UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

Metalofármacos de rutênio: síntese, caracterização,
atividade frente à linhagem celular K562 e estudos de
interação com albumina de soro humana (HSA)

Renata Rolim Prudente dos Santos

São Paulo

Data do Depósito na CPG:
27/03/2009

RENATA ROLIM PRUDENTE DOS SANTOS

Metalofármacos de rutênio: síntese, caracterização, atividade
frente à linhagem celular K562 e estudos de interação com
albumina de soro humana (HSA)

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutora em Química área de
concentração Química Inorgânica*

Orientadora Prof^a. Dr^a Denise de Oliveira Silva

São Paulo
2009

Renata Rolim Prudente dos Santos

Metalofármacos de rutênio: síntese, caracterização, atividade frente à linhagem celular K562 e estudos de interação com albumina de soro humana (HSA)

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Doutora em Química área de
concentração Química Inorgânica*

Aprovado em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

*À minha mãe e ao meu pai pelo
seu amor, carinho e constante.
apoio em toda a minha vida.
AMO VOCÊS!*

*Ao Daniel por estar sempre
ao meu lado me dando
carinho e apoio.*

AGRADECIMENTOS

A profª Drª. Denise, por me aceitar em seu laboratório, pela confiança, pelos ensinamentos, por me fazer uma profissional melhor durante estes 5 anos,

Ao Prof. Dr. Breno Pannia Espósito por toda a ajuda e paciência em esclarecer algumas de minhas dúvidas durante o doutorado e pela doação das células K562;

À Profª. Drª. Márcia Laudelina Arruda Temperini, Drª Celly Mieko Shinohara e Daniela Colevati pela ajuda com os espectros Raman

Ao Prof. Dr. Henrique E. Toma e Drª Anamaria D. P. Alexiou pelos espectros eletrônicos no estado sólido;

À Profª. Drª. Neyde Yukie Murakami Iha pela utilização do espectrofluorímetro

À Profª. Drª. Ana Maria da Costa Ferreira e Profª. Drª Vera L. Constantino pela ajuda e contribuição científica;

Ao Prof. Dr. Maurício da Silva Baptista por me deixar cuidar das minhas células em seu laboratório;

À Profª. Drª. Alicia J. Kowaltowski pelo uso da autoclave e do freezer -70°;

As amigas Karina, Mariana, Vivian e Ana Valéria pelas discussões científicas e não científicas, pelo carinho e amizade;

Ao Otávio, Sérgio e Leonardo pela amizade, pelos conselhos e conversas bem divertidas;

Ao Douglas, Rodrigo, Andréia, Débora, Rachel, João, Alan, aos mais novos integrantes do grupo Iguatã, Carolina e Jaqueline e pelos que passaram pelo grupo, Geise, Ana Celília, Leila, Felipe, Renata e Claudia pelo companheirismo, discussões e pelas boas risadas dadas juntos;

À Cida pelo apoio técnico imprescindível nestes 5 anos;

Ao Sr. Guilherme Machado, Quiral, pela doação do fármaco Platinil®;

Ao Antonio pelos ensinamentos na técnica de dicroísmo circular;

Ao Marcio, Luzia, Fernando e Adriana pelas análises realizadas na Central Analítica;

Ao Alfredo que me ajudou muito com as análises estatísticas e com os filmes para difração de raio X;

Ao Ricardo pela grande ajuda com as TGs de última hora;

A todos os funcionários do IQ-USP que de alguma forma contribuíram com esta tese;

Ao meu amigo Luciano Cardoso que sempre diz que os químicos são imortais, com este trabalho acho que me torno um pouquinho imortal como ele sempre diz;

As professoras Maria Antonieta, Valéria e Sandra cada uma do seu jeito me mostrou como a química era interessante,

Aos amigos Samanta e Fernando pelos momentos de descontração durante estes 5 anos;

Ao amigo Angersom pelo incentivo para vir fazer pós graduação aqui na USP;

À amiga Márcia pelo apoio e carinho, mesmo que a distância;

À professora Dr^a Wania da Conceição Moreira pelos primeiros ensinamentos na minha vida acadêmica;

À amiga Patricia que na reta final da redação me ajudou a “diminuir o peso da tese” na minhas costas;

Ao meus irmãos Rafael e Rodrigo pelo apoio, carinho e cuidado;

A minha mãe, Nizi, por seu exemplo de competência e profissionalismo, pelo seu apoio e amor;

Ao meu papito, Sérgio, por nossas conversas, pelos socorros nas horas mais difíceis e pelo seu amor incondicional;

A Deus por colocar na minha vida pessoas maravilhosas que me ajudaram, cada uma da sua maneira, a crescer como ser humano;

Ao CNPq pela bolsa de pós graduação e à FAPESP pelo suporte financeiro.

*“A maior recompensa do nosso trabalho não é o que nos
pagam por ele, mas aquilo em que ele nos transforma.”*
John Ruskin

RESUMO

Santos, R.R.P. *Metalofármacos de rutênio: síntese, caracterização, atividade frente à linhagem celular K562 e estudos de interação com albumina de soro humana (HSA)*. 2009. Número de páginas do trabalho 135p. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Este trabalho trata do estudo de complexos de rutênio contendo antiinflamatórios não-esteróides, com o objetivo de contribuir para ampliar as pesquisas na área de potenciais metalofármacos antitumorais.

A partir de reações do precursor dimetálico $[\text{Ru}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4\text{Cl}]$ com os fármacos carboxílicos sulindaco (HSulin) e diclofenaco de sódio (NaDiclofen) foram isolados, respectivamente, os correspondentes complexos $[\text{Ru}_2(\text{Sulin})_4\text{Cl}]$ e $[\text{Ru}_2(\text{Diclofen})_4\text{Cl}]$. A reação entre o monômero $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ e o meloxicam (H_2Melox) deu origem ao derivado misto $[\text{Ru}(\text{dmsO})_2(\text{HMelox})_2]$. Os compostos foram caracterizados por meio de análise elementar, medidas de condutância molar, medidas de susceptibilidade magnética, espectroscopia de absorção eletrônica UV-VIS-IR, espectroscopia vibracional FTIR e Raman, e estudos de análise térmica (TG/DSC/MS).

As interações da albumina de soro humana HSA, importante proteína do plasma, com os complexos obtidos, com o análogo $[\text{Ru}_2(\text{IBP})_4\text{Cl}]$ (HIBP = ibuprofeno) e também com os fármacos orgânicos não-complexados foram investigadas empregando-se dicróismo circular, SDS-Page e fluorescência.

A atividade antitumoral dos metalofármacos foi avaliada, através de ensaios com MTT, com base nos seus efeitos citotóxicos para a linhagem celular de leucemia humana K562.

Palavras chaves: rutênio, HSA, K562, Faines, dicróismo circular e fluorescência

ABSTRACT

Santos, R.R.P. *Ruthenium metallodrugs of diclofenac, sulindac and meloxicam: synthesis, characterization, activity against K562 cell line and interaction with human serum albumin (HSA)*. 2009. Número de páginas 135p. PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

This work describes the study of ruthenium complexes containing non-steroidal anti-inflammatory drugs with the aim of helping to expand the research in the field of potential anticancer metallodrugs.

