS	23
3.3.1	<i>MEDIDAS ELETROQUÍMICAS</i>	23
3.3.2	<i>ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL</i>	23
3.3.3	<i>ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA</i>	23
3.3.4	<i>CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)</i>	23
3.3.5	<i>RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO.</i>	24
3.4	SÍNTESE DOS COMPLEXOS	24
3.4.1	<i>SÍNTESE DO COMPLEXO FOR110</i>	24
3.4.2	<i>SÍNTESE DO COMPLEXO Na₃[(Fe(CN)₅(inzd)].3H₂O E COMPLEXO Na₃[(Fe(CN)₅(7aza)].3H₂O</i>	24
3.4.3	<i>SÍNTESE DO COMPLEXO Na₃[(Fe(CN)₅(4-bp)].3H₂O.</i>	25
3.4.4	<i>SÍNTESE DO COMPLEXO Na₃[(Fe(CN)₅(alain)].3H₂O</i>	25
3.5	ANIMAIS..	25

3.6	CIRURGIA	26
3.7	REATIVIDADE VASCULAR	26
3.8	REATIVIDADE VASCULAR UTILIZANDO ODQ	28
3.9	REATIVIDADE VASCULAR UTILIZANDO L-NAME	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	VOLTAMETRIA CÍCLICA.	29
4.2	ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA	34
4.3	ESPECTROSCPIA VIBRACIONAL	41
4.4	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)	46
4.5	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO	53
5	ENSAIO BIOLÓGICO DE VASODILATAÇÃO EM AORTA..	61
5.1	SCREENING FARMACOLÓGICO DE METALOFÁRMACOS	61
5.2	EFEITO DOS COMPLEXOS FOR112 E FOR119 SOBRE O RELAXAMENTO DE AORTA PRÉ-INCUBADA COM ODQ (10 µM)	65
5.3	EFEITO DOS COMPLEXOS FOR112 E FOR119 SOBRE O RELAXAMENTO DE AORTA PRÉ-INCUBADA COM L- NAME (10 µM)	69
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	71
	REFERÊNCIAS	74
	ANEXO	77