



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TAYNÁ SARAIVA DE LAVOR

**INFLUÊNCIA DA INTERAÇÃO DE COMPLEXOS
TRICARBONILRÊNIO(I) COM BIOMOLÉCULAS NOS EFEITOS
CITOTÓXICOS EM CÉLULAS TUMORAIS**

UBERLÂNDIA-MG

JANEIRO DE 2023

**INFLUÊNCIA DA INTERAÇÃO DE COMPLEXOS
TRICARBONILRÊNIO(I) COM BIOMOLÉCULAS NOS EFEITOS
CITOTÓXICOS EM CÉLULAS TUMORAIS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Aluna: Tayná Saraiva de Lavor

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Tayana Mazin Tsubone

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Harumi Otaguro

**UBERLÂNDIA-MG
JANEIRO DE 2023**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L414	Lavor, Tayná Saraiva de, 1996-
2023	INFLUÊNCIA DA INTERAÇÃO DE COMPLEXOS TRICARBONILRÊNIO (I) COM BIOMOLÉCULAS NOS EFEITOS CITOTÓXICOS EM CÉLULAS TUMORAIS [recurso eletrônico] / Tayná Saraiva de Lavor. - 2023.
<p>Orientadora: Tayana Mazin Tsubone. Coorientadora: Harumi Otaguro. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.129 Inclui bibliografia.</p>	
<p>1. Química. I. Tsubone, Tayana Mazin, 1989-, (Orient.). II. Otaguro, Harumi, 1966-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.</p>	
CDU: 54	

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074


UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco SI - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br


ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 356, PPGQUI				
Data:	Trinta de janeiro de dois mil e vinte e três	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:10
Matrícula do Discente:	12022QMI019				
Nome do Discente:	Tayná Saraiva de Lavor				
Título do Trabalho:	Influência da interação de complexos tricarbonilrênio(I) com biomoléculas nos efeitos citotóxicos em células tumorais				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Bioinorgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Avaliação da estrutura-atividade de novos fotossensibilizadores visando aplicação em Terapia Fotodinâmica				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link <https://meet.google.com/udebqpw-kpr>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Renata Galvão de Lima, da Universidade Federal de Uberlândia; Bruno Henrique Vilsinski, da Universidade Federal Federal de Juiz de Fora e Tayana Mazin Tsubone, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Tayana Mazin Tsubone, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e de resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Tayana Mazin Tsubone, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/01/2023, às 17:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Galvão de Lima, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/01/2023, às 17:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Henrique Vilsinski, Usuário Externo**, em 30/01/2023, às 17:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4225097** e o código CRC **CCEBB9BB**.

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu irmão Tadeu Lucas e minha tia Alice por terem sido essenciais durante a minha trajetória, principalmente enquanto estive longe deles. Obrigada por cada palavra de apoio, incentivo e cuidado por terem me ajudado a não desistir e enfrentar as dificuldades com mais força. Eu amo muito vocês!

Dedico também à minha orientadora, Profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone, por todo suporte, sensibilidade com seus puxões de orelha e conversas ao longo dessa caminhada. A senhora foi essencial durante toda a pesquisa e que sorte a minha ter tido você como minha professora-orientadora. Você se tornou minha maior inspiração!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que é o autor e dono da minha vida, por todo seu amor e cuidado derramado em mim. “No dia em que eu temer, hei de confiar em ti” (Salmos 56:3). Foi incansável as vezes em que chorei sozinha com medo e aflição, e o senhor estava ali do meu lado. Obrigada por todo seu amor e proteção, meu senhor!

A pessoa mais importante da minha vida não estar mais presente nessa terra (In memoriam), a minha mãe Zenaide, mas quero ressaltar que tudo que sou devo a senhora, cada pedacinho meu remente a você. Queria tanto que estivesse presente em mais essa etapa da minha vida, mas Deus não quis. Onde quer que esteja, sinta meu abraço e beijo no qual parei de te dar há 18 anos. Não esqueço um minuto se quer da senhora e sinto muito a sua falta!

Agradeço imensamente a minha orientadora Profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone que sempre esteve presente e disposta a me ajudar, com muita paciência e atenção. Obrigada pela oportunidade de ter sido sua orientanda e por compreender minhas dificuldades nesta jornada e me erguer. Lembro dos dias que teve que puxar minha orelha e como também aplaudir meu desenvolvimento e crescimento que foi gigantesco.

Agradeço as contribuições valiosas da minha professora coorientadora Profa. Dra. Harumi Otaguro ao longo do processo de pesquisa. Seus ensinamentos me ajudaram a avançar na pesquisa com zelo e aprendizados.

Este trabalho pertence a cada pedacinho de pessoas que me ajudaram e fizeram com que esta pesquisa fosse real, em especial as minhas amigas Cecília e Alice que foram as pessoas que mais acreditaram em mim quando anunciei o resultado da seleção de mestrado e no qual havia passado. Eu sinto o afeto de vocês comigo, sei que vibram a cada conquista da minha vida!

A minha família, em especial aos meus tios Alice e Francisco, por terem acreditado em mim e sempre estarem ao meu lado. Eu amo vocês com todas as minhas forças!

Aos meus irmãos Ângela; Girley e Tadeu por terem me ajudado em todas as circunstâncias e terem me apoiado em cada decisão que tomei para estar aqui.

A princesa da casa Millynha (cachorrinha), apesar de não falar, eu sinto tanto seu amor por mim. Eu contava os dias para te ter em meus braços e ficarmos juntinhos, como sempre foi. Você pode não saber, mas me fez ter mais garra e força de vontade de vencer na vida. Você é tudo para mim, minha princesa!

Aos meus professores e amigos da Instituição da Universidade Federal do Cariri-IFE, por terem vibrado a minha aprovação e nunca terem largado a minha mão apesar da distância, sei que posso contar com vocês.

Ao meu pai Tadeu e madrasta Cintia por terem me ajudado financeiramente enquanto estive longe de casa, e além disso, por terem me dado apoio e incentivo em todas as situações.

Ao meu namorado e amigo Manoel Assis por toda sua ajuda, não apenas financeira, mas principalmente por ter enxergado minhas lágrimas mesmo que de longe, você sempre estava ali. Obrigada por ter sonhado e ter me ajudado para chegar estar aqui hoje, saiba que você faz parte deste sonho!

A minha amiga do coração Patrícia Matos que Uberlândia me presenteou, que foi essencial na minha pesquisa e na vida. Obrigada por toda sua ajuda, seu cuidado, sua paciência comigo (não foi fácil, rsrs), e principalmente o aprendizado científico e pessoal na qual me tornei, devo muito a você. Nunca vou esquecer por tudo que fez e faz por mim. Quero levar nossa amizade para o resto dos meus dias e saiba que esse trabalho é nosso!

A minha amiga que o mestrado me trouxe, Maynne Duarte você é muito importante para mim, obrigada por toda sua ajuda dentro e fora do laboratório, pelo incentivo e pelas risadas em todos os momentos vividos com você. Eu amo a sua vida e amo nossa amizade!

Aos meus amigos do laboratório e grupo de pesquisa LiFeBio, Ieda, Larissa, Jessi e Victor por todo auxílio prestado durante a pesquisa, que vai além dessas fronteiras. Vocês fizeram com que os dias se tornasse leves e mais alegre. Minha gratidão por ter conhecido e convivido com todos vocês!

A cidade de Uberlândia-MG, mais conhecida como Udi, me trouxe diversos ensinamentos e vivências no qual sou muito grata a Deus por ter me permitido viver cada dia intensamente e ter conhecido pessoas maravilhosas no meu caminho, uma delas é meu amigo Pedro Lopes, que fez o papel de irmão, e nos momentos que estive triste e capisbaixa, me ajudou a levantar e ser forte. Tem um certo senso-comum que dizem equivocadamente que não existe amizade verdadeira entre homem e mulher, mas hoje eu posso afirmar que existe e tive o privilégio de viver essa amizade com muita leveza e cumplicidade.

Outra pessoa que quero mencionar é minha amiga Andreia, no qual quero sua amizade para minha vida inteira. Obrigada por cada palavra de conforto e força durante esses quase 2 anos que estive em Udi, e tornou os dias mais risonhos. Nunca vou esquecer da frase que me disse no dia da nossa despedida ‘Derrama flores por onde passar, pois certamente voltarás ao mesmo lugar’ no qual me disse, que por onde passei, deixei um pedacinho de mim com meu jeito alegre e divertido de viver a vida. Eu fiquei sem palavras e ao mesmo tempo feliz, por saber que marquei a sua vida e de outras pessoas e fiz diferença com leveza e simplicidade, pois não é preciso ter tudo na vida para ser feliz.

Ao Prof. Dr. Antonio Otavio de Toledo Patrocinio pela síntese e fornecimento dos complexos utilizados neste trabalho e principalmente ao mestre Marcos Eduardo Gomes do Carmo do Laboratório de Fotoquímica e Ciência dos Materiais (LAFOT) por todos seus ensinamentos e disposição.

Aos meus amigos do Laboratório de Síntese de Candidatos a Fármacos-LasFar, Raphael Tristão e Meiry Lacerda por toda ajuda durante os dias que utilizei os equipamentos.

Ao Prof. Dr. Marcelo Belleti e Prof. Dr. Cláudio Vieira da Silva por ceder a sala para a realização do cultivo celular.

Ao Prof. Dr. Maurício Baptista (Instituto de Química da USP) por ter cedido as células de carcinoma do colo do útero humana (HeLa).

Ao meu querido amigo Douglas, no qual tive a honrar de conhecer essa pessoa extraordinária e competente em tudo que faz. Obrigada por todas as alegrias vividas fora e dentro do laboratório.

Aos meus colegas Caio e Diogo, nos momentos de manuseio do laboratório estavam ali sempre dispostos e prontos para me ajudar.

Aos meus parentes, meu padrinho de batismo Messias e minha prima Mônica que foram essenciais para que eu tivesse moradia em Uberlândia, sou grata por terem me ajudado em tudo.

Ao programa de Pós-graduação em Química- IQUFU e seus funcionários.

Minha gratidão a todos vocês por terem me ajudado e fez com que a contribuição de cada um, me fez chegar até aqui e concretizar este sonho.

Agradeço imensamente a minha banca da qualificação, as professoras Dra. Elaine Kikut e Dra. Renata Galvão, por todo aprendizado e relevância para este trabalho chegar até aqui.

Agradeço a minha banca de defesa por terem aceitado nosso convite meu e da minha orientadora, por todas as contribuições gigantescas e poderosas para que este trabalho seja publicado e faça ciência além dos corredores.

Agradecimentos ao apoio financeiro da FAPEMIG (Projeto Universal APQ-00704-21).

As agências de fomento CNPq e CAPES durante toda a pesquisa.

*“Deus de aliança, Deus de promessas
Deus que não é homem pra mentir
Tudo pode passar, tudo pode mudar
Mas Tua palavra vai se cumprir” -*
Trecho retirado da música Deus de Promessas, composição Davi Sacer/Ronald Fonseca/ Veronica Sacer.

RESUMO

Nos últimos anos, os compostos organometálicos Re vêm se mostrando serem extremamente promissores como candidatos a fármacos anticâncer. Vários compostos exibiram citotoxicidade igual ou superior à fármacos anticancerígeno bem estabelecidos à base de platina ou moléculas orgânicas. Este trabalho teve como objetivo avaliar como o grau de interação dos complexos tricarbonilrênio(I) contendo grupos polipiridil do tipo *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺, *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ com biomoléculas (proteína, lipídio e DNA) pode influenciar no efeito citotóxico em células tumorais. Além de estabelecer qual a relação entre o grau de hidrofobicidade e a interação desses compostos com biomoléculas. Primeiramente, determinou-se o coeficiente de partição (K_p) dos três complexos estudados, com o intuito de avaliar o grau de lipofilicidade. Onde, os resultados mostraram que *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ possui maior valor de K_p e Log P comparado com os complexos de *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ e [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺. Investigou-se também o grau de interação dos complexos de tricarbonilrênio(I) com a proteína BSA (Bovine Serum Albumin), utilizando parâmetros fisico-químicos como constante de Stern-Volmer (K_{sv}) e constante de ligação (K_b). Os dados indicaram maior valor de K_{sv} e K_b para *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ do que para [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ e [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺, sugerindo que a maior hidrofobicidade de [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ favorece a interação com a proteína. Também se avaliou a interação dos complexos Re com os lipídeos (modelos de lipossomos DOPG) e DNA, no qual os resultados apresentaram a mesma tendência seguida pela BSA. Ou seja, em lipossomos e DNA o complexo [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ também apresentou maior valor de K_b em comparação com [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ e [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺. Foram realizados experimentos de incorporação, utilizando-se a técnica de UV-Vis, porém não foi possível avaliar com tanta clareza, visto que as absorbâncias dos complexos foram baixas. No ensaio de citotoxicidade, nota-se que o [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ apresentou maior citotoxicidade (IC₅₀ ≈ 9 μM) dentre os compostos estudados (IC₅₀ > 20 μM). Essa maior citotoxicidade do [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ pode estar relacionada à maior interação do ligante dppz com o DNA e/ou também com maior permeação na bicamadas lipídicas das células, confirmadas pelos maiores valores de K_p e K_b em DNA. Basicamente, os estudos de interação dos compostos com biomoléculas (proteínas; DNA e lipídeos) revelaram que uma maior cadeia alquilica dos ligantes nos complexos, maior a interação com as biomoléculas, e como consequência maior citotoxicidade em células tumorais.

Palavras-chave: Complexos de Rênio, biomoléculas; células tumorais.

ABSTRACT

In recent years, Re organometallic compounds have been shown extremely promising as candidates for anticancer drugs. Several compounds exhibited cytotoxicity equal to or greater than well-established anticancer drugs based on platinum or organic molecules. This work aims to evaluate how the interaction degree of tricarbonylrhenium(I) complexes containing polypyridyl groups such as *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺, *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ with biomolecules (protein, lipid and DNA), may influence the cytotoxic effect on tumor cells. In addition to establishing the relationship between the degree of hydrophobicity and the interaction of these compounds with biomolecules. First, the partition coefficient (K_p) of the three complexes studied was determined, in order to evaluate the lipophilicity tendency. Results showed that *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ has higher K_p and Log P values compared to complexes of [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ and [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺. Interaction between the tricarbonylrhenium(I) complexes and BSA (Bovine Serum Albumin) protein was also investigated, using physicochemical parameters such as the Stern-Volmer constant (K_{sv}) and binding constant (K_b). Data indicated higher K_{sv} and K_b values for *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ than for [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ and [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺, suggesting that the greater hydrophobicity of [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ favors the interaction with protein. The interaction of Re complexes with lipids (DOPG liposome models) and DNA was also evaluated, results showed the same tendency followed by BSA. In other words, the [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ complex also showed higher K_b value compared to [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ and [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ in liposomes and DNA. Incorporation experiments were carried out using the UV-Vis technique, but it was not possible to evaluate with such clarity, since the absorbances of the complexes were low. In the cytotoxicity assay, it is noted that [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ showed the highest cytotoxicity (IC₅₀ ≈ 9 μM) among the studied compounds (IC₅₀ > 20 μM). This greater cytotoxicity of [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ may be related to the greater interaction of the dppz ligand with DNA and/or also to greater permeation in the lipid bilayers of cells, confirmed by the higher values of K_p and K_b to DNA. Basically, interaction studies of Re complex with biomolecules (proteins, DNA and lipids) revealed that a greater alkyl chain of ligands in the complex, greater interaction with biomolecules, and as a consequence greater cytotoxicity in tumor cells.

Keywords: Rhenium complexes, biomolecules; tumor cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da Cisplatina e seus derivados utilizados mundialmente no tratamento do câncer.....	2
Figura 2. Representação tridimensional dos arcabouços proteicos da albumina do soro bovina (BSA).....	8
Figura 3. Estruturas das bases nitrogenadas encontradas no DNA.	9
Figura 4. Representação do modelo de dupla fita proposto pela dupla Watson e Crick em 1953.	10
Figura 5. Representação esquemática dos Lipossomos, mostrando sua classificação por tamanho, número de lamelas e vesículas do tipo MLV (multilamelar vesicles); LUV (large unilamellar vesicle); SUV (small unimellar vesicle).....	11
Figura 6. Representação estrutural do lipossomo DOPG.....	12
Figura 7. Representação estrutural dos complexos tricarbonilrênio(I) do tipo <i>fac</i> -[Re(CO)3(phen)(py)] ⁺ (1); <i>fac</i> -[Re(CO)3(dpq)(py)] ⁺ (2) e <i>fac</i> -[Re(CO)3(dppz)(py)] ⁺ (3). No decorrer dessa dissertação os complexos serão mencionados sem explicitar o prefixo <i>fac</i> , e nas figuras os complexos são abreviados como Re(phen), Re(dpq) e Re(dppq) em função de seus ligantes diferentes.....	14
Figura 8. (A) Espectro de emissão do Complexo de Re(phen), em função do tempo sob atmosfera inerte de argônio. (B) Intensidade de emissão monitorada em 557nm do complexo de Re(phen) versus tempo de estabilidade em minutos do espectro de emissão.....	20
Figura 9. Representação ilustrativa do processo de extrusão.....	21
Figura 10. Representação da mini extrusora da marca Avanti Polar Lipids para obtenção de lipossomos unilamelares (LUV) com tamanhos uniformes de 100nm.	22
Figura 11. Representação do ensaio de citotoxicidade pelo método de MTT.....	25
Figura 12. Espectro eletrônico de absorção em UV-Vis dos complexos (-) <i>fac</i> -[Re(CO)3(phen)(py)] ⁺ ; (-) <i>fac</i> -[Re(CO)3(dpq)(py)] ⁺ e (-) <i>fac</i> -[Re(CO)3(dppz)(py)] ⁺ à 10µM em acetonitrila (ACN).	27
Figura 13. Estrutura química do tampão tris (hidroximetil-aminometano).....	28
Figura 14. Espectro de absorção UV-Vis dos complexos (1) <i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; (2) <i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ ; (3) <i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺ em tampão Tris 50mM (pH = 7,4) em imediatamente após a dissolução, 0 minuto (--) e 24 horas (--) após a dissolução, à temperatura ambiente.	29

Figura 15. Espectros de absorção UV-Vis dos complexos de rênio (50 μ M) em sistema bifásico 1:1 água-octanol	31
Figura 16. Espectros de absorbância da BSA (3 μ M) sob adições sucessivas dos complexos de rênio(I) em tampão Tris 10mM, pH 7,4, na temperatura de 35°C com varredura de 200nm a 800nm para ambos.....	34
Figura 17. Espectros de fluorescência da BSA (3,0 μ M) em ausência e presença de diferentes concentrações dos complexos de Re (500 μ M) à 35°C, em tampão Tris (pH 7,4), com λ_{exc} = 280nm, fendas de excitação e emissão de 5,0 nm e 1,0 nm respectivamente.	34
Figura 18. Representação dos gráficos F_0/F de Stern-Volmer em função da concentração dos [Complexos de Rênio] -BSA, em Tampão Tris-HCl 10mM em pH 7,4 em temperatura de 35°C.	35
Figura 19. Gráfico de $\log[(F_0/F)/F]$ em função de $\log[\text{Complexos de Re}]$ com BSA (3 μ M) em tampão Tris-HCl 10mM pH 7,4; na temperatura de 35°C. λ_{exc} = 280nm, fendas de excitação e emissão de 5,0 nm e 1,0 nm, respectivamente.	37
Figura 20. Espectros eletrônicos de incorporação dos complexos tricarbonilrênio(I) [10mM] em lipossomos DOPG [0,5mM] em tampão tris [10mM] com pH 7,4 sendo (A) refere-se ao complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ no tempo de 1h e 40min; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ em tempo de 3h e 10min e (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ no tempo de 2h e 60min.	39
Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência dos complexos de rênio [10mM] em diferentes tempos de interação lipossomos DOPG [0,5mM]. λ_{exc} = 350nm e λ_{em} = 400 á 800nm, em temperatura ambiente.	40
Figura 22. Representação da intensidade de emissão normalizada em torno de 554nm para o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})]^+$ (A) e 559nm para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})]^+$ (B) e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})]^+$ em 560nm (C) em função do tempo com lipossomos DOPG [0,5mM].	41
Figura 23. Espectros de absorção de interação de grau dos complexos de Re [20 μ M] sendo (A) Re(phen); (B) Re(dpq) e (C) Re(dppz) aos lipossomos DOPG [1,5 μ M] em tampão tris pH 7,4 à temperatura ambiente. Experimento realizado em duplicata.	42
Figura 24. Gráfico para obtenção da constante de ligação (K_b) da dispersão dos lipossomos na presença dos complexos de Re [20 μ M] na faixa de concentração de 6,2 μ M – 82,6 μ M. Experimento foi realizado em duplicata.	43
Figura 25. Espectro de absorção eletrônico do DNA (85 μ M) em tampão tris (50 mM) com NaCl (5 mM), pH 7,4.	45
Figura 26. Espectros eletrônicos de absorbância dos complexos (20 μ M) (A) fac-[$\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; (B) fac-[$\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ e (C) fac-[$\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ em	

ausência e na presença de diferentes frações de concentração crescente de ss-DNA com 5 minutos de incubação, à temperatura ambiente. Inserts: banda MLCT (380 nm – 420 nm) dos respectivos complexos de Rênio evidenciando os efeitos hipocrômico e hipercrômico.....	46
Figura 27. Espectro de absorbância da amostra de ss-DNA sob diferentes concentrações, em tampão tris (50 mM) e NaCl (5 mM), pH 7,4. Experimento foi realizado em triplicata.....	47
Figura 28. Espectros de absorbância dos complexos (20 μ M) (A) fac-[Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; (B) fac-[Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ e (C) fac-[Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺ descontando os espectros de absorção de ss-DNA em diferentes concentrações, tampão tris (50 mM) e NaCl (5 mM) em pH 7,4	47
Figura 29. Representação do gráfico $A_0/A - A_0$ em função de $1/[DNA]$ para obtenção dos valores da constante de interação (K_b) entre o DNA e os complexos tricarbonilrenio(I) sendo (A) fac-[Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; (B) fac-[Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ e (C) fac-[Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺	49
Figura 30. Espectro de absorção do sobrenadantes de HeLa com os complexos tricarbonilrênio(I) com concentração de 20 μ M, onde (A) [Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; (B) [Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ ; (C) [Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺	52
Figura 31. Gráfico das células aderidas HeLa com os complexos tricarbonilrênio(I) com concentração de 10 μ M, onde (A) [Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; (B) [Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ ; (C) [Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺	52
Figura 32. Espectros eletrônicos UV-Vis dos complexos tricarbonilrênio(I) em meio de cultura (DMEM) em uma concentração de 20 μ M.....	53
Figura 33. Viabilidade celular em células HeLa após tratamento com complexos tricarbonilrênio(I) do tipo [Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ ; [Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺ e [Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺ por 24 horas de incubação em diferentes concentrações. As barras representam a média \pm desvio médio de dois experimentos independentes, com 3 repetições em cada ensaio (n = 6).....	56
Figura 34. Gráfico de viabilidade celular dos ligantes (A) (phen) e (B) (dppz) em diferentes concentrações (μ M) comparados com seus respectivos complexos [Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺ (ou Re(phen)) e [Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺ (ou Re(dppz)), em células tumorais HeLa.	57
Figura 35. Gráfico da curva dose-response de células HeLa tratadas com diferentes concentrações dos complexos tricarbonilrênio(I) investigado pelo método MTT após incubação por 24h com os compostos.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de reagentes e solventes.....	15
Tabela 2. Valores do coeficiente de partição (K _p) e Log P dos complexos de rênio no sistema bifásico octanol/água. Valores representam a média ± desvio padrão de dois experimentos independentes com 3 repetições em cada experimento (n = 6).	31
Tabela 3. Valores da constante de Stern-Volmer (K _{sv}) e R ₂ dos complexos de Re com a BSA (3 µM) em Tampão Tris-HCl (10mM) em pH 7,4. Tabela 3. Valores da constante de Stern-Volmer (K _{sv}) e R ₂ dos complexos de Re com a BSA (3 µM) em Tampão Tris-HCl (10mM) em pH 7.	36
Tabela 4. Constante de ligação (K _b) e o número de sítios de ligação (n) dos complexos tricarbonilrênio(I) em BSA calculadas pela equação 4 (descrita no item 3.6 da metodologia).	37
Tabela 5. Constante de ligação (K _b) dos complexos tricarbonilrênio(I) em lipossomos DOPG calculadas pela equação 5 (descrita no item 3.7 da metodologia).....	43
Tabela 6. Valores das constantes de interação (K _b) e as suas respectivas porcentagens de hiper/hipocromismo (%H = A _{inicial} – A _{final} /A _{inicial} x 100%) de cada complexo.	49
Tabela 7. Valores de IC ₅₀ dos complexos de rênio em células HeLa.	58
Tabela 8. Valores de IC ₅₀ de outra série de complexos de rênio em células A549 (MAISULS et al., 2017).	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

µL	Microlitro
ACN	Acetonitrila
BSA	Albumina de soro bovino (<i>Bovine serum albumin</i>)
DMEM	Meio Dulbecco's modificado (<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOPG	1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)]
ER	Retículo endoplasmático
HeLa	Linhagem celular de carcinoma uterino humano
IC₅₀	Concentração inibição do crescimento celular em 50%
IL	Transição eletrônica intraligante
K_b	Constante de ligação aparente do supressor á BSA
K_p	Constante de partição
K_{sv}	Constante de supressão biomolecular de Stern-Volmer
Log P	Medida logarítmica de K _p
LUV	Vesícula unilamelar
mg	Miligramas
mg/mL	Miligramas por mililitro
mL	Mililitro
MLCT	Transferência de carga do metal para o ligante
MLV	Vesícula multilamelar
MTT	3-(4,5-dimethylthiazolyl-2) -2,5-diphenyltetrazolium bromide
n	Número de potenciais sítios de ligação á BSA
PBS	Tampão fosfato salina
Re	Rênio
Re(dppz): <i>fac</i>- [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺	<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (dppz:dipirido [2,3-a:2'3'-c]fenazina)(py)] ⁺
Re(dpq): <i>fac</i>- [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺	<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (dpq:pirazino [2,3-f][1,10]fenantrolina)(py)] ⁺
Re(phen): <i>fac</i>- [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺	<i>fac</i> -[Re(CO) ₃ (phen:1,10-fenantrolina)(py)] ⁺
SFB	Soro fetal bovino
ss-DNA	Ácido desoxirribonucleico de esperma de salmão
Tris	Hidroximetil-aminometano
UV/Vis	Ultravioleta e visível

LISTA DE SIMBOLOS

λ	Comprimento de onda
λ_{em}	Absorbância no comprimento de onda de emissão
λ_{ex}	Absorbância no comprimento de onda de excitação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Câncer	1
1.2	Complexos de Rênio como potenciais fármacos antitumorais	3
1.3	Interação de candidatos à fármacos com biomoléculas	6
1.4	Proteínas Albumina do Soro Bovino (BSA).....	7
1.5	Ácido Desoxirribonucleico (DNA).....	8
1.6	Lipídeos representados por lipossomos	10
2	OBJETIVOS	13
2.1	Geral:.....	13
2.2	Específicos:.....	13
3	PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1	Reagentes e solventes.....	15
3.2.	Espectroscopia eletrônica UV-visível	15
3.3.	Espectroscopia eletrônica de emissão	16
3.4.	Estabilidade de complexos tricarbonilrênio(I) em tampão Tris (pH 7,4)	16
3.5.	Determinação do coeficiente de partição octanol/água.....	16
3.6	Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com Albumina de Soro Bovino (BSA)	18
3.7.	Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com lipossomos (DOPG).....	19
3.8.	Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com ss-DNA	22
3.9.	Linhagem celular e cultivo dos complexos de Re em células HeLa.....	23
	As células da linhagem	23
3.10.	Incorporação dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)	24
3.11.	Ensaio de viabilidade celular dos complexos de tricarbonilrênio(i) em HeLa	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
4.1.	Espectroscopia eletrônica de absorção dos complexos tricarbonilrênio(I).....	26

4.2. Estabilidade dos complexos tricarbonilrênio(I) em tampão Tris (pH 7,4)	28
4.3. Determinação do coeficiente de partição água/octanol dos complexos tricarbonilrênio(I).....	30
4.4. Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com <i>Albumina de Soro Bovino</i> (BSA)	
.....	33
4.5. Interação dos complexos de tricarbonilrênio(I) com lipossomos (DOPG).....	39
4.6. Interação dos complexos de tricarbonilrênio(I) com ss-DNA	44
4.7. Incorporação dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)	
.....	51
4.8. Citotoxicidade dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)	
.....	54
5 CONCLUSÃO.....	60
6 REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é considerado a segunda maior causa de morte do mundo, e apesar dos avanços terapêuticos e tratamentos já existentes, os índices de mortalidade continuam a crescer. No ano de 2020, ocorreu o surgimento de 626.030 de novos casos da doença no Brasil (LOPES-JÚNIOR, 2021).

