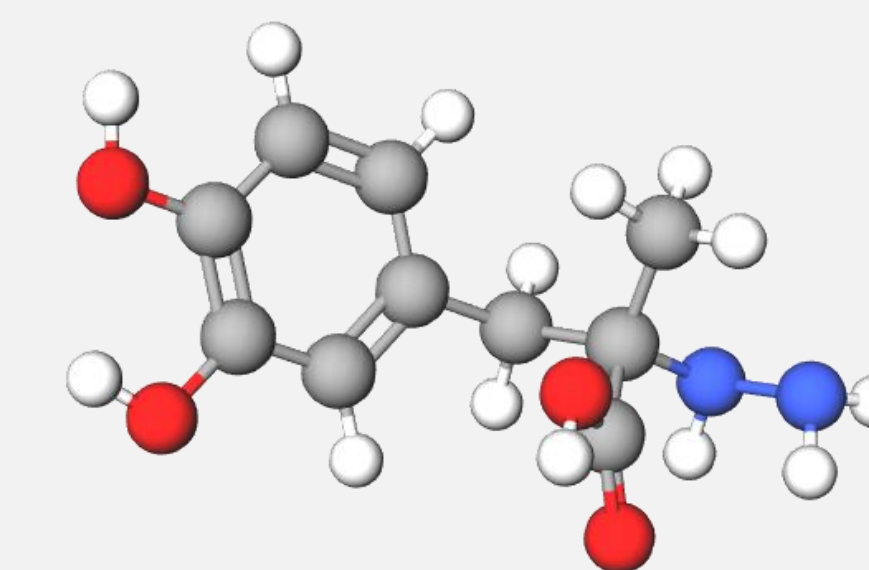




Actis Dato Agustín B., Martínez Valeria R., Ferrer Evelina G., Williams Patricia A.M.

Centro de Química Inorgánica (CEQUINOR, CONICET/UNLP), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, C.C.962, 1900 La Plata, Argentina.  
 a.actisdato@quimica.unlp.edu.ar



