

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 25/08/2025.

Bárbara Regina Santos Feitoza

**Ortopaladação da *L*-fenilalanina-metil-éster: Síntese,
Caracterização, Reatividade e Estudos Biológicos**

Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

Araraquara

2023

F311o	<p>Feitoza, Bárbara Regina Santos</p> <p>Ortopaladação da L-fenilalanina-metil-éster : síntese, caracterização, reatividade e estudos biológicos / Bárbara Regina Santos Feitoza. -- Araraquara, 2023</p> <p>176 f.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara</p> <p>Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto</p> <p>Coorientador: Adriano Bof de Oliveira</p> <p>1. Compostos organometálicos de transição. 2. Fenilalanina. 3. DNA. 4. Sobrevivência celular. 5. Albumina. I. Título.</p>
-------	---

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 TESE: "Ortopaladação da L-fenilalanina-metil-éster: Síntese, Caracterização, Reatividade e Estudos Biológicos"

AUTORA: BÁRBARA REGINA SANTOS FEITOZA

ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

COORIENTADOR: ADRIANO BOF DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora 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. WENDELL GUERRA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Uberlândia - UFU - Uberlândia

Prof. Dr. JOÃO HONORATO DE ARAUJO NETO (Participação Virtual)
Departamento de Química Fundamental / Instituto de Química - USP - São Paulo

Dr^a. MARIETE BARBOSA MOREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Estadual de Maringá - UEM - Maringá

Prof. Dr. JOSE CLAYSTON MELO PEREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Assinado de forma digital por
Adelino Vieira de Godoy
Netto:19560697803
Dados: 2023.08.25 16:14:05 -03'00'

Araraquara, 25 de agosto de 2023

Impacto potencial desta pesquisa

A busca por novas substâncias com potencial de se tornarem fármacos é um dos grandes pilares da pesquisa científica, pois envolve uma conexão com diversas áreas do conhecimento, caracterizando assim a multidisciplinaridade tão necessária atualmente para a superação tanto de questões emergentes como das têm perdurado por séculos. No universo das questões mais intrigantes que a ciência se debruça, a problemática do câncer ocupa uma posição privilegiada. Embora as indagações acerca do câncer sejam extensivamente abordadas na biologia e medicina, é indubitável que os maiores progressos feitos até então foram compassados pela química, confirmando que esta é, de fato, a “ciência central”.

Com um estilo de vida cada vez mais propício ao surgimento dos mais diversos tipos de cânceres, homens e mulheres têm convivido por incontáveis gerações com todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares, e o observatório Global do Câncer estima que até 2040 haverá um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Atualmente, existem diversos tratamentos para o câncer, os seis tipos mais comuns são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, imunoterapia e o transplante de medula óssea, o mesmo que transplante de células-tronco. A química teve (e tem) uma imensa contribuição no desenvolvimento de substâncias quimioterápicas que promovem o cessamento ou desaceleram o crescimento de células tumorais que têm como característica inerente o rápido crescimento e divisão.

Na presente tese de doutorado, foram desenvolvidas novas substâncias e, após uma triagem, o resultado mais promissor foi selecionado para os testes biológicos, revelando assim seu potencial anticâncer. Com isso, foi possível contribuir no desenvolvimento de novas substâncias que poderão vir a se tornarem fármacos anticâncer, temática esta de grande interesse regional e internacional.

Potential impact of this research

The search for new substances with the potential to become medicines is one of the great pillars of scientific research, as it involves a connection with different areas of knowledge, thus characterizing the multidisciplinary nature that is so necessary today to overcome both emerging issues and those that have lasted for centuries. In the universe of the most intriguing questions that science deals with, the problem of cancer occupies a privileged position. Although questions about cancer are extensively addressed in biology and medicine, it is undoubted that the greatest progress made so far has been paced by chemistry, confirming that this is, in fact, the “central science”.

With a lifestyle increasingly conducive to the emergence of the most diverse types of cancer, men and women have lived for countless generations with the entire set of diseases that characterize cancer. According to the World Health Organization, cancer is the second leading cause of death in the world, preceded only by cardiovascular diseases, and the Global Cancer Observatory estimates that by 2040 there will be an increase of 30.2 million new cases of cancer, in both sexes aged between 0-85 years. Currently, there are several treatments for cancer, the six most common types are: surgery, chemotherapy, radiotherapy, hormone therapy, immunotherapy and bone marrow transplantation, the same as stem cell transplantation. Chemistry had (and has) an immense contribution in the development of chemotherapeutic substances that promote the cessation or decelerate the growth of tumor cells that have as an inherent characteristic the rapid growth and division.

In this doctoral thesis, new substances were developed and, after screening, the most promising result was selected for biological tests, thus revealing their anticancer potential. With this, it was possible to contribute to the development of new substances that could become anticancer drugs, a topic of great regional and international interest.

DADOS CURRICULARES

1. Dados Pessoais

Nome: Bárbara Regina Santos Feitoza

E-mail: barbara.feitoza@unesp.br

Data de nascimento: 14/05/1990

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Aracaju – SE

Filiação: Jailson Cruz Feitoza e Cicera dos Santos Feitoza

Endereço para correspondência: Rua Cândido Arruda Botelho, 1120, bairro Santa Felícia, São Carlos – SP – Brasil

2. Dados Acadêmicos

- **2017 – 2019:** Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - Instituto de Química de Araraquara

Área de concentração: Química Inorgânica

Dissertação: Ciclometalados de Paládio(II) contendo ligantes N- e P- doadores bidentados: Síntese, Caracterização e Estudos Biológicos

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

Bolsa: CAPES

- **2010 – 2016:** Graduação em Química Bacharelado

Universidade Federal de Sergipe

Iniciação científica (2013 – 2016)

Projeto: Síntese e determinação da estrutura cristalina/molecular de tiossemicarbazonas derivadas de produtos naturais e seus respectivos complexos metálicos visando aplicações farmacológicas

Orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

3. Idiomas

Inglês: Compreende razoavelmente; Fala razoavelmente; Escreve razoavelmente; Lê razoavelmente.

4. Prêmios e Títulos

2015: Prêmio destaque de Iniciação científica no 25º Encontro de Iniciação Científica PIBIC 2014/2015 na Universidade Federal de Sergipe

2014: Um dos melhores painéis apresentados na Seção de Química Inorgânica realizada durante a 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

2014: Menção honrosa, I Escola de Química UFSCar – UFS

2012: Um dos melhores painéis apresentados na Seção de Química Inorgânica realizada durante a 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

5. Publicações

- 1) A.B. de Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, R.L. Farias, B.R.S. Feitoza. Crystal structure of *N*-ethyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-1-ylidene)hydrazinecarbothio-amide. *Acta Cryst. E*, **2017**, *E73*, 291–295.
- 2) A.B. de Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, B.R.S. Feitosa, F.V. Rocha . Crystal structure of (*E*)-2-[4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-ylidene]hydrazine-1-carbothioamide. *Acta Cryst.E*, **2015**, v. 71, p. o33-o34.
- 3) A.B. de Oliveira, J. Beck, J. Daniels, B.R.S. Feitosa, Crystal Structure of 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-methylthiosemicarbazone. *X-Ray Struct. Anal. Online*, **2015**, 31, 5–6.

- 4) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, Crystal structure of cis-bis[4-phenyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamidato- $\kappa^2 N^1, S$]-nickel(II) monohydrate tetrahydrofuran disolvate. *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, 101–103.
- 5) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, Bis(4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-phenyl-thiosemicarbazonato- N^1, S)nickel(II). *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, m195.
- 6) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-phenylthiosemicarbazone. *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, o278.
- 7) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, *N*-Methyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2014**, v. 70, p. o301-o302.
- 8) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess . *N*-Phenyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2014**, v. 70, p. o205-o205.
- 9) A.B. de Oliveira, J. Beck, J. Daniels, J. N. Santos, B.R.S. Feitosa. The charge-transfer complex 1-aminoanthraquinone 7,7 ,8,8 -tetracyanoquinodimethane (1/1). *Acta Cryst. E*, **2013**, v. 69, p. o301-o301.
- 10) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess. 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde thiosemicarbazone. *Acta Cryst. E*, **2013**, v. 69, p. o1861-o1861.
- 11) A.B. de Oliveira, C.S. Silva, C. Näther, I. Jess, B.R.S. Feitosa. 2-(1,2,3,4-Tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2012**, v. 68, p. o2581-o2581.

6. Bolsas

- **2022 (01/01 – 30/06):** Bolsa de doutorado sanduíche concedida pelo DAAD.
- **2017 – 2019:** Bolsa de mestrado concedida pela CAPES.
- **2015 – 2016:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.
- **2014 – 2015:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.
- **2013 – 2014:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.



Totus tuus, Virgo María



AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao meu Bom Deus por ser meu maior provedor e suprir todas as minhas necessidades, além de me mostrar que seus planos são sempre melhores do que os meus.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço ao DAAD pela bolsa de doutorado sanduíche na Alemanha.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto pela supervisão e apoio científico, sendo sempre profundamente humano e sensível.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira pela orientação e dedicação mesmo que à distância.

Ao Prof. Dr. Ulrich Schatzschneider pelo apoio científico e acolhimento no seu grupo de pesquisa durante minha estadia na Uni-Würzburg.

A todo o nosso grupo de pesquisa por toda a contribuição no trabalho, direta ou indiretamente. Em especial ao Wladimir P. D. Badaró pela parceria.

Agradeço a toda comunidade do Mosteiro São Paulo da Cruz pelas orações e carinho, especialmente à Marta de Jesus Crucificado, atual superiora, pela oportunidade e confiança.

*Considero-me como um débil passarinho
coberto de leve plumagem. Não sou
águia; só tenho dela os olhos e o coração,
mas apesar da minha extrema pequenez,
atrevo-me a olhar fixamente para o Sol
divino, o Sol do amor, e o meu coração
sente em si todas as aspirações da águia.*

Santa Terezinha do Menino Jesus e da Sagrada Face

*Os desígnios do Senhor são
altíssimos, profundos, mas
ocultos: deixemo-nos guiar por
Ele como crianças.*

São Paulo da Cruz

*Onde é que te escondeste,
Amado, e me deixaste com
gemido?
Como o cervo fugiste,
Havendo-me ferido;
Saí, por ti clamando, e eras já ido.*

*Na interior adega
Do Amado meu, bebi; quando
saía,
Por toda aquela várzea
Já nada mais sabia,
E o rebanho perdi que antes
seguia.*

*Eis que a branca pombinha
Para a arca, com seu ramo,
regressou;
E, feliz, a rolinha
O par tão desejado
Já nas ribeiras verdes encontrou.*

São João da Cruz

RESUMO

O câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares. O *Global Cancer Observatory* estima que até 2040 observar-se-á um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Diante da grande problemática do câncer, a busca por novas substâncias antitumorais que superem as limitações dos medicamentos em uso atualmente constitui um dos pilares mais importantes da pesquisa científica. Desde a descoberta da atividade antitumoral do metalofármaco cisplatina, vários complexos inorgânicos e organometálicos emergiram como potenciais metalofármacos que venham a superar as limitações comuns do uso clínico da cisplatina, como a toxicidade e a resistência. Nesse contexto, os complexos ortopaladados são bastante promissores, especialmente pela similaridade química entre os metais paládio(II) e platina(II), como também por proporcionarem que compostos de tendência não genotóxica possam ser obtidos. Na presente tese de doutorado, seis novos ortopaladados da *L*-fenilalanina-metil-éster (LFME) foram obtidos, sendo: um dímero de azida de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, quatro complexos de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, onde X = Br, Cl, I, N₃ e PTA = 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano; e um complexo resultante do produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar: $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$, onde Tria = triazolato. Os complexos foram devidamente caracterizados através das técnicas de RMN (¹H, ¹³C e ³¹P) e ¹⁵N para os derivados de azida; Espectrometria de Massas (ESI) (com exceção do $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$), análise elementar (C,H,N,S) e DRX em monocristal (somente $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$). Ensaios *in vitro* de viabilidade celular do $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$ frente às linhagens tumorais A549 (pulmão), MDA-MB-231 (mama) e A2780 (ovário) demonstraram uma maior atividade do composto contra a linhagem A2780, além de uma baixa toxicidade frente a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão). Os estudos de interação com as biomoléculas Albumina de Soro Humano (HSA) e DNA revelaram uma afinidade considerável pela HSA, porém uma baixa afinidade pelo DNA.

Palavras-Chave: Ortopaladados, *L*-fenilalanina-metil-éster, triazolato, viabilidade celular, Albumina de Soro Humano (HSA), DNA.

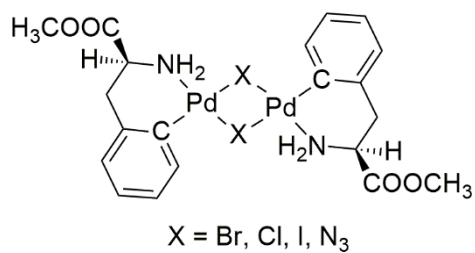
ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death in the world, preceded only by cardiovascular diseases. The Global Cancer Observatory estimates that by 2040 there will be an increase of 30.2 million new cases of cancer, in both sexes aged 0-85 years. Faced with the great problem of cancer, the search for new antitumor substances that overcome the limitations of drugs currently in use is one of the most important pillars of scientific research. Since the discovery of the antitumor activity of the metallopharmaceutical cisplatin, several inorganic and organometallic complexes have emerged as potential metallodrugs that may overcome the common limitations of the clinical use of cisplatin, such as toxicity and resistance. In this context, the orthopalladated complexes are very promising, especially due to the chemical similarity between palladium(II) and platinum(II) metals, as well as providing that non-genotoxic compounds can be obtained. In the present doctoral thesis, six new orthopalladated *L*-phenylalanine-methyl-ester (LFME) complexes were obtained, namely: an azide dimer with the formula $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, four complexes with the formula general $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, where $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$ and PTA = 1,3,5-triazo-7-phosphoadamantane; and a complex resulting from the 1,3-dipolar cycloaddition reaction: $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$, where Tria = triazolate. The complexes were properly characterized by NMR techniques (^1H , ^{13}C and ^{31}P) and ^{15}N for the azide derivatives; Mass Spectrometry (ESI) (with the exception of $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$), elemental analysis (C,H,N,S) and single crystal XRD (only $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$). In vitro cell viability assays of $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$ against tumor cell lines A549 (lung), MDA-MB-231 (breast) and A2780 (ovary) demonstrated greater activity of compound against the A2780 lineage, in addition to low toxicity against the non-tumor MRC-5 lineage (lung). Interaction studies with the biomolecules Human Serum Albumin (HSA) and DNA revealed a considerable affinity for HSA, but a low affinity for DNA.

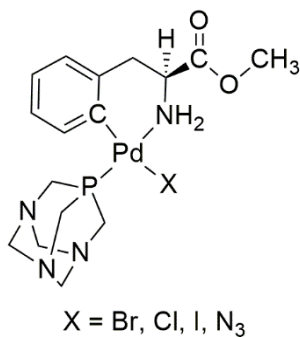
Keywords: Orthopalladated complexes, *L*-phenylalanine-methyl-ester, triazolate, cell viability, Human Serum Albumin (HSA), DNA.

FÓRMULAS ESTRUTURAIS

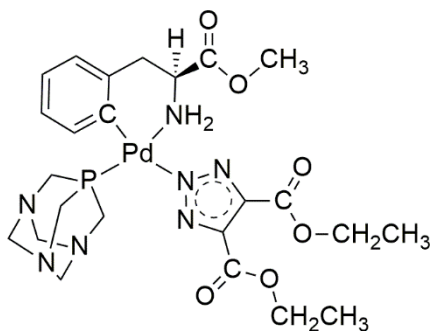
Dímeros precursores



Produtos da clivagem dos dímeros



Produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar



SUMÁRIO

Problemática	16
1. Câncer	16
2. Cisplatina: uso, resistência, toxicidade.....	21
Conceitos básicos	27
1. Compostos organometálicos e ciclometalados do grupo 10.....	27
2. Ortometalados de paládio – Ortopaladados.....	33
3. Ortometalados com atividade biológica.....	41
HIPÓTESE	45
OBJETIVOS	51
PARTE EXPERIMENTAL	52
1.1- Metodologia.....	52
1.1.1- Sínteses.....	52
1.1.2- Obtenção dos monocristais.....	53
1.2- Metodologia dos estudos biológicos	53
1.2.1- Ensaio de viabilidade celular.....	53
1.2.2- Leitor de microplacas e detector.....	54
1.2.3- Preparo da solução Tampão Tris-HCl.....	54
1.2.4- Preparo da solução de ctDNA (<i>Calf thymus</i>).....	54
1.2.5- Preparo da solução do corante Hoechst 33258.....	55
1.3- Ensaio da supressão de fluorescência da HSA.....	55
1.4- Ensaio com a biomolécula ctDNA.....	56
1.4.1- Titulação espectrofotométrica do DNA por UV-Vis.....	56
1.4.2- Ensaio de competição com Hoechst 33258 pelo DNA.....	57
2- Caracterização dos compostos	57
2.1- Análise elementar (C,H,N,S).....	57
2.2- Espectrometria de massas (ESI).....	58
2.3- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	58
2.4- Difração de raios X em monocristal.....	58
3. Sínteses	59
3.1- Síntese do derivado de L-fenilalanina metil-éster com triflato.....	59
3.2- Síntese dos dímeros precursores.....	60
3.3- Síntese dos complexos mononucleares.....	64
3.4- Síntese do produto de cicloadição.....	68
4. Resultados e discussão: caracterização dos compostos	69
4.1- Análise elementar (C,H,N,S).....	70
4.2- Espectrometria de massas (ESI).....	71
4.3- Difração de raios X em monocristal.....	89
4.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	93
5.0- Resultados e discussão: estudos biológicos	129
5.1- Ensaio de viabilidade celular com MTT.....	129
5.2- Ensaio da supressão de fluorescência da HSA.....	133
5.3- Ensaio de interação com o DNA.....	139
6. Considerações finais.....	142
REFERÊNCIA	144
ANEXO	153

Problemática

1. Câncer

No universo das questões mais intrigantes que a ciência se debruça, a problemática do câncer ocupa uma posição privilegiada. Para cada uma das principais áreas do conhecimento humano, é possível indagar ao menos uma questão atualmente sem resposta:

- **Na física:** qual o tamanho do Universo físico?¹⁻³
- **Na química:** se os organismos vivos são compostos por átomos e o corpo humano, devido a sua complexidade, pode ser considerado um dos (senão o maior) laboratório que existe, por que, então, não é possível harmonizar ou mesmo manipular as diversas reações químicas de um organismo inanimado a fim de mudá-lo em animado? Em outras palavras: por que a vida só pode ser por nós gerada e transmitida, mas nunca criada?
- **Na biologia-medicina:** qual a causa *exata* do câncer? Embora muitos dos fatores de risco que provocam o câncer tenham sido identificados, tais como, genética, tabagismo, agentes infecciosos e dieta; mas que antes contribuem para o desenvolvimento do câncer do que apontam a sua real causa.