O surgimento do câncer ocorre pela multiplicação descontrolada de células anormais que invadem tecidos e órgãos e podem se espalhar rapidamente por outras regiões do corpo e ocasionando a metástase (BOUAFIA et al., 2014). E por apresentar esse crescimento gradual da doença, reflete em partida o interesse pela investigação do câncer, visto sua atuação no organismo humano, prevenção e principalmente o tratamento (INCA, 2021).

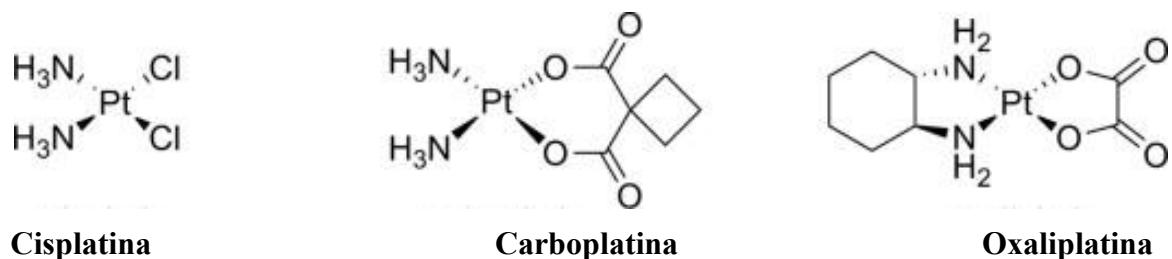
As causas que ocasionam o câncer são por vias externas ou internas ao organismo, como o uso de substâncias químicas; irradiações; exposições excessivas ao sol e fatores ambientais e ademais condições hormonais; imunológicas e genéticas e o envelhecimento precoce (THULER, 2011); (GUERRA; GALLO; MENDONÇA, 2005).

Diante dos tratamentos convencionais já existentes, a quimioterapia vêm sendo o método mais utilizado no tratamento do câncer (CALIXTO-LIMA et al., 2012), induzindo ao tipo de morte celular via apoptose (ALMEIDA et al., 2005; ALONSO et al., 2003; BRIMMELL et al., 1998). A quimioterapia consiste na utilização de fármacos que interferem na síntese ou transcrição do DNA nas células cancerosas (JAIN, 2001). E apresenta algumas desvantagens, como a falta de seletividade do tumor, ou seja, acabam atingindo tanto as células cancerígenas quanto as normais, e desencadeia efeitos colaterais como náuseas, complicações neurológicas e gástricas (BEAVER; WILLIAMSON; BRIGGS, 2016; HALYARD et al., 2007; MATOSO; ROSÁRIO; MATOSO, 2015; MONTOYA et al., 2010). Sendo assim, a busca por novos fármacos mais seletivos, vem ganhando mais espaço na pesquisa científica no mundo (ALMEIDA et al., 2005) , o que vai de encontro com a proposta do presente trabalho.

Tudo começou pela procura de fármacos antitumorais na área da inorgânica e na química medicinal que teve impulso em 1960 com a descoberta da *cis*-diaminodiclorido platina (II) (Figura 1a) ou conhecida como cisplatina com base nos estudos de Barnet Rosenberg e seus colaboradores, que demonstrou potencial antitumoral. Com isso, a cisplatina e seus derivados como a carboplatina e a oxaliplatina (Figura 1b e 1c) são os fármacos comerciais

mais utilizados mundialmente em diversos tipos de câncer, e sendo usados também em outras neoplasias nas regiões da cabeça, bexiga e próstata (THOMPSON; ORVIG, 2003); (BARNETT ROSENBERG; LORETTA VANCAMP; JAMES E. TROSKO & VIRGINIA H. MANSOUR, 1969); (WEXSELBLATT; YAVIN; GIBSON, 2012); (FALCÃO; JAPIASSÚ, 2011).

Figura 1. Estrutura da Cisplatina e seus derivados utilizados mundialmente no tratamento do câncer.



Fonte: Adaptações da referência (WEXSELBLATT; YAVIN; GIBSON, 2012).

Apesar de apresentar bons resultados pela ação anticancerígena da platina, tais complexos apresentam algumas desvantagens como a baixa seletividade, e os marcantes efeitos colaterais (diarreias, náuseas, perda do apetite) e principalmente resistência imunológica (BARRA; NETTO, 2015; BERNERS-PRICE; RONCONI; SADLER, 2006; CHITAMBAR, 2004).

Com base nas pesquisas científicas, o grande problema a ser solucionado é na busca de novos compostos que apresentem atividade antitumoral para uso clínico é a baixa seletividade com relação as células normais. Portanto, têm-se a necessidade de investigação em metais e ligantes sendo estes capazes de direcionar o composto para o local desejado, tornando-o mais efetivo e com isso aumente o índice terapêutico e principalmente evitar danos às células normais.

1.2 Complexos de Rênio como potenciais fármacos antitumorais

Os complexos contendo os metais trazem importância aos seres vivos, pois apresentam facilidade na perda de elétrons e podem reagir com biomoléculas ricas em carga negativa, e por ocasionar essa atração promovem interações de íons metálicos exógenos com diversas outras moléculas presentes no organismo (ASSUNÇÃO, 2020).

Com o aumento da procura para o tratamento do câncer, os fármacos existentes à base de metais, tais como cisplatina e seus derivados, proporcionam que cerca de 50% dos tipos de tumores sejam tratados com esse tipo de fármaco (LIMA, 2016). Apesar de apresentar sucesso ao tratamento, estes fármacos de platina apresentam algumas desvantagens como falta de seletividade dos tumores, diferenciação das células saudáveis e possui graves efeitos colaterais, como a nefrotoxicidade (LOVEJOY; LIPPARD, 2009); (SILVA; SILVA; BELLAN, 2018).

Os complexos de Rênio (I) têm chamado atenção em diversas utilizações como marcadores luminescentes, dispositivos emissivos de luz (LEDs), e apresenta propriedades fotoquímicas; físicas, e biológicas, sendo estas importantes inclusive na utilização destes compostos no diagnóstico da doença (MOHERANE et al., 2022). E por isso estão sendo estudados como agentes antitumorais (FAUSTINO et al., 2018; NGUYEN; JONES; HOLLIDAY, 2018).

Os complexos desse trabalho, fazem parte do grupo dos compostos organometálicos contendo como característica principal os grupos tricarbonilas de *fac*-[M(CO)₃]⁺, onde M= Re, ou seja o termo M pode ser um metal como o elemento Rênio, e vêm sendo estudado, buscando o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento e diagnóstico do câncer (ABRAM; ALBERTO, 2006).

Os complexos contendo Rênio(I) possuem características físicas muito similares com o tecnécio, tais como tamanho e lipofilicidade (R. DILWORTH; J. PARROTT, 1998) ; (HO et al., 2013). Nesse contexto, a utilização dos compostos organometálicos traz inúmeras razões, como por exemplo oferecem variedade estrutural e possui atividades redox, e são definidos como compostos contendo pelo menos uma ligação metal-carbono (C-M) do tipo covalente, e estão sendo considerados como candidatos potenciais à fármacos (GASSER; OTT; METZLER-NOLTE, 2011).

Segundo a literatura, os compostos organometálicos apresentam estabilidade, relativamente lipofílicos e seu átomo metálico está em um estado de baixa oxidação (PAGONI et al., 2019; VON KLOT et al., 2002). Devido a estas diferenças fundamentais em relação aos "compostos metálicos de coordenação clássica", os organometálicos oferecem amplas

oportunidades no projeto de novas classes de compostos medicinais, potencialmente com novos modos de ação específicos para o metal (PAGONI et al., 2019).

Os complexos desse trabalho apresentam em comum a fenantrolina como ligante, onde a mesma oferece diversas propriedades químicas estruturais, como por exemplo, facilidade de combinação com diferentes metais, o que a torna um ótimo material de partida para outros estudos. A fenantrolina é um tipo de ligante doador sigma, diante do panorama eletrônico, a sua força como ligante é proveniente da sua habilidade como aceptora π de elétrons que é responsável pela força da ligação com o metal, portanto, contribui fortemente para a formação dos complexos (BENCINI; LIPPOLIS, 2010).

Com isso, compostos de rênio contendo grupos derivados da fenantrolina, e de polipiridinas, apresentam propriedades fotoquímicas e fotofísicas, que podem ocorrer nos diferentes estados excitados, e como também transferência de carga do metal para ligante (MLCT); transferência de carga de ligante para ligante (LLCT); transferência de carga do ligante para metal (LMCT); transferência de carga intraligante (IL) e transferência de carga metal-centrado (MC) (ATALLAH et al., 2020; RAMOS et al., 2022a).

Diante disso, as propriedades dos complexos de Re(I) derivados da fenantrolina, são caracterizados pela natureza do grupo ligante, já que são complexos muitos semelhantes, e pelo estado excitado do metal, no qual determina a sua possível atividade biológica (BRUIJNINCX; SADLER, 2008).

1.3 Compostos à base de Rênio

O câncer continua sendo uma das causas principais de morte no mundo. Embora o tratamento ainda dependa do tipo, estágio e localização do tumor, os métodos com ou sem a cirurgia (tratamento convencional para retirada de 100% do tumor), utiliza-se de agentes antitumorais ou hormonais (LEONDOVA; GASSER, 2014).

O Rênio (Re) é um tipo de metal mais raro que existe, dentre de suas propriedades, apresenta isótopos estáveis sendo o ^{185}Re (37,4%) e ^{187}Re (62,6%) e radioativos que podem ser usados em aplicações terapêuticas (PAVIA; M. AND KRIZ, 2001). Com isso, compostos contendo o Re apresentam abordagens teranósticas em aplicações com imagens luminescentes, fotocitotoxicos e fotossensibilizantes e por isso torna-se atraente para diversos estudos (JÜRGENS; HERRMANN; KÜHN, 2014; SCHILLER et al., 2005).

Existem outras aplicações intrínsecas na indústria (KURODA, 1989; PANFILOV, 2020) como catálise industrial; câmaras de combustão, e em reações catalíticas no qual incluem

hidrogenações; oxidações e epoxidação (ANDERSON; TAYLOR; ANDERSON, 2013; DE PROFT; GEERLINGS, 2001).

Com base em uma revisão publicada, foi realizado um estudo biológico contendo vários grupos de complexos tricarbonílicos Re(I) baseados em bipiridinas e fenantrolina em diversas linhagens celulares (HeLa; MDA; A549) e no qual apresentou resultados citotóxicos em vários estados de oxidação e modos de coordenação nos estudos in vivos no qual atingiu ou excedeu comparando-se com a da cisplatina e destaca o avanço desses complexos em ensaios clínicos (BRABEC; KASPARKOVA, 2018; HOSTACHY; POLICAR; DELSUC, 2017; LO, 2015); (DE MEDEIROS et al., 2019); (LEONIDOVA; GASSER, 2014).

A citotoxicidade desses complexos organometálicos foi verificado que aumenta com base na lipofilicidade, devido apresentar uma melhor absorção nas células e que apresenta atividade particular alta (HAMELS et al., 2009; PAGONI et al., 2019; ZHANG et al., 2002).

O ensaio mais comumente empregado para avaliar o efeito anticancerígeno é o ensaio de MTT (3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio, que é um reagente de cor amarelada no qual é convertido em formazan na cor roxa ocasionado pela redução mitocondrial que só ocorre perante células vivas e saudáveis, no qual é calculado e plotado contra a concentração do composto aplicado. A partir disso, faz-se necessário a uma avaliação utilizando a curva de dose-resposta sigmoidal. (LI; ZHOU; XU, 2015).

1.4 Interação de candidatos à fármacos com biomoléculas

Geralmente, os candidatos à fármacos exercem seu efeito biológico a partir da interação seletiva com uma determinada biomolécula alvo. O reconhecimento molecular do fármaco pela biomacromolécula é dependente do arranjo espacial dos grupamentos funcionais e das propriedades estruturais químicas da molécula.

Os estudos de interação envolvendo biomoléculas e complexos contendo metais, geram importantes informações nos sítios de ligação, transporte e no metabolismo no corpo humano, e essas interações podem ocorrer por diferentes maneiras como por exemplo eletrostática, dispersão, hidrofóbica. A interação entre tais espécies provoca a modificação estrutural das biomoléculas, e consequentemente, a alteração das suas funções biológicas, possivelmente, ocasiona alterações dos comportamentos farmacodinâmicos (HU et al., 2006; MOREIRA; CANAVARRO, 2015; SEEDHER; BHATIA, 2006).

Os metais desempenham grande importância nos processos biológicos, pois interagem com as biomoléculas como as proteínas, lipídeos e DNA. Um exemplo clássico de um metal é o ferro, localizado na hemoglobina, que é uma proteína responsável pela absorção e transporte do oxigênio molecular (O_2) no sangue. O metal por sua vez desempenha função de auxiliar no transporte de oxigênio e elétrons, assim como faz parte da estrutura da biomolécula de hemoglobina (GROTTO, 2008).

Com a descoberta dos compostos de cisplatina e seus derivados tendo como atuação em diversos tumores sólidos (câncer de mama, próstata, fígado, pâncreas e pulmão), as pesquisas por novos agentes antitumorais tomou outro caminho, e hoje, não se baseia em apenas um alvo farmacológico, como por exemplo o DNA, porém os novos estudos inclui a utilização de moléculas sinalizadoras, proteínas moduladores de apoptose e moléculas que promovem a angiogênese (DUTTA et al., 2018; FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997).

Os fármacos já existentes para o tratamento dos diversos tipos de tumores, apresentam marcantes efeitos colaterais, como também alguns necessitam de altas doses para que o efeito seja sucedido (GARCIA-MANERO et al., 2003).

1.5 Proteínas Albumina do Soro Bovino (BSA)

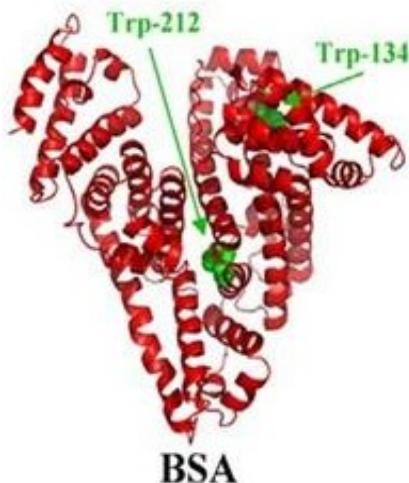
As interações entre moléculas e proteínas ocorrem devido apresentarem funções como armazenamento, transporte, metabolismo, que podem por vias endógenas quanto exógenas, por exemplo a albumina e fármacos em geral. A interação das proteínas com tais compostos provoca a modificação estrutural da proteína e, consequentemente, a alteração das suas funções, e possivelmente, ocasiona alterações dos comportamentos farmacodinâmicos (HU et al., 2006; SEEDHER; BHATIA, 2006).

Existem diversos estudos com os diferentes tipos de proteínas, em especial as albuminas disponíveis na natureza, sendo estas a albumina humana (HSA) e albumina bovina (BSA). Nos dias de hoje, a BSA vêm sendo cada vez mais utilizada, por apresentar alta semelhança estrutural com a HSA; estabilidade; disponibilidade e menor baixo custo. A BSA exibe 76% de semelhança estrutural, se comparada à HSA, e ainda 80% de sua sequência homóloga (ANISH BABU et al., 2020; MACIĄŻEK-JURCZYK et al., 2018).

As albuminas HSA e BSA apresentam semelhanças estruturais, e por isso exibem regiões de ligações que são locais de atuação de alguns fármacos. Essas regiões são classificadas em três grandes domínios, sendo denominados de I, II e III, para cada um destes três domínios, contém dois subdomínios, classificados em A e B. E as principais regiões de ligações preferenciais dos fármacos estão localizadas nos subdomínios IIA e IIIA, mais comumente denominadas de Sítios I e II de Sudlow (PETERS JR., 1995).

A proteína BSA apresenta 582 aminoácidos, sendo 20 grupos de tirosina e dois fragmentos de triptofano, sendo denominados de triptofano-134 e 212, ou seja, que ficam localizados nas posições 134 e 212, situados nos subdomínios IB e IIA (PETERS JR., 1995). A estrutura terciária da BSA está apresentada na Figura 2.

Figura 2. Representação tridimensional dos arcabouços proteicos da albumina do soro bovina (BSA).



Fonte: (BELATIK et al., 2012).

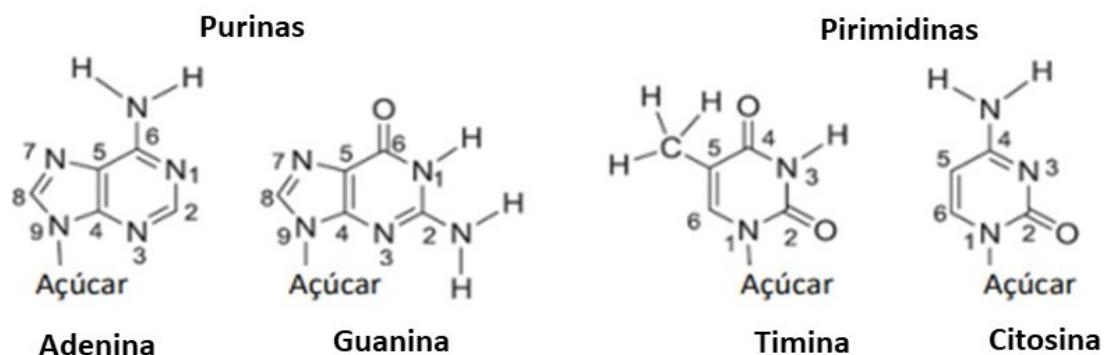
A investigação sobre a interação da BSA e fármacos, se baseia na técnica de espectroscopia de fluorescência, para isso albumina é excitada em $\lambda=280\text{nm}$, e exibem fluorescência característico aos resíduos dos aminoácidos aromáticos, mais precisamente nas regiões dos triptofanos 134 e 212, pois apresentam emissão com comprimento máximo de emissão em $\lambda=350\text{nm}$, por serem bem significativas e apresentarem adequado ambiente protéico no qual os resíduos estão localizados (PETERS JR., 1995).

1.6 Ácido Desoxirribonucleico (DNA)

O DNA é uma biomolécula que contém as informações genéticas e é considerado como sendo o alvo farmacológico de vários fármacos mais utilizado em terapias medicinais ou em fase clínica. A composição do DNA é dada pela junção de duas fitas seguida por uma sequência de nucleotídeos por uma ligação fosfodiester entre os grupos na posição 5 e as hidroxilas na posição 3. Esse nucleotídeo se dá pela combinação de um açúcar (pentose), um grupo de fosfato e uma base nitrogenada, (STRYER, L; TYMOCZKO, J.L; BERG, 2004), que pode ser púrica (guanina ou adenina) por apresentar dois anéis de átomos de carbono e nitrogênio, e são derivados de uma substância purina. O outro tipo é considerado pirimídica (citosina ou timina), que derivam de outro composto contendo apenas um anel de carbono e nitrogênio (KHAN et al., 2012).

Estas fitas estão associadas entre si através de ligações de hidrogênio, formando assim a estrutura dupla hélice (Ver figura 3). Ademais, a dupla hélice pode ser estabilizada por interações do empilhamento π - π entre os áneis aromáticos das bases nitrogenadas (WATSON; CRICK, 1953). Na figura 3, podemos observar as bases presentes na formação dos nucleotídeos.

Figura 3. Estruturas das bases nitrogenadas encontradas no DNA.



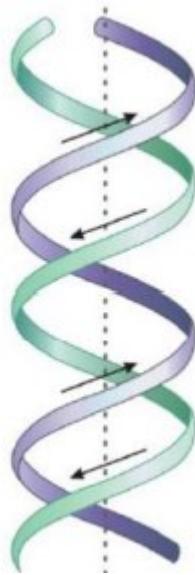
Fonte: Adaptações de (KHAN et al., 2012).

As bases são consideradas compostos fracamente básicos, e possuem uma enorme variedade de propriedades químicas que podem afetar a estrutura e a função do DNA. As purinas e as pirimidinas são moléculas que apresentam conjugação (Figura 3), e traz consequências na estrutura, distribuição e a absorção da luz pelo DNA. Nos áneis presentes nas bases existe ressonância que busca envolver diversos outros tipos de átomos no qual confere na maioria das ligações parcial de dupla ligação, e isso faz com que ocorra que as pirimidinas sejam planas e enquanto as purinas são quase planas, apresentando uma leve deformação. Podemos acrescentar que as purinas e pirimidinas são de caráter hidrofóbicas e relativamente insolúveis em água, com valor de pH próximo a neutralidade da célula (NELSON; COX, 2002).

O açúcar presente no ácido desoxirribonucleico (DNA) é a desoxirribose (Ver Figura 4), onde o prefixo “desoxi” é referente ao carbono 2 da ose que possui dois hidrogênios ligados, enquanto que na ribose (açúcar presente no RNA) no mesmo carbono não apresenta hidroxila e hidrogênio (WONG et al., 2010).

Na Figura 4, exibe a representação da formação da fita do DNA, é possível observar a presença de fitas helicoidais complementares que percorrem em direções antiparalelas, tornando assim adequado para o armazenamento das informações genéticas (KHAN et al., 2012).

Figura 4. Representação do modelo de dupla fita proposto pela dupla Watson e Crick em 1953.



Fonte: Adaptações da referência (MELLOTI, 2019) de (RICCI, 2007).

O DNA possui um papel fundamental nas funções celulares, nele estão presentes todas as instruções para a formação dos outros componentes celulares, e é considerado como principal alvo para as pesquisas de infecções e câncer (BISCHOFF; HOFFMANN, 2002).

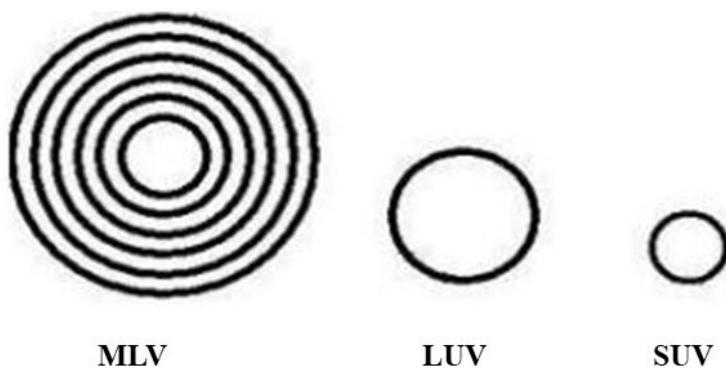
1.7 Lipídeos representados por lipossomos

A importância de estudar as propriedades interfaciais entre o composto e uma membrana, deve-se ao fato de que a interação inicial de fármacos com as células ocorre devido a sua capacidade de se incorporar e permear membranas, bem como, na sua habilidade em produzir espécies citotóxicas nas proximidades do microambiente em que se pretende causar danos (TSUBONE; BAPTISTA; ITRI, 2019). Por isso, compreender os mecanismos a nível molecular pelos quais fármacos interagem com bicamada lipídica é de importância crítica no campo farmacológico (BARREIRO, E. J., & FRAGA, 2015). Neste contexto, modelos de membrana *in vitro* à base de lipídios surgiram para oferecer uma alternativa simples, mas extremamente útil, de estudar as interações fármaco-membrana. Lipossomos são vesículas

constituídas por duas bicamada lipídica, sendo o modelo de membrana 3D mais popular devido a presença de folhetos internos e externos que simulam a membrana celular (ANDRADE et al., 2021).

A classificação da morfologia dos lipossomos é dada através da quantidade de bicamadas lipídicas encontradas nas vesículas, ou pelo seu tamanho (Ver Figura 5). Os lipossomos podem ser encontrados do tipo, multilamelares (MLV- *multilamellar vesicles*) que são constituídas por várias bicamadas esféricas formadas a partir da dispersão dos fosfolipídios podendo ser em água ou tampões, e seu diâmetro se encontra em uma variação de 400nm e 3,5 μ m. Podemos encontrar também os lipossomos unilamelares (LUV- *large unilamellar vesicle*), onde a vesícula possui somente uma bicamada lipídica com tamanhos de diâmetro entre 100nm e 1 μ m e lipossomos pequenos (SUV- *small unimellar vesicle*) com tamanhos de diâmetro entre 20 e 50nm e os lipossomos unilamelares gigantescos (GUV- *giant unilamellar vesicle*) com tamanhos superiores a 1 μ m. Portanto, dentre estes apresentados, os mais utilizados são do tipo LUV, usados como modelos mimetizadores de membrana plasmática. Ademais, existem os lipossomos oligolamelares (LOV) e multivesiculares (MVL) no qual influenciam diretamente no processo de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e no perfil de toxicidade de substâncias encapsuladas (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007; NUNO C. SANTOS; MIGUEL A. R. B. CASTANHO, 2002; TYRRELL et al., 1976).

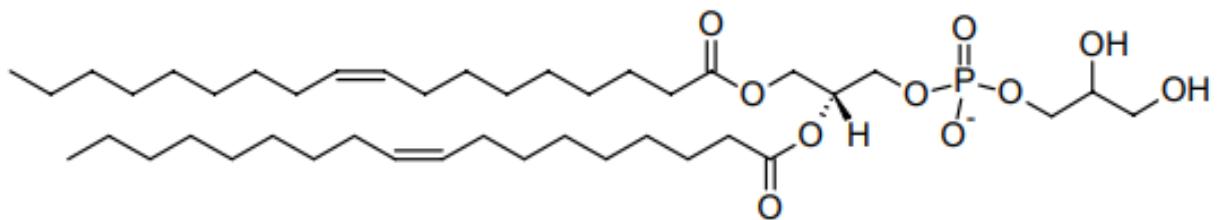
Figura 5. Representação esquemática dos Lipossomos, mostrando sua classificação por tamanho, número de lamelas e vesículas do tipo MLV (*multilamellar vesicles*); LUV (*large unilamellar vesicle*); SUV (*small unimellar vesicle*).



Fonte: Adaptado por (LASIC, 1998) de (TORCHILIN, 2005).

Além de utilizar lipossomos como modelos de membrana, os mesmos também têm sido bastante utilizados como carreadores de compostos do tipo lipofílico ou hidrofílicos em células (TORCHILIN, 2005). O lipossomo utilizado para esse trabalho, é o 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] ou conhecido como DOPG. Abaixo, segue a figura 6 com a representação estrutural do DOPG utilizado.

Figura 6. Representação estrutural do lipossomo DOPG.



Fonte: Figura extraída da referência (KROETZ, 2012). Adaptada de (MANSILHA, 2002).

