

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE
PLATINA (II) COM LIGANDOS FOSFÍNICOS E
CLOROQUINA: ESTUDO DE SUAS INTERAÇÕES COM O
ADN E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES CITOTÓXICAS**

Wilmer José Villarreal Peña*

Dissertação apresentada ao Programa De Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista.

***Bolsista Capes**

São Carlos – SP

2013

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

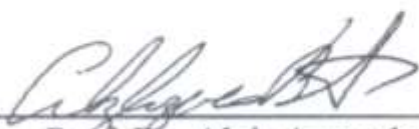
V722s Villarreal Peña, Wilmer José
Síntese e caracterização de complexos de platina
(II) com ligandos fosfínicos e cloroquina : estudo de
suas interações com o ADN e avaliação de suas
atividades citotóxicas / Wilmer José Villarreal Peña.
-- São Carlos : UFSCar, 2016.
119 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2013.

1. Bioinorgânica. 2. Câncer. 3. Complexos de
platina (II). 4. Fosfinas. I. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico do candidato Wilmer Jose Villarreal Peña, realizada em 28 de março de 2013:



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi



Prof. Dr. André Luiz Bogado

Dedicatória

A Deus, aos meus pais Ebelia e Wilmer, meus irmãos Luis e Andrea, meu sobrinho Juan David, minha família, amigos, e todos os que confiarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, pelo apoio e por acreditar no trabalho, pela orientação e amizade.

A Profa. Dra. Maribel Navarro pelas discussões interessantes para o desenvolvimento do trabalho.

Ao corpo técnico, administrativo e aos professores do Programa de Pós-graduação do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos- UFSCar.

A os técnicos do DQ-UFSCar: Ademir Sartori, Luciana Visotto e Paulo Lambertucci. Ao Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira, assim como ao Cleyton pelos experimentos de RMN.

Aos amigos do Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos- LERCI: João Paulo, Rodrigo, Murillo, Katia, Marília, Jocely, Marcio, Fabio e Monize pela amizade e apoio.

Aos amigos Angélica, Veroni e á pequena Alice, pelo apoio e por todo o tempo juntos. A Claudia, Lucas, Fernando e Maria Amélia por tudo o apoio e companheirismo e pelos momentos de distração.

A minha família pelo apoio tão longe de casa... Todos vocês são demais! A minha Mãe por sempre acreditar em mim, igual que meus irmãos Luis Miguel e Andrea. A meu sobrinho Juan David e a toda minha família.

A Legna por tudo, obrigada pelo apoio e por todos os momentos juntos. A seus pais e irmãos.

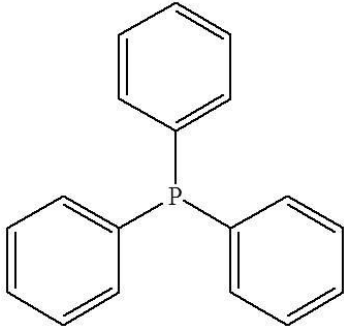
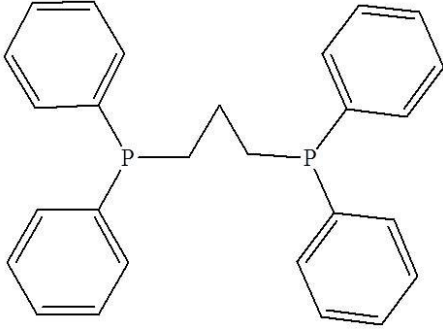
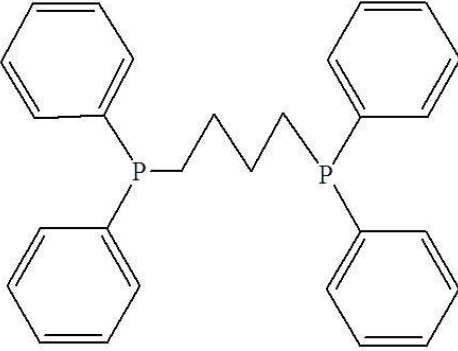
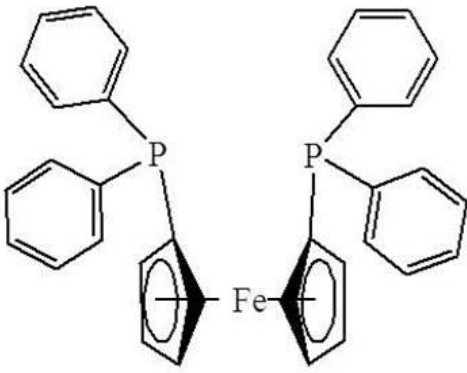
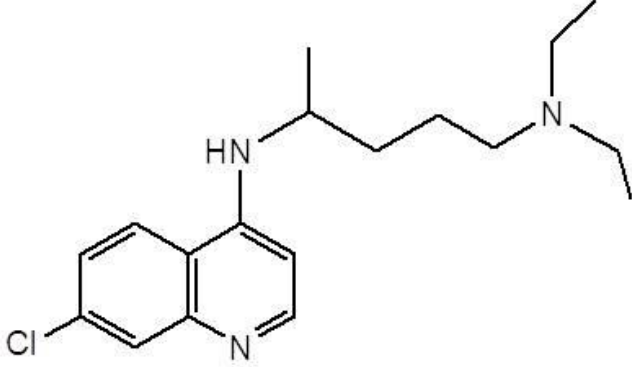
A Capes pela bolsa concedida.

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

μ	Micro
σ	Ligação sigma
π	Ligação pi
ν	Estiramento
δ	Deslocamento químico
s	Singleto
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
t	Tripleto
hept	Hepteto
m	Multipleteo
sept	septeto
Λ_M	Condutividade Molar
dms -d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
ϵ	Coefficiente de Absortividade Molar
PPh $_3$	Trifenilfosfina
dppp	1,3-bis(difenilfosfina)propano
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano

dppf	1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno
CQ	Cloroquina Base
CQDF	Cloroquina difosfato
CT-DNA	Acido desoxirribonucleico de timo de carneiro
COSY	Correlação espectroscópica
HSQC	Correlação heteronuclear de ligação simples
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
IV	Infravermelho
C	Complexo

Estrutura e massa molecular dos ligantes

<p>Trifenilfosfina (PPh_3)</p>  <p>MM: 262,29 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$</p>	<p>1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp)</p>  <p>MM: 412,44 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$</p>
<p>1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb)</p>  <p>MM: 426,47 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$</p>	<p>1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf)</p>  <p>MM: 554,38 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$</p>
<p>Cloroquina Base (CQ)</p>  <p>MM: 319,87 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$</p>	

RESUMO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PLATINA (II) COM LIGANTES FOSFÍNICOS E CLOROQUINA: ESTUDO DE SUAS INTERAÇÕES COM O DNA E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES CITOTÓXICAS. Neste trabalho, realizou-se a síntese e caracterizações dos complexos de fórmula geral $[Pt(P-P)Cl_2]$ e $[Pt(P-P)(CQ)Cl]PF_6$ (onde P-P= trifenilfosfina (PPh_3), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfino)butano (dppb), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf), e CQ=Cloroquina). As caracterizações foram realizadas por meio de análise elementar, condutividade, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), de RMN 1H , $^{13}C\{^1H\}$, $^{15}N\{^1H\}$, $^{31}P\{^1H\}$, $^{195}Pt\{^1H\}$, espectroscopia de absorção na região do UV-Visível, voltametria cíclica e pulso diferencial, e espectrometria de massas (no caso dos complexos com CQ). Também foi avaliada a interação dos complexos sintetizados com o ADN, com a finalidade de estimar a magnitude da interação dos complexos sintetizados com esta importante macromolécula, obtendo-se que os complexos sintetizados apresentam constantes de interação similares e superiores às apresentadas pela CQ e CQDF, e diminuem a viscosidade relativa do DNA. Também foi avaliada a atividade citotóxica dos complexos com CQ nas linhagens celulares tumorais MCF-7 e MDA-MB-231 (tumor de mama humano), DU-145 (tumor de próstata humano), A549 (adenocarcinoma de pulmão humano) e não tumorais V79-4 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (células não tumorais de camundongo), os quais apresentarem atividade promissória, principalmente os complexos 5 e 8.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PLATINUM (II) COMPLEXES WITH PHOSPHINIC AND CHLOROQUINE LIGANDS: STUDY OF THEIR INTERACTION WITH THE DNA AND EVALUATION OF THEIR CYTOTOXIC ACTIVITIES. In this work were synthesized and characterized complexes of general formulae $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ and $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (where $(\text{P})_2$ = triphenylphosphine (PPh_3), 1,3-bis (diphenylphosphino) propane (dppp), 1,4-bis (diphenylphosphino) butane (dppb), 1,1'-bis (diphenylphosphino) ferrocene (dppf) and CQ = Chloroquine). The characterization of the complexes was performed by means of elemental analysis, conductivity, absorption spectroscopy in the infrared and UV-Visible regions (IR and UV-Vis), NMR ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$, cyclic voltammetry and differential pulse, and mass spectrometry (in the case of chloroquine complexes). Also, the interaction of the chloroquine complexes with DNA was evaluated for calculate to the magnitude of the interaction with this important macromolecule, obtaining that the complexes showed interaction constants similar and higher than those presented by CQ and CQDP , and decrease the relative viscosity of DNA. We also evaluated the cytotoxic activity of the chloroquine complexes in the cell lines MCF-7 and MDA-MB-231 (human breast tumor cell lines), DU-145 (the human prostate tumor cell line), A549 (the human lung adenocarcinoma epithelial cell line), V79-4 (the Chinese hamster lung fibroblast cell line), and the L929 (nontumor cell line from mice), showed promissory activity, mainly of the complexes 5 and 8.

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

Figura 1.1: Classificação dos íons metálicos.	4
Figura 1.2: Complexos inorgânicos que impulsionaram a bioinorgânica.	4
Figura 1.3: Compostos de platina usados como agentes anticancerígenos (a) cisplatina, (b) carboplatina, (c) nedaplatina, (d) oxaliplatina, (e) lobaplatina, (f) satraplatina, (g) picoplatina, (h) aroplatina e (i) ProLindac.....	12
Figura 1.4: Estruturas de alguns complexos de <i>trans</i> -[PtCl ₂ (L)(L')]. (a) <i>trans</i> -[PtCl ₂ (piridina) ₂] (b) <i>trans</i> -[PtCl ₂ (N-metilimidazol) ₂] (c) [PtCl ₂ (tiazoll) ₂] (d) <i>trans</i> -[PtCl ₂ (quinolina)(RR'SO imidazol)], (e) <i>trans</i> -[PtCl ₂ (quinolina)(NH ₃)].	13
Figura 1.5: Estrutura do complexo de paládio iônico [Pd(C ² ,N-S ₂ - ₂ dmpa)(dppf)]Cl ²⁺	15
Figura 1.6: Estrutura química dos complexos antitumorais de ouro (I) fosfina: (a) Cloreto de trietilfosfina de ouro (I), (b) auronofina, (c) Cloreto de bis[1,2-bis(difenilfosfino)etano]ouro (I), (d) cloreto de bis [1,2-bis(di-n-piridilfosfino)etano] ouro (I).....	16
Figura 1.7: Estrutura geral dos complexos de ouro (I) difosfina citotóxicos.	18
Figura 1.8: Estrutura química do complexo de ouro (I) [Au(d2pypp) ₂]Cl e análogos ³²	19
Figura 1.9: Complexos de cloroquina com atividade biológica.	20
Figura 1.10: (a) Nucleotídeos do DNA. (b) Modelo da estrutura do DNA, empilhamento de bases nitrogenadas.....	22
Figura 1.11: Esquema dos adutos bifuncionais de platina intrafita e interfita....	24
Figura 1.12: Complexos com interações covalentes com diferentes sitios da estrutura do DNA, (a) complexo de titânio, (b) complexo de ósmio.....	24
Figura 1.13: Fragmento da estrutura cristalográfica do oligonucleótido d(CG) ₃ onde se observa as ligações de hidrogenio entre os ligantes amino do complexo	

Co(NH ₃) ₆ ³⁺ e uma molécula de guanina (G10) e um grupo fosfato (P9). Na figura R8, R9 e R10 são anéis da desoxirribose; P10 é um grupo fosfato.....	25
Figura 1.14: Intercalação do DNA.....	26
Figura 1.15: Espectro de absorvância na região do UV-Visível onde se observa os deslocamentos batocrômicos e hipocromismo incorridos pela interação do complexo [Au(CQ)(PPh ₃)]PF ₆ com o DNA. [complexo] 9.98 x 10 ⁻⁴ M, [DNA] 0-50 μM.....	27
Figura 1.16: Alongamento da dupla hélice do DNA pela intercalação de um composto metálico.....	28
CAPÍTULO IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
Figura 4.1: Espectro de absorção na região do UV-Visível da CQ, em CH ₂ Cl ₂	50
Figura 4.2: Espectro de Absorção na região do IV da cloroquina, em KBr.	50
Figura 4.3: Espectro de RMN ¹ H da cloroquina em CD ₂ Cl ₂ -d ₂ . (Ampliação da região alifática).....	52
Figura 4.4: Espectro de RMN ¹ H da cloroquina em CD ₂ Cl ₂ -d ₂ . (Ampliação da região aromática).....	53
Figura 4.5: Espectro de RMN ¹³ C{ ¹ H} da cloroquina em CD ₂ Cl ₂ -d ₂ . (Ampliação da região alifática).....	53
Figura 4.6: Espectro de RMN ¹³ C{ ¹ H} da cloroquina em CD ₂ Cl ₂ -d ₂ . (Ampliação da região aromática).....	54
Figura 4.8: Esquema de síntese dos complexos de tipo [Pt(P-P)Cl ₂].	55
Figura 4.9: Espectro de absorção na região do UV-Visível dos complexos de tipo [Pt(P) ₂ Cl ₂] em diclorometano.	58
Figura 4.10: Espectro de Absorção na região do IV do complexo [Pt(dppf)Cl ₂].2H ₂ O.....	59
Figura 4.11: Espectro de RMN ¹ H do complexo [Pt(dppf)Cl ₂].2H ₂ O em CD ₂ Cl ₂ -d ₂	62

Figura 4.12: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Pt}(\text{dppf})\text{Cl}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	62
Figura 4.13: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P-P})\text{Cl}_2]$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	63
Figura 4.14: Espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 1 e 4 em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	64
Figura 4.15: Esquema de síntese dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$.	66
Figura 4.16: Espectros de Absorção na região do UV-Vis dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$, em diclorometano.	68
Figura 4.17: Espectro de Absorção na região de IV do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$, em KBr.	69
Figura 4.18: Diastereomeros gerados pelo giro da ligação Pt-N (Atripisomerismo).	70
Figura 4.19: Espectro de RMN ^1H do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$. (Ampliação da região alifática).	71
Figura 4.20: Espectro de RMN ^1H do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$. (Ampliação da região aromática).	71
Figura 4.21: Espectro de RMN HMBC $^1\text{H}\text{-}^{15}\text{N}$ do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	72
Figura 4.22: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	73
Figura 4.23: Espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P-P})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.	74
Figura 4.24: Voltamograma cíclico dos complexos 5-8 em acetonitrila.	75
Figura 4.25: Espectro de massas do complexo <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6\cdot\frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em acetona.	79

Figura 4.26: Estruturas propostas para os complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$	80
Figura 4.27: Titulações espectroscópicas dos complexos metálicos com o ADN. (a) CQ, (b) CQDF, (c) <i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$, (d) $[\text{Pt}(\text{dppp})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{4}\text{CH}_2\text{Cl}_2$, (e) $[\text{Pt}(\text{dppb})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$, (f) $[\text{Pt}(\text{dppf})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$. A concentração dos complexos na cubeta foi de 65-84 mM, e a concentração do DNA se incrementou de 0-1,0 mM (0-400 μL).....	82
Figura 4.28: Efeito do incremento da concentração dos complexos de platina 5-8 e outros fármacos sob a viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C.....	84

INDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

Tabela 1.1: Atividade antitumoral dos análogos de auronofina em camundongos com leucemia P388, e citotoxicidade in vitro contra células de melanoma B16.	17
Tabela 1.2: Efeitos citotóxicos e citostáticos dos complexos <i>trans</i> cloroquina, em seis linhagens celulares.	21

CAPÍTULO IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1: Dados do análise elementar da cloroquina.....	49
Tabela 4.2: Deslocamentos químicos dos prótons e carbonos da CQ em CD ₂ Cl ₂ -d ₂	54
Tabela 4.3: Dados de análises elementares e condutividade molar (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹) da serie [Pt(P) ₂ Cl ₂].XH ₂ O.....	56
Tabela 4.4: Atribuições das bandas apresentadas pelos complexos de tipo [Pt(P) ₂ Cl ₂] nos espectros de absorção na região do UV-Visível, em CH ₂ Cl ₂	58
Tabela 4.5: Atribuição das bandas características (cm ⁻¹) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes fosfínicos e seus complexos de platina (II) da serie [Pt(P) ₂ Cl ₂].	60
Tabela 4.6: Deslocamentos químicos das sinais no RMN dos complexos de tipo [Pt(P-P)Cl ₂] em CD ₂ Cl ₂ -d ₂	64
Tabela 4.7: Dados de análises elementares e condutividade molar (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹) da serie [Pt(P) ₂ (CQ)Cl]PF ₆ .XCH ₂ Cl ₂	67
Tabela 4.8: Atribuições das bandas apresentadas pelos complexos de tipo [Pt(P) ₂ (CQ)Cl]PF ₆ nos espectros de absorção na região do UV-Visível, em diclorometano.	68
Tabela 4.9: Atribuição das bandas características (cm ⁻¹) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes fosfínicos e seus complexos de platina (II) da serie [Pt(P) ₂ (CQ)Cl]PF ₆	69

Tabela 4.10: Deslocamentos químicos dos hidrogênios, nitrogênios, fósforos e platina dos complexos 5 e 6 em $CD_2Cl_2-d_2$	76
Tabela 4.11: Deslocamentos químicos dos hidrogênios, nitrogênios, fósforos e platina dos complexos 7 e 8 em $CD_2Cl_2-d_2$	77
Tabela 4.12: Fragmentação dos complexos do tipo $[Pt(P)_2(CQ)Cl]PF_6$ em acetona.....	78
Tabela 4.13: Resumo dos dados obtidos a partir das titulações espectroscópicas para os complexos metálicos com o DNA.	81
Tabela 4.14: Viabilidade celular $[IC_{50} (\mu mol.L^{-1})]$ dos complexos de tipo $[Pt(P)_2(CQ)Cl]PF_6.XCH_2Cl_2$ nas linhagens MCF-7, MDA-MB-231 (tumor de mama humano), DU-145 (tumor de próstata humano), A549 (adenocarcinoma de pulmão humano), V79-4 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (células não tumorais de camundongo), após 48 h de incubação.	85

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A aplicação da química inorgânica na medicina é um campo de pesquisa em rápido desenvolvimento, e novos complexos metálicos terapêuticos e de diagnóstico tem apresentado um grande impacto na prática médica, no tratamento de várias enfermidades.

O descobrimento das propriedades anticancerígenas da cisplatina representa o maior fato na história dos bem-sucedidos fármacos anticancerígenos, por muitos motivos, dentro das quais podemos destacar que foi o descobrimento que deu e continua dando aos pacientes que padecem dos distintos tipos de câncer, a esperança de uma prolongação e uma melhor qualidade de vida, assim como uma oportunidade de cura. Vale lembrar que quando os ensaios clínicos com a cisplatina foram iniciados no ano de 1971, o diagnóstico de câncer testicular significava praticamente uma sentença de morte.

A descoberta de Rosenberg deu origem ao que foi chamado de renascimento da química inorgânica medicinal, e também deu origem ao termo de química de bio-coordenação. Hoje em dia é difícil achar um melhor exemplo do sucesso no casamento da química inorgânica com as outras disciplinas das ciências da vida – a medicina, a farmacologia, a bioquímica e a biologia molecular – que a história de sucesso da química da cisplatina, química bioinorgânica, em seu melhor momento. Em terceiro lugar, o descobrimento de Rosenberg é um exemplo maravilhoso do que a investigação básica pode lograr e é um compromisso para o apoio da ciência básica. É importante destacar hoje exemplos deste tipo, agora que se torna cada vez mais difícil obter financiamento para projetos científicos para os quais as aplicações não sejam imediatamente previsíveis.

1.1- Química Bioinorgânica

Os íons metálicos são necessários para muitas funções vitais nos seres humanos (Figura 1.1). A ausência de alguns deles pode conduzir a diversos tipos de doenças. Os exemplos mais conhecidos incluem a anemia perniciosa

resultante da deficiência de ferro, retardo no crescimento, oriundo da dieta insuficiente de zinco e doenças do coração em crianças devido à deficiência de cobre. A capacidade de reconhecer e entender a nível molecular estes comportamentos e mecanismos de ação para o tratamento de doenças causadas pela inadequada função de íons metálicos constitui um aspecto importante da química bioinorgânica medicinal. Os íons metálicos também podem induzir a toxicidade em humanos. Exemplos clássicos são venenos de metais pesados como o mercúrio e o chumbo. Inclusive íons metálicos vitais podem ser tóxicos quando se apresentam em excesso: o ferro é um veneno caseiro comum nos Estados Unidos como resultado da ingestão acidental, geralmente por crianças, dos suplementos dietéticos de sulfato ferroso¹. A compreensão da bioquímica e biologia molecular dos mecanismos naturais de desintoxicação, assim como o desenho e aplicação de agentes quelatantes de íons específicos para tratar as sobrecargas de metais, são dois componentes importantes da nova ciência que evolui na interface da química bioinorgânica e da medicina, navegando pela biologia e a bioquímica.

A química bioinorgânica é um campo em rápido desenvolvimento, que tem um enorme potencial para aplicações na medicina, não só para os 24 ou mais elementos essenciais, como também para os elementos não essenciais e inclusive os radiativos. Oferece possibilidades reais para as indústrias farmacêuticas, que tradicionalmente têm sido dominadas pela química orgânica. A química inorgânica medicinal é uma nova área importante da química. Ela proporciona o potencial para o desenho de novos agentes terapêuticos e de diagnósticos para o tratamento e compreensão de doenças que são atualmente difíceis de serem tratadas. Elementos inorgânicos desempenham um papel fundamental nos processos biológicos e biomédicos, e é evidente que muitos compostos orgânicos utilizados na medicina não têm um modo de ação puramente orgânico; alguns deles se ativam ou biotransformam mediante a interação com íons metálicos, incluindo metaloenzimas. Outros têm um efeito

direto ou indireto sob o metabolismo de íons metálicos. Este campo tem sido estimulado principalmente pelo sucesso da cisplatina, o qual é o fármaco anticancerígeno mais vendido mundialmente². A auranofina (Figura 1.2), fármaco antiartrítico de grande eficácia, também é bem aceito no mercado. Os fármacos de terceira geração da cisplatina, os quais são de toxicidade reduzida, uso oral e apresentam atividade contra tumores resistentes a cisplatina são outros exemplos de fármacos inorgânicos encontrados e bem difundidos na medicina.

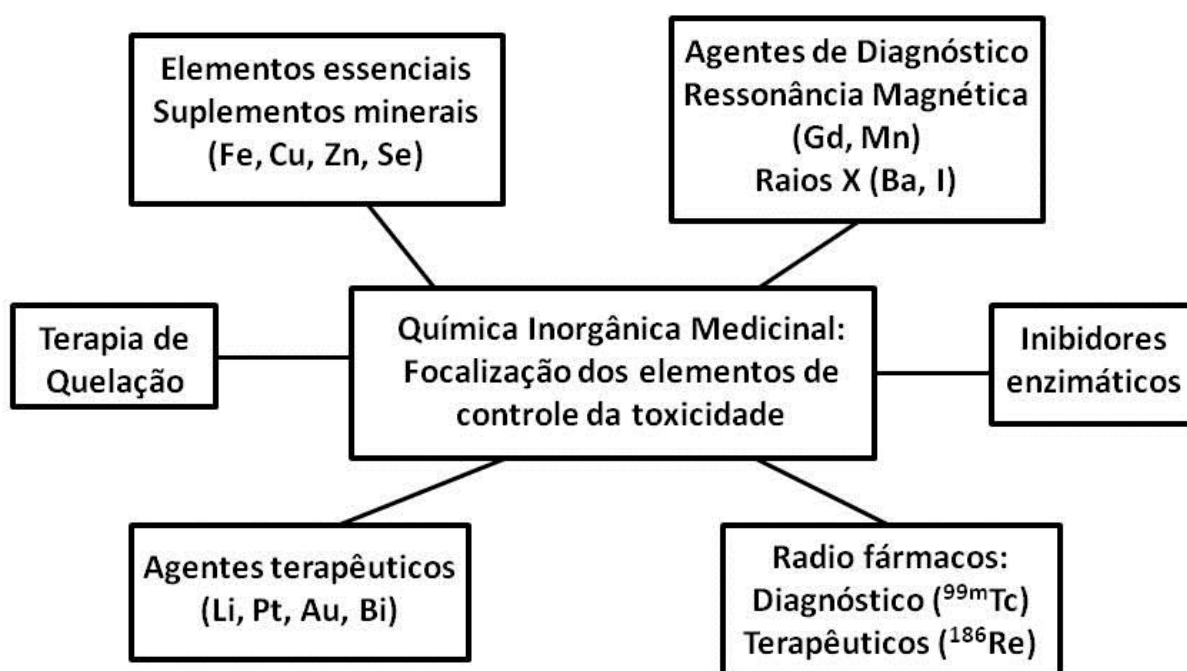


Figura 1.1: Classificação dos íons metálicos.

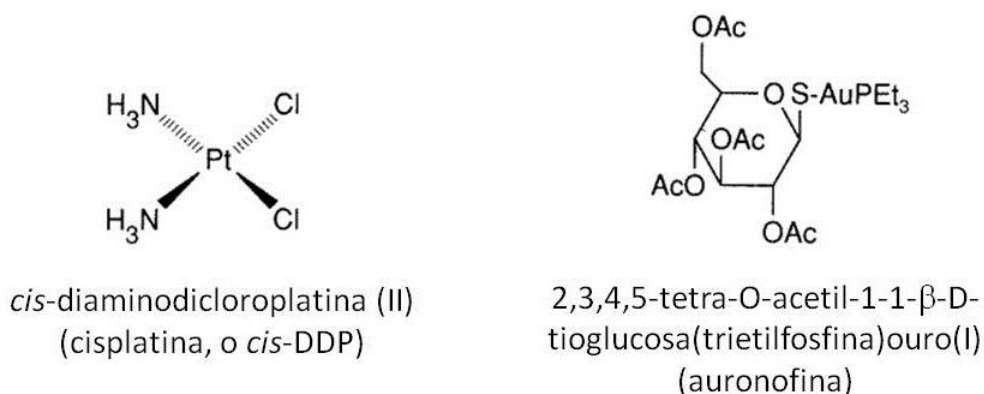


Figura 1.2: Complexos inorgânicos que impulsionaram a bioinorgânica.

Recentes avanços na compreensão da química de coordenação e bioquímica de metalofármacos como os antiartríticos de ouro e fármacos antiulcerosas de bismuto, levaram ao uso mais eficaz destas, devido ao conhecimento de seu mecanismo de ação. Atuais áreas com potencial clínico incluem compostos de manganês e de cobre miméticos da superóxido dismutase, complexos de vanádio insulino-miméticos, complexos de rutênio coletores de resíduos de óxido nítrico, fotossensibilizadores baseados em lantânios e agentes metálicos dirigidos a alvos orgânicos. O crescente conhecimento da bioquímica dos metais proporciona a base para o desenho de novos medicamentos (inorgânicos e orgânicos) em muitos outros âmbitos, por exemplo, neurofarmacêuticos e agentes anti-infecciosos. Avanços na química de coordenação medicinal são fortemente dependentes da compreensão não só da termodinâmica (equilíbrios e estruturas) bem como da cinética e mecanismos de reação dos complexos metálicos, especialmente em condições biologicamente relevantes³.

O campo da química inorgânica, útil na medicina, pode dividir-se em duas categorias principais: fármacos que tem como objetivo íons metálicos em alguma forma, sejam livres ou ligados a proteínas, e em segundo lugar, fármacos metálicos onde o íon metálico central é a característica chave do mecanismo de ação. Medicamentos baseados em metais é um setor comercial importante da indústria farmacêutica. As aplicações continuam crescendo e os focos clinicamente úteis são cada vez mais sofisticados. Por esta razão, a seguir serão descritas as características mais importantes de uma das doenças com maior interesse científico, devido ao seu grande impacto mundial, como é o câncer.

1.2- Câncer

Na medicina, o termo câncer é usado para identificar uma entidade clínica e anatomopatológica de caráter maligno, a qual afeta o paciente, e cujas características histopatológicas são a alteração morfológica e funcional, seguida

pela proliferação descontrolada —não sempre acelerada— das células de um tecido que invadem, deslocam e destroem, localmente e remotamente, outros tecidos sadios do organismo, formando o que comumente se denomina tumor ou neoplasia.

Sua causa primária continua sendo desconhecida, porém fundamentalmente é um anormal e incontrolado crescimento das células do organismo, produzindo a destruição de tecidos e o mau funcionamento dos diferentes órgãos aos quais afetam⁴. É a segunda causa de morte no mundo, atrás das doenças cardíacas, porém, estima-se que ao longo do século XXI, o câncer seja a primeira causa de morte nos países desenvolvidos, pelo qual muito dos estudos realizados nas diversas instituições no mundo tem como área principal o desenvolvimento de novos compostos com atividade anticancerígena.

1.2.1- Origem do câncer

A ocorrência de certos fatores (endógenos e exógenos) incrementa o risco de originar câncer em alta porcentagem dos indivíduos expostos a eles. Diversos grupos de pesquisa avaliam a relevância da interação destes agentes de uma maneira multifatorial e sequencial para produzir tumores⁵, entre estes fatores podemos mencionar:

(a) Herança: O câncer em essência é um processo genético, e as alterações genéticas podem ser herdadas. Entre 5 a 10 % dos cânceres têm origem hereditária. Algumas formas de câncer são mais frequentes em algumas famílias, como por exemplo, o câncer de mama.

(b) Substâncias químicas: Tem sido comprovada a atividade cancerígena de diversos compostos, como por exemplo: alquitran, benzopireno e arsênico entre outros. O cigarro é muito pernicioso, devido às substâncias que contém: nicotina, alquitrán, ácidos e óxidos de carbono. O álcool é também um importante causador, seu abuso crônico incrementa de maneira importante o risco de cânceres, que são induzidos por outros agentes.

(c) Radiações: As radiações ionizantes são um dos fatores mais reconhecidos de promover diversos tipos de câncer. A radiação produz mudanças no DNA, como rupturas ou transposições cromossômicas, onde as fitas fragmentadas de dois cromossomos podem interligar-se. Os raios ultravioletas do sol e os raios X aumentam a propensão de adquirir câncer de pele e leucemia.

(d) Infecções ou vírus: Existem cada vez mais evidências dos efeitos de algumas infecções no organismo, as quais podem provocar câncer e, em concreto, aquelas relacionadas com os cânceres de estômago, fígado, cérvix e sarcoma de Kaposi (um tipo especial de câncer que aparece em pacientes com AIDS).

(e) Traumas: Se considera prejudicial à irritação mecânica produzida sobre uma porção de pele e a fricção exercida sobre pintas. O câncer de lábio nos fumantes de cachimbos é associado com a irritação crônica produzida pelo cachimbo sobre um grupo de células nos lábios.

1.2.2.- Tratamento do câncer

Os meios terapêuticos disponíveis atualmente para tratar o câncer, de forma independente ou com terapias estratégicas combinadas são múltiplos. Os mais destacados são os seguintes:

(a) Cirurgia: útil para realizar o estudo histológico definitivo do tumor e permite o diagnóstico final do tumor primário e sua extensão aos gânglios regionais. A cirurgia permite extirpar totalmente o tumor primário e as metástases regionais. Entretanto, muitos cânceres podem estar demasiado disseminados no momento do diagnóstico para o sucesso da cirurgia como tratamento.

(b) Radioterapia: terapia usada para tumores radiosensíveis localizados. A sensibilidade dos tumores às radiações é muito variável, pelo que se podem denominar tumores sensíveis aqueles cuja sensibilidade é superior à dos tecidos vizinhos normais. A propriedade da radiação de respeitar até certo ponto os tecidos normais permitem o tratamento de tumores em lugares onde não é

possível a prática da cirurgia pela proximidade de tecidos vitais, ou porque os tumores já se infiltram em estruturas adjacentes que não podem ser sacrificadas. A radioterapia também se emprega com frequência como tratamento paliativo, sobre tudo nas metástases.

(c) Terapia hormonal: muitos cânceres procedentes de tecidos, os quais são sensíveis à ação hormonal, como por exemplo, o câncer de mama, próstata, endométrio e tireóides, respondem ao tratamento hormonal. Esta terapia consiste na administração de diferentes hormônios ou anti-hormônios, ou na anulação do hormônio estimulante correspondente.

(d) Quimioterapia: consiste na administração, oral e/ou intravenosa, de medicamentos anticancerígenos. A quimioterapia tem a capacidade de atuar sobre cânceres disseminados, proporcionando uma maior estabilidade aos resultados da cirurgia e radioterapia, permitindo melhorar a duração e qualidade de vida do enfermo⁶. Devido à distribuição dos fármacos no organismo através do sistema circulatório, a quimioterapia é uma técnica útil para aqueles tumores cuja disseminação os faz inacessíveis à cirurgia, ou radioterapia. Existem muitos fármacos anticancerígenos, a maior parte dos quais atuam interferindo na síntese ou função do DNA. Portanto, as células em divisão são mais sensíveis à quimioterapia. Os dois principais problemas que limitam a utilização da quimioterapia são a toxicidade e a resistência. As técnicas que evitam ou controlam a toxicidade e diminuem o risco de resistências têm sido aperfeiçoadas ao longo do tempo. É importante a instauração o mais cedo do tratamento; a utilização de doses ótimas do fármaco, a repetição dos ciclos com intervalos curtos, e sempre que seja possível, permitir realizar a recuperação do paciente dos efeitos tóxicos. A síntese de novos complexos, os quais possam ser usados no futuro como antineoplásicos, forma parte dos objetivos deste trabalho, pelo qual será dada ênfase complexos metálicos no câncer.

1.2.3.- Antineoplásicos

O tratamento por antineoplásicos se fundamenta na utilização de fármacos, os quais provocam uma alteração catastrófica no ciclo de divisão celular. As investigações nesta área têm como objetivo principal conseguir um método com uma alta seletividade a células cancerosas e não às sadias. A seletividade (para tecidos neoplásicos e não para sadios, ou para determinados tipos de neoplasia) está intimamente relacionada com questões de farmacocinética e propriedades dos tecidos.

A classificação usada para os diversos antineoplásicos atende ao alvo de ação do mesmo. Para a maioria dos antineoplásicos o principal alvo é o DNA, afetando a integridade das cadeias de ácidos nucleicos e impedindo desta maneira a replicação normal. A ação pode ser específica de fase ou mais geralmente ocorre em qualquer momento do ciclo celular, porém o efeito só se faz presente onde as células com cadeias defeituosas sofrem um processo de apoptoses ou “morte programada”. A este grupo pertencem os complexos metálicos, os quais tem demonstrado possuir um amplo espectro de ação contra diversos tipos de câncer, com respeito a sua atividade biológica e a diminuição de resistência, dados os resultados *in vitro* e *in vivo*.

1.2.4 - Agentes anticancerígenos baseados em platina

O desenvolvimento bem-sucedido dos metalofármacos anticancerígenos foi iniciado claramente com a cisplatina. Embora o complexo fosse inicialmente descrito no ano de 1845 pelo pesquisador italiano Michele Peyrone, suas propriedades anticancerígenas não foram descobertas até o ano de 1965 pelo cientista americano Barnett Rosenberg, quando pesquisava as aplicações da radiação eletromagnética sobre células bacterianas de mamíferos, para estudar a influência dos campos magnéticos e elétricos na divisão celular. No ano de 1968 depois de superar varias provas com diversas bactérias, o *cis*-diaminodicloroplatina (II) (Figura 1.3a), foi administrado a camundongos com tumores induzidos observando-se uma marcante diminuição no tamanho do

tumor. Baseando-se nos resultados obtidos o primeiro paciente foi tratado em 1971 e finalmente no ano de 1978 a cisplatina foi aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento de câncer testicular e de bexiga. A cisplatina foi o primeiro complexo metálico utilizado como antineoplásico⁷. Atualmente é empregado para o tratamento de neoplasias de ovário e de testículo, principalmente é um componente dos protocolos utilizados no tratamento de câncer de pulmão e tem um papel paliativo em outras neoplasias; é mielosupressor e produz alopecia ligeira, além de ser composto de referência na avaliação da atividade anticancerígena de outros compostos⁸. Este sucesso originou um renascimento da química inorgânica medicinal, levando à síntese e avaliação biológica de muitos análogos da cisplatina, e uma investigação de outros elementos próximos da tabela periódica (por exemplo, paládio e ouro). Grande parte do esforço inicial na concepção de novos fármacos de platina foi destinada a fazer terapias mais seguras para os pacientes, com base no cisplatina, em particular, diminuir ou eliminar a nefrotoxicidade grave e imprevisível e/ou o fornecimento de biodisponibilidade oral, os quais estão dentre os maiores problemas apresentados pelo cisplatina. Outra grande iniciativa em curso é a de ultrapassar a resistência do tumor ao cisplatina, ou a adquirida durante os ciclos de tratamento (como ocorre em pacientes com, por exemplo, câncer de ovário) ou resistência intrínseca (tal como o observado em doentes com, por exemplo, colo retal, próstata, pulmão ou câncer de mama).

Tem-se procurado as sínteses de análogos, entre os que destacam a substituição dos ligantes cloretos por ligantes lábeis mais estáveis diminuindo a toxicidade sem afetar a eficácia antitumoral, como o ciclobutanodicarboxilato resultando no que se conhece com o nome de carboplatina⁹ (*cis*-[Pt(1,1-ciclobutanodicarboxilato)(NH₃)₂]), (Figura 1.3b), comparado com a cisplatina, apresenta uma nefrotoxicidade menor, é menos tóxico para o trato gastrointestinal e menos neurotóxico, em contraste é mielosupressor, principalmente a trombocitopenia, sendo a responsável da limitação da dose.

Outro dos compostos desse tipo é a nedaplatina¹⁰ ($[\text{Pt}(\text{glicolato})(\text{NH}_3)_2]$) (Figura 1.3c) o qual também contém um ligante quelato no lugar dos dois cloretos como na cisplatina, tem sido reportado a efetividade desta droga para cânceres tanto de ovário como cervicais. Seu uso tem sido exclusivo ao Japão, devido a legislações da indústria farmacêutica internacional. A manipulação das estruturas e em muitos casos a troca dos grupos lábeis influencia na distribuição intracelular dos complexos de platina, porém também tem se realizado modificações sobre os grupos amina, como a inclusão do 1,2-diaminocicloexano no lugar dos NH_3 na oxaliplatina¹¹ (*cis*- $[\text{Pt}(\text{oxalato})(1\text{R},2\text{R}\text{-diaminocicloexano})_2]$) (Figura 1.3d), o qual é o complexo com maior solubilidade em água, dos análogos da cisplatina (Pt (II)). Existe evidência na similaridade em relação ao mecanismo de ação com a cisplatina, mas este composto retém a atividade contra células cancerígenas que apresentam resistência ao cisplatina. Também tem se a lobaplatina¹² ($[\text{Pt}(\text{lactato})(1, 2\text{-dimetilaminociclobutano})]$) (Figura 1.3e) o qual foi introduzido em ensaios clínicos em 1992, se encontra em fase II para o tratamento de câncer de ovário resistente ao cisplatina¹³ e cânceres avançados de cabeça e de pescoço, sendo usado na atualidade exclusivamente na China. A Satraplatina (bis-acetato-amino-dicloro-cicloexilamina platina (IV)) (Figura 1.3f), foi originalmente desenvolvido como uma versão oralmente ativa do carboplatina, sendo o primer fármaco de platina (IV). Estudos pré-clínicos mostraram que apresenta uma boa atividade antitumoral por via oral, comparável com os resultados obtidos com a administração intravenosa do cisplatina e do carboplatina, em camundongos com xenógrafos de câncer de ovário humano. *In vivo* o satraplatina é biotransformado em aproximadamente seis produtos. O maior deles JM118 (*cis*-aminodicloro-cicloexilamina platina (II)), retém a atividade celular e apresenta uma ligação com o DNA, muito similar a apresentada pelo cisplatina. Além disso tem-se avaliado complexos impedidos estericamente como o Picoplatina¹⁴ ($[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)((2\text{-Metilpiridina})]$) (Figura 1.3g) o qual é ativo (por meio das duas

vias intraperitoneal e oral) contra carcinomas humanos resistentes ao cisplatina, e devido a seus excelentes resultados em fase pré-clínica, entrou na fase clínica em 1997. A desvantagem deste complexo é a menor reatividade quando comparado com a cisplatina, devido possivelmente a menor velocidade de ligação às fitas do DNA e às proteínas contidas no plasma. Em 2004 foram reportados dois complexos de platina, os quais apresentaram resultados interessantes em várias linhagens tumorais (Figuras 1.3h e 1.3i).

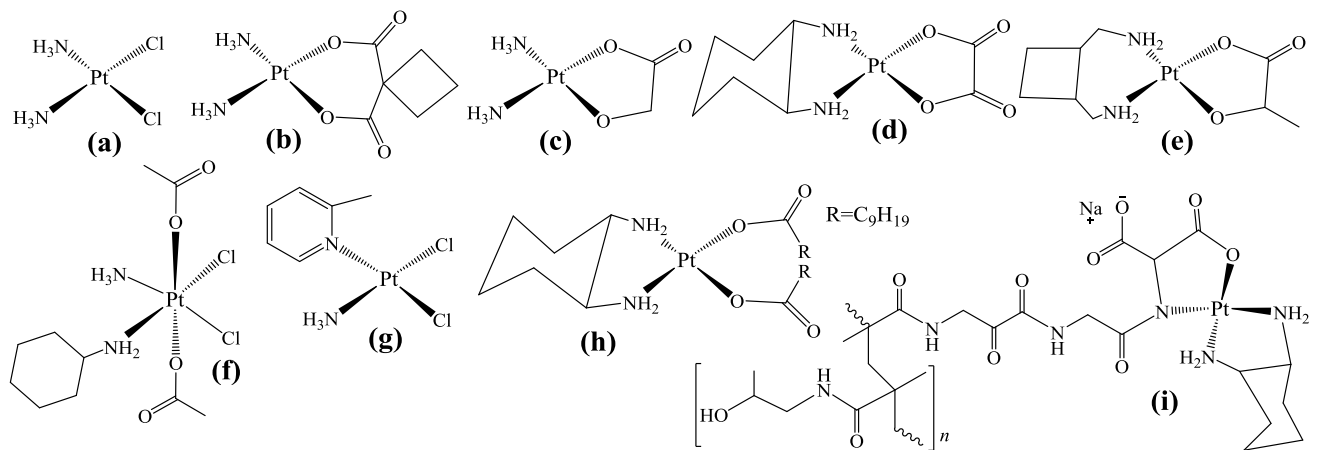


Figura 1.3: Compostos de platina usados como agentes anticancerígenos (a) cisplatina, (b) carboplatina, (c) nedaplatina, (d) oxaliplatina, (e) lobaplatina, (f) satraplatina, (g) picoplatina, (h) aroplatina e (i) ProLindac.

Tem sido aceito como um paradigma da farmacologia bioquímica dos fármacos antitumorais de platina, a necessidade da configuração *cis* dos grupos lábeis nos compostos de platina (II) para a eficácia de suas atividades antitumorais. Embora se tenha avaliado certos complexos *trans* platina (II) os quais possuem atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo*, possivelmente devido a que os mesmos têm distinta forma de se ligar ao DNA, comparado com a cisplatina, o qual confere uma alta atividade contra células cancerígenas resistentes.

Uma diferença entre a cisplatina e seu análogo transplatina, é a maior reatividade em termos cinéticos do transplatina comparado com a cisplatina¹⁵ e esta característica o faz mais suscetível à desativação¹⁶. O desenho cuidadoso de complexos *trans*-Pt os quais tem ligantes volumosos, para produzir repulsão estérica, pode reduzir a reatividade cinética destes complexos, porém se tem observado a capacidade do isômero *trans* em formar diversos adutos Pt-DNA, e desta maneira se espera diferenças nas atividades dos complexos *trans*-Pt frente ao cisplatina em certos tumores.

