

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Antônio Augusto de Oliveira Neto

**SINTESE DE COMPLEXOS DE PLATINA(II) COM LIGANTES LIPOFÍLICOS
DERIVADOS DE 1,3,4-OXADIAZOL E PIPERAZINA E SEUS ESTUDOS
BIOLÓGICOS**

Belo Horizonte

2022

UFMG/ICEx/DQ. 1485^a

D. 806^a

Antônio Augusto de Oliveira Neto

Síntese de complexos de platina(II) com ligantes lipofílicos derivados de 1,3,4-oxadiazol e piperazina e seus estudos biológicos

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a Dr^a Heveline Silva

Belo Horizonte

2022

Ficha Catalográfica

O46s
2022
D Oliveira Neto, Antônio Augusto de.
Síntese de complexos de platina (II) com ligantes lipofílicos derivados de 1,3,4-oxadiazol e piperazina e seus estudos biológicos [manuscrito] /Antônio Augusto Oliveira Neto. 2022.
93 f.: il.

Orientadora: Heveline Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica - Teses 2. Complexos metálicos - Teses 3. Citotoxicidade - Teses 4. DNA - Teses 5. Ligantes (Bioquímica) - Teses 6. Termogravimetria - Teses 7. Agentes antineoplásicos - Teses 8. Glutathiona - Teses 9. Albumina - Teses 10. Espectrometria de massa - Teses I.Silva, Heveline - Orientadora II. Título

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

UFMG

Programa de Pós-Graduação em Química
Departamento de Química - ICEx**"Síntese de Complexos de Platina(II) Com Ligantes Lipofílicos Derivados de 1,3,4-oxadiazol e Piperazina e Seus Estudos Biológicos"****Antonio Augusto de Oliveira Neto**

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Heveline Silva - Orientadora
UFMGProfa. Elene Cristina Pereira Maia
UFMGProf. Thiago Teixeira Tasso
UFMG

Belo Horizonte, 23 de fevereiro de 2022.

Documento assinado eletronicamente por **Heveline Silva, Professora do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 16:25, 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 **Thiago Teixeira Tasso, Professor do Magistério Superior**, em 23/02/2022, às 16:41, 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 **Elene Cristina Pereira Maia, Membro de comissão**, em 23/02/2022, às 18:18, 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 **1267474** e o código CRC **7F432B5E**.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por todo o suporte e todas bênçãos alcançadas, por estar sempre comigo em todos os momentos de minha vida. Agradeço aos meus pais, Paulo e Katya, minhas irmãs Aline e Julia, meus avós Waldir e os que estão no céu mas presentes em nossos corações: Antônio, Adélia e Maria da Conceição. Agradeço aos meus padrinhos Carlos Magno, Maria Lupe e Rosângela, estes sendo meus segundos pais, por sempre me ajudarem e me apoiarem. Ao meu tio Julio, Epaminondas, Derval, Anette, Lurdinha, Délio, Tônico, Suzana e Tica. Aos meus primos Lara, Bruna, Rafa, Dani, Nara e Deco e a todos familiares. Eu amo muito vocês.

Aos meus queridos amigos Rubim, Diovis, Mt, Olimpio, Rafitas, Paulão, Laura, Júlia, Renatinha, Mari, Will, Larissa, Bigode, Hiago, Caio, Taiza, Nat, Bruna Santos, Veronica, Let's Go, Lígia, Isabela, Amanda, Montillo, Alan, Samuel, Tati, Mari, Mari Salgado, Paulistinha, Tironi, Isis, Ricardo e Bruna Caroline.

Aos meus amigos da Atlético AAAICEX, do CEQ, da PSSSV, do CEFET, IBL, IBP do pessoal do vôlei, do Meritus e a minha amiga Mary Durso.

Aos meus queridos amigos do SibLab, Josi, Karol, Isabela, Arthur e aos meus queridos amigos do departamento de Química da UFMG, Ruth, Matheus, Nathany, Gustavo, Rodrigo, Ricardo, Joyce, Bruna, Alexandre, Julia, Lucas, Hélio, Bianca, Gabriela, Gabi e Mirra.

Um especial agradecimento a minha querida amiga Ana Luiza. Você me ajudou muito nas análises, me explicou conceitos novos e me tirou dúvidas sempre, além de ter sido um ótimo ombro amigo. Esteve comigo nos meus momentos felizes e tristes, me apoiou e aconselhou, muito obrigado por tudo Ana. Você é maravilhosa.

Um agradecimento especial também a minha professora e orientadora Heveline Silva, por todo o conhecimento compartilhado, por toda ajuda e apoio, tudo que aprendi com a senhora vou levar comigo na minha carreira. A senhora me ajudou para que eu crescesse e evoluísse sempre em meus campos pessoais e profissionais.

Um agradecimento aos professores do Departamento de Química e da UFMG, a todos funcionários, técnicos e técnicos administrativos da instituição pela ajuda, conhecimentos transmitidos e conversas do dia-a-dia.

Muito obrigado pessoal, essa vitória é nossa.

“Seja forte e corajoso! Não fique desanimado, nem tenha medo, por que eu, o Senhor, seu Deus, estarei com você onde for”

Josué 1:9

Resumo

A cisplatina foi o primeiro composto inorgânico utilizado no tratamento antitumoral, mas seus efeitos adversos e aparecimento de resistência impulsionaram a busca por complexos análogos mais ativos e menos tóxicos. Os ligantes têm papel importante no design de um novo complexo porque podem modular a lipofilicidade do complexo, a labilidade, o efeito estérico e podem contribuir de forma sinérgica. Derivados da piperazina e do 1,3,4-oxadiazol possuem diversas atividades biológicas, dentre elas, anticancerígena, antiparasitário, antifúngico, antibacteriano, antidepressivo, antituberculose, anti-inflamatório e atividades anti-HIV. No presente trabalho foram sintetizados três complexos de platina(II) com ligantes contendo derivados de 1,3,4-oxadiazol e piperazina. A diferença entre os ligantes e os seus respectivos complexos é a alquilação da piperazina com 8, 10 ou 12 carbonos resultando numa variação da lipofilicidade. Os complexos sintetizados foram analisados através de espectroscopia vibracional no infravermelho, espectroscopia vibracional Raman, espectroscopia de absorção eletrônica ultravioleta-visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt , análise termogravimétrica, espectrometria de massas, condutividade molar e análise elementar. Os estudos biológicos foram realizados através da análise da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC_{50}) em linhagens tumorais (B16-F1, CT26-WT) e normal (BHK-21) e estudos de interação com biomoléculas como a BSA e o DNA. Através dos resultados obtidos foi possível concluir que nos três complexos sintetizados os ligantes são monodentados e se coordenam ao átomo metálico através do enxofre do oxadiazol. Os complexos são carregados eletronicamente com carga negativa neutralizada pelo contra-íon K^+ . A interação dos complexos com as biomoléculas de BSA e DNA mostrou que esta interação também sofre influência da cadeia alquílica lateral. Os complexos são menos citotóxicos que os seus respectivos ligantes e tanto nos complexos quanto nos ligantes aqueles que possuem maior cadeia alquílica tiveram resultado de IC_{50} menor (mais citotóxicos), podendo então estabelecer uma relação entre atividade e lipofilicidade.

Palavras chave: Complexos metálicos, citotoxicidade, BSA e DNA.

Abstract

The cisplatin was the first inorganic compound used as an antitumoral drug, but its side effects and resistance mechanism drove the search for more active and less toxic analog complexes. The ligands have important role in design of a new complex. They can modulate the lipophilicity, lability, steric effect and can contribute synergistically. Derivatives from piperazine and 1,3,4-oxadiazole have several biological activities like anticancer, antiparasitic, antifungal, antibacterial, antidepressant, antituberculosis, anti-inflammatory and anti-HIV activities. In the present work three platinum complexes were synthesized with ligands that piperazine and 1,3,4-oxadiazole derivatives. Ligands and complexes differ from each other by piperazine alkylation with 8, 10 or 12 carbons resulting in a variation of lipophilicity. The synthesized complexes were analyzed by infrared vibrational spectroscopy, Raman vibrational spectroscopy, ultraviolet-visible electronic absorption spectroscopy, ^1H , ^{13}C and ^{195}Pt nuclear magnetic resonance spectroscopy, thermogravimetric analysis, mass spectrometry, molar conductivity and elemental analysis. The biological studies were performed through analysis of inhibitory concentration of 50% of cell viability, IC_{50} , in tumor cells B16-F1, CT26-WT and non-tumor cells, BHK-21, and interaction studies with biomolecules like BSA and DNA. Through the results obtained it was possible to conclude that in the three synthesized complexes the ligand are monodentate and coordinated to metal by sulfur atom from the oxadiazole moiety. They are negatively charged and neutralized by K^+ counter ion. The interaction of the complexes with the biomolecules BSA and DNA can be influenced by the alkyl side chain. The complexes are less cytotoxic than their respective ligands and, both in complexes and ligands, those that have larger alkyl chain had lowest values of IC_{50} (more cytotoxic), allowing us to establish the relationship between activity and lipophilicity.

Keywords: Metallic complexes, cytotoxicity, BSA, DNA

Lista de Figuras

Figura 1: Cisplatina-----	18
Figura 2: Estrutura da carboplatina e oxaliplatina-----	18
Figura 3: Bases nitrogenadas no DNA.-----	19
Figura 4: Exemplo estrutural de um nucleotídeo. O grupo fosfato, a pentose (açúcar) e a base nitrogenada, que pode ser adenina, citosina, guanina ou timina-----	20
Figura 5: Fita dupla de DNA unidas através das ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas. G= guanina, C= citosina, A= amina e T= timina-----	20
Figura 6: A) Ligação intrafita entre guaninas adjacentes; B) Ligação interfita; C) Ligação monofuncional à guanina D) Ligação ao DNA e a uma proteína-----	21
Figura 7: Complexos de Au ^{III} coordenado a um peptidomimético e ao derivado tetrahydroisoquinolina -----	24
Figura 8: Estrutura da auranofina -----	24
Figura 9: Complexos de Pd ^{II} com base de Schiff e um derivado de tiazol -----	25
Figura 10: Isômeros do oxadiazol -----	26
Figura 11: Medicamentos contendo 1,2,4-oxadiazol -----	27
Figura 12: Estrutura da piperazina -----	28
Figura 13 Complexo de Au ^{III} coordenado à fluoroquinolona levofloxacin -----	29
Figura 14: Fórmula estrutural do 1, 3, 4- Oxadiazol-2(3H) - tiona, 5-(4-metoxifenil) - 3-[(4-octil-1-piperazil) metil]-----	29
Figura 15: Estrutura dos ligantes orgânicos utilizados-----	33
Figura 16: Esquema de síntese dos complexos 1 n = 6, 2 n = 8 e 3 n = 10-----	34
Figura 17: Comparação entre os espectros de IV do ligante a (—) e complexo 1 (—)-----	43
Figura 18: Comparação entre os espectros de IV do ligante b (—) e complexo 2 (—)-----	44
Figura 19: Comparação entre os espectros de IV do ligante c (—) e complexo 3 (—)-----	44
Figura 20: Espectro Raman do complexo 1 -----	46

Figura 21: Espectro Raman do complexo 2 -----	47
Figura 22: Espectro Raman do complexo 3 -----	47
Figura 23: Espectro RMN de ^1H do ligante a (400 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	49
Figura 24: Espectro RMN de ^1H do complexo 1 (600 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	50
Figura 25: Espectro de RMN ^{13}C do ligante a (100 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	51
Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C do complexo 1 (200 MHz, CDCl_3) δ em ppm-----	52
Figura 27: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo 1 , δ em ppm-----	53
Figura 28: Espectro de RMN ^{195}Pt do complexo 3 (125 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	54
Figura 29: Curva Termogravimétrica do complexo 1 -----	55
Figura 30: Curva Termogravimétrica do complexo 2 -----	56
Figura 31: Curva Termogravimétrica do complexo 3 -----	57
Figura 32: Análise por espectrometria de massas do complexo 1 . A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo 1 ; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento.-----	58
Figura 33: Análise por espectrometria de massas do complexo 2 . A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo 2 ; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento-----	59
Figura 34: Análise por espectrometria de massas do complexo 3 . A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo 3 ; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento-----	60
Figura 35: Comparação do espectro ultravioleta-visível de cada ligante e seu respectivo complexo, todos com a concentração de $2,4 \times 10^{-5}$ mol/L em DMF. A: Ligante a e Complexo 1 ; B: Ligante b e Complexo 2 e C: Ligante c e Complexo 3 -----	61
Figura 36: Redução de MTT a Formazan-----	62
Figura 37: Gráficos de Viabilidade celular (%) x Concentração (μM).-----	63
Figura 38: Gráfico de barras de IC_{50} dos ligantes a , b e c e seus respectivos complexos 1 , 2 e 3 das linhagens celulares B16F1, CT26-WT e BHK-21-----	64

Figura 39: Espectro eletrônico na região do ultravioleta- visível para uma solução de BSA ($1,11 \times 10^{-5}$ mol/L) em tris-HCl, pH de 7,4-----	65
Figura 40: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de 10 μ L da solução do complexo 1 de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L-----	66
Figura 41: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de 5 μ L da solução do complexo 2 de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.-----	67
Figura 42: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de 10 μ L da solução do complexo 3 de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L-----	67
Figura 43: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 1}]$ na titulação com BSA-----	68
Figura 44: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 2}]$ na titulação com BSA-----	68
Figura 45: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 3}]$ na titulação com BSA-----	69
Figura 46: Espectro de absorção eletrônica na região ultravioleta-visível de uma solução de ctDNA em Tris-HCl + NaCl, pH próximo de 7,4, de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L.-	70
Figura 47: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de 5 μ L da solução de complexo 1 em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.-----	71
Figura 48: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de 5 μ L da solução de complexo 2 em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.-----	71
Figura 49: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de 5 μ L da solução de complexo 3 em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.-----	72
Figura 50: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 1}]$ na titulação com ctDNA.-----	72
Figura 51: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 2}]$ na titulação com ctDNA-----	73
Figura 52: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo 3}]$ na titulação com ctDNA-----	73
Figura A1: Espectro RMN de ^1H do ligante b (400 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	87
Figura A2: Espectro RMN de ^1H do ligante c (400 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	87

Figura A3: Espectro RMN de ^1H do complexo 2 (400 MHz; DMF- d_7) δ em ppm-----	88
Figura A4: Espectro RMN de ^1H do complexo 3 (400 MHz; DMF- d_7) δ em ppm-----	88
Figura A5: Espectro RMN ^{13}C do ligante b (100 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	89
Figura A6: Espectro RMN ^{13}C do ligante c (100 MHz; CDCl_3) δ em ppm-----	89
Figura A7: Espectro RMN ^{13}C do complexo 2 (150 MHz; DMF- d_7) δ em ppm-----	90
Figura A8: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo 2, δ em ppm-----	90
Figura A9: Espectro RMN ^{13}C do complexo 3 (100 MHz; DMF- d_7) δ em ppm-----	91
Figura A10: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo 3, δ em ppm-----	91
Figura A11: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo <u>1</u> ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos-----	92
Figura A12: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo <u>2</u> ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos-----	92
Figura A13: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo <u>3</u> ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos-----	93

Lista de tabelas

Tabela 1: Atribuição para as frequências de estiramento e deformação angular atribuídas no espectro de absorção na região do infra-vermelho para os ligantes a , b e c e os complexos 1 , 2 e 3 .-----	45
Tabela 2: Valores teóricos e (experimentais) referentes às perdas de massas na análise termogravimétrica de 25 a 600 °C e o resíduo dos complexos 1 , 2 e 3 .-----	57
Tabela 3: IC ₅₀ - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu\text{M} \pm \text{SD}^*$)-----	64
Tabela 4: Constantes de Ligação (Kb) de cada composto com BSA e o coeficiente de determinação (R^2)-----	69
Tabela 5: Constante de ligação (Kb) de cada complexo com DNA e o coeficiente de determinação (R^2)-----	73

Lista de equações

Equação 1 : Equação de Benesi-Hildebrand $\frac{A}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{H-G}-\varepsilon_G} \chi \frac{1}{Kb[c]}$ --35

Lista de abreviaturas, siglas e suas definições

δ - Deslocamento químico na análise RMN e deformação angular na análise de IV

λ - Comprimento de onda

ν - Estiramento da ligação

3J - Constante de acoplamento de ordem de 3 átomos ligados em 2 ligações

Ar- Aromático

ATP- Adenosina Trifosfato

ATP7B- ATPase transportadora de cobre

B16-F1- Linhagem celular de melanoma murino

BHK-21- Linhagem celular normal de rim de hamster

BSA- Bovine Serum Albumin

CCD- Cromatografia em Camada Delgada

$CDCl_3$ - Clorofórmio deuterado

CHN- Análise Elementar de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio

CT26-WT- Linhagem celular de carcinoma de cólon de camundongo

ctDNA- Calf-Thymus Deoxyribunucleic acid

CTR1- Transportador de Cobre 1

DMF- d_7 - Dimetilformamida deuterada.

DMSO- Dimetilsulfóxido

DNA- Deoxyribunucleic acid

d- Duplete

DTGA- Derivada da curva termogravimétrica

FBS- Fetal Bovine Serum

FDA- Food and Drug Administration

HCl- Ácido Clorídrico

HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana

HOMO- highest occupied molecular orbital

HSA- Human Serum Albumin

IC₅₀- Concentração Inibitória de 50 % da viabilidade celular

ICB- Instituto de Ciências Biológicas

IV- Infravermelho

K_b- Constante de Ligação

LAREMAR-UFMG- Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal de Minas Gerais

LUMO- Lowest unoccupied molecular orbital

m- Multiplete

MALDI-TOF- Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight

MRP1- Multidrug resistance protein 1

MRP2- Multidrug resistance protein 2

MS- Espectrometria de Massa

MTT- Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-Il)2,5-Difeniltetrazólio

m/z- Razão massa/carga

NER- Nucleotide Excision Repair

NAD(P)H- Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

PARP-1- Poli ADP-ribose polimerase

Ph- Fenil

R- Grupo alquila

R²- Coeficiente de determinação

RMN ¹³C- RMN de Carbono 13

RMN DEPT-135- RMN Distortionless Enhancement by Polarization Transfer em ângulo de 135 °

RMN ¹H- RMN de Hidrogênio

RMN ¹⁹⁵Pt- RMN de Platina

ROS- Reactive Oxygen Species

RPMI- Meio de cultura do Instituto Memorial Roswell Park

s- Simpleto

SD- Desvio padrão;

SI- Índice de seletividade

STAT3- Transducers and activators of transcription

t- Tripleto

TG- Termogravimetria

Tris- Tampão Tris(hidroximetil)aminometano

TrxR- Thioredoxin reductase

UFJF- Universidade Federal de Juiz de Fora

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais

USP- Universidade de São Paulo

UV- Ultravioleta

Sumário

1. Introdução	17
1.1 Complexos metálicos antitumorais	17
1.2 Mecanismo Citotóxico da cisplatina	18
1.3 Problemas no tratamento quimioterápico com a cisplatina	21
1.4 Complexos metálicos inspirados na Cisplatina	23
1.5 A importância dos ligantes	25
1.5.1 Oxadiazol	26
1.5.2 Piperazina	28
1.6 Complexos metálicos com derivados de oxadiazol e piperazina	28
2. Objetivo geral	30
2.1 Objetivos específicos	30
3. Parte experimental	31
3.1 Métodos instrumentais	31
3.1.1 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho	31
3.1.2 Espectroscopia Vibracional RAMAN	31
3.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	31
3.1.4 Análise Termogravimétrica	32
3.1.5 Espectrometria de Massas	32
3.1.6 Condutividade	32
3.1.7 Análise Elementar	32
3.1.8 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-vísivel	32
3.2. Síntese	33
3.2.1. Ligantes	33
3.2.2 Síntese dos complexos de platina(II)	33
3.3 Estudos de citotoxicidade	34
3.4 Estudos de interação com BSA por titulação espectrofotométrica	35
3.5 Estudos de interação com DNA por titulação espectrofotométrica	36
4. Resultados e discussões	37
4.1 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho	43
4.2 Espectroscopia Vibracional Raman	46
4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	48
4. 4 Análise Termogravimétrica	54
4.5 Espectrometria de Massas	58

4.6 Condutividade molar	60
4.7 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-vível	61
5. Análises Biológicas	62
5.1 Estudos de citotoxicidade	62
5.2 Estudos de interação com BSA por titulação espectrofotométrica	65
5.3 Estudos de interação com ctDNA por titulação espectrofotométrica	69
6. Conclusão	74
Referências	75
Apêndice	87

1. Introdução

1.1 Complexos metálicos antitumorais

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 tipos de uma doença que se origina quando células normais apresentam mutações em seus códigos genéticos e crescem e se multiplicam de forma desregulada.^{[1]-[4]} Os tumores malignos são agressivos e invasivos, sendo denominados de câncer para diferenciá-los dos tumores benignos. Estes últimos apresentam células que permanecem mais localizadas, afetando apenas os órgãos que originaram os tumores e seus tecidos adjacentes sem comprometer sua função.^[5] Importante mencionar que tumores benignos podem evoluir para tumores malignos.^[3]

As origens do câncer podem ser induzidas por produtos químicos, inflamações crônicas, exposições a radiações eletromagnéticas ou predisposições genéticas.^[2] Os tumores podem gerar a metástase, que é a migração de células tumorais, através da corrente sanguínea, para regiões diferentes daquelas de origem.^{[1], [2], [4]} As células cancerosas podem surgir em quaisquer tecidos e órgãos e por causa das diferenças genéticas destes, os tumores irão apresentar comportamentos e características diferentes.^{[2], [4]} Os cânceres mais prevalentes são o de pulmão, mama, colorretal, próstata, fígado, ovário, pâncreas, cérebro, medula óssea, estômago e pele.^{[2], [4]}

O câncer é a segunda causa de óbitos no mundo de doenças não transmissíveis, ficando atrás apenas de doenças cardiovasculares.^{[2], [4]} Existem quatro tipos principais de tratamento para os diversos tipos de câncer: radioterapia, quimioterapia, cirurgia e transplante de medula óssea e em muitos casos é necessário a combinação de mais de um tipo.^[6] A quimioterapia é a utilização de fármacos que têm o objetivo de levar as células tumorais à apoptose ou diminuição da divisão celular e a consequente extinção ou controle do tumor.^[7] Sua administração pode ser via oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, intratecal e tópica e uma das vantagens da quimioterapia é que o paciente não sofre muitas dores ao longo do tratamento.^[8] A área da quimioterapia, em todos os aspectos, é muito estudada com o objetivo de encontrar novos princípios ativos antitumorais.^{[2], [4], [6], [7], [9]}

A utilização de compostos inorgânicos para o tratamento de câncer se deu após a descoberta das propriedades antitumorais da *cis*-diaminodicloridoplatina(II), popularmente conhecida por cisplatina, figura 1, na década de 60. A cisplatina foi aprovada para utilização em 1978 pelo FDA em tratamento clínico de câncer de ovário, cabeça, pescoço, bexiga, esôfago

e testículo sendo utilizada até os dias de hoje. ^{[10], [11]} A porcentagem de cura de pacientes portadores de câncer de testículo cujo tratamento com a cisplatina ocorreu de forma precoce é de 90%.^[11]

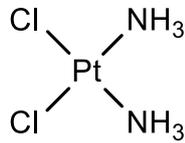


Figura 1: Cisplatina

Depois destes acontecimentos históricos, outros complexos análogos da cisplatina foram e ainda são utilizados como carboplatina e oxaliplatina, figura 2.

Existem também complexos de outros metais como Au, Pd, Co, Zn e Ru por exemplo, que são estudados e analisados em relação às suas atividades biológicas.^{[9]-[16]} Uma importância se dá também a complexos de Gálio, sendo o segundo metal mais utilizado no tratamento do câncer, ficando atrás apenas da platina.^[17]

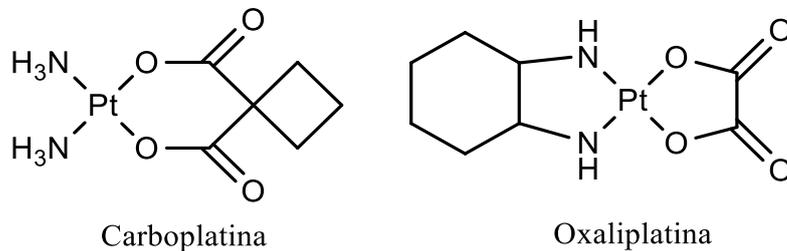


Figura 2: Estrutura da carboplatina e oxaliplatina

1.2 Mecanismo Citotóxico da cisplatina

A principal forma de administração da cisplatina no tratamento quimioterápico é intravenosa. Com isso o fármaco é transportado pelo plasma sanguíneo de tal forma que permanece 90% da sua quantidade coordenado à albumina ou a outras proteínas plasmáticas.^{[10], [11]} e adentra preferencialmente nas células através do transportador de cobre CTR1 ativo.^[18] Uma vez dentro da célula, a saída dos ligantes cloretos é uma forma de ativação do fármaco no citoplasma. Quando este ligante sai da esfera de coordenação, ele é substituído pela molécula de água, gerando as espécies $[Pt(NH_3)_2(H_2O)(Cl)]^+$ e $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ quando um ou dois ligantes são trocados. Tais espécies são mais reativas com moléculas orgânicas nucleofílicas, pelo fato de o ligante aquo ser melhor grupo abandonador do que o ligante cloreto.^{[10], [16]} Essas

reações de substituição associativa na cisplatina ocorrem intracelularmente uma vez que a concentração de íons cloretos no plasma é 100 mM/L enquanto no interior da célula esta concentração é de 2 a 30 mM/L.^{[10], [11], [16]}

A cisplatina tem como alvo principal o DNA nuclear, entretanto pode-se ligar também ao DNA mitocondrial.^{[10], [11], [16]} Este é uma macromolécula constituída por nucleotídeos em duplas fitas antiparalelas. Nucleotídeos são compostos por uma base nitrogenada que pode ser púrica (citosina e timina) ou pirimídica (adenina e guanina), figura 3, um açúcar (desoxirribose) e um grupo fosfato. A estrutura completa de um nucleotídeo está representada na figura 4. As duas fitas antiparalelas são unidas através das ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas gerando a estrutura da dupla fita do DNA, figura 5.^[19]

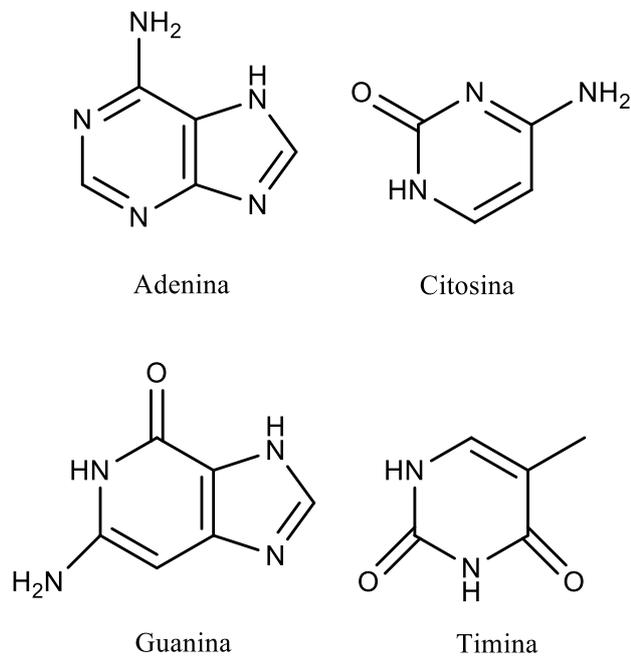


Figura 3: Bases nitrogenadas no DNA.

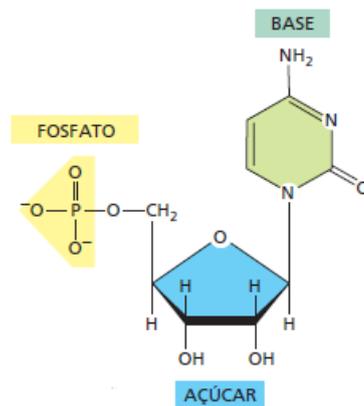


Figura 4: Exemplo estrutural de um nucleotídeo. O grupo fosfato, a pentose (açúcar) e a base nitrogenada, que pode ser adenina, citosina, guanina ou timina.^[19]

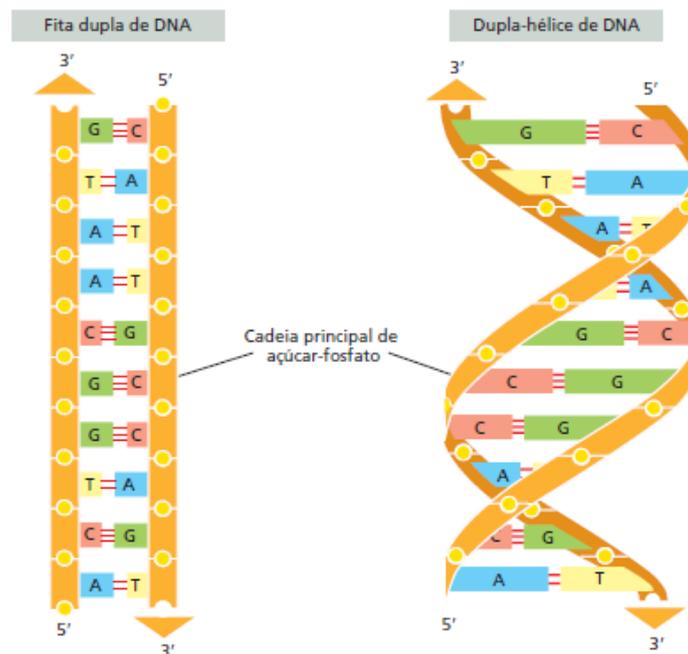


Figura 5: Fita dupla de DNA unidas através das ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas. G= guanina, C= citosina, A= amina e T= timina.^[19]

Após adentrar na célula entre 5 e 10% da cisplatina se liga à macromolécula de DNA, enquanto outros 75-85% interagem com biomoléculas sulfuradas como a glutatona, sendo esta o alvo intracelular secundário da cisplatina.^[10]

A platina se liga preferencialmente às bases nitrogenadas adenina e guanina através do N⁷ do anél imidazol destas localizados na dupla hélice no sulco principal. Esta região é mais nucleofílica e acessível para a coordenação.^{[10], [11], [16]} A cisplatina pode se ligar a duas bases nitrogenadas, porém em alguns casos ela se coordenada a apenas uma. A interação intrafita entre guaninas adjacentes ocorre em maior quantidade, seguida pela interação intrafita entre

guanina e adenina adjacentes, entre guaninas não adjacentes e por último uma ligação monofuncional à guanina com ou sem uma proteína no ambiente celular ou mesmo de modo interfita entre bases nitrogenadas.^{[10], [11], [16]} Ao se ligar de modo intrafita às bases nitrogenadas do DNA, este sofre distorção, desestabilizando sua hélice e suas funções como transcrição e replicação, desencadeando o processo de necrose e apoptose.^{[10], [11], [16], [20]} Os modos como a cisplatina se liga ao DNA é mostrado na figura 6 abaixo.