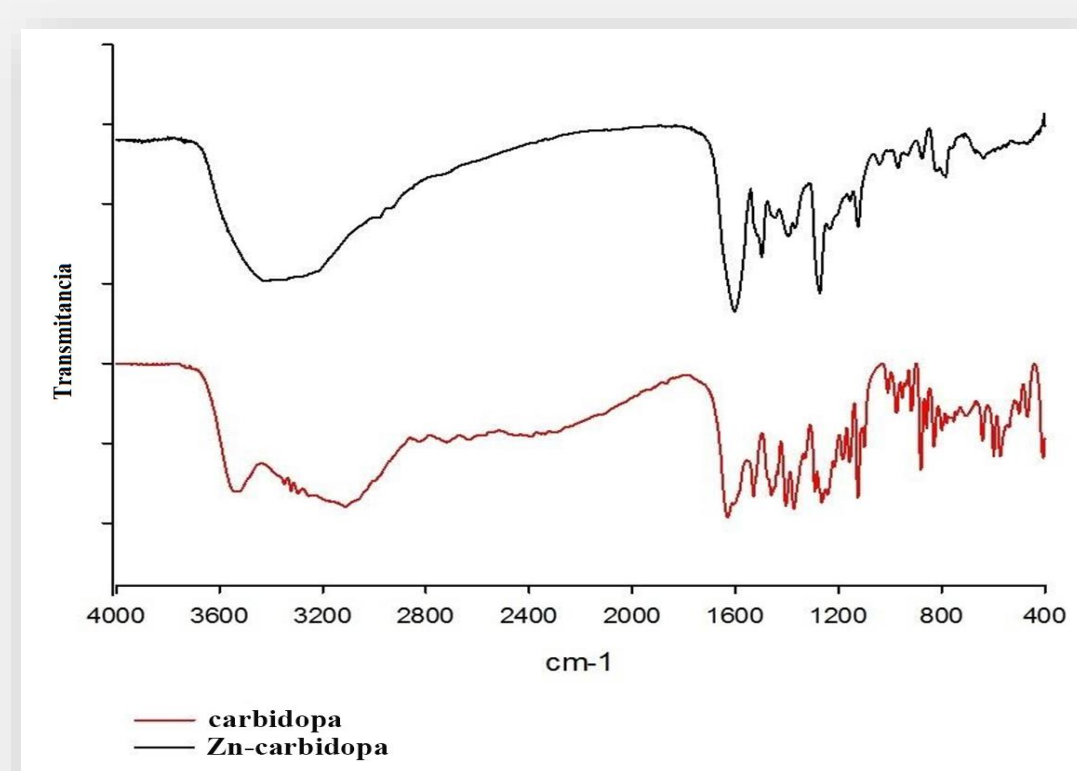
Carbidopa

## Introducción

Carbidopa (ácido (2S)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-hidrazino-2-metilpropanoico) es un fármaco administrado junto a L-Dopa para tratar la enfermedad de Parkinson. Su función es inhibir la enzima dopa descarboxilasa para evitar la transformación de L-Dopa a dopamina en sangre periférica, permitiendo que ésta llegue al cerebro de forma más eficiente [1]. Se ha demostrado que carbidopa, además, posee actividad antitumoral en líneas celulares de cáncer de pulmón [2]. En este trabajo se buscó mejorar la actividad antitumoral modificando estructuralmente el fármaco mediante complejación con Zinc.