Os primeiros complexos *trans*-Pt foram desenvolvidos por Farrell e colaboradores¹⁷, os quais sintetizaram uma série de compostos com a fórmula geral $[\text{PtCl}_2(\text{L})(\text{L}')]$, onde $\text{L}=\text{L}'=\text{piridina}$ (Figura 1.4a), $\text{L}=\text{L}'=\text{N-metilimidazol}$ (Figura 1.4b), $\text{L}=\text{L}'=\text{tiazol}$ (Figura 1.4c), $\text{L}=\text{quinolina}$ e $\text{L}'=\text{RR}'\text{SO imidazol}$ (Figura 1.4d), $\text{L}=\text{quinolina}$ e $\text{L}'=\text{NH}_3$ (Figura 1.4e). Estes compostos foram efetivos em linhagens celulares resistentes ao cisplatina e apresentaram maior atividade, comparado com a transplatina e seus análogos *cis*.

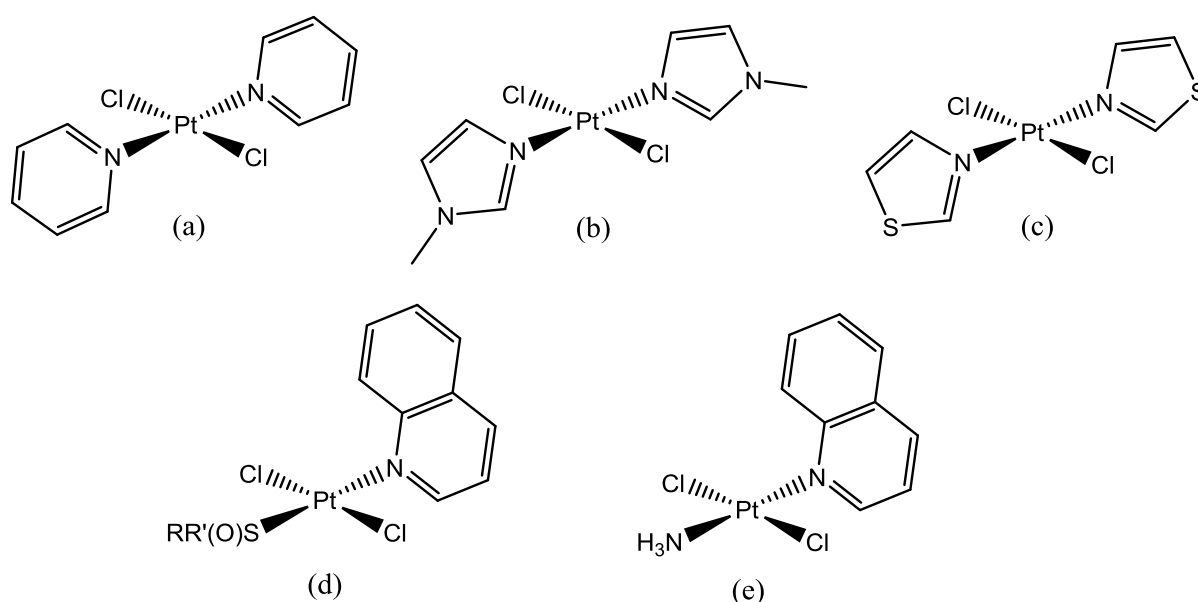


Figura 1.4: Estruturas de alguns complexos de *trans*- $[\text{PtCl}_2(\text{L})(\text{L}')]$. (a) *trans*- $[\text{PtCl}_2(\text{piridina})_2]$ (b) *trans*- $[\text{PtCl}_2(\text{N-metilimidazol})_2]$ (c) $[\text{PtCl}_2(\text{tiazoll})_2]$ (d) *trans*- $[\text{PtCl}_2(\text{quinolina})(\text{RR}'\text{SO imidazol})]$, (e) *trans*- $[\text{PtCl}_2(\text{quinolina})(\text{NH}_3)]$.

Outros exemplos de complexos de platina com atividade antitumoral:

- ✓ Complexos de platina (IV) com fórmula *trans*-[PtCl₂X₂(L)(L)] com X=hidróxido ou carboxilato, L=amina¹⁸.
- ✓ *trans*-[PtCl₂(L)(L')] com L=alquil-aminas substituídas e L'=isopropilamina¹⁹.
- ✓ *trans*-[PtCl₂(L)₂] com L=iminoeter²⁰.
- ✓ Complexos de platina binucleares [(PtX₂(am))₂H₂N(CH₂)_nNH₂]²¹.

Aproximadamente 10.000 complexos de platina são testados anualmente em fase pré-clínica, e só uns 30 são levados para ensaios clínicos. Desta maneira atualmente a investigação está dirigida para melhorar os fármacos já existentes, estudando sua bioquímica e suas relações estrutura atividade, para lograr modifica-los, para que sejam totalmente efetivos contra vários tipos de câncer, e não originem os indesejáveis efeitos secundários, produzidos pelos fármacos atuais.

Devido à toxicidade neurológica, nefrotóxica e mielosupressora dos complexos de platina, somado com sua resistência em relação a certas linhagens celulares, tem-se desenvolvido novos complexos metálicos, com a finalidade de melhorar a atividade e evitar a resistência do cisplatina. Em virtude deste novo enfoque e com o entendimento de sua bioquímica começam a surgir os complexos de paládio e rutênio como promissores anticancerígenos.

1.3 – Ligantes com atividade biológica conhecida

1.3.1- Ligantes fosfínicos

As monofosfinas e bifosfinas cumprem um papel importante no estudo de citotoxicidade de complexos, pois no mecanismo de ação destes pode estar envolvida a formação de sítios vagos pela perda de ligantes, ou abertura do

anel quelato. É relatado na literatura que os ligantes bifosfínicos, apresentam atividade citotóxica e antitumoral²².

As fosfinas são ligantes neutros que possuem um par de elétrons capaz de formar ligações σ , e orbitais do tipo σ^* (antiligante) e $d\pi$ vazios com simetria disponível para uma sobreposição construtiva com os orbitais t_{2g} do metal, capazes de receber elétrons π , provenientes do centro metálico, possibilitando a retrodoação. Este sinergismo de ligações é capaz de estabilizar as valências mais altas e as mais baixas dos metais de transição²³. A seguir mostram-se vários complexos, os quais contêm este tipo de ligantes os quais apresentam interessantes atividades antitumorais.

Foram avaliados complexos de paládio derivados do enantiômero $S_{(-)}$ de N,N-dimetil-1-fenetilamina e de bis(difenilfosfina)ferroceno. Barbosa e colaboradores²⁴, observaram que os complexos iônicos e mononucleares de paládio $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N}-S_{(-)}\text{dmpa})(\text{dppf})]\text{Cl}$, mostrados na Figura 1.5, têm uma grande atividade nos lisossomas. Este descobrimento tem uma importância especial no desenvolvimento de novos fármacos contra o câncer com diferentes modos de ação, já que é a chave na superação da resistência na terapia clínica.

Por outro lado, os estudos toxicológicos demonstraram que o complexo apresenta baixo nível de toxicidade para os tecidos normais, o que sugere uma alta seletividade a células tumorais.

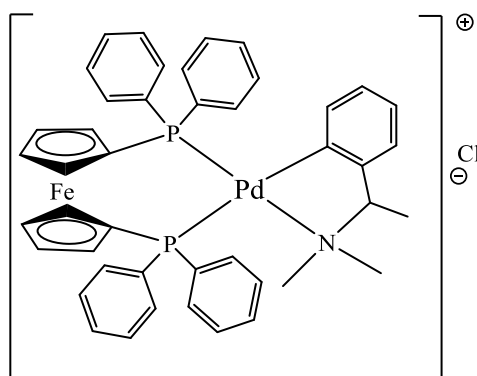
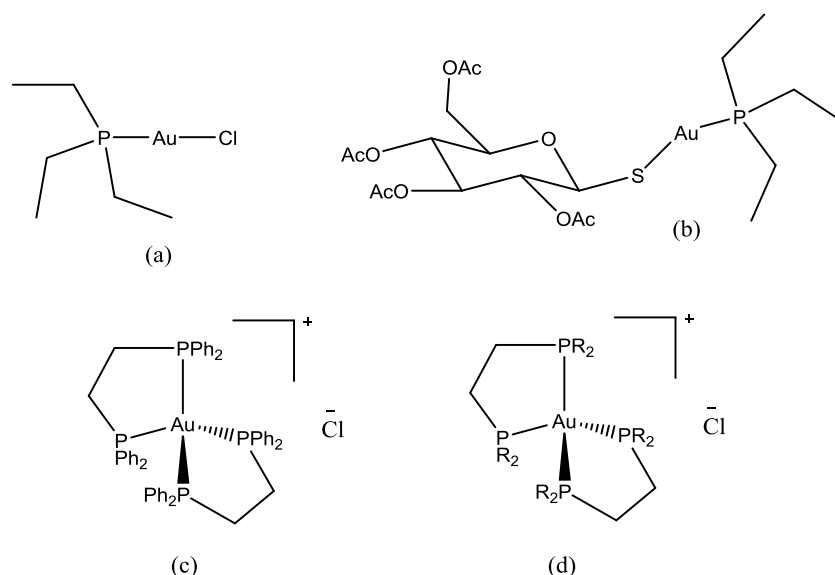


Figura 1.5: Estrutura do complexo de paládio iônico $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N}-S_{(-)}\text{dmpa})(\text{dppf})]\text{Cl}$ ²⁴

Como foi reportado nos trabalhos de Sadler e Berners-Price, há interesse na comunidade química por examinar as atividades anticancerígenas de diversos complexos de ouro (I e III), devido à abertura destes em fase clínica.

Derivados de ouro têm sido utilizados clinicamente no tratamento da artrite reumatoide. Adicionalmente estes também tem mostrado boa atividade como agentes antitumorais. Entre os complexos de ouro investigados por suas possíveis propriedades antitumorais, podem-se mencionar os derivados de ouro (I)-fosfina, os quais têm mostrado atividade tumoral significativa em modelos murinos *in vivo*²⁵.

Outros complexos de interesse são cloreto de trietilfosfina de ouro (I) (Figura 1.6a), auronofina (Figura 1.6b), cloreto de bis[1,2-bis(difenilfosfina)etano]ouro (I) (Figura 1.6c) e cloreto de bis[1,2-bis(di-*n*-piridilfosfino)etano]ouro (I) (Figura 1.6d), os quais têm mostrado excelente atividade antitumoral e um espectro de ação amplo em modelos murinos *in vivo*. O estudo da atividade destes complexos de ouro (I) sugere como possível sitio de ação a mitocôndria²⁶.



A auranofina é potencialmente citotóxica para células de câncer humano²⁷ e também incrementa o tempo de sobrevivência de camundongos com leucemia P388²⁸. Contudo, é ativa só contra leucemia P388 em camundongos. Este fármaco não modifica o ciclo de divisão celular, mas logra inibir as sínteses de DNA, RNA e proteínas, em concentrações que são letais para as células²⁹.

Um grande número de complexos monodentados de ouro fosfina-tiolatos tem sido testado em quanto a sua atividade antitumoral, com variação de ambos ligantes: fosfina e tiolato, como se observa na tabela 1.1. A comparação dos complexos Au (I) tiolatos com fosfina e Au (I) tiolatos sugere ser a fosfina o agente tóxico, e desta maneira o metal pode ser o responsável da entrega dos ligantes ao sitio de ação. Em comparação, o complexo ouro trietilarsina, Et₃AsAuCl, mostra uma potente citotoxicidade *in vitro*, mas é inativo *in vivo*³⁰.

Tabela 1.1: Atividade antitumoral dos análogos de auronofina em camundongos com leucemia P388, e citotoxicidade *in vitro* contra células de melanoma B16.

Compostos	MDT ^a ($\mu\text{mol/kg/día}$)	%ILSb ^b	CI ₅₀ ^c (μM)
Et ₃ PAuSGlu(Ac) ₄	18	70	1.5
Et ₃ PAuGlu	24	68	2
Et ₃ PAuCl	14	36	1
Et ₃ PAuCH ₃	36	55	1
Et ₃ PAuCN	17	68	0.4
Et ₃ PAuNO ₃	13	41	2
AuSGlu	>300	15	166
AuSCH ₂ CH ₂ OH	500	9	140
AuSCH(COOH)CH ₂ COOH	350	24	60
AuSCH ₂ CH ₂ OGlu(Ac) ₄	106	0	>100
Et ₃ AsAuCl	40	18	8
Et ₂ SAuCl	500	50	>200

^aMáximas doses toleradas para camundongos num regime de 5 dias, ^bAumento máximo no tempo de vida produzido em camundongos com relação à leucemia P388 intraperitoneal.

^cConcentração na qual se inibe o crescimento das células de melanoma B16 em 50%.

Compostos binucleares de ouro (I) lineares com uma bisfosfina em ponte (Figura 1.7a), tal como o $\text{Au}_2\text{Cl}_2\text{PR}_2(\text{CH}_2)_n$ é também citotóxico *in vitro*, e exibe atividade anticancerígena *in vivo* contra uma ampla gama de tumores, em comparação com a auranofina³¹.

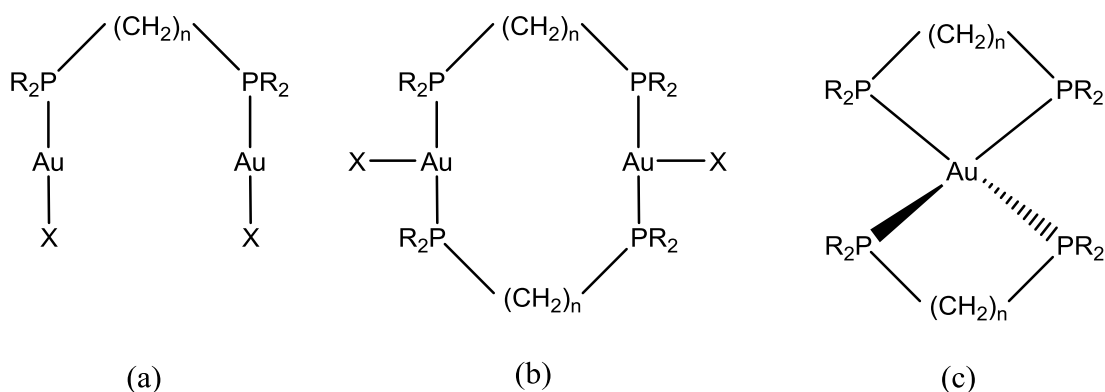


Figura 1.7: Estrutura geral dos complexos de ouro (I) difosfina citotóxicos.

Os complexos de Au (I) tais como $[\text{Au}_2(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{CH}_2\text{PEt}_2)_2\text{Cl}_2]$ (Figura 1.7b), são tri-coordenados, com um centro trigonal de ouro os quais são provavelmente estabilizados pela curta ligação $\text{Au}\dots\text{Au}$. A relação estrutura atividade para esta serie, revela a importância da fosfina. Quando o fósforo é substituído por arsênio ou sulfeto, resulta na inatividade de tais complexos. Também a substituição por um grupo fenil na fosfina, pode alterar sua atividade biológica. Estes complexos são rapidamente convertidos em complexos tetraédricos no plasma sanguíneo, ou em reações com tióis ou sulfetos.

Os complexos de ouro (I) com duas bifosfinas (Figura 1.7c), também têm demonstrado um grande potencial como anticancerígenos, contudo, sua eficácia tem sido limitada por sua alta toxicidade, e falta de seletividade para células cancerosas. Neste sentido, foi pesquisada a atividade anticancerígena de uma nova família de complexos de Au(I) (Figura 1.8), com ligante fosfina de forma bidentada [1,3-bis(di-2-piridilfosfino)propano (d2pypp)], os quais são solúveis em água. Estes complexos de ouro $[\text{Au}(\text{d2pypp})_2]\text{Cl}$, induzem à apoptoses de maneira seletiva, em células cancerosas de mama, mas não em células normais de mama³².

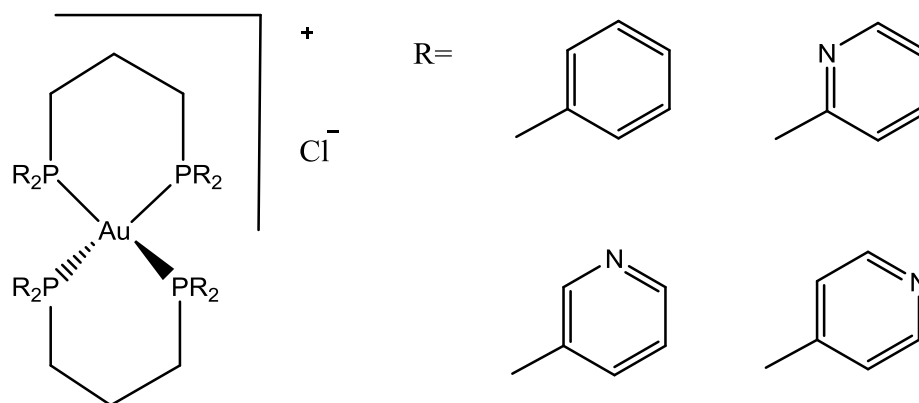


Figura 1.8: Estrutura química do complexo de ouro (I) $[Au(d2pypp)_2]Cl$ e análogos³².

1.3.2 - Cloroquina

A cloroquina é uma 4-aminoquinolina³³, fármaco mais eficaz e bem sucedido no tratamento e profilaxia da malária, usada pela primeira vez em 1940, tinha poucos efeitos secundários quando era tomada na dose indicada, além de ser de baixo custo. Desafortunadamente, a maioria das cepas de *P. falciparum* tem desenvolvido resistência a este medicamento e recentemente tem se reportado casos de *P. vivax* resistentes à cloroquina. Por isto muitos grupos de pesquisa têm tentado modificar sua estrutura, ou mais recentemente coordená-la a metais, com a finalidade de evitar esta resistência e aumentar sua atividade biológica.

O grupo de Navarro e colaboradores³⁴⁻³⁶ têm desenvolvido estratégias alternativas que conduzem a agentes metálicos quimioterapêuticos contra doenças tropicais, baseada na coordenação de compostos orgânicos com conhecida atividade biológica a metais de transição, para tentar produzir um efeito sinérgico com respeito a sua atividade. Os complexos metálicos têm sido avaliados como potenciais fármacos em uma variedade de doenças, e têm apresentado aplicações como agentes antitumorais, agentes antiinflamatórios³⁴ e antiparasitários³⁵.

Vários destes complexos resultaram serem muito mais efetivos contra parasitos maláricos, comparados com a CQDF de maneira isolada: o complexo

$[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$, é o mais tóxico em cepas de *P. falciparum* resistentes à CQDF, numa relação da atividade complexo/CQDF de 9.2³⁶, seguido pelo complexo $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ com relação 4.2³⁵ e por último o complexo $[\text{Cu}(\text{CQ})_2]\text{Cl}$ com relação 2.2, mostrando um aumento muito importante da atividade antiparasitária da CQ ao formar estes complexos inorgânicos (Figura 9).

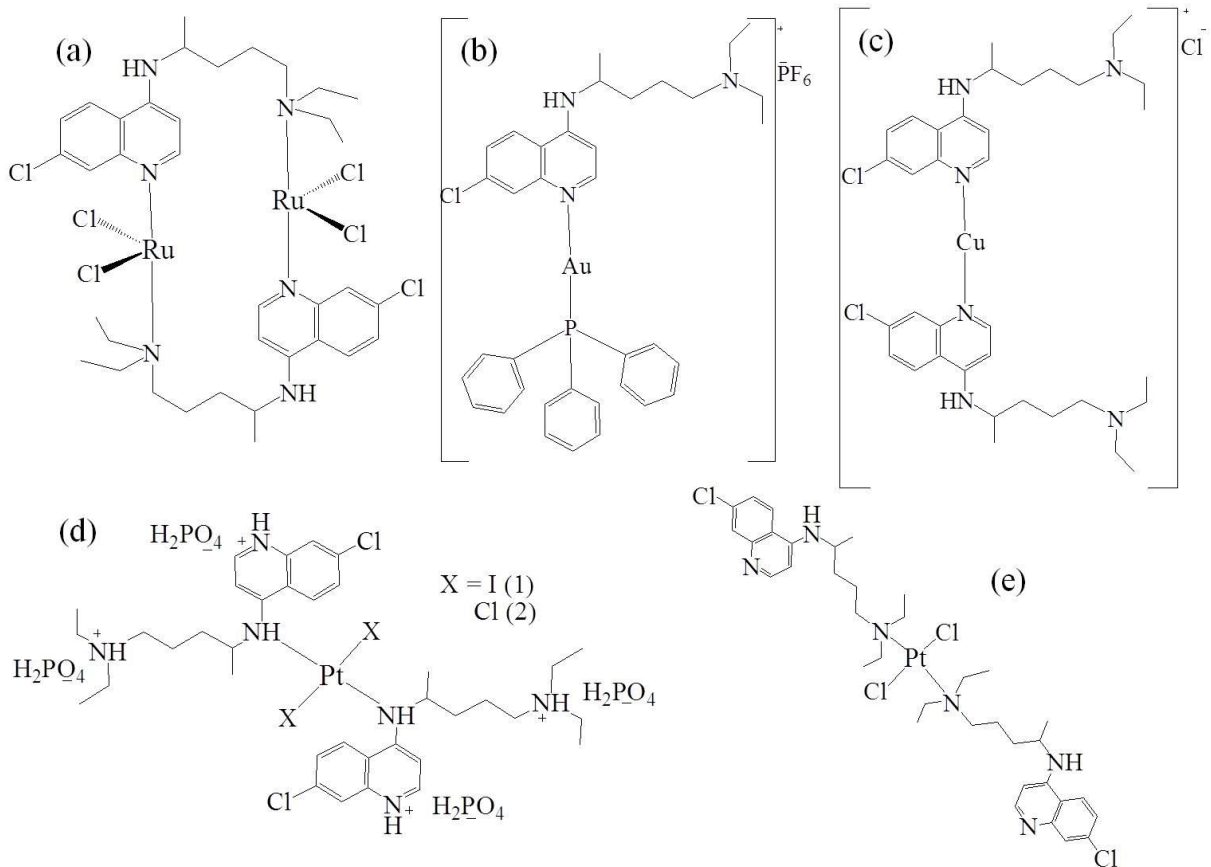


Figura 1.9: Complexos de cloroquina com atividade biológica³⁴⁻³⁷.

Nos últimos anos Navarro e colaboradores desenvolveram uma série de complexos de platina (II) com duas moléculas de cloroquina em posição *trans*, os quais apresentaram excelentes atividades antitumorais em seis linhagens celulares (Tabela 1.2), inclusive melhores que as apresentadas pela cisplatina³⁷.

Tabela 1.2: Efeitos citotóxicos e citostáticos dos complexos *trans* cloroquina, em seis linhagens celulares.

Linhagens		1	2	3	CQ	CQDF	CDDP*	TDDP*
PC-3	GI ₅₀	13	10	7	20	17	>30	>30
	TGI	>30	>30	19	>30	>30	>30	>30
	LC ₅₀	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
MCF-7	GI ₅₀	>30	>30	8	>30	>30	26	>30
	TGI	>30	>30	22	>30	>30	>30	>30
	LC ₅₀	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
SKBR-3	GI ₅₀	>30	>30	8	>30	>30	6	>30
	TGI	>30	>30	13	>30	>30	23	>30
	LC ₅₀	>30	>30	24	>30	>30	>30	>30
HT-29	GI ₅₀	16	15	7	23	20	>30	>30
	TGI	24	24	10	>30	29	>30	>30
	LC ₅₀	>30	>30	24	>30	>30	>30	>30
LoVo	GI ₅₀	7	7	6	10	8	>30	>30
	TGI	20	>30	14	27	30	>30	>30
	LC ₅₀	>30	>30	>30	>30	>30	>30	>30
B16/BL6	GI ₅₀	16	12	9	28	20	25	>30
	TGI	>30	20	19	>30	>30	>30	>30
	LC ₅₀	>30	28	>30	>30	>30	>30	>30

*CDDP= *cis*-platina, TDDP= *trans*-platina. Figura 1.d e 1.9e.³⁷ GI₅₀: inibição do 50% do crescimento celular. TGI: inibição total do crescimento celular. LC₅₀: 50% de citotoxicidade.

Na procura de novos complexos metálicos com potenciais aplicações médicas, estudos tem se centrado em alvos de ação específicos, com a finalidade de incrementar sua atividade biológica, e reduzir os efeitos secundários causados pelos fármacos usados na atualidade. Neste trabalho avaliou-se a interação dos complexos com o ácido desoxirribonucleico. A seguir será feita uma breve descrição das características e formas de interação deste importante alvo.

1.4 – Ácido desoxirribonucleico (DNA)

O DNA é uma molécula polimérica, a qual contém a informação genética de cada indivíduo. Sua estrutura e química foi tema de debate durante muitos anos até que em 1953, James D. Watson e Francis H. C. Crick propuseram um modelo molecular para o DNA, baseados em estudos de cristalografia de raios X³⁸. Os polinucleotídeos constituem uma das mais elegantes estruturas quirais encontradas na natureza, das quais a dupla hélice do DNA é a mais famosa³⁹. A estrutura primária do DNA é definida como a ordem ou sucessão dos desoxinucleotídeos, os quais possuem três componentes: uma base nitrogenada, uma pentose e um grupo fosfato (Figura 1.10). As bases nitrogenadas são derivadas de dois compostos principais: uma pirimidina e uma purina, as quais se ligam covalentemente (N-1 das pirimidinas, N-9 das purinas) ao carbono 1' da pentose (2-desoxi-D-ribose), mediante uma ligação N-B-glicosílico, formando um aduto chamado desoxirribonucleósido, ao que se une um grupo fosfato na posição 5', para formar o desoxirribonucleotídeo⁴⁰.

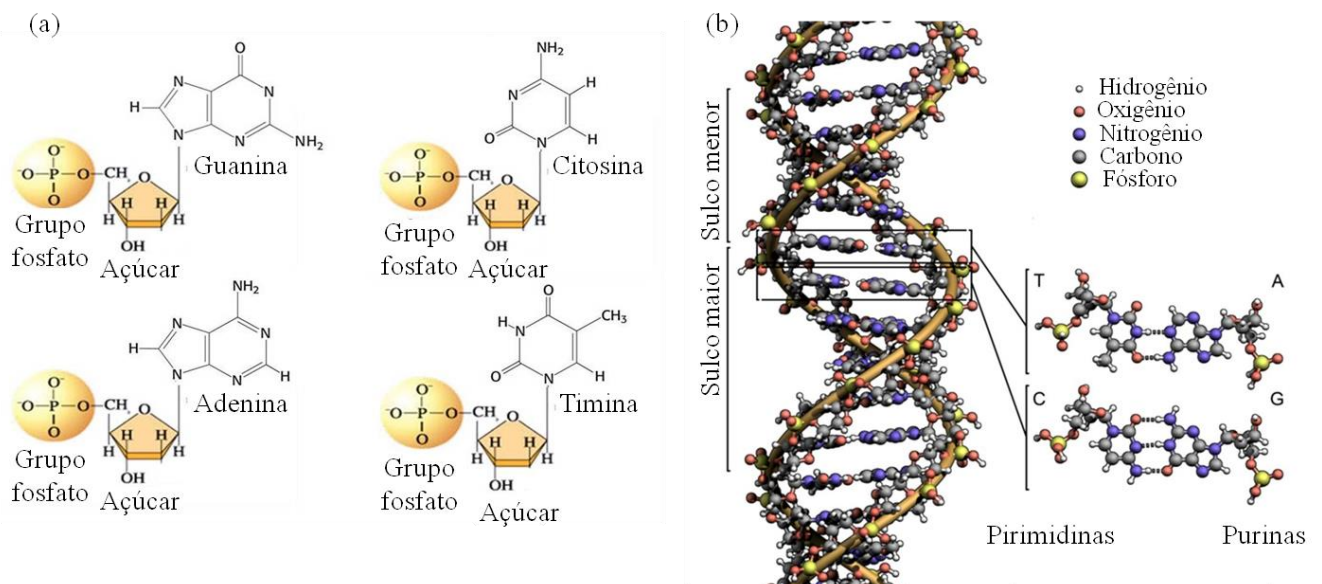


Figura 1.10: (a) Nucleotídeos do DNA. (b) Modelo da estrutura do DNA, empilhamento de bases nitrogenadas.

Esta estrutura é caracterizada por ser formada por duas cadeias poliméricas de desoxirribonucleotídeos, enrolada em torno de um eixo comum

com um giro à direita, que adota a forma de uma dupla hélice. A estrutura só acomoda dois tipos de pares nitrogenados, formados por adenina(A)-timina(T) e os de citosina(C)-guanina(G). Esta especificidade de emparelhamento tem sua origem na geometria dos pares. A superfície da molécula de DNA está marcada pela existência de dois sulcos de diferentes tamanhos como mostrado na Figura 1.10b. A origem destes sulcos é devido ao caráter assimétrico da desoxirribose, adicionalmente ao fato que em cada par de bases a parte superior é diferente da parte inferior.

Desde o descobrimento da estrutura helicoidal do DNA, a construção de pequenas moléculas que reconheçam e reagem com sítios específicos do DNA tem sido uma área de grande interesse. Em particular, o estudo dos complexos de metais de transição que se unem ao DNA, com especificidade, tem sido um campo em crescimento, devido em grande parte às propriedades úteis dos complexos metálicos, que possuem uma ampla gama de atributos fotofísicos, e permitem o arranjo modular de um conjunto de elementos de reconhecimento. Por esta razão será descrita as principais interações que apresentam os complexos metálicos com o DNA.

1.4.1 – Interações dos complexos metálicos com o DNA

O DNA é a biblioteca da célula, simultaneamente armazena e distribui informações necessárias para a vida. Moléculas que podem se ligar e reagir com sítios específicos do DNA proporcionam um meio para acessar essas informações celulares e a esta importante biomolécula. Nas últimas décadas, pequenas moléculas que se ligam ao DNA têm demonstrado serem grandes promessas como provas diagnósticas e agentes terapêuticos. Muita atenção tem se centrado no desenho de agentes orgânicos e inorgânicos que se ligam ao DNA. Os complexos metálicos apresentam uma grande variedade de interações com o DNA, as quais se classificam em dois tipos: as covalentes e as não covalentes⁴¹. As interações covalentes são as de maior magnitude e na maioria dos casos são

As interações não covalentes, também denominadas interações fracas ou reversíveis, são uma ordem de magnitude menos energéticas, comparadas com as interações covalentes. Dentro das interações não covalentes reportadas entre os complexos metálicos e o DNA, destacam-se interações por intercalação, formação de pontes de hidrogênio e eletrostáticas. Podem-se citar as interações de esfera externa, as quais incluem aqueles complexos os quais se associam ao DNA, mediante forças eletrostáticas entre os grupos fosfatos, ou ligações de hidrogênio, entre as bases nitrogenadas e os ligantes do complexo metálico. Um exemplo clássico é o complexo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, o qual, de acordo com estudos realizados usando o oligonucleótido $\text{d}(\text{CG})_3$, estabelece pontes de hidrogênio com uma molécula de guanina, e um grupo fosfato⁴² (Figura 1.13).

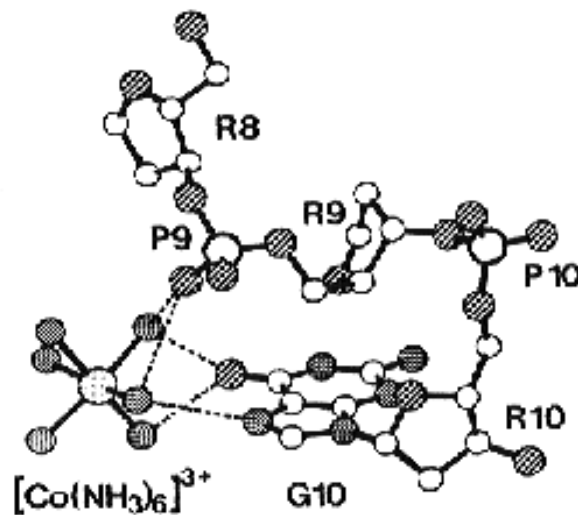


Figura 1.13: Fragmento da estrutura cristalográfica do oligonucleótido $\text{d}(\text{CG})_3$ onde se observa os pontes de hidrogênio entre os ligantes amino do complexo $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ e uma molécula de guanina (G10) e um grupo fosfato (P9). Na figura R8, R9 e R10 são anéis da desoxirribose; P10 é um grupo fosfato⁴².

Os intercaladores podem se definir como ligantes que podem estar empilhados (total ou parcialmente) entre os pares de bases nitrogenadas. Estes se estabilizam por forças do tipo Van der Waals. A intercalação de pequenas moléculas com o DNA é uma interação não covalente que depende de um

número de fatores tais como a planaridade, aromaticidade, e extensão da superfície de interação⁴³. O primeiro intercalador do DNA, caracterizado por difração de raios X, foi um composto de platina $[\text{Pt}(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH})(\text{terpi})]^+$ (terpi = terpiridilo), o qual se mostra na figura 1.14, onde pode-se observar sua intercalação entre as pares de bases do DNA.

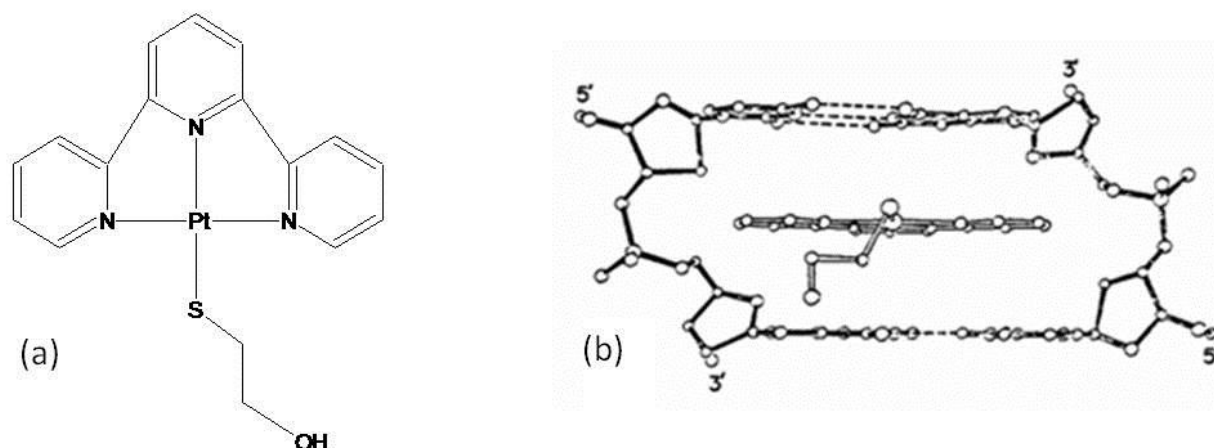


Figura 1.14: Intercalação do DNA⁴³.

As interessantes propriedades fotofísicas dos complexos metálicos intercaladores do DNA despertaram o interesse de muitos pesquisadores, pelo que atualmente muitos cientistas têm focado suas pesquisas ao estudo e desenvolvimento de diversos complexos metálicos que apresentem interações deste tipo, embora nos últimos 25 anos, o incremento do interesse tenha se centrado em agentes que se liguem de forma não covalente ao DNA. É de grande importância conhecer o tipo da interação que pode apresentar cada um dos complexos com o DNA, com a finalidade de desenvolver uma nova classe de compostos os quais possam ser mais efetivos aos usados na atualidade para o tratamento de diversas doenças, onde as interações com o DNA seja seu principal alvo. A determinação dos diferentes tipos de interações que apresentam os diversos complexos metálicos com o DNA é possível ser determinado através de diversas técnicas físicas e espectroscópicas, como se descreve a seguir.

1.4.2 – Titulações espectroscópicas dos complexos metálicos com o DNA

Um dos testes mais empregados para a avaliação da interação dos complexos metálicos com o DNA, é o monitoramento das perturbações causadas na região de transferência de carga metal-ligante (MLCT) ou intraligante, conforme se adicionam alíquotas de uma solução de DNA. Este método é denominado titulação espectroscópica⁴⁴. Em geral, se existe uma interação por parte dos complexos com o DNA, é possível observar mudanças nos espectros, devidos às variações nas transições dos elétrons não ligantes (n) e π ao estado excitado π^* observando-se geralmente deslocamentos para comprimentos de onda maiores (deslocamento batocrômico), e diminuição na intensidade da banda (hipocromismo, independente do efeito de diluição), como se observa no exemplo da figura 1.15. Além da informação qualitativa obtida no espectro, é possível calcular valores de constantes de interação (K_b) complexo/DNA, valor este que pode ser relacionado diretamente com a magnitude da força da interação, e pela conjugação de outros métodos é possível postular um modo de interação complexo/DNA.

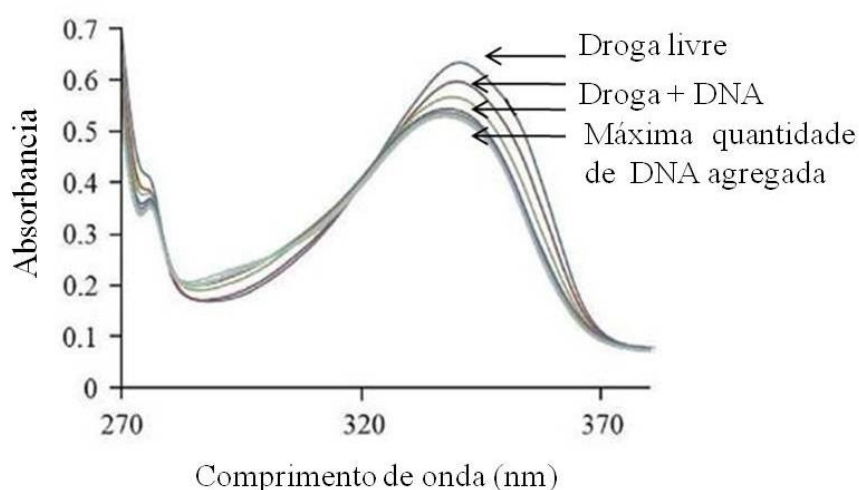


Figura 1.15: Espectro de absorção na região do UV-Visível onde se observa os deslocamentos batocrômicos e hipocromismo incorridos pela interação do complexo $[\text{Au}(\text{CQ})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$ com o DNA. $[\text{Complexo}] 9.98 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{DNA}] 0\text{-}50 \mu\text{M}$.

1.4.3 – Medidas de viscosidade

Mediante a técnica de viscosidade, é possível detectar mudanças estruturais e variações no tamanho do DNA, ocasionadas por algum tipo de interação com os complexos, quando um complexo metálico intercala o DNA, a estrutura tridimensional apresenta um aumento no volumen devido ao estiramento da dupla hélice pela separação que ocorre nos pares de bases nitrogenadas para permitir a entrada de um complexo intercalador (Figura 1.16), aumentando a viscosidade da solução, já no caso de complexos que interagem covalentemente com o DNA, estes deformam ou fragmentam a estrutura tridimensional do DNA, diminuindo sua viscosidade.⁴⁵

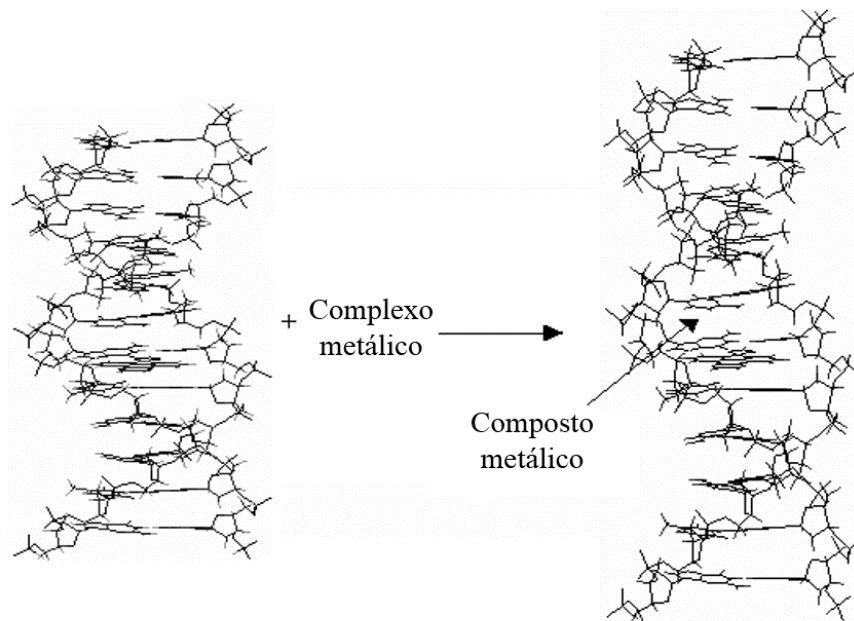


Figura 1.16: Alongamento da dupla hélice do DNA pela intercalação de um composto metálico.

Esta técnica é muito usada principalmente para verificar as propriedades intercalativas dos complexos, plotando $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ vs $[\text{DNA}]/[\text{Complexo}]$.

Em resumo, tem se observado nos compostos de coordenação, a importância tanto do centro metálico, como dos ligantes com respeito às atividades biológicas em câncer, sendo que a escolha correta destes fatores é a

chave do sucesso para o desenvolvimento de novos fármacos inorgânicos os quais substituam os complexos usados atualmente no tratamento desta enfermidade, nesta dissertação, realizou-se uma estrita escolha de ambos os fatores (metal e ligante), pelo qual se esperam resultados que possam aportar soluções a este grave problema de saúde mundial como é o câncer.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi sintetizar e caracterizar complexos de platina (II) contendo ligantes fosfínicos e cloroquina em sua esfera de coordenação, além de avaliar sua interação com o DNA e sua citotoxicidade em linhagens celulares tumorais.

Os objetivos específicos para o desenvolvimento do projeto foram:

1. Sintetizar complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ e $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ (onde $(\text{P})_2$ = trifenilfosfina (PPh_3), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfino)butano (dppb), bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf), e CQ =cloroquina).
2. Caracterizar por espectroscopia de RMN ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$, UV-Vis, IV, condutividade, análise elemental, voltametria cíclica e pulso diferencial os compostos obtidos, e espectrometria de massas (no caso dos complexos com CQ).
3. Avaliar a interação dos complexos com o DNA, mediante titulações espectroscópicas complexo/DNA timo de bezerro (DNA Calf thymus - Aldrich) e medidas de viscosidade a diferentes relações molares complexo/DNA.
4. Avaliar a atividade citotóxica dos complexos em linhagens celulares tumorais MCF-7 e MDA-MB-231 (tumor de mama humano), DU-145 (tumor de próstata humano), A549 (adenocarcinoma de pulmão humano) e não tumorais V79-4 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (células não tumorais de camundongo).

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 – Tratamento do argônio para síntese em atmosfera inerte.

Todas as sínteses foram realizadas sob atmosfera livre de oxigênio. A atmosfera inerte foi obtida pela passagem de um fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS – R – 3 – 11 (Fluka Chemika, mantido a 60 °C, para aumentar a eficiência do catalisador). Esses procedimentos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial de procedência da AGA, ou White Martins.

3.2 – Solventes

Todos os solventes utilizados, Synth P.A. ou Merck P.A., foram submetidos a purificação prévia, segundo métodos usuais da literatura. Os principais solventes utilizados foram: diclorometano, éter etílico, etanol, metanol, hexano, clorofórmio e hidróxido de amônio. Os solventes deuterados utilizados foram CD_2Cl_2 , DMSO, CD_3COCD_3 , $CDCl_3$ e D_2O .

3.3 – Reagentes químicos em geral

Cloroquina difosfato (CQDF), de procedência Sigma – Aldrich, utilizada para a extração da cloroquina base (CQ), usada nas sínteses como ligante bioativo. Os ligantes fosfínicos: trifenilfosfina (PPh_3), 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb), bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), de procedência Aldrich e Fluka, o sal tetracloroplatinato (II) de potássio (K_2PtCl_4), de procedência (premet) foram utilizados sem purificação previa. Perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), de procedência Fluka, utilizado no preparo de soluções 0,1 M em acetonitrila, com a finalidade de eletrólito para os procedimentos de análise eletroquímica, foram também usados como recibidos.

3.4 – Instrumentação e conduta experimental

3.4.1 – Análise elementar

A determinação do teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio, foi realizada em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISOONS, no laboratório de microanálise do departamento de química da UFSCar.

