

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/11/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” (UNESP)

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, FÍSICO-QUÍMICA E INORGÂNICA

Ana Beatriz Lazzarini

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIPROLIFERATIVA E DA INTERAÇÃO COM O DNA DE UM NOVO
COMPOSTO DE PRATA(I) CONTENDO 1,10-FENANTROLINA E A
TIOSEMICARBAZONA DERIVADA DO CINAMALDEÍDO**

ARARAQUARA

2022

ANA BEATRIZ LAZZARINI

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIPROLIFERATIVA E DA INTERAÇÃO COM O DNA DE UM NOVO
COMPOSTO DE PRATA(I) CONTENDO 1,10-FENANTROLINA E A
TIOSEMICARBAZONA DERIVADA DO CINAMALDEÍDO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Dr. Cauê Benito Scarim

ARARAQUARA

2022

L432s

Lazzarini, Ana Beatriz

Síntese, caracterização, investigação da atividade antiproliferativa e da interação com o DNA de um novo composto de prata(I) contendo 1,10-fenantrolina e a tiossemicarbazona derivada do cinamaldeído / Ana Beatriz Lazzarini. -- Araraquara, 2022

88 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara

Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto

Coorientador: Cauê Benito Scarim

1. Câncer. 2. Quimioterapia. 3. Compostos de prata. 4. Tiossemicarbazonas.
5. DNA. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:

"SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E DA INTERAÇÃO COM O DNA DE UM NOVO COMPOSTO DE PRATA (I) CONTENDO 1,10-FENANTROLINA E A TIOSSEMICARBAZONA DERIVADA DO CINAMALDEÍDO "

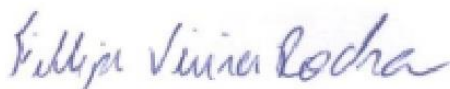
AUTORA: ANA BEATRIZ LAZZARINI**ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO****COORIENTADOR: CAUÊ BENITO SCARIM**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO (Participação Virtual)

Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. FILLIPE VIEIRA ROCHA (Participação Virtual)

Departamento de Química / Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - UFSCar - São Carlos



Prof. Dr. JOSE CLAYSTON MELO PEREIRA (Participação Virtual)

Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 12 de maio de 2022

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Ana Beatriz Lazzarini

Nome em citações bibliográficas: LAZZARINI, A. B.

Endereço profissional: Departamento de Analítica, Físico-Química e Inorgânica, Instituto de Química UNESP Araraquara.

Av. Prof. Francisco Degni, nº 55, Jardim Quitandinha, Araraquara, SP, Brasil.

CEP: 14800-900.

Endereço eletrônico: bia.lazzarini@hotmail.com / ana.lazzarini@unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2020 – 2022 Mestrado Acadêmico em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química UNESP Araraquara.

Projeto: Síntese, caracterização, investigação da atividade antiproliferativa e da interação com o DNA de um novo composto de prata(I) contendo 1,10-fenantrolina e a tiossemicarbazona derivada do cinamaldeído.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Dr. Cauê Benito Scarim

Bolsista: CNPq

2016 – 2019 Bacharelado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química UNESP Araraquara.

Projeto: Novos complexos de paládio(II) contendo tiossemicarbazonas: citotoxicidade, estudos de interação com proteínas e avaliação do potencial antitumoral.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Supervisor Científico: Renan Lira de Farias

Bolsista: PIBIC, CNPq

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2021 Estagiária à Docência na disciplina "Química Inorgânica Descritiva" do curso de Bacharelado em Química.

Docente responsável: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto.

2021 Curso de Alemão II

Centro de Línguas e Desenvolvimento de Professores (CLDP), Faculdade de Ciências e Letras (FCL), UNESP Araraquara

Carga Horária: 36h

2021 Curso de Alemão I

Centro de Línguas e Desenvolvimento de Professores (CLDP), Faculdade de Ciências e Letras (FCL), UNESP Araraquara

Carga Horária: 36h

2019 Iniciação Científica em Química Inorgânica Medicinal.

Projeto: Novos complexos de paládio(II) contendo tiossemicarbonas: citotoxicidade, estudos de interação com proteínas e avaliação do potencial antitumoral

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto.

Bolsista: PIBIC, CNPq

2019 Monitora na disciplina "Espectroanalítica" do curso de Bacharelado em Química.

Docente responsável: Prof^a Dr^a Edilene Cristina Ferreira.

2017-2018 Iniciação Científica.

Área de estudo: Espectroscopia eletrônica de compostos de coordenação: terras raras e metais da 1^a série de transição

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim.

2017 Monitora na disciplina "Química Fundamental" do curso de Bacharelado em Química.

Docente responsável: Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim.

PRÊMIOS E TÍTULOS

2021 Proficiente em inglês pelo TOEFL ITP, Educational Testing Service (CEFR level B2).

2015 Proficiente em inglês pelo First Certificate in English (FCE), Cambridge English Language Assessment (CEFR level B1).

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. **LAZZARINI, A. B.**; SAMPAIO, C. P.; GONCALVES, V. S.; NASCIMENTO, E. R. F.; PEREIRA, F. M. V.; FRANCA, V. V. Mulheres Na Ciência: papel da educação sem desigualdade de gênero. **Revista Ciência Em Extensão**, 14(2), p. 188-194, 2018.

Apresentação de trabalhos em eventos científicos

1. **LAZZARINI, A. B.**; LIMA, A. A.; ZANETTI, R. D.; NETTO, A. V. G. Synthesis, characterization, and DNA binding studies of cinnamaldehyde thiosemicarbazone silver(I) complex. 2022. (8th Latin American Symposium on Coordination and Organometallic Chemistry).
2. CARLO, D. M.; **LAZZARINI, A. B.**; RIBEIRO, C. M.; PAVAN, F. R.; OLIVEIRA, A. B.; NETTO, A. V. G.; FARIAS, R. L.; MOREIRA, M. B. In vitro anti-MTB activity of Zinc (II) thiosemicarbazone complexes, and their interactions with DNA. 2022. (8th Latin American Symposium on Coordination and Organometallic Chemistry).
3. **LAZZARINI, A. B.**; FARIAS, R. L.; SILVA, D. E. S.; PEREIRA, J. C. M.; NETTO, A. V. G. Novo complexo de Pd(II) contendo ligante quelante k^2N,S -doador tiossemicarbazona e trifenilfosfina: ensaio antiproliferativo e estudos de interação de ligação com DNA/HSA. 2019. (XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP).
4. **LAZZARINI, A. B.**; CASTRO, P. R.; BIM, L. F. B.; CEBIM, M. A. Energy transfer in trivalent europium diphenylphosphinate matrix associated with a B-diketone ligand. 2018. (41ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)).

Traduções

1. **LAZZARINI, A. B.**; SILVA, S. F.; SOTÉRIO, C. Fontes, propriedades e aplicações do amido, 2022 (IYCN 2021).

ORGANIZAÇÃO DE EVENTOS

1. FRANCA, V. V.; **LAZZARINI, A. B.** Pint of Science Araraquara. 2019.
2. FARIA, F. A.; NASCIMENTO, E. R. F.; FRANCA, V. V.; TELES, R. S.; **LAZZARINI, A. B.** IV Mostra dos Trabalhos de Extensão da Unesp. 2017.
3. BARROSO, S.; **LAZZARINI, A. B.** Explorando e descobrindo a Matemática. 2017.

Dedico esse trabalho ao Frank, Chicão, Nina, Mel e Márcio (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida e por todas as oportunidades que me surgiram e eu tive o prazer de vivenciar; assim como a força, o ânimo e a coragem para sempre seguir em frente e ser resiliente frente a qualquer dificuldade encontrada.

À minha amada família, que me mostra, diariamente, o verdadeiro significado de amor e amizade. Em especial, ao Frank Lazzarini, que foi o nosso companheiro durante dez anos.

Ao meu querido namorado, por todo apoio, parceria e amor.

Ao Prof. Dr. Adelino V. G. Netto, pela confiança e apoio diários em todo o trabalho desenvolvido.

A todos os meus colegas de laboratório pela amizade e ajuda ao longo desses anos.

A todos os meus amigos que sempre estiveram presentes.

Ao Instituto de Química pela infraestrutura oferecida, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida (número processo 132024/2020-9).

Obrigada!

"Until you spread your wings, you'll have no idea how far you can fly."

Napoleão Bonaparte

RESUMO

O câncer, como o maior problema de saúde pública dentre as doenças não-infecciosas, resultou em 19,3 milhões de novos casos mundialmente, assim como onerou aos EUA US\$208,9 bilhões em 2020. Os metalofármacos utilizados como quimioterápicos no tratamento do câncer são limitados por resistência celular e efeitos colaterais. Uma vez que compostos à base de prata(I), assim como a coordenação de ligantes bioativos, e.g. tiossemicarbazonas e 1,10-fenantrolina, têm demonstrado destaque na Química Inorgânica Medicinal, neste trabalho, foi proposto a síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de um complexo inédito de fórmula molecular $[Ag(cTSC)(phen)]NO_3 \cdot H_2O$ (**C1**), sendo cTSC = *N*(4)-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona (**cTSC**), e phen = 1,10-fenantrolina. A caracterização foi fundamentada nas técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear com núcleo de hidrogênio (RMN 1H), ultravioleta visível (UV-Vis) e espectrometria de massas (ESI-MS), assim como por meio da análise elementar e condutividade molar. O composto mostrou-se ativo frente às linhagens tumorais humanas A549 (pulmão), MCF-7 (mama) e A2780cis (ovário), enquanto o ligante **cTSC** não apresentou atividade antiproliferativa nas mesmas condições. Ademais, ao comparar com estudos da literatura, propõe-se que o fragmento tiossemicarbazona seja o grupo farmacofórico do composto inorgânico. Além disso, pela elevada atividade antiproliferativa em células resistentes à cisplatina, sugere-se que o mecanismo de ação de **C1** seja divergente ao reportado para o metalofármaco de platina(II). Por meio dos ensaios de titulação espectrofotométrica, **C1** apresentou 6% de hipocromismo na presença de *ct*-DNA em comprimento de onda fixo em 360 nm. O complexo metálico suprimiu 72% da fluorescência do Hoechst33258-DNA e 11% do TO-DNA. Por fim, por meio do dicróismo circular, percebeu-se que **C1** não altera de forma significativa ambas as bandas positiva e negativa do DNA quando a relação entre as concentrações do complexo para a biomacromolécula variam entre 0 e 0,2. Entretanto, em razões de 0,3 a 0,4, **C1** consegue potencializar a interação de empilhamento π do DNA, sem proporcionar a transição da forma B para as formas A ou Z. Em suma, propõe-se que a interação entre o complexo metálico inédito e o DNA seja de natureza fraca.

Palavras-chave: câncer; quimioterapia; compostos de prata; tiossemicarbazonas; DNA.

ABSTRACT

Cancer is the leading non-infectious health problem and resulted in 19.3 million new cases worldwide and US\$208.9 billion in USA during 2020. The commonly used metalopharmaceuticals in cancer therapy have some limitations, e.g. cell resistance and side effects. Silver(I)-based complexes as well as coordinating bioactive ligands, such as thiosemicarbazones and 1,10-phenanthroline, have demonstrated interest in Medicinal Inorganic Chemistry. In this work, it is described the synthesis, characterization, and antiproliferative activity evaluation of a novel metal complex with chemical formula $[Ag(ctTSC)(phen)]NO_3 \cdot H_2O$ (**C1**), in which ctTSC = *trans*-cinnamaldehyde-*N*(4)-ethyl-thiosemicarbazone (**ctTSC**), and phen = 1,10-phenanthroline. The techniques used for characterization were infrared (IR), magnetic nuclear resonance (NMR 1H), visible ultraviolet (UV-Vis), mass spectrometry (ESI-MS), elemental analysis, and molar conductivity. **C1** showed great antiproliferative activity towards the human tumour cell lines A549 (lung), MCF-7 (breast), and A2780cis (ovarian; resistant to cisplatin), whilst **ctTSC** was biologically inactive in same conditions. Moreover, it is proposed that the thiosemicarbazone moiety is the pharmacophore group of the metal complex. It is also suggested that **C1** overcomes the cisplatin resistance mode of action in A2780cis cell line. Spectroscopy studies reveal that **C1** exhibits 6% of hypochromism, and no significant red/blue shift in 360 nm in the presence of increasing amounts of ct-DNA. Competitive binding assays indicate that the silver(I) complex quenched 72% of Hoechst33258-DNA and 11% of TO-DNA. By means of circular dichroism, **C1** does not significantly change both positive and negative DNA signals when the relationship between the concentrations of the metal complex and biomacromolecule ranges from 0 to 0.2. In contrast, when the relationship is 0.3 - 0.4, **C1** increases π - π^* stacking base pair, with no alteration in B-DNA form to A-DNA or Z-DNA. In summary, it is proposed that **C1** interacts weakly with DNA.

