



UFU

Universidade Federal de Uberlândia

INSTITUTO DE QUÍMICA

BACHARELADO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

MAURÍCIO FERREIRA DE LIMA

Estabilidade, solvólise e atividade citotóxica de complexos de platina(II) contendo hidrazidas

Uberlândia
2020

MAURÍCIO FERREIRA DE LIMA

Estabilidade, solvólise e atividade citotóxica de complexos de platina(II) contendo hidrazidas

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do diploma de bacharel em química industrial pela Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Wendell Guerra

Uberlândia
2020

MAURÍCIO FERREIRA DE LIMA

Estabilidade, solvólise e atividade citotóxica de complexos de platina(II) contendo hidrazidas

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do diploma de bacharel em química industrial pela Universidade Federal de Uberlândia.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Wendell Guerra

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. MSc. Wesley Almeida Souza

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. MSc. Luana Munique Sousa

Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia
2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu pai, Ivânder Conceição de Lima, por ter me proporcionado a oportunidade de frequentar o curso de Química Industrial, e a minha mãe, Patrícia Maria Ferreira de Jesus, assim como irmãos e demais familiares pela inspiração e motivação.

Agradeço ao meu orientador, prof. Wendell Guerra, por ter me permitido fazer parte de seu grupo de pesquisa e por sua tutela. Também aos demais integrantes do Lasfar, principalmente à Letícia Pires de Oliveira, por terem contribuído com a minha trajetória científica.

Agradeço aos meus amigos por seu companheirismo, principalmente aqueles que comigo permaneceram até o final, Claudiane Vitalino Silva, Érica Karoline dos Reis e Brenda Santos Dias Frachoni.

Agradeço ao Governo Federal do Brasil, bem como aos órgãos de fomentos, CAPES e CNPq, que me proporcionaram parte das condições necessárias à minha formação.

RESUMO

Complexos de platina(II) vêm sendo utilizados como agentes antitumorais desde o final do século XX, quando a cisplatina e posteriormente a carboplatina foram aprovadas pela FDA. Apesar do enorme sucesso destes fármacos na clínica médica, uma série de efeitos colaterais graves, bem como uma resistência intrínseca ou adquirida tem motivado inúmeros grupos de pesquisa a buscar novos complexos mais efetivos e seguros. Nesse sentido, o presente trabalho relata a síntese, caracterização, solvólise e atividade citotóxica de complexos de platina(II) do tipo *cis*-[PtCl₂(L)₂] e *trans*-[PtCl₂L(DMSO)], em que L = benzohidrazida, 4-nitrobenzohidrazida, 4-(trifluorometil)benzohidrazida e DMSO = dimetilsulfóxido. Todos os complexos apresentaram solvólise e/ou isomerização em DMSO, gerando quatro espécies idênticas para um mesmo ligante. Os complexos *cis* foram estáveis em DMF, enquanto os complexos *trans* também apresentaram solvólise nesse solvente. Uma relação entre o comportamento dos compostos em solução e suas atividades citotóxicas foi verificada e alguns complexos foram mais ativos que a cisplatina e a carboplatina.

ABSTRACT

Platinum(II) complexes have been used as antitumor agents since the end of XX century, when cisplatin and lately carboplatin were approved by FDA. Despite the great success of these compounds in clinical medicine, a series of side effects, as well as intrinsic or acquired resistance, have motivated countless research groups to search new complexes safer and more effective. In this sense, the present work reports the synthesis, characterization, solvolysis and cytotoxic activity of platinum(II) complexes of the type *cis*-[PtCl₂(L)₂] and of the type *trans*-[PtCl₂L(DMSO)], in which L = benzhydrazide, 4-nitrobenzhydrazide, 4-(trifluoromethyl)benzhydrazide and DMSO = dimethylsulfoxide. All complexes presented solvolysis and/or isomerization in DMSO generating four identical species for a same ligand. The *cis*-complexes were stable in DMF, while the *trans*-complexes also presented solvolysis in this solvent. A relation between the behaviour of the compounds in solution and their respective cytotoxic activities were verified and some complexes presented higher activity than cisplatin and carboplatin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação de um tumor benigno, com limites nítidos, e de um tumor maligno. O tumor maligno pode ser classificado em duas formas: o câncer <i>in situ</i> e o invasivo	12
Figura 2 – Estimativa de mortes de pessoas abaixo de 70 anos para o ano de 2012	14
Figura 3 – Compostos de platina atualmente utilizados no mundo ou em países específicos.....	16
Figura 4 – Etapas da cisplatina no organismo	17
Figura 5 – Exemplificação estrutural de ligações formadas entre a cisplatina e o DNA.....	19
Figura 6 – Estrutura dos ligantes (hidrazidas) e estrutura proposta para os complexos	23
Figura 7 – Esquema do método Pregl-Dumas para detecção de C, H e N	25
Figura 8 – Espectro IR do complexo I com foco na região próxima a 3300 cm^{-1} e estrutura do ligante e do complexo	26
Figura 9 – Espectro IR do complexo I com foco na região próxima a 1220 cm^{-1}	27
Figura 10 – Espectro IR do complexo I com foco na região próxima a 330 cm^{-1}	27
Figura 11 – Espectro do RMN de ^{195}Pt para o complexo V em DMSO com variação de tempo	30
Figura 12 – Espectro do RMN de ^{195}Pt para o complexo VI em DMSO com variação de tempo	31
Figura 13 – Deslocamentos químicos (δ , ppm) para possíveis esferas de coordenação para o íon de platina(II)	32
Figura 14 – Espectro do RMN de ^{195}Pt para o complexo V em DMF em sucessivos tempos	33
Figura 15 – Representação da solvólise e da isomerização encontradas para os complexos	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Problemas relacionados à desordem de íons metálicos no organismo.....	9
Tabela 2 – Alguns compostos metálicos que são utilizados no tratamento de diversas enfermidades	11
Tabela 3 – Mecanismo de ação e indicação terapêutica de complexos metal-carbeno e ligantes relacionados	15
Tabela 4 – Porcentagens experimentais e teóricas de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos obtidos	25
Tabela 5 – Condutividade molar dos complexos obtidos	25
Tabela 6 – Deslocamentos químicos (δ , ppm) obtidos do RMN de ^1H para alguns complexos e ligantes	28
Tabela 7 – Deslocamentos químicos (δ , ppm) obtidos do RMN de ^{195}Pt para complexos DMSO	29
Tabela 8 – Valores de IC_{50} encontrado para os compostos listados	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

FDA – *Food and Drugs Administration*

FF – Forma farmacêutica

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA - *Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

INCA – Instituto Nacional do Câncer

M – mol L⁻¹

CHN – Carbono, hidrogênio e nitrogênio (análise elementar)

CHNS – Carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre (análise elementar)

IR – *Infrared* (infravermelho)

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

DMF – Dimetilformamida

Λ_M – Condutividade molar

BH – Benzohidrazida

4NH – 4-nitrobenzohidrazida

4TF – 4-(trifluorometil)benzohidrazida

CNH – Carbeno N-heterocíclico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Íons metálicos e suas aplicações medicinais	9
1.2 Câncer.....	12
1.3 Compostos de coordenação, suas propriedades e atividade antitumoral	14
1.4 Complexos de platina e mecanismos de ação	15
2 OBJETIVOS	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Reagentes, solventes e precursores.....	21
3.2 Instrumentação e medidas.....	21
3.3 Síntese dos complexos	21
3.3.1 Complexos do tipo <i>trans</i> -[PtCl ₂ (DMSO)(L)]	21
3.3.1 Complexos do tipo <i>cis</i> -[PtCl ₂ (L) ₂]	22
3.4 Dados obtidos para os complexos.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
4.1 Análise elementar.....	24
4.2 Análise condutométrica.....	25
4.3 Análise espectroscópica na região do infravermelho.....	26
4.4 Análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear.....	28
4.5 Solvólise.....	29
4.5 Estudos citotóxicos	33
5 CONCLUSÃO	34

1 INTRODUÇÃO

1.1 Íons metálicos e suas aplicações medicinais

O correto funcionamento do organismo humano depende, em parte, de cátions metálicos. Sabe-se, por exemplo, que há metais imprescindíveis para diversas funções biológicas; como o ferro (Fe), em baixas concentrações, bem como o sódio (Na), o potássio (K) e o cálcio (Ca) em altas concentrações. Utilizando-se um homem adulto de 70 kg como referência, cerca de 1 kg de sua massa será composta por cálcio, 140 g por potássio e 105 g por sódio. A deficiência de algum desses metais pode inclusive ocasionar a morte de um indivíduo, por outro lado, em altas concentrações eles podem causar diversos efeitos tóxicos, conforme pode ser observado na Tabela 1 (BENITE et al, 2007, p. 2062).

Tabela 1 – Problemas relacionados à desordem de íons metálicos no organismo.

Metal	Deficiência	Excesso ou envenenamento
Cálcio	Tétano; decréscimo da densidade óssea em recém-nascidos; defeitos de calcificação de ossos e dentes; osteoporose	Comprometimento respiratório e perda da função do músculo cardíaco; síndrome do leite-alkalino
Magnésio	Hypomagneseemia; disfunções neuromusculares (tremores e convulsões); cirrose hepática, deficiências diuréticas e defeitos de absorção de nutrientes	Enfraquecimento muscular; coma; síndrome da água dura – diálise
Crômio	Comprometimento da tolerância à glicose; risco de doenças cardiovasculares	Comprometimentos renais; dermatites; sintomas gastrintestinais
Cobalto	Anemia perniciosa	Cardiomiopatia; policitemia
Cobre	Síndrome de Menkes: desordens sanguíneas	Doença de Wilson: depósito de cobre no fígado, cérebro e rim
Zinco	Acrodermatite enteropática; atrofia hipogonadal; problemas respiratórios	Desordens pulmonares
Molibdênio	Carcinogenesi nos seios; câncer no esôfago	Enfraquecimento dos ossos; despigmentação; anemia em gado
Estanho	Retardo do crescimento*	Sintomas gastrintestinais; distúrbios neuromusculares
Vanádio	Retardo do crescimento*	Depressão ou mama em humanos; anemia em animais e danos ao fígado, rim e coração
Níquel	Retardo do crescimento ósseo*; anormalidades nos hepatócitos*	Neurotoxicidade; pneumonite; hipoglicemia; desordens gastrintestinais; dermatite crônica; carcinogenese respiratória
Manganês	Retardo do crescimento*	Disfunções no fígado; distúrbios neuromusculares; sintomas similares ao Parkinsonismo
Sódio	Hiponatremia; síndrome da secreção inapropriada de hormônio antidiurético	Hipernatremia
Potássio	Bulimia; anorexia nervosa; acidez renal	Comprometimento das funções diuréticas

*animais

Adaptado de: BENITE et al, 2007, p. 2065.

Alguns exemplos específicos de homeostase metálica do organismo humano envolvem a anidrase carbônica, responsável pela hidratação do gás carbônico (CO_2) que é produzido durante a cadeia respiratória. No sítio catalítico dessa enzima encontra-se um átomo de zinco, responsável direto pela enorme constante de velocidade da reação que, em outros casos, demoraria dez milhões de vezes a mais para ocorrer. Também pode-se mencionar a alta solubilidade de oxigênio molecular (O_2) no sangue devido a uma metaloproteína, conhecida como hemoglobina, e que apresenta um íon Fe^{2+} em seu núcleo ferroporfirínico (TOMA, 2015, p. 102).

Tendo em vista a importância de metais no organismo, é evidente que eles sejam utilizados a fim de tratar enfermidades, preveni-las, etc. Compostos a base de metais vêm sendo usados com finalidade medicinal desde a Antiguidade. Civilizações como a Assíria, a Egípcia, a Chinesa, dentre outras, já conheciam a importância dessas substâncias. O trióxido de arsênio (As_2O_3), por exemplo, foi muito utilizado pelos chineses como antisséptico e no tratamento de doenças reumatóides, sífilis e psoríases. Antes do advento de tratamentos mais modernos que se deram após o século XX, como a radioterapia, essa substância foi utilizada inclusive no tratamento de leucemia (NDAGI et al, 2017, p. 599). A China também foi a primeira nação a utilizar o ouro (Au) como agente terapêutico. Dentre as enfermidades que foram tratadas por esse metal estão furúnculos, úlceras na pele e doenças nos pulmões. A partir de técnicas de purificação do ouro desenvolvidas a partir do século II D.C., foi possível para os chineses a obtenção de soluções de sais de ouro chamadas de “ouro potável”. Uma das formas utilizadas para sua obtenção foi a oxidação do ouro metálico na presença de cloreto de ferro(III) e oxigênio (HUAIZHI; YUANTAO, 2000, p. 24). Os indianos também apresentaram grande domínio sobre os materiais inorgânicos para fins medicinais. Seu sistema medicinal era denominado *Ayurvedic* e data de aproximadamente 5000 A.C., no qual existem registros de diversos metais utilizados para o tratamento de doenças. Por exemplo, o cobre era utilizado em casos de envenenamento e distúrbios da pele e dos olhos e óxidos de ferro eram utilizados no tratamento de anemia e processos inflamatórios (GALIB et al, 2011, p. 57).