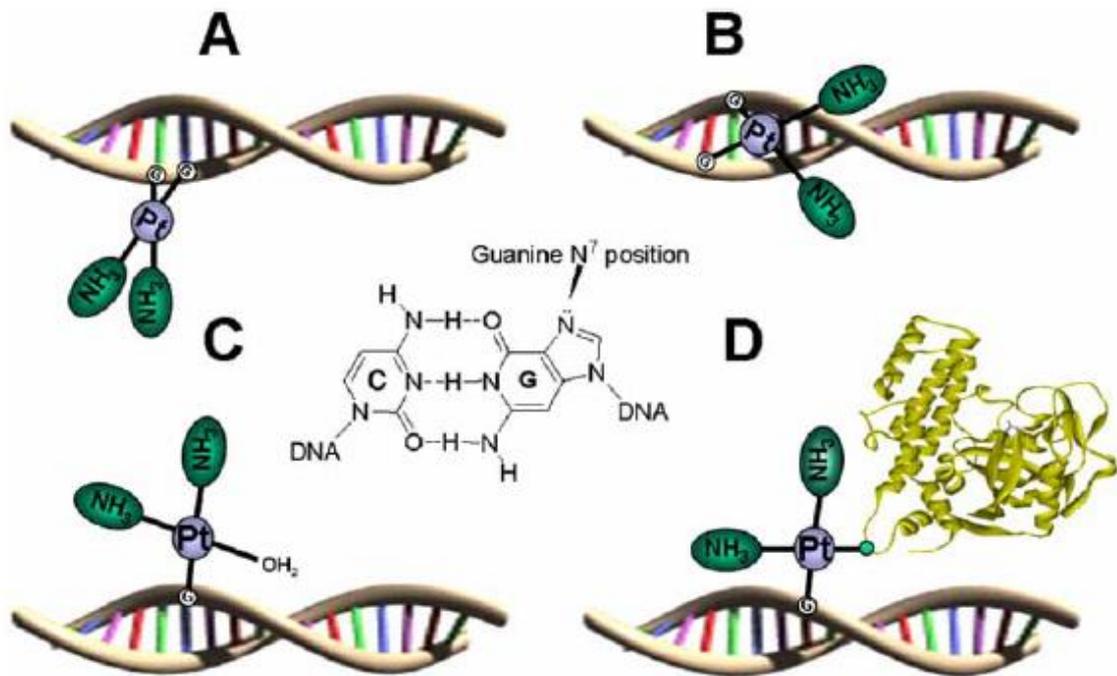


Figura 6 : A) Ligação intrafita entre guaninas adjacentes; B) Ligação interfita; C) Ligação monofuncional à guanina D) Ligação ao DNA e a uma proteína.^[10]

1.3 Problemas no tratamento quimioterápico com a cisplatina

O tratamento quimioterápico antitumoral a base de cisplatina, apesar de eficaz, apresenta efeitos colaterais como nefrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade, náuseas e vômitos.^{[10], [20], [21]} Também pode-se citar que a cisplatina tem pouca solubilidade em água, o que faz com que sua administração seja intravenosa, um grande inconveniente ambulatorial.^[10] Além destes problemas o tratamento a base de cisplatina pode enfrentar problemas de resistência inata ou adquirida.^{[10], [11], [16]}

A resistência à cisplatina se deve ao fato de as células cancerosas desenvolverem ou possuírem mecanismos inatos que dificultam a interação com o DNA, diminuição do uptake celular e alterações nos processos de apoptose. Alguns exemplos destes mecanismos são a

dificuldade no seu transporte, coordenação da cisplatina a espécies sulfuradas, absorção reduzida, reparo do DNA e mutações nos genes associados às vias apoptóticas.^{[10], [16], [20], [22]}

O principal transportador da membrana plasmática envolvido no influxo da cisplatina é o CTR1 responsável pela homeostase de cobre. Quando a cisplatina e o cobre apresentam concentrações relevantes ocorre a desregulação da expressão do CTR1 o que dificulta a absorção do fármaco pela célula ao longo do tratamento.^[20] A *ATP7B* (uma *ATPase* que também regula a homeostase de cobre) está associada ao efluxo da cisplatina, portanto, sendo um mecanismo de resistência.^[10] Estes são exemplos que a absorção da cisplatina por parte das células cancerígenas se reduz ao longo do tratamento quimioterápico.

Após atravessar a membrana citoplasmática, a coordenação da cisplatina a átomos de enxofre de glutatona ou metalotioneínas antes da ligação à macromolécula de DNA pode causar a inativação do fármaco.^{[10], [16], [20]} Quando a cisplatina se liga a proteínas, as funções metabólicas destas podem ser comprometidas, tornando-se também um efeito citotóxico, como por exemplo a ligação do complexo a metionina ou histidina da ubiquitina.^{[10], [16]} Quando a cisplatina se complexa com peptídeos contendo enxofre, como o tripeptídeo glutatona, processo este catalisado pela enzima Glutathione S-transferase dentro da célula cancerígena, o composto se torna mais aniônico favorecendo seu efluxo para o ambiente plasmático via a bomba GS-X, MRP1 e MRP2. Este processo aumenta o efluxo da cisplatina, podendo ser considerado como outro mecanismo de resistência resultado da baixa absorção.^{[16], [20]}

No ambiente celular existem proteínas denominadas “proteínas de reconhecimentos de danos” que reparam as lesões que o DNA sofre. O reparo por excisão de nucleotídeos, NER (Nucleotide Excision Repair), é um importante mecanismo de resistência, especialmente quando a cisplatina está coordenada a duas bases nitrogenadas adjacentes.^{[16], [20]} O NER com o auxílio da molécula de ATP reconhece a torção no DNA e retira a região lesionada. A lacuna é então completada pela DNA polimerase. O DNA da célula tumoral permanece saudável e a apoptose não ocorre.^[16]

Os danos ao DNA têm como objetivo levar a célula à apoptose. Entretanto, as células cancerosas podem apresentar mutações em genes responsáveis pelas proteínas envolvidas nas vias apoptóticas. Portanto, qualquer interferência resultando em anulação dos sinais das vias apoptóticas pode representar um mecanismo de resistência à cisplatina.^[16]

Devido a essas limitações encontradas no tratamento quimioterápico da cisplatina, surgiu a necessidade da busca de novos complexos metálicos análogos da cisplatina ou de outros

metais com atividades biológicas, porém com menores efeitos colaterais e mecanismos de resistência.^{[9], [15], [23]–[26]}

Entretanto a utilização da cisplatina combinada com fármacos como bleomicina e etoposide é feita nos dias de hoje em pacientes apresentando câncer de testículo podendo chegar a 90% de taxa de cura.^[27]

1.4 Complexos metálicos inspirados na Cisplatina

O átomo de platina na cisplatina apresenta número de oxidação 2, configuração d^8 fazendo com que o complexo apresente geometria quadrática plana. O interesse por complexos derivados da cisplatina, como a carboplatina e oxaliplatina, citados na seção 1.1, e complexos de Au^{III} e Pd^{II} é baseado nesta semelhança estrutural, almejando-se então mecanismos citotóxicos equivalentes.^{[28]–[31]} Entretanto é importante mencionar que similaridade na estrutura do composto poderá implicar no mesmo mecanismo citotóxico como também no mesmo mecanismo de resistência.^[32] Em relação a cisplatina, a carboplatina apresenta menores efeitos colaterais porém possui atividade antitumoral menor e a oxaliplatina apresenta a toxicidade limitante de neurotoxicidade porém sofre menor resistência das células cancerosas.^[33]

Compostos de Au^{III} têm grande reatividade com proteínas celulares desencadeando processos pro-apoptóticos mediados por funções mitocondriais o que os caracterizam como potenciais agentes citotóxicos e antitumorais. Seus mecanismos de citotoxicidade são diferentes da cisplatina, que tem o DNA como alvo biológico principal.^[32] Complexos de Au^{III} coordenados a derivado de piperazina apresentaram atividade antitumoral através do aumento do estresse oxidativo em tais células. Isso foi explicado pela interação destes complexos com a selenoenzima antioxidante tioredoxina redutase TrxR, que regula a concentração intracelular de espécies reativas de oxigênio, ROS, e como consequência a apoptose de tais células.^{[29], [34]} Complexos de Au^{III} coordenados a peptidomiméticos (Figura 6) que se ligaram a transportadores de peptídeos e tiveram como alvos celulares PARP-1 (poli ADP-ribose polimerase) e proteassoma, levando células tumorais à apoptose fazendo com que esta atividade antiproliferativa seja comparável ou superior à cisplatina.^{[24], [25]} Compostos de Au^{III} coordenados a derivado de tetrahydroisoquinolina, que isolado possui atividade antitumoral, causaram danos a membrana mitocondrial, gerando um número maior de ROS e como

consequência levando as células cancerosas à apoptose, incluindo células resistentes a cisplatina, figura 7.^{[35], [36]}

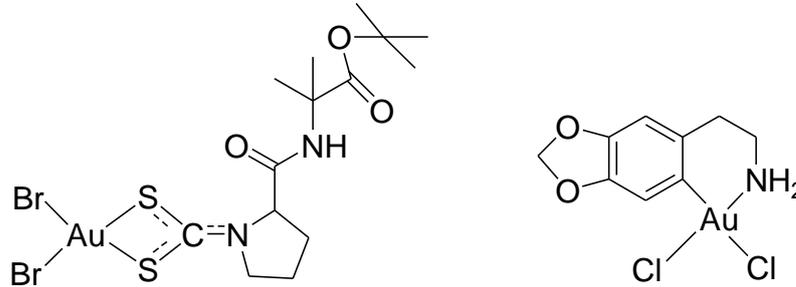


Figura 7: Complexos de Au^{III} coordenado a um peptidomimético e ao derivado tetrahydroisoquinolina ^{[24], [35]}

Devido ao seu potencial de redução alto e baixa estabilidade, os compostos de Au^{III} são reduzidos a Au^I em ambientes fisiológicos. Entretanto, a estabilidade de complexos de Au^{III} é aumentada quando tais íons se encontram coordenados a ligantes contendo átomos de nitrogênio como grupo doadores de elétrons.^[37]

Complexos de Au^I são lineares e apresentam configuração eletrônica d¹⁰.^[12] A auranofina, mostrada na figura 8 foi aprovada na década de 1980 para o tratamento de artrite reumatoide, porém, sua utilização foi reduzida devido a muitos efeitos colaterais como problemas gastrointestinais, irritações ou erupções cutâneas, estomatite, ulcerações na boca, conjuntivite e proteinúria.^{[12], [34]} Entretanto a auranofina apresenta-se como promissora no tratamento terapêutico de alguns tipos de câncer, infecções parasitárias, infecções bacterianas, HIV e doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer.^{[12], [34]} O mecanismo anticancerígeno da auranofina se dá pela inibição da TrxR e do sistema ubiquitina-proteassoma e estes mecanismos tem como consequência a apoptose.^[34]

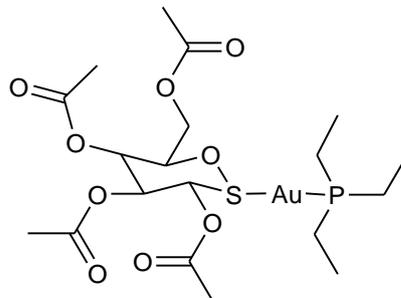


Figura 8: Estrutura da auranofina

Compostos de Pd^{II} foram largamente preparados e se mostraram ativos em diversas estruturas (figura 9). Complexos de paládio coordenados a derivados de bases de Schiff interagiram com o DNA e apresentaram atividades anti-inflamatórias^{[30], [38]}; coordenados a derivados de tiazol apresentaram atividades antitumorais contra linhagens de adenocarcinoma e também atividades anti-inflamatórias^[28]; coordenados a derivados de pirazol aumentaram a atividade de enzimas antioxidantes^[31]; e coordenados a derivados de adamantano interagiram fortemente com o DNA.

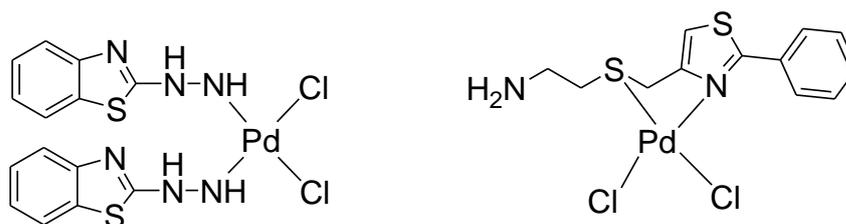


Figura 9: Complexos de Pd^{II} com base de Schiff e um derivado de tiazol ^{[28], [38]}

Complexos de Pt^{IV} possuem geometria octaédrica e podem funcionar como pro-fármaco, ou seja, se reduzem em ambientes celulares e então apresentar mecanismos citotóxicos como Pt^{II}. Foi relatado na literatura a síntese de complexos de Pt^{IV} biotinilados que exibiram atividades antitumorais contra linhagens de células cancerígenas resistentes a cisplatina. No ambiente biológico, o complexo de Pt^{IV} foi reduzido para sua forma ativa na presença de espécies redutoras, como glutatona e ácido ascórbico.^[39]

1.3 A importância dos ligantes

A síntese de novos complexos metálicos que apresentem atividades antitumorais e menores efeitos colaterais e de resistência é um desafio que depende tanto da espécie metálica quanto dos ligantes orgânicos ou inorgânicos. A importância dos ligantes se dá pelos efeitos de sinergismo, labilidade, pelo caráter hidrofílico e hidrofóbico, efeito estérico, dentre outros.^[37]

Ligante e metal podem ou não apresentar propriedades biológicas isoladamente. Estas propriedades podem ser potencializadas, melhoradas ou mesmo criadas após a complexação. O complexo gerado pode possuir uma melhor atividade ou seletividade, além de menores efeitos colaterais em relação às espécies que o originaram. Isto apresentado exemplifica o efeito de sinergismo.^{[15], [40]}

Pode-se citar dois ligantes com atividades biológicas, oxadiazol e piperazina. Derivados de 1,3,4-oxadiazol têm a capacidade de inibir a telomerase, a metionina aminopeptidase 2, a

timidina fosforilase das células cancerosas e ativadores de STAT3.^{[41]–[45]} Derivados de piperazina são capazes de inibir a proteína quinase dependente de DNA e da enzima topoisomerase do tipo 2.^{[46], [47]} Os ligantes podem modular o caráter hidrofílico e hidrofóbico do complexo como um todo, por exemplo, foi relatado que complexos coordenados a ligantes com cadeias alquílicas extensas são mais lipofílicos, conseguem adentrar-se com mais facilidade nas células e por isso são mais citotóxicos.^[48] Com isso é possível estabelecer uma relação direta entre a proporção lipofilia/hidrofilia do complexo formado e sua citotoxicidade.

1.5.1 Oxadiazol

Oxadiazóis são heterocíclicos de cinco membros contendo um átomo de oxigênio e dois de nitrogênio. Dependendo da posição dos átomos de nitrogênio, os oxadiazóis podem ocorrer na forma de 4 isômeros diferentes: 1,2,3-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol, figura 10.^[49]

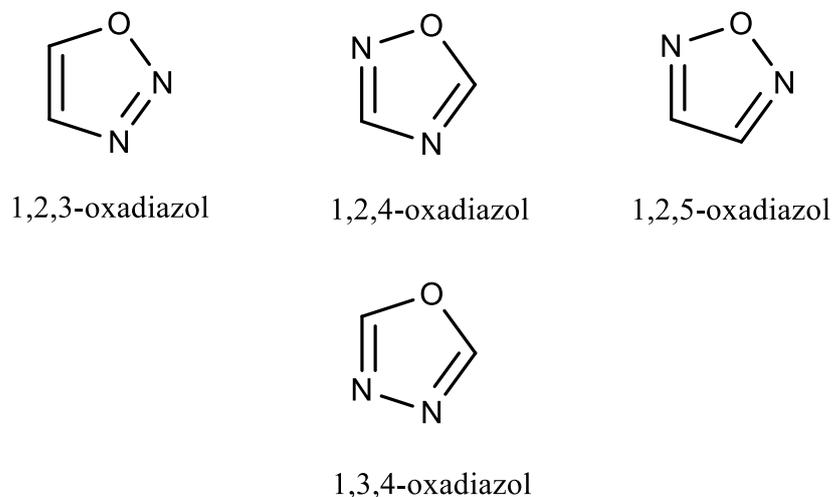


Figura 10: Isômeros do oxadiazol^[49]

Os compostos 1,2,4-oxadiazol, 1,3,4-oxadiazol^{[49], [50]} e 1,2,5-oxadiazol possuem atividades biológicas. Já o composto 1,2,3-oxadiazol é muito pouco utilizado devido a sua instabilidade.^[49]

O primeiro isômero sintetizado e tendo suas atividades biológicas determinadas foi o 1,2,4-oxadiazol no início dos anos 1940. Este isômero apresentou propriedades biológicas como anticancerígena, anti-inflamatória, antiviral, anticonvulsivante, antibacteriano, antifúngico, antidepressivo, antiangiogênico, analgésico, anti-insônia, anti-edema,

antiparasitário e anti-Alzheimer. Posteriormente a isso, alguns medicamentos foram comercializados contendo este composto como Oxolamina e Prenoxdiazina que são usados como supressores da tosse, Butalamina que é um vasodilatador, Fasiplon que é um medicamento ansiolítico, Pleconaril que é um medicamento antiviral, Ataluren que é utilizado para distrofia muscular e Proxazol que é utilizado para distúrbios gastrointestinais.^[49] Tais compostos podem ser vistos na figura 11.

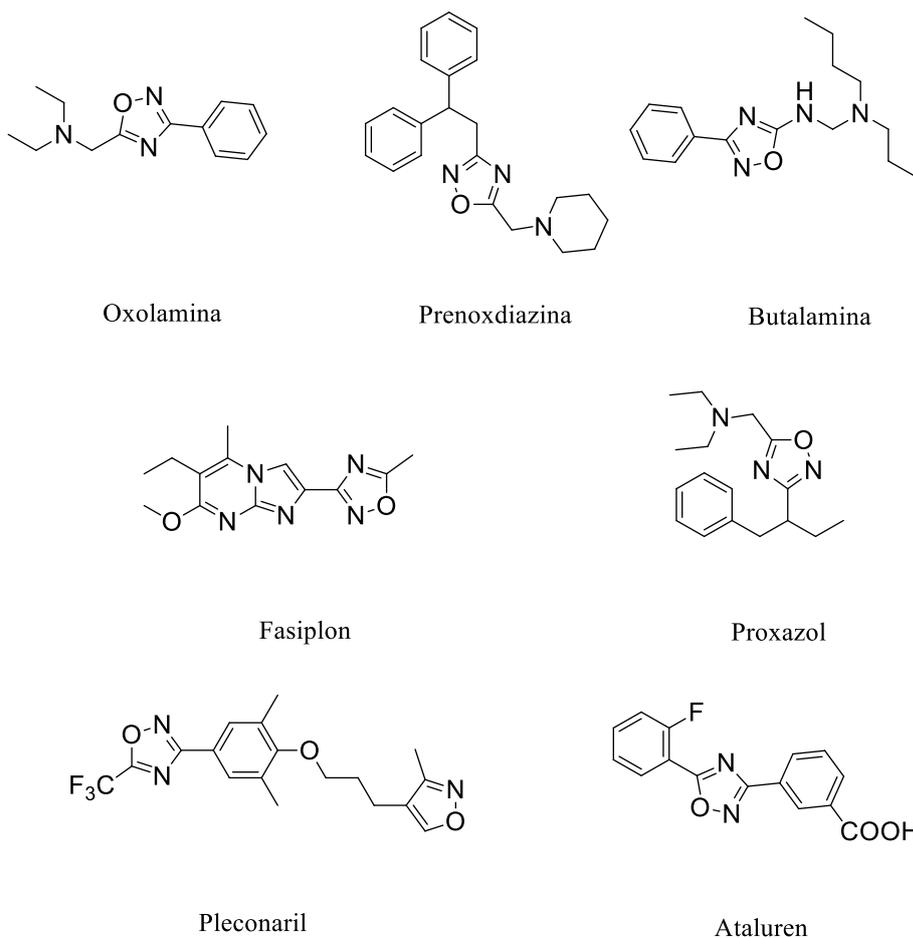


Figura 11: Medicamentos contendo 1,2,4-oxadiazol^[49]

Uma importância científica maior tem sido dada ao isômero 1,3,4-oxadiazol e seus derivados que possuem atividades biológicas como anticancerígeno (inclusive contra a leucemia e contra câncer gástrico) antiparasitário, antifúngico, antibacteriano, antidepressivo, antituberculoso, anti-inflamatório e atividades anti-HIV.^{[41]–[45], [49], [51]}

Estudos verificaram que derivados lipofílicos de 1,3,4-oxadiazol foram mais citotóxicos em relação a suas atividades anticancerígenas.^[50]

1.5.2 Piperazina

A piperazina é uma diamina cíclica não aromática de seis membros tendo os átomos de nitrogênio nas posições 1 e 4, como é mostrado na figura 12.

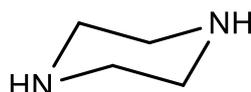


Figura 12: Estrutura da piperazina

Derivados da piperazina contendo anel de tiofeno^{[46], [52]} e outros grupos funcionais apresentaram atividade citotóxica frente a linhagens celulares de *Mycobacterium tuberculosis*.^{[46], [52]} Nessa classe de compostos contendo vários grupos funcionais, as atividades antituberculares se deve em maior parte ao anel de piperazina.^[46]

As fluorquinolonas são uma classe de compostos que apresentam a piperazina em sua constituição. Esta diamina influencia a atividade antibacteriana e as propriedades farmacocinéticas do composto como um todo. Alguns antibióticos e antibacterianos vendidos comercialmente são constituídos a base de fluorquinolonas, como a norfloxacin, enoxacin e ciprofloxacina. Foi citada na literatura que estes compostos também apresentam atividade anticancerígena.^[47]

1.6 Complexos metálicos com derivados de oxadiazol e piperazina

Já foram citados alguns complexos na literatura nos quais a espécie metálica como Au^I e Au^{III}, Pt^{II} e Pd^{II} se complexa a derivados de oxadiazol.^{[23], [40]} Por exemplo, complexos de Au^I coordenados a derivados de oxadiazol apresentaram atividade anticancerígena e antileishmania^[40] e complexos de Pd^{II} e Pt^{II} coordenados ao mesmo ligante conseguiram interagir com o DNA.^[23]

Foram relatados também complexos metálicos de Au^{III} coordenados a derivados de piperazina, como as fluorquinolonas, de forma bidentada através dos átomos de nitrogênio, o

que é considerado raro, figura 13. Tais complexos apresentaram interação com BSA e DNA e em relação as atividades biológicas, foram mais ativos que os ligantes livres.^[53]

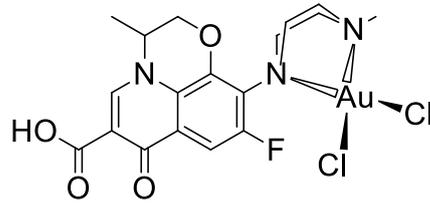


Figura 13: Complexo de Au^{III} coordenado à fluoroquinolona levofloxacina^[53]

Complexos de Pt^{II} e Pd^{II} coordenados a derivados da fluorquinolonas apresentaram atividades biológicas contra linhagens celulares de *Mycobacterium tuberculosis*, sendo que os primeiros também apresentaram atividades antitumorais superiores a cisplatina.^{[54], [55]} Foi apresentado também a coordenação do átomo de platina com de forma bidentada com os átomos de nitrogênio da piperazina.^[54]

Diante das informações apresentadas é importante a utilização de moléculas funcionalizadas com grupos favoráveis a complexação com átomos de Pt^{II}. A importância se dá também em termos de atividades biológicas e afinidade com a membrana celular. Em função disso, apresenta-se na figura 14, um dos ligantes que compõem uma série de compostos utilizados neste trabalho.

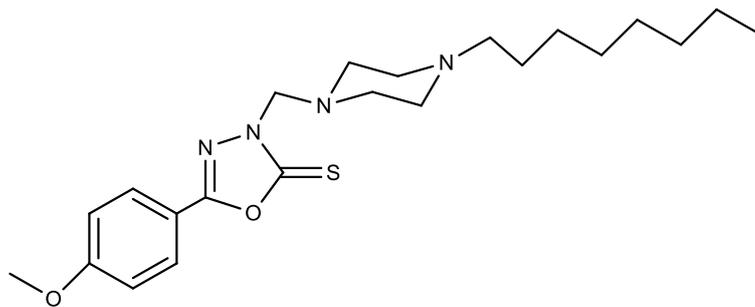


Figura 14: Fórmula estrutural do 1,3,4- Oxadiazol-2(3H) - tiona, 5-(4-metoxifenil) - 3-[(4-octil-1-piperazinil) metil]

O composto 1,3,4- Oxadiazol-2(3H) - tiona, 5-(4-metoxifenil) - 3-[(4-octil-1-piperazinil) metil] apresenta o grupo piperazina e um derivado de 1,3,4-oxadiazol. As cadeias alquílicas bem como o grupo metoxifenil têm a importância de modular o caráter lipofílico e hidrofílico do ligante e do complexo obtido após a reação de complexação. Este composto apresenta regiões favoráveis a complexação com átomos de Pt^{II} através dos átomos de enxofre e nitrogênio, pois

ácidos moles se complexam com maior facilidade às bases moles neste caso o enxofre e às bases intermediárias, o nitrogênio.^{[23], [40], [56], [57]}

Para os complexos de Pt^{II} e a complexação poderá ser monodentada, bidentada ou tridentada. Os sítios possíveis de coordenação são os átomos de nitrogênio do anel piperazina e o átomo de enxofre do anel oxadiazol.

Já foram relatados na literatura a síntese e o estudo antitumoral deste composto orgânico e seus derivados. Os derivados mais lipofílicos apresentaram maiores atividades antitumorais. O composto ilustrado acima, figura 13, com doze átomos de carbono na cadeia alquílica, apresentou atividade antitumoral considerável, por exemplo, apresentou os valores de IC₅₀ em relação a linhagem celular CT26.WT igual a $1.6 \pm 0.7 \mu\text{M} \pm \text{SD}$.^[50]

Diante das informações apresentadas, é interessante a síntese de complexos de Pt^{II} inéditos contendo ligantes derivados do 1,3,4-oxadiazol e piperazina almejando compostos bioativos e a avaliação da relação estrutura-atividade advinda da variação na cadeia carbônica.

2. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é sintetizar complexos de platina (II) contendo ligantes que possuem os grupos funcionais 1,3,4-oxadiazol e piperazina, investigar suas atividades biológicas em células tumorais bem como da suas interações com a BSA e ct-DNA.

2.1 Objetivos específicos

- Sintetizar três complexos de platina (II) contendo os ligantes derivados de 1,3,4-oxadiazol e piperazina-N-alquilada.
- Caracterizar os complexos obtidos por: espectroscopia na região do infravermelho; espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C e ¹⁹⁵Pt; espectrometria de massas; análise elementar e análise termogravimétrica.
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* dos ligantes e complexos obtidos frente às linhagens de células tumorais e uma linhagem não-tumoral.
- Avaliar a capacidade de interação dos compostos com albumina através das constantes de ligação.

3. Parte experimental

3.1 Métodos instrumentais

3.1.1 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

Os espectros de infravermelho dos ligantes e dos complexos sintetizados foram obtidos no espectrometro Perkim Elmer FTIR BX no departamento de Química da UFMG. Foram utilizadas pastilhas de KBr e a aquisição dos espectros foi realizada na faixa de 4000-400 cm^{-1} . Os espectros foram analisados utilizando o software Origin 2018.

3.1.2 Espectroscopia Vibracional RAMAN

As análises foram realizadas em um espectrômetro Senterra da Bruker. Foi utilizado um laser de 633 nm com potência de 10 mW e um microscópio óptico, OLYMPUS BX51 com a objetiva de 50X no departamteno de Química da UFMG. Foram feitas cinco leituras de cada amostra para avaliar a sua homogeneidade com tempo de 5s. Foi feita uma média dos cinco espectros obtidos de cada amostra resultando em um espectro por análise. Os espectros obtidos foram analisados utilizando o software Origin 2018.

3.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espéctros de RMN de ^1H e ^{13}C dos ligantes foram realizadas no equipamento Bruker Advance DRX 400 e Bruker AVANCE NEO 600 com frequência de 400 MHz e 600 MHz, utilizando CDCl_3 e/ou $\text{DMF-}d_7$ como solventes, no LAREMAR-UFMG. A análise de RMN de ^{195}Pt foi realizada no equipamento Avancer III HD BRUKER 500 MHz, utilizando o solvente CDCl_3 no departamento de química da UFJF. Os espectros foram analisados utilizando o software MestReNova.

3.1.4 Análise Termogravimétrica

As análises termogravimétricas foram realizadas no equipamento DTG-60 Shimadzu no departamento de química da UFMG. Foi utilizado cadinho de alumina, atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, da temperatura ambiente até $600\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os termogramas foram analisados utilizando o software Origin 2018.

3.1.5 Espectrometria de Massas

Os espectros foram obtidos em um espectrômetro de massas do tipo MALDI-TOF (Auto-Flex III, Bruker Daltonics), usando calibração em modo refletor e utilizando ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico como matriz. Foi utilizado laser de nitrogênio com energia de 337 nm no modo positivo e acumulação fixa de 400 varreduras na faixa de razões m/z 400 a 800. As análises foram realizadas no Laboratório de Proteômica no ICB, UFMG. Os espectros obtidos foram analisados utilizando o software mMass.

3.1.6 Condutividade

A condutividade molar foi determinada utilizando um condutivímetro Digimed modelo DM 31 e soluções dos complexos de 1×10^{-3} mol/L em DMF. O condutivímetro foi calibrado com a solução padrão de KCl 1×10^{-2} mol/L.

3.1.7 Análise Elementar

As análises elementares de H, C e N dos complexos sintetizados foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP utilizando equipamento Perkin Elmer 2400 series II.

3.1.8 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-vísivel

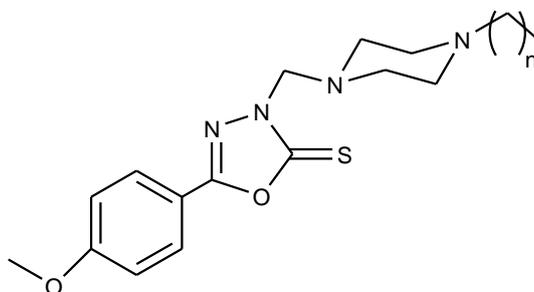
Os espectros de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível foram obtidos no equipamento Shimadzu UV-1601PC em cubetas de quartzo de caminho ótico de 1 cm no

departamento de química da UFMG. Para cada análise, foi adicionado 50 μL da solução de cada composto em uma concentração de $2,43 \times 10^{-3}$ mol/L. A análise foi feita de 200 a 600 nm.

3.2. Síntese

3.2.1. Ligantes

Os ligantes **a**, **b** e **c** foram sintetizados pelo grupo de pesquisa da professora Mara Rubia Costa Couri do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora.[50] A estrutura molecular dos ligantes é mostrada na figura 15. Os ligantes foram reavaliados por RMN de ^1H e ^{13}C , e espectroscopia na região do infravermelho para verificar sua pureza e integridade.



a, $n = 7$, 5-(4-metoxifenil)-3-((4-octilpiperazin-1-il) metil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tiona

b, $n = 9$, 3-((4-decilpiperazin-1-il) metil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tiona

c, $n = 11$, 3-((4-dodecilpiperazin-1-il) metil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tiona

Figura 15: Estrutura dos ligantes orgânicos utilizados.

3.2.2 Síntese dos complexos de platina(II)

Para a síntese dos complexos **1**, **2** e **3** foram utilizados 0,2 mmols (0,084 g) de K_2PtCl_4 solubilizados em 2 mL de água destilada. A esta solução foram adicionados 0,2 mmol dos respectivos ligantes **a** (0,0836 g) **b** (0,0892 g) e **c** (0,0948 g) solubilizados em 4 mL de metanol pre-aquecido a 40 °C para a completa solubilização. Após adição houve formação de precipitado amarelo e a reação permaneceu sob agitação e ao abrigo da luz por até 72h quando foi notado o consumo total dos reagentes. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), eluente: hexano e acetato de etila (7:3), revelador: UV e iodo. Os

complexos obtidos na forma de precipitado foram filtrados e lavados com água e metanol. O rendimento das sínteses foram: **1** (25,8%), **2** (60,9%) e **3** (53,1%). O esquema de síntese está representado na figura 16.

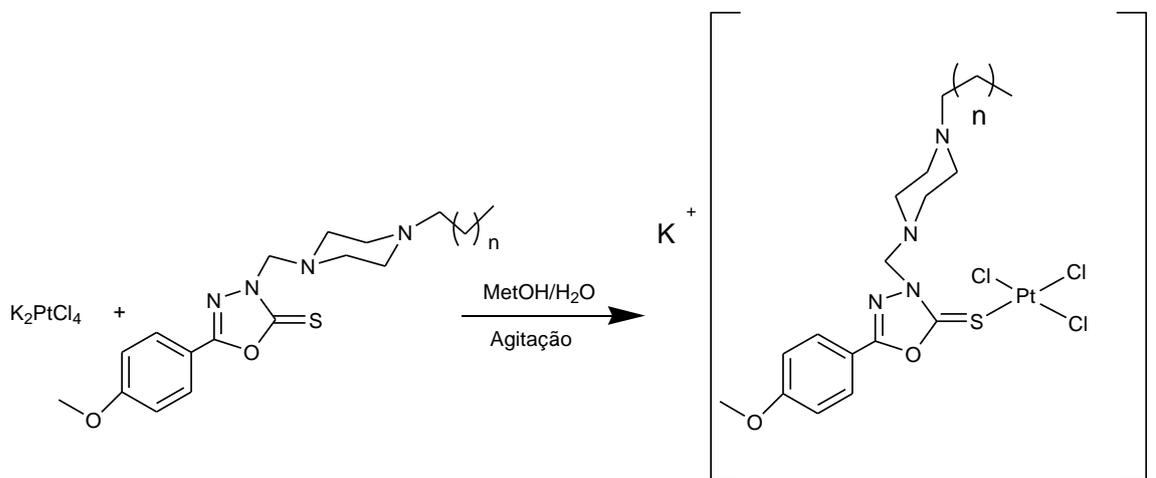


Figura 16: Esquema de síntese dos complexos **1** $n = 6$, **2** $n = 8$ e **3** $n = 10$

3.3 Estudos de citotoxicidade

Para determinação da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC_{50}), foram utilizadas as linhagens: B16-F1, melanoma murino; CT26-WT, carcinoma de cólon de camundongo; BHK-21, célula normal de rim de hamster. As células foram distribuídas em meio de cultura RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10% v/v, utilizando 1×10^3 células/poço/100 μ L em placas de 96 poços e foram devidamente incubadas a 37°C em atmosfera umedecida a 5% de CO_2 por 24 horas para ideal aderência.