Keywords: cancer; chemotherapy; silver-based compounds; thiosemicarbazones; DNA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplos de agentes carcinogênicos.	22
Figura 2 – Ônus estimado em 2015 e 2020 em função de cada tipo de câncer nos EUA.	24
Figura 3 - Exemplos de compostos à base de platina(II) aprovados para uso clínico.	26
Figura 4 – Mecanismo de ação geral da cisplatina e seus análogos de Pt(II).	27
Figura 5 - Comparação entre as constantes de estabilidade global para reações equivalentes de Ni(II) com ligante monodentado (Reação 1) e bidentado (2), na qual en = etilenodiamina.	29
Figura 6 – Reação hipotética de substituição de um ligante quelato (etilenodiamina) por ligantes monodentados (H ₂ O).	30
Figura 7 - Moléculas reportadas por Li et al. (2018) ³⁹	31
Figura 8 - Algumas geometrias moleculares de Ag(I).	32
Figura 9 – Complexo metálico [Ag(O ₂ CNEt ₂)] reportado por Bresciani et al. (2022) ⁴⁹	33
Figura 10 - Tautomerismo tiona-tiol de tiossemicarbazonas; R = H, alquil, aril.	36
Figura 11 – Modificações estruturais entre os compostos reportados por Silva et al. (2020) e o proposto neste trabalho ⁸¹	38
Figura 12 - Esquema geral da síntese do complexo metálico C1	41
Figura 13 - Mecanismo de reação proposto para a formação da tiossemicarbazona cinemaldeído cTSC	46
Figura 14 – Diagrama de desdobramento do campo cristalino para a Ag(I) com geometria tetraédrica.	48
Figura 15 - Espectros vibracionais na região do infravermelho para (A) o ligante tiossemicarbazona cinemaldeído (B) o complexo à base de Ag ⁺	50
Figura 16 – Reação de dissociação proposta para C1 em DMSO.	53
Figura 17 – Espectro de IES(+)-EM de C1 em uma mistura de DMSO e MetOH. ...	53
Figura 18 – Espectro experimental de IES(+)-EM de C1 na região de 512 a 532 (m/z).	54
Figura 19 - Espectro teórico proposto pela plataforma Scientific Instrument Services (SIS) by Adaptas Solutions de IES(+)-EM de C1 na região de 512 a 532 (m/z).	54

Figura 20 - Espectro de RMN ¹ H em CDCl ₃ para o ligante tiossemicarbazona cinamaldeído (cTSC).	55
Figura 21 - Espectro de RMN ¹ H em DMSO d ₆ para o complexo contendo Ag(I), phen e tiossemicarbazona cinamaldeído (C1).	57
Figura 22 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o ligante tiossemicarbazona cinamaldeído com concentração 1,25x10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em DMSO...60	
Figura 23 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo C1 em DMSO e a sua respectiva linearização segundo a Lei de Lambert-Beer.	61
Figura 24 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo C1 nos tempos de 0h, 24h e 48h em (A) DMSO (B) 80% DMSO e 20% tampão tris-HCl. ...	62
Figura 25 – Reação de redução do MTT a formazan.	63
Figura 26 – Componentes da estrutura do DNA.....	66
Figura 27 - Modos de interação entre moléculas bioativas e DNA.	68
Figura 28 - Espectro de absorção da região do UV-Vis do complexo C1 com concentração de DNA variando entre 0-60µM e a sua respectiva linearização segundo a Equação de Benesi.	70
Figura 29 – Fórmula estrutural Hoechst 33258.	71
Figura 30 - Espectro de emissão de fluorescência do Hoechst 33258-DNA com concentrações de C1 variando entre 0-60 µM.	72
Figura 31 - Fórmula estrutural Laranja de Tiazol (TO).	73
Figura 32 - Espectro de emissão de fluorescência do TO-DNA com concentrações de C1 variando entre 0-60 µM.....	74
Figura 33 - Dicroísmo Circular do DNA com relação de [C1]/[DNA] variando entre 0 a 0,4.	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de CHN% para o C1	48
Tabela 2 - Atribuição dos sinais de absorção na região do infravermelho para cTSC e C1	51
Tabela 3 – Condutividade para o complexo C1 em DMSO.	52
Tabela 4 - Atribuição dos sinais de ¹ H para o ligante cTSC	56
Tabela 5 - Atribuição dos sinais de ¹ H para o complexo C1	58
Tabela 6 – Atividade antiproliferativa do ligante cTSC e do complexo metálico C1 frente às	64
Tabela 7 – Comparação dos valores de IC ₅₀ para C1 e o composto reportado por Silva et al. ⁸¹ (3) ([Ag(phen)(L)]NO ₃ , L = 2-formilpiridina-N(4)-etil-tiossemicarbazona).....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A2780: linhagem celular de câncer de ovário
- A2780cis: linhagem celular de câncer de ovário resistente à cisplatina
- A549: linhagem celular de câncer de pulmão
- ACN: acetonitrila
- Ag(I): prata(I)
- AgCl: cloreto de prata
- AgNO₃: nitrato de prata
- b: caminho óptico
- B₀: campo magnético estático
- B₁: campo magnético induzido
- BRL-3A: linhagem celular sadia de fibroblasto de fígado
- C1: [Ag(cTSC)(phen)]NO₃.H₂O
- CD: dicroísmo circular
- CDCl₃: clorofórmio deuterado
- CO₂: dióxido de carbono
- ct-DNA: Ácido desoxirribonucleico do timo de bezerro (*calf thymus*)
- cTSC: N(4)-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona
- d: densidade
- DMSO: dimetilsulfóxido
- DMSO d⁶: dimetilsulfóxido deuterado
- DNA-A: forma A do ácido desoxirribonucleico
- DNA-B: forma B do ácido desoxirribonucleico
- DNA-Z: forma Z do ácido desoxirribonucleico
- DU-145: linhagem celular de câncer de próstata
- ESI-MS: espectrometria de massas com ionização por electrospray
- EROs: espécies reativas de oxigênio
- H₂O: água
- H33258: Hoechst 33258
- Hep-G2: linhagem celular de câncer de fígado
- Hepa1-6: linhagem celular de câncer de fígado murino
- HeLa: linhagem celular de câncer cervical
- HOMO: orbital molecular ocupado de maior energia

HSAB: teoria ácido-base de Pearson

HT-29: linhagem celular de câncer colorretal

IC₅₀: concentração inibitória de 50% da viabilidade celular

IS: índice de seletividade

IV: infravermelho

KBr: brometo de potássio

LUMO: orbital molecular desocupado de menor energia

m/z: relação massa-carga

MCF-7: linhagem celular de câncer de mama

MDA-MB-231: linhagem celular de câncer de mama triplo negativo

MRC-5: linhagem celular sadia de fibroblasto de pulmão

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil brometo de tetrazolio

N₂: nitrogênio molecular

NaCl: cloreto de sódio

NC: número de coordenação

NH₃: amônia; ligante amin

NHDF: linhagem celular sadia de fibroblastos dérmicos

NO₃⁻: nitrato

phen: 1,10-fenantrolina

Pd(II): paládio(II)

PNT-2: linhagem celular sadia de próstata

PPh₃: trifenilfosfina

Pt(II): platina(II)

RMN ¹H: ressonância magnética nuclear de núcleo de hidrogênio

RNA: ácido ribonucleico

RR: ribonucleotídeo redutase

TO: Laranja de Tiazol

Top: topoisomerase

TrxR: tiorredoxina redutase

TSC: tiossemicarbazona

UV-Vis: ultravioleta-visível

ΔE: diferença de energia

ε: coeficiente de absorvidade molar

λ: comprimento de onda

δ (IV): deformação angular no plano

δ (RMN): deslocamento

ν : estiramento

τ : título

Λ_m : condutividade molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	Câncer.....	22
1.2	Quimioterápicos à base de platina(II).....	25
1.3	Oportunidades no desenvolvimento de novos metalofármacos.....	28
1.4	Modulação da atividade biológica de complexos metálicos por meio de ligantes bioativos: Tiossemicarbazonas.....	35
1.5	Hipótese.....	37
2	OBJETIVOS	39
2.1	Objetivo Geral	39
2.2	Objetivos Específicos.....	39
3	METODOLOGIA	40
3.1	Instrumentação	40
3.2	Síntese	40
3.3	Caracterização	42
3.4	Estudos de estabilidade em solução	42
3.5	Ensaio biológico	42
3.5.1	Avaliação da atividade antiproliferativa.....	42
3.5.2	Ensaio de Interação com DNA.....	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1	Química.....	45
4.2	Caracterização.....	48
4.2.1	Análise Elementar	48
4.2.2	Infravermelho	49
4.2.3	Condutividade	52

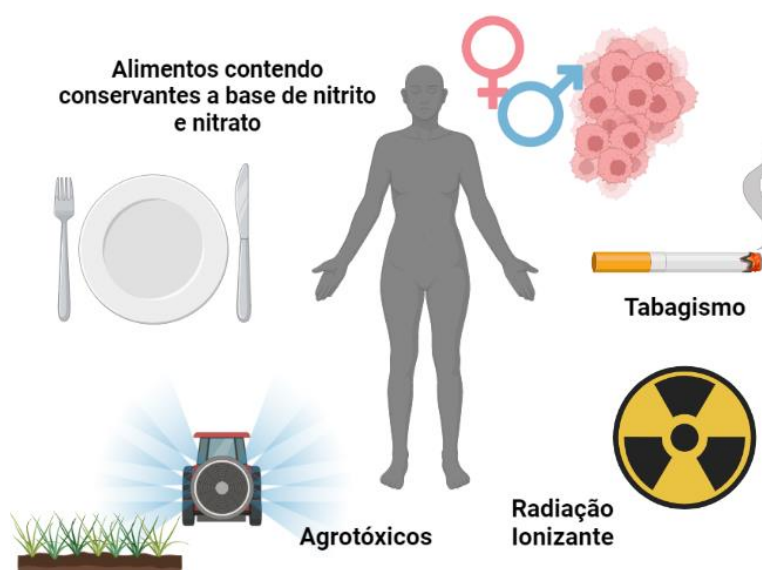
4.2.4 Espectrometria de Massas	53
4.2.5 RMN ¹H	54
4.2.6 UV-Vis	59
4.2.7 Estudos de Estabilidade em Solução	62
4.3 Ensaios Biológicos	63
4.3.1 Avaliação da atividade antiproliferativa	63
4.3.2 Ensaios de Interação com DNA	65
4 CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

A mutação de um gene, especialmente os que apresentam a função de crescimento e replicação celular, pode acarretar na reprodução desordenada de células e, conseqüentemente, em uma série de doenças, as quais são denominadas câncer ¹⁻⁵. A disposição de um indivíduo apresentar um quadro clínico de câncer é diretamente proporcional aos hábitos e alimentos introduzidos na rotina do mesmo, uma vez que aumentam a frequência de exposição a agentes carcinogênicos e a probabilidade dos mesmos resultarem em uma mutação genética ^{3; 6; 7}. Destacam-se como fatores que potencializam a formação de tumores o tabagismo, a exposição ao amianto e à radiação ionizante, o consumo de alimentos contendo conservantes à base de nitrito e nitrato, assim como agrotóxicos (Figura 1) ^{2; 6}.

Figura 1 – Exemplos de agentes carcinogênicos.



Fonte: Autor; criado com BioRender.com.

O processo de carcinogênese, isto é, o desenvolvimento de um tumor, engloba as etapas de iniciação, promoção e progressão. O agente carcinogênico entra em contato com células sadias e promove uma mutação (iniciação). O contato frequente de células iniciadas com agentes oncopromotores pode promover tais células a malignas (promoção). Por fim, as células malignas multiplicam-se em alta velocidade,

resultando no câncer (progressão) ⁸. Quando células tumorais se espalham para partes do organismo as quais se diferenciam da sua origem, tem-se a metástase ⁵.

O câncer é o maior problema de saúde pública dentre as doenças não-infecciosas ^{9; 10}. A Ásia é o continente com maior número de óbitos devido ao câncer (58,3%), seguido pela Europa (19,6%) ^{11; 12}. Dentre os tipos de câncer que são mais incidentes na população global, destacam-se o câncer de mama e de pulmão com mais de 2 milhões de novos casos em 2020, correspondendo, respectivamente, a 11,7% e 11,4% de todos os 19,3 milhões de novos casos reportados no ano ^{11; 12}. Ademais, foram reportados, durante o mesmo período, 2,5% de novos casos de câncer de ovário e 30,3% de câncer de mama na população feminina brasileira ¹¹.