O uso de metais na medicina foi evoluindo ao longo dos séculos e atualmente representa parte do arsenal terapêutico contra uma diversa gama de doenças. A Tabela 2 apresenta uma relação de alguns compostos utilizados na composição de fármacos e que foram aprovados pela

FDA (FDA, 2020) (DailyMed, 2020). Isótopos radioativos são utilizados em diagnósticos de imageamento ou como agentes de contraste; complexos metálicos são utilizados no tratamento de diversos tipos de tumores e assim por diante (SINGH; SHARMA, 2018, p. 198).

Tabela 2 – Compostos metálicos utilizados em fármacos que foram aprovados pelo órgão FDA.

Número	Metal	Nome/forma	Uso/tratamento	FF ^A	Dosagem ^B
1	Alumínio (Al)	Hidróxido	Azia	Tablete	160 mg
		Sulfato	Irritação cutânea	Pó	1347 mg
2	Bismuto (Bi)	Subcarbonato de bismuto	Azia, diarreia, náusea	Suspensão	525 mg/30 mL
		Subcitrato de bismuto potássico	Pacientes com <i>Helicobacter pylori</i>	Cápsula	140 mg
3	Cálcio (Ca)	Carbonato	Antiácido	Tablete	800 mg
4	Lítio (Li)	Carbonato	Depressão, disordem bipolar	Pó	300 mg
5	Cobre (Cu)	-	Contraceptivo intrauterino	-	-
6	Arsênio (As)	Trióxido	Leucemia	Solução injetável	2 mg/mL
7	Ferro (Fe)	Complexo de ferro	Anemia, doença crônica renal	Solução injetável	20 mg/mL
8	Magnésio (Mg)	Sulfato de magnésio	Eclampsia	Solução injetável	1 g/100 mL
		Hidróxido de magnésio	Azia	Tablete	165 mg
9	Platina (Pt)	Complexo de Pt(II)	Câncer	Pó liofilizado	50 mg
10	Samário (Sm)	Complexo de samário (quelante tetrafosfonato)	Câncer ósseo	Solução injetável	5-46 µg/mL
11	Prata (Ag)	Sulfadiazina de prata	Antimicrobiano	Creme	10 mg/g
12	Sódio (Na)	Fosfato de sódio	Laxante osmótico	Tablete	1,5 g
13	Estrôncio (Sr)	Complexo de estrôncio (esomeprazol)	Refluxo, úlcera gástrica	Cápsula de liberação retardada	24,65 mg 49,3 mg
14	Titânio (Ti)	-	Substituição de quadril e joelho	-	-
15	Zircônio (Zr)	Ciclocilicato sódico	Hipercalemia (elevada concentração sanguínea de potássio)	Suspensão	10 g
16	Zinco (Zn)	Óxido	Dermatite, candidíase	Pomada	15% (m/m, 150 mg)

Legenda:

^A Forma farmacêutica

^B Por dose unitária, conforme bula

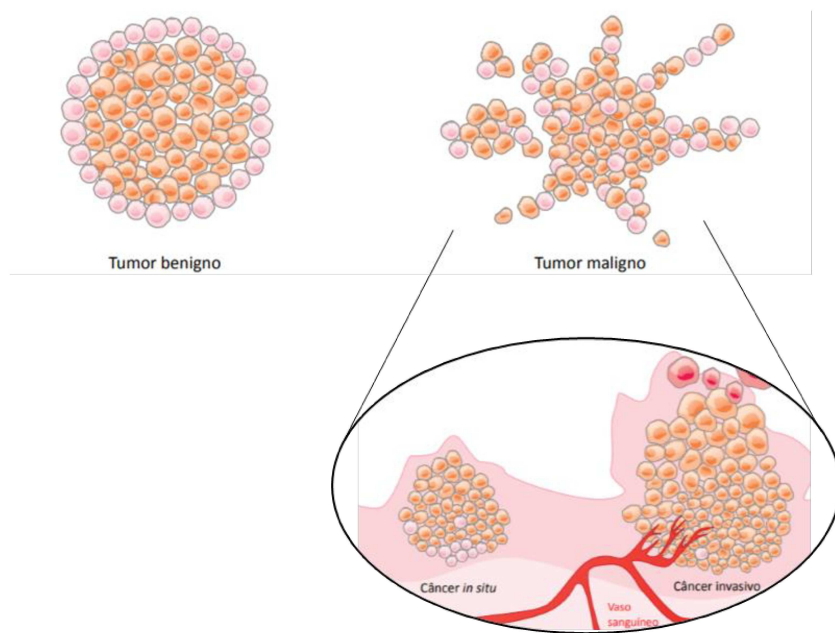
Adaptado de: SINGH; SHARMA, 2018, p. 200.

1.2 Câncer

Conforme mencionado, uma das doenças tratadas por meio de compostos a base de metais é o câncer. O câncer corresponde a um conjunto de mais de cem neoplasias malignas que têm em comum alguns fatores: autossuficiência em sinais de crescimento, insensibilidade a sinais de anticrescimento, evasão de apoptose (morte celular), potencial de replicação sem limites, angiogênese (criação de vasos sanguíneos) sustentada, invasão de tecidos e metástase. Essas mudanças na fisiologia celular resultam de um acúmulo de alterações genéticas (CATTLEY; RADINSKY, 2004, p. 116).

As neoplasias podem ser definidas como a proliferação anormal de tecidos e são divididas em dois grupos: as benignas e as malignas. Conforme ilustrado na Figura 1, as neoplasias benignas apresentam crescimento de forma organizada e apesar de não causar metástase, isto é, a invasão das células cancerígenas em demais tecidos do organismo, pode ser responsável pela compressão de órgãos. O tumor maligno pode progredir de um câncer *in situ*, ainda curável, para um câncer invasivo, que utiliza a corrente sanguínea e o sistema linfático para se disseminar (INCA, 2019, p. 14).

Figura 1 – Representação de um tumor benigno, com limites nítidos, e de um tumor maligno. O tumor maligno pode ser classificado em duas formas: o câncer *in situ* e o invasivo.

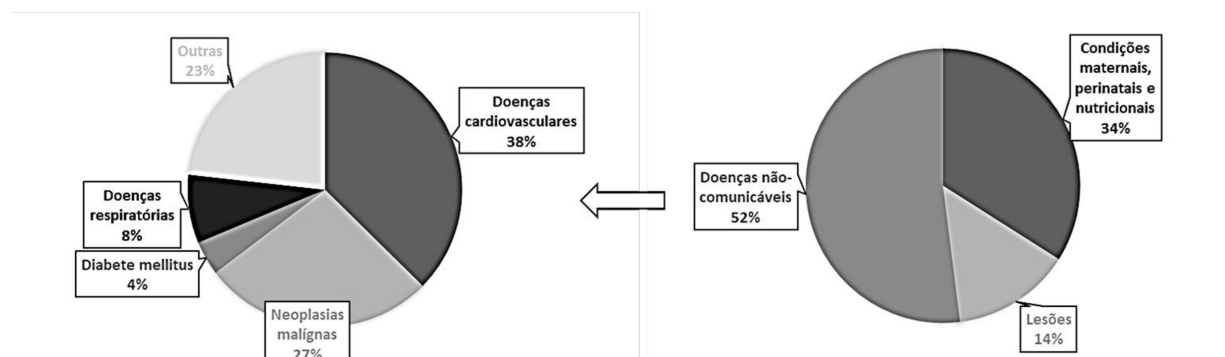


Adaptado de: INCA, 2019, p. 14.

Como descrito anteriormente, o câncer se forma a partir do acúmulo de mutações. As células passam por mutações espontâneas, que são processos normais. Além disso, certas substâncias ou microrganismos também são responsáveis por alterações no DNA. Quando tais alterações ocorrem em genes específicos, denominados proto-oncogenes, ocorre a cancerização da célula (INCA, 2019). A origem do câncer pode ser ocupacional, viral ou natural. Por exemplo, a exposição a vapores de ácido sulfúrico (H_2SO_4), formaldeído (CH_2O), 1,3-butadieno, óxido de etileno, do mesmo modo que novos compostos sintéticos como o Bisfenol A (utilizado na manufatura de plásticos policarbonatos) já demonstraram capacidade de formação de câncer. Além disso, vírus como o HTLV-1, o HIV, o HBV, o HPV e alguns hormônios como a estrona, radiação ultravioleta, álcool, tabaco, poeira de madeira e até mesmo certas ervas já apresentaram potencial tumoral (BLACKADAR, 2016).

Devido a tantos fatores que causam pré-disposição ao câncer, ele é atualmente uma das doenças mais graves que a sociedade enfrenta. As neoplasias malignas estão classificadas dentro de um grupo de doenças denominadas como doenças não-comunicáveis. Conforme consta na Figura 2, o câncer é atualmente a segunda maior causa de mortes globais, atrás apenas de doenças cardiovasculares (WHO, 2014, p. 10). O *World Cancer Report*, produzido pela Organização Mundial da Saúde e que utiliza dados do projeto *GLOBOCAN*, estimou para o ano de 2016 um total de 40,5 milhões de mortes relacionadas às doenças não-comunicáveis. Cerca de um terço (15,2 milhões) dessas mortes ocorreram em pessoas de 30 a 69 anos de idade. Dessas mortes prematuras, quase 30% (4,5 milhões) foram decorrentes de câncer (IARC, 2020, p. 16). De dados do mesmo projeto, *GLOBOCAN*, estima-se que em 2018 houve 18,1 milhões de novos casos de câncer pelo globo e um total de 9,6 milhões de mortes relacionadas à doença. Devido a esse crescimento e a outros fatores, espera-se que o câncer seja a maior causa de mortes e uma importante barreira ao aumento da expectativa de vida no século 21 a nível global (BRAY et al, 2018). Essa tendência de crescimento também é a mesma para o Brasil, com estimativa de que houve 600 mil novos casos para ambos os anos de 2018 e 2019 (INCA, 2019).

Figura 2 – Estimativa de mortes de pessoas abaixo de 70 anos para o ano de 2012.



Adaptado de: WHO, 2014, p. 10.

1.3 Compostos de coordenação, suas propriedades e atividade antitumoral

Tendo em vista os aspectos negativos que as neoplasias malignas trazem para a raça humana, existe uma grande demanda por novos fármacos para o tratamento de câncer. Neste aspecto, alguns complexos metálicos já vêm sendo utilizados com enorme sucesso, embora as taxas de morte por câncer escancarem a necessidade de produzir novos fármacos antitumorais mais eficazes, seguros entre outras propriedades desejáveis (NDAGI et al, 2017).

Os metais de transição incluem uma ampla gama de elementos do “grupo d” da tabela periódica. Esses elementos metálicos apresentam algumas propriedades peculiares, tais como a variação de carga, diversificação estrutural, incluindo-se aí as diferentes interações metal-ligantes, dentre outras propriedades. Algumas dessas características são fundamentais para a utilização de complexos metálicos no tratamento de cânceres. A atividade redox, como exemplo, possibilita diferentes interações em ambientes extra e intracelular; os modos de coordenação variáveis e a reatividade frente a substratos orgânicos fazem com que esses compostos sejam atrativos no design de novas drogas. Além disso, os metais se ligam a biomoléculas e alteram o mecanismo celular de proliferação, podendo agir de diversas formas conforme pode-se verificar na Tabela 3 (NDAGI et al, 2017).

Tabela 3 – Mecanismo de ação e indicação terapêutica de complexos metal-carbeno e ligantes relacionados.

Complexo metálico	Mecanismo de ação proposto	Indicação terapêutica
Complexos CNH de ouro(I) e ouro(III)	Indução de apoptose; indução de espécies reativas de oxigênio	Quimioterapia de tumores sólidos
Complexos CNH de rutênio(II)	Mimetiza o ferro; interação com DNA plasmidial	Quimioterapia de tumores sólidos
Complexos CNH de ródio(I) com derivados de cafeína	Dano ao DNA; diminuição do potencial de membrana mitocondrial	Quimioterapia de tumores sólidos
Complexos CNH-amina de platina(II)	Interação com DNA	Quimioterapia de tumores não-sólidos

Adaptado de: NDAGI et al, 2017, p. 602.