Apesar da indagação acerca do câncer ser extensivamente abordada pela biologia e medicina, é indubitável que os maiores progressos feitos até então foram compassados pela química, confirmando que esta é, de fato, a “ciência central”.

O câncer é comumente definido como um conjunto de mais de 200 doenças que têm em comum o crescimento e a multiplicação de células anormais que, eventualmente, se espalham por outros tecidos do corpo num processo denominado de metástase (figura 1)⁴.

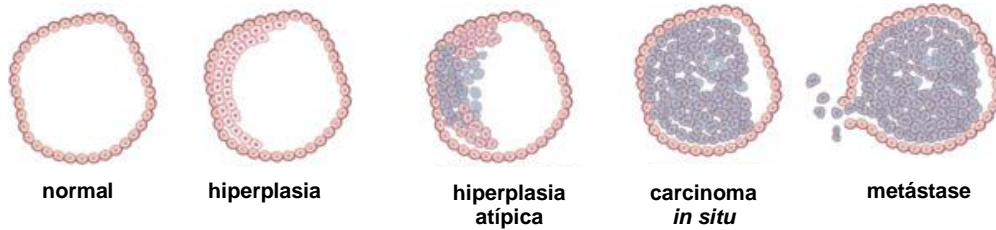


Figura 1: Surgimento e evolução das células tumorais até a metástase. Fonte: Nature Education, 2014.

Essas células anormais que dão origem ao câncer tiveram seus respectivos genes mutados. É importante salientar que essa mutação pode ocorrer por fatores externos (de risco) ou por um defeito no gene que foi herdado dos antepassados, sendo este último mais raro. Uma classe de células que tem sido um dos principais focos no estudo câncer, e que revelam a grande complexidade dessa problemática, é a classe das células-tronco tumorais (figura 2). Por serem capazes de, à semelhança das células-tronco normais, darem origem aos mais variados tipos de células de uma classe de tecido em particular, as células-tronco tumorais são as principais responsáveis pelo crescimento sustentado e descontrolado de tumores malignos, resistência a tratamentos de quimioterapia e radioterapia, além de causarem recidiva do câncer e metástase⁵.

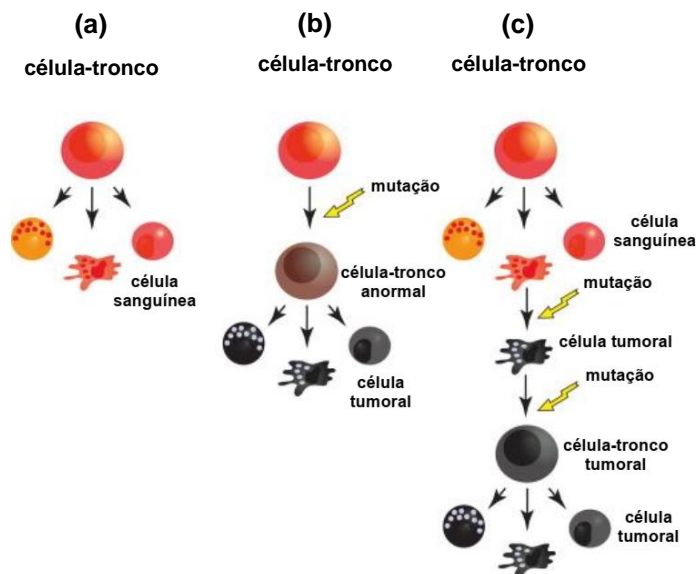
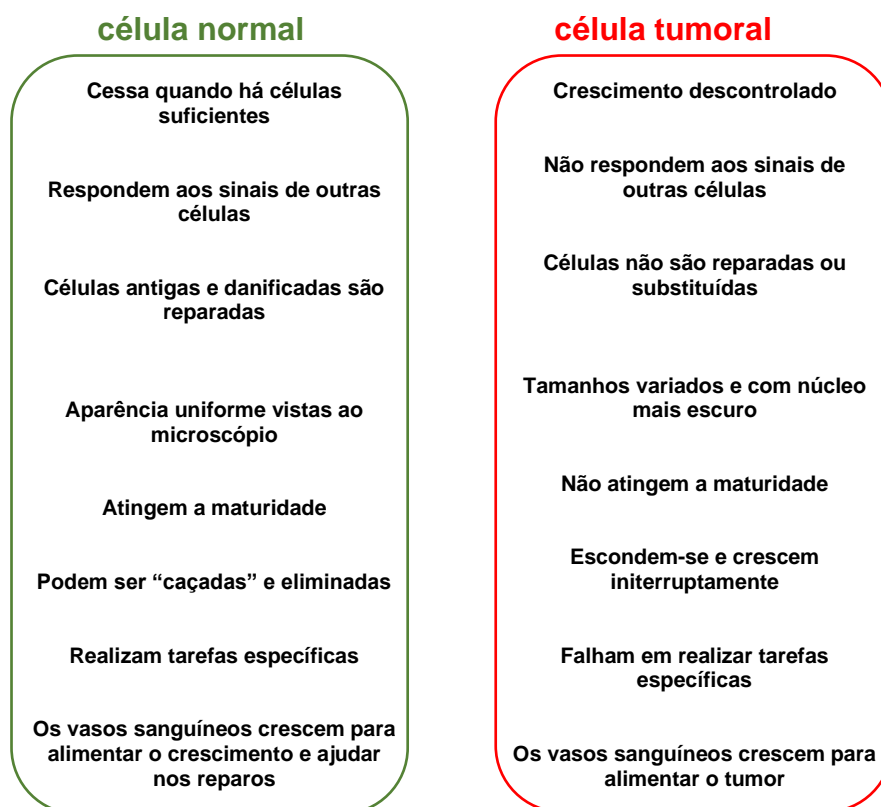


Figura 2: Processo de divisão de uma célula-tronco sanguínea normal (a). Havendo mutação na célula-tronco (b), esta se mudará em uma célula-tronco tumoral, dando origem às respectivas células tumorais do tecido em questão (sanguíneo). Em (c) é mostrada a capacidade que uma célula tumoral possui de mudar, após outra mutação, em célula-tronco tumoral, que por sua vez repetirá o processo ocorrido em (b). Fonte: Cancer Stem Cells⁵.

Clinicamente, quando o câncer se instala no organismo humano, é como se um “universo à parte” de células estranhas passasse a competir com as células normais pela sua existência no organismo humano. As células tumorais podem sim ser consideradas “à parte” pois assumem funções completamente díspares àquelas inerentes às células normais, especialmente no que concerne às características de: crescimento, comunicação, reparação e morte celular, aparência, maturação, evasão do sistema imunológico, função e suprimento de sangue⁶⁻¹⁰.

Resumidamente:



A dinâmica do surgimento, crescimento e disseminação de células tumorais através do organismo ainda é muito pouco conhecido. Recentemente, um estudo revelou um dado espantoso sobre o modo como as células tumorais circulantes se espalham, utilizando o meio de disseminação hematogênica¹¹. Foi observado que pacientes acometidos de câncer de mama experimentavam um aumento do número de células tumorais circulantes (CTCs) e do cluster CTC-WBC (célula tumoral circulante associada com glóbulos brancos) – responsáveis por causar a metástase – durante o sono, de modo que os hormônios que regulam o ritmo circadiano como melatonina, testosterona e glicocorticóides, ditam a dinâmica de geração das células

circulantes. Esse aumento é ainda mais significativo à medida que o paciente atingia os estágios mais avançados do câncer (figura 3). A associação da célula tumoral circulante com os glóbulos brancos é, atualmente, um dos principais biomarcadores que dão o indício da existência de metástase. No entanto, seu papel ainda não é conhecido, sendo apenas compreendido como um novo mecanismo usado pelas células tumorais para sua disseminação.

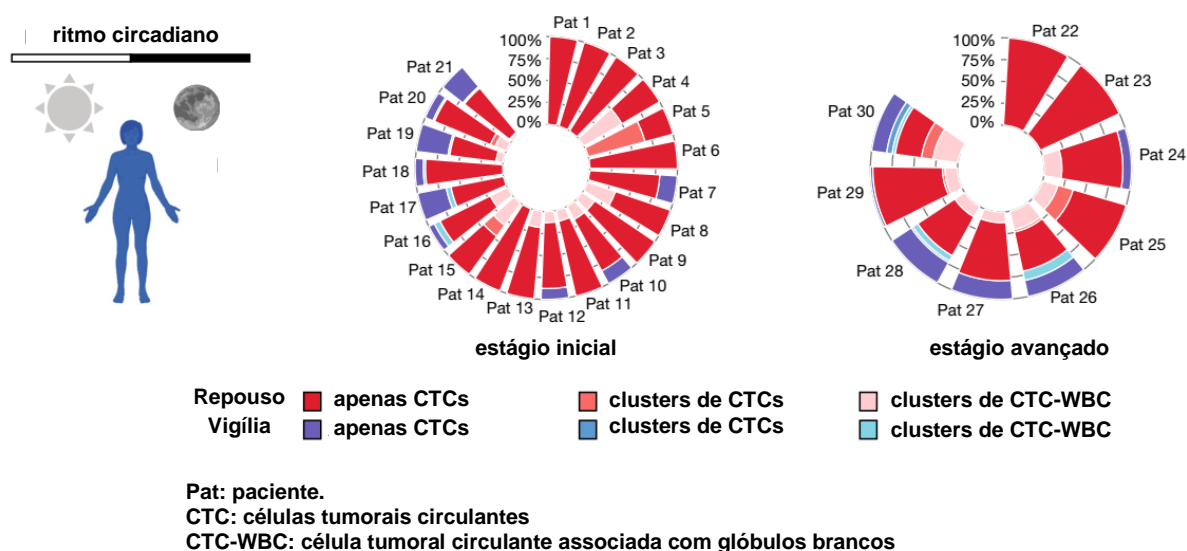


Figura 3: Histogramas radiais mostrando as porcentagens de CTCs e de clusters de CTC-WBC em 21 pacientes em estágio inicial da doença e em 9 pacientes em estágio avançado da doença, durante os períodos de repouso e de vigília. Fonte: Diamantopoulou, 2022.

Isso demonstra o impressionante caráter oportunista dessa doença, capaz de utilizar os meios mais “nobres” que o organismo possui de se recuperar e restabelecer, como o é o período do sono, para promover o mecanismo mais letal da doença: a metástase.

A classe das células-tronco tumorais, assim como a misteriosa e ao mesmo tempo assustadora dinâmica das células tumorais circulantes que desencadeiam metástase durante o sono, são exemplos que ilustram a profundidade da grande complexidade que é a problemática do câncer. À medida que pesquisas nessa área avançam, percebe-se o quanto se está distante de uma plena compreensão ou solução do problema, pelo contrário, a problemática vai ganhando um caráter sempre mais “arrojado”.

Com um estilo de vida cada vez mais propício ao surgimento dos mais diversos tipos de cânceres, homens e mulheres têm convivido por incontáveis

gerações com todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares. O *Global Cancer Observatory* estima que até 2040 observar-se-á um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Em mulheres, o câncer de mama é o de maior incidência e mortalidade (figura 4, A)¹². Nos homens, o câncer de pulmão é o maior em incidência e mortalidade (figura 4, B)¹².

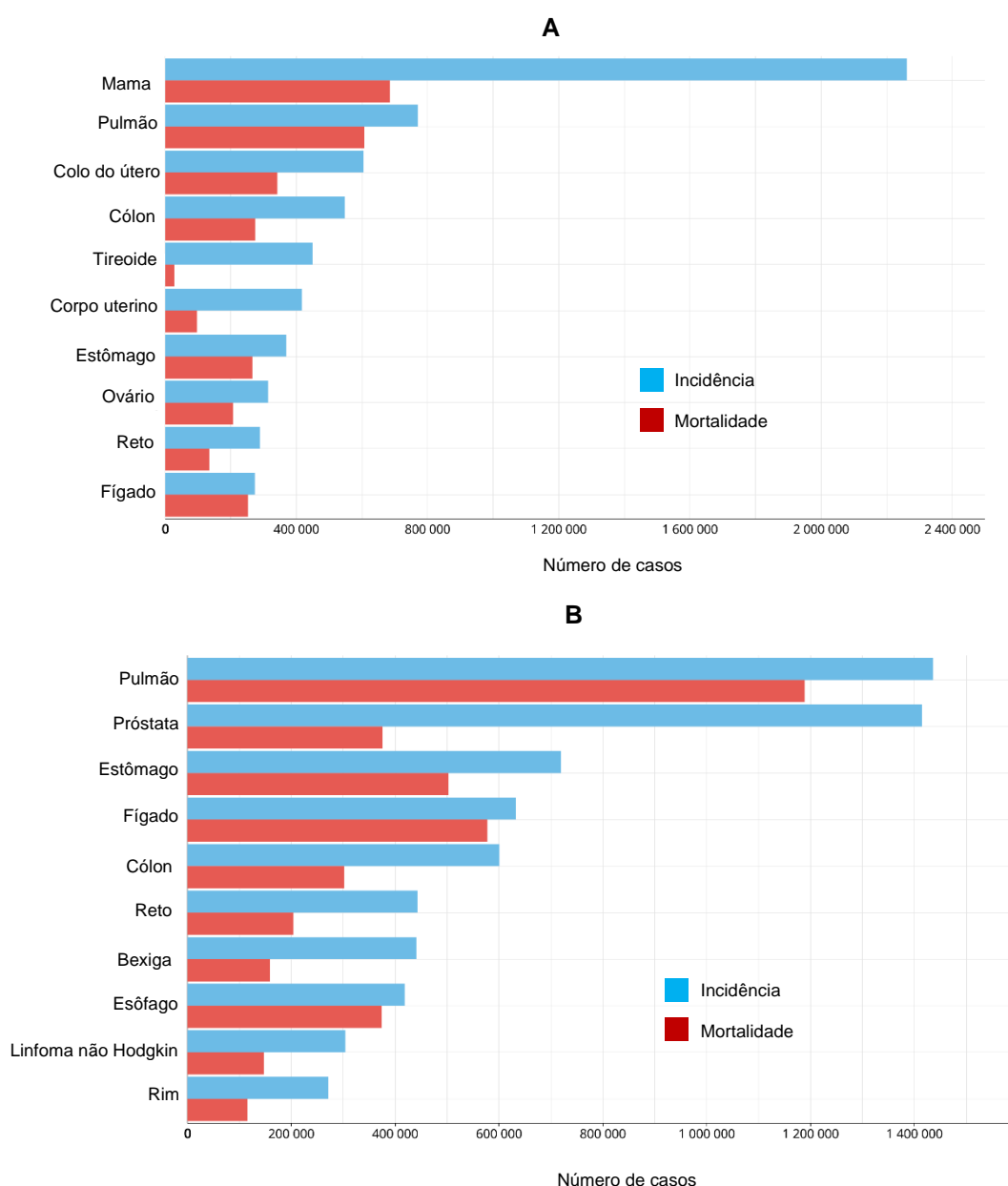


Figura 4: Número estimado de casos incidentes e mortes no mundo em 2020 para mulheres (A) e homens (B), na faixa etária 0-85 anos. Fonte: Adaptado de *Global Cancer Observatory*, 2023.

No presente momento, existem diversos tratamentos para o câncer, os seis tipos mais comuns são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, imunoterapia e o transplante de medula óssea, o mesmo que transplante de células-tronco. A escolha do tipo de tratamento dependerá do estágio no qual o câncer se encontra, podendo ocorrer também a combinação de diferentes tratamentos. A química teve (e tem) uma imensa contribuição no desenvolvimento de substâncias quimioterápicas que promovem o cessamento ou desaceleram o crescimento de células tumorais que têm como característica inerente o rápido crescimento e divisão. Devido a particularidade dos quimioterápicos de atuarem diretamente na célula tumoral, essas substâncias auxiliam na eficácia de outros tratamentos, como por exemplo, na diminuição do tamanho do tumor antes que este seja removido por cirurgia ou radioterapia; destrói células tumorais remanescentes do tratamento por cirurgia ou radioterapia. Em suma, a quimioterapia auxilia na melhor eficácia dos demais tratamentos¹³⁻¹⁶.