2 OBJETIVOS

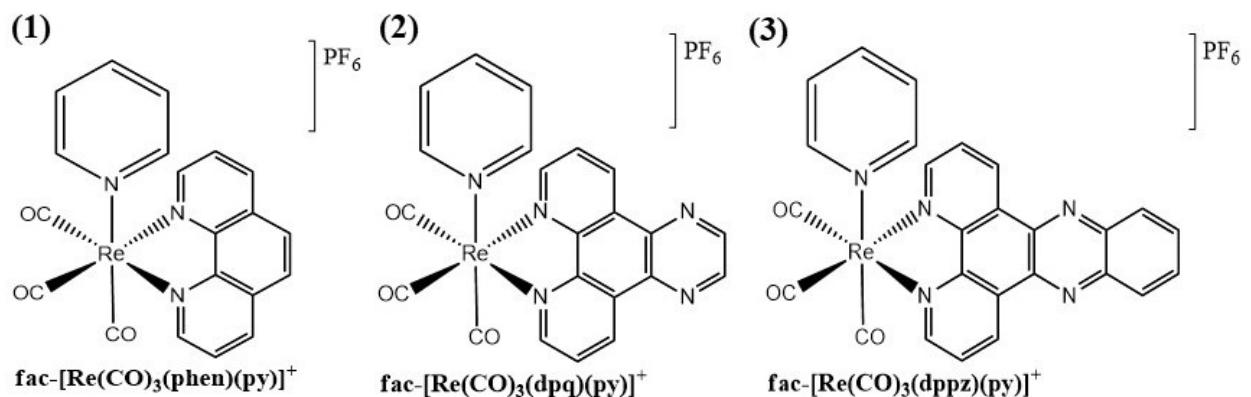
2.1 Geral:

Estudar a capacidade de três complexos tricarbonilrênio(I): *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺, *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ (Figura 7) de interagirem com biomoléculas, como proteína, lipídeo e DNA, e relacionar o efeito citotóxico destes complexos em células tumorais com o grau de interação com biomoléculas.

2.2 Específicos:

- Determinar o coeficiente de partição água/octanol desses três complexos;
- Avaliar o grau de interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com proteínas representada por BSA
- Estimar o grau de interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com lipídeos na forma de lipossomos constituídos de DOPG;
- Investigar o grau de interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com DNA;
- Avaliar ensaios de citotoxicidade dos complexos tricarbonilRênio(I) frente a linhagem celular (HeLa).

Figura 7. Representação estrutural dos complexos tricarbonilrênio(I) do tipo *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ (1); *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ (2) e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ (3). No decorrer dessa dissertação os complexos serão mencionados sem explicitar o prefixo *fac*, e nas figuras os complexos são abreviados como Re(phen), Re(dpq) e Re(dppz) em função de seus ligantes diferentes.



Fonte: Complexos tricarbonilrênio(I) adquiridos em colaboração com o Laboratório de Fotoquímica (LAFOT) da IQ-UFU coordenado pelo Profº Dr Antônio Otávio do Patrocínio e o Mestre Marcos Eduardo Gomes. A síntese e caracterização estão descritas conforme em (RAMOS et al., 2022b).

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e solventes

Na Tabela 1 estão apresentados todos os reagentes utilizados ao longo deste trabalho, bem como o percentual de pureza e marca.

Tabela 1. Lista de reagentes e solventes.

Reagentes	Pureza (%)	Marca
Acetonitrila	-	Merck
1-Octanol	98	Vetec
Albumina Bovina	96	Sigma Aldrich
Tampão Trizma Base	99	Sigma Aldrich
Lipídio DOPG	99	Avanti Polar Lipids
Ácido desoxirribonucleico de esperma de salmão (ss- DNA)	-	Sigma Aldrich
Ácido clorídrico		
Cloreto de sódio		

Fonte: Autora.

3.2 Espectroscopia eletrônica UV-visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV/Vis) foram obtidos em uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, onde as soluções foram submetidas à varredura espectral de 800 a 200 nm, nos espectrofotômetros Shimadzu modelo UV-2501BC e UV-2501 PC, pertencentes ao Laboratório de Fotoquímica e Ciência dos Materiais (LAFOT-CM) e ao Laboratório de Síntese de Candidatos a Fármaco (LasFar), do Instituto de Química (IQ), da UFU Campus Santa Mônica em parceria com o Prof. Dr. Antônio Otávio Patrocínio; Mestre Marcos Eduardo Gomes e Prof. Dr. Wendell Guerra.

3.3 Espectroscopia eletrônica de emissão

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados utilizando-se cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, no espectrofluorímetro Horiba modelo Fluoromax-4, pertencente ao Laboratório de Fotoquímica e Ciência dos Materiais- LAFOT-CM, do Instituto de Química (IQ), da UFU Campus Santa Mônica em parceria com o Prof. Dr. Antônio Otávio e o Mestre Marcos Eduardo Gomes.

3.4. Estabilidade de complexos tricarbonilrênio(I) em tampão Tris (pH 7,4)

Nesse estudo, analisou-se a estabilidade dos complexos tricarbonilrênio(I) em tampão tris (hidroximetil-aminometano) em pH=7,4, em 24 horas. O preparo das concentrações dos complexos tricarbonilrênio(I) de 20 μ M e posteriormente foram feitas as leituras de absorção logo após a dissolução e 24 horas após a dissolução em 50 mM tris (pH 7,4), a fim de verificar melhor a sobreposição e similaridade das bandas (IL e MLCT).

3.5. Determinação do coeficiente de partição octanol/água.

A utilização do coeficiente de partição é um parâmetro físico-químico muito usado nos estudos de QSAR (do inglês, *Quantitative Struture Activity Relationships*) (TAVARES, 2004); (PIRES et al., 2001) (RANDO et al., 2002) que busca descrever a lipofilicidade dos compostos, sendo estes importantes nos processos de solubilização, penetração e distribuição no organismo.

Nesta análise, procurou-se investigar através do coeficiente de partição, que é uma medida amplamente utilizada em meio farmacológico, as propriedades lipofílicas dos complexos investigados, ou seja, se conseguem adentrar em células pela passagem das membranas fosfolipídicas. Por isso, utiliza-se um sistema que simula o meio biológico, com uso de solventes imiscíveis (ROCHA, 2020).

Desse modo, os tipos de solventes das fases mais utilizados pelos especialistas são octanol (orgânico) e aquosa (tampão em pH 7,4) (MARTINS; LOPES; ANDRADE, 2013). O solvente octanol é um tipo de solvente orgânico viscoso e que apresenta propriedades químicas de cadeias hidrofóbicas e grupos hidrofílicos e por isso consegue simular um sistema *in-situ* (PRAUSNITZ; TAVARES, 2004).

Para o solvente aquoso, foi feito o preparo do Tampão Tris, com uma massa de 0,01213 g de Tampão Tris (hidroximetil-aminometano) e concentração final de 10mM. Em seguida, foram dissolvidos em água destilada para solubilizar e ajustar o pH 7,4 com HCl totalizando um volume de 10 mL.

O preparo das soluções dos complexos de tricarbonilrênio(I), ambos com concentrações de 50 μ M. Posteriormente, separou-se três frascos com alíquotas de 50% (v/v) dos solventes octanol e tampão tris-HCl pH 7,4, onde colocou-se 1mL de cada solvente. Em seguida, adicionou-se 70 μ L da solução estoque dos complexos, e levou-se ao agitador mecânico vortex para homogeneização, após agitação os frascos foram envoltos em papel alumínio, com a finalidade de protegê-los da luz e calor, e foram mantidos assim por 24 horas para a etapa de incubação/interação dos complexos, esse experimento foi realizado em modo duplicata.

Posteriormente, foram retirados 100 μ L de cada fase dos solventes, e foram diluídos em 2.000 μ L em acetonitrila, totalizando um volume de 2.100 μ L para efetuar as leituras de absorção de UV-vis conforme descrito no item 3.2.

Para determinar o coeficiente de partição (K_p), foi utilizado a equação 1 e posteriormente o Log de P, que é a medida logarítmica de partição (MALVEZZI, 2003). O termo coeficiente de partição de uma espécie química é definida pela razão entre a concentrações das espécies químicas, que se encontram em condições de equilíbrio, sendo dissolvida em um sistema constituído por duas fases, uma fase orgânica no numerador e outra aquosa no denominador (HANSCH, 1969).

$$K_p = \frac{[\text{Composto}] \text{ Fase orgânica}}{[\text{Composto}] \text{ Fase aquosa}} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

K_p é o valor do coeficiente de partição, sendo enunciado pelas razões das concentrações em equilíbrio do composto em fase orgânica e aquosa;

[Composto] Fase orgânica: é o termo da concentração do composto dissolvido na fase orgânica.

[Composto] Fase aquosa: é o termo da concentração do composto dissolvido na fase aquosa.

O experimento foi realizado em duplicata independente com 3 repetições em cada experimento ($n=6$), para obtenção de resultados calculou-se as médias aritméticas e desvio padrão dos valores obtidos em cada experimento.

3.6 Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com Albumina de Soro Bovino (BSA)

Para a obtenção dos espectros, preparou-se separadamente as amostras de solução de BSA em tampão Tris 10mM (pH 7,4), com concentração final de $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Para a realização desse procedimento, foram utilizadas soluções estoque de BSA recém-preparadas, visando a manutenção da estrutura proteica. Portanto, a solução estoque de BSA eram descartadas ao final do dia.

Foram preparadas soluções individuais, com alíquotas de 10 a 100 μ L da solução dos complexos de Rênio $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, com tampão tris atingindo as concentrações de 0; 1,7; 3,3; 4,9; 6,5; 8,1; 9,8; 11; 12; 14,6; 16,1 μ mol L⁻¹ em complexo, respectivamente.

As amostras para os espectros de emissão dos resíduos de triptofano da BSA foram excitadas no (λ_{exc}) em 280 nm e a varredura das leituras na faixa entre 300 e 550 nm após 5 minutos de incubação entre os complexos de rênio e BSA. A análise foi feita na temperatura de incubação de 35°C sob certas condições montadas com o intuito de investigar a capacidade dos complexos de rênio em interagir com a proteína BSA.

Neste trabalho foi utilizado um parâmetro matemático para a correção do efeito de filtro interno das amostras dos espectros de emissão. Esse parâmetro, foi desenvolvido no ano de 1968 por Parker, cujo objetivo foi reduzir ou minimizar o espalhamento da luz e fornecer informações mais precisas a níveis moleculares na amostra (GENOT et al., 1992); (OATES; WOOD; PARKER, 1987); (FREITAS, 2021). E para avaliar se os complexos tricarbonilrênio(I) possuem capacidade de suprimir a fluorescência da BSA, foi necessário a correção desse efeito de filtro interno das amostras. A equação 2 de Parker segue abaixo:

$$F_{cor} = F_{obs} \times 2,3 \frac{dA_{exc}/1-10-dA_{exc}}{10gA_{em} \times 2,3 \frac{sA_{em}/1-10-sA_{em}}{}} \quad \text{Equação 2}$$

E para investigar o quanto ocorre de supressão de fluorescência da BSA com os complexos de rênio, os dados foram ajustados e utilizou-se a equação de Stern-Volmer (K_{sv}), descrita abaixo pela equação 3.

$$F_0/F = 1 + K_{sv} [Q] \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

K_{sv} é a constante de supressão de Stern-Volmer;

F_0/F são as medidas das intensidades de fluorescência na ausência e presença do agente supressor da fluorescência;

$[Q]$ é a concentração do agente supressor (complexos de rênio);

Foi utilizado também outro parâmetro de interesse para avaliar o grau de interação entre os complexos de rênio e a proteína (BSA), por meio do termo de ligação (K_b) através da Equação de (LAKOWICZ, 2006), descrita pela equação 4 abaixo:

$$\text{Log } (F_0-F) / F = \text{Log } K_b + n \times \text{Log } [Q] \quad \text{Equação 4}$$

Onde F_0 e F são respectivamente, as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do supressor, o termo K_b é a constante de ligação aparente do supressor à BSA, n é referente ao número de sítios de ligação do supressor à BSA e $[Q]$ é a concentração do supressor. Esses valores de n e K_b podem ser obtidos do coeficiente angular e intercepto, por meio da plotagem linear de $\text{Log } (F_0-F)/F$ versus $[Q]$.

3.7 Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com lipossomos (DOPG)

Primeiramente foi feito a investigação para avaliar a quanto tempo ocorre estabilidade dos complexos com os lipossomos constituídos por 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (DOPG).

A preparação dos lipossomos, mais precisamente do tipo LUV's (vesículas unilamelares grandes, do inglês *Large Unilamellar Vesicles*), iniciou-se com a retirada da quantidade adequada da solução estoque do lipídio DOPG ($25,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) sob temperatura ambiente, obtendo uma concentração final de 1mM. Posteriormente, o solvente clorofórmio foi lentamente evaporado (28°C) sob um fluxo contínuo e suave de argônio (atmosfera inerte), a fim de formar o filme lipídico na parte inferior do eppendorf. Depois da secagem, a amostra foi submetida a uma hidratação com tampão tris em pH 7,4 para um volume de 2.000uL, produzindo lipossomos do tipo MLVs (do inglês, *Multilamellar Vesicles*), onde foi homogeneizado, com a utilização do agitador vórtex e ultrassom. Em seguida, levou-se para o processo de extrusão (ALVES et al., 2013) que permite a mudança de lipossomos do tipo MLV (multilamelar vesicles) para o tipo LUV (large unilamellar vesicles) que possui diâmetro de poro definido de 100 nm, por uma passagem em torno de 21 vezes em uma membrana de policarbonato ou celulose (Ver Figura 7) (Nuclepore, Track-Etch Membrane) da Whatman Scheider & Schuell (Kent, Reino Unido), utilizando-se uma mini-extrusora da Avanti Polar

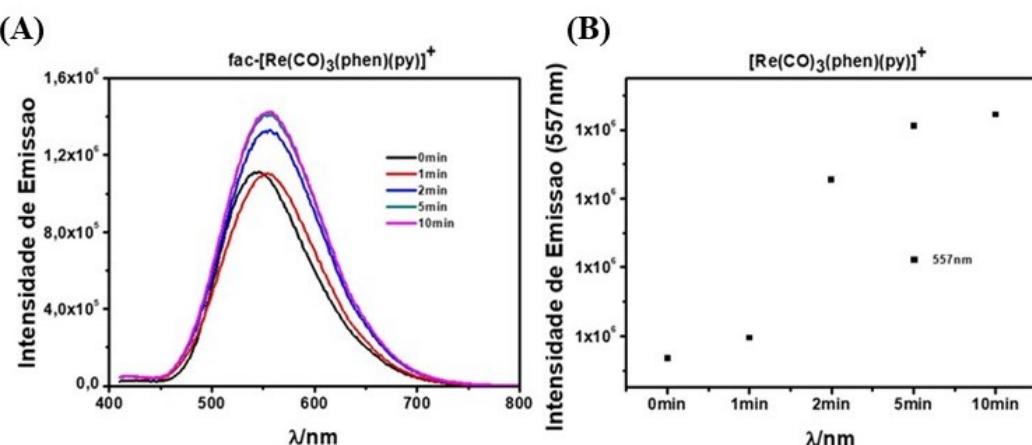
Lipids (Ver Figura 8) (Alabaster, AL, EUA). O uso desse procedimento promove uma suspensão final de 100% de lipossomos unilamelares (ALVES et al., 2013; MACDONALD et al., 1991).

As condições foram prescritas para os três complexos com uma concentração de 9mM previamente prontas, para um volume total de 3.500 uL, sendo este 300 uL da solução de lipossomos, mais 3.160 uL de tampão tris (pH 7,4) e 40 uL dos complexos, em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Com isso, as leituras de absorção sucederam à varredura espectrofotométrica de 200 à 800 nm.

E para os espectros de emissão, se deu primeiramente com a realização da cinética de purga com a utilização do gás argônio, a fim de monitorar o tempo de incubação da amostra sob atmosfera inerte com o complexo de Re(phen), que serviu como modelo para os demais, e no qual foi estabelecido que no tempo de 10 minutos os espectros de emissão permanecem constantes, sugerindo assim que a partir de 10 minutos é o tempo suficiente para avaliar a interação dos complexos com lipossomos (DOPG). Para isso, a figura 8 apresenta o espectro de emissão *via* cinética de purga.

Nos espectros de emissão, os complexos de Re(phen) e (dpq) utilizou-se o mesmo filtro LP 400nm, apenas com mudanças nas fendas 2 e 5nm para o (phen) e 2 e 2nm para o (dpq) ambos com λ_{exc} em 350nm e λ_{emi} em 410 a 800nm. E para o complexo de Re(dppz) utilizou o filtro LP 455nm com uso das fendas de 10 e 20nm, com λ_{exc} em 350nm e λ_{emi} em 500 a 800nm.

Figura 8. (A) Espectro de emissão do Complexo de Re(phen), em função do tempo sob atmosfera inerte de argônio. (B) Intensidade de emissão monitorada em 557nm do complexo de Re(phen) versus tempo de estabilidade em minutos do espectro de emissão.



Fonte: Autora.

Após essa investigação do tempo de interação, foi feito titulação em modo triplicata, onde a concentração dos complexos de Rênio se manteve fixa de $20\mu\text{M}$, enquanto foram adicionados 14 pontos da solução de Lipossomos DOPG (1,5mM) variando as concentrações, na solução contendo os complexos, totalizando assim soluções com concentrações de 5,2; 10; 15; 20; 24; 29; 35; 42; 49; 59 68; 76; 82 e $92\mu\text{M}$ com tempo de incubação de 30minutos ambos em agitação manual e posteriormente foram realizados as leituras de absorbância.

A constante de ligação (K_b) dos complexos de Rênio a bicamada lipossomal foi determinada por medidas espectrofotométricas de absorção UV-Vis da solução variando a concentração dos lipossomos. O K_b foi calculado pelo ajuste da equação descrito por Santos e colaboradores (SANTOS; PRIETO; CASTANHO, 2003).

$$\mathbf{Abs} = \frac{\mathbf{Abs}_0 + \mathbf{Abs}_f \times k_b x [L]}{1 + k_b x [L]} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

Abs: Intensidade de absorbância

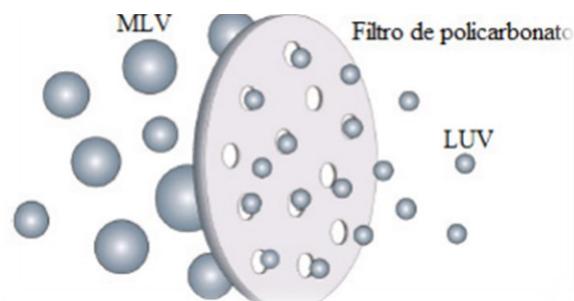
\mathbf{Abs}_0 : Absorbância na ausência de lipossomo (DOPG)

\mathbf{Abs}_f : Absorbância após adição de lipossomo (DOPG)

[L]: concentração de lipossomo constituído de DOPG em mol/L

K_b : Constante de ligação

Figura 9. Representação ilustrativa do processo de extrusão.



Fonte: Adaptado de (RUKAVINA; VANIĆ, 2016).

Figura 10. Representação da mini extrusora da marca Avanti Polar Lipids para obtenção de lipossomos unilamelares (LUV) com tamanhos uniformes de 100nm.



Fonte: Autora.

3.8. Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com ss-DNA

Primeiramente foi realizado o preparo da solução do tampão tris (50mM) e NaCl (5mM) em pH 7,4, onde pesou-se 0,30285g de Tris ($C_4H_{11}NO_3$) e 0,01461g de cloreto de sódio (NaCl) e ambos foram dissolvidos em 50mL em água ultrapura, obtendo-se assim um pH de 10,80, posteriormente foi feito o ajuste com algumas gotas de HCl (8 mol.L^{-1}) para atingir um pH 7,40.

O preparo da solução do ácido desoxirribonucleico de esperma de salmão (ss-DNA) em parceria com a Professora Dra. Renata Galvão (ICENP-UFU) que nos cedeu uma amostra da biomolécula e contribuiu na condução desse estudo. Com isso, pesou-se 5 mg e dissolveu-se em 5 mL da solução de tampão tris (50 mM) e NaCl (5 mM) com pH 7,4. Para utilizar o DNA, é necessário a realização do teste de integridade, no qual indica se a biomolécula mantém sua estrutura de dupla hélice nas condições favoráveis, assim como as proteínas. Esse teste é feito a partir da razão das medidas de absorbâncias em 260 e 280 nm ($Abs_{260\text{nm}}/Abs_{280\text{nm}}$), sendo que essa razão deve ser superior ou maior que 1,8 (Figura 27), pois caracteriza que o DNA têm sua estrutura com dupla hélice mantida e não há proteínas livres na solução (GONZLEZ-RUIZ et al., 2011).

Para esse estudo foi realizado uma titulação, onde a concentração dos complexos de Rênio se manteve fixa de $20\mu\text{M}$, enquanto foram adicionados $10\ \mu\text{L}$ da solução de ss-DNA ($85,5\mu\text{M}$), totalizando 10 adições e obtendo assim soluções de 85; 171; 255; 338; 420; 502; 583; 663; 742 e $821\mu\text{M}$ da biomolécula, que foi feito em triplicata.

Para avaliar a interação entre os complexos de Re com o ss-DNA, foi feito uma solução padrão contendo apenas a biomolécula ss-DNA com tampão Tris/NaCl para ser subtraída com a solução de trabalho (complexos com ss-DNA) já que os complexos possuem as bandas IL de absorção na mesma região do ss-DNA. E para a obtenção da constante de interação (K_b) desse

sistema do DNA com os complexos de Rênio(I), utilizou-se a Equação 5, desenvolvida por (BENESI; HILDEBRAND, 1949) que fornece a intensidade da interação (BARRA; NETTO, 2015; MOHAMADI et al., 2015).

$$\frac{A_0}{A-A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{HG}-\varepsilon_G} * \frac{1}{K_b[DNA]} \quad \text{Equação 6}$$

Onde A_0 é a absorbância referente ao complexo no comprimento de onda estudado sem DNA, A é a absorbância referente ao complexo no comprimento de onda estudado após adições em série de alíquotas de DNA, ε_G é a absorvidade molar do complexo no comprimento de onda estudado, ε_{HG} é a absorvidade molar no comprimento de onda estudado para o aduto complexo e DNA, K_b é a constante de ligação e $[DNA]$ é a concentração de DNA. A razão entre o coeficiente linear e o angular em um gráfico de $A_0/A-A_0$ em função de $1/[DNA]$ fornece o valor de K_b .

Para as medidas, utilizou-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm em varredura espectrofotométrica de 800 nm a 200 nm após 5 minutos de incubação em temperatura ambiente. A solução de ss-DNA durante todo o experimento foi mantida em refrigeração de banho de gelo entre 2-10°C e constante agitação manual.

3.9. Linhagem celular e cultivo dos complexos de Re em células HeLa

As células da linhagem carcinoma do colo do útero humano (HeLa) foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Processos Fotoinduzidos e Interfaces (LPFI), coordenado pelo Prof. Dr. Maurício Baptista do Instituto de Química da USP. As células HeLa foram cultivadas em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), L-glutamina (2 mM) e o antibiótico penicilina (100 UI/mL). Estas foram mantidas em incubadora com 5% de CO₂ à temperatura constante de 37°C. O cultivo de células foi realizado no Laboratório Biologia da Reprodução, coordenado pelo Professor Dr. Marcelo Beletti, situado no Campus Umuarama da UFU.

3.10. Incorporação dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)

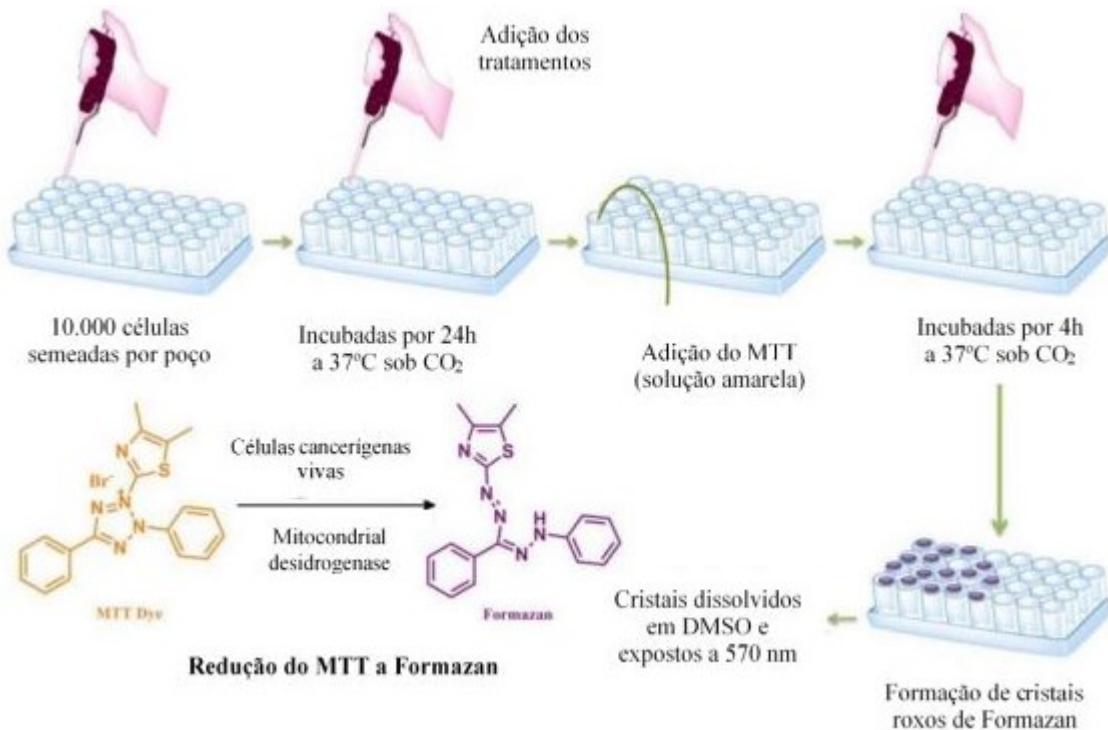
Primeiramente foi feito o plaqueamento onde as células foram incubadas em placas de 24 poços ($1,13 \times 10^6$ células/1000 μ l) por 24hs em estufa de CO₂ (5%) a 37 °C. Após isso, os poços foram lavados 1x em solução estéril de tampão PBS e foi acrescentado a solução dos complexos solubilizados em DMSO foi de máximo de 2,5% v/v, garantindo a não interferência do mesmo nos resultados com concentrações de 10 e 20 μ M (independentes) para serem solubilizados em DMEM contendo 10% de SFB (Soro Fetal Bovino) e 1% de antibióticos (penicilina e estroptomicina). A incubação contendo as células e os complexos se deu novamente por 24hs em estufa de CO₂ (5%) a 37°C.

Após este tempo, foi retirado 500 μ L de sobrenadante de cada poço e adicionados em eppendorf junto com 500 μ L de solvente DMSO. As células foram lavadas com tampão PBS 1x para posterior adição de 500 μ L de DMSO por poço, a fim de extrair a quantidade de complexo incorporado na célula. As soluções do sobrenadante e de complexo extraído foram completadas para 500 μ L com DMEM e 500 μ L de DMSO na mesma proporção para posterior leituras de absorbâncias.

3.11. Ensaio de viabilidade celular dos complexos de tricarbonilrênio(i) em HeLa

Para avaliar o estudo da viabilidade celular dos complexos de Re e seus ligantes, a linhagem celular HeLa foi investigada através do uso do reagente MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2- brometo de il)-2,5-difeniltetrazólio] (MTT) segundo (MOSMANN, 1983) com modificações. As células foram plaqueadas (30.000 células/poço) em placas de 48 poços estéreis e mantidas em incubadora (37°C e 5% de CO₂). Após 24h, foram adicionados aos poços as concentrações (de 5; 10; 25; 50 e 100 μ M) dos complexos tricarbonilrênio(I) ou dos ligantes, previamente preparados, e as células incubadas com os compostos por mais 24 h nas mesmas condições de cultivo descritas anteriormente (37°C e 5% de CO₂). Após esse período, adicionou-se uma solução (100 μ l/poço) de 0,75mg/mL⁻¹ de MTT por 3h. Posteriormente, a solução foi removida e os cristais de formazan formados durante o período foram solubilizados em 300 μ L de solvente DMSO (Ver figura 11). A leitura da absorbância foi realizada em leitor de microplacas (SpectraMax M2^e) em 570nm pertencente ao Laboratório de Imunoparasitologia Dr. Mario Endsfeldz Camargo situado no Campus Umuarama da UFU pela supervisão da técnica Ana Cláudia. O *software* utilizado para análise estatística foi o GraphPad Prism versão 5.0. Esse experimento ocorreu em duplicata independente, com 3 repetições em cada replicata (n = 6).