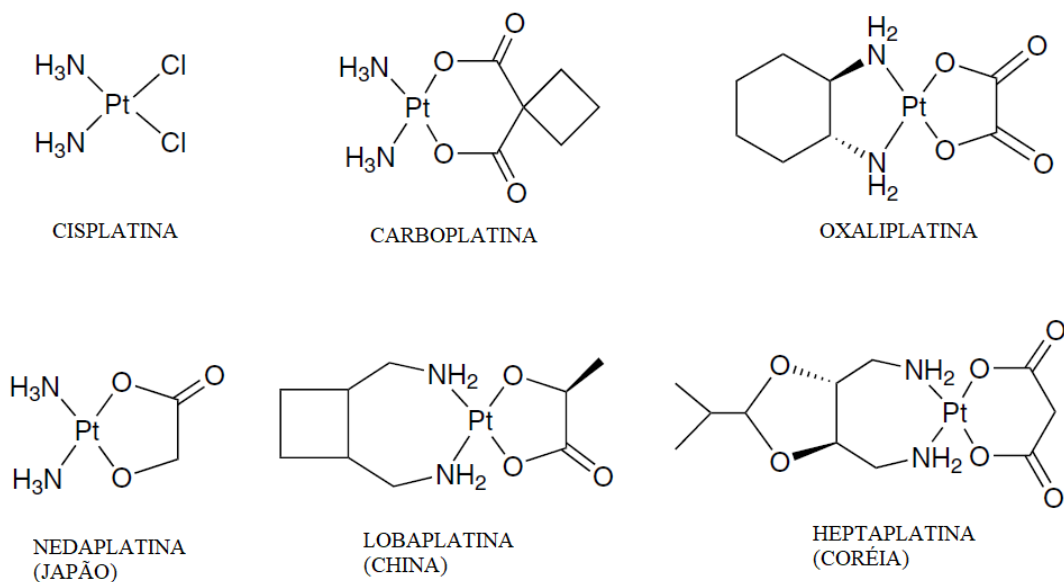
1.4 Complexos de platina e mecanismos de ação

A importância dos complexos de platina(II) é bastante relevante e pode ser percebida em diversos contextos. Dentre os compostos que fazem parte da química inorgânica medicinal, os complexos de platina possuem um lugar de destaque uma vez que cerca de 50% dos pacientes em tratamento quimioterápico recebem medicamentos a base de platina (SINITSYNA et al, 2018). Outro exemplo da sua importância consta no banco de dados de ensaios clínicos mantido pelo *U.S. National Institutes of Health* (NIH), que lista mais de 186 mil ensaios clínicos em cerca de 180 países e cita a cisplatina (Figura 3) em mais ensaios ativos do que qualquer outro agente antitumoral (JOHNSTONE et al, 2016). No registro de dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), a carboplatina (Figura 3) se encontra como o sétimo antineoplásico mais prescrito (CDC, 2020).

A primeira droga anticâncer foi a cisplatina, *cis*-diaminodicloroplatina(II), que foi sintetizada por Peyrone e colaboradores em meados do século XIX sendo inicialmente denominada como “cloreto de Peyrone”. Mais de um século depois, Rosenberg e colaboradores descobriram que complexos de platina poderiam inibir a divisão celular bacteriana e, por conta disso, propuseram que os mesmos poderiam ser utilizados para cessar o crescimento descontrolado de células, que é uma das características principais do câncer. Em 1969, Rosenberg publicou resultados que informavam sobre a efetividade da cisplatina no tratamento de sarcoma 180 (câncer que atinge as células da mesoderme) e leucemia L1210 (câncer do sistema sanguíneo). É interessante notar que o isômero *trans* da cisplatina não apresenta mesma ação biológica, indicando que fatores estruturais estão envolvidos na interação do complexo com

biomoléculas e consequente morte celular (SINITSYNA et al, 2018). Posteriormente, em 1979, a cisplatina foi aprovada pelo órgão estadunidense que regula a administração de drogas, o *US Food and Drug Administration*, para o tratamento de câncer testicular e de ovário. De fato, atualmente sabe-se que a cisplatina é eficaz no tratamento de uma ampla gama de neoplasias, como de pulmão, cabeça, pescoço, bexiga, colorretal etc., por vezes sendo atingido o estado de remissão completa da doença. Atualmente existem seis principais drogas a base de platina utilizadas em tratamento antineoplásico, sendo três delas de uso internacional e as demais em países específicos, conforme consta na Figura 3 (DILRUBA; KALAYDA, 2016).

Figura 3 – Compostos de platina atualmente utilizados no mundo ou em países específicos.



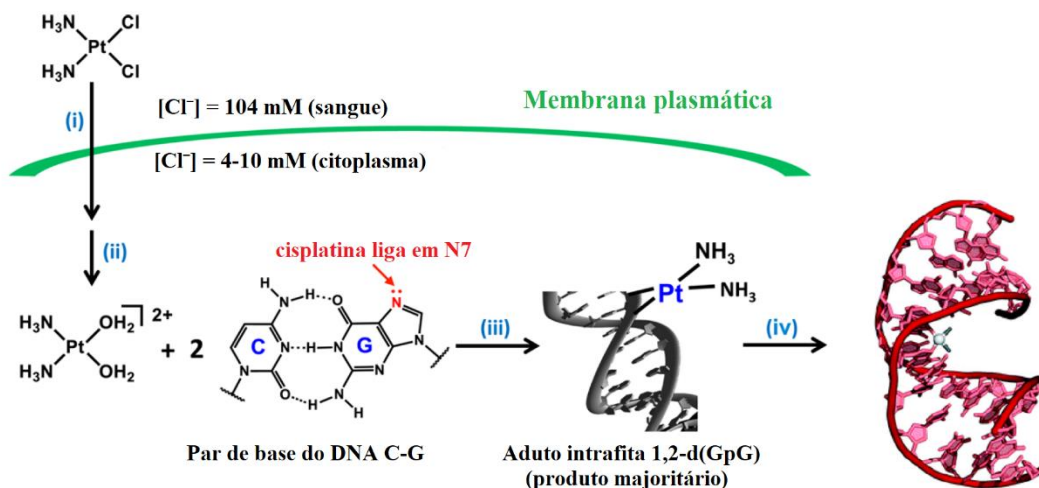
Adaptado de: DILRUBA; KALAYDA, 2016, p. 1104.

Apesar disso, a terapia por meio da cisplatina requer medicação adicional e é acompanhada de efeitos colaterais severos, como nefrotoxicidade (dano aos rins), neuropatia periférica acumulativa (dano ao sistema nervoso periférico), ototoxicidade (dano aos ouvidos), náusea e vômitos. Além disso, muitos tumores apresentam resistência intrínseca a esse medicamento, enquanto outros que são inicialmente sensíveis ao tratamento desenvolvem resistência com o tempo (DILRUBA et al, 2016).

O mecanismo de ação pelo qual a cisplatina exerce seu efeito citotóxico já foi alvo de diversos estudos e investigações, e pode ser descrito em basicamente quatro etapas, conforme

demonstrado na Figura 4: (i) absorção pela célula, (ii) aquação/ativação, (iii) ligação ao DNA e (iv) processamento celular das lesões ao DNA que levam a morte da célula. Esse mecanismo pode ser utilizado para descrever a maioria dos complexos neutros de platina(II) que apresentam estrutura quadrado-planar, dois ligantes aniônicos *cis* e dois ligantes do tipo amina também *cis* (JOHNSTONE et al, 2016).

Figura 4 – Etapas da cisplatina no organismo.



Adaptado de: JOHNSTONE et al, 2016, p. 3438.

Na etapa (i) a cisplatina adentra a célula por dois meios: difusão passiva através da membrana e por meio de transporte ativo, carregada por proteínas da membrana. A difusão passiva é suportada pelo pequeno tamanho da molécula e sua geometria planar; sua concentração celular não é saturada, mas equivalente a quantidade ministrada; e compostos análogos não inibem sua entrada. Já o transporte ativo é corroborado pelo aumento expressivo de transportadores de cobre, visto que aldeídos reativos inibem a captação da cisplatina, provavelmente interagindo com esses biotransportadores.

Dentro da célula, a cisplatina passa por uma substituição de ligantes. Um ou dois de seus ligantes clorido são substituídos por uma ou duas moléculas de água, formando o complexo $cis-[Pt(NH_3)_2Cl(H_2O)]^+$ ou $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$. Esses complexos não conseguem se formar fora da célula devido à alta concentração de íons cloreto na corrente sanguínea, conforme mostrado na Figura 4. Por apresentar carga positiva, ele é atraído pelo DNA, que por sua vez apresenta caráter negativo.

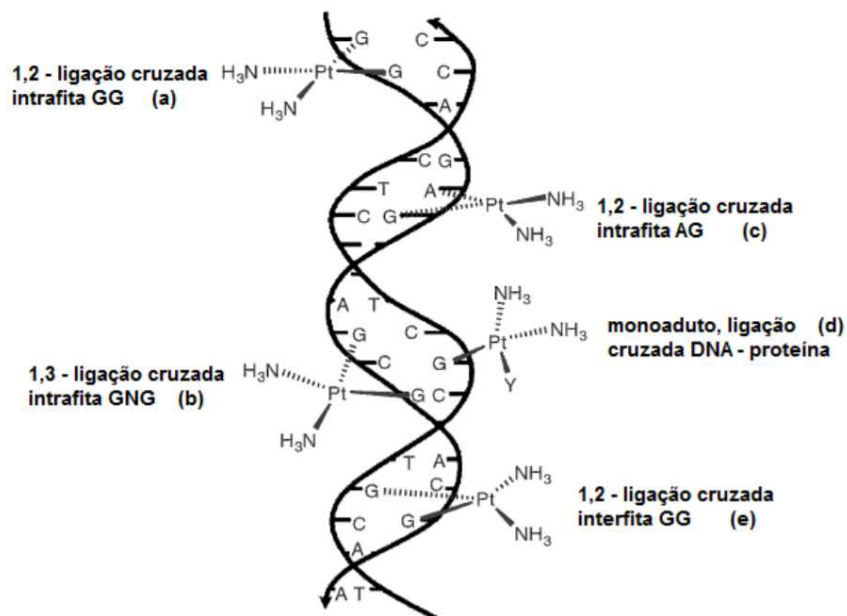
O transporte passivo por meio da camada lipídica é um dos possíveis modelos para entrada da cisplatina no meio celular. A cinética de espécies neutras é maior e, considerando que o meio extracelular apresenta alta concentração de cloreto (por volta de 120 mM), é possível que o complexo *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] entre no meio celular. Por sua vez, o citoplasma apresenta concentração bem menor de cloreto, o que proporciona a aquação da espécie que entrou. Esse complexo carregado sofre então um acúmulo no meio citoplasmático, visto que a difusão passiva não é facilitada no caso de espécies carregadas (ELJACK et al, 2014). Por sua vez, as moléculas de água encontradas nos complexos aquados no meio intracelular são facilmente substituídas por uma das bases heterocíclicas do DNA. Seguido pela formação do aduto monofuncional, o ligante clorido também é substituído por uma segunda base, a guanina, formando uma ligação cruzada com o DNA. Essa ligação com as desoxiguanosinas pode ocorrer na mesma fita ou em fitas diferentes, gerando as ligações intrafita ou interfita, respectivamente. A ligação cruzada de maior predominância é a intrafita 1,2-d(GpG), conforme pode ser observado na Figura 5. Esse tipo de ligação apresenta uma prevalência de 65%, seguido pela 1,2-(ApG) [25% e mostrado em (c)] e pela 1,3-d(GpTpG) [10%, mostrado em (b)]. Tais adutos com o DNA são responsáveis por sua distorção estrutural. A elucidação estrutural de diversos adutos por resolução atômica está disponível, sendo que um deles consta após a etapa (iv) na Figura 4 (JOHNSTONE et al, 2016).

Apesar do sucesso obtido no tratamento antitumoral com a cisplatina, novos compostos com propriedades anticancerígenas são procurados devido aos efeitos prejudiciais trazidos pela administração da cisplatina, como mencionado anteriormente. Uma das estratégias utilizadas para sobrepujar os efeitos colaterais e a resistência celular consiste na variação das moléculas ligadas ao centro metálico de platina(II). Tendo em vista que as biomoléculas são bastante específicas, uma pequena alteração estrutural nos complexos pode gerar diferentes efeitos nas propriedades farmacológicas (OLIVEIRA et al, 2019).