2. Cisplatina: uso, resistência, toxicidade

Um passo de grande importância dado pela química no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos foi aquele de 1965 liderado por Barnett Rosenberg, então professor de química e biofísica na Universidade do Estado de Michigan, nos EUA. Rosenberg observou: sais de platina estariam exercendo um forte efeito antiproliferativo em organismos vivos. O experimento conduzido por Rosenberg consistiu no estudo do efeito da passagem da corrente elétrica em uma solução contendo bactérias *Escherichia coli*, na presença de eletrodos de platina. À medida que a corrente elétrica passava na solução, as bactérias cessavam sua replicação, porém continuavam a crescer em comprimento, cerca de 300 vezes maior do que o normal. Rosenberg inicialmente atribuiu essa ação antiproliferativa à corrente elétrica. No entanto, após estudos mais minuciosos, concluiu-se que uma das substâncias geradas a partir do eletrodo de platina era a verdadeira responsável pela ação antiproliferativa observada¹⁷. Após a identificação da substância, esta ficou então conhecida como cisplatina. Em seguida, no ano de 1970, a equipe de Rosenberg realizou experimentos *in vivo* em camundongos com a cisplatina no intuito de investigar sua capacidade de inibir a divisão celular nos tumores Sarcoma

180 e Leucemia L1210. Observou-se que a cisplatina teve uma eficácia de até 100% na inibição do crescimento desses tumores¹⁸. No ano de 1972, em parceria com o *National Cancer Institute*, deu-se início aos testes clínicos e em 1978 a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o uso da cisplatina para os cânceres de testículo e de ovário, e em 1993 para o câncer de bexiga; sendo, ainda hoje, a utilização para o câncer de testículo a mais eficaz. O espectro de atividade anticâncer da cisplatina foi crescendo progressivamente, podendo ser utilizada para outros tipos de cânceres, incluindo pulmão, aparelho gástrico, mama, cabeça, pescoço, região cervical, mesotelioma maligno e outros tumores mais raros. Concomitantemente, os efeitos indesejados do uso da cisplatina também se tornaram evidentes, especialmente a resistência (intrínseca e adquirida) e a toxicidade, sendo a nefrotoxicidade a mais comum (figura 5)¹⁹

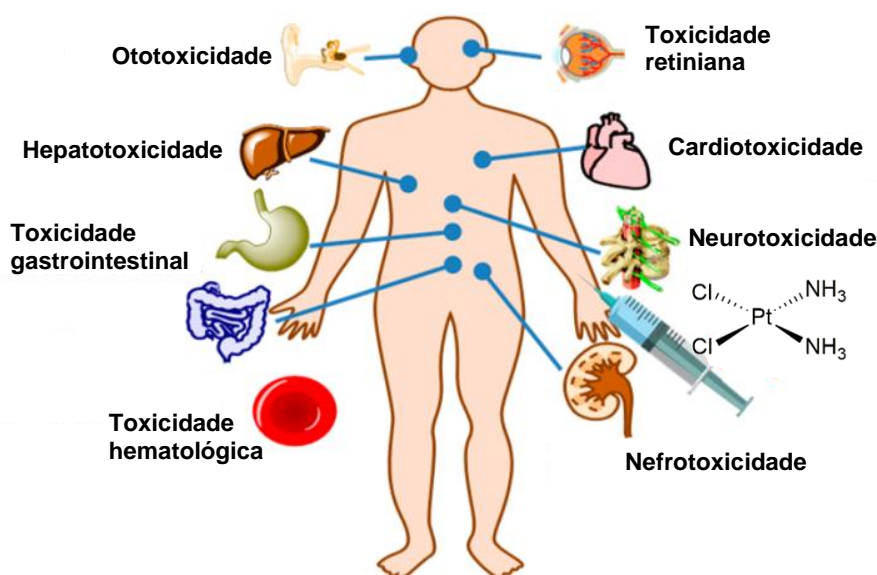


Figura 5: Exemplos das toxicidades mais comuns ocasionadas pelo uso da cisplatina. Fonte: Adaptado de Qi et al., 2019.

Para contornar essas limitações decorrentes do uso da cisplatina, se faz necessário abordar o problema a partir de considerações feitas acerca do mecanismo de ação da cisplatina – quando em meio biológico – e quais refinamentos estruturais poderiam ser feitos a fim de superar as limitações.

O mecanismo de ação da cisplatina é bastante conhecido. Com uma constituição química relativamente simples, a molécula de complexo da cisplatina pode facilmente trocar seus ligantes, transpondo assim as barreiras mais comuns do meio extra e intracelular até atingir seu alvo principal: o DNA. Ao ser administrada na

corrente sanguínea, a troca dos ligantes cloridos permite que a molécula de complexo permeie pelo interior da célula. Isso acontece devido a diferença nas concentrações de íons Cl^- do meio extra e intracelular. No citoplasma celular a concentração de Cl^- é menor do que no exterior, favorecendo o transporte passivo da cisplatina para o interior da célula (figura 6)²⁰.

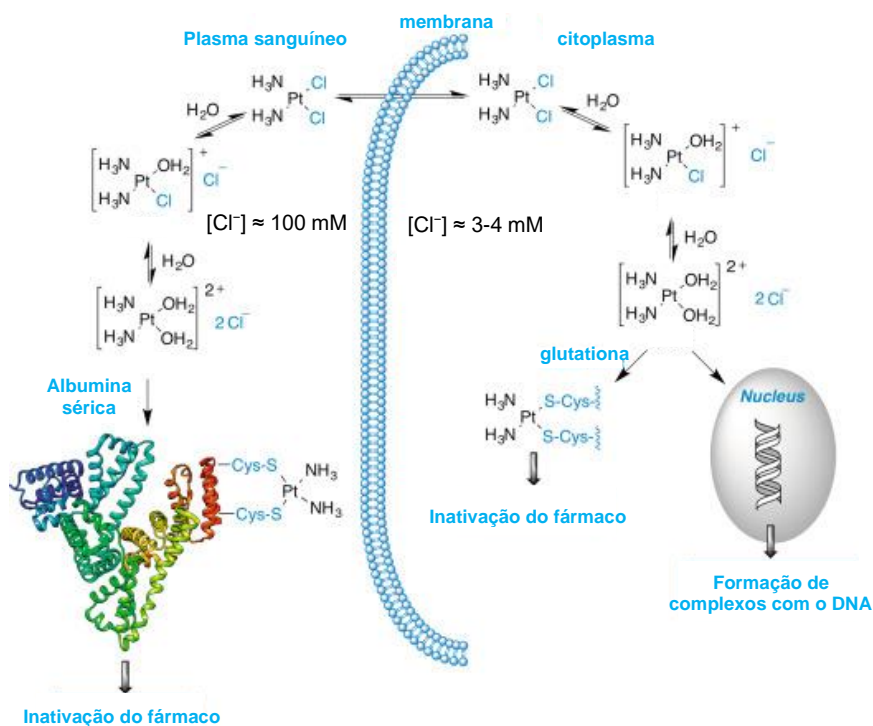


Figura 6: Mecanismo hidrolítico e potenciais alvos moleculares da cisplatina no interior das células. Fonte: Adaptado de Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs.

A menor concentração de íons cloreto no interior da célula promove a troca dos ligantes clorido por ligantes aqua, também como consequência do efeito *trans* exercido pelo ligante amino no clorido. É devido a essa hidrólise da molécula de complexo da cisplatina, com formação dos aquacomplexos, que esta é capaz de reagir com grande facilidade com alvos biomoleculares como proteínas, pequenas moléculas N,S-doadoras e DNA. Os modos de interação mais comuns da cisplatina com o DNA são mostrados na figura 7 a seguir.

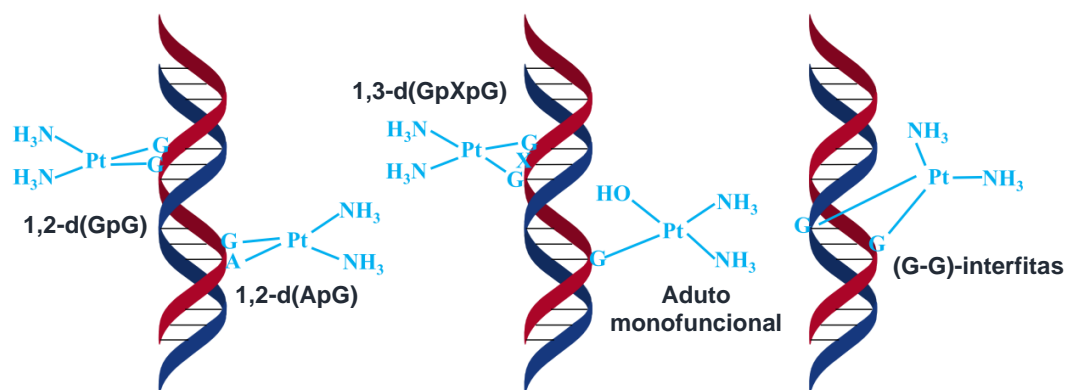


Figura 7: Complexos de ligação cruzada formados entre a cisplatina e o DNA. Fonte: Adaptado de Qi *et al.*, 2019.

Os aquacomplexos catiônicos $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ dificilmente seriam capazes de se difundirem no interior da célula sem antes se ligarem a esses alvos biomoleculares. No entanto, essa não-exclusividade da cisplatina pela biomolécula alvo (DNA) é o fator primário responsável por sua toxicidade e resistência^{21,22}. Experimentos demonstraram que, após a administração no meio celular, apenas 10% da cisplatina se liga ao DNA²³.

A atividade genotóxica/anticâncer da cisplatina, caracterizada pela indução das células tumorais à apoptose, é comumente associada à sua interação com o DNA nuclear. No entanto, novos estudos têm demonstrado que o DNA mitocondrial é um dos principais alvos da cisplatina e que mais contribui para a nefrotoxicidade. O rim possui uma alta densidade de mitocôndrias no túbulo renal proximal e a cisplatina tende a se ligar ao DNA presente nas mitocôndrias, causando um inchaço das mitocôndrias, sendo esta uma das primeiras alterações histopatológicas devido ao uso clínico da cisplatina. Além disso, o DNA mitocondrial tem uma capacidade de reparação muito pequena, o que aumenta a sensibilidade à toxicidade da cisplatina¹⁹. A elevada nefrotoxicidade foi alvo de intensos estudos desde antes da aprovação do uso clínico da cisplatina pela FDA em 1978. Ainda em 1977 um grupo de pesquisa liderado pelo Dr. Esteban Cvitkovic – que mais tarde lideraria também os estudos clínicos com oxaliplatina²⁴ –, associou a toxicidade renal da cisplatina com aquela observada quando há intoxicação por metais pesados, tal como o mercúrio, na qual o uso do diurético osmótico manitol reduziria a toxicidade renal aguda observada. Nesta correlação, experimentos *in vivo* em cães administrados com cisplatina e manitol revelaram uma inibição da toxicidade renal²⁵. A presença de íons cloreto durante a diurese poderia estar inibindo a hidrólise da

cisplatina, reduzindo assim sua toxicidade¹⁷. Essa foi uma evidência indireta de que uma possível manipulação estrutural na molécula de complexo da cisplatina poderia causar um efeito direto na redução da nefrotoxicidade, como também nos demais efeitos indesejados. A partir dessas manipulações ou refinamentos estruturais novas gerações de metalofármacos derivados da cisplatina foram desenvolvidos, sendo a oxaliplatina, de terceira geração, capaz de evitar a nefrotoxicidade^{26,27}.

Na figura 8 a seguir é mostrada uma lista, juntamente com a cisplatina, das gerações posteriores de metalofármacos que estão atualmente em uso^{28,29}.

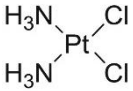
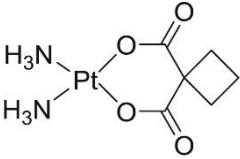
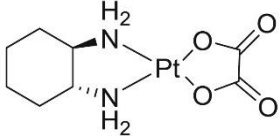
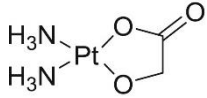
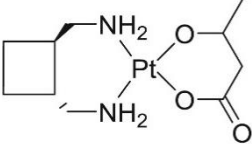
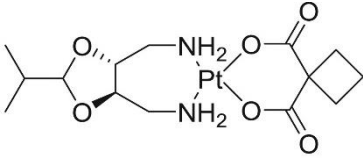
Metalofármaco	Geração	DLT (mais comum)	País com uso aprovado
 Cisplatina	Primeira	Nefrotoxicidade	Global
 Carboplatina	Segunda	Hemotoxicidade	Global
 Oxaliplatina	Terceira	Neurotoxicidade	Global
 Nedaplatina	Segunda	Mielossupressão	Japão
 Lobaplatina	Terceira	Trombocitopenia	China
 Heptaplatina	Terceira	Nefrotoxicidade	Coreia

Figura 8: Metalofármacos anticâncer que estão em uso clínico atualmente no mundo ou em alguns países. DLT = Toxicidade Limitante de Dose. Fonte: Autor.

É importante destacar que muitas outras substâncias derivadas da cisplatina também se encontram atualmente em fase de testes clínicos^{28,29}. Certamente, as potencialidades inspiradoras da cisplatina ainda não se exauriram, sendo, portanto, um excelente ponto de partida para a obtenção de novos e poderosos metalofármacos antitumorais.

Os refinamentos estruturais da cisplatina que originaram e originam um grande número de potenciais metalofármacos, tiveram como característica unânime a substituição dos ligantes da esfera de coordenação da platina. Mas uma outra aproximação tem se revelado bastante promissora: a substituição da platina pelo paládio. Devido às similaridades químicas entre os íons Pt(II) e Pd(II), como o raio atômico da Pt(II) (2,13 Å) e Pd(II) (2,10 Å), assim como as configurações eletrônicas do tipo d^8 , o paládio se mostra um metal estratégico no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos com baixa toxicidade quando comparados àqueles derivados da cisplatina. No entanto, diferentemente da cisplatina, o composto *cis*-[Pd(NH₃)₂Cl₂] não possui atividade anticâncer devido a sua rápida troca de ligantes, cerca de 10⁵ vezes mais rápida do que *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], não permitindo que o complexo chegue intacto ao DNA, principal alvo biológico da cisplatina³⁰. Essa maior labilidade dos complexos de paládio pode ser atribuída, dentre outras razões, à facilidade que o paládio tem de aumentar seu número de coordenação devido à pequena diferença energética existente entre os níveis $(n - 1)d \rightarrow np$, o que facilita uma possível reibridização. Esta diferença energética, nos metais de transição, diminui na seguinte ordem: 5d > 4d > 3d. Logo, como a platina(II) possui configuração 5d⁸, seus complexos serão mais estáveis do que aqueles de paládio(II) que possui configuração 4d⁸.³¹

Na química de coordenação, a estabilidade do centro metálico será proporcionada, principalmente, pela natureza do ligante. E ligantes do tipo polidentados quelantes podem facilmente dar origem a complexos estáveis de paládio. Os complexos organometálicos ciclometalados têm sido bastante utilizados, pois o anel ciclometalado é formado por ligações $\sigma(\text{Pd} - \text{C})$ além de ligações com heteroátomos, que estabilizam o centro metálico de Pd(II). Na próxima seção serão abordados conceitos básicos da química dos compostos organometálicos ciclopaladados e como explorar essas características no contexto do planejamento de novos metalofármacos.

Conceitos básicos

1. Compostos organometálicos e ciclometalados do grupo 10

Os compostos organometálicos são definidos como espécies químicas que possuem ao menos uma ligação química metal-carbono (M – C), definição esta que pode ser ampliada ao considerar também os compostos organometalóides, caracterizados pela presença de ligação E – C, onde E = B, Si, Ge, Sn, As, Sb, Te³².

A polaridade característica da ligação química metal-carbono ($M^{\delta+} - C^{\delta-}$) confere certa singularidade aos compostos organometálicos, pois é o que distingue esses compostos daqueles puramente orgânicos onde o carbono, geralmente mais eletropositivo, encontra-se ligado a elementos não-metálicos como nitrogênio, oxigênio, flúor, cloro ou bromo, por exemplo. Dependendo da natureza do metal, essa ligação poderá ser de caráter iônico ou covalente, tornando a porção carbaniônica mais ou menos susceptível ao ataque por eletrófilos, como também o metal ao ataque por nucleófilos. Essa característica da ligação organometálica é um dos aspectos mais importantes que governam a reatividade desses compostos³³.

A química de coordenação inorgânica e organometálica, com seus complexos de metais de transição, expandiu consideravelmente a compreensão até então existente acerca da natureza da ligação química observada nessa classe de compostos. Desde o surgimento dos primeiros complexos, muitos esforços foram empreendidos na tentativa de explicar suas respectivas estruturas e composição. Devido à presença de orbitais *d* com energia e simetria adequadas para se sobrepor com os orbitais dos ligantes, os complexos com metais de transição são uma revolução em termos de possibilidades estruturais, de reatividade e aplicação. O primeiro complexo organometálico de metal de transição, denominado sal de Zeise (figura 9, (a)), permaneceu um mistério por muitas décadas após seu descobrimento. A presença da ligação sinérgica do tipo retrodoação (figura 9, (b)) entre o átomo metálico de platina e o ligante eteno, além da geometria quadrática plana do complexo, é o que confere beleza e elegância a esse complexo³⁴.

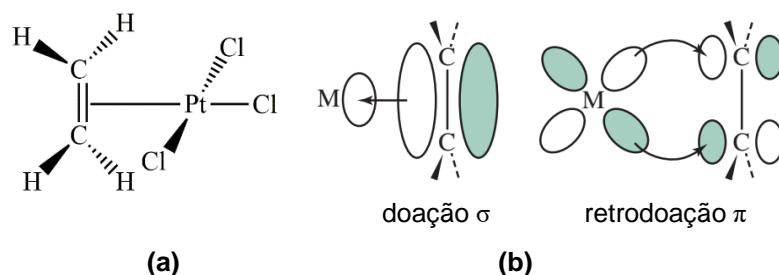


Figura 9: Estrutura do ânion $[\text{Pt}(\eta^2\text{-C}_2\text{H}_4)(\text{Cl}_3)]^-$ do sal de Zeise em (a). Representação da ligação sinérgica de retrodoação em (b). Fonte: Adaptado de Miessler 2014.

A elucidação estrutural do sal de Zeise por difração de nêutrons revela, de forma precisa, algumas das principais particularidades dos complexos quadráticos planos³⁵. A coordenação do ligante eteno através da dupla ligação ocorre de modo que seus carbonos permaneçam equidistantes da Pt(II). A retrodoação $d\pi\text{-}p\pi^*$ é confirmada pelo alongamento da ligação C – C, quando comparada com o eteno na forma livre. Além disso, a forte influência *trans* do ligante eteno resulta em um alongamento da ligação Pt – Cl *trans* ao eteno.

A investigação da atividade biológica do sal de Zeise tem demonstrado sua capacidade de inibir a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), associada com o desenvolvimento, proliferação e metástase de células tumorais. Essa inibição enzimática ocorre especialmente devido ao efeito *trans* exercido pelo eteno no ligante clorido, possibilitando a troca desse clorido por resíduos de aminoácidos presentes na enzima COX-2 (figura 10)³⁶⁻³⁷.

