

Estudo de metabolismo *in vitro* de um promissor complexo nitrosilo de rutênio [Ru(terpy)(NH.NHq)NO](PF₆)₃ doador de óxido nítrico

Anderson R. M. de Oliveira^{1*} (PQ), Carlos Curti² (PQ), Patrícia da Fonseca² (PG), Roberto S. da Silva² (PQ), Pierina S. Bonato² (PQ)

¹Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, 14040-901, Ribeirão Preto-SP, Brazil, ²Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

*deoliveira@usp.br

Palavras Chave: metabolismo *in vitro*, nitrosilo de rutênio, óxido nítrico, HPLC

Introdução

Um novo e promissor complexo nitrosilo de rutênio [Ru(terpy)(NH.NHq)NO](PF₆)₃ doador de óxido nítrico (Fig. 1) foi desenvolvido pelo grupo de química inorgânica da FCFRP-USP¹ e, devido à sua excelente atividade vasodilatadora, esse complexo pode ser um candidato a um novo fármaco. Estudo de metabolismo é um dos principais parâmetros que devem ser avaliados no início do desenvolvimento de novos medicamentos. Nesses estudos, os parâmetros cinéticos de biotransformação são avaliados tais como, velocidade máxima (V_{max}) e a constante de Michaelis-Menten (K_m). Esse trabalho tem como objetivo avaliar o metabolismo *in vitro* desse complexo empregando fração microssomal hepática de ratos caracterizando assim a cinética enzimática e o aparecimento de metabólitos.

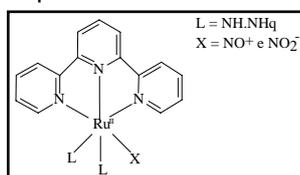


Figura 1- Estrutura química do complexo [RU(NH.NHq)(terpy)NO]³⁺.

Resultados e Discussão

Em uma etapa prévia aos estudos de metabolismo, o complexo foi caracterizado por ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização espectroscópica indicou que a síntese do complexo resulta na formação de isômeros. Realizado a caracterização espectroscópica, foi desenvolvido e validado um método para análise desse complexo em microssomas hepático de ratos por HPLC. Após completa validação, o método foi aplicado em um estudo de biotransformação e os parâmetros cinéticos foram determinados. O estudo de biotransformação foi realizado em condições lineares de concentração de proteínas microssomais, concentração de substrato e tempo de incubação. O estudo de biotransformação demonstrou um perfil de cinética de Michaelis-Menten (Fig. 2). O V_{max} e K_m foram, respectivamente, de $0,1625 \pm 0,010$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ e

$79,97 \pm 11,52$ μM . Esses resultados indicam que o complexo nitrosilo de rutênio é metabolizado pelo CYP450. A Fig. 3 mostra o cromatograma do complexo após incubação. Estudos preliminares indicam que esse complexo apresenta um poder de inibição sobre as enzimas do citocromo P450.

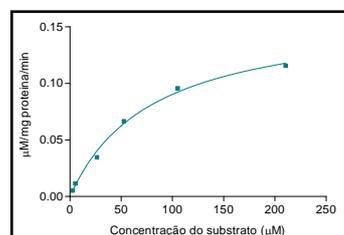


Figura 2- Gráfico de Michaelis-Menten obtido empregando o slope de cada concentração avaliada.

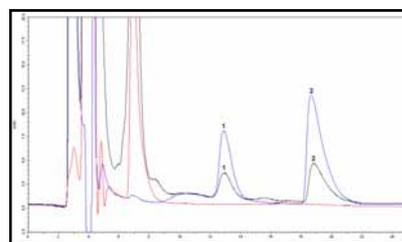


Figura 3- Cromatogramas referentes ao estudo de biotransformação. Cromatograma referente ao "branco" de microssomas (em vermelho), ao controle sem adição de NADPH (em azul) e ao estudo de metabolismo do complexo (em preto). (1) isômero 1; (2) isômero 2.

Conclusões

O perfil metabólico do complexo foi caracterizado empregando microssomas hepático de ratos após validação total da metodologia. As constantes cinéticas K_m e a V_{max} foram determinadas. No estudo de biotransformação do complexo não foi observado qualquer metabólito formado. Talvez o metabólito formado possa estar co-eluindo com os interferentes endógenos presentes no início do cromatograma. Métodos mais seletivos e sensíveis podem ajudar na busca de tais metabólitos.

Agradecimentos

Fapesp, CNPq

¹De Lima, R. G.; Sauaia, M. G.; Bonaventura, D.; Tedesco, A. C.; Bendhack, L. M.; Da Silva, R. S. *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, 359, 2543.