## Caracterización del complejo

### Espectroscopía FTIR

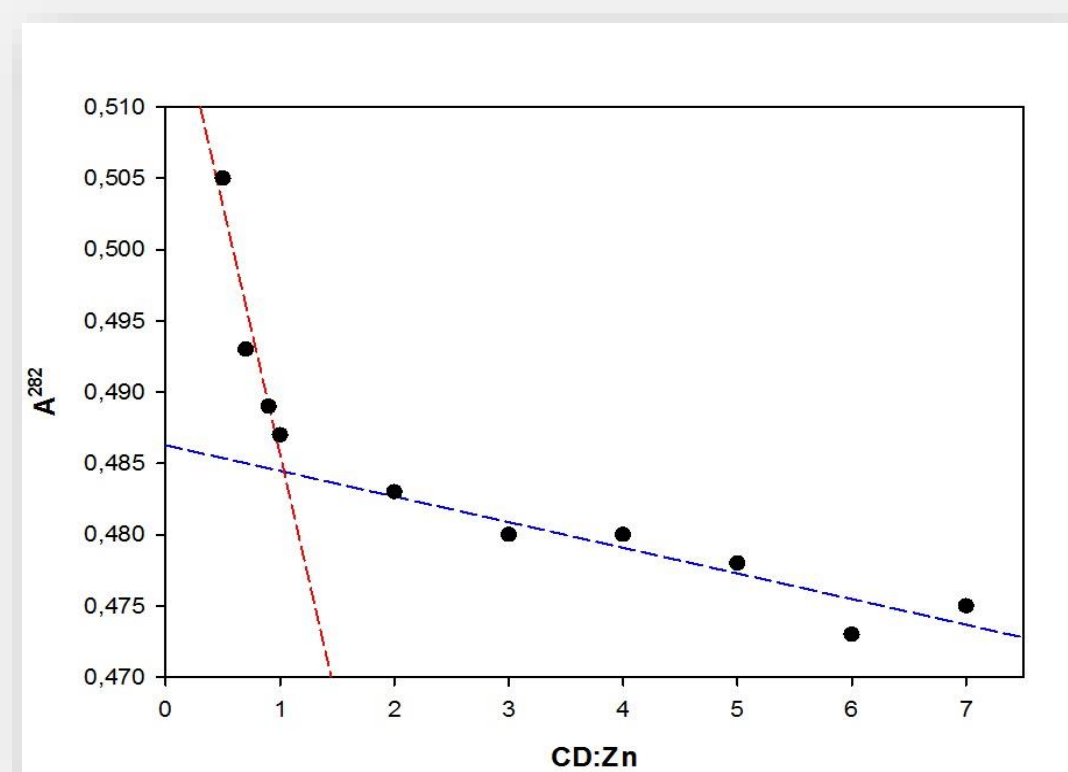


Por comparación de los espectros infrarrojos se observa en el complejo una coordinación del  $Zn^{+2}$  con el grupo carboxilato en forma monodentada: la banda  $C=O$  ( $COOH$  en carbidopa,  $1630\text{ cm}^{-1}$ ) se desdobra en  $\nu_{as}(COO^-)$   $1604\text{ cm}^{-1}$  y  $\nu_s(COO^-)$   $1491\text{ cm}^{-1}$ . Se observa una banda ancha  $\nu_{O-H}(H_2O)$  en la región  $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica la presencia de moléculas de agua. Las bandas de carbidopa asociadas a deformaciones  $N-H$  y  $NH_2$  ( $1529$ ,  $1371$  y  $1100\text{ cm}^{-1}$ ) decrecen en intensidad por la interacción con el metal.

### RMN y análisis elemental

Anal. Calc.  $ZnC_{10}H_{20}N_2O_8$  : C 33.2%, H 5.6%, N 7.7%; exp: C 33.0%, H 5.3%, N 7.6%.  
 El contenido de Zinc se determinó por el método de Zincon [3]. Zn (calc.) 18.1 %; Zn (exp) 18.3%.  
**Carbidopa  $^1H$  NMR** ( $\delta$  ppm)(calc): 1,48(s, 3H,  $CH_3$ ), 3,03(dd,  $CH_2$ ), 3,77(m, 2H,  $NH_2$ ), 5,20(t, 1H,  $NH$ ), 6,61(s, 1H, arom.), 6,63(s, 1H, arom.), 6,69(s, 1H, arom.), 8,13(s, 1H, OH), 9,06(s, 1H, OH).  
**ZnCD  $^1H$  NMR** ( $\delta$  ppm)(300 MHz, DMSO- $d_6$ , exp): 1,18(s, 3H,  $CH_3$ ); 2,79(dd, 2H,  $CH_2$ ;  $J_1 = 9\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 72\text{ Hz}$ ); 3,35(s, 2H,  $H_2O$ ); 6,49(d, 1H, arom.;  $J = 4.5\text{ Hz}$ ); 6,60(d, 1H, arom.;  $J = 4.5\text{ Hz}$ ); 6,67(s, 1H, arom.); 8,67(s, 1H, OH); 8,86(s, 1H, OH).  
**Carbidopa  $^{13}C$  NMR** ( $\delta$  ppm)(calc): 20,83( $CH_3$ ), 40,75( $CH_2$ ), 65,23( $C_q$ ), 116,07(arom.), 117,13(arom.), 122,79(arom.), 129,93(arom.), 144,60(arom.), 144,99(arom.), 175,82( $COO^-$ ).  
**ZnCD  $^{13}C$  NMR** ( $\delta$  ppm)(250 MHz, DMSO- $d_6$ , exp): 20,38( $CH_3$ ); 40,15( $CH_2$ ); 66,26( $C_q$ ); 115,66(arom.); 118,32(arom.); 121,64(arom.); 127,61(arom.); 144,49(arom.); 145,28(arom.); 176,98 ( $COO^-$ ).  
 La señal del grupo  $NH$  (5,20 ppm en el espectro  $^1H$  NMR de carbidopa) está ausente en el espectro del complejo, lo que indicaría coordinación. El corrimiento de la señal del grupo carboxilato en el espectro de  $^{13}C$  NMR refleja su interacción con el metal.