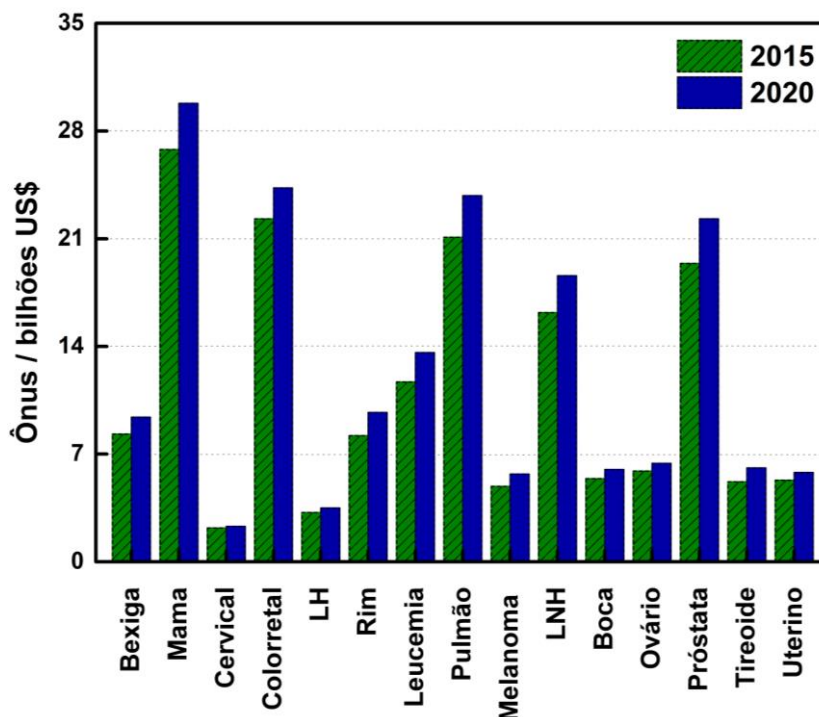
De acordo com Sung *et al.*¹², em 2040, a incidência de câncer a âmbito global terá um aumento de 47% dos novos casos reportados em 2020, assim como segundo a World Health Organization (WHO), no Brasil, haverá 133.118 casos de câncer de mama e 68.429 de câncer de pulmão, representando, nessa ordem, um aumento de 55% e 98% dos casos de 2018 ¹³. Por sua vez, conforme estimativas da American Cancer Society e Siegel *et al.*⁹, aproximadamente 1.700 habitantes dos Estados Unidos da América (EUA) irão a óbito diariamente em 2022 devido ao câncer ⁴.

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) tem, como hipótese, que o aumento da incidência de câncer ao longo dos anos deve-se ao incremento da densidade demográfica e da longevidade da população, assim como a diferente relação e distribuição entre os indivíduos e agentes carcinogênicos ^{10; 13}. De forma geral, o organismo elimina as células que foram danificadas durante a etapa de iniciação, contudo, essa habilidade natural sofre decréscimo devido à senescência, ou seja, a eliminação dessas células que podem originar tumores, em indivíduos idosos, tende a ocorrer de forma menos efetiva em relação à população mais jovem ^{2; 5}. Ressalta-se também que essa parcela de indivíduos apresenta um maior acúmulo de exposição a agentes carcinogênicos, justificando assim a alta incidência de câncer na população idosa ².

Ademais ao câncer ser um problema de saúde pública, ele também corresponde a um problema econômico, onerando aos EUA, aproximadamente, US\$208,9 bilhões em 2020, o que equivale a um aumento de 10% do ônus de 2015 (US\$190,2 bilhões) ¹⁴. Na Figura 2, encontram-se os custos estimados com cada tipo de câncer nos EUA

em 2015 e 2020. Percebe-se que o maior custo associado ao câncer se deve ao câncer de mama, com valor equivalente a US\$29,8 bilhões em 2020.

Figura 2 – Ônus estimado em 2015 e 2020 em função de cada tipo de câncer nos EUA.



Fonte: Autor; dados disponibilizados por National Cancer Institute ¹⁴.

Uma vez que o quadro clínico de câncer, assim como o próprio tratamento da doença, estão associados a alterações no sistema imunológico, indivíduos nessas condições apresentam uma maior probabilidade de adquirir formas mais severas de outras doenças, como por exemplo infecções ¹⁵. A doença infecciosa COVID-19, cuja origem deve-se ao vírus SARS-CoV-2, reflete diretamente nos pacientes que têm câncer, posto que estes pertencem ao grupo de risco da doença ^{16; 17}. Da mesma forma, outra influência direta da pandemia mundial do coronavírus iniciada em 2020 foi o atraso no tratamento de pacientes com câncer, seja em função da restrição de acesso a alguns ambientes ou do medo enfrentado pelo indivíduo em contrair a infecção ⁹. Como consequência, estima-se que haja um aumento na incidência de casos em estágio mais avançado e de óbitos devido ao câncer ⁹.

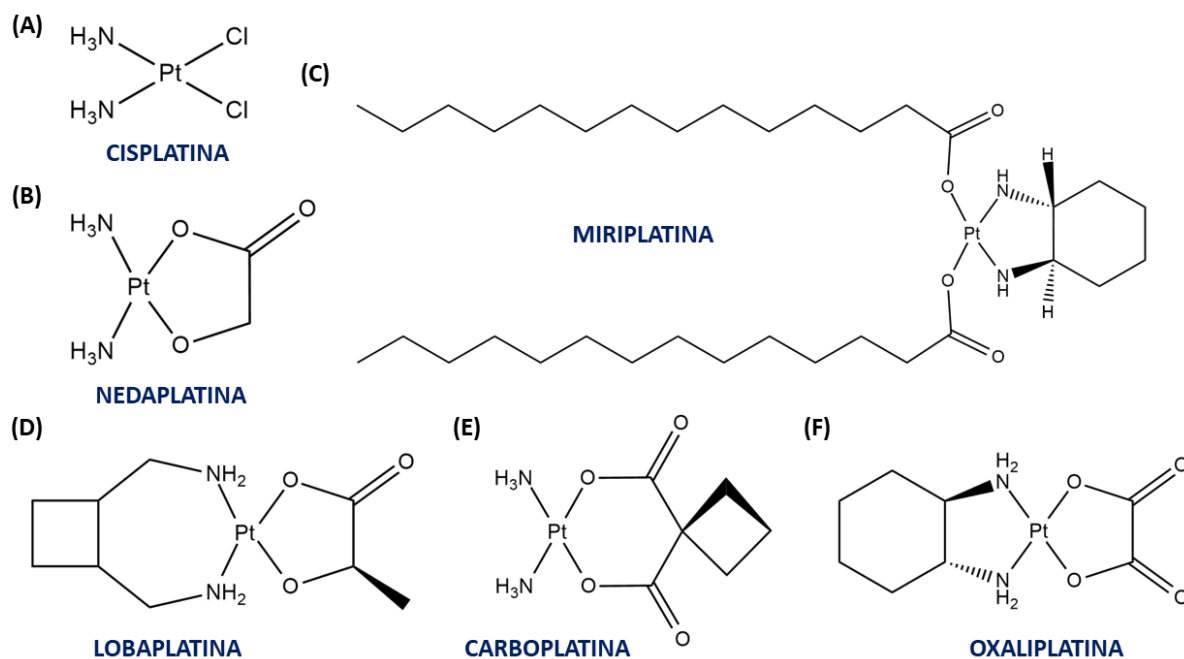
O tratamento de pacientes que apresentam quadro clínico de câncer é fundamentado em cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia ^{2; 18}. Em 50% dos tratamentos de quimioterapia, utilizam-se fármacos à base de platina(II) como quimioterápicos ^{19; 20}. Tal família engloba a cisplatina e seus análogos, denominados compostos de 2ª e 3ª geração, e.g. carboplatina e oxaliplatina ^{19; 21; 22}.

1.2 Quimioterápicos à base de platina(II)

A *cis*-diaminobiscloridoplatina(II), isto é, a cisplatina (Figura 3A) foi primeiramente sintetizada em 1845, porém só teve suas propriedades biológicas determinadas em 1965 por Barnett Rosenberg na Universidade Estadual de Michigan, localizada nos EUA ^{19; 20; 23; 24}. Em suma, foi determinado que a divisão celular de uma cultura de *Escherichia coli* era diretamente afetada em função de um sistema submetido a uma corrente elétrica contendo eletrodos de platina e uma solução de íons cloreto e amônio, ^{20; 24; 25}. Após dois anos, foi proposto que a atividade antibacteriana se deve à formação do composto de fórmula molecular *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] ²⁴. Como consequência à descoberta, os efeitos antitumorais da cisplatina foram estudados e, posteriormente reportados ²⁴. Aprovou-se o uso do complexo metálico para fins clínicos em 1978 nos EUA e em 1979 na União Europeia ^{26; 27}.

Motivados pelos resultados antitumorais obtidos com a cisplatina, diversos complexos metálicos à base de platina(II) foram desenvolvidos e aprovados como antineoplásicos ao redor do mundo. Tais moléculas são conhecidas como compostos de 2ª e 3ª geração. Destacam-se a nedaplatina e a miriplatina no Japão, a lobaplatina na China, e a carboplatina e a oxaliplatina a âmbito global (Figura 3B-F) ^{19; 22; 23; 26}. Todas essas espécies compartilham de mesma geometria quadrático-planar, com os ligantes orientados em forma *cis* ²¹.

Figura 3 - Exemplos de compostos à base de platina(II) aprovados para uso clínico.



Fonte: Autor.

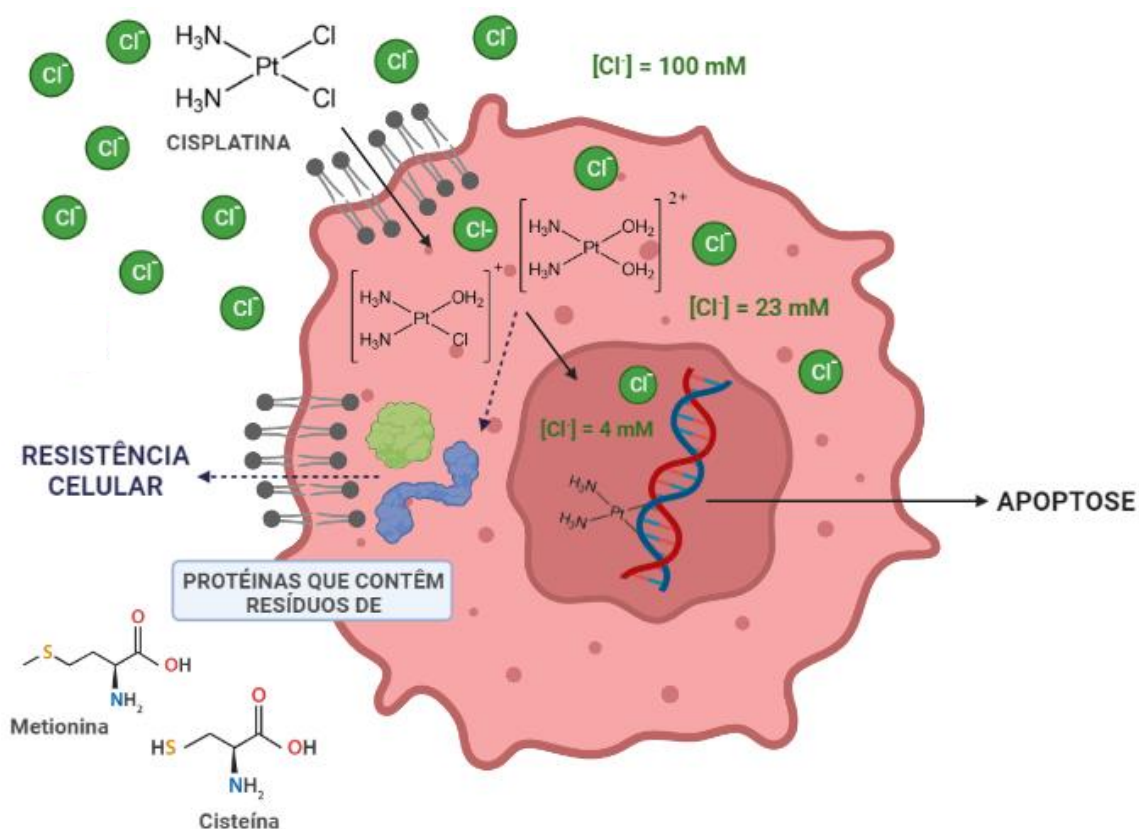
A cisplatina e seus análogos de 2^a e 3^a geração compartilham de similares mecanismos de ação no organismo (Figura 4) ¹⁹. A cisplatina se mantém íntegra em ambientes que contém altas concentrações de cloreto, assim como no meio extracelular ($[Cl^-]_{extracelular} \approx 100 \text{ mM}$), portanto, nessas condições, sua carga líquida é zero (molécula neutra) ^{20; 28}. Dessa forma, quando a espécie de Pt(II) não é desativada ao interagir fortemente com proteínas presentes no plasma sanguíneo, e.g. albumina do soro humano (HSA), a mesma apresenta a capacidade de adentrar a membrana celular ^{20; 22}. Por sua vez, o meio intracelular apresenta baixa concentração de íons cloreto ($[Cl^-]_{citoplasma} \approx 23 \text{ mM}$; $[Cl^-]_{núcleo} \approx 4 \text{ mM}$), favorecendo a reação de aquação da cisplatina, seja pela substituição dos grupos lábeis Cl^- por uma ou duas moléculas de água ^{20; 22; 23; 27}. Para os complexos análogos à cisplatina, o grupo carboxilato apresenta maior labilidade em relação ao grupo amin ²².

Como consequência à mono ou dissustituição dos ligantes cloreto pela água, os complexos metálicos catiônicos resultantes, $[PtCl(H_2O)(NH_3)_2]^+$ e $[Pt(H_2O)_2(NH_3)_2]^{2+}$, apresentam atração por moléculas altamente nucleofílicas, como pode ser exemplificado por peptídeos e proteínas que contém resíduos de aminoácidos à base

de enxofre (e.g. cisteína e metionina) ^{21; 22}. A interação com tais espécies caracterizam alguns dos mecanismos de resistência celular.