Os ligantes e complexos foram avaliados em concentrações decrescentes (100 a 1 μM), a partir de soluções-estoque em DMF, em quadruplicatas e em dois experimentos independentes. Para controle negativo foi utilizado meio de cultura suplementado com 10% de FBS. Após a exposição das células por 72h aos compostos de investigação, as células foram incubadas com MTT (5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{poço}$) durante 4 horas. Após este período, todo o líquido sobrenadante foi removido por aspiração e foram adicionados 100 μL de DMSO/poço, sendo a viabilidade celular (proporcional à concentração dos sais de formazan - produto da redução mitocondrial do MTT nas células viáveis) determinada pela medida de absorbância a 570nm num espectrofotômetro de microplacas.^[58]

Os dados obtidos através dos ensaios de citotoxicidade foram normalizados considerando-se a viabilidade celular do controle negativo como 100%. Os valores de IC₅₀ foram calculados usando regressão não linear sobre os valores de concentração em escala logarítmica *versus* a porcentagem de viabilidade celular em cada concentração utilizando o software GraphPadPrism 8.

3.4 Estudos de interação com BSA por titulação espectrofotométrica

Uma solução de BSA foi preparada em tampão Tris-HCl (5×10^{-3} mol/L, pH 7,2 – 7,4). A concentração da solução de BSA foi determinada através da absorvância (A) em 280 nm obtida em cubeta de quartzo de caminho ótico (b) de 1 cm. Sabendo-se que a absorvidade molar (ϵ) da BSA em 280 nm é igual a $43824 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$ [59] e utilizando a lei de Lambert-Beer, onde $A = \epsilon bc$, a concentração encontrada (c) de BSA foi $4,56 \times 10^{-4}$ mol/L.

Na cubeta 1 foram adicionados 2000 μL do tampão Tris-HCl, com pH próximo a 7,4, e 50 μL da solução de BSA. Na cubeta 2 foi adicionada 2050 μL da solução tampão Tris-HCl, correspondendo ao branco. Foram feitas adições sucessivas às duas cubetas de 10 μL da solução de 1×10^{-3} mol/L de cada composto em DMF. Após cada adição as cubetas foram agitadas, com o objetivo de homogeneizar o seu sistema, durante 1 minuto. Foram feitas as análises de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível a cada adição dos compostos. O espectro obtido antes da primeira adição, ou seja, no momento que se encontravam apenas o tampão Tris-HCl e BSA na solução da cubeta, foi utilizado para encontrar o valor máximo de Absorbância bem como para as interpretações eletrônicas da BSA. Importante mencionar que para o complexo 2 foi utilizada a metade da concentração a fim de manter a absorbância referente em 280 nm menor que 1. As titulações espectrofotométricas foram realizadas no intervalo de 200 a 600 nm.

Os espectros obtidos foram ajustados de acordo com a equação 1, de Benesi-Hildebrand, o que possibilitou encontrar a constante de ligação, K_b , entre os compostos e BSA.

$$\frac{A}{A-A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} \chi \frac{1}{K_b [c]} \quad \text{Equação (1)}$$

Na qual A_0 e A são igual as absorbâncias do comprimento de onda estudado de BSA na ausência e presença do titulante respectivamente. Os termos ϵ_G e ϵ_{H-G} são os coeficientes de

absortividade molar da BSA e do aduto BSA-composto respectivamente e $[c]$ é igual a concentração do composto titulante.^[59]

Através do gráfico $\frac{A}{A-A_0}$ versus $1/[c]$ é traçada uma reta e o valor de K_b é igual ao

módulo da razão entre o coeficiente linear e coeficiente angular.

3.5 Estudos de interação com DNA por titulação espectrofotométrica

Preparou-se uma solução de ctDNA (DNA de timo de bezerro) em tampão Tris-HCl (5×10^{-3} mol/L, pH 7,2–7,4; 0,05 mol/L NaCl). A concentração da solução foi determinada espectrometria na região do Ultravioleta-visível, sabendo-se que a absortividade molar (ϵ) do DNA em 260 nm é igual $6600 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}^{[59]}$ e através da lei de Lambert-Beer, onde $A = \epsilon bc$, a concentração (c) de DNA foi igual a $1,23 \times 10^{-3}$ mol/L.

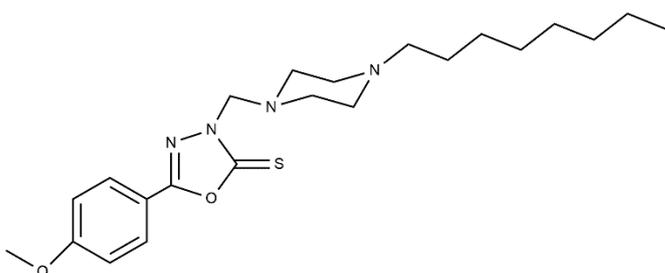
As titulações espectrofotométricas foram feitas no equipamento Espectrofotômetro Hitachi U-2010 utilizando cubetas de quartzo de caminho ótico de 1 cm no departamento de Química da UFMG. Na cubeta 1 foram adicionados 2000 μL do tampão Tris-HCl + NaCl, com pH próximo de 7,4, e 20 μL da solução de ctDNA. Na cubeta 2 foram adicionados 2020 μL da solução tampão Tris-HCl + NaCl, correspondendo ao branco. Foram feitas sucessivas adições de 10 μL às duas cubetas da solução de 10^{-3} mol/L das soluções dos complexos 1,2 e 3 em DMF. Após cada adição, as cubetas foram agitadas com o objetivo de homogeneizar seu sistema por 1 minuto e a análise do espectro de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível foi feita após 6 minutos. O espectro obtido antes da primeira adição, ou seja, o espectro de ctDNA foi utilizado com o objetivo da sua análise eletrônica. As titulações foram feitas no intervalo de 200 a 600 nm.

Os espectros obtidos foram tratados utilizando o software Origin 2018. Assim como na seção 3.4, foi utilizada a equação de Benesi-Hildebrand para determinar a constante de ligação, K_b , entre cada complexo e o ctDNA.^[59]

4. Resultados e discussões

Neste trabalho foram utilizados três ligantes derivados do 1,3,4-oxadiazol e piperazina N-alkilada, previamente obtidos, que tiveram sua integridade verificada por espectroscopia na região do infravermelho e por RMN de ^1H e ^{13}C . Foram sintetizados três complexos de platina inéditos (Figura 16) contendo estes ligantes a partir do sal de platina (K_2PtCl_4) em condições brandas e com rendimentos relativamente baixo para o complexo 1 e satisfatório para os complexos 2 e 3. Os complexos foram caracterizados por diferentes técnicas físico-químicas como IV, TG, RMN de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt , MS-MALDI, condutividade molar e análise elementar de C, H e N. Os resultados dessas análises estão listados abaixo e discutidos a partir do item 4.1.

Ligante **a**



Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$

Massa molar: 418,60 g/mol

Característica física: Sólido branco

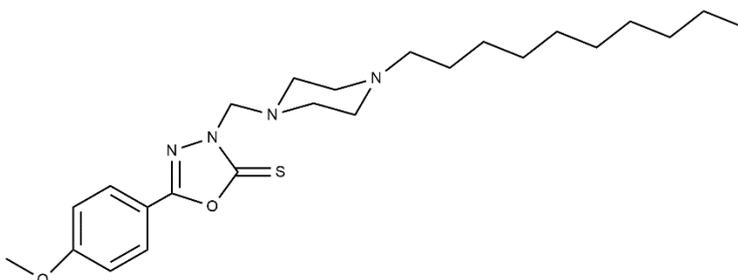
IV (cm^{-1}): 3064, 2926, 2050, 1624, 1510, 1452, 1426, 1372, 1316, 1256, 1028, 934, 838, 732, 692, 658.

RMN ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ (ppm)= 0,85 (t, 3H, R- CH_3 , $^3\text{J}=8$ Hz); 1,25 (m, 10H, R- $\text{CH}_2(5)$ - CH_3); 1,45 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(5)$ - CH_3), 2,32 (t, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(5)$ - CH_3 , $^3\text{J}=8$ Hz); 2,49 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17}); 2,91 (t, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17} , $^3\text{J}=8$ Hz); 3,87 (s, 3H, CH_3 -O-Ph); 5,06 (s, 2H, RN- CH_2 -NR); 6,96 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}=8$ Hz); 7,85 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}=8$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz; CDCl_3): δ (ppm)= 14,22 (R- CH_3); 22,77-31,94 (RN- CH_2 - C_6H_{12} - CH_3); 50,17 (RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17}); 53,16 (CH_3 -OPh); 55,65 (RN- CH_2 - C_7H_{15}); 58,83 (RN- CH_2 -

$\text{CH}_2\text{-NC}_8\text{H}_{15}$); 70,19 (RN- $\text{CH}_2\text{-NR}$); 114,73 (Ph); 114,86 (Ph); 128,50 (Ph); 159,16 (N=C(Ph)-O); 162,94 (Ph-OR); 178,07 (N-(C=S)-O).

Ligante **b**



Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$

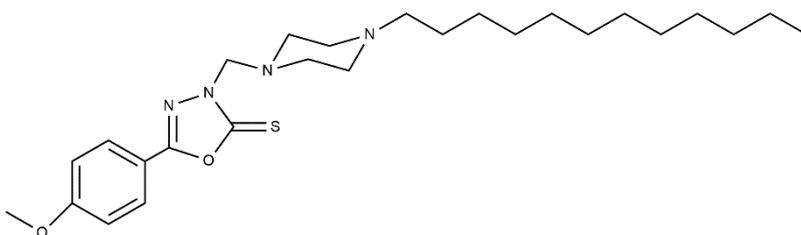
Massa molar: 446,65 g/mol

Característica física: Sólido branco

IV (cm^{-1}): 3060, 2920, 2850, 1624, 1510, 1452, 1426, 1374, 1316, 1258, 1028, 934, 836, 732, 692 e 658.

RMN ^1H (400 MHz; CDCl_3): δ (ppm)= 0,86 (t, 3H, R- CH_3 , $^3\text{J}= 8$ Hz); 1,24 (m, 14H, R- $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{-CH}_3$); 1,50 (m, 2H, RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}_8\text{H}_{17}$); 2,42 (t, 2H, RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C}_8\text{H}_{17}$, $^3\text{J}= 8$ Hz); 2,60 (m, 4H, RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NC}_{10}\text{H}_{21}$); 2,97 (t, 4H, RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NC}_{10}\text{H}_{21}$, $^3\text{J}= 8$ Hz); 3,86 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O-Ph}$); 5,06 (s, 2H, RN- $\text{CH}_2\text{-NR}$); 6,97 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}= 12$ Hz) 7,84 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}= 12$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz; CDCl_3): δ (ppm)= 14,23 (R- CH_3) 22,79-32,00 (R- $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{-CH}_3$); 49,73 (RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NC}_{10}\text{H}_{21}$); 52,93 ($\text{CH}_3\text{-OPh}$); 55,63 (RN- $\text{CH}_2\text{-C}_8\text{H}_{16}\text{-CH}_3$); 58,60 (RN- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NC}_{10}\text{H}_{21}$); 70,03 (RN- $\text{CH}_2\text{-NR}$); 114,71 (Ph); 114,79 (Ph); 128,51 (Ph); 159,23 (N=C(Ph)-O); 162,94 (Ph-OR); 178,04 (N-(C=S)-O).

Ligante c

Fórmula molecular: $C_{26}H_{42}N_4O_2S$

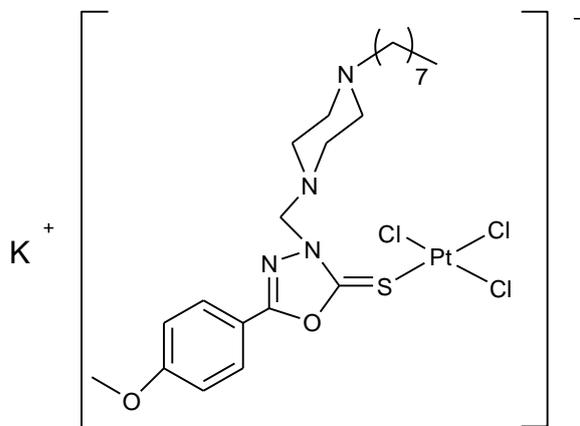
Massa molar: 474,70 g/mol

Característica física: sólido branco

IV (cm^{-1}): 3060, 2920, 2850, 1624, 1510, 1452, 1426, 1374, 1316, 1260, 1028, 934, 838, 732, 692 e 658.

RMN 1H (400 MHz; $CDCl_3$): δ (ppm)= 0,86 (t, 3H, R- CH_3 , $^3J= 8$ Hz); 1,23 (m, 18H, R- $C_9H_{18}-CH_3$); 1,51 (m, 2H, RN- $CH_2-CH_2-C_{10}H_{21}$); 2,42 (m, 2H, RN- $CH_2-CH_2-C_{10}H_{21}$); 2,60 (m, 4H, RN- $CH_2-CH_2-NC_{12}H_{25}$); 2,98 (m, 4H, RN- $CH_2-CH_2-NC_{12}H_{25}$); 3,87 (s, 3H, CH_3-O-Ph); 5,05 (s, 2H, RN- CH_2-NR); 6,98 (d, 2H, Ph, $^3J= 12$ Hz); 7,85 (d, 2H, Ph, $^3J= 12$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz; $CDCl_3$): δ (ppm)= 14, 24 (R- CH_3) 22,80-32,02 (R- $C_{10}H_{20}-CH_3$); 49,68 (RN- $CH_2-CH_2-NC_{12}H_{25}$); 52,92 (CH_3-OPh); 55,64 (RN- $CH_2-C_{10}H_{20}-CH_3$); 58,60 (RN- $CH_2-CH_2-NC_{12}H_{25}$); 70,02 (RN- CH_2-NR); 114,72 (Ph); 114,81 (Ph); 128,53 (Ph); 159,25 (N=C(Ph)-O); 162,97 (Ph-OR); 178,04 (N-(C=S)-O).

Complexo 1

Fórmula molecular: $\text{K}[\text{Pt}(\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2\text{S})\text{Cl}_3]$

Massa molar: 759,14 g/mol

Característica física: sólido amarelo

Ponto de Decomposição: 178°C

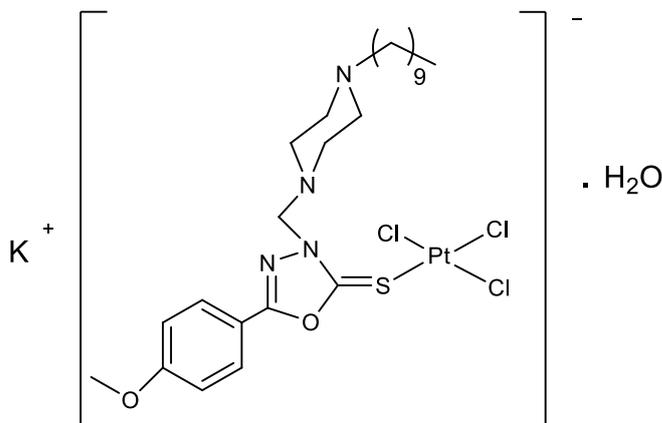
IV (cm^{-1}): 3450, 2928, 2854, 1614, 1504, 1442, 1342, 1308, 1258, 1028, 956, 836, 736, 700 e 640.

Raman (cm^{-1}): 1613,5; 1591,5; 1564,5; 1502,5; 1449; 1424,5; 1339,5; 1307; 1255,5; 1202; 1175; 1037; 1012; 997,5; 956,5; 799; 735,5; 689,5; 637,5; 537,5; 520; 480; 393,5; 76,5.

RMN ^1H (600 MHz; CDCl_3) δ ppm: 0,87 (t, 3H, R- CH_3 , $^3\text{J}= 6$ Hz), 1,25 (m, 10H, R- $\text{CH}_2(5)$ - CH_3), 1,55 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(5)$ - CH_3), 2,57 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(5)$ - CH_3), 2,98 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17}), 3,46 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17}), 3,83 (s, 3H, CH_3 -O-Ph), 3,83 (s, 2H, RN- CH_2 -NR), 6,93 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}= 6$ Hz), 7,86 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}=12$ Hz)

RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) δ ppm: 14,22 (R- CH_3), 22,69-31,90 (RN- CH_2 - C_6H_{12} - CH_3), 43,36 (RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{17}), 47,73 (RN- CH_2 - C_7H_{15}), 49,78 (RN- CH_2 - CH_2 - NC_8H_{15}), 55,58 (CH_3 -O-Ph), 58,20 (RN- CH_2 -NR), 114,56 (Ph), 115,39 (Ph), 128,54 (Ph), 162,66 (N=C(Ph)-O), 164,84 (Ph-OR), 169,78 (N-(C=S)-O).

MS (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Cl}-\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{N}_2]^+$ Calculado: 487,25; Encontrado: 487,49.

Complexo 2

Fórmula molecular: $\text{K}[\text{Pt}(\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2\text{S})\text{Cl}_3]\cdot\text{H}_2\text{O}$

Massa molar: 805,21 g/mol

Característica física: sólido amarelo

Ponto de Decomposição em 169 °C

IV (cm^{-1}): 3488, 3038, 2922, 2854, 1614, 1504, 1450, 1376, 1308, 1258, 1026, 956, 836, 734, 700 e 640.

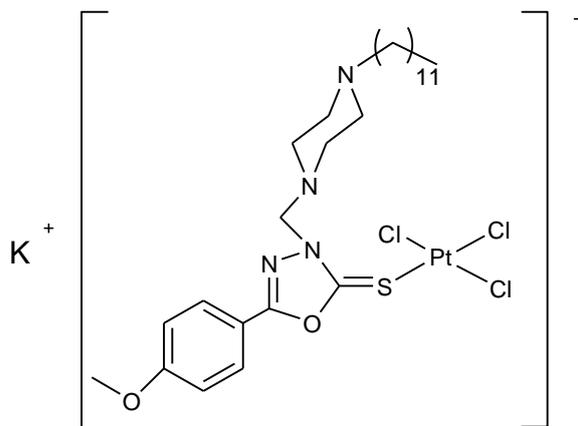
Raman (cm^{-1}): 1613; 1594,5; 1567,5; 1504; 1446,5; 1424; 1339; 1307; 1258; 1210; 1174,5; 1044,5; 1012,5; 1004; 955; 799; 735; 690; 638; 628,5; 537; 479,5; 405,5; 333,5; 76,5.

RMN ^1H (400 MHz; DMF- d_7) δ ppm: 0,87 (t, 3H, R- CH_3 , $^3\text{J}= 8\text{Hz}$), 1,26 (m, 14H, R- $\text{CH}_2(7)$ - CH_3), 1,84 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(7)$ - CH_3), 3,23 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{CH}_2(7)$ - CH_3), 3,51 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{10}\text{H}_{21}$), 3,62 (t, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{10}\text{H}_{21}$, $^3\text{J}= 12\text{Hz}$), 3,90 (s, 3H, CH_3 -O-Ph), 3,90 (s, 2H, RN- CH_2 -NR), 7,17 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}= 8\text{Hz}$), 7,91 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}= 8\text{Hz}$).

RMN ^{13}C (150 MHz; DMF- d_7) δ ppm: 14,56(R- CH_3), 23,88-32,66(R- C_8H_{16} - CH_3), 41,92 (RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{10}\text{H}_{21}$), 49,20 (RN- CH_2 - C_8H_{16} - CH_3), 52,18 (RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{10}\text{H}_{21}$), 56,42 (CH_3 -O-Ph), 58,04 (RN- CH_2 -NR), 115,84(Ph), 115,93(Ph), 129,22 (Ph), 163,64 (N=C(Ph)-O), 163,99 (Ph-OR), 171,57 (N-(C=S)-O)

MS (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Cl}-\text{C}_2\text{H}_6]^+$ Calculado: 683,58. Encontrado : 683,60

Análise Elementar: Calculado (% C= 35,80; % H=5,01 e % N= 6,96). Encontrado (% C=35,85; % H 4,64 e % N=7,54)

Complexo 3

Fórmula molecular: $\text{K}[\text{Pt}(\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_2\text{S})\text{Cl}_3]$

Massa molar: 815,24 g/mol

Característica física: sólido amarelo

Ponto de Fusão: Decomposição em 199 °C.

IV (cm^{-1}): 3468, 3040, 2920, 2852, 1614, 1504, 1442, 1378, 1308, 1258, 1028, 954, 836, 734, 700 e 640.

Raman (cm^{-1}): 1613,5; 1594,5; 1567,5; 1504,5; 1446,5; 1424,5; 1339,5; 1307; 1257; 1205,5; 1174,5; 1044; 1013; 955; 799; 735; 698,5; 679; 628,5; 535,5; 481,5; 405; 337; 79.

RMN ^1H (400 MHz; DMF- d_7) δ ppm: 0,87 (t, 3H, R- CH_3 , $^3\text{J}=4$ Hz), 1,27 (m, 18H, R- C_9H_{18} - CH_3), 1,74 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - C_9H_{18}), 3,49 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{12}\text{H}_{25}$), 3,49 (m, 4H, RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{12}\text{H}_{25}$), 3,64 (m, 2H, RN- CH_2 - CH_2 - C_9H_{18}), 3,86 (s, 3H, CH_3 -O-Ph), 3,90 (s, 2H, RN- CH_2 -NR), 7,17 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}=8$ Hz), 7,91 (d, 2H, Ph, $^3\text{J}=8$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz; DMF- d_7) δ ppm: 14,70 (R- CH_3), 23,53-32,81 (R- $\text{C}_{10}\text{H}_{20}$ - CH_3), 43,46 (RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{10}\text{H}_{21}$), 50,07 (RN- CH_2 - $\text{C}_{10}\text{H}_{20}$ - CH_3), 51,96 (RN- CH_2 - CH_2 - $\text{NC}_{12}\text{H}_{25}$), 56,50 (CH_3 -O-Ph), 58,38 (RN- CH_2 -NR), 115,79 (Ph), 116,01 (Ph), 129,31 (Ph), 164,03 (N=C(Ph)-O), 165,72 (Ph-OR), 170,50 (N-(C=S)-O)

RMN ^{195}Pt (125 MHz; CDCl_3) δ : -3041,67 ppm.

MS (MALDI): m/z $[\text{M}-\text{Cl}-\text{H}]^+$ Calculado= 739,69. Encontrado = 739,69

4.1 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

Foram obtidos espectros na região do infravermelho para os ligantes **a**, **b** e **c** e os respectivos complexos **1**, **2** e **3**. Os espectros dos ligantes são bastante semelhantes entre si, o que ocorre também nos complexos, e atentou-se aos números de onda das vibrações das ligações C-N, C=N e C=S que são os pontos prováveis de coordenação do metal.

A frequência de estiramento da ligação C=N ocorre próxima de 1624 cm^{-1} nos ligantes e 1614 cm^{-1} nos complexos. Enquanto da ligação C-N ocorre em 1316 cm^{-1} nos ligantes e 1308 cm^{-1} nos complexos. Com isso é possível sugerir que os ambientes químicos do anel de oxadiazol, da piperazina e das regiões adjacentes foram alterados após a complexação. Em especial a frequência de estiramento da ligação C=S que ocorre em 934 cm^{-1} nos ligantes e próximo de 954 cm^{-1} nos complexos, bem como a deformação angular da ligação C=S que ocorre nas frequências de 692 e 658 cm^{-1} nos ligantes e 700 e 640 cm^{-1} nos complexos. ^{[60]–[63]} O número de onda relacionado ao estiramento da ligação C=S foi maior nos complexos em relação aos seus respectivos ligantes. Através dessa informação é possível sugerir que o enxofre do anel de 1,3,4-oxadiazol se coordenou a platina após a reação de complexação. Esta hipótese pode se corroborada pelos dos dados dos espectros de RMN de ^{13}C .

As figuras 17, 18 e 19 mostram os espectros dos ligantes e seus respectivos complexos de platina(II).

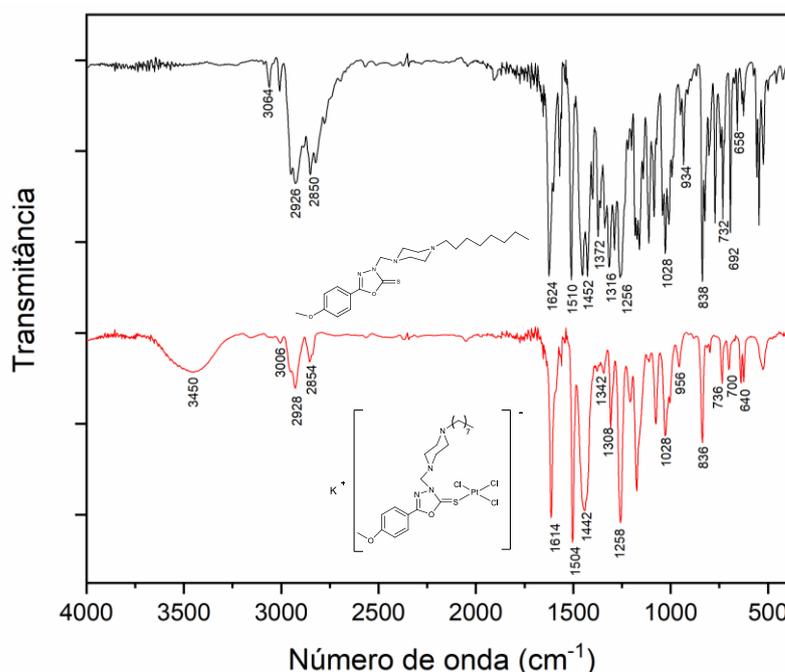


Figura 17: Comparação entre os espectros de IV do ligante **a** (—) e complexo **1** (—)

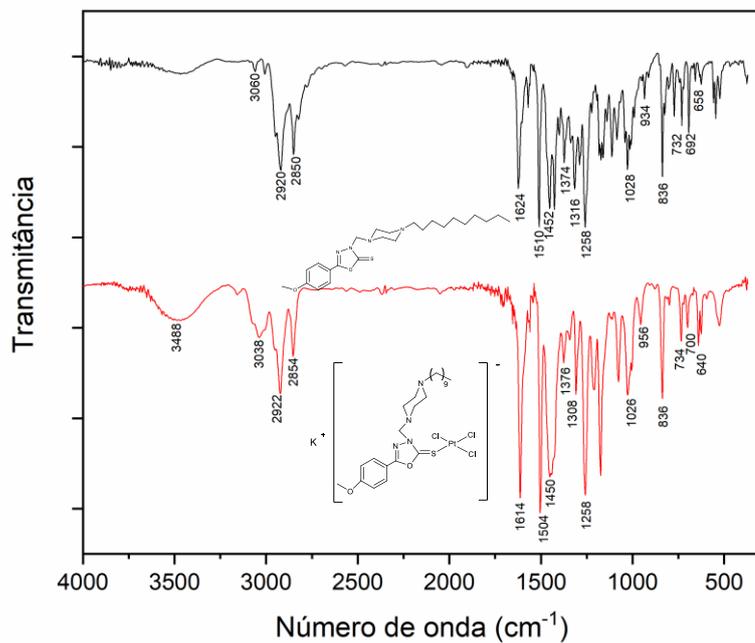


Figura 18 : Comparação entre os espectros de IV do ligante **b** (—) e complexo **2** (—)

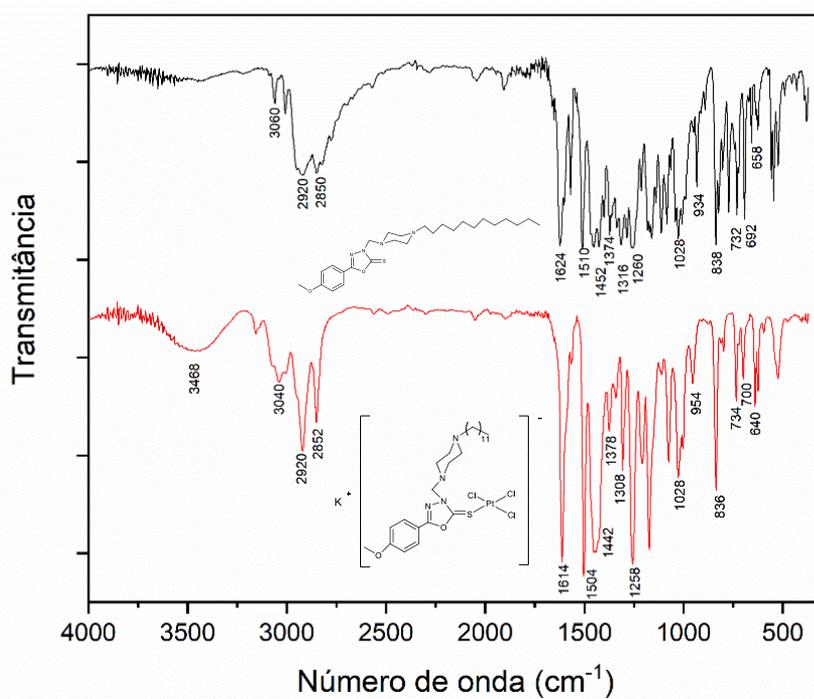


Figura 19 : Comparação entre os espectros de IV do ligante **c** (—) e complexo **3** (—)

Todas as atribuições das bandas observadas nos espectros dos ligantes e dos complexos na região do infravermelho estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1: Atribuição para as frequências de estiramento e deformação angular atribuídas no espectro de absorção na região do infra-vermelho para os ligantes **a**, **b** e **c** e os complexos **1**, **2** e **3**.

a	b	c	1	2	3	Atribuição
-	-	-	3450	3488	3468	ν O-H água/umidade
3064	3060	3060	3006	3038	3040	ν C-H sp^2
2926-2850	2920-2850	2920,2850	2928,2854	2922,2854	2920,2852	ν C-H sp^3
1624	1624	1624	1614	1614	1614	ν C=N
1510-1452	1510,1452	1510,1452	1504,1442	1504,1450	1504,1442	ν C=C _{Ar}
1372	1374	1374	1342	1376	1378	δ CH ₃
1316	1316	1316	1308	1308	1308	ν C-N
1256,1028	1258,1028	1260,1028	1258,1028	1258,1026	1258,1028	ν C-O éteres fenilalquílicos
934	934	934	956	956	954	ν C=S
838	836	838	836	836	836	δ C-H _{Ar} p-dissubstituído
732	732	732	736	734	734	δ (rocking) CH ₂
692,658	692,658	692,658	700,640	700,640	700,640	δ C=S

Nota: ν = estiramento; δ = deformação angular; Ar = aromático.

4.2 Espectroscopia Vibracional Raman

Os espectros Raman permitiram acessar informações estruturais dos compostos abaixo de 400 cm^{-1} . As vibrações das ligações de um metal e um ligante ocorrem em números de ondas baixos, então, se tratando da presente pesquisa que utilizou KBr como material suporte da análise de Infravermelho, tais vibrações só foram possíveis de serem analisadas através dos espectros Raman.

O espectro do complexo **1** apresenta uma banda em $393,5\text{ cm}^{-1}$ que pode ser atribuída à vibração da ligação Pt-S, resultado após a complexação da platina com o enxofre do anel de oxadiazol, e em $331,5$ que pode ser atribuída a vibração Pt-Cl. A banda referente a vibração Pt-S e Pt-Cl aparecem nos espectros dos complexo **2** e **3** em $405,5$ e $333,5\text{ cm}^{-1}$, e 405 e 337 cm^{-1} respectivamente.^{[64]–[66]}

As figuras 20, 21 e 22 mostram os espectros Raman dos complexos **1**, **2** e **3**.