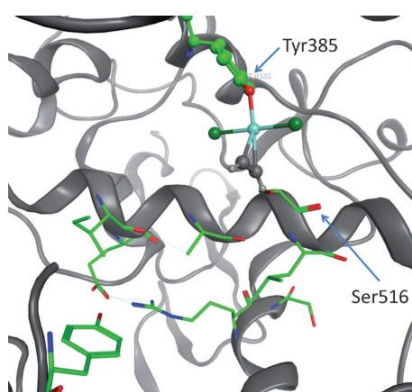


Figura 10: Interações dos resíduos Tyr385 e Ser516 do sítio ativo da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) com o fragmento do sal de Zeise. Fonte: Gust 2015.

Nesse contexto da atividade biológica do sal de Zeise, é interessante destacar as diferenças significativas observadas entre o sal de Zeise e seu análogo *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$, a cisplatina. Sintetizado no ano de 1845, duas décadas após a

síntese do sal de Zeise, a cisplatina se tornou o metalofármaco mais utilizado no tratamento do câncer³⁸. Seu mecanismo de ação é predominantemente genotóxico, ou seja, o complexo *cis*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂] interage diretamente com as fitas do DNA da célula tumoral, impedindo sua replicação. No entanto, apesar das similaridades estruturais com o sal de Zeise, a cisplatina é praticamente inativa quanto a sua capacidade de inibir a enzima COX-2, enquanto o sal de Zeise não apresenta atividade antitumoral com mecanismo genotóxico. Embora ambos os complexos sigam, nos primeiros estágios dos seus respectivos mecanismos de ação, os mesmos eventos químico-estruturais (hidrólise do ligante em *trans*, interação com a biomolécula etc.), uma simples diferença na natureza dos ligantes é capaz de conduzir esses complexos por vias distintas de atuação, porém com a mesma finalidade: combater células tumorais. Assim, a importância de sintonizar a natureza do ligante, com a natureza do metal e a geometria do complexo, por exemplo, se torna evidente quando se pretende obter complexos inorgânicos e organometálicos para uma determinada aplicação.

Os complexos organometálicos do tipo ciclometalados, nos quais a ligação M – C é estabilizada pela coordenação intramolecular de outro(s) átomo(s) ligante(s) ao centro metálico M, são repletos de características que fazem desses compostos uma classe muito especial na química de coordenação organometálica. O primeiro ciclometalado de metal de transição, sintetizado em 1963 (figura 11)³⁹, não foi imediatamente denominado de ciclometalado devido, principalmente, às incertezas acerca do modo como os ligantes se coordenavam ao centro metálico de níquel, como também da natureza, ou mesmo existência, da ligação σ (M – C) característica dessa classe de compostos.

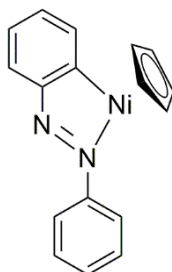


Figura 11: Esquema estrutural do primeiro complexo ciclometalado sintetizado resultante da reação entre o metaloceno Ni(η^5 -C₅H₅)₂ e azobenzeno. Fonte: Autor.

Em 1965, uma série de novos ciclometalados, com derivados do azobenzeno e com os metais paládio e platina, foram sintetizados⁴⁰. Esses novos

complexos, além de contribuírem para uma completa descrição da ciclometalação dos metais do grupo 10, impulsionaram definitivamente a classificação e sistematização dos ciclometalados, assim como a investigação da natureza da ligação $\sigma(M - C)$ e as características reacionais dessa classe de compostos. O experimento realizado para a constatação da existência da ligação $M - C$ agregou também a importante informação de que ciclometalados derivados de compostos aromáticos são formados por ortometalação, ou seja, ao realizar a ciclometalação de um composto aromático observar-se-á a coordenação do carbono que esteja na posição *orto* ao substituinte que realiza a coordenação intramolecular (figura 12). Assim, considerando a ciclometalação de compostos aromáticos, ortometalado torna-se sinônimo de ciclometalado.

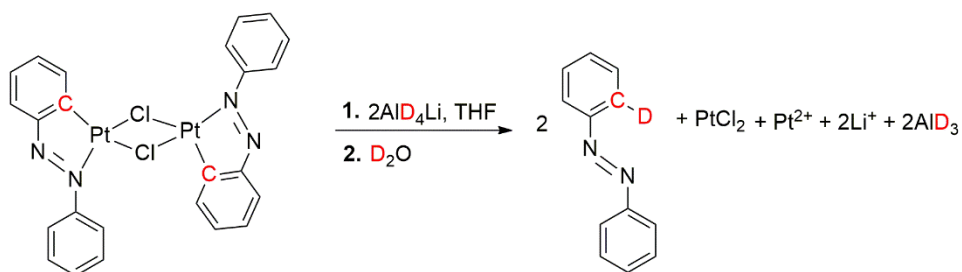


Figura 12: Reação de redução do azobenzene com deutereto de lítio e alumínio (AlD_4Li). A presença do deutério ligado ao carbono *orto* ao substituinte do anel é prontamente verificada por RMN de 1H , confirmando assim a natureza ortometalada do complexo. Fonte: Autor.

De forma geral, para que uma ciclometalação aconteça, é necessária a ativação prévia da ligação $C - H$, que ocorre como consequência da coordenação reversível do átomo ligante Y ao centro metálico M (figura 13)⁴⁴. Essa ativação favorece a abstração do próton, resultando na formação da ligação $\sigma(M - C)$ ⁴¹.

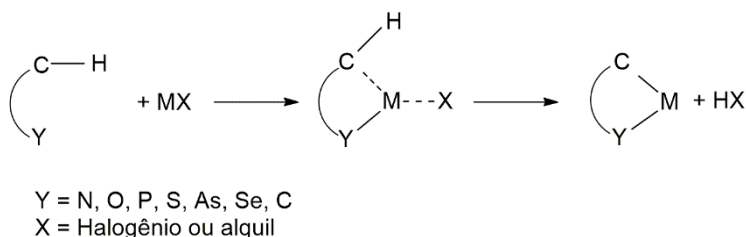


Figura 13: Esquema geral de uma reação de ciclometalação. Fonte: Adaptado de Meseras 2005.

A reação de ortometalação consiste na formação de uma ligação $\sigma(M - C)$ decorrente da abstração do próton de um substrato aromático. A coordenação do átomo Y ao centro metálico induz a abstração do próton diretamente ligado ao

carbono *orto* ao grupo Y. É exatamente devido a essa regioselectividade que a ortometalação é possível. A ciclometalação com os metais M^{2+} do grupo 10 deve acontecer de modo que o complexo resultante tenha geometria quadrática plana, a fim de que os ângulos de ligação fiquem próximos dos 90° , valor ideal para essa geometria, pois dessa forma é possível também acomodar melhor os átomos hibridizados sp^2 e sp^3 do grupo ortometalado que possuem ângulos ideais na faixa de $109-120^\circ$. Para que esses requisitos sejam satisfeitos, o tamanho ideal do anel ciclometalado deve ser de 5 ou 6 membros. Como já mencionado, devido a polaridade da ligação M – C, esta pode se tornar susceptível ao ataque tanto por eletrófilos como por nucleófilos, mas a formação do ciclometalado implica na formação de um anel quelato, então o efeito quelato resultante confere grande estabilidade ao anel ciclometalado.

A ativação da ligação C – H é um dos tópicos mais importantes da química organometálica, e a reação de ciclometalação é um dos meios mais eficazes para esse fim. Na química são muitas as áreas que exploram os ciclometalados, como por exemplo na química medicinal, na catálise e na síntese orgânica. Dentre os três metais do grupo 10, o paládio é o metal mais amplamente utilizado na síntese desses compostos. No entanto, devido a sua cinética característica, sua utilização pode se tornar desafiadora. No exemplo mostrado na figura 12, os autores escolheram realizar o experimento com o complexo de platina, afirmando também que as sínteses para obtenção dos ciclometalados de paládio se mostraram cineticamente mais rápidas do que aquelas com a platina. É muito provável que isso possa ter gerado consequências no momento da análise por RMN, por exemplo, pois se determinado evento a ser analisado ocorrer em uma faixa de tempo muito rápida e que esteja fora do limite de detecção do experimento, não será possível obter um resultado analítico satisfatório. Essa maior cinética de troca dos ligantes, comum aos complexos de paládio, se comparados aos de platina, é uma característica que tem sido observada desde os sistemas mais simples como *cis*- $[Pt(NH_3)_2(Cl)_2]$ (cisplatina) e *cis*- $[Pd(NH_3)_2(Cl)_2]$, e que se tornou um dos principais desafios a serem transpostos na obtenção de complexos de paládio estáveis. Ao sintonizar a natureza dos átomos ligantes com o efeito quelato que a ciclometalação promove, é possível aumentar a estabilidade dos complexos de paládio⁴²⁻⁴⁴.

Apesar da estabilidade do anel ciclometalado geralmente ser maior naqueles de 5 membros do que nos de 6 ou 4 membros, mais uma vez a sintonização da natureza dos átomos ou grupos coordenantes com a formação do anel quelato desempenha um papel fundamental na obtenção do ciclometalado estável⁴⁵. Na figura 13 a seguir são mostrados dois complexos de paládio, sendo aquele em (b) um ciclometalado de 6 membros³⁴. Ambos os complexos tiveram suas respectivas estruturas confirmadas por DRX em monocristal. É interessante ressaltar que o complexo em (a), embora não seja um ciclometalado, provém de uma reação de clivagem do dímero ciclometalado $[Pd(C^2,N-bzox)(\mu-Cl)]_2$, onde bzox = benzaldeído-oxima, com a difosfina 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (Dppf) que se coordena na forma quelante ao átomo de paládio(II)⁴⁶.

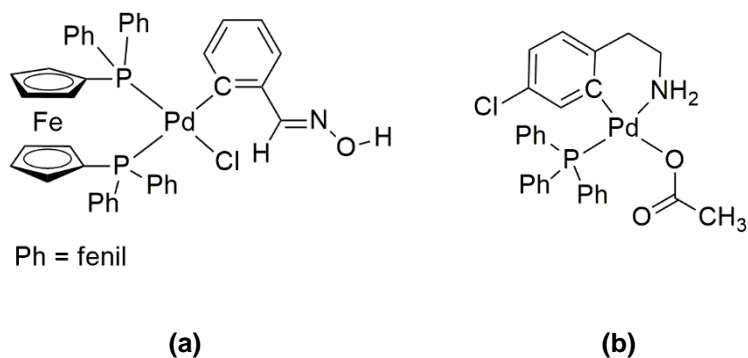


Figura 13: Em (a) é mostrado um complexo organometálico no qual seu anel ciclometalado sofreu uma abertura como consequência da coordenação bidentada do ligante Dppf. Em (b) é representado um ciclometalado de 6 membros. Fonte: Autor.

O exemplo mostrado na figura 13 é bastante apropriado para demonstrar a dependência da estabilidade de um anel ciclometalado com a natureza dos átomos ou grupos ligantes que estão posicionados em *trans*. No complexo em (a), embora inicialmente fosse um ciclometalado de 5 membros, o efeito *trans* exercido pelo átomo de fósforo da difosfina no átomo de nitrogênio do ciclometalado foi suficiente para causar a abertura do anel. Além disso, deve-se considerar também o efeito quelato dessa difosfina quando coordenada no modo bidentado. No ciclometalado em (b), a presença do ligante monofosfínico trifetilfosfina não foi capaz de ocasionar a abertura do anel ciclometalado de 6 membros, mesmo este sendo considerado menos estável do que um de 5 membros. Com isso, é possível concluir que a ortometalação se apresenta como um método promissor para a obtenção de ciclometalados de Pd(II) estáveis.

2. Ortometalados de paládio – Ortopaladados

Os metais de um mesmo grupo da tabela periódica são frequentemente descobertos juntos, podendo ainda acontecer de serem encontrados também os metais dos grupos imediatamente vizinhos. O paládio teve sua descoberta praticamente de forma acidental. No início de 1800, um trabalho em conjunto entre os cientistas William Hyde Wollaston e Smithson Tennant impulsionou o refino e a fabricação da platina. Com o objetivo de explorar potenciais minas de platina, Wollaston se dedicou ao estudo de algumas regiões da América do Sul onde, em 1803, veio a descobrir o metal paládio e logo depois, em 1804, o metal ródio^{47,48}. De acordo com o International Platinum Group Metals Association, nas minas nativas de platina, como aquelas da América do Sul, o metal paládio pode ser encontrado associado com a platina em minerais como a cooperita (Pt,Pd)S e a moncheita (Pt,Pd)(Te,Bi)₂.⁴⁹ Desde então, a associação do paládio com a platina tem sido muito além da constituição mineral natural de ambos os elementos.

Pertencente ao grupo 10 da tabela periódica, o paládio teve seu caráter reacional por vezes estudado em conjunto com os elementos desse grupo, o que permitiu traçar um perfil químico de um metal com propriedades únicas, tal como uma extensa atuação catalítica, podendo até mesmo ser considerado como o metal nobre com o caráter catalítico mais bem estudado, e fazendo com que pesquisadores granjeassem um prêmio Nobel por reações inéditas tendo o paládio como único protagonista⁵⁰. Atualmente, os catalisadores de paládio capazes de reagir com o metano não queimado de carros movidos a GNV têm sido um dos principais focos no contexto da redução de gases de efeito estufa, pois estima-se que o gás CH₄ tenha um potencial de cerca de 86 vezes maior do que o gás CO₂ de contribuir para o aumento do aquecimento global. E, não surpreendentemente, a associação da platina em catalisadores de paládio que oxidam o metano, como o Pd/CeO₂, que após a associação torna-se PtPd/CeO₂, aumenta consideravelmente o desempenho catalítico do paládio devido à influência da platina no estado eletrônico do paládio, embora o mecanismo, por ora, não tenha sido esclarecido⁵¹. Ainda como exemplo de características reacionais que fazem parte do perfil químico do paládio, as reações de substituição eletrofílica em sistemas aromáticos, ou ortopaladação, ganharam destaque após o trabalho pioneiro de Cope e Siekman que investigou a

natureza da ligação ortometalada $\sigma(M - C)$, mais precisamente no sistema ciclometalado de platina, pois o sistema com paládio se mostrou mais difícil de manipular (figura 4). Após este trabalho, o paládio se revelou como um metal que necessitaria de estudos mais minuciosos que auxiliassem numa melhor compreensão do seu comportamento reacional, motivando assim o desenvolvimento da química dos ortopaladados. As diferenças observadas na ortometalação dos derivados do azobenzeno com paládio ou platina, por exemplo, foram definitivamente estabelecidas pela utilização do azobenzeno na forma de organometálico de mercúrio. Essa estratégia promoveu a obtenção do dímero de paládio com rendimento quantitativo, porém foi ineficiente para obter qualquer quantidade significativa do dímero de platina (figura 14)⁵².

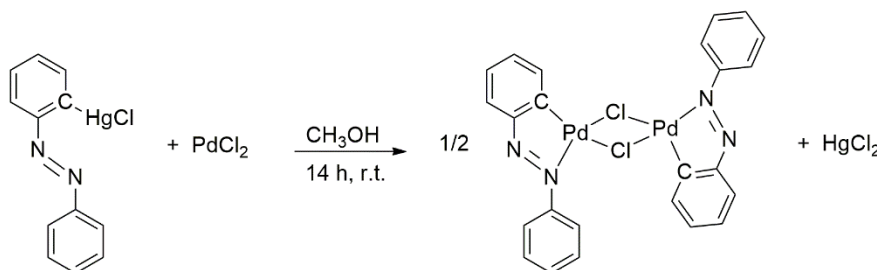


Figura 14: Esquema reacional da síntese do dímero de paládio a partir de um derivado organomercurio do azobenzeno. Fonte: Autor.

Nesta reação de obtenção do dímero de paládio com azobenzeno a partir do organomercurio, uma das características mais importantes acerca da reatividade do paládio que se pode notar é seu caráter eletrofílico. É possível deduzir essa informação se se considerar que a ligação química $Hg - C(sp^2)$ possui um caráter covalente pois as eletronegatividades de ambos os elementos são similares. Assim, essa ligação organometálica $Hg - C$ possui certa estabilidade, sendo estável, por exemplo, ao ar e à umidade. Além disso, não apresenta uma tendência para reagir com os eletrófilos orgânicos comuns, tais como haletos de alquila e compostos carbonílicos. Portanto, ao observar a especificidade dessa ligação $Hg - C$ de reagir com o paládio, é possível concluir que o paládio é um bom eletrófilo⁵³. O organomercurio do azobenzeno pode ser considerado uma peça-chave para a compreensão do modo como o paládio é adicionado a um anel aromático. De forma geral, a adição do mercúrio ao benzeno se dá através de uma substituição eletrofílica aromática (figura 15). Se houver um substituinte coordenante no anel,

essa adição será exatamente na posição *orto*, gerando um ortometalado, como observado no organomercúrio do azobenzeno.

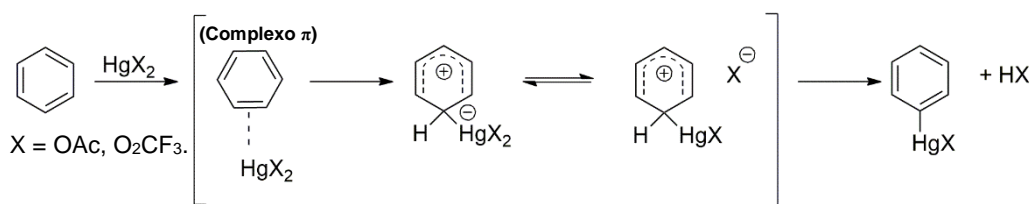


Figura 15: Adição eletrofílica do mercúrio ao anel benzeno. A formação do complexo π auxilia na formação da ligação $\sigma(\text{Hg} - \text{C})$. Fonte: Autor.

A utilização estratégica do organomercúrio do azobenzeno para a obtenção do dímero de paládio (figura 14) permite tirar duas conclusões de suma importância sobre a formação de um ortometalado de Pd(II): a adição do paládio ao anel aromático é, de fato, regioseletiva, já que apenas o produto ortometalado é obtido; o mecanismo de adição do paládio é idêntico ao observado com o mercúrio, podendo existir algumas variações mecanísticas, especificamente no modo de ativação da ligação C – H. Essa última conclusão é comprovada pelo primeiro estudo inédito feito acerca do mecanismo da reação de formação de um ortometalado de Pd(II), e que se tornou o mecanismo mais bem estabelecido (figura 16)⁵⁴.