Reactions of the $[\text{Ru}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4\text{Cl}]$ dimetal complex with sulindac (HSulin) and sodium diclofenac (NaDiclofen) carboxylic drugs gave the correspondent complexes $[\text{Ru}_2(\text{Sulin})_4\text{Cl}]$ and $[\text{Ru}_2(\text{Diclofen})_4\text{Cl}]$, respectively. The reaction between the $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ monomer and the meloxicam drug (H_2Melox) led to the mixed derivative $[\text{Ru}(\text{dmsO})_2(\text{HMelox})_2]$. The compounds were characterized by elemental analysis, molar conductance measurements, magnetic susceptibility, UV-VIS-IR electronic absorption spectroscopy, Raman and FTIR vibrational spectroscopies and by studies of thermal analysis (TG / DSC / MS).

The interactions of human serum albumin (HSA), the major plasma protein, with the obtained complexes, the analogous $[\text{Ru}_2(\text{IBP})_4\text{Cl}]$ (= HIBP ibuprofen) and also with the non-coordinated organic drugs have been investigated by circular dichroism, SDS-Page and fluorescence.

The antitumor activity of the metallodrugs has been evaluated by MTT assays, on the basis of their cytotoxic effects on K562 human leukemia cell line.

Keywords: ruthenium, HSA, K562, circular dichroism and fluorescence.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs.	Absorbância
Ac	Acetato
CD:	Dicroísmo Circular
DMSO:	Dimetilsulfóxido (C_2H_6SO)
DSC:	<i>Differential Scanning Calorimetric</i> (calorimetria exploratória diferencial)
DTA:	<i>Differential Thermal Analysis</i> (análise térmica diferencial)
DTG:	Termogravimetria derivada
EtOH:	Etanol (C_2H_6O)
FAINES	Fármacos Antiinflamatórios Não Esteróides
H ₂ Melox	Meloxicam
HDiclofen:	Diclofenaco ácido ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$)
HIBP:	Ibuprofeno ($C_{13}H_{18}O_2$)
HIm	imidazol
HInd	indazol
HSA:	<i>Human Serum Albumin</i> (albumina de soro humana)
HSulin:	Sulindaco ácido ($C_{20}H_{17}FO_3S$)
MTT:	Brometo de 3 -2,5-difeniltetrazólio
NaDiclofen	Diclofenaco Sódico ($Na C_{14}H_{10}Cl_2NO_2$)
PAGE:	Gel de Poliacrilamida
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institut</i>
Ru ₂ Diclofen:	$[Ru_2(Diclofen)_4Cl] \cdot 4H_2O$
Ru ₂ IBP:	$[Ru_2(IBP)_4Cl] \cdot 1/2H_2O$
Ru ₂ Sulin:	$[Ru_2(Sulin)_4Cl] \cdot 6H_2O$
RuAc:	$[Ru_2(Ac)_4Cl]$

RuDMSO:	$[\text{Ru}(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]$
RuHMelox:	$[\text{Ru}(\text{HMelox})_2\text{Cl}_2] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
SBF:	Soro Bovino Fetal
SDS:	Dodecilsulfato de sódio
T%	Porcentagem de Transmitância
Temed:	N,N,N',N'-Tetrametiletenodiamino
ICP-AES	Espectrometria de emissão atômica por indução eléctrica de plasma
TG:	Termogravimetria

1 INTRODUÇÃO

1.1 Complexos de Rutênio no meio biológico.

Muitos metais têm papel importante nos sistemas vivos, uma vez que se ligam e interagem com moléculas biológicas tais como proteínas e DNA, e apresentam afinidade por moléculas cruciais para a vida, como oxigênio (O_2) e óxido nítrico (NO).

O uso de metais em medicina vem sendo praticado há aproximadamente 5000 anos. Os egípcios usavam o cobre para esterilizar água e o ouro era usado como medicamento na Arábia e na China. Os metais mais utilizados na antiguidade eram ouro, prata e platina; pois se acreditava que por serem nobres trariam algum benefício para o corpo. Somente nos últimos cem anos é que se começou um estudo efetivo das propriedades medicinais de compostos metálicos.

A medicina vem se beneficiando com o uso de drogas e agentes diagnosticantes baseados em compostos inorgânicos. Por isso, vários grupos de pesquisa tem se dedicado à química sintética de complexos de metais de transição, visando principalmente avaliar e determinar o potencial terapêutico e ação biológica que estes compostos podem apresentar.

Os estudos sobre a cisplatina constituem, talvez, o maior sucesso da Química Inorgânica Medicinal, uma vez que a partir do uso clínico do composto, o número de mortes de homens por tumor de testículos diminuiu cerca de 80%.

Desde então, houve um grande interesse por complexos metálicos como possíveis agentes terapêuticos. Iniciou-se uma nova era de busca por compostos metálicos com propriedades farmacológicas, investigação de mecanismos de ação e tentativas de melhorar atividades de novos e antigos fármacos ¹.

O impulso decisivo para o crescimento na área de metalofármacos foi a procura de novas drogas quimioterápicas alternativas à cisplatina, $\text{cis-[PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, que é muito utilizada na medicina atualmente.

Dentre inúmeros compostos investigados na literatura, estão os complexos de rutênio. A possibilidade de identificação de uma nova droga anticancer entre complexos de rutênio tem chamado a atenção de vários pesquisadores. Alguns estudos versam sobre o modo de ligação, dos íons de rutênio, ao DNA e as vantagens proporcionadas por estes íons nesta ação²⁻⁵. Vários grupos de pesquisas estão aprimorando e desenvolvendo estudos sobre a aplicação e interação com biomoléculas de complexos de Ru(II) com diferentes ligantes, tais como: cloroquinona⁶; ligantes piridínicos⁷⁻¹¹, arenos^{12, 13} e ligantes heterocíclicos¹⁴⁻¹⁶.

Os complexos de Ru(III) mais estudados são aqueles que contém ligantes heterocíclicos do tipo (HL)[*trans*-RuCl₄L₂], sendo L um ligante nitrogenado heterocíclico^{17, 18}. A classe das aminas de rutênio e as espécies com sulfóxido^{5, 18}. Os complexos (HL)[*trans*-RuCl₄(DMSO-S)L], sendo L= imidazol, conhecido como NAMI-A (Figura 1)¹⁹, é um dos compostos mais promissores, até o momento, sendo o primeiro a entrar para testes clínicos. Todo este sucesso se dá ao fato do NAMI-A ser particularmente eficiente contra metástase de tumores experimentais^{20, 21}, além disso, tem a capacidade de inibir o crescimento de metástases já estabelecidas²², de prevenir a formação de metástase²³⁻²⁵ e, diferentemente da cisplatina, não apresenta toxicidade significativa.²¹

Outro complexo também bastante interessante é o HInd[RuInd₂Cl₄], (Ind = indazol) (Figura 2), KP1019. Existem estudos da interação deste complexo com biomoléculas^{26, 27}; ele apresenta atividade contra uma ampla gama de modelos de tumores^{17, 28-30} incluindo carcinomas de colon e já está em fase I de testes clínicos³¹.