Figura 11. Representação do ensaio de citotoxicidade pelo método de MTT.



Fonte: Adaptado de (TRIPATHY et al., 2018).

Para calcular a porcentagem de células viáveis (vivas) por meio de leituras de absorbância das células controle e das células tratadas, utiliza-se a equação 6 pela referência de (MOSMANN, 1983) conforme descrita abaixo.

$$\% \text{ Células Viáveis} = \frac{\text{Abs tratamento (570nm - 800nm)}}{\text{Abs Ct (570nm - 800nm)}} * 100\% \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

$\text{Abs}_{\text{tratamento}}$ = Leituras nos comprimentos de onda de 570 nm e 800 nm das células controle (CT)

Abs_{CT} = Leituras nos comprimentos de onda de 570 nm e 800 nm das células tratadas.

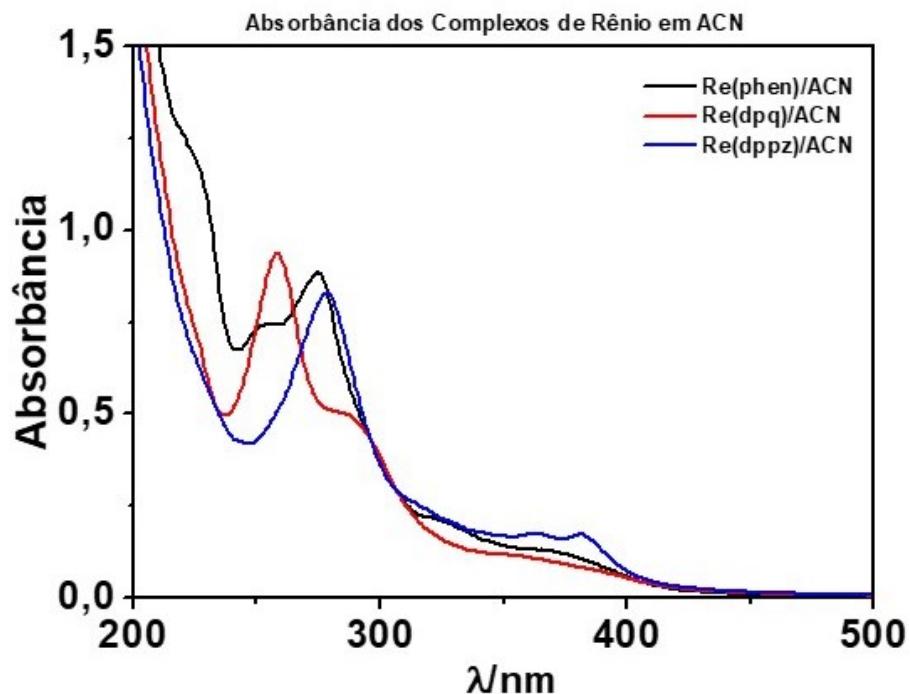
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Espectroscopia eletrônica de absorção dos complexos tricarbonilrênio(I)

A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta (UV) e visível (Vis) é uma técnica utilizada para avaliar as transições eletrônicas em compostos de coordenação que apresentem absorção na região do UV-Vis de 200nm a 800nm. A molécula quando absorve energia, os elétrons são promovidos de um orbital ocupado de maior energia chamado de HOMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) para o orbital desocupado de menor energia chamado de LUMO (do inglês, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Durante os processos de absorção, ocorrem algumas mudanças dos estados energéticos dos elétrons do qual constituem as moléculas que podem ser elétrons não ligantes, ou elétrons envolvidos de uma ligação química (PAVIA, et al., 2015).

Geralmente, estruturas de complexos de tricarbonilrênio(I), apresentam transições eletrônicas MLCT (transferência de carga do metal para ligante) de menor energia, e transição IL (intraligante) de maior energia (RAMOS et al., 2022a). O espectro eletrônico de absorção UV-Vis em acetonitrila para os complexos *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ estão apresentados na Figura 12.

Figura 12. Espectro eletrônico de absorção em UV-Vis dos complexos (-) fac-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; (-) fac-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e (-) fac-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ à 10 μM em acetonitrila (ACN).



Fonte: Elaborado pela autora.

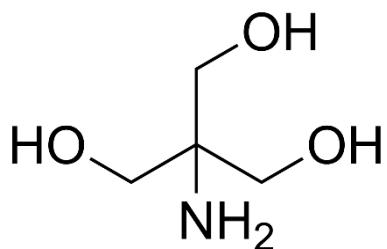
As bandas de maior energia (entre 200 nm e 300 nm) observadas na Figura 12, para os três complexos rênio (*fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺), representam as transições intraligantes (IL, $\pi \rightarrow \pi^*$) dos ligantes piridina (py), onde 1,10-fenantrolina (phen), pirazino [2,3-*f*][1,10]fenantrolina (dpq) e dipirido [2,3-*a*:2'3'-*c*]fenazina (dppz).

Já as bandas de absorção de energia mais baixa (300-450 nm) são atribuídas a uma transição de transferência de carga de metal para ligante (MLCT, $d\pi \rightarrow \pi^*$). Tais características espectrais são típicas de complexos tricarbonilrênio(I) e as interpretações das bandas (IL ou MLCT) foram feitas em comparação com a literatura (DYER et al., 2003; RAMOS et al., 2022a).

4.2. Estabilidade dos complexos tricarbonilrênio(I) em tampão Tris (pH 7,4)

A solução de tampão possui a finalidade de estabilizar o pH do meio, sendo esta indispensável para análises de caráter biológico, que é normalmente tamponado em pH 7,4 e à uma temperatura de 37°C. Idealmente, a utilização desses tampões em estudos bioquímicos não pode alterar a estrutura química das moléculas estudadas por meio de troca de ligante, e nem afetar as interações presentes no estudo. O tampão tris (hidroximetil-aminometano) apresenta ser amplamente útil em estudos bioquímicos, devido a sua faixa tamponante ser na região do pH fisiológico. Entretanto, a molécula de tampão tris apresenta grupos substituintes nas extremidades em sua estrutura sendo estes OH e NH₂ (Ver Figura 13) que se apresentam como bases de Lewis, por possuir pares de elétrons nos átomos doadores de oxigênio e nitrogênio. Essas bases podem se coordenar com o centro metálico de complexos de coordenação, a depender do metal e da labilidade do(s) ligante(s) envolvido (ŠÍPOVÁ-JUNGOVÁ et al., 2021).

Figura 13. Estrutura química do tampão tris (hidroximetil-aminometano).

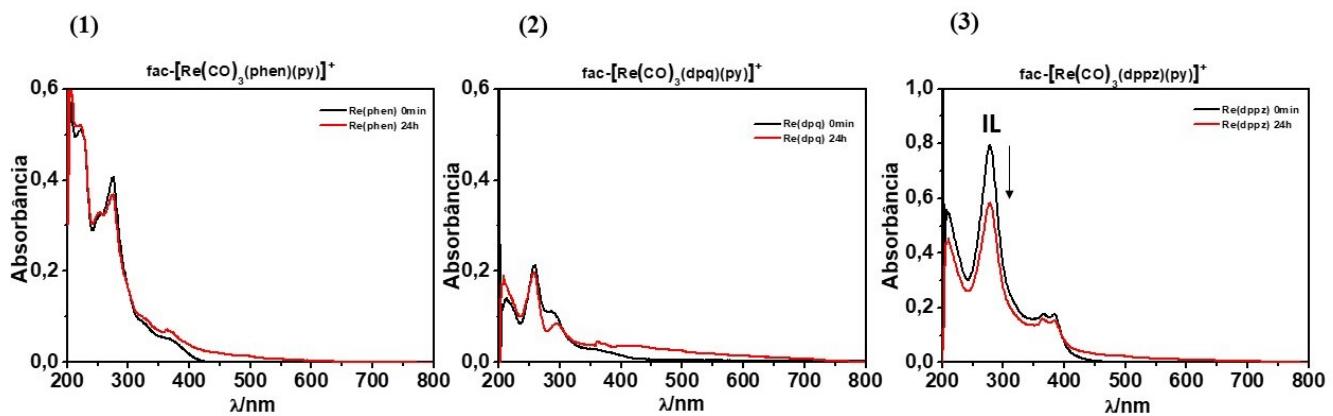


Fonte: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tris>

Considerando que neste trabalho, estudou-se a interação dos complexos de rênio com biomoléculas (proteína, lipídios e DNA), e para isso utilizou-se de tampão tris em pH 7,4, a estabilidade dos três compostos frente ao tampão tris foi averiguada.

Na Figura 14 tem-se os espectros eletrônicos de absorção dos complexos *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺, respectivamente, em presença do tampão Tris/NaCl (pH=7,4) logo após sua dissolução (em preto) e após 24h de incubação (em vermelho).

Figura 14. Espectro de absorção UV-Vis dos complexos (1) *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; (2) *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺; (3) *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ em tampão Tris 50mM (pH = 7,4) em imediatamente após a dissolução, 0 minuto (--) e 24 horas (—) após a dissolução, à temperatura ambiente.



Fonte: Autora.

Como pode ser observado na Figura 14, não há deslocamento no comprimento de onda da absorção das bandas MLCT's dos complexos tricarbonilrênio(I) após 24 horas de dissolução dos compostos em tampão tris. Também não há variação significativa na intensidade de absorção dessas bandas MLCT dos compostos estudados (Figura 14). Observou-se apenas uma leve diminuição da absorbância na banda IL (250-300 nm) do *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ (Figura 14(3)), provavelmente devido ao empilhamento $\pi \rightarrow \pi$ no ligante dppz, por ser mais hidrofóbico. Desta forma, os resultados experimentais indicam que os complexos são estáveis (sem alteração na estrutura química ou troca de ligantes) visualmente em tampão tris, para se ter mais efetividade é necessário outro tipo de técnica para elucidar melhor os dados de estrutura, mas antemão podem ser possibilitados a aplicação destes compostos nos estudos com biomoléculas (proteína, lipídio e DNA) que necessitam de tampão tris para controle do pH em 7,4.

4.3. Determinação do coeficiente de partição água/octanol dos complexos tricarbonilrênio(I)

O processo que envolve a absorção de um fármaco no organismo, é dado através da passagem das membranas biológicas. Nesse processo ocorrem caminhos de caráter hidrofílicos ou hidrofóbicos, que faz com que a substância seja transportada para seu sítio de ação, e exerça sua atividade biológica (TAVARES, 2004). Esse transporte até a distribuição do fármaco é descrito aos processos de dissociação/ionização e a lipofilia dos grupos ligantes (OPEA, 2002).

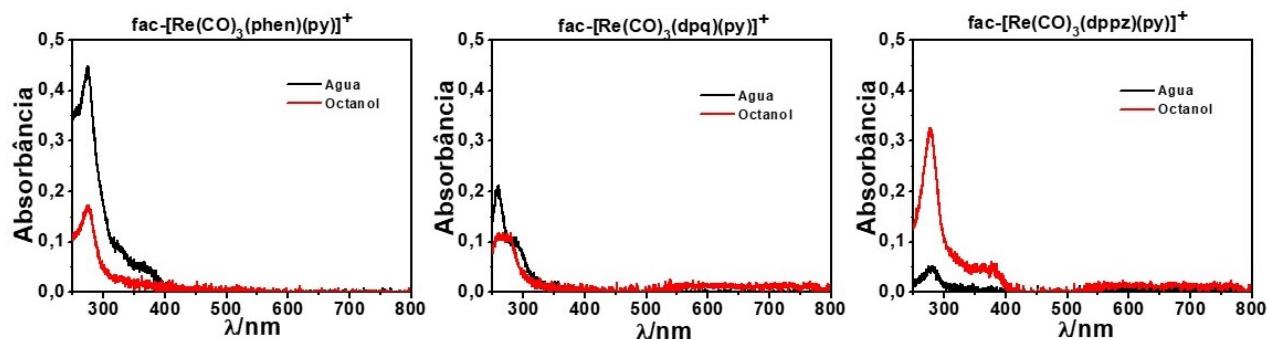
As propriedades lipofílicas indicam as possíveis interações hidrofóbicas e podem ser descritas pelo coeficiente de partição (K_p) e o seu respectivo valor de Log P. Os valores de coeficientes de partição (K_p) são úteis para estimar a distribuição de fármacos dentro do corpo, além de serem importantes na descoberta, desenvolvimento e fabricação de drogas. Por exemplo, o uso do coeficiente de partição (K_p) em água-octanol prevê uma relação estrutura-atividade quantitativa (QSAR, do inglês *Quantitative Structure-Activity Relationships*), onde se assume que existe uma relação simples entre K_p e respostas biológicas, como a dose letal para 50% dos organismos de teste (LD₅₀, do inglês *Lethal Dose* para 50% morte) (HSIEH et al., 2011).

Compostos hidrofóbicos com altos valores de coeficientes de partição octanol-água são distribuídas principalmente em áreas hidrofóbicas, como as bicamadas lipídicas das células. Por outro lado, drogas hidrofilicas (coeficientes de partição octanol/água baixos) são encontradas principalmente em regiões aquosas (SHARGEL L, SUSANNA WP, 2012).

Outras conclusões já obtidas em outros trabalhos acerca dos estudos do QSAR, apresentaram as mesmas características de Log P em (LIPINSKI et al., 2001; MUSIOL et al., 2010).

Neste contexto, utilizamos um sistema bifásico contendo dois solventes imiscíveis, sendo um solvente de caráter polar e o outro apolar, no caso o tampão tris pH 7,4 e octanol, respectivamente, para estimar os valores de K_p e logP. Para isso, registrou-se os espectros de absorção UV-Vis dos complexos de rênio (*fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺) coletados do meio aquoso e orgânico (Figura 15).

Figura 15. Espectros de absorção UV-Vis dos complexos de rênio (50 μ M) em sistema bifásico 1:1 água-octanol.



Fonte: própria autora.

Observando os espectros coletados de absorção (Figura 15), é possível notar que o complexo de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ apresentou maior absorvidade em meio aquoso, para o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ demonstrou-se parcialmente nos meios aquoso e orgânico, porém o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ verificou-se maior absorvidade em octanol, no qual apresenta bandas com intensidade maiores (Figura 15).

A partir dos dados coletados, utilizou-se a equação 1 (descrita em metodologia, item 3.5) para determinar o coeficiente de partição (K_p) e os respectivos valores de Log P dos complexos de rênio, como também médias aritméticas e desvio padrão da duplicata independente, cujos valores estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores do coeficiente de partição (K_p) e Log P dos complexos de rênio no sistema bifásico octanol/água. Valores representam a média \pm desvio padrão de dois experimentos independentes com 3 repetições em cada experimento ($n = 6$).

Composto	K_p	Log P
$fac\text{-}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$	$0,341 \pm 0,145$	$-0,386 \pm 0,083$
$fac\text{-}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$	$0,694 \pm 0,009$	$-0,151 \pm 0,105$
$fac\text{-}[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$	$6,944 \pm 0,185$	$+0,646 \pm 0,205$

Fonte: Autora.

Com base na literatura, os valores de K_p dos compostos que apresentarem maior coeficiente de partição, possui uma maior afinidade pela fase orgânica, favorecendo assim uma maior taxa de permeabilidade nas biomembranas, e provocam biodisponibilidade farmacológica dos compostos (HAMELIN, 1998).

Observando os valores do coeficiente de partição (K_p) obtidos, nota-se que o complexo de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ apresentou maior valor de K_p com $6,944 \pm 0,185$ no qual indica que teve maior afinidade pela fase orgânica, provavelmente por ser a molécula mais lipofílica diante dos outros complexos investigados do $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$.

Os estudos de Hansch e seus colaboradores, denotaram que o Log P faz parte de uma medida aditiva e possui um grande valor constitutivo (HANSCH, 1969; HANSCH et al., 1973). Os valores de Log P sendo positivos indicam uma maior afinidade do soluto (composto) pela fase orgânica, e os valores negativos indicam afinidade pela fase aquosa (TAYLOR, 1990). Desta maneira, os valores de Log P dos complexos de rênio (I) obtidos nos dois experimentos independentes do sistema octanol/água, observa-se dois valores logarítmicos negativos para os complexos de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ ($\text{Log P} = -0,386 \pm 0,083$) e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ ($\text{Log P} = -0,151 \pm 0,105$), no qual indica maior afinidade pela fase aquosa. No entanto, o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})]^+$ ($\text{Log P} = +0,646 \pm 0,205$) apresentou valor positivo indicando maior afinidade pela fase orgânica.

Portanto, o complexo de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ apresenta maior afinidade por solvente orgânico (octanol), o que está de acordo com a maior cadeia carbônica em um de seus grupos ligante. Isso sugere que este composto poderá ter mais facilidade de permeabilidade e/ou adentrar nas células através das membranas fosfolípidicas (KONKANKIT et al., 2020). De fato, segundo o trabalho de outros autores, mostram que quanto maior a cadeia carbônica da molécula, maior K_p e Log P e consequentemente maior a taxa de incorporação em células (PAVANI et al., 2009); (BACELLAR et al., 2014).

4.4. Interação dos complexos tricarbonilrênio(I) com *Albumina de Soro Bovino* (BSA)

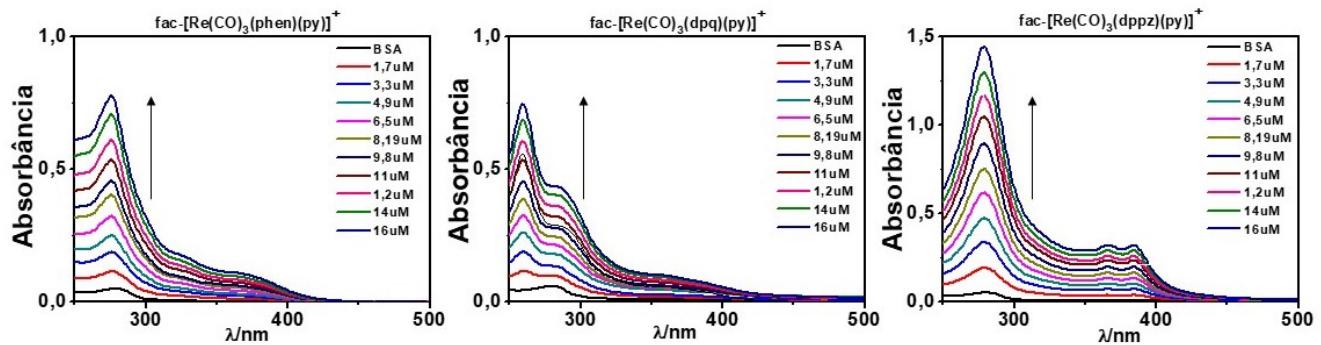
As albuminas séricas são os principais constituintes proteicos do sistema circulatório dos mamíferos. Essas macromoléculas têm importante papel fisiológico, pois contribuem para a pressão osmótica do sangue (PETERS, 1985), além de ajudarem a controlar o pH do sangue e aumentar a solubilidade de moléculas hidrofóbicas. A função fisiológica mais importante das albuminas é o transporte de várias moléculas na corrente sanguínea (BERTUCCI; DOMENICI, 2002). Portanto, é importante estudar as interações dos candidatos a fármacos com essas proteínas. Esses tipos de estudos geralmente são realizados usando uma proteína modelo, a Albumina de Soro Humano (HSA) ou a Albumina de Soro Bovino (BSA) (RAGONE et al., 2017). Apesar da importância desse tipo de estudo, até o momento existem apenas alguns relatos na literatura sobre estudos de associação de complexos de rênio com BSA (RAGONE et al., 2017); (BHUVANESWARI et al., 2011, 2014; BHUVANESWARI; FATHIMA; RAJAGOPAL, 2012). Por isso, também se investigou a capacidade dos complexos tricarbonilrênio(I) em interagir com a proteína BSA.

A fluorescência das albuminas é originada por três resíduos de aminoácidos com grupos fluoróforos intrínsecos presentes na proteína, ou seja, triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe). De fato, a fluorescência das albuminas vem quase completamente de Trp e Tyr, já que a fluorescência da fenilalanina tem um rendimento quântico muito baixo (LAKOWICZ, 2006). Quando uma pequena molécula se liga a albuminas, pode provocar mudanças no microambiente proteico dos resíduos de aminoácidos emissores afetando a intensidade de fluorescência da proteína.

As principais regiões de sítios de ligação de moléculas em albuminas estão localizadas em cavidades hidrofóbicas nos subdomínios IB e IIA, que são preferências dos fármacos, e possuem aminoácidos do tipo aromáticos (triptofano, tirosina e fenilalanina) responsáveis pela fluorescência em 350nm, quando excitadas em 280nm (NETO et al., 2020); (BHUVANESWARI et al., 2014).

Com objetivo de obter-se os parâmetros sobre as interações entre a BSA e os complexos *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺, utilizou-se a técnica de espectroscopia de absorbância e fluorescência, explorando mais especificamente, a supressão de fluorescência da BSA induzida pela presença dos complexos. Primeiramente foi realizado os espectros de absorbância obtidos para BSA (cor preta) e em presença dos complexos que estão apresentados na Figura 16.

Figura 16. Espectros de absorbância da BSA (3 μ M) sob adições sucessivas dos complexos de rênio(I) em tampão Tris 10mM, pH 7,4, na temperatura de 35°C com varredura de 200nm a 800nm para ambos.

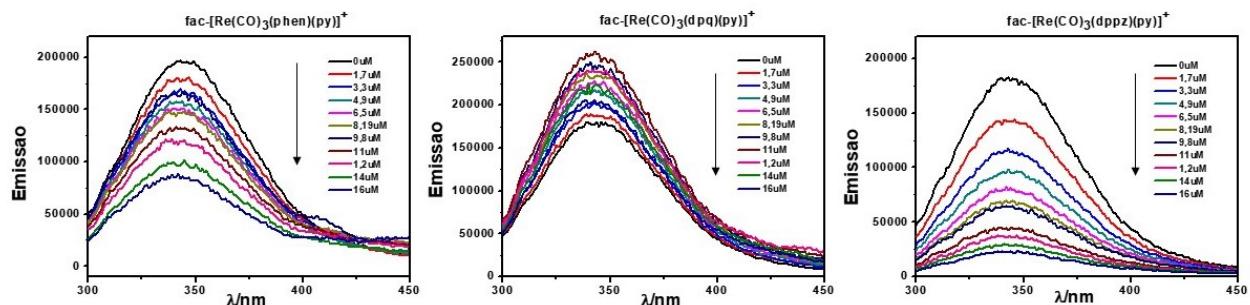


Fonte: Elaborado pela própria autora.

Analisando os espectros de absorção (Figura 16), nota-se que ocorre um aumento gradual da intensidade de absorção (efeito hipercrômico) à medida que se adicionou alíquotas dos complexos de rênio. Esse aumento na intensidade de absorbância ocorre devido ao aumento da concentração de complexo de Re na amostra de BSA.

Na Figura 17 estão representados os espectros de emissão com efeito do filtro interno corrigido, conforme descrito no item 3.6 da metodologia (equação 2).

Figura 13. Espectros de fluorescência da BSA (3,0 μ M) em ausência e presença de diferentes concentrações dos complexos de Re (500 μ M) à 35°C, em tampão Tris (pH 7,4), com $\lambda_{exc} = 280$ nm, fendas de excitação e emissão de 5,0 nm e 1,0 nm respectivamente.

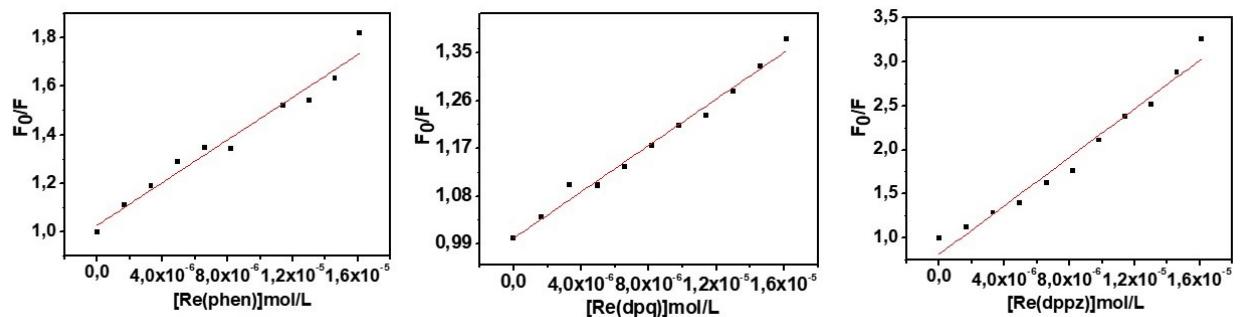


Fonte: Elaborado pela própria autora.

O espectro de fluorescência da BSA apresenta uma banda com máximo de emissão em torno de 350 nm, que posteriormente diminui a intensidade de emissão (supressão) conforme a concentração dos complexos de rênio (Figura 19). Essa diminuição gradual das intensidades de fluorescência provavelmente ocorre devido às mudanças conformacionais dos microambientes protéicos próximos aos resíduos do triptofano (MOREIRA et al., 2014). Não se observou deslocamento do máximo de emissão (Figura 17).

A partir dos espectros apresentados na Figura 18, determinou-se a constante de supressão (K_{sv}) usando a equação 3 de *Stern-Volmer* (descrita em metodologia, item 3.6) (Figura 18).

Figura 14. Representação dos gráficos F_0/F de Stern-Volmer em função da concentração dos [Complexos de Rênio]-BSA, em Tampão Tris-HCl 10mM em pH 7,4 em temperatura de 35°C.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Os gráficos da Figura 18 apresentam perfis lineares, portanto utilizou-se de regressões lineares para calcular os valores da constante Stern-Volmer (K_{sv}) para o sistema dos [complexos de rênio]-BSA na temperatura de 35°C (Tabela 3).

Tabela 3. Valores da constante de Stern-Volmer (K_{sv}) e R^2 dos complexos de Re com a BSA (3 μ M) em Tampão Tris-HCl (10mM) em pH 7,4. Tabela 3. Valores da constante de Stern-Volmer (K_{sv}) e R^2 dos complexos de Re com a BSA (3 μ M) em Tampão Tris-HCl (10mM) em pH 7.

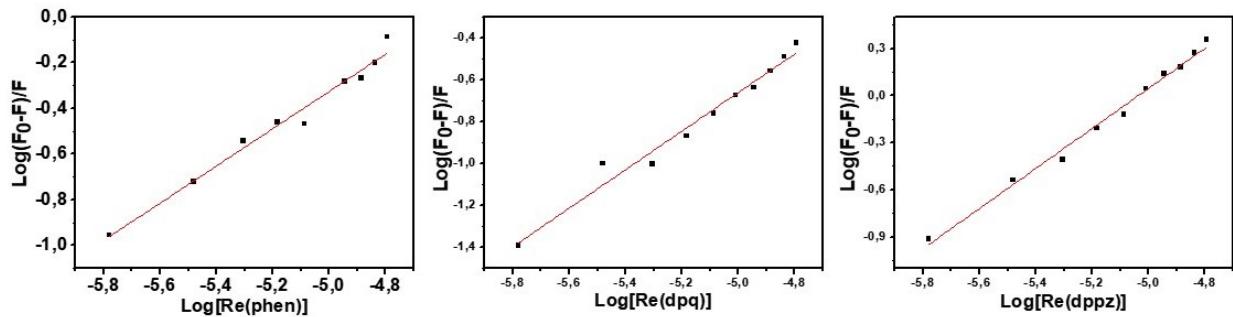
Composto	$K_{sv} (x 10^4 \text{ L mol}^{-1})$	R^2
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$	4,26	0,968
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$	2,19	0,873
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$	13,74	0,984

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Observando os valores obtidos para K_{sv} na Tabela 3, nota-se um maior valor de K_{sv} para o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$, o que sugere que o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ pode ter maior capacidade de suprimir a fluorescência da BSA comparado com os outros compostos estudados. Os complexos $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ apresentou-se valores de K_{sv} próximos, indicando que ambos suprimem a fluorescência da BSA em intensidades aproximadas.