3.4.2 – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Foi utilizado para obtenção do espectro de absorção na região do infravermelho um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT, modelo MB-102 em pastilhas KBr (Merck P.A.) preparadas minuto antes da obtenção dos espectros. As análises foram feitas na proporção 1:100 da amostra/suporte. O KBr foi triturado e mantido em estufa 120 °C, antes de ser utilizado.

3.4.3 – Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta-Visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível foram obtidos em um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard (HP) 8452A, em soluções em diclorometano e em varias diluições, partindo de $1,0 \times 10^{-3}$ M utilizando cubetas com caminho óptico de 1 cm.

3.4.4 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$, COSY, HSQC e HMBC foram obtidos em um espectrômetro BRUKER DRX 400 MHz, pertencente ao laboratório do Prof. Antonio Gilberto Ferreira, do departamento de química da UFSCar.

3.4.5 – Eletroquímica

Os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial foram obtidos em um potenciostato da Bioanalytical System, modelo BAS100W à temperatura de 25 °C. As medidas de voltametria dos complexos foram realizadas utilizando um sistema convencional de três eletrodos, consistindo de um eletrodo de platina, como eletrodo de trabalho, um eletrodo auxiliar também de platina e um

eletrodo de referencia de Ag/AgCl. Os voltamogramas foram obtidos em acetonitrila, e como eletrólito suporte utilizou-se perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 M.

3.4.6 – Condutimetria

As medidas de condutividade molar foram realizadas em um condutivímetro Meter Lab., modelo CDM230, utilizando-se soluções de 1,0 mM em CH_2Cl_2 .

3.4.7 – Balança

As pesagens dos reagentes foram realizadas em uma balança analítica Metler H 20T com cinco casas de precisão.

3.4.8 – Evaporador Rotatório

Nos processos de evaporação do solvente foi utilizado um evaporador rotatório Büchi RE 121.

3.5 – Síntese

3.5.1 - Extração da cloroquina base (CQ)

A cloroquina base foi obtida pesando-se 5,060 g (9,808 mmoles) de cloroquina difosfato (CQDF), solubilizando-se em 60 mL de água destilada e adicionando-se 19 mL de NH_4OH . A mistura foi extraída com clorofórmio, concentrando o solvente mediante rota-evaporação, obtendo-se um óleo amarelo, que foi dissolvido em acetonitrila quente (20 mL) e refrigerado durante a noite, em geladeira. Observou-se a precipitação de um sólido branco, que foi filtrado e lavado com acetonitrila a frio e seco sob vácuo. Rendimento 85 %. IR [ν_{max} cm^{-1} (atribuição)]: 3237 (N-H), 1613 (C=C), 1573 (C=N). UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 18635 e 21110 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 236 e 260 nm ($\nu-\pi^*$); 11170 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 332 nm ($\pi-\pi^*$). RMN ^1H ($\text{CD}_2\text{Cl}_2-d_2$) [δ ppm, (integral; multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 0,97 (6H, t, H6', $^3J = 7,12$ Hz), 1,29 (3H, d, H1'', $^3J = 6,32$ Hz), 1,58 (2H, m, H3'), 1,72 (2H, m, H2'), 2,41 (2H, m, H4'), 2,48 (4H, m,

H5'), 3,69 (1H, m, H1'), 5,46 (1H, d, NH, $^3J = 6,40$ Hz), 6,45 (1H, d, H3, $^3J_{orto} = 5,44$ Hz), 7,33 (1H, dd, H6, $^3J_{orto} = 8,94$ Hz, $^4J_{meta} = 2,10$ Hz), 7,75 (1H, d, H5, $^3J_{orto} = 8,94$ Hz), 7,89 (1H, d, H8, $^4J_{meta} = 2,10$ Hz), 8,46 (1H, d, H2, $^3J_{orto} = 5,44$ Hz). RMN $^{13}C\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 11,62 (C6'), 20,20 (C1'), 24,19 (C3'), 34,77 (C2'), 47,18 (C5'), 48,75 (C1'), 52,86 (C4'), 99,67 (C3), 117,88 (C10), 122,14 (C5), 125,00 (C6), 128,81 (C8), 134,80 (C7), 149,65 (C9), 149,81 (C4), 152,28 (C2). RMN $^{15}N\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, atribuição]: 335,99 (N3), 340,60 (N2), 358,65 (N1).

3.5.2 - Síntese dos complexos $[Pt(P)_2Cl_2].XH_2O$ (1-4)

A sínteses dos complexos **1-4** foram realizadas mediante modificações da síntese reportada por Dopke e colaboradores⁴⁶, realizando síntese em sistemas convencionais, sem o uso do micro-ondas, e modificando os solventes, relações estequiométricas e tempos de reação. Uma solução de bifosfina (1,85 mmol ou 3,70 mmol no caso de PPh_3) dissolvida em 50 mL de metanol (**1**) ou etanol (**2-4**), foi colocada em refluxo, sob atmosfera inerte até completa solubilização. Em seguida, foi adicionado uma solução de $K_2[PtCl_4]$ (1,81 mmol) em 120 mL de diclorometano (**1 e 4**) ou clorofórmio (**2 e 3**), posteriormente adicionando-se 30 mL de água destilada, obtendo um sistema bifásico. A mistura foi mantida em refluxo por 24 horas. Então, a mistura foi concentrada e obteve-se um precipitado, que foi lavado com hexano e éter e finalmente secou-se sob vácuo.

3.5.2.1 - Síntese do $cis-[Pt(PPh_3)_2Cl_2].\frac{1}{2}H_2O$ (**1**)

Obteve-se um sólido branco com rendimento de 96,4 % (2230,0 mg). IV [ν_{max} cm^{-1} (atribuição)]: ν (C-H) 3053 cm^{-1} , (harmônicas) 1970-1827 cm^{-1} , (C-C aromático) 1586 cm^{-1} , ν (C=C) 1481 cm^{-1} , ν (P-C) 1097 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 696 cm^{-1} , ν (*cis*-Pt-P) 518 e 527 cm^{-1} , (*cis*-Pt-Cl) 319 e 294 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 33500 $M^{-1} cm^{-1}$, 236 nm ($\pi-\pi^*$); 10300 $M^{-1} cm^{-1}$, 272 nm (M-L); 8270 $M^{-1} cm^{-1}$, 280 nm (L-M); 587 $M^{-1} cm^{-1}$, 332 nm (d-d). RMN 1H (CD_2Cl_2-

d₂) [δ ppm, (integral; multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 7,20 (2H, dt, Hc, $^3J_{meta} = 1,76$ Hz and $^4J_{orto} = 7,72$ Hz), 7,36 (1H, m, Hd), 7,47 (2H, m, Hb). RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm (multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 128,29;128,35 (d, Cc, $^3J_{\text{C-P}} = 5,70;5,66$ Hz), 130,14;129,46 (dd, Ca, $^1J_{\text{C-P}} = 67,56$ Hz e $^3J_{\text{C-P}} = 2,60$ Hz), 131,25 (Cd), 135,13;135,18 (d, Cb, $^2J_{\text{C-P}} = 5,24;5,26$ Hz). RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm, (atribuição, multiplicidade)]: 13,72 (PPh₃, s, $^1J_{\text{P-Pt}} = 3681,55$ Hz). RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm, (multiplicidade, J Hz)]: -4414,02 (t, $^1J_{\text{Pt-P}} = 3670,24$ Hz).

3.5.2.2 - Síntese do $[\text{Pt}(\text{dppp})\text{Cl}_2]\cdot\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (2)

Obteve-se um sólido branco com rendimento de 83,2 % (1032,2 mg). IV [ν_{max} cm^{-1} (atribuição)]: ν (C-H) 3053 cm^{-1} , (harmônicas) 1971-1813 cm^{-1} , (C-C aromático) 1586 cm^{-1} , ν (C=C) 1481 cm^{-1} , ν (P-C) 1101 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 675 cm^{-1} , ν (Pt-P) 515 cm^{-1} , (Pt-Cl) 309 e 291 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 33000 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 236 nm ($\pi\text{-}\pi^*$); 16070 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 252 nm (M-L); 10275 e 6666 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 268 e 276 nm (L-M); 1403 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, 300 nm (d-d). RMN ^1H ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm, (integral; multiplicidade; atribuição)]: 2,01 (2H, m, Hf), 2,52 (4H, m, He), 7,45 (8H, m, Hc), 7,49 (4H, m, Hd), 7,75 (8H, m, Hb). RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm (multiplicidade, atribuição, J Hz)]: 73,20 (d, Ce, $^1J_{\text{C-P}} = 70,56$ Hz), 76,23;76,28 (d, Cf, $^2J_{\text{C-P}} = 5,09;5,11$ Hz), 128,33;128,39 (d, Cc, $^3J_{\text{C-P}} = 5,66;5,64$ Hz), 131,44 (d, Ca, $^1J_{\text{C-P}} = 67,34$ Hz), 131,66 (Cd), 135,28;135,33 (d, Cb, $^2J_{\text{C-P}} = 5,42;5,39$ Hz). RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm, (atribuição, multiplicidade)]: -7,61 (dppp, s, $^1J_{\text{P-Pt}} = 3418,50$ Hz).

3.5.2.3 - Síntese do $[\text{Pt}(\text{dppb})\text{Cl}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3)

Obteve-se um sólido branco com rendimento 96,3 % (1271,1 mg). IV [ν_{max} cm^{-1} (atribuição)]: ν (C-H) 3053 cm^{-1} , (harmônicas) 1967-1813 cm^{-1} , (C-C aromático) 1587 cm^{-1} , ν (C=C) 1473 cm^{-1} , ν (P-C) 1103 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 700 cm^{-1} , ν (Pt-P) 536 cm^{-1} , (*cis*-Pt-Cl) 312 e 291 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ

(atribuição): 31220 $M^{-1} cm^{-1}$, 234 nm ($\pi-\pi^*$); 16076 $M^{-1} cm^{-1}$, 252 nm (M-L); 9333 e 6978 $M^{-1} cm^{-1}$, 268 e 276 nm respectivamente (L-M); 871 $M^{-1} cm^{-1}$, 306 nm (d-d). RMN 1H ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (integral; multiplicidade; atribuição)]: 1,83 (4H, m, Hf), 2,61 (4H, m, He), 7,51 (8H, dt, Hc, $^3J_{meta} = 1,60$ Hz e $^4J_{orto} = 7,60$ Hz), 7,57 (4H, m, Hd), 7,76 (8H, m, Hb). RMN $^{13}C\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (multiplicidade, atribuição, J Hz)]: 73,20 (d, Ce, $^1J_{C-P} = 70,56$ Hz), 76,23;76,28 (d, Cf, $^2J_{C-P} = 5,09;5,11$ Hz), 128,33;128,39 (d, Cc, $^3J_{C-P} = 5,66;5,64$ Hz), 131,44 (d, Ca, $^1J_{C-P} = 67,34$ Hz), 131,66 (Cd), 135,28;135,33 (d, Cb, $^2J_{C-P} = 5,42;5,39$ Hz). RMN $^{31}P\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (atribuição, multiplicidade)]: 7,69 (dppb, s, $^1J_{P-Pt} = 3545,33$ Hz).

3.5.2.4 - Síntese do $[Pt(dppf)Cl_2] \cdot 2H_2O$ (4)

Obteve-se um sólido amarelo com rendimento 83,2 % (1032,2 mg).

IV [v_{max} cm^{-1} (atribuição)]: v (C-H) 3053 cm^{-1} , (harmônicas) 1973-1814 cm^{-1} , (C-C aromático) 1587 cm^{-1} , v (C=C) 1481 cm^{-1} , v (P-C) 1097 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 695 cm^{-1} , v (Pt-P) 520 cm^{-1} , (*cis*-Pt-Cl) 318 e 295 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 33423 $M^{-1} cm^{-1}$, 234 nm ($\pi-\pi^*$); 10345 $M^{-1} cm^{-1}$, 268 nm (M-L); 7960 $M^{-1} cm^{-1}$, 276 nm (L-M); 1138 $M^{-1} cm^{-1}$, 320 nm (d-d) e 300 $M^{-1} cm^{-1}$, 432 nm (d-d Fe). RMN 1H ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (integral; multiplicidade; atribuição)]: 4,20;4,21 (2H, d, Hg, $^3J = 1,80;1,84$ Hz), 4,39 (2H, bs, Hf), 7,42 (4H, m, Hc), 7,51 (2H, m, Hd), 7,86 (4H, m, Hb). RMN $^{13}C\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (multiplicidade, atribuição, J Hz)]: 73,20 (d, Ce, $^1J_{C-P} = 70,56$ Hz), 74,41;74,45 (d, Cg, $^3J_{C-P} = 3,66;3,64$ Hz), 76,23;76,28 (d, Cf, $^2J_{C-P} = 5,09;5,11$ Hz), 128,33;128,39 (d, Cc, $^3J_{C-P} = 5,66;5,64$ Hz), 131,44 (d, Ca, $^1J_{C-P} = 67,34$ Hz), 131,66 (Cd), 135,28;135,33 (d, Cb, $^2J_{C-P} = 5,42;5,39$ Hz). RMN $^{31}P\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (atribuição, multiplicidade)]: 12,63 (dppf, s, $^1J_{P-Pt} = 3779,58$ Hz). RMN $^{195}Pt\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (multiplicidade, J Hz)]: -4363,30 (t, $^1J_{Pt-P} = 3772,92$ Hz).

3.5.3 - Síntese do $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$ (5-8)

Uma solução de $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ (0,78 mmol) foi dissolvida em 50 mL de diclorometano, e a esta solução adicionou-se (3,10 mmol) de NH_4PF_6 . Posteriormente adicionando-se uma solução de CQ (1,44 mmol/40 mL de diclorometano). A mistura foi refluxada por 24 horas, em seguida a mistura foi concentrada, eliminando-se o solvente, depois foi lavado com água e éter, finalmente secou-se sob vácuo.

3.5.3.1 - *cis*- $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5)

Obteve-se um sólido amarelo pálido com rendimento de 83,1 %. IV
 $[\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$ (atribuição)]: ν (N-H) 3407 cm^{-1} , ν (C-H aromático) 3057 cm^{-1} , ν (C-H alifático) 2970 cm^{-1} , (harmônicas) $1971\text{-}1813 \text{ cm}^{-1}$, (C-C aromático) 1586 cm^{-1} , ν (C=C) 1612 cm^{-1} , ν (C=N) 1547 cm^{-1} , ν (P-C) 1095 cm^{-1} , (PF_6) 865 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 693 cm^{-1} , ν (Pt-P) 527 cm^{-1} , (Pt-Cl) 312 cm^{-1} . UV-Vis
 $[\epsilon, \lambda$ (atribuição)]: $44800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, 238 nm ($\pi\text{-}\pi^*$ PPh_3); $27170 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, 262 nm ($n\text{-}\pi^*$ CQ); 16622 e $17092 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, 348 e 358 nm , respectivamente ($\pi\text{-}\pi^*$ CQ). RMN ^1H ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (integral; multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 1,00:1,03 (6H, t, H6'), $^3J = 7,16:7,12 \text{ Hz}$, 1,22:1,26 (3H, d, H1''), $^3J = 6,36:6,40 \text{ Hz}$, 1,60 (2H, m, H3'), 1,75 (2H, m, H2'), 2,48 (2H, m, H4'), 2,55 (4H, m, H5'), 3,59 (1H, m, H1'), 6,17:6,22 (1H, d, H3, $^3J_{\text{orto}} = 6,52:6,76 \text{ Hz}$), 6,73:7,08 (1H, d, NH, $^3J = 6,88 \text{ Hz}$), 7,13;7,28 (12H, m, Hc), 7,35 (6H, m, Hd), 7,50 (12H, m, Hb), 7,40 (1H, m, H6), 7,75:7,77 (1H, d, H5, $^3J_{\text{orto}} = 9,16:9,04 \text{ Hz}$), 8,19:8,22 (1H, d, H2, $^3J_{\text{orto}} = 6,52:6,76 \text{ Hz}$), 9,02:9,00 (1H, d, H8, $^4J_{\text{meta}} = 1,84 \text{ Hz}$). RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ($\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 11,19:11,41 (C6'), 19,44:19,56 (C1''), 23,65:23,85 (C3'), 34,06:34,33 (C2'), 47,40:47,42 (C5'), 49,46:49,58 (C1'), 52,51:52,65 (C4'), 101,42:101,51 (d, C3, $^4J_{\text{C-P}} = 3,21:3,18 \text{ Hz}$), 118,56:118,75 (d, C10, $^4J_{\text{C-P}} = 3,57:3,71 \text{ Hz}$), 124,03:124,25 (C5), 125,74:125,80 (C8), 126,16:126,26 (C6), 126,61:127,25 (d, Ca, $^1J_{\text{C-P}} = 64,13:64,73 \text{ Hz}$),

128,85:129,07 (d, Cc, $^3J_{C-P} = 11,27:11,49$ Hz), 132,02:132,31 (d, Cd, $^4J_{C-P} = 2,47:2,39$ Hz), 134,08:135,34 (d, Cb, $^2J_{C-P} = 10,87:9,98$ Hz), 136,96:136,99 (C7), 145,53:145,59 (C9), 151,58:151,70 (C4), 152,53:152,57 (C2). RMN $^{15}N\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, atribuição]: 336,18 (N3), 342,07 (N2), 350,44 (N1). RMN $^{31}P\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (atribuição, multiplicidade, J Hz)]: -144,5 (PF_6 , sept, $^1J_{P-F} = 711,24$ Hz), 4,65 (PPh_3^b , d, $^2J_{P-P} = 18,47$ Hz, $^1J_{P-Pt} = 3196,44$ Hz), 15,03 (PPh_3^a , d, $^2J_{P-P} = 18,47$ Hz, $^1J_{P-Pt} = 3792,85$ Hz). RMN $^{195}Pt\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (multiplicidade, J Hz)]: -4320,66; -4283,25 (dd, $^1J_{Pt-P_a} = 3707,86$ Hz, $^1J_{Pt-P_b} = 3204,17$ Hz). ESI(+)-MS (acetona): $[M+H]^+$ (1220,3352 m/z, 8,34%), $[M-PF_6]^+$ (1074,3475 m/z, 15,42%), $[M-CQ-PF_6]^+$ (755,1503 m/z, 100%), $[CQ+H]^+$ (320,2032 m/z, 52,50%). Voltametria cíclica (acetonitrila): 880 mV (CQ) e 1886 mV (Pt^{II}/Pt^{III}).

3.5.3.2 - $[Pt(dppp)(CQ)Cl]PF_6 \cdot 1/4CH_2Cl_2$ (6)

Obteve-se um sólido branco com rendimento de 81,6 %. IV [v_{max} cm^{-1} (atribuição)]: ν (N-H) 3413 cm^{-1} , ν (C-H aromático) 3057 cm^{-1} , ν (C-H alifático) 2970 cm^{-1} , (harmônicas) 1970-1815 cm^{-1} , ν (C=C) 1612 cm^{-1} , ν (C=N) 1547 cm^{-1} (P-C) 1103, (PF_6) 846 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 695 cm^{-1} , (Pt-P) 517 cm^{-1} , (Pt-Cl) 306 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 41750 $M^{-1} cm^{-1}$, 234 nm ($\pi-\pi^*$ dppp); 20070 $M^{-1} cm^{-1}$, 262 nm ($n-\pi^*$ CQ); 14570 e 14800 $M^{-1} cm^{-1}$, 348 e 358 nm respectivamente ($\pi-\pi^*$ CQ). RMN 1H ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (integral; multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 0,97:1,00 (6H, t, H6', $^3J = 7,16$ Hz), 1,23 (3H, d, H1'', $^3J = 6,36$ Hz), 1,55 (2H, m, H3'), 1,71 (2H, m, H2'), 2,09 (2H, m, Hf), 2,40 (2H, m, H4'), 2,52 (4H, m, H5'), 2,60;2,78 (4H, m, He), 3,57 (1H, m, H1'), 6,13:6,18 (1H, d, H3, $^3J_{orto} = 6,56:6,64$ Hz), 6,59:6,85 (1H, d, NH, $^3J = 7,04:6,24$ Hz), 6,96;7,20;7,58 (8H, m, Hc), 7,11;7,41 (4H, m, Hd), 7,27 (1H, m, H6), 7,64;7,85 (8H, m, Hb), 7,64 (1H, m, H5), 7,97;7,98;7,99;8,00 (1H, d, H2, $^3J_{orto} = 6,52:6,76$ Hz), 8,55:8,51 (1H, d, H8, $^4J_{meta} = 1,84:1,92$ Hz). RMN $^{13}C\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (multiplicidade; atribuição, J Hz)]:

11,19;11,40 (C6'), 18,81 (Cf), 19,40;19,47 (C1'), 23,60;23,79 (C3'), 24,31;24,37;24,61;24,65 (d, Ce, 1J C-P = 40,80;40,96;40,89;40,62 Hz), 33,97;34,23 (C2'), 47,26 (C5'), 49,30;49,38 (C1'), 52,41;52,48 (C4'), 101,00;101,03 (d, C3, 4J C-P = 2,88;2,95 Hz), 118,27;118,41 (d, C10, 4J C-P = 3,74;3,75 Hz), 123,36;123,54 (C5), 126,05;126,09 (C8), 126,09;126,14 (C6), 128,56;128,58;129,36;129,37;129,41;129,49;129,53 (d, Cc, 3J C-P = 11,02;11,72 Hz), 127,29;128,10 (d, Ca, 1J C-P = 65,51;60,37 Hz), 131,86;131,99 (d, Cd, 4J C-P = 2,81;2,47 Hz), 132,31;132,37;132,61;133,32;133,35;133,50;133,56;132,45;132,62 (d, Cb, 2J C-P = 10,24 Hz), 136,44;136,49 (C7), 145,23;145,30 (C9), 151,44; 151,53 (C4), 151,81 (C2). RMN $^{15}N\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, atribuição]: 336,07 (N3), 342,20 (N2), 350,46 (N1). RMN $^{31}P\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (atribuição, multiplicidade; J Hz)]: -144,5 (PF_6 , sept, 1J P-F = 711,24 Hz), -14,56;-14,46 (P^b , d, 2J P-P = 28,10 Hz, 1J P-Pt = 2971,06 Hz), -5,53 (P^a , d, 2J P-P = 28,10 Hz, 1J P-Pt = 3342,59 Hz). RMN $^{195}Pt\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (multiplicidade, J Hz)]: -4399,40; -4364,23 (dd, 1J Pt- P_a = 3351,82 Hz, 1J Pt- P_b = 3012,65 Hz). ESI(+)-MS (acetona): $[M+H]^+$ (1108,3545 m/z, 3,77%), $[M-PF_6]^+$ (963,3629 m/z, 6,60%), $[M-CQ-PF_6]^+$ (643,1437 m/z, 70,75%), $[CQ+H]^+$ (320,2136 m/z, 100%). Voltametri cíclica (acetonitrila): 890 mV (CQ) e 1860 mV (Pt^{II}/Pt^{III}).

3.5.3.3 - $[Pt(dppb)(CQ)Cl]PF_6 \cdot \frac{1}{2}CH_2Cl_2$ (7)

Obteve-se um sólido branco com rendimento de 81,6 %. IV [v_{max} cm^{-1} (atribuição)]: ν (N-H) 3410 cm^{-1} , ν (C-H aromático) 3057 cm^{-1} , ν (C-H alifático) 2968 cm^{-1} , (harmônicas) 1969-1815 cm^{-1} , ν (C=C) 1612 cm^{-1} , ν (C=N) 1548 cm^{-1} , (P-C) 1100 cm^{-1} , (PF_6) 863 cm^{-1} , (Ph-P-Ph) 695 cm^{-1} , (Pt-P) 534 cm^{-1} , (Pt-Cl) 308 cm^{-1} . UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 40850 $M^{-1} cm^{-1}$, 234 nm ($\pi-\pi^*$ dppb); 20460 $M^{-1} cm^{-1}$, 262 nm ($n-\pi^*$ CQ); 14880 e 15064 $M^{-1} cm^{-1}$, 348 e 358 nm respectivamente ($\pi-\pi^*$ CQ). RMN 1H ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B),

(integral; multiplicidade; atribuição, J Hz): 0,97:1,02 (6H, t, H6', $^3J = 7,14$ Hz), 1,25:1,24 (3H, d, H1'', $^3J = 6,28:6,32$ Hz), 1,53;2,47 (4H, m, Hf), 1,63 (2H, m, H3'), 1,73 (2H, m, H2'), 2,42 (2H, m, H4'), 2,39;2,91 (4H, m, He), 2,56 (4H, m, H5'), 3,60 (1H, m, H1'), 6,21:6,26 (1H, d, H3, $^3J_{orto} = 6,52$ Hz), 6,57:6,93 (1H, d, NH, $^3J = 6,88:6,76$ Hz), 7,07;7,16;7,53;7,61 (8H, m, Hc), 7,37;7,67 (4H, m, Hd), 7,31 (1H, m, H6), 7,30;7,75;7,90 (8H, m, Hb), 7,33 (1H, m, H5), 8,09:8,11 (1H, d, H2, $^3J_{orto} = 6,52$ Hz), 8,54:8,57 (1H, d, H8, $^4J_{meta} = 1,92$ Hz). RMN $^{13}C\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (multiplicidade; atribuição, J Hz)]: 11,30:11,52 (C6'), 19,35:19,51 (C1'), 22,38:25,83 (Cf), 23,67:23,83 (C3'), 26,52;26,60:29,00;29,04 (d, Ce, $^1J_{C-P} = 39,52;36,88:36,77;37,33$ Hz), 34,02:34,33 (C2'), 47,32 (C5'), 49,35:49,44 (C1'), 52,44:52,58 (C4'), 101,24:101,33 (d, C3, $^4J_{C-P} = 3,54:3,61$ Hz), 118,20:118,39 (d, C10, $^4J_{C-P} = 3,36:2,80$ Hz), 123,76:123,96 (C5), 125,72:125,79 (C8), 126,11:126,18 (C6), 128,24:128,30 (d, Ca, $^1J_{C-P} = 65,20:63,39$ Hz), 128,96;129,03;129,22;129,33 (d, Cc, $^3J_{C-P} = 10,94;11,22;11,08;11,20$ Hz), 132,34;132,52 (d, Cd, $^4J_{C-P} = 2,37$ Hz), 132,97;133,05;134,20;134,45 (d, Cb, $^2J_{C-P} = 9,60;10,05;9,70;9,47$ Hz), 136,65:136,70 (C7), 145,35:145,43 (C9), 151,43:151,55 (C4), 152,30 (C2). RMN $^{15}N\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, atribuição]: 336,18 (N3), 342,27 (N2), 350,84 (N1). RMN $^{31}P\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm (Isômero A:B), (atribuição, multiplicidade, J Hz)]: -144,5 (PF₆, sept, $^1J_{P-F} = 711,24$ Hz), -9,20:-9,50 (P^b, d, $^2J_{P-P} = 23,11:22,68$ Hz, $^1J_{P-Pt} = 3002,29$ Hz), 18,88:19,02 (P^a, d, $^2J_{P-P} = 23,11:22,68$ Hz, $^1J_{P-Pt} = 3589,83$ Hz). RMN $^{195}Pt\{^1H\}$ ($CD_2Cl_2-d_2$) [δ ppm, (multiplicidade, J Hz)]: -4384,07; -4348,73 (dd, $^1J_{Pt-P_a} = 3644,15$ Hz, $^1J_{Pt-P_b} = 3026,69$ Hz). ESI(+)-MS (acetona): $[M+H]^+$ (1122,3516 m/z, 6,66%), $[M-PF_6]^+$ (976,3547 m/z, 100%), $[M-CQ-PF_6]^+$ (656,1428 m/z, 78,75%), $[CQ+H]^+$ (320,2122 m/z, 89,16%). Voltametria cíclica (acetonitrila): 900 mV (CQ) e 1861 mV (Pt^{II}/Pt^{III}).

3.5.3.4 - [Pt(dppf)(CQ)Cl]PF₆·1/2CH₂Cl₂ (8)

Obteve-se um sólido amarelo com rendimento de 92,3 %. IV [v_{\max} cm⁻¹ (atribuição)]: ν (N-H) 3409 cm⁻¹, ν (C-H aromático) 3057 cm⁻¹, ν (C-H alifático) 2970 cm⁻¹, (harmônicas) 1971-1813 cm⁻¹, ν (C=C) 1612 cm⁻¹, ν (C=N) 1548 cm⁻¹, ν (P-C) 1098 cm⁻¹, ν (PF₆) 848 cm⁻¹, (Ph-P-Ph) 697 cm⁻¹, ν (Pt-P) 519 cm⁻¹, (Pt-Cl) 313 cm⁻¹. UV-Vis [ϵ , λ (atribuição)]: 46815 M⁻¹ cm⁻¹, 234 nm (π - π^* dppf); 22895 M⁻¹ cm⁻¹, 260 nm (n- π^* CQ); 15150 e 15690 M⁻¹ cm⁻¹, 348 e 358 nm respectivamente (π - π^* CQ). RMN ¹H (CD₂Cl₂-d₂) [δ ppm (Isômero A:B), (integral, multiplicidade, atribuição, J Hz)]: 1,02:1,06 (6H, t, H6', ³ J = 7,08 Hz), 1,23:1,24 (3H, d, H1'', ³ J = 6,12:6,24 Hz), 1,64 (2H, m, H3'), 1,79 (2H, m, H2'), 2,52 (2H, m, H4'), 2,61 (4H, m, H5'), 3,58 (1H, m, H1'), 3,63;3,67;4,73;4,79 (4H, s, Hg), 4,33;4,88;5,06 (4H, s, Hf), 6,13:6,17 (1H, d, H3, ³ J_{orto} = 6,60:6,76 Hz), 6,65:6,97 (1H, d, NH, ³ J = 6,72:7,16 Hz), 7,04;7,61;7,67 (8H, m, Hc), 7,27 (4H, m, Hd), 7,35 (1H, m, H6), 7,60;7,69;8,01 (8H, m, Hd), 7,79:7,74 (1H, d, H5, ³ J_{orto} = 8,76:9,12 Hz), 8,02 (1H, m, H2), 8,83:8,82 (1H, d, H8, ⁴ J_{meta} = 1,76:1,80 Hz). RMN ¹³C{¹H} (CD₂Cl₂-d₂) [δ ppm (Isômero A:B), (multiplicidade, atribuição, J Hz)]: 10,97:11,23 (C6'), 19,53:19,59 (C1''), 23,44:23,70 (C3'), 33,98:34,18 (C2'), 47,51 (C5'), 49,45:49,57 (C1'), 52,57:52,73 (C4'), 70,65:71,61 (d, Ce, ¹ J C-P = 74,19:71,38 Hz), 74,25;74,55;75,97;76,53;76,86 (Cf), 77,67:76,97 (Cg), 101,44 (C3), 118,52:118,68 (d, C10, ⁴ J C-P = 4,36:4,21 Hz), 123,99:124,24 (C5), 125,62:125,69 (C8), 126,21:126,28 (C6), 128,59;128,89:132,34;132,52 (d, Cc, ³ J C-P = 11,38:7,63 Hz), 129,11;129,41:134,75;134,82;135,06;135,13 (d, Cb, ² J C-P = 11,73:10,10 Hz), 131,70 (Cd), 136,92 (C7), 145,44 (C9), 151,60:151,72 (C4), 152,34 (C2). RMN ¹⁵N{¹H} (CD₂Cl₂-d₂) [δ ppm, atribuição]: 336,14 (N3), 342,20 (N2), 350,11 (N1). RMN ³¹P{¹H} (CD₂Cl₂-d₂) [δ ppm (Isômero A:B), (atribuição, multiplicidade, J Hz)]: -144,5 (PF₆, sept, ¹ J P-F = 711,24 Hz), 4,92 (P^b, d, ² J P-P = 15,42 Hz, ¹ J P-Pt = 3310,21 Hz), 15,26:15,28 (P^a, d, ² J P-P = 15,42 Hz, ¹ J P-Pt = 3757,99 Hz). RMN ¹⁹⁵Pt{¹H} (CD₂Cl₂-d₂) [δ ppm,

(multiplicidade, J Hz)]: -4216,27; -4255,16 (dd, 1J Pt-P_a = 3776,26 Hz, 1J Pt-P_b = 3330,50 Hz). ESI(+)-MS (acetona): $[M+H]^+$ (1250,1364 m/z, 8,66%), $[M-PF_6]^+$ (1108,2703 m/z, 8,75%), $[M-CQ-PF_6]^+$ (784,0406 m/z, 39,16%), $[CQ+H]^+$ (320,1958 m/z, 100%). Voltametria cíclica (acetonitrila): 880 mV (CQ), 1886 mV (Pt^{II}/Pt^{III}), $E_{1/2} = 1048$ mV e $\Delta E = 72$ mV (par redox Fe^{II}/Fe^{III}).

3.6.- Técnicas para o estudo da interação complexo/DNA

3.6.1.- Preparação da solução de CT-DNA

O CT-DNA (*Calf Thymus*) foi preparado em Buffer Trizma (0,5 mM tris base, 4,5 mM de tris HCl e 50 mM NaCl, pH 7,4). A concentração da solução foi calculada mediante UV-Vis, utilizando o máximo de absorvância do DNA em 260 nm, que tem uma absorvância molar de $6600 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$.

3.6.2 - Titulações espectroscópicas

Foram realizadas pela adição de alíquotas da solução de CT-DNA a uma cubeta que contém os complexos (40 μL dos complexos 2 mM, 1960 μL de buffer tris, pH 7.4; 80 μL CQDF 2 mM), na cubeta de referência contendo 40 μL de DMSO e 1960 μL de buffer, também foram adicionadas alíquotas de CT-DNA a fim de subtrair esta medição do espectro da amostra. A adição é realizada até que não se observe alterações significativas no espectro UV-Vis. Finalmente foram determinadas as constantes de interação dos complexos com o CT-DNA mediante a equação de Scatchard, a qual é mostrada abaixo:

$$\frac{r}{[C_L]} = K(n-r)$$

Onde **r**: é o número de moles do complexo ligado a um mol de CT-DNA; **n**: é o número de sítios potencialmente ligados por molécula de complexo; **K**: é a constante de interação dos complexos com os sítios disponíveis no DNA; **C_L**: é a concentração do ligante livre.

A concentração do ligante livre e ligado (C_L e C_E) foi calculada a partir de $C_L = C(1-\alpha)$, onde C é a concentração total do complexo, α é a fração molar do complexo ligado, calculada a partir de $\alpha = (A_L - A)/(A_L - A_B)$, onde A_L e A_B são as absorvâncias do complexo livre e ligado a um comprimento de onda específica e A é a absorvância em qualquer ponto da titulação. Plotando r/C_L versus r , pode se achar a constante de interação, a partir do coeficiente angular da curva.

3.6.3 – Medidas de viscosidade

As medidas de viscosidade foram realizadas num banho mantendo a temperatura em 25 °C usando um viscosímetro de Ostwald, medindo o tempo de fluxo com um cronómetro digital, repetindo cada medida cinco vezes, usando uma média destas medidas para os cálculos, foram empregadas diferentes soluções dos complexos a distintas relações complexo/DNA, finalmente os dados obtidos foram plotados num gráfico de $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ versus $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$, onde η é a viscosidade do CT-DNA na presença do complexo e η_0 é a viscosidade do CT-DNA sozinho, estes valores foram calculados a partir dos tempos de fluxo medidos e corrigidos restando os tempos de fluxo dos solventes.

3.7.- Ensaio de citotoxicidade

Os compostos analisados foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células tumorais usando linhagens de célula derivada de tumor humano, MCF-7 e MDA-MB-231 (tumor de mama humano), DU-145 (tumor de próstata humano), A549 (adenocarcinoma de pulmão humano), V79-4 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (células não tumorais de camundongo).

Antes das células poderem ser usadas existe uma série de procedimentos e materiais necessários que serão descritos a seguir.

3.7.1.- Linhagem de células e condições de cultura

As células MCF-7, MDA-MB-231, DU-145, A549, V79-4 e L929, disponíveis no laboratório de Biologia do Envelhecimento do Departamento de Gerontologia da UFSCar, foram mantidas em vials congelados em nitrogênio líquido; a partir deles, as células foram obtidas (descongeladas a 37°C por cerca de 90 s) e subculturadas serialmente para posterior uso nos experimentos.

As células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio Leibovitz L-15, suplementado com soro fetal bovino (SFB) 10% e a L929 em cultura de suspensão em meio (DMEM para MDA-MB-231, DU-145, A549, V79-4 e L929, e RPMI para MCF-7), suplementado com soro fetal bovino (SFB) 10%. As culturas foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂.

Durante o crescimento das células o meio de cultura foi trocado a cada 2-3 dias para o melhor desenvolvimento destas.

O crescimento das células foi acompanhado dia a dia com o auxílio de um microscópio. Quando a garrafa continha uma boa quantidade de células realizava-se a contagem das células e devido à aderência fez-se um procedimento conhecido por tripsinização que é a remoção das células para uso nos experimentos.

A contagem das células foi feita ajustando o volume para que cada 200 µL contenha a quantidade desejada de células ($1,5 \times 10^4$ células). Após a aplicação das células em placa para microcultura de 96 poços (estéril) com densidade de $1,5 \times 10^4$ células por poço (em 200 µL) armazenou-se a placa em estufa (37°C / 5% CO₂) por 24 horas para que ocorresse a adesão celular. Finalmente, os compostos em diferentes concentrações foram adicionados em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 h.

3.7.2 - Ensaio citotóxico

Os compostos foram avaliados usando o ensaio com MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil brometo de tetrazolium)⁴⁷, que consiste em uma determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com o fármaco. Este ensaio colorimétrico de microcultura, desenvolvido como um estágio inicial para o “screening” de fármacos, mede a quantidade de MTT reduzido pela desidrogenase mitocondrial e assume que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) que, após solubilizado, é medido espectrofotometricamente. A densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 540 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 1% deste solvente.

Um baixo IC_{50} é desejado e implica citotoxicidade ou antiproliferação a baixas concentrações do fármaco. O valor de IC_{50} representa a concentração do fármaco que é necessária para reduzir 50% o crescimento celular.

Foram preparadas 8 concentrações de cada complexo (20 mM a 0,48 mM) utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 1 % e que o volume de meio de cultura em cada poço é 200 μ L, tomou-se uma alíquota de 1 μ L (0,5 %) de cada concentração de complexo e adicionou-se ao poço. Desta maneira as concentrações finais dos complexos foram 200 μ M a 0,048 μ M. As soluções dos compostos são preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

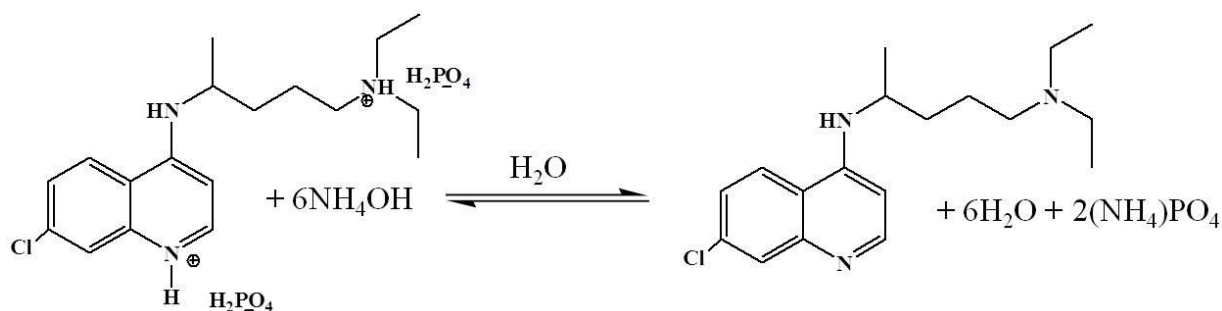
CAPÍTULO IV
RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos sintetizados neste trabalho foram caracterizados por técnicas adequadas: RMN de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$, espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e IV, Condutância Molar, Eletroquímica e Microanálise. Para maior clareza e facilidade de leitura e comparação dos resultados, os complexos sintetizados foram separados em dois grupos, complexos precursores de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2].\text{XH}_2\text{O}$ e os complexos de cloroquina do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6.\text{XCH}_2\text{Cl}_2$, e dentro destes grupos os resultados foram agrupados, segundo as técnicas de caracterização. Além disso, somente alguns espectros são mostrados neste capítulo como exemplos, todos os outros espectros estão presentes nos apêndices localizados no final desta dissertação.

4.1 – Caracterização da cloroquina (CQ)

A cloroquina base (CQ) foi extraída partindo da cloroquina difosfato (CQDF). A seguinte figura mostra o esquema da rota de extração.



Os dados de análise elementar têm uma diferença inferior ao 0,40 % entre os valores calculados e os encontrados, confirmando a eficiência na extração e purificação da CQ (Tabela 4.1).

Tabela 4.1: Dados de análise elementar da cloroquina.

Análise Elementar	% C	% H	% N
Experimental	67,78	8,43	13,30
Teórico	67,52	8,17	13,12

O espectro eletrônico da cloroquina (Figura 4.1) apresenta duas bandas bastante intensas entre 230 e 260 nm, correspondente às transições $n - \pi^*$ presente nos anéis quinolínico da cloroquina, também apresenta uma banda alargada de media intensidade, entre 300 e 360 nm correspondente às transições $\pi - \pi^*$ presente nos anéis aromáticos deste ligante. Todas as atribuições foram feitas baseando-se nos valores de épsilon e os dados da literatura²³.

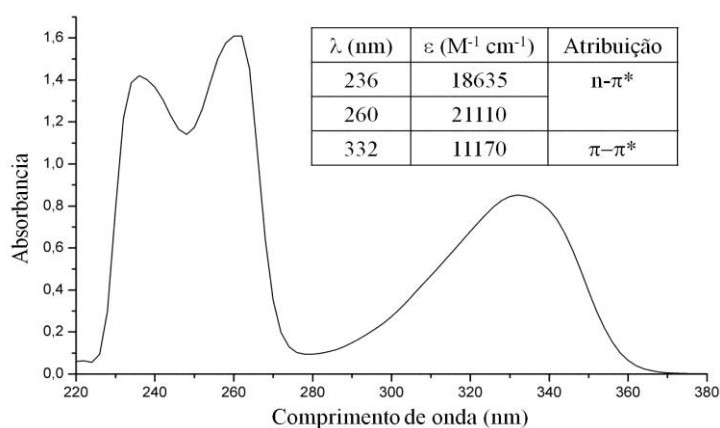


Figura 4.1: Espectro de absorção na região do UV-Visível da CQ, em CH_2Cl_2 .

No espectro de absorção na região do infravermelho da CQ (Figura 4.2), se observam as bandas características dos estiramentos das ligações ν (N-H) $3237 cm^{-1}$, ν (C=C) $1613 cm^{-1}$ e ν (C=N) $1573 cm^{-1}$, correspondentes com a molécula da CQ.

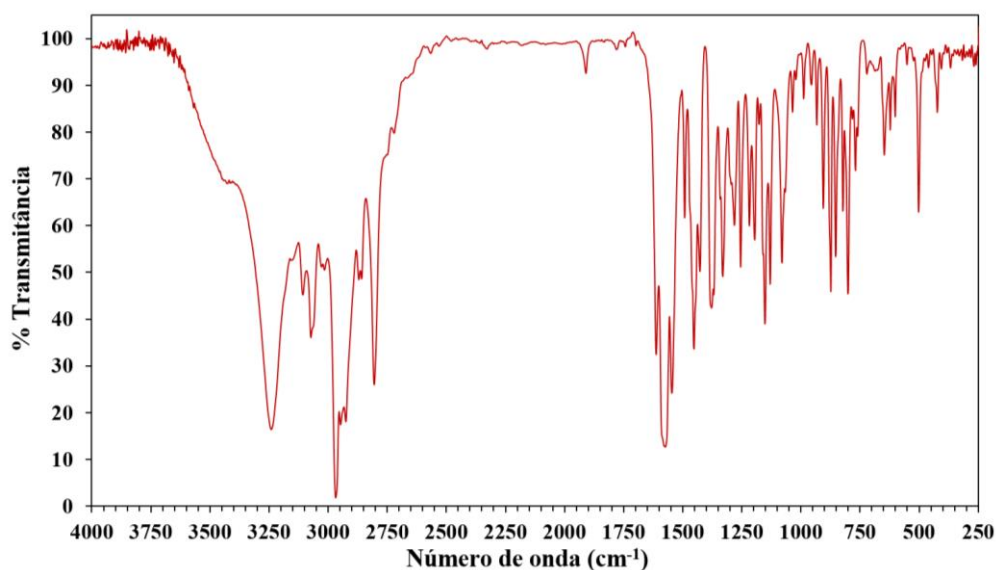


Figura 4.2: Espectro de Absorção na região do IV da cloroquina, em KBr.