Embora dois complexos, até o momento, sejam os mais promissores na busca de novos antitumorais de rutênio e estudos sobre o modo de ação e estrutura tenham sido

realizados, muitos aspectos do mecanismo de ação inibitória do tumor ainda são desconhecido.

Figura 1- NAMI-A [Ru (DMSO) Cl₄-(Im)].

Figura 2- HInd/RuInd₂Cl₄/

Nosso grupo de pesquisa tem investigados a interação de íons metálicos com fármacos anti-inflamatórios não esteróides (FAINEs) com o objetivo de sintetizar novos metalofármacos e testar sua atividade biológica. Os fármacos ibuprofeno, naproxeno, indometacina, sulindaco e diclofenaco são exemplos desta classe de medicamentos que por possuírem um grupo ácido (-COOH) em sua estrutura podem atuar como ligantes estabilizando complexos dimetálicos. A escolha dos FAINEs se deve não somente a sua atividade antiinflamatória, mas também à sua capacidade de prevenir e tratar alguns tumores descoberta recentemente. FAINEs tais como sulindaco (Figura 8) e indometacina são capazes de prevenir tumores induzidos em ratos e reduzir adenomas Min em camundongos. Ensaios clínicos controlados, em humanos, confirmaram que a utilização de FAINEs reduz o risco de câncer e da formação de polipose adenomatosa familiar ³².

Outras séries de estudos têm sugerido que a ingestão regular de anti-inflamatórios não esteróides, pode diminuir o risco de câncer de mama ³³, câncer de colon ³⁴, câncer de próstata ³⁵, câncer de endométrio ³⁶, câncer de esôfago ³⁷, dentre outros.

Estudos sugerem que o mecanismo de ação dos FAINEs no tratamento do câncer se através da sua ação na ciclooxigenase 2 (COX2), já que níveis altos de COX-2 tem sido

relatada em alguns tipos de cancer, tais como; de próstata, de mama, de colon, de pâncreas e de fígado.³⁵

Como ligantes, os FAINES carboxílicos podem estabilizar espécies com estruturas do tipo “gaiola” nas quais quatro carboxilatos equatoriais se ligam em ponte a dois íons metálicos de rutênio (Figura 3)³⁸.

Figura 3 - Estrutura do $[\text{Ru}_2(\text{O}_2\text{CR})_4]^+$.

Um dos primeiros trabalhos do grupo mostrou que o complexo, $[\text{Ru}_2(\text{IBP})_4\text{Cl}]$ apresenta atividade anti-inflamatória similares à do fármaco HIBP, porém provocando menor efeito ulcerativo sobre o estômago do que o fármaco orgânico, *in vivo*³⁹

Em outro estudo, foram realizados testes *in vitro* quanto à ação antiproliferativa sobre células C6 de glioma de rato, que constituem uma linhagem celular modelo para a espécie de glioma maligno. Os resultados mostraram que os complexos $[\text{Ru}_2(\text{IBP})_4\text{Cl}]$ e $[\text{Ru}_2(\text{NPX})_4(\text{H}_2\text{O})_2]\text{PF}_6$ inibem a proliferação dessas células com mais eficácia que os respectivos fármacos livres⁴⁰.

O desenvolvimento de um complexo metálico para fins terapêuticos requer o conhecimento dos possíveis processos de biotransformação que antecedem a sua interação com as células tumorais. Esta biotransformação depende da natureza do complexo e pode envolver hidrólise do ligante, reações de oxido- redução e ou substituição dos ligantes por

biomoléculas presentes no sangue. Estas transformações podem alterar a estrutura e/ou composição do complexo metálico e requerem, ainda, um estudo das possíveis interações com biomoléculas, pois entre a administração da droga e do seu alvo a mesma percorre um longo caminho podendo interagir com diversas proteínas presentes no sangue, por exemplo a albumina de soro humana.

1.2 Albumina Humana.

A albumina é a proteína mais abundante do sistema circulatório, em concentração próxima de 40 mg/mL ($\sim 0,6$ mM). Esta proteína desempenha uma variedade muito grande de papéis no meio biológico; contribuindo com 80% da pressão osmótica sangüínea e sendo essencialmente responsável pela manutenção do pH do sangue. Nos mamíferos albumina a albumina é sintetizada pelo fígado e possui um tempo de meia-vida de 19 dias⁴¹. Uma notável propriedade desta proteína é a sua capacidade de ligar-se, reversivelmente, a uma incrível variedade de moléculas. Localizada em todos os tecidos corporais, a HSA realiza o transporte e distribuição de diversas substâncias endógenas ou exógenas tais como: hormônios, aminoácidos, íons metálicos e drogas⁴². Ela é a principal transportadora de ácidos graxos que são insolúveis no plasma sanguíneo^{43, 44}, e desempenha outras funções como o seqüestro de radicais livres de oxigênio e a inativação de vários metabólitos tóxicos lipofílicos, como a bilirrubina.

A estrutura primária da albumina é constituída de uma única cadeia polipeptídica que contém 585 resíduos de aminoácidos (~ 66 kd). A macromolécula pode ser dividida em 9 alças (L1-L9) formadas por 17 pontes dissulfeto entre resíduos de cisteína e grupos SH livres (Cys34)⁴¹, e em três domínios sendo cada um deles constituído de 3 alças (Figura 4).

A albumina de soro humana (HSA) apresenta algumas características estruturais importantes, que merecem destaque:

- a) A presença de um único resíduo de triptofano (na posição 214);
- b) O conteúdo baixo de resíduos de metionina (6 resíduos) em relação ao de cisteína (35 resíduos), e um número ímpar de resíduos de cisteína o qual é de importância fundamental para a estabilização da estrutura e para a ligação de alguns íons metálicos com a proteína;
- c) O conteúdo elevado de aminoácidos com carga, como ácido aspártico (36), ácido glutâmico (61), lisina (59) e arginina (23), que conferem à proteína uma carga total elevada (-17, em pH fisiológico) e portanto, uma boa hidrossolubilidade.
- d) Ausência de sítios de glicosilação, ao contrário de outras proteínas da família das albuminas, como a α -fetoproteína.^{41, 45}

A carga total elevada, proveniente de cerca de 185 possíveis íons por molécula, a pH 7, contribui para a solubilidade da proteína, e as muitas ligações dissulfeto, para a sua estabilidade. A carga global líquida em pH 7 é -12 a -18 para as albuminas bovina, humana e de rato⁴¹.

Para os mamíferos a sequência de aminoácidos é bem preservada, um exemplo é a comparação da albumina humana com as albuminas bovina e a eqüina, que mostra 75% de homologia⁴¹.

Em termos de estrutura secundária os dados cristalográficos mostram que a albumina é constituída predominantemente por α -hélices (67%), com pequenas contribuições de folhas β (23%) e turnos (10%)⁴¹. As α -hélices (Figura 5) são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os oxigênios das carbonilas das ligações peptídicas e os nitrogênios das amidas dos quartos aminoácidos subsequentes.

Figura 4 – Representação da estrutura primária da Albumina Humana.

Figura 5 - Estrutura α -hélice¹.