Utilizando outro parâmetro de interesse pela equação 4 (descrito na metodologia, item 3.6), determinou-se também os valores de constante de ligação (K_b) dos complexos de rênio pela proteína BSA. A partir da equação 4 também determinou-se o número de sítios de ligação (n). Para isso, plotou-se os gráficos $\log[(F_0/F)/F]$ que estão descritos na Figura 19 em função do logaritmo da concentração dos complexos de rênio com BSA.

Figura 19. Gráfico de $\log[(F_0/F)/F]$ em função de $\log[\text{Complexos de Re}]$ com BSA (3 μM) em tampão Tris-HCl 10mM pH 7,4; na temperatura de 35°C. $\lambda_{\text{exc}} = 280\text{nm}$, fendas de excitação e emissão de 5,0 nm e 1,0 nm, respectivamente.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Com os dados obtidos através dos gráficos, observamos um perfil linear no qual foi possível calcular o coeficiente angular e coeficiente linear, que representam n e K_b , respectivamente. Os valores da constante de Ligação (K_b) e o número de sítios de ligação (n) obtidos encontram-se na (Tabela 4).

Tabela 4. Constante de ligação (K_b) e o número de sítios de ligação (n) dos complexos tricarbonilrênio(I) em BSA calculadas pela equação 4 (descrita no item 3.6 da metodologia).

Composto	$K_b (\text{M}^{-1})$	n	R^2
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$	$3,10 \times 10^3$	0,91	0,920
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$	$8,57 \times 10^3$	0,99	0,990
$[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$	$2,57 \times 10^6$	0,99	0,999

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Observando os valores de n que apontam dados de ≈ 1 , sugerindo a formação de sítio de ligação em que os complexos de rênio se ligam a BSA com uma proporção de 1:1. $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ apresentou-se valor de K_b na ordem de 10^6 , sugerindo uma forte interação entre $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ e BSA já que valores de $K_b > 10^5$, indica que o composto se liga fortemente à proteína (NETO et al., 2020); (MOREIRA et al., 2014). A análise de K_b é bastante útil para inferir como uma espécie molecular será distribuída no plasma sanguíneo,

valores de K_b considerados ideal encontram-se na faixa de 10^4 a 10^6 M^{-1} (LAZNIEWSKA et al., 2021). Desta forma, K_b obtido para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ indica que o composto se liga forte o suficiente na BSA para se transportado, mas não tão forte a ponto de não ser liberado da albumina para a chegada às células-alvo (MILUTINOVIĆ et al., 2017). Além disso, dentre os compostos estudados $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ possui constante de ligação (K_b) com BSA 10^3 vezes maior que $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ (Tabela 4). Já os complexos de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ apresentaram valores na mesma ordem de grandeza (10^3), sugerindo uma interação fraca com BSA (KANDAGAL, 2006); (SILVA, 2017); (FREM et al., 2018; FRIN; NASCIMENTO, 2016); (CARTER; HO, 1994; LUCCHESE et al., 2004).

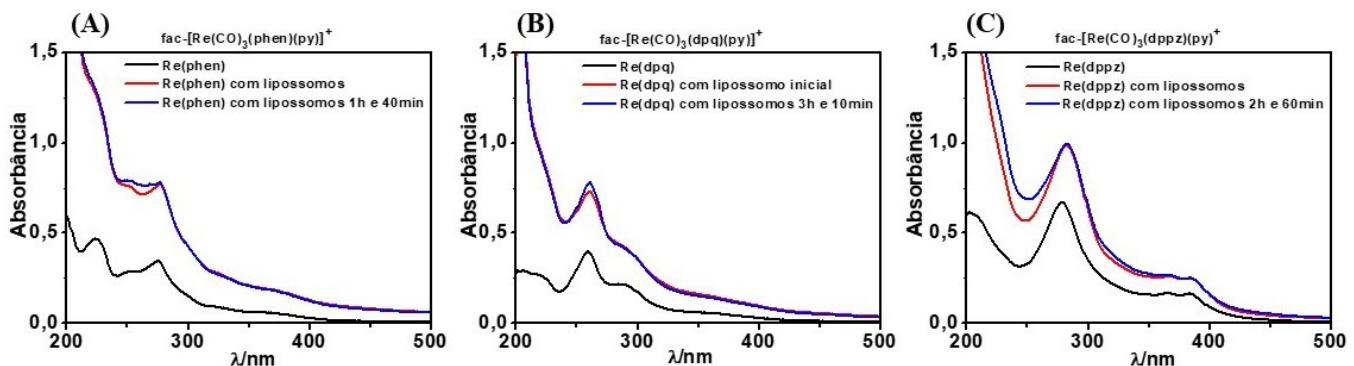
Diante dos resultados apontados, nota-se que a ordem crescente dos valores de K_b é $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+ << [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$. Estes dados corroboram com os resultados obtidos para K_p , no qual a tendência dos valores de K_p também foi a mesma, isto é, $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$. Isso indica que a maior hidrofobicidade de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ favorece a interação com proteína.

4.5. Interação dos complexos de tricarbonilrênio(I) com lipossomos (DOPG)

Os lipossomos trazem uma grande importância, pois podem ser usados como modelos de membrana e são preparados por constituintes naturais, de modo que haja a formação de uma estrutura de bicamada que é a principal característica das membranas celulares (HUANG; CHARLTON, 1971). Uma das principais funções dos lipossomos é mimetizar o comportamento de membranas e torná-lo um veículo seguro e eficaz e principalmente ser usados em aplicações médicas (GREGORIADIS, 1995; LOPEZ-BERESTEIN, 1989). O uso dos lipossomos têm aumentado devido às suas atribuições como carreadores, que facilitam a liberação dos fármacos, como antibióticos, antitumorais e as vacinas (CAMPANHÃ, 2020).

Neste trabalho, o intuito foi investigar se ocorre a interação dos complexos de rênio com lipossomos DOPG em função do tempo, ou seja, avaliar a quanto tempo os complexos de rênio podem interagir ou não com os lipossomos. Por isso, foram plotadas as leituras de absorção e de fluorescência dos complexos de rênio com lipossomos. Na Figura 20, estão registrados os espectros de absorção UV-Vis dos complexos livres em lipossomos (-), e após a dissolução inicial (-) e final da análise (-).

Figura 20. Espectros eletrônicos de incorporação dos complexos tricarbonilrênio(I) [10mM] em lipossomos DOPG [0,5mM] em tampão tris [10mM] com pH 7,4 sendo (A) refere-se ao complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ no tempo de 1h e 40min; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ em tempo de 3h e 10min e (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ no tempo de 2h e 60min.

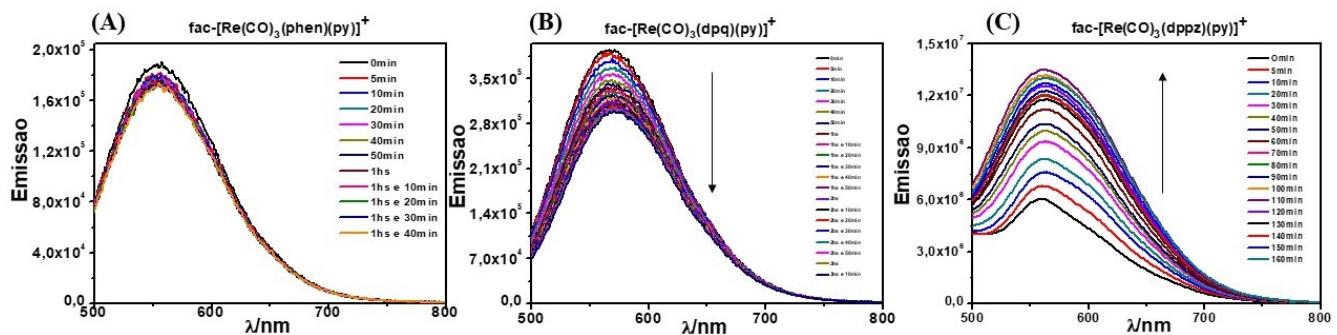


Fonte: Autora.

Observando os dados obtidos dos espectros de absorção na Figura 20, nota-se que os três complexos de rênio não apresentaram diferenças de absorção entre a adição do lipossomo e após o tempo final monitorado a partir de 100 minutos, mostrando que não houve mudanças espectrais e também evidencia que a interação dos complexos com os lipossomos é instantânea, ou seja, não ocorre processos como reorganização estrutural.

Na Figura 21 estão apresentados os gráficos de emissão de fluorescência sendo monitorados a cada 10 minutos, sendo (A) refere-se ao complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ e (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ com $\lambda_{\text{exc}}: 350\text{nm}$ para ambos e $\lambda_{\text{emis.}}$ 400 á 800nm em temperatura ambiente.

Figura 21. Espectros de emissão de fluorescência dos complexos de rênio [10mM] em diferentes tempos de interação lipossomos DOPG [0,5mM]. $\lambda_{\text{exc}} = 350\text{nm}$ e $\lambda_{\text{em}} = 400$ á 800nm, em temperatura ambiente.



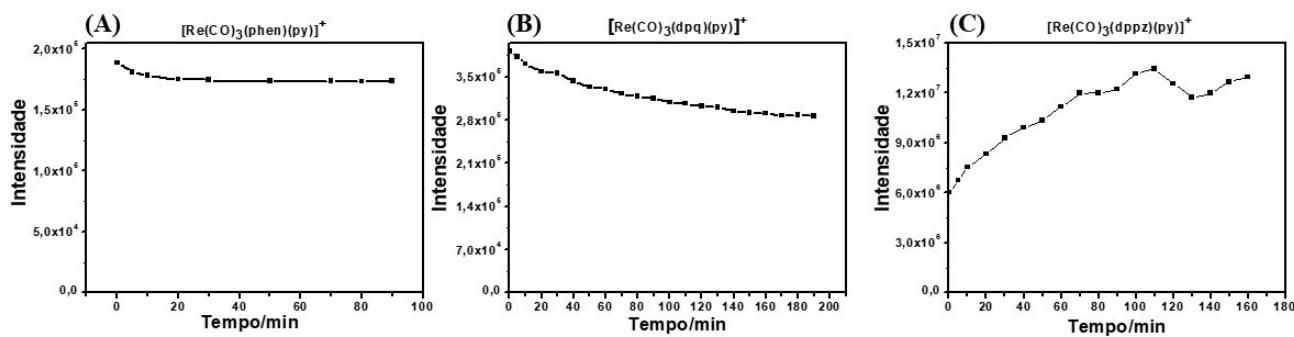
Fonte: Autora.

Observando os espectros de emissão coletados que foram monitorados a cada 10 minutos, nota-se que praticamente não ocorreu variação de intensidades de emissão para o complexo de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ (Figura 21A). No caso do $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$, observa-se uma leve diminuição na intensidade de emissão em função do tempo de interação com lipossomos DOPG (Figura 21B), no qual houve provavelmente uma agregação. Enquanto que para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ apresentou um crescimento gradual nas intensidades de emissão (Figura 21C), sugerindo que a interação entre o complexo e lipossomos aumenta em função do tempo. Provavelmente, esteja ocorrendo um aumento de moléculas monomerizadas em função do tempo na parte hidrofóbica do ligante dppz, que provocou essa diminuição nas intensidades de absorbância na banda IL (250-300 nm) do $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ (Figura 21) (SINGH;

DAS, 1998).

Para uma melhor visualização dos dados, foram plotados outro tipo de gráfico com a intensidade de fluorescência no comprimento de onda máximo de emissão *versus* o tempo de interação para cada complexo (Figura 22).

Figura 22. Representação da intensidade de emissão normalizada em torno de 554nm para o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})]^{+}$ (A) e 559nm para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})]^{+}$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})]^{+}$ em 560nm (C) em função do tempo com lipossomos DOPG [0,5mM].



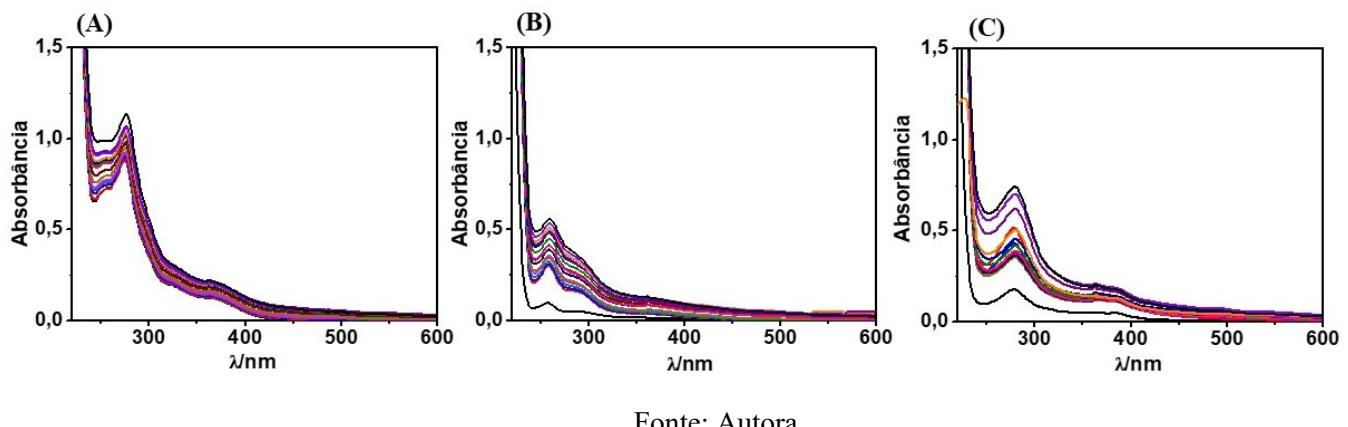
Fonte: Autora

Nota-se que para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^{+}$ a intensidade de emissão manteve-se praticamente constante com o tempo de interação com lipossomos (DOPG), sugerindo que o grau de interação não é dependente do tempo. No caso de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^{+}$ observou-se uma pequena diminuição na intensidade de emissão em função do tempo. Já para $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^{+}$ tem-se um aumento da intensidade de emissão em função do tempo (Figura 21C). Esse aumento na intensidade de emissão do $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^{+}$ pode estar relacionado com a inserção do composto na parte hidrofóbica da bicamada lipídica e subsequente a reorganização estrutural (auto-agregado).

Os resultados mostram a interação com $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^{+}$ é mais lenta comparada com outros compostos estudados, e estabiliza apenas a partir de 100 minutos de incubação. Além disso, o lipossomo utilizado nesse trabalho é o DOPG (1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-[fosforac-(1-glicerol)]) que é um tipo de fosfolipídio sintético e que apresenta em sua estrutura duas caudas hidrofóbicas e possui carga negativa (JUNIOR ALMEIDA, 2020; LOPES, 2019). Por essa razão das características do lipossomo DOPG e os complexos de rênio, sugere que houve interações do tipo hidrofóbicas e eletrostáticas para o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^{+}$ que contribuem de maneira significativa semelhanças estrutural de elevadas quantidades hidrocarbonícas.

Para avaliar o grau de interação dos complexos de Rênio com os lipossomos utilizou-se espectroscopia UV-Vis (SANTOS; PRIETO; CASTANHO, 2003). A metodologia se baseia na mudança da intensidade de absorção após a incorporação de moléculas em lipossomos, e considera que ocorre um equilíbrio químico entre a molécula ligante e a bicamada lipídica de forma que uma isoterma de ligação convencional é obtida (SANTOS; PRIETO; CASTANHO, 2003). Para isso, adicionou-se alíquotas de lipossomos (DOPG) em uma solução de complexos de Re com concentração fixa [20 μ M], e registrou-se os espectros, onde o espectro na cor preta refere-se apenas ao complexo e os demais espectros referentes as adições adicionadas dos lipossomos na amostra. (Figura 23).

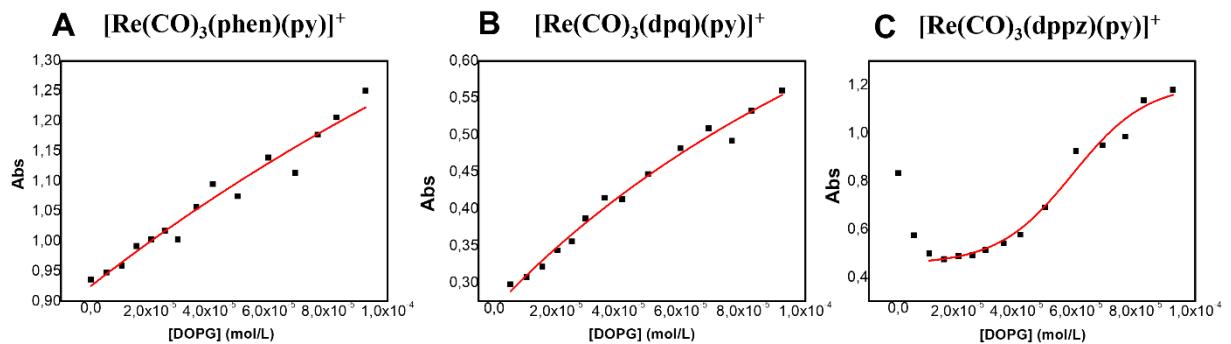
Figura 23. Espectros de absorção de interação de grau dos complexos de Re [20 μ M] sendo (A) Re(phen); (B) Re(dpq) e (C) Re(dppz) aos lipossomos DOPG [1,5 μ M] em tampão tris pH 7,4 à temperatura ambiente. Experimento realizado em duplicata.



Fonte: Autora

Na Figura 23, nota-se um aumento da intensidade de absorbância dos três complexos Re estudados, mesmo que numa concentração fixa [20 μ M], à medida que se adicionam alíquotas de lipossomos (DOPG). Para melhor visualizar as alterações nas absorbâncias causados pelo aumento da concentração de DOPG, construiu-se um gráfico da absorbância no $\lambda_{\text{máximo}}$ em função da concentração de DOPG (Figura 24). Os pontos experimentais obtidos foram ajustados por um modelo teórico (equação 5, descrita no item 3.7 da metodologia) para se obter os valores de constante de ligação (K_b), apresentados na Tabela 5.

Figura 24. Gráfico para obtenção da constante de ligação (K_b) da dispersão dos lipossomos na presença dos complexos de Re [20 μ M] na faixa de concentração de 6,2 μ M – 82,6 μ M. Experimento foi realizado em duplicata.



Fonte: Autora.

Tabela 5. Constante de ligação (K_b) dos complexos tricarbonilrênio(I) em lipossomos DOPG calculadas pela equação 5 (descrita no item 3.7 da metodologia). Valores da média K_b e desvio médio são referentes a experimentos realizados em duplicata.

Composto	$K_b \times 10^3 (M^{-1})$
[Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺	$2,14 \pm 0,08$
[Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺	$4,71 \pm 0,10$
[Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺	$15,29 \pm 1,74$

Fonte: Elaborado pela própria autora.

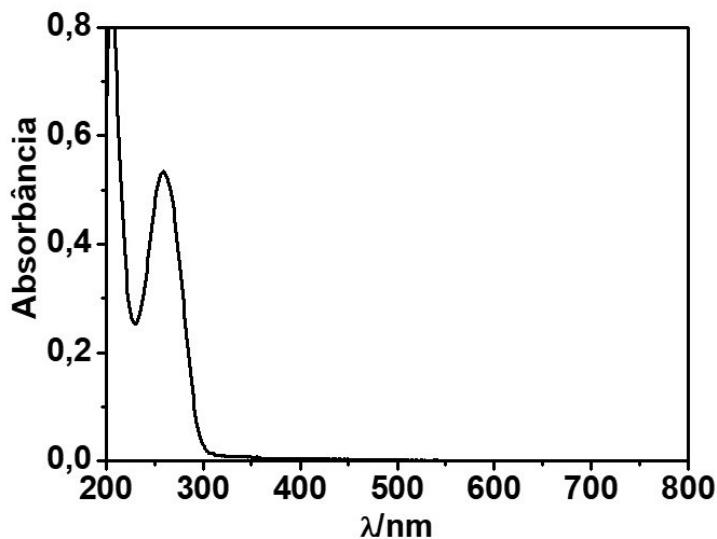
Diante dos resultados apontados, nota-se que a ordem crescente dos valores de K_b é $[Re(CO)_3(phen)(py)]^+ < [Re(CO)_3(dpq)(py)]^+ << [Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ (Tabela 5). Estes dados corroboram com os resultados obtidos para K_p (Tabela 2, item 4.3) e K_b com proteína (Tabela 4, item 4.4), mais uma vez indicando que a maior hidrofobicidade de $[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ favorece a interação com biomoléculas.

4.6. Interação dos complexos de tricarbonilrênio(I) com ss-DNA

O DNA é o alvo farmacológico de muitas dos fármacos que estão atualmente em uso clínico ou em ensaios clínicos avançados (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). Selecionar o DNA como alvo do fármaco para interferir na replicação (uma etapa importante no crescimento e divisão celular) parece lógico, intuitivamente atraente e conceitualmente direto. Pequenas moléculas ligantes podem se ligar ao DNA alterando e/ou inibindo artificialmente o funcionamento do DNA. Por exemplo, *cis*-diaminodicloridoplatina(II) (cisplatina) foi o primeiro fármaco anticancerígeno de platina clinicamente bem-sucedido; descobriu-se que ele mesmo e vários análogos são capazes de se ligar ao DNA celular, interrompendo a replicação e induzindo a apoptose (PAGES et al., 2015). Por isso, o estudo da interação do candidato a fármaco com o DNA é muito interessante e significativo não apenas para a compreensão do mecanismo de interação, mas também para o design racional de novos fármacos (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

Uma das técnicas usadas para estudar interações fármaco-DNA é a espectroscopia UV-Vis (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). Isso porque a biomolécula de DNA apresenta banda de absorção na região UV em 260 nm ($\epsilon = 6600 \text{ mol/L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) na Figura 25. Essa banda é referente à transição eletrônica $\pi-\pi^*$ aos grupos cromóforos presentes nas bases nitrogenadas da estrutura do DNA (GONZLEZ-RUIZ et al., 2011). Por se tratar de uma biomolécula sensível, podem ocorrer algumas alterações no comprimento de onda de máxima de absorção, e consequentemente na absorvidade molar, alterações de pH, temperatura e principalmente de força iônica (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

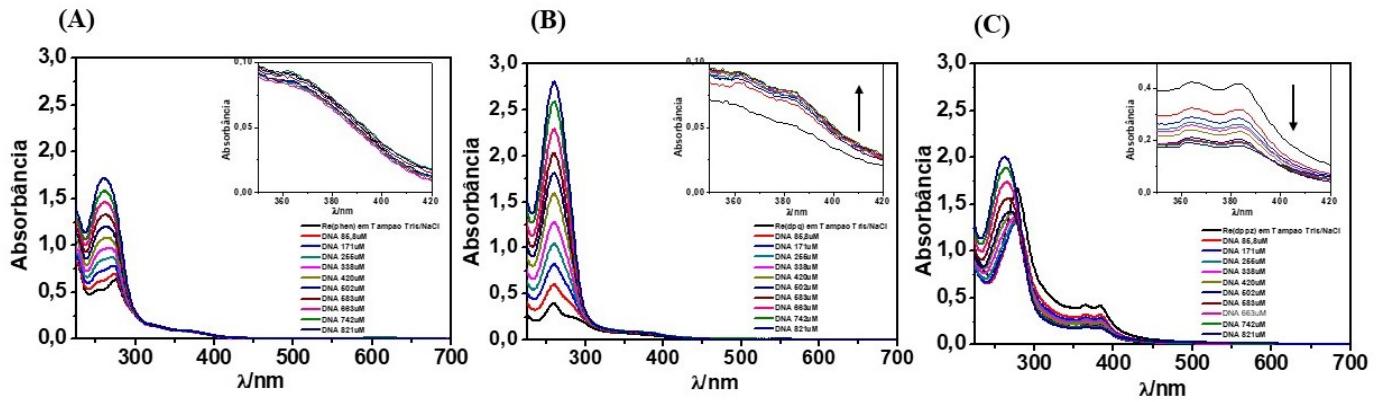
Figura 15. Espectro de absorção eletrônico do DNA (85 μ M) em tampão tris (50 mM) com NaCl (5 mM), pH 7,4.



Fonte: Própria autora.

Para avaliar a interação dos complexos Re com DNA, foram adicionadas alíquotas de *ss*-DNA numa solução de complexo de Re (*fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺) com concentração fixa em 20 μ M e registrados os espectros de absorbância (Figura 26). Esse experimento foi realizado em triplicata, mas optou-se por mostrar de forma representativa, apenas um dos dados espectrais obtidos em uma das replicatas (Figura 26).

Figura 16. Espectros eletrônicos de absorbância dos complexos (20 μ M) (A) fac-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; (B) fac-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e (C) fac-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ em ausência e na presença de diferentes frações de concentração crescente de ss-DNA com 5 minutos de incubação, à temperatura ambiente. Inserts: banda MLCT (380 nm – 420 nm) dos respectivos complexos de Rênio evidenciando os efeitos hipocrômico e hipercrômico.



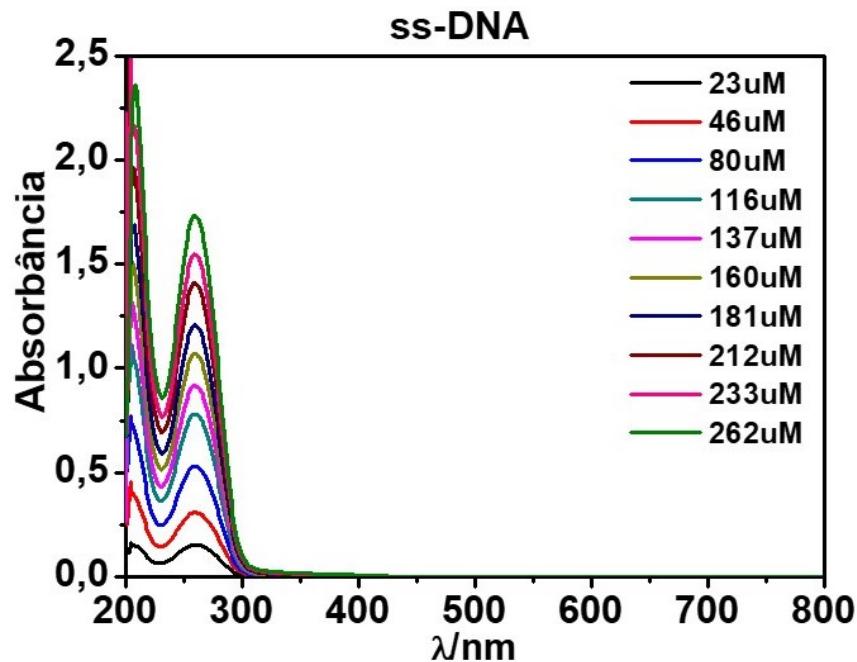
Fonte: Própria autora.

Nota-se que as adições sucessivas de alíquotas de ss-DNA, promove um aumento na intensidade de absorbância entre 250 nm e 300 nm, uma vez que a concentração de ss-DNA também está aumentando dentro da cubeta (Figura 26). Na banda MLCT (380 nm – 420 nm) dos complexos de Rênio (*fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺), onde o DNA não possui absorvidade, observa-se um pequeno aumento da intensidade de absorbância a medida em que o DNA é adicionado na solução contendo o complexo *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ (insert da Figura 26B). Em contraste, para a molécula [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ tem-se uma diminuição na banda MCLT com adição de DNA (insert da Figura 26C).