As atribuições dos prótons e carbonos da CQ mediante os espectros de RMN são muito importantes para a dedução das estruturas dos complexos sintetizados, razão pela qual se mostrará uma breve discussão da análise feita, com a finalidade de se discutir posteriormente as variações nos deslocamentos geradas pela complexação ao centro metálico da platina, e a influência dos outros ligantes.

Nos espectros de RMN ^1H da cloroquina (Figuras 4.3 e 4.4), observou-se todos os sinais desta molécula, os quais foram atribuídos da seguinte maneira: na região alifática o primeiro sinal observado é um tripleto em 0,98 ppm, que integra para seis hidrogênios, que corresponde a H_6' , já que este hidrogênio se acopla com os dois hidrogênios de H_5' dando origem a um tripleto, devido que estes grupos metilas são simétricos. O seguinte sinal é um dubleto em 1,30 ppm, que integra para três hidrogênios, que corresponde a H_1'' . Estes hidrogênios se encontram acoplados ao hidrogênio H_1' , dando origem ao dubleto, o sinal integra para três hidrogênios já que corresponde a um grupo metil. Em 1,65 ppm se observa um multiplete que integra para quatro hidrogênios. Este sinal pertence aos hidrogênios H_2' e H_3' , devido a que estes apresentam entornos químicos similares os sinais se sobrepõem. Em 2,46 ppm observa-se um multiplete que integra para seis hidrogênios, correspondendo a H_4' e H_5' . Os sinais correspondentes a estes hidrogênios se encontram muito próximos, devido ao entorno químico dos hidrogênios, os quais se encontram um pouco desblindados pela influência do átomo de nitrogênio da amina terciária. Em 3,71 ppm observa-se um multiplete que integra para um hidrogênio. Este sinal corresponde ao hidrogênio H_1' . Este sinal se encontra mais desblindado, pela influência do nitrogênio da amina secundária.

Seguidamente na região aromática (Figura 4.4) se observa um sinal alargado em 5,42 ppm, que corresponde ao hidrogênio da amina secundária (NH). O alargamento é devido à troca do hidrogênio pelo deutério da água, que contém o solvente deuterado, razão pela qual também é reduzido o valor da

integral. Em 6,45 ppm se observa um duplete que integra para um hidrogênio. Este sinal corresponde a H₃, o qual se acopla com H₂, para completar o duplete. Também se observa um duplo duplete em 7,34 ppm, que integra para um hidrogênio, sinal que corresponde a H₆, o qual se acopla ao hidrogênio H₅ em posição orto e ao hidrogênio H₈ em posição meta, originando o duplo duplete; se observa um duplete em 7,88 ppm, que integra para um hidrogênio. Este sinal corresponde a H₈, o qual se acopla em posição meta com o H₆, produzindo o duplete. Estes sinais se encontram desblindados pelo átomo de cloro da molécula, o qual os desloca para campo mais baixo; também em 7,73 ppm se observa um duplete, que corresponde a H₅, o qual se acopla em posição orto com H₆. Finalmente, se observa um duplete em 8,47 ppm, o qual integra para um hidrogênio, pertencendo a H₂, que está acoplado em posição orto com H₃, originando o duplete. Todos os sinais foram verificados mediante um estudo de RMN COSY (Apêndice), no qual se observam os acoplamentos antes mencionados.

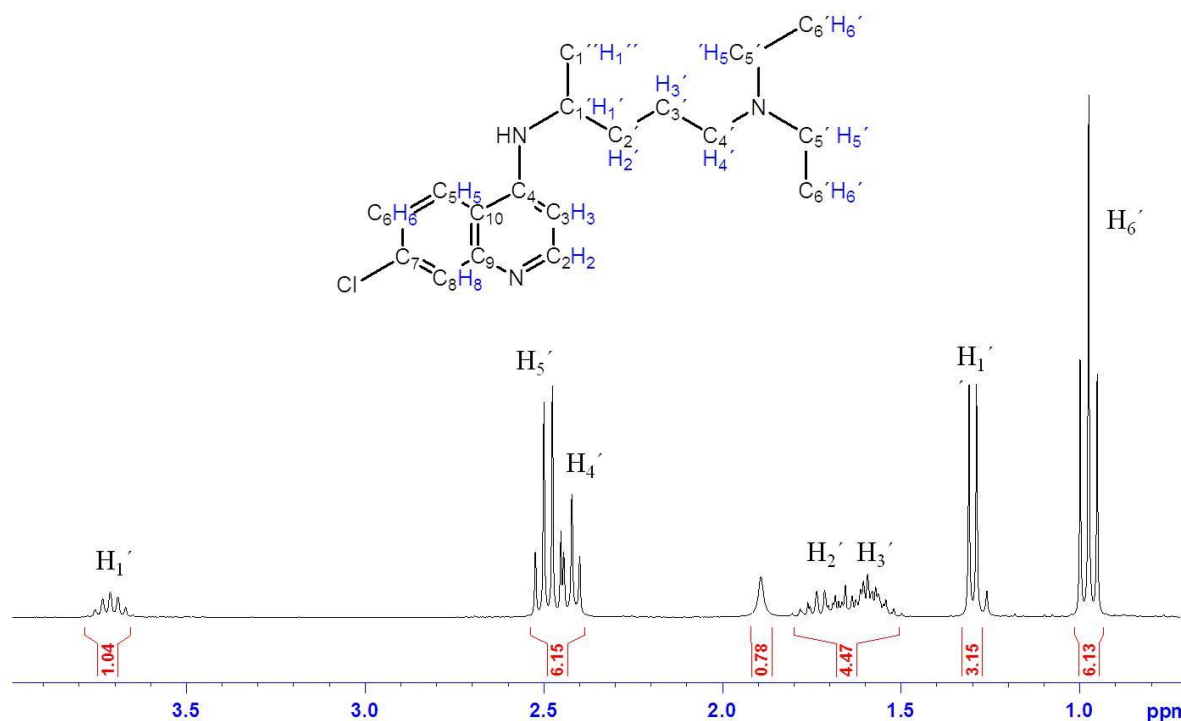


Figura 4.3: Espectro de RMN ¹H da cloroquina em CD₂Cl₂-d₂. (Ampliação da região alifática).

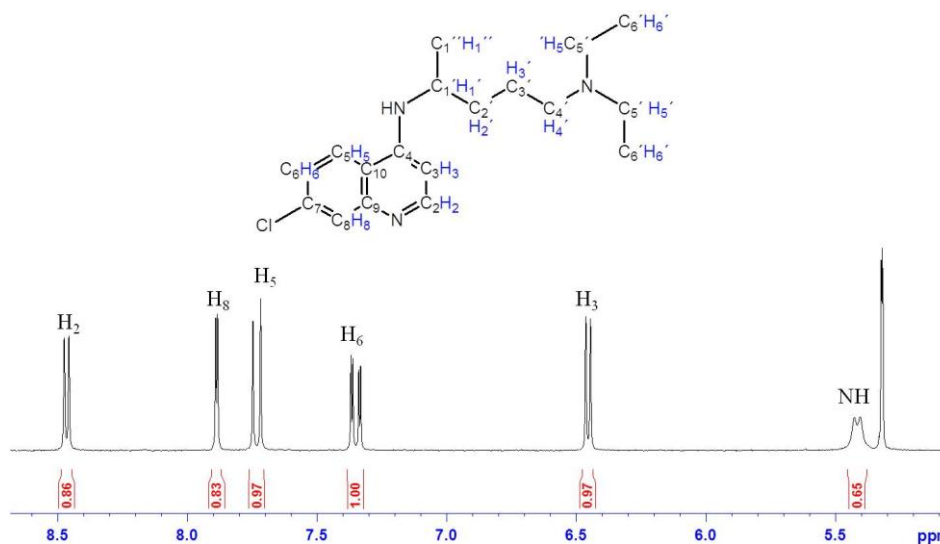


Figura 4.4: Espectro de RMN ^1H da cloroquina em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$. (Ampliação da região aromática).

Nos espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da cloroquina (Figuras 4.5 e 4.6), observa-se todos os sinais desta molécula, os quais foram atribuídas mediante a correlação direta nos espectros de HSQC dos carbonos C_6' , C_1'' , C_3' , C_2' , C_5' , C_1' , C_4' , C_3 , C_6 , C_5 , C_8 e C_2 , com seus respectivos hidrogênios previamente identificados, e correlação indireta dos carbonos C_4 , C_7 , C_9 e C_{10} nos espectros de HMBC, os resultados estão na tabela 4.2.

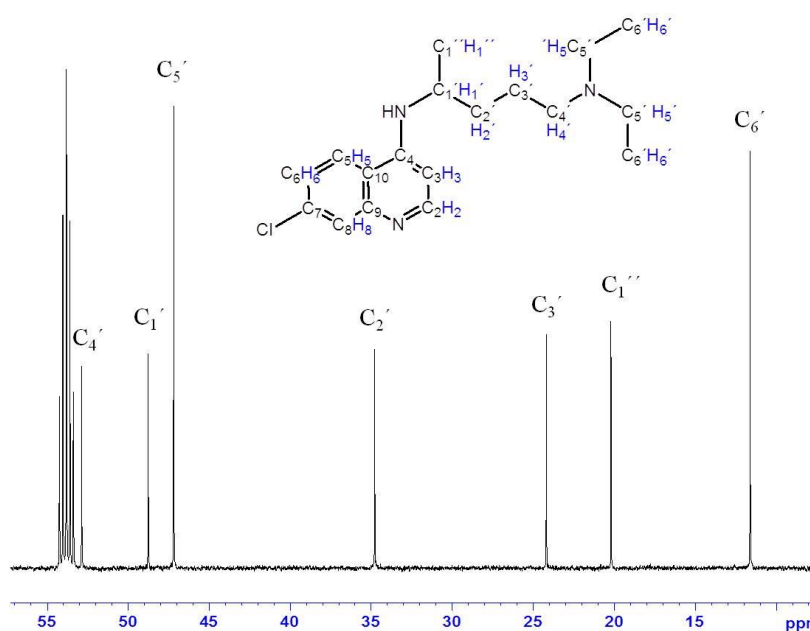


Figura 4.5: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da cloroquina em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$. (Ampliação da região alifática).

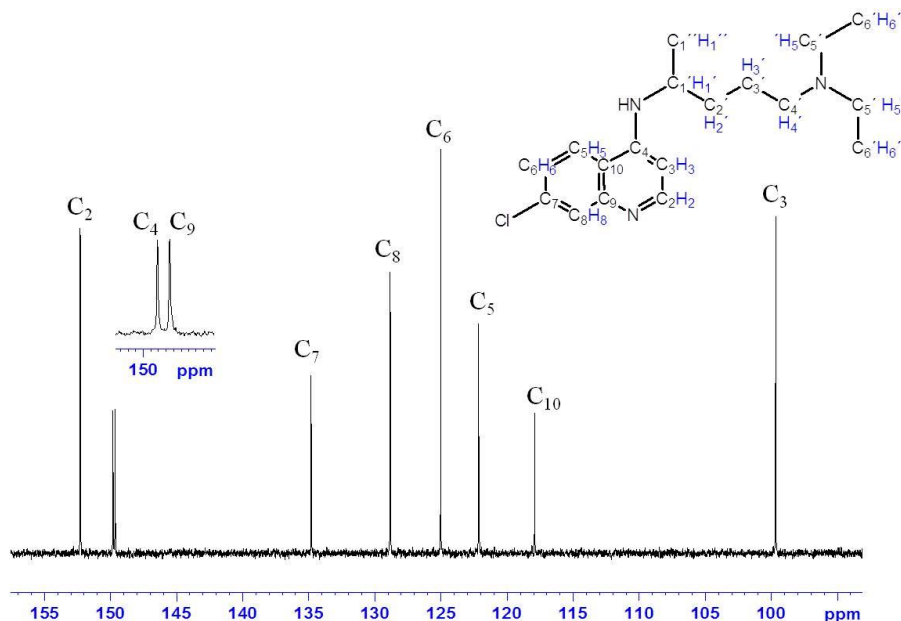


Figura 4.6: Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da cloroquina em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$. (Ampliação da região aromática).

Tabela 4.2: Deslocamentos químicos dos prótons e carbonos da CQ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

^1H			$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$		$^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$	
Atribuição	δ (ppm)	J Hz	Atribuição	δ (ppm)	Atribuição	δ (ppm)
H ₆ '	0.97	7.12	C ₆ '	11.62	N ₁	358.65
H ₁ "	1.29	6.32	C ₁ "	20.20	N ₂	340.60
H ₃ '	1.58	m	C ₃ '	24.19	N ₃	335.99
H ₂ '	1.72	m	C ₂ '	34.77		
H ₄ '	2.41	6.78	C ₅ '	47.18		
H ₅ '	2.48	7.12	C ₁ '	48.75		
H ₁ '	3.69	m	C ₄ '	52.86		
NH	5.46	6.40	C ₃	99.67		
H ₃	6.45	5.44	C ₁₀	117.88		
H ₆	7.33	2.10-8.94	C ₅	122.14		
H ₅	7.75	8.94	C ₆	125.00		
H ₈	7.89	2.10	C ₈	128.81		
H ₂	8.46	5.44	C ₇	134.80		
			C ₉	149.65		
			C ₄	149.81		
			C ₂	152.28		

4.2 – Complexos de platina com fórmula geral $[Pt(P)_2Cl_2] \cdot XH_2O$ (onde (P)₂= trifenilfosfina (PPh₃), 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb) e bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf))

Os complexos foram sintetizados por reações de substituição de dois ligantes cloros no $K_2[PtCl_4]$ pelos ligantes fosfínicos em uma mistura de diclorometano ou clorofórmio – metanol ou etanol – e água, em refluxo durante 24 horas. A Figura 4.8 mostra o esquema das rotas de síntese.

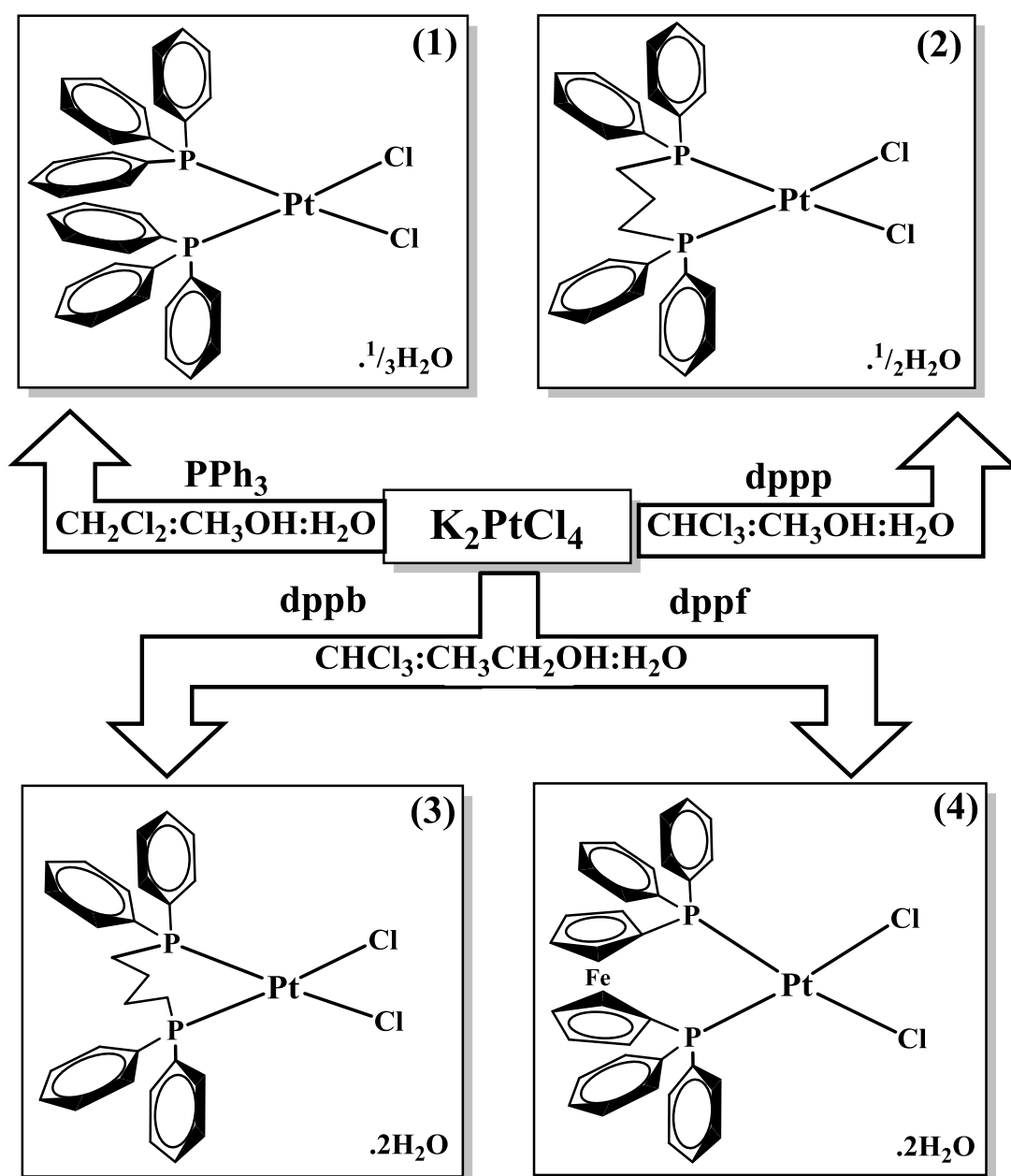


Figura 4.8: Esquema de síntese dos complexos de tipo $[Pt(P-P)Cl_2]$.

As condutividades dos compostos foram medidas a partir de uma solução de concentração 1,0 mM dos complexos em diclorometano. Os valores de condutividade encontrados estão abaixo do intervalo para eletrólitos 1:1 neste solvente, o que está em conformidade com as estruturas propostas para os compostos. Os dados de análise elementar tem uma diferença inferior ao 0,40 % entre os valores calculados e os encontrados, confirmando a formação dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ os quais apresentam hidratação (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Dados de análises elementares e condutividade molar ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) da serie $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2] \cdot \text{XH}_2\text{O}$.

Complexos	% C*	% H*	Condutividade Molar **
<i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$ (1)	54,37 (54,28)	4,05 (3,88)	$0,15 \pm 0,05$
$[\text{Pt}(\text{dppp})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (2)	47,28 (47,17)	4,04 (3,96)	$0,44 \pm 0,03$
$[\text{Pt}(\text{dppb})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3)	45,95 (46,16)	4,04 (4,43)	$0,42 \pm 0,03$
$[\text{Pt}(\text{dppf})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4)	47,37 (47,68)	3,52 (3,77)	$0,08 \pm 0,01$

*Valores calculados entre parênteses; ** não eletrólito – solvente diclorometano – eletrólito 1:1 ($12\text{-}77 \text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$).

Os complexos dos metais de transição apresentam espectros eletrônicos caracterizados pelo aparecimento de quatro tipos de transições⁴⁸. Bandas de transições internas dos ligantes, geralmente provenientes das transições $n\text{-}\pi^*$ e $\pi\text{-}\pi^*$, que se apresentam nos ligantes quando estão livres de coordenação; bandas das transições do campo cristalino, caracterizadas pelo desdobramento dos orbitais d do íon metálico frente às interações eletrostáticas dos ligantes; bandas de transferência de carga referentes às transições transferências de elétrons dos orbitais dos ligantes para orbitais de energia

apropriada do metal (LMCT); e bandas de transferência de carga referentes às transferências de elétrons dos orbitais $d\pi$ do metal para os orbitais de energia apropriada dos ligantes (MLCT).

Os espectros eletrônicos dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ são bastantes semelhantes entre si (Figura 4.9), os quais apresentam simetria C_{2v} , são observadas quatro bandas, uma banda bastante intensa em aproximadamente 235 nm, correspondente as transições $\pi - \pi^*$ presente nos anéis aromáticos dos ligantes fosfínicos, que também podem ser encontradas nos espectros dos ligantes livres. Também apresentam um ombro de media intensidade entre 252 - 272 nm, correspondente às transições eletrônicas Metal - Ligante desde o centro metálico de platina até os átomos de fósforo dos ligantes fosfínicos, e outros ombros entre 268 e 280 nm relativos a transições Ligante - Metal desde os ligantes fosfínicos e os ligantes cloretos até a platina; também apresenta bandas de baixa intensidade entre 300 - 332 nm atribuídas a transições d-d no centro metálico da platina e em 432 nm atribuída a transições d-d do ferro presente na molécula de ferroceno na dppf; sabe-se que as bandas referentes às transições do campo cristalino d-d são proibidas por Laporte, razão pela qual possuem baixos valores de absorvidades molares. Todas as atribuições foram feitas baseando-se nos valores de ϵ e o reportado na literatura²³. A tabela 4.4 resume as atribuições feitas para cada um dos complexos.

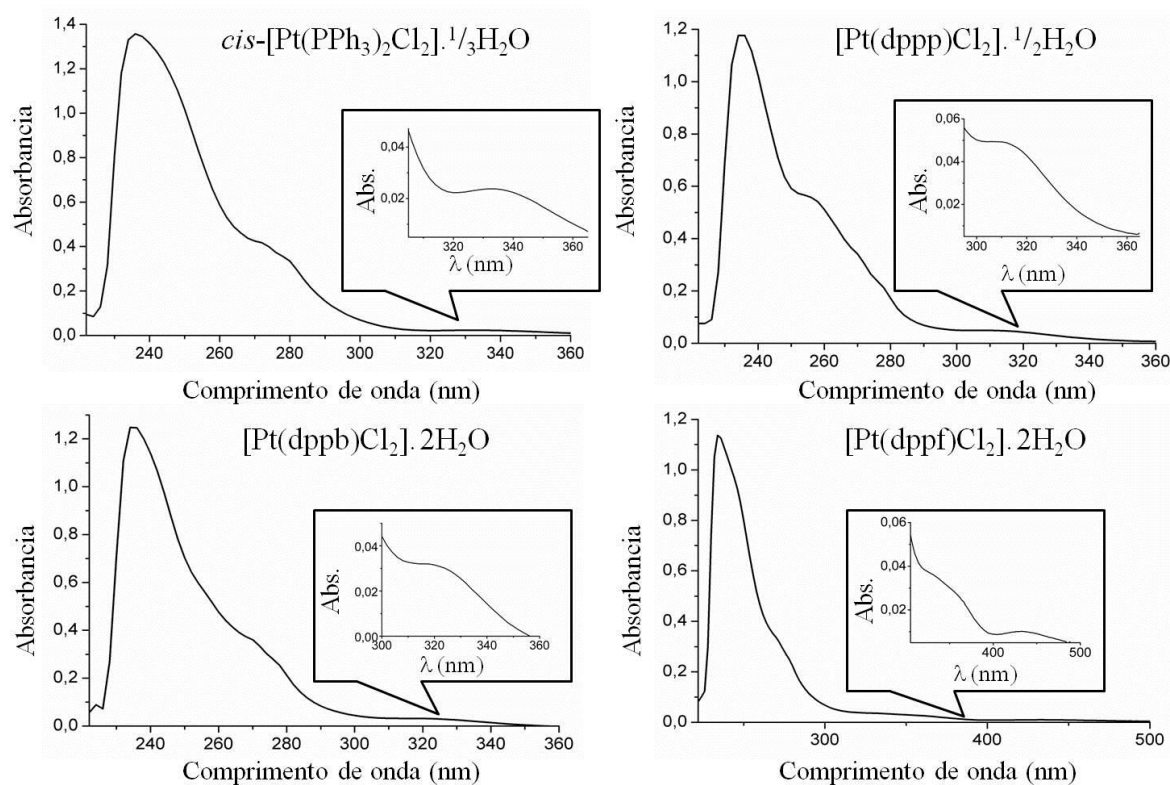


Figura 4.9: Espectro de absorção na região do UV-Visível dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ em diclorometano.

Tabela 4.4: Atribuições das bandas apresentadas pelos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ nos espectros de absorção na região do UV-Visível, em CH_2Cl_2 .

Complexo	Atribuição			
	$\pi - \pi^{*a}$	$\text{M} \rightarrow \text{L}^a$	$\text{L} \rightarrow \text{M}^a$	d-d^a
<i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$ (1)	236, 33500	272, 10300	280, 8270	332, 587
$[\text{Pt}(\text{dppp})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (2)	236, 33000	252, 16070	268, 10275 276, 6666	300, 1403
$[\text{Pt}(\text{dppb})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3)	234, 31220	252, 16076	268, 9333 276, 6978	306, 871
$[\text{Pt}(\text{dppf})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4)	234, 33423	268, 10345	276, 7960	320, 1138 ^b 432, 300 ^c

^a(λ nm, ϵ $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$); ^btransições d-d no centro metálico de platina, ^cno centro metálico de ferro na molécula de ferroceno.

Os espectros de absorção na região do infravermelho ofereceram informações que confirmam a complexação dos ligantes fosfínicos ao íon platina e a estrutura do produto obtido. As atribuições foram baseadas em comparações com os espectros dos ligantes e dados da literatura⁵⁰. Os espectros vibracionais dos complexos são bastante semelhantes entre si, o que se deve ao fato de todos os complexos conterem ligantes fosfínicos e dois cloretos, pelo qual mostraremos o espectro de um deles. No espectro do complexo 4 (Figura 4.10) pode-se observar a banda O-H em 3450 cm^{-1} , a banda do estiramento C-H em 3053 cm^{-1} , as bandas características dos harmônicos aromáticos na região de $1970 - 1810\text{ cm}^{-1}$, os estiramentos das ligações C=C na região de 1500 e 1420 cm^{-1} , $\nu(\text{P-C})$ 1100 cm^{-1} , e as deformações das ligações Ph-P-Ph em 695 cm^{-1} .⁴⁹ Também se observam as bandas correspondentes aos estiramentos $\nu(\text{Pt-P})$ 545 cm^{-1} , e as duas bandas características dos estiramentos das ligações Pt-Cl em posição *cis* entre 320 e 290 cm^{-1} .⁵⁰ Na tabela 4.5 se observam as atribuições feitas para todos os complexos desta série.

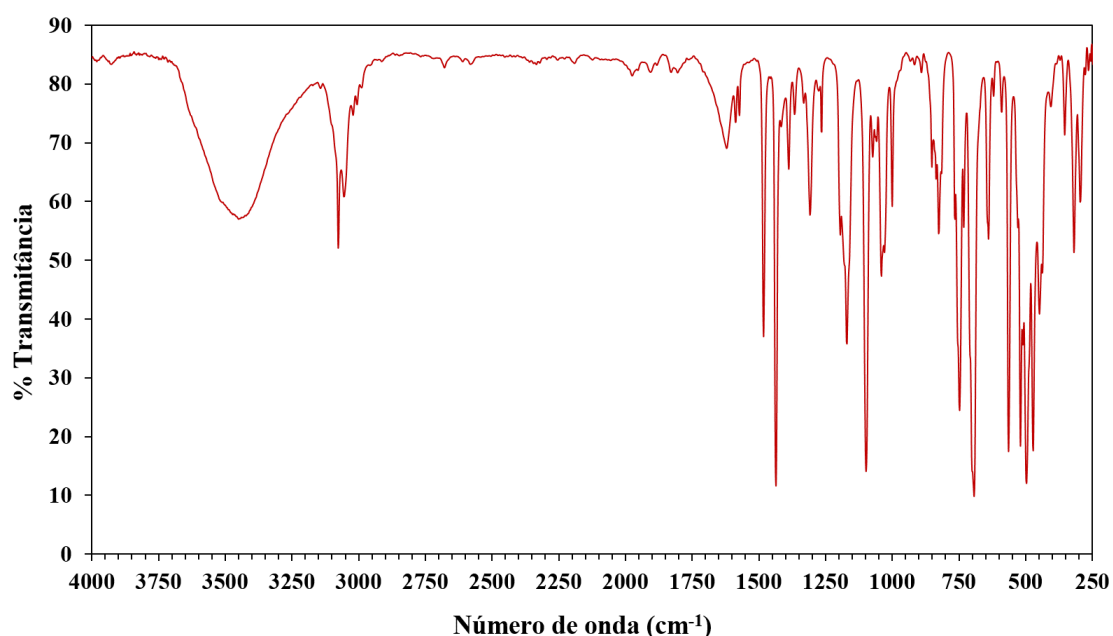


Figura 4.10: Espectro de Absorção na região do IV do complexo $[\text{Pt}(\text{dppf})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Tabela 4.5: Atribuição das bandas características (cm^{-1}) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes fosfínicos e seus complexos de platina (II) da serie $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$.

Complexos	P-C	Ph-P-Ph	Pt- P	Pt-Cl
<i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$ (1)	1097	696	550	319 - 294
$[\text{Pt}(\text{dppp})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (2)	1101	675	546	309 - 291
$[\text{Pt}(\text{dppb})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3)	1099	700	536	312 - 291
$[\text{Pt}(\text{dppf})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4)	1097	694	563	318 - 295

Os espectros de RMN ^1H dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ são bastante similares entre si, pelo qual é mostrado o espectro do complexo 4 (Figura 4.11) para fazer a discussão. Todos os sinais foram atribuídos pela análise dos espectros de ^1H e COSY. O complexo 4 apresenta dois dubletos na região alifática, entre 4,20 e 4,40 ppm, que integra para dois hidrogênios cada, correspondentes aos hidrogênios dos anéis ciclopentadienilo da molécula de ferroceno, os quais apresentam dois tipos diferentes de hidrogênios, ou seja, os hidrogênios H_f os quais estão mais desblindados pela influência do carbono quaternário que está ligado ao átomo de fósforo, e os hidrogênios H_g , que são menos influenciados pelo carbono quaternário, os quais se encontram em campo mais alto. Ambos os sinais são dubletos, devido a que se só se acoplam entre si, gerando dubleto. Na região aromática se observa um tripleto em 7,41 ppm, que integra para quatro hidrogênios, correspondentes aos hidrogênios H_b , que se encontra em posição *meta* com respeito à ligação carbono-fósforo, e se acopla em posição *orto* com os hidrogênios H_a e H_b , gerando tripleto. Também se observa outro tripleto em 7,51 ppm que integra para dois hidrogênios, correspondentes aos hidrogênios H_a , localizado em posição *para* com respeito à ligação C-P, pela qual se encontra um pouco desblindado, e se acopla em posição *orto* com H_b , e em posição *meta* com H_c . Finalmente observa-se outra espécie de tripleto em 7,86 ppm que integra para quatro hidrogênios, que

corresponde aos hidrogênios H_c que se encontra em posição *orto* com respeito à ligação carbono-fósforo pelo qual é mais influenciado por este carbono quaternário, desblindando ainda mais o núcleo e originando um maior deslocamento para campo baixo, o qual se acopla com o hidrogênio H_b em posição *orto* e com H_a , em posição *meta*. Cabe destacar que no espectro pode-se observar uma duplicação dos sinais devido ao entorno químico dos diferentes anéis fenílicos.

Os espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ são bastante similares entre si, pelo qual se usou o espectro do complexo 4 para mostrar as atribuições feitas, no espectro da figura 4.12 se observam dois grupos de sinais, um entre 72 e 78 ppm, correspondentes aos átomos de carbono dos anéis ciclopentadienilos da molécula de dppf, se observa dois pequenos sinais entre 72 e 75 ppm correspondentes aos carbonos quaternários C_e . Dois sinais mais intensos, em 74,45 e 76,27 ppm, correspondentes aos carbonos terciários C_f e C_g respectivamente. O outro grupo de sinais entre 128 e 136 ppm corresponde aos átomos de carbono dos anéis fenílicos da bifosfina, em 128,38; 131,70 e 135,32 se observam três sinais correspondentes aos carbonos terciários C_b , C_a e C_c respectivamente, e entre 131 e 132 ppm se observam dois sinais de baixa intensidade correspondentes aos carbonos quaternários C_d , presentes nos anéis fenílicos. Todos os carbonos foram atribuídos por correlação direta e indireta dos prótons com os carbonos nos espectros de HSQC e HMBC.

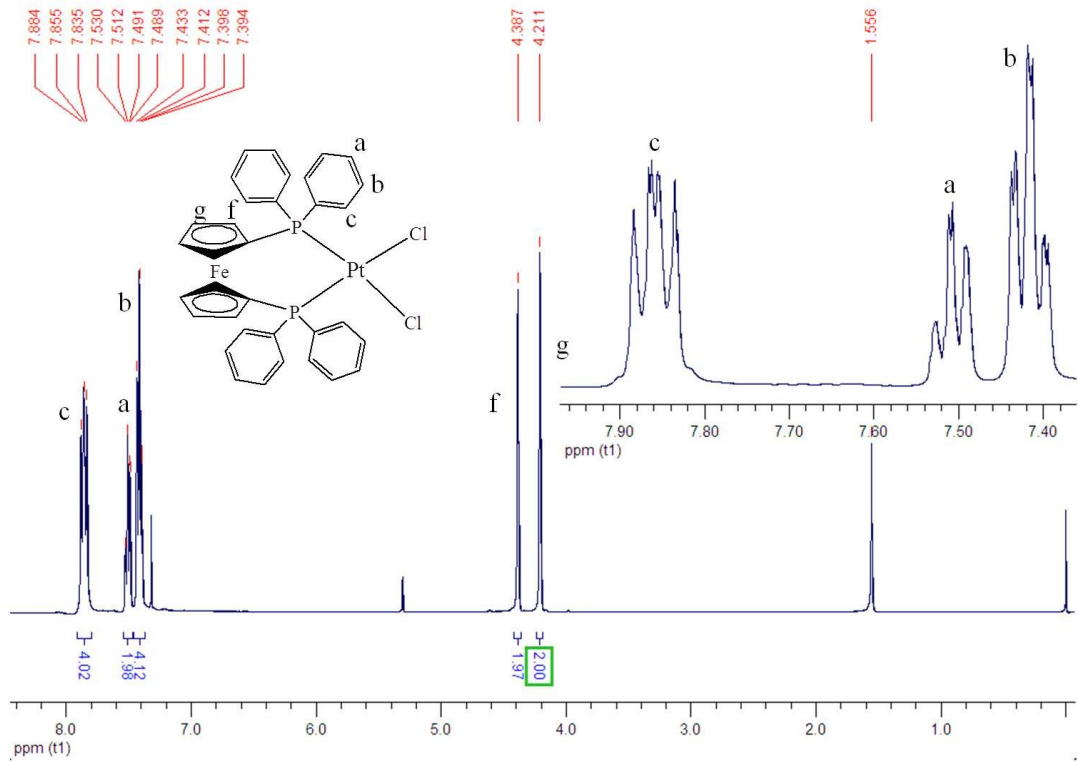


Figura 4.11: Espectro de RMN 1H do complexo $[Pt(dppf)Cl_2] \cdot 2H_2O$ em $CD_2Cl_2-d_2$.

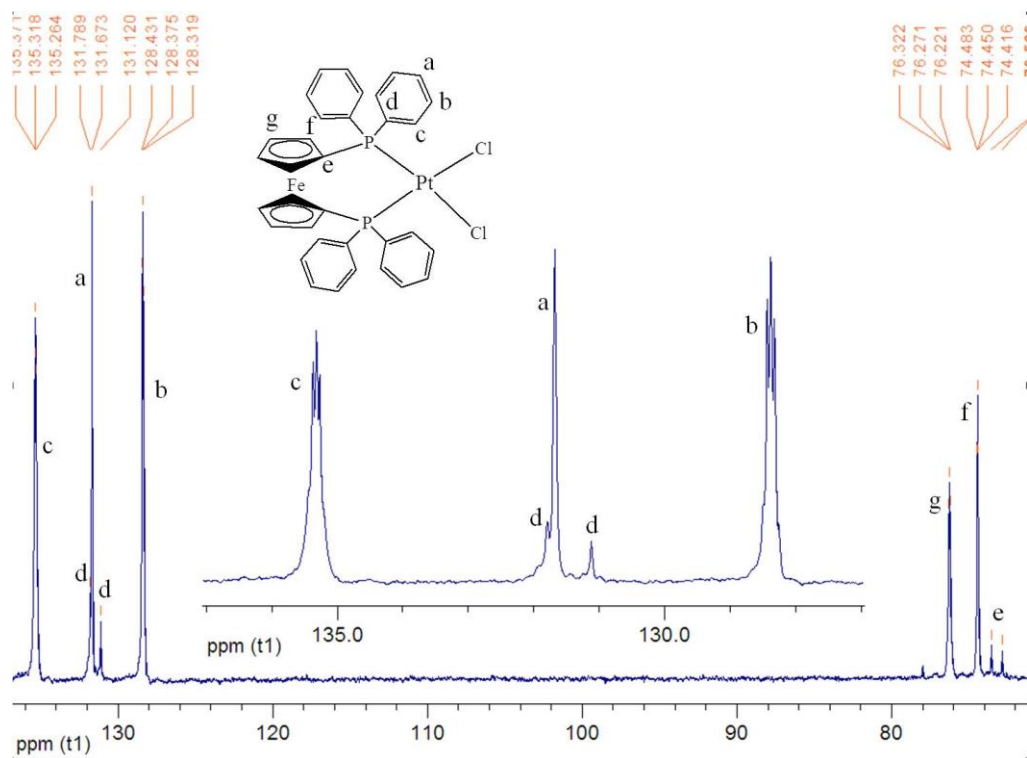


Figura 4.12: Espectro de RMN $^{13}C\{^1H\}$ do complexo $[Pt(dppf)Cl_2] \cdot 2H_2O$ em $CD_2Cl_2-d_2$.

Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ (Figura 4.13) apresentam um singlete correspondente aos átomos de fósforo magneticamente equivalentes presentes nos ligantes fosfínicos. Também se observam dois pequenos sinais a ambos os lados do sinal principal, que é originado pelo acoplamento do núcleo do átomo de ^{31}P , com o núcleo da ^{195}Pt , gerando satélites do sinal principal.

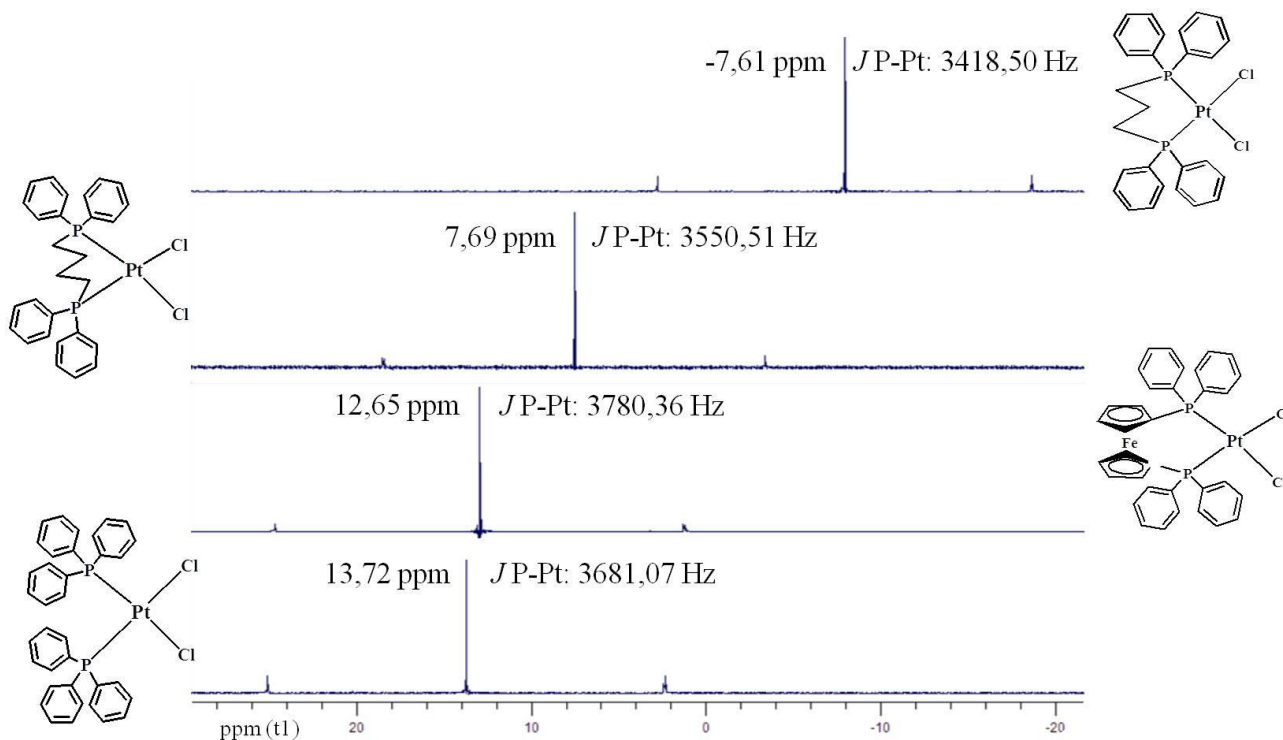


Figura 4.13: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P-P})\text{Cl}_2]$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Os espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 1 e 2 (Figura 4.14) apresentam um triplete em -4415 e -4364 ppm respectivamente, correspondentes ao centro metálico de platina presente nos complexos, acoplado com os dos fósforos quimicamente equivalentes presentes nos complexos, como foi descrito anteriormente. Os espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 3 e 4 não foram feitos devidos a problema de pouca solubilidade dos complexos nos solventes deuterados. Todos os dados de RMN dos complexos 1-4 se mostram na tabela 4.6.

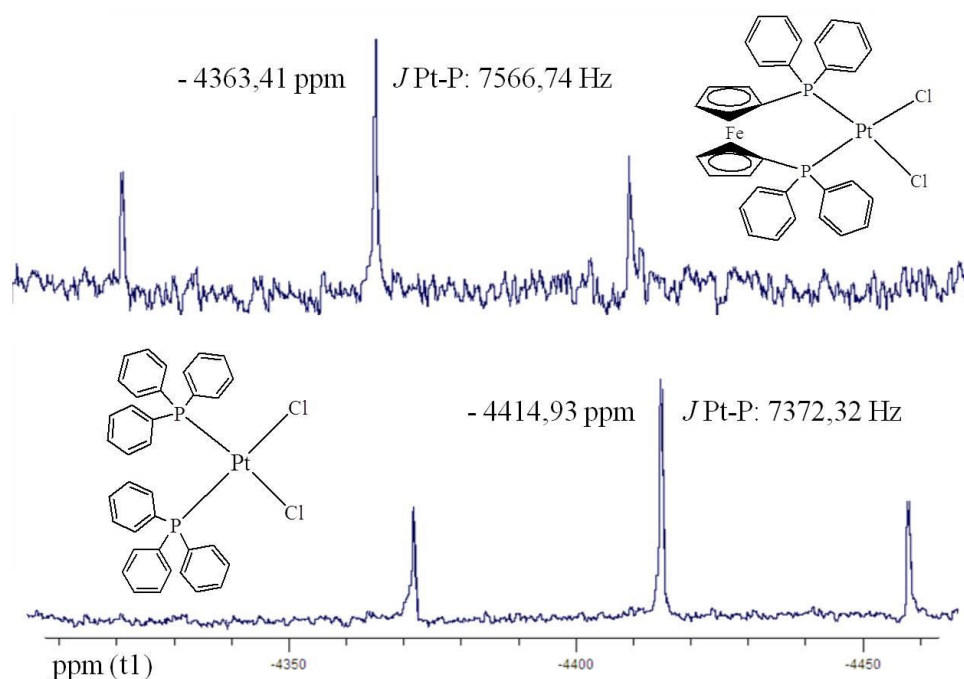


Figura 4.14: Espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 1 e 4 em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Tabela 4.6: Deslocamentos químicos dos sinais no RMN dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P-P})\text{Cl}_2]$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Complexo	1	2	3	4
H _a	7,36	7,51	7,54	7,51
H _b	7,20	7,45	7,47	7,41
H _c	7,42	7,75	7,73	7,86
H _e	-	2,56	2,58	-
H _f	-	2,03	1,81	4,39
H _g	-	-	-	4,21
C _a	131,26	131,78	-	131,67
C _b	128,34	128,95	-	128,38
C _c	135,17	134,00	-	135,32
C _d	130,14	129,29	-	131,79
	129,49	128,61	-	131,67
C _e	-	25,94	-	73,56
	-	25,47	-	72,86
C _f	-	19,17	-	74,45
C _g	-	-	-	76,28
P (ppm)	13,72	- 7,61	7,69	12,65
JP-Pt(Hz)	3681,07	3418,50	3550,51	3780,36
Pt (ppm)	- 4414,94	-	-	- 4363,41
JPt-P(Hz)	3670,24	-	-	3772,92

Em base à análise dos resultados obtidos propõem-se as estruturas dos complexos desta serie mostradas na figura 4.8, nas quais uma molécula de bifosfina (ou dois de trifenilfosfina no caso do complexo 1) e dois cloretos em posição *cis*, se coordenam ao centro metálico de platina, formando desta maneira uma estrutura de geometria quadrada planar, com 16 elétrons, características dos complexos de Pt (II).