Dentre essas estratégias e tentativas, já estão descritas na literatura a utilização de hidrazidas para a formação de complexos de platina(II). As hidrazidas são uma classe de compostos que apresentam diversas propriedades biológicas, tal como a ação antituberculose da isonicotinohidrazida. Também já foram relatadas a ação bacteriostática de derivados de sulfonil-hidrazidas e sua capacidade de alteração estrutural do DNA, que proporcionou atividade antitumoral contra cepas de melanoma B16, carcinoma pulmonar M109 e leucemia L1210. A

coordenação de moléculas com atividade biológica (como as hidrazidas) a um centro metálico com propriedades citotóxicas (como a platina) possibilita a geração de um efeito sinérgico que pode melhorar suas propriedades biológicas (MANZANO et al, 2017).

Figura 5 – Exemplificação estrutural de ligações formadas entre a cisplatina e o DNA.



Extraído de: CRISAFULI, 2012, p. 36.

Tendo em vista todos os aspectos ditos anteriormente; o plano de ação das Nações Unidas contra doenças não-comunicáveis, que a fim de diminuir o seu número propõe diversas ações como a pesquisa de novos tratamentos (WHO, 2013); assim como o limitado número de compostos de platina(II) contendo hidrazidas que constam na literatura e que, por conseguinte, corresponde a uma área que pode ser explorada (OLIVEIRA et al, 2019), o presente trabalho reporta a síntese, caracterização, solvólise e atividade biológica desse tipo de composto.

2 OBJETIVOS

- 2.1 Sintetizar complexos *trans* de platina(II) contendo ligantes do tipo hidrazida;
- 2.2 Caracterizar esses compostos e verificar seu comportamento em solução e;
- 2.3 Verificar a atividade citotóxica dos mesmos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes, solventes e precursores

O complexo *cis*-[PtCl₂(DMSO)₂] foi sintetizado de acordo com o método já descrito na literatura (PRICE et al, 1971). As hidrazidas foram adquiridas da Sigma Aldrich. Todos os demais reagentes e solventes apresentaram grau de pureza analítico e foram adquiridos de diferentes fornecedores.

3.2 Instrumentação e medidas

As medidas de condutividade foram realizadas em DMSO (concentração molar 10⁻³ M) utilizando o condutivímetro Tecnal mCA-150. As análises elementares dos complexos (CHN ou CNHS) foram realizadas em um analisador elementar PerkinElmer modelo 2400. As amostras foram aquecidas da temperatura ambiente até 600 °C, a 10 °C/min, em atmosfera dinâmica de nitrogênio (fluxo de 200 mL/min). Os espectros de IR (faixa de 4000 a 200 cm⁻¹) foram obtidas em um espectrômetro PerkinElmer Frontier MIR contendo óptica de iodeto de cério (CsI) e acoplado a um amostrador de reflectância total atenuada (ATR) contendo cristal de diamante. Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker, com as amostras dos complexos previamente dissolvidas em DMSO-*d*₆ ou DMF-*d*₇. Os deslocamentos químicos foram expressos como δ (em ppm) com referência interna de tetrametilsilano (RMN de ¹H).

3.3 Síntese dos complexos

Os complexos **II** (DODOFF, 1994), **IV** (SOUZA, 2013) e **VI** (OLIVEIRA, 2016) já foram descritos na literatura. Os complexos foram obtidos conforme procedimentos a seguir. Eles estão ilustrados na Figura 6.

3.3.1 Complexos do tipo *trans*-[PtCl₂(DMSO)(L)]

Uma quantidade de 0,25 mmol de hidrazida foi dissolvida em 3 mL de metanol. Essa solução foi adicionada a uma solução metanólica (5 mL, 60-70 °C) contendo 0,25 mmol de *cis*-[PtCl₂(DMSO)₂]. Após 20 minutos o aquecimento foi desligado e a mistura foi agitada durante 48 horas. Esse procedimento foi seguido pela filtração dos precipitados, que ainda foram lavados com água e metanol e secos sob pressão reduzida.

3.3.2 Complexos do tipo *cis*-[PtCl₂(L)₂]

Uma quantidade de 0,25 mmol de hidrazida foi dissolvida em metanol. Essa solução foi adicionada a uma solução aquosa contendo 0,125 mmol de K₂[PtCl₄]. A mistura foi agitada durante 48 horas. Esse procedimento foi seguido pela filtração dos precipitados, que ainda foram lavados com água e metanol e secos sob pressão reduzida.

3.4 Dados obtidos para os complexos

Complexo **I**, [PtCl₂(DMSO)(BH)]. Rendimento: 74%. Cor: Marrom. Massa molar (g.mol⁻¹): 480,27. Análise elementar calculada para [Pt(C₇H₈N₂O)(C₂H₆SO)Cl₂]: C, 22,51; H, 2,94; N, 5,83%; Encontrado: C, 22,08; H, 2,96; N, 5,64%. RMN de ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,72 (s, 1H), 7,79 (d, 2H, J₂₋₆ = 4,8), 7,71 (s, 1H), 7,56 (t, 1H, J₄ = 4,5), 7,47 (t, 3H, J₃₋₅ = 4,5), 3,36 (s, 6H, dmsO). RMN de ¹⁹⁵Pt (86 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): -3037,0. Espectro IR, ν (cm⁻¹): 3253, 3197, 3150, 3112, 3005, 2916, 1634, 1602, 1567, 1508, 1481, 1447, 1406, 1310, 1296, 1234, 1158, 1125, 1073, 1042, 1016, 976, 930, 912, 899, 852, 839, 800, 757, 740, 717, 688, 622, 571, 510, 442, 411, 403, 376, 355, 320, 275, 235. Λ_M (10⁻³ M; DMSO) = 12,68 S cm² mol⁻¹.

Complexo **III**, [PtCl₂(DMSO)(4NH)] Rendimento: 54%. Cor: Branca. Massa molar (g.mol⁻¹): 525,26. Análise elementar calculada para [Pt(C₇H₇N₃O₃)(C₂H₆SO)Cl₂]: C, 20,58; H, 2,50; N, 8,00; S, 6,11%; Encontrado: C, 20,85; H, 2,57; N, 8,04; S, 6,51%. RMN de ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,14 (s, 1H), 8,30 (d, 2H, J₃₋₅ = 5,4), 8,01 (d, 2H, J₂₋₆ = 5,1), 7,83 (s, H), 3,50 (s, 6H, DMSO). RMN de ¹⁹⁵Pt (86 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): -3032,9. Espectro IR, ν (cm⁻¹): 3306, 3225, 3158, 3091, 3071, 3050, 3020, 2958, 2919, 1675, 1643, 1601, 1576, 1525, 1512, 1479, 1418, 1400, 1351, 1327, 1318, 1299, 1244, 1152, 1116, 1023, 1012, 978, 934, 912, 869, 852, 838, 777, 740, 731, 716, 689, 627, 566, 546, 511, 483, 440, 417, 369, 360, 331, 308, 264, 246, 241, 236, 228. Λ_M (10⁻³ M; DMSO) = 10,55 S cm² mol⁻¹.

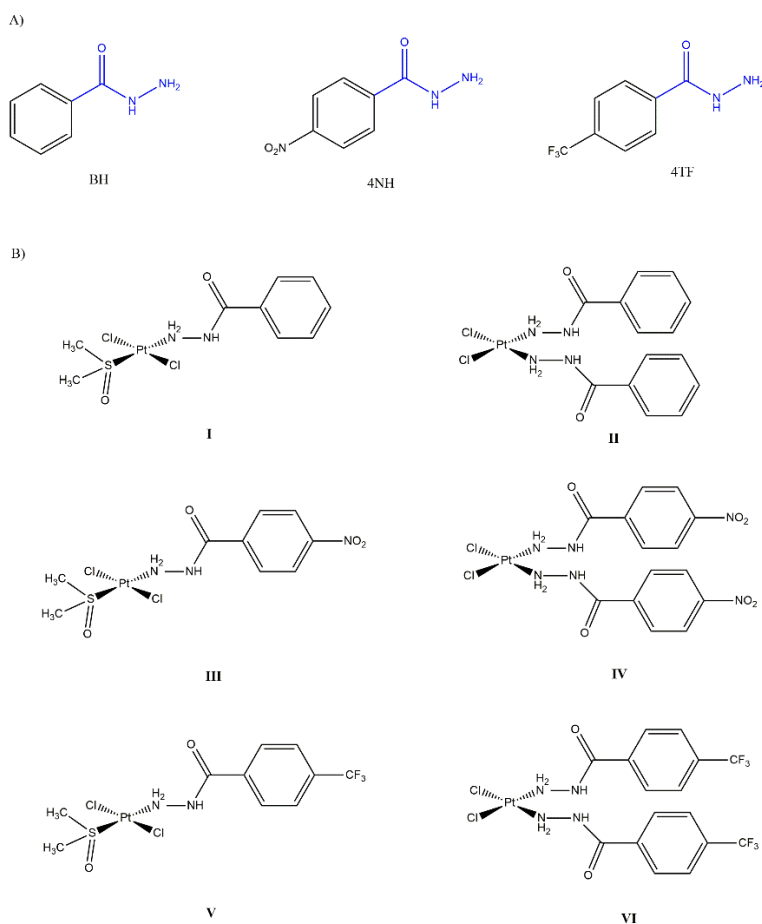
Complexo **V**, [PtCl₂(DMSO)(4TF)] Rendimento: 42%. Cor: Branca. Massa molar (g.mol⁻¹): 548,27. Análise elementar calculada para [Pt(C₈H₇F₃N₂O)(C₂H₆SO)Cl₂]: C, 21,91; H, 2,39; N, 5,11; S, 5,85%; Encontrado: C, 21,43; H, 2,09; N, 5,36; S, 6,27%. RMN de ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,02 (s, 1H), 7,98 (d, 2H, J₂₋₆ = 5,1), 7,85 (d, 2H, J₃₋₅ = 5,1), 7,80 (s, 1H), 3,43 (s, 6H, dmsO). RMN de ¹⁹⁵Pt (86 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): -3033,3. Espectro IR, ν

(cm^{-1}): 3314, 3226, 3203, 3178, 3161, 3095, 3011, 2920, 1679, 1655, 1620, 1606, 1576, 1524, 1487, 1412, 1328, 1313, 1302, 1249, 1177, 1155, 1124, 1113, 1065, 1026, 1016, 981, 939, 915, 906, 861, 780, 767, 735, 700, 692, 636, 593, 530, 509, 471, 442, 401, 370, 356, 342, 325, 306, 282, 263, 247, 228. $\Lambda_M (10^{-3} \text{ M}; \text{DMSO}) = 10,54 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

3.5 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio foi realizado na UFMG. Para a avaliação da atividade citotóxica foram cultivadas 10^5 células mL^{-1} em 72 horas na presença de diversas concentrações dos compostos sintetizados e também nas suas ausências. A sensibilidade das células aos compostos foi avaliada pela concentração responsável por inibir seu crescimento em 50%, a ser chamado de IC_{50} . As soluções contendo DMSO ou DMF como solventes foram diluídas para as respectivas concentrações utilizadas nos testes, sendo que foi verificado que nessas concentrações os solventes não apresentaram efeito sobre o crescimento celular.

Figura 6 – Estrutura dos ligantes (hidrazidas) e estruturas propostas para os complexos.



