

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

Antônio Carlos Almendagna de Oliveira Junior

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO METÁLICO DE Pt(II) COM O
INIBIDOR DA PROTEÍNA C-ABL DASATINIBE: avaliação da interação com a
proteína envolvida na leucemia mieloide crônica**

Belo Horizonte

2025

UFMG/ICEX/DQ. 1.672

D. 912

Antônio Carlos Almendagna de Oliveira Junior

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO METÁLICO DE Pt(II) COM O INIBIDOR DA PROTEÍNA C-ABL DASATINIBE: AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM A PROTEÍNA ENVOLVIDA NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Ciências Exatas, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Elene Cristina Pereira Maia

Belo Horizonte

2025

Ficha Catalográfica

Oliveira Junior, Antônio Carlos Almendagna de.
O482s Síntese, caracterização de um complexo metálico de Pt(II) com o inibidor da
2025 proteína C-ABL dasatinibe [manuscrito] : avaliação da interação com a proteína
D envolvida na leucemia mieloide crônica / Antônio Carlos Almendagna de Oliveira
Junior. 2025.
49 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Elene Cristina Pereira Maia.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais –
Departamento de Química.
Bibliografia: f. 42-49.

1. Complexos metálicos – Teses. 2. Platina – Teses. 3. Proteínas – Teses. 4.
Leucemia mieloide de fase crônica – Teses. 5. Agentes antineoplásicos – Teses. 6.
Fármacos – Teses. 7. Íons metálicos – Teses. 8. Espectroscopia de infravermelho –
Teses. 9. Espectrometria de massa – Teses. 10. Dicroísmo circular – Teses. I. Maia,
Elene Cristina Pereira, Orientadora. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

UFMG

Programa de Pós-Graduação em Química
Departamento de Química - ICEX



"Síntese e caracterização de um complexo metálico de Pt(II) com o inibidor da proteína C-ABL dasatinibe: avaliação da interação com a proteína envolvida na leucemia mieloide crônica"

Antônio Carlos Almendagna de Oliveira Junior

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Elene Cristina Pereira Maia - Orientadora
UFMG

Prof. Adolfo Henrique de Moraes Silva
UFMG

Profa. Priscila Pereira Silva Caldeira
CEFET-MG

Belo Horizonte, 23 de julho de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Elene Cristina Pereira Maia, Professora do Magistério Superior**, em 23/07/2025, às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Priscila Pereira Silva Caldeira, Usuário Externo**,



em 24/07/2025, às 09:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adolfo Henrique de Moraes Silva, Professor do Magistério Superior**, em 25/08/2025, às 21:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4401745** e o código CRC **24F2A3B0**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares

Principalmente meu pai Antônio Carlos, minha mãe Maria do Carmo e irmã Isadora Almendagna, pelo suporte e apoio às minhas escolhas durante todos esses anos.

A orientadora

Professora Elene Cristina Pereira Maia, por me receber como aluno de iniciação científica e posteriormente como seu aluno de mestrado, sempre estando à disposição para me orientar e transmitir seus conhecimentos com muita boa vontade e dedicação.

Aos companheiros de laboratório

A Júlia, Bruno, Amanda, Lucas e Samara pela parceria sempre ajudando e buscando resolver os problemas juntos.

Aos colaboradores deste trabalho

Ao professor Adolfo Moraes por ceder a proteína *BCR-ABL* que foi indispensável para realização deste trabalho.

“No silêncio dos universos, descobrimos que o único cosmos que verdadeiramente importa é o que pulsa dentro de nós.”

— Anônimo

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar um novo agente antitumoral, por meio da síntese de um complexo de platina(II) com o inibidor da tirosina cinase, dasatinibe (das), visando aumentar a afinidade com a proteína BCR-ABL, que é central na patogênese da leucemia mieloide crônica (LMC). A síntese foi realizada através da reação de K_2PtCl_4 com o ligante em metanol, sob refluxo, utilizando reagentes em proporção molar 1:1. Foi obtido um sólido amarelado com rendimento aproximado de 80%. A análise elementar confirmou a estequiometria proposta para o complexo demonstrando percentuais experimentais de carbono, hidrogênio e nitrogênio alinhados com os valores calculados para $[Pt(das)Cl_2]$. A caracterização espectroscópica forneceu evidências consistentes da formação do complexo. Na análise por infravermelho, o dasatinibe livre apresenta bandas características em 3250 cm^{-1} e 3416 cm^{-1} (associadas aos estiramentos dos grupos O-H e N-H, respectivamente), que foram deslocadas para 3220 cm^{-1} , 3406 cm^{-1} , respectivamente, enquanto os estiramentos dos grupos C=N e do anel tiazol sofreram deslocamentos para 1548 cm^{-1} e 1486 cm^{-1} . Esses deslocamentos indicaram modificações no ambiente eletrônico dos grupos coordenantes, sugerindo a participação dos nitrogênios dos anéis pirimidínico e tiazólico na formação da ligação à Pt(II). A espectrometria de massas (ESI-MS) evidenciou a formação do complexo com um pico em m/z 754. A avaliação da interação do complexo com a proteína BCR-ABL foi realizada por meio de espectroscopia de dicroísmo circular e de emissão de fluorescência. Os resultados de dicroísmo circular revelaram que a proteína BCR-ABL, em sua forma nativa, apresenta mínimos característicos em torno de 208 nm e 222 nm, indicativos de um conteúdo elevado em hélices alfa. Com a adição progressiva do complexo $[Pt(das)Cl_2]$, observou-se uma modificação na intensidade desses mínimos, o que sugere alterações no arranjo conformacional da proteína. Tais modificações indicam que a interação com o complexo induz uma reorganização na estrutura secundária da BCR-ABL, potencialmente promovendo um ajuste que favorece a inibição da atividade da tirosina cinase. Os resultados obtidos por fluorescência mostraram uma supressão progressiva da emissão dos resíduos de triptofano da proteína e evidenciaram que o complexo apresenta uma constante de ligação aproximadamente 11 vezes maior do que a do dasatinibe livre. Os resultados indicam que a coordenação de íons Pt(II) ao dasatinibe potencializa a sua capacidade de interagir com a proteína BCR-ABL, representando uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos agentes anticancerígenos capazes de superar as limitações dos tratamentos tradicionais para LMC, com potencial de reduzir a resistência celular e os efeitos colaterais.

Palavras-chave: platina(II); dasatinibe; proteína BCR-ABL; Leucemia Mieloide Crônica; Caracterização espectroscópica; Interação proteína-fármaco.

ABSTRACT

This study aimed to develop and characterize a new antitumor agent through the synthesis of a platinum(II) complex with the tyrosine kinase inhibitor, dasatinib (das), aiming to increase the affinity for the BCR-ABL protein, which is central to the pathogenesis of chronic myeloid leukemia (CML). The synthesis was performed by reacting K_2PtCl_4 with the ligand in methanol, under reflux, in a 1:1 molar ratio. A yellowish solid was obtained with an approximate yield of 80%. Elemental analysis confirmed the proposed stoichiometry for the complex, resulting in experimental percentages of carbon, hydrogen and nitrogen aligned with the values calculated for $[Pt(das)Cl_2]$. Spectroscopic characterization provided consistent evidence of the formation of the complex. In infrared analysis, free dasatinib presented characteristic bands at 3250cm^{-1} and 3416cm^{-1} (associated with stretching of the O–H and N–H groups, respectively), which were shifted to 3220cm^{-1} and 3406cm^{-1} , respectively, while the stretching of the C=N groups and the thiazole ring underwent shifts to 1548cm^{-1} and 1486cm^{-1} . These shifts indicated changes in the electronic environment of the coordinating groups, suggesting the participation of the nitrogens of the pyrimidine and thiazole rings in the coordination to Pt(II). Mass spectrometry (ESI-MS) evidenced the formation of the complex with a peak at m/z 754. The interaction of the complex with the BCR-ABL protein was evaluated by circular dichroism and fluorescence spectroscopies. The circular dichroism spectrum revealed that the BCR-ABL protein, in its native form, presents characteristic minima around 208nm and 222nm, indicative of a high content of alpha helices. With the progressive addition of the $[Pt(das)Cl_2]$ complex, a change in the intensity of these minima was observed, due to alterations in the conformational arrangement of the protein. Such changes indicate that the interaction with the complex induces a reorganization in the secondary structure of BCR-ABL, potentially promoting an adjustment that favors the inhibition of tyrosine kinase activity. The results obtained by fluorescence showed a progressive suppression of the emission of the tryptophan residues of the protein and the binding constant of the complex was more than ten times higher than that of free dasatinib. The results indicate that the coordination of Pt(II) ions to dasatinib enhances its ability to interact with the BCR-ABL protein, representing a promising strategy for the development of new anticancer agents capable of overcoming the limitations of traditional treatments for CML, with the potential to reduce cellular resistance and side effects.

Keywords: platinum(II); dasatinib; BCR-ABL protein; Chronic Myeloid Leukemia; spectroscopic characterization; protein-drug interaction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura cristalográfica da proteína BCR-ABL.....	14
Figura 2: Estrutura da cisplatina [PtCl ₂ (NH ₃) ₂].....	17
Figura 3: Primeira (I) e segunda (II) substituições dos cloretos da cisplatina.....	17
Figura 4: Os complexos de platina de segunda geração: carboplatina (I), oxaplatina (II), nedaplatina (III), lobaplatina (IV) e heptaplatina (V).....	18
Figura 5: Complexo de Pt e Pd com a fludarabina.....	19
Figura 6: Estruturas da tirfostina (esq.) e FAP (dir.).....	22
Figura 7: Estruturas do Imatinibe, Dasatinibe e Nilotinibe.....	23
Figura 8: Estrutura proposta para o complexo [Pt(das)Cl ₂]. Fórmula molecular C ₂₂ H ₂₆ Cl ₃ N ₇ O ₂ PtS. Massa molar 753,0 g mol ⁻¹	29
Figura 9: Espectro de infravermelho do ligante Dasatinibe.....	31
Figura 10: Espectro de infravermelho do complexo Ptdas.....	32
Figura 11: Espectro de massa total do complexo destacando-se o pico do ligante DAS livre em 488 m/z.....	33
Figura 12: Espectro de massa total do complexo destacando-se a região de sinais com máximo em 754 m/z referente ao complexo Ptdas.....	34
Figura 13: Distribuição isotópica calculada (esq.) e experimental (dir.) para a espécie [Pt(C ₂₂ H ₂₆ ClN ₇ O ₂ S)Cl ₂ + H ⁺].....	34
Figura 14: Espectro de dicroísmo circular da proteína BCR-ABL.....	36
Figura 15: Espectro de dicroísmo circular da proteína BCR-ABL com subsequentes adições do complexo Ptdas.....	37
Figura 16: Espectro de dicroísmo circular ampliado no intervalo de 205–220 nm. ...	38
Figura 17: Espectros de emissão de fluorescência da BCR-ABL [1,0×10 ⁻⁶ mol L ⁻¹] (λ excitação = 280 nm) na presença de concentrações crescentes de [Pt(das)Cl ₂] (0,63 até 22,72 μM).....	39
Figura 18: Espectros de emissão de fluorescência da BCR-ABL [1,0×10 ⁻⁶ mol L ⁻¹] (λ excitação = 280 nm) na presença de concentrações crescentes de das (0,2 até 16,00 μM).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informações sobre quantidade de reagentes utilizados na reação assim como a massa, rendimento e cor do produto obtido.	29
Tabela 2: Resultados de análise elementar e rendimento de reação para o complexo Pt(das).....	30
Tabela 3: Principais modos vibracionais do dasatinibe.	30
Tabela 4: Principais modos vibracionais do complexo Pt(das).....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABL – Abelson tirosina cinase

ADN – Ácido desoxirribonucleico

BCR – *Breakpoint cluster region protein* (região de ponto de quebra – gene localizado no cromossomo 22)

das – Inibidor da BCR-ABL dasatinibe

Ptdas – Complexo sintetizado a partir do sal de platina(II) e o dasatinibe

CI50 – Concentração capaz de inibir em 50% o crescimento celular

DMSO – Dimetil sulfóxido

FDA – *Food and Drug Administration*

INCA – Instituto Nacional do Câncer

LMC – Leucemia Mieloide Crônica

UV-Vis – Radiação ultravioleta-visível

ϵ – Coeficiente de absorvidade molar

λ – Comprimento de onda

CHN – Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

ESI-MS – Espectrometria de massas por ionização por elétron spray

CD – Dicroísmo circular

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	13
2 - OBJETIVOS	16
3 - CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DA LITERATURA.....	17
3.1 Os complexos de platina e atividade antitumoral.....	17
3.2 A Leucemia Mieloide Crônica (LMC).....	19
3.3 As proteínas cinases.....	20
3.4 Dasatinibe (das) e outros inibidores de tirosina cinase	21
3.5 Interação de íons metálicos com proteínas.....	24
4 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	26
4.1 Reagentes e solventes.....	26
4.2 Síntese do complexo de Pt(II) com o Dasatinibe	26
4.3 Métodos de análise	27
4.3.1 Análise elementar	27
4.3.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	27
4.3.3 Espectrometria de massas	27
4.3.4 Espectroscopia de dicroísmo circular	27
4.3.5 Interação com a proteína BCR-ABL.....	28
5 - RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1 Interação com a proteína BCR-ABL.....	38
5.1 Síntese e análise elementar.....	29
5.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	30
5.3 Espectrometria de massas.....	33
5.4 Espectroscopia de dicroísmo circular.....	34
6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	41
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

Uma das aplicações mais importantes de complexos metálicos na clínica médica é no tratamento do câncer. O complexo *cis*-diamindicloridoplatina(II), conhecido como cisplatina, é largamente utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer como o testicular, ovariano e carcinoma pulmonar [1-5]. Esta droga exerce seu efeito citotóxico inibindo a síntese do ácido desoxirribonucleico (ADN) [5,6]. No entanto, seu uso apresenta alguns inconvenientes como o desenvolvimento de resistência, efeitos colaterais, como ototoxicidade, nefrotoxicidade e incompatibilidade clínica com outras drogas usadas simultaneamente em poliquimioterapia [5,6]. Dentre os inconvenientes citados acima, o maior obstáculo ao uso da cisplatina no tratamento do câncer é o aparecimento de resistência celular [7-14].