As estruturas folha β (Figura 6) são estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os oxigênios das carbonilas das ligações peptídicas de um trecho da cadeia e os nitrogênios das amidas das ligações peptídicas de outro trecho distante desta mesma cadeia primária, que será colocada na vizinhança do primeiro trecho. Existem duas variedades de folhas β pregueadas: A) A folha β pregueada antiparalela, em que as cadeias polipeptídicas vizinhas unidas por ligações de hidrogênio estão em sentidos opostos; B) A folha β pregueada paralela, na qual as cadeias estão orientadas no mesmo sentido (Figura 6)⁴⁶.

Figura 6 - Estrutura folha β .

¹ Química: A Ciência Central - Person Education

Conforme ilustrado na

Figura 4, a configuração tri-dimensional é composta por três domínios homólogos (I, II e III). Cada domínio, por sua vez, é formado por dois subdomínios (IA, IB, etc), que são predominantemente helicoidais e contem várias ligações cruzadas de pontes dissulfeto ⁴¹.

A estrutura terciária da albumina foi elucidada através de difração de raio x ^{42, 47}, onde observou-se que, no cristal obtido em uma solução na faixa de pH 4,5 – 8,0, a molécula de HSA tem forma semelhante a de um coração aproximadamente igual a um triângulo equilátero de lados ~ 80 Å e com 30 Å de profundidade.

A albumina possui uma distribuição assimétrica de carga em sua estrutura primária. Em pH neutro, a carga total calculada é de -10, -8 e 0, respectivamente para os domínios I, II e III da albumina humana, sendo uma distribuição semelhante observada em outras albuminas. Portanto, a carga negativa é bem alta no sítio N-terminal e menor no domínio C-terminal o que confere assimetria elétrica para a macromolécula⁴⁸.

A albumina é a única proteína conhecida cujo arranjo tridimensional depende inteiramente da presença das 17 pontes de dissulfeto, o que pode explicar sua capacidade de se manter estável frente a condições desnaturantes das mais adversas ⁴¹.

A albumina pode se ligar rapidamente e com grande afinidade a vários ligantes diferentes. As reações de equilíbrio HSA-ligante apresentam constantes de velocidade de pseudo-primeira ordem de 10^{-5}s^{-1} , ou seja, o equilíbrio é atingido em cerca de 1 microssegundo ⁴⁹. Isso sugere que a proteína tem capacidade de alterar sua conformação interna de modo rápido. Regiões hidrofóbicas, por um lado, e grupos substituintes carregados devem auxiliar na fixação dos ligantes à proteína.

No que diz respeito ao transporte de metais, a albumina humana atua de modo diferente da maioria das outras proteínas, justamente por sua capacidade de transportar várias espécies diferentes e com grande afinidade.

Quanto à afinidade por diferentes tipos de ligantes, a estrutura da albumina pode ser subdividida nos seguintes sítios:

a) Sítios I e II – ligantes heterocíclicos pequenos, ácidos carboxílicos, compostos aromáticos e bilirrubina;

b) Sítios III e IV – ácidos graxos de cadeia longa;

c) Sítios V e VI (Cys34 e N-terminal, respectivamente) – íons metálicos.^{41, 50}

Uma ilustração destes sítios é apresentada na Figura 7, que mostra também as posições de ligação para marcadores farmacêuticos importantes tais como: diazepam, ibuprofeno, aspirina e warfarina, e marcadores endógenos como triptofano e bilirrubina⁴¹.

Figura 7 - Sítios de ligação da HSA².

É amplamente aceito na indústria farmacêutica que a distribuição global, o metabolismo e a eficácia de muitas drogas podem ser alterados com base em suas afinidades

² Adaptada de Elsevier © Ghuman J et al. (2005) J Mol Biol 353: 38–52.

pela soro albumina. Além disso, novas drogas promissoras acabam sendo ineficazes devido à sua elevada afinidade por esta abundante proteína. Desta forma, o entendimento da interação de várias classes de fármacos com a albumina pode sugerir novos caminhos para terapia e *design* de novas drogas, colocando a albumina em posição adequada, numa segunda etapa para racionalização de novas drogas⁵¹⁻⁵³.

ESTRUTURA DOS LIGANTES

Figura 8 – Sulindaco.

Figura 9 – Diclofenaco.

Figura 10 – Ibuprofeno.

Figura 11 – Meloxicam.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como principal meta gerar uma nova contribuição para o desenvolvimento dos estudos sobre metalofármacos, dando continuidade às pesquisas do grupo sobre complexos de rutênio contendo fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (FAINES) como ligantes.

Os principais objetivos foram:

Desenvolvimento de metodologias sintéticas para a obtenção de complexos de $Ru_2(II,III)$ com carboxilatos derivados fármacos anti-inflamatórios não-esteróides: sulindaco e diclofenaco, e de um complexo de $Ru(II)$ com ligante derivado do meloxicam.

Caracterização dos complexos obtidos por meio de análises elementares, espectroscopia eletrônica, espectroscopias vibracionais FTIR e Raman, medidas de susceptibilidade magnética, medidas de condutância molar, análises termogravimétricas (TG e DSC), e difratometria de raios x pelo método do pó.

Estudos de interação dos novos complexos preparados, e também de um complexo de dirutênio-ibuprofenato, com albumina de soro humana (HSA) empregando-se as técnicas de dicroísmo circular e fluorescência.

Avaliação da atividade biológica dos complexos frente à linhagem celular K562 e realização de análise estatística dos dados obtidos nestes ensaios.

8 REFERÊNCIAS

1. Aquino, M. A. S., Diruthenium and diosmium tetracarboxylates: synthesis, physical properties and applications. *Coordination Chemistry Reviews* **1998**, *170*, 141-202.
2. Bacac, M.; Hotze, A. C. G.; Van Der Schilden, K.; Haasnoot, J. G.; Pacor, S.; Alessio, E.; Sava, G.; Reedijk, J., The hydrolysis of the anti-cancer ruthenium complex NAMI-A affects its DNA binding and antimetastatic activity: An NMR evaluation. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2004**, *98* (2), 402-412.
3. Bergamo, A.; Messori, L.; Piccioli, F.; Cocchietto, M.; Sava, G., Biological role of adduct formation of the ruthenium(III) complex NAMI-A with serum albumin and serum transferrin. *Investigational New Drugs* **2003**, *21* (4), 401-411.
4. Clarke, M. J., *Oncological implications of the chemistry of ruthenium*. Marcel Dekker, Inc: New York, 1980; p 231-283.
5. Clarke, M. J., Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, *232* (1-2), 69-93.
6. Rajapakse, C. S.; Martinez, A.; Naoulou, B.; Jarzecki, A. A.; Suarez, L.; Deregnaucourt, C.; Sinou, V.; Schrevel, J.; Musi, E.; Ambrosini, G.; Schwartz, G. K.; Sanchez-Delgado, R. A., Synthesis, characterization, and in vitro antimalarial and antitumor activity of new ruthenium(II) complexes of chloroquine. *Inorg Chem* **2009**, *48* (3), 1122-31.
7. Schatzschneider, U.; Niesel, J.; Ott, I.; Gust, R.; Alborzinia, H.; Wöfl, S., Cellular uptake, cytotoxicity, and metabolic profiling of human cancer cells treated with ruthenium(II) polypyridyl complexes [Ru(bpy)₂(N--N)]Cl₂ with N--N=bpy, phen, dpq, dppz, and dppn. *ChemMedChem* **2008**, *3* (7), 1104-9.
8. Rajendiran, V.; Murali, M.; Suresh, E.; Sinha, S.; Somasundaram, K.; Palaniandavar, M., Mixed ligand ruthenium(II) complexes of bis(pyrid-2-yl)-bis(benzimidazol-2-yl)-dithioether and diimines: study of non-covalent DNA binding and cytotoxicity. *Dalton Trans* **2008**, (1), 148-63.
9. Rajendiran, V.; Murali, M.; Suresh, E.; Palaniandavar, M.; Periasamy, V. S.; Akbarsha, M. A., Non-covalent DNA binding and cytotoxicity of certain mixed-ligand ruthenium(II) complexes of 2,2'-dipyridylamine and diimines. *Dalton Trans* **2008**, (16), 2157-70.
10. McDonnell, U.; Kerchoffs, J. M.; Castineiras, R. P.; Hicks, M. R.; Hotze, A. C.; Hannon, M. J.; Rodger, A., Synthesis and cytotoxicity of dinuclear complexes containing ruthenium(II) bipyridyl units linked by a bis(pyridylimine) ligand. *Dalton Trans* **2008**, (5), 667-75.
11. Corral, E.; Hotze, A. C.; den Dulk, H.; Leczkowska, A.; Rodger, A.; Hannon, M. J.; Reedijk, J., Ruthenium polypyridyl complexes and their modes of interaction with DNA: Is there a correlation between these interactions and the antitumor activity of the compounds? *J Biol Inorg Chem* **2008**.