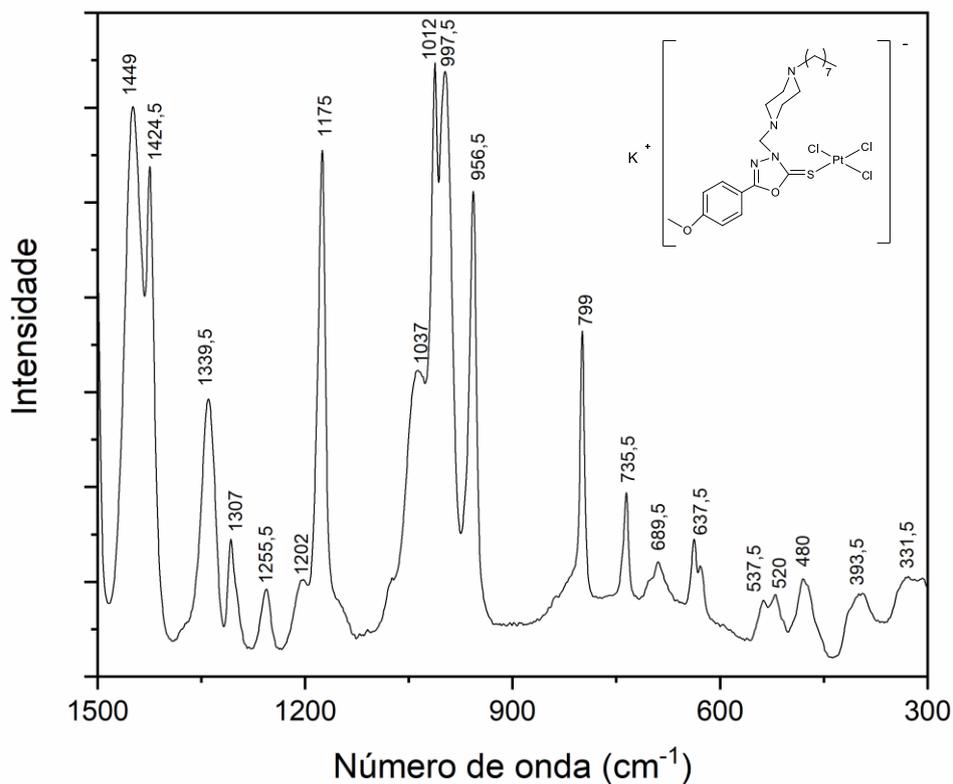


Figura 20 : Espectro Raman do complexo **1**

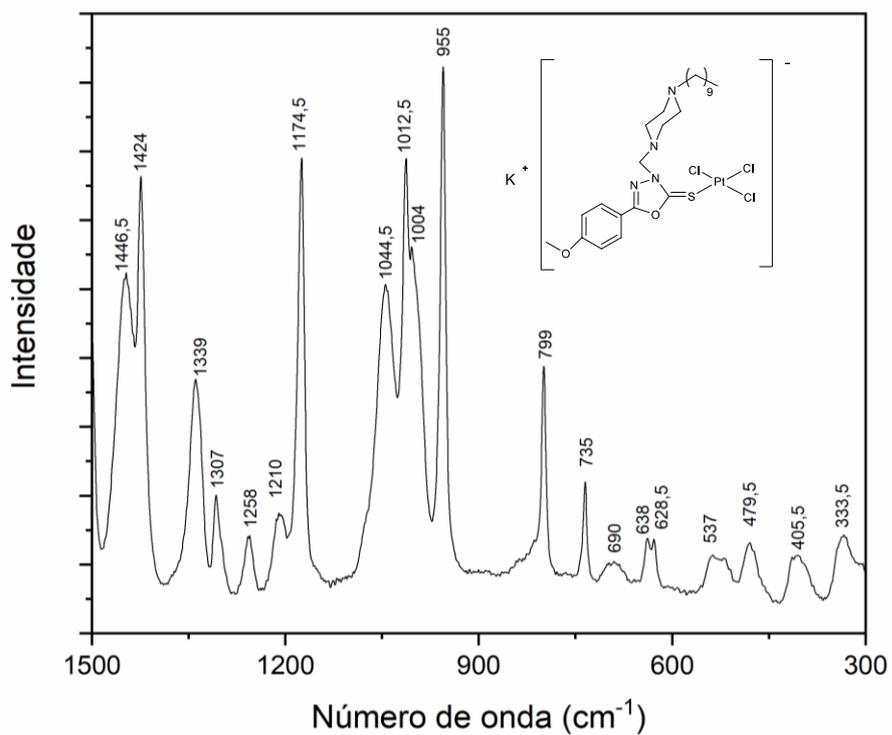


Figura 21: Espectro Raman do complexo **2**

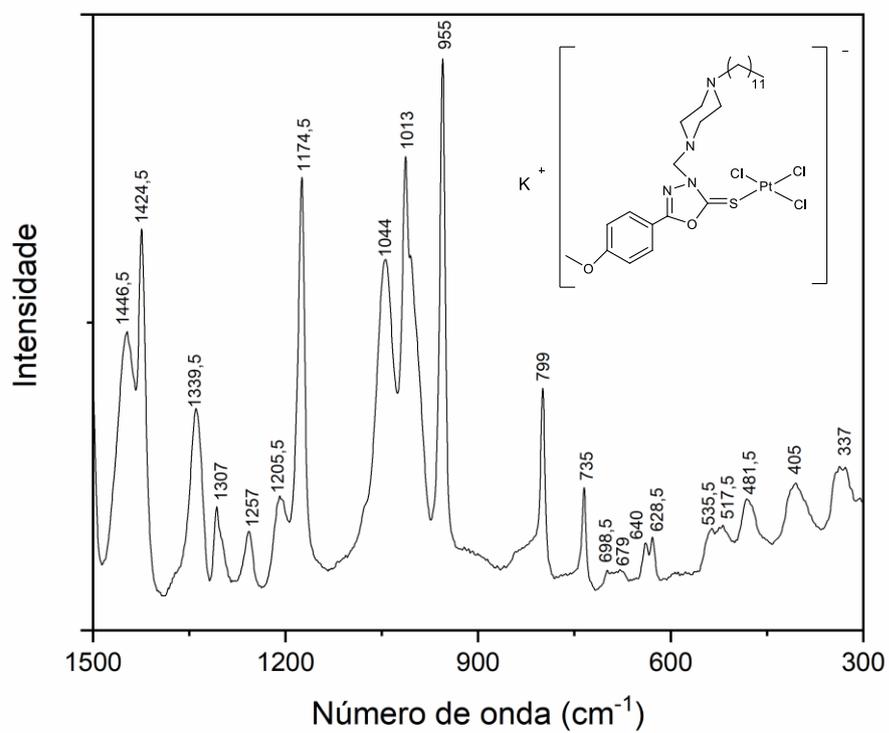


Figura 22: Espectro Raman do complexo **3**

4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos ligantes e de complexo **1** foram obtidos em CDCl_3 enquanto os espectros de ^1H e ^{13}C dos complexos **2** e **3** foram obtidos em $\text{DMF-}d_7$. Os espectros de RMN de ^1H dos ligantes são semelhantes entre si e estão de acordo com os reportados na literatura.[50] Ocorre uma semelhança também nos espectros de RMN de ^1H dos complexos. As comparações dos espectros de cada complexo com o seu respectivo ligante são análogas.

Os sinais dos hidrogênios do grupo metila R-CH_3 dos ligantes **a**, **b** e **c**, apresentaram-se como tripleto em 0,86 ppm e para os complexos **1**, **2** e **3** em 0,87 ppm. Ocorreu pouca diferença nos deslocamentos químicos dos ligantes em relação aos complexos, concluindo que essa região foi pouca afetada pela reação de complexação.

Os sinais dos hidrogênios do grupo metileno $\text{R-CH}_2(\text{n})\text{-R}$ dos ligantes **a**, **b** e **c** tiveram sinais em 1,25, 1,24 e 1,23 ppm e dos complexos **1**, **2** e **3** em 1,25, 1,26 e 1,27 ppm. Também essa região foi pouco alterada após a complexação.

Os hidrogênios dos grupos metilenos $\text{NR-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2(\text{n})\text{-R}$ apresentaram os valores de deslocamento químico de 1,45, 1,50 e 1,51 ppm para os ligantes e 1,55, 1,84 e 1,74 ppm para os complexos. Tais diferenças de deslocamento químico sugerem que os hidrogênios dos complexos estão mais desblindados em relação aos hidrogênios dos ligantes, ou seja, possuem menor densidade eletrônica ao redor, sugerindo que o ambiente químico dessa região foi alterado após a complexação.

Os hidrogênios do grupo metileno adjacente ao anel de piperazina apresentaram os valores de deslocamento químico 2,32, 2,42 e 2,42 ppm para os ligantes e, 2,57, 3,23 e 3,64 ppm para os complexos. Essa é outra região na qual os hidrogênios dos complexos foram desblindados em relação ao hidrogênios dos ligantes.

Os hidrogênios do anel de piperazina apresentaram os seguintes valores para o ligante **a**(2,49 e 2,91 ppm), para o ligante **b**(2,60 e 2,97 ppm) e para o ligante **c**(2,60 e 2,98 ppm). Estes hidrogênios apresentaram-se deslocados após a complexação, sendo no complexo **1**(2,98 e 3,46 ppm), no complexo **2**(3,51 e 3,62 ppm) e no complexo **3**(3,49 ppm). Importante mencionar que tanto nos complexos quanto nos ligantes os hidrogênios do anel de piperazina que são mais próximos da cadeia alquila lateral são mais desblindados em relação aos que são mais próximos ao anel de 1,3,4-oxadiazol. Todos os hidrogênios do anel de piperazina dos complexos são mais desblindados em relação aos ligantes.

Os hidrogênios do grupo metoxila $\text{CH}_3\text{-O-Ph}$ dos ligantes **a**, **b** e **c** apresentaram os valores iguais a 3,87, 3,86 e 3,87 ppm enquanto nos complexos tais valores são 3,83, 3,90 e 3,86 ppm.

As diferenças dos deslocamentos químicos são pequenas e pode-se concluir que esta região não teve seu ambiente químico alterado após a reação de complexação.

O grupo metileno RN-CH₂-NR apresentou os sinais em 5,06 ppm nos ligantes e, 3,83, 3,90 e 3,90 ppm para os complexos. Os hidrogênios dos complexos foram blindados após a reação de complexação, ou seja, possuem uma densidade eletrônica maior em relação aos dos ligantes.

Os hidrogênios aromáticos dos ligantes tiveram sinais em dupletos na região de: 6,96 e 7,85 ppm para os ligantes e, 6,93 e 7,91 nos complexos. Como as diferenças de deslocamento químico são pequenas é possível concluir que a região aromática também não foi afetada durante a reação de complexação. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos nos complexos são diferentes em virtude do solvente utilizado, visto que o solvente utilizado para o complexo **1** foi CDCl₃ e para os complexos **2** e **3** foi DMF.

As figuras 23 e 24 representam os espectros RMN de ¹H do ligante **a** e complexo **1** respectivamente. Os demais espectros, dos ligantes **b** e **c** e dos complexos **2** e **3**, estão no apêndice, figuras de A1-4.

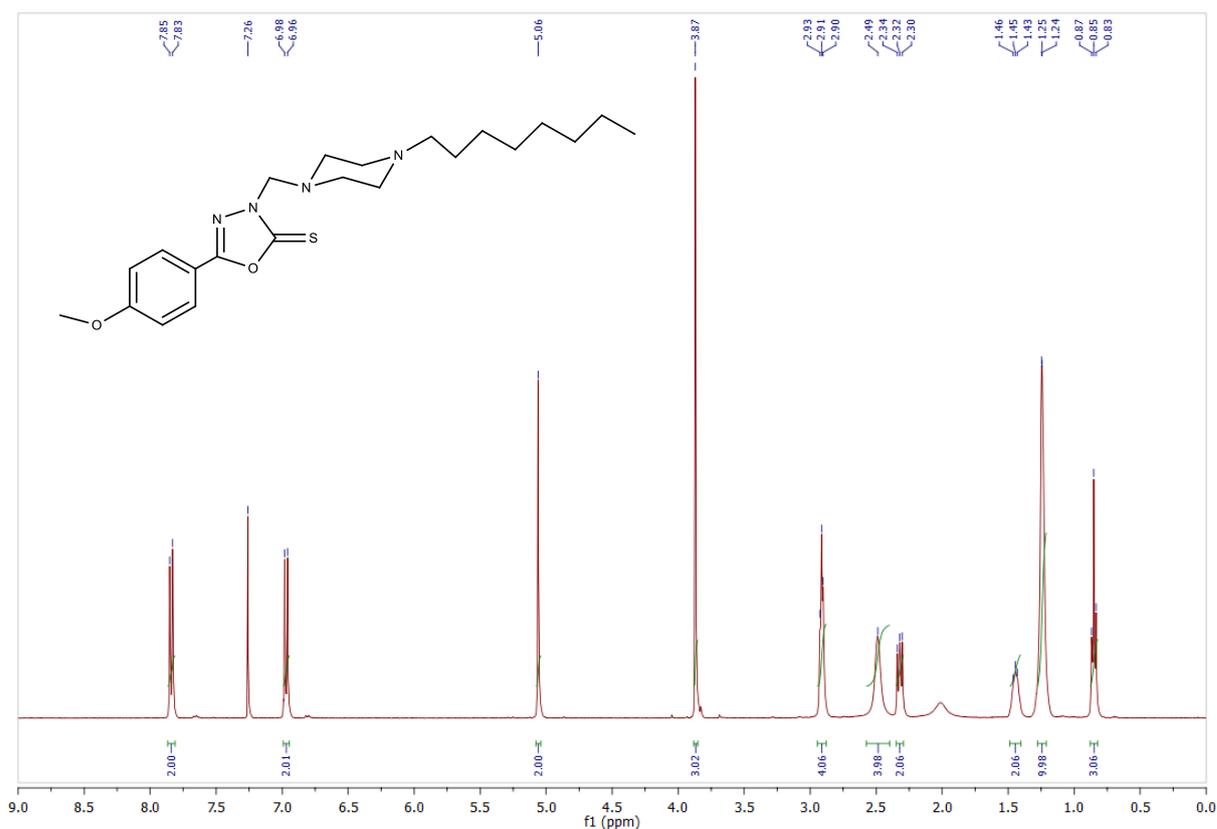


Figura 23: Espectro RMN de ¹H do ligante **a** (400 MHz; CDCl₃) δ em ppm

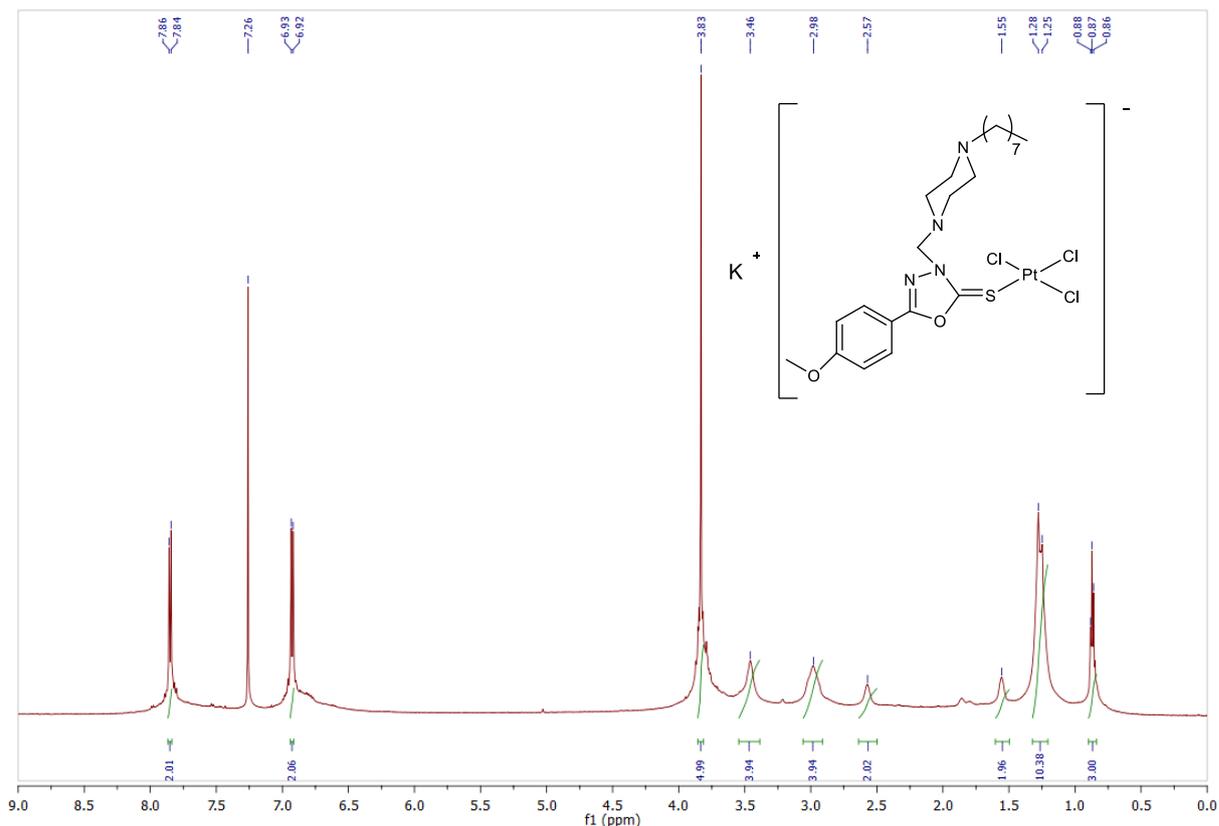


Figura 24: Espectro RMN de ^1H do complexo **1** (600 MHz; CDCl_3) δ em ppm

Os espectros de RMN de ^{13}C dos ligantes são semelhantes entre si e estão de acordo com a literatura.[50] Esta semelhança também é observada entre os espectros dos complexos. Assim como ocorreu nos espectros de RMN de ^1H , as comparações entre os espectros de RMN de ^{13}C dos ligantes com seus respectivos complexos são análogas. Foi feita também a análise de RMN DEPT-135 para cada complexo com o objetivo de identificar os carbonos, visto que os sinais de $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}-$ apresentam-se em fase positiva e os sinais de $-\text{CH}_2-$ apresentam-se em fase negativa. Esta análise foi fundamental para a atribuição correta dos sinais. As figuras 25, 26 e 27 mostram os espectros de RMN de ^{13}C do ligante **a**, complexo **1** e RMN DEPT-135 do complexo **1**.

O carbono do grupo metila $\text{R}-\text{CH}_3$ apresentou sinal na região de 14 ppm tanto para os ligantes quanto para os complexos. Outras regiões que também não apresentaram deslocamento foram da cadeia alquila lateral (na faixa de 23 a 33 ppm). O carbono do grupo metoxila na região de 53 e 56 ppm para os ligantes e complexos respectivamente, assim como os carbonos aromáticos na região de 115, 130 e 162 ppm. O carbono do grupo $(\text{N}=\text{C}(\text{Ph})-\text{O})$ apresentou os sinais em 162,9 ppm para os ligantes e na região de 164 ppm para os complexos sem alteração

significativa, o que foi observado apenas no espectro de RMN de ^{13}C , pois se trata de um carbono não hidrogenado.

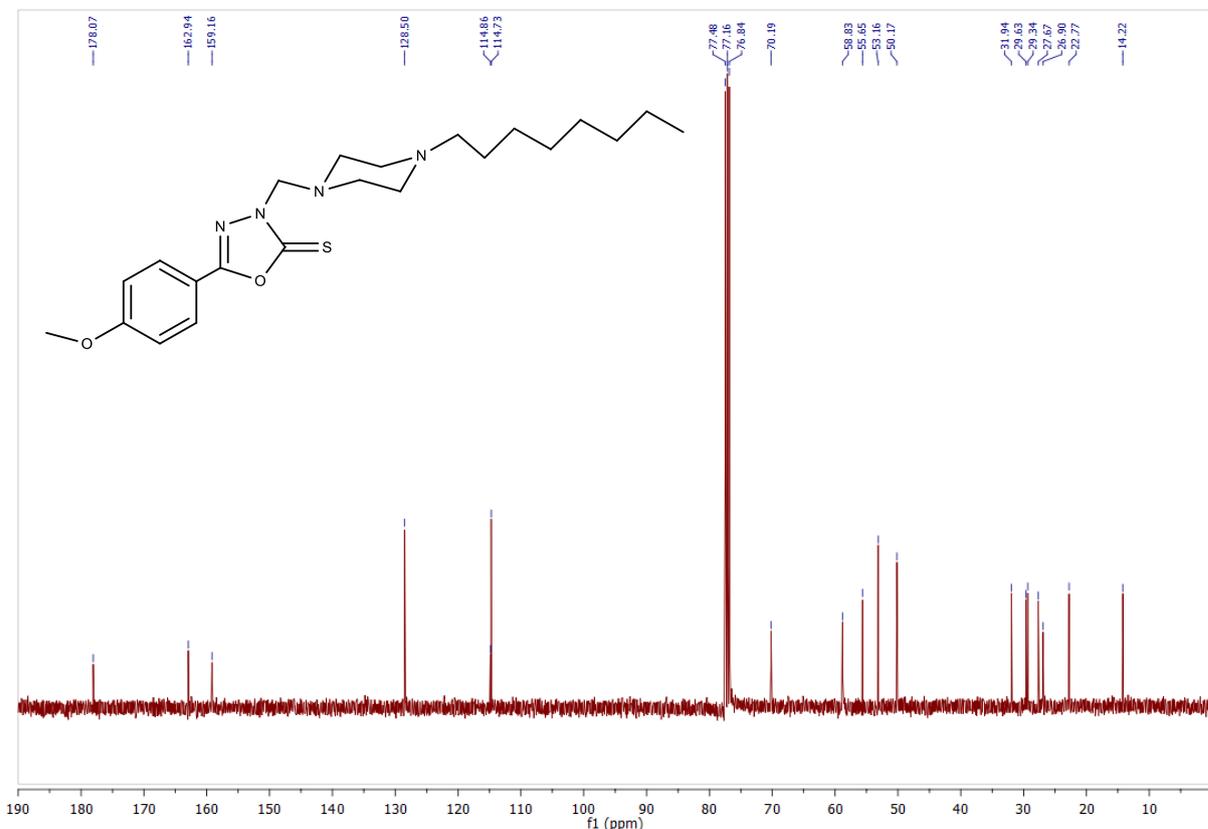


Figura 25 : Espectro de RMN ^{13}C do ligante **a** (100 MHz; CDCl_3) δ em ppm

O carbono do grupo metileno ($-\text{CH}_2-$) adjacente ao anel de piperazina apresentou os sinais em 55 ppm para os ligantes e 47,73, 49,20 e 50,07 ppm para os complexos. Os carbonos do anel de piperazina apresentaram sinais em 50 e 58 ppm para os ligantes e mais uma vez mais blindados para os complexos **1**, **2** e **3** foram : 43,36 e 49,78 ppm ; 41,92 e 52,18 ppm e 43,46 e 51,96 ppm respectivamente.

O carbono do grupo metileno $\text{NR}-\text{CH}_2-\text{NR}$ apresentou o sinal em 70,19, 70,03 e 70,02 ppm para os ligantes a,b e c respectivamente. Estes sinais nos complexos 1,2 e 3 foram 58,20, 58,04 e 58,38 ppm. Este grupo metileno foi blindado após a reação de complexação, esta informação também é obtida do espectro de RMN de ^1H .

O carbono do grupo $(\text{N}-(\text{C}=\text{S})-\text{O})$ apresentou o sinal em 178 ppm para os ligantes e 170 ppm para os complexos. O carbono foi blindado após a reação de complexação, ou seja, possui maior densidade eletrônica ao redor e conseqüentemente menor deslocamento químico, fato semelhante a este ocorreu quando $\text{C}=\text{S}$ de uma tiosemicarbazona se complexou com a Pt^{II} .^[67]

[68] Também foi relatado na literatura que o enxofre da ligação C=S de uma tiocarbamoilpirazolina se complexa ao átomo de Au^I provocando o deslocamento químico desse grupo para campo forte.^{[69], [70]} Este resultado corrobora com o observado nos espectros de infravermelho. O aumento da densidade eletrônica ao redor do carbono da ligação C=S resultou no aumento da sua polaridade e como consequência, as suas vibrações ocorreram em maior número de onda para os complexos como mostrado na seção 4.1.^[70] Pelo fato da ligação C=S ter sua polaridade aumentada após a reação de complexação, é possível concluir que a Pt^{II} se coordenou ao átomo de enxofre do anel de 1,3,4-oxadiazol. Os outros espectros, dos ligantes **b** e **c** e dos complexos **2** e **3** encontram-se no apêndice, nas figuras de A5-10

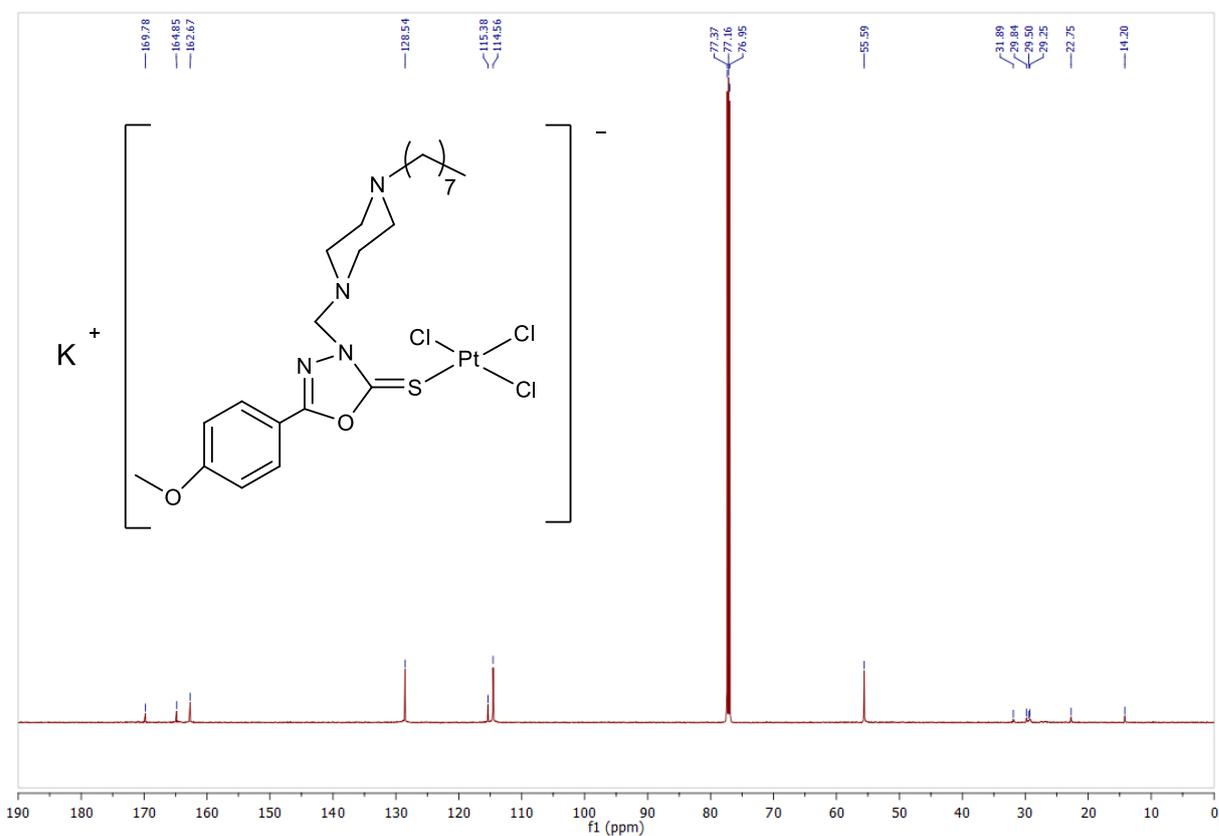


Figura 26: Espectro de RMN ¹³C do complexo **1** (200 MHz, CDCl₃) δ em ppm

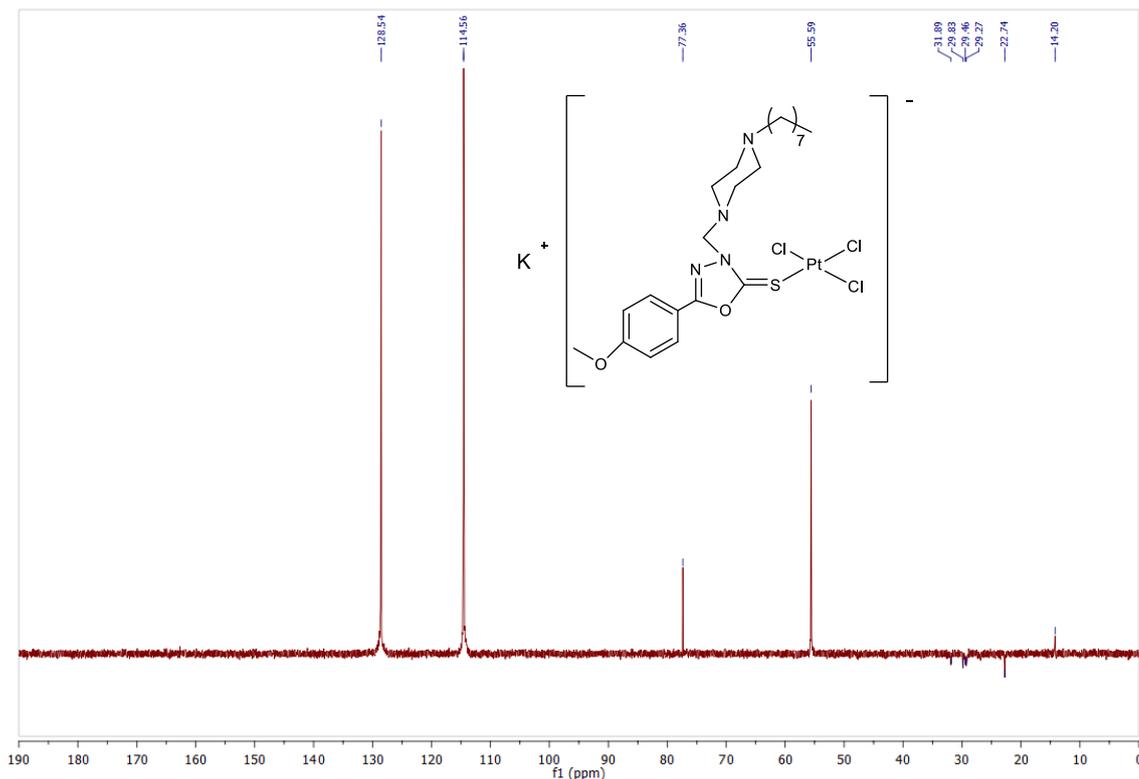


Figura 27: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo **1**, δ em ppm

O espectro de RMN ^{195}Pt é interessante pois através do seu sinal é possível ter informação a respeito da esfera de coordenação de um complexo de platina. Foi possível obter apenas o espectro do complexo **3**, entretanto devido ao fato dos três complexos serem bastante semelhantes, acredita-se que estes possuem o centro metálico de Pt^{II} com as mesmas esferas de coordenação.

O espectro de RMN ^{195}Pt do complexo **3** apresenta apenas um sinal em $-3041,67$ ppm (figura 28). Foi relatado na literatura que um complexo de Pt^{II} carregado negativamente no qual a espécie metálica central está coordenada a três cloretos e um enxofre tem um sinal em -2998 ppm.^[71] Através deste dado pode-se supor que ocorreu uma complexação monodentada, no qual a platina se coordenou apenas ao átomo de enxofre do anel de oxadiazol e a três ligantes cloretos completando o número de coordenação 4 de uma complexo de geometria quadrática plana.