Vale salientar que as alterações espectrais podem ser acompanhadas tanto nas bandas do próprio complexo quanto na região de absorção do ss-DNA, caso sejam observadas mudanças significativas (ESHKOURFU et al., 2011). Entretanto, a biomolécula de DNA apresenta banda de absorção (260 nm) na mesma região das bandas IL dos complexos Re (250-300 nm) nas Figura 26 e 27. Portanto, para viabilizar a análise dos dados na região de 250-300 nm, também se registrou o espectro de absorção UV-Vis apenas do ss-DNA (sem complexos de Re) nas mesmas condições utilizadas no experimento realizado na presença dos complexos (Figura 27). Sendo assim, os espectros de absorbância dos compostos na presença de diferentes concentrações de ss-DNA (Figura 28) foram subtraídos dos espectros de

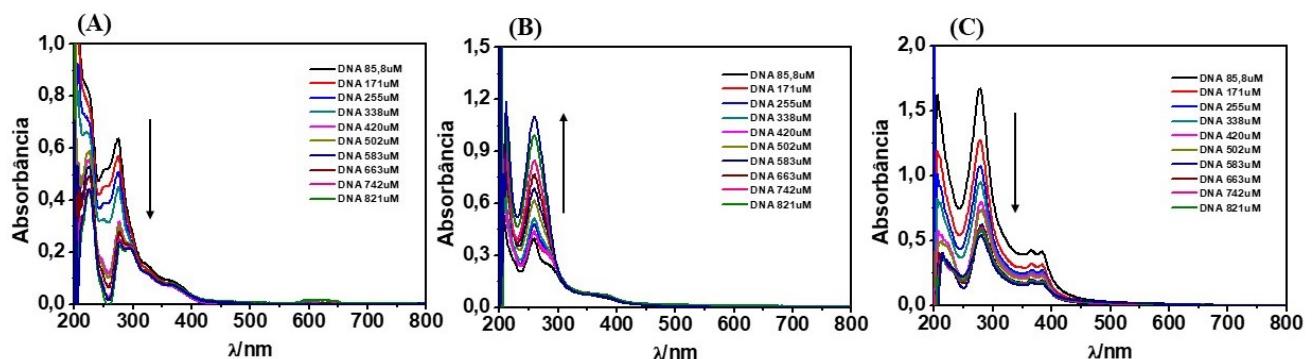
absorbância do apenas *ss*-DNA, na ausência das moléculas de Re (Figura 27), para avaliação das alterações espectrais na região de 250-300 nm.

Figura 17. Espectro de absorbância da amostra de *ss*-DNA sob diferentes concentrações, em tampão tris (50 mM) e NaCl (5 mM), pH 7,4. Experimento foi realizado em triplicata.



Fonte: Própria autora.

Figura 18. Espectros de absorbância dos complexos (20 μM) (A) fac-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; (B) fac-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e (C) fac-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ descontando os espectros de absorção de ss-DNA em diferentes concentrações, tampão tris (50 mM) e NaCl (5 mM) em pH 7,4.



Fonte: Própria autora.

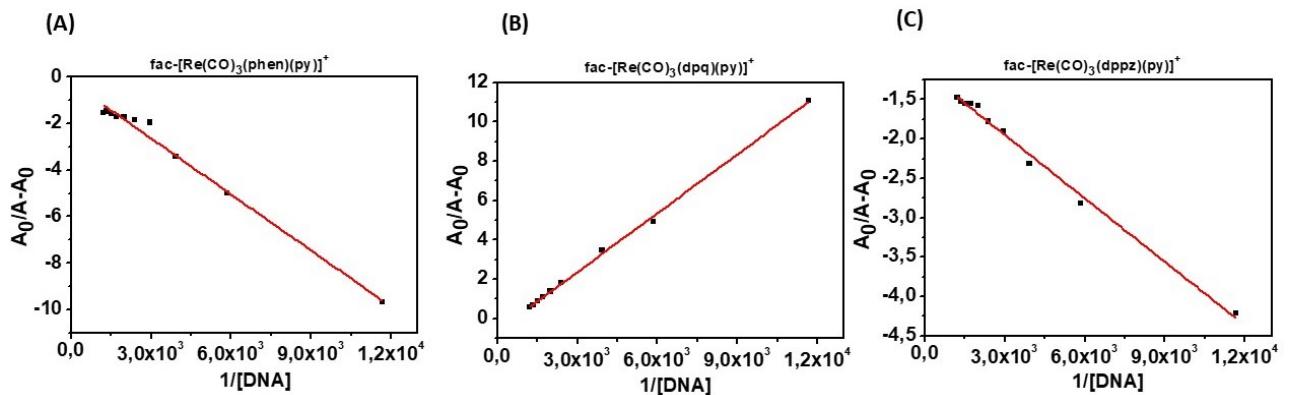
Observando os espectros de absorbância dos complexos Re sem interferência da absorção característica do *ss*-DNA (Figura 28), podemos observar que ocorreu mudanças nas regiões de 250 a 300nm causado pelo aumento das concentrações do *ss*-DNA na solução (Figura 28), no qual foi verificado para todos os estudos realizados em triplicata.

Nota-se um efeito hipocrômico (diminuição da absorbância) para os complexos *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ (Figura 28A e Figura 28C). Esse efeito sugere possíveis interações do tipo intercalativas do complexo com DNA. De modo que os ligantes planares do complexo se intercalam com as bases nitrogenadas do DNA, ocasionando um empilhamento do tipo π - π entre ambos os grupos. Isso ocasiona uma estabilidade na estrutura helicoidal, proporcionando o efeito hipocrômico (REHMAN et al., 2015), com valor de $\approx 45\%$ e $\approx 73\%$ (Tabela 5) para *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺, respectivamente. Para confirmar se o tipo de interação [complexo]-DNA de fato refere-se à interações do tipo intercalativas, seria necessário como perspectivas futuras realizar medidas por dicroísmo circular, além de medidas por UV-Vis (ARANTES, 2022; COSTA; REIS, 2018; DA SILVA et al., 2020).

Curiosamente, o complexo *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ apresentou um efeito contrário observado pelos demais, foi verificado o efeito de hipercromismo (Figura 28B), ou seja, aumento da absorbância à medida que se acrescenta frações da biomolécula em solução aumenta. Quando ocorre este efeito, sugere que as interações [complexo]-DNA ocorrem principalmente por interações eletrostáticas ou interações do complexo com o sulco do DNA, que causado pela desestabilização na dupla hélice. Essa interação pode ser compreendida por ligações de hidrogênio ou de Van der Waals entre ambas espécies e ocasionar este resultado (REHMAN et al., 2015). Na Tabela 6, podemos observar esse efeito de hipercromismo com valor de $\approx -93\%$ para este complexo (*fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺).

Para avaliar a intensidade da força de interação entre o DNA e cada complexo citado neste trabalho, determinou-se a constante de interação (K_b) pela Equação de Benesi-Hildebrand (1949) (equação 5 descrita no item 3.7 da metodologia). Para isso, foram construídos gráficos de $A_0/A - A_0$ em função de $1/[DNA]$ (Figura 29), de modo que a razão entre o coeficiente linear e o angular fornece o valor de K_b (Tabela 6).

Figura 199. Representação do gráfico $A_0/A - A_0$ em função de $1/[DNA]$ para obtenção dos valores da constante de interação (K_b) entre o DNA e os complexos tricarbonilrenio(I) sendo (A) $fac\text{-}[Re(CO)_3(phen)(py)]^+$; (B) $fac\text{-}[Re(CO)_3(dpq)(py)]^+$ e (C) $fac\text{-}[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$



Fonte: Própria autora.

Tabela 6. Valores das constantes de interação (K_b) e as suas respectivas porcentagens de hiper/hipocromismo ($\%H = A_{inicial} - A_{final}/A_{inicial} \times 100\%$) de cada complexo.

Composto	$K_b \times 10^3 \text{ (M}^{-1}\text{)}$	$\%H$	R^2
$[Re(CO)_3(phen)(py)]^+$	$1,35 \pm 0,52$	$45,2 \pm 22,0$	0,909225
$[Re(CO)_3(dpq)(py)]^+$	$2,01 \pm 0,77$	$-93,2 \pm 79,9$	0,924183
$[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$	$7,63 \pm 0,44$	$73,4 \pm 6,3$	0,980125

Fonte: Própria autora.

Conforme os valores apresentados das constantes de ligação (Tabela 6) se encontram na ordem de grandeza de 10^3 M^{-1} , no qual indica que ocorreu uma interação moderada entre os complexos avaliados e a biomolécula de DNA. O grau de interação (K_b) em ordem crescente é: $[Re(CO)_3(phen)(py)]^+ < [Re(CO)_3(dpq)(py)]^+ << [Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$.

Nota-se que mais uma vez, o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ foi o que apresentou maior valor de K_b com DNA, corroborando com dados obtidos anteriormente no qual essa mesma molécula apresentou maior K_b com BSA e maior K_p dentre os compostos estudados. Isso reforça a importância da hidrofobicidade do ligante dppz em permitir maior interação com regiões hidrofóbicas das biomoléculas.

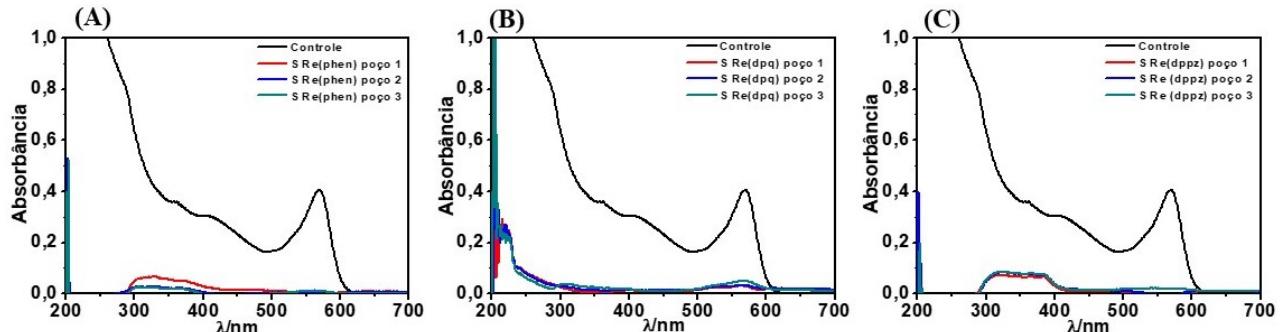
4.7. Incorporação dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)

Durante o desenvolvimento de um agente terapêutico, a taxa de absorção/incorporação de uma molécula para entrar na célula é de suma importância. Para realizar o ensaio de citotoxicidade, é necessário que o fármaco ultrapasse a membrana fosfolipídica, pois uma das funções é controlar a entrada e saída de substâncias pela célula (LEHNINGER, T.M.; NELSON, D.L.; COX, 2014). Por isso o desenvolvimento de novos medicamentos é um processo interativo e requer a otimização de muitos pontos, para que assim tenha eficiência biológica. Os fatores que contribuem fortemente para o sucesso de potenciais candidatos a medicamentos incluem a solubilidade, estabilidade, permeabilidade, absorção de drogas e principalmente a lipofilicidade do composto (KONKANKIT et al., 2020).

Segundo a literatura, complexos contendo rênio mostraram ser absorvidos por vias passivas e ativas, e com isso conseguem adentrar nas células por vários mecanismos de entrada como endocitose ou difusão passiva. Mas outros mecanismos podem ser verificados como variando a lipofilicidade/hidrofilicidade, carga ou mesmo o tamanho das estruturas dos complexos (ZHAO; HUANG; LI, 2011). Com base na referência de (KONKANKIT et al., 2020), complexos de Re tem apresentado alta taxa de incorporação celular, sendo este relacionado fortemente a hidrofobicidade dos ligantes em que o complexo se apresenta e resultando assim maior citotoxicidade (PAVANI et al., 2009).

Para avaliar a incorporação dos compostos em células tumorais (HeLa), utilizou-se espectroscopia UV-Vis, no qual foram medidos os espectros de absorbância dos complexos antes de interagir com as células e sobrenadante depois de incubado 24 horas nas células nas regiões de 250 a 300nm (Figura 30).

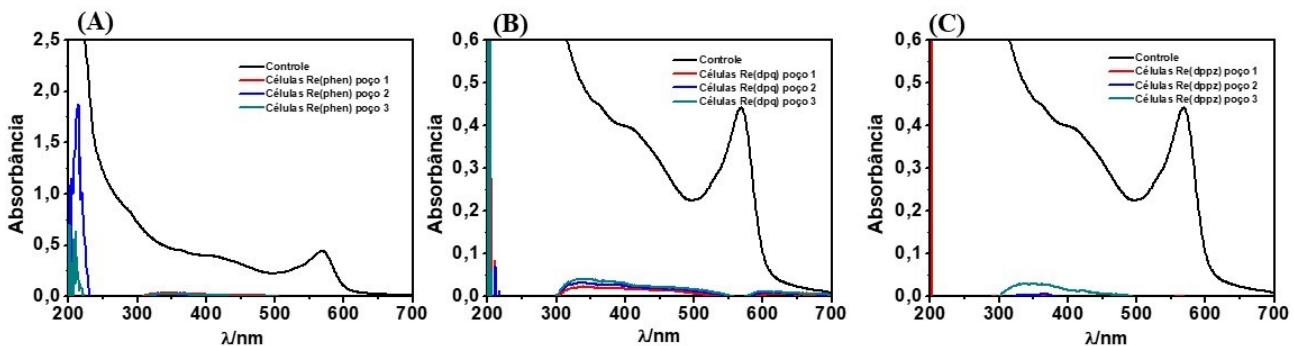
Figura 30. Espectro de absorção do sobrenadantes de HeLa com os complexos tricarbonilrênio(I) com concentração de $20\mu\text{M}$, onde (A) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$; (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$.



Fonte: Autora.

Na figura 31 abaixo está a representação gráfica dos dados obtidos das células aderidas junto com os complexos tricarbonilrênio(I) com concentração de $20\mu\text{M}$, onde (A) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$; (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$.

Figura 31. Gráfico das células aderidas HeLa com os complexos tricarbonilrênio(I) com concentração de $10\mu\text{M}$, onde (A) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; (B) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$; (C) $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$.

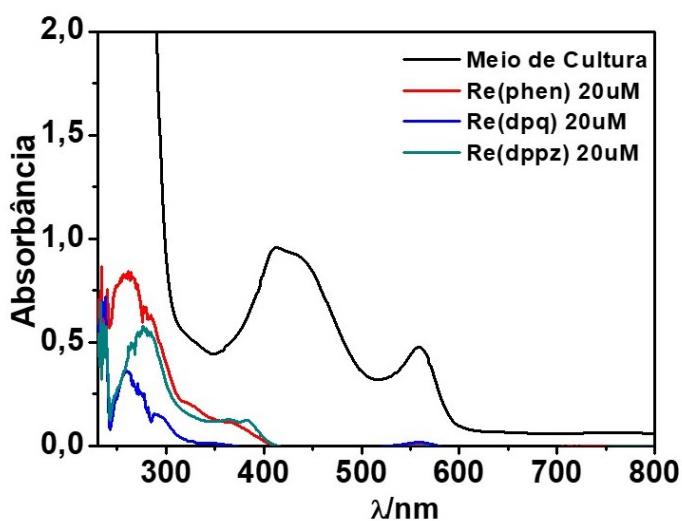


Fonte: Autora.

Conforme apresentado anteriormente nos dados obtidos perante 2 realizações desse experimento, ambos com concentrações distintas, foi verificado que os valores de % Uptake eram inviáveis para análise, uma vez que a absorbância na região de 250-300nm dos complexos foram baixas comparadas com a absorbância do meio de cultura (DMEM) (Ver figura 32) nessa mesma região (250-300nm), e a técnica de UV-Vis não possui sensibilidade suficiente para

detectar a % de incorporação dos compostos em células em menor absorção, por isso precisaria utilizar outra técnica mais precisa, como por exemplo citometria de fluxo.

Figura 20. Espectros eletrônicos UV-Vis dos complexos tricarbonilrênio(I) em meio de cultura (DMEM) em uma concentração de 20 μ M.



Fonte: Autora.

Diante das dificuldades experimentais encontradas neste experimento e limitação da metodologia, não foi possível calcular a % incorporação dos complexos de Re em células HeLa.

4.8. Citotoxicidade dos complexos de tricarbonilrênio(I) em células tumorais (HeLa)

O estudo de citotoxicidade vem sendo muito utilizado, pois através dessa técnica é possível avaliar a capacidade que uma substância química possui de inibir a proliferação celular e/ou causar danos e consequentemente levar a morte celular. Os tipos de morte celular são classificados como apoptose; necrose; autofagia; amorfose, entre outros (HORTON; MATHEW, 2015).

Os tipos de mortes celulares existentes são classificados conforme suas características morfológicas e químicas, e alterações nessa esfera de coordenação para essas vias, estão intrinsicamente ligadas na tumorogênese (SAWADA; HAYES; MATSUYAMA, 2003).

A princípio, os danos celulares são ocasionados quando as células são submetidas a um estresse severo, que provoca alterações funcionais e/ou morfológicas e ocasiona o impedimento de se adaptarem e reagirem normalmente, ou quando são expostas a agentes nocivos ou infecciosos (ARNOULT et al., 2002; BRÖKER; KRUYT; GIACCOME, 2005). Dentre os tipos de mortes celulares existentes, os mais relatados pela literatura é apoptose e a necrose.

De acordo com o estudo realizado por (KERR; WYLLIE; CURRIE, 1972), foi observado um tipo de morte celular, chamado de apoptose que se apresenta diferentemente da morte celular necrose que é ocasionada por substâncias toxinas (KROEMER; REED, 2000).

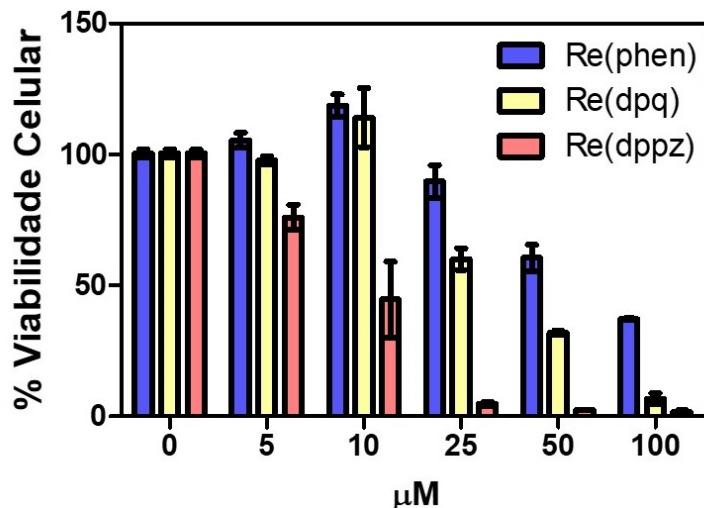
A apoptose é um tipo de morte celular ou chamada de morte celular programada, no qual é um processo que elimina células que sofreram mutações ou danos. Durante o processo de apoptose, a célula acaba sofrendo alterações morfológicas, que incluem a retração da célula, perda de aderência com a matriz extracelular (MEC) e com as células vizinhas, como também a formação de “bolhas” (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

Além das mudanças morfológicas citadas, podem apresentar mudanças bioquímicas das células designadas à morte celular por modificações no citoesqueleto e na membrana celular para o retraimento das células, alterações na distribuição dos carboidratos na superfície celular e principalmente a perda da simetria fosfolipídica (KROEMER; REED, 2000), com isso resultando na externalização de fosfatidilserina, e acaba facilitando o reconhecimento das células por macrófagos e promovendo ligação diferencial dos macrófagos às células apoptóticas (HANAYAMA et al., 2004; KROEMER et al., 2009; LIAO; DICKSON, 2003; LIU et al., 2011).

A necrose é um tipo de morte celular ou parte de um tecido que compõe o organismo vivo. Essa morte celular é desencadeada pela manifestação final de uma célula que sofreu uma lesão do tipo irreversível, ou seja, quando param as funções orgânicas e os processos reversíveis do processo de metabolismo (TIRABOSCHI et al., 2002). As causas que levam a esse tipo de morte celular são os fatores como agentes químicos/físicos e biológicos, como também insuficiência circulatória (VANDENABEELE et al., 1995).

Os efeitos citotóxicos dos complexos tricarbonilrênio(I) contendo grupos polipiridil, vêm se destacando por apresentar atividades anticancerígenas (KING et al., 2019; PARSON, 2014; PRACHAROVA et al., 2018; RISS et al., 2004; SUNTHARALINGAM et al., 2013). Por isso, também avaliou-se a citotoxicidade dos complexos *fac*-[Re(CO)₃(phen)(py)]⁺; *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ e *fac*-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ em células do câncer colo do útero (HeLa) pelo método de MTT, e os resultados estão apresentados na Figura 33.

Figura 33. Viabilidade celular em células HeLa após tratamento com complexos tricarbonilrênio(I) do tipo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$; $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ por 24 horas de incubação em diferentes concentrações. As barras representam a média \pm desvio médio de dois experimentos independentes, com 3 repetições em cada ensaio ($n = 6$).

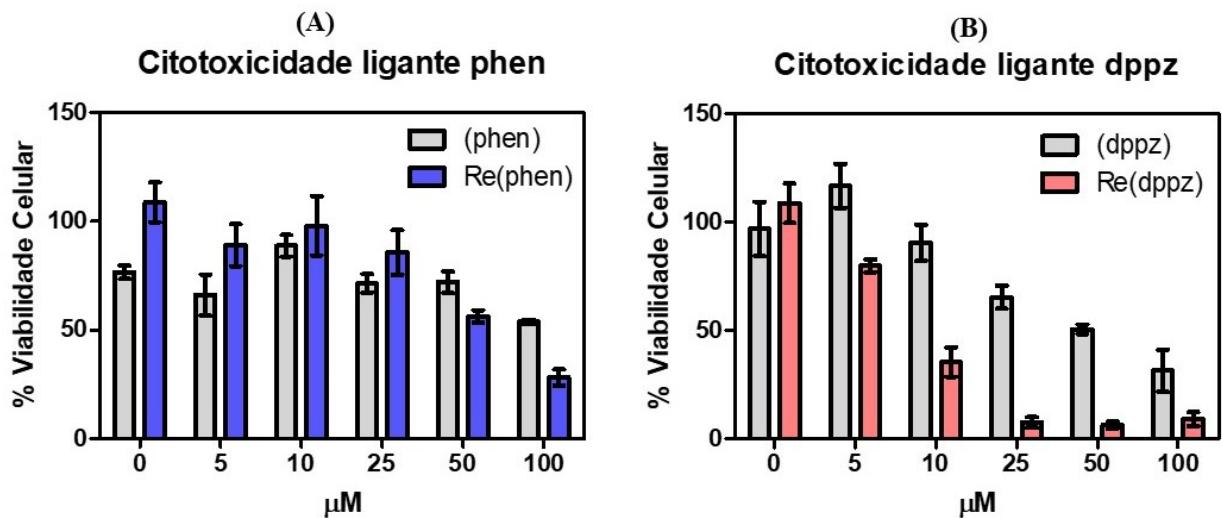


Fonte: Autora.

A Figura 33 mostra uma diminuição da % viabilidade celular à medida que se aumenta a concentração dos complexos de Re. Com isso, os dados apurados produzido pelo ensaio de redução do MTT revela que os complexos de tricarbonilrênio(I) produziram efeitos de citotoxicidade dependentes da concentração na célula HeLa. Essa diminuição da % viabilidade celular é mais pronunciada para o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ quando comparado com os outros compostos. Novamente, tem-se que a ordem crescente de citotoxicidade dos compostos é: $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+ << [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ (Figura 33).

Para avaliar se essa ordem crescente de citotoxicidade é referente aos complexos de Re ou simplesmente dos ligantes isolados, realizou-se um experimento controle para avaliar a toxicidade apenas do ligante e compará-los com seus respectivos complexos (Figura 34).

Figura 21. Gráfico de viabilidade celular dos ligantes (A) (phen) e (B) (dppz) em diferentes concentrações (μM) comparados com seus respectivos complexos $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ (ou Re(phen)) e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ (ou Re(dppz)), em células tumorais HeLa.

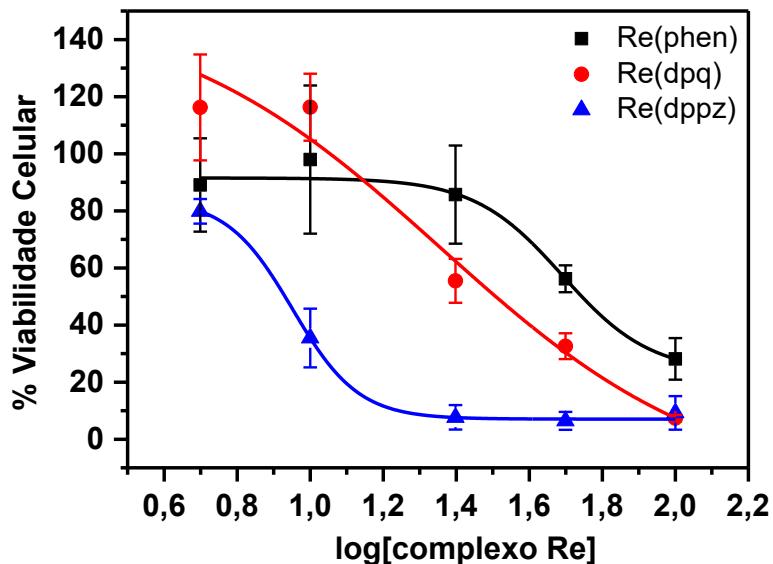


Fonte: Criado pela própria autora.

Note que para o ligante phen, não há diferença significativa na porcentagem de viabilidade celular obtidas nas concentrações de 0 à 25 μM em comparação com seu complexo Re(phen) (Figura 34A). Apenas em 50 μM e 100 μM observa-se que o complexo Re(phen) foi um pouco mais citotóxico que o ligante phen (Figura 34A). Em contrapartida, a citotoxicidade do complexo Re(dppz) foi significativamente maior que seu ligante dppz (Figura 34B), mostrando que a citotoxicidade é do complexo Re(dppz) e não apenas do ligante dppz sozinho.

Os valores de IC_{50} (concentração de composto que inibe 50% da viabilidade celular) dos complexos de rênio, foram determinados pelo ajuste (fitting) no programa *Origin 8.0*, utilizando Category: “*Pharmacology*” e Function: “*DoseResponse*” (Tabela 6) (Figura 35).

Figura 35. Gráfico da curva dose-response de células HeLa tratadas com diferentes concentrações dos complexos tricarbonilrênio(I) investigado pelo método MTT após incubação por 24h com os compostos.



Fonte: Autora.

Tabela 7. Valores de IC₅₀ dos complexos de rênio em células HeLa.

Composto	IC ₅₀ (μM)
[Re(CO) ₃ (phen)(py)] ⁺	49,04 ± 2,92
[Re(CO) ₃ (dpq)(py)] ⁺	22,68 ± 17,42
[Re(CO) ₃ (dppz)(py)] ⁺	8,94 ± 1,64

Fonte: Autora.

Os valores de IC₅₀ mostram que a atividade citotóxica dos complexos de Re investigados, aumenta com o tamanho ou extensão do sistema π dos ligantes: IC₅₀ Re(phen) < IC₅₀ Re(dpq) < IC₅₀ Re(dppz) (Tabela 7). Isso mostra que a citotoxicidade intrínseca dos complexos depende da natureza química do ligante que o acompanha, e não da carga líquida das moléculas.

Maisuls et al também avaliaram a citotoxicidade de complexos tricarbonilrênio(I) com diferentes ligantes em células A549 (células epiteliais do carcinoma do pulmão), e encontraram

a mesma tendência, isto é, quanto maior o tamanho ou extensão do sistema π dos ligantes, menor o valor de IC_{50} (Tabela 8) (MAISULS et al., 2017).

Tabela 8. Valores de IC_{50} de outra série de complexos de rênio em células A549 (MAISULS et al., 2017).