4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

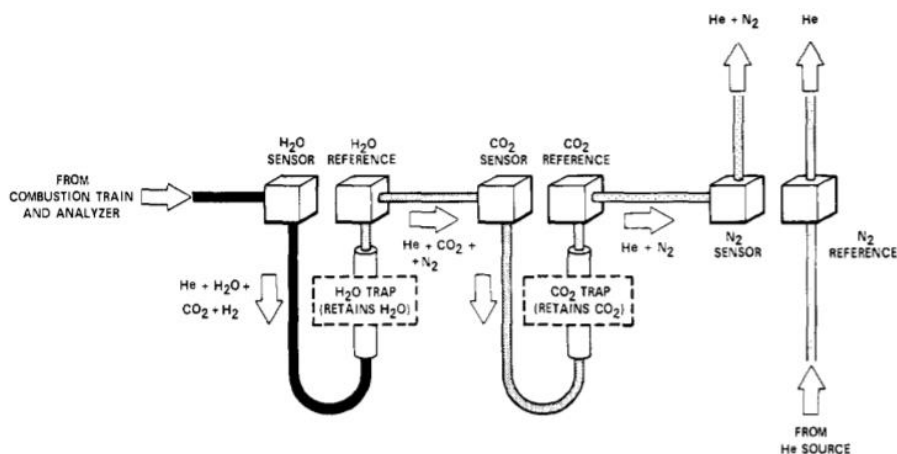
A reação resultou em precipitados sólidos de cor branca (**III** e **V**) ou marrom (**I**) que apresentaram solubilidade nos solventes DMSO e DMF e rendimentos entre 42% a 74%. Eles foram caracterizados por meio de diversas técnicas físico-químicas e espectroscópicas, tais como análise elementar, condutividade elétrica, espectroscopia na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear. A análise das informações obtidas por meio dessas técnicas sugere que os complexos de platina apresentam estereoquímica *trans* e não são eletrólitos, isso é; não geram ânion e cátion em solução. A estrutura dos ligantes (A) e a estrutura proposta para os complexos (B) estão apresentadas na Figura 6. O grupamento característico das hidrazidas, $R_1R_2NNHC=OR_3$, está destacado em azul; a geometria quadrado-planar dos complexos de platina(II) está ilustrado em (B). Os dados dos complexos, já mostrados previamente, serão novamente exibidos em formato de tabela a fim de melhor contribuir para o entendimento.

4.1 Análise elementar

O analisador elementar PerkinElmer modelo 2400 utilizado na determinação desses índices opera por meio do método Pregl-Dumas (PERKINELMER, 2011). Conforme ilustrado na Figura 7, esse método consiste na combustão da amostra, que passa primeiramente por um detector de H_2O . Depois disso, filtra-se a água remanescente, sendo então calculado o percentual de hidrogênio da amostra. Os gases remanescentes, hélio (He, gás de arraste), dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2) continuam o trajeto e passam por um sensor de CO_2 . Esse gás é removido por um filtro logo em seguida e então mensura-se o percentual de carbono. Por último, o gás nitrogênio passa por um sensor de N_2 e o valor obtido é comparado à quantidade desse gás presente no gás de arraste, hélio.

Os dados obtidos por meio da análise elementar estão de acordo com as formulações propostas. Conforme pode-se observar na Tabela 4, os valores experimentais e teóricos de carbono, hidrogênio e nitrogênio apresentam desvios menores que 0,5 em todos os casos.

Figura 7 – Esquema do método Pregl-Dumas para detecção de C, H e N.



Extraído de: PATTERSON, 1973, p. 606.

Tabela 4 – Porcentagens experimentais e teóricas de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos obtidos.

Complexo	%C	%H	%N
I	22,08	2,96	5,64
I, teórico	22,51	2,94	5,83
III	20,85	2,57	8,04
III, teórico	20,58	2,50	8,00
V	21,43	2,09	5,36
V, teórico	21,91	2,39	5,11

4.2 Análise condutométrica

Os dados obtidos por meio da análise condutométrica estão descritos na Tabela 5. A faixa de condutividade molar para soluções de DMSO que indica a presença de eletrólito 1:1 é de 20 a 62 S cm² mol⁻¹ (VELHO, 2006). Todos os complexos aqui relatados apresentaram valores abaixo dessa faixa, indicando que os mesmos são não-eletrólitos. Isso corrobora com as estruturas propostas, visto que a carga positiva do íon de Pt²⁺ está balanceada por dois íons Cl⁻ presentes em sua esfera de coordenação. Isso resulta em complexos eletronicamente neutros.

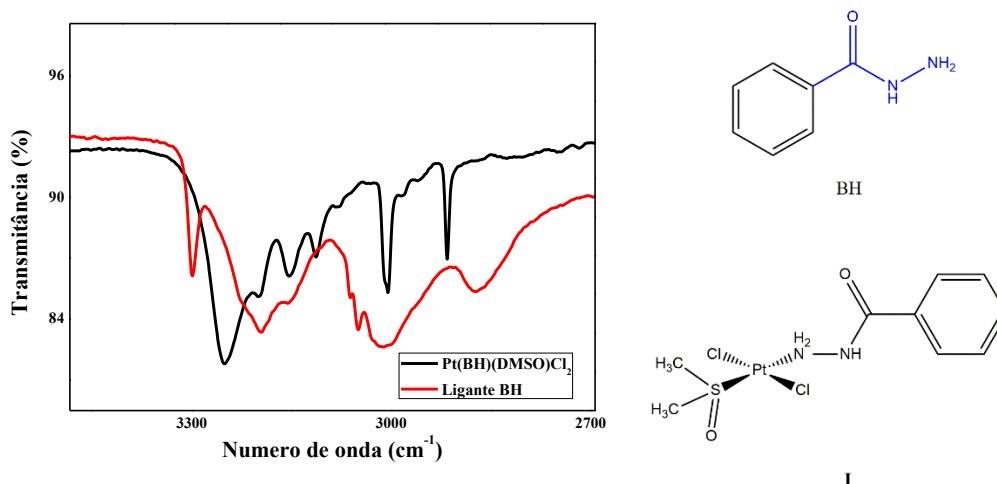
Tabela 5 – Condutividade molar dos complexos obtidos.

Complexo	I	III	V
Λ_M (S cm ² mol ⁻¹)	12.68	10.55	10.54

4.3 Análise espectroscópica na região do infravermelho

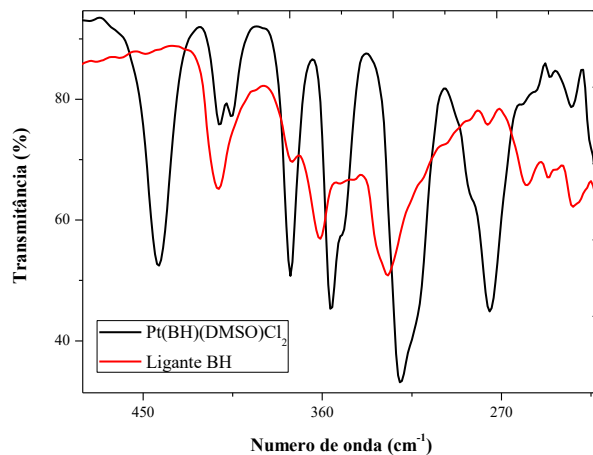
A espectroscopia de infravermelho permite inferir os modos de vibração presentes na ligação química entre dois átomos ou até mesmo entre grupos funcionais. É considerado como radiação infravermelho toda onda eletromagnética cujo comprimento varia de 0,7 μm a 300 μm . Devido a essa ampla faixa, a radiação no infravermelho é subdividida em três faixas menores. No presente trabalho será focado a faixa correspondente ao infravermelho médio, que corresponde a 2,5 μm até 25 μm ou, em termos de número de onda, 4000 a 400 cm^{-1} (THEOPHANIDES, 2012). Os espectros completos encontram-se nos anexos. A seguir serão mostradas partes específicas dos espectros.

Figura 8 – Espectro IR do complexo **I** com foco na região próxima a 3300 cm^{-1} e estrutura do ligante e do complexo.



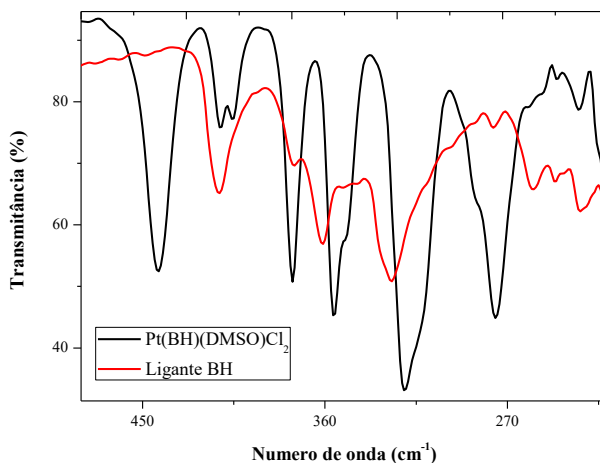
No caso dos complexos aqui relatados, pode-se observar primeiramente os estiramentos simétrico e assimétrico do grupo NH_2 e também NH por meio de absorções características na região de 3300 a 3100 cm^{-1} . Conforme descrito na Figura 8, em relação ao ligante BH não coordenado, o sinal em 3300 cm^{-1} (NH_2 BH) é deslocado no complexo para uma frequência menor, 3250 cm^{-1} , indicando que o metal se coordenou a um átomo de nitrogênio do ligante (RODRIGUES, 2015). Essa mesma tendência é observada para os demais complexos. É interessante notar que o deslocamento de sinais para menores frequências indica uma redução da constante de força da ligação (PAVIA et al, 2009).

Figura 9 – Espectro IR do complexo **I** com foco na região próxima a 1220 cm^{-1} .



Complexos que apresentam uma molécula de DMSO são mais difíceis de atribuir qual banda pertence ao movimento vibracional da ligação Pt-S pois a mesma pode estar acoplada ao $\nu(\text{Pt-Cl})$ e a bandas correspondentes a vibrações do próprio ligante. Apesar disso, é possível estabelecer com relativa precisão o estiramento da ligação SO, que em complexos de platina geralmente se encontram entre $1100\text{-}1150\text{ cm}^{-1}$ (ALMEIDA et al, 1992). A banda grande em 1127 cm^{-1} pode ser indicativa do $\nu(\text{SO})$, visto que não apresentava a mesma intensidade no ligante livre conforme a Figura 9.

Figura 10 – Espectro IR do complexo **I** com foco na região próxima a 330 cm^{-1} .



A ligação metal-haleto, no caso de complexos que a apresentam, pode ser encontrada como frequências vibracionais na região de 83 cm⁻¹ a 680 cm⁻¹. Mais especificamente, o $\nu(\text{Pt-Cl})$ pode ser encontrado na região próxima a 330 cm⁻¹ (NAKAMOTO, 2006). A presença de uma banda em 306 cm⁻¹ indica que a geometria dos átomos Cl–Pt–Cl é *trans*, enquanto estiramentos por volta de 320 - 340 cm⁻¹ indicam uma configuração *cis* (ALLEN, THEOPHANIDES, 1996). Foi observado um ombro em 309 cm⁻¹ que não estava presente no ligante, podendo ser atribuído a $\nu(\text{Pt-Cl})$ com configuração *trans*, conforme evidenciado pelas demais técnicas.

4.4 Análise espectroscópica de ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear mede com precisão a frequência de ressonância de átomos que apresentam momento angular de spin. Os átomos que apresentam essa propriedade com valor diferente de zero, isto é, apresentam spin quantizável, são aqueles que possuem número de massa ou número atômico ímpares, ou ambos. O átomo de ¹H, por exemplo, apresenta número de massa igual a 1 e número atômico igual a 1, com número quântico de spin nuclear igual a ½ e, portanto, passível de ser medido pela técnica. A RMN dá informação sobre a quantidade de átomos magneticamente distintos de uma molécula e se distingue da técnica de IR, que revela os tipos de grupos funcionais presentes na molécula (PAVIA, 2009).

Tabela 6 – Deslocamentos químicos (δ , ppm) obtidos do RMN de ¹H para alguns complexos e ligantes.

Composto	NH ₂	NH	(CH ₃) ₂ SO
BH	4,5s	9,77s	
I	7,71s	10,72s	3,36
4NH	4,65s	10,13s	
III	7,83s	11,14s	3,50
4TF	4,60s	10,03s	
V	7,80s	11,02s	3,43

s = singleto

Foram obtidos os espectros de RMN de ¹⁹⁵Pt e ¹H para os compostos. Os espectros estão descritos nos anexos e são compatíveis com a formação das mesmas espécies obtidas por Oliveira e colaboradores (OLIVEIRA et al, 2019). Conforme pode-se observar na Tabela 6, os sinais referentes aos prótons do grupo NH₂ formam um singleto. Isso ocorre pois existe um plano de simetria nesse grupo de átomos, o que faz com que os dois hidrogênios sejam equivalentes em

termos da frequência de ressonância (PAVIA et al, 2009). Também é possível perceber que todos os sinais referentes a esse grupo nos complexos são deslocados para campos mais baixos em relação aos seus respectivos ligantes. Isso indica a coordenação do metal via nitrogênio do grupo NH₂, visto que os sinais referentes ao grupo NH são deslocados em menor intensidade (MAHALINGAM et al, 2009).

