República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102020002917-7 A2

(22) Data do Depósito: 11/02/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 24/08/2021

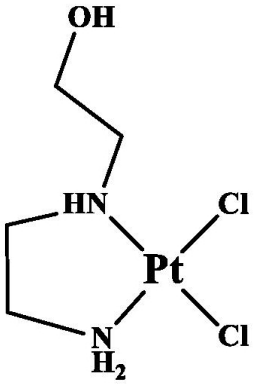
(54) Título: COMPLEXO DE PLATINA(II)-AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL

(51) Int. Cl.: A61K 31/282; A61P 35/00.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): MONICA FREIRE BELIAN; WAGNER EDUARDO DA SILVA; TERESINHA GONCALVES DA SILVA; JACIANA DOS SANTOS AGUIAR; REOBE FELIPE DA SILVA.

(57) Resumo: COMPLEXO DE PLATINA(II)-AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL. A presente invenção trata-se de um composto de coordenação de platina (II), contendo em sua estrutura o ligante aminoetiletanolamina, apresentando este composto alta atividade antitumoral comprovada através de modelo animal, camundongos machos (Mus musculus) da linhagem Swiss com aproximadamente 60 dias de vida, com células tumorais implantadas na região subaxilar do tipo Carcinoma de Ehrlich; foi de 77%. A referida invenção apresentou menor toxicidade quando comparado a padrões do mercado farmacológico, como a cisplatina (CDDP), uma vez que a referida invenção se enquadrou na categoria 2, segundo análise toxicológica do protocolo OECD 423.



“COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”

Campo da invenção

[001] A presente invenção trata-se de um composto de coordenação de platina (II), contendo em sua estrutura o ligante aminoetiletanolamina, apresentando este composto alta atividade antitumoral comprovada através de modelo animal, camundongos machos (*Mus musculus*) da linhagem *Swiss* com aproximadamente 60 dias de vida, com células tumorais implantadas na região subaxilar do tipo Carcinoma de *Ehrlich*; foi de 77%. A referida invenção apresentou menor toxicidade quando comparado a padrões do mercado farmacológico, como a cisplatina (CDDP) categoria 1, uma vez que a referida invenção se enquadrou na categoria 2, segundo análise toxicológica do protocolo OECD 423.

Fundamentos da invenção

[002] A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina, *cis*-$[Pt(Cl)_2(NH_3)_2]$ ou *cis*-diclorodiaminoplatina II, por Barnett Rosenberg e colaboradores, na década de 60, e a sua entrada no cenário oncológico, no ano de 1978, representa até hoje um dos mais importantes fenômenos acontecidos relacionados a fármacos quimioterápicos. *(Alderden, R. A.; Hall, M. D.; Hambley, T. W., The Discovery and Development of Cisplatin, Journal of Chemical Education, 83, No. 5 (2006), 728-734)*.

[003] Atualmente, apenas três complexos de platina (II) são aprovados em todo o mundo para o tratamento do câncer: a cisplatina, altamente eficaz no tratamento de diversos tumores sólidos, como de câncer de pulmão, de cabeça, de pescoço, de ovários e testículos, com taxas de até 100% de cura quando o tumor é descoberto em fases iniciais; a carboplatina, empregada na mesma linhagem de cânceres que a cisplatina e com atividade similar; e a oxaliplatina, que é utilizada no tratamento de cânceres de cólon, com elevada atuação. Apesar da utilização desses fármacos, uma problemática persiste quanto à sua utilização, que são os efeitos colaterais. Com isso, a busca racional por

novos complexos de platina (II), que apresentem atividade antitumoral e menores efeitos colaterais, tem sido estudada nas últimas décadas.

[004] Os fármacos de platina (II) apresentam mecanismos de ação similares, onde após a captação celular ocorre o transporte do fármaco para o núcleo da célula por meio de três possíveis artifícios: difusão passiva ou facilitada, proteína de homeostase de cobre ou pelos transportadores de cátions orgânicos (OCTs). Em seguida, o complexo de platina (II) sofre reações de substituição nucleofílica até formar complexo com o nDNA (DNA nuclear) na cromatina. Esta ligação pode ser monofuncional, apenas em um ponto do material genético; intrafita, que ocorre por dois pontos de uma mesma fita do DNA; interfita, em um ponto de cada fita do nDNA; ou intermolecular, que é ligado em um ponto ao DNA e à outra biomolécula presente na cromatina. (*Jung, Y., Lippard, S. J., Direct Cellular responses to platinum-induced DNA damage, Chemical Reviews, 107, No 5, (**2007**) 1387-1407*).