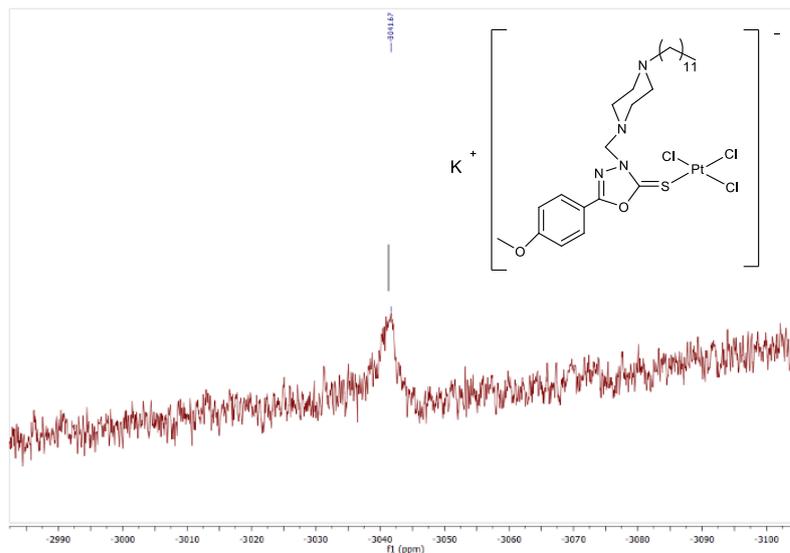


Figura 28 : Espectro de RMN ^{195}Pt do complexo **3** (125 MHz; CDCl_3) δ em ppm

4. 4 Análise Termogravimétrica

As curvas termogravimétricas estão de acordo com a estrutura do complexo composta por um ligante monodentado, três cloretos e um contra-íon potássio. De forma mais detalhada, podemos observar na figura 29 que para o complexo **1**, na faixa de temperatura de 200 a 333,44 °C a amostra perdeu 29,97 % da sua massa. Isso equivale a perda da porção do anel de piperazina junto com a cadeia alquila e um átomo de cloro. Até a temperatura de 496,17 °C a amostra perdeu mais 29,73% da sua massa, o que equivale a perda do anel de oxadiazol junto com o grupo metoxi-fenil. O resíduo equivale a 40,30% da massa (KPtCl_2).

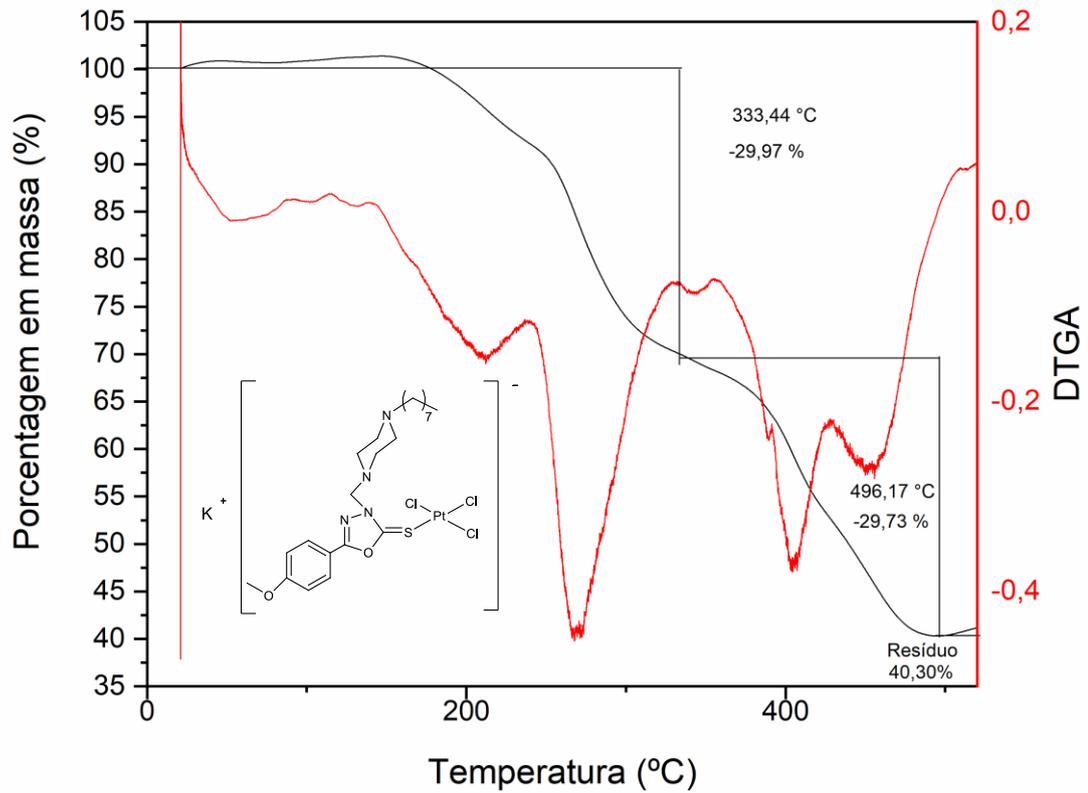


Figura 29 : Curva Termogravimétrica do complexo **1**

Para o complexo **2** (Figura 30) a amostra perdeu 2,91 % da sua massa até 146,50°C, o que equivale a água de hidratação, até 319,73 °C a amostra perdeu mais 33,93% da sua massa, que equivale à perda do anel de piperazina, da cadeia alquila e de um átomo de cloro. Uma última perda, ocorreu até 464,26 °C que corresponde a 26,83 % da sua massa, o que equivale ao restante do ligante. O resíduo equivale a 36,33% da massa inicial, correspondente a $KPtCl_2$.

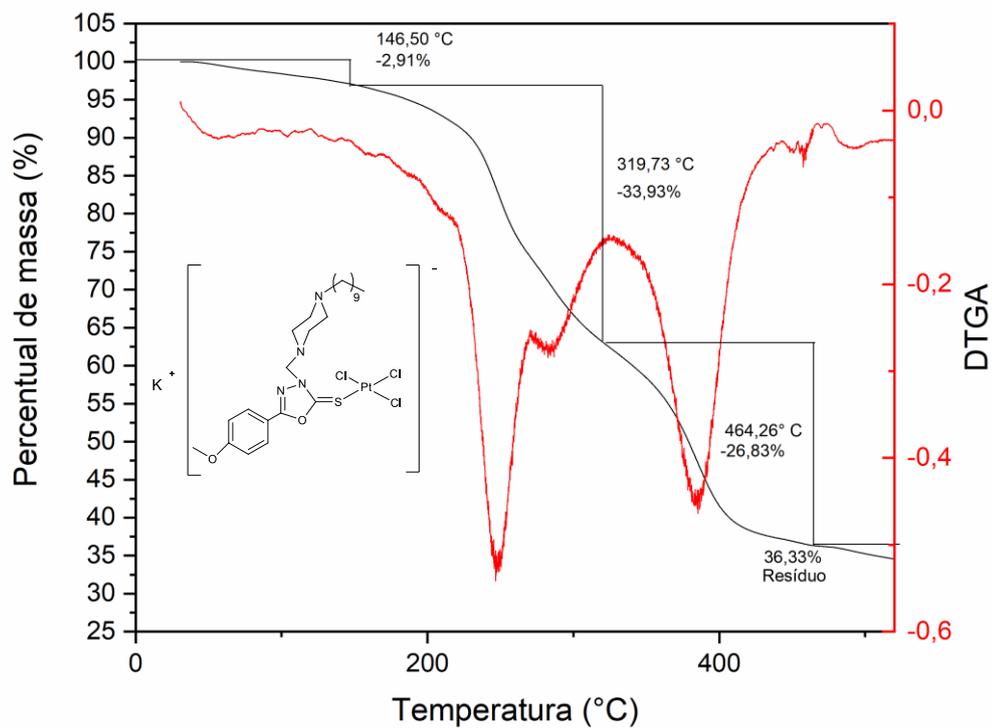


Figura 30: Curva Termogravimétrica do complexo 2

Para o complexo 3 (Figura 31), até a temperatura de 323,56 °C a amostra perdeu 35,71 % da sua massa, o que equivale à perda do anel de piperazina, cadeia alquila e um átomo de cloro. Até a temperatura em 473,79 °C a amostra perdeu mais 27,01 % da sua massa, o que equivale ao restante do ligante. O resíduo equivale a 37,28 % da amostra, se trata de $KPtCl_2$. A tabela 2 resume estes resultados comparados aos valores esperados.

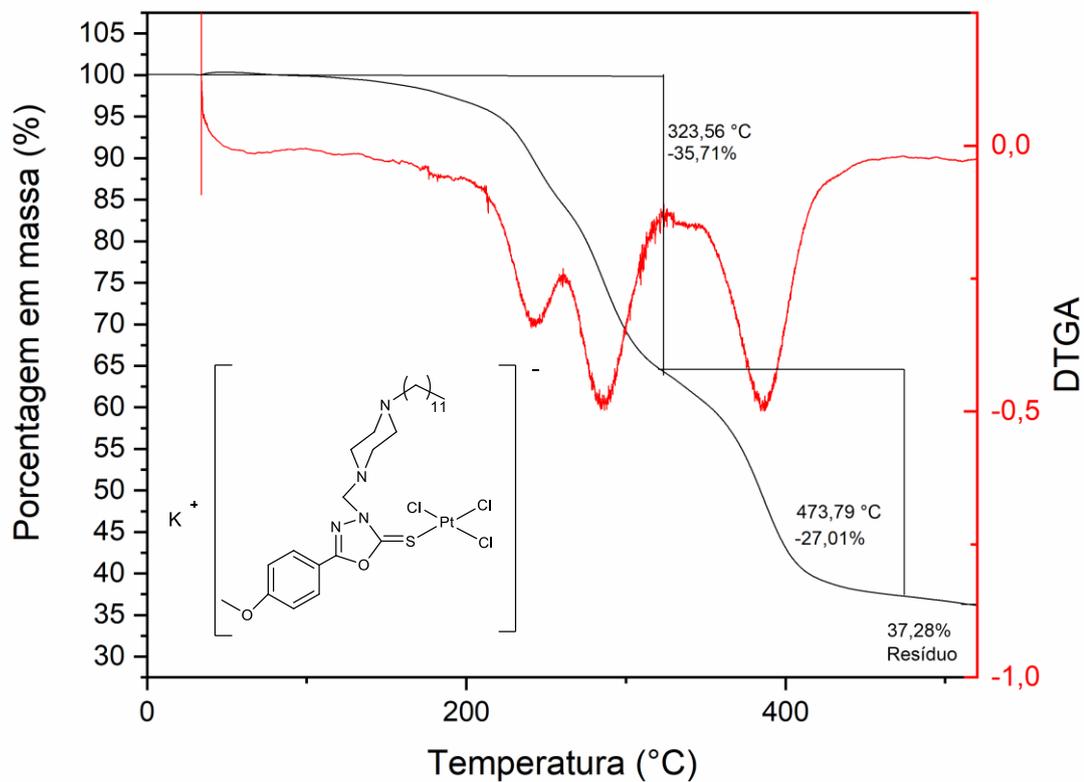


Figura 31: Curva Termogravimétrica do complexo **3**

Tabela 2: Valores teóricos e (experimentais) referentes às perdas de massas na análise termogravimétrica de 25 a 600 °C e o resíduo dos complexos **1**, **2** e **3**.

Complexos	Atribuição das perdas de massa (%)			
	H ₂ O	N-alquil piperazina + Cl	metil-oxadiazol + metoxi-fenil	resíduo KPtCl ₂
1	-	30,66 (29,97)	29,15 (29,73)	40,19 (40,30)
2	2,23 (2,91)	32,40 (33,93)	27,48 (26,83)	37,89 (36,33)
3	-	35,44 (35,71)	27,14 (27,01)	37,42 (37,28)

4.5 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas foram realizados por MALDI com ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico como matriz na intenção de obter as massas moleculares nos picos de maior abundância. Porém alguma fragmentação foi observada. Já foram relatados na literatura análises de espectrometria de massa do tipo MALDI de complexos metálicos que em alguns casos foram observadas fragmentações.^{[72]–[75]}

Para as três análises de espectro de massas dos complexos sintetizados, não foram observados os picos referentes ao íon molecular, sugerindo que a espécie molecular não é suficientemente estável para ser detectada nas condições experimentais utilizadas.

O espectro de massas obtido para o complexo **1**, mostrou poucos sinais e um deles sugere uma fragmentação na qual o anel de piperazina, a cadeia alquila e um átomo de cloro foram eliminados, restando o fragmento mostrado na figura 32(A), que se refere ao composto $[M-Cl-C_{12}H_{26}N_2]^+ = 487,25$ m/z, este fato também ocorreu na análise termogravimétrica do complexo **1**, onde este fragmento é observado após a primeira perda de massa. Foi feita uma simulação dos isotopólogos do fragmento proposto $[M-Cl-C_{12}H_{26}N_2]^+$ utilizando o software Chemcalc e o seu perfil se aproxima ao obtido experimentalmente.^[76] O dado experimental e a imagem da simulação estão mostrados na figura 32 (B e C).

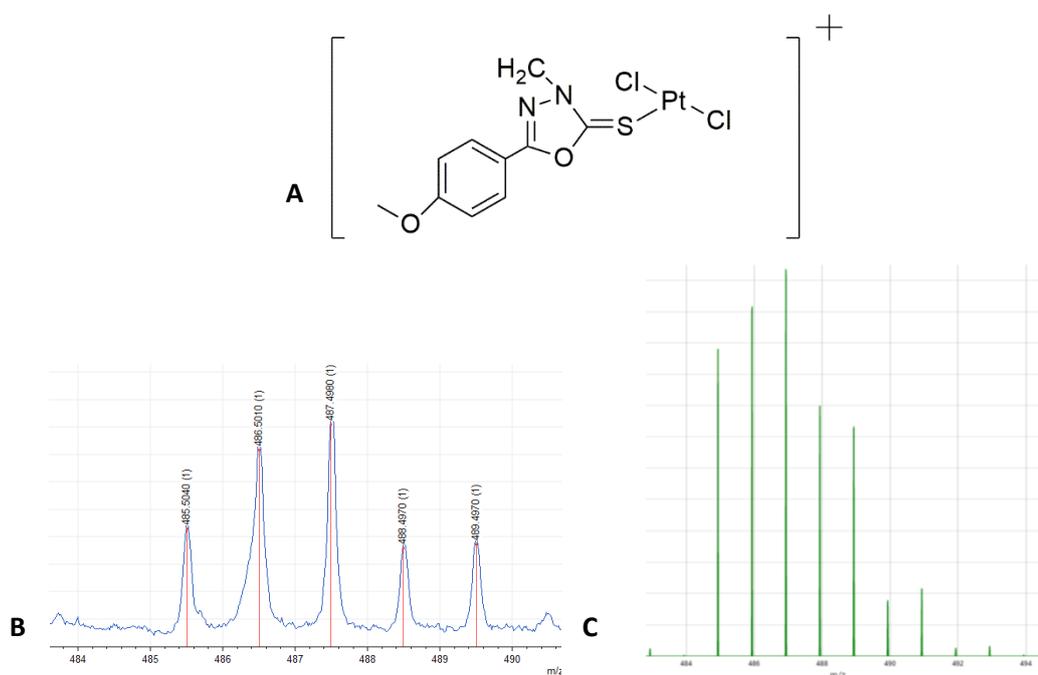


Figura 32: Análise por espectrometria de massas do complexo **1**. A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo **1**; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento.^{[76], [77]}

Para o complexo **2** é possível sugerir uma fragmentação com a liberação de uma parte da cadeia alquila (C_2H_6) e um átomo de cloro, restando o fragmento do complexo $[M-Cl-C_2H_6]^+ = 683,58$ m/z. Foi feita uma simulação dos perfis dos isotopólogos utilizando o software Chemcalc que se aproxima do obtido experimentalmente.^[76] A proposta de fragmento, o dado experimental e a imagem da simulação estão mostrados na figura 33.

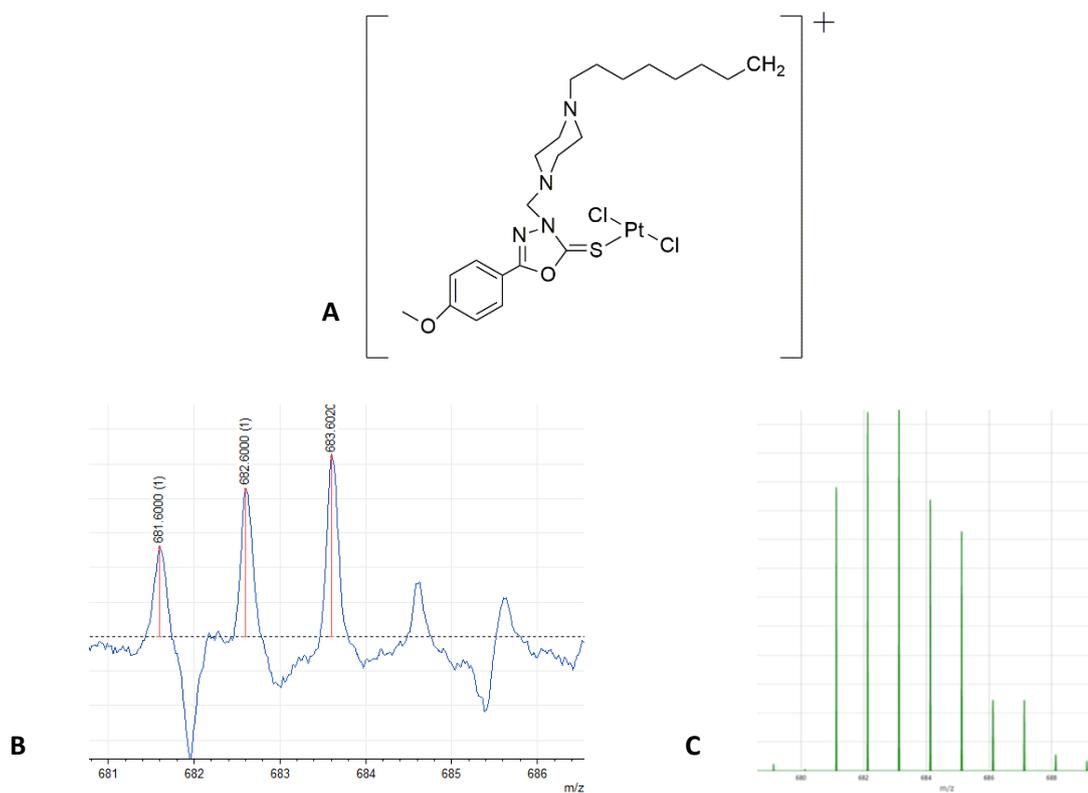


Figura 33: Análise por espectrometria de massas do complexo **2**. A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo **2**; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento.^{[76], [78]}

Para o complexo **3** ocorreu a perda de um H e um átomo de cloro, gerando o fragmento $[M-Cl-H]^+ = 739,69$ m/z condizente com o calculado. Tal comportamento já foi relatado em espectrometria de massa do tipo MALDI.^[79] Também foi feita uma simulação dos perfis dos isotopólogos utilizando o software Chemcalc.^[76] O fragmento proposto, o dado experimental e a simulação estão mostrados na figura 34.

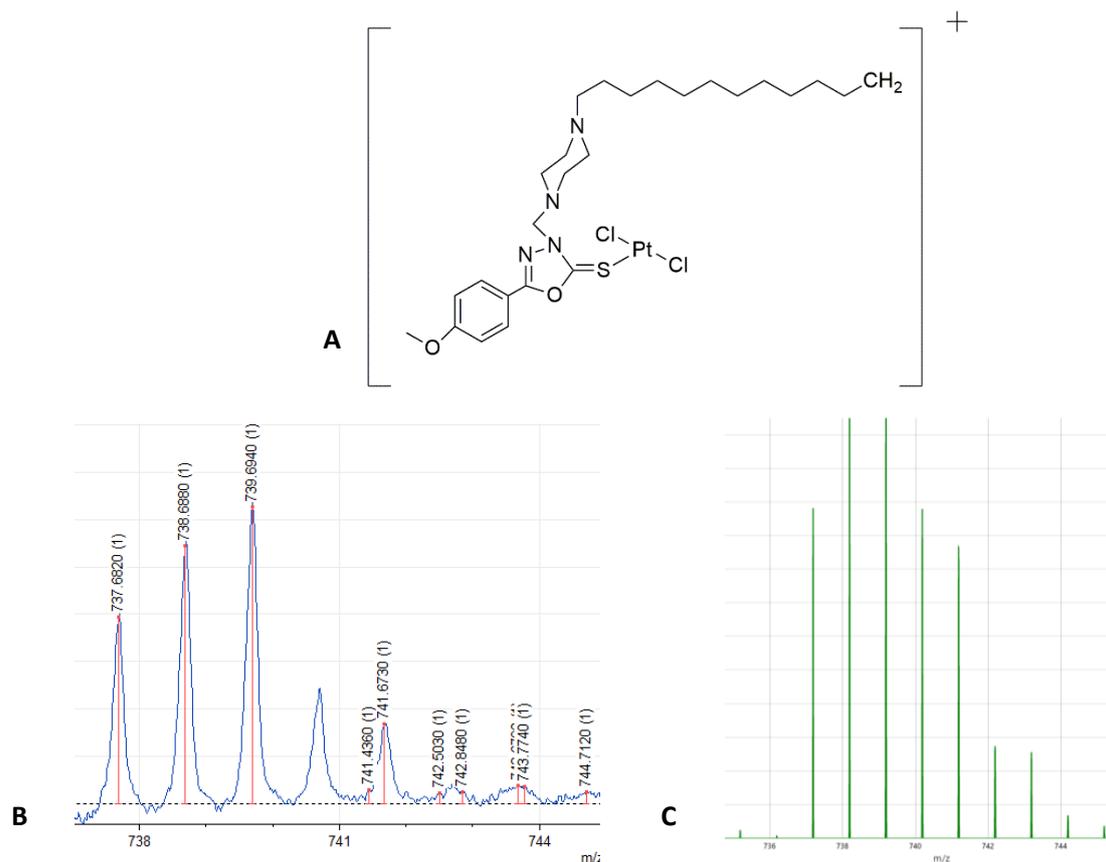


Figura 34: Análise por espectrometria de massas do complexo **3**. A: fragmento detectado; B: espectro de massas do complexo **3**; C: simulação da distribuição dos isotopólogos do fragmento. ^{[76], [80]}

4.6 Condutividade molar

Os complexos **1**, **2** e **3** apresentaram os valores de condutividade molar iguais a 41,3, 47,4 e 44,6 S.cm².mol⁻¹ respectivamente. De acordo com a literatura, uma solução eletrolítica 1:1 em DMF apresenta valores de condutividade num intervalo entre 37-122 S.cm².mol⁻¹.^[81] Com isto é possível concluir que os complexos são carregados formando uma solução eletrolítica 1:1 em DMF o que corrobora com a proposta de um complexo metálico aniônico e contraíon K⁺.

Uma explicação possível para esse fato é que o carbono do grupo metileno situado entre o oxadiazol e a piperazina, por possuir hibridação sp³, tem livre rotação e a coordenação da platina com o átomo de enxofre do oxadiazol e os nitrogênios da piperazina é dificultada. Com isso, o ligante se coordenou de forma monodentada ao átomo central de Pt^{II}, gerando um complexo carregado negativamente.

4.7 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-vísivel

No espectro do ligante **a** observou-se a banda em 328 nm que se refere a transição $\pi \rightarrow \pi^*$, uma transição HOMO \rightarrow LUMO^[82], que também aparece no espectro do complexo **1** em 313,5 nm com menor intensidade, ou seja, essa banda sofreu um efeito hipsocrômico e hipocrômico após a complexação. A banda em 289 nm do complexo **1** pode ser atribuída à transferência de carga S \rightarrow Pt, ou seja, uma transição $n \rightarrow \pi^*$, em concordância com os resultados das outras análises apresentadas até aqui e com o reportado na literatura.^[68] Portanto tem-se outra evidência da complexação da platina com o enxofre do anel de 1,3,4-oxadiazol. A figura 35 representa a sobreposição dos espectros de absorção eletrônica na região ultravioleta-vísivel dos ligante e seus respectivos complexos.

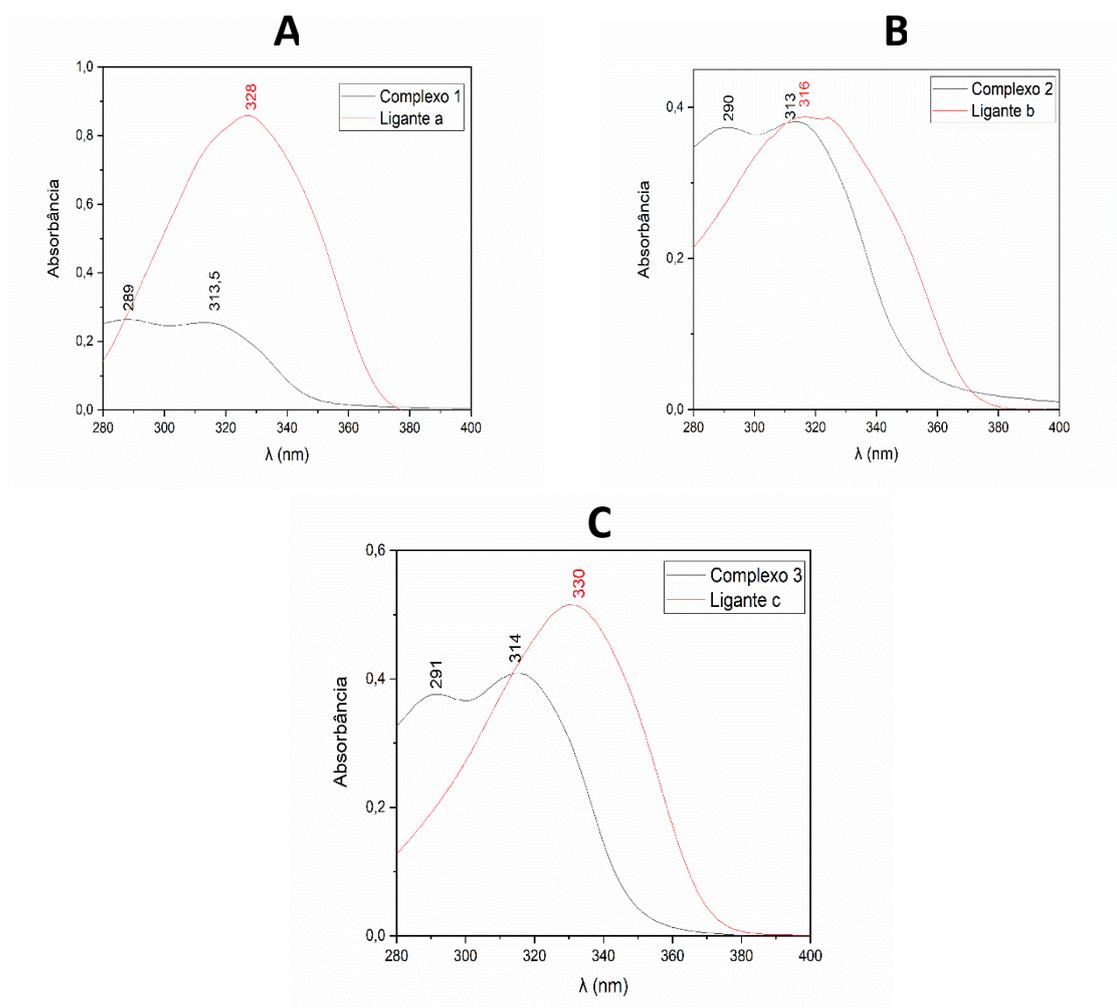


Figura 35: Comparação do espectro ultravioleta-vísivel de cada ligante e seu respectivo complexo, todos com a concentração de $2,4 \times 10^{-5}$ mol/L em DMF. **A:** Ligante **a** e Complexo **1**; **B** Ligante **b** e Complexo **2** e **C** Ligante **c** e Complexo **3**.

O raciocínio adotado na análise do espectro do ligante **a**, do complexo **1**, bem como a comparação entre eles pode ser aplicado para os demais ligantes e complexos. A transição $\pi \rightarrow \pi^*$ se refere às bandas em 316 e 330 nm nos ligantes **b** e **c** e nos complexos **2** e **3** se refere às bandas 313 e 314 nm com menor intensidade, ou seja, ocorreu também o efeito hipsocrômico e hipocrômico. A transição referente a transferência de carga $S \rightarrow Pt$ é atribuída às bandas 290 e 291 nos complexos **2** e **3**.

5. Análises Biológicas

5.1 Estudos de citotoxicidade

As células viáveis, através das coenzimas NAD(P)H, são capazes de reduzir o MTT, de coloração amarelada, à formazan, de coloração violeta, figura 36, e tal processo ocorre no retículo endoplasmático podendo ocorrer também nas mitocôndrias, no citoplasma e por compostos intracelulares de vida curta como o radical superóxido.^{[23], [83]–[86]} As células ativas cujas quantidades são proporcionais às concentrações de formazan gerado e esta relação é obtida através do ensaio colorimétrico do MTT.^{[23], [58]} Através de diferentes concentrações dos compostos utilizados bem como da normalização do controle negativo, é possível contruir o gráfico de viabilidade de cada linhagem celular e com isso obter o IC₅₀ do composto utilizado no respectivo ensaio de citotoxicidade.^[25]

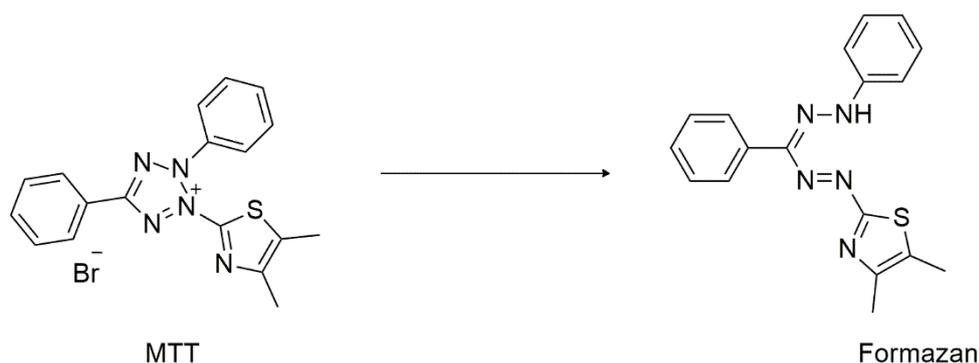


Figura 36 : Redução de MTT a Formazan

As linhagens celulares utilizadas na análise de citotoxicidade foram: B16-F1 (melanoma murino), CT26-WT (carcinoma de cólon de camundongo) e BHK-21 (célula normal de rim de hamster). Para um determinado composto, é desejável que o valor de IC₅₀ das células BHK-21 seja maior que das células B16-F1 e CT26-WT, ou seja, indicando seletividade do respectivo composto. Os gráficos de viabilidade celular são mostrados na figura 37.

Os valores de IC₅₀ dos ligantes **a**, **b** e **c** e dos complexos **1**, **2** e **3** em função da linhagem celular foram extraídos das curvas abaixo e estão mostrados na tabela 3. A cisplatina é utilizada como fármaco de referência.

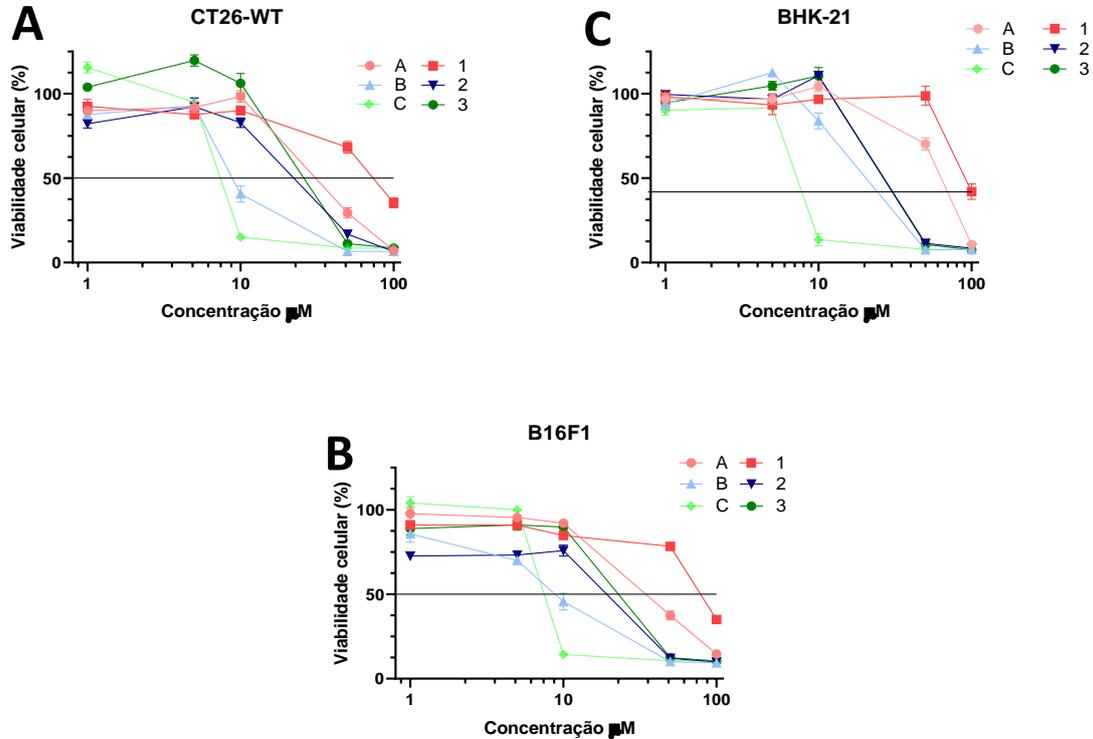


Figura 37: Gráficos de Viabilidade celular (%) x Concentração (µM).