O ADN, devido à sua importância no ciclo celular, é um dos principais alvos de antitumorais. Várias enzimas clivam a ligação fosfodiéster com elevados níveis de seletividade para um determinado sítio, sequência ou estrutura a velocidades relativamente altas considerando a alta estabilidade do esqueleto dos ésteres de fosfato e sua resistência à clivagem hidrolítica. Vários grupos de pesquisa têm sintetizado moléculas pequenas que atuam como catalisadores da hidrólise do ADN [17, 18, 19]. O estudo da aplicação na terapia do câncer de complexos metálicos capazes de causar a quebra da molécula do ADN é bastante promissor.

A leucemia mielóide crônica (LMC) é um tipo de câncer que se inicia em células formadoras de sangue da medula óssea. Na LMC, ocorre uma alteração genética em células mielóides levando ao aparecimento de um gene anormal chamado BCR-ABL, que leva a célula a se tornar cancerosa [20]. Este oncogene (Bcr-Abl), que não é encontrado nas células normais, codifica a proteína BCR-ABL, que faz com que as células da leucemia mielóide crônica cresçam e se reproduzam fora de controle [20]. A tirosina cinase C-ABL é uma proteína de sinalização com múltiplos papéis fisiológicos que vão desde a regulação do citoesqueleto de actina até a integração das respostas de danos ao ADN no núcleo. A atividade da proteína ABL é regulada negativamente pelos domínios SH3 e SH2, que a inibem fixando-na em um estado inativo [21, 22].

A terapêutica da LMC foi revolucionada pelo desenvolvimento de inibidores da BCR-ABL. Medicamentos inibidores da tirosina cinase, como o imatinibe, o nilotinibe ou o dasatinibe, tornaram-se o tratamento padrão para a leucemia mielóide crônica [23, 24, 25]. No entanto, a evolução de mutantes resistentes a estas drogas faz com que seja necessário o desenvolvimento de novas classes de inibidores de BCR-ABL [26, 27]. A Figura 1 apresenta a estrutura cristalográfica da proteína BCR-ABL [27].

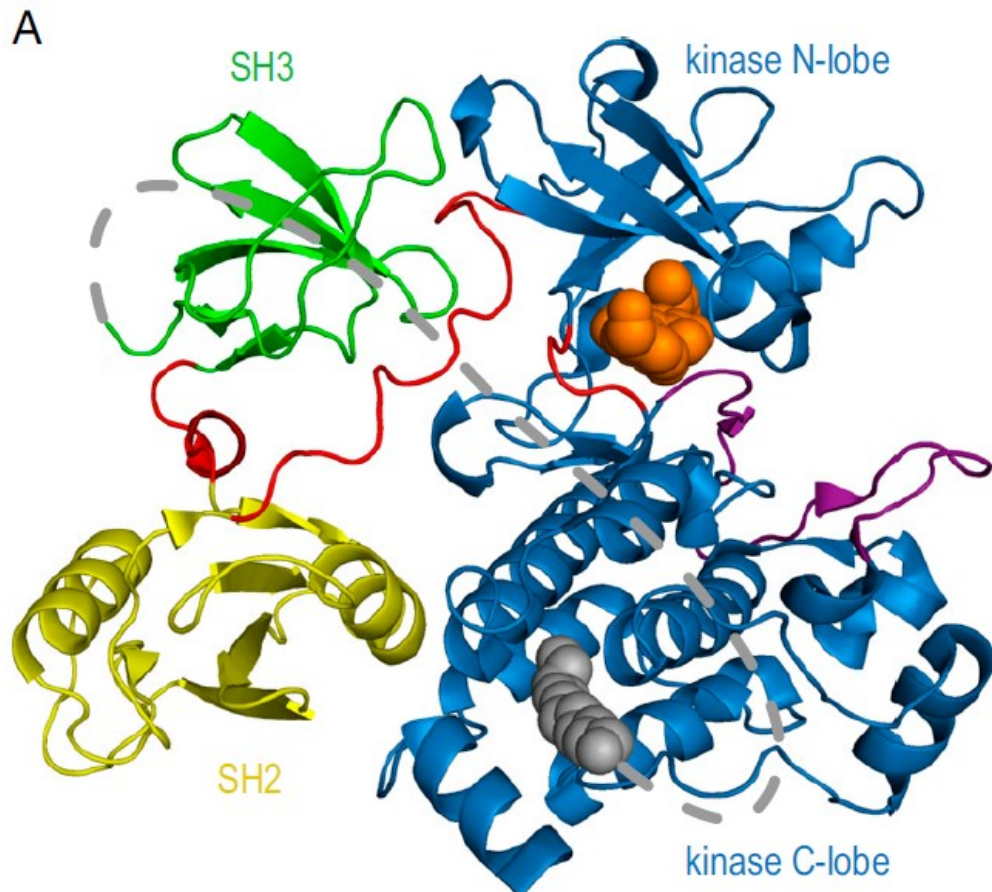


Figura 1: Estrutura cristalográfica da proteína BCR-ABL.

Em um estudo prévio, realizado no grupo de pesquisa da professora Elene Pereira Maia, foi demonstrado que complexos de rutênio(II) contendo a sulfasalazina ou a sulfametoxipiridazina interagem com o domínio ABL-SH3, através das variações nos espectros de correlação heteronuclear $1\text{H}-15\text{N}$ de ABL-SH3 marcada com 15N , na ausência e presença do complexo metálico [28].

A disseminação de resistência aos medicamentos atualmente em uso e os efeitos colaterais provocados fazem com que seja de extrema importância desenvolver novos complexos que possuam amplo espectro de ação, apresentem menos efeitos

colaterais e, ao mesmo tempo, que sejam ativos em linhagens celulares resistentes. Propõe-se a síntese de complexos metálicos com inibidores da proteína BCR-ABL visando-se obter novos agentes para o tratamento de leucemia mieloide crônica.

2. OBJETIVOS

Este trabalho possui dois objetivos principais:

- Sintetizar e caracterizar um complexo de platina(II) tendo como um dos ligantes um inibidor de tirosina cinase (TKI), o dasatinibe.
- Estudar as interações deste complexo com a proteína BCR-ABL, responsável pelo desenvolvimento da leucemia mieloide crônica.

3. CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Os complexos de platina e atividade antitumoral

A *cis*-diaminocloridoplatina(II), comercialmente conhecida como cisplatina (Figura 2), foi o primeiro complexo metálico utilizado para tratamento de tumores, sendo liberada pela *Food and Drug Administration* (FDA dos EUA) em dezembro de 1978 [29].

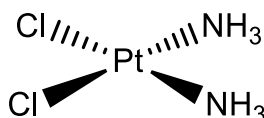


Figura 2: Estrutura da cisplatina $[PtCl_2(NH_3)_2]$.

A estrutura representada na Figura 2 não é a responsável pela atividade citotóxica do composto, a verdade é que a cisplatina sofre várias reações no meio aquoso, sendo a primeira delas a substituição dos dois cloretos (grupos abandonadores) por duas moléculas de H_2O [30]. A concentração de cisplatina no plasma sanguíneo é 26 vezes maior do que no citoplasma sendo o inverso verdadeiro para sua forma totalmente hidrolisada, $[Pt(H_2O)_2(NH_3)_2]^{2+}$ [31]. A Figura 3 representa as reações de substituição que ocorrem na cisplatina no meio celular.

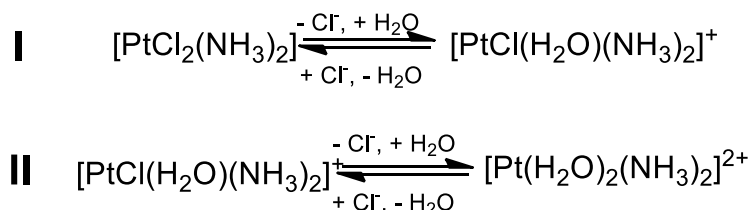


Figura 3: Primeira (I) e segunda (II) substituições dos cloretos da cisplatina.

Os aquaprodutos ainda podem ser hidrolisados, gerando outras três espécies em solução: $[PtCl(OH)(NH_3)_2]$, $[Pt(H_2O)(OH)(NH_3)_2]^+$ e $[Pt(OH)_2(NH_3)_2]$ [8]. Os testes realizados para determinar a concentração de cada uma destas espécies no meio celular a $37^\circ C$ (pH 7,4) mostraram que $[PtCl(OH)(NH_3)_2]$ e $[Pt(OH)_2(NH_3)_2]$ estão na mesma concentração e $[Pt(H_2O)(OH)(NH_3)_2]^+$ está em maior proporção [32].

Estudos com células procarióticas e eucarióticas, deficientes em enzimas de reparo, são mais sensíveis à cisplatina, indicando que sua atividade citotóxica se deve à sua ligação ao ADN [33, 34]. Os adutos Pt-ADN, gerados com a espécie $[Pt(NH_3)_2]^{2+}$, podem ser monofuncionais, onde cada átomo de platina se liga em apenas um sítio

do ADN, ou bifuncionais, onde a platina se liga em dois sítios distintos, sendo o mais comum a ligação bifuncional da platina com duas bases de uma mesma fita [35, 36, 37]. A desestabilização da estrutura de dupla hélice faz com que a temperatura de fusão do ADN diminua de 55°C para 28°C [10], conseqüentemente há a inibição da replicação e prolongamento de cadeia [38].

Apesar da alta citotoxicidade em células cancerosas, a cisplatina causa diversos efeitos colaterais severos ao corpo humano sendo a toxicidade renal, gastrointestinal e neurotoxicidade as mais relevantes [39, 40]. A toxicidade renal é a mais agressiva dentre as demais, sendo considerada dose limitante (efeito tóxico que limita a dose máxima a ser administrada ao paciente), e, além disso, estudos mostram que o uso de múltiplos ciclos desta droga causa danos renais irreversíveis [41].

A fim de contornar as desvantagens do uso da cisplatina surgiram drogas de platina de segunda geração: a carboplatina [42, 43] e oxaplatina [44, 45], ambas já aprovados para uso em pacientes. A grande vantagem destes complexos é o efeito quelante dos ligantes que diminuem a reatividade dos complexos reduzindo os efeitos colaterais da droga [29]. Outros complexos de platina com ligantes bidentados (nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina) estão em fases de testes clínicos nos Estados Unidos, porém já são administrados em pacientes no Japão, Coreia do Sul e China [29]. As estruturas desses complexos são apresentadas na Figura 4.