12. Bugarcic, T.; Novakova, O.; Halamikova, A.; Zerzankova, L.; Vrana, O.; Kasparkova, J.; Habtemariam, A.; Parsons, S.; Sadler, P. J.; Brabec, V., Cytotoxicity, cellular uptake, and DNA interactions of new monodentate ruthenium(II) complexes containing terphenyl arenes. *J Med Chem* **2008**, *51* (17), 5310-9.
13. Chatterjee, S.; Kundu, S.; Bhattacharyya, A.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J., The ruthenium(II)-arene compound RAPTA-C induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53-JNK pathways. *J Biol Inorg Chem* **2008**, *13* (7), 1149-55.
14. Helena Garcia, M.; Morais, T. S.; Florindo, P.; Piedade, M. F.; Moreno, V.; Ciudad, C.; Noe, V., Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) cyclopentadienyl derivative complexes with heteroaromatic ligands. *J Inorg Biochem* **2009**.
15. Hotze, A. C. G.; Bacac, M.; Velders, A. H.; Jansen, B. A. J.; Kooijman, H.; Spek, A. L.; Haasnoot, J. G.; Reedijk, J., New cytotoxic and water-soluble bis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) complexes. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46* (9), 1743-1750.
16. Velders, A. H.; Kooijman, H.; Spek, A. L.; Haasnoot, J. G.; De Vos, D.; Reedijk, J., Strong differences in the in vitro cytotoxicity of three isomeric dichlorobis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) complexes. *Inorganic Chemistry* **2000**, *39* (14), 2966-2967.
17. Depenbrock, H.; Schmelcher, S.; Peter, R.; Keppler, B. K.; Weirich, G.; Block, T.; Rastetter, J.; Hanauske, A. R., Preclinical activity of trans-indazolium [tetrachlorobisindazolruthenate (III)] (NSC 666158; IndCR; KP 1019) against tumour colony-forming units and haematopoietic progenitor cells. *European Journal of Cancer* **1997**, *33* (14), 2404-2410.
18. Keppler, B. K., *"Metal Complexes in Cancer Chemotherapy"*. VCH: New York, 1993.
19. Andrade, A.; Namora, S. F.; Woisky, R. G.; Wiezel, G.; Najjar, R.; Sertie, J. A. A.; De Oliveira Silva, D., Synthesis and characterization of a diruthenium-ibuprofenato complex - Comparing its anti-inflammatory activity with that of a copper(II)- ibuprofenato complex. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2000**, *81* (1-2), 23-27.
20. Zorzet, S.; Bergamo, A.; Cocchietto, M.; Sorc, A.; Gava, B.; Alessio, E.; Iengo, E.; Sava, G., Lack of in vitro cytotoxicity, associated to increased G(2)-M cell fraction and inhibition of Matrigel invasion, may predict in vivo-selective antimetastasis activity of ruthenium complexes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2000**, *295* (3), 927-933.
21. Bergamo, A.; Gagliardi, R.; Scarcia, V.; Furlani, A.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Sava, G., In vitro cell cycle arrest, in vivo action on solid metastasizing tumors, and host toxicity of the antimetastatic drug NAMI-A and cisplatin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1999**, *289* (1), 559-564.
22. Sava, G.; Clerici, K.; Capozzi, I.; Cocchietto, M.; Gagliardi, R.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Perbellini, A., Reduction of lung metastasis by ImH[trans-RuCl₄(DMSO)Im]: Mechanism of the selective action investigated on mouse tumors. *Anti-Cancer Drugs* **1999**, *10* (1), 129-138.

23. Sava, G.; Zorzet, S.; Turrin, C.; Vita, F.; Soranzo, M.; Zabucchi, G.; Cocchietto, M.; Bergamo, A.; DiGiovine, S.; Pezzoni, G.; Sartor, L.; Garbisa, S., Dual action of NAMI-A in inhibition of solid tumor metastasis: Selective targeting of metastatic cells and binding to collagen. *Clinical Cancer Research* **2003**, *9* (5), 1898-1905.
24. Sava, G.; Capozzi, I.; Clerici, K.; Gagliardi, G.; Alessio, E.; Mestroni, G., Pharmacological control of lung metastases of solid tumours by a novel ruthenium complex. *Clinical and Experimental Metastasis* **1998**, *16* (4), 371-379.
25. Bergamo, A.; Sava, G., Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy. *Dalton Trans* **2007**, (13), 1267-72.
26. Hartinger, C. G.; Hann, S.; Koellensperger, G.; Sulyok, M.; Groessler, M.; Timerbaev, A. R.; Rudnev, A. V.; Stingeder, G.; Keppler, B. K., Interactions of a novel ruthenium-based anticancer drug (KP1019 or FFC14a) with serum proteins--significance for the patient. *Int J Clin Pharmacol Ther* **2005**, *43* (12), 583-5.
27. Trynda-Lemiesz, L., Interaction of an anticancer ruthenium complex HInd[RuInd(2)Cl(4)] with cytochrome c. *Acta Biochimica Polonica* **2004**, *51* (1), 199-205.
28. Groessler, M.; Reisner, E.; Hartinger, C. G.; Eichinger, R.; Semenova, O.; Timerbaev, A. R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K., Structure-activity relationships for NAMI-A-type complexes (HL)[trans-RuCl₄L(S-dmso)ruthenate(III)] (L = imidazole, indazole, 1,2,4-triazole, 4-amino-1,2,4-triazole, and 1-methyl-1,2,4-triazole): Aquation, redox properties, protein binding, and antiproliferative activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *50* (9), 2185-2193.
29. Hartinger, C. G.; Zorbas-Seifried, S.; Jakupec, M. A.; Kynast, B.; Zorbas, H.; Keppler, B. K., From bench to bedside--preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). *J Inorg Biochem* **2006**, *100* (5-6), 891-904.
30. Kapitza, S.; Pongratz, M.; Jakupec, M. A.; Heffeter, P.; Berger, W.; Lackinger, L.; Keppler, B. K.; Marian, B., Heterocyclic complexes of ruthenium(III) induce apoptosis in colorectal carcinoma cells. *J Cancer Res Clin Oncol* **2005**, *131* (2), 101-10.
31. Hartinger, C. G.; Jakupec, M. A.; Zorbas-Seifried, S.; Groessler, M.; Egger, A.; Berger, W.; Zorbas, H.; Dyson, P. J.; Keppler, B. K., KP1019, A New Redox-Active Anticancer Agent - Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients. *Chemistry & Biodiversity* **2008**, *5* (10), 2140-2155.
32. Jun-Yang Liou; Chia-Ching Wu; Bo-Rui Chen; Linju B. Yen; Wu, K. K., Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Induced Endothelial Apoptosis by Perturbing Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α Transcriptional Pathway. *MOLECULAR PHARMACOLOGY* **2008**, *74*, 1399-1406.
33. Gierach, G. L.; Lacey, J. V.; Schatzkin, A.; Leitzmann, M. F.; Richesson, D.; Hollenbeck, A. R.; Brinton, L. A., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and breast cancer risk in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study. *Breast Cancer Research* **2008**, *10* (2).