### Titulación espectrofotométrica

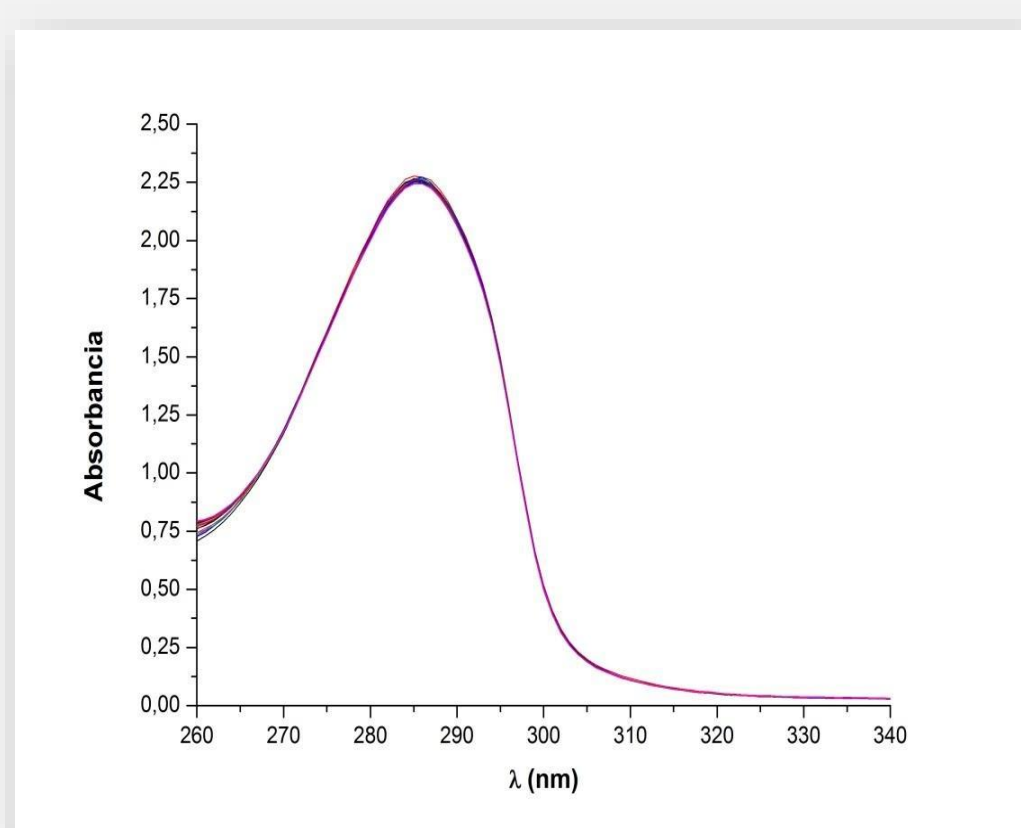


Se preparó una solución  $1,5 \cdot 10^{-4}\text{ M}$  de carbidopa (CD), a la cual se añadió diferentes volúmenes de una solución  $2,2 \cdot 10^{-4}\text{ M}$  de  $ZnCl_2$ , de manera tal de obtener soluciones con relaciones molares entre 7 a 0,5 de CD:Zn. Se midió la absorbancia a 282 nm para cada relación molar. La intersección de las dos rectas ocurre en  $x = 1,036$ , lo cual indica una estequiometría de reacción de 1 a 1.