O principal alvo biológico da cisplatina e seus análogos é o poliânion DNA ^{20; 21; 22}. Entretanto, estima-se que apenas 1% da cisplatina que adentrou o meio intracelular consiga de fato interagir com a dupla hélice ^{20; 27}. Dentre os diversos possíveis modos de interação entre os complexos e o DNA, destaca-se que, em 60-65% dos casos, ocorre a descoordenação dos grupos aqua e a subsequente formação da ligação cruzada 1,2-intrafitita via nitrogênio (N7) da guanina ^{20; 21; 29; 30}. Tal átomo apresenta superior nucleofilicidade e, conseqüentemente, reatividade em comparação aos respectivos átomos de nitrogênio das demais bases nitrogenadas, favorecendo dessa forma, o ataque nucleofílico ao centro metálico de Pt(II) ²⁰. Como consequência à reação, há uma alteração na conformação do DNA, acarretando a inviabilidade de replicação celular e, por fim, levando a célula à apoptose ^{19; 22; 30; 31}.

Figura 4 – Mecanismo de ação geral da cisplatina e seus análogos de Pt(II).



Fonte: Autor; criado com BioRender.com.

Entretanto, em oposição aos benefícios atrelados à atividade antitumoral apresentada pelos complexos de Pt(II) aprovados para uso clínico, os mesmos também interagem com as células saudáveis^{22; 32}. Uma vez que apresentam baixo índice de seletividade (IS), pacientes que são tratados com tais quimioterápicos, em geral, manifestam alguns efeitos colaterais, como por exemplo náusea, vômito, nefrotoxicidade (toxicidade renal), neurotoxicidade (toxicidade neurológica), hepatotoxicidade (toxicidade nos rins), mielossupressão (toxicidade na medula óssea) e ototoxicidade (toxicidade auditiva)^{20; 22; 30-34}. Ressalta-se que o aumento da labilidade do grupo de saída, tal como clorido e carboxilato, é diretamente proporcional à respectiva reatividade do composto no organismo e a consequente toxicidade²². Ademais, a resistência celular, seja intrínseca ou adquirida, faz com que haja uma limitação na eficiência dos fármacos como agentes antitumorais^{21; 22; 31}.

Motivados pela necessidade do desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos, em 2017, aprovou-se na União Europeia o uso comercial da padeliporfina (Tookad®), cuja estrutura contém o centro metálico de paládio(II)³⁵. Contudo, o fotossensibilizador é restrito ao câncer de próstata de baixo risco³⁵. Problemas relacionados à urina (e.g. incontinência urinária e dor), assim como disfunção erétil, aumento do número de enzimas hepáticas no fígado, e alterações na frequência cardíaca são exemplos de efeitos colaterais atrelados ao tratamento com o complexo metálico e que afetam 25% dos pacientes³⁵. Salienta-se que a Agência Europeia de Medicamentos reportou que tais efeitos colaterais foram observados principalmente quando se utilizou de fibras ópticas durante a terapia fotodinâmica³⁵.

Portanto, face ao exposto, percebe-se a urgência no desenvolvimento de novos compostos que apresentem atividade antitumoral e que possam ser utilizados como agentes antineoplásicos, sobretudo em células que apresentem resistência celular aos fármacos comercializados.

1.3 Oportunidades no desenvolvimento de novos metalofármacos

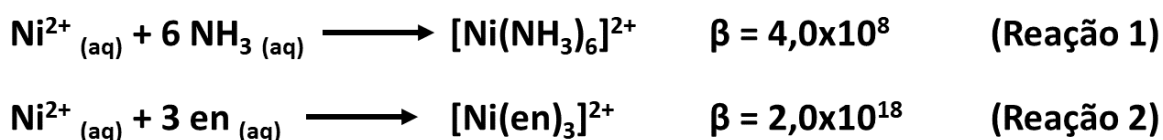
Percebe-se um crescente destaque na Química Inorgânica Medicinal almejando novos compostos bioativos. Estima-se que, anualmente, haja um investimento superior a US\$1 bilhão/ano pela Indústria Farmacêutica para tal fim, especialmente

tendo em vista compostos com maior eficácia e índice de seletividade, isto é, resultando em menos efeitos colaterais ²⁹.

Percebe-se a importância na utilização de átomos doadores de densidade eletrônica que formem ligações termodinamicamente fortes com o centro metálico. Da mesma forma, a utilização de uma espécie que pode se coordenar em quelato pode ser de grande valia a fim de modular a cinética de troca de ligantes de um centro metálico lábil. Nesse caso, tem-se os efeitos quelato cinético e termodinâmico.

O efeito quelato termodinâmico deve-se ao aumento entrópico do sistema e a consequente maior estabilidade termodinâmica do produto formado quando um agente quelante complexa ao centro metálico em comparação a um ligante monodentado ^{36; 37}. A fim de melhor esclarecimento, observa-se as reações ilustradas na Figura 5, na qual a constante de estabilidade global da reação contendo o ligante quelante etilenodiamina é 10^{10} vezes superior em comparação ao complexo equivalente contendo um ligante monodentado (NH_3) ³⁶. Logo quanto maior for a constante de equilíbrio de uma reação, pois mais termodinamicamente estável é o produto resultante em relação aos reagentes ³⁶.

Figura 5 - Comparação entre as constantes de estabilidade global para reações equivalentes de Ni(II) com ligante monodentado (Reação 1) e bidentado (2), na qual en = etilenodiamina.

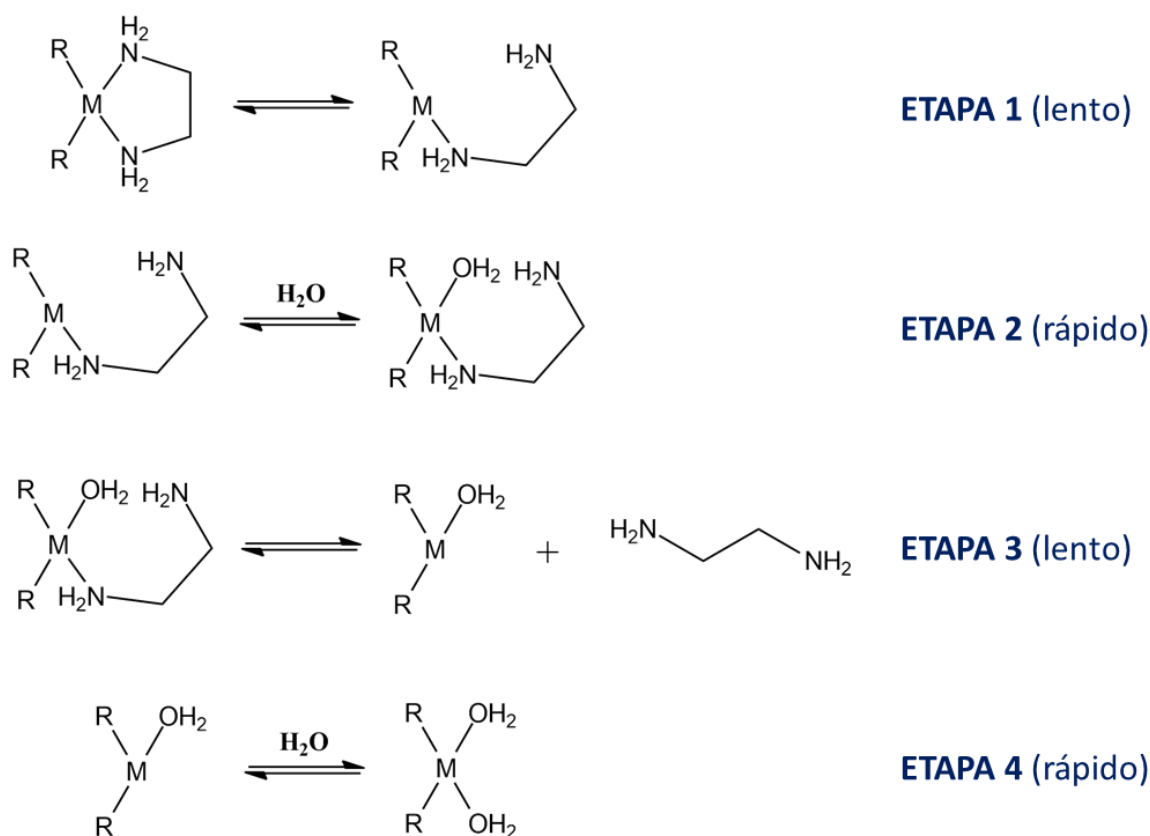


Fonte: Adaptado de Rodgers (2018) ³⁶.

Por sua vez, para compreender de maneira mais clara o efeito quelato cinético, compara-se a cinética de substituição de um ligante quelato coordenado com a de um ligante monodentado nas mesmas condições. Para um ligante quelato, a reação ocorre mais lentamente devido à energia necessária para retirar o primeiro átomo coordenado e à possibilidade de reversão da etapa 1 (Figura 6) com a religação do mesmo ao centro metálico, uma vez que o metal e o primeiro átomo descoordenado estão próximos um ao outro, acarretando na diminuição da barreira energética

necessária para que haja novamente a formação da ligação coordenada entre ambos em comparação se fosse um ligante monodentado ³⁸. Com isso, é necessário que, no exemplo ilustrado na Figura 6, após descoordenação do átomo de nitrogênio da etilenodiamina na etapa 1, o ligante consiga rotacionar visando afastar o grupo -NH₂ livre do metal, visando diminuir a probabilidade de recoordenação. Também vale ressaltar a baixa cinética da etapa 3, visto que o intermediário se encontra em baixa concentração e a alta probabilidade já mencionada da primeira etapa de ocorrer no sentido inverso. Em função do arcaço molecular de cada sistema, o efeito quelato cinético apresenta potencial de diminuir a velocidade de substituição do ligante quelato por uma molécula de água (reação de aquação) por fatores de 20 a 10⁵.

Figura 6 – Reação hipotética de substituição de um ligante quelato (etilenodiamina) por ligantes monodentados (H₂O).

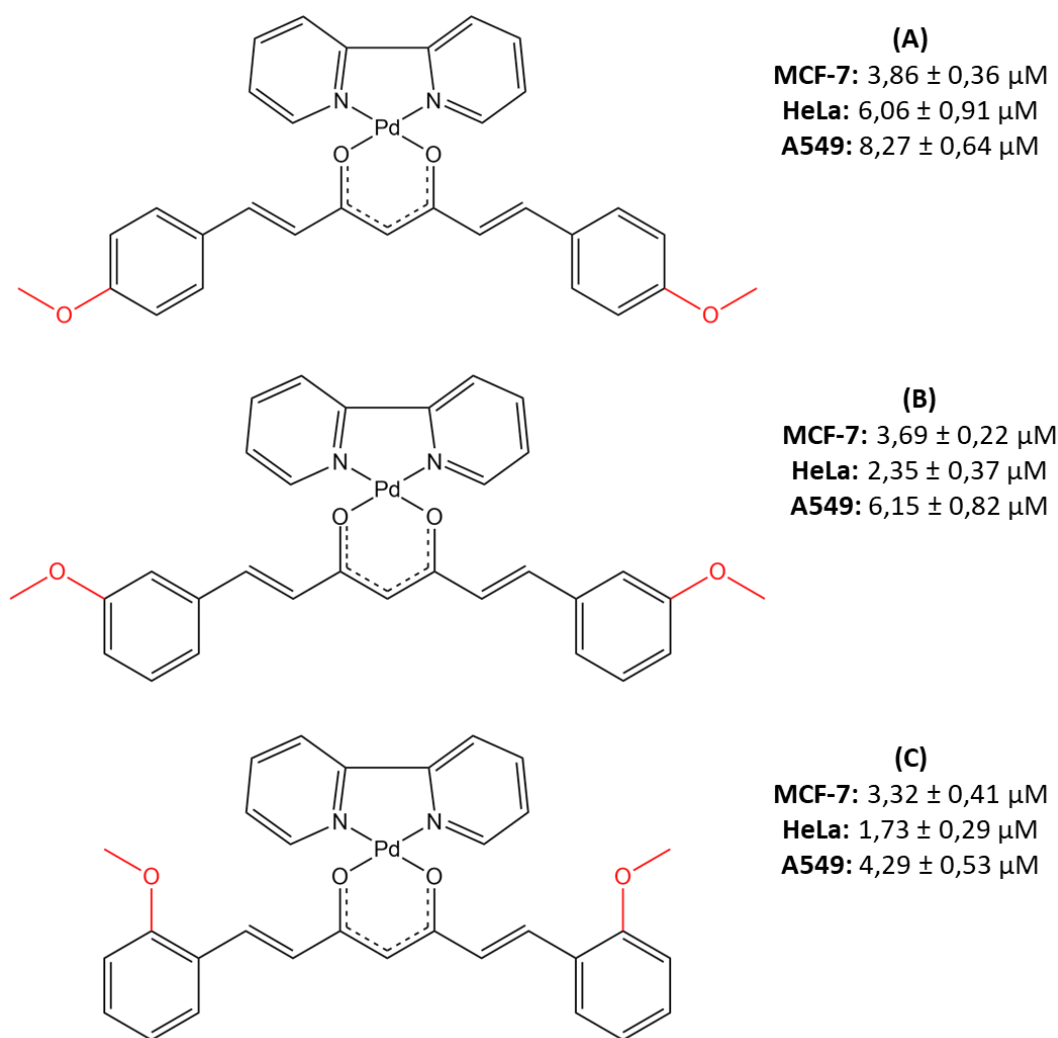


Fonte: Adaptado de Miessler; Fischer; Tarr (2014) ³⁸.