34. Richard A. Hubner; Kenneth R. Muir; Jo-Fen Liu; Richard F.A. Logan; Matthew J. Grainge; Richard S. Houlston; Consortium, M. o. t. U., Ornithine Decarboxylase G316A Genotype Is Prognostic for Colorectal Adenoma Recurrence and Predicts Efficacy of Aspirin Chemoprevention. *Clinical Cancer Research* **2008**, 14(8), 2303-2309.
35. Mehar, A.; Macanas-Pirard, P.; Mizokami, A.; Takahashi, Y.; Kass, G. E. N.; Coley, H. M., The effects of cyclooxygenase-2 expression in prostate cancer cells: Modulation of response to cytotoxic agents. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2008**, 324 (3), 1181-1187.
36. Viswanathan, A. N.; Feskanich, D.; Schernhammer, E. S.; Hankinson, S. E., Aspirin, NSAID, and acetaminophen use and the risk of endometrial cancer. *Cancer Research* **2008**, 68 (7), 2507-2513.
37. Liu, J. F.; Zhang, S. W.; Jamieson, G. G.; Zhu, G. J.; Wu, T. C.; Zhu, T. N.; Shan, B. E.; Drew, P. A., The effects of a COX-2 inhibitor meloxicam on squamous cell carcinoma of the esophagus in vivo. *International Journal of Cancer* **2008**, 122 (7), 1639-1644.
38. Cotton, F. A.; Pedersen, E., Magnetic and electrochemical properties of transition metal complexes with multiple metal-to-metal bonds. II. $[\text{Ru}_2(\text{C}_3\text{H}_7\text{COO})_4]^{n+}$ with $n = 0$ and 1. *Inorganic Chemistry* **1975**, 14 (2), 388-391.
39. Ribeiro, G.; Benadiba, M.; Colquhoun, A.; de Oliveira Silva, D., Diruthenium(II, III) complexes of ibuprofen, aspirin, naproxen and indomethacin non-steroidal anti-inflammatory drugs: Synthesis, characterization and their effects on tumor-cell proliferation. *Polyhedron* **2008**, 27 (3), 1131-1137.
40. Ribeiro, G. Complexos de dirutênio com os fármacos ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, naproxeno, indometacina, e com ácido -linolênico: Síntese, caracterização, avaliação da ação antiproliferativa sobre células tumorais e estudo da interação da unidade dimetálica com adenina e adenosina. . Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2006.
41. Carter, D. C.; Ho, J. X., Structure of serum albumin. *Advances in Protein Chemistry* **1994**, 45, 153-203.
42. He, X. M. e. C., D.C., Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature* **1992**, 358, 209-215.
43. Curry, S.; Brick, P.; Franks, N. P., Fatty acid binding to human serum albumin: New insights from crystallographic studies. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **1999**, 1441 (2-3), 131-140.
44. Curry, S.; Mandelkow, H.; Brick, P.; Franks, N., Crystal structure of human serum albumin complexed with fatty acid reveals an asymmetric distribution of binding sites. *Nature Structural Biology* **1998**, 5 (9), 827-835.
45. Kragh-Hansen, U., Structure and ligand binding properties of human serum albumin. *Danish Medical Bulletin* **1990**, 37 (1), 57-84.
46. Voet, D.; Voet, J. G., *Bioquímica*. 3 ed.; Artmed: Porto Alegre, 2006; p 1525.

47. Sugio, S.; Kashima, A.; Mochizuki, S.; Noda, M.; Kobayashi, K., Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Engineering* **1999**, *12* (6), 439-446.
48. Abbott, M. P. Modificações Oxidativas em Proteínas em Presença de Complexos de Cobre(II). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
49. Vorum, H., Reversible ligand binding to human serum albumin. Theoretical and clinical aspects. *Danish Medical Bulletin* **1999**, *46* (5), 379-399.
50. Espósito, B. P. Interação de complexos de Ródio(II) com albumina humana. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
51. Russeva, V.; Stavreva, N.; Rakovska, R.; Michailova, D., Binding of Sulindac to Human Serum-Albumin Studied by Circular-Dichroism. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* **1994**, *44-1* (2), 159-162.
52. Messori, L.; Orioli, P.; Vullo, D.; Alessio, E.; Iengo, E., A spectroscopic study of the reaction of NAMI, a novel ruthenium(III) anti-neoplastic complex, with bovine serum albumin. *European Journal of Biochemistry* **2000**, *267* (4), 1206-1213.
53. Messina, P.; Prieto, G.; Doderio, V.; Ruso, J. M.; Schulz, P.; Sarmiento, F., Ultraviolet-circular dichroism spectroscopy and potentiometric study of the interaction between human serum albumin and sodium perfluorooctanoate. *Biopolymers* **2005**, *79* (6), 300-9.
54. Silva, D. d. O. Estrutura e reatividade de sulfóxidos de rutênio com bases heterocíclicas nitrogenadas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.
55. Negron, A. C. V. Síntese, caracterização e investigação da potencialidade biológica de carboxilatos dinucleares de Ru, Rh e Cu com Nitroimidazóis. Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, 2005.
56. Voet, D. V. a. J. G., *Bioquímica*. 3 ed.; Artmed: Porto Alegre, 2006; p 1525.
57. Aquino, M. A. S., Recent developments in the synthesis and properties of diruthenium tetracarboxylates. *Coordination Chemistry Reviews* **2004**, *248* (11-12), 1025-1045.
58. Estiu, G.; Cukiernik, F. D.; Maldivi, P.; Poizat, O., Electronic, magnetic, and spectroscopic properties of binuclear diruthenium tetracarboxylates: A theoretical and experimental study. *Inorganic Chemistry* **1999**, *38* (13), 3030-3039.
59. Norman Jr, J. G.; Renzoni, G. E.; Case, D. A., Electronic structure of Ru₂(O₂CR)₄⁺ and Rh₂(O₂CR)₄⁺ complexes. *Journal of the American Chemical Society* **1979**, *101* (18), 5256-5267.
60. Kenawi, I. M.; Barsoum, B. N.; Youssef, M. A., Drug-drug interaction between diclofenac, cetirizine and ranitidine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2005**, *37* (4), 655-661.
61. Miskowski, V. M.; Dallinger, R. F.; Christoph, G. G.; Morris, D. E.; Spies, G. H.; Woodruff, W. H., Assignment of the rhodium-rhodium stretching frequency in Rh₂(O₂CCH₃)₄L₂ complexes and the crystal and molecular structure of