[005] Após a formação do complexo Pt-nDNA há o reconhecimento da falha no material genético por proteínas de reparos a danos, estas ativam os mecanismos de reparação, que podem ser: Reparo por Excisão de Nucleotídeos, onde a lesão é removida do DNA como parte de um resíduo de 12 a 13 oligonucleotídeos; Reparo de Emparelhamento, que reconhece e corrige principalmente, os erros da nDNA polimerase durante o processo de replicação do nDNA; e, Recombinação de nDNA (RR), mecanismo de recombinação entre segmentos de nDNA com extensa identidade. O conhecimento dos mecanismos de reparo que envolve nDNA danificado pela platina fornece pistas essenciais para compreender as respostas celulares aos fármacos anticancerígenos baseados em metais e para melhorar a eficácia de terapias (*Wheate, N. J., Walker, S., Craig, G. E., Oun R., The status of platinum anticancer drugs in the clinic and clinical trials, Dalton Trans., 39 (**2010**) 8113-8127*), *(Eastman, A., The Mechanism of Action of Cisplatin: From Adducts to Apoptosis. In: Bernhard, L. (Ed.). Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug. Zürich: Verlag Helvetica Chimica Acta, 1999) e (Schaaper, R. M., Base selection, proofreading, and mismatch repair during DNA replication in Escherichia coli, J Biol Chem., 268, No. 32 (1993) 23762-23768).*

[006] Compostos de platina (II) que apresentem ligantes que possibilite melhor absorção, maior seletividade, maior atividade e menores efeitos colaterais, consistem em

uma estratégia para o desenvolvimento de fármacos platínicos. Desta forma, dependendo da estrutura do ligante e propriedades anfifílicas que este confere ao complexo pode haver uma maior facilitação no processo de entrada do fármaco no meio intracelular, o que aumenta a probabilidade de interação com o nDNA em comparação aos compostos que não apresentem ligantes com essa característica.

[007] Apesar das vantagens dos metalofármacos baseados em platina utilizados no tratamento do câncer, na maioria das vezes, muitos efeitos colaterais danosos aos pacientes são observados durante o tratamento. Dos compostos utilizados atualmente, a cisplatina é a que apresenta maior quantidade de efeitos colaterais. O uso da cisplatina causa muito desconforto aos pacientes já que o metal presente pode reagir tanto com células malignas quanto com células saudáveis. Alguns efeitos colaterais comuns são neurotoxicidade, ou complicações neurológicas; nefrotoxicidade, ou complicações no néfrons, acarretando em disfunções renais; mielossupressão, ou seja, supressão de produção de células sanguíneas pela medula; ototoxicidade, complicações auditivas; alopecia, ou quedas de cabelo; náuseas e enjôos constantes (*ALMEIDA, M. V. et al., Synthesis and Characterization of Platinum(II) Complexes fromTrifluoromethyl Phenylenediamine, Picoline and N-Benzyl Ethylenediamine Derivatives. Journal of the Brazilian Society of Chemistry, 17 (7) (2006) 1266-1273) (MA, J. et al., The glycosylated platinum(IV) prodrugs demonstrated significant therapeutic efficacy in cancer cells and minimized side-effects. Dalton Transactions, 2016, DOI: 10.1039/C6DT02207C).*

[008] Outro problema resultado do tratamento com os fármacos antineoplásicos já comercializados é que alguns tipos de células tumorais desenvolveram mecanismo de resistência cruzada, intrínseca ou adquirida, ao tratamento. Isto faz com que o composto seja fracamente absorvido pela célula maligna, aumentando a toxicidade do mesmo no organismo (*WILSON, J. J.; LIPPARD, S. J. Synthetic Methods for the Preparation of Platinum Anticancer Complexes. Chemical Review 144 (8) (2014) 4470–4495*).

[009] A patente BR 11 2016 029024 0 A2 descreve a obtenção de conjugados ligados e composições de texafirina com platina (IV), e a atividade citotóxica destes compostos. Nesta patente é descrito que os compostos propostos apresentam boa atividade citotóxica. A presente invenção apresenta diferenças significativas, quanto a estratégia sintética e estruturas propostas, além de apresentar ensaios *in vivo*.

[0010] A patente BR 10 2015 011819 8 A2 descreve a obtenção e atividade citotóxica de um complexo binuclear de platina II, a qual apresentou percentuais de inibição tumoral obtidos, após realização de ensaios *in vitro*, frente às linhagens de células de (i) leucemia promielocítica aguda, (ii) carcinoma mucoepidermóide de pulmão humano e (iii) adenocarcinoma de cólon humano foram: 79,1; 94,6 e 70,2%; respectivamente. A presente invenção difere da referida patente quanto à estrutura química, número de núcleos de platina (II) e funcionalidade dos ligantes na estrutura do complexo.