Através destes dados é possível perceber que os ligantes livres são mais ativos que os seus respectivos complexos, ou seja, a complexação não foi seguida de uma maior atividade antitumoral. Esta diminuição da atividade pode ser devido a menor solubilidade dos compostos. Tanto os ligantes quanto os complexos de maior cadeia alquílica lateral apresentaram menor IC₅₀, ou seja, é possível estabelecer uma relação entre lipofilicidade e atividade antitumoral, onde os mais lipofílicos foram mais ativos.^[48]

Tabela 3: IC₅₀ - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu\text{M} \pm \text{SD}^*$)

Compostos	Células Tumorais				Célula normal
	B16-F1		CT26-WT		BHK-21
	IC ₅₀	SI [#]	IC ₅₀	SI [#]	IC ₅₀
Ligante <u>a</u>	29,1 ± 3,2	2,0	33,7 ± 4,0	1,7	58,8 ± 5,1
Ligante <u>b</u>	8,8 ± 0,6	2,0	8,5 ± 0,3	2,1	17,5 ± 3,8
Ligante <u>c</u>	7,5 ± 0,1	1,0	7,4 ± 0,1	1,0	7,4 ± 0,3
Complexo <u>1</u>	70,7 ± 3,5	1,2	72,6 ± 1,3	1,2	85,8 ± 5,0
Complexo <u>2</u>	15,4 ± 4,9	1,6	23,5 ± 1,7	1,1	25,3 ± 1,7
Complexo <u>3</u>	22,0 ± 1,3	1,2	24,7 ± 1,7	1,0	25,6 ± 0,6
Cisplatina	2,3 ± 0,2	3,6	0,7 ± 0,2	12	8,4 ± 1,9[60]

*SD: Desvio padrão; Quadruplicata de dois experimentos independentes.

SI: Índice de seletividade (razão entre IC₅₀ da célula normal e da tumoral).

Esta tendência pode ser melhor observada no gráfico de barras de valores de IC₅₀ mostrado na figura 38. Importante mencionar que nenhum complexo sintetizado apresentou atividade antitumoral frente às linhagens celulares superior à cisplatina.[60] Nenhum complexo apresentou um alto índice de seletividade.

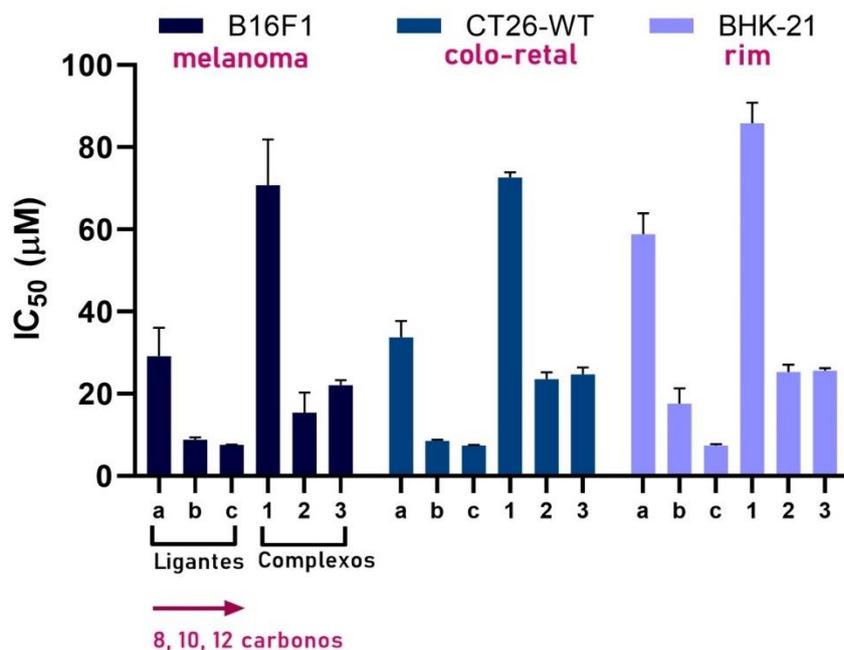


Figura 38: Gráfico de barras de IC₅₀ dos ligantes a, b e c e seus respectivos complexos 1, 2 e 3 das linhagens celulares B16F1, CT26-WT e BHK-21.

5.2 Estudos de interação com BSA por titulação espectrofotométrica

A albumina sérica é uma proteína de transporte presente em maior quantidade dentre todas as proteínas no plasma sanguíneo.^[87] Devido ao fato das albuminas do soro transportarem fármacos, ácido graxos, hormônios e bilirrubina em vertebrados, esta classe de proteínas tem sido largamente estudada, como por exemplo, sua interação com agentes farmacológicos que podem ser orgânicos ou complexos de coordenação.^{[87]-[89]} A variante bovina da albumina, a BSA, é muito semelhante quimicamente à variante humana, HSA. A principal diferença entre a BSA e a HSA é que na BSA há dois resíduos do aminoácido triptofano em um bolso hidrofóbico enquanto na HSA há apenas um resíduo de triptofano também em um bolso hidrofóbico.^[87] Assim a BSA é muito utilizada para o estudo destas respectivas interações. O espectro de Ultravioleta-visível da BSA apresenta uma banda em 280 nm, devido a transição $\pi \rightarrow \pi^*$, que é relacionada aos aminoácidos aromáticos presentes na proteína, como triptofano, tirosina e fenilalanina e ligações dissulfeto presentes na cisteína.^{[88]-[90]} Percebe-se que a espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível é útil para estudar as variações estruturais da BSA em virtude da sua interação com os compostos quaisquer.^[89]

O espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível da BSA em tampão Tris-HCl é mostrado na figura 39. Em destaque para a banda em 278 nm que pode ser considerada a banda em 280 nm relacionada aos aminoácidos aromáticos ou a ligação de dissulfeto presentes na BSA.

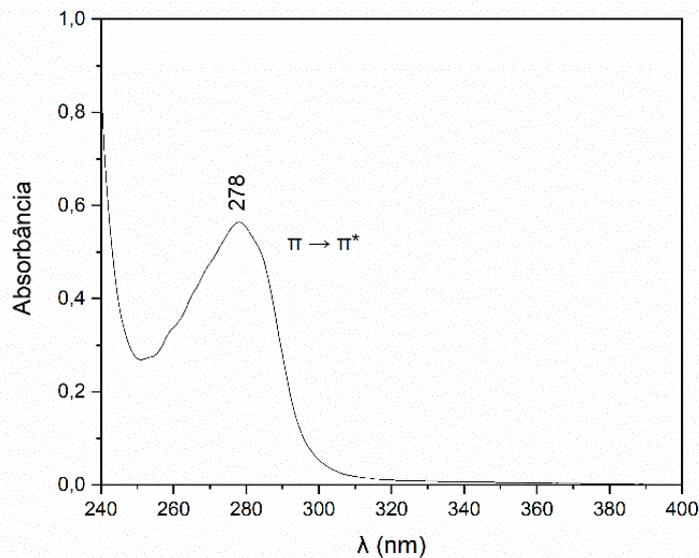


Figura 39: Espectro eletrônico na região do ultravioleta-visível para uma solução de BSA ($1,11 \times 10^{-5}$ mol/L) em tris-HCl, pH de 7,4

As titulações foram feitas de forma que na primeira adição do composto a relação estequiométrica entre BSA e o composto titulante era próxima a 1:0,5 e na última adição esta relação era próxima 1:4. O espectro de cada adição foi obtido através da média aritmética de três medidas.

Primeiramente foi averiguada a estabilidade de cada composto no tampão Tris-HCl (Figura A11 a A13) e foram considerados estáveis, tendo em vista que o espectro não sofreu variação após um intervalo de 75 minutos. Isso foi feito com o objetivo de que no momento da titulação espectrofotométrica as variações na banda em 278 nm da BSA fossem resultado apenas da sua interação com o respectivo composto titulante.

Foi observado um efeito hiperacrômico em relação a banda em 278 nm na titulação espectrofotométrica com os complexos **1**, **2** e **3** e um efeito batocrômico na titulação com os complexos **1** e **3**, como mostrado nas figuras 40 a 42.

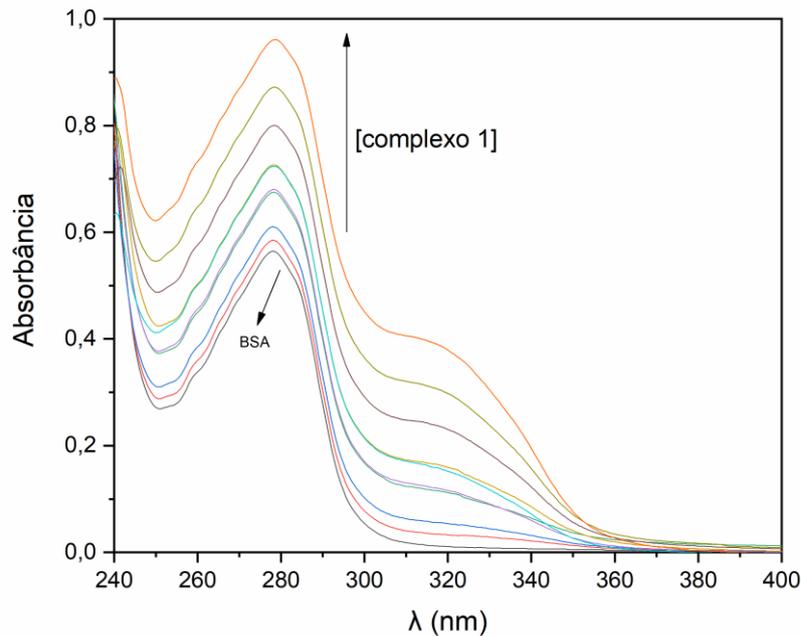


Figura 40: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de $10 \mu\text{L}$ da solução do complexo **1** de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L

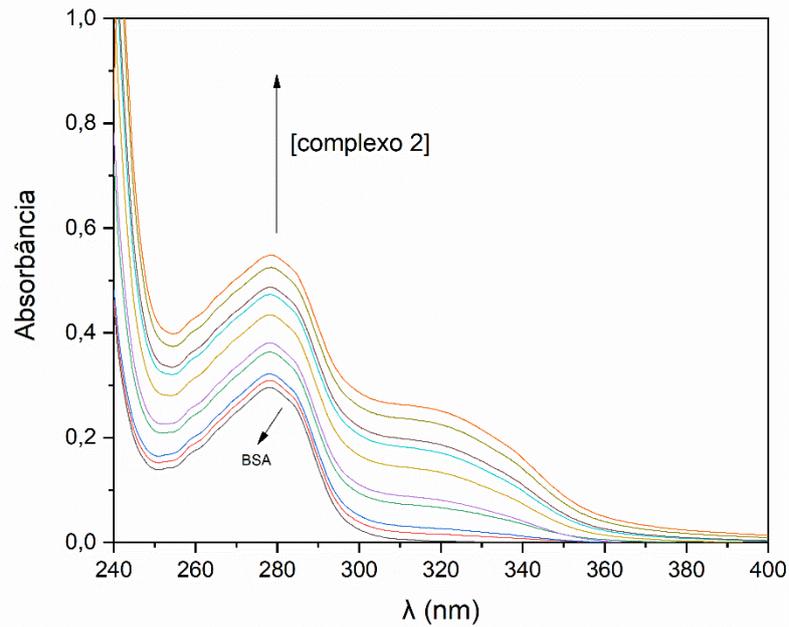


Figura 41: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de $5 \mu\text{L}$ da solução do complexo **2** de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

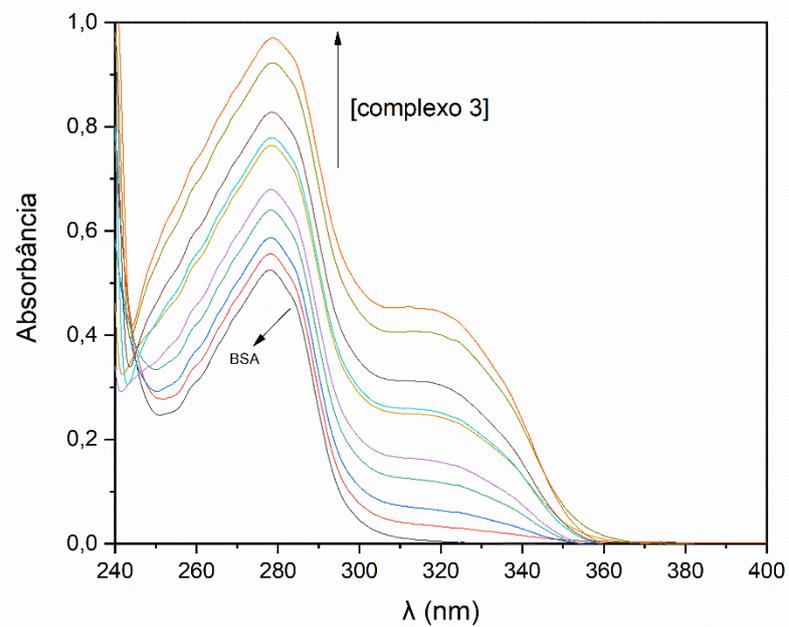


Figura 42: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível de BSA de concentração igual a $1,11 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após 9 adições de $10 \mu\text{L}$ da solução do complexo **3** de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

Os efeitos hiper-crômicos e batocrômicos observados na titulação de BSA se devem às modificações dos microambientes dos resíduos dos aminoácidos aromáticos de BSA.^[89] A

literatura relata que complexos podem adentrar o bolso hidrofóbico da BSA e promover alterações nos cromóforos dos resíduos de tirosina e triptofano, reduzindo a hidrofobicidade desta região e conseqüentemente o sinal espectrofotométrico.^{[88], [91]}

Através dos valores das constantes de ligação (K_b) obtidos pela equação (1) (item 3.4) é possível perceber que os complexos **1** e **2** interagiram mais fortemente com a BSA do que o complexo **3**. As equações da reta encontram-se nas figuras 43 a 45. Os valores de K_b bem como do coeficiente de determinação (R^2) obtidos para os ligantes e complexos estão na tabela 4..

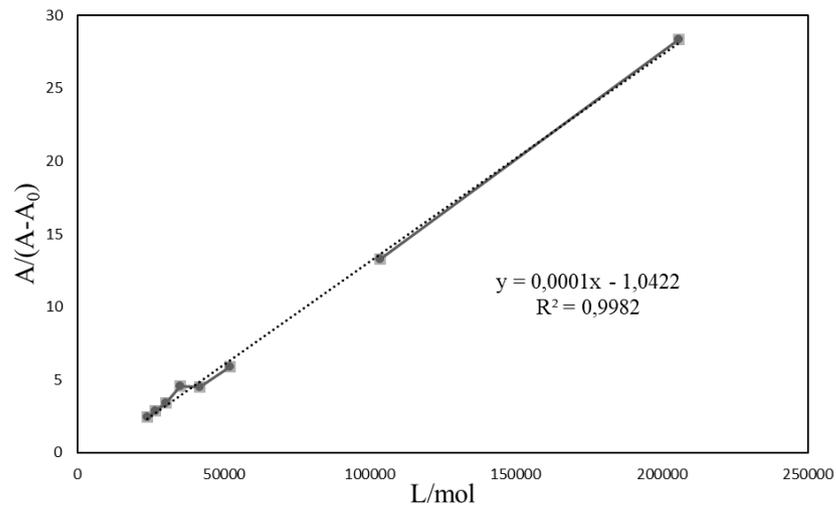


Figura 43: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \underline{1}]$ na titulação com BSA

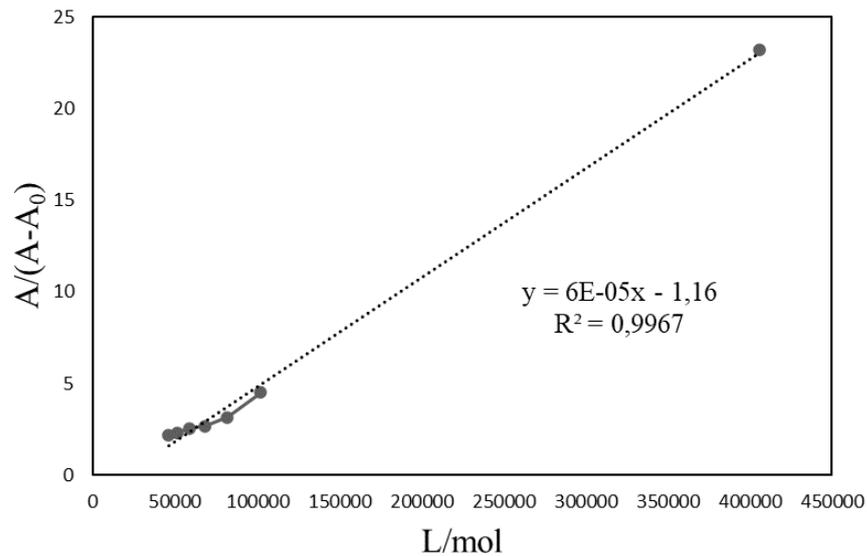


Figura 44: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \underline{2}]$ na titulação com BSA

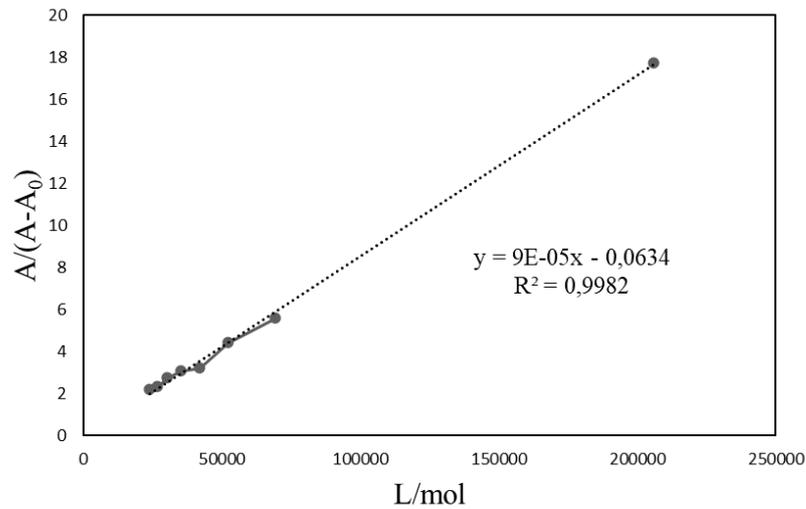


Figura 45: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \underline{3}]$ na titulação com BSA

Tabela 4: Constantes de Ligação (K_b) de cada composto com BSA e o coeficiente de determinação (R^2)

Composto	K_b (10^4 L mol^{-1})	R^2
Complexo 1	1,04	0,99
Complexo 2	1,93	0,99
Complexo 3	0,07	0,99

A constante de ligação, K_b , do conjunto complexo-BSA deve ser alta o suficiente para garantir que o composto seja transportado pelo organismo, porém relativamente baixa para que seja liberado a fim de adentrar as células. O valor ideal de K_b situa-se na faixa de 10^4 a 10^6 L mol^{-1} .^{[92], [93]} Os valores das constantes de ligação dos complexos 1 e 2 com a BSA encontram-se nessa faixa ideal e o complexo 3 que possui a maior cadeia carbônica tem K_b 15 vezes menor que o valor do complexo 1 e quase 30 vezes menor que o complexo 2.

5.3 Estudos de interação com ctDNA por titulação espectrofotométrica

O espectro de absorção eletrônica ultravioleta-visível pode ser usado para analisar a interação de algum composto com ctDNA, através da alteração do máximo de absorção desta biomolécula, em 260 nm, que representa a transição eletrônica dos grupos cromóforos da purina (adenina e guanina) e pirimidina (citosina e timina). Esta técnica também é usada para se saber o modo que o composto interagiu com o DNA, que pode ser através da interação eletrostática com o grupo fosfato externo a sua dupla hélice, interação de ligação com os seus sulcos, a

interação intercalativa entre os pares de bases nitrogenadas empilhados ou através de ligações covalente, estas últimas sendo consideradas mais citotóxicas.^{[94]-[96]}

Assim como ocorreu na interação com BSA, é necessário saber se os complexos são estáveis no tampão, visto que qualquer interação no espectro de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível do ctDNA deve ser resultado da interação desta biomolécula com os referidos compostos. Como os complexos **1**, **2** e **3** são estáveis no tampão Tris-HCl, seção 4,2, é aceitável que serão estáveis no tampão Tris-HCl + NaCl.

A razão das absorbâncias em 260 e 280 nm na solução de ctDNA está maior que 1,8, ou seja, representa uma solução livre de proteínas.^[97]

O espectro de absorção eletrônica na região Ultravioleta-visível da solução de ctDNA é mostrado na figura 46. Em destaque a banda em 258 nm, representando a transição eletrônica envolvendo os grupos cromóforos da purina e pirimida do ctDNA.

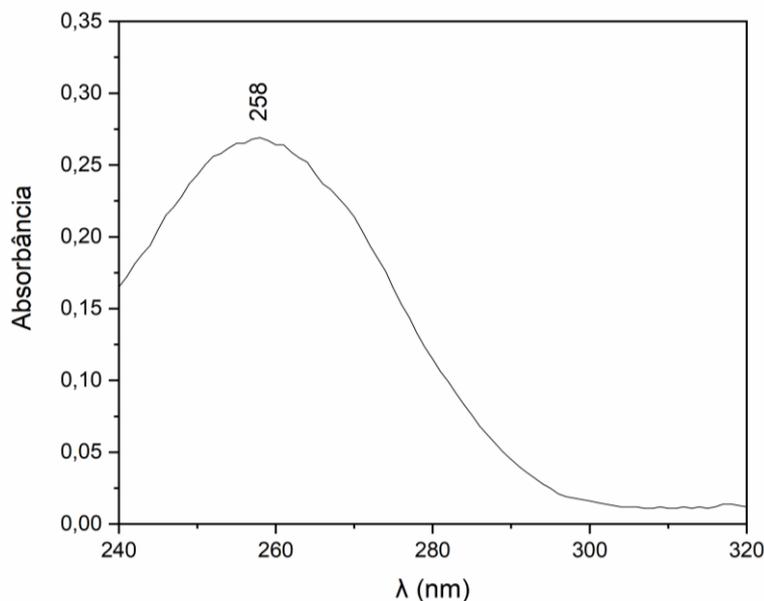


Figura 46: Espectro de absorção eletrônica na região ultravioleta-visível de uma solução de ctDNA em Tris-HCl + NaCl, pH próximo de 7,4, de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L.

Nas titulações espectrofotométricas de ctDNA com os três complexos foi observado um efeito hipercrômico na banda de 258 nm, o que indica uma interação eletrostática entre cátions, com o grupo fosfato do ctDNA ou ao desenrolamento da sua estrutura helicoidal através da quebra das ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas.^{[94], [96], [98], [99]} As figuras 47 a 49 representam os espectros das titulações espectrofotométricas de ctDNA com os complexos **1**, **2** e **3** respectivamente.

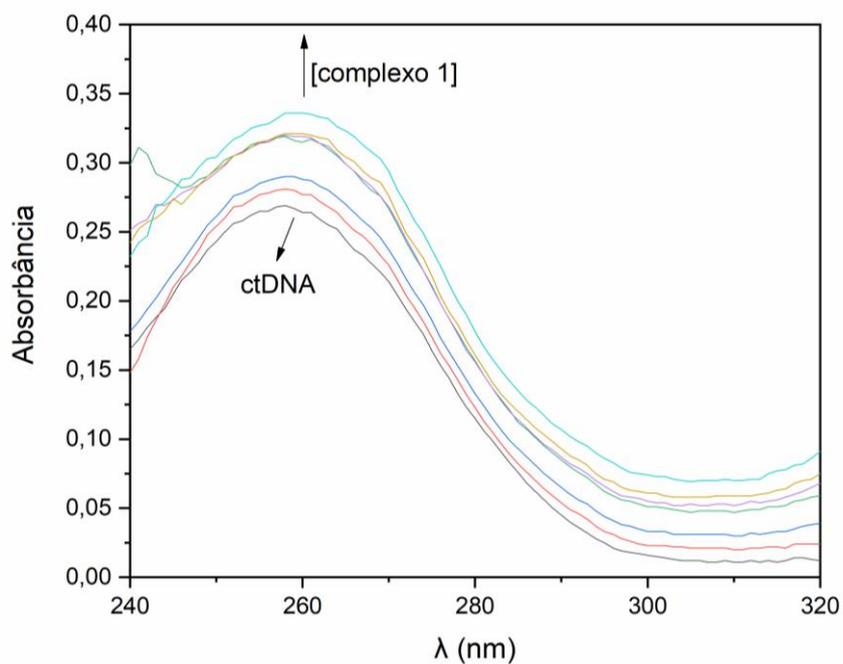


Figura 47: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de $5 \mu\text{L}$ da solução de complexo **1** em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

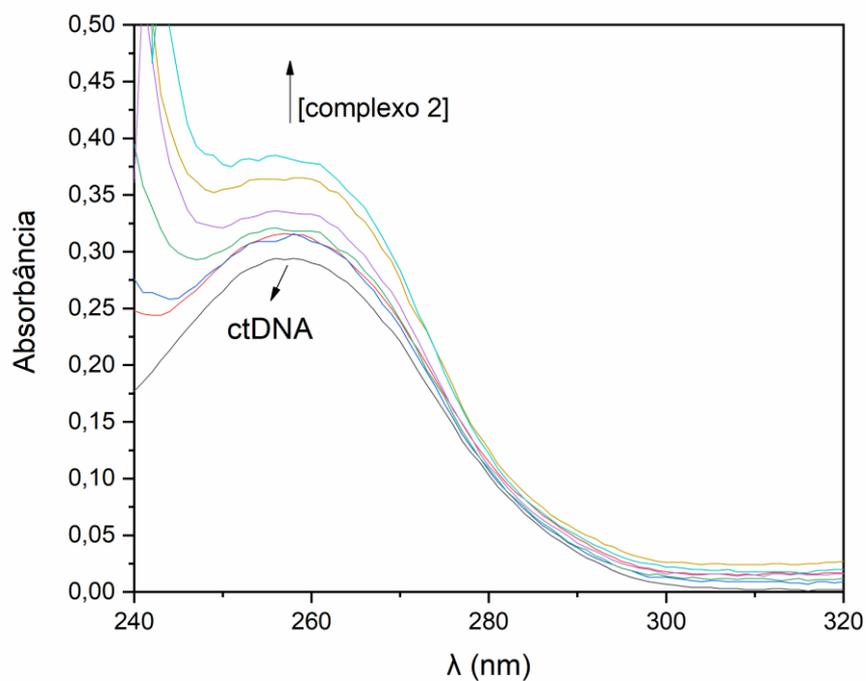


Figura 48: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de $5 \mu\text{L}$ da solução de complexo **2** em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

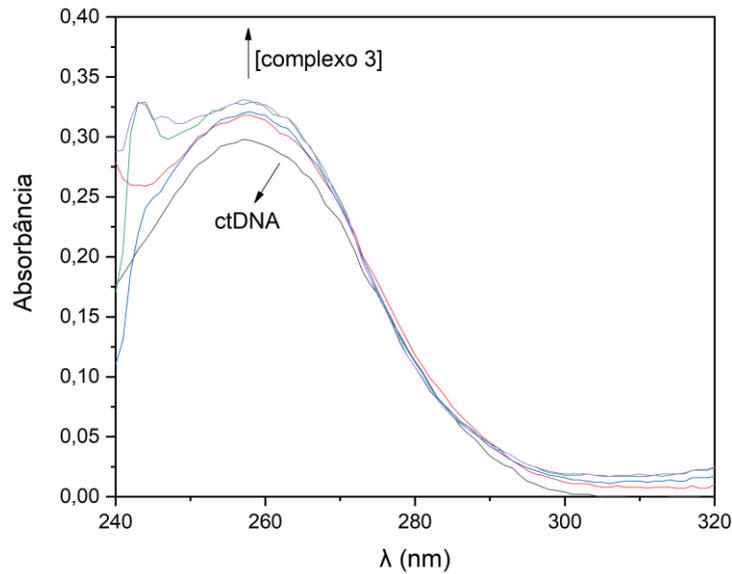


Figura 49: Espectro de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísivel de ctDNA de concentração igual a $1,21 \times 10^{-5}$ mol/L na ausência e após as adições de $5 \mu\text{L}$ da solução de complexo 3 em DMF de concentração igual a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

Através dos valores das constantes de ligação, K_b , calculados usando a equação 1, foi possível concluir que a magnitude da interação dos complexos **1** e **2** com ctDNA foi próxima e o complexo **3** foi o que mais interagiu com esta biomolécula. As equações de reta encontram-se nas figuras 50 a 52 e os valores de K_b bem como o coeficiente de determinação, R^2 , encontram-se na tabela 5.

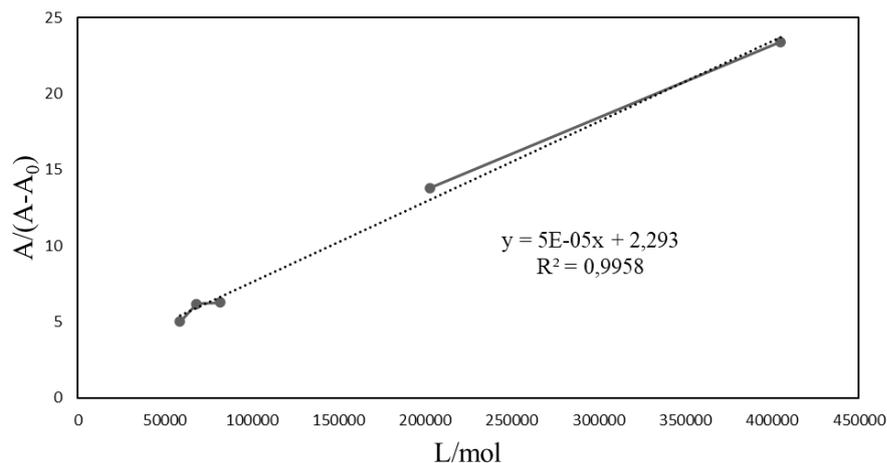


Figura 50: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \mathbf{1}]$ na titulação com ctDNA.