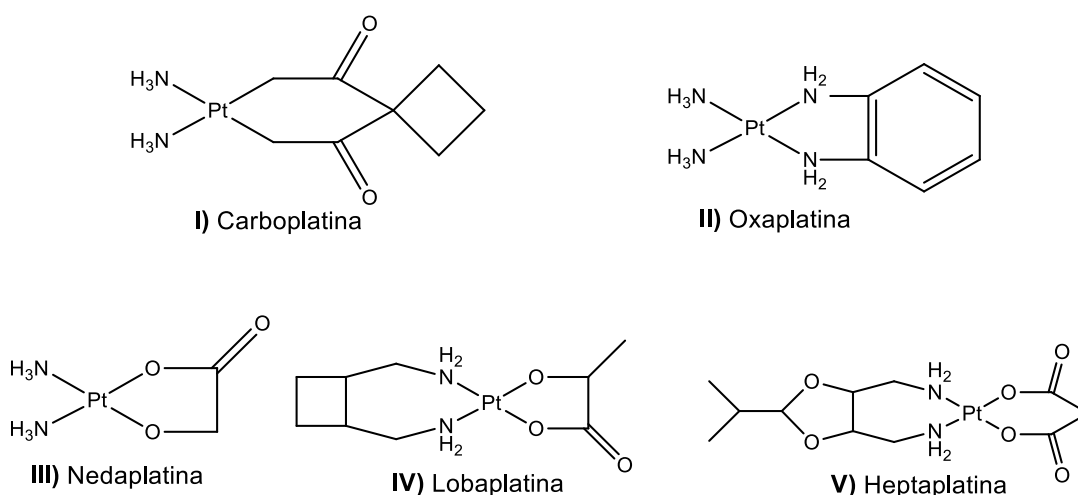


Figura 4: Os complexos de platina de segunda geração: carboplatina (I), oxaplatina (II), nedaplatina (III), lobaplatina (IV) e heptaplatina (V).

Os avanços obtidos por meio dos estudos em química bioinorgânica medicinal, notadamente aqueles que exploram o uso de complexos metálicos de platina como

agentes terapêuticos levaram à compreensão aprofundada dos benefícios e limitações associados à ação da cisplatina e de seus análogos. Os novos protótipos de fármacos anticancerígenos devem visar a otimização das propriedades de farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos complexos, criando a necessidade de se encontrar compostos ativos contra células resistentes e com menos efeitos tóxicos indesejáveis, fato que tem estimulado o desenvolvimento de uma quantidade significativa compostos de platina [46, 47].

Neste contexto, diversos tipos de complexos foram desenvolvidos recentemente, como os complexos polinucleares de platina [48], nanopartículas de platina com superfícies funcionalizadas com anticorpos e outros grupos que facilitem o reconhecimento da superfície celular também estão em estudo [49, 50]. Outra abordagem é a síntese de complexos com medicamentos já utilizados em tratamentos clínicos como o os compostos organometálicos de Pt(0) e Pd(0), nos quais o metal se liga ao C8 da fludarabina, um medicamento utilizado para tratamento da leucemia linfocítica crônica. Os compostos avaliados exibiram atividade citotóxica seletiva contra linhagens tumorais, com os complexos de platina apresentando uma eficácia aproximadamente 30 vezes superior em células cancerosas em comparação às células não tumorais [51].

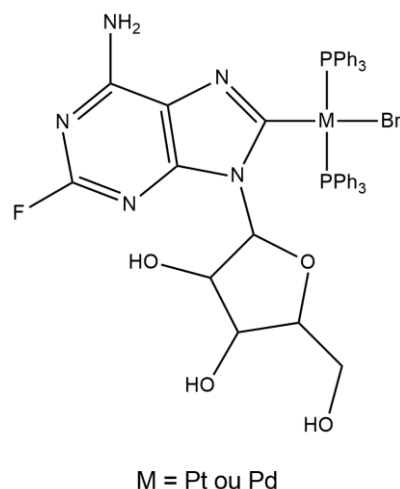


Figura 5: Complexo de Pt e Pd com a fludarabina.

3.2 A leucemia mieloide crônica (LMC)

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia hematológica caracterizada pela fusão dos genes BCR e ABL1, a qual resulta na formação de uma tirosina cinase constitutivamente ativa. Essa enzima promove uma proliferação desregulada de

células progenitoras mieloides. O principal marcador molecular da LMC é o cromossomo Filadélfia, originado por uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22. A tirosina cinase BCR-ABL desencadeia uma sinalização intracelular anômala, comprometendo os mecanismos normais de controle do ciclo celular e do apoptose, culminando na expansão descontrolada de células malignas [52].

A LMC possui baixa incidência de casos, cerca de dois a cada 100 mil habitantes, entretanto, representa cerca de 15-20% dos diagnósticos de leucemia. Segundo o Ministério da Saúde, a faixa etária com mais diagnósticos desta neoplasia está acima dos 45 anos, que apresentam 80% dos diagnósticos. Além disso, os principais sintomas da doença são a palidez, cansaço e mal-estar, suor excessivo, principalmente à noite, perda de peso, sangramento fácil e hematomas e hemorragias nasais frequentes [53]. Para o triênio 2023-2025 estima-se que serão diagnosticados mais de 11540 novos casos de leucemia no Brasil. [54]

A doença se desenvolve em três fases: crônica, acelerada e blástica. Elas se diferem principalmente pela velocidade de proliferação das células doentes. Na primeira fase, as células cancerosas ainda possuem certa semelhança com as saudáveis, sendo fácil o controle da doença. Entretanto, durante um período essa multiplicação ocorre de forma mais rápida, chamada de fase acelerada, o que leva ao avanço da doença e da completa diferença entre as células saudáveis e doentes, tornando o câncer de difícil controle, sendo essa a fase blástica [53].

O tratamento convencional da leucemia mieloide crônica (LMC) baseia-se na administração de inibidores da tirosina cinase BCR-ABL, como o imatinibe, que atuam bloqueando a atividade da proteína BCR-ABL. No entanto, a resistência ao tratamento, frequentemente vinculada a mutações no gene ABL, constitui um desafio clínico significativo. Dessa forma, cresce a necessidade de estratégias terapêuticas alternativas capazes de superar essas limitações, impulsionando investigações sobre novos compostos com potencial antitumoral [55].

3.3 As proteínas cinases

Proteínas cinases catalisam a transferência de um grupo fosfato de uma molécula doadora, como o ATP, para um substrato específico, em um processo conhecido

como fosforilação. Essas enzimas participam de vias de transdução de sinais intracelulares, cujo mal funcionamento pode causar várias doenças, entre as quais, o câncer. Como exemplo, a tirosina cinase BCR-ABL é alvo de medicamentos quimioterápicos, pois ela opera como um regulador negativo do crescimento celular e se associa a genes supressores tumorais. A leucemia mielóide crônica é um tipo de câncer causado por uma translocação cromossomal, fenômeno genético que ocorre quando um segmento de um cromossomo se rompe e se une a outro cromossomo. A fusão dos genes *bcr* (breakpoint cluster region) e ABL gera a expressão da proteína cinase BCR-ABL causando a leucemia mielóide crônica [56, 57]. Em consequência, agentes inibidores de proteínas cinases são usados na clínica médica para tratar esse tipo de doenças.

Todas as proteínas cinases compartilham dobras estruturais semelhantes. Isso inclui um domínio catalítico que compreende um subdomínio N-terminal menor (N-lobo) e um grande subdomínio C-terminal (C-lobo), no qual a fenda entre os dois lóbulos forma o sítio de ligação do ATP. O N-lobo é composto de uma folha β e uma longa α -hélice (α C-hélice), enquanto o C-lobo é predominantemente α -helicoidal. Os dois lóbulos são conectados pela região de dobradiça, na qual o N-lobo pode adotar uma ampla gama de posições em relação ao C-lobo. Situado no C-lobo, o motivo Asp-Phe-Gly (DFG) é um motivo altamente conservado que faz parte do sítio de ligação do ATP e coordena a ligação do magnésio [58]

Proteínas cinases existem em equilíbrio de estados ativos e inativos, nos quais o motivo aspartato-fenilalanina-glicina no domínio catalítico sofre mudanças conformacionais que são necessárias para a função. Medicamentos que têm como alvo as proteínas cinases normalmente se ligam ao sítio primário de ligação de ATP de um estado ativo (inibidores do tipo I) ou utilizam um bolso alostérico adjacente ao sítio de ligação de ATP no estado inativo (inibidores do tipo II). Dados cristalográficos estão limitados a proteínas cinases no estado inativo, o que dificulta a aplicação de métodos racionais de descoberta de medicamentos para o desenvolvimento de inibidores do tipo II [58, 59].

3.4 Dasatinibe (das) e outros inibidores de tirosina-cinase

O desenvolvimento dos inibidores da tirosina cinase partiram da descoberta da fenilaminoperimidina (FAP) que possuía elevado potencial para inibição da atividade

das proteínas cinase. Sendo assim, diversas tentativas de elaboração de moléculas que possuíam características inibitórias da tirosina cinase, gerando a descoberta do imatinibe, o primeiro composto utilizado com finalidade de tratar a LCM devida a sua capacidade de extinguir as células cancerosas.

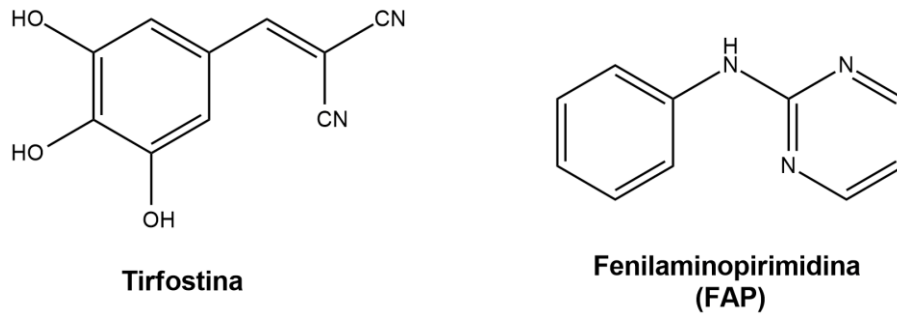


Figura 6: Estruturas da tirfostina (esq.) e FAP (dir.).

Apesar da sua eficácia existem mecanismos que tornam alguns pacientes resistentes ao fármaco, surgindo a necessidade de desenvolvimento de novos compostos que seriam capazes de superar as deficiências do Imatinibe, surgindo os inibidores de segunda (Dasatinibe e Nilotinibe) e terceira geração (Busotinibe e Ponatinibe) que inibem diversos tipos de cinase. Neste trabalho serão enfatizados as características e propriedades do dasatinibe [60].

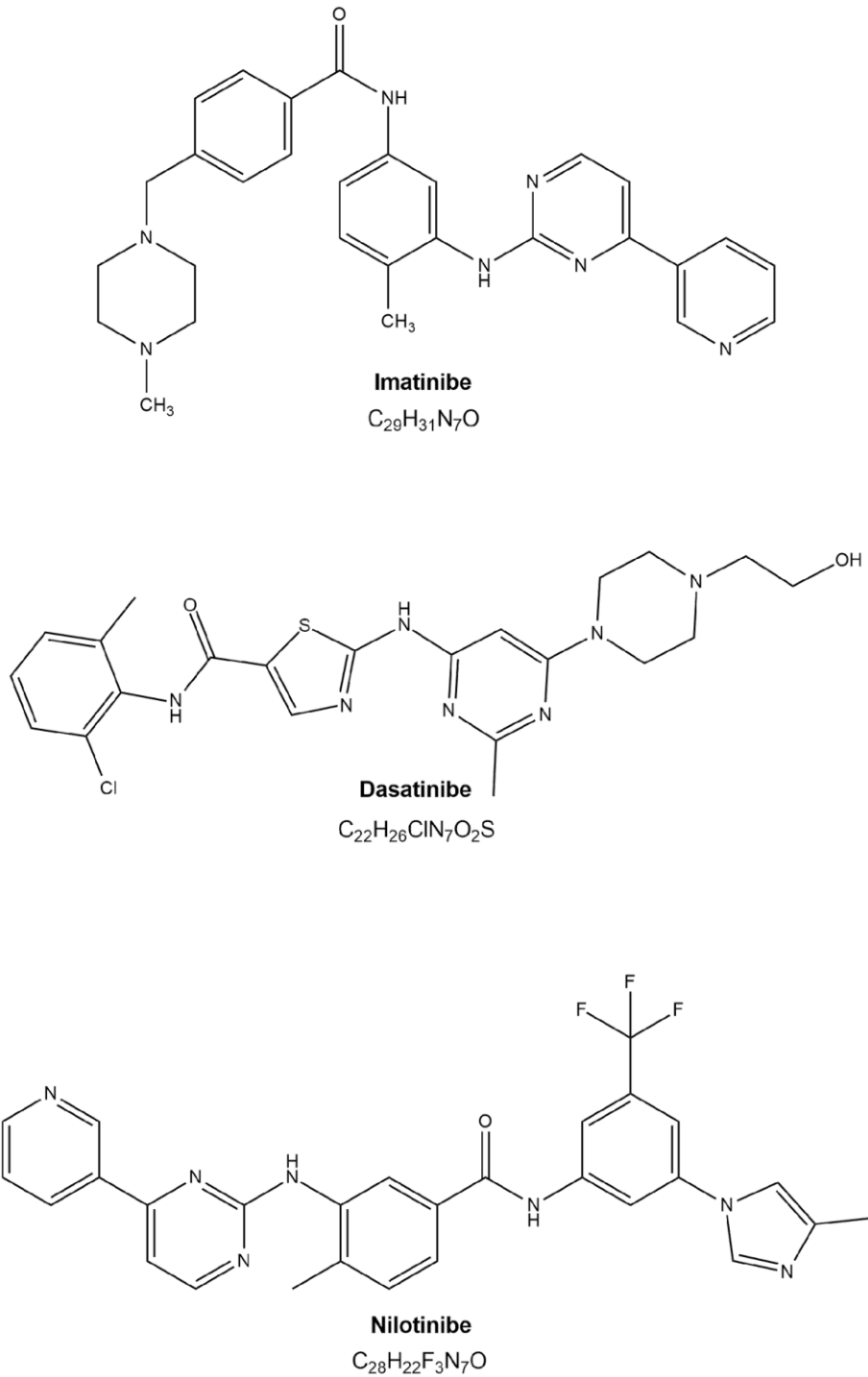


Figura 7: Estruturas do Imatinibe, Dasatinibe e Nilotinibe.