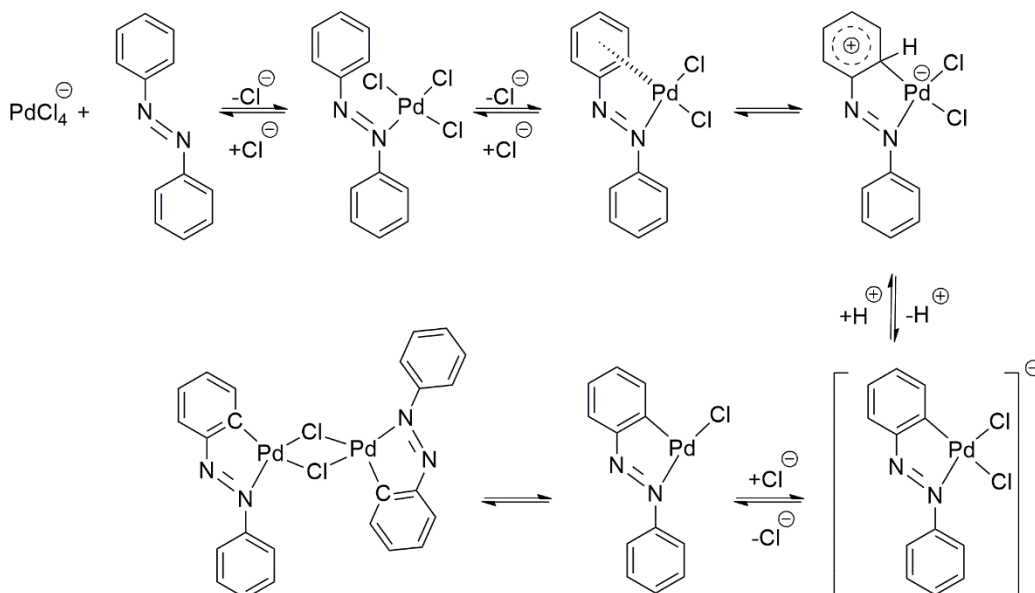


Figura 16: Mecanismo de ortopaladação através de substituição eletrofílica aromática com ativação da ligação C-H por meio da formação de complexo π . Fonte: Adaptado de Parshall 1970.

Nesta proposta de mecanismo, a ativação da ligação C – H ocorre no momento da formação do complexo π entre o anel a ser ortometalado e o paládio.

da reação de metátese, as espécies em ponte, geralmente haletos ou pseudohaletos, podem ser substituídos por outros haletos, pseudohaletos e CO, por exemplo. As reações de clivagem geram monômeros com propriedades especiais, estas introduzidas pela escolha adequada do ligante L.

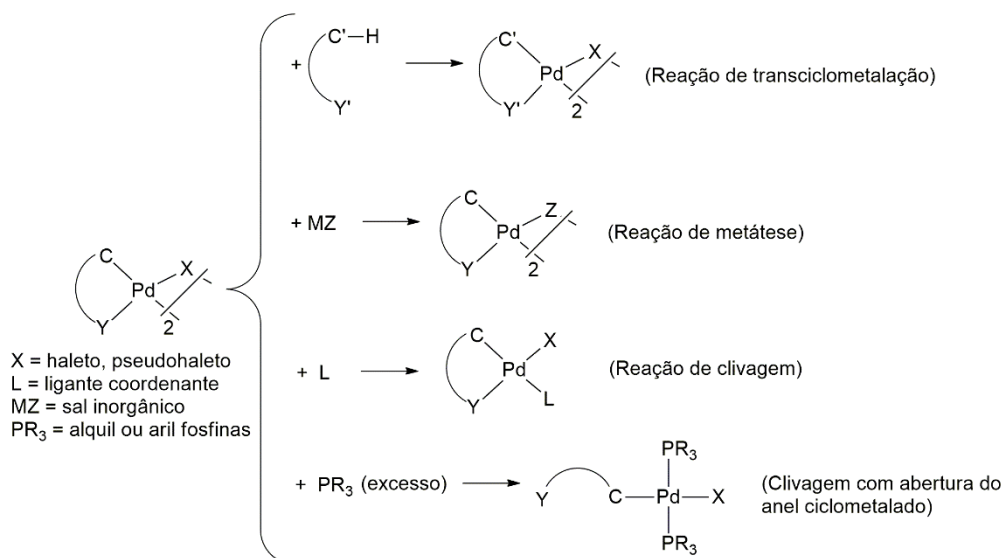


Figura 19: Algumas das reações mais comuns dos ciclopaladados utilizando um composto dimérico como precursor. Fonte: Autor.

O exemplo mostrado no quarto tipo de reação, utilizando excesso de fosfina para clivagem e abertura do anel ciclometalado, ilustra uma das formas mais primitivas de comprovação da formação da ligação $\sigma(\text{Pd} - \text{C})$ ⁵⁶.

A química dos ciclopaladados evoluiu significativamente a partir do momento em que uma maior atenção foi dada à influência da natureza do ligante aromático a ser ciclometalado. Certamente, a primeira indagação feita foi a de se a reação de ortometalação, especialmente com os metais Pd(II) e Pt(II), estaria limitada aos derivados do azobenzeno⁵⁷. Essa influência foi extensivamente estudada com derivados da benzilamina na presença dos sais Li₂PdCl₄, PdCl₂ e K₂PtCl₄. Um experimento de competição onde, no mesmo meio reacional, *N,N*-dimetilbenzilamina e azobenzeno foram colocados para reagir na presença de Li₂PdCl₄, demonstrou que apenas o produto ortopaladado de *N,N*-dimetilbenzilamina havia sido formado, revelando assim o grande potencial dos derivados da benzilamina de serem ortopaladados. Após uma série de experimentos utilizando benzilaminas primárias, secundárias e terciárias, foram observadas as seguintes condições nas quais a reação de ortopaladação deveria satisfazer para que houvesse a formação do produto ortopaladado:

- (i) O átomo de nitrogênio do derivado benzilamina deve ser terciário;
- (ii) A adição do Pd(II) ao anel ocorre por substituição eletrofílica aromática. Portanto, benzilaminas com grupos desativadores como *p*-NO₂ devem ser evitadas;
- (iii) O anel ciclometalado formado deve ser de 5 membros.

As três observações listadas acima ficaram então conhecidas como Regras de Cope. Com o surgimento dessas regras, durante muito tempo, acreditou-se que a obtenção de ortopaladados a partir de derivados de benzilaminas primárias não seria possível. Uma comprovação da força dessa crença são os títulos audazes de alguns dos trabalhos publicados nas décadas seguintes nos quais uma sistematização adequada para a obtenção de ortopaladados de benzilaminas primárias havia sido desenvolvida:

“The First Synthesis of Six-Membered Palladacycles from Primary Amines Containing Electron-Withdrawing Substituents: End of the Limiting Rules of Cope and Friedrich on Cyclopalladation of Benzyl- and Phenethylamines”⁵⁸

“ORTHO-PALLADATION OF PRIMARY AMINES: THE MYTH DISPELLED”⁵⁹

No entanto, para o sistema estudado por Cope e Friedrich na década de 60 – benzilaminas primárias, secundárias, terciárias e sais halogenados de Pd(II) e Pt(II) – essas regras funcionam perfeitamente. Ao ser possível sintetizar ortopaladados de derivados de benzilaminas primárias através de uma rota diferente daquela proposta por Cope e Friedrich, não anula as regras por eles observadas. É razoável concluir que uma anulação das regras de Cope só seria plausível caso fosse possível sintetizar um ortopaladado de benzilamina primária utilizando o mesmo sistema por eles estudado (benzilamina primária + PdCl₂ ou K₂PdCl₄). Ironicamente – como será mostrado a seguir –, o sistema adequado para a obtenção de ortopaladados derivados de benzilaminas primárias não será adequado para obter também ortopaladados derivados de benzilaminas secundárias ou terciárias, confirmando que essas duas aproximações estratégicas de síntese antes se complementam do que se invalidam.

A partir da década de 70 surgiram os primeiros trabalhos demonstrando a obtenção de ortopaladados derivados de benzilaminas primárias e que desvelaram aquilo que é o diferencial na rota de síntese desses compostos: a utilização de

$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ ao invés dos sais halogenados Li_2PdCl_4 e PdCl_2 .⁶⁰⁻⁶¹ Assim como para as benzilaminas secundárias e terciárias foi observado um padrão de reatividade, também no sistema (benzilamina primária + $\text{Pd}(\text{OAc})_2$) logo se observou que existem certas condições que garantem o sucesso da ortopaladação:

- (i) Utilização de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ como precursor de Pd(II);
- (ii) Uma razão molar de 1:1 entre o $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ e a benzilamina primária;
- (iii) Utilização de solvente polar;
- (iv) Temperatura de reação ideal entre 60-80 °C.

De acordo com estudos mecanísticos⁶², a primeira etapa da reação é idêntica para ambos os sistemas, onde é observada a coordenação do átomo de nitrogênio ao Pd(II) (figura 20, A). No entanto, a coordenação da benzilamina primária se dá de um modo mais efetivo pois não existem grupos substituintes no átomo de nitrogênio que causariam um possível impedimento estérico. Como já mencionado, a ativação da ligação C – H está relacionada com o caráter eletrofílico do Pd(II) e esse caráter sofre uma diminuição devido a coordenação efetiva do nitrogênio da benzilamina primária ao Pd(II), ou seja, quanto mais forte for a ligação Pd – N, menor o caráter eletrofílico resultante do paládio. É nesta disposição do sistema, aparentemente conflitiva, que a combinação das condições (i-iv) promoverá a ortopaladação. O acetato de paládio é, de fato, o grande diferencial que permite ortometalar benzilaminas primárias. Sua função no ambiente reacional é tripla:

1. Devido ao seu grande volume, auxilia na solvólise do complexo A (figura 20, A – C);
2. Aumenta a eletrofilicidade do paládio, pois o complexo formado $[\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{amina})(\text{S})]$ é mais eletrofílico do que aquele $[\text{PdCl}_2(\text{amina})(\text{S})]$ do sistema de Cope e Friedrich, onde amina = benzilamina primária ou terciária;
3. Atua como uma base intramolecular auxiliando na remoção do próton (figura 20, D).

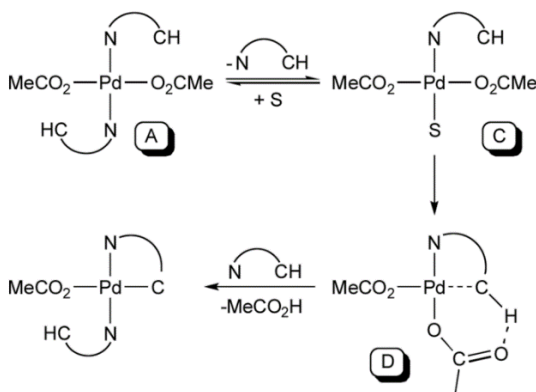


Figura 20: Proposta de mecanismo para a ortopaladação de benzilamina primária utilizando Pd(OAc)₂ em solvente polar. Fonte: Vicente 2007.

A razão molar 1:1 entre o acetato de paládio e a benzilamina garante que o complexo A (figura 20, A) reaja com mais acetato de paládio, gerando o complexo B (figura 21, B) e facilitando a solvatação do complexo em C (figura 20, A – C).

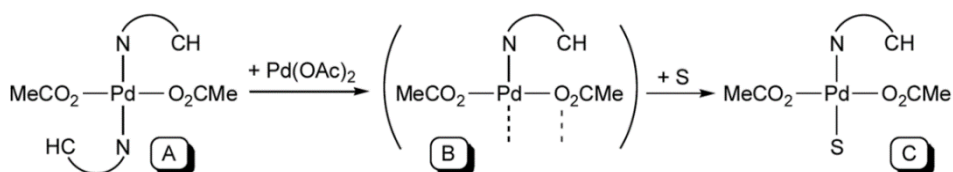


Figura 21: Processo de solvatação auxiliado pelo acetato de paládio. Fonte: Vicente 2007.

Todos esses eventos são dependentes da temperatura e, a maioria deles, de aquecimento. Apenas a formação do complexo A (figura 20, A) ocorre à temperatura ambiente (25 °C). Os demais eventos ocorrem numa faixa de 60-80 °C.

Aminas primárias aromáticas derivadas de aminoácidos, tal como a *L*-fenilalanina, ao mesmo tempo que são um alvo interessante para ortometalação, trazem consigo um elemento desafiador que é sua facilidade de formar também complexos do tipo Pd-N,O, dificultando a obtenção do ortometalado Pd-N,C (figura 22).

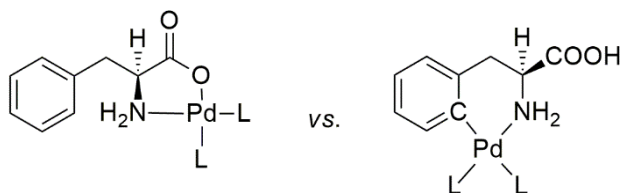


Figura 22: Possíveis modos de coordenação do aminoácido *L*-fenilalanina. L é um ligante genérico. Fonte: Autor.

É possível contornar essa limitação através de uma funcionalização do grupo carboxílico da porção ácida por meio de uma metilação, gerando a *L*-fenilalanina-

metil-éster. Isso permite que novos ortopaladados derivados de aminoácidos sejam obtidos a fim de terem suas propriedades biológicas investigadas. Esses bioligantes podem agregar propriedades importantes aos ortopaladados formados, tornando-os biologicamente promissores. A ortometalação da *L*-fenilalanina-metil-éster pode auxiliar no reconhecimento molecular e celular do complexo pois agrega a este a característica de possuir em sua composição uma biomolécula semelhante à já presente no organismo (aminoácido), de modo que o complexo poderá se difundir com maior facilidade através da membrana celular, formada principalmente de proteínas hidrofóbicas, e se ligar assim ao alvo biológico⁶³⁻⁶⁴.

Diante dessa potencialidade demonstrada pela *L*-fenilalanina-metil-éster, o presente trabalho de tese de doutorado foi dedicado à síntese e investigação biológica de ortopaladados derivados da *L*-fenilalanina-metil-éster.

3. Ortometalados com atividade biológica

Os ciclopaladados representam uma promissora classe de compostos na busca por novas substâncias biologicamente ativas frente às mais diversas doenças. Essas doenças abrangem desde aquelas consideradas negligenciadas, como a doença de chagas e a leishmaniose, por exemplo, até todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Apesar dos inúmeros compostos puramente orgânicos empregados na química medicinal e indústria farmacêutica, uma parte dos potenciais fármacos ou mesmo dos fármacos já utilizados atualmente - como os derivados da cisplatina no tratamento do câncer - são compostos de coordenação. A utilização desses compostos tem permitido superar as limitações emergentes do uso daqueles puramente orgânicos, revelando o papel importante que o centro metálico pode desempenhar na relação estrutura-atividade de fármacos (figura 23)⁶⁵.

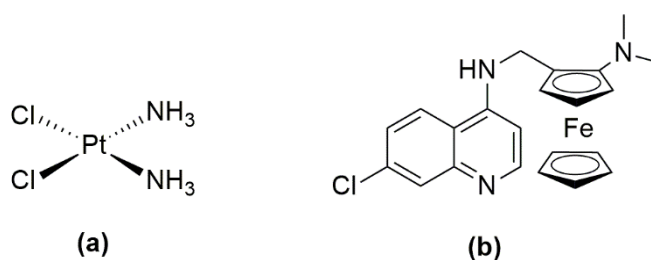


Figura 23: Fórmulas estruturais dos compostos cisplatina (a) e ferroquina (b). Sendo a cisplatina atualmente empregada no tratamento de vários tipos cânceres, enquanto a ferroquina, que se encontra atualmente na Fase II dos testes clínicos, possui atividade anticâncer e atimalarial⁶⁵.

Recentemente, alguns ortopaladados têm demonstrado grande eficácia na inibição desses tipos de cânceres, sendo, na maioria dos casos, mais eficazes do que a cisplatina⁶⁶. Estudos *in vitro* e *in vivo* da atividade antitumoral de ortopaladados (figura 24) frente à linhagem celular A2780, derivada do câncer de ovário, revelaram não somente que esses ortopaladados são capazes de inibir as células tumorais, como também de estimular a angiogênese e a anti-angiogênese⁶⁷.

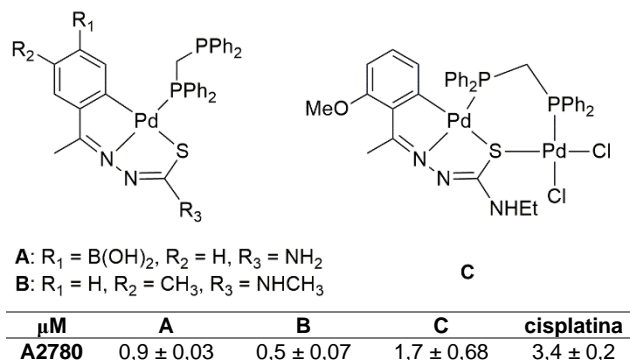


Figura 24: Ortopaladados com atividade antitumoral frente à linhagem A2780 e seus respectivos valores de IC₅₀ em μM. Fonte: Autor.

A angiogênese consiste na formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pré-existentes. É, portanto, um processo fisiológico vital pois é através dos vasos sanguíneos que o oxigênio e os nutrientes são transportados para os tecidos do corpo. Contudo, as células tumorais também se beneficiam da angiogênese já que são os vasos sanguíneos que suprem aos tumores os nutrientes necessários para crescerem. Um tumor é capaz de enviar sinais químicos ao organismo que, por sua vez, estimula a angiogênese. À medida que o tumor aumenta de tamanho, novos tecidos são atingidos, formando assim novas colônias de células tumorais por todo o organismo, processo denominado de metástase. Ao utilizar substâncias que estimulem a anti-angiogênese de células tumorais, é possível bloquear o crescimento do tumor, impedindo assim uma possível metástase. Os ensaios *in vivo* em embrião de galinha, utilizando o biomaterial CAM (The Chorioallantoic Membrane), revelaram que o ortopaladado A (figura 25, (C)) foi o que apresentou anti-angiogênese, enquanto o B (figura 25, (D)) apresentou angiogênese, podendo este último ser útil em aplicações clínicas que requeiram a angiogênese (figura 25).