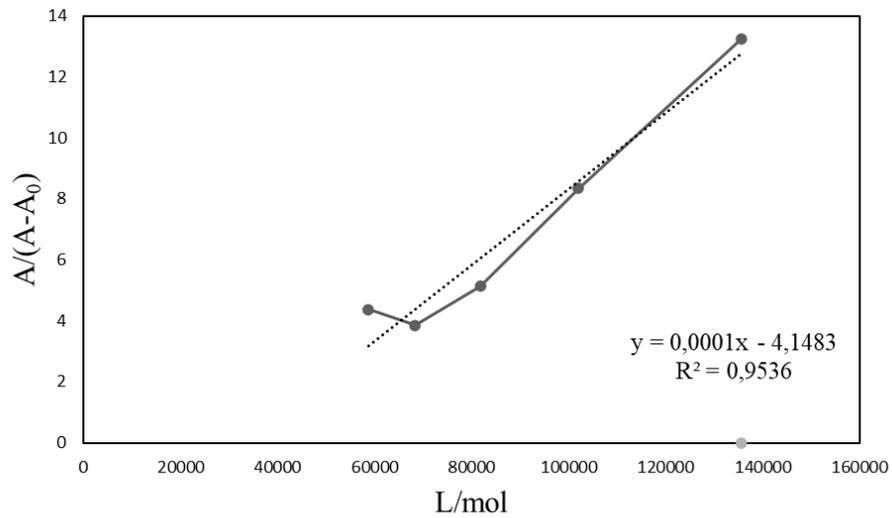


Figura 51: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \underline{2}]$ na titulação com ctDNA

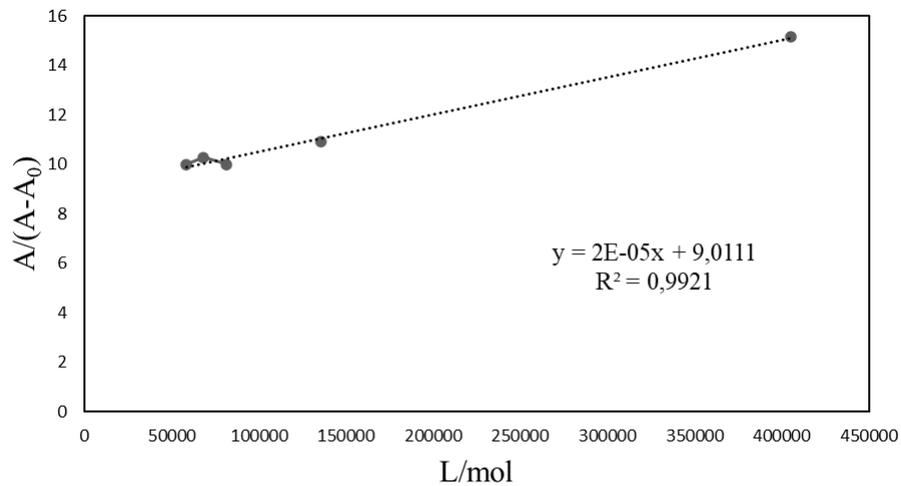


Figura 52: Gráfico $A/(A-A_0)$ versus $1/[\text{complexo } \underline{3}]$ na titulação com ctDNA

Tabela 5: Constante de ligação (K_b) de cada complexo com DNA e o coeficiente de determinação (R^2)

Composto	K_b (10^4 L mol^{-1})	R^2
Complexo <u>1</u>	4,58	0,99
Complexo <u>2</u>	4,14	0,95
Complexo <u>3</u>	45,05	0,99

Já foram relatados na literatura constantes de ligação, K_b , de compostos com ctDNA na magnitude dos complexos 1 e 2 bem como do complexo 3.^{[59], [100]–[102]}

Um composto pode interagir suficientemente com o DNA, entretanto após adentrar numa célula tumoral este pode reagir com outros alvos celulares fazendo com que perca sua atividade

antitumoral, outro fator relevante é o transporte transmembrana que antecede a interação com o DNA podendo limitá-la.

6. Conclusão

Este trabalho mostrou a obtenção de três complexos de platina(II) inéditos contendo um ligante com diferentes grupos funcionais combinados. Através das análises físico-químicas dos complexos foi possível concluir que o ligante se coordenou à platina de forma monodentada apenas pelo enxofre do anel 1,3,4-oxadiazol resultando em um complexo carregado negativamente que completa sua esfera de coordenação com três cloretos e possui o cátion K^+ como contra-íon sem que a piperazina participe da coordenação.

Em relação às análises biológicas foi possível concluir que o tamanho da cadeia alquila lateral dos complexos interferiu nos resultados de IC_{50} e nas constantes de ligação, K_b , da interação com BSA e DNA. Na análise de IC_{50} , o complexo **3** foi o mais citotóxico e também apresentou o maior valor de K_b na interação com DNA. Curiosamente este complexo foi o que menos interagiu com a albumina (BSA). Apesar disso não é possível afirmar que o mecanismo citotóxico dos complexos se baseia apenas na interação com o DNA. Visto que o complexo **2** apresentou atividade parecida com o complexo **3** e um valor de K_b para DNA 10 vezes menor.

Como perspectivas futuras é interessante a realização das análises de difração de raios-X por monocristal, docking molecular e uptake celular. Outros estudos comparativos podem ser realizados substituindo a espécie metálica visando uma melhor solubilidade.

Referências

- [1] “O que é câncer?,” 2020. <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer> (accessed Apr. 08, 2021).
- [2] F. Rossi, H. Noren, R. Jove, V. Beljanski, and K. H. Grinnemo, “Differences and similarities between cancer and somatic stem cells: therapeutic implications,” *Stem Cell Res. Ther.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–16, 2020, doi: 10.1186/s13287-020-02018-6.
- [3] A. J. Levine, N. A. Jenkins, and N. G. Copeland, “Perspective The Roles of Initiating Truncal Mutations in Human Cancers : The Order of Mutations and Tumor Cell Type Matters,” *Cancer Cell*, vol. 35, no. 1, pp. 10–15, 2018, doi: 10.1016/j.ccell.2018.11.009.
- [4] “Cancer.” https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1 (accessed Apr. 12, 2021).
- [5] J. Carneiro and L. C. Junqueira, *Biologia Celular e Molecular*, Nona. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- [6] “Tratamento do câncer,” 2019. <https://www.inca.gov.br/tratamento> (accessed Apr. 13, 2021).
- [7] “Quimioterapia,” 2018. <https://www.inca.gov.br/tratamento/quimioterapia> (accessed Apr. 13, 2021).
- [8] “Tratamento do câncer Quimioterapia,” 2021. <https://www.inca.gov.br/tratamento/quimioterapia> (accessed Mar. 06, 2022).
- [9] F. P. Andrew and P. A. Ajibade, “Synthesis, characterization and anticancer studies of bis(1-phenylpiperazine dithiocarbamate) Cu(II), Zn(II) and Pt(II) complexes: Crystal structures of 1-phenylpiperazine dithiocarbamate-S,S' zinc(II) and Pt(II),” *J. Mol. Struct.*, vol. 1170, pp. 24–29, 2018, doi: 10.1016/j.molstruc.2018.05.068.
- [10] V. Cepeda, M. Fuertes, J. Castilla, C. Alonso, C. Quevedo, and J. Perez, “Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity,” *Anticancer. Agents Med. Chem.*, vol. 7, no. 1, pp. 3–18, 2008, doi: 10.2174/187152007779314044.
- [11] E. R. Jamieson and S. J. Lippard, “Structure , Recognition , and Processing of Cisplatin – DNA Adducts,” *Chem. Rev.*, vol. 99, pp. 2467–2498, 1999.

- [12] J. R. Stenger-Smith and P. K. Mascharak, "Gold Drugs with {Au(PPh₃)₃}⁺ Moiety: Advantages and Medicinal Applications," *ChemMedChem*, vol. 15, no. 22, pp. 2136–2145, 2020, doi: 10.1002/cmdc.202000608.
- [13] E. A. Nyawade, N. R. S. Sibuyi, M. Meyer, R. Lalancette, and M. O. Onani, "Synthesis, characterization and anticancer activity of new 2-acetyl-5-methyl thiophene and cinnamaldehyde thiosemicarbazones and their palladium(II) complexes," *Inorganica Chim. Acta*, vol. 515, no. September 2020, p. 120036, 2021, doi: 10.1016/j.ica.2020.120036.
- [14] N. Sanz del Olmo *et al.*, "Heterofunctional ruthenium(II) carbosilane dendrons, a new class of dendritic molecules to fight against prostate cancer," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 207, 2020, doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112695.
- [15] Y. Chen *et al.*, "Platinum complexes of curcumin delivered by dual-responsive polymeric nanoparticles improve chemotherapeutic efficacy based on the enhanced anti-metastasis activity and reduce side effects," *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 10, no. 6, pp. 1106–1121, 2020, doi: 10.1016/j.apsb.2019.10.011.
- [16] M. A. Fuertes, C. Alonso, and J. M. Pérez, "Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: Enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance," *Chem. Rev.*, vol. 103, no. 3, pp. 645–662, 2003, doi: 10.1021/cr020010d.
- [17] P. Collery, B. Keppler, C. Madoulet, and B. Desoize, "Gallium in cancer treatment," *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 42, no. 3, pp. 283–296, 2002, doi: 10.1016/S1040-8428(01)00225-6.
- [18] R. Safaei and S. B. Howell, "Copper transporters regulate the cellular pharmacology and sensitivity to Pt drugs," *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 53, no. 1, pp. 13–23, 2005, doi: 10.1016/j.critrevonc.2004.09.007.
- [19] B. Alberts *et al.*, *Biologia Molecular da Célula*, Sexta. Porto Alegre: ARTMED EDITORA LTDA., 2017.
- [20] L. Kelland, "The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 7, no. 8, pp. 573–584, 2007, doi: 10.1038/nrc2167.
- [21] N. A. G. dos Santos, R. S. Ferreira, and A. C. dos Santos, "Overview of cisplatin-induced neurotoxicity and ototoxicity, and the protective agents," *Food Chem.*

- Toxicol.*, vol. 136, no. December 2019, p. 111079, 2020, doi: 10.1016/j.fct.2019.111079.
- [22] S. Lynch, “Tolerância e resistência a medicamentos,” 2019.
<https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/medicamentos/fatores-que-afetam-a-resposta-medicamentosa/tolerancia-e-resistencia-a-medicamentos> (accessed Apr. 17, 2021).
- [23] A. L. de Andrade Querino *et al.*, “Mono and dinuclear platinum and palladium complexes containing adamantane–azole ligands: DNA and BSA interaction and cytotoxicity,” *J. Biol. Inorg. Chem.*, vol. 24, no. 7, pp. 1087–1103, 2019, doi: 10.1007/s00775-019-01719-5.
- [24] B. G. *et al.*, “Anticancer Gold(III) Peptidomimetics: From Synthesis to in vitro and ex vivo Biological Evaluations,” *ChemMedChem*, vol. 13, no. 11, pp. 1131–1145, 2018.
- [25] C. Nardon, S. M. Schmitt, H. Yang, J. Zuo, D. Fregona, and Q. Ping Dou, “Gold(III)-dithiocarbamate peptidomimetics in the forefront of the targeted anticancer therapy: Preclinical studies against human breast neoplasia,” *PLoS One*, vol. 9, no. 1, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0084248.
- [26] I. Mármol, P. Castellnou, R. Alvarez, M. C. Gimeno, M. J. Rodríguez-Yoldi, and E. Cerrada, “Alkynyl Gold(I) complexes derived from 3-hydroxyflavones as multi-targeted drugs against colon cancer,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 183, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111661.
- [27] “Câncer de testículo - versão para Profissionais de Saúde.”
<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-testiculo/profissional-de-saude> (accessed Sep. 29, 2021).
- [28] J. M. Mašković *et al.*, “Synthesis, characterization and biological evaluation of Pd(ii), Cu(ii), Re(i) and ^{99m}Tc(i) thiazole-based complexes,” *Medchemcomm*, vol. 9, no. 5, pp. 831–842, 2018, doi: 10.1039/c8md00067k.
- [29] R. Rubbiani, T. N. Zehnder, C. Mari, O. Blacque, K. Venkatesan, and G. Gasser, “Anticancer profile of a series of gold(III) (2-phenyl)pyridine complexes,” *ChemMedChem*, vol. 9, no. 12, pp. 2781–2790, 2014, doi: 10.1002/cmdc.201402446.
- [30] S. Bhuvaneswari, M. Umadevi, and R. Vanajothi, “Effects on anti-inflammatory, DNA binding and molecular docking properties of 2-chloroquinolin-3-yl-methylene-

- pyridine/pyrazole derivatives and their palladium(II) complexes,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 30, no. 21, p. 127593, 2020, doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127593.
- [31] M. Katarzyna, S. Anna, H. Zielinska-Blizniewska, and M. Ireneusz, “An Evaluation of the Antioxidant and Anticancer Properties of Complex Compounds of Copper (II), Platinum (II), Palladium (II) and Ruthenium (III) for Use in Cancer Therapy,” *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 18, no. 16, pp. 1373–1381, 2018, doi: 10.2174/1389557518666180423145825.
- [32] A. Casini *et al.*, “Chemistry, antiproliferative properties, tumor selectivity, and molecular mechanisms of novel gold(III) compounds for cancer treatment: A systematic study,” *J. Biol. Inorg. Chem.*, vol. 14, no. 7, pp. 1139–1149, 2009, doi: 10.1007/s00775-009-0558-9.
- [33] H. Cui, R. Goddard, K. R. Pörschke, A. Hamacher, and M. U. Kassack, “Bispidine analogues of cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin. Synthesis, structures, and cytotoxicity,” *Inorg. Chem.*, vol. 53, no. 7, pp. 3371–3384, 2014, doi: 10.1021/ic402737f.
- [34] C. Roder and M. J. Thomson, “Auranofin: Repurposing an Old Drug for a Golden New Age,” *Drugs R D*, vol. 15, no. 1, pp. 13–20, 2015, doi: 10.1007/s40268-015-0083-y.
- [35] K. Bin Huang *et al.*, “Organometallic Gold(III) Complexes Similar to Tetrahydroisoquinoline Induce ER-Stress-Mediated Apoptosis and Pro-Death Autophagy in A549 Cancer Cells,” *J. Med. Chem.*, vol. 61, no. 8, pp. 3478–3490, 2018, doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01694.
- [36] T. M. Khan *et al.*, “In vitro and in vivo anti-tumor activity of two gold(III) complexes with isoquinoline derivatives as ligands,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 163, pp. 333–343, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.11.047.
- [37] V. Milacic, D. Fregona, and Q. P. Dou, “134. Milacic et al. (2008),” pp. 101–108, 2008.
- [38] S. A. Elsayed, E. A. Saad, and S. I. Mostafa, “Development of New Potential Anticancer Metal Complexes Derived from 2-Hydrazinobenzothiazole,” *Mini-Reviews Med. Chem.*, vol. 19, no. 11, pp. 913–922, 2018, doi: 10.2174/1389557518666181017143548.

- [39] J. Zhao, W. Hua, G. Xu, and S. Gou, "Biotinylated platinum(IV) complexes designed to target cancer cells," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 176, no. August, pp. 175–180, 2017, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2017.08.017.
- [40] A. V. Espinosa *et al.*, "Anticancer and antileishmanial in vitro activity of gold(I) complexes with 1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione ligands derived from δ -D-gluconolactone," *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 97, no. 1, pp. 41–50, 2021, doi: 10.1111/cbdd.13757.
- [41] J. Sun *et al.*, "Synthesis and antitumor activity of 1,3,4-oxadiazole possessing 1,4-benzodioxan moiety as a novel class of potent methionine aminopeptidase type II inhibitors," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 23, no. 10, pp. 2876–2879, 2013, doi: 10.1016/j.bmcl.2013.03.068.
- [42] S. A. Shahzad *et al.*, "Synthesis and biological evaluation of novel oxadiazole derivatives: A new class of thymidine phosphorylase inhibitors as potential anti-tumor agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 22, no. 3, pp. 1008–1015, 2014, doi: 10.1016/j.bmc.2013.12.043.
- [43] M. A. A. Fathi, A. A. Abd El-Hafeez, D. Abdelhamid, S. H. Abbas, M. M. Montano, and M. Abdel-Aziz, "1,3,4-oxadiazole/chalcone hybrids: Design, synthesis, and inhibition of leukemia cell growth and EGFR, Src, IL-6 and STAT3 activities," *Bioorg. Chem.*, vol. 84, no. July 2018, pp. 150–163, 2019, doi: 10.1016/j.bioorg.2018.11.032.
- [44] Q. Z. Zheng, X. M. Zhang, Y. Xu, K. Cheng, Q. C. Jiao, and H. L. Zhu, "Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 2-chloropyridine derivatives possessing 1,3,4-oxadiazole moiety as potential antitumor agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 22, pp. 7836–7841, 2010, doi: 10.1016/j.bmc.2010.09.051.
- [45] F. Zhang *et al.*, "Synthesis, molecular modeling and biological evaluation of N-benzylidene-2-((5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thio)acetohydrazide derivatives as potential anticancer agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 22, no. 1, pp. 468–477, 2014, doi: 10.1016/j.bmc.2013.11.004.
- [46] L. Pulipati, P. Yogeewari, D. Sriram, and S. Kantevari, "Click-based synthesis and antitubercular evaluation of novel dibenzo[b,d]thiophene-1,2,3-triazoles with piperidine, piperazine, morpholine and thiomorpholine appendages," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 26, no. 11, pp. 2649–2654, 2016, doi: 10.1016/j.bmcl.2016.04.015.

- [47] H. Ahadi and S. Emami, "Modification of 7-piperazinylquinolone antibacterials to promising anticancer lead compounds: Synthesis and in vitro studies," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 187, p. 111970, 2020, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111970.
- [48] H. Silva *et al.*, "Impact of the carbon chain length of novel platinum complexes derived from N-alkyl-propanediamines on their cytotoxic activity and cellular uptake," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 102, no. 4, pp. 767–772, 2008, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.11.013.
- [49] K. Biernacki, M. Daško, O. Ciupak, K. Kubiński, J. Rachon, and S. Demkowicz, "Novel 1,2,4-oxadiazole derivatives in drug discovery," *Pharmaceuticals*, vol. 13, no. 6, 2020, doi: 10.3390/ph13060111.
- [50] W. Caneschi *et al.*, "Synthesis and anticancer evaluation of new lipophilic 1,2,4 and 1,3,4-oxadiazoles," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 165, pp. 18–30, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.01.001.
- [51] Q. R. Du *et al.*, "Novel 1,3,4-oxadiazole thioether derivatives targeting thymidylate synthase as dual anticancer/antimicrobial agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 21, no. 8, pp. 2286–2297, 2013, doi: 10.1016/j.bmc.2013.02.008.
- [52] S. K. Marvadi, V. S. Krishna, D. Sriram, and S. Kantevari, "Synthesis of novel morpholine, thiomorpholine and N-substituted piperazine coupled 2-(thiophen-2-yl)dihydroquinolines as potent inhibitors of Mycobacterium tuberculosis," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 164, pp. 171–178, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.12.043.
- [53] L. R. Gouvea *et al.*, "Atypical fluoroquinolone gold(III) chelates as potential anticancer agents: Relevance of DNA and protein interactions for their mechanism of action," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 55, pp. 67–73, 2012, doi: 10.1016/j.ejmech.2012.07.004.
- [54] L. M. M. Vieira, M. V. de Almeida, M. C. S. Lourenço, F. A. F. M. Bezerra, and A. P. S. Fontes, "Synthesis and antitubercular activity of palladium and platinum complexes with fluoroquinolones," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 44, no. 10, pp. 4107–4111, 2009, doi: 10.1016/j.ejmech.2009.05.001.
- [55] L. P. de Oliveira *et al.*, "Three new platinum complexes containing fluoroquinolones and DMSO: Cytotoxicity and evaluation against drug-resistant tuberculosis," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 183, no. March, pp. 77–83, 2018, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2018.03.010.

- [56] H. Toma, *Coleção de Química Conceitual Química Bioinorgânica e Ambiental*, Primeira. São Paulo: Edgar Blucher Ltda., 2015.
- [57] A. C. R. Gonçalves *et al.*, “PtII, PdII and AuIII complexes with a thiosemicarbazone derived from diacetylmonooxime: Structural analysis, trypanocidal activity, cytotoxicity and first insight into the antiparasitic mechanism of action,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 141, pp. 615–631, 2017, doi: 10.1016/j.ejmech.2017.10.013.
- [58] T. Mosmann, “Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays,” *J. of Immunological Methods*, vol. 65, pp. 55–63, 1983.
- [59] A. L. de A. Querino *et al.*, “Modified pyrazole platinum(II) complex can circumvent albumin and glutathione: Synthesis, structure and cytotoxic activity,” *Bioorg. Chem.*, vol. 100, no. April, p. 103936, 2020, doi: 10.1016/j.bioorg.2020.103936.
- [60] J. D. S. Chaves *et al.*, “Synthesis and cytotoxic activity of gold(I) complexes containing phosphines and 3-benzyl-1,3-thiazolidine-2-thione or 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione as ligands,” *Inorganica Chim. Acta*, vol. 414, pp. 85–90, 2014, doi: 10.1016/j.ica.2014.01.042.
- [61] E. E. Salama, “Synthesis of new 2-amino-1,3,4-oxadiazole derivatives with anti-salmonella typhi activity evaluation,” *BMC Chem.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–8, 2020, doi: 10.1186/s13065-020-00682-6.
- [62] D. Pavia, G. Lampman, G. Kriz, and J. Vyvyan, *Introdução À Espectroscopia*, 4°. São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- [63] R. Silverstein and F. Webster, *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, Sexta edição. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2000.
- [64] T. T. Tavares *et al.*, “Platinum(II) and palladium(II) aryl-thiosemicarbazone complexes: Synthesis, characterization, molecular modeling, cytotoxicity, and antimicrobial activity,” *J. Coord. Chem.*, vol. 67, no. 6, pp. 956–968, 2014, doi: 10.1080/00958972.2014.900664.
- [65] N. Bélanger-Desmarais, M. Schütz, and C. Reber, “Remarkably Intricate Raman Spectra of Platinum(II)-Ligand Skeletal Modes in Diamminedihalo Complexes,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 123, no. 26, pp. 5574–5579, 2019, doi: 10.1021/acs.jpca.9b03893.

- [66] P. P. P. Sh, Y. Song, I. S. Butler, and A. Shaver, "High-pressure vibrational study of the catalyst candidate cis-dimercaptobis(triphenylphosphine)platinum(II), cis-[(Ph₃P)₂Pt(SH)₂]," *Science* (80-.), vol. 58, pp. 2581–2587, 2002.
- [67] B. Jeragh and A. A. El-Asmy, "Coordination of Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pd(II) and Pt(II) with 2,5-hexanedione bis(thiosemicarbazone), HBTS: Crystal structure of cis-[Pd(HBTS)]Cl₂ and 1-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-yl)- thiourea," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 130, pp. 546–552, 2014, doi: 10.1016/j.saa.2014.04.013.
- [68] A. A. Ali *et al.*, "Organoplatinum(II) complexes with 2-acetylthiophene thiosemicarbazone: Synthesis, characterization, crystal structures, and in vitro antitumor activity," *Organometallics*, vol. 31, no. 6, pp. 2256–2262, 2012, doi: 10.1021/om201178q.
- [69] L. R. V. Favarin *et al.*, "Harvesting greenish blue luminescence in gold(i) complexes and their application as promising bioactive molecules and cellular bioimaging agents," *New J. Chem.*, vol. 44, no. 17, pp. 6862–6871, 2020, doi: 10.1039/d0nj01339k.
- [70] L. R. V. Favarin, "Síntese, Caracterização Estrutural e Aplicação Biológica de Novos Complexos Luminescentes de Ouro (I) e Prata (I) com Ligantes Baseados em Núcleos Pirazolínicos Substituídos.," Campo Grande, 2018.
- [71] D. Paschoal, C. F. Guerra, M. A. L. de Oliveira, T. C. Ramalho, and H. F. Dos Santos, "Predicting Pt-195 NMR chemical shift using new relativistic all-electron basis set," *J. Comput. Chem.*, pp. 2360–2373, 2016, doi: 10.1002/jcc.24461.
- [72] S. W. Hunsucker, R. C. Watson, and B. M. Tissue, "Characterization of inorganic coordination complexes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 15, no. 15, pp. 1334–1340, 2001, doi: 10.1002/rcm.377.
- [73] M. F. Wyatt, "MALDI-TOFMS analysis of coordination and organometallic complexes: a nic(h)e area to work in.," *J. Mass Spectrom.*, vol. 46, no. 7, pp. 712–719, 2011, doi: 10.1002/jms.1957.
- [74] C. Núñez *et al.*, "New dinuclear nickel(ii) and iron(ii) complexes with a macrocyclic ligand containing a N₆S₂ donor-set: Synthesis, structural, MALDI-TOF-MS, magnetic and spectroscopic studies," *Dalt. Trans.*, vol. 39, no. 33, pp. 7673–7683, 2010, doi:

10.1039/c0dt00182a.

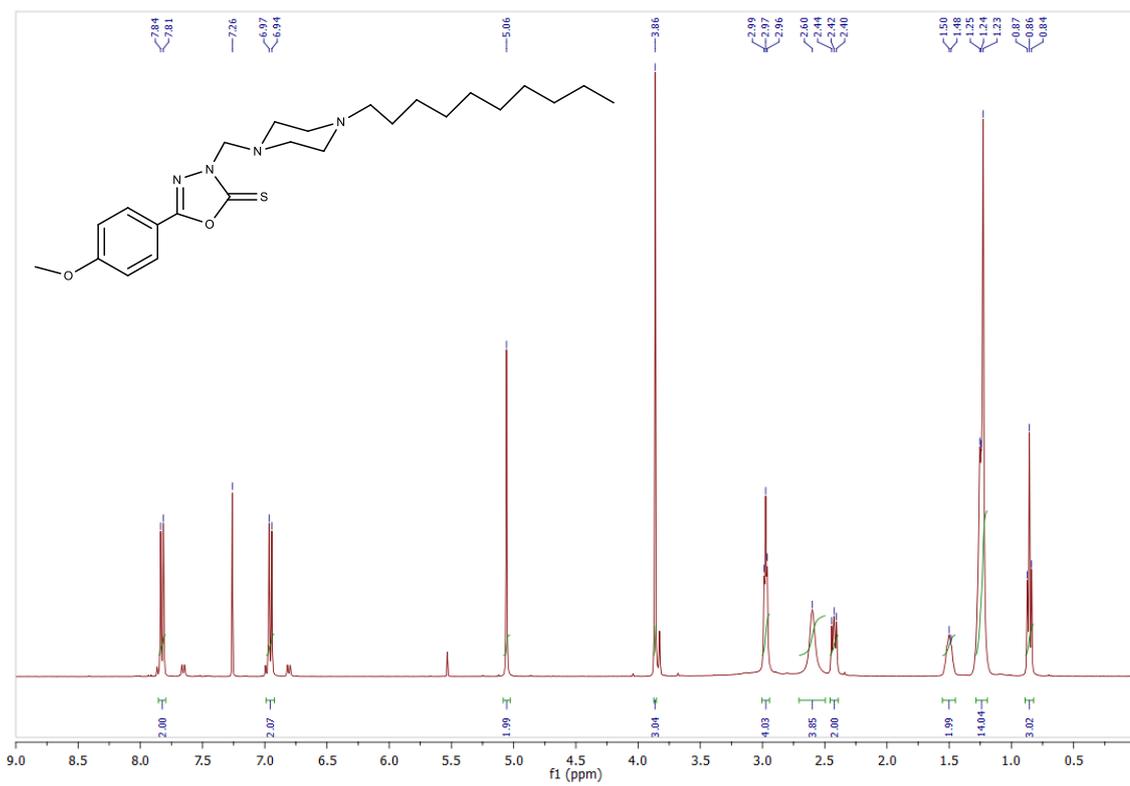
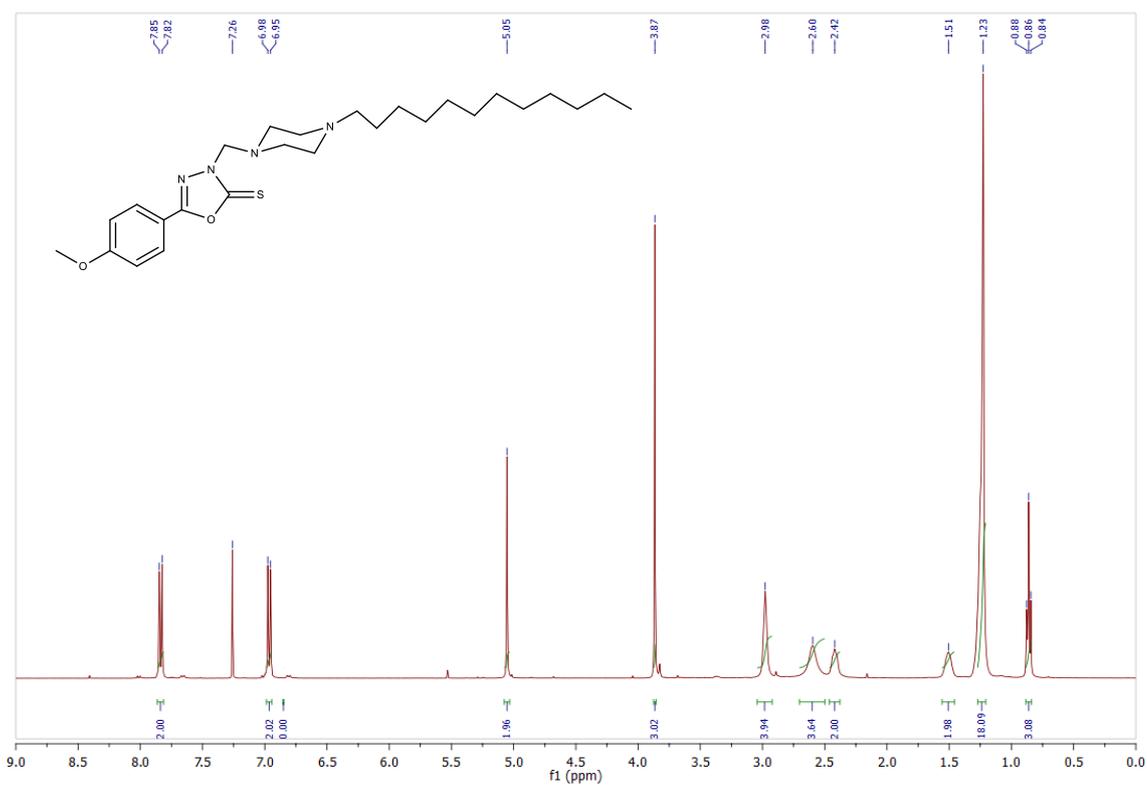
- [75] B. Damnjanović, T. Kameva, B. Petrović, Ž. D. Bugarić, and M. Petković, “Laser desorption and ionization time-of-flight versus matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry of Pt(ii) and Ru(iii) metal complexes,” *Anal. Methods*, vol. 3, no. 2, pp. 400–407, 2011, doi: 10.1039/c0ay00517g.
- [76] L. Patiny and A. Borel, “ChemCalc: A building block for tomorrow’s chemical infrastructure,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 5, pp. 1223–1228, 2013, doi: 10.1021/ci300563h.
- [77] “MF ANALYSIS.” <https://www.chemcalc.org/?ionizations=&mf=C10H9Cl2N2O2PtS> (accessed Sep. 27, 2021).
- [78] “MF ANALYSIS.” <https://www.chemcalc.org/?ionizations=&mf=C22H33Cl2N4O2PtS> (accessed Sep. 27, 2021).
- [79] H. Awad *et al.*, “The unexpected formation of [M - H]⁺ species during MALDI and dopant-free APPI MS analysis of novel antineoplastic curcumin analogues,” *J. Mass Spectrom.*, vol. 49, no. 11, pp. 1139–1147, 2014, doi: 10.1002/jms.3434.
- [80] “MF ANALYSIS.” <https://www.chemcalc.org/?ionizations=&mf=C26H41Cl2N4O2PtS> (accessed Sep. 27, 2021).
- [81] R. G. Velho, “Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico,” *Univ. Fed. São Carlos*, p. 170, 2006.
- [82] A. G. Eshimbetov, I. F. Tojiyev, and A. A. Ziyaev, “DFT and TD-DFT study of isomeric 5-(pyridyl)-1,3,4-oxadiazol-2-thiones and 2-methylthio-5-(pyridyl)-1,3,4-oxadiazoles,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 187, pp. 191–197, 2017, doi: 10.1016/j.saa.2017.06.064.
- [83] J. C. W. Comley, M. J. Rees, C. H. Turner, and D. C. Jenkins, “Colorimetric quantitation of filarial viability,” *Int. J. Parasitol.*, vol. 19, no. 1, pp. 77–83, 1989, doi: 10.1016/0020-7519(89)90024-6.
- [84] A. M. Surin *et al.*, “Disruption of functional activity of mitochondria during MTT assay of viability of cultured neurons,” *Biochem.*, vol. 82, no. 6, pp. 737–749, 2017,

- doi: 10.1134/S0006297917060104.
- [85] J. C. Stockert, R. W. Horobin, L. L. Colombo, and A. Blázquez-Castro, “Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives,” *Acta Histochem.*, vol. 120, no. 3, pp. 159–167, 2018, doi: 10.1016/j.acthis.2018.02.005.
- [86] N. I. Fedotcheva *et al.*, “Substrate-specific reduction of tetrazolium salts by isolated mitochondria, tissues, and leukocytes,” *Biochem.*, vol. 82, no. 2, pp. 192–204, 2017, doi: 10.1134/S0006297917020110.
- [87] D. P. Shelar, R. V. Rote, S. R. Patil, and M. N. Jachak, “Effects of homogeneous media, binary mixtures and microheterogeneous media on the fluorescence and fluorescence probe properties of some benzo[b][1,8]naphthyridiens with HSA and BSA,” *Luminescence*, vol. 27, no. 5, pp. 398–413, 2012, doi: 10.1002/bio.1364.
- [88] V. D. Suryawanshi, L. S. Walekar, A. H. Gore, P. V. Anbhule, and G. B. Kolekar, “Spectroscopic analysis on the binding interaction of biologically active pyrimidine derivative with bovine serum albumin,” *J. Pharm. Anal.*, vol. 6, no. 1, pp. 56–63, 2016, doi: 10.1016/j.jpha.2015.07.001.
- [89] J. P. Rada *et al.*, “Binucleating Hydrazone Ligands and Their μ -Hydroxodicopper(II) Complexes as Promising Structural Motifs for Enhanced Antitumor Activity,” *Inorg. Chem.*, vol. 58, no. 13, pp. 8800–8819, 2019, doi: 10.1021/acs.inorgchem.9b01195.
- [90] A. J. Rahman *et al.*, “Spectroscopic studies of binding interactions of 2-chloroethylphenyl sulphide with bovine serum albumin,” *J. Mol. Liq.*, vol. 340, p. 117144, 2021, doi: 10.1016/j.molliq.2021.117144.
- [91] Z. Y. Tian *et al.*, *Spectroscopic study on the interaction between naphthalimide-polyamine conjugates and bovine serum albumin (BSA)*, vol. 20, no. 9. 2015.
- [92] A. Ramezanpour *et al.*, “A mononuclear PdII complex with Naphcon; crystal structure, experimental and computational studies of the interaction with DNA/BSA and evaluation of anticancer activity,” *Polyhedron*, vol. 206, p. 115333, 2021, doi: 10.1016/j.poly.2021.115333.
- [93] A. Tarushi *et al.*, “Antioxidant activity and interaction with DNA and albumins of zinc-tolfenamato complexes. Crystal structure of [Zn(tolfenamato) 2(2,2'-

- dipyridylketoneoxime)2],” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 74, pp. 187–198, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.12.019.
- [94] M. Sirajuddin, S. Ali, and A. Badshah, “Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 124, pp. 1–19, 2013, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013.
- [95] D. Zhao, L. Ma, K. Lu, J. Wu, and J. He, “Syntheses of valpromide dipeptide derivatives and interactions of derivatives with ctDNA,” *Res. Chem. Intermed.*, vol. 41, no. 11, pp. 8591–8601, 2015, doi: 10.1007/s11164-014-1913-1.
- [96] D. A. Erdogan and Ş. Özalp-Yaman, “Novel Pt(II) complexes containing pyrrole oxime; Synthesis, characterization and DNA binding studies,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1064, no. 1, pp. 50–57, 2014, doi: 10.1016/j.molstruc.2014.02.005.
- [97] S. K. Upadhyay, “Binding and thermodynamics of REV peptide–ctDNA interaction,” *Biopolymers*, vol. 108, no. 2, pp. 1–12, 2017, doi: 10.1002/bip.22902.
- [98] R. K. Thomas, S. Sukumaran, S. Prasanth, and C. Sudarsanakumar, “Revealing the interaction strategy of Diosmin functionalized gold nanoparticles with ctDNA: Multi-spectroscopic, calorimetric and thermodynamic approach,” *J. Lumin.*, vol. 205, no. September 2018, pp. 265–276, 2019, doi: 10.1016/j.jlumin.2018.09.004.
- [99] M. N. Dehkordi, A. K. Bordbar, M. A. Mehrgardi, and V. Mirkhani, “Spectrophotometric study on the binding of two water soluble schiff base complexes of Mn (III) with ct-DNA,” *J. Fluoresc.*, vol. 21, no. 4, pp. 1649–1658, 2011, doi: 10.1007/s10895-011-0854-y.
- [100] M. Tabatabaee *et al.*, “Two new neutral copper(II) complexes with dipicolinic acid and 3-amino-1H-1,2,4-triazole formed under different reaction conditions: Synthesis, characterization, molecular structures and DNA-binding studies,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 70, pp. 364–371, 2013, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.10.009.
- [101] J. E. F. Alves *et al.*, “Novel indole-thiazole and indole-thiazolidinone derivatives as DNA groove binders,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 170, pp. 622–635, 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.153.
- [102] Q. Wei *et al.*, “DNA binding, BSA interaction and SOD activity of two new nickel(II) complexes with glutamine Schiff base ligands,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol.