4.3 – Complexos de platina com fórmula geral $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$ (onde $(\text{P})_2 =$ trifenilfosfina (PPh_3), 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb), bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) e $\text{CQ} =$ Cloroquina)

Os complexos foram sintetizados por reações de substituição de um ligante cloro nos precursores do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2\text{Cl}_2]$ pela cloroquina em diclorometano, em refluxo durante 24 horas com quatro equivalentes de NH_4PF_6 , com a finalidade de facilitar a saída do íon cloreto, e que a molécula de PF_6^- fique como contraíon nos complexos catiônicos. A figura 4.15 mostra o esquema das rotas de síntese.

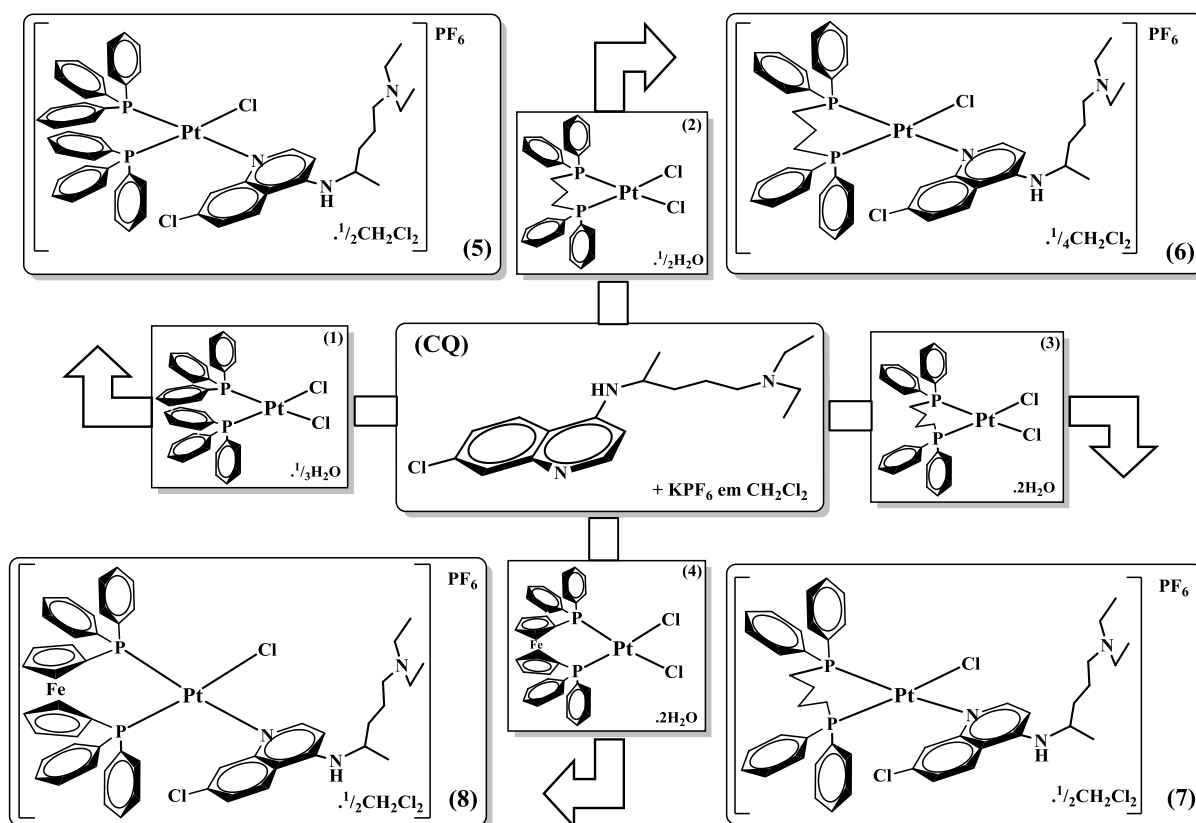


Figura 4.15: Esquema de síntese dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$

As condutividades dos compostos foram obtidas a partir de uma solução de concentração 1,0 mM dos complexos em acetonitrila. Os valores de condutividade encontrados estão dentro do intervalo para eletrólitos 1:1 neste solvente, o que está em conformidade com as estruturas propostas para os

compostos. Os dados de análise elementar tem uma diferença inferior ao 0,40 %, entre os valores calculados e os encontrados, confirmando a formação dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$, os quais apresentam moléculas de solvente em sua composição (Tabela 4.7).

Tabela 4.7: Dados de análises elementares e condutividade molar ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) da serie $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$.

Complexos	% C*	% H*	% N*	Cond. Molar**
<i>cis</i> - $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5)	51,92 (52,28)	4,57 (4,58)	3,75 (3,37)	$142,87 \pm 3,73$
$[\text{Pt}(\text{dppp})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{4}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (6)	48,06 (48,14)	4,66 (4,69)	4,06 (3,72)	$144,76 \pm 1,83$
$[\text{Pt}(\text{dppb})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (7)	48,14 (48,38)	4,65 (4,79)	3,98 (3,65)	$139,51 \pm 1,17$
$[\text{Pt}(\text{dppf})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (8)	48,39 (48,80)	4,21 (4,29)	3,47 (3,25)	$149,64 \pm 1,98$

*Valores calculados entre parêntesis; ** solvente acetonitrila – eletrólito 1:1 ($120\text{-}160 \text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$).

Os espectros eletrônicos dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ são bastantes semelhantes entre si (Figura 4.16), apresentam uma banda bastante intensa entre 234 e 238 nm, correspondente às transições $\pi - \pi^*$, presentes nos anéis aromáticos dos ligantes fosfínicos, presentes nos precursores, assim como nos ligantes livres: também apresentam um ombro intenso entre 260 e 262 nm, correspondente à transição $n - \pi^*$ presente no ligante cloroquina, e outras duas bandas sobrepostas em 348 e 358 correspondentes as transições $\pi - \pi^*$ presentes no anél quinolínico. Cabe destacar que ombros correspondentes às transições M-L, L-M e d-d presentes nos espectros dos precursores, não são observadas devido a sua baixa intensidade, e são encobertas pelas transições intraligantes da cloroquina. As atribuições foram feitas baseando-se nos valores de ϵ e nas atribuições feitas para os ligantes e os precursores. A tabela 4.8 resume as atribuições feitas para cada um dos complexos desta série.

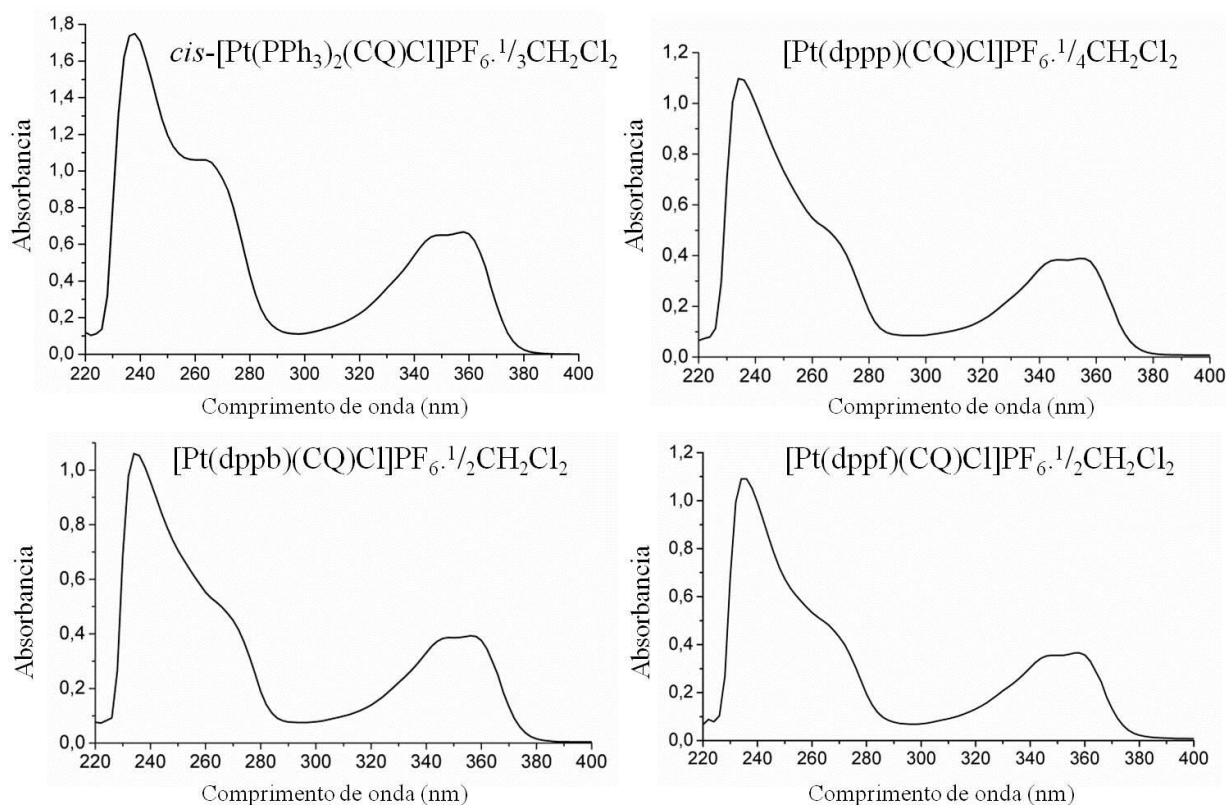


Figura 4.16: Espectros de Absorção na região do UV-Vis dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$, em diclorometano.

Tabela 4.8: Atribuições das bandas apresentadas pelos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ nos espectros de absorção na região do UV-Visível, em diclorometano.

Complexo	Atribuição		
	$\pi - \pi^*$ Ph ^a	$n - \pi^*$ CQ ^a	$\pi - \pi^*$ CQ ^a
$[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5)	238, 44800	262, 27170	348, 16622 358, 17092
$[\text{Pt}(\text{dppp})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{4}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (6)	234, 41750	262, 20070	348, 14570 358, 14800
$[\text{Pt}(\text{dppb})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (7)	234, 40850	262, 20460	348, 14880 358, 15064
$[\text{Pt}(\text{dppf})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (8)	234, 46815	260, 22895	348, 15150 358, 15690

^a(λ nm, ϵ M⁻¹ cm⁻¹).

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos foram obtidos em pastilhas de KBr, na região entre $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$ e as atribuições baseadas em comparações com os espectros dos ligantes e dados da literatura. Na figura 4.17 pode-se observar as bandas dos estiramentos das ligações $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1569 cm^{-1} característica da CQ⁴⁹, os estiramentos das ligações $\nu(\text{P}-\text{C})$ 1100 cm^{-1} , $\nu(\text{Pt}-\text{P})$ 545 cm^{-1} , a banda da ligação Pt-Cl em 310 cm^{-1} , e as deformações das ligações Ph-P-Ph em 695 cm^{-1} .⁵⁰ Na tabela 4.9 encontram-se as atribuições feitas para todos os complexos desta serie.

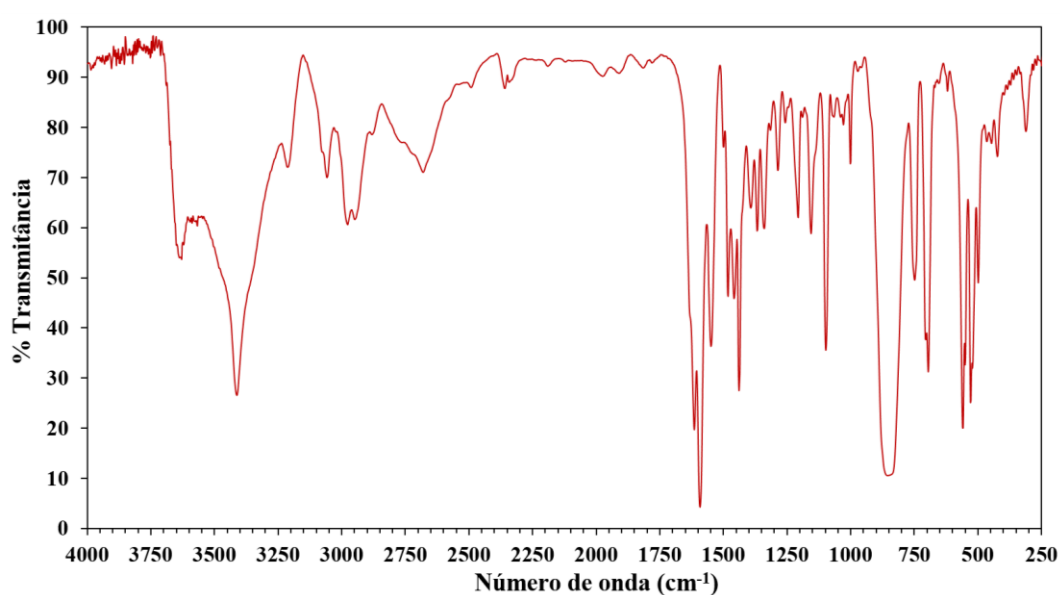


Figura 4.17: Espectro de Absorção na região de IV do complexo *cis*-[Pt(PPh₃)₂(CQ)Cl]PF₆·¹/₂CH₂Cl₂, em KBr.

Tabela 4.9: Atribuição das bandas características (cm^{-1}) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes fosfínicos e seus complexos de platina (II) da série [Pt(P)₂(CQ)Cl]PF₆.

Complexos	C=N	P-C	Ph-P-Ph	Pt- P	Pt-Cl
<i>cis</i> -[Pt(PPh ₃) ₂ (CQ)Cl]PF ₆ · ¹ / ₂ CH ₂ Cl ₂	1597	1095	692	550	312
[Pt(dppp)(CQ)Cl]PF ₆ · ¹ / ₄ CH ₂ Cl ₂	1597	1090	694	547	309
[Pt(dppb)(CQ)Cl]PF ₆ · ¹ / ₃ CH ₂ Cl ₂	1597	1099	694	557	309
[Pt(dppf)(CQ)Cl]PF ₆ · ¹ / ₂ CH ₂ Cl ₂	1597	1095	692	550	312

Os espectros de RMN ^1H dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ são bastante similares entre si, apresentando os sinais da cloroquina atribuídos na secção 4.1, mais os sinais do ligante bifosfínico descritas na secção 4.2. Como se observa nas figuras 4.19 e 4.20, os sinais do complexo, principalmente da cloroquina se encontram duplicadas, devido à presença de quiralidade axial na estrutura dos complexos gerada pelo giro da ligação Pt-N, num fenômeno conhecido como atropoisomerismo, que combinado com o centro assimétrico presente na cloroquina (carbono C_1), produce um par de diastereoisômeros como se mostra na figura 4.18. Todas as atribuições dos sinais foram feitas por correlação dos espectros de COSY, e os valores são mostrados nas tabelas 4.10 e 4.11. Determinando a diferença nos deslocamentos químicos dos prótons dos complexos com os prótons da CQ observa-se que os sinais que apresentam maiores diferenças nos deslocamentos correspondem aos prótons H_8 e NH com valores de 0,65 a 1,62 ppm, quando os outros sinais apresentam variações menores de 0,49 ppm, o que nos indica que a coordenação da molécula de CQ ao centro metálico esta ocorrendo através do nitrogênio quinolínico. Cabe destacar que nos espectros onde sejam facilmente diferenciáveis os dois isômeros presentes em solução, os sinais serão separados como isômero A e isômero B.

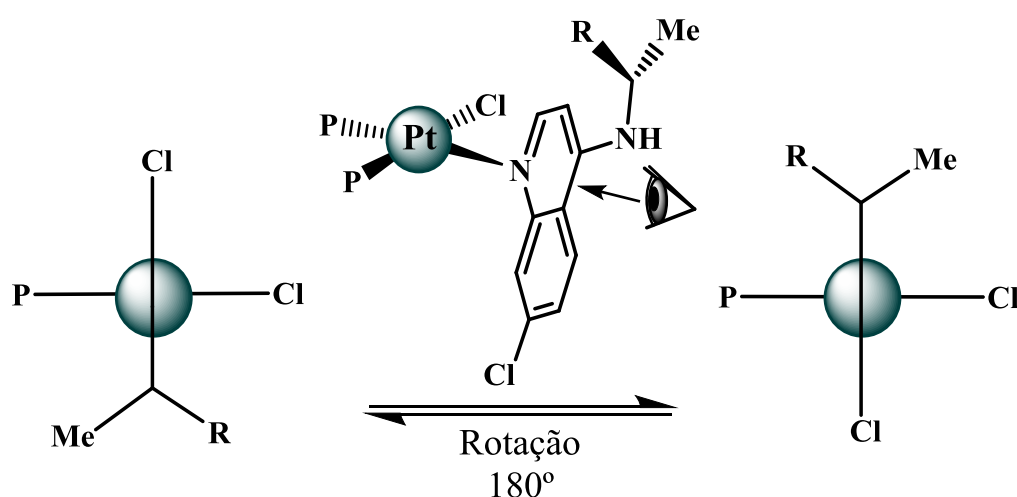


Figura 4.18: Diastereoisômeros gerados pelo giro da ligação Pt-N (Atropoisomerismo).

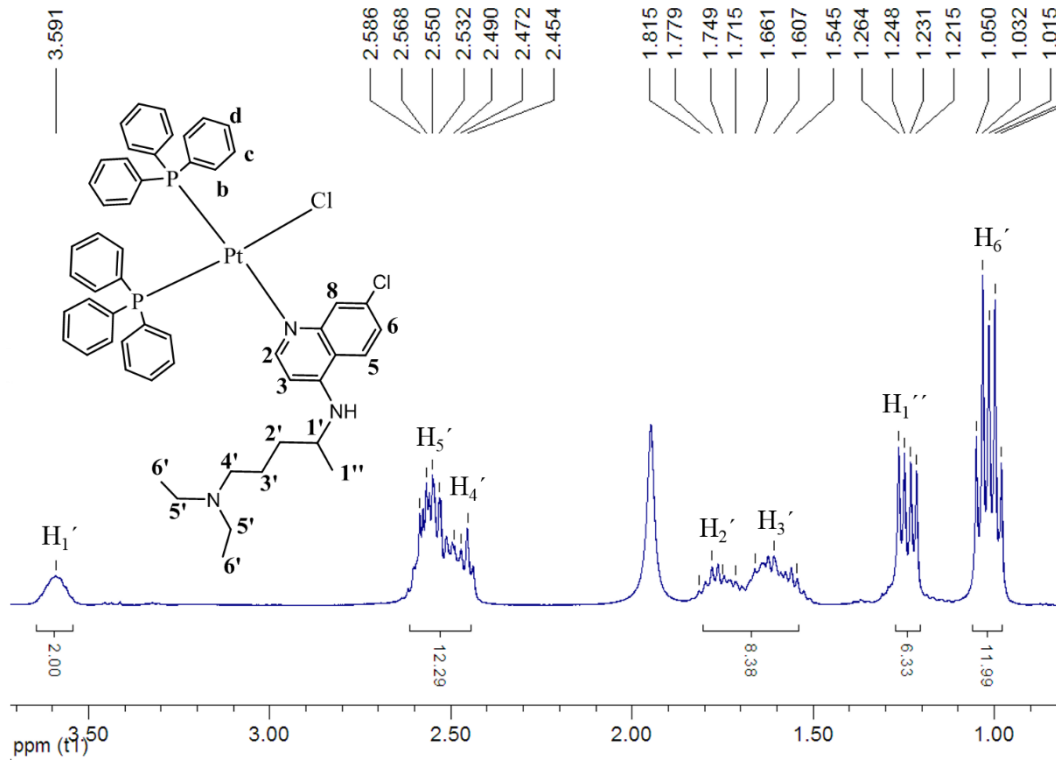


Figura 4.19: Espectro de RMN 1H do complexo $cis-[Pt(PPh_3)_2(CQ)Cl]PF_6 \cdot \frac{1}{3}CH_2Cl_2$ em $CD_2Cl_2-d_2$. (Ampliação da região alifática).

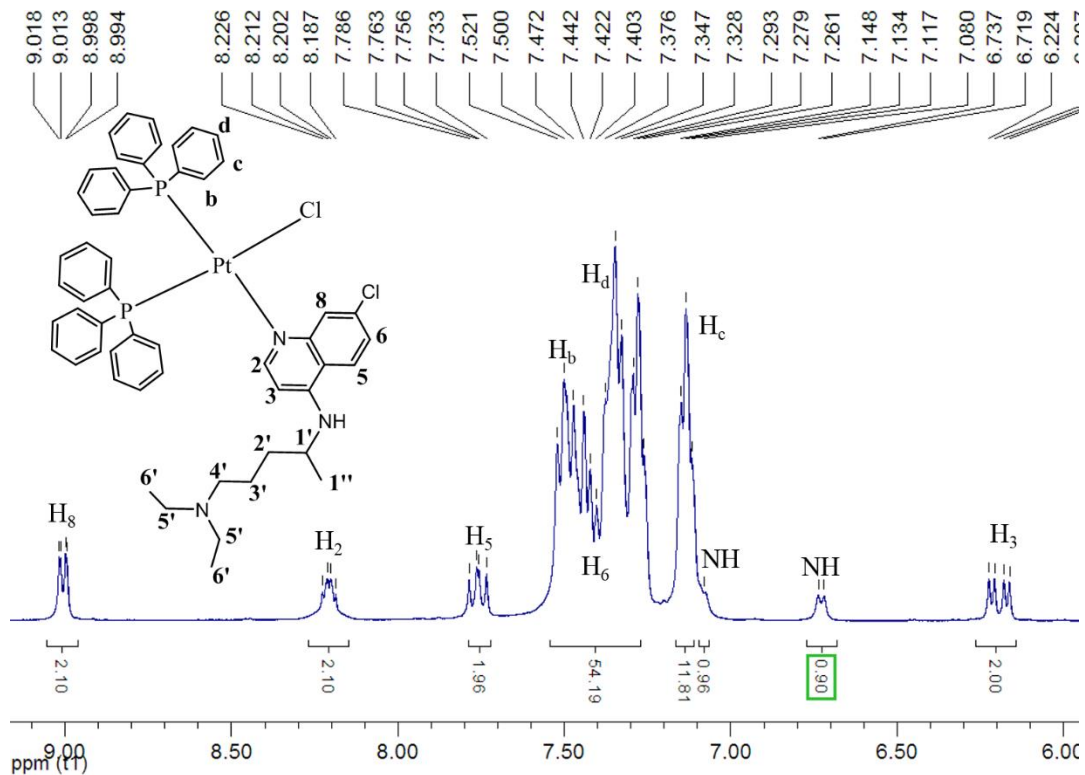


Figura 4.20: Espectro de RMN 1H do complexo $cis-[Pt(PPh_3)_2(CQ)Cl]PF_6 \cdot \frac{1}{3}CH_2Cl_2$ em $CH_2Cl_2-d_2$. (Ampliação da região aromática).

Os espectros RMN HMBC ^1H - ^{15}N dos complexos, mostrando o complexo 5 como exemplo (Figura 4.21), permitiu identificar os três átomos de nitrogênio presentes no ligante cloroquina, e determinando a diferença de deslocamento químico destes, quando comparado com o ligante livre, observou-se que o sinal que apresentam maior diferença no deslocamento é o nitrogênio quinolínico (N_1) com valores superiores a 7,8 ppm, quando os outros dois nitrogênios (N_2 e N_3) apresentarem variações menores de 1,7 ppm, o que nos confirma a coordenação da molécula de CQ através do nitrogênio quinolínico ao centro metálico de platina (II).

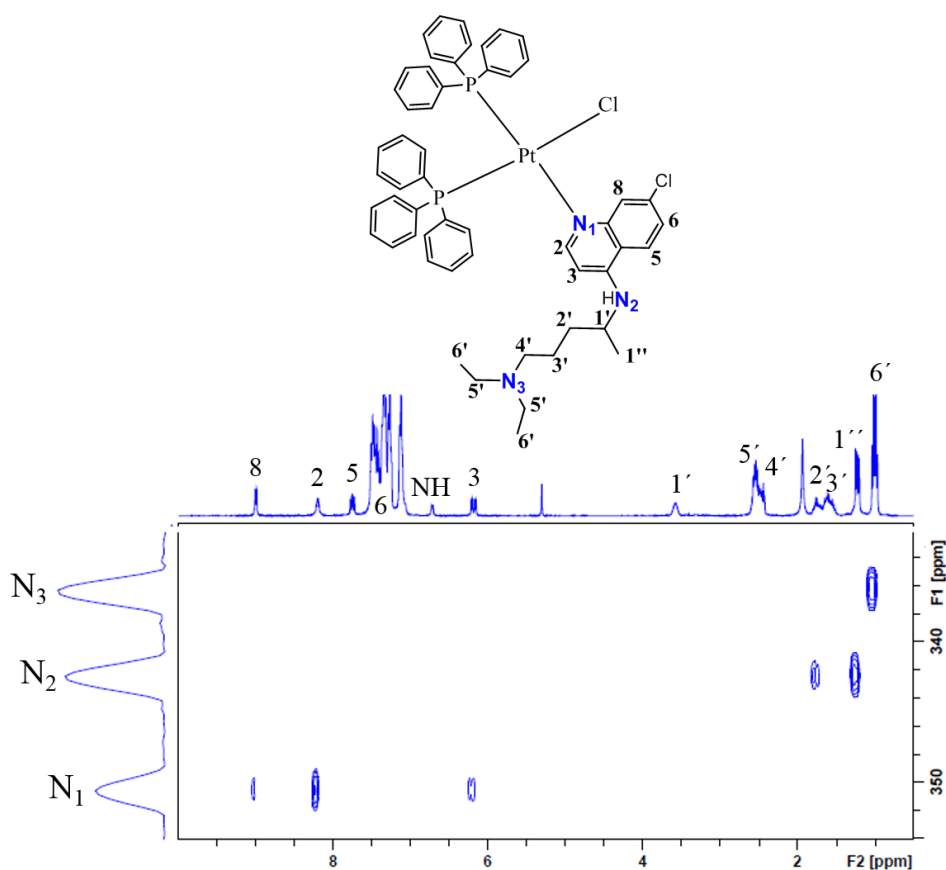


Figura 4.21: Espectro de RMN HMBC ^1H - ^{15}N do complexo *cis*- $[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ são similares, pelo que foi usado o espectro do complexo 5 (Figura 4.22) para realizar a discussão. Observam-se dois dubletos

correspondentes aos átomos de fósforo presentes nos ligantes fosfínicos, os quais apresentam entorno químico diferente, já que tem um átomo de fósforo (P_a) em posição *trans* ao átomo de cloro e outro átomo de fósforo (P_b), em posição *trans* ao átomo de nitrogênio quinolínico da cloroquina. Observa-se também o aparecimento de dois sinais de baixa intensidade a ambos os lados de cada sinal dos átomos de fósforo antes mencionados, devido aos acoplamentos dos núcleos de fósforo e platina descritos na secção 4.2. Cabe destacar que muitos dos sinais estão duplicados pela presença dos dois diastereoisômeros mencionados anteriormente gerando o mesmo efeito apresentado nos outros experimentos de ressonância.

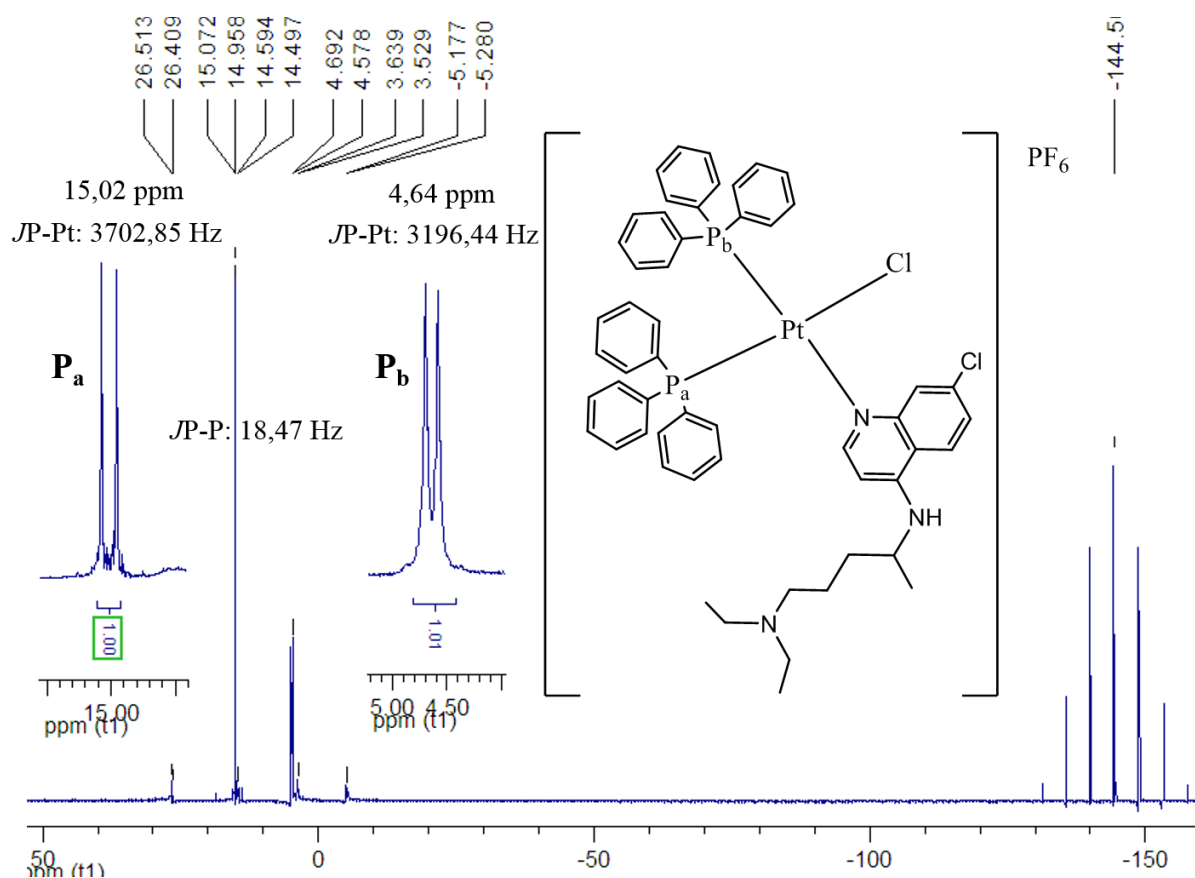


Figura 4.22: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{PPh}_3)_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \frac{1}{3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Os espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 5-8 (Figura 4.23) apresentam um duplo dubleto, gerados pelo acoplamento dos dois átomos de fósforos (P_a e P_b) químicamente diferentes com o centro metálico de platina. Destacando que baseado nos experimentos de RMN os núcleos de nitrogênio e platina não foram modificados pela presença dos diastereoisômeros presentes nos complexos.

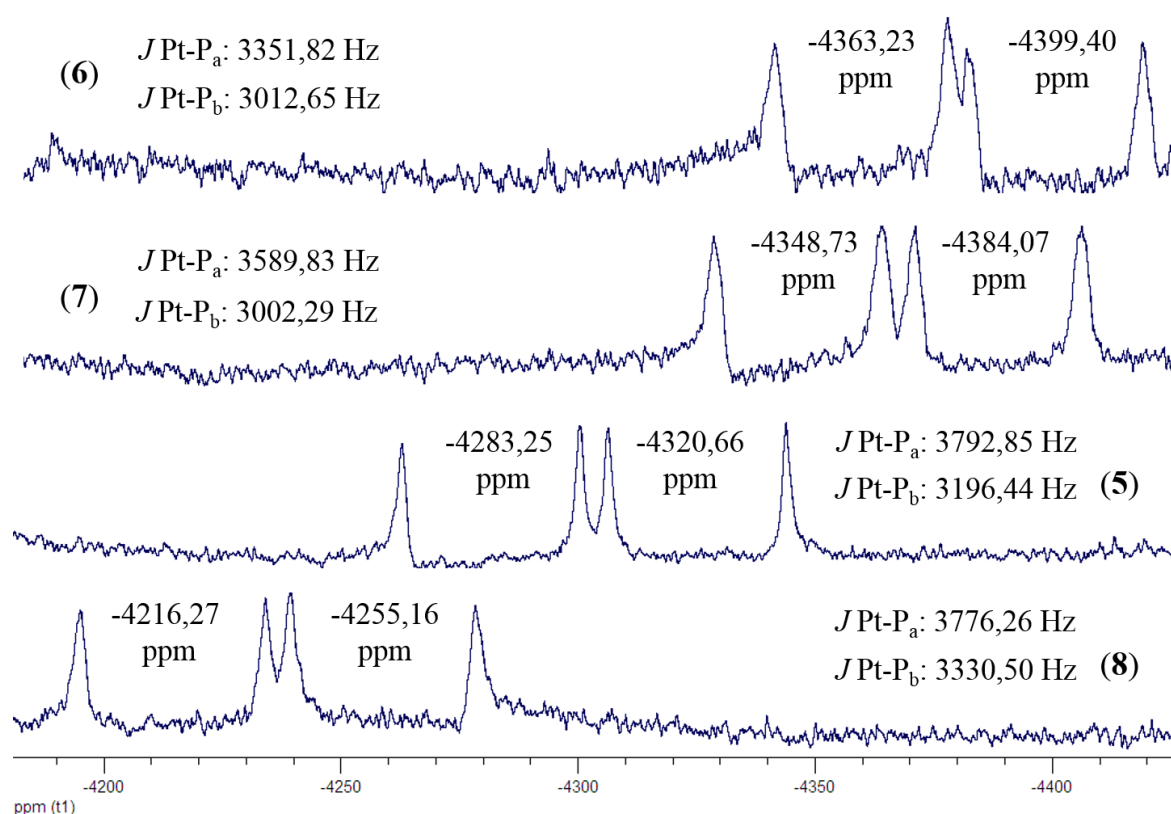


Figura 4.23: Espectros de RMN $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P}-\text{P})(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2\text{-d}_2$.

Uma análise dos experimentos de RMN dos átomos envolvidos na esfera de coordenação da Pt (II), mostrou que após a coordenação da cloroquina, a densidade eletrônica sob o centro metálico diminuiu, assim como sob o átomo de fósforo em posição *trans* ao átomo de cloro (P_a), ao mesmo tempo que aumenta sob o átomo de fósforo P_b (*trans* ao nitrogênio quinolínico) e o átomo N_1 da cloroquina. Os ligandos fosfínicos e quinolínicos se ligam ao centro metálico através de uma combinação de caráter σ -donor (Ligando \rightarrow Metal) e

π -acceptor (Metal \leftarrow Ligando). Quando o fósforo Pb e a cloroquina estão mutuamente em posição trans um ao outro, eles competem pela densidade eletrônica residente no orbital d do metal, predominando o caracter π -acceptor dos ligantes e incrementando a densidade eletrônica sob os ligantes, reduzindo sua vulnerabilidade ao campo magnético nos experimentos de RMN. A deficiência de densidade eletrônica sob o centro metálico de platina é parcialmente compensada pelo outro átomo de fósforo (P_a) presente no complexo e o ligante cloreto (σ e π -donor). Todos os dados de RMN dos complexos 5-8 se mostram nas tabelas 4.10 e 4.11.

Foram realizados estudos de voltametria cíclica em acetonitrila para avaliar a estabilidade eletroquímica dos complexos, na figura 4.24 se mostra os voltamogramas dos complexos 5-8, onde se observa um processo entre 1860-1943 mV (I) correspondente a oxidação da Pt^{II} \rightarrow Pt^{III}, todos os complexos apresentam outro processo irreversível entre 870-900 mV (II), correspondente a oxidação da cadeia amino-alquílica da cloroquina. O complexo 8 apresenta um processo reversível com $E^{1/2} = 1048$ mV (III/IV) referente ao ferroceno (Fe^{II} \rightarrow Fe^{III}) presente no ligante fosfínico.

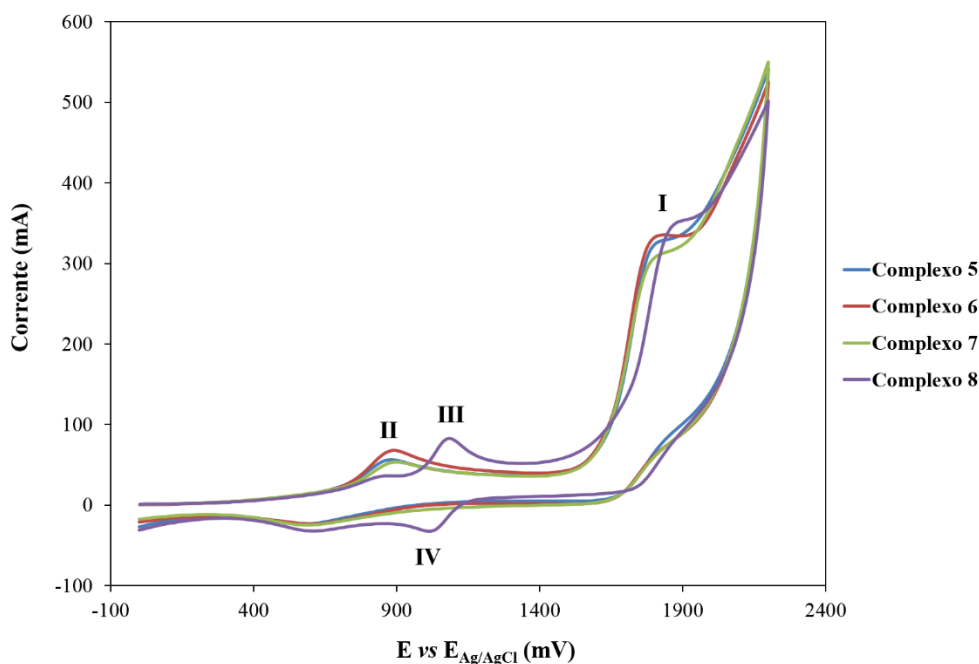


Figura 4.24. Voltamograma cíclico dos complexos 5-8 em acetonitrila.

Tabela 4.10: Deslocamentos químicos dos hidrogênios, nitrogênios, fósforos e platina dos complexos 5 e 6 em CD₂Cl₂-d₂.

Atribuição	<i>cis</i> -[Pt(PPh ₃) ₂ (CQ)Cl]PF ₆ . ¹ / ₃ CH ₂ Cl ₂				[Pt(dppp)(CQ)Cl]PF ₆ . ¹ / ₄ CH ₂ Cl ₂			
	δ (ppm)		Δδ (ppm)		δ (ppm)		Δδ (ppm)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
H ₆ '	1,00	1,03	0,03	0,06	0,97	1,00	0	0,03
H ₁ ''	1,22	1,26	-0,07	-0,03	1,23		-0,06	
H ₃ '	1,60		0,02		1,55		-0,03	
H ₂ '	1,75		0,03		1,71		-0,01	
H ₄ '	2,48		0,07		2,40		-0,01	
H ₅ '	2,55		0,07		2,52		0,04	
H ₁ '	3,59		-0,10		3,57		-0,12	
H ₃	6,17	6,22	-0,28	-0,23	6,13	6,18	-0,32	-0,27
NH	6,73	7,08	1,27	1,62	6,59	6,85	1,13	1,39
H ₆	7,40		0,07		7,27		-0,06	
H ₅	7,75	7,78	0	0,03	7,64		-0,11	
H ₂	8,20	8,22	-0,26	-0,24	7,97;7,98	7,99;8,00	-0,49	-0,47
H ₈	9,00	9,02	1,11	1,13	8,55	8,51	0,66	0,62
H _d	7,35		-0,01		7,11;7,41		-0,38;-0,08	
H _c	7,13	7,28	-0,07	0,08	6,96;7,20;7,58		-0,49;-0,25;0,13	
H _b	7,50		0,03		7,64;7,85		-0,11;0,10	
H _e	-	-	-	-	2,60;2,78		0,08;0,26	
H _f	-	-	-	-	2,09		0,08	
	δ (ppm)	Δδ	J (Hz)	J (Hz)	δ (ppm)	Δδ	J (Hz)	J (Hz)
N ₁	350,44	8,21	-	-	350,46	8,19	-	-
N ₂	342,07	1,47	-	-	342,20	1,60	-	-
N ₃	336,18	0,19	-	-	336,07	0,08	-	-
P _a	15,02	1,30		3792,85 ^b	-5,53	2,08		3342,59 ^b
P _b	4,65	-9,07	18,47 ^a	3196,44 ^b	-14,56: -14,46	-6,75: -6,85	28,10 ^a	2971,06 ^b
Pt	-4283,25 -4320,66	130,77 93,36	3707,86 ^c	3204,17 ^c	-4364,23 -4399,40	- -	3351,82 ^c	3012,65 ^c

^aJ_{P-P} ^bJ_{P-Pt} ^cJ_{Pt-P}

Tabela 4.11: Deslocamentos químicos dos hidrogênios, nitrogênios, fósforos e platina dos complexos 7 e 8 em CD₂Cl₂-d₂.

Atribuição	[Pt(dppb)(CQ)Cl]PF ₆ . ¹ / ₂ CH ₂ Cl ₂				[Pt(dppf)(CQ)Cl]PF ₆ . ¹ / ₂ CH ₂ Cl ₂			
	δ (ppm)		Δδ (ppm)		δ (ppm)		Δδ (ppm)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
H ₆ '	0,97	1,02	0	0,05	1,02	1,06	0,05	0,09
H ₁ ''	1,24	1,25	-0,05	-0,04	1,23	1,24	-0,06	-0,05
H ₃ '	1,63		0,05		1,64		0,05	
H ₂ '	1,73		0,01		1,79		0,07	
H ₄ '	2,42		0,01		2,52		0,11	
H ₅ '	2,56		0,08		2,61		0,13	
H ₁ '	3,60		-0,09		3,58		-0,11	
H ₃	6,21	6,26	-0,24	-0,19	6,13	6,17	-0,32	-0,28
NH	6,57	6,93	1,11	1,47	6,65	6,97	1,19	1,51
H ₆	7,31		-0,02		7,35		0,02	
H ₅	7,33		-0,42		7,79	7,74	0,04	-0,01
H ₂	8,09	8,11	-0,20	-0,22	8,02		-0,44	
H ₈	8,54	8,57	0,65	0,68	8,82	8,83	0,96	0,94
H _d	7,37;7,67		-0,20;0,10		7,27		-0,24	
H _c	7,07;7,16;7,53;7,61		-0,44;-0,35;0,02;0,1		7,04;7,61;7,67		-0,38;0,19;0,25	
H _b	7,30;7,75;7,90		-0,46;-0,01;0,14		7,60;7,69;8,01		-0,26;-0,17;0,15	
H _e	2,39;2,91		-0,22;0,30		-		-	
H _f	1,53;2,47		-0,30;0,64		4,33;4,88;5,06		-0,06;0,49;0,67	
H _g	-	-	-	-	3,63;3,67;4,73; 4,79		-0,57;-0,53;0,53; 0,59	
	δ (ppm)	Δδ	J (Hz)	J (Hz)	δ (ppm)	Δδ	J (Hz)	J (Hz)
N ₁	350,84	7,81	-	-	350,11	8,54	-	-
N ₂	342,27	1,67	-	-	342,20	1,60	-	-
N ₃	336,18	0,19	-	-	336,14	0,15	-	-
P _a	18,88; 19,02	9,07; 9,21	23,11:	3589,83 ^b	15,28	2,65	3768,53	11,83
P _b	-9,20; -9,50	-19,01; -19,31	22,68 ^a	3002,29 ^b	4,91	-7,72	3330,71	-449,65
Pt	-4348,73; -4384,07	-	3644,15 ^c	3026,69 ^c	-4231,90 -4239,43	131,40 123,87	7134,21	-432,53

^aJ_{P-P} ^bJ_{P-Pt} ^cJ_{Pt-P}

Os espectros de espectrometria de massa de todos os complexos desta série apresentam uma fragmentação similar como se observa no espectro do complexo 5 (Figura 4.25), onde se observa o íon molecular com relação m/z (massa/carga) de 755,15 que corresponde ao fragmento do complexo com a perda da molécula de cloroquina e o contraíon PF_6 , o seguinte sinal menos intensa, com relação m/z de 320,20, corresponde ao fragmento do ligante cloroquina mais um próton. Finalmente se observam dois sinais de baixa intensidade, com relação m/z de 1074,35 e 1220,34, correspondentes aos fragmentos do complexo com a perda do contraíon PF_6 , e a molécula completa do complexo mais um próton, respectivamente. Os dados obtidos se mostram na tabela 4.12.