Li *et al.*³⁹ reportou três compostos inéditos contendo Pd(II) e análogos da curcumina como ligantes (Figura 7). Os complexos de fórmula geral [Pd(bipy)(BDHC-

A)]PF₆, na qual bipy = 2,2'-bipiridina e BDHC-A = derivados da curcumina, apresentaram maior atividade antiproliferativa frente às linhagens tumorais humanas MCF-7 (câncer de mama), HeLa (câncer cervical) e A549 (câncer de pulmão) com valores de IC₅₀ entre 3,32-3,86 μM, 1,73-6,06 μM e 4,29-8,27 μM, respectivamente, em relação à cisplatina (IC₅₀ MCF-7 = 19,65 μM; IC₅₀ HeLa = 16,72 μM; IC₅₀ MCF-7 = 20,10 μM)³⁹. O mecanismo de ação sugerido para a espécie de maior citotoxicidade envolve a morte celular via apoptose devido a espécies reativas de oxigênio (EROs)³⁹.

Figura 7 - Moléculas reportadas por Li *et al.* (2018)³⁹.



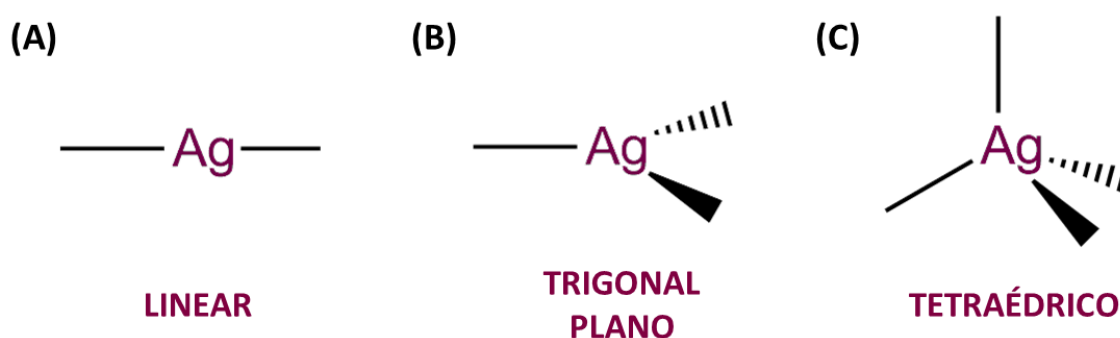
Fonte: Autor.

Em um segundo estudo descrito por Hormann e colaboradores⁴⁰, dois complexos contendo o centro metálico de cobre(II) mostraram-se altamente seletivos para o

tecido de pulmão utilizando a linhagem celular humana tumoral A549 ($IC_{50} = 1,3-1,4 \mu M$) e não-tumoral NHDF (fibroblastos dérmicos; $IC_{50} = 8,1-13,4 \mu M$). Os índices de seletividade equivalem a, aproximadamente, 6 e 10⁴⁰. É conhecido que valores de IS superiores a 3 já compreendem espécies antitumorais altamente seletivas^{41; 42; 43; 44}. Os promissores valores de seletividade são justificados pela bisintercalação seletiva no DNA em função de sequências de pares de bases específicas⁴⁰.

Destaca-se o uso da prata(I) para fins medicinais. Além da atividade antitumoral, a prata também pode ter a sua toxicidade aplicada frente a microrganismos, tais como bactérias, fungos e protozoários^{45; 46}. Mesmo a prata podendo apresentar estados de oxidação +2 e +3, os mesmos são pouco estáveis, logo complexos à base de prata tendem a conter o centro metálico de prata(I), cuja configuração eletrônica de valência é d^{10} ^{47; 48}. Como consequência a não estabilização do campo cristalino, tais compostos tendem a não apresentar preferência por determinadas geometrias moleculares⁴⁷. Alguns exemplos de geometria são, respectivamente, para os números de coordenação (NC) 2, 3 e 4, linear, trigonal plano e tetraédrico (Figura 8)⁴⁷.

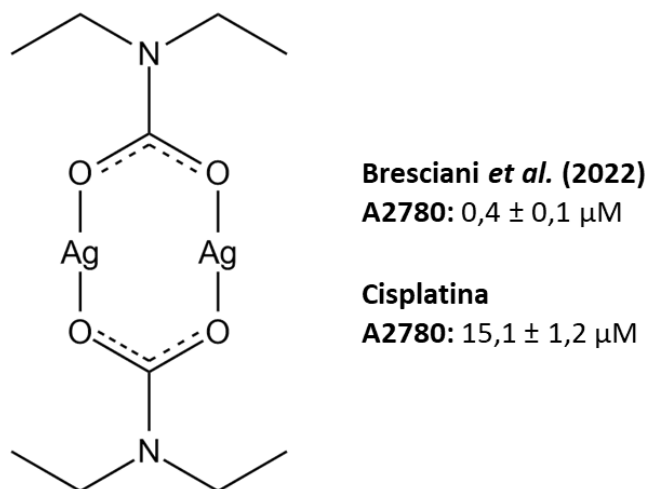
Figura 8 - Algumas geometrias moleculares de Ag(I).



Fonte: Autor.

Bresciani *et al.*⁴⁹ reportou o complexo metálico de fórmula molecular $[Ag(O_2CNEt_2)]$ (Figura 9) que apresentou IC_{50} equivalente a $0,4 \pm 0,1 \mu M$ frente à linhagem tumoral de ovário A2780. A referência foi realizada utilizando-se de cisplatina ($IC_{50} = 15,1 \pm 1,2 \mu M$)⁴⁹. O efeito citotóxico reportado corresponde à estimulação de estresse oxidativo pelo composto na célula⁴⁹.

Figura 9 – Complexo metálico $[Ag(O_2CNEt_2)]$ reportado por Bresciani *et al.* (2022) ⁴⁹.



Fonte: Autor.

O mecanismo de ação geral da $Ag(I)$ para células tumorais ainda não foi totalmente elucidado, porém é reportado que pode ser fundamentado na inibição da replicação celular e consequente apoptose via interação com ácidos nucleicos presentes no DNA e RNA; na morte celular devido a espécies reativas de oxigênio (EROs); e na desnaturação de proteínas e enzimas em função de fortes interações formadas entre o centro metálico e grupos altamente nucleofílicos, tais como fosfato, hidroxila, carboxilato, amina e tiol ^{45; 50; 51}.

A principal desvantagem associada à utilização da prata(I) para fins medicinais deve-se a sua fácil dissociação em meio biológico e a sua consequente precipitação na forma de sal, e.g. $AgCl$ ^{52; 53}. Em contrapartida, como principais vantagens, as células apresentam baixa resistência celular frente aos compostos de $Ag(I)$, assim como baixa toxicidade em células sadias ^{50; 52}. Ademais, em oposição à atividade bacteriana, a qual pode envolver a ruptura da membrana celular, tal efeito não ocorre em células de mamíferos ⁵².

A baixa citotoxicidade em células sadias está diretamente atrelada a cinética lenta de liberação do cátion $Ag(I)$ a partir de complexos metálicos ^{53; 54}. Para que tal liberação seja lenta, uma estratégia engloba a utilização de ligantes polidentados que estabeleçam ligações fortes entre o centro metálico e o ligante. Segundo a teoria ácido-base de Pearson (HSAB), para ácidos macios, tais como $Ag(I)$, ligações mais

estáveis ocorrem, preferencialmente, na presença de bases macias, tais como fósforo, nitrogênio e enxofre ⁵⁵. Dentre os três átomos, espera-se que o nitrogênio seja a base mais dura. Entretanto, quando apresenta hibridização sp^2 , assim como o nitrogênio imínico de uma base de Schiff, o orbital hibridizado tem maior polarizabilidade em comparação ao orbital hibridizado sp^3 , devido a maior contribuição percentual do orbital s. Como consequência, o nitrogênio se torna uma base de caráter intermediário e, dessa forma, consegue formar ligações fortes e termodinamicamente mais estáveis com centros metálicos como Ag(I).

Em 2022, Varna *et al.*⁵⁶ reportou o complexo $[Ag(dmp2SH)(PPh_3)_2]NO_3$ contendo um ligante quelante (4,6-dimetilpirimidina-2-tiol = dmp2SH) coordenado via átomos de enxofre e nitrogênio. A espécie apresentou elevada citotoxicidade frente às linhagens tumorais HeLa ($IC_{50} = 0,75 \pm 0,01 \mu M$) e MCF-7 ($IC_{50} = 1,27 \pm 0,03 \mu M$) ⁵⁶. Por sua vez, Almeida *et al.*⁵⁷, descreveu dois ligantes *N,O*-doadores biologicamente inativos ($IC_{50} > 50 \mu M$) e quatro novas espécies de Ag(I) que, em geral, demonstraram serem mais ativas que a cisplatina para as linhagens MDA-MB-231 (câncer de mama triplo negativo), MCF-7, DU-145 (câncer de próstata), e PNT-2 (não-tumoral de próstata) com valores de IC_{50} equivalentes a, nessa ordem, 1,68 - 8,40 μM , 2,46 - 3,63 μM , 2,73 - 16,0 μM , e 2,55 - >50 μM , enquanto que IC_{50} cisplatina = 67,00 \pm 1,06 μM (MDA-MB-231); 19,90 \pm 4,20 μM (MCF-7); 15,0 \pm 1,40 μM (DU-145); 11,74 \pm 1,20 μM (PNT-2). Já Thati e colaboradores⁵⁸ estudaram a capacidade antitumoral do complexo $[Ag(hnc)(phen)_2]$ (hnc = 4-hidroxi-3-nitro-cumarina; phen = 1,10-fenantrolina), tendo como resultado o aumento da atividade antiproliferativa ($IC_{50} = 3,8 \pm 1,4 \mu M$) em relação ao ligante livre hncH ($IC_{50} = 220 \pm 2,8 \mu M$). A cisplatina apresentou valor de IC_{50} equivalente a 15,0 \pm 2,65 μM ⁵⁸. A linhagem celular humana utilizada foi referente ao câncer de fígado (Hep-G2) ⁵⁸.

A 1,10-fenantrolina (phen) e seus análogos são moléculas orgânicas heterocíclicas que têm mostrado promissora atividade biológica, em especial, quando coordenadas a um centro metálico e aplicadas para fins medicinais ^{58; 59}. Sua estrutura planar e a consequente facilidade em intercalar por entre os pares de bases nitrogenadas do DNA, assim como a capacidade em atuar como um ligante quelante na presença de centros metálicos compreendem algumas das propriedades atreladas a tal grupo e que favorecem a sua utilização em sistemas biológicos ^{60; 61}. Ademais, além da intercalação, outro possível modo de interação entre complexos metálicos

contendo o grupo phen e a biomacromolécula é por meio de interações hidrofóbicas com o sulco menor ⁶².

Como exemplo, Thornton e colaboradores⁶³ descreveu um composto inorgânico de fórmula $[Ag_2(phen)_3(udda)] \cdot 3H_2O$, sendo udda = ácido undecanóico. O composto foi ativo frente à linhagem tumoral humana MCF-7, com IC_{50} equivalente a $6,7 \pm 0,40 \mu M$ após 24h e $0,88 \pm 0,16 \mu M$ após 96h. Por sua vez, para a cisplatina e o ligante livre phen em 24h, tem-se respectivamente $IC_{50} = 19,6 \pm 1,44 \mu M$ e $IC_{50} = 43,6 \pm 4,05 \mu M$ ⁶³. Propôs-se que a interação da espécie inédita e o DNA ocorra via intercalação, sem danos à fita de dupla hélice da biomacromolécula ou a formação de EROs ⁶³.

Portanto, percebe-se que a inserção de um ligante quelante bioativo no arcabouço molecular de um complexo metálico é uma estratégia favorável ao desenvolvimento de um novo metalofármaco.

1.4 Modulação da atividade biológica de complexos metálicos por meio de ligantes bioativos: Tiossemicarbazonas

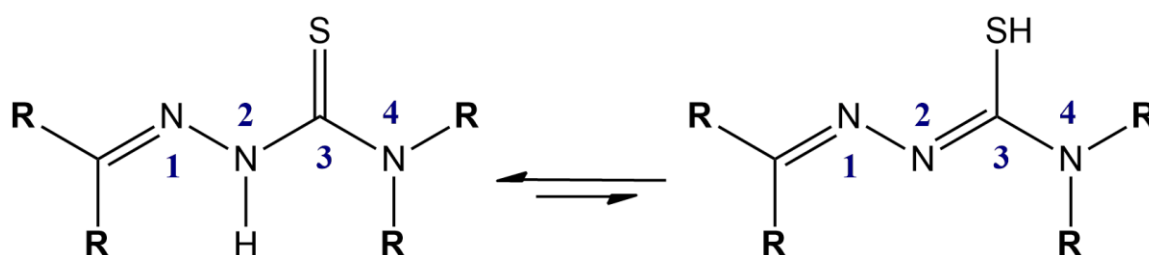
A complexação de ligantes bioativos tem-se mostrado uma estratégia promissora, uma vez que diversas propriedades do composto inorgânico formado podem ser divergentes às propriedades do ligante livre, tais como lipofilicidade, a qual resulta na diferenciação de concentração da espécie ativa que adentra o meio intracelular; possibilidade de diferentes interações com o alvo biológico em relação ao ligante livre devido à diferentes geometrias possíveis para a molécula; e a possibilidade de interação com diferentes alvos biológicos ^{64; 65}. Outra vantagem advinda da complexação é a facilidade em alterar aspectos cinéticos e termodinâmicos de uma determinada espécie por meio da escolha do centro metálico e dos ligantes ^{65; 66}. Ademais, o metal pode desempenhar diferentes funções no meio biológico, seja funcional, como ponto de conexão com o alvo biológico; estrutural, proporcionando uma conformação específica para ligar-se a biomoléculas por meio de interações não-covalentes; e transportador, no qual o metal atua apenas como carreador de ligantes ativos ⁶⁷.