No caso dos complexos **I**, **III** e **V**, foi observado o surgimento de um sinal por volta de 3,36 – 3,43 ppm devido a presença das metilas do DMSO. Essa faixa indica a complexação da molécula de DMSO ao centro metálico via átomo de enxofre (S). A complexação via átomo de oxigênio gera sinais na região de δ 2,7 ppm, o que não foi observado (MAHALINGAM et al, 2009). Os sinais obtidos para o RMN de ¹⁹⁵Pt corroboram esse fato. Conforme consta na Tabela 7, foram verificados deslocamentos entre δ -2200 e δ -3030, que estão de acordo com as esferas de coordenação N₂Cl₂ e NSCl₂ (PRIQUELER et al, 2006).

Tabela 7 – Deslocamento químico (δ , ppm) obtidos do RMN de ¹⁹⁵Pt para complexos em DMSO.

Complexo	I	III	V
- δ , ppm	3137	3033	3024

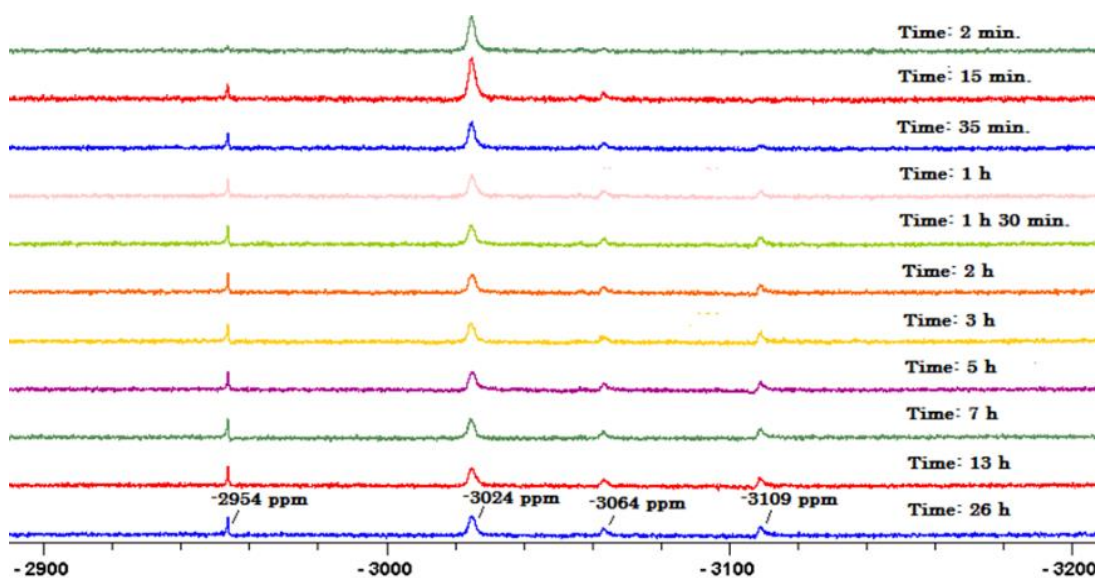
Tal fato também está de acordo com a teoria de dureza e maciez de ácidos e bases de Pearson. Segundo ela, uma espécie macia tende a apresentar grande raio atômico, baixa carga nuclear efetiva e alta polarizabilidade, enquanto espécies duras tendem a apresentar características opostas a essas. Os íons metálicos são considerados ácidos de Lewis e, no caso da platina(II), um ácido mole devido a presença das características supracitadas. Como ácidos moles tendem a se ligar a bases moles, é provável que esse metal tenha maior tendência a se ligar a átomos de enxofre em detrimento a átomos de oxigênio, visto que estes últimos são bases mais duras (BENITE et al, 2007).

4.5 Solvólise

O comportamento dos complexos em solução de DMSO e DMF foi avaliado por meio de RMN de ¹⁹⁵Pt. A solvólise em DMSO para complexos de platina(II) já foi relatada na literatura, sendo que o mesmo comportamento foi observado para os compostos aqui descritos. Para os

complexos do tipo *trans*, contendo uma molécula de DMSO, é observado inicialmente o sinal referente ao composto descrito, em δ -3024 ppm conforme consta na Figura 10. Após isso, o surgimento de uma espécie em campo levemente mais baixo, em δ -2954 ppm, indica a presença do isômero *cis*. Os sinais referentes aos isômeros *cis* são usualmente encontrados em campos levemente mais baixos (menos negativos) do que aqueles relatados para os isômeros *trans*. Por exemplo, em complexos do tipo *cis*-PtA₂Cl₂ em que A = piridina ou picolina, apresentaram sinais por volta de δ -1958 ppm que começaram a perder intensidade após uma hora. Dois novos sinais em δ -2855 ppm e δ -3020 ppm apareceram devido a formação das espécies *cis*- e *trans*-PtA(DMSO)Cl₂. Um estudo similar com *trans*-PtA₂Cl₂ não mostrou tais resultados. (PRIQUELER et al, 2006).

Figura 11 – Espectro do RMN de ¹⁹⁵Pt para o complexo V em DMSO com variação de tempo.



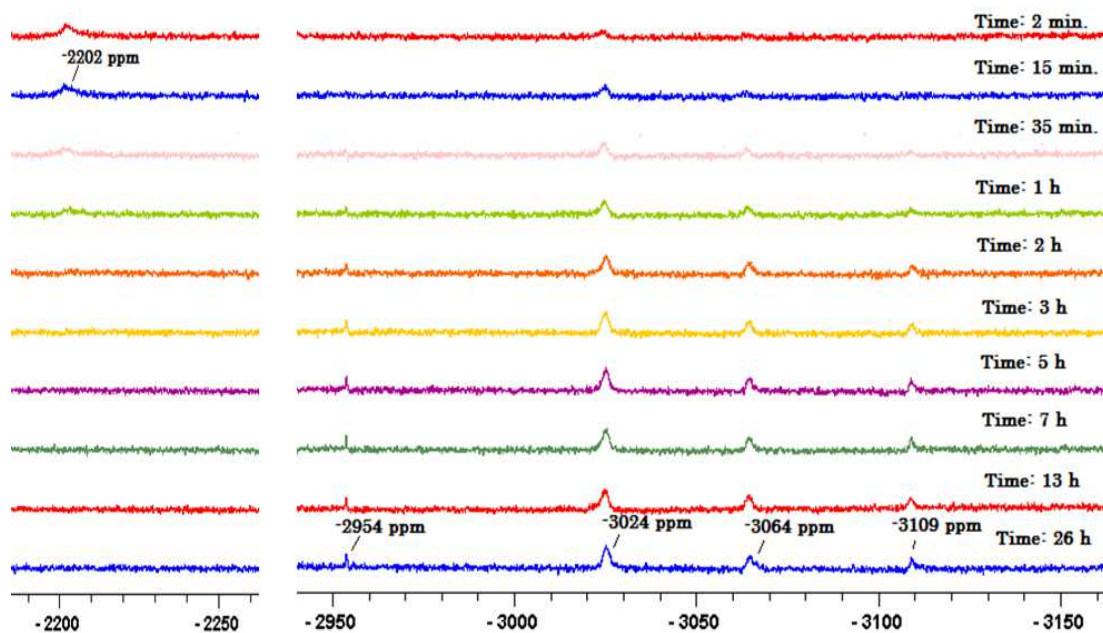
Extraído de: OLIVEIRA et al, 2019 (material suplementar).

No caso dos complexos *cis*-[PtL₂Cl₂], onde L corresponde a hidrazida, foi observado o desaparecimento da espécie *cis* e o surgimento de quatro novas espécies, conforme mostrado na Figura 11. Esse desaparecimento da espécie *cis* também já foi descrito na literatura (KERRISON e SADLER, 1977). A primeira espécie a surgir em δ -3024 ppm corresponde a substituição de uma hidrazida por uma molécula de DMSO, substituição que tipicamente é acompanhada por um deslocamento químico de cerca de 1000 ppm para maiores campos, conforme observado. A

presença de uma espécie em δ -2954 ppm indica a formação do isômero *cis*, conforme mencionado anteriormente. Após 26 horas, todos os sinais desse tipo de complexo correspondem aos mesmos daqueles obtidos para os complexos do tipo *trans* contendo DMSO, indicando que após esse período esses dois tipos de compostos formam as mesmas espécies em solução.

A atribuição dos demais sinais em campos mais altos é de maior complexidade devido a possibilidade de surgimento de grande número de compostos. Os sinais obtidos, em δ -3064 ppm e δ -3109 ppm, podem ser referentes a dois tipos de esferas de coordenação para o íon de platina(II): NSCl_2 ou N_2SCL , conforme mostrado na Figura 12. Complexos do tipo $[\text{PtN}_2\text{X}_2]$, no qual N representa um grupo amina e X representa um íon haleto, apresentam solvólise em DMSO. Uma molécula de dimetilsulfóxido pode substituir tanto um grupo amina quanto um haleto, gerando espécies *cis* e *trans* do tipo $[\text{PtN}_2\text{X}(\text{DMSO})]^+$ e do tipo $[\text{PtNX}_2(\text{DMSO})]$ (KERRISON e SADLER, 1977) (KERRISON e SADLER, 1985).

Figura 12 – Espectro do RMN de ^{195}Pt para o complexo VI em DMSO com variação de tempo.

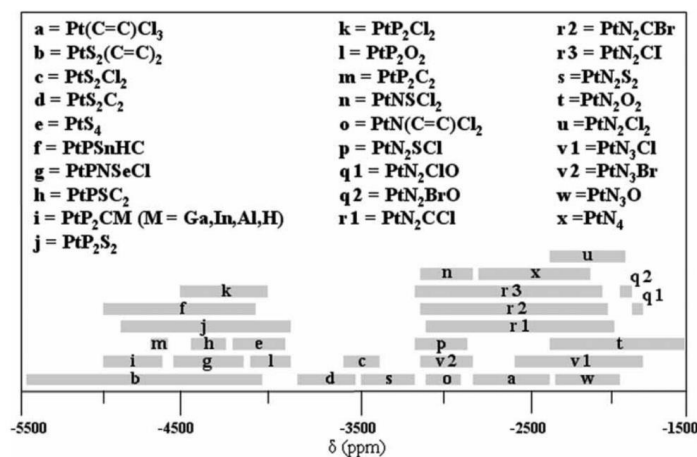


Extraído de: OLIVEIRA et al, 2019 (material suplementar).

O estudo do comportamento dos complexos em solução de DMF revela que eles diferem de quando em solução de DMSO. Os complexos do tipo *cis*- $[\text{PtCl}_2\text{L}_2]$ não apresentaram solvólise

quando solubilizados em DMF, revelando maior estabilidade cinética dos mesmos frente ao solvente. No caso dos complexos do tipo *trans*-[PtCl₂L(DMSO)], inicialmente é verificado um sinal referente a presença do composto, conforme consta na Figura 13. Depois de algumas horas, a presença de outros dois sinais indica que a isomerização dos complexos em DMF é mais lenta. O sinal em δ -2956 ppm corresponde ao isômero *cis*, conforme justificativas prévias. O sinal em δ -3132 ppm provavelmente corresponde a uma espécie que apresenta carga residual, visto que a condutividade em solução de DMF aumenta após algumas horas. De acordo com as esferas de coordenação possíveis, a espécie formada provavelmente corresponde a [PtCl(DMF)(DMSO)(4TF)]⁺.

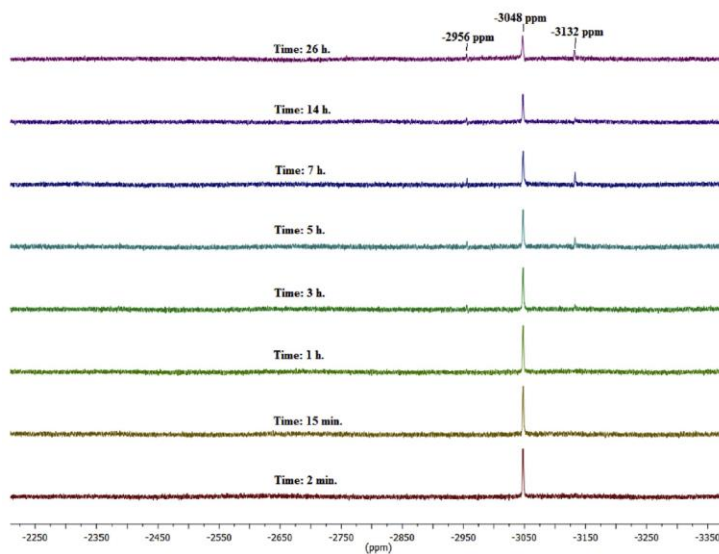
Figura 13 – Deslocamentos químicos (δ , ppm) para possíveis esferas de coordenação para o íon de platina(II).