[0011] Na patente US5426203A são apresentados complexos de platina (II) com ligantes malonatos e suas atividades antitumorais. A presente invenção apresenta diferenças estruturais e vantagens quanto à toxicidade.

[0012] A patente BR 102016000688-0 A2 descreve a obtenção de complexos de platina (II) binucleares e suas atividades antitumorais. A referida patente apresentou atividade antitumoral, em ensaios *in vitro*, contra carcinoma de pulmão e de laringe humano. A presente invenção apresenta diferenças quanto à estrutura dos ligantes utilizados no processo de síntese e do complexo final obtido. Outra diferença marcante é a toxicidade apresentada pelo composto da presente invenção.

[0013] Na patente BR 11 2017 003467 0 A2 é descrito um novo complexo de platina (IV) com eficácia antitumoral. A invenção divulga ainda um processo para a preparação do referido complexo e uma composição farmacêutica para a terapia de doenças tumorais contendo o referido complexo. A presente invenção apresenta diferenças significativas da referida patente, desde o íon utilizado que no nosso caso foi o íon Pt(II) e o ligante utilizado, quanto o mecanismo de atuação do candidato à fármaco.

[0014] Todas as patentes, com tema complexos de platina(II), desenvolvidas pelo nosso grupo, apresentam diferenças estruturais, não sendo caracterizando como similares e derivados, assim como, apresentam diferenças quanto a estratégia, atividade biológica e mecanismos de atuação.

Descrição da invenção

[0015] O procedimento de síntese adotado para a obtenção da presente invenção, tendo o complexo de platina (II) codificado como RWM, foi satisfatório uma vez que a rota

sintética adotada apresentou bons rendimentos reacionais (>90%) e reprodutibilidade. O complexo RWM foi submetido a algumas técnicas de caracterização espectroscópica, tais como: espectroscopia de absorção eletrônica, espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^{1}H, ^{13}C e ^{195}Pt; todas as técnicas confirmaram a formação do já referido composto, como mostrado na Figura 1.

[0016] Legenda da Figura 1:

[0017] Figura 1. Fórmula estrutural do quimioterápico sintetizado e apresentado como a presente invenção, a qual foi codificada como **RWM**.

[0018] Os ligantes, (i) ligante podante (aminoetiletanolamina) e (ii) ligantes monodentados (ânions cloreto completando a esfera de coordenação do íon Pt(II)).

[0019] Os dados gerais, bem como da caracterização espectroscópica (Absorção eletrônica, FTIR e RMN de ^{1}H, ^{13}C e ^{195}Pt), obtidos para o composto de coordenação, o qual foi utilizado como quimioterápico, encontram-se descritos abaixo:

[0020] Código: RWM

[0021] Absorção Eletrônica (nm): λ = 206 (MLCT/LMCT), 300 (d$\rightarrow$d); IR cm^{-1} (KBr): ν 1056 (CO), 1276 e 1353 (CN), 2873 e 2923 (CH), 3128 e 3247 (NH), 3440 (OH). RMN ^{1}H (δ, ppm, D_2O): 2,53-3,37 (m); 3,76-3,96 (m); 5,15-5,45 (s); 6,18-6,28 (s). RMN ^{13}C (δ, ppm, D_2O): 57,61; 57,39; 54,59; 53,94; 55,00; 53,59; 44,89 e 45,02. RMN ^{195}Pt (δ, ppm, D_2O): -2411.

[0022] Os percentuais de inibição tumoral, para os ensaios *in vivo*, foram calculados segundo Equação, TWI% = [(C – T)/ C] x 100, onde, *C* é a média das massas dos tumores nos animais do grupo controle, e *T* é a média das massas dos tumores do grupo tratado; possuindo cada grupo o número de 10 (dez) animais, e sendo as cobaias portadoras do carcinoma de *Erlich*; para a qual tomaram-se as massas médias dos tumores extraídos do grupos: tratado e controle. Toda a experimentação animal e procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética e uso de animais da UFPE, sob a licença nº 23076.030363/2017-48.

[0023] O composto RWM apresentou um percentual de inibição tumoral em torno de 77%, mediante tratamento das cobaias com uma dose (intraperitoneal) contida na faixa de 0,1 a 20,0 mg Kg^{-1}, incluindo-se os limites.