Composto	IC_{50} (μM)
$[Re(CO)_3(nHO)_2Cl]$	85 ± 1
$[Re(CO)_3(bpy)(nHO)]^+$	88 ± 1
$[Re(CO)_3(phen)(nHO)]^+$	65 ± 1
$[Re(CO)_3(dppz)(nHO)]^+$	10 ± 1

Fonte: (MAISULS et al., 2017).

O $[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ foi o que apresentou maior citotoxicidade dentre os compostos estudados. De fato, este complexo $[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ apresenta um efeito citotóxico ($IC_{50} \approx 9 \mu M$, Tabela 7) bastante semelhante à uma molécula similar $[Re(CO)_3(dppz)(nHO)]^+$ ($IC_{50} = 10 \mu M$, Tabela 8) (AHMAD KHAN et al., 2014), e ao descrito para a cisplatina ($IC_{50} = 8 \mu M$) contra linhagens de células tumorais (AHMAD KHAN et al., 2014; MAISULS et al., 2017)

A maior citotoxicidade do $[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ pode estar relacionada à maior interação do ligante dppz com o DNA e/ou também com maior permeação na bicamadas lipídicas das células, que pode aumentar a toxicidade (KING et al., 2019; PARSON, 2014; PAVANI et al., 2009; YANG et al., 2017). Isso corrobora com dados anteriores, no qual $[Re(CO)_3(dppz)(py)]^+$ apresentou maior valor de K_b em DNA e maior valor de K_p (ver itens 4.3 e 4.6 dos Resultados e Discussão).

5 CONCLUSÕES

Os espectros eletrônicos dos complexos tricarbonilrênio(I) mostraram características espectrais típicas dessa classe de moléculas, nos quais apresentam bandas de absorbância referente a transição intraligante (IL) e transferência de carga metal-ligante (MLCT), em concordância com a literatura (RAMOS et al., 2022a). Também se observou que não há deslocamento no comprimento de onda da absorção das bandas MLCT's dos complexos tricarbonilrênio(I) após 24 horas de dissolução dos compostos em tampão tris, e nem alteração significativa na intensidade de absorbância. Isso mostra que os complexos são estáveis em tampão tris, possibilitando a aplicação destes compostos nos estudos com biomoléculas (proteína, lipídio e DNA) que necessitam de tampão tris para controle do pH em 7,4.

Ao determinar o coeficiente de partição água/octanol (K_p e Log P) dos complexos de rênio, obteve-se valores Log P negativos para os complexos de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ (Log P = -0,386) e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ (Log P = -0,151), indicando que esses compostos possuem maior afinidade pela fase aquosa. Por outro lado, o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})]^+$ (Log P = +0,646) apresentou valor positivo de Log P, indicando maior afinidade pela fase orgânica e hidrofóbica. Isso revelou a seguinte ordem crescente de hidrofobicidade: $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$.

Nos estudos de interação dos complexos Re com BSA, os complexos $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ apresentaram valores K_b na ordem de 10^3 M^{-1} , indicando uma interação fraca ($K_b < 10^4 \text{ M}^{-1}$) destes compostos com BSA. Já o $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ apresentou-se valor de K_b na ordem de 10^6 , sugerindo uma forte ($K_b > 10^5 \text{ M}^{-1}$) interação com BSA. A mesma tendência crescente observada nos valores de K_p ou Log P, também foi detectada para os valores de K_b em BSA: $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+ < [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+ << [\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$.

Em relação à interação dos complexos Re com lipossomos (DOPG) mostrou-se que os complexos $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dpq})(\text{py})]^+$ apresentam valores da constante de ligação próximas na ordem de 10^3 , no qual indica interação moderada. Novamente, observou-se que o complexo $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$ por apresentar maior valor da constante de K_b se liga fortemente na cadeia hidrofóbica da bicamada lipídica, tornando-se assim um grande potencializador nos estudos biológicos.

Ao avaliar a interação dos compostos com DNA, nota-se um efeito hipocrômico para os complexos *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{phen})(\text{py})]^+$ e *fac*- $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{dppz})(\text{py})]^+$, sugerindo que interações ocorrem de modo que o complexo intercala com as bases nitrogenadas do DNA. Em contraste,

o complexo *fac*-[Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ exibiu um efeito de hipercrômico, sugerindo que as interações [complexo]-DNA ocorrem principalmente por interações eletrostáticas do DNA. Em relação à intensidade da força de interação entre o DNA e cada complexo, obteve a seguinte ordem crescente dos valores de K_b em DNA: [Re(CO)₃(phen)(py)]⁺ < [Re(CO)₃(dpq)(py)]⁺ < [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺.

O estudos de viabilidade celular, o [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ apresentou maior citotoxicidade ($IC_{50} = 9 \mu M \pm 2$) dentre os compostos estudados ($IC_{50} > 20 \mu M$). Essa maior citotoxicidade do [Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ pode estar relacionada à maior interação do ligante dppz com o DNA e/ou também com maior permeação na bicamadas lipídicas das células, que pode aumentar a toxicidade, confirmadas pelos maiores valores de K_p e K_b em DNA.

Os estudos de interação dos compostos com biomoléculas (proteínas; DNA e lipídeos) revelaram que uma maior cadeia alquilica dos ligantes nos complexos, maior a interação com as biomoléculas, e como consequência maior citotoxicidade em células tumorais.

6 REFERÊNCIAS

ABRAM, Ulrich; ALBERTO, Roger. Technetium and rhenium: coordination chemistry and nuclear medical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 17, n. 8, p. 1486–1500, 2006. DOI: 10.1590/S0103-50532006000800004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532006000800004&lng=en&nrm=iso&tlang=en.

AHMAD KHAN, Rais; AL-FARHAN, Khalid; DE ALMEIDA, Andreia; ALSALME, Ali; CASINI, Angela; GHAZZALI, Mohamed; REEDIJK, Jan. Light-stable bis(norharmane)silver(I) compounds: Synthesis, characterization and antiproliferative effects in cancer cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [S. l.], v. 140, p. 1–5, 2014. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2014.06.019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013414001809>.

ALMEIDA, Vera Lúcia De; LEITÃO, Andrei; REINA, Luisa del Carmen Barrett; MONTANARI, Carlos Alberto; DONNICI, Claudio Luis; LOPES, Míriam Teresa Paz. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-cellular específicos e ciclo-cellular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005. DOI: 10.1590/S0100-40422005000100021. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000100021&lng=pt&nrm=iso&tlang=pt.

ALONSO, Michelle; TAMASDAN, Cristina; MILLER, Douglas C.; NEWCOMB, Elizabeth W. Flavopiridol induces apoptosis in glioma cell lines independent of retinoblastoma and p53 tumor suppressor pathway alterations by a caspase-independent pathway. **Molecular cancer therapeutics**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 139–50, 2003. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12589031>.

ALVES, Nathan J.; CUSICK, William; STEFANICK, Jared F.; ASHLEY, Jonathan D.; HANDLOGTEN, Michael W.; BILGICER, Basar. Functionalized liposome purification via Liposome Extruder Purification (LEP). **The Analyst**, [S. l.], v. 138, n. 17, p. 4746, 2013. DOI: 10.1039/c3an00680h. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3an00680h>.

ANDERSON, C. D.; TAYLOR, P. R.; ANDERSON, C. G. Extractive metallurgy of rhenium: a review. **Mining, Metallurgy & Exploration**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 59–73, 2013. DOI: 10.1007/BF03402342. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF03402342>.

ANDRADE, Stéphanie; RAMALHO, Maria J.; LOUREIRO, Joana A.; PEREIRA, Maria Carmo. Liposomes as biomembrane models: Biophysical techniques for drug-membrane interaction studies. **Journal of Molecular Liquids**, [S. l.], v. 334, p. 116141, 2021. DOI: 10.1016/j.molliq.2021.116141. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732221008680>.

ANISH BABU, Athanas; KARTHICK, Kamaraj; SUBRAMANIAN, Ramasamy; SWARNALATHA, Kalaiyar. Exploring the structural interaction of BSA with amine functionalized ruthenium(II) metal complex. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [S. l.], v. 38, n. 13, p. 4032–4039, 2020. DOI: 10.1080/07391102.2019.1683071.

ARANTES, Evelyn C. Souza. **COMPLEXOS DE RUTÊNIO TIPO [RuII(bd)(tpy)L](PF6)n (L = Cl, H2O, NO+, NO2) E MODELOS DE INTERAÇÃO COM O DNA** Monografia. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/35784>.

ARNOULT, Damien; PARONE, Philippe; MARTINOU, Jean-Claude; ANTONSSON, Bruno; ESTAQUIER, Jérôme; AMEISEN, Jean Claude. Mitochondrial release of apoptosis-inducing factor occurs downstream of cytochrome c release in response to several proapoptotic stimuli. **Journal of Cell Biology**, [S. l.], v. 159, n. 6, p. 923–929, 2002. DOI: 10.1083/jcb.200207071. Disponível em: <https://rupress.org/jcb/article/159/6/923/33283/Mitochondrial-release-of-apoptosis-inducing-factor>.

ASSUNÇÃO, Hélia Lucivane Silva. Propriedades Químicas E Biológicas De Complexos De Rutênio Com O Ligante Nitrosilo: Uma Revisão a Respeito Da Utilização Na Química Inorgânica Medicinal. [S. l.], 2020. Disponível em: <http://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1344>.

ATALLAH, Hala; TALIAFERRO, Chelsea M.; WELLS, Kaylee A.; CASTELLANO, Felix N. Photophysics and ultrafast processes in rhenium($\langle\text{SCP}\rangle\text{i}\langle/\text{SCP}\rangle$) diimine dicarbonyls. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 49, n. 33, p. 11565–11576, 2020. DOI: 10.1039/D0DT01765E. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0DT01765E>.

BACELLAR, Isabel O. L.; PAVANI, Christiane; SALES, Elisa M.; ITRI, Rosangela; WAINWRIGHT, Mark; BAPTISTA, Mauricio S. Membrane Damage Efficiency of Phenothiazinium Photosensitizers. **Photochemistry and Photobiology**, [S. l.], p. n/a-n/a, 2014. DOI: 10.1111/php.12264. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/php.12264>.

BARNETT ROSENBERG; LORETTA VANCAMP; JAMES E. TROSKO & VIRGINIA H. MANSOUR. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. **Nature**, [S. l.], v. 222, p. 385–387, 1969.

BARRA, Carolina Valério; NETTO, Adelino V. G. Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 1998–2016, 2015. DOI: 10.5935/1984-6835.20150118. Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1984-6835.20150118>.

BARREIRO, E. J., & FRAGA, C. A. M. Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. In: [s.l: s.n.]. p. 5–608.

BATISTA, Cinthia Meireles; CARVALHO, Cícero Moraes Barros De; MAGALHÃES, Nereide Stela Santos. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 167–179, 2007. DOI: 10.1590/S1516-93322007000200003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322007000200003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

BEAVER, Kinta; WILLIAMSON, Susan; BRIGGS, Jean. Exploring patient experiences of neo-adjuvant chemotherapy for breast cancer. **European journal of oncology nursing : the official journal of European Oncology Nursing Society**, [S. l.], v. 20, p. 77–86, 2016. DOI: 10.1016/j.ejon.2015.06.001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26078034>.

BELATIK, A.; HOTCHANDANI, S.; BARIYANGA, J.; TAJMIR-RIAHI, H. A. Binding sites of retinol and retinoic acid with serum albumins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 48, p. 114–123, 2012. DOI: 10.1016/j.ejmech.2011.12.002.

BENCINI, Andrea; LIPPOLIS, Vito. 1,10-Phenanthroline: A versatile building block for the construction of ligands for various purposes. **Coordination Chemistry Reviews**, [S. l.], v. 254, n. 17–18, p. 2096–2180, 2010. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.04.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854510001025>.

BENESI, H. A.; HILDEBRAND, J. H. A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 71, n. 8, p. 2703–2707, 1949. DOI: 10.1021/ja01176a030. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01176a030>.

BERNERS-PRICE, Susan J.; RONCONI, Luca; SADLER, Peter J. Insights into the mechanism of action of platinum anticancer drugs from multinuclear NMR spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 65–98, 2006. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2006.05.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079656506000331>.

BERTUCCI, Carlo; DOMENICI, Enrico. Reversible and Covalent Binding of Drugs to Human Serum Albumin: Methodological Approaches and Physiological Relevance. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 9, n. 15, p. 1463–1481, 2002. DOI: 10.2174/0929867023369673. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=9&issue=15&spage=1463>.

BHUVANESWARI, Jayaraman; FATHIMA, Ayub Khan; RAJAGOPAL, Seenivasan. Rhenium(I)-based fluorescence resonance energy transfer probe for conformational changes of bovine serum albumin. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [S. l.], v. 227, n. 1, p. 38–44, 2012. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2011.10.022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603011004473>.

BHUVANESWARI, Jayaraman; MAREESWARAN, Paulpandian Muthu; ANANDABABU, Karunanithi; RAJAGOPAL, Seenivasan. The switching of a Rhenium($\langle\text{sc}\rangle\text{i}\langle/\text{sc}\rangle$) complex from turn-off to turn-on sensor system through protein binding. **RSC Advances**, [S. l.], v. 4, n. 65, p. 34659, 2014. DOI: 10.1039/C4RA05464D. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA05464D>.

BHUVANESWARI, Jayaraman; MAREESWARAN, Paulpandian Muthu; SHANMUGASUNDARAM, Sambandam; RAJAGOPAL, Seenivasan. Protein binding studies of luminescent rhenium(I) diimine complexes. **Inorganica Chimica Acta**, [S. l.], v. 375, n. 1, p. 205–212, 2011. DOI: 10.1016/j.ica.2011.05.009. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169311004531>. BISCHOFF, G.; HOFFMANN, S. DNA-Binding of Drugs Used in Medicinal Therapies. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 321–348, 2002. DOI: 10.2174/0929867023371085. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=9&issue=3&spage=321>.

BOUAFIA, Amine; CORRE, Sébastien; GILOT, David; MOUCHET, Nicolas; PRINCE, Sharon; GALIBERT, Marie-Dominique. p53 Requires the Stress Sensor USF1 to Direct

Appropriate Cell Fate Decision. **PLoS Genetics**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. e1004309, 2014. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004309. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1004309>.

BRABEC, Viktor; KASPARKOVA, Jana. Ruthenium coordination compounds of biological and biomedical significance. DNA binding agents. **Coordination Chemistry Reviews**, [S. l.], v. 376, p. 75–94, 2018. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.07.012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854518302418>.

BRIMMELL, Matthew; MENDIOLA, Rezzeline; MANGION, Jonathan; PACKHAM, Graham. BAX frameshift mutations in cell lines derived from human haemopoietic malignancies are associated with resistance to apoptosis and microsatellite instability. **Oncogene**, [S. l.], v. 16, n. 14, p. 1803–1812, 1998. DOI: 10.1038/sj.onc.1201704. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1201704>.

BRÖKER, Linda E.; KRUYT, Frank A. E.; GIACCONE, Giuseppe. Cell Death Independent of Caspases: A Review. **Clinical Cancer Research**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 3155–3162, 2005. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2223. Disponível em: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/11/9/3155/188830/Cell-Death-Independent-of-Caspases-A-Review>.

BRUIJNINCX, Pieter CA; SADLER, Peter J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Current Opinion in Chemical Biology**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 197–206, 2008. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.11.013.

CALIXTO-LIMA, L.; MARTINS DE ANDRADE, E.; GOMES, A. P.; GELLER, M.; SIQUEIRA-BATISTA, R. Dietetic management in gastrointestinal complications from antimalignant chemotherapy. **Nutricion hospitalaria**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 65–75, 2012. DOI: 10.1590/S0212-16112012000100008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22566305>.

CAMPANHÃ, Myriam Therezinha N. **Interações entre vesículas catiônicas e superfícies biológicas : lipossomos de brometo de dioctadecildimetilamônio (DODAB) como agentes antimicrobianos**. [s.l.] : Tese de Doutorado, 2020.

CARTER, Daniel C.; HO, Joseph X. Structure of Serum Albumin. In: [s.l: s.n.]. p. 153–203. DOI: 10.1016/S0065-3233(08)60640-3. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065323308606403>.

CHITAMBAR, Christopher R. Gallium compounds as antineoplastic agents. **Current Opinion in Oncology**, [S. l.], v. 16, n. 6, p. 547–552, 2004. DOI: 10.1097/01.cco.0000142071.22226.d2. Disponível em: <http://journals.lww.com/00001622-200411000-00007>.

COSTA, Felipe; REIS, Claro. “[Ru2O(CH3COO)2(py)4(THIQ)2](PF6)2: síntese, caracterização, cinética de troca de ligantes, comparação com complexo análogo e estudos biológicos”. Ribeirão Preto-SP. v. 2

DA SILVA, Camila Fontes Neves et al. Anticancer and antitrypanosomal activities of trinuclear ruthenium compounds with orthometalated phenazine ligands. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 49, n. 45, p. 16440–16452, 2020. DOI: 10.1039/D0DT01035A. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0DT01035A>.

DE MEDEIROS, Tayline V.; MANIOUDAKIS, John; NOUN, Farah; MACAIRAN, Jun Ray; VICTORIA, Florence; NACCACHE, Rafik. Microwave-assisted synthesis of carbon dots and their applications. **Journal of Materials Chemistry C**, [S. l.], v. 7, n. 24, p. 7175–7195, 2019. DOI: 10.1039/c9tc01640f.

DE PROFT, Frank; GEERLINGS, Paul. Conceptual and Computational DFT in the Study of Aromaticity. **Chemical Reviews**, [S. l.], v. 101, n. 5, p. 1451–1464, 2001. DOI: 10.1021/cr9903205. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr9903205>.

DUTTA, Shubha Ranjan; PASSI, Deepak; KACKER, Dhruv; CHAHAL, Deepak; ATRI, Mansi. Understanding Cancer Stem Cells in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Critical Update in Development of New Approaches. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, [S. l.], 2018. DOI: 10.7860/JCDR/2018/30444.11096. Disponível em: http://jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2018&volume=12&issue=1&page=EE01&issn=0973-709x&id=11096.

DYER, Joanne et al. The photophysics of fac-[Re(CO)₃(dppz)(py)]⁺ in CH₃CN: a comparative picosecond flash photolysis, transient infrared, transient resonance Raman and density functional theoretical study. **Photochemical & Photobiological Sciences**, [S. l.], v. 2, n. 5, p. 542–554, 2003. DOI: 10.1039/b212628a. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1039/b212628a>.

ESHKOURFU, Rabia et al. Synthesis, characterization, cytotoxic activity and DNA binding properties of the novel dinuclear cobalt(III) complex with the condensation product of 2-acetylpyridine and malonic acid dihydrazide. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [S. l.], v. 105, n. 9, p. 1196–1203, 2011. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2011.05.024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013411001395>.

FALCÃO, Haroldo; JAPIASSÚ, André Miguel. Uso de albumina humana em pacientes graves: controvérsias e recomendações. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 87–95, 2011. DOI: 10.1590/S0103-507X2011000100014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-507X2011000100014&lng=pt&nrm=iso&tlang=pt.

FAUSTINO, Leandro A.; SOUZA, Breno L.; NUNES, Barbara N.; DUONG, Anh-Thu; SIELAND, Fabian; BAHNEMANN, Detlef W.; PATROCINIO, Antonio Otavio T. Photocatalytic CO₂ Reduction by Re(I) Polypyridyl Complexes Immobilized on Niobates Nanoscrolls. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 6073–6083, 2018. DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b04713. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.7b04713>.

FONTES, Ana Paula Soares; DE ALMEIDA, Sérgio Gama; DE ANDRADE NADER, Letícia. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 398–406, 1997. DOI: 10.1590/s0100-40421997000400010.

FREITAS, P. A. C. DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM SOLOS POR EXTRAÇÃO EM DISCO ROTATÓRIO, ESPECTROFLUORIMETRIA E CALIBRAÇÃO DE ORDEM SUPERIOR. **Dissertação de Mestrado**, [S. l.], p. 1–78, 2021.

FREM, Regina; ARROYOS, Guilherme; FLOR, Jader; ALVES, Renata; LUCENA,

Guilherme; SILVA, Caroline; COURA, Mariana. MOFs (METAL-ORGANIC FRAMEWORKS): UMA FASCINANTE CLASSE DE MATERIAIS INORGÂNICOS POROSOS. **Química Nova**, [S. l.], 2018. DOI: 10.21577/0100-4042.20170285. Disponível em:

http://quimicanova.sbj.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=6839&nomeArquivo=RV20180175.pdf.

FRIN, Karina P. M.; NASCIMENTO, Verônica M. Rhenium(I) polypyridine complexes as luminescence-based sensors for the BSA protein. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 179–185, 2016. DOI: 10.5935/0103-5053.20150268.

GARCIA-MANERO, Guillermo; FADERL, Stefan; O'BRIEN, Susan; CORTES, Jorge; TALPAZ, Moshe; KANTARJIAN, Hagop M. Chronic myelogenous leukemia: A review and update of therapeutic strategies. **Cancer**, [S. l.], v. 98, n. 3, p. 437–457, 2003. DOI: 10.1002/cncr.11520. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.11520>.

GASSER, Gilles; OTT, Ingo; METZLER-NOLTE, Nils. **Organometallic anticancer compounds**. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2011. DOI: 10.1021/jm100020w.

GENOT, C.; TONETTI, F.; MONTENAYGARESTIER, T.; MARION, D.; DRAPRON, R. Front Face Fluorescence Applied To Structural Studies of Proteins and Lipid-Protein Interactions of Viscoelastic Food-Products .2. Application To Wheat Gluten. **Sciences Des Aliments**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. 687–704, 1992.

GONZLEZ-RUIZ, Vctor; I., Ana; ANTONIA, M.; RIBELLES, Pascual; TERESA, M.; CARLOS, J. An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug-DNA Interactions. Applications to the Design of Genosensors. In: **Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies**. [s.l.] : InTech, 2011. DOI: 10.5772/13586. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/biomedical-engineering-trends-research-and-technologies/an-overview-of-analytical-techniques-employed-to-evidence-drug-dna-interactions-applications-to-the->.

GREGORIADIS, Gregory. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 13, n. 12, p. 527–537, 1995. DOI: 10.1016/S0167-7799(00)89017-4. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779900890174>.

GRIVICICH, Ivana; REGNER, Andréa; ROCHA, Adriana Brondani Da. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 335–343, 2007. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2007v53n3.1801. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/1801>.

GROTTO, Helena Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S. l.], v. 30, n. 5, 2008. DOI: 10.1590/S1516-84842008000500012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000500012&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

GUERRA, Maximiliano Ribeiro; GALLO, Cláudia Vitória de Moura; MENDONÇA, Gulnar Azevedo e Silva. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais

recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 227–234, 2005. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2005v51n3.1950. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/1950>.

HALYARD, Michele Y. et al. Does Zinc Sulfate Prevent Therapy-Induced Taste Alterations in Head and Neck Cancer Patients? Results of Phase III Double-Blind, Placebo-Controlled Trial from the North Central Cancer Treatment Group (N01C4). **International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics**, [S. l.], v. 67, n. 5, p. 1318–1322, 2007. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2006.10.046. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360301606033840>.

HAMELIN, B. Hydrophilicity/ lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 26–37, 1998. DOI: 10.1016/S0165-6147(97)01147-4. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165614797011474>.

HAMELS, Didier; DANSETTE, Patrick M.; HILLARD, Elizabeth A.; TOP, Siden; VESSIÈRES, Anne; HERSON, Patrick; JAOUEN, Gérard; MANSUY, Daniel. Ferrocenyl Quinone Methides as Strong Antiproliferative Agents: Formation by Metabolic and Chemical Oxidation of Ferrocenyl Phenols. **Angewandte Chemie International Edition**, [S. l.], v. 48, n. 48, p. 9124–9126, 2009. DOI: 10.1002/anie.200903768. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.200903768>.

HANAYAMA, Rikinari; TANAKA, Masato; MIYASAKA, Kay; AOZASA, Katsuyuki; KOIKE, Masato; UCHIYAMA, Yasuo; NAGATA, Shigekazu. Autoimmune Disease and Impaired Uptake of Apoptotic Cells in MFG-E8-Deficient Mice. **Science**, [S. l.], v. 304, n. 5674, p. 1147–1150, 2004. DOI: 10.1126/science.1094359. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1094359>.

HANSCH, Corwin. Quantitative approach to biochemical structure-activity relationships. **Accounts of Chemical Research**, [S. l.], v. 2, n. 8, p. 232–239, 1969. DOI: 10.1021/ar50020a002. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ar50020a002>.

HANSCH, Corwin; LEO, Albert; UNGER, Stefan H.; KIM, Ki Hwai; NIKAITANI, Donald; LIEN, Eric J. Aromatic substituent constants for structure-activity correlations. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 16, n. 11, p. 1207–1216, 1973. DOI: 10.1021/jm00269a003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm00269a003>.

HO, Junming; LEE, Wan Yen; KOH, Kelvin Jin Tai; LEE, Peter Peng Foo; YAN, Yaw-Kai. Rhenium(I) tricarbonyl complexes of salicylaldehyde semicarbazones: Synthesis, crystal structures and cytotoxicity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [S. l.], v. 119, p. 10–20, 2013. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2012.10.011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013412003534>.

HORTON, Nathan C.; MATHEW, Porunelloor A. NKp44 and Natural Cytotoxicity Receptors as Damage-Associated Molecular Pattern Recognition Receptors. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 6, 2015. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00031. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2015.00031/abstract>.

HOSTACHY, Sarah; POLICAR, Clotilde; DELSUC, Nicolas. Re(I) carbonyl complexes: Multimodal platforms for inorganic chemical biology. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.

l.J, v. 351, p. 172–188, 2017. DOI: 10.1016/j.ccr.2017.05.004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854517300826>.

HSIEH, Chieh-Ming; WANG, Shu; LIN, Shiang-Tai; SANDLER, Stanley I. A Predictive Model for the Solubility and Octanol–Water Partition Coefficient of Pharmaceuticals. **Journal of Chemical & Engineering Data**, *[S. l.J*, v. 56, n. 4, p. 936–945, 2011. DOI: 10.1021/je1008872. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/je1008872>.

HU, Zhiyuan et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. **BMC Genomics**, *[S. l.J*, v. 7, 2006. DOI: 10.1186/1471-2164-7-96.

HUANG, Ching-Hsien; CHARLTON, James P. Studies on Phosphatidylcholine Vesicles. **Journal of Biological Chemistry**, *[S. l.J*, v. 246, n. 8, p. 2555–2560, 1971. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)62325-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925818623257>.

INCA. **Instituto Nacional do Câncer**. 2021.

JAIN, R. K. Delivery of molecular medicine to solid tumors: lessons from in vivo imaging of gene expression and function. **Journal of Controlled Release**, *[S. l.J*, v. 74, n. 1–3, p. 7–25, 2001. DOI: 10.1016/S0168-3659(01)00306-6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365901003066>.

JUNIOR ALMEIDA, Alexandre Mendes. Fotossensibilização de sistemas miméticos de membrana celular induzida pelo fenotiazílico azul de toluidina. **Dissertação de Mestrado**, *[S. l.J*, p. 49, 2020.

JÜRGENS, Sophie; HERRMANN, Wolfgang A.; KÜHN, Fritz E. Rhenium and technetium based radiopharmaceuticals: Development and recent advances. **Journal of Organometallic Chemistry**, *[S. l.J*, v. 751, p. 83–89, 2014. DOI: 10.1016/j.jorgchem.2013.07.042. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022328X13005494>.

KANDAGAL, P. B. et al. Study of the interaction of an anticancer drug with human and bovine serum albumin: spectroscopic approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, *[S. l.J*, v. 41, p. 393–399, 2006.

KERR, J. F. R.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. **British Journal of Cancer**, *[S. l.J*, v. 26, n. 4, p. 239–257, 1972. DOI: 10.1038/bjc.1972.33. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/bjc197233>.

KHAN, Gul Shahzada; SHAH, Afzal; ZIA-UR-REHMAN; BARKER, David. Chemistry of DNA minor groove binding agents. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, *[S. l.J*, v. 115, p. 105–118, 2012. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2012.07.003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134412001571>.