O dasatinibe é um potente agente oral cuja liberação para uso clínico se deu em 2007 pela ANVISA no Brasil e em 2010 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos. Geralmente é utilizado na fase crônica da doença ou quando algum outro tratamento prévio não surte mais efeito no paciente. Em estudos realizados, o composto se mostrou eficiente em 18 linhagens celulares diferentes que possuíam resistência ao imatinibe. Esse fenômeno é atribuído ao perfil de ligação do dasatinibe

ao BCR-ABL, uma vez que, diferentemente do imatinibe — que se associa exclusivamente à conformação inativa da quinase — o dasatinibe apresenta capacidade de interação tanto com a forma ativa quanto com a inativa da enzima. [61]

Apesar das vantagens em relação aos fármacos de primeira geração o dasatinibe possui vários efeitos adversos a longo e curto prazo. Os sintomas mais comuns são vômitos, diarreias, dores abdominais dentre outros distúrbios gastrointestinais. Os casos mais sérios envolvem efeitos cardiovasculares que, de diferentes maneiras, causam disfunções cardíacas podendo gerar falhas no coração. Destaca-se também a possibilidade de ocorrência de derrame pleural, onde há acúmulo anormal de líquido na cavidade entre as membranas que envolvem os pulmões. Ademais, existe também outro efeito pulmonar severo causado pelo dasatinibe onde há um aumento na pressão arterial nos pulmões que pode levar as futuras falhas ventriculares no órgão [61]

Sendo assim, outras formas de tratamento são necessárias, seja pelo desenvolvimento de novos fármacos de diferentes gerações ou por estratégias que aumentem a atividade e reduzam os efeitos colaterais, como a complexação de inibidores de tirosina cinase com metais de transição. Como exemplo, foi sintetizado e caracterizado um complexo inédito de cobre(II) com dasatinibe (DAS). Esse composto apresentou elevada atividade citotóxica frente a diversas linhagens tumorais, especialmente Hep-G2, com valores de IC_{50} entre 4,04 e 13,04 μM , demonstrando maior eficácia antitumoral in vitro e maior seletividade em relação a células normais HL-7702 quando comparado ao dasatinibe livre e à cisplatina. Estudos adicionais indicaram que seu mecanismo de ação envolve a inibição da telomerase por meio da interação com DNA G-quadruplex associado ao motivo c-myc, evidenciando que a coordenação do cobre(II) ao DAS potencializa significativamente sua atividade biológica [62].

3.5 Interação de íons metálicos com proteínas

As proteínas desempenham papéis diversos e de grande relevância nas células dos organismos vivos de diversas espécies. Dentre os tipos de proteínas estão as metaloproteínas (ou metaloenzimas) que são compostos onde há ligação de um íon metálico (sendo os mais comuns: ferro, cobre, zinco e magnésio) com resíduos de aminoácidos das estruturas proteicas e representam mais de um terço de todas as

proteínas. A capacidade de oxirredução de íons metálicos como Cu^{2+} e $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ permite sua participação em processos biológicos cruciais, incluindo o transporte de elétrons em cadeias respiratórias, a catálise de reações enzimáticas e a estabilização estrutural de proteínas e cofatores [63].

Os complexos metálicos também são temas de estudos em química inorgânica medicinal devido as suas características únicas, destacando-se suas diversas conformações geométricas e a capacidade de realizarem ligações covalentes com macromoléculas biológicas, que geram diversos compostos com diferentes finalidades como sensores biológicos, drogas para tratamento de doenças, sondas moleculares que desvendam funções de proteínas [63].

Durante algum tempo, o principal alvo de compostos metálicos com atividade farmacológica sintetizados foi o ADN devido ao sucesso da cisplatina e seus derivados, entretanto, percebeu-se que as proteínas e enzimas também são possíveis alvos celulares para esses complexos metálicos [64]. Agentes antitumorais a base de ouro foram desenvolvidos para interagirem com tiorredoxina redutase, uma enzima que está envolvida na proliferação de células tumorais [65]. Diversos outros íons metálicos são utilizados na síntese de complexos com finalidade de interagir de diferentes formas com proteínas [64].

4. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

No presente capítulo são detalhados os procedimentos de síntese do complexo de Pt(II) com o dasatinibe bem como as técnicas utilizadas para caracterizações e demais testes.

4.1. Reagentes e solventes

Todos os solventes e reagentes utilizados nas sínteses são de grau analítico e nenhum deles passou por purificação prévia.

4.2 Síntese do complexo de Pt(II) com o dasatinibe

Na síntese, foram utilizados o sal $K_2[PtCl_4]$ tetracloridoplatinato(II) de potássio e o inibidor de tirosina cinase, dasatinibe, adquiridos da *Sigma*, na proporção ligante:metal = 1:1. Os seguintes procedimentos foram adotados:

- I. Transferiram-se 50mL de metanol para um balão de fundo redondo de 100mL;
- II. Pesou-se 0,1mmol do inibidor e o transferiu para o balão com metanol;
- III. Pesou-se 0,1mmol do sal metálico e o transferiu para um béquer de 10mL. Solubilizou-se o sal em 1mL de água desionizada;
- IV. Transferiu-se a solução do sal de platina(II) para o balão com a solução do inibidor;
- V. A reação ocorreu sob refluxo a 65°C durante 12 horas. Após este tempo, a solução formada foi retirada do aquecimento e resfriada sob temperatura ambiente;
- VI. A solução formada foi purificada através de cromatografia clássica de coluna utilizando alumina como fase estacionária e metanol como fase móvel;
- VII. A solução purificada passou por secagem em estufa a vácuo a 70°C durante 24h;
- VIII. Pesou-se o sólido obtido.

4.3 Métodos de análise

4.3.1 Análise elementar

As análises elementares foram realizadas no equipamento Perkin Elmer modelo 2400, localizado no Departamento de Química – UFMG. Foram feitas análises de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

4.3.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

As análises foram realizadas no Departamento de Química da UFMG em espectrômetro Perkin-Elmer 283 B, na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . Os ligantes e complexos foram dispersos em brometo de potássio (KBr) e, sob pressão, prensados em pastilhas. Foram feitas leituras das pastilhas contendo apenas o KBr e pastilhas contendo as amostras dispersas em KBr. As pastilhas foram introduzidas no caminho ótico para a leitura percentual de transmitância. O sinal da pastilha de KBr foi subtraído do sinal das pastilhas contendo os complexos e estes dados foram tratados no software Origin 2018.

4.3.3 Espectrometria de massas

As análises de espectrometria de massas por ionização por eletrospray foram feitas em um espectrômetro MicroTOF LC Bruker Daltonics equipado com uma fonte de eletrospray operando em modo íon positivo, na Central Analítica da USP. Os complexos foram dissolvidos em acetonitrila e injetados no equipamento por infusão direta. As distribuições isotópicas teóricas foram calculadas utilizando do software Isotope Distribution Calculator and Mass Spec Plotter desenvolvido pela empresa Scientific Instrument Services. Os espectros plotados utilizando o programa Origin 2018.

4.3.4 Espectroscopia de dicroísmo circular

Os espectros de dicroísmo circular foram registrados no Departamento de Química da UFMG em um espectropolarímetro JASCO J-815 na faixa de 200 a 300 nm. Primeiramente foi realizada uma medição apenas da proteína BCR-ABL na concentração de $10\text{ }\mu\text{M}$ em tampão Tris-HCl (20 mmol L^{-1} , pH 7,2). Em seguida, foram feitas sucessivas adições de uma solução do complexo de platina, iniciando na razão

[BCR-ABL]/[Pt^{das}] 10:1 até 1:10, após cada adição de complexo a solução foi homogeneizada em agitador magnético para posterior leitura no equipamento.

4.3.5 Interação com a proteína BCR-ABL

A interação do complexo e do dasatinibe com a BCR-ABL foi investigada também por espectroscopia de emissão de fluorescência, na faixa de 300 a 480 nm, com excitação em 280 nm e emissão em 300 nm. A solução de BCR-ABL, gentilmente cedida pelo professor Adolfo H. Moraes, foi preparada em tampão Tris-HCl (20 mmol L⁻¹, pH 7,2) a uma concentração de 1,0×10⁻⁶ mol L⁻¹; a solução do complexo de Pt(II) foi preparada dissolvendo o sólido em metanol formando uma solução de concentração 5,21×10⁻³ mol L⁻¹, por fim, a solução de dasatinibe foi preparada dissolvendo o sólido em DMSO gerando uma solução 1,0×10⁻⁴ mol L⁻¹.

Para cada experimento, 2,5 mL da solução de BCR-ABL foram adicionados a uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm, e titulações foram realizadas com alíquotas das soluções do complexo de platina(II) ou do dasatinibe livre, sob agitação magnética, avaliando a supressão de fluorescência dos triptofanos, presentes na proteína, após adição do complexo ou do dasatinibe.

Os dados de fluorescência foram plotados no software Origin 2018 e analisados utilizando as equações de Stern-Volmer (equações 1 e 2) para determinar as constantes de afinidade. Nas equações, F_0 e F representam as intensidades relativas de fluorescência da BCR-ABL na ausência e presença do quencher, respectivamente; kq é a constante de velocidade de quenching; τ_0 é o tempo de vida médio do fluoróforo na ausência de quencher (10⁻⁸ s); $[Q]$ é a concentração do quencher. O produto $kq\tau_0$ é conhecido como constante de Stern-Volmer K_{sv} , K_b é a constante de ligação e n é o número de sítios de ligação. Para o cálculo da interação foi utilizada apenas a Equação 2.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + kq\tau_0[Q] = 1 + K_{sv} \quad (1)$$

$$\log\left(\frac{F_0-F}{F}\right) = \log K_b + n \log[Q] \quad (2)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão descritas a síntese do complexo inédito de Pt(II), suas características, rota sintética e rendimentos bem como as caracterizações, utilizando as técnicas de espectroscopia na região do infravermelho, espectrometria de massas ESI-MS, análise elementar (CHN) além dos testes de interação do complexo com a proteína BCR-ABL por dicroísmo circular e espectrofotometria de fluorescência.

5.1 Síntese e análise elementar

A quantidade de reagentes, rendimento e características do produto obtido através da reação descrita no item 4.1 estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Informações sobre quantidade de reagentes utilizados na reação assim como a massa, rendimento e cor do produto obtido.

Complexo	m_{das} (g)	m_{sal} (g)	Massa obtida de Pt(das)Cl ₂ (g)	Rendimento (%)	Cor
Pt(das)Cl ₂	0,0541	0,0460	0,0672	~80	Amarelo

A estrutura proposta para o sólido amarelado obtido referente ao complexo [Pt(das)Cl₂] está ilustrada na Figura 8. A platina perde dois cloretos e se coordena no dasatinibe em dois átomos de nitrogênio um localizado em um anel tiazólico e outro em um anel pirimidínico formando um anel de 6 membros e um complexo quadrado planar o que é esperado para a platina de configuração eletrônica d⁸.

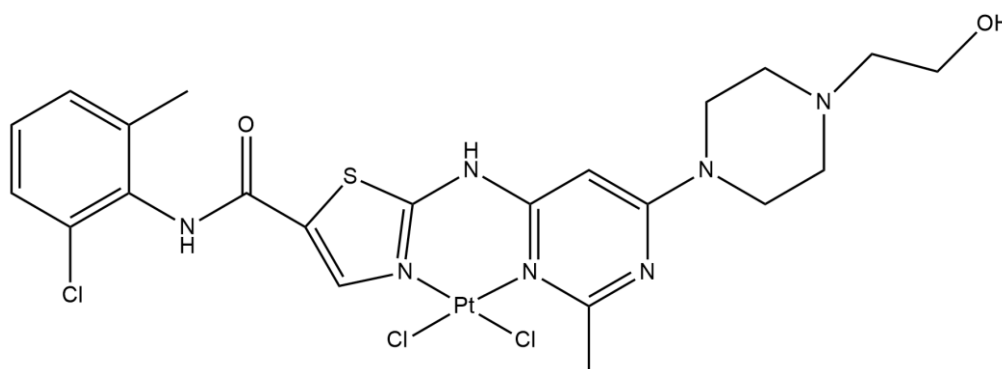


Figura 8: Estrutura proposta para o complexo [Pt(das)Cl₂]. Fórmula molecular C₂₂H₂₆Cl₃N₇O₂PtS. Massa molar 753,0 g mol⁻¹.