Tabela 4.12: Fragmentação dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6$ em acetona.

Complexo	$\text{CQ} + \text{H}^+$	$\text{C} - \text{CQ} - \text{PF}_6$	$\text{C} - \text{PF}_6$	$\text{C} + \text{H}^+$
5	320,20	755,15	1074,35	1220,34
6	320,21	643,14	963,36	1108,36
7	320,21	656,14	976,36	1122,35
8	320,20	784,04	1108,27	1250,14

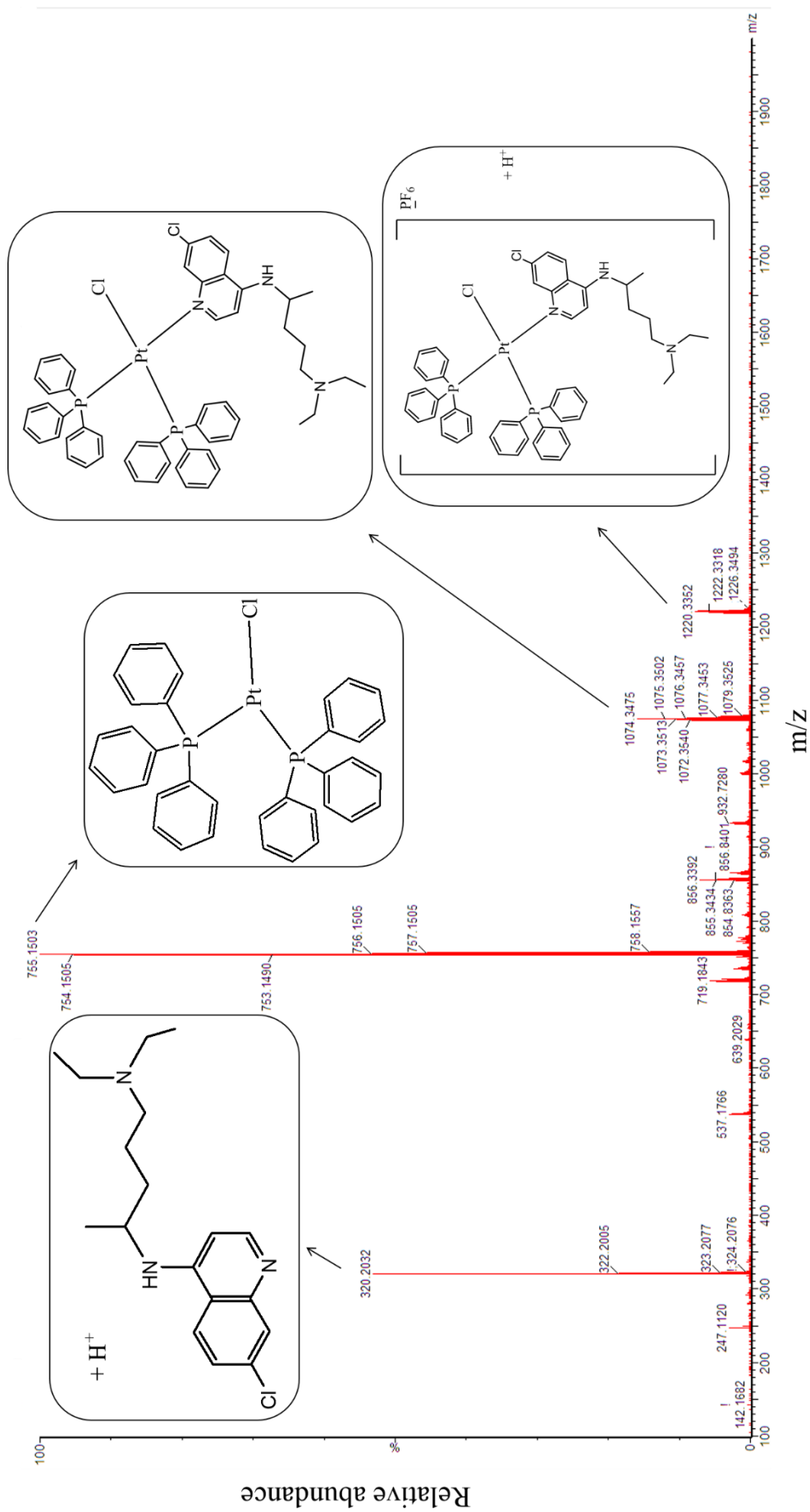


Figura 4.25: Espectro de massas do complexo $cis\text{-[Pt(PPh}_3\text{)}_2\text{(CQ)Cl]PF}_6\text{.}^{1/3}\text{CH}_2\text{Cl}_2$ em acetona.

Em base à análise dos resultados obtidos propõem-se as estruturas dos complexos desta série mostradas na figura 4.26, nas quais uma molécula de bifosfina (ou dois de trisfenilfosfina no caso do complexo 5), um cloreto e uma molécula de CQ coordenada pelo nitrogênio da amina secundária ao centro metálico de platina, formando desta maneira um composto catiônico com geometria quadrado planar com 16 elétrons características dos complexos de Pt (II), os quais contem uma molécula de PF_6^- como contraíon.

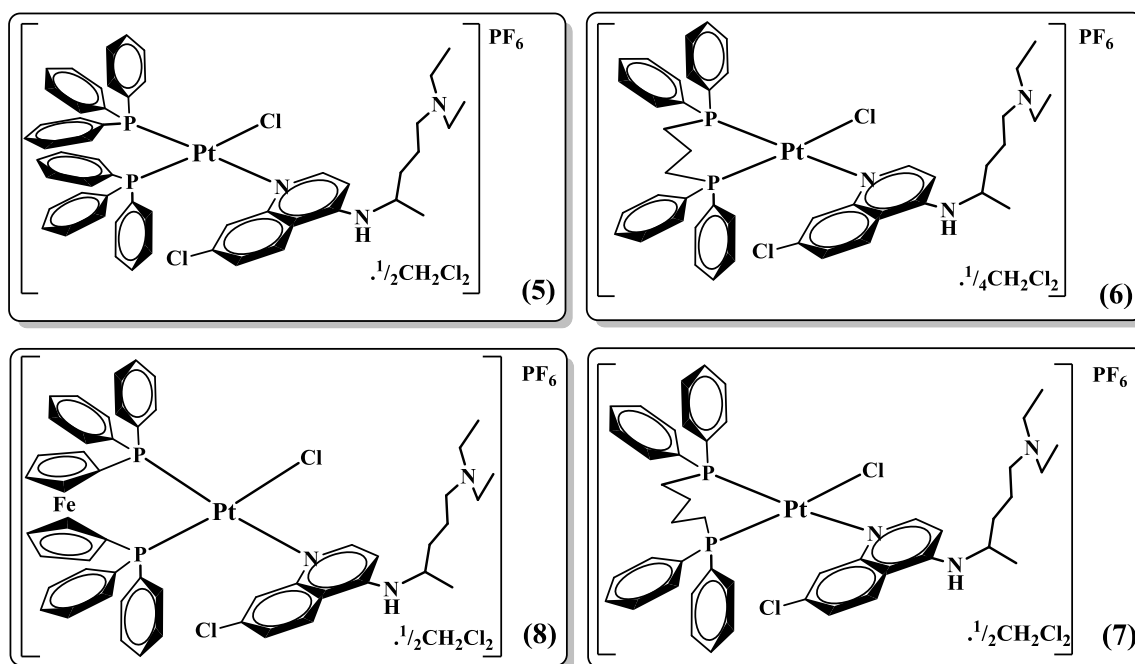


Figura 4.26: Estruturas propostas para os complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$

4.4 – Estudo da interação dos complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6 \cdot \text{XCH}_2\text{Cl}_2$ com o DNA.

4.4.1 Titulações espectroscópicas.

Os espectros electrónicos dos complexos Metal-CQ avaliados neste trabalho apresentam dois máximos de absorção entre 330 e 360 nm, característicos das energias requeridas para a transição eletrónica $\pi - \pi^*$, correspondentes ao anel quinolínico da CQ. Um efeito hipocrómico na intensidade da absorção é observado à medida que a concentração do DNA é incrementada mediante a adição das alíquotas, como se observa na figura 4.27 e tabela 4.13. Esta diminuição na intensidade é devida as variações na energia de transição eletrônica assim como a alteração na intensidade da absorção devido às interações entre os complexos e o DNA. Estas variações representam uma clara evidencia de interações reversíveis dos complexos metálicos com o CT-DNA. A magnitude da interação dos complexos metálicos (5-8) com o CT-DNA foi calculada a partir de do modelo teórico Scatchard⁵¹, usado comumente na literatura para sistemas reversíveis, o qual permite comparar os resultados com os obtidos por outros grupos de pesquisa na área para complexos metálicos similares. Os resultados obtidos são listados na tabela 4.13.

Tabela 4.13: Resumo dos dados obtidos a partir das titulações espectroscópicas para os complexos metálicos com o DNA.

Composto	% Hipocromismo	λ (nm)	Scatchard	
			K_{b1} ($\times 10^6 \text{ M}^{-1}$)	K_{b2} ($\times 10^5 \text{ M}^{-1}$)
5	$41,33 \pm 4,18$	350	$2,28 \pm 0,49$	$1,76 \pm 0,32$
6	$18,54 \pm 0,78$	348	$3,10 \pm 0,66$	$1,32 \pm 0,22$
7	$13,94 \pm 1,37$	348	$2,53 \pm 0,12$	$1,74 \pm 0,11$
8	$34,37 \pm 1,32$	350	$1,74 \pm 0,34$	$1,53 \pm 0,51$
CQ	$8,43 \pm 1,11$	346	$1,44 \pm 0,33$	$1,28 \pm 0,10$
CQDF	$15,18 \pm 3,74$	346	$1,52 \pm 0,35$	$1,47 \pm 0,56$

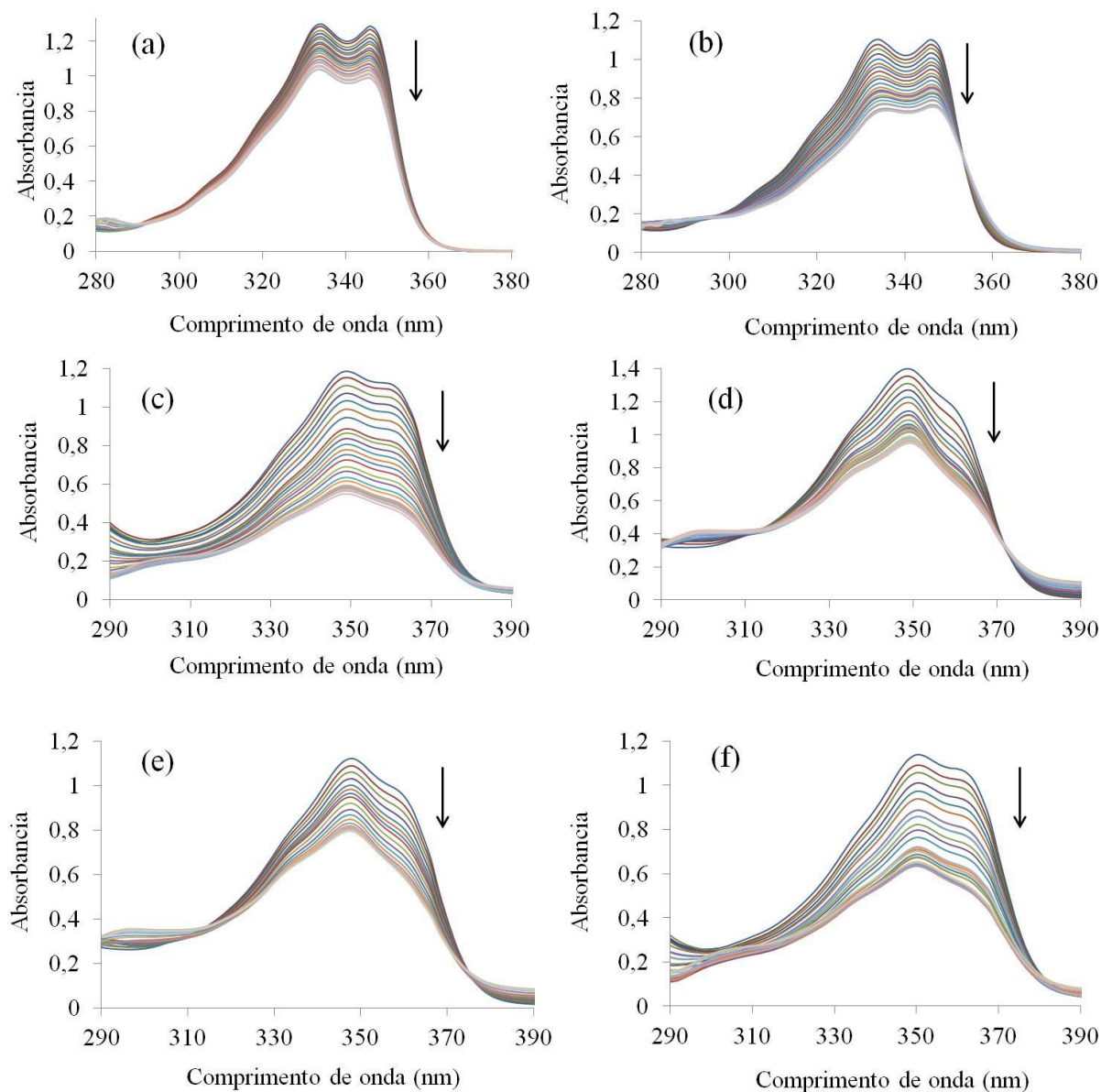


Figura 4.27: Títulações espectroscópicas dos complexos metálicos com o ADN. (a) CQ, (b) CQDF, (c) *cis*-[Pt(PPh₃)₂(CQ)Cl]PF₆.^{1/3}CH₂Cl₂, (d) [Pt(dppp)(CQ)Cl]PF₆.^{1/4}CH₂Cl₂, (e) [Pt(dppb)(CQ)Cl]PF₆.^{1/2}CH₂Cl₂, (f) [Pt(dppf)(CQ)Cl]PF₆.^{1/2}CH₂Cl₂. A concentração dos complexos na cubeta foi de 65-84 mM, e a concentração do DNA se incrementou de 0-1,0 mM (0-400 μL).

Os valores para as constantes de interação obtidas pelo método de “Scatchard” se encontram na ordem de 10^6 M^{-1} para K_{b1} e na ordem de 10^5 M^{-1} para K_{b2} , estes resultados são similares aos reportados para outros complexos metálicos com estruturas similares como [Pt(CQDF)₂X₂]³⁷ (onde X= I e Cl) para os quais reportaram as siguientes constantes $K_{b1} 7,10 - 5,30 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ e $K_{b2} 1,14$

- $3,68 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ respectivamente, esta similaridade nos valores das constantes pode ser atribuída a que os complexos apresentam ligandos e geometrias similares como se observa na fFigura 1.. Destacando que os valores das constantes obtidos são similares ou superiores aos obtidos para a CQDF e CQ base livre. Em base a o discutido se postuló uma interação reversível entre os complexos metálicos (5-8) e o CT-DNA, que é regida pela planaridade da quinolina do ligante CQ, a qual pode intercalar dentro dos pares de bases do ADN.

4.4.2 Medidas de viscosidade.

A viscosidade é uma técnica muito sensível a mudanças na dupla hélice do DNA, e é considerada como um dos métodos mais inambiguos para determinar modos de interação intercalativos ou não-intercalativos entre complexos metálicos e o DNA em solução⁵². O efeito do incremento da concentração dos complexos 5-8 sob a viscosidade relativa do CT-DNA se mostra na figura 4.28, junto com outros fármacos (CQDF e cisplatina) para comparação. A viscosidade relativa do CT-DNA apresentou um incremento na presença da CQ e CQDF, devido ao alongamento da sua dupla hélice, como resultado da intercalação destas moléculas dentro dos pares de bases nitrogenadas do DNA. Este comportamento já foi relatado para intercaladores clássicos, como o brometo de etídeo⁵³. Os resultados das medidas de viscosidade dos complexos metálicos 5-8 mostraram uma marcante diminuição na viscosidade relativa do CT-DNA (principalmente 6 e 7) com o aumento na relação [complexo]/[DNA], modificando o comportamento apresentado pela CQ livre. Esta diminuição pode ser atribuída a uma forte interação entre o centro metálico de platina e o CT-DNA, diminuindo o volume da biomolécula, comportamento similar ao apresentado pela cisplatina, a qual é conhecida por exhibir fortes interações com o DNA. Os resultados sugerem que os complexos 5-8 são não-intercaladores, e que seu comportamento é governado

principalmente pelo centro metálico de platina e não pela cloroquina coordenada.

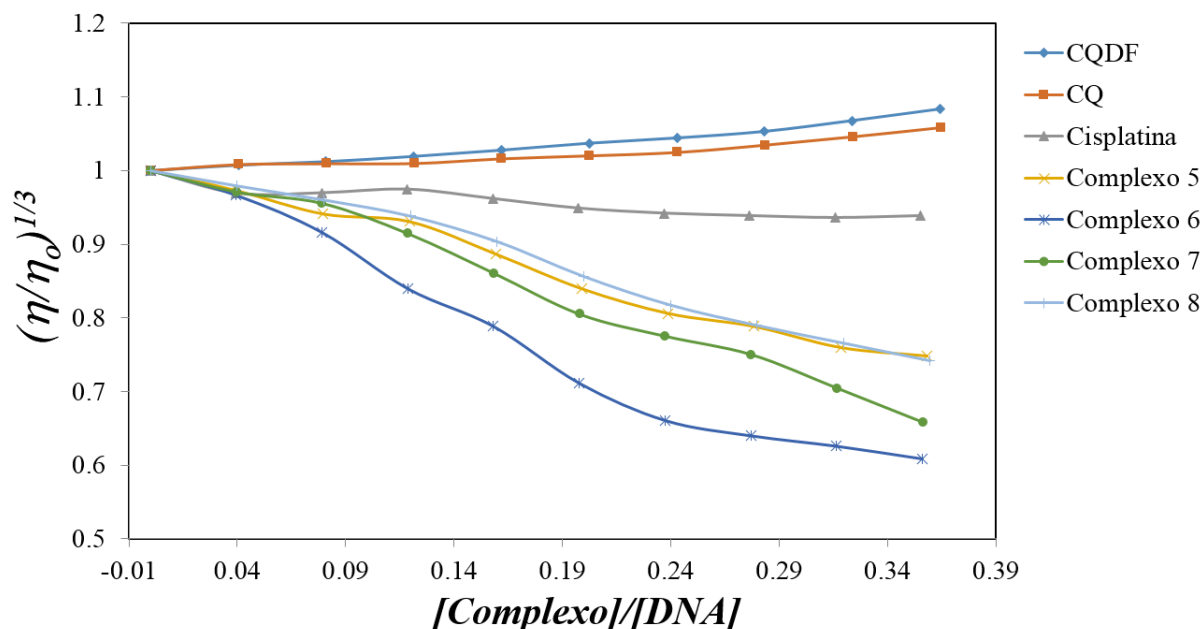


Figura 4.28: Efeito do incremento da concentração dos complexos de platina 5-8 e outros fármacos sob a viscosidade relativa do CT-DNA a 25°C.

4.5 - Testes Biológicos

4.5.1 - Ensaio de Citotoxicidade

A citotoxicidade dos compostos de platina (II) com cloroquina pode ser comparados com o ligante livre mediante os valores médios de IC_{50} , isto é, concentração de composto que inibe o crescimento celular em 50% (densidade óptica após ensaio com MTT) de células tratadas em relação às células não tratadas (controles). Estes ensaios foram realizados nas linhagens MCF-7 (ATCC HTB-22) e MDA-MB-231 (ATCC HTB-26, tumor de mama humano), DU-145 (ATCC HTB-81, tumor de próstata humano), A549 (ATCC CCL-185, adenocarcinoma de pulmão humano), V79-4 (ATCC CCL-93, fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (ATCC CCL-1, células não tumorais de camundongo).

As células foram expostas para cada composto em um tempo de incubação de 48 horas. Na tabela 4.14 se mostram os dados de viabilidade celular do ligante livre e dos complexos, obtidos a partir de três experimentos independentes feitos em triplicata. As concentrações foram da ordem de 200; 100; 50; 12,5; 3,125; 0,2 e 0,04 μM e nas mesmas condições foi utilizado, como referencia padrão a cisplatina, medicamento aplicado no uso clínico.

Tabela 4.14: Viabilidade celular [IC_{50} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)] dos complexos de tipo $[\text{Pt}(\text{P})_2(\text{CQ})\text{Cl}]\text{PF}_6.X\text{CH}_2\text{Cl}_2$ nas linhagens MCF-7, MDA-MB-231 (tumor de mama humano), DU-145 (tumor de próstata humano), A549 (adenocarcinoma de pulmão humano), V79-4 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) e L929 (células não tumorais de camundongo), após 48 h de incubação.

	MDA-MB-231	MCF-7	A549	DU-145	V79-4	L929
5	5,51 \pm 0,30	9,88 \pm 0,63	6,81 \pm 1,05	5,50 \pm 0,83	1,26 \pm 0,11	1,90 \pm 0,44
6	28,04 \pm 3,48	7,52 \pm 0,14	5,10 \pm 0,08	49,61 \pm 0,62	14,43 \pm 1,65	21,09 \pm 0,75
7	21,46 \pm 3,50	19,16 \pm 1,10	8,13 \pm 0,13	17,13 \pm 2,92	12,18 \pm 1,57	16,83 \pm 2,43
8	6,37 \pm 0,23	9,27 \pm 3,14	9,37 \pm 0,56	29,36 \pm 1,57	25,42 \pm 2,41	5,02 \pm 0,82
CQ	> 200	82,01 \pm 11,62	56,53 \pm 9,18	79,50 \pm 7,50	25,85 \pm 2,95	25,94 \pm 4,46
CDDP	2,44 \pm 0,20	13,98 \pm 2,02	14,42 \pm 1,45	2,33 \pm 0,40	21,60 \pm 1,28	16,53 \pm 2,38

Observa-se que os valores de IC_{50} dos complexos 5-8 são bem menores que os apresentados pelo ligante livre. O complexo 5 foi o que apresentou os melhores valores de IC_{50} , indicando seu alto potencial como um fármaco antitumoral, porém o complexo 6 baixo potencial antitumoral contra DU-145, este apresentou seletividade as linhagens MCF-7 e A549.

CAPÍTULO V
CONCLUSÕES

5 – CONCLUSÕES

1.- Neste trabalho foram sintetizados quatro complexos do tipo $[\text{Pt}(\text{P-P})\text{Cl}_2]$, onde P-P= trifenilfosfina (PPh_3), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfino)butano (dppb), bis(difenilfosfino)ferroceno (dppf), com rendimentos acima de 85%, otimizando as síntese já reportadas. Também foram sintetizados quatro complexos contendo cloroquina (CQ) na esfera de coordenação, os quais foram caracterizados por espectroscopia de RMN ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, $^{15}\text{N}\{^1\text{H}\}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{195}\text{Pt}\{^1\text{H}\}$, UV-Vis, IV, condutividade, análise elementar e espectrometria de massas (no caso dos complexos com CQ).

2.- Os complexos com CQ apresentarem atropisomerismo pela rotação da ligação Pt-N, que junto ao centro assimétrico presente na cloroquina ($\text{C1}'$), originaram dois diastereoisômeros o que foi evidenciado nos experimentos de RMN de hidrogênio, carbono e fósforo.

3.- Foram realizados estudos de interação dos complexos de cloroquina com o CT-DNA mediante titulações espectroscópicas e medidas de viscosidade, obtendo que os complexos sintetizados apresentarem constantes de interação similares e superiores as apresentadas pela CQ e CQDF, e que todos os complexos diminuíram a viscosidade relativa do DNA, comportamento apresentado pela cisplatina.

4.- Nos ensaios de citotoxicidade todos os complexos com cloroquina apresentarem atividade muito melhor que o ligante livre, destacando o complexo 5, o qual apresentou melhores valores de IC_{50} , tornando-o um promissório agente quimioterápico, e o complexo 6 o qual apresentou seletividade pelas linhagens MCF-7 e A549.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ BERTINI, I.; GRAY, H.; LIPPARD, S. "Bioinorganic Chemistry". Sausalito. University Science Books Valentine JS (eds). USA. 1994, pp 505-583.
- ² ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. "Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents". *Nature*, 1969, 222, 385.
- ³ SADLER, P.; GUO, Z. "Metals in Medicine". *Angew. Chem. Int. Ed.* 38. UK. 1999, 1512-1531.
- ⁴ WEINBERG, R. "The Biology of Cancer". Garland Science Taylor & Francis Group. USA. 2007. pp 25-57
- ⁵ VALERA, A. "El cáncer (Epidemiología, etiología, diagnóstico y prevención" Edic. Harcourt 2002 pp 15-22.
- ⁶ JARAMILLO, J. "El cancer, Fundamentos de oncología". Edit. Universidad de Costa Rica. 1991. pp 97-137.
- ⁷ SADLER, P.; GUO, Z." Medicinal Inorganic Chemistry" *Adv. Inorg. Chem.*, 49, 183, 2000.
- ⁸ NATILE, G. "Current status of trans-platinum compounds in cancer therapy". *Chem. Rev.*, 216, 383, 2001.
- ⁹ HARRAP, K.R. "Initiatives with platinum and quinazoline-based antitumor molecules. *Cancer Res.* 55, 2761, 1995.
- ¹⁰ YAMAMOTO, H.; WATANABE, K.; NAGATA, M.; YANO, Y.; AKAI, T.; HONDA, I.; WATANABE, S.; SODA, H.; MATSUZAKI, O. "Transformation of fibrolamellar carcinoma to common hepatocellular carcinoma in the recurrent lesions of the rectum and the residual liver: a case report". *Jpn J Clin Oncol* 1999 29(9). 445.

-
- ¹¹ WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. "Current status of platinum-based antitumor drugs". *Chem. Rev.*, 5, 2451, 1999.
- ¹² GIETEMA, J.A. "Phase II and pharmacokinetic study of lobaplatin in patients with relapsed ovarian cancer" *Br. J. Cancer.*, 71, 1302, 1995.
- ¹³ ZAKOVSKA, A.; NOVAKOVA, O.; BIERBACH, U.; FARRELL, N. "DNA interactions of antitumor trans-[PtCl₂(NH₃)(quinoline)]". *Eur. J. Biochem.*, 254, 547, 1998.
- ¹⁴ RAYNAU, F. "cis-amminedichloro(2-methylpyridine) platinum(II) (AMD473), a novel sterically hindered platinum complex: in vivo activity, toxicology, and pharmacokinetics in mice". *Cancer Res.*, 3, 2063, 1997.
- ¹⁵ COLUCCIA, M.; NATILE, G. "*Trans*-Platinum Complexes in Cancer Therapy". *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2007, 7, 111.
- ¹⁶ HOESCHELE, J. D.; BUTLER, T. A.; ROBERTS, J. A. "In Inorganic Chemistry in Biology and Medicine". Martel, A. E., Ed.; ACS Symposium Series 181; American Chemical Society: Washington, DC, 1980.
- ¹⁷ FARRELL, N. "In Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy". Howell, S. B., Ed.; Plenum Press: New York, 1991; p 81.
- ¹⁸ GIANDOMENICO, C. M.; ABRAMS, M. J.; MURRER, B. A.; VOLLANO, J. F.; RHEINHEIMER, M. I.; WYER, S. B.; BOSSARD, G. E.; HIGGINS, J. D. "Carboxylation of Kinetically Inert Platinum(IV) Hydroxy Complexes. An Entry into Orally Active Platinum(IV) Antitumor Agents". *Inorg. Chem.* 35, 1015, 1995.
- ¹⁹ MONTERO, E.; DIAZ, S.; ALONSO, C.; NAVARRO-RANNINGER, C. "Preparation and characterization of novel trans-

[PtCl₂(amine)(isopropylamine)] compounds: cytotoxic activity and apoptosis induction in ras-transformed cells “. *J. Med. Chem.*, 42, 4264, 1999.

²⁰ CINI, R.; CAPUTO, P. A.; INTINI, F. P.; NATILE, G. “Mechanistic and Stereochemical Investigation of Imino Ethers Formed by Alcoholysis of Coordinated Nitriles: X-ray Crystal Structures of cis- and trans-Bis(1-imino-1-methoxyethane)dichloroplatinum(II)”. *Inorg. Chem.*, 34, 1130, 1995.

²¹ FARREL, N.; QU, Y.; HACKER, M. P. “Cytotoxicity and antitumor activity of bis(platinum) complexes. A novel class of platinum complexes active in cell lines resistant to both cisplatin and 1,2-diaminocyclohexane complexes”. *J. Med. Chem.*, 33, 2179, 1990.

²² BERNERS-PRICE, S.J.; SADLER, P. J. “Phosphines in medicine”. *Chemistry in Britain*. 23, 541. 1987.

²³ HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. *Inorganic Chemistry: Principles of structure and reactivity*. 4^a ed. HarperCollins College Publishers, 1993, 964p.

²⁴ BARBOSA, C. M. V.; OLIVEIRA, C. R.; BINCOLETTO, C.; CAIRES, A. C. F. “Biphosphinic palladacycle complex mediates lysosomal-membrane permeabilization and cell death in K562 leukaemia cells”. *Eur. J. Pharmacol.* 542, 37, 2006.

²⁵ BERNERS-PRICE, S.J.; SADLER, P. J. “Phosphines and metal phosphine complexes: relationship of chemistry to anticancer and other biological activity”. *Structure Bonding*. 70, 27, 1988.

²⁶ BERNERS-PRICE, S. J.; BOWEN, R. J.; GALETTIS, P.; HEALY, P.C. MCKEAGE, M. J. “Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents”. *Coord. Chem. Rev.* 185-186, 823, 1999.

-
- ²⁷ SIMON, T. M.; KUNISHIMA, D. H.; VIBERT, G. J.; LORBER, A. "Inhibitory effects of a new oral gold compound on HeLa cells". *Cancer*. 44, 1979, 44, 1965.
- ²⁸ SIMON, T. M.; KUNISHIMA, D. H.; VIBERT, G. J.; LORBER, A. "Screening trial with the coordinated gold compound auranofin using mouse lymphocyte leukemia P388". *Cancer Res.* 41, 94, 1981.
- ²⁹ MIRABELLI, C. K.; JOHNSON, R. K.; SUNG, C. M.; FAUCETTE, L.; MUIRHEAD, K.; CROOKE, S. T. "Evaluation of the in vivo antitumor activity and in vitro cytotoxic properties of auranofin, a coordinated gold compound, in murine tumor models". *Cancer Res.* 45, 32, 1985.
- ³⁰ MIRABELLI, C.K.; JOHNSON, R.K.; HILL, D.T.; FAUCETTE, L.F. "Correlation of the in vitro cytotoxic and in vivo antitumor activities of gold(I) coordination complexes". *J. Med. Chem.* 29, 218, 1986.
- ³¹ BERNERS-PRICE, S.J.; SADLER, P. J. "Gold(I) complexes with bidentate tertiary phosphine ligands: formation of annular vs. tetrahedral chelated complexes". *Inorg. Chem.* 25, 3822, 1986.
- ³² RACKHAM, O.; NICHOLS, S. J.; LEEDMAN, P. J.; BERNERS-PRICE S. J.; FILIPOVSKA, A. "A gold(I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria". *Biochem. Pharma.* 74, 992, 2007.
- ³³ KARLE, J.; KARLE, I. "Redetermination of the Crystal and Molecular Structure of the Antimalarial Chloroquine Bis(dihydrogenphosphate) Dihydrate", *Acta Crystallogr*, 44, 1605. 1988
- ³⁴ NAVARRO, M; GOITIA, H; SILVA, P; VELÁSQUEZ, M; OJEDA, L; FRAILE, G. "Synthesis and characterization of new copper- and zinc-

chloroquine complexes and their activities on respiratory burst of polymorphonuclear leukocytes”, *J. Inorg. Biochem*, 99, 1630. 2005.

³⁵ SÁNCHEZ-DELGADO, R; NAVARRO, M; PÉREZ, H; URBINA, J. “Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 2. Synthesis and Antimalarial Activity in Vitro and in Vivo of New Ruthenium and Rhodium-Chloroquine Complexes”, *J. Med. Chem*, 39, 1095. 1996.

³⁶ NAVARRO, M; PÉREZ, H; SÁNCHEZ-DELGADO, R. “Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 3. Synthesis and Antimalarial Activity in Vitro and in Vivo of the New Gold-Chloroquine Complex $[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$ ”, *J. Med. Chem*. 40, 1937. 1997.

³⁷ NAVARRO, M; CASTRO, W; HIGUERA-PADILLA, A; SIERRAALTA, A; ABAD, M; TAYLOR, P; SÁNCHEZ-DELGADO, R. ”Synthesis, characterization and biological activity of trans-platinum (II) complexes with chloroquine”, *J. Inorg. Biochem*, 2011.

³⁸ WATSON, J; CRICK, F. “Molecular Structures of Nucleic Acids”. *Nature*, 4356, 737. 1953.

³⁹ NELSON, D; COX, M., 2000, *Lehninger Principles of Biochemistry*, New York, Third edition, Worth Publishers, p 1152-1197.

⁴⁰ PYLE, A; BARTON, J. “Probing Nucleic Acids with Transition Metal Complexes. In *Progress in Inorganic Chemistry*” *Bioinorganic Chemistry*, Ed. John Wiley & Sons, Inc. Vol. 38, pp 413-475. 1990.

⁴¹ CUSUMANO, M; DI PIETRO, M; GIANNETTO, A. “Stacking Surface Effect in the DNA Intercalation of Some Polypyridine Platinum (II) Complexes”, *Inorg. Chem*. 38, 1754. 1999.

-
- ⁴² GESSNER, R, QUIGLEY, G; WANG, A, VAN DER MAREL, G; VAN BOOM, J; RICH, A. "Structural basis for stabilization of Z-DNA by cobalt hexaamine and magnesium cations", *Biochem*, 24, 237. 1985.
- ⁴³ BERTINI, I; GRAY, H; LIPPARD, S.1994, Sausalito. University Science Books Valentine JS (eds) *Bioinorganic Chemistry*. pp 505-583.
- ⁴⁴ XIAO-HUA, Z; BAO-HUI, Y; HONG, L; QIAN-LING, Z; HUI, C; JIN-GANG, L; LIANG-NIAN, J; XIAO-YUAN, L. "The desing of new molecular light switches for DNA", *J. Biol. Inorg. Chem*, 6, 143. 2001.
- ⁴⁵ ZHANG, Z; SUN, Y; JIANG, X. "Interaction of DNA with bis(diiminosuccinonitrilo)platinum(II)", *J. Chem*, 26, 463-466. 2008.
- ⁴⁶ DOPKE, N. C; OEMKE, H. E. "The microwave synthesis of platinum(II) phosphine complexes" *Inorg. Chim. Acta*, 2011, 376, 638-640
- ⁴⁷ MOSMANN, T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays". *J. Immunol. Methods* 1983, 65, 55.
- ⁴⁸ LEVER, A. B. P. *Inorganic Electronic Spectroscopy*, 2^a Ed. Amsterdam, Elsevier, 1984. 864 p.
- ⁴⁹ SILVERSTEIN, R.; EWBSTER, F.; KIEMLE, D. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7^a Ed. Jonh Wiley & Sons, 2005. 502 p.
- ⁵⁰ NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman of inorganic and coordination compounds*, 5^a Ed. New York, Wiley-Interscience, 1997.
- ⁵¹ SCATCHARD, G. "The attractions of proteins for small molecules and ions". *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 51, 660, 1949.

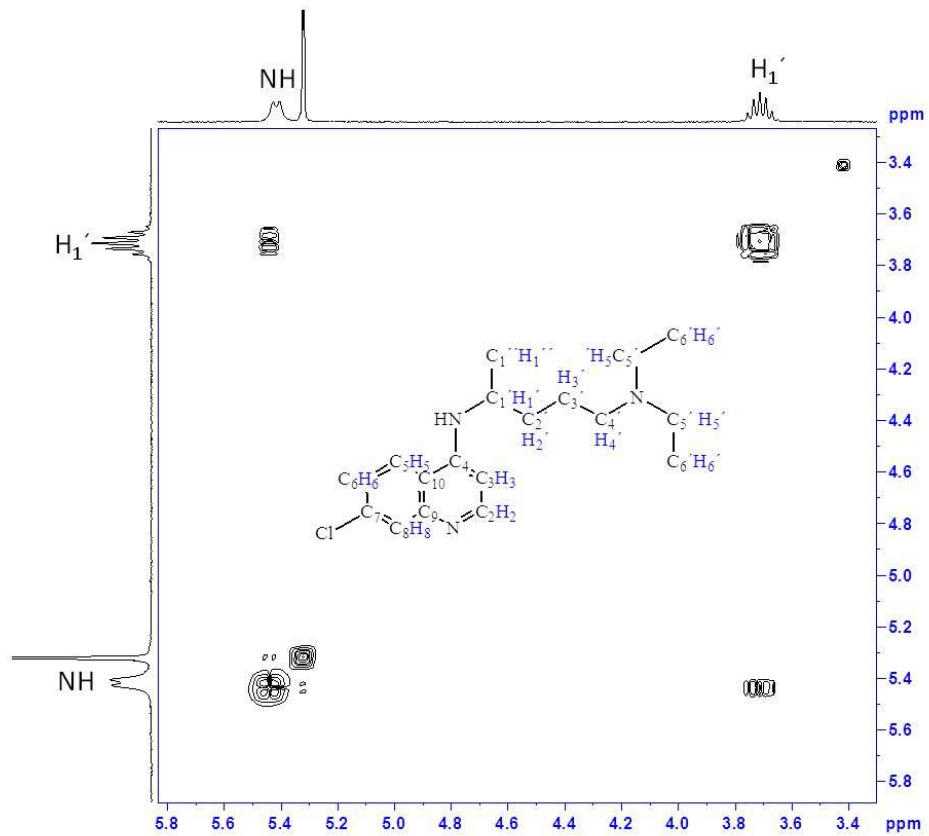
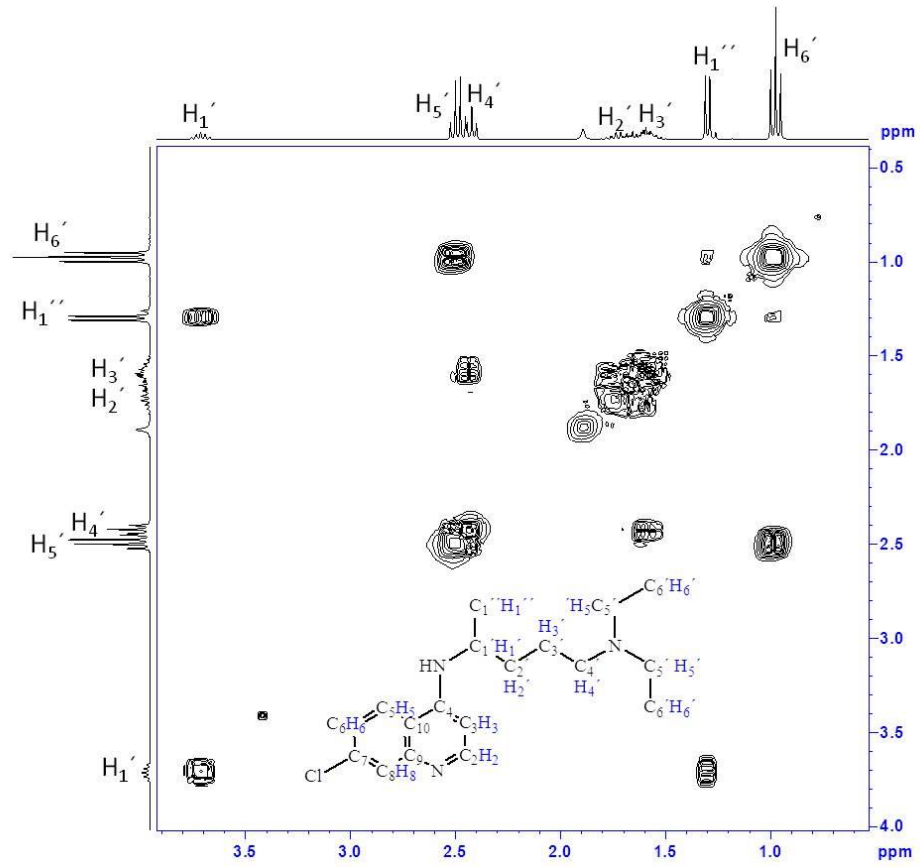
⁵² SATYANARAYANA, S.; DABROWIAK, J. C.; CHAIRES, J. B. "Neither delta- nor lambda-tris(phenanthroline)ruthenium(II) binds to DNA by classical intercalation". *Biochemistry* 1992, 31, 9319.