Extraído de: PRIQUELER et al, 2006

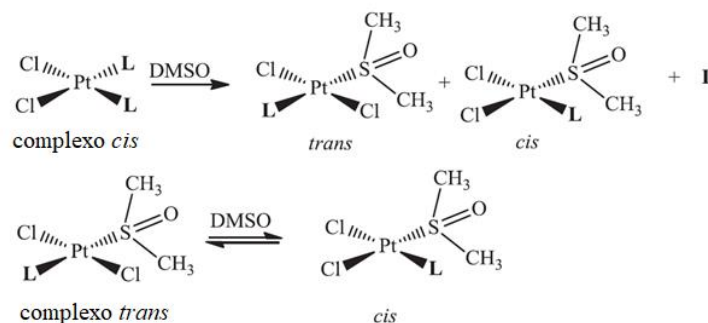
De acordo com o que foi exposto aqui, é possível constatar que os complexos apresentam maior solvólise em DMSO e são mais estáveis em DMF, sendo que os complexos do tipo *cis* apresentaram somente um sinal próximo de δ -2220 ppm nesse último solvente. Isso indica que eles são estáveis durante o período observado. Os complexos do tipo *trans* apresentaram isomerização em DMF depois de algumas horas, indicando que a reação se dá mais lentamente quando comparada em DMSO. Uma representação do processo que ocorre está mostrado na Figura 14, exibindo a formação de algumas das espécies encontradas.

Figura 14 – Espectro do RMN de ^{195}Pt para o complexo V em DMF em sucessivos tempos.



Extraído de: OLIVEIRA et al, 2019, p. 80.

Figura 15 – Representação da solvólise e da isomerização encontradas para os complexos.



Adaptado de: OLIVEIRA et al, 2019, p. 79.

4.6 Estudos citotóxicos

Os complexos foram solubilizados em DMSO ou DMF e logo em seguida diluídos em água. A concentração final de DMSO ou DMF corresponde a menos de 0,1%, sendo que ambos não apresentaram efeito no crescimento celular a essa concentração. O efeito dos complexos foi verificado em células K562 (leucemia mieloide) e os valores de IC_{50} encontrados estão descritos na Tabela 8. O valor de IC_{50} indica a concentração necessária para inibir o crescimento celular

em 50%, sendo que o desvio padrão relatado foi obtido por meio de três experimentos independentes.

Como observado, todos os complexos apresentam melhor atividade do que seus ligantes livres. Os complexos **V** e **VI** inclusive apresentaram maior efeito citotóxico do que a cisplatina e a carboplatina em DMSO. Os valores de IC₅₀ para os complexos de um mesmo ligante foram muito semelhantes, o que está de acordo com o processo de solvólise aqui relatado. Apesar da imediata diluição em água, o processo de solvólise é rápido o suficiente para efetivar a formação das mesmas espécies independente do complexo, conforme discutido.

Tabela 8 – Valores de IC₅₀ encontrado para os compostos listados.

Composto	K562 (DMSO/H ₂ O)	K562 (DMF/H ₂ O)
BH	16.98 ± 0.20	-
[PtCl ₂ (BH) (DMSO)] I	1.68 ± 0.07	2.00 ± 0.30
[PtCl ₂ (BH) ₂] II	1.34 ± 0.16	0.48 ± 0.05
4NH	15.22 ± 0.80	-
[PtCl ₂ (4NH) (DMSO)] III	3.30 ± 0.07	3.30 ± 0.02
[PtCl ₂ (4NH) ₂] IV	2.15 ± 0.24	4.7 ± 0.80
4 TF	15.23 ± 1.02	-
[PtCl ₂ (4 TF) (DMSO)] V	0.75 ± 0.06	0.47 ± 0.06
[PtCl ₂ (4 TF) ₂] VI	0.69 ± 0.03	3.60 ± 0.20
<i>Cisplatina</i>	1.10 ± 0.10	-
<i>Carboplatina</i>	10.00 ± 1.20	-

A atividade dos complexos que contém DMSO, quando solubilizados em DMF, mostra atividade muito próxima aos valores encontrados para o mesmo complexo quando solubilizado em DMSO. Tais resultados estão de acordo com o equilíbrio *cis-trans* em DMF que foi observado para os complexos. Por último, os complexos do tipo *cis*-[PtCl₂L₂] são estáveis em DMF. Conforme observa-se na Tabela 8, o complexo **II** é mais ativo em DMF, indicando que ele é mais ativo do que os produtos oriundos da solvólise. O oposto foi observado para os complexos **IV** e **VI**, indicando que fatores estruturais devem estar envolvidos na atividade citotóxica desse tipo de complexo.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho relatou a síntese, caracterização, solvólise e atividade citotóxica de complexos de platina(II) contendo hidrazidas como ligantes. As técnicas de caracterização

utilizadas permitiram inferir dois tipos de estruturas: *cis*-[PtCl₂L₂] e *trans*-[PtCl₂L(DMSO)] dependendo do precursor utilizado na reação. Os complexos do tipo *cis* foram estáveis em DMF e sofrem solvólise quando dissolvidos em DMSO. Os produtos desse processo são os mesmos em relação aqueles encontrados nos complexos do tipo *trans* em DMSO.

Por meio dos estudos de atividade citotóxica, pode-se perceber que os produtos da solvólise influenciam na atividade citotóxica dos complexos aqui relatados. Os valores de IC₅₀ foram comparáveis àqueles encontrados para drogas de referência, utilizadas no tratamento dos mais diversos tipos de tumores malignos. Tal fato indica que os complexos sintetizados são promissores para estudos posteriores que relatem com maior precisão a relação entre a atividade citotóxica encontrada e sua estrutura. Por último, o desenvolvimento desse trabalho está de acordo com as metas propostas pela Organização das Nações Unidas sobre a procura por novos compostos com potencial atividade contra o câncer.

REFERÊNCIAS

ALLEN, A. D., THEOPHANIDES, T. Platinum (II) complexes : infrared spectra in the 300-800 cm⁻¹ region. *Canadian Journal of Chemistry*. Volume 42, 1964.

ALMEIDA, Sergio Gama De; HUBBARD, John L.; FARRELL, Nicholas. Spectroscopic and structural properties of dimethyl-, diphenyl- and methylphenylsulfoxide platinum complexes. The crystal and molecular structures of *cis*-dichlorobis(methylphenylsulfoxide)-platinum(II) and potassiumtrichloro(phenylsulfoxide)platinum(II)-acetone solvate. *Inorganica Chimica Acta*, v. 193, n. 2, p. 149–157, 1992.

BENITE, Anna Maria Canavarro; MACHADO, Sérgio de Paula; BARREIRO, Eliezer J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. *Química Nova*, v. 30, n. 8, p. 2062–2067, 2007.

BLACKADAR, Clarke Brian. Historical review of the causes of cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, v. 7, n. 1, p. 54–86, 2016.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

CATTLEY, Russell C.; RADINSKY, Robert R. Cancer Therapeutics: Understanding the Mechanism of Action. *Toxicologic Pathology*, v. 32, n. SUPPL. 1, p. 116–121, 2004.

CDC, Centers for Disease Control and Prevention. The Ambulatory Care Drug Database System. Disponível em < <https://www2.cdc.gov/drugs/applicationnav1.asp> >.

CRISAFULI, Fabiano Augusto de Paula. *Caracterização Da Interação Dna - Cisplatina Usando Pinça Óptica E Videomicroscopia*. . Viçosa: [s.n.], 2012.

DailyMed, *U.S. National Library of Medicine. Label Archives*. Disponível em: < <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/index.cfm> >

DILRUBA, Shahana; KALAYDA, Ganna V. Platinum-based drugs: past, present and future. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 77, n. 6, p. 1103–1124, 2016.

DODOFF, Nicolay *et al.* Platinum (II) complexes of benzoic- and 3-methoxybenzoic acid hydrazides. Synthesis, characterization, and cytotoxic effect. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 54, n. 3, p. 221–233, 1994.

ELJACK N. D., MA H. Y., DRUCKER J., et al. Mechanisms of cell uptake and toxicity of the anticancer drug cisplatin. *Metallomics*. 6(11):2126-2133, 2014.

FDA, *US Food and Drugs Administration. Approved Drugs*. Disponível em <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>>.

GALIB *et al.* Therapeutic potentials of metals in ancient India: A review through Charaka Samhita. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, v. 2, n. 2, p. 55–63, 2011.

GARCIA VELHO, Rodrigo. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. *Programa de Pós-Graduação em Química - UF*, p. 170, 2006.

IARC, International Agency for Research on Cancer. *World Cancer Report 2020*. Lyon, France: [s.n.], 2020.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer*. . Rio de Janeiro: [s.n.], 2019.

JOHNSTONE, Timothy C.; SUNTHARALINGAM, Kogularamanan; LIPPARD, Stephen J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 5, p. 3436–3486, 2016.

KERRISON, John S; SADLER, Peter J. Solvolysis of *cis* - [Pt(NH₃)₂Cl₂] in Dimethyl Sulphoxide and Reactions of Glycine with [PtCl₂(Me₂SO)]- as Probed by ¹⁵Pt NMR Nuclear Magnetic Resonance Shifts and ¹⁵Pt-¹⁵N Coupling Constants. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, n. 1, p. 861–863, 1977.

KERRISON, John S; SADLER, Peter J. ¹⁹⁵Pt NMR Studies of Platinum (II) Dimethylsulphoxide Complexes. *Inorganica Chimica Acta*, v. 104, p. 197–201, 1985.

MAHALINGAM, V. *et al.* Ru(II)–DMSO complexes containing aromatic and heterocyclic acid hydrazides: Structure, electrochemistry and biological activity. *Polyhedron*, 28 (2009) 1532–1540.

MANZANO, Carlos M. *et al.* Pt(II) and Pd(II) complexes with ibuprofen hydrazide: Characterization, theoretical calculations, antibacterial and antitumor assays and studies of interaction with CT-DNA. *Journal of Molecular Structure*, v. 1154, n. li, p. 469–479, 2017.

NAKAMOTO, Kazuo. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, p. 1872–1892, 2006.

NDAGI, Umar; MHLONGO, Ndumiso; SOLIMAN, Mahmoud E. Metal complexes in cancer therapy – An update from drug design perspective. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 11, p. 599–616, 2017.

OLIVEIRA, Leticia P. De *et al.* Pt(II) complexes of the type *trans*-[PtCl₂(DMSO)(hydrazide)]and *cis*-[PtCl₂(hydrazide)₂]: Solvolysis and cytotoxic activity. *Journal of Molecular Structure*, v. 1192, p. 76–81, 2019.

OLIVEIRA, Letícia P. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PLATINA(II) CONTENDO 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA E HIDRAZIDAS. 2016. Universidade Federal de Uberlândia, 2016.

PATTERSON, Ronald K. Automated Pregl-Dumas Technique for Determining Total Carbon, Hydrogen, and Nitrogen in Atmospheric Aerosols. *Analytical Chemistry*, v. 45, n. 3, p. 605–609, 1973.

PAVIA, Donald L. *et al.* *Introduction to spectroscopy*. 4. ed. Belmont, CA: BROOKS/COLE, 2009. v. 1.

PERKINELMER. 2400 Series II CHNS/O Elemental Analysis. *Perkin Elmer*, 2011. Disponível em: https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/BRO_2400_SeriesII_CHNSO_Elemental_Analysis.pdf.

PRICE, Jerold H. *et al.* Palladium(II) and Platinum(II) Alkyl Sulfoxide Complexes. Examples of Sulfur-Bonded, Mixed Sulfur- and Oxygen-Bonded, and Totally Oxygen-Bonded Complexes. *Inorganic Chemistry*, v. 11, n. 6, p. 1280–1284, 1972.

PRIQUELER, Julien R.L.; BUTLER, Ian S.; ROCHON, Fernande D. An overview of ¹⁹⁵Pt nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 41, n. 3, p. 185–226, 2006.

RODRIGUES, Mônica Aparecida. *Síntese , caracterização e estudos biológicos de complexos de platina (II) contendo hidrazidas e carbazatos*. 2015. Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

SINGH, Reetika; SHARMA, Bechan. Metal-Based Therapy in Traditional and Modern Medicine Systems. In: RAI, MAHENDRA; INGLE, AVINASH P.; MEDICI, SERENELLA (Org.). . *Biomedical Applications of Metals*. 1. ed. [S.l.]: Springer, 2018. p. 1–325.