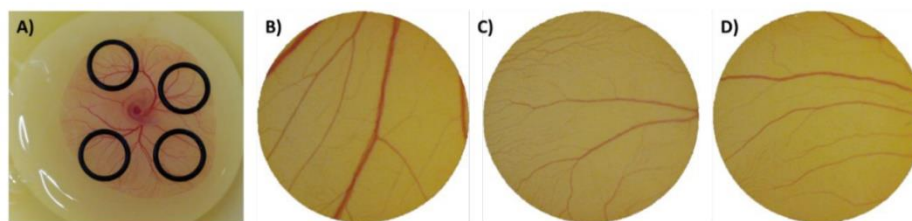


Figura 25: Ensaio da membrana cório-alantoide de ovo embrionado de galinha. (A) Imagem representativa da distribuição de O-rings no embrião de galinha. (B) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com DMSO 0,1% (v/v). (C) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com 0,9 μM do ortopaladado A. (D) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com 0,5 μM do ortopaladado B. Fonte: Reigosa-Chamorro 2021.

Os melhores resultados, tanto *in vivo* como *in vitro*, observados para os compostos A e B, pode ser justificado pela coordenação monodentada do ligante difosfínico que, ao contrário do composto C, promove uma maior flexibilidade estrutural e uma mais fácil internalização dos complexos no meio biológico.

A ortometalação é o principal fator responsável pela maior estabilidade de um complexo ortopaladado. Outras características, desejáveis especialmente no âmbito da aplicação biológica, tal como hidrofobicidade, podem ser moduladas pelos demais ligantes que compõem a esfera de coordenação do Pd(II). A atividade antitumoral de um ortopaladado frente à linhagem celular HepG2, derivada do câncer de fígado, está relacionada com a natureza hidrofóbica do bioligante α -aminoácido fenilalanina que se coordena no modo quelante-N,O ao ortopaladado (figura 26) promovendo uma fácil e intensa difusão do complexo ao interior da célula tumoral.

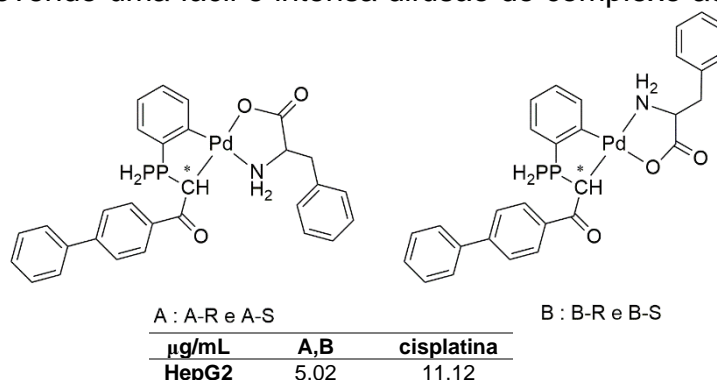


Figura 26: Ortopaladado A,B representado na forma dos seus isômeros conformacionais A e B, os quais existem na forma dos estereoisômeros R e S. Na base, valores de IC_{50} e o determinado para a cisplatina. Fonte: Autor.

Outra propriedade relevante para desenvolvimento de metalofármacos é a capacidade dos mesmos de serem solúveis ou parcialmente solúveis em água. Considerando que a maior parte do corpo humano é composta de água, uma

substância que seja solúvel ou parcialmente solúvel em água poderá ser distribuída por todo o organismo com maior facilidade. O uso de ligantes/coligantes capazes de aumentar a solubilidade dos complexos em água é uma das estratégias mais exploradas para obtenção de candidatos a metalofármacos solúveis em água. A fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamandano (PTA) (figura 27 (a)) é naturalmente solúvel em água, e sua coordenação a metais tem promovido a solubilidade em água dos complexos resultantes (figura 19 (b))⁶⁸.

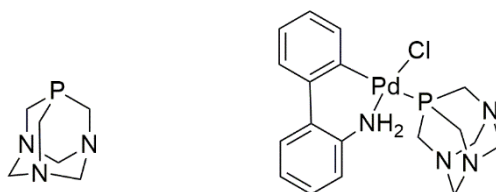


Figura 27: Representação molecular da fosfina PTA em (a). Em (b), a representação de um complexo ciclometalado de paládio tendo a PTA como um dos ligantes. Fonte: Adaptado de Lighvan 2020.

Uma das estratégias mais eficientes no planejamento racional de metalofármacos consiste no design estrutural de complexos visando a interação com biomoléculas alvo (DNA, enzimas etc.) que participam direta ou indiretamente da ação biológica investigada. Alguns estudos revelaram a relação que existe entre a resistência a metalofármacos de platina e a atividade enzimática da enzima poli[ADP-ribose] polimerase 1 ou PARP1. Esta enzima detecta a quebra das fitas do DNA causada pelos fármacos de cisplatina e seus derivados e entra em atividade tentando reparar os danos causados no DNA, gerando assim a resistência ao fármaco⁶⁹. No entanto, este tipo de resistência tem sido contornado com a utilização de complexos ciclometalados de ouro com o coligante PTA capazes de inibir a atividade da enzima PARP1 (figura 28).

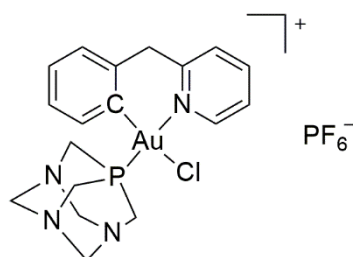


Figura 28: Complexo ciclometalado de ouro capaz de inibir a atividade da enzima PARP1 em concentração na escala de nanomolar. Fonte: Adaptado de Chaudhuri 2017.

A partir de dados experimentais da estrutura absoluta dessas biomoléculas alvo e utilizando ferramentas computacionais, é possível planejar

racionalmente uma substância para interagir em regiões específicas da biomolécula alvo de modo a inibir sua ação. Essa combinação de estratégias (sintética, computacional e biológica) permite uma correlação estrutura-atividade, otimizando as propriedades, tais como o potencial, a afinidade e a seletividade de uma substância candidata a metalofármaco.

HIPÓTESE

Nosso grupo de pesquisa possui algumas décadas de experiência na investigação das potencialidades biológicas dos complexos ciclopaladados. Em geral, dois aspectos principais são estudados quanto à influência que possam ter na atividade biológica. O primeiro aspecto é a natureza do anel ciclometalado, ou seja, qual a real contribuição que a classe de ligante ciclometalado traz na estabilidade do centro metálico de Pd(II). Outro aspecto é a influência exercida pelos demais co-ligantes, se são monodentados ou polidentados quelantes etc. Esses dois aspectos estruturais dos complexos ciclopaladados tendem sempre a modular as propriedades observadas da correlação estrutura-atividade. Além disso, a geometria quadrática plana dos complexos de Pd(II) permite que as características eletrônicas e estéricas do complexo possam ser facilmente manipuladas através da escolha de ligantes específicos que agregam propriedades específicas aos complexos.

A atividade antitumoral de ortopaladados com co-ligantes N-, S- e P-doadores e halogênios tem demonstrado ser bastante promissora. O ortopaladado derivado da *N,N*-dimetilbenzilamina (dmba) é o mais bem estudado pelo nosso grupo de pesquisa e, talvez, de toda a história dos ortopaladados desde sua obtenção por Cope e Friedrich em 1968⁵⁷. Os complexos ortopaladados [Pd(*C*²,*N*-dmba)(X)(tu)], onde X = Cl, Br, I; e tu = tiouréia, foram testados frente às células de adenocarcinoma mamário (LM3) e adenocarcinoma de pulmão (LP07). (figura 29) e (quadro 1)⁷⁰⁻⁷¹.

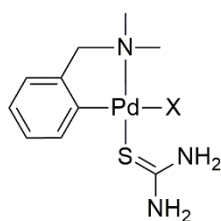


Figura 29: Ortopaladados com co-ligante tiouréia e haletos Cl, Br e I. Fonte: Autor.

Quadro 1: Citotoxicidade dos complexos $[Pd(C^2,N-dmba)(X)(tu)]$ frente às células tumorais LM3 e LP07.

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD	
	LM3	LP07
$[Pd(C^2,N-dmba)(Br)(tu)]$	29,6 ± 0,18	22,6 ± 1,93
$[Pd(C^2,N-dmba)(I)(tu)]$	14,4 ± 1,92	50,8 ± 2,15
$[Pd(C^2,N-dmba)(Cl)(tu)]$	72,4 ± 3,92	76,6 ± 1,99
Cisplatina	30,3 ± 3,72	4,34 ± 0,45

A simples mudança no tipo de halogênio refletiu significativamente na atividade citotóxica do complexo. Para este estudo de caso, haletos mais polarizáveis, como bromo ou iodo, contribuíram para um aumento da citotoxicidade, se comparado com o cloro (quadro 1). A potencialidade dos ciclopaladados em questão também é evidenciada pela maior citotoxicidade dos complexos de bromo e de iodo, se comparados à cisplatina, com exceção do complexo de iodo frente a linhagem LP07.

Recentemente, a atividade citotóxica de dois complexos ortopaladados de fórmula geral $[Pd(C^2,N-dmpa)(X)(lut)]$, onde *dmpa* = *N,N*-dimetil-1-feniletilamina, X = Cl, N₃; e *lut* = 2,6-lutidina, confirma a tendência observada na família de complexos anterior (figura 30).

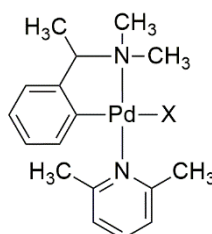


Figura 30: Ortopaladados de *N,N*-dimetil-1-feniletilamina com co-ligantes 2,6-lutidina e X (Cl e N₃). Fonte: Autor.

A similaridade estrutural entre *dmba* e *dmpa*, a presença de um ligante *N*-doador, mais o aumento na polarizabilidade entre os ligantes clorido e azida, reforçam a existência de uma sinergia entre o centro metálico de Pd(II) e os ligantes de sua esfera de coordenação, gerando um padrão sistemático de correlação estrutura-atividade (quadro 2)⁷².

Quadro 2: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-dmpa)(X)(lut)] frente às linhagens de glioblastoma (T98G e U251) e melanoma (HT144 e LB373MEL).

Linhagem	IC ₅₀ (μM) ± SD		
	[Pd(C ² ,N-dmpa)(N ₃)(lut)]	[Pd(C ² ,N-dmpa)(Cl)(lut)]	Cisplatina
T98G	1,7 ± 0,5	0,9 ± 0,1	1,7 ± 1,0
HT144	0,7 ± 0,4	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2
LB373MEL	1,3 ± 0,7	4,3 ± 2,4	5,6 ± 3,5
U251	1,0 ± 0,2	3,1 ± 0,5	1,1 ± 0,3

O estudo do comportamento desses complexos em solução por meio de experimentos de RMN de ¹H em D₂O/DMSO-d₆ (30/70 %) a 0, 24, 48 e 72 h, constatou que os complexos [Pd(C²,N-dmpa)(X)(lut)] eram convertidos nas espécies catiônicas [Pd(S)(C²,N-dmpa)(lut)]⁺ e [Pd(C²,N-dmpa)(S)₂]²⁺ (S = D₂O, DMSO), à semelhança da cisplatina que também sofre hidrólise formando as espécies catiônicas [Pt(NH₃)₂Cl(OH₂)]⁺ e [Pt(NH₃)₂(OH₂)₂]²⁺, como mencionado anteriormente. No entanto, ao contrário da cisplatina, esses complexos interagem fracamente com o DNA, o que sugere um mecanismo citotóxico diferente daquele observado com a cisplatina. Mas a afinidade dos complexos por outras biomoléculas como HSA (albumina de soro humano) indica uma real possibilidade de serem biodistribuídos através do organismo.

Outra classe de ortopaladados que tem sido bastante explorada pelo nosso grupo é a classe dos ortopaladados derivados de ligantes oxima, tais como benzaldeído-oxima, acetofenona-oxima e, mais recentemente, tetralona-oxima. A principal contribuição que o grupo oxima C=N-OH pode trazer para o anel ciclometalado é o aumento da estabilidade do mesmo em decorrência da formação de um sistema conjugado de ligações π.

Complexos ortometalados de fórmula geral [Pd(C²,N-bzox)(X)(L)], onde bzox = benzaldeído-oxima, X = Cl, Br, I; e L = etilenotiouréia apresentaram uma melhora significativa na atividade citotóxica frente à linhagem de adenocarcinoma mamário (LM3) quando comparados aos complexos derivados do dmba exemplificados na figura 29. A mudança de dmba para bzox, além de uma ligeira modificação na estrutura do co-ligante tiouréia (figura 31), foram suficientes para tornar todos os complexos mais ativos que a cisplatina (quadro 3)⁷³.

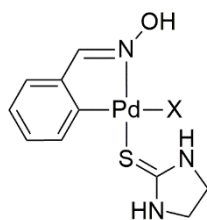


Figura 31: Ortopaladados de benzaldeído-oxima com co-ligante etilenotiuréia e haletos Cl, Br e I. Fonte: Autor.

Quadro 3: Citotoxicidade dos complexos $[Pd(C^2,N-bzox)(X)(L)]$ frente à linhagem tumoral LM3.

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD
	LM3
$[Pd(C^2,N-bzox)(I)(L)]$	18,2 ± 2,87
$[Pd(C^2,N-bzox)(Br)(L)]$	19,9 ± 0,61
$[Pd(C^2,N-bzox)(Cl)(L)]$	23,2 ± 1,77
Cisplatina	30,3 ± 3,72

É interessante destacar que para os complexos mostrados na figura 31 observa-se o mesmo comportamento de aumento da citotoxicidade com o aumento da polarizabilidade do haleto, ou seja, $I > Br > Cl$, o que sugere uma tendência comportamental dos ortopaladados.

O padrão de variação no qual a mudança é feita apenas no co-ligante do tipo L, de modo que o anel ortometalado e o halogênio permaneçam fixos, tem se revelado muito promissor. Sete complexos ortopaladados de fórmula geral $[Pd(C^2,N-afox)(Cl)(L)]$, onde afox = acetofenona-oxima e L = ligantes derivados da tiouréia, quando testados quanto à atividade citotóxica, se mostraram, em quase todos os casos, melhores do que a cisplatina (figura 32)⁷⁴.

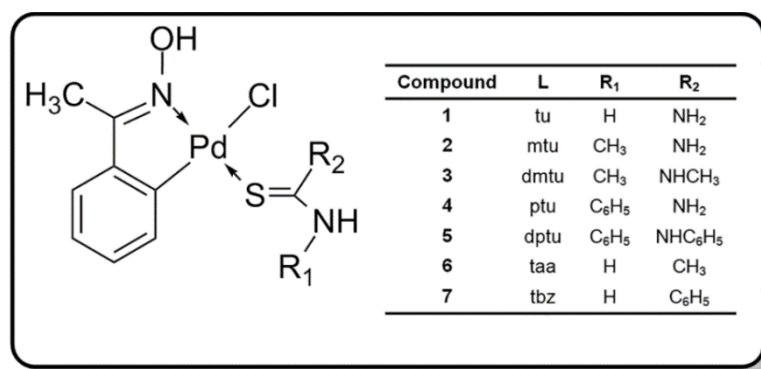


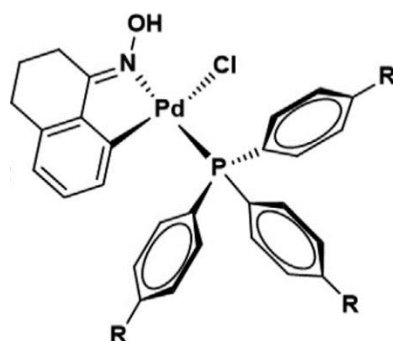
Figura 32: Ortopaladado da acetofenona-oxima com co-ligantes derivados da tiouréia. Fonte: Adaptado de de Souza *et al.*, 2019.

O aumento na lipofilicidade do co-ligante L nos complexos 4, 5 e 7, ocasionado pelo substituinte -C₆H₅, refletiu positivamente na citotoxicidade (quadro 4).

Quadro 4: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-afox)(Cl)(L)] com algumas das linhagens testadas: mama (4T1), melanoma (B16F10-nex2) e fígado (HepG2).

Composto	Linhagem celular			
	IC ₅₀ (μM)	4T1	B16F10-nex2	HepG2
1		84.62 ± 2.14	68.42 ± 5.77	41.48 ± 4.02
2		56.76 ± 3.54	54.47 ± 4.30	41.42 ± 2.29
3		47.17 ± 2.61	43.97 ± 7.23	31.59 ± 0.81
4		38.68 ± 3.57	33.07 ± 3.77	27.72 ± 1.00
5		45.87 ± 0.74	50.35 ± 5.02	15.92 ± 3.84
6		53.41 ± 2.97	43.69 ± 6.07	44.56 ± 6.03
7		34.70 ± 2.54	25.92 ± 3.52	33.32 ± 5.88
Cisplatina		108.54 ± 15.78	23.14 ± 1.27	60.30 ± 15.10

À semelhança do exemplo anterior, a utilização de co-ligantes fosfínicos, tal como a trifenilfosfina, pode, além de outros benefícios, auxiliar na lipofilicidade dos complexos. Ortopaladados derivados da tetralona-oxima de fórmula geral [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)] foram testados quanto à atividade citotóxica, a fim de avaliar a influência dos co-ligantes fosfínicos L na atividade biológica dos complexos (figura 33)⁷⁵.