161, pp. 355–367, 2016, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.053.

Apêndice

Figura A1: Espectro RMN de ^1H do ligante b (400 MHz; CDCl_3) δ em ppmFigura A2: Espectro RMN de ^1H do ligante c (400 MHz; CDCl_3) δ em ppm

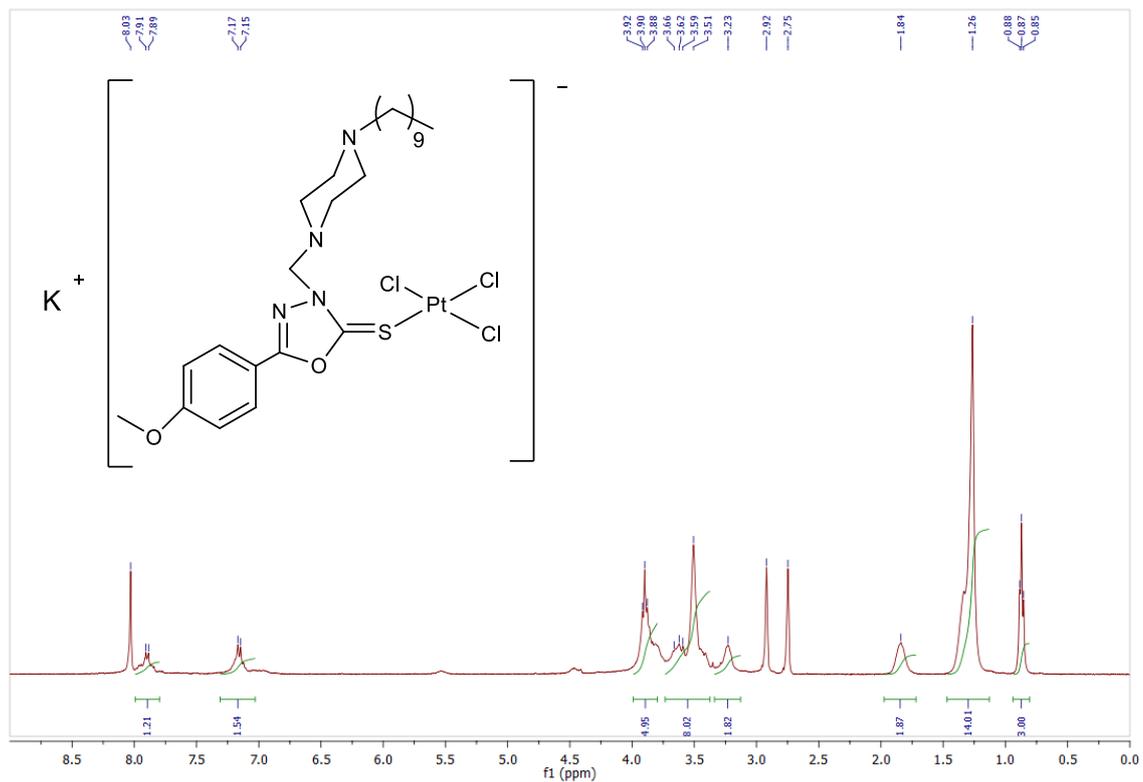


Figura A3: Espectro RMN de ^1H do complexo 2 (400 MHz; $\text{DMF-}d_7$) δ em ppm

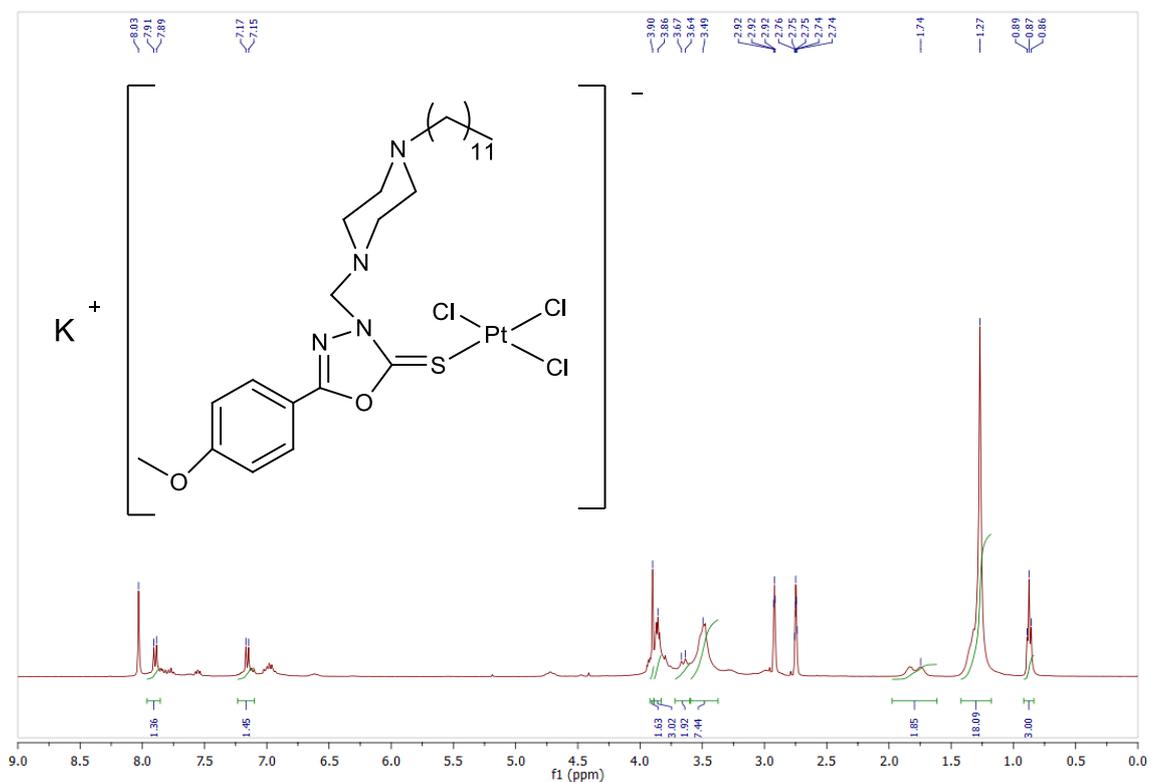
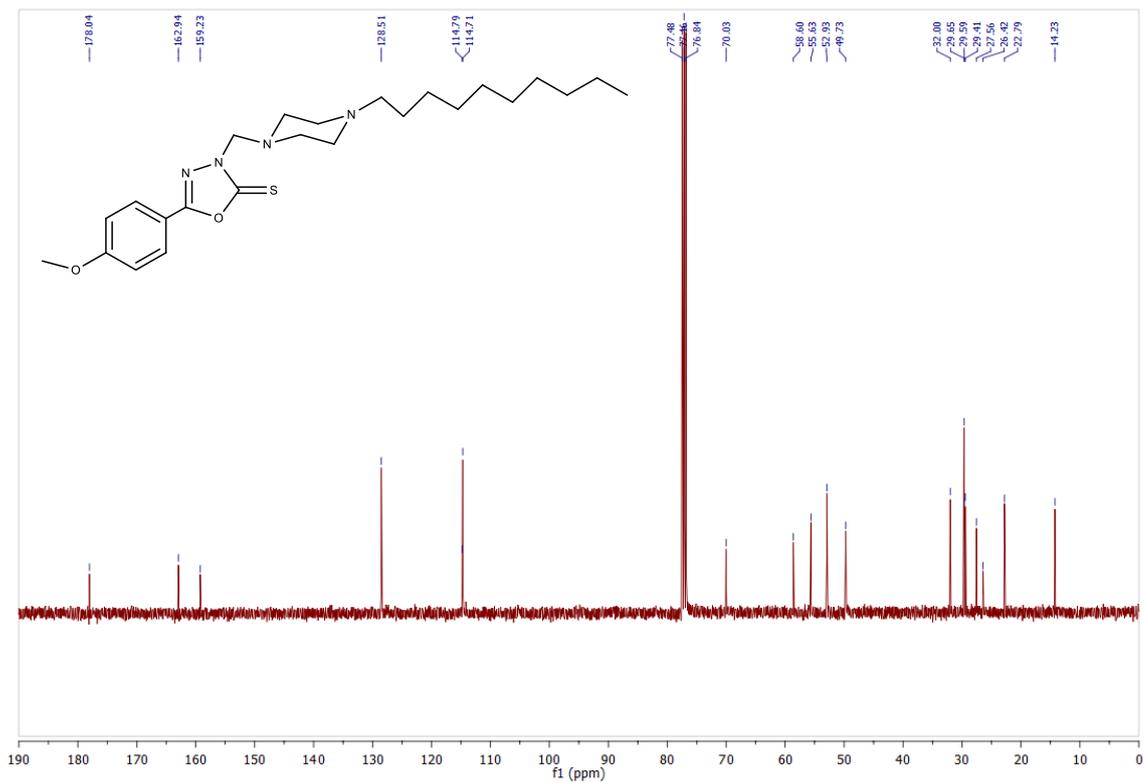
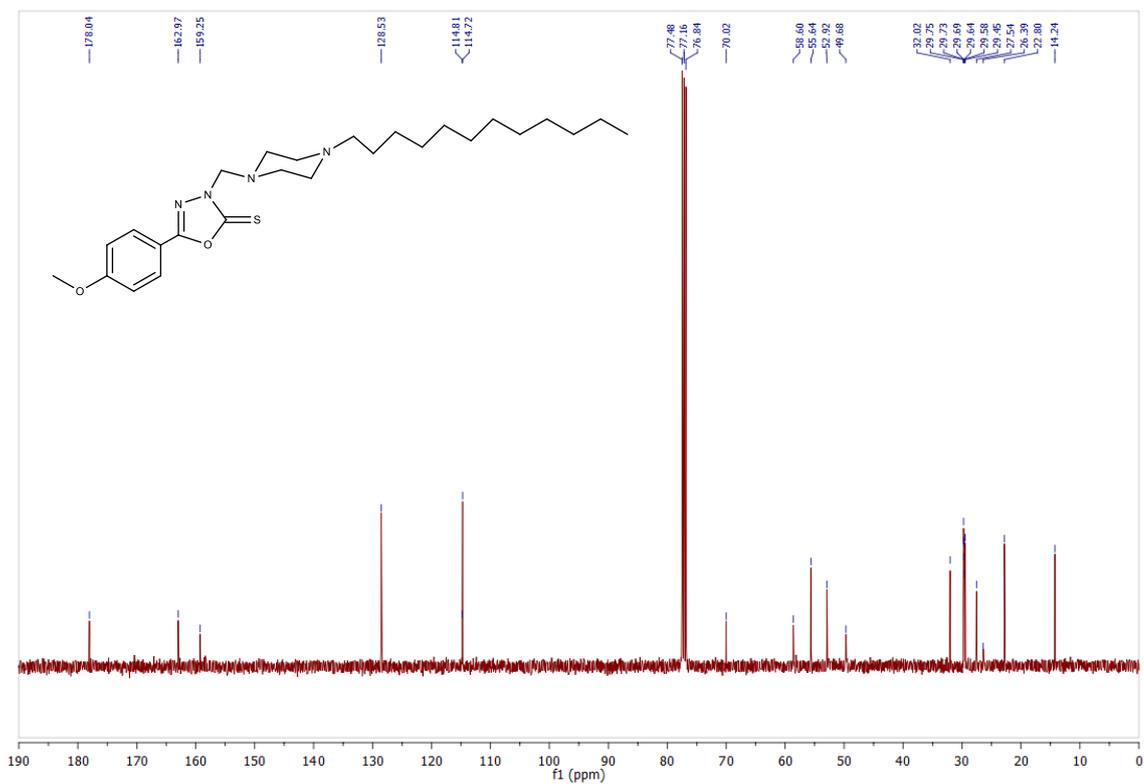


Figura A4: Espectro RMN de ^1H do complexo 3 (400 MHz; $\text{DMF-}d_7$) δ em ppm

Figura A5: Espectro RMN ^{13}C do ligante b (100 MHz; CDCl_3) δ em ppmFigura A6: Espectro RMN ^{13}C do ligante c (100 MHz; CDCl_3) δ em ppm

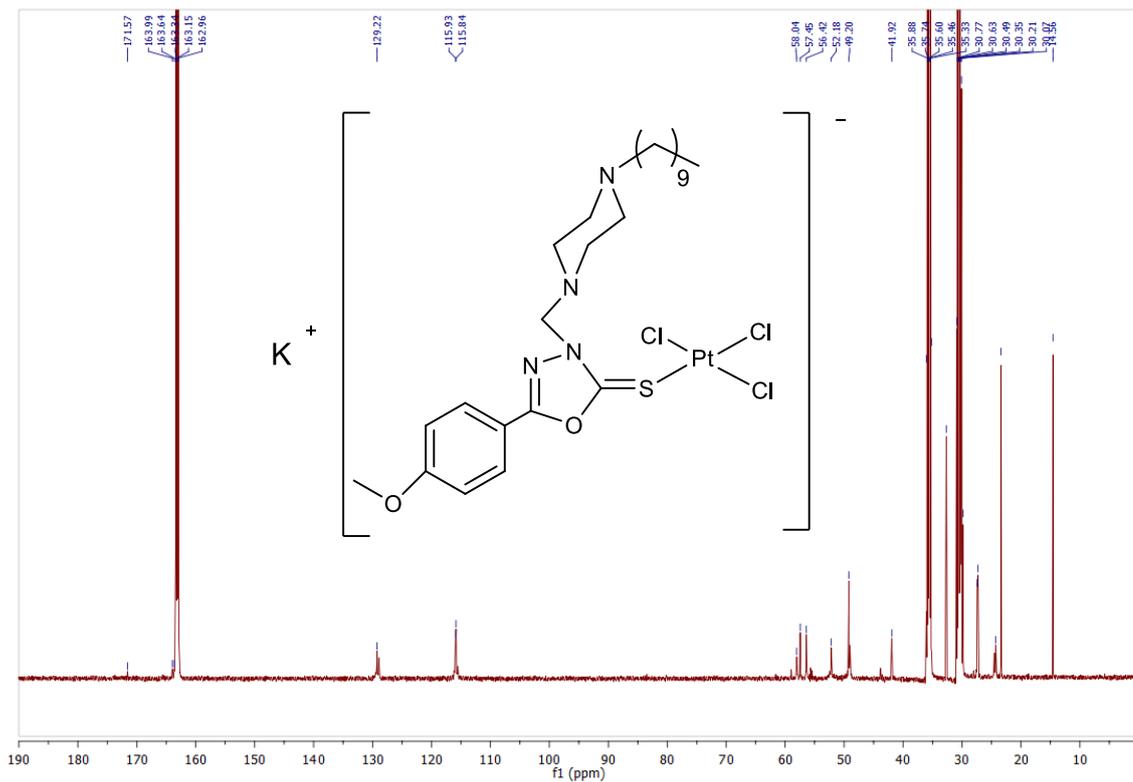


Figura A7: Espectro RMN ^{13}C do complexo 2 (150 MHz; $\text{DMF-}d_7$) δ em ppm

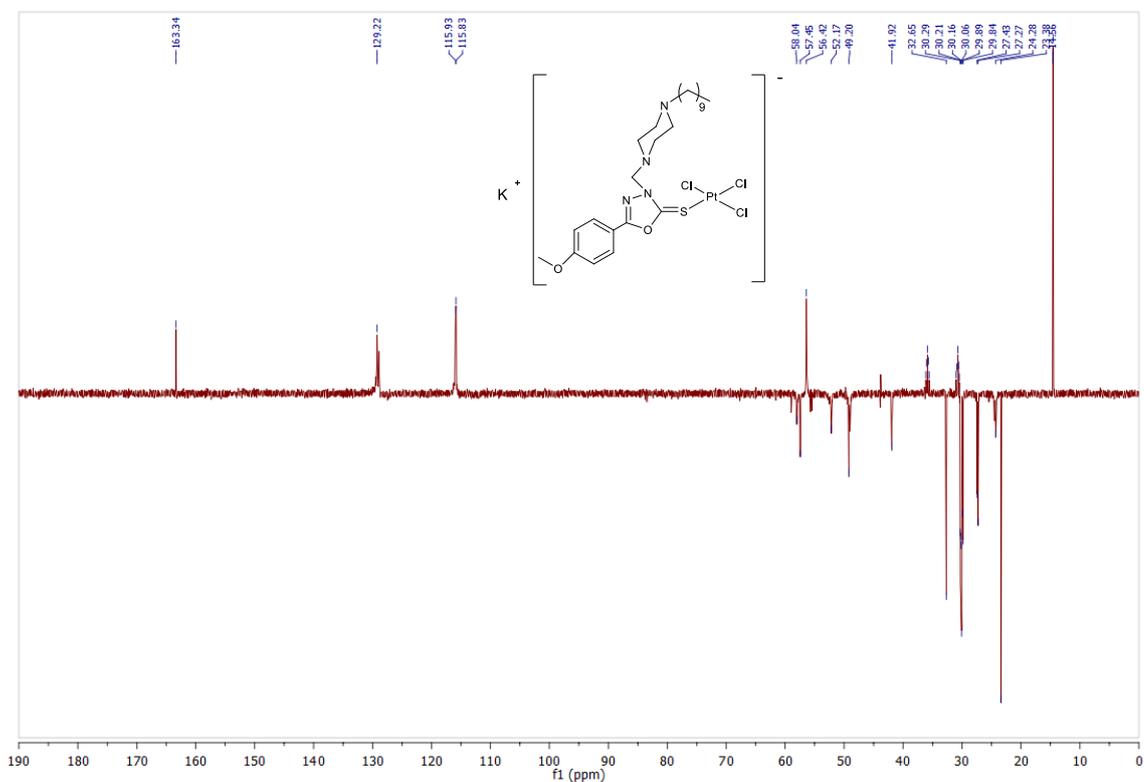


Figura A8: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo 2, δ em ppm

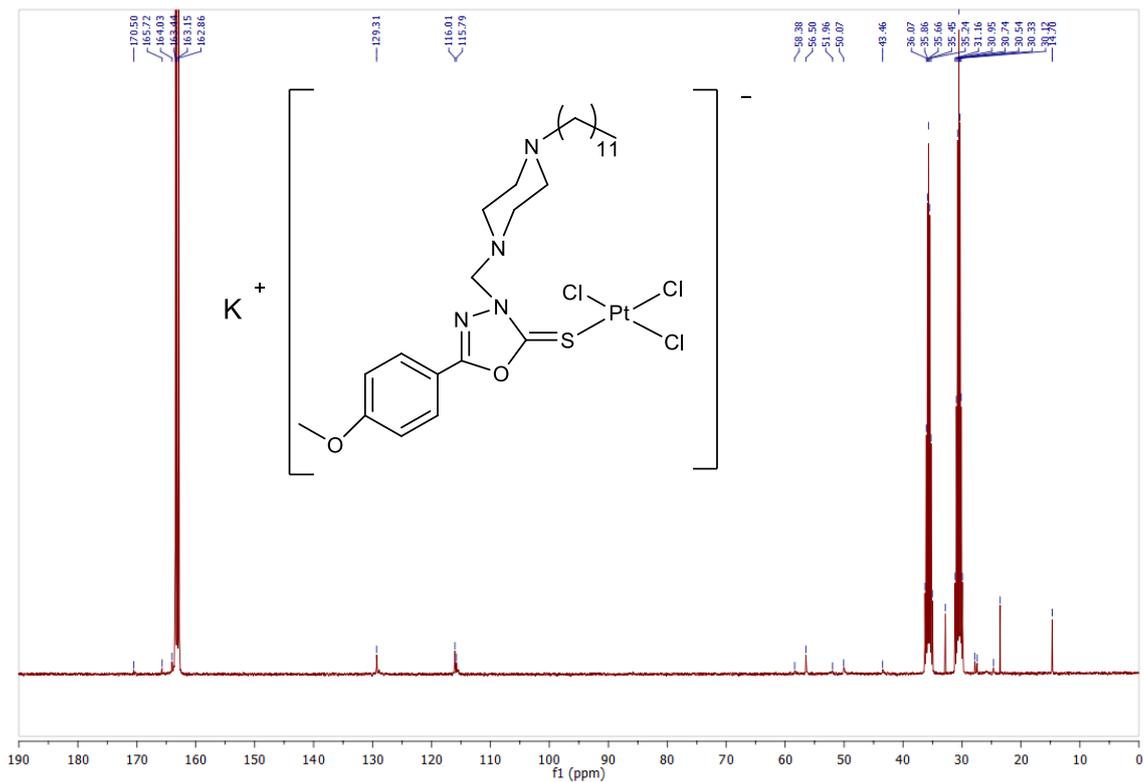


Figura A9: Espectro RMN ^{13}C do complexo 3 (100 MHz; $DMF-d_7$) δ em ppm

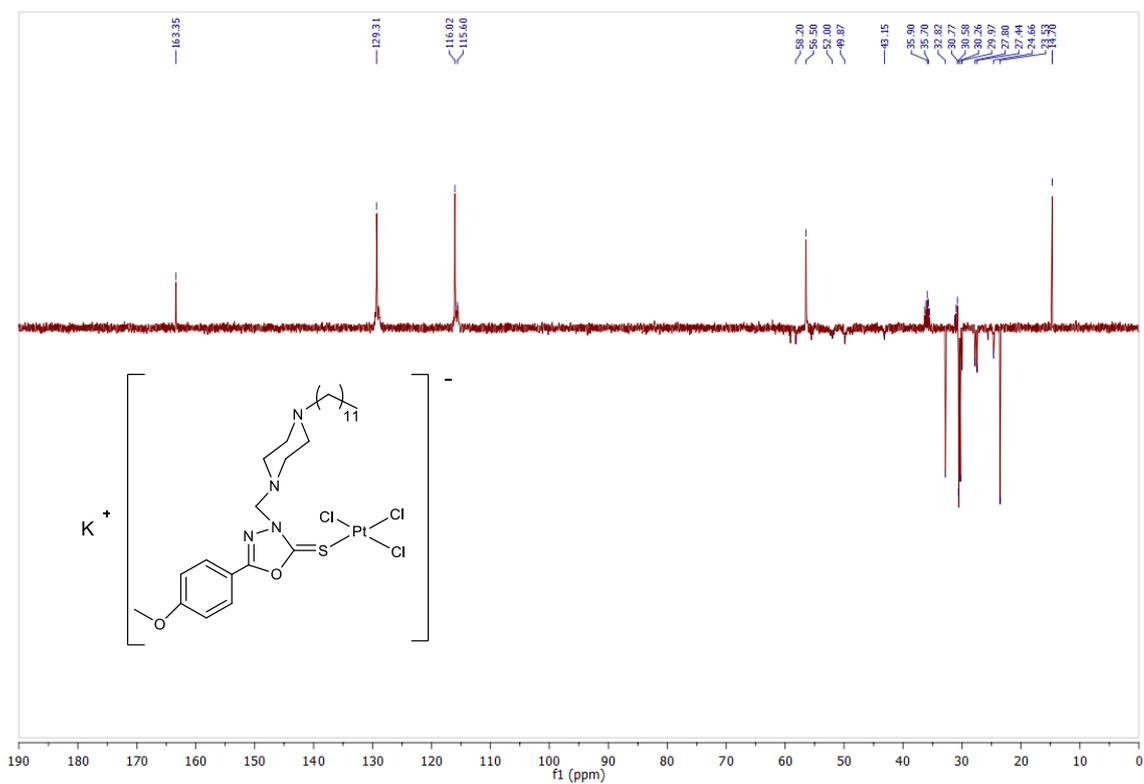


Figura A10: Espectro de RMN DEPT-135 do complexo 3, δ em ppm

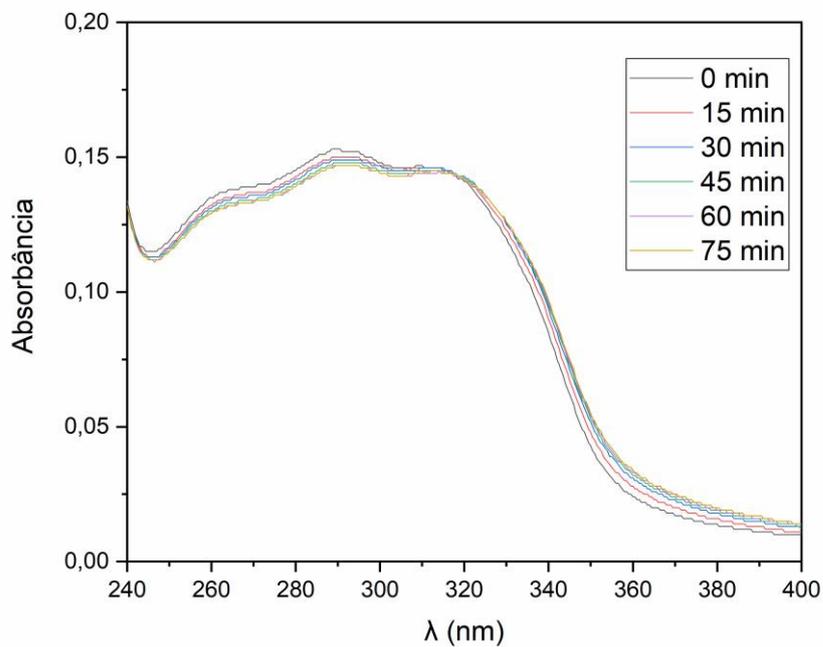


Figura A11: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 1 ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos

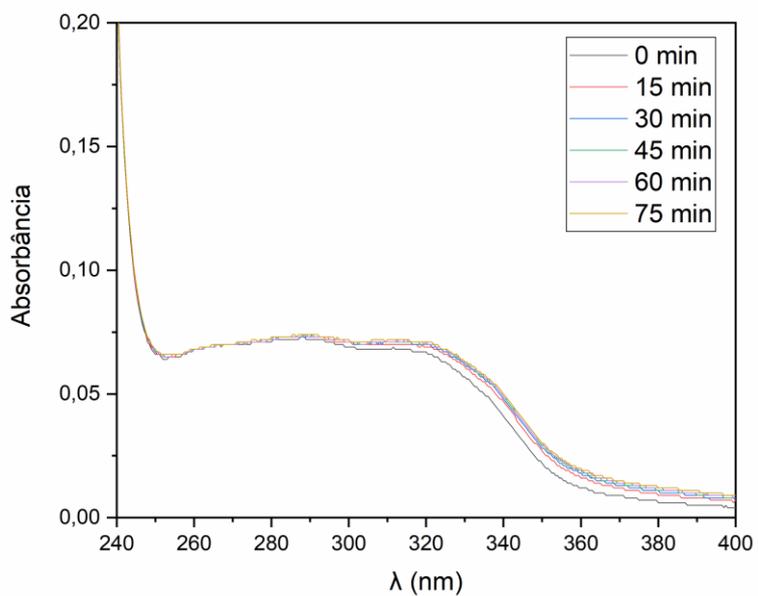


Figura A12: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 2 ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos

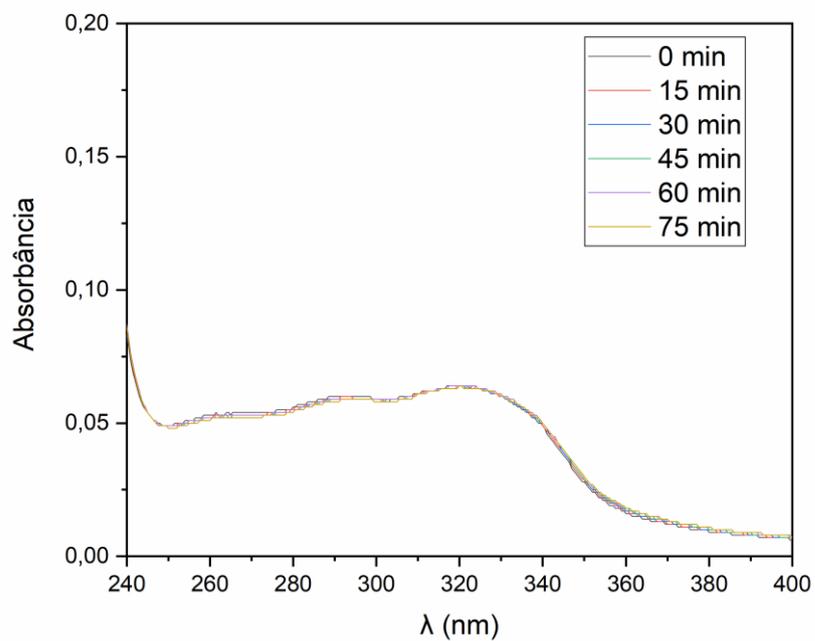


Figura A13: Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis do complexo 3 ($4,95 \times 10^{-6}$ mol/L) em Trisma-HCl. Leituras de 15 em 15 minutos.