As tiossemicarbazonas (TSCs) são bases de Schiff *N,S*-doadoras que apresentam atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antichagásica e antitumoral ⁶⁸⁻⁷⁴. Suas principais vantagens se devem à diversidade estrutural, pois que diferentes

grupos funcionais podem se ligar ao carbono imínico, acarretando diferentes possíveis atividades biológicas. Ademais, a facilidade e baixo custo de rota sintética são essenciais, uma vez que para que sejam sintetizadas, é necessário apenas a condensação de tiossemicarbazidas na presença de aldeídos ou cetonas ^{71; 72; 75}.

Uma característica inerente às tiossemicarbazonas é a elevada acidez do hidrogênio do fragmento hidrazínico, a qual se deve aos átomos de enxofre e nitrogênio, com ênfase no nitrogênio N2, que são retiradores de densidade eletrônica, enfraquecendo assim, a ligação N2-H_{hidrazínico}, facilitando por sua vez a desprotonação do hidrogênio em específico. Como consequência, tais moléculas apresentam tautomerismo tiona-tiol (Figura 10) em função da protonação ou desprotonação do hidrogênio hidrazínico ^{71; 75; 76}.

Figura 10 - Tautomerismo tiona-tiol de tiossemicarbazonas; R = H, alquil, aril.



Fonte: Autor.

O mecanismo de ação das tiossemicarbazonas são comumente relacionados à inibição de enzimas relacionadas à síntese e à replicação do DNA, tais como ribonucleotídeo redutase (RR) e topoisomerasas (Top) ^{77; 78}. As ações de tiossemicarbazonas no organismo podem ser moduladas por meio da complexação. Diversos estudos da literatura reportam o aumento da atividade biológica da molécula orgânica frente a diversos centros metálicos, assim como o sobrepujamento de resistência celular ^{73; 77-79}. As tiossemicarbazonas podem se coordenar via diversos modos e diversos átomos, logo são caracterizadas como ligantes monodentados, bidentados ou polidentados, em função do grupo adicional anexado ao carbono imínico ^{71; 73}.

Abdul Halim e colaboradores⁸⁰ desenvolveram cinco complexos metálicos inéditos de Ag(I) com tiossemicarbazona, demonstrando promissora citotoxicidade frente às células tumorais MDA-MB-231, HT-29 (colorretal) e MCF-7. Respectivamente, os valores de IC₅₀ variaram entre 2,55 - 4,66 µM, 2,20 – 3,11 µM, e 3,20 – 4,53 µM. Em um segundo estudo, Khan *et al.*⁷³ reportou dois complexos contendo tiossemicarbazonas atuando como ligantes em ponte via átomo de -S e cuja atividade frente à linhagem celular DU-145 é expressa em valores de IC₅₀ = 6,024 ± 0,509 µM e IC₅₀ = 6,251 ± 0,301 µM.

Por sua vez, o complexo metálico [Ag(L)(PPh₃)₂(NO₃)₂] (L = 2-acetilpiridina-*N*(4)-metil-3-tiossemicarbazona; PPh₃ = trifenilfosfina) demonstrado por Biswas *et al.*⁷⁶ apresentou seletiva atividade antiproliferativa contra células de câncer de fígado (Hepa1-6; murino) em concentração de 2 a 5 µM sem afetar as células saudáveis BRL-3A (fibroblasto de fígado) nas mesmas condições. O mecanismo de ação proposto para o composto inorgânico envolve a morte celular via apoptose⁷⁶.

Portanto, percebe-se que a complexação de ligantes bioativos, tais como phen e TSC, e que apresentem capacidade de coordenarem em quelato, assim como a utilização de um centro metálico que apresenta atividade biológica no organismo, pode resultar em um composto com elevada atividade antiproliferativa frente a células tumorais e potencialmente ser seletivo, não afetando dessa forma células saudáveis.

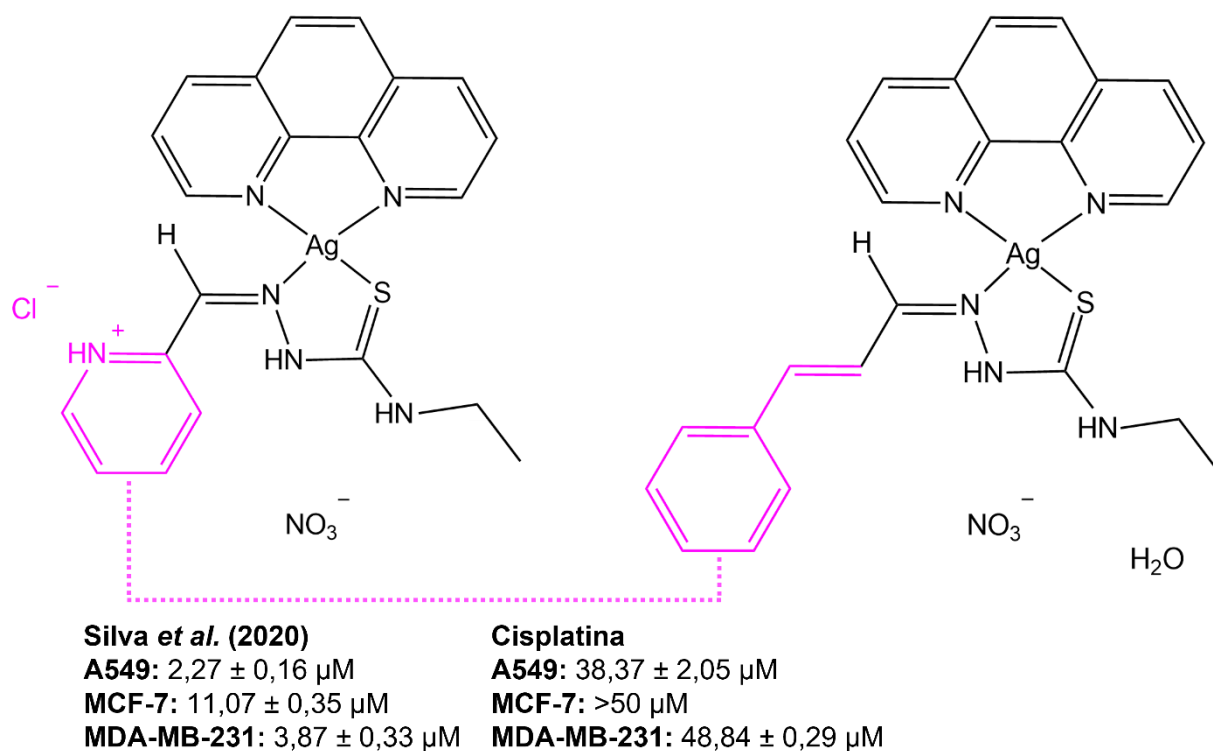
1.5 Hipótese

Silva *et al.*⁸¹ desenvolveu três complexos inéditos de fórmula geral [Ag(phen)(L)]NO₃, sendo L = 2-formilpiridina-*N*(4)-*R*-tiossemicarbazona, R = H, metil e etil. As espécies demonstraram maior citotoxicidade frente às linhagens celulares tumorais A549, MCF-7 e MDA-MB-231 em relação à cisplatina⁸¹. Em especial, para o substituinte 2-formilpiridina-*N*(4)-etil-tiossemicarbazona, os valores de IC₅₀ obtidos equivalem a 2,27 ± 0,16 µM (A549); 11,07 ± 0,35 µM (MCF-7); e 3,87 ± 0,33 µM (MDA-MB-231)⁸¹. Nessa mesma ordem, para a cisplatina, tem-se 38,37 ± 2,05 µM; >50 µM; e 48,84 ± 0,29 µM⁸¹. O composto inédito de Ag(I) apresentou seletividade de 3,1 para células humanas de câncer de mama triplo negativo (MDA-MB-231), enquanto a cisplatina tem SI de 0,6 nas mesmas condições (linhagem celular humana sadia MCF-10A)⁸¹. Foi sugerido que a morte celular seja via apoptose, em função ao aumento de

EROs e alteração no potencial de membrana mitocondrial ⁸¹. Ademais, os compostos apresentaram interação fraca com a molécula de DNA, indicando mecanismo de ação divergente ao da cisplatina ⁸¹.

Com o intuito de aumentar nosso conhecimento sobre relações estrutura-atividade de complexos de prata, neste trabalho, pretendemos substituir a 2-formilpiridina-*N*(4)-etil-tiossemicarbazona do complexo [Ag(phen)(L)]NO₃ pela tiossemicarbazona cinemaldeído (**cTSC** = *N*(4)-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona). Dessa forma, será possível identificar se ao modificarmos a estrutura do composto inorgânico, haverá alterações na atividade biológica resultante. Logo, poderemos sugerir quais partes da molécula são importantes para a atividade antiproliferativa e quais não são.

Figura 11 – Modificações estruturais entre os compostos reportados por Silva *et al.* (2020) e o proposto neste trabalho ⁸¹.



Fonte: Autor.

4 CONCLUSÃO

A hipótese deste trabalho foi fundamentada nas espécies reportados por Silva *et al.*⁸¹, em especial o de fórmula $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{L})]\text{NO}_3$, sendo L = 2-formilpiridina-*N*(4)-etil-tiossemicarbazona. Tal composto apresentou IC_{50} de $2,27 \pm 0,16 \mu\text{M}$; $11,07 \pm 0,35 \mu\text{M}$; e $3,87 \pm 0,33 \mu\text{M}$ para as linhagens tumorais humanas A549, MCF-7 e MDA-MB-231 respectivamente. Ao comparar com o composto inédito **C1** de fórmula molecular $[\text{Ag}(\text{cTSC})(\text{phen})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, na qual cTSC = *N*(4)-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona, percebeu-se que a modificação estrutural do fragmento tiossemicarbazona resultou de fato na alteração da atividade biológica do composto inorgânico. Para **C1**, obteve-se os valores de IC_{50} equivalentes a $2,2 \pm 0,1 \mu\text{M}$ (A2780cis); $5,5 \pm 0,1 \mu\text{M}$ (A549); e $2,6 \pm 0,2 \mu\text{M}$ (MCF-7). **C1** se mostrou promissor frente a todas as linhagens tumorais de estudo, uma vez que $\text{IC}_{50} < 10 \mu\text{M}$. Ademais, ao comparar a atividade antiproliferativa determinada para ambos os compostos, sugere-se que o fragmento tiossemicarbazona seja potencialmente o grupo farmacofórico dos complexos metálicos.

Ressalta-se também que o ligante tiossemicarbazona cinamaldeído **cTSC** se mostrou biologicamente inativo, enquanto nas mesmas condições, o complexo metálico apresenta citotoxicidade promissora frente às linhagens tumorais A2780cis, A549 e MCF-7. Dessa forma, o arcaço molecular da espécie inorgânica possibilitou interações no organismo inacessíveis a **cTSC**.

Por fim, sugere-se que o mecanismo de ação de **C1** seja divergente e consiga superar a resistência celular do apresentado pela cisplatina. Tal proposta baseia-se na promissora atividade antiproliferativa frente à linhagem celular humana A2780cis do complexo de Ag(I).

REFERÊNCIAS

- ¹ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ² ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Câncer**. 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ³ SECRETARIA DA SAÚDE DO GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ. **Câncer**. Disponível em: <<https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Cancer>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ⁴ AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer Facts & Figures 2022**. 2022. Disponível em: <<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2022/2022-cancer-facts-and-figures.pdf>>. Acesso em: 04 Abr 2022.
- ⁵ NATIONAL CANCER INSTITUTE. **What Is Cancer?** 2021. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer#how-cancer-develops>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.
- ⁶ FUNDAÇÃO DO CÂNCER. **Estatística de novos casos no Brasil, 2020**. 2020. Disponível em: <<https://www.cancer.org.br/sobre-o-cancer/tipos-de-cancer/estatisticas/>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ⁷ AMERICAN CANCER SOCIETY. **What is cancer?** 2020. Disponível em: <<https://www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/what-is-cancer.html>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ⁸ INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Como surge o câncer?** 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>>. Acesso em: 01 Abr. 2022.
- ⁹ SIEGEL, R. L. *et al.* Cancer statistics. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 72, n. 1, p. 7-33, 2022.
- ¹⁰ INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. 2020. Disponível em: <[https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_c](https://www.inca.gov.br/estimativa/introducao#:~:text=Para%20o%20Brasil%2C%20a%20estimativa,c%C3%A2nc%20de%20pele%20n%C3%A3o%20melanoma).>.>. Acesso em: 04 Abr. 2022.¹¹ WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer Today. 2020. Disponível em: <

ancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&half_pie=0&donut=0>. Acesso em: 04 Abr. 2022.