### Medida de conductividad

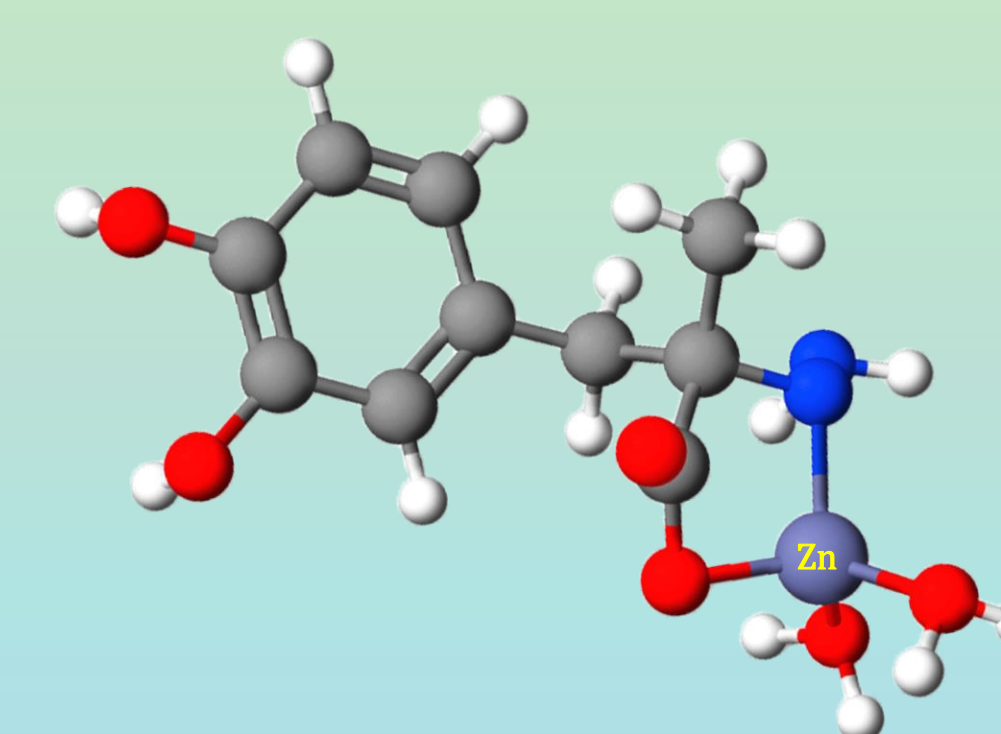
Se realizaron mediciones de conductancia a una solución  $10^{-3}\text{ M}$  del complejo en DMSO a  $25^\circ\text{C}$ . Inicialmente se obtuvo un valor de conductancia de 0,012 mS, que se mantuvo constante durante 4 horas. Estos resultados indican que el complejo  $[Zn(CD)]$  es no electrolito estable durante la duración del ensayo en DMSO.