Uma amostra do complexo foi submetida à determinação do teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio pela técnica de análise elementar. Os resultados obtidos indicam a estequiometria de 1:1 metal:ligante, de acordo com a estrutura proposta. A Tabela 1 sintetiza os dados obtidos.

Tabela 2: Resultados de análise elementar e rendimento de reação para o complexo Pt(das).

Amostra	Rendimento	%C	%H	%N
		Exp. (calculado)	Exp. (calculado)	Exp. (calculado)
[Pt(das)Cl ₂]-		34,97	3,55	12,6
Pt(C ₂₂ H ₂₆ ClN ₇ O ₂ S)Cl ₂	80%	(35,04)	(3,48)	(13,0)
MM = 753 g mol ⁻¹	(67,2 mg)			

5.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A espectroscopia vibracional é uma ferramenta que permite a análise de grupos funcionais orgânicos presentes em uma determinada molécula isolada e, quando complexada a um metal de transição, os possíveis sítios de coordenação metal-ligante. Foram realizadas análises do ligante dasatinibe e do complexo [Pt(das)Cl₂].

O espectro do dasatinibe (Figura 9) apresenta bandas largas em 3250 cm⁻¹ e 3416 cm⁻¹ referentes aos estiramentos $\nu(\text{O-H})$ e $\nu(\text{N-H})$, respectivamente. Em 2950 cm⁻¹ está a banda referente ao estiramento das alquilas $\nu(\text{C-H})$ da estrutura do ligante. Nas regiões de energia intermediária destaca-se o pico de estiramento $\nu(\text{C=O})$ da carbonila da amida em 1619 cm⁻¹.

Tabela 3: Principais modos vibracionais do dasatinibe.

Composto	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=N})_{\text{pirimidinico}}$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C=N})_{\text{tiazol}}$	$\nu(\text{C-Cl})$
das	3250	3416	2950	1619	1578-1415	1535-1449	1508	774

As vibrações de anéis heteroaromáticos, presentes na estrutura do ligante como um anel pirimidínico substituído, possuem certa complexidade em serem atribuídas devido a origem complexa que envolvem os sobretons e combinações de diferentes tipos de vibração. O estiramento $\nu(\text{C=N})$ pode ser observado em duas bandas intensas em 1578-1415 cm⁻¹, já o estiramento $\nu(\text{C=C})$ se apresenta nas bandas em 1535-1449 cm⁻¹. A estrutura do dasatinibe apresenta um anel tiazol em sua estrutura, a banda de estiramento $\nu(\text{C=N})$ é identificada na banda em 1508 cm⁻¹. Por fim, o estiramento $\nu(\text{C-Cl})$ surge em 774 cm⁻¹.

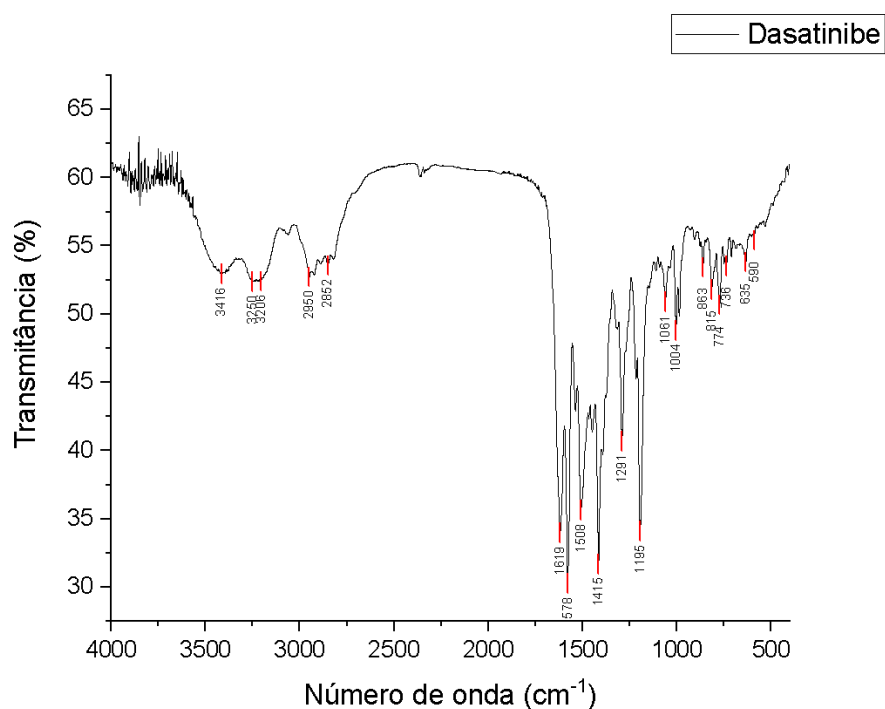


Figura 9: Espectro de infravermelho do ligante Dasatinibe.

O espectro do complexo $[Pt(das)Cl_2]$ (Figura 10) apresenta os modos vibracionais $\nu(O-H)$ e $\nu(N-H)$ em 3220 cm^{-1} e em 3406 cm^{-1} com formatos um pouco alargados em relação ao dasatinibe livre. A banda dos grupos alquila aparece em 2937 cm^{-1} , já os estiramentos dos grupos heteroaromáticos se mostram mais agrupados em relação ao espectro do ligante livre, indicando que houve uma mudança no ambiente químico na região dos heteroaromáticos, apontando um provável sítio de ligação da platina.

Tabela 4: Principais modos vibracionais do complexo $Pt(das)$.

Composto	$\nu(O-H)$	$\nu(N-H)$	$\nu(C-H)$	$\nu(C=O)$	$\nu(C=N)$ _{pirimidinico}	$\nu(C=C)$	$\nu(C=N)$ _{tiazol}	$\nu(C-Cl)$
$Pt(das)Cl_2$	3220	3406	2937	1636	1591-1434	1548-1434	1486	778

É possível observar outras alterações na região intermediária do espectro do complexo. A banda $\nu(C=O)$ está presente em 1636 cm^{-1} . A banda estiramento $\nu(C=N)$ se desloca para 1591 e um ombro em 1548 cm^{-1} . As bandas na região de 1400 cm^{-1} referentes aos estiramentos $\nu(C=C)$ e $\nu(C=N)$ se apresentam sobrepostas em uma única banda mais larga em 1434 cm^{-1} , indicando uma alteração nessa região do ligante quando comparada ao ligante livre. O mesmo ocorre com o estiramento do anel tiazólico que se desloca para 1486 cm^{-1} .

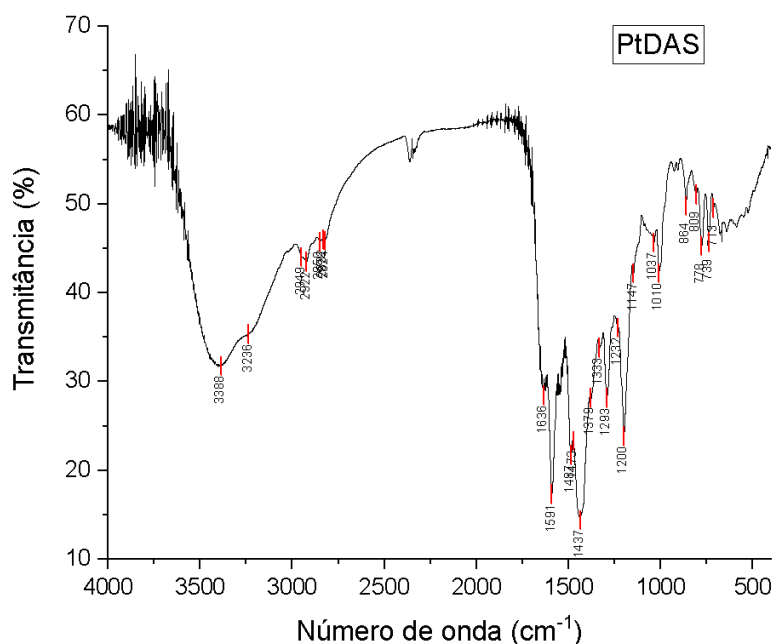


Figura 10: Espectro de infravermelho do complexo Ptdas.

Todas essas mudanças observadas no espectro do complexo em relação ao ligante livre, onde as bandas destacadas se deslocam significativamente para regiões de menor energia, levam à conclusão de que a platina(II) se coordena em um nitrogênio do anel pirimidínico e no nitrogênio do anel tiazólico. Isso se deve à formação de uma ligação π entre a platina e os nitrogênios, pois os elétrons presentes nos orbitais d do metal são compartilhados com os orbitais π^* das estruturas aromáticas do ligante. O preenchimento de orbitais anti-ligantes faz com que os átomos de nitrogênio e carbono se tornem mais distantes, ou seja, a ligação C=N se torna mais fraca, levando a energias de vibração menores.

Um elemento adicional que sustenta a hipótese de coordenação da platina nos sítios previamente propostos é o estudo conduzido por Qi-Pin Qin et al., no qual foi sintetizado um complexo de Cu(II) com o dasatinibe. A caracterização estrutural do complexo foi realizada por meio de difração de raios X em monocristal, permitindo a elucidação da geometria de coordenação e confirmando a formação de ligações covalentes entre o íon cúprico e os heteroátomos presentes nos anéis tiazólico e pirimidínico da molécula orgânica. Complementarmente, a análise espectroscópica na região do infravermelho revelou o alargamento das bandas associadas às vibrações de maior energia, fenômeno também observado no complexo de platina descrito neste

trabalho. Tal comportamento espectral é indicativo de perturbações nas frequências vibracionais, atribuídas à interação coordenativa entre o metal de transição e os grupos funcionais do inibidor, corroborando a modificação eletrônica induzida pela complexação [62].

5.3 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma técnica analítica que permite identificar estruturas químicas a partir da relação massa/carga do composto. O analito de interesse presente em solução é injetado no equipamento, que aquece a amostra em altas temperaturas ionizando a estrutura devido à perda de elétrons ou por reações químicas onde o íon H^+ se liga a estrutura.

O espectro de massas ESI-MS no modo positivo do complexo $[Pt(das)Cl_2]$ está representado na Figura 12. Observa-se no espectro o pico em m/z 754, que foi atribuído à espécie $[Pt(C_{22}H_{26}ClN_7O_2S)Cl_2 + H^+]$, indicando a formação do complexo 1:1 em solução. Além disso o pico em 488 m/z se refere ao dasatinibe livre (Figura 11).

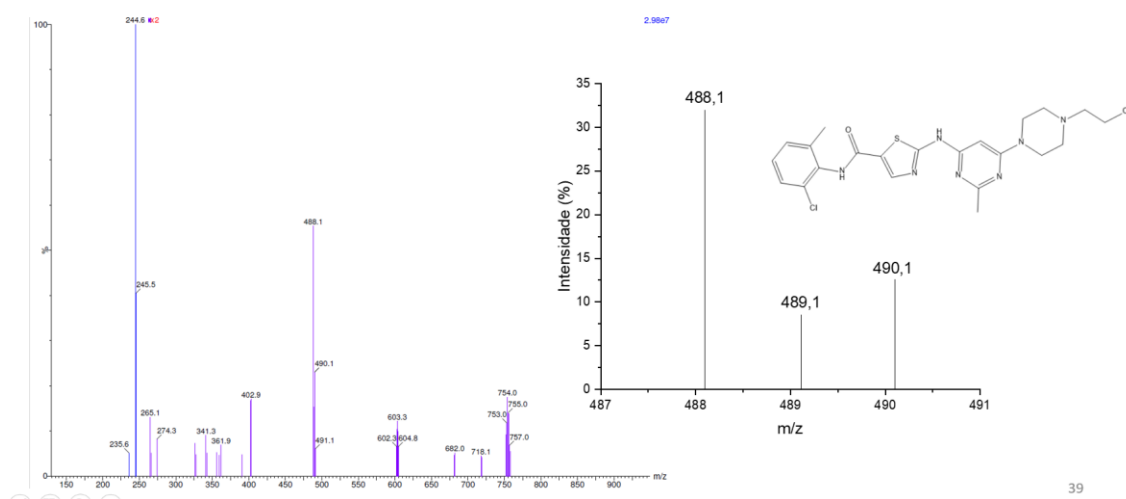


Figura 11: Espectro de massa total do complexo destacando-se o pico do ligante DAS livre em 488 m/z .