SINITSYNA, Olga *et al.* Platinum in biomedical applications. *Biomedical Applications of Metals*, p. 151–165, 2018. SOUZA, Gustavo D. De *et al.* Complexes of platinum and palladium with 4-nitrobenzoic hydrazide: Synthesis and cytotoxic activity. *Central European Journal of Chemistry*, v. 11, n. 2, p. 290–294, 2013.

SOUZA, Gustavo D. *et al.* Complexes of platinum and palladium with 4-nitrobenzoic hydrazide: Synthesis and cytotoxic activity. *Central European Journal of Chemistry*, v. 11, n. 2, p. 290–294, 2013.

THEOPHANIDES, Theophile. Introduction to Infrared Spectroscopy. In: THEOPHANIDES, THEOPHILE (Org.). . *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*. 1. ed. Atenas: IntechOpen, 2012.

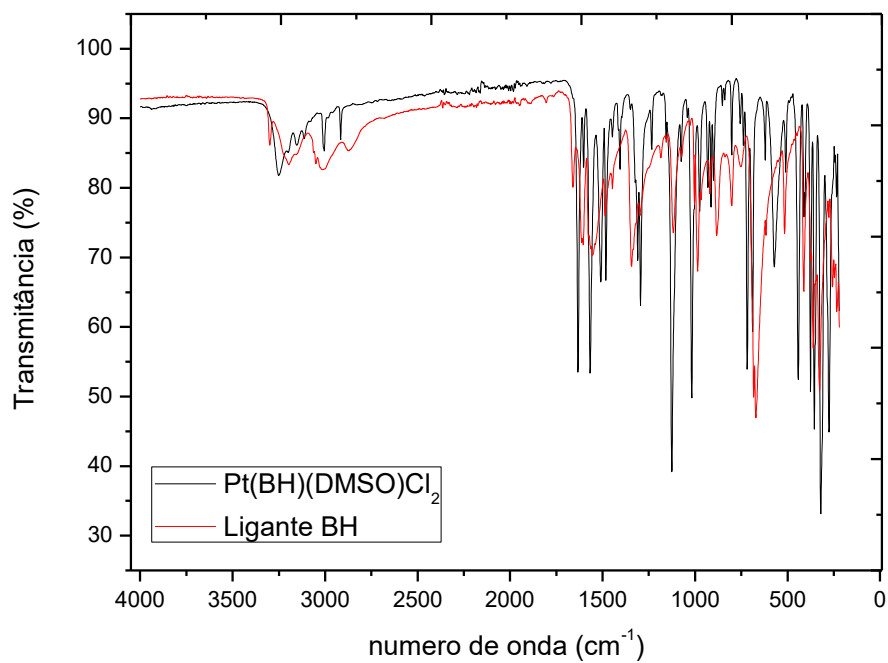
TOMA, Henrique E. *Química bioinorgânica e ambiental*. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2015. v. 5.

WHO. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. *World Health Organization*, p. 102, 2013.

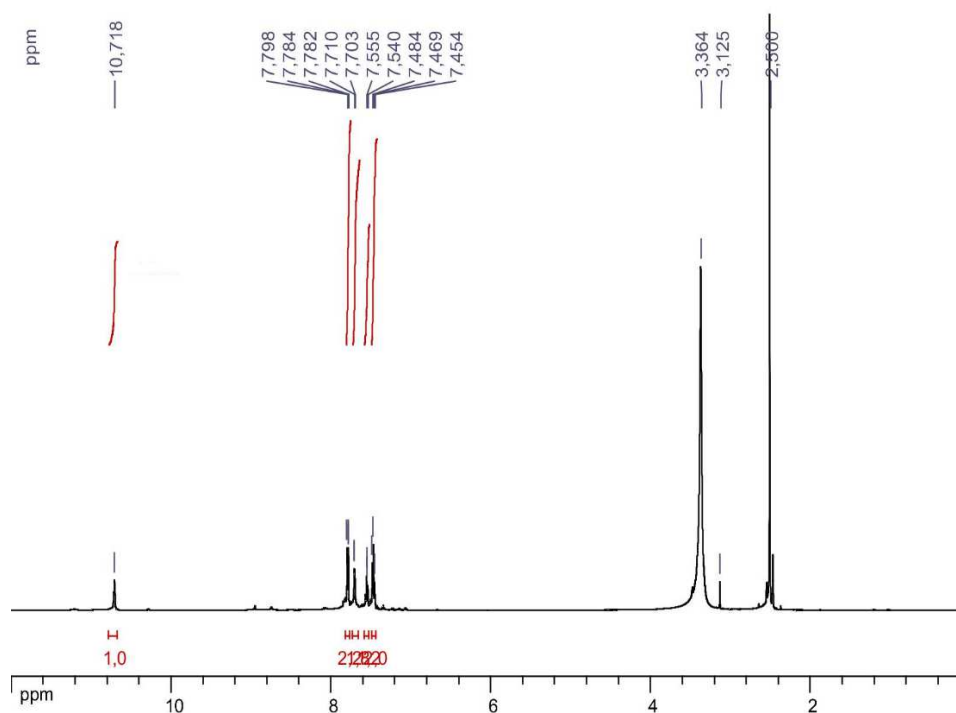
WHO, World Health Organization. *Global Status Report On Noncommunicable Diseases 2014*. .
[S.l: s.n.], 2014.ZHAO, Huaizhi; NING, Yuantao. China's ancient gold drugs. *Gold Bulletin*, v.
34, n. 1, p. 24–29, 2001.

ANEXOS

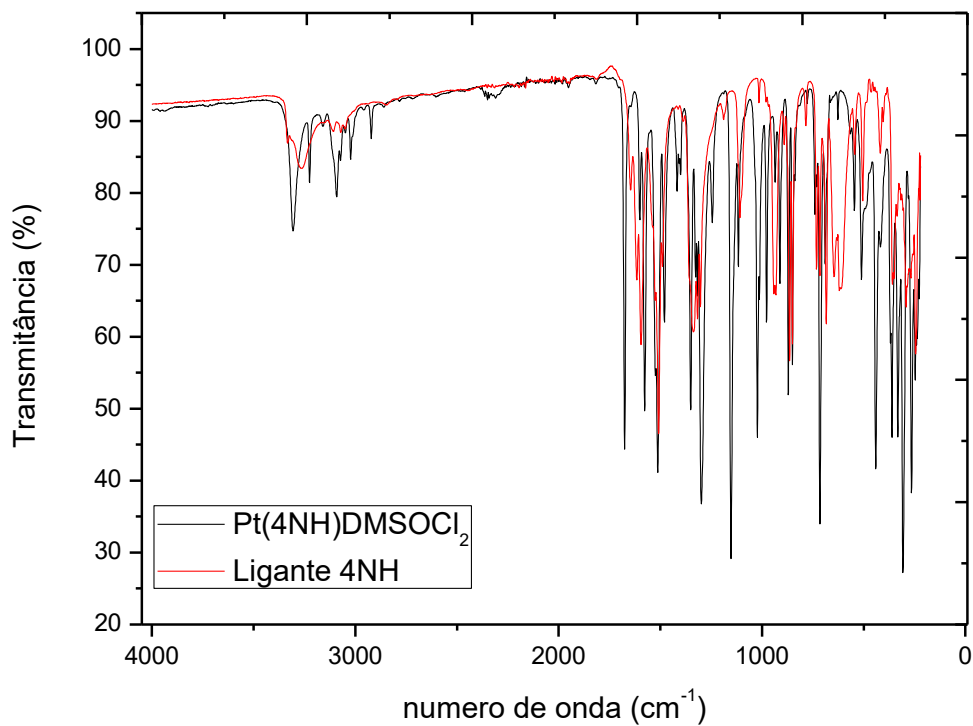
Anexo 1 – Espectro de infravermelho para o complexo I.



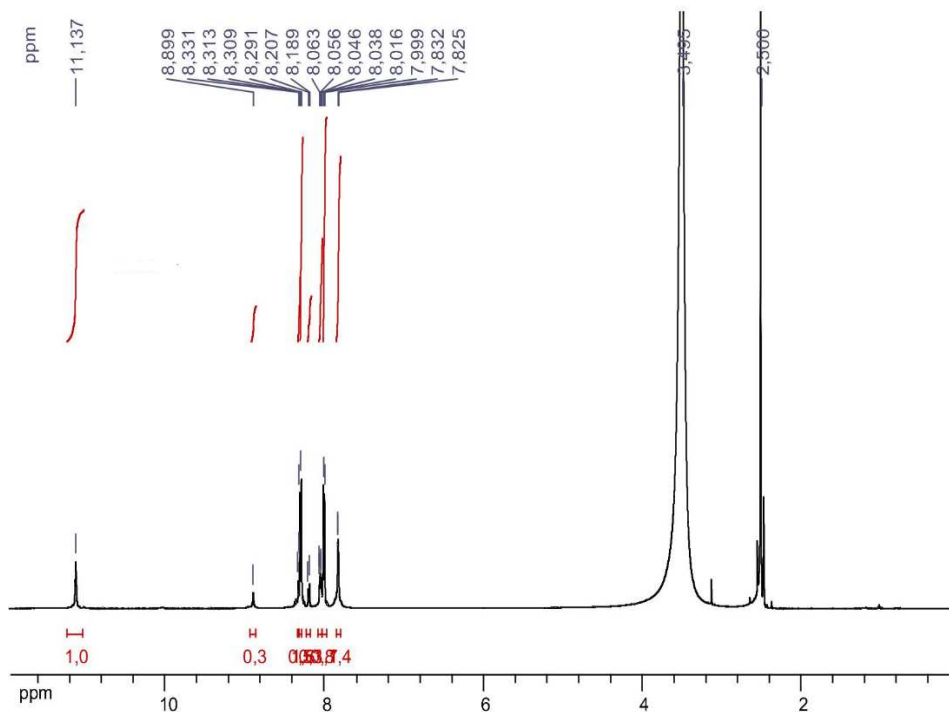
Anexo 2 – Espectro de RMN obtido para o complexo I.



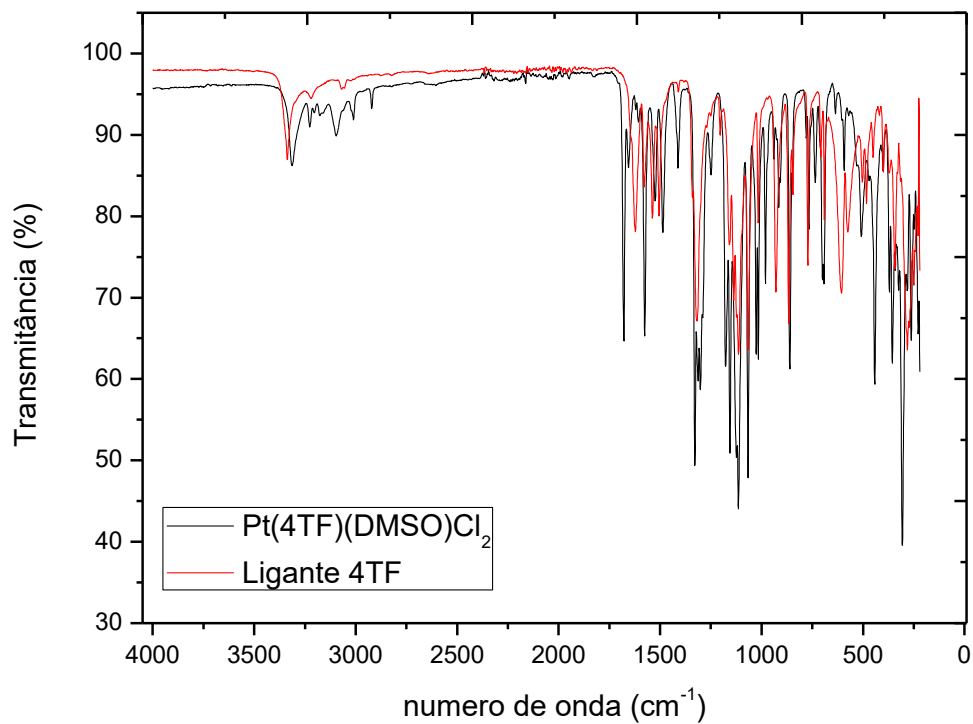
Anexo 3 – Espectro de infravermelho obtido para o complexo **III**.



Anexo 4 – Espectro de RMN obtido para o complexo **III**.



Anexo 5 – Espectro de infravermelho obtido para o complexo V.



Anexo 6 – Espectro de RMN obtido para o complexo V.