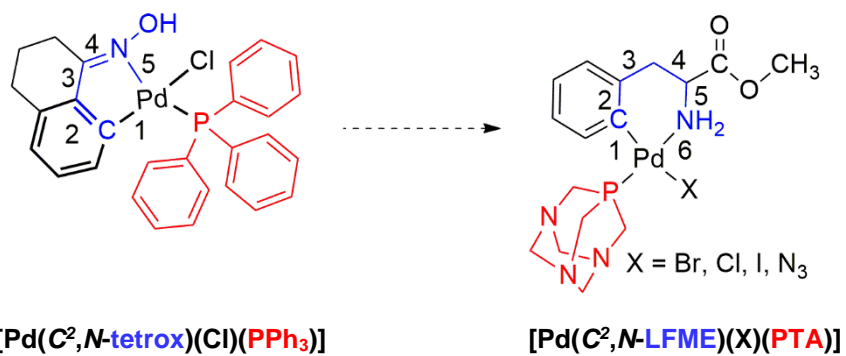
R = PPh₃, P(PhCH₃)₃, P(PhF₃)₃ e P(PhOCH₃)₃.
Figura 33: Ortopaladados de tetralona-oxima com co-ligantes fosfínicos e Cl. Fonte: Velasques et al., 2022.

Para todos os complexos [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)], observa-se uma atividade citotóxica superior à da cisplatina, independente do substituinte R no co-ligante fosfínico. Além disso, com exceção do complexo 4, os demais complexos se mostram menos tóxicos do que cisplatina, quando testados frente à linhagem celular de fibroblastos normal (MRC-5) (quadro 5).

Quadro 5: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)] com algumas das linhagens testadas: mama (MCF-7) e fibroblastos pulmonar normal (MRC-5).

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD	
	MCF-7	MRC-5
1 (R = PPh ₃)	19,22 ± 2,75	22,35 ± 1,74
2 (R = P(PhCH ₃) ₃)	26,33 ± 0,27	28,92 ± 0,17
3 (R = P(PhF) ₃)	22,39 ± 0,38	25,78 ± 0,58
4 (R = P(PhOCH ₃) ₃)	22,91 ± 1,90	8,12 ± 0,49
Cisplatina	>50	19,86 ± 1,22

Todos esses exemplos demonstram o grande potencial dos ortopaladados de atuarem como agentes quimioterápicos. Diante desse histórico bem-sucedido do nosso grupo de pesquisa acerca do estudo da atividade anticâncer de ortopaladados, o presente trabalho de tese de doutorado propõe uma série de ortopaladados com características distintas das que foram abordadas (e publicadas) pelo grupo até o presente momento. A primeira modificação é o aumento do tamanho do anel ciclometalado, o qual será de 6 membros. Isso permitirá avaliar se a estabilidade dos complexos de Pd(II) estará condicionada à tendência termodinâmica que afirma ser os anéis de 5 membros mais estáveis do que os de 6 membros. Além disso, a utilização da amina primária *L*-fenilalanina-metil-éster na ortopaladação agrega aos complexos um caráter biológico por se tratar de um derivado do aminoácido *L*-fenilalanina, o que poderá influenciar positivamente nos testes biológicos. As fosfinas estudadas pelo grupo até o presente momento visavam contribuir no aumento da lipofilicidade dos complexos. Dessa forma, será então introduzida a fosfina hidrofílica 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano (PTA) a fim de auxiliar num possível aumento da solubilidade dos complexos em meio aquoso. A influência da polarizabilidade dos halogênios nas propriedades dos novos complexos também será explorada com a utilização da série de halogênios: Br, Cl, I e N₃ (figura 34).



Reportado por Velasques *et al.*, 2022

Proposta atual

Figura 34: Esquema de derivação dos complexos ortopaladados investigados na presente tese de doutorado.

6. Considerações finais

A busca por novas substâncias candidatas a metalofármaco é um dos campos de pesquisa mais importantes e mais complexos dentro da química sintética, pois envolve a conexão com diversas áreas do conhecimento, caracterizando assim a multidisciplinaridade tão necessária atualmente para a superação tanto de questões problemáticas emergentes como também de questões que têm perdurado por séculos. Tendo em vista as limitações decorrentes do uso dos metalofármacos antitumorais derivados da cisplatina, o presente trabalho de doutorado teve por finalidade contribuir com a síntese, caracterização e estudos biológicos de substâncias com potencial de se tornarem metalofármacos antitumorais.

A família dos compostos obtidos, derivados da ortopaladação do metil-éster do aminoácido *L*-fenilalanina – e que gera ortopaladados com anel ciclometalado de 6 membros –, engloba o dímero de azida inédito de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, os produtos da clivagem dos respectivos dímeros com a fosfina PTA, de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, onde $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$, mais o produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$. Foram caracterizados no estado sólido através da técnica de análise elementar e DRX em monocristal (complexo Pd-Br-PTA); e em solução com diversas técnicas de RMN, demonstrando um comportamento regular em solução. Além disso, a técnica de Espectrometria de

Massas (ESI) confirmou a pureza de todos os compostos obtidos, excetuando apenas o Pd-Br-PTA que não teve solubilidade suficiente no solvente utilizado nessa técnica, porém foi perfeitamente caracterizado no estado sólido pela técnica de DRX em monocristal.

O composto Pd-Br-PTA selecionado para os estudos biológicos apresentou atividade antitumoral frente às células de câncer de ovário A2780, sendo mais ativo do que o medicamento cisplatina, além de uma baixa toxicidade frente à linhagem não tumoral MRC-5. A ortopaladação do derivado amina primária *L*-fenilalanina-metil-éster com formação de anel ciclometalado de 6 membros, sugere uma menor toxicidade para esse sistema quando comparado aos demais compostos já sintetizados pelo grupo e que pertencem ao sistema oriundo da ortopaladação de um derivado de amina terciária com formação de anel ciclometalado de 5 membros. Os ensaios de interação com a biomolécula HSA indicaram que o Pd-Br-PTA tem a potencialidade de ser transportado na corrente sanguínea pela HSA, embora não tenha sido possível elucidar ou propor qualquer mecanismo de interação do Pd-Br-PTA com a HSA. Por outro lado, o Pd-Br-PTA mostrou pouca afinidade pela biomolécula DNA, sugerindo que seu mecanismo de ação antitumoral não tenha o DNA como o principal alvo. Contudo, esse resultado pode permitir classificar o Pd-Br-PTA como uma substância antitumoral não genotóxica.

Como perspectiva futura, estudos biológicos mais aprofundados e envolvendo outros alvos de interesse poderão ser realizados e estendidos aos demais compostos obtidos.

REFERÊNCIAS

- ¹ABE, O. Observability of the size of the universe. **Physics Letters B**, [s. l.], v. 229, n. 3, p. 202–204, 1989.
- ²JEANS, J. The Size and Age of the Universe. **Nature**, [s. l.], v. 137, n. 3453, p. 17–24, 1936.
- ³DOUGLAS, G.; BAJAJ, N. S. The Final Size of the Universe Based on the Elasticity of the Fabric of Spacetime. **Journal of High Energy Physics, Gravitation and Cosmology**, [s. l.], v. 06, n. 03, p. 450–461, 2020.
- ⁴NORMAL CONTROLS ON CELL DIVISION ARE LOST DURING CANCER. *Em: ESSENTIALS OF CELL BIOLOGY*. [S. l.]: Nature Education, 2014.
- ⁵CANCER STEM CELLS. *Em: STEM CELLS*. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 315–341.
- ⁶ELDRIDGE, L. Cancer Cells vs. Normal Cells: How Are They Different? **verywellhealth**, 2023. Disponível em: <<https://www.verywellhealth.com/cancer-cells-vs-normal-cells-2248794>>. Acesso em: 27 de jun. de 2023.
- ⁷CARTER, Y.; SIPPEL, R. S.; CHEN, H. Hypothyroidism After a Cancer Diagnosis: Etiology, Diagnosis, Complications, and Management. **The Oncologist**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 34–43, 2014.
- ⁸CHANDRAN, R.; HAKKI, M.; SPURGEO, S. Infections in Leukemia. *Em: SEPSIS - AN ONGOING AND SIGNIFICANT CHALLENGE*. [S. l.]: InTech, 2012.
- ⁹VANNEMAN, M.; DRANOFF, G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 237–251, 2012.
- ¹⁰MERCADANTE, A. A.; KASI, A. **Genetics, Cancer Cell Cycle Phases**. [S. l.: s. n.], 2023.
- ¹¹DIAMANTOPOULOU, Z.; CASTRO-GINER, F.; SCHWAB, F. D.; FOERSTER, C.; SAINI, M.; BUDINJAS, S.; STRITTMATTER, K.; KROL, I.; SEIFERT, B.; HEINZELMANN-SCHWARZ, V.; KURZEDER, C.; ROCHLITZ, C.; VETTER, M.; WEBER, W. P.; ACETO, N. The metastatic spread of breast cancer accelerates during sleep. **Nature**, [s. l.], v. 607, n. 7917, p. 156–162, 2022.
- ¹²GLOBAL CANCER OBSERVATORY. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Data visualization tools for exploring the global cancer burden in 2020, 2023. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/home>>. Acesso em: 29 de jun. de 2023.
- ¹³THE PAST, PRESENT, AND FUTURE OF TARGETED THERAPEUTIC APPROACHES IN PATIENTS WITH DIFFUSE PLEURAL MESOTHELIOMAS. **Journal of Cancer Metastasis and Treatment**, [s. l.], 2023.
- ¹⁴WAKASUGI, T. Treatment strategy after the discontinuation of immunotherapy for head and neck cancer: a review. **Journal of Cancer Metastasis and Treatment**, [s. l.], 2023.
- ¹⁵YOO, G. S.; RIM, C. H.; CHO, W. K.; JEONG, J.-U.; CHIE, E. K.; CHO, H.-M.; UM, J. W.; AHN, Y. C.; LEE, J. H. Metastasis-Directed Local Therapy of Hepatic Oligometastasis from

Colorectal Cancer and Future Perspective in Radiation Therapy. **Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 707–719, 2023.

¹⁶SCHIZAS, D.; CHARALAMPAKIS, N.; KOLE, C.; ECONOMOPOULOU, P.; KOUSTAS, E.; GKOTSIS, E.; ZIOGAS, D.; PSYRRI, A.; KARAMOUZIS, M. V. Immunotherapy for pancreatic cancer: A 2020 update. **Cancer Treatment Reviews**, [s. l.], v. 86, p. 102016, 2020.

¹⁷CHABNER, B. A. Barnett Rosenberg: In Memoriam (1924–2009). **Cancer Research**, [s. l.], v. 70, n. 1, p. 428–429, 2010.

¹⁸ROSENBERG, B.; VANCAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer research**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 1799–802, 1970.

¹⁹QI, L.; LUO, Q.; ZHANG, Y.; JIA, F.; ZHAO, Y.; WANG, F. Advances in Toxicological Research of the Anticancer Drug Cisplatin. **Chemical Research in Toxicology**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1469–1486, 2019.

²⁰AVENDAÑO, C.; MENÉNDEZ, J. C. **Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs**. [S. l.]: Elsevier, 2015.

²¹JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. Direct Cellular Responses to Platinum-Induced DNA Damage. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 107, n. 5, p. 1387–1407, 2007.

²²MEZENECV, R. Interactions of Cisplatin with non-DNA Targets and their Influence on Anticancer Activity and Drug Toxicity: The Complex World of the Platinum Complex. **Current Cancer Drug Targets**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 794–816, 2015.

²³AKABOSHI, M.; KAWAI, K.; MAKI, H.; AKUTA, K.; UJENO, Y.; MIYAHARA, T. The Number of Platinum Atoms Binding to DNA, RNA and Protein Molecules of HeLa Cells Treated with Cisplatin at Its Mean Lethal Concentration. **Japanese Journal of Cancer Research**, [s. l.], v. 83, n. 5, p. 522–526, 1992.

²⁴MISSET, J. L.; BLEIBERG, H.; SUTHERLAND, W.; BEKRADDA, M.; CVITKOVIC, E. Oxaliplatin clinical activity: a review. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 75–93, 2000.

²⁵CVITKOVIC, E.; SPAULDING, J.; BETHUNE, V.; MARTIN, J.; WHITMORE, W. F. Improvement of Cis-dichlorodiammineplatinum (NSC 119875): Therapeutic index in an animal model. **Cancer**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 1357–1361, 1977.

²⁶MATHÉ, G.; KIDANI, Y.; TRIANA, K.; BRIENZA, S.; RIBAUD, P.; GOLDSCHMIDT, E.; ECSTEIN, E.; DESPAX, R.; MUSSET, M.; MISSET, J. L. A phase I trial of trans-1-diaminocyclohexane oxalato-platinum (I-OHP). **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, [s. l.], v. 40, n. 10, p. 372–6, 1986.

²⁷TASHIRO, T.; KAWADA, Y.; SAKURAI, Y.; KIDANI, Y. Antitumor activity of a new platinum complex, oxalato (trans-1,2-diaminocyclohexane)platinum (II): new experimental data. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 251–260, 1989.

²⁸OBRESHKOVA, D.; IVANOVA, S.; YORDANOVA-LALEVA, P. Influence of chemical structure and mechanism of hydrolysis on pharmacological activity and toxicological profile of approved platinum drugs. **Pharmacia**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 645–653, 2022.

- ²⁹WHEATE, N. J.; WALKER, S.; CRAIG, G. E.; OUN, R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 39, n. 35, p. 8113, 2010.
- ³⁰KOEPF-MAIER, Petra.; KOEPF, Hartmut. Non-platinum group metal antitumor agents. History, current status, and perspectives. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 87, n. 5, p. 1137–1152, 1987.
- ³¹MAITLIS, P. **The Organic Chemistry of Palladium, Volume I: Metal Complexes**. [S. l.]: Academic Press, 2012.
- ³²MARCINIEC, B.; PIETRASZUK, C.; PAWLUĆ, P.; MACIEJEWSKI, H. Inorganometallics (Transition Metal–Metalloid Complexes) and Catalysis. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 3996–4090, 2022.
- ³³WEISS, E. **Comprehensive Organometallic Chemistry. The Synthesis, Reactions and Structures of Organometallic Compounds**. Oxford: Pergamon Press, 1982.
- ³⁴MIESSLER, G.; FISCHER, P.; TARR, D. **Inorganic Chemistry**. 5. ed. [S. l.]: Pearson, 2013.
- ³⁵LOVE, R. A.; KOETZLE, T. F.; WILLIAMS, G. J. B.; ANDREWS, L. C.; BAU, R. Neutron diffraction study of the structure of Zeise's salt, $KPtCl_3(C_2H_4) \cdot H_2O$. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 14, n. 11, p. 2653–2657, 1975.
- ³⁶WENINGER, A.; SAGASSER, J.; OBERMOSER, V.; EGGER, J.; WISBOECK, S.; QIU, Q.; LADSTAETTER, M.; CUCCHIARO, A.; WURST, K.; BAECKER, D.; GUST, R. Development of Zeise's Salt Derivatives Bearing Substituted Acetylsalicylic Acid Substructures as Cytotoxic COX Inhibitors. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1573, 2023.
- ³⁷MEIERANZ, S.; STEFANOPOULOU, M.; RUBNER, G.; BENS DORF, K.; KUBUTAT, D.; SHELDRICK, W. S.; GUST, R. The Biological Activity of Zeise's Salt and its Derivatives. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 54, n. 9, p. 2834–2837, 2015.
- ³⁸ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. **Nature**, [s. l.], v. 222, n. 5191, p. 385–386, 1969.
- ³⁹KLEIMAN, J. P.; DUBECK, Michael. **The Preparation of Cyclopentadienyl [*o*-(Phenylazo)Phenyl]Nickel**. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 85, n. 10, p. 1544–1545, 1963.
- ⁴⁰COPE, A. C.; SIEKMAN, R. W. Formation of Covalent Bonds from Platinum or Palladium to Carbon by Direct Substitution. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 87, n. 14, p. 3272–3273, 1965.
- ⁴¹DUPONT, J.; PFEFFER, M. **Palladacycles: Synthesis, Characterization and Applications**. [S. l.]: Wiley-VCH, 2008.
- ⁴²DEHAND, J.; PFEFFER, M. Cyclometallated compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 327–352, 1976.

- ⁴³ALBRECHT, M. Cyclometalation Using d-Block Transition Metals: Fundamental Aspects and Recent Trends. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 576–623, 2010.
- ⁴⁴BOSQUE, R.; MASERAS, F. A Theoretical Assessment of the Thermodynamic Preferences in the Cyclopalladation of Amines. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 2005, n. 20, p. 4040–4047, 2005.
- ⁴⁵OMAE, I. Applications of cyclometalation reaction five-membered ring products. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 869, p. 88–105, 2018.
- ⁴⁶FEITOZA, B. R. S. **Ciclometalados de Paládio(II) contendo ligantes N- e P- doadores bidentados: Síntese, Caracterização e Estudos Biológicos**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 99. 2019.
- ⁴⁷ WOLLASTON, W. H. XXII. On the discovery of palladium; with observations on other substances found with plantina. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 95, p. 316–330, 1805.
- ⁴⁸WOLLASTON, W. H. XVII. On a new metal, found in crude platina. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 94, p. 419–430, 1804.
- ⁴⁹INTERNATIONAL PLATINUM GROUP METALS ASSOCIATION. International Platinum Group Metals Association: Physical and Chemical Properties of Platinum Group Metals. Disponível em: <https://ipa-news.com/assets/sustainability/IPA_Guidance/Chapter%202_PGM_Guide.pdf>. Acesso em: 09 de jun. de 2023.
- ⁵⁰DELLA CA', N. Palladium-Catalyzed Reactions. **Catalysts**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 588, 2021.
- ⁵¹DIVINS, Núria. J.; BRAGA, A.; VENDRELL, X.; SERRANO, I.; GARCIA, X.; SOLER, L.; LUCENTINI, I.; DANIELIS, M.; MUSSIO, A.; COLUSSI, S.; VILLAR-GARCIA, I. J.; ESCUDERO, C.; TROVARELLI, A.; LLORCA, J. Investigation of the evolution of Pd-Pt supported on ceria for dry and wet methane oxidation. **Nature Communications**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 5080, 2022.
- ⁵²CROSS, R. J.; TENNENT, N. H. 2-(aryloxy)aryl derivatives of mercury, palladium, platinum, nickel and manganese. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 21–33, 1974.
- ⁵³BOCHMANN, M. **Organometallics and Catalysis: An introduction**. [S. l.]: Oxford University Press, 2015.
- ⁵⁴PARSHALL, G. W. Intramolecular aromatic substitution in transition metal complexes. **Accounts of Chemical Research**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 139–144, 1970.
- ⁵⁵OMAE, I. Agostic bonds in cyclometalation. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 696, n. 6, p. 1128–1145, 2011.
- ⁵⁶WEAVER, D. L. Crystal and molecular structure of trans-chloro-2-(phenylazo)phenylbis(triethylphosphine)palladium(II). **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 2250–2258, 1970.