- [C(NH₂)₃]₂[Rh(O₂CCH₃)₄Cl₂]. Relationship between vibrational spectra and structure. *Inorganic Chemistry* **1987**, 26 (13), 2127-2132.
62. Miskowski, V. M.; Gray, H. B., Electronic spectra of Ru₂(carboxylate)₄⁺ complexes. Higher energy electronic excited states. *Inorganic Chemistry* **1988**, 27 (14), 2501-2506.
63. Deacon, G. B.; Huber, F.; Phillips, R. J., Diagnosis of the nature of carboxylate coordination from the direction of shifts of carbon-oxygen stretching frequencies. *Inorganica Chimica Acta* **1985**, 104 (1), 41-45.
64. Llinas, A.; Box, K. J.; Burley, J. C.; Glen, R. C.; Goodman, J. M., A new method for the reproducible generation of polymorphs: two forms of sulindac with very different solubilities. *Journal of Applied Crystallography* **2007**, 40, 379-381.
65. Dellarduya, M. C. T.; Martin, C.; Goni, M. M.; Martinez-Oharriz, M. C., Polymorphism of sulindac: Isolation and characterization of a new polymorph and three new solvates. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1997**, 86 (2), 248-251.
66. Grzesiak, A. L.; Matzger, A. J., New form discovery for the analgesics flurbiprofen and sulindac facilitated by polymer-induced heteronucleation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2007**, 96, 2978-2986.
67. Miskowski, V. M.; Loehr, T. M.; Gray, H. B., Electronic and vibrational spectra of Ru₂(carboxylate)₄⁺ complexes. Characterization of a high-spin metal-metal ground state. *Inorganic Chemistry* **1987**, 26 (7), 1098-1108.
68. Miskowski, V. M.; Loehr, T. M.; Gray, H. B., Vibrational and electronic spectra of Ru₂(O₂CH)₄⁺. *Inorganic Chemistry* **1988**, 27 (26), 4708-4712.
69. Jubert, A.; Massa, N. E.; Tevez, L. L.; Okulik, N. B., Vibrational and theoretical studies of the non-steroidal anti-inflammatory drugs Niflumic [2-3((3-trifluoromethyl)phenylamino)-3-pyridinecarboxylic acid]; Diclofenac [[2-(2,6-dichlorophenyl)amino]-benzeneacetic acid] and Indometacin acids [1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indole-3-acetic acid]. *Vibrational Spectroscopy* **2005**, 37 (2), 161-178.
70. Nakamoto, K., *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 4^a edição ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1986.
71. Gehad, G. M.; Nadia, E. A. E., Preparation and spectroscopic characterisation of metal complexes of piroxicam. *Vibrational Spectroscopy* **2004**, 36 (1), 97-104.
72. Defazio, S.; Cini, R., Synthesis, X-ray structure and molecular modelling analysis of cobalt(II), nickel(II), zinc(II) and cadmium(II) complexes of the widely used anti-inflammatory drug meloxicam. *Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions* **2002**, (9), 1888-1897.
73. Gordijo, C. R. Estudo de Metalofármacos Antiinflamatórios de Cobre e dos Materiais Híbridos Resultantes de suas Imobilizações no Hidróxido Duplo Lamelar Hidrotalcita: Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Farmacológica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

74. Geary, W. J., The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. *Coordination Chemistry Reviews* **1971**, 7 (1), 81-122.
75. International Centre for Diffraction Data . .
76. Zayed, M. A.; El-Dien, F. A. N.; Mohamed, G. G.; El-Gamel, N. E. A., Synthesis and thermal characterization of new ternary chelates of piroxicam and tenoxicam with glycine and dl-phenylalanine and some transition metals. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2006**, 64 (1), 216-232.
77. Chignell, C. F., Spectroscopic techniques for the study of drug interactions with biological systems. *Adv Drug Res* **1970**, 5, 55-94.
78. Neault, J. F.; Tajmir-Riahi, H. A., Interaction of cisplatin with human serum albumin. Drug binding mode and protein secondary structure. *Biochimica Et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology* **1998**, 1384 (1), 153-159.
79. Williams, R. T.; Bridges, J. W., Fluorescence of Solutions: a Review. *J Clin Pathol* **1964**, 17, 371-94.
80. Youn, H. J.; Terpetschnig, E.; Szmazinski, H.; Lakowicz, J. R., Fluorescence Energy-Transfer Immunoassay Based on a Long-Lifetime Luminescent Metal-Ligand Complex. *Analytical Biochemistry* **1995**, 232 (1), 24-30.
81. Trynda-Lemiesz, L.; Karaczyn, A.; Keppler, B. K.; Kozłowski, H., Studies on the interactions between human serum albumin and trans-indazolium (bisindazole) tetrachlororuthenate(III). *Journal of Inorganic Biochemistry* **2000**, 78 (4), 341-346.
82. Trynda-Lemiesz, L.; Keppler, B. K.; Kozłowski, H., Studies on the interactions between human serum albumin and imidazolium [trans-tetrachlorobis (imidazol) ruthenate(III)]. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1999**, 73 (3), 123-128.
83. Weber, K., [Use of fluorescence, chemoluminescence and spectrophotometry in medicine]. *Arh Hig Rada Toksikol* **1968**, 19 (3), 407-12.
84. Bian, Q.; Liu, J.; Tian, J.; Hu, Z., Binding of genistein to human serum albumin demonstrated using tryptophan fluorescence quenching. *International journal of biological macromolecules* **2004**, 34 (5), 333-337.
85. Tacitus, C., The histories and the annals. Loeb Classical Library ed.; Harvard University Press: Cambridge, 1937; p 4 v.
86. Ishii-Iwamoto, A. B. e. E. L., *Métodos em Laboratório de Bioquímica*. 1ª ed.; Barueri, 2003.
87. Trynda-Lemiesz, L.; Keppler, B. K.; Kozłowski, H., Studies on the interactions between human serum albumin and imidazolium [trans-tetrachlorobis (imidazol) ruthenate(III)]. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1999**, 73 (3), 123-128.
88. Zhang, Y. P.; Wei, Y. J.; Li, N.; Qin, S. J., Fluorescence quantum yield of human and bovine serum albumin. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* **2004**, 32 (6), 779-782.