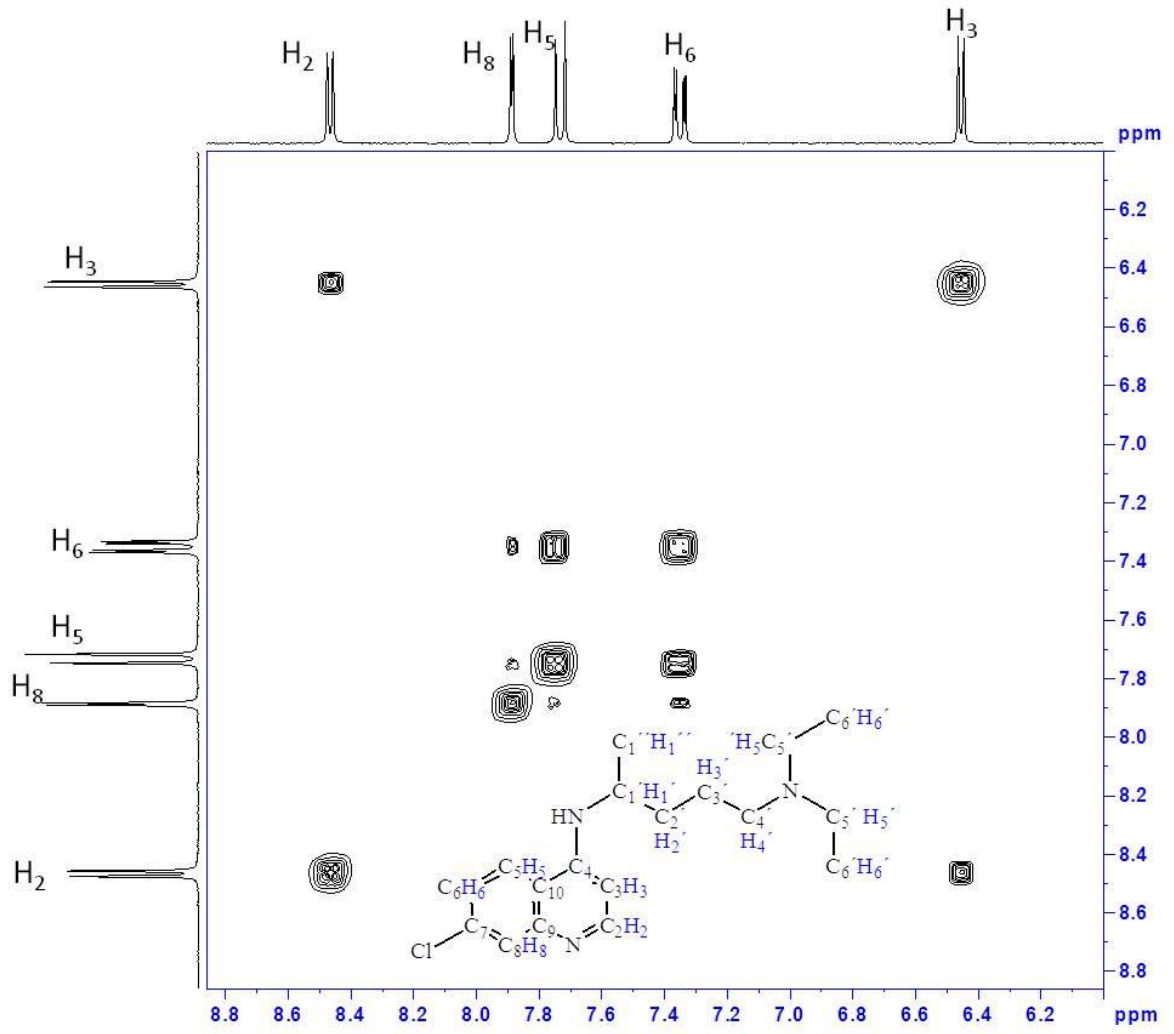
⁵³ HAQ, I.; LINCOLN, P.; SUH, D.; NORDÉN, B.; CHOWDHRY, B. Z.; CHAIRES, J. B. "Interaction of .DELTA.- and .LAMBDA.- [Ru(phen)2DPPZ]2+ with DNA: A Calorimetric and Equilibrium Binding Study". *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 4788

CAPITULO VII

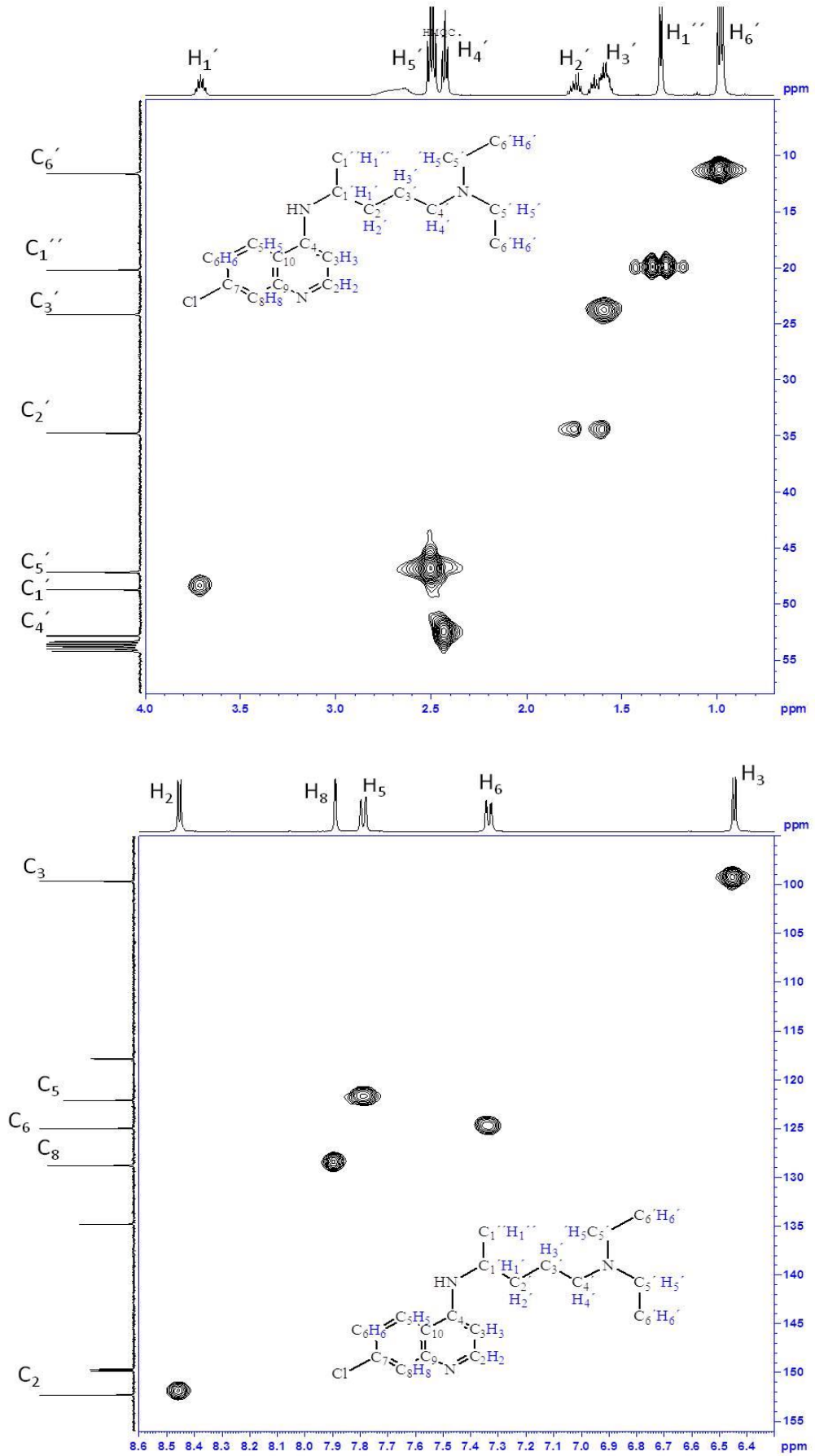
APENDICES

APENDICE 1: Espectros de RMN COSY da cloroquina.

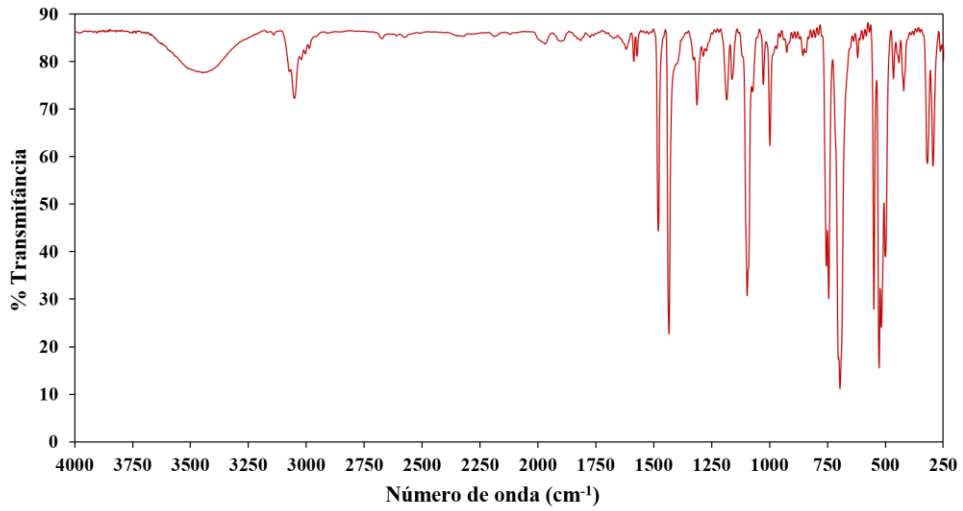




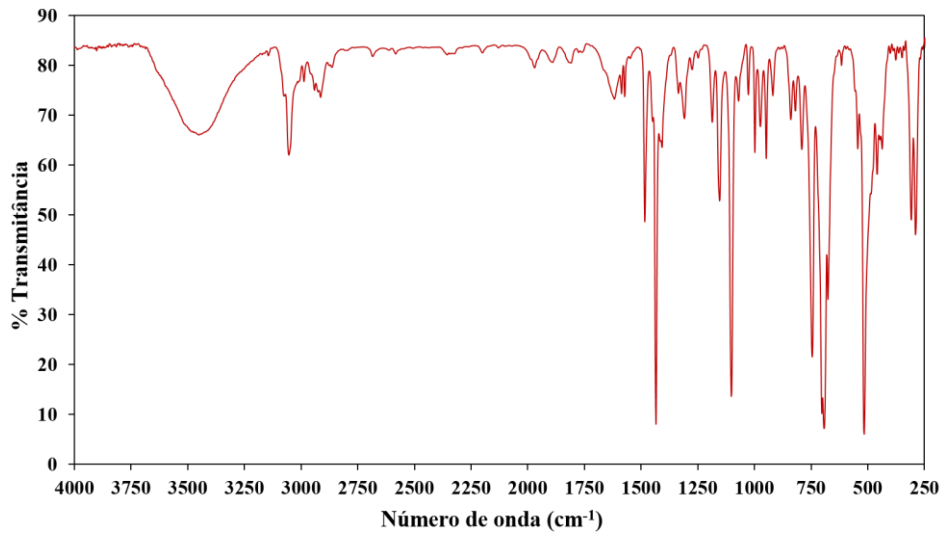
APENDICE 2: Espectros de HSQC da cloroquina.



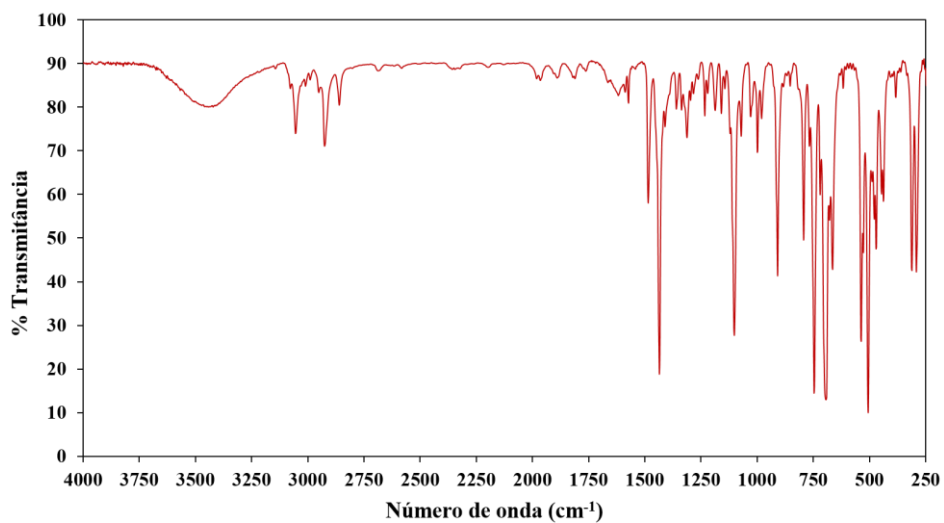
APENDICE 3: Espectros de Absorção na região do IV dos complexos 1, 2 e 3.



Complexo 1

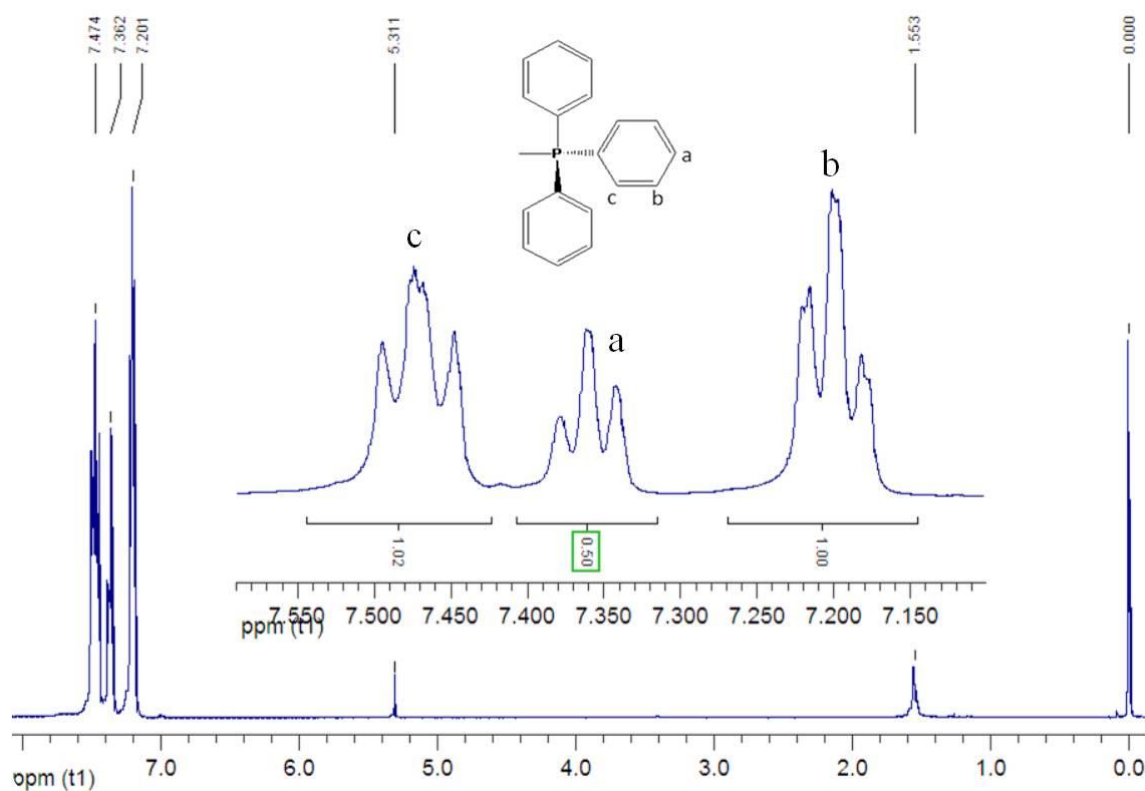


Complexo 2

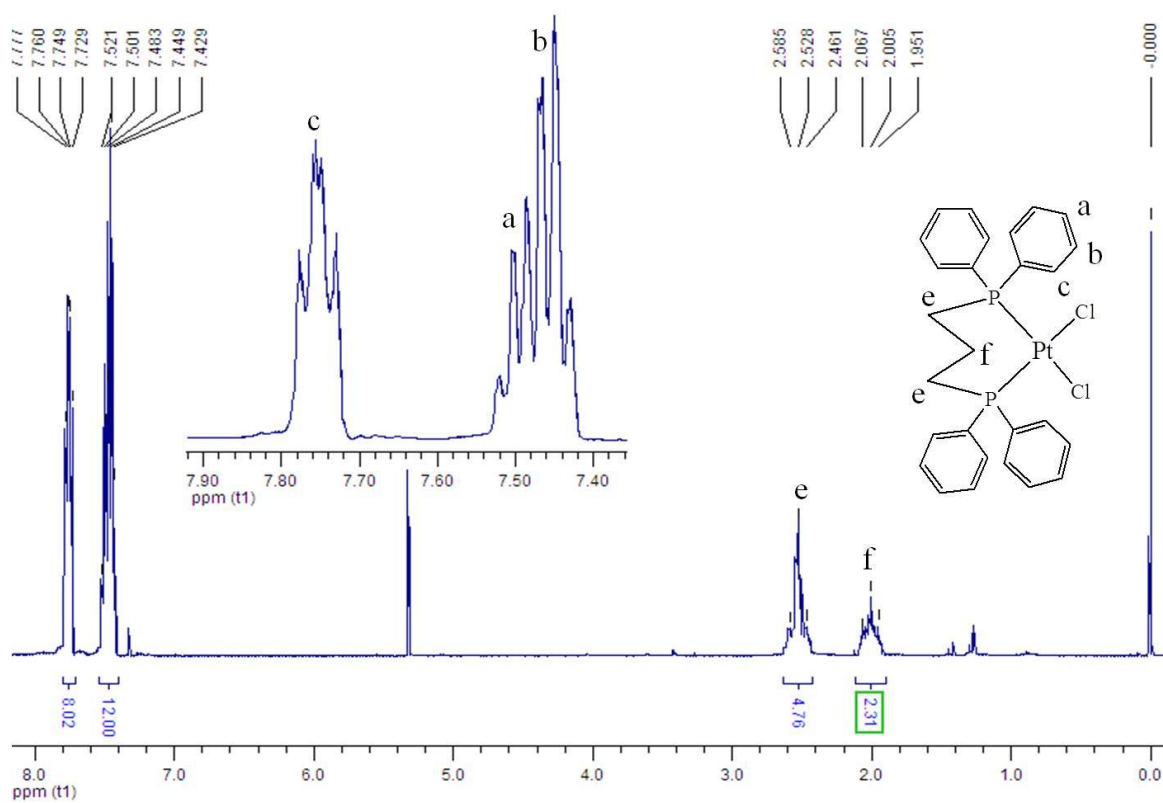


Complexo 3

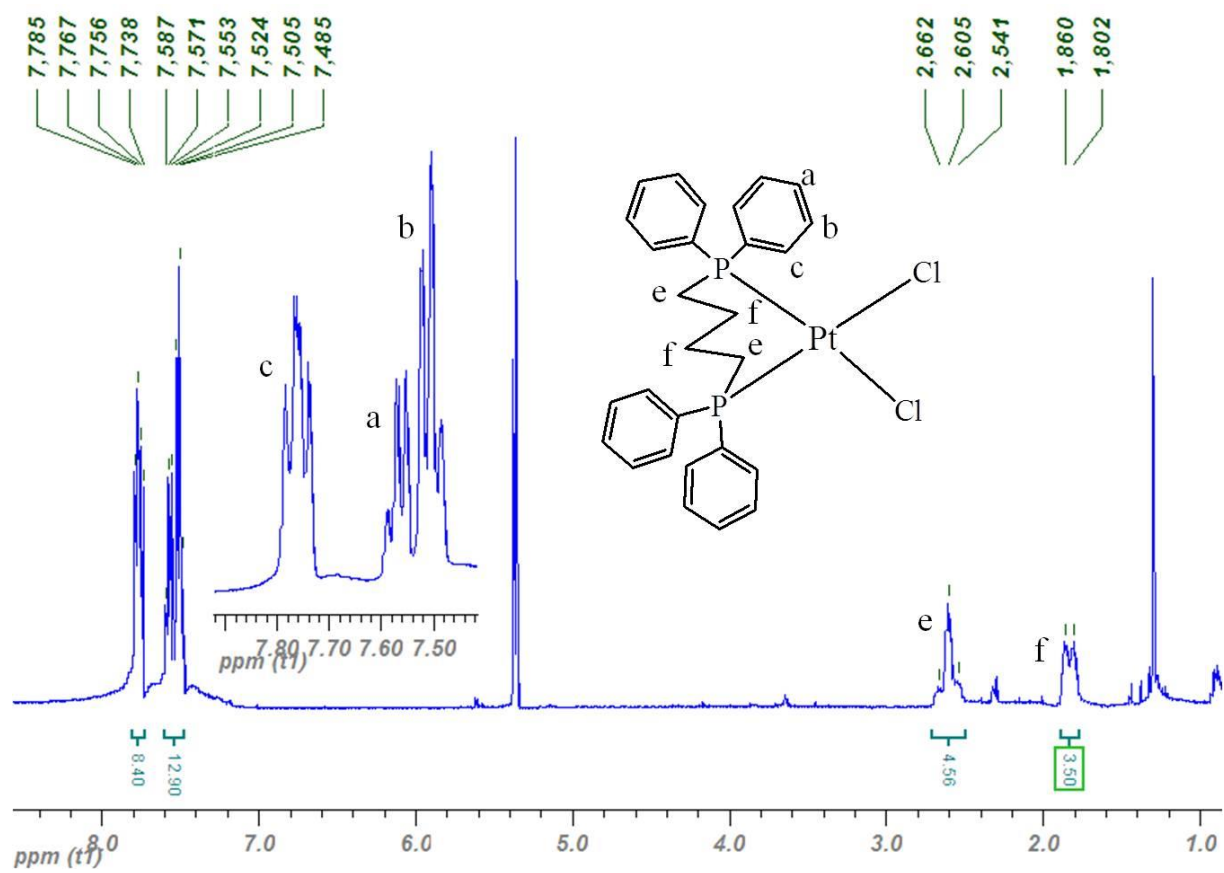
APENDICE 4: Espectros de RMN ^1H dos complexos 1, 2 e 3.



Complexo 1

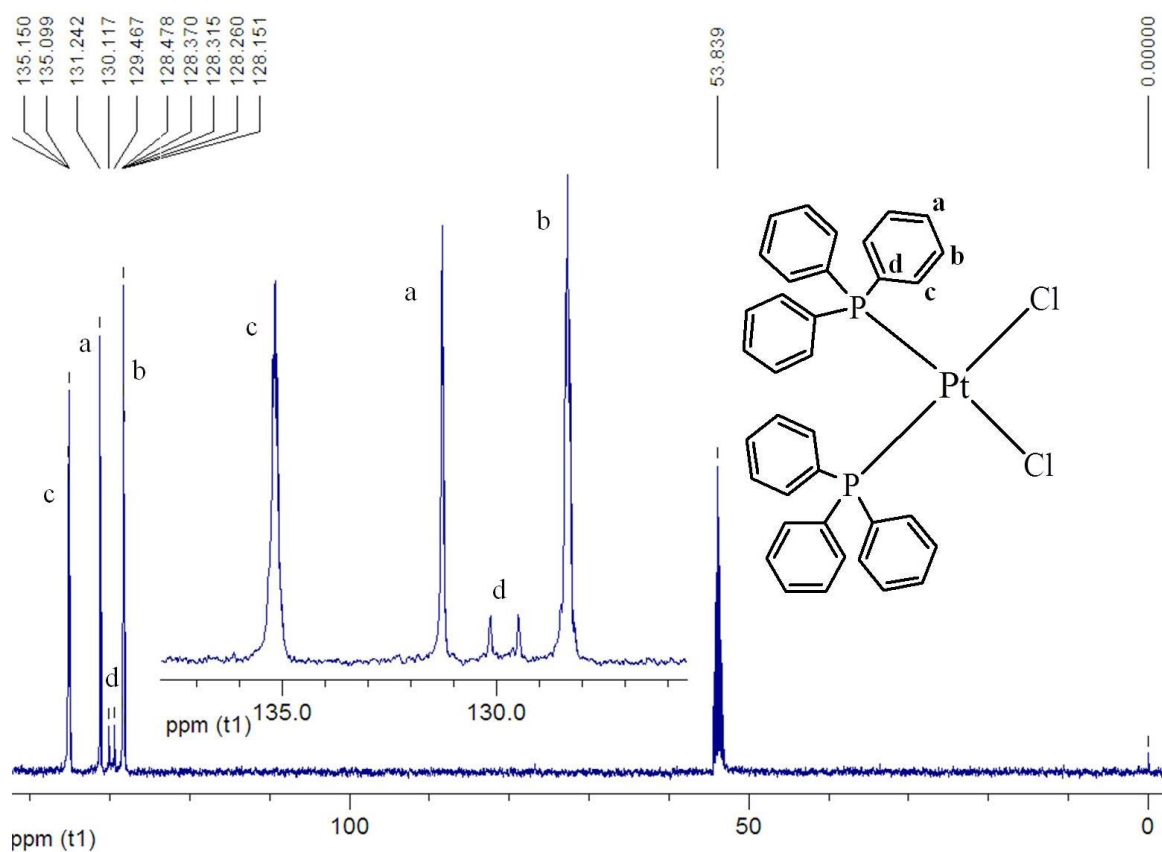


Complexo 2

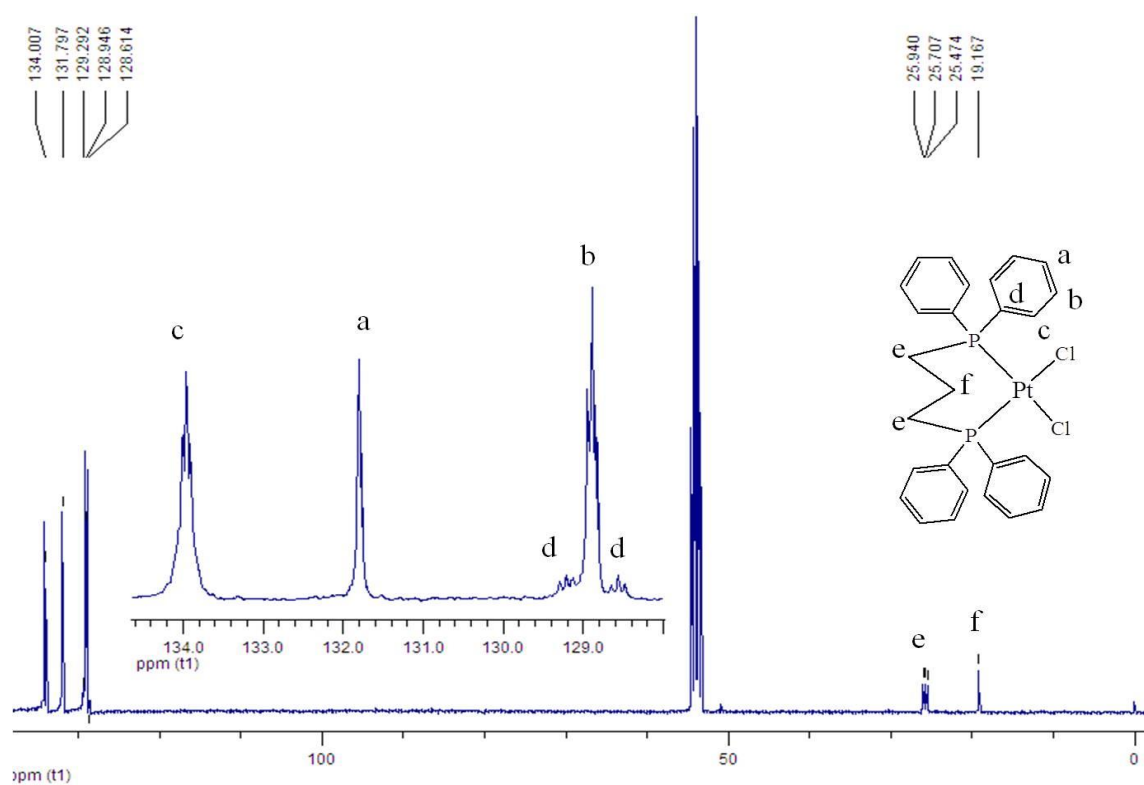


Complexo 3

APENDICE 5: Espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 1e 2.

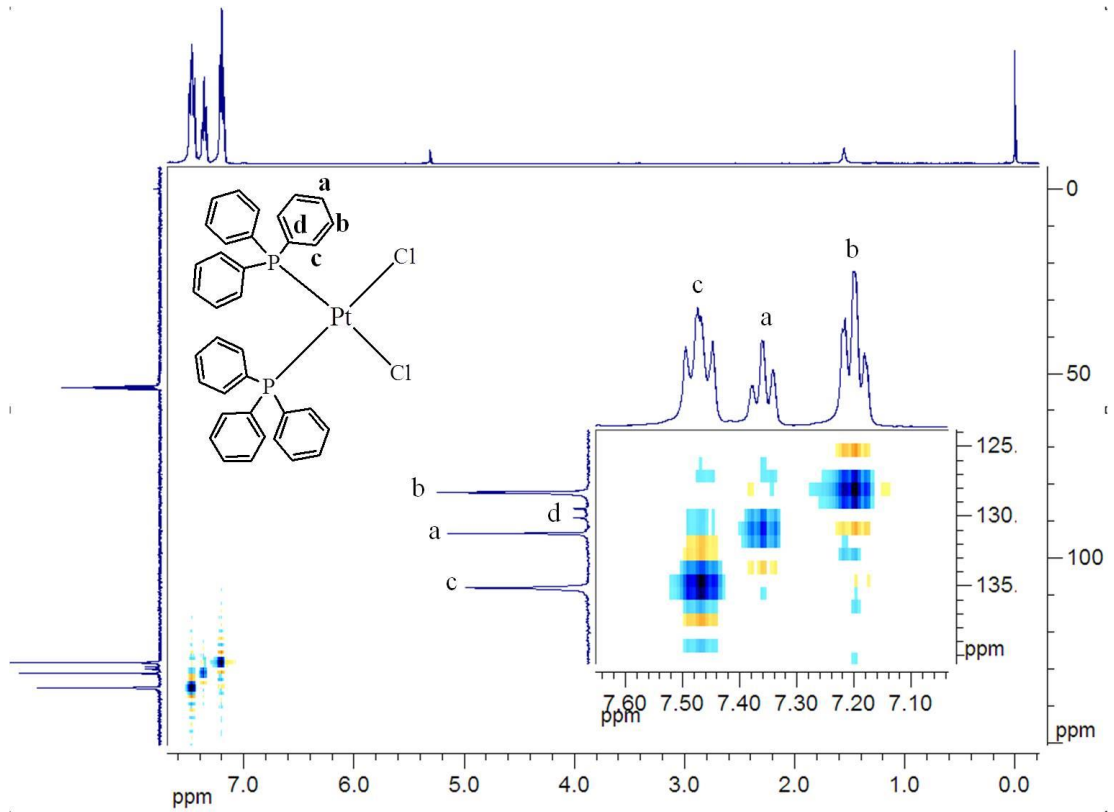


Complexo 1

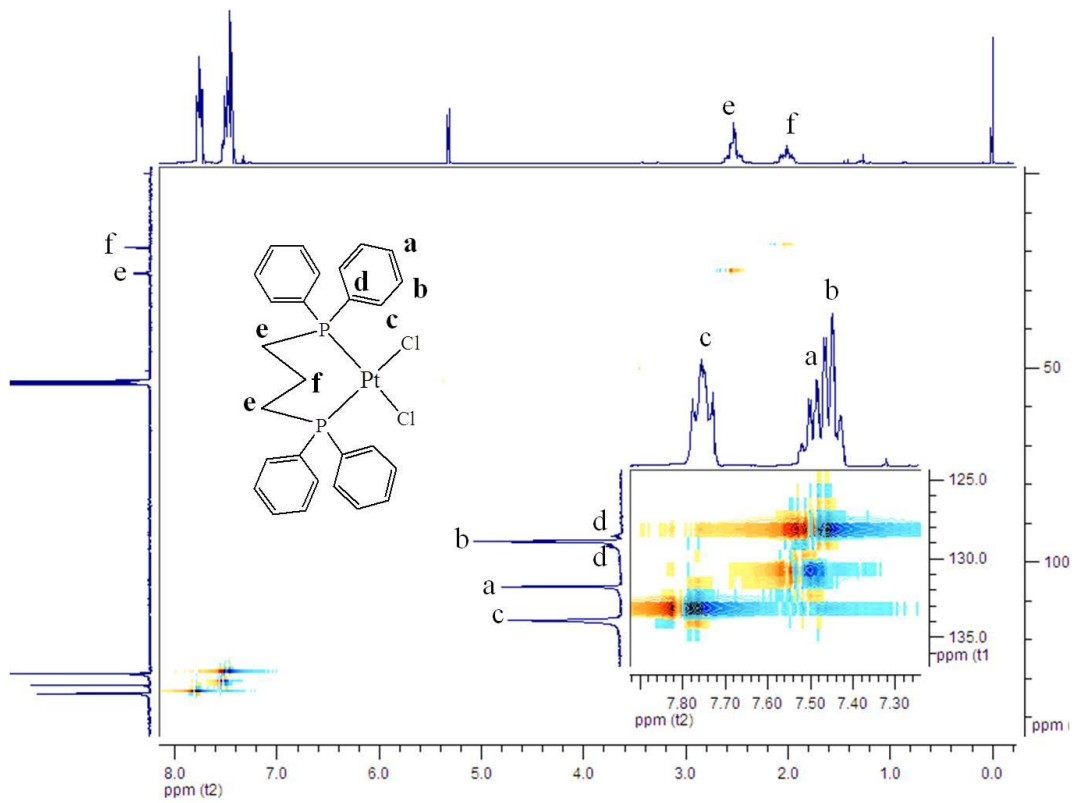


Complexo 2

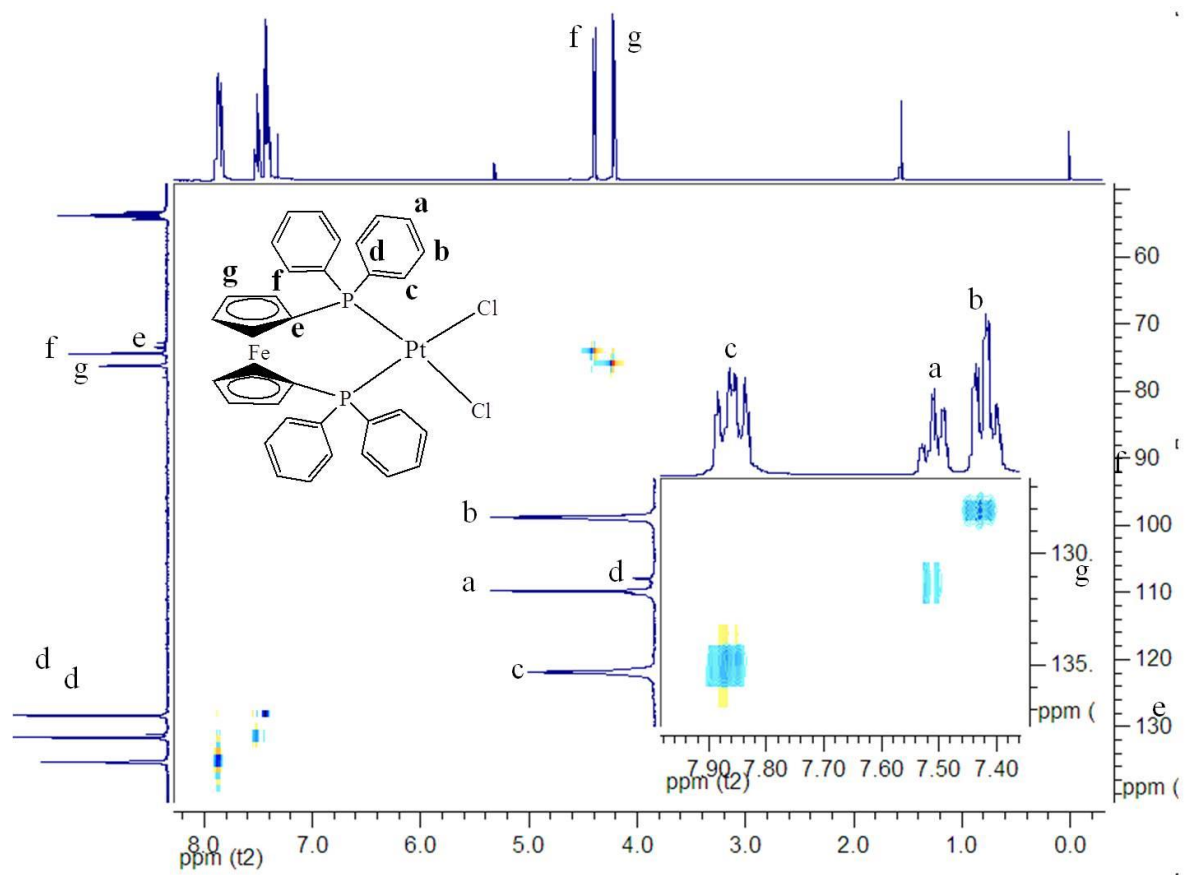
APENDICE 6: Espectros de HSQC dos complexos 1, 2 e 4.



Complexo 1

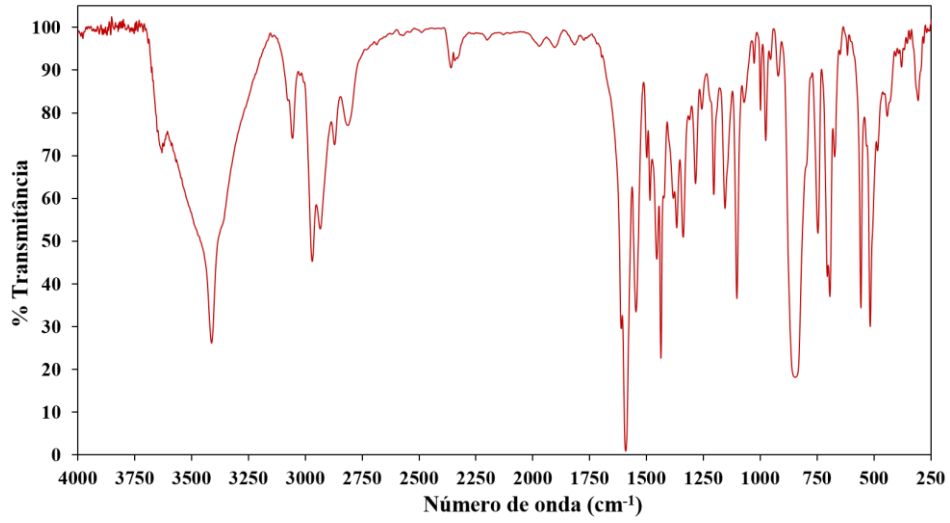


Complexo 2

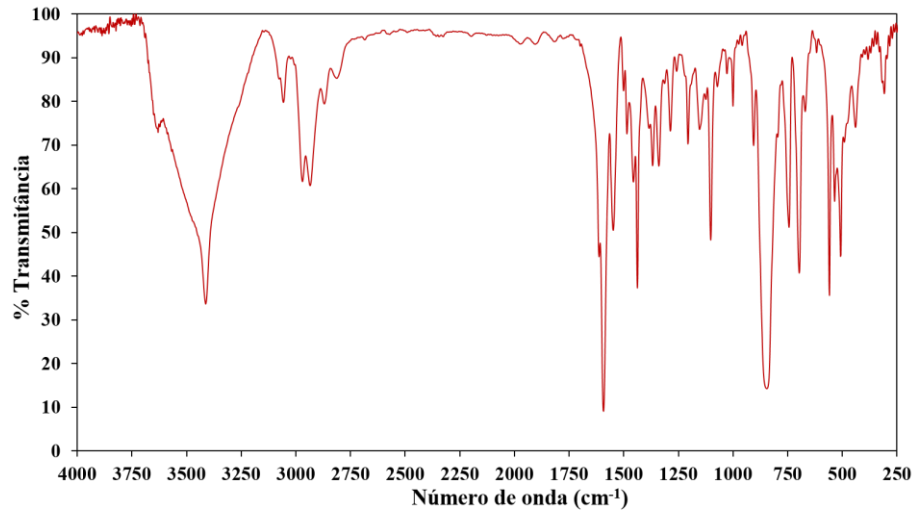


Complexo 4

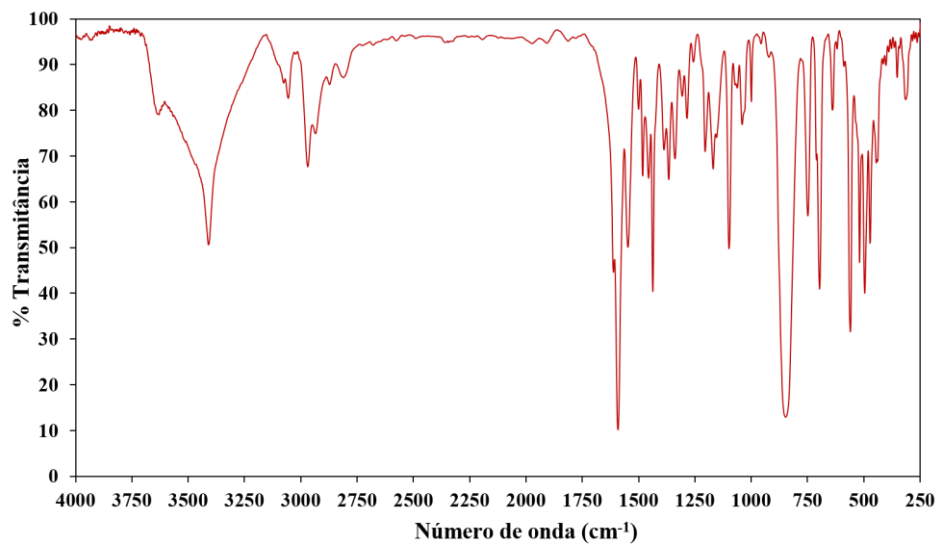
APENDICE 7: Espectros de Absorção na região do IV dos complexos 6, 7 e 8.