KING, A. Paden; MARKER, Sierra C.; SWANDA, Robert V.; WOODS, Joshua J.; QIAN, Shu Bing; WILSON, Justin J. A Rhenium Isonitrile Complex Induces Unfolded Protein Response-Mediated Apoptosis in Cancer Cells. **Chemistry - A European Journal**, *[S. l.J*, v. 25, n. 39, p. 9206–9210, 2019. DOI: 10.1002/chem.201902223.

KONKANKIT, Chilaluck C.; VAUGHN, Brett A.; HUANG, Zhouyang; BOROS, Eszter;

WILSON, Justin J. Systematically altering the lipophilicity of rhenium(Re^{+4}) tricarbonyl anticancer agents to tune the rate at which they induce cell death. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 49, n. 45, p. 16062–16066, 2020. DOI: 10.1039/D0DT01097A. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D0DT01097A>.

KROEMER, G. et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. **Cell Death & Differentiation**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 3–11, 2009. DOI: 10.1038/cdd.2008.150. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/cdd2008150>.

KROEMER, Guido; REED, John C. Mitochondrial control of cell death. **Nature Medicine**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 513–519, 2000. DOI: 10.1038/74994. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nm0500_513.

KROETZ, T. AMINAS FLUORESCENTES DE CADEIA LONGA: SÍNTESE, ESTUDO FOTOFÍSICO E OBTENÇÃO DE LIPOSSOMAS FOTOATIVOS DE FOSFATIDILCOLINA. **Dissertação de Mestrado**, [S. l.], p. 40–42, 2012.

KURODA, P. K. A note on the discovery of technetium. **Nuclear Physics A**, [S. l.], v. 503, n. 1, p. 178–182, 1989. DOI: 10.1016/0375-9474(89)90260-1. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0375947489902601>.

LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Boston, MA: Springer US, 2006. DOI: 10.1007/978-0-387-46312-4. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-46312-4>.

LASIC, D. Novel applications of liposomes. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 16, n. 7, p. 307–321, 1998. DOI: 10.1016/S0167-7799(98)01220-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779998012207>.

LAZNIEWSKA, Joanna; AGOSTINO, Mark; HICKEY, Shane M.; PARKINSON-LAWRENCE, Emma; STAGNI, Stefano; MASSI, Massimiliano; BROOKS, Douglas A.; PLUSH, Sally E. Spectroscopic and Molecular Docking Study of the Interaction between Neutral Re(I) Tetrazolate Complexes and Bovine Serum Albumin. **Chemistry - A European Journal**, [S. l.], v. 27, n. 44, p. 11406–11417, 2021. DOI: 10.1002/chem.202101307.

LEHNINGER, T.M.; NELSON, D.L.; COX, M. .. **Principios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre.

LEONIDOVA, Anna; GASSER, Gilles. Underestimated Potential of Organometallic Rhenium Complexes as Anticancer Agents. **ACS Chemical Biology**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 2180–2193, 2014. DOI: 10.1021/cb500528c. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cb500528c>.

LI, WEIJIA; ZHOU, JING; XU, YUYIN. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. **Biomedical Reports**, [S. l.], v. 3, n. 5, p. 617–620, 2015. DOI: 10.3892/br.2015.481. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/br.2015.481>.

LIAO, Dezhong Joshua; DICKSON, Robert B. Cell Death in MMTV-c-myc Transgenic Mouse Mammary Tumors May Not Be Typical Apoptosis. **Laboratory Investigation**, [S. l.], v. 83, n. 10, p. 1437–1449, 2003. DOI: 10.1097/01.LAB.0000090153.13977.AE. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023683722034663>.

LIMA, Ludhimilla. G. .. Tese de Doutorado Desenvolvimento de Novos Agentes Antineoplásicos Platínicos Conjugados a Matrizes. [S. l.], 2016. Disponível em: Tese de Doutorado.

LIPINSKI, Christopher A.; LOMBARDO, Franco; DOMINY, Beryl W.; FEENEY, Paul J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1PII of original article: S0169-409X(96)00423-1. The article was originally published in Advanced Drug Delivery Reviews 23 (1997). **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. l.], v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001. DOI: 10.1016/S0169-409X(00)00129-0. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X00001290>.

LIU, Jun-jie; LIN, Mou; YU, Jia-ying; LIU, Bo; BAO, Jin-ku. Targeting apoptotic and autophagic pathways for cancer therapeutics. **Cancer Letters**, [S. l.], v. 300, n. 2, p. 105-114, 2011. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304383510004660>.

LO, Kenneth Kam-Wing. Luminescent Rhenium(I) and Iridium(III) Polypyridine Complexes as Biological Probes, Imaging Reagents, and Photocytotoxic Agents. **Accounts of Chemical Research**, [S. l.], v. 48, n. 12, p. 2985-2995, 2015. DOI: 10.1021/acs.accounts.5b00211. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.accounts.5b00211>.

LOPES-JÚNIOR, Luís Carlos. Os registros de câncer no contexto da vigilância em saúde pública: ensaio teórico. **International Journal of Development Research**, [S. l.], v. 11, n. 03, p. 45693-45696, 2021. DOI: 10.37118/ijdr.21453.03.2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/350588574>.

LOPES, Felipe Ferreira. Lipossoma revestido com hidroxiapatita para o carreamento de fármacos. **Dissertação de Mestrado**, [S. l.], p. 61, 2019.

LOPEZ-BERESTEIN, Gabriel. Treatment of Systemic Fungal Infections With Liposomal Amphotericin B. **Archives of Internal Medicine**, [S. l.], v. 149, n. 11, p. 2533, 1989. DOI: 10.1001/archinte.1989.00390110097022. Disponível em: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.1989.00390110097022>.

LOVEJOY, Katherine S.; LIPPARD, Stephen J. Non-traditional platinum compounds for improved accumulation, oral bioavailability, and tumor targeting. **Dalton Transactions**, [S. l.], n. 48, p. 10651, 2009. DOI: 10.1039/b913896j. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b913896j>.

LUCCHESE, Baldo; HUMPHREYS, Kristi J.; LEE, Dong-Heon; INCARVITO, Christopher D.; SOMMER, Roger D.; RHEINGOLD, Arnold L.; KARLIN, Kenneth D. Mono-, Bi-, and Trinuclear Cu II -Cl Containing Products Based on the Tris(2-pyridylmethyl)amine Chelate Derived from Copper(I) Complex Dechlorination Reactions of Chloroform. **Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 43, n. 19, p. 5987-5998, 2004. DOI: 10.1021/ic0497477. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ic0497477>.

MACDONALD, Robert C.; MACDONALD, Ruby I.; MENCO, Bert Ph. M.; TAKESHITA, Keizo; SUBBARAO, Nanda K.; HU, Lan-rong. Small-volume extrusion apparatus for preparation of large, unilamellar vesicles. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [S. l.], v. 1061, n. 2, p. 297-303, 1991. DOI: 10.1016/0005-2736(91)90295-

J. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000527369190295J>.

MACIĄŻEK-JURCZYK, Małgorzata; SZKUDLAREK, Agnieszka; CHUDZIK, Mariola; POŻYCKA, Jadwiga; SUŁKOWSKA, Anna. Alteration of human serum albumin binding properties induced by modifications: A review. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 188, p. 675–683, 2018. DOI: 10.1016/j.saa.2017.05.023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142517303906>.

MAISULS, Iván; WOLCAN, Ezequiel; PIRO, Oscar E.; CASTELLANO, Eduardo E.; PETROSELLI, Gabriela;ERRA-BALSELLS, Rosa; CABRERIZO, Franco M.; RUIZ, Gustavo T. Synthesis, Structural Characterization and Biological Evaluation of Rhenium(I) Tricarbonyl Complexes with β -Carboline Ligands. **ChemistrySelect**, [S. l.], v. 2, n. 27, p. 8666–8672, 2017. DOI: 10.1002/slct.201701961. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/slct.201701961>.

MALVEZZI, Alberto. Estudo comparativo de parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização, de série de derivados da procaína com atividade bloqueadora neuromuscular. [S. l.], p. 1–160, 2003. Disponível em: Dissertação de Mestrado.

MANSILHA, A. The PORtromb Project: prothrombin G20210A mutation and venous thromboembolism in young people. **Cardiovascular Surgery**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 45–48, 2002. DOI: 10.1016/S0967-2109(00)00150-2.

MARTINS, C. R.; LOPES, Wi. A.; ANDRADE, J. B. Solubilidade das Substâncias Orgânicas. **Química Nova**, [S. l.], v. 36, p. 1248–1255, 2013.

MATOSO, Leonardo Magela Lopes; ROSÁRIO, Sâmara Sirdênia Duarte De; MATOSO, Mônica Betania Lopes. AS ESTRATÉGIAS DE CUIDADOS PARA O ALÍVIO DOS EFEITOS COLATERAIS DA QUIMIOTERAPIA EM MULHERES. **Saúde (Santa Maria)**, [S. l.], v. 41, n. 2, 2015. DOI: 10.5902/2236583410883. Disponível em: <http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/revistasaudae/article/view/10883>.

MELLOTTI, M. Universidade Do Estado De Santa Catarina – Udesc Centro De Ciências Da Educação – Faed. **Dissertação de Mestrado**, [S. l.], p. 1–168, 2019.

MILUTINOVIC, Milan M.; RILAK, Ana; BRATSOS, Ioannis; KLISURIĆ, Olivera; VRANEŠ, Milan; GLIGORIJEVIĆ, Nevenka; RADULOVIC, Siniša; BUGARCIĆ, Živadin D. New 4'-(4-chlorophenyl)-2,2':6',2"-terpyridine ruthenium(II) complexes: Synthesis, characterization, interaction with DNA/BSA and cytotoxicity studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [S. l.], v. 169, p. 1–12, 2017. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2016.10.001.

MOHAMADI, Maryam; AFZALI, Daryoush; ESMAEILI-MAHANI, Saeed; MOSTAFAVI, Ali; TORKZADEH-MAHANI, Masoud. Spectroscopic and electrochemical studies of the interaction between oleuropein, the major bio-phenol in olives, and salmon sperm DNA. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S. l.], v. 148, p. 260–265, 2015. DOI: 10.1016/j.saa.2015.03.123. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142515004382>.

MOHERANE, Lehlohonolo; ALEXANDER, Orbett T.; SCHUTTE-SMITH, Marietjie; KROON, Robin E.; MOKOLOKOLO, Penny P.; BISWAS, Supratim; PRINCE, Sharon; VISSER, Hendrik G.; MANICUM, Amanda-Lee E. Polypyridyl coordinated rhenium(I)

tricarbonyl complexes as model devices for cancer diagnosis and treatment. **Polyhedron**, [S. l.], v. 228, p. 116178, 2022. DOI: 10.1016/j.poly.2022.116178. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0277538722005307>.

MONTOYA, J. E. et al. Nutritional status of cancer patients admitted for chemotherapy at the National Kidney and Transplant Institute. **Singapore medical journal**, [S. l.], v. 51, n. 11, p. 860–4, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21140112>.

MOREIRA, Helena; CANAVARRO, Maria Cristina. Individual and gender differences in mindful parenting: The role of attachment and caregiving representations. **Personality and Individual Differences**, [S. l.], v. 87, p. 13–19, 2015. DOI: 10.1016/j.paid.2015.07.021.

MOREIRA, Mariete B.; FRANCISCATO, Douglas S.; TOLEDO, Kalil C. F.; SOUZA, João Raul B. De; NAKATANI, Helena S.; SOUZA, Vagner R. De. INVESTIGATION OF THE FLUORESCENCE QUENCHING OF BOVINE AND HUMAN SERUM ALBUMIN BY RUTHENIUM COMPLEX. **Química Nova**, [S. l.], 2014. DOI: 10.5935/0100-4042.20140315. Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/0100-4042.20140315>.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, [S. l.], v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022175983903034>.

MUSIOL, R.; SERDA, M.; HENSEL-BIELOWKA, S.; POLANSKI, J. Quinoline-Based Antifungals. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 18, p. 1960–1973, 2010. DOI: 10.2174/092986710791163966. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=17&issue=18&spage=1960>.

NETO, Guilherme; BAPTISTA, Eduardo; BECCA, Gabriel; NAKATANI, Helena; SOUZA, Vagner. INTERAÇÕES COMPETITIVAS DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO DIMETILSULFÓXIDO E LIGANTES N-HETEROCÍCLICOS COM ALBUMINA DE SORO HUMANO. **Química Nova**, [S. l.], 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170488. Disponível em: http://quimicanova.sbj.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=8044&nomeArquivo=AR20190305.pdf.

NGUYEN, Minh T.; JONES, Richard A.; HOLLIDAY, Bradley J. Recent advances in the functional applications of conducting metallopolymers. **Coordination Chemistry Reviews**, [S. l.], v. 377, p. 237–258, 2018. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.08.004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854517307336>.

NUNO C. SANTOS; MIGUEL A. R. B. CASTANHO. LIPOSSOMAS: A BALA MÁGICA ACERTOU. **Quim. Nova**, [S. l.], v. 25, p. 1.181-1.185, 2002.

OATES, John A.; WOOD, Alastair J. J.; PARKER, John O. Nitrate Therapy in Stable Angina Pectoris. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 316, n. 26, p. 1635–1642, 1987. DOI: 10.1056/NEJM198706253162606. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198706253162606>.

PAGES, Benjamin J.; ANG, Dale L.; WRIGHT, Elisé P.; ALDRICH-WRIGHT, Janice R. Metal complex interactions with DNA. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 44, n. 8, p. 3505–3526,

2015. DOI: 10.1039/C4DT02700K. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4DT02700K>.

PAGONI, Chaido Christina; XYLOURI, Vasiliki Styliani; KAIAFAS, Georgios C.; LAZOU, Marialena; BOMPOLA, Georgia; TSOUKAS, Evangelos; PAPADOPPOULOU, Lefkothhea C.; PSOMAS, George; PAPAGIANNOPPOULOU, Dionysia. Organometallic rhenium tricarbonyl–enrofloxacin and –levofloxacin complexes: synthesis, albumin-binding, DNA-interaction and cell viability studies. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 24, n. 5, p. 609–619, 2019. DOI: 10.1007/s00775-019-01666-1. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01666-1>.

PANFILOV, Peter. The Features of Rhenium Deformation Behavior at Room Temperature. **Reviews on advanced materials and technologies**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 26–30, 2020. DOI: 10.17586/2687-0568-2020-2-2-26-30. Disponível em: <https://reviewsamt.com/uploads/article/a296f8fa-de64-4a39-90a6-d0a597f7671b/Full-text-paper.pdf?time=1612517421>.

PARSON, Carl. Anticancer Properties of Novel Rhenium Pentylcarbanato Compounds against MDA-MB-468(HTB-132) Triple Node Negative Human Breast Cancer Cell Lines. **British Journal of Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 362–367, 2014. DOI: 10.9734/bjpr/2014/4697.

PAVANI, Christiane; UCHOA, Adjaci F.; OLIVEIRA, Carla S.; IAMAMOTO, Yassuko; BAPTISTA, Maurício S. Effect of zinc insertion and hydrophobicity on the membrane interactions and PDT activity of porphyrin photosensitizers. **Photochem. Photobiol. Sci.**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 233–240, 2009. DOI: 10.1039/B810313E. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B810313E>.

PAVIA, L. .. Lampman, M.; M. AND KRIZ, S. Synthesis, Characterization and Antibacterial Activities of Polydentate Schiff Bases, Based on Salicylaldehyde. **Advances in Biological Chemistry**, [S. l.], v. Vol.10 No.5, 2001.

PETERS JR., Theodore. **All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications**. Academic Press ed. San Diego.

PETERS, Theodore. Serum Albumin. In: [s.l: s.n.]. p. 161–245. DOI: 10.1016/S0065-3233(08)60065-0. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065323308600650>.

PIRES, José Ricardo; SAITO, Cristina; GOMES, Suely L.; GIESBRECHT, Astréa M.; AMARAL, Antonia T-do. Investigation of 5-Nitrofuran Derivatives: Synthesis, Antibacterial Activity, and Quantitative Structure–Activity Relationships. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 44, n. 22, p. 3673–3681, 2001. DOI: 10.1021/jm0101693. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm0101693>.

PRACHAROVA, Jitka; VIGUERAS, Gloria; NOVOHRADSKY, Vojtech; CUTILLAS, Natalia; JANIAK, Christoph; KOSTRHUNOVA, Hana; KASPARKOVA, Jana; RUIZ, José; BRABEC, Viktor. Exploring the Effect of Polypyridyl Ligands on the Anticancer Activity of Phosphorescent Iridium(III) Complexes: From Proteosynthesis Inhibitors to Photodynamic Therapy Agents. **Chemistry – A European Journal**, [S. l.], v. 24, n. 18, p. 4607–4619, 2018. DOI: 10.1002/chem.201705362. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.201705362>.

PRAUSNITZ, John M.; TAVARES, Frederico W. Thermodynamics of fluid-phase equilibria for standard chemical engineering operations. **AIChE Journal**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 739–761, 2004. DOI: 10.1002/aic.10069.

R. DILWORTH, Jonathan; J. PARROTT, Suzanne. The biomedical chemistry of technetium and rhenium. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 43, 1998. DOI: 10.1039/a827043z.

RAGONE, Fabricio; SAAVEDRA, Héctor H. Martínez; GARCÍA, Pablo F.; WOLCAN, Ezequiel; ARGÜELLO, Gerardo A.; RUIZ, Gustavo T. Association studies to transporting proteins of fac-ReI(CO)₃(pterin)(H₂O) complex. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 99–108, 2017. DOI: 10.1007/s00775-016-1410-7. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00775-016-1410-7>.

RAMOS, Cristiane; PRADO, Fernando; CARMO, Marcos Eduardo; FARIA, Giliandro; SOUZA, Bernardo; MACHADO, Antonio Eduardo; PATROCINIO, Antonio Otavio. Temperature Dependent Emission Properties of ReI Tricarbonyl Complexes with Dipyrido-Quinoxaline and Phenazine Ligands. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], 2022. a. DOI: 10.21577/0103-5053.20210161.

RANDO, Daniela G.; SATO, Dayse N.; SIQUEIRA, Leonardo; MALVEZZI, Alberto; LEITE, Clarice Q. ...; DO_AMARAL, Antonia T.; FERREIRA, Elizabeth I.; TAVARES, Leoberto C. Potential tuberculostatic agents. Topliss application on benzoic acid [(5-Nitro-thiophen-2-yl)-methylene]-hydrazide series. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 557–560, 2002. DOI: 10.1016/S0968-0896(01)00313-3. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089601003133>.

REHMAN, Sayeed Ur; SARWAR, Tarique; HUSAIN, Mohammed Amir; ISHQI, Hassan Mubarak; TABISH, Mohammad. Studying non-covalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 576, p. 49–60, 2015. DOI: 10.1016/j.abb.2015.03.024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003986115001812>.

RICCI, Cláisse Gravina. A, B e Z-DNA: caracterização Conformacional e Importância Biológica. [S. l.], p. 61, 2007.

RISS, Terry L.; MORAVEC, Richard A.; NILES, Andrew L.; DUELLMAN, Sarah; BENINK, Hélène A.; WORZELLA, Tracy J.; MINOR, Lisa. **Cell Viability Assays**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6606682>.

ROCHA, Silveira Josias. “Síntese e caracterização de complexos de Prata (I): investigação da citotoxicidade e interação com o DNA. ”. **Dissertação de Mestrado**, [S. l.], n. I, 2020.

RUKAVINA, Zora; VANIĆ, Željka. Current Trends in Development of Liposomes for Targeting Bacterial Biofilms. **Pharmaceutics**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 18, 2016. DOI: 10.3390/pharmaceutics8020018. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1999-4923/8/2/18>.

SANTOS, Nuno C.; PRIETO, Manuel; CASTANHO, Miguel A. R. B. Quantifying molecular partition into model systems of biomembranes: an emphasis on optical spectroscopic methods. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [S. l.], v. 1612, n. 2, p. 123–135, 2003. DOI: 10.1016/S0005-2736(03)00112-3. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005273603001123>.

SAWADA, Motoshi; HAYES, Paulette; MATSUYAMA, Shigemi. Cytoprotective membrane-permeable peptides designed from the Bax-binding domain of Ku70. **Nature Cell Biology**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 352–357, 2003. DOI: 10.1038/ncb955. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/ncb955>.

SCHILLER, Eik; SEIFERT, Sepp; TISATO, Francesco; REFOSCO, Fiorenzo; KRAUS, Werner; SPIES, Hartmut; PIETZSCH, Hans-Juergen. Mixed-Ligand Rhenium-188 Complexes with Tetridentate/Monodentate NS 3 /P ('4 + 1') Coordination: Relation of Structure with Antioxidation Stability. **Bioconjugate Chemistry**, [S. l.], v. 16, n. 3, p. 634–643, 2005. DOI: 10.1021/bc049745a. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bc049745a>.

SEEDHER, N.; BHATIA, S. Reversible binding of celecoxib and valdecoxib with human serum albumin using fluorescence spectroscopic technique. **Pharmacological Research**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 77–84, 2006. DOI: 10.1016/j.phrs.2006.02.008.

SHARGEL L, SUSANNA WP, Yu AB. **“Chapter 10: Physiological Drug Distribution and Protein Binding”**. 6. ed. New York.

SILVA, Isabella Miranda. Interação in vitro entre compostos orgânicos de arsênio(v) e proteína carreadora empregando técnicas espectroscópicas. [S. l.], n. V, p. 82, 2017.

SILVA, Renê Gomes; SILVA, Wagner Eduardo; BELLAN, Mônica Freire. Antineoplastic chemotherapics platinum-based under the light of evolutionary biology. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 1140–1167, 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180081.

SINGH, Anil K.; DAS, Joydip. Liposome encapsulated vitamin A compounds exhibit greater stability and diminished toxicity. **Biophysical Chemistry**, [S. l.], v. 73, n. 1–2, p. 155–162, 1998. DOI: 10.1016/S0301-4622(98)00158-6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301462298001586>.

ŠÍPOVÁ-JUNGOVÁ, Hana; JURGOVÁ, Ludmila; HEMEROVÁ, Erika; HOMOLA, Jiří. Interaction of Tris with DNA molecules and carboxylic groups on self-assembled monolayers of alkanethiols measured with surface plasmon resonance. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 546, p. 148984, 2021. DOI: 10.1016/j.apsusc.2021.148984. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016943322100060X>.

SIRAJUDDIN, Muhammad; ALI, Saqib; BADSHAH, Amin. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 124, p. 1–19, 2013. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134413000717>.

STRYER, L; TYMOCZKO, J.L; BERG, J. M. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: 5º Ed, 2004.

SUNTHARALINGAM, Kogularamanan; JOHNSTONE, Timothy C.; BRUNO, Peter M.; LIN, Wei; HEMANN, Michael T.; LIPPARD, Stephen J. Bidentate Ligands on Osmium(VI) Nitrido Complexes Control Intracellular Targeting and Cell Death Pathways. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 135, n. 38, p. 14060–14063, 2013. DOI: 10.1021/ja4075375. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja4075375>.

TAVARES, Leoberto Costa. QSAR: a abordagem de Hansch. **Química Nova**, [S. l.], v. 27, n. 4, p. 631–639, 2004. DOI: 10.1590/S0100-40422004000400018. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000400018&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

THOMPSON, Katherine H.; ORVIG, Chris. Boon and Bane of Metal Ions in Medicine. **Science**, [S. l.], v. 300, n. 5621, p. 936–939, 2003. DOI: 10.1126/science.1083004. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1083004>.

TIRABOSCHI, Ricardo Brianezi; DIAS-NETO, José Anastácio; MARTINS, Antonio Carlos Pereira; COLOGNA, Adauto José; SUAID, Haylton Jorge; TUCCI JR, Silvio. Fatores de risco em carcinomas de células transicionais da bexiga: risk factors. **Acta Cirurgica Brasileira**, [S. l.], v. 17, n. suppl 3, p. 20–23, 2002. DOI: 10.1590/S0102-86502002000900005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86502002000900005&lng=pt&tlng=pt.

TORCHILIN, Vladimir P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 145–160, 2005. DOI: 10.1038/nrd1632. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrd1632>.

TRIPATHY, Divya B.; MISHRA, Anuradha; CLARK, James; FARMER, Thomas. Synthesis, chemistry, physicochemical properties and industrial applications of amino acid surfactants: A review. **Comptes Rendus Chimie**, [S. l.], v. 21, n. 2, p. 112–130, 2018. DOI: 10.1016/j.crci.2017.11.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1631074817302138>.

TSUBONE, Tayana Mazin; BAPTISTA, Mauricio S.; ITRI, Rosangela. Understanding membrane remodelling initiated by photosensitized lipid oxidation. **Biophysical Chemistry**, [S. l.], v. 254, p. 106263, 2019. DOI: 10.1016/j.bpc.2019.106263. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301462219302753>.

TYRRELL, D. A.; HEATH, T. D.; COLLEY, C. M.; RYMAN, Brenda E. New aspects of liposomes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes**, [S. l.], v. 457, n. 3–4, p. 259–302, 1976. DOI: 10.1016/0304-4157(76)90002-2. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0304415776900022>.

VANDENABEELE, Peter; DECLERCQ, Wim; BEYAERT, Rudi; FIERS, Walter. Two tumour necrosis factor receptors: structure and function. **Trends in Cell Biology**, [S. l.], v. 5, n. 10, p. 392–399, 1995. DOI: 10.1016/S0962-8924(00)89088-1. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0962892400890881>.

VON KLOT, S.; WÖLKE, G.; TUCH, T.; HEINRICH, J.; DOCKERY, D. W.; SCHWARTZ, J.; KREYLING, W. G.; WICHMANN, H. E.; PETERS, A. Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. **European Respiratory Journal**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 691–702, 2002. DOI: 10.1183/09031936.02.01402001.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. **Nature**, [S. l.], v. 171, n. 4356, p. 737–738, 1953. DOI: 10.1038/171737a0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/171737a0>.

WEXSELBLATT, Ezequiel; YAVIN, Eylon; GIBSON, Dan. Cellular interactions of platinum drugs. **Inorganica Chimica Acta**, [S. l.], v. 393, p. 75–83, 2012. DOI: 10.1016/j.ica.2012.07.013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169312004458>.

WONG, Yee-Lok; MAK, Chun-Yin; KWAN, Hoi Shan; LEE, Hung Kay. Mononuclear iron(III) complexes supported by tripodal N₃O ligands: Synthesis, structure and reactivity towards DNA cleavage. **Inorganica Chimica Acta**, [S. l.], v. 363, n. 6, p. 1246–1253, 2010. DOI: 10.1016/j.ica.2009.12.039. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169309007385>.

YANG, Jing; ZHAO, Ji Xian; CAO, Qian; HAO, Liang; ZHOU, Danxia; GAN, Zhenji; JI, Liang Nian; MAO, Zong Wan. Simultaneously Inducing and Tracking Cancer Cell Metabolism Repression by Mitochondria-Immobilized Rhenium(I) Complex. **ACS Applied Materials and Interfaces**, [S. l.], v. 9, n. 16, p. 13900–13912, 2017. DOI: 10.1021/acsami.7b01764.

ZHANG, Jianyong; VITTA, Jagadese J.; HENDERSON, William; WHEATON, Jessica R.; HALL, Iris H.; HOR, T. S. And.; YAN, Yaw Kai. Tricarbonylrhenium(I) complexes of phosphine-derivatized amines, amino acids and a model peptide: structures, solution behavior and cytotoxicity. **Journal of Organometallic Chemistry**, [S. l.], v. 650, n. 1–2, p. 123–132, 2002. DOI: 10.1016/S0022-328X(02)01200-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022328X02012007>.

ZHAO, Qiang; HUANG, Chunhui; LI, Fuyou. Phosphorescent heavy-metal complexes for bioimaging. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 40, n. 5, p. 2508, 2011. DOI: 10.1039/c0cs00114g. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cs00114g>.