### Espectroscopía UV

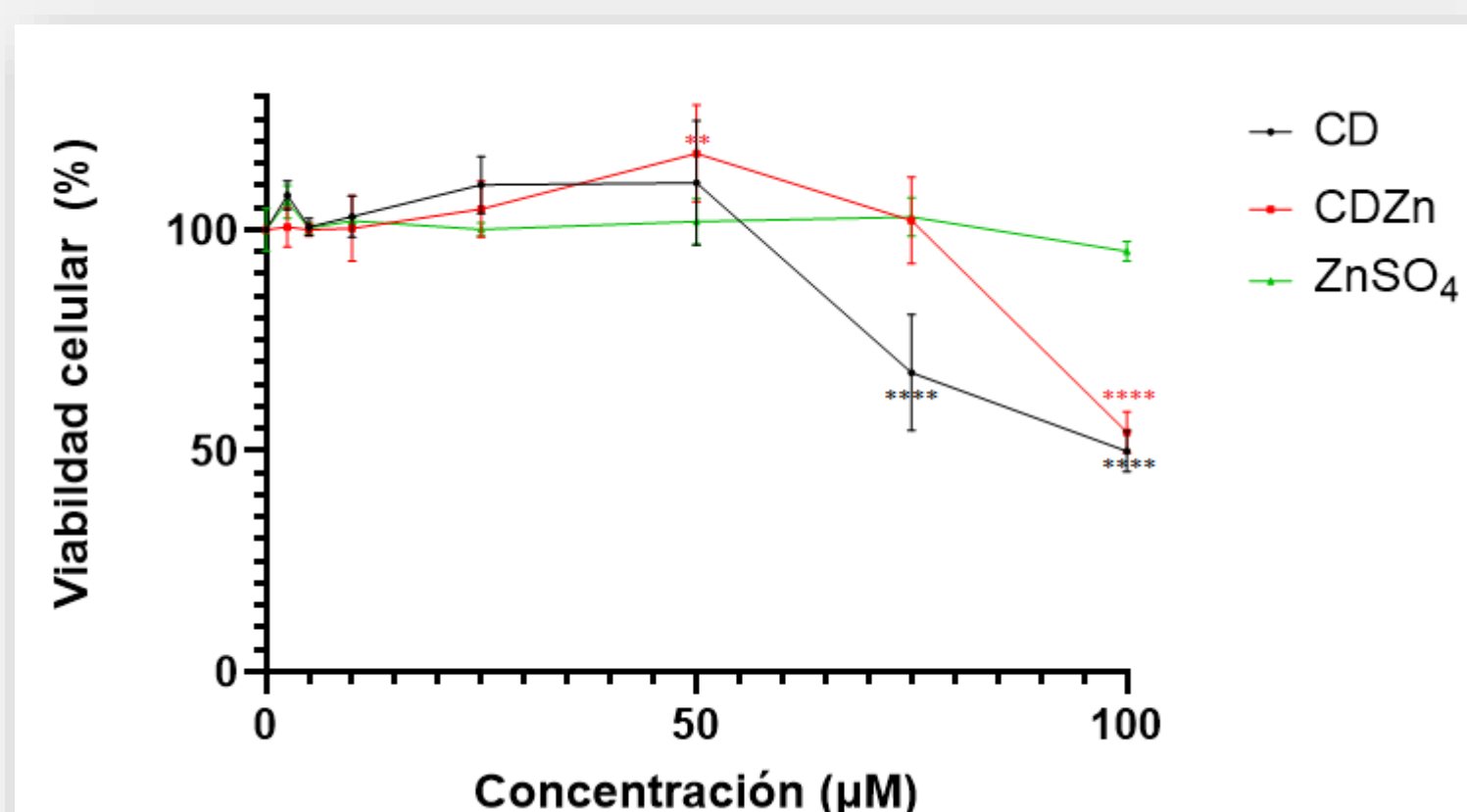


Se obtuvieron los espectros UV-vis de carbidopa y su complejo:  $\epsilon_{CD}(\text{DMSO}, 286\text{nm}) = 2870,56\text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ;  $\epsilon_{CDZn}(\text{DMSO}, 286\text{nm}) = 5826,80\text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ . El espectro del complejo se mantuvo inalterado durante 4 horas (imagen adjunta), lo que indica que es estable en ese período de tiempo en DMSO.

### Estructura propuesta: $[ZnCD(H_2O)_2] \cdot 2H_2O$



## Resultados y perspectivas



$P \leq 0,0001$ (\*\*\*\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*)

Se realizaron ensayos con MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) [4] sobre la línea tumoral A549 (cáncer de pulmón) para evaluar viabilidad frente a diferentes concentraciones de CD y ZnCD durante 48hs de incubación. Se observa que ambos compuestos poseen un  $IC_{50} = 100 \pm 7,5\text{ }\mu\text{M}$ .

En el futuro se estudiará el modo de acción por el cual el complejo resulta citotóxico para las células tumorales. Se determinará además la viabilidad sobre la línea MRC5 (células de pulmón normales) con la finalidad de evaluar los efectos producidos sobre la misma en comparación con la línea A549.

## Bibliografía

- [1] Marsden, C. D., Barry, P. E., Parkes, J. D., & Zilkha, K. J. (1973). Treatment of Parkinson's disease with levodopa combined with L-alpha-methyl dopahydrazine, an inhibitor of extracerebral DOPA decarboxylase. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 36(1) 10–14. <https://doi.org/10.1136/jnnp.36.1.10>
- [2] Judith A. Gilbert, Linda M. Frederick and Matthew M. Ames (2000). The Aromatic-L-Amino Acid Decarboxylase Inhibitor Carbidopa Is Selectively Cytotoxic to Human Pulmonary Carcinoid and Small Cell Lung Carcinoma Cells. *Clin Cancer Res* (6) (11) 4365-4372
- [3] Crystal E. Säbel, Joseph M. Neureuther, Stefan Siemann (2010). A spectrophotometric method for the determination of zinc, copper, and cobalt ions in metalloproteins using Zincon. *Analytical Biochemistry* 397(2) 218-226. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.10.037>
- [4] Kumar, Priti; Nagarajan, Arvindhan; Uchil, Pradeep D. Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018, vol. 2018, no 6, p. pdb. prot095505.