- ⁵⁷COPE, A. C.; FRIEDRICH, E. C. Electrophilic aromatic substitution reactions by platinum(II) and palladium(II) chlorides on N,N-dimethylbenzylamines. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 90, n. 4, p. 909–913, 1968.
- ⁵⁸VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; CUADRADO, J.; RAMÍREZ DE ARELLANO, M. C. Ortho-Metalated Primary Amines. 6. ¹ The First Synthesis of Six-Membered Palladacycles from Primary Amines Containing Electron-Withdrawing Substituents: End of the Limiting Rules of Cope and Friedrich on Cyclopalladation of Benzyl- and Phenethylamines. **Organometallics**, [s. l.], v. 22, n. 26, p. 5513–5517, 2003.
- ⁵⁹VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I. ORTHO -PALLADATION OF PRIMARY AMINES: THE MYTH DISPELLED. **Comments on Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 1–2, p. 39–72, 2007.
- ⁶⁰BABA, S.; KAWAGUCHI, S. Intramolecular substitution reactions on some palladium(II) complexes of aromatic primary amines. **Inorganic and Nuclear Chemistry Letters**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 415–420, 1975.
- ⁶¹FUCHITA, Y.; TSUCHIYA, H. First ortho-palladation of unsubstituted benzylamine by palladium(II) acetate. **Polyhedron**, [s. l.], v. 12, n. 16, p. 2079–2080, 1993.
- ⁶²KURZEEV, S. A.; KAZANKOV, G. M.; RYABOV, A. D. Second- and inverse order pathways in the mechanism of orthopalladation of primary amines. **Inorganica Chimica Acta**, [s. l.], v. 340, p. 192–196, 2002.
- ⁶³FISH, R. H.; JAOUEN, G. Bioorganometallic Chemistry: Structural Diversity of Organometallic Complexes with Bioligands and Molecular Recognition Studies of Several Supramolecular Hosts with Biomolecules, Alkali-Metal Ions, and Organometallic Pharmaceuticals. **Organometallics**, [s. l.], v. 22, n. 11, p. 2166–2177, 2003.
- ⁶⁴ABDEL-MOTTALEB, M. S. A.; ISMAIL, E. H. Transition Metal Complexes of Mixed Bioligands: Synthesis, Characterization, DFT Modeling, and Applications. **Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 2019, p. 1–18, 2019.
- ⁶⁵KONDRATSKYI, A.; KONDRATSKA, K.; VANDEN ABEELE, F.; GORDIENKO, D.; DUBOIS, C.; TOILLON, R.-A.; SLOMIANNY, C.; LEMIÈRE, S.; DELCOURT, P.; DEWAILLY, E.; SKRYMA, R.; BIOT, C.; PREVARSKAYA, N. Ferroquine, the next generation antimalarial drug, has antitumor activity. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 15896, 2017.
- ⁶⁶SCATTOLIN, T.; VOLOSHKIN, V. A.; VISENTIN, F.; NOLAN, S. P. A critical review of palladium organometallic anticancer agents. **Cell Reports Physical Science**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 100446, 2021.
- ⁶⁷REIGOSA-CHAMORRO, F.; RAPOSO, L. R.; MUNÍN-CRUZ, P.; PEREIRA, M. T.; ROMA-RODRIGUES, C.; BAPTISTA, P. V.; FERNANDES, A. R.; VILA, J. M. In Vitro and In Vivo Effect of Palladacycles: Targeting A2780 Ovarian Carcinoma Cells and Modulation of Angiogenesis. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 3939–3951, 2021.
- ⁶⁸LIGHVAN, Z. M.; KHONAKDAR, H. A.; HEYDARI, A.; RAFIEE, M.; JAHROMI, M. D.; DERAKHSHANI, A.; MOMTAZI-BOROJENI, A. A. Spectral and molecular docking studies of nucleic acids/protein binding interactions of a novel organometallic palladium (II) complex containing bioactive PTA ligands: Its synthesis, anticancer effects and encapsulation in albumin nanoparticles. **Applied Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 34, n. 10, 2020.

⁶⁹RAY CHAUDHURI, A.; NUSSENZWEIG, A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 610–621, 2017.

⁷⁰MORO, A. C.; DA CUNHA, G. A.; DE SOUZA, R. F. F.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. de G.; CARLOS, I. Z.; RESENDE, F. A.; VARANDA, E. A.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. C 2 ,N-dimethylbenzylamine cyclopalladated compounds: evaluation of cytotoxic, mutagenic and antitubercular activities. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 2879–2888, 2015.

⁷¹MORO, A. C.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; HÖRNER, M. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of [Pd(C2,N-dmba)(Br)(tu)] (dmba =N,N-dimethylbenzylamine, tu = thiourea). **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 44, n. 11, p. 4611–4615, 2009.

⁷²ZANETTI, R. D.; DA CUNHA, G. A.; MOREIRA, M. B.; FARIAS, R. L.; DE SOUZA, R. F. F.; DE GODOY, P. R. D. V.; BRASSESCO, M. S.; ROCHA, F. V.; LIMA, M. A.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated N,N-dimethyl-1-phenethylamine compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, DNA binding studies and cytotoxicity evaluation. **Polyhedron**, [s. l.], v. 229, p. 116185, 2023.

⁷³THOMAZELLA, N.; LEMOS, S.; SOUZA, Ronan; SOUZA, Rodrigo; MAURO, A.; CARLOS, I.; NETTO, A. V. G. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPOSTOS CICLOPALADADOS CONTENDO COMO LIGANTES BENZALDEIDOXIMA ORTOMETALADA E ETILENOTIOURÉIA. **Química Nova**, [s. l.], 2018.

⁷⁴DE SOUZA, R. F. F.; DA CUNHA, G. A.; PEREIRA, J. C. M.; GARCIA, D. M.; BINCOLETTO, C.; GOTO, R. N.; LEOPOLDINO, A. M.; DA SILVA, I. C.; PAVAN, F. R.; DEFLON, V. M.; DE ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated acetophenone oxime compounds bearing thioamides as ligands: Synthesis, structure and cytotoxic evaluation. **Inorganica Chimica Acta**, [s. l.], v. 486, p. 617–624, 2019.

⁷⁵VELASQUES, J. M.; DE SOUZA, R. F. F.; SILVA, D. E. S.; FARIAS, R. L.; ZANETTI, R. D.; MOREIRA, M. B.; ELLENA, J.; PEREIRA, J. C. M.; MAURO, A. E.; OLIVEIRA, A. B.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated tetralone oxime compounds bearing tertiary phosphines: Synthesis, structure, biological and in silico studies. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 958, p. 122184, 2022.

⁷⁶MOSMANN, T. 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.

⁷⁷“CrysAlisPRO.” Oxford Diffraction /Agilent Technologies UK Ltd, Yarnton.

⁷⁸SHELDRICK, G. M. *SHELXT* – Integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015.

⁷⁹SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with *SHELXL*. **Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015a.

- ⁸⁰DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; PUSCHMANN, H. *OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program*. **Journal of Applied Crystallography**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 339–341, 2009.
- ⁸¹SHELDRICK, G. M. A short history of *SHELX*. **Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography**, [s. l.], v. 64, n. 1, p. 112–122, 2008.
- ⁸²PUTZ, H.; BRANDENBURG, K. **Diamond - Crystal and Molecular Structure Visualization**. Bonn: Crystal Impact, 2006. Disponível em: <<https://www.crystalimpact.de/diamond>>. Acesso em 06 agosto 2023.
- ⁸³MACRAE, C. F.; BRUNO, I. J.; CHISHOLM, J. A.; EDINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; RODRIGUEZ-MONGE, L.; TAYLOR, R.; VAN DE STREEK, J.; WOOD, P. A. *Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures*. **Journal of Applied Crystallography**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 466–470, 2008.
- ⁸⁴ALBERT, J.; BOSQUE, R.; CRESPO, M.; GARCÍA, G.; GRANELL, J.; LÓPEZ, C.; LOVELLE, M. V.; QADIR, R.; GONZÁLEZ, A.; JAYARAMAN, A.; MILA, E.; CORTÉS, R.; QUIRANTE, J.; CALVIS, C.; MESSEGUER, R.; BADÍA, J.; BALDOMÀ, L.; CASCANTE, M. Cyclopalladated primary amines: A preliminary study of antiproliferative activity through apoptosis induction. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 84, p. 530–536, 2014.
- ⁸⁵VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; OLIVA-MADRID, M.-J.; GARCÍA-LÓPEZ, J.-A.; BAUTISTA, D. A New Method for High-Yield Cyclopalladation of Primary and Secondary Amines. Atom-Efficient Open-to-Air Inexpensive Synthesis of Buchwald-Type Precatalysts. **Organometallics**, [s. l.], v. 30, n. 17, p. 4624–4631, 2011.
- ⁸⁶VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; GARCÍA-LÓPEZ, J.-A.; CALMUSCHI-CULA, B.; BAUTISTA, D. Ortho palladation and functionalization of L-phenylalanine methyl ester. **Organometallics**, [s. l.], v. 26, n. 10, p. 2768–2776, 2007.
- ⁸⁷GARCÍA-LÓPEZ, J.; SAURA-LLAMAS, I. Chasing C, C-Palladacycles. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 2021, n. 36, p. 3655–3683, 2021.
- ⁸⁸MAURO, A. E.; CAIRES, A. C. F.; SANTOS, R. H. D. A.; GAMBARDELLA, M. T. D. P. CYCLOADDITION REACTION OF THE AZIDO-BRIDGED CYCLOMETALLATED COMPLEX [Pd(dmba)N₃]₂ WITH CS₂. CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF DI(μ, N,S-1,2,3,4-THIATRIAZOLE-5-THIOLATE)BIS[(N,N-DIMETHYLBENZYL-AMINE-C²,N)PALLADIUM(II)]. **Journal of Coordination Chemistry**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 521–528, 1999.
- ⁸⁹KUVEKE, R. E. H.; BARWISE, L.; VAN INGEN, Y.; VASHISTH, K.; ROBERTS, N.; CHITNIS, S. S.; DUTTON, J. L.; MARTIN, C. D.; MELEN, R. L. An International Study Evaluating Elemental Analysis. **ACS Central Science**, [s. l.], v. 8, n. 7, p. 855–863, 2022.
- ⁹⁰HO, C. S.; LAM, C. W. K.; CHAN, M. H. M.; CHEUNG, R. C. K.; LAW, L. K.; LIT, L. C. W.; NG, K. F.; SUEN, M. W. M.; TAI, H. L. Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. **The Clinical biochemist. Reviews**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 3–12, 2003.
- ⁹¹PRABHU, G. R. D.; WILLIAMS, E. R.; WILM, M.; URBAN, P. L. Mass spectrometry using electrospray ionization. **Nature Reviews Methods Primers**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 23, 2023.

- ⁹²DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 432–455, 2016.
- ⁹³PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 45, n. 9, p. 581, 1968.
- ⁹⁴PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part II: Underlying theories. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 45, n. 10, p. 643, 1968b.
- ⁹⁵JAREMKO, Ł.; KIRILLOV, A. M.; SMOLEŃSKI, P.; LIS, T.; POMBEIRO, A. J. L. Extending the Coordination Chemistry of 1,3,5-Triaza-7-phosphaadamantane (PTA) to Cobalt Centers: First Examples of Co-PTA Complexes and of a Metal Complex with the PTA Oxide Ligand. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 47, n. 8, p. 2922–2924, 2008.
- ⁹⁶MEIJ, A. M. M.; OTTO, S.; ROODT, A. *trans*-Dibromobis(1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane-κ P)palladium(II). **Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online**, [s. l.], v. 58, n. 11, p. m644–m646, 2002.
- ⁹⁷MEEUWISSEN, H. J.; VAN DER KNAAP, T. H. A.; BICKELHAUPT, F. Synthesis of 1-phosphaadamantane. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 39, n. 24, p. 4225–4228, 1983.
- ⁹⁸SHENDEROVICH, I. G. 1,3,5-Triaza-7-Phosphaadamantane (PTA) as a ³¹P NMR Probe for Organometallic Transition Metal Complexes in Solution. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 1390, 2021.
- ⁹⁹BREUGST, M.; REISSIG, H. The Huisgen Reaction: Milestones of the 1,3-Dipolar Cycloaddition. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 59, n. 30, p. 12293–12307, 2020.
- ¹⁰⁰AGGARWAL, S.; VU, A.; EREMIN, D. B.; PERSAUD, R.; FOKIN, V. V. Arenes participate in 1,3-dipolar cycloaddition with in situ-generated diazoalkenes. **Nature Chemistry**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 764–772, 2023.
- ¹⁰¹PENG, K.; MAWAMBA, V.; SCHULZ, E.; LÖHR, M.; HAGEMANN, C.; SCHATZSCHNEIDER, U. iClick Reactions of Square-Planar Palladium(II) and Platinum(II) Azido Complexes with Electron-Poor Alkynes: Metal-Dependent Preference for N1 vs N2 Triazolate Coordination and Kinetic Studies with ¹H and ¹⁹F NMR Spectroscopy. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 17, p. 11508–11521, 2019.
- ¹⁰²POWERS, A. R.; GHIVIRIGA, I.; ABBOUD, K. A.; VEIGE, A. S. Au-iClick mirrors the mechanism of copper catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC). **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 44, n. 33, p. 14747–14752, 2015.
- ¹⁰³DORI, Z.; ZIOLO, R. F. Chemistry of coordinated azides. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 247–254, 1973.
- ¹⁰⁴RISS, T. L. et al. **The Assay Guidance Manual [internet]**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>>.
- ¹⁰⁵GHASEMI, M.; TURNBULL, T.; SEBASTIAN, S.; KEMPSON, I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 23, p. 12827, 2021.

- ¹⁰⁶BADARÓ, W. P. D. **Síntese, caracterização e atividade biológica de ciclopaladados contendo o metil-éster da L-fenilalanina.** Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 112. 2022.
- ¹⁰⁷MOMAN, R. N.; GUPTA, N.; VARACALLO, M. **Physiology, Albumin.** [S. l.: s. n.], 2023. 2023.
- ¹⁰⁸SUGIO, S.; KASHIMA, A.; MOCHIZUKI, S.; NODA, M.; KOBAYASHI, K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. **Protein Engineering, Design and Selection**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 439–446, 1999.
- ¹⁰⁹FERRARO, G.; MASSAI, L.; MESSORI, L.; MERLINO, A. Cisplatin binding to human serum albumin: a structural study. **Chemical Communications**, [s. l.], v. 51, n. 46, p. 9436–9439, 2015.
- ¹¹⁰ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A. Spectroscopic and computational evaluation on the binding of safranal with human serum albumin: Role of inner filter effect in fluorescence spectral correction. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 203, p. 434–442, 2018.
- ¹¹¹DA CUNHA, G. A.; DE SOUZA, R. F. F.; DE FARIAS, R. L.; MOREIRA, M. B.; SILVA, D. E. S.; ZANETTI, R. D.; GARCIA, D. M.; SPINDOLA, D. G.; MICHELIN, L. F. G.; BINCOLETTI, C.; DE SOUZA, A. A.; ANTUNES, A. A.; JUDICE, W. A. de S.; LEITAO, R. C. F.; DEFLON, V. M.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Cyclopalladated compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, spectral and biological studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 203, p. 110944, 2020.
- ¹¹²DOS SANTOS, E. R.; GRAMINHA, A. E.; SCHULTZ, M. S.; CORREIA, I.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; CORRÊA, R. S.; ELLENA, J.; LACERDA, E. de P. S.; PESSOA, J. C.; BATISTA, A. A. Cytotoxic activity and structural features of Ru(II)/phosphine/amino acid complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 182, p. 48–60, 2018.
- ¹¹³VARSHNEY, A.; SEN, P.; AHMAD, E.; REHAN, Mohd.; SUBBARAO, N.; KHAN, R. H. Ligand binding strategies of human serum albumin: How can the cargo be utilized?. **Chirality**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 77–87, 2010.
- ¹¹⁴MOREIRA, M. B.; FRANCISCATO, D. S.; TOLEDO, K. C. F.; SOUZA, J. R. B. de; NAKATANI, H. S.; SOUZA, V. R. de. INVESTIGATION OF THE FLUORESCENCE QUENCHING OF BOVINE AND HUMAN SERUM ALBUMIN BY RUTHENIUM COMPLEX. **Química Nova**, [s. l.], 2014.
- ¹¹⁵DE OLIVEIRA, R. S.; BOFFO, E. F.; REIS, F. C. C.; NIKOLAOU, S.; ANDRIANI, K. F.; CARAMORI, G. F.; DORO, F. G. A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin. **Polyhedron**, [s. l.], v. 114, p. 232–241, 2016.
- ¹¹⁶REHMAN, S. U.; SARWAR, T.; HUSAIN, M. A.; ISHQI, H. M.; TABISH, M. Studying non-covalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 576, p. 49–60, 2015.
- ¹¹⁷GONZLEZ-RUIZ, V.; I., A.; ANTONIA, M.; RIBELLES, P.; TERESA, M.; CARLOS, J. An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug-DNA Interactions.

Applications to the Design of Genosensors. *Em: BIOMEDICAL ENGINEERING, TRENDS, RESEARCH AND TECHNOLOGIES*. [S. l.]: InTech, 2011.

¹¹⁸KUMAR, S.; NAIR, M. S. Deciphering the interaction of flavones with calf thymus DNA and octamer DNA sequence (CCAATTGG) ₂. **RSC Advances**, [s. l.], v. 11, n. 47, p. 29354–29371, 2021.

¹¹⁹BUCEVIČIUS, J.; LUKINAVIČIUS, G.; GERASIMAITĖ, R. The Use of Hoechst Dyes for DNA Staining and beyond. **Chemosensors**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 18, 2018.