89. Rabek, J. F., *Experimental methods in photochemistry and photophysics*. John Wiley e Sons, Belfast, Northern Ireland 1982,; p 746-752.
90. Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 2nd ed.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: 1999.
91. Anbazhagan, V.; Renganathan, R., Study on the binding of 2,3-diazabicyclo[2.2.2]oct-2-ene with bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy. *Journal of Luminescence* **2008**, 128, 1454-1458.
92. Ware, W. R., Oxygen quenching of fluorescence in solution: An experimental study of the diffusion process. *The Journal of Physical Chemistry* **1962**, 66 (3), 455-458.
93. Hou, H. N.; Qi, Z. D.; Ouyang, Y. W.; Liao, F. L.; Zhang, Y.; Liu, Y., Studies on interaction between Vitamin B12 and human serum albumin. *J Pharm Biomed Anal* **2008**, 47 (1), 134-9.
94. Jiang Min; Xie Meng-Xia; Zheng Dong; Liu Yuan; Li Xiao-Yu; Xing, C., Spectroscopic studies on the interaction of cinnamic acid and its hydroxyl derivatives with human serum albumin. *Journal of Molecular Structure* **2004**, 692, 71-80.
95. Neto, B. d. B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E., *Planejamento e Otimização de Experimentos*. Editora da Unicamp: Campinas, 1995.

Súmula Curricular

Renata Rolim Prudente dos Santos

Formação

Candidata a **Doutoranda** no Instituto de Química da Universidade de São Paulo. (02/2004 – 04/2009)

Licenciada em Química pela Universidade de São Paulo - (Concluído em 12/2005).

Bacharel em Química pela Universidade Federal de São Carlos – (Concluído em 12/2003).

Técnica em Química pela E.M.S.G Primeiro de Maio – (1996 – 1997).

Projetos

1-Doutorado Direto :Complexos de Rutênio com o Fármaco Sulindaco, Diclofenaco e Ácido Mefenâmico- Síntese, Caracterização e potencial biológico.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Denise de Oliveira Silva

2-Iniciação científica :Investigação das Propriedades de Adsorção do fosfato Quimicamente ligado à Superfície de Sílica gel- agosto/2000 a dezembro/2003.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Wania da Conceição Moreira

Bolsas

1-Bolsa de Formação de Pesquisador de Doutorado Direto - CNPQ
período de março/2005 a fevereiro/2009.

2-Bolsa PAE-USP

Participação no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino – PAE, da Universidade de São Paulo, como estagiária/bolsista. (de agosto/2004 – julho/2006)

3-Bolsa de Iniciação Científica – CNPq –PIBC – UFSCar.
período agosto/2001 a julho/2002.

Cursos

1-**Química e Sociedade** –durante a 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, realizada em Poços de Caldas, MG, no período de 30 de maio a 02 de junho de 2005

2-**Catálise Ambiental** –durante a XXII Escola de Verão em Química “Prof. Dr. José Tércio B. Ferreira”, realizada em São Carlos, SP, no período de 18 a 22 de fevereiro de 2002.

3-**Segurança em laboratório e tratamento de resíduos** - durante a XXII Escola de Verão em Química “Prof. Dr. José Tércio B. Ferreira”, realizada em São Carlos, SP, no período de 25 de fevereiro a 01 de março de 2002.

4-Polímeros Condutores: propriedades e aplicações- durante a XXII Escola de Verão em Química “Prof. Dr. José Tércio B. Ferreira”, realizada em São Carlos, SP, no período de 25 de fevereiro a 01 de março de 2002.

Experiência em Pesquisa

1-Laboratório de Química Inorgânica Sintética e Estrutural – Bioinorgânica e Metalofármacos, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil.(Fev/2004-Mar/2009). Estudante de Doutorado sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Denise de Oliveira Silva

2-Laboratório de Química de Sólidos e Superfícies – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil.(Fev/2002 – Dez/2003). Estudante de iniciação científica sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Wania da Conceição Moreira.

Experiência Acadêmica

1-Monitora da disciplina “**Transformações Químicas**” no período de março/2007 a julho/2007. Departamento de Química Fundamental – Instituto de Química – Universidade de São Paulo.

2-Monitora da disciplina “**Inorgânica Básica**” no período de agosto/2006 a dezembro/2006. Departamento de Química Fundamental – Instituto de Química – Universidade de São Paulo.

3-Monitora da disciplina “**Química Geral e Inorgânica Básica**” no período de março/2005 a julho/2005 e março/2004 a julho/2004. Departamento de Química Fundamental – Instituto de Química – Universidade de São Paulo.

4-Monitora da disciplina “**Química dos Elementos**” no período de agosto/2004 a dezembro/2004, agosto/2003 a dezembro/2003 e março/2003 a julho/2003 Departamento de Química Fundamental – Instituto de Química – Universidade de São Paulo e Departamento de Química – Universidade Federal de São Carlos.

Contribuições Científicas em Congressos

1-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Diruthenium(II,III)-ibuprofen Metallodrug: Interaction with Human Serum Albumin and effects on Leukemic Tumor Cell In: **Eurobic 9**, 2008, Wroclaw, Poland. **Livro de Resumos.**, 2008.

2-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Fluorescence Quenching of human serum albumin by diruthenium-diclofenac complex In: **XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and I-LABIC**, 2008, Foz do Iguaçu - Pr. **Livro de Resumos.**, 2008.

3-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Estudo do comportamento da estrutura secundária da Albumina Humana frente a compostos de dirutênio com os fármacos: diclofenaco e sulindaco. In: **31º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2008, Águas de Lindóia. **Livro de Resumos.** , 2008.

4-SANTOS, L.R.S.R ,SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Síntese e Caracterização de um complexo de dirutênio com o fármaco cetoprofeno e estudos preliminares de interação com albumina humana. In: **31º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2008, Águas de Lindóia. **Livro de Resumos.** , 2008.

5-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Estudo de um Dímero de Ru₂(II,III)-Diclofenaco e sua Interação com Albumina Humana. In: **30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2007, Águas de Lindóia. **Livro de Resumos.** , 2007.

6-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Studies of Interactions of Diruthenium-Sulindac and Diruthenium-Acetate complex with Human Serum Albumin In: **XIII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry**, 2006, Fortaleza. **Livro de Resumos.** , 2006.

7-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Interação entre um dímero de Ru₂(II,III)-sulindaco e um monômero de Ru(II)-dimetilsulfóxido. In: **28º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2005, Poços de Caldas. **Livro de Resumos.** , 2005.

8-SANTOS, R. R. P., Silva, D.O.

Sulindac intercalated into Zn-Al Layered Double Hydroxide: A NSAID LHD new hybrid material. In: **Brazilian MRS Meeting 2005 - IV Encontro da SBPMat - Sociedade Brasileira de Pesquisas em Materiais**, 2005, Recife. **Livro de Resumos.** , 2005.

9-SANTOS, R. R. P.

Syntesis and Characterization of a diruthenium complex with the drug sulindac In: **XII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry**, 2004, São Carlos **Livro de Resumos.** , 2004.

10-SANTOS, R. R. P

.Investigação das propriedades de adsorção do fosfato de nióbio quimicamente ligado à superfície de sílica gel In: **X Congresso de Iniciação Científica da UFSCar**, 2002, São Carlos. **Cd-rom X Congresso de Iniciação Científica.** , 2002.