Complexo 6

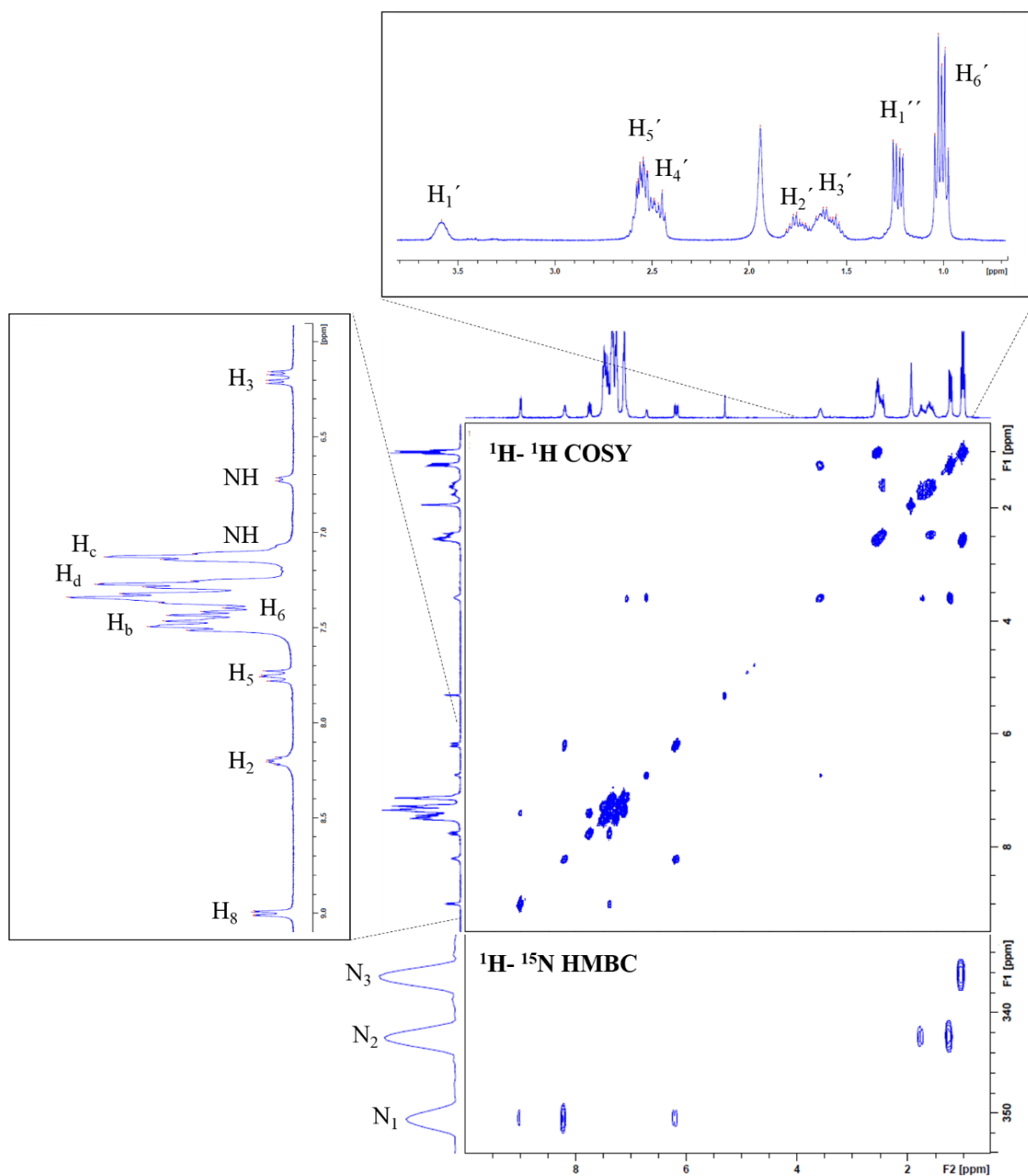


Complexo 7

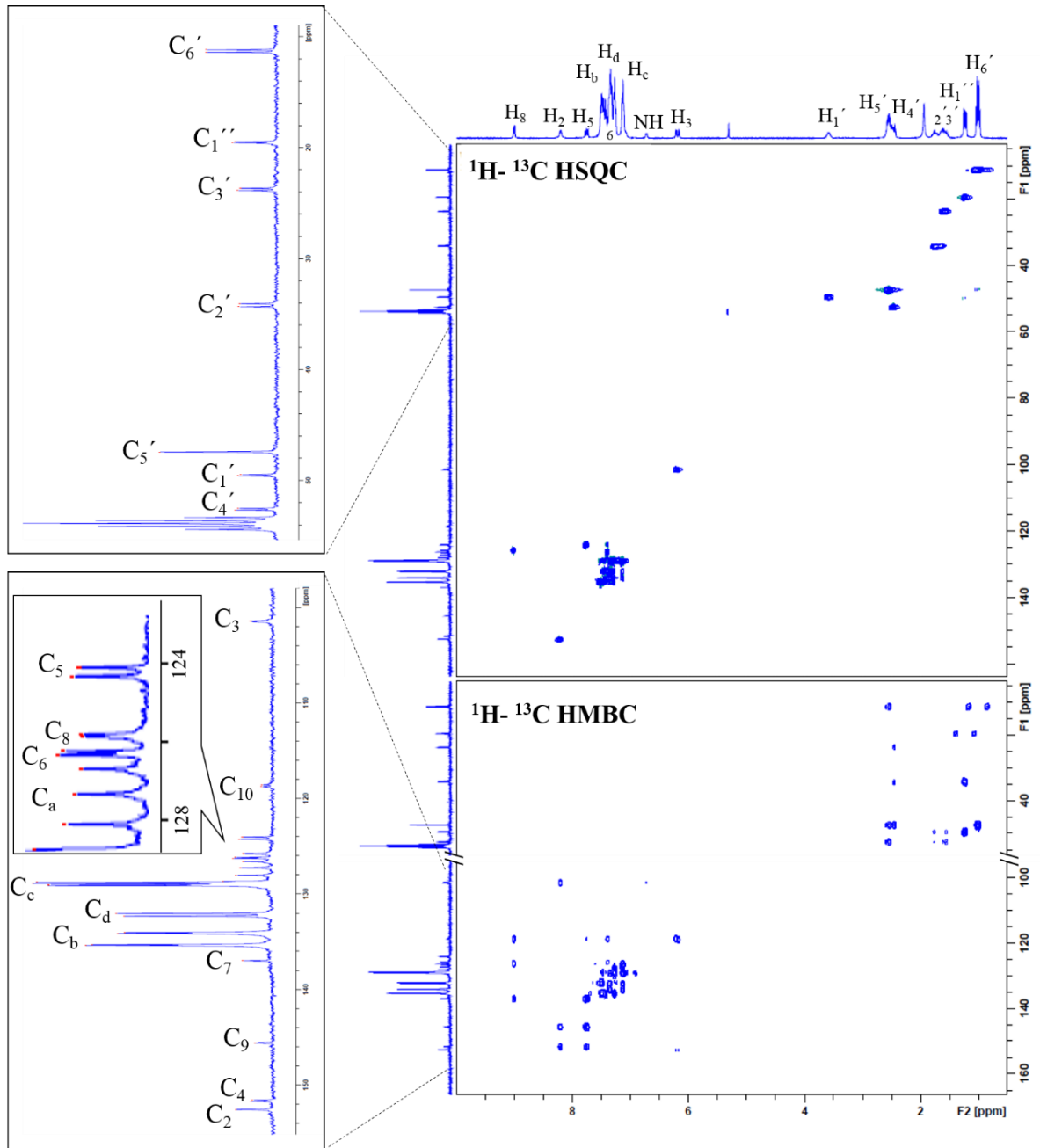


Complexo 8

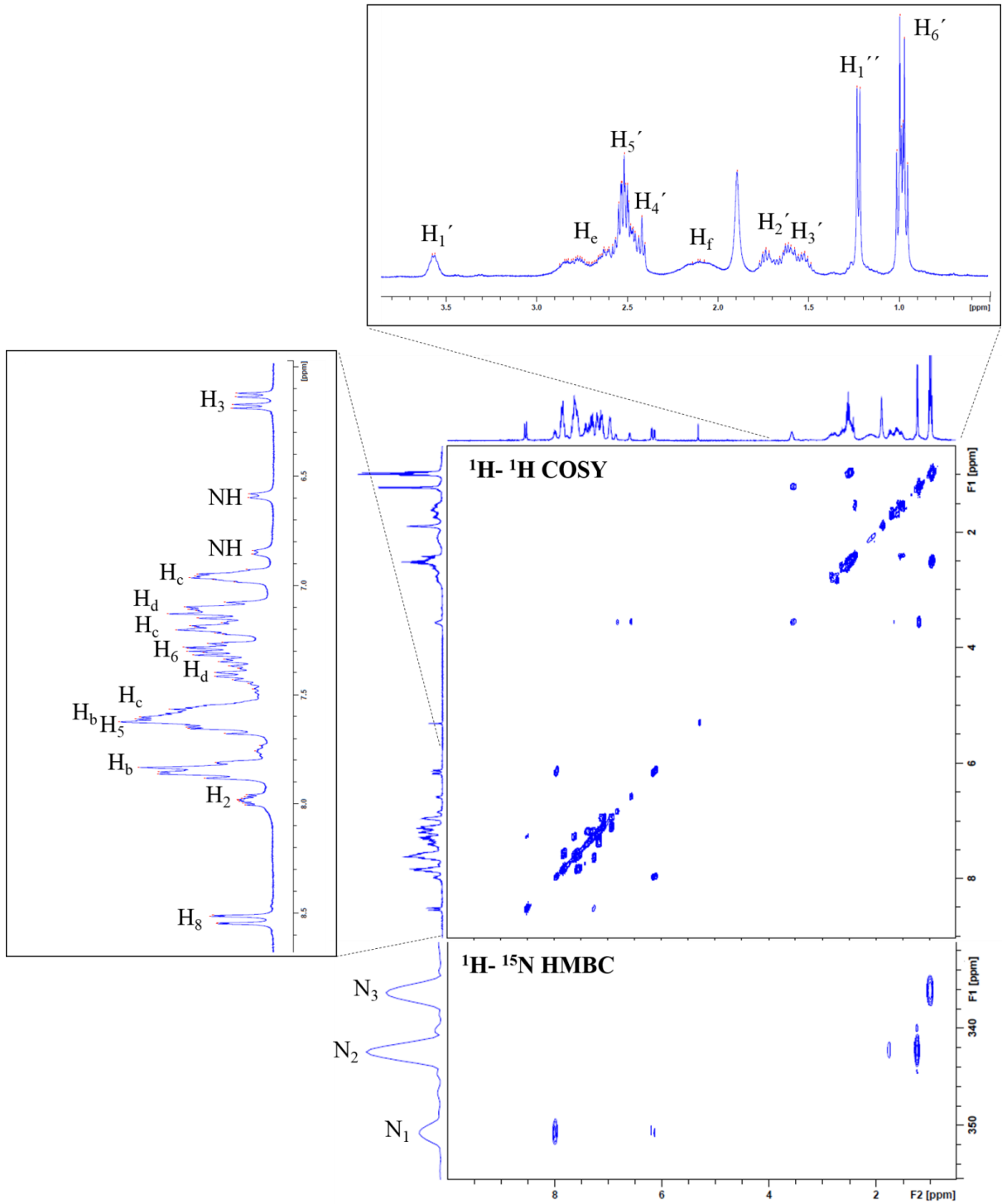
APENDICE 8: Espectros de RMN dos complexos 5, 6, 7 e 8.



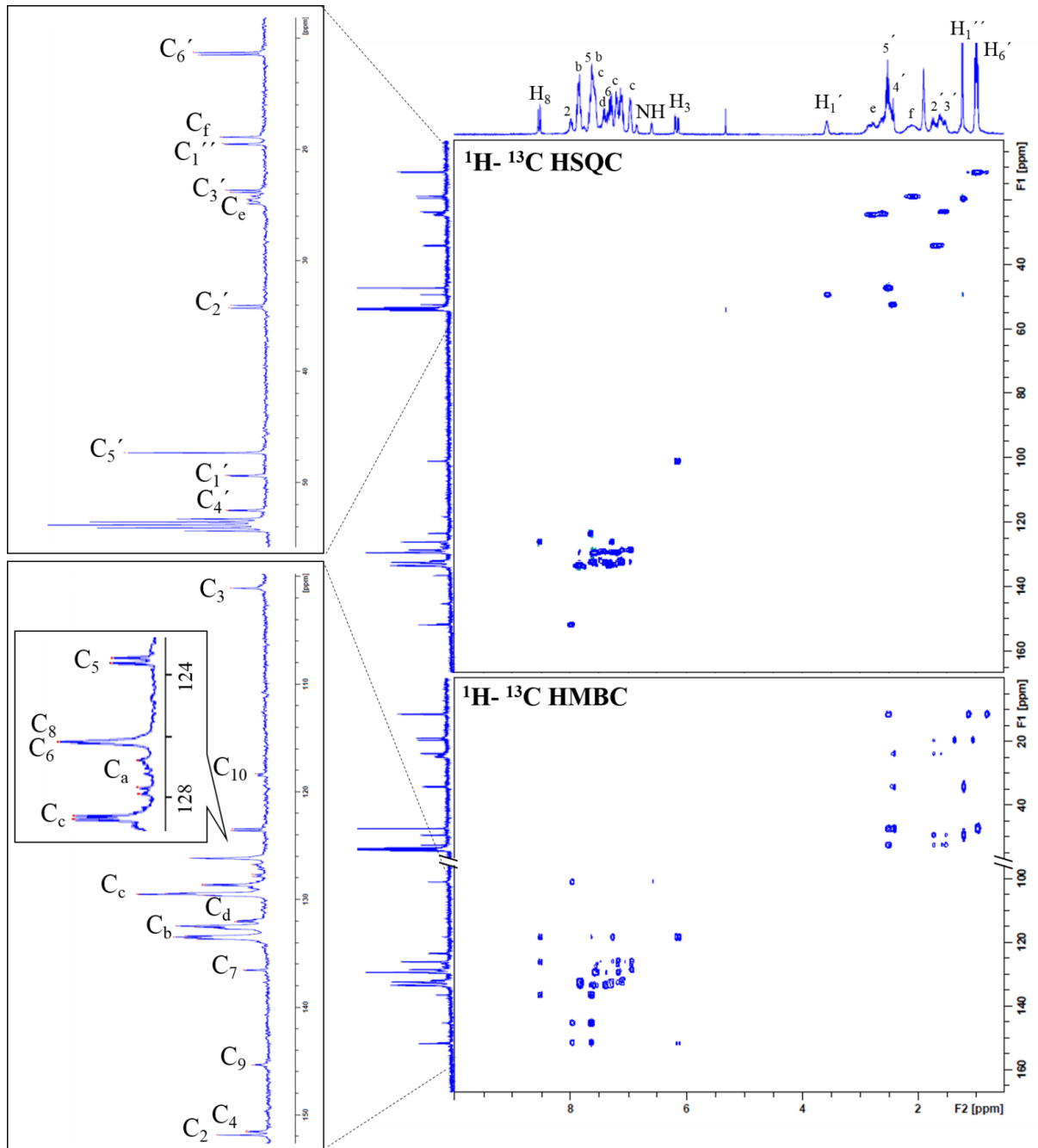
Complexo 5



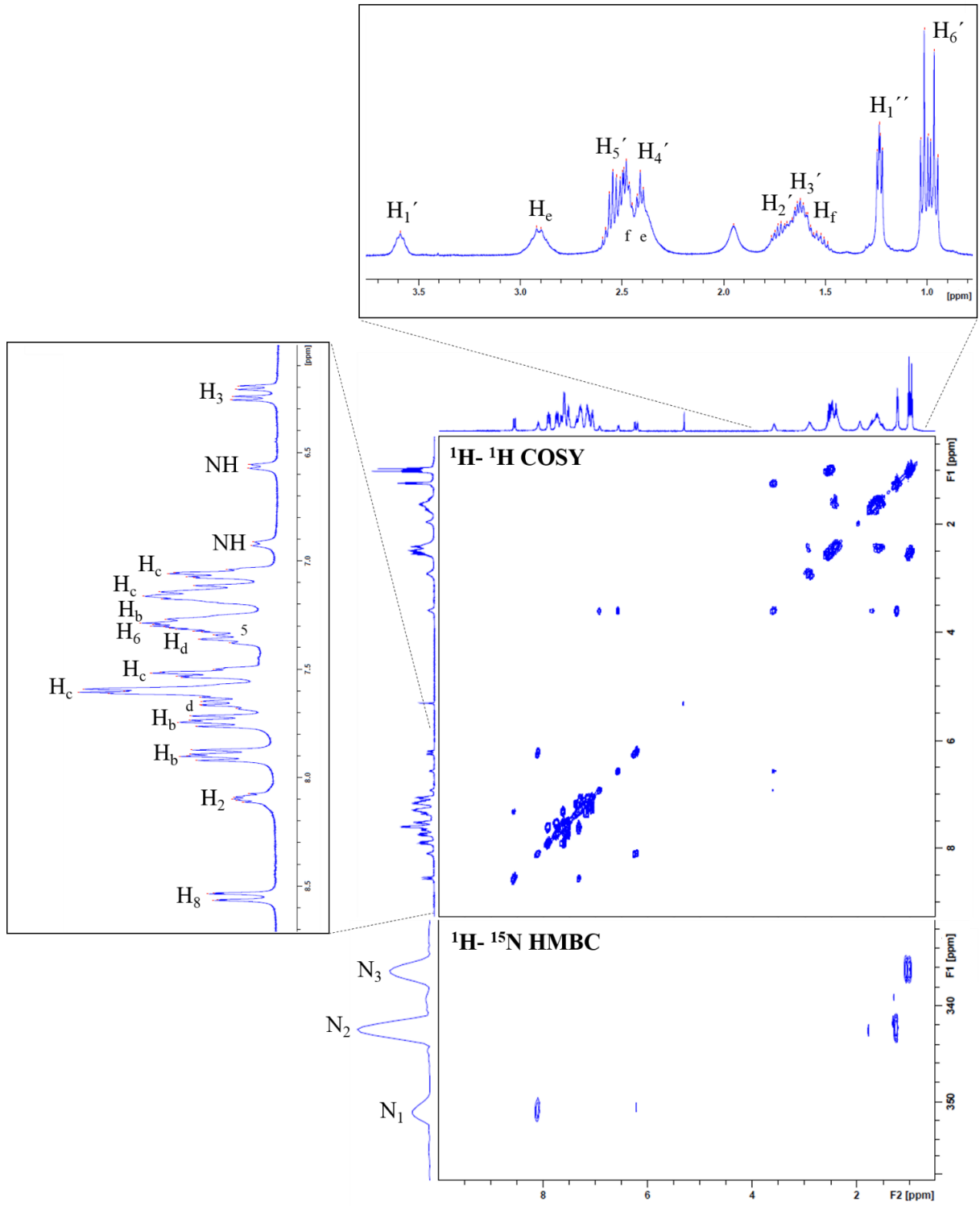
Complexo 5



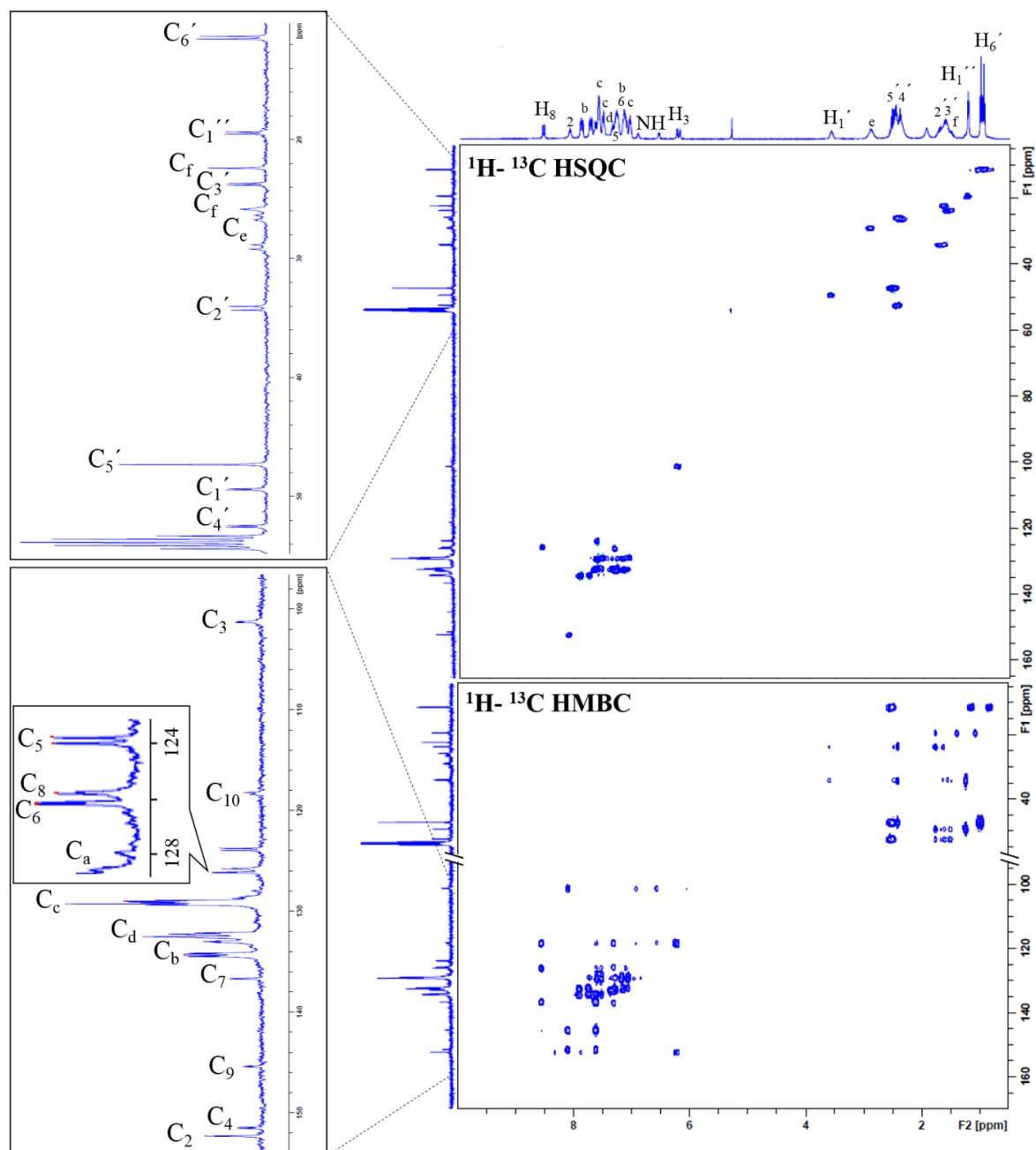
Complexo 6



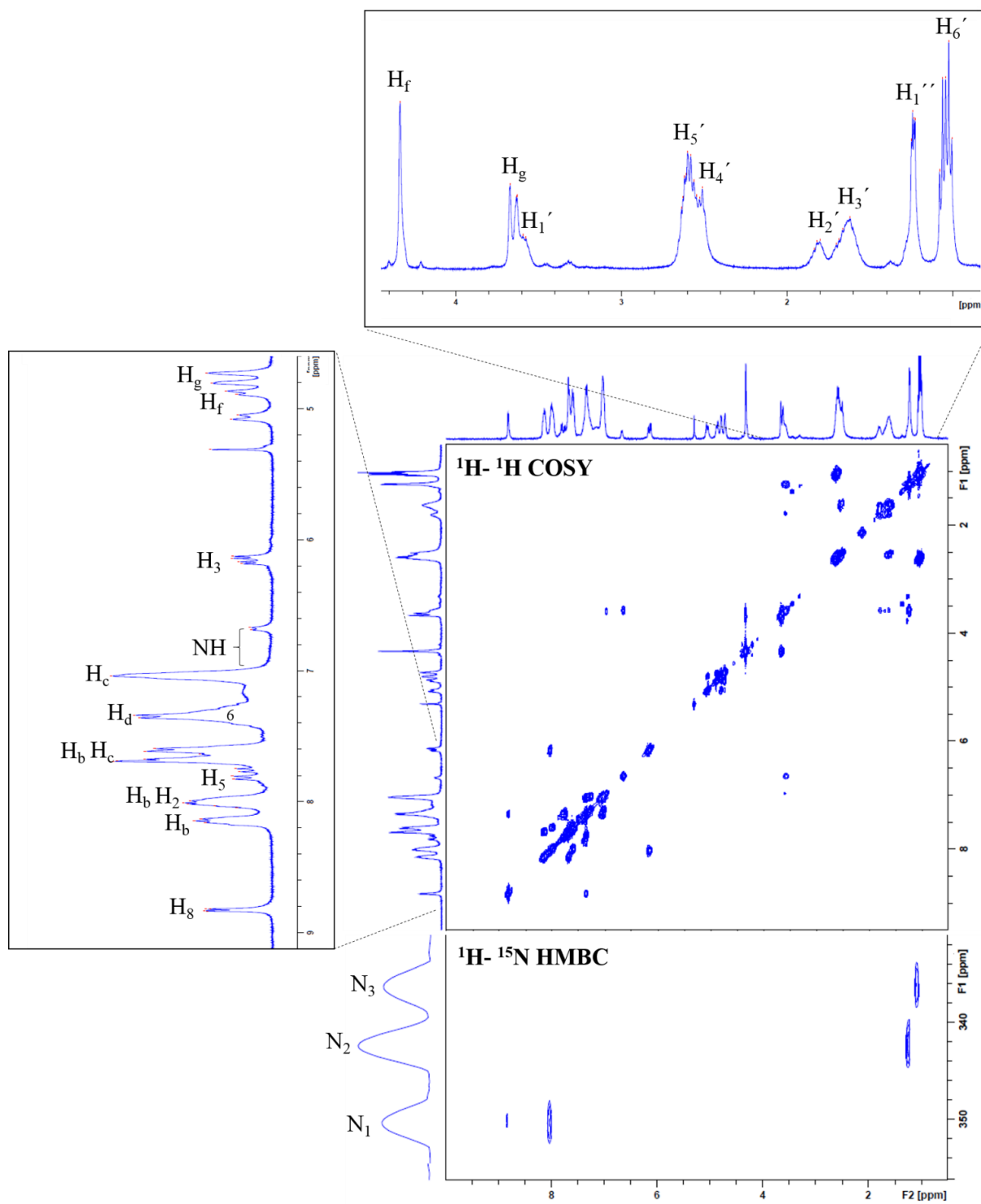
Complexo 6



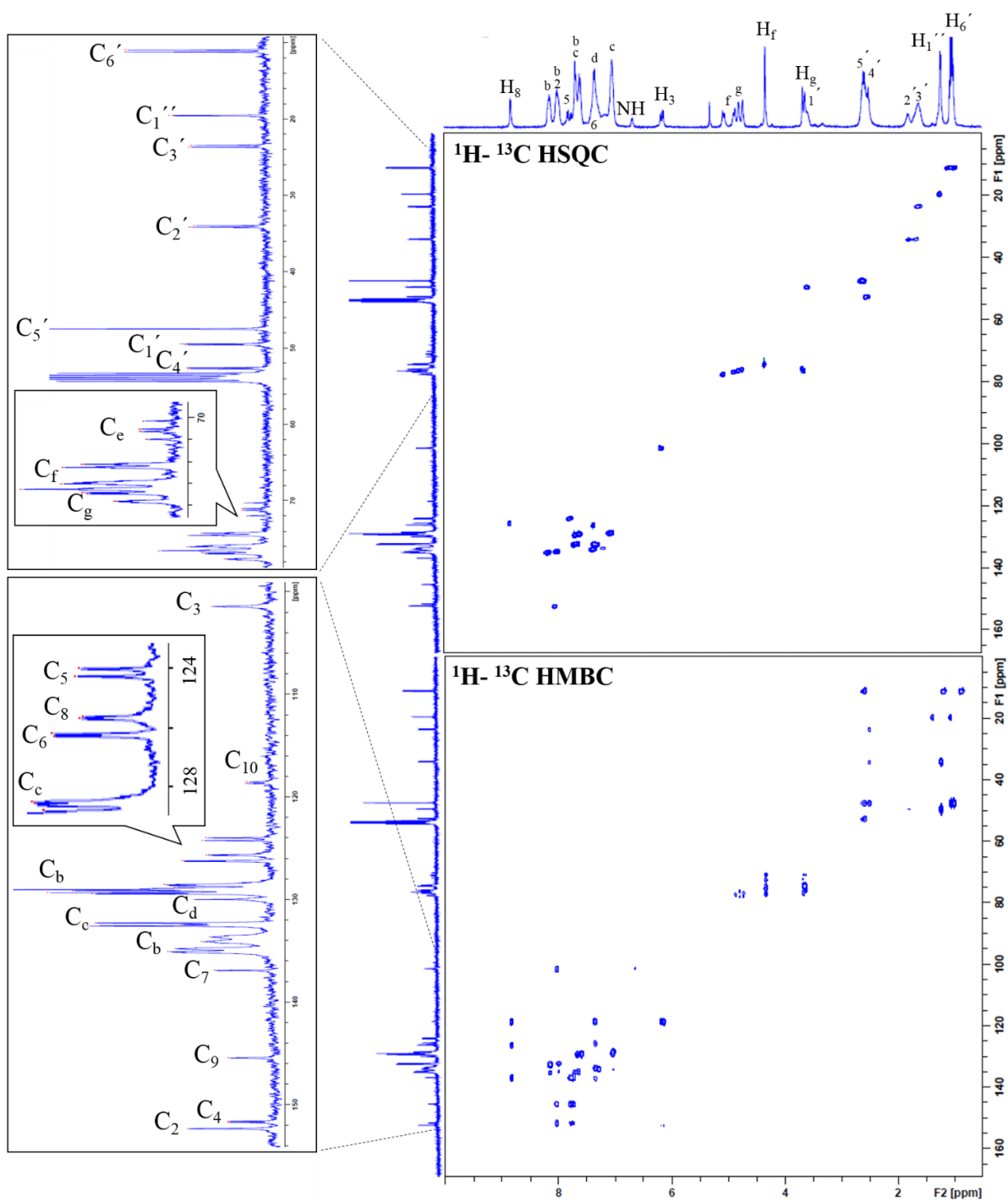
Complexo 7



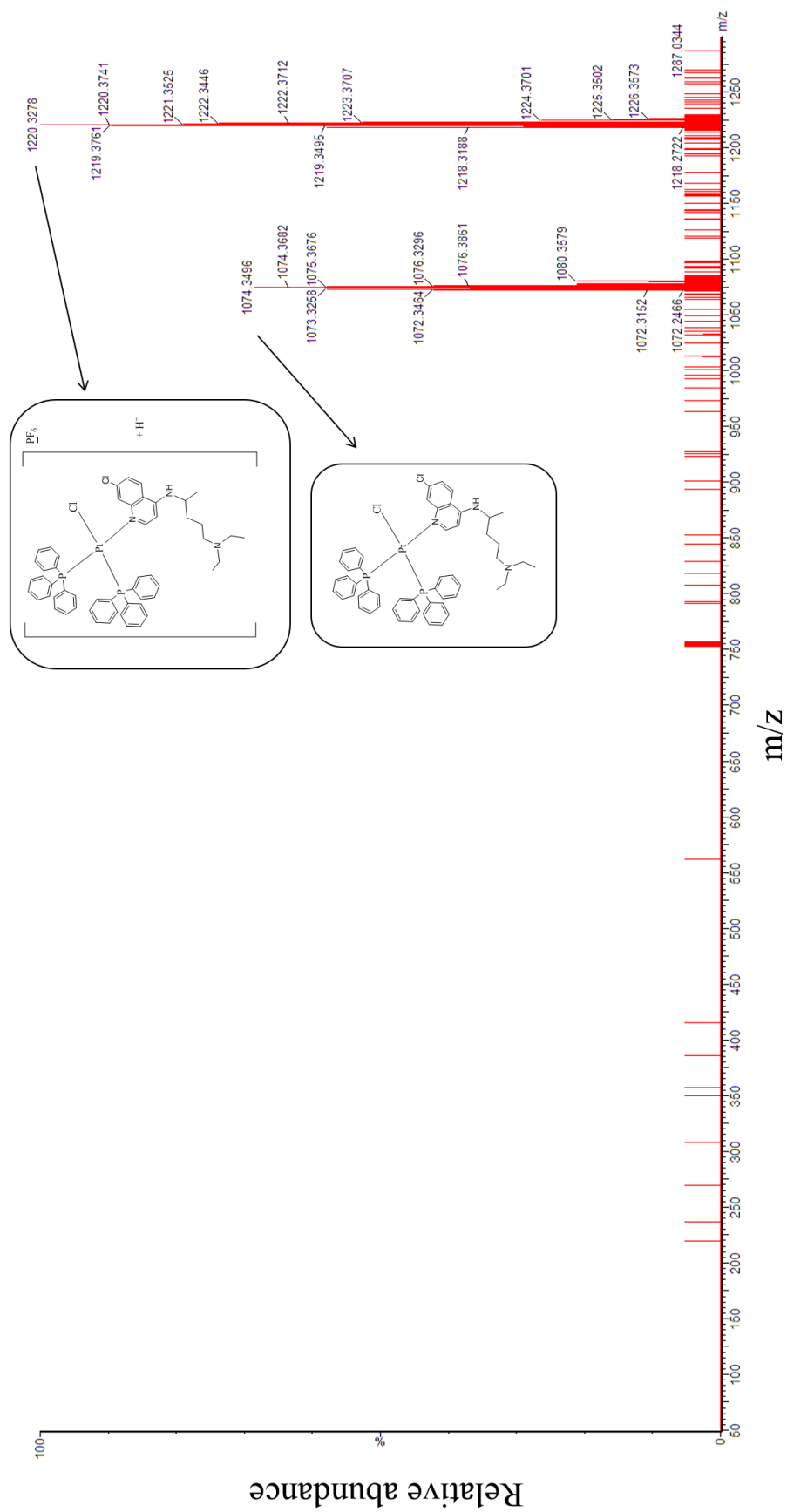
Complexo 7



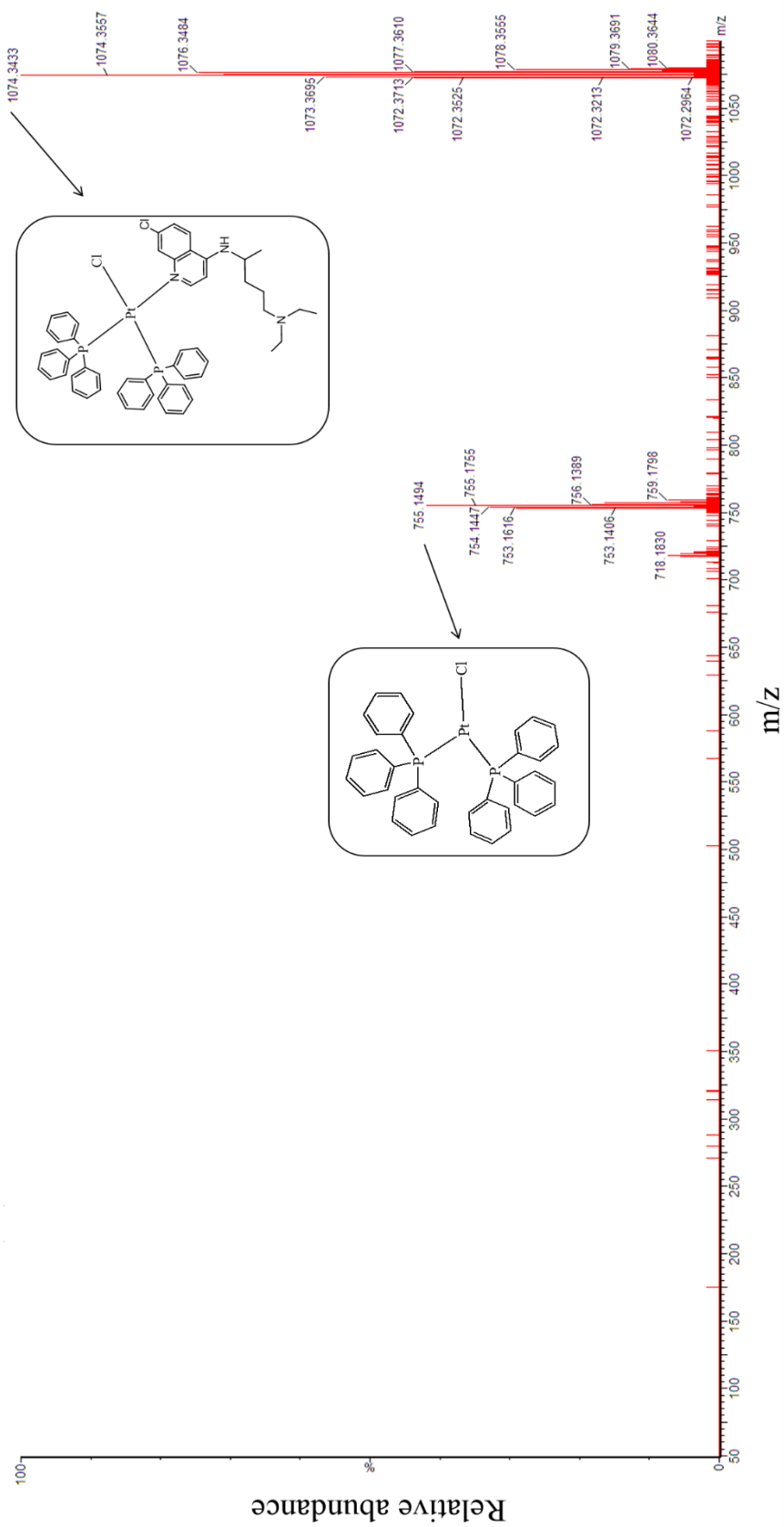
Complexo 8



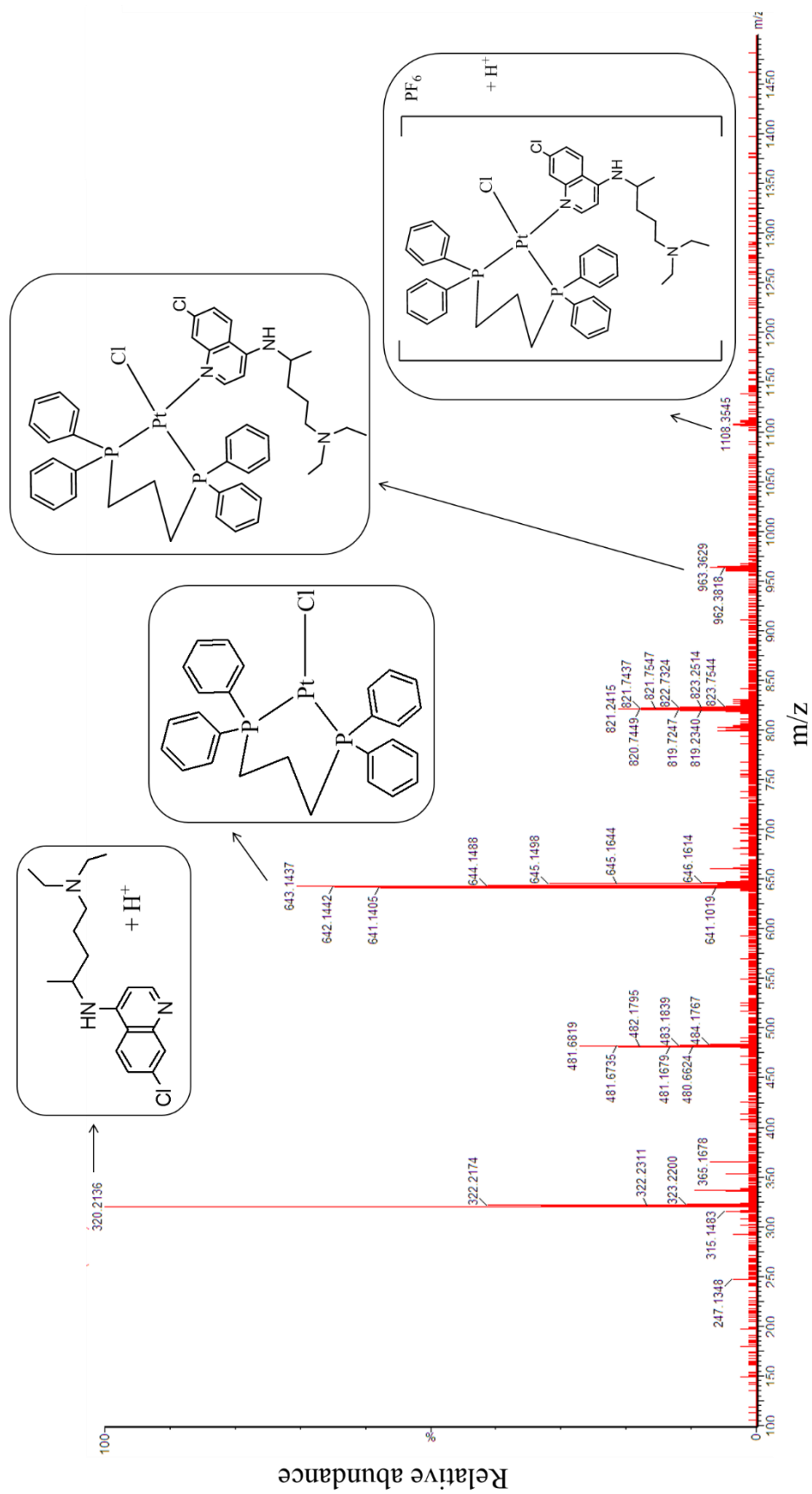
Complexo 8



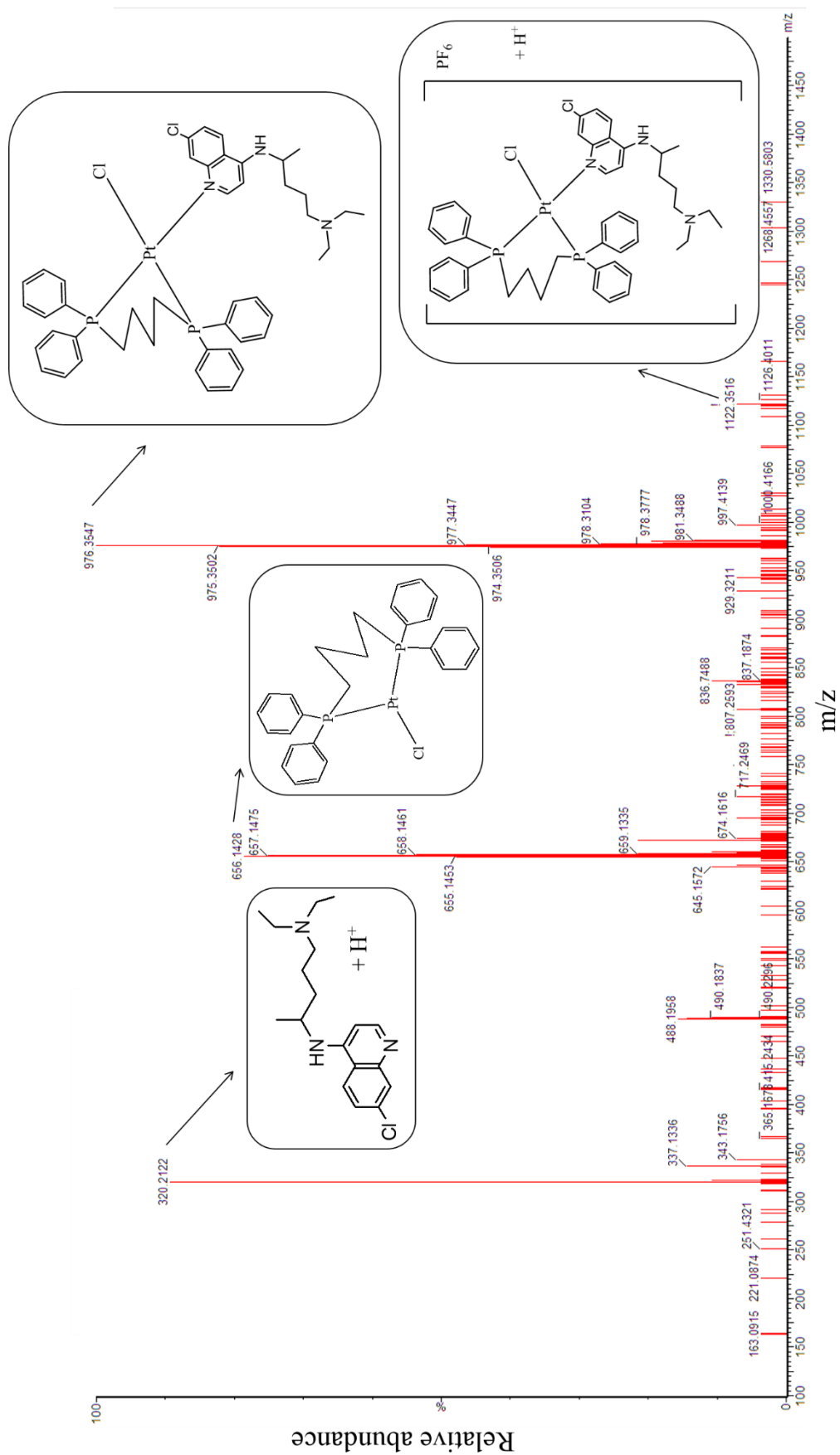
Espectro ESI(+)-MS-MS do complexo *cis*-[PtCl(CQ)(PPh₃)₂]PF₆ (**5**) em acetona.



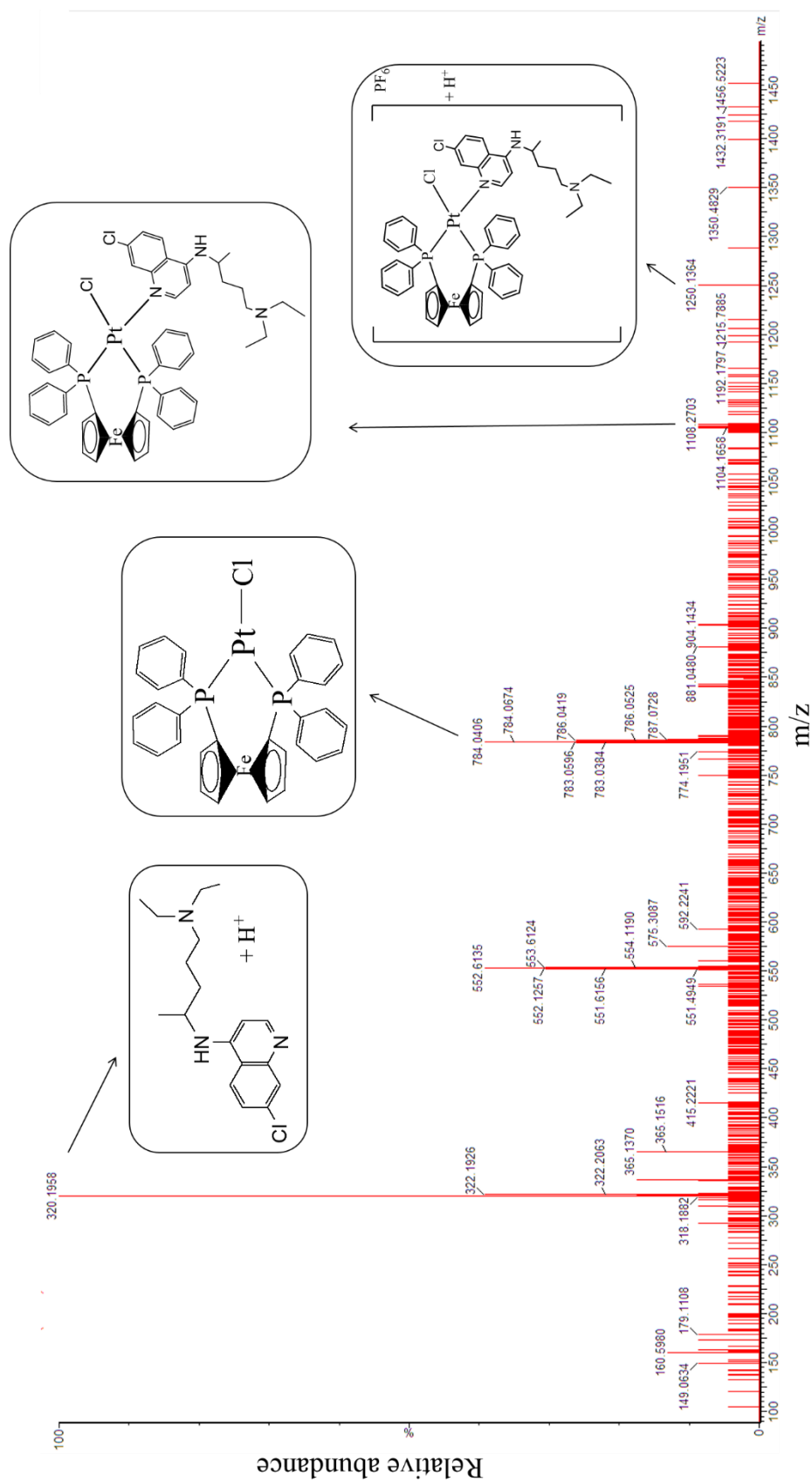
Espectro ESI(+)-MS-MS do complexo *cis*-[PtCl(CQ)(PPh₃)₂]PF₆ (**5**) em acetona.



Espectro ESI(+)-MS-MS do complexo $[PtCl(CO)(dppp)]PF_6$ (**6**) em acetona.



Espectro ESI(+)-MS-MS do complexo [PtCl(CQ)(dppb)]PF₆ (7) em acetona.



Espectro ESI(+)-MS-MS do complexo $[\text{PtCl}(\text{CQ})(\text{dppf})]\text{PF}_6$ (**8**) em acetona.