¹² SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

¹³ BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

¹⁴ NATIONAL CANCER INSTITUTE – CANCER TRENDS PROGRESS REPORT. **Financial Burden of Cancer Care**. 2021. Disponível em: <https://progressreport.cancer.gov/after/economic_burden>. Acesso em: 05 Abr. 2022.

¹⁵ AMERICAN CANCER SOCIETY. **Why People with Cancer Are More Likely to Get Infections**. 2020. Disponível em: <<https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/physical-side-effects/low-blood-counts/infections/why-people-with-cancer-are-at-risk.html>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.

¹⁶ AMERICAN CANCER SOCIETY. **Common Questions About the COVID-19 Outbreak**. 2022. Disponível em: <<https://www.cancer.org/latest-news/common-questions-about-the-new-coronavirus-outbreak.html>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.

¹⁷ NATIONAL CANCER INSTITUTE. **COVID-19: What People with Cancer Should Know**. 2022. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/coronavirus/coronavirus-cancer-patient-information>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.

¹⁸ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. 2022. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.

¹⁹ KHOURY, A.; DEO, K. M.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Recent advances in platinum-based chemotherapeutics that exhibit inhibitory and targeted mechanisms of action. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 207, p. 111070, 2020.

²⁰ GHOSH, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102925, 2019.

²¹ AHMAD, S. Kinetic aspects of platinum anticancer agents. **Polyhedron**, v. 138, p. 109-124, 2017.

²² OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 19, p. 6645-6653, 2018.

- ²³ YU, C. *et al.* Platinum-Based Combination Therapy: Molecular Rationale, Current Clinical Uses, and Future Perspectives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 13397-13412, 2020.
- ²⁴ NATIONAL CANCER INSTITUTE. **The "Accidental" Cure - Platinum-based Treatment for Cancer: The Discovery of Cisplatin.** 2014. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/research/progress/discovery/cisplatin>>. Acesso em: 06 Abr. 2022.
- ²⁵ ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**, v. 205, n. 4972, p. 698-699, 1965.
- ²⁶ ROTTENBERG, S.; DISLER, C.; PEREGO, P. The rediscovery of platinum-based cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, n. 1, p. 37-50, 2021.
- ²⁷ ANTHONY, E. J. *et al.* Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. **Chemical Science**, v. 11, 12888-12917, 2020.
- ²⁸ MAKOVEC, T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. **Radiology and Oncology**, v. 53, n. 2, p. 148-158, 2019.
- ²⁹ FANELLI, M. *et al.* New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 310, p. 41-79, 2016.
- ³⁰ TCHOUNWOU, P. B. *et al.* Advances in Our Understanding of the Molecular Mechanisms of Action of Cisplatin in Cancer Therapy. **Journal of experimental pharmacology**, v. 13, p. 303-328, 2021.
- ³¹ PAGES, B. J. *et al.* Metal complex interactions with DNA. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 8, p. 3505-3526, 2015.
- ³² NICHOL, R. J. O. *et al.* Selective in vitro anti-cancer activity of non-alkylating minor groove binders. **MedChemComm**, v. 10, n. 9, p. 1620-1634, 2019.
- ³³ GAO, L. *et al.* The improved antitumor efficacy of continuous intratumoral chemotherapy with cisplatin-loaded implants for the treatment of sarcoma 180 tumor-bearing mice. **Drug Delivery**, v. 26, n. 1, p. 208-215, 2019.
- ³⁴ NASKAR, R. *et al.* Palladium(II) complexes with thioether based ONS donor ligand: Synthesis, characterization, X-ray structure, DFT study and anti-cancer activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 534, p. 120802, 2022.
- ³⁵ EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Tookad.** 2021. Disponível em: <<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tookad>>. Acesso em: 07 Abr. 2022.

- ³⁶ RODGERS, G. E. **Química inorgânica descritiva, de coordenação e de estado sólido**. 3ª ed. São Paulo: 2018.
- ³⁷ FARIAS, R. D. **Química de coordenação: fundamentos e atualidades**. ed. Átomo, Campinas–SP, p. 151-152, 2005.
- ³⁸ MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química Inorgânica**. 5ª ed. São Paulo: Pearson, 2014.
- ³⁹ LI, Y. *et al.* Synthesis, characterization and ROS-mediated antitumor effects of palladium(II) complexes of curcuminoids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 144, p. 662-671, 2018.
- ⁴⁰ HORMANN, J. *et al.* Multiply Intercalator-Substituted Cu(II) Cyclen Complexes as DNA Condensers and DNA/RNA Synthesis Inhibitors. **Inorganic Chemistry**, v. 57, n. 9, p. 5004-5012, 2018.
- ⁴¹ ROCHA, F. V. *et al.* Computational studies, design and synthesis of Pd(II)-based complexes: Allosteric inhibitors of the Human Topoisomerase-II α . **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 199, p. 110725, 2019.
- ⁴² MAHAVORASIRIKUL, W. *et al.* Cytotoxic activity of Thai medicinal plants against human cholangiocarcinoma, laryngeal and hepatocarcinoma cells in vitro. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 1, p. 55, 2010.
- ⁴³ CHELOPO, M. P. *et al.* Anticancer activity of ruthenium(II) arene complexes bearing 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline amino alcohol ligands. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 66, p. 407-414, 2013.
- ⁴⁴ RAZAK, N. A. *et al.* Cytotoxicity of eupatorin in MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells via cell cycle arrest, anti-angiogenesis and induction of apoptosis. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1514, 2019.
- ⁴⁵ MEDICI, S. *et al.* Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 13, p. 5923-5943, 2019.
- ⁴⁶ MOVAHEDI, E.; REZVANI, A. R.; RAZMAZMA, H. Binding interaction of a heteroleptic silver(I) complex with DNA: A joint experimental and computational study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1244-1254, 2019.
- ⁴⁷ WELLER, M. *et al.* **Química Inorgânica**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman Editora, 2017.
- ⁴⁸ LEE, J. D. **Química Inorgânica Não Tão Concisa**. 1ª ed. Blucher, 1999.
- ⁴⁹ BRESCIANI, G. *et al.* Screening the biological properties of transition metal carbamates reveals gold(I) and silver(I) complexes as potent cytotoxic and antimicrobial agents. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 227, p. 111667, 2022.

- ⁵⁰ MEDICI, S. *et al.* Silver coordination compounds: A new horizon in medicine. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 327-328, p. 349-359, 2016.
- ⁵¹ MARLOYE, M. *et al.* A survey of the mechanisms of action of anticancer transition metal complexes. **Future Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 18, p. 2263-2286, 2016.
- ⁵² LIANG, X. *et al.* Recent advances in the medical use of silver complex. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 62-80, 2018.
- ⁵³ KARATAŞ, M. O. *et al.* Water-soluble silver(i) complexes with N-donor benzimidazole ligands containing an imidazolium core: stability and preliminary biological studies. **Dalton Transactions**, v. 50, n. 33, p. 11596-11603, 2021.
- ⁵⁴ ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI, S. *et al.* Novel N-heterocyclic carbene silver(I) complexes: Synthesis, structural characterization, and anticancer activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 486, p. 711-718, 2019.
- ⁵⁵ PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, v. 45, n. 9, p. 581, 1968.
- ⁵⁶ VARNA, D. *et al.* Biocompatible silver(I) complexes with heterocyclic thioamide ligands for selective killing of cancer cells and high antimicrobial activity – A combined in vitro and in silico study. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 228, p. 111695, 2022.
- ⁵⁷ ALMEIDA, V. Y. G. *et al.* Cytotoxicity and Antibacterial Activity of Silver Complexes Bearing Semicarbazones and Triphenylphosphine. **ChemistrySelect**, v. 5, n. 46, p. 14559-14563, 2020.
- ⁵⁸ THATI, B. *et al.* Role of cell cycle events and apoptosis in mediating the anti-cancer activity of a silver(I) complex of 4-hydroxy-3-nitro-coumarin-bis(phenanthroline) in human malignant cancer cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 602, n. 2, p. 203-214, 2009.
- ⁵⁹ VIGANOR, L. *et al.* The Antibacterial Activity of Metal Complexes Containing 1,10-phenanthroline: Potential as Alternative Therapeutics in the Era of Antibiotic Resistance. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 11, p. 1280-1302, 2017.
- ⁶⁰ FEIZI-DEHNAYEBI, M.; DEGHANIAN, E.; MANSOURI-TORSHIZI, H. A novel palladium(II) antitumor agent: Synthesis, characterization, DFT perspective, CT-DNA and BSA interaction studies via in-vitro and in-silico approaches. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 249, p. 119215, 2021.
- ⁶¹ ĐURIĆ, S. Ž. *et al.* Silver(I) complexes with 1,10-phenanthroline-based ligands: The influence of epoxide function on the complex structure and biological activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 502, p. 119357, 2020.

- ⁶² SILVA, D. E. S. Desenvolvimento de novos complexos de prata(I) contendo ligantes tiossemicarbazonas com potencial antitumoral contra células de câncer de mama triplo negativo. 2020. Tese (Doutorado). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- ⁶³ THORNTON, L. *et al.* Water-soluble and photo-stable silver(I) dicarboxylate complexes containing 1,10-phenanthroline ligands: Antimicrobial and anticancer chemotherapeutic potential, DNA interactions and antioxidant activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 159, p. 120-132, 2016.
- ⁶⁴ GAMBINO, H. B. A. D. The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 1, p. 31-39, 2004.
- ⁶⁵ CIPRIANI, M. *et al.* Effect of the metal ion on the anti *T. cruzi* activity and mechanism of action of 5-nitrofuryl-containing thiosemicarbazone metal complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2014, n. 27, p. 4677-4689, 2014.
- ⁶⁶ BRUIJNINCX, P. C. A.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 12, n. 2, p. 197-206, 2008.
- ⁶⁷ ROCHA, F. V. Síntese, caracterização e estudo da atividade antitumoral de complexos de paládio(II) com ligantes sulfurados e trifenilfosfina. 2013. Tese (Doutorado). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- ⁶⁸ ZHANG, X. *et al.* Synthesis, structure, in silico ADME evaluation and in vitro antioxidant of (E)-N-(4-ethylphenyl)-2-(isomeric methylbenzylidene)thiosemicarbazone derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1199, p. 126972, 2020.
- ⁶⁹ GONÇALVES, A. C. R. *et al.* PtII, PdII and AuIII complexes with a thiosemicarbazone derived from diacetylmonooxime: Structural analysis, trypanocidal activity, cytotoxicity and first insight into the antiparasitic mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 141, p. 615-631, 2017.
- ⁷⁰ DA SILVA, A. A. *et al.* Synthesis, characterization and antichagasic evaluation of thiosemicarbazones prepared from chalcones and dibenzalacetones. **Journal of Molecular Structure**, v. 1232, p. 130014, 2021.
- ⁷¹ LOBANA, T. S. *et al.* Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals - An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 7, p. 977-1055, 2009.
- ⁷² BHUSHAN SHAKYA; PARAS NATH, Y. Thiosemicarbazones as Potent Anticancer Agents and their Modes of Action. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 638-661, 2020.

⁷³ KHAN, A. *et al.* Copper(i) and silver(i) complexes of anthraldehyde thiosemicarbazone: synthesis, structure elucidation, in vitro anti-tuberculosis/cytotoxic activity and interactions with DNA/HSA. **Dalton Transactions**, v. 49, n. 47, p. 17350-17367, 2020.

⁷⁴ DE SIQUEIRA, L. R. P. *et al.* Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 170, p. 237-260, 2019.

⁷⁵ TENÓRIO, R. P. *et al.* Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, p. 1030-1037, 2005.

⁷⁶ BISWAS, C. *et al.* Synthesis, structural characterization and selective anticancer activity of [Ag(L)(PPh₃)₂(NO₃)₂] [L = N(4)-substituted 2-acetylpyridine-N(4)-methyl-3-thiosemicarbazone]. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 136, p. 109178, 2022.

⁷⁷ MATESANZ, A. I. *et al.* Mononuclear Pd(ii) and Pt(ii) complexes with an α -N-heterocyclic thiosemicarbazone: cytotoxicity, solution behaviour and interaction versus proven models from biological media. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 5, n. 1, p. 73-83, 2018.

⁷⁸ OLIVEIRA, C. G. *et al.* Palladium(ii) complexes with thiosemicarbazones derived from pyrene as topoisomerase IB inhibitors. **Dalton Transactions**, v. 48, n. 44, p. 16509-16517, 2019.

⁷⁹ LIMA, M. A. *et al.* Palladium(II) complexes bearing thiosemicarbazone and phosphines as inhibitors of DNA-Topoisomerase II enzyme: Synthesis, characterizations and biological studies. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 112, p. 107708, 2020.

⁸⁰ ABDUL HALIM, S. N. A. *et al.* Synthesis, characterization, and evaluation of silver(I) complexes with mixed-ligands of thiosemicarbazones and diphenyl(p-tolyl)phosphine as biological agents. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 72, n. 5-7, p. 879-893, 2019.

⁸¹ SILVA, D. E. S. *et al.* Cytotoxic and apoptotic effects of ternary silver(i) complexes bearing 2-formylpyridine thiosemicarbazones and 1,10-phenanthroline. **Dalton Transactions**, v. 49, n. 16, p. 5264-5275, 2020.

