

# Estudo citotóxico e genotóxico *in vitro* e *in vivo* do potencial antitumoral, *ct*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> e similares.

Andréa P. Carnizello<sup>1</sup>(PG)\*; Marília I. F. Barbosa<sup>1</sup>(PG); Angelica E. Graminha<sup>1</sup>(PG); Alzir A. Batista<sup>1</sup>(PQ); Ildercílio M. S. Lima<sup>2</sup>(PG), Jacqueline C. Silva<sup>2</sup>(IC), Daiane E. Pereira<sup>2</sup>(IC); Denise C. Tavares<sup>2</sup>(PQ)

\*andrapcs@netsite.com.br

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235 - SP-310, São Carlos –SP, CEP13565-905;

<sup>2</sup>Universidade de Franca, Av. Dr. Armando Salles Oliveira, 201 Franca – SP, CEP 14404-6002.

Palavras Chave: rutênio, complexos metálicos, monóxido de carbono, citotoxicidade e genotoxicidade.

## Introdução

Complexos carbonílicos de metais de transição, vem sendo explorados como uma possível ferramenta biológica no sentido de imitar a bioatividade da geração de CO endogênico<sup>1</sup>. O entendimento do CO ligado a complexos metálicos no meio biológico, abre perspectivas para aplicações terapêuticas<sup>2</sup>. Assim, no presente trabalho foi avaliado o potencial citotóxico e genotóxico do complexo *ct*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em sistemas teste *in vitro* e *in vivo*, onde buscou-se esclarecer alguns aspectos a respeito da genética toxicológica. O complexo em estudo, bem como outros com estruturas similares, apresentaram atividade antitumoral para a linhagem MDA-MB-231 (câncer de mama). Sendo assim, foram realizados experimentos para o complexo *ct*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em diferentes tratamentos, por meio do teste de micronúcleo *in vitro*, na linhagem celular não tumoral V79 (fibroblasto de hamster chinês) e, do teste de micronúcleo *in vivo* em amostras de medula óssea de camundongos machos do tipo Swiss, num ensaio agudo (24 horas). Estes testes estão relacionados à avaliação do potencial toxicológico, que é um componente básico para a avaliação da segurança pré-clínica de compostos candidatos a drogas<sup>3</sup>.

## Resultados e Discussão

Os resultados das atividades antitumorais destes compostos, mostraram que são mais ativos do que a cisplatina e seu precursor sem a molécula de CO (vide valores de IC<sub>50</sub> na Tabela 1).

**Tabela 1:** Valores de IC<sub>50</sub> dos complexos para a linhagem MDA-MB-231.

COMPLEXOS	IC <sub>50</sub> (μmol.L <sup>-1</sup> )
(1) <i>ct</i> -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	9,8
(2) <i>tc</i> -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	2,5
(3) <i>cc</i> -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	1,9
(4) <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)]*	31,3
<i>cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]	63,0

IC<sub>50</sub>: Concentração que inibe 50% da viabilidade celular.

bipy: bipyridina; dppb: difenilfosfinabutano; \*Precursor sem a molécula CO.

Inferese-se que os baixos valores de IC<sub>50</sub> dos isômeros 1-3 estão relacionados à presença da molécula de CO, ou à carga, uma vez que o precursor apresentou concentração bem maior que os complexos carbonílicos. Diante de tais resultados, o complexo (1), *ct*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, foi selecionado para os testes de micronúcleo *in vitro* e *in vivo*, onde os resultados nos diferentes tratamentos estão

representados nas Tabelas 2 e 3 respectivamente. As células foram analisadas em microscópio.

**Tabela 2:** Resultados do teste de micronúcleo *in vitro* na linhagem V79 para o complexo (1).

Tratamentos (μmol.L <sup>-1</sup> )	CBMN's <sup>a</sup> (Média ± DP)	IDN <sup>b</sup> (Média ± DP)
Controle Negativo	2,5 ± 2,1	1,74 ± 0,06
Controle DMSO	1,0 ± 1,4	1,77 ± 0,15
0,078	0,5 ± 0,7	1,68 ± 0,01
0,16	2,5 ± 0,7	1,66 ± 0,01
0,32	1,5 ± 0,7	1,68 ± 0,05
0,63	0,5 ± 0,7	1,69 ± 0,10
1,25	2,0 ± 1,4	1,61 ± 0,01
2,5	0,0 ± 0,0	1,12 ± 0,00
3,3 ( <i>cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ])	16,5 ± 2,1	1,65 ± 0,00
400,0 (MMS)	24,0 ± 2,1	1,76 ± 0,15

IDN: Índice de Divisão Nuclear; CBMN's: Células binucleadas micronucleadas; DP: Desvio Padrão. a: 500 células binucleadas analisadas por lâmina a um total de 1000 células por tratamento. b: 250 células binucleadas analisadas por lâmina a um total de 500 por tratamento. MMS: metilmetanosulfonato. Incubação da droga: 3 horas.

**Tabela 3:** Resultados do teste de micronúcleo em medula óssea *in vivo* para o complexo (1), 24 horas.

Tratamentos (mg/Kg p.c.)	PCEMN's <sup>a</sup> Média ± DP	IDN <sup>b</sup> Média ± DP
Controle Negativo	2,0 ± 1,4	0,72 ± 0,04
0,625	4,0 ± 0,0	0,62 ± 0,04
1,25	2,0 ± 1,4	0,65 ± 0,05
2,5	2,0 ± 1,4	0,65 ± 0,01
5,0	2,5 ± 0,7	0,66 ± 0,12
1,5 ( <i>cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ])	57,5 ± 2,1	0,61 ± 0,01
40,0 MMS	0,64 ± 0,1	34,5 ± 3,33

IDN: Índice de Divisão Nuclear; PCEMN's: Eritrócitos Policromáticos Micronucleados (total de micronúcleos); a: 2000 eritrócitos analisados por animal a um total de 4000 células por tratamento; b: 200 eritrócitos por animal a um total de 400 por tratamento. MMS: metilmetanosulfonato. Via de administração da droga: i.p. (intraperitoneal).

O complexo (1) testado nestes experimentos, não apresentou efeito citotóxico e nem genotóxico. Pois os valores de IDN e a frequência de micronúcleos obtidos, tanto das células V79 como dos animais tratados, não diferiram estatisticamente em relação ao controle negativo (água). A ausência de genotoxicidade é atribuída à ausência de lesões ou mutações na molécula do DNA das células.

## Conclusões

Os complexos 1-3 apresentaram potencial atividade antitumoral para a linhagem MDA-MB-231. E o complexo (1), *ct*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, nas condições e doses testadas nos experimentos, não foi citotóxico e nem genotóxico *in vitro* e *in vivo*.

## Agradecimentos

CAPES, FAPESP e CNPq

<sup>1</sup>Motterline, R., et al., 2005, 19, 284-286.

<sup>2</sup>Wu, L.; Wang, R. *Pharm. Rev.* 2005, 57, 585-630.

<sup>3</sup>Witte, I.; Plappert, et al., 2007, *Toxic. Scie.*, 97, 2126.