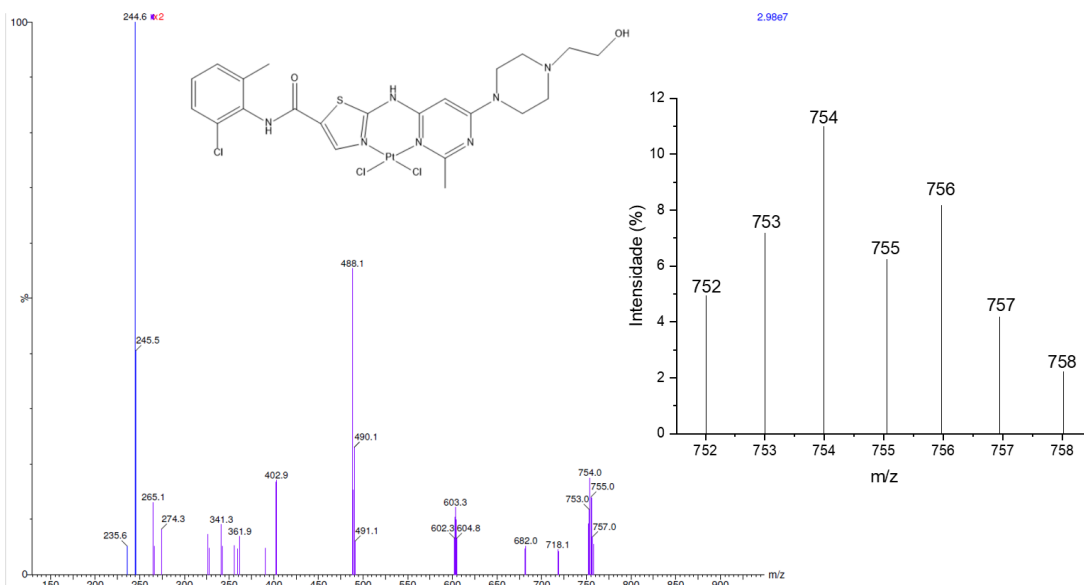


Figura 12: Espectro de massa total do complexo destacando-se a região de sinais com máximo em 754 m/z referente ao complexo Ptdas.

A distribuição isotópica simulada para a espécie $[\text{Pt}(\text{das})\text{Cl}_2 + \text{H}^+]$ e a obtida experimentalmente possuem intensidades e características semelhantes o que confirma que a estrutura sugerida está de acordo com o complexo obtido.

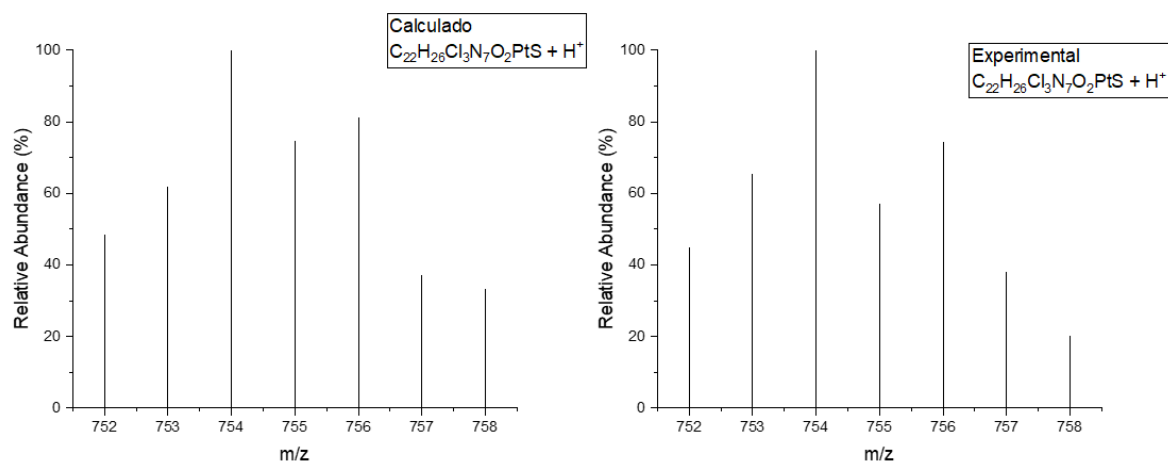


Figura 13: Distribuição isotópica calculada (esq.) e experimental (dir.) para a espécie $[\text{Pt}(\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{Cl}_3\text{N}_7\text{O}_2\text{S})\text{Cl}_2 + \text{H}^+]$.

5.4 Espectroscopia de dicroísmo circular

O dicroísmo circular (CD) é uma técnica óptica essencial para a caracterização de proteínas, pois mede a diferença na absorção de luz polarizada circularmente à esquerda e à direita por moléculas quirais. Essa diferença está diretamente relacionada à presença e à proporção dos elementos de estrutura secundária (como

hélices alfa, folhas betas, e estruturas aleatórias) na proteína. Em outras palavras, analisa-se o espectro de CD, geralmente na faixa do ultravioleta distante (190–250 nm), para determinar qualitativamente ou mesmo quantitativamente o conteúdo estrutural da proteína [66].

Além disso, o CD permite monitorar mudanças conformacionais – por exemplo, aquelas induzidas por variações de temperatura, pH ou ligação de ligantes — o que é fundamental para estudar o dobramento/desdobramento e a estabilidade da proteína. Dessa forma, o dicroísmo circular atua como uma ferramenta rápida e sensível para verificar o estado nativo, a integridade e as alterações da estrutura terciária secundária, contribuindo de maneira decisiva para a compreensão da função biológica das proteínas [66].

Em proteínas com conteúdo significativo de hélice α , o espectro no UV distante apresenta dois mínimos característicos, um próximo de 208 nm (associado à transição $\pi \rightarrow \pi^*$) e outro em torno de 222 nm (relacionado à transição $n \rightarrow \pi^*$). Se a proteína tiver contribuição relevante de folhas β ou regiões desordenadas (random coil), o espectro demonstrará uma forma moderada em 218 nm e, frequentemente, uma banda positiva próxima a 190–195 nm. No caso da proteína BCR-ABL, o espectro registrado (Figura 14) provavelmente reflete uma mistura desses elementos estruturais, evidenciando sua estrutura nativa.

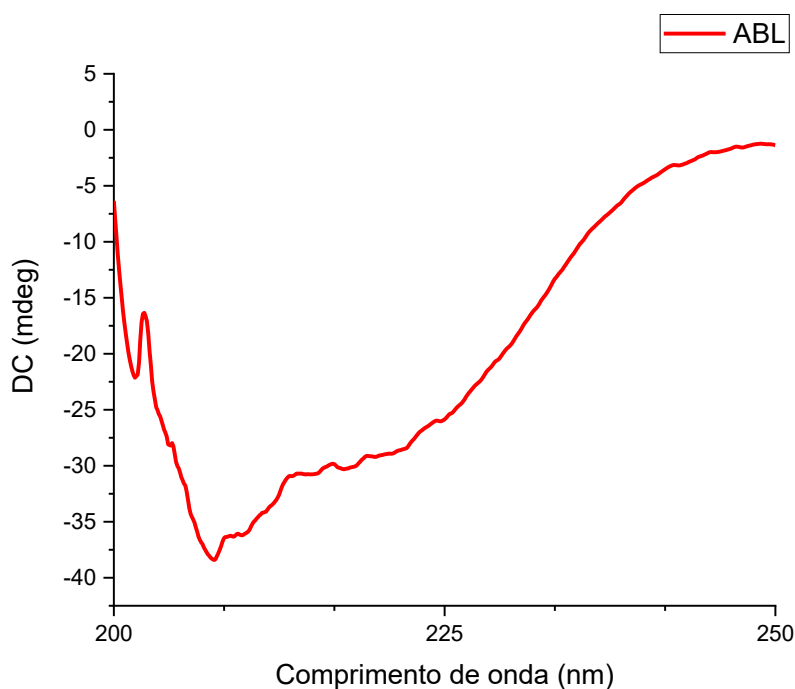


Figura 14: Espectro de dicroísmo circular da proteína BCR-ABL.

A comparação entre o CD da proteína BCR-ABL isolada e o CD após adições sucessivas do complexo (conforme ilustrado na Figura 15) permite identificar mudanças na estrutura secundária. Por exemplo, uma redução na intensidade dos mínimos em 208 nm e 222 nm indicando alteração no conteúdo de hélices α pois a diminuição na elipticidade nesses comprimentos de onda sugere que o complexo pode induzir uma reorganização ou até mesmo uma diminuição relativa dos elementos α -heliciais.

Observando o espectro como um todo percebem-se modificações no perfil espectral, que podem refletir mudanças na estabilidade ou na disposição dos domínios estruturais da proteína BCR-ABL, indicando que o complexo metálico não apenas se associa à proteína, mas também provoca uma reorganização conformacional que pode estar relacionada ao aumento da afinidade observada experimentalmente.

Os dados de CD oferecem uma maneira sensível de monitorar mudanças estruturais induzidas por interações complexo metálico-proteína. No estudo, o fato de o espectro de BCR-ABL exibir alterações após a adição do complexo sugere que a coordenação do dasatinibe com o Pt(II) resulta em uma modulação na conformação da proteína. Tais mudanças podem ser interpretadas como um indicativo de ajuste conformacional para acomodar o inibidor, potencialmente estabilizando uma forma ativa ou inibida da

proteína, que se correlaciona com o aumento significativo na afinidade de ligação proteína-complexo.

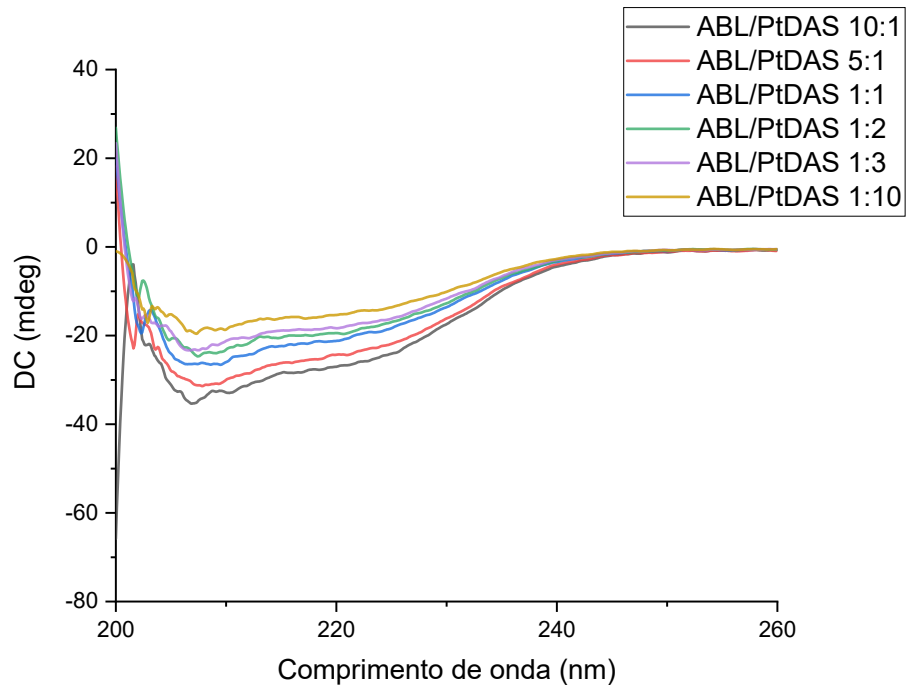


Figura 15: Espectro de dicroísmo circular da proteína BCR-ABL com subsequentes adições do complexo Ptdas.

O sinal em 208 nm da proteína livre sofre uma queda de intensidade de cerca de 48% quando comparado a curva onde $[BCR-ABL]/[Pt(das)] = 1:10$. Essa análise corrobora a utilização da espectroscopia de CD não só para verificar a integridade da estrutura proteica, mas também para rastrear modificações conformacionais decorrentes da interação com potenciais agentes terapêuticos.

Com o objetivo de aprimorar a visualização da região de interesse, a Figura 16 exibe o espectro de dicroísmo circular ampliado no intervalo de 205–220 nm.