⁸² LAZZARINI, A. B. Novos complexos de paládio(II) contendo tiossemicarbazonas: citotoxicidade, estudos de interação com proteínas e avaliação do potencial antitumoral. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

⁸³ KOSTRZEWA, T. *et al.* Curcumin and Cinnamaldehyde as PTP1B Inhibitors With Antidiabetic and Anticancer Potential. **Anticancer Research**, v. 39, n. 2, p. 745, 2019.

- ⁸⁴ NYAWADE, E. A. *et al.* Synthesis, characterization and anticancer activity of new 2-acetyl-5-methyl thiophene and cinnamaldehyde thiosemicarbazones and their palladium(II) complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 515, p. 120036, 2021.
- ⁸⁵ KA, H. *et al.* Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. **Cancer Letters**, v. 196, n. 2, p. 143-152, 2003.
- ⁸⁶ AL-HROUT, A. A. *et al.* Safranal induces DNA double-strand breakage and ER-stress-mediated cell death in hepatocellular carcinoma cells. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 16951, 2018.
- ⁸⁷ BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4^a ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006.
- ⁸⁸ DÍAZ-TORRES, R.; ALVAREZ, S. Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 40, p. 10742-10750, 2011.
- ⁸⁹ PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. 2^a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.
- ⁹⁰ TAN, M. Y. *et al.* Crystal structure of 3-ethyl-1-[(E)-[(2E)-3-phenylprop-2-en-1-ylidene]amino]thiourea, C₁₂H₁₅N₃S. **Zeitschrift für Kristallographie - New Crystal Structures**, v. 235, n. 6, p. 1439-1441, 2020.
- ⁹¹ FARIAS, R. L. D. Compostos de paládio (II) contendo tiossemicarbazonas: síntese, interação com alvos enzimáticos e avaliação do potencial antitumoral. 2020. Tese (Doutorado). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- ⁹² NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, part B**. 5th ed. New York, NY: John Wiley & Sons.
- ⁹³ AHMAD, S. *et al.* Versatile coordination chemistry of mixed ligand silver(I) complexes of phosphanes and thioamides: Structural features and biological properties. **Polyhedron**, v. 214, p. 115643, 2022.
- ⁹⁴ ALMEIDA FURQUIM DE CAMARGO, B. *et al.* New Silver(I) Coordination Compound Loaded into Polymeric Nanoparticles as a Strategy to Improve In Vitro Anti-Helicobacter pylori Activity. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 7, p. 2287-2298, 2020.
- ⁹⁵ BOWMAKER, G. A.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H. Structural and Infrared Spectroscopic Studies of Some Novel Mechanochemically Accessed Adducts of Silver(I) Oxoanion Salts with Thiourea. **Inorganic Chemistry**, v. 48, n. 7, p. 3185-3197, 2009.

- ⁹⁶ VELHO, R. G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. 2006. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 2006.
- ⁹⁷ TICIANELLI, E. A.; GONZALEZ, E. R. **Eletroquímica: Princípios e Aplicações**. 2ª ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2005.
- ⁹⁸ ROBERT, M. S.; FRANCIS, X. W.; DAVID, J. K. **Spectrometric identification of organic compounds**. 8th revised ed. John Wiley & Sons, 2005.
- ⁹⁹ SCIENTIFIC INSTRUMENT SERVICES (SIS) BY ADAPTAS SOLUTIONS. Isotope Distribution Calculator and Mass Spec Plotter. Disponível em: <<https://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>>. Acesso em: 18 Abr. 2022.
- ¹⁰⁰ Levitt, M. H. **Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance**. 2nd ed. John Wiley & Sons, 2013.
- ¹⁰¹ GÜNTHER, H. **NMR Spectroscopy: Basic principles, concepts and applications in chemistry**. 3rd ed. Wiley-VCH, 2013.
- ¹⁰² TINOCO JR., I. *et al.* **Physical Chemistry: Principles and applications in biological sciences**. 5th ed. Prentice Hall, 2013.
- ¹⁰³ FARIAS, R. L. *et al.* *In vitro* and *in silico* assessment of antitumor properties and biomolecular binding studies for two new complexes based on Ni(II) bearing k^2N,S -donor ligands. **Materials Science and Engineering: C**, v. 121, p. 111815, 2021.
- ¹⁰⁴ FÖRSTER, H. UV/vis spectroscopy. **Characterization I**, p. 337-426, 2004.
- ¹⁰⁵ MERCK. **MTT Assay Protocol for cell viability and proliferation**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kit-i-mtt>>. Acesso em: 19 Mar. 2022.
- ¹⁰⁶ MEERLOO, J. V.; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. **Cancer cell culture**: Springer, p.237-245, 2011.
- ¹⁰⁷ RAI, Y. *et al.* Mitochondrial biogenesis and metabolic hyperactivation limits the application of MTT assay in the estimation of radiation induced growth inhibition. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1531, 2018.
- ¹⁰⁸ STOCKERT, J. C. *et al.* Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 3, p. 159-167, 2018.
- ¹⁰⁹ LOZANO-PÉREZ, A. A. *et al.* Antitumor properties of platinum(IV) prodrug-loaded silk fibroin nanoparticles. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 30, p. 13513-13521, 2015.

- ¹¹⁰ JIN, S. *et al.* Monofunctional Platinum(II) Anticancer Agents. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 2, 2021.
- ¹¹¹ SZYMAŃSKA, M. *et al.* Synthesis and Spectroscopic Investigations of Schiff Base Ligand and Its Bimetallic Ag(I) Complex as DNA and BSA Binders. **Biomolecules**, v. 11, n. 10, 2021.
- ¹¹² VOET, D.; VOET, J. G. **Bioquímica**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- ¹¹³ MORAN, L. A. *et al.* **Bioquímica**. 5ª ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2013.
- ¹¹⁴ ZHANG, Y. *et al.* Dynamic DNA Structures. **Small**, v. 15, n. 26, p. 1900228, 2019.
- ¹¹⁵ NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE. **Deoxyribonucleic Acid (DNA) Fact Sheet**. Disponível em: <<https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Deoxyribonucleic-Acid-Fact-Sheet#:~:text=DNA%20contains%20the%20instructions%20needed,the%20work%20in%20our%20bodies.>>. Acesso em: 31 Mar. 2022.
- ¹¹⁶ POGGI, L.; RICHARD, G.-F. Alternative DNA Structures In Vivo: Molecular Evidence and Remaining Questions. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 85, n. 1, p. e00110-20, 2020.
- ¹¹⁷ KELLETT, A. *et al.* Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 4, p. 971-988, 2019.
- ¹¹⁸ SEREC, K. *et al.* Conformational Transitions of Double-Stranded DNA in Thin Films. **Applied Sciences**, v. 11, n. 5, 2021.
- ¹¹⁹ ZACHARIAS, W. *et al.* Conditions which cause the right-handed to left-handed DNA conformational transitions. Evidence for several types of left-handed DNA structures in solution. **Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 6, p. 2775-2782, 1982.
- ¹²⁰ PASTON, S. V. *et al.* A Study of the DNA Structure in Films Using FTIR Spectroscopy. **Biophysics**, v. 65, n. 6, p. 900-906, 2020.
- ¹²¹ SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 124, p. 1-19, 2013.
- ¹²² LEE, A.-R. *et al.* Thermodynamic Model for B-Z Transition of DNA Induced by Z-DNA Binding Proteins. **Molecules**, v. 23, n. 11, 2018.
- ¹²³ NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

- ¹²⁴ REHMAN, S. U. *et al.* Studying non-covalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 576, p. 49-60, 2015.
- ¹²⁵ INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é câncer?** 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 10 Jan. 2022.
- ¹²⁶ ERXLEBEN, A. Interactions of copper complexes with nucleic acids. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 360, p. 92-121, 2018.
- ¹²⁷ BARRA, C. V.; NETTO, A. V. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
- ¹²⁸ HAJIBABAEI, F. *et al.* DNA binding and molecular docking studies of a new Cu(II) complex of isoxsuprine drug. **Polyhedron**, v. 162, p. 232-239, 2019.
- ¹²⁹ ABDEL-RAHMAN, L. H. *et al.* Some new Ag(I), VO(II) and Pd(II) chelates incorporating tridentate imine ligand: Design, synthesis, structure elucidation, density functional theory calculations for DNA interaction, antimicrobial and anticancer activities and molecular docking studies. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 33, n. 4, p. e4699, 2019.
- ¹³⁰ BEEBE, S. J. *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding, topoisomerase inhibition, and apoptosis induction studies of a novel cobalt(III) complex with a thiosemicarbazone ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 203, p. 110907, 2020.
- ¹³¹ AMIRBEKYAN, K. *et al.* Design, Synthesis, and Binding Affinity Evaluation of Hoechst 33258 Derivatives for the Development of Sequence-Specific DNA-Based Asymmetric Catalysts. **ACS Catalysis**, v. 6, n. 5, p. 3096-3105, 2016.
- ¹³² PEBERDY, J. C. *et al.* Influence of surface shape on DNA binding of bimetallo helicates. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, n. 11, p. 1937-1945, 2007.
- ¹³³ TENG, M. K. *et al.* The molecular structure of the complex of Hoechst 33258 and the DNA dodecamer d(CGCGAATTCGCG). **Nucleic acids research**, v. 16, n. 6, p. 2671-2690, 1988.
- ¹³⁴ CHEN, A. Y. *et al.* DNA minor groove-binding ligands: a different class of mammalian DNA topoisomerase I inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 17, p. 8131, 1993.
- ¹³⁵ NAGARAJU, B. *et al.* Synthesis and biological evaluation of pyrazole linked benzothiazole- β -naphthol derivatives as topoisomerase I inhibitors with DNA binding ability. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 5, p. 708-720, 2019.
- ¹³⁶ BEERMAN, T. A. *et al.* Effects of analogs of the DNA minor groove binder Hoechst 33258 on topoisomerase II and I mediated activities. **Biochimica et**

Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression, v. 1131, n. 1, p. 53-61, 1992.

¹³⁷ DE MOURA, T. R. *et al.* Palladium(ii) complexes bearing 1-iminothiolate-3,5-dimethylpyrazoles: synthesis, cytotoxicity, DNA binding and enzymatic inhibition studies. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 45, p. 19891-19901, 2020.

¹³⁸ VELASQUES, J. M. *et al.* Orthopalladated tetralone oxime compounds bearing tertiary phosphines: Synthesis, structure, biological and in silico studies. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 958, p. 122184, 2022.

¹³⁹ SUN, C. *et al.* Label-free fluorescent sensor based on aptamer and thiazole orange for the detection of tetracycline. **Dyes and Pigments**, v. 149, p. 867-875, 2018.

¹⁴⁰ SUSS, O.; MOTIEI, L.; MARGULIES, D. Broad Applications of Thiazole Orange in Fluorescent Sensing of Biomolecules and Ions. **Molecules**, v. 26, n. 9, 2021.

¹⁴¹ ZHANG, L. *et al.* Thiazole Orange Styryl Derivatives as Fluorescent Probes for G-Quadruplex DNA. **ACS Applied Bio Materials**, v. 3, n. 5, p. 2643-2650, 2020.

¹⁴² WALLACE, B. A.; JANES, R. W. **Modern techniques for circular dichroism and synchrotron radiation circular dichroism spectroscopy**. Netherlands: IOS press, 2009.

¹⁴³ SAKTHI, M.; RAMU, A. Synthesis, structure, DNA/BSA binding and antibacterial studies of NNO tridentate Schiff base metal complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1149, p. 727-735, 2017.

¹⁴⁴ COLINA-VEGAS, L. *et al.* Half sandwich Ru(ii)-acylthiourea complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a human breast tumor cell line. **Dalton Transactions**, v. 46, n. 38, p. 12865-12875, 2017.

¹⁴⁵ SEDIGHIPOOR, M. *et al.* Synthesis and characterization of new unsymmetrical Schiff base Zn (II) and Co (II) complexes and study of their interactions with bovin serum albumin and DNA by spectroscopic techniques. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 198, p. 38-50, 2018.

¹⁴⁶ SHAHABADI, N.; KASHANIAN, S.; DARABI, F. DNA binding and DNA cleavage studies of a water soluble cobalt(II) complex containing dinitrogen Schiff base ligand: The effect of metal on the mode of binding. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 4239-4245, 2010.

¹⁴⁷ ZAREI, L. *et al.* Pyrazolate as bridging ligand in stabilization of self-assemble Cu(II) Schiff base complexes: Synthesis, structural investigations, DNA/protein (BSA) binding and growth inhibitory effects on the MCF7, CT-26, MDA-MB-231 cell lines. **Inorganica Chimica Acta**, v. 509, p. 119674, 2020.

¹⁴⁸ BORDBAR, M. *et al.* Interaction study of some macrocyclic inorganic schiff base complexes with calf thymus DNA using spectroscopic and voltammetric methods. **Journal of Molecular Structure**, v. 1152, p. 128-136, 2018.

¹⁴⁹ SOUSA, L. M. *et al.* DNA binding, cleavage, apoptosis and cytotoxicity studies of three heteroleptic nickel complexes bearing β -diketones. **Inorganica Chimica Acta**, v. 511, p. 119824, 2020.

¹⁵⁰ MEENONGWA, A. *et al.* DNA-interacting and biological properties of copper(II) complexes from amidino-O-methylurea. **New Journal of Chemistry**, v. 39, n. 1, p. 664-675, 2015.