Exemplos de concretizações da invenção

[0024] Ao ser comparado aos resultados do padrão quimioterápico disponível no mercado (CDDP), em ensaios *in vivo*, a presente invenção apresentou atividade antitumoral superior. Os resultados para as atividades antitumorais estão sumarizados na Tabela 1.

[0025] Tabela 1. Resultados obtidos nos ensaios de atividade antitumoral da cisplatina e do complexo sintetizado, codificado como (RWM), frente ao carcinoma de *Erlich*.

Produtos teste	% de inibição
RSF01	77,0
Controle (-) NaCl 10%	0,0
CDDP	58,0

REIVINDICAÇÕES

1. “COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”, **caracterizado por** se tratar de um complexo mononuclear de platina II, contendo em sua estrutura os ligantes aminoetiletanolamina e cloretos completando a esfera de coordenação do íon platina com estado de oxidação (2+) e número de coordenação 4, apresentando este composto atividade antitumoral, constituindo assim, em promissor fármaco a ser aplicado na terapêutica do câncer.

2. “COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”, conforme reivindicação 1, **caracterizado por** apresentar estrutura do quimioterápico sintetizado, codificado como RWM, conforme figura 1 do relatório descritivo

3. “COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”, conforme reivindicações 1 e 2, **caracterizado pela** atividade antineoplásica mediante sua administração, via intraperitoneal, em uma faixa de 0,1 a 20,0 mg Kg^{-1}, incluindo-se os limites

4. “COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”, conforme reivindicações 1, 2 e 3, **caracterizado por** apresentar alta solubilidade em água, podendo ser utilizado via oral, intraperitonial e intravenoso.

DESENHOS

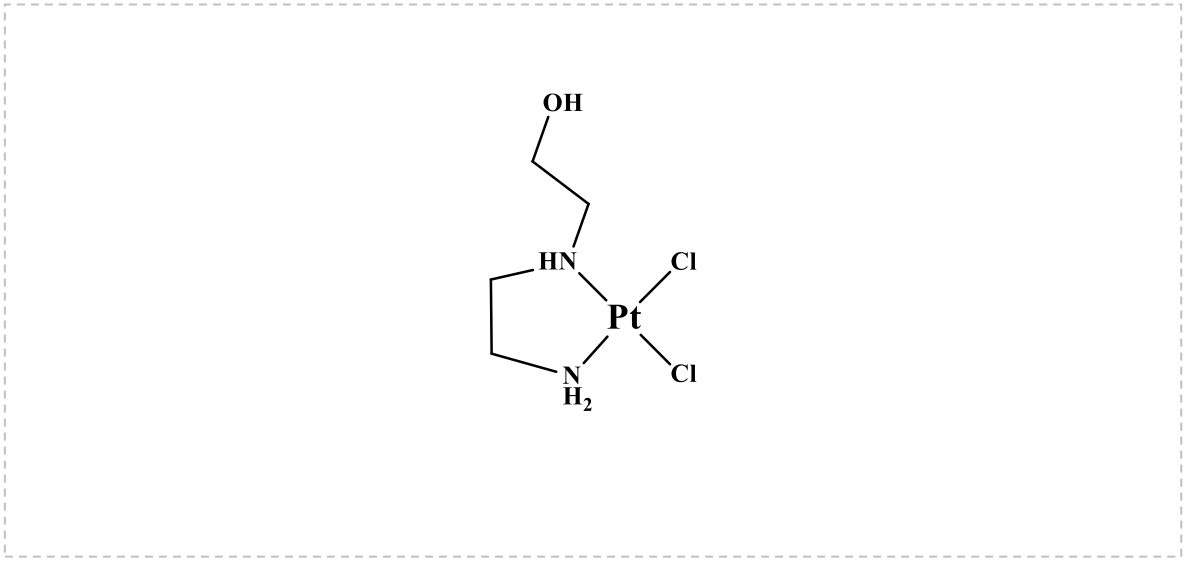


Figura 1.

RESUMO

“COMPLEXO DE PLATINA(II)–AMINOÁLCOOL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITUMORAL”

A presente invenção trata-se de um composto de coordenação de platina (II), contendo em sua estrutura o ligante aminoetiletanolamina, apresentando este composto alta atividade antitumoral comprovada através de modelo animal, camundongos machos (*Mus musculus*) da linhagem *Swiss* com aproximadamente 60 dias de vida, com células tumorais implantadas na região subaxilar do tipo Carcinoma de *Ehrlich*; foi de 77%. A referida invenção apresentou menor toxicidade quando comparado a padrões do mercado farmacológico, como a cisplatina (CDDP), uma vez que a referida invenção se enquadrou na categoria 2, segundo análise toxicológica do protocolo OECD 423.