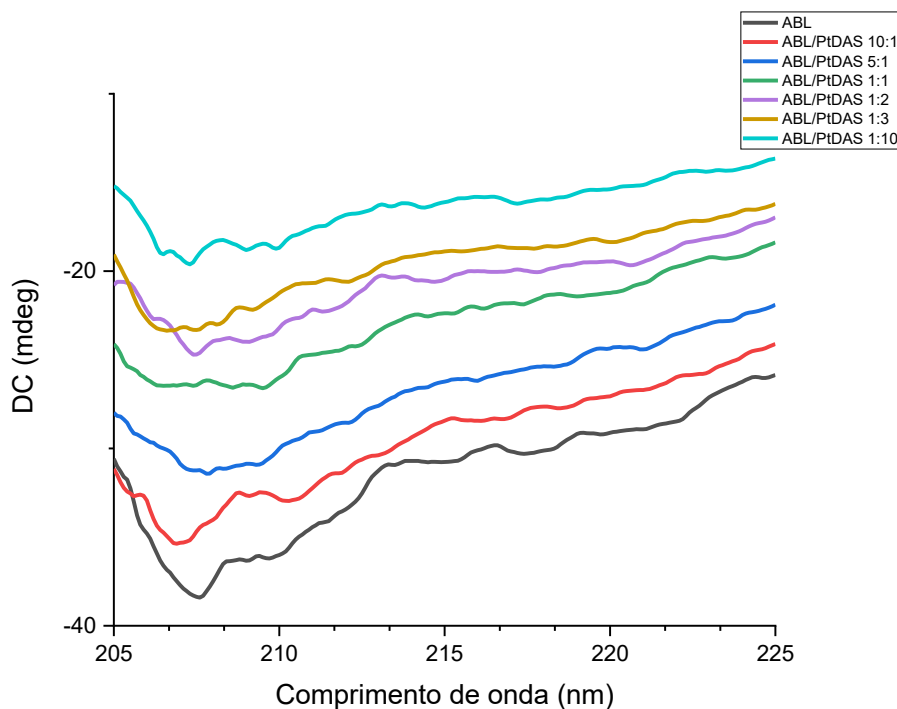


Figura 16: Espectro de dicroísmo circular ampliado no intervalo de 205–220 nm.

Um dos fatores que pode justificar a alteração conformacional induzida na proteína pelo complexo de platina está associado à possível dissociação de dois ligantes cloreto, processo análogo ao descrito para a cisplatina (conforme discutido no item 3.1). No ambiente intracelular, esses ligantes podem ser substituídos por moléculas de água, que atuam como ligantes mais lábeis e são prontamente deslocados, resultando na formação de sítios de coordenação vacantes. A interação subsequente da fração orgânica do complexo com a proteína permite que esses sítios coordenativos livres estabeleçam ligações covalentes com resíduos aminoácidos contendo grupos tiol, especialmente cisteína ou metionina. Esse tipo de interação metal–proteína pode promover alterações conformacionais significativas, desencadeando um efeito alostérico responsável pela modulação da função proteica.

5.5 Interação com a proteína BCR-ABL

A interação entre compostos bioativos e proteínas-alvo constitui um aspecto fundamental na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, especialmente voltados ao tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC). Essa neoplasia hematológica é caracterizada pela presença do gene de fusão BCR-ABL, cuja expressão resulta na síntese de uma tirosina cinase aberrante direcionada ao

citoplasma, promovendo a proliferação descontrolada das células leucêmicas. A proteína BCR-ABL, que sob condições fisiológicas é negativamente regulada pelos domínios SH2 e SH3, desempenha um papel essencial na modulação do crescimento celular. Alterações estruturais decorrentes de mutações ou fusões gênicas comprometem essa regulação, configurando um dos principais determinantes na patogênese da LMC [55, 67,68]

A avaliação da interação da proteína com o dasatinibe e o complexo também foi estudada através da supressão da emissão de fluorescência frente a subsequentes adições de solução de inibidores da BCR-ABL {[Pt(das)Cl₂] e dasatinibe}.

Conforme a concentração dos compostos foi aumentando na solução contendo a proteína, a intensidade máxima de emissão de fluorescência, em 340 nm, foi decaindo indicando que há interação entre os compostos e a BCR-ABL.

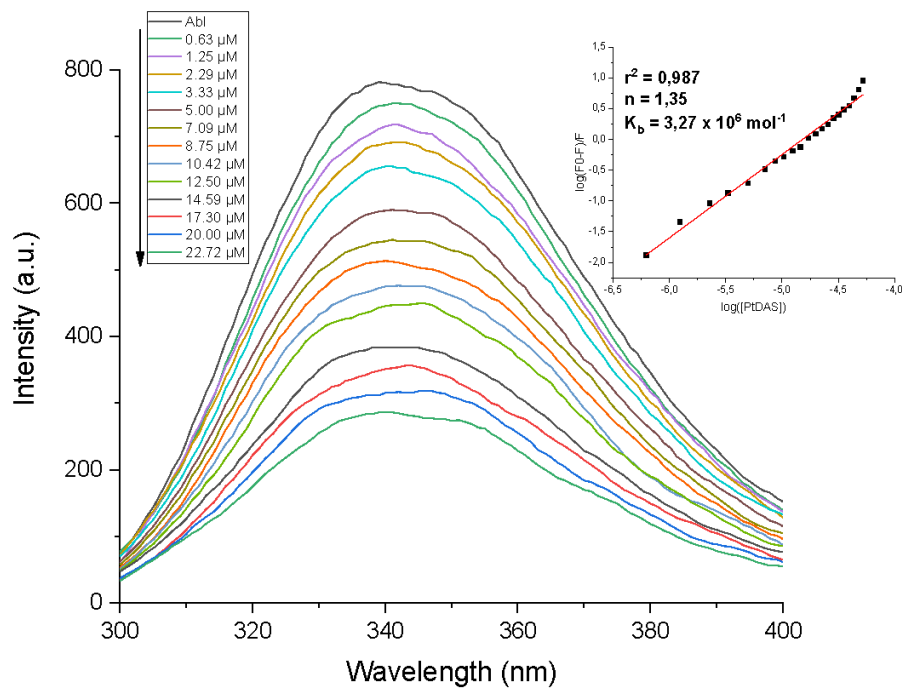


Figura 17: Espectros de emissão de fluorescência da BCR-ABL [$1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$] (λ excitação = 280 nm) na presença de concentrações crescentes de $[\text{Pt}(\text{das})\text{Cl}_2]$ (0,63 até 22,72 μM).

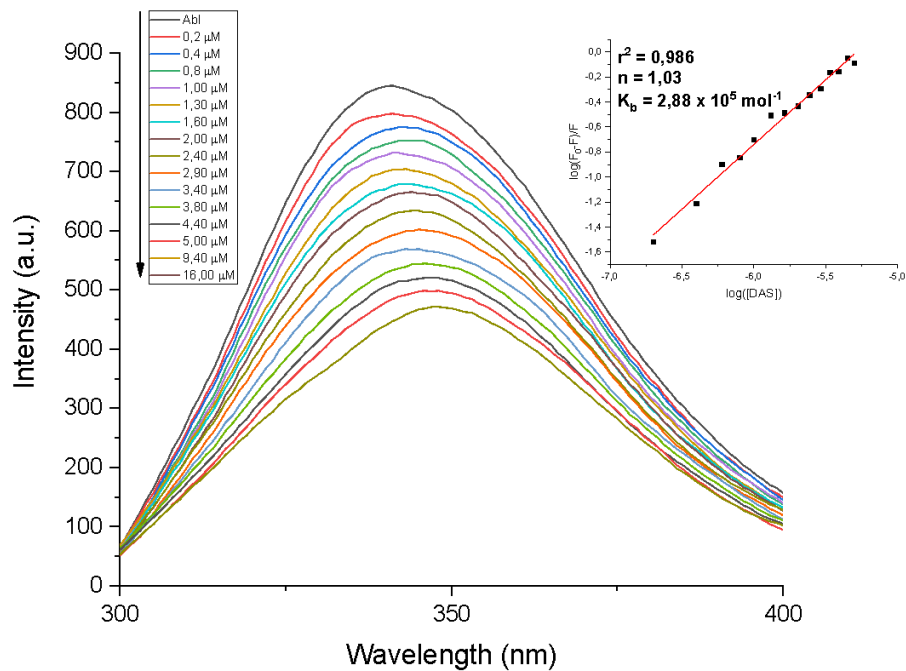


Figura 18: Espectros de emissão de fluorescência da BCR-ABL [$1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$] (λ excitação = 280 nm) na presença de concentrações crescentes de das (0,2 até 16,00 μM).

Os resultados presentes nas Figuras 17 e 18 evidenciam que o complexo $[\text{Pt}(\text{das})\text{Cl}_2]$ estabelece uma interação significativamente mais forte com a BCR-ABL do que o dasatinibe livre. A relação $K_{b\text{PtDas}}/K_{b\text{das}} = 11,35$, ou seja, a afinidade do complexo com a proteína é mais de dez vezes maior.

Portanto, a coordenação da platina aumenta a afinidade com o alvo celular, fato que é de extrema importância para a inibição da atividade da tirosina cinase, podendo ter importantes implicações terapêuticas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

O tratamento atual da leucemia mieloide crônica consiste na administração de compostos inibidores da proteína BCR-ABL, que é responsável pelo desenvolvimento da doença. Infelizmente, o aparecimento de resistência celular a esses medicamentos leva ao comprometimento do tratamento. Nesse trabalho, a estratégia adotada para tentar resolver esse desafio foi a de aliar as propriedades anticancerígenas de compostos de platina(II) aos inibidores da tirosina cinase BCR-ABL.

O dasatinibe forma um complexo de estequiometria 1:1 com íons platina(II) através de um nitrogênio do anel tiofênico e outro nitrogênio do anel piridínico, formando um anel de 6 membros. A esfera da coordenação quadrática é completada por dois cloretos.

O complexo $[Pt(das)Cl_2]$ interage com a BCR-ABL com uma afinidade mais de dez vezes maior do que o inibidor dessa proteína, o dasatinibe. Alterações no espectro de dicroísmo circular da proteína evidenciam que o complexo $[Pt(das)Cl_2]$ promove modificações na organização da estrutura secundária — possivelmente uma redução ou reorganização dos conteúdos de hélices α — o que se alinha com a hipótese de que o complexo induz uma mudança conformacional favorável à inibição da atividade da tirosina cinase.

Esse resultado é extremamente relevante abrindo uma nova perspectiva para o tratamento da LMC com complexos metálicos dos atuais inibidores. É a primeira vez que o estudo das interações entre o dasatinibe, íons Pt(II) e a proteína BCR-ABL é descrito.

REFERÊNCIAS

1. ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer Research**, v. 30, n. 6, p. 1799–1802, jun. 1970.
2. ROSENBERG, J. E.; CARROLL, P. R.; SMALL, E. J. Update on chemotherapy for advanced bladder cancer. **Journal of Urology**, v. 174, n. 1, p. 14–20, jul. 2005. DOI: 10.1097/01.ju.0000162039.38023.5f.
3. GHOSH, S. Cisplatin: the first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102925, jul. 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.102925.
4. ALI, R.; AOUIDA, M.; ALHAJ SULAIMAN, A.; MADHUSUDAN, S.; RAMOTAR, D. Can Cisplatin Therapy Be Improved? Pathways That Can Be Targeted. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 13, p. 7241, 29 jun. 2022. DOI: 10.3390/ijms23137241.
5. PISTERS, K. M. W. et al. Adjuvant chemotherapy in completely resected non-small-cell lung cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 23, p. 3270–3278, 2005. DOI: 10.1200/JCO.2005.11.478.
6. JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2467–2498, 8 set. 1999. DOI: 10.1021/cr980421n.
7. WANG, X.; ZHOU, Y.; WANG, D.; WANG, Y.; ZHOU, Z.; MA, X.; LIU, X.; DONG, Y. Cisplatin-induced ototoxicity: from signaling network to therapeutic targets. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 157, p. 114045, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.114045.
8. STEWART, C. F.; HAMPTON, E. M. Stability of cisplatin and etoposide in intravenous admixtures. **American Journal of Hospital Pharmacy**, v. 46, n. 7, p. 1400–1404, jul. 1989.
9. TRISSEL, L. A.; MARTINEZ, J. F. Compatibility of thiotepa (lyophilized) with selected drugs during simulated Y-site administration. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 53, n. 9, p. 1041–1045, maio 1996. DOI: 10.1093/ajhp/53.9.1041.

10. HALL, M. D.; OKABE, M.; SHEN, D. W.; LIANG, X. J.; GOTTESMAN, M. M. The role of cellular accumulation in determining sensitivity to platinum-based chemotherapy. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 48, p. 495–535, 2008. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.48.080907.180426.
11. CARVALHO JÚNIOR, A. D. et al. Preparation and cytotoxicity of cisplatin-containing liposomes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 8, p. 1149–1157, 2007. DOI: 10.1590/S0100-879X2006005000125.
12. ISHIDA, S.; LEE, J.; THIELE, D. J.; HERSKOWITZ, I. Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 22, p. 14298–14302, 29 out. 2002. DOI: 10.1073/pnas.162491399.
13. KATANO, K. et al. Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. **Cancer Research**, v. 62, n. 22, p. 6559–6565, 15 nov. 2002.
14. CESAR, E. T.; DE ALMEIDA, M. V.; FONTES, A. P. et al. Synthesis, characterization, cytotoxic activity, and cellular accumulation of dinuclear platinum complexes derived from N,N'-di-(2-aminoethyl)-1,3-diamino-2-propanol, aryl substituted N-benzyl-1,4-butanediamines, and N8 benzyl-1,6-hexanediamines. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 95, n. 4, p. 297–305, jul. 2003. DOI: 10.1016/S0162-0134(03)00129-6.
15. HOLZER, A. K.; HOWELL, S. B. The internalization and degradation of human copper transporter 1 following cisplatin exposure. **Cancer Research**, v. 66, n. 22, p. 10944–10952, 15 nov. 2006. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1710.
16. LEAL, A. S.; MARZANO, I. M.; PEREIRA-MAIA, E. C. et al. Investigation of the potential antitumor radioactive complex of platinum(II) with tetracycline. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 309, p. 85–89, 2016. DOI: 10.1007/s10967-016-4775-8.
17. PAGES, B. J.; ANG, D. L.; WRIGHT, E. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Metal complex interactions with DNA. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 8, p. 3505–3526, 2015. DOI: 10.1039/C4DT02700K.

18. CASTILHO, N.; GABRIEL, P.; CAMARGO, T. P.; NEVES, A.; TEREZI, H. Targeting an artificial metal nuclease to DNA by a simple chemical modification and its drastic effect on catalysis. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, v. 11, n. 3, p. 286–291, 12 ago. 2019. DOI: 10.1021/acsmedchemlett.9b00289.
19. MINCIACCHI, V. R.; KUMAR, R.; KRAUSE, D. S. Chronic myeloid leukemia: a model disease of the past, present and future. *Cells*, v. 10, n. 1, p. 117, 10 jan. 2021. DOI: 10.3390/cells10010117.
20. MOISOIU, V. et al. Assessing measurable residual disease in chronic myeloid leukemia: BCRABL1 IS in the avant-garde of molecular hematology. *Frontiers in Oncology*, v. 9, p. 863, 23 set. 2019. DOI: 10.3389/fonc.2019.00863.
21. LIU, Y.; ZHANG, M.; TSAI, C. J.; JANG, H.; NUSSINOV, R. Allosteric regulation of autoinhibition and activation of c-Abl. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, v. 20, p. 4257–4270, 11 ago. 2022. DOI: 10.1016/j.csbj.2022.08.014.
22. EL-TANANI, M. et al. The impact of the BCR-ABL oncogene in the pathology and treatment of chronic myeloid leukemia. *Pathology Research and Practice*, v. 254, p. 155161, fev. 2024. DOI: 10.1016/j.prp.2024.155161.
23. BADGER, J.; GROVER, P.; PANJARIAN, S.; ENGEN, J.; SMITHGALL, T.; MAKOWSKI, L. The c-Abl tyrosine kinase adopts multiple active conformational states in solution. *Biochemistry*, v. 55, 2016. DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00202.
24. LI, S. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel acrylamide analogues as inhibitors of BCR–ABL kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 22, n. 16, p. 5279–5282, 2012. DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.06.044.
25. DE MELO, A. C. C. et al. New heteroleptic ruthenium(II) complexes with sulfamethoxypyridazine and diimines as potential antitumor agents. *Molecules*, v. 24, n. 11, p. 2154, 7 jun. 2019. DOI: 10.3390/molecules24112154.
26. SILVA, P. P. et al. Two new ternary complexes of copper(II) with tetracycline or doxycycline and 1,10-phenanthroline and their potential as antitumoral: cytotoxicity and DNA cleavage. *Inorganic Chemistry*, v. 50, n. 14, p. 6414–6424, 18 jul. 2011. DOI: 10.1021/ic101791r.

27. SILVA-CALDEIRA, P. P.; OLIVEIRA JUNIOR, A. C. A.; PEREIRA-MAIA, E. C. Photocytotoxic activity of ruthenium(II) complexes with phenanthroline-hydrazone ligands. **Molecules**, v. 26, p. 2084, 2021. DOI: 10.3390/molecules26072084.
28. MJOS, K. D.; ORVIG, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 4540–4563, 2014.
29. HOWE-GRANT, M. E.; LIPPARD, S. J. In: SIGEL, H. (Ed.). **Metal Ions in Biological Systems**. New York: Marcel Dekker, 1980. v. 11, p. 63.
30. GREEN, M.; GARNER, M.; ORTON, D. M. *Transition Metal Chemistry*, v. 17, p. 164, 1992.
31. MARTIN, R. B. In: LIPPARD, S. J. (Ed.). **Platinum, Gold, and Other Metal Chemotherapeutic Agents**. Washington: ACS Symposium Series, 1983. v. 209, p. 231.
32. APPLETON, T. G.; HALL, J. R.; RALPH, S. F.; THOMPSON, C. S. M. **Inorganic Chemistry**, v. 28, p. 1989, 1989.
33. MEYN, R. E.; JENKINS, S. F.; THOMPSON, L. H. **Cancer Research**, v. 42, p. 3106, 1982.
34. DIJT, F. J.; FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J.; BERENDS, F.; REEDIJK, J. **Cancer Research**, v. 48, p. 6058, 1988.
35. CARADONNA, J. P.; LIPPARD, S. J.; GAIT, M. J.; SINGH, M. J. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, p. 5793, 1982.
36. GIRAULT, J. P.; CHOTTARD, J. C.; GUITTET, E. R.; LALLEMAND, J. Y.; HUYNH-DINH, T.; IGOLEN, J. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 109, p. 1157, 1982.
37. VAN DER VEER, J. L.; VAN DER WILST, H.; DEN HARTOG, J. H. J.; FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J.; REEDIJK, J. **Inorganic Chemistry**, v. 25, p. 4657, 1986.

38. JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. *Chemical Reviews*, v. 99, n. 9, p. 2467–2498, set. 1999. DOI: 10.1021/cr980421n.
39. STRUM, S. D.; MCDERMED, J. E.; LIPONI, D. F. *Journal of Clinical Oncology*, v. 3, p. 245, 1985.
40. OZOLS, R. F. *Seminars in Oncology*, v. 16, p. 22, 1989.
41. ROSENBERG, B. *Cancer*, v. 15, p. 2303, 1985.
42. CLEARE, M. J.; HOESCHELE, J. D. *Bioinorganic Chemistry*, v. 2, p. 187, 1973.
43. CLEARE, M. J.; HOESCHELE, J. D. *Platinum Metals Review*, v. 17, p. 2, 1973.
44. KIDANI, Y.; NOJI, M.; TASHIRO, T. *GANN*, v. 71, p. 637, 1980.
45. KIDANI, Y.; MASAHIDE, N. Cytostatic platinum organic complexes. U.S. Patent 4 710 577, 1987.
46. ZHANG, C.; XU, C.; GAO, X.; YAO, Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, v. 12, n. 5, p. 2115–2132, 2022. DOI: 10.7150/thno.69424.
47. RADOMSKA, D. et al. Evaluation of anticancer activity of novel platinum(II) bis(thiosemicarbazone) complex against breast cancer. *Bioorganic Chemistry*, v. 148, p. 107486, 2024. DOI: 10.1016/j.bioorg.2024.107486.
48. ROSA, N.; FERREIRA, F. H.; FARRELL, N.; COSTA, L. A. TriplatinNC and biomolecules: building models based on non-covalent interactions. *Frontiers in Chemistry*, v. 7, p. 307, 2019. DOI: 10.3389/fchem.2019.00307.
49. ABED, A. et al. Platinum nanoparticles in biomedicine: preparation, anti-cancer activity, and drug delivery vehicles. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, p. 797804, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.797804.

50. LÓPEZ RUIZ, A.; VILLASECO ARRIBAS, E.; MCENNIS, K. Poly(lactic-co-glycolic acid) encapsulated platinum nanoparticles for cancer treatment. **Materials Advances**, v. 3, p. 2858–2870, 2022. DOI: 10.1039/D1MA01155C.
51. SCHLESER, S. W. et al. Palladium and platinum complexes of the antimetabolite fludarabine with vastly enhanced selectivity for tumour over non-malignant cells. **Molecules**, v. 28, p. 5173, 2023. DOI: 10.3390/molecules28135173.
52. MINCIACCHI, V. R.; KUMAR, R.; KRAUSE, D. S. Chronic myeloid leukemia: a model disease of the past, present and future. **Cells**, v. 10, n. 1, p. 117, 2021. DOI: 10.3390/cells10010117.
53. BORTOLHEIRO, T. C.; CHIATTONE, C. S. Leucemia mielóide crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 3–7, 2008. DOI: 10.1590/S1516-84842008000700003.
54. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leucemia: diagnóstico precoce é a melhor prevenção. Brasília, fev. 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-com-ciencia/noticias/2025/fevereiro/leucemia-diagnostico-precoce-e-a-melhor-prevencao>>. Acesso em: 7 jun. 2025.
55. CORTES, J.; PAVLOVSKY, C.; SAUßELE, S. Chronic myeloid leukaemia. **The Lancet**, v. 398, n. 10314, p. 1914–1926, 2021. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)01204-6.
56. SILVA, B. V.; HORTA, B. A. C.; ALENCASTRO, R. B. de; PINTO, A. C. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 453–462, 2009. DOI: 10.1590/S0100-40422009000200032.
57. ARRINGTON, J.; XUE, L.; WANG, W. H.; GEHALEN, R. L.; TAO, W. A. Identification of the direct substrates of the ABL kinase via kinase assay linked phosphoproteomics with multiple drug treatments. **Journal of Proteome Research**, v. 18, n. 4, p. 1679–1690, 2019. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00942.
58. UNG, P. M.; SCHLESSINGER, A. DFG model: predicting protein kinase structures in inactive states for structure-based discovery of type-II inhibitors. **ACS Chemical Biology**, v. 10, n. 1, p. 269–278, 16 jan. 2015. DOI: 10.1021/cb500696t.
59. VAJPAI, N. et al. Solution conformations and dynamics of ABL kinase-inhibitor complexes determined by NMR substantiate the different binding modes of

imatinib/nilotinib and dasatinib. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 26, p. 18292–18302, 27 jun. 2008. DOI: 10.1074/jbc.M801337200.

60. AZEVEDO, L. D. de; BASTOS, M. M.; OLIVEIRA, A. P. de; BOECHAT, N. Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase Bcr-Abl, utilizados no tratamento da leucemia mielóide crônica. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 791–809, 2017. DOI: 10.21577/0100-4042.20170027.

61. NEKOUKAR, Z.; MOGHIMI, M.; SALEHIFAR, E. A narrative review on adverse effects of dasatinib with a focus on pharmacotherapy of dasatinib-induced pulmonary toxicities. **Brazilian Journal of Hematology**, v. 56, p. 229–242, 2021. DOI: 10.5045/br.2021.2021117.

62. QIN, Q.-P.; MENG, T.; TAN, M.-X.; LIU, Y.-C.; LUO, X.-J.; ZOU, B.-Q.; LIANG, H. Synthesis, crystal structure and biological evaluation of a new dasatinib copper(II) complex as telomerase inhibitor. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 1597–1603, 2018. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.10.058.

63. WITKOWSKA, D.; ROWIŃSKA-ŻYREK, M. Biophysical approaches for the study of metal-protein interactions. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 199, p. 110783, 2019. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2019.110783.

64. SKOS, L.; BORUTZKI, Y.; GERNER, C.; MEIER-MENCHES, S. M. Methods to identify protein targets of metal-based drugs. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 73, p. 102257, 2023. DOI: 10.1016/j.cbpa.2022.102257.

65. CASINI, A.; MESSORI, L. Molecular mechanisms and proposed targets for selected anticancer gold compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 21, p. 2647–2660, 2011. DOI: 10.2174/156802611798040732.

66. KELLY, S. M.; JESS, T. J.; PRICE, N. C. How to study proteins by circular dichroism. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1751, n. 2, p. 119–139, 10 ago. 2005. DOI: 10.1016/j.bbapap.2005.06.005.

67. LOSCOCCO, F.; VISANI, G.; GALIMBERTI, S.; CURTI, A.; ISIDORI, A. BCR-ABL independent mechanisms of resistance in chronic myeloid leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 939, 2019. DOI: 10.3389/fonc.2019.00939.

68. BUSCHBECK, M.; HOFBAUER, S.; DI CROCE, L.; KERI, G.; ULLRICH, A. Abl-kinase-sensitive levels of ERK5 and its intrinsic basal activity contribute to leukaemia cell survival. **EMBO Reports**, v. 6, p. 63–69, 2005. DOI: 10.1038/sj.embor.7400316.