

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS  
GERAIS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ**



**Hercules Pereira da Silva**

**INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA FORMAÇÃO DE  
COMPLEXOS DE CISPLATINA COM MODELOS DA  
PROTEÍNA ATP7A**

Itajubá - MG, Brasil

2024

# **INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA FORMAÇÃO DE COMPLEXOS DE CISPLATINA COM MODELOS DA PROTEÍNA ATP7A**

**Discente: Hercules Pereira da Silva**

**Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Juliana Fedoce Lopes**

**Linha de Pesquisa: Química Teórica Computacional**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação Multicêntrico em Química de  
Minas Gerais como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre em Química.

Itajubá - MG, Brasil

2024

## EPÍGRAFE

Quando você...

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à toda equipe do Laboratório de Química Computacional – LAQC UNIFEI que esteve presente durante todo ou parte do meu processo de formação como mestre em Química: Ana Beatriz (IC), Juliano Trindade (Mestrado), Selma Bazan (Pós-doc), Mateus Vinícius (Mestre), Rogério Macedo (IC), João Paulo (Doutorado), Bruna Lemes (Doutorado), Lucas César (Doutorado), Sabrina e Pedro (IC), Pedro Novaes (Mestre), Débora Cunha (Mestra) e Juliana Fedoce (Doutora e orientadora).

Gostaria de agradecer à minha mãe Maria José e ao Aldones Nino por todo apoio e confiança na minha capacidade e sucesso nesta minha jornada acadêmica.

Gostaria também de agradecer à toda a comunidade de amigos (as) e servidores (as) da Universidade Federal de Itajubá, que me acolheram e foram extremamente importantes nos meus círculos de amizade e nas atividades acadêmicas, e que vêm marcando a minha vida desde o início da minha corrida pelo acesso ao ensino superior no Curso Assistencial Theodomiro Santiago (CATS) o qual estive o prazer de participar tanto como aluno quanto como professor.

Gostaria de agradecer à todas as pessoas que lutam diariamente por políticas de popularização da educação e da ciência no Brasil, que vêm transformando vidas assim como vem transformando a minha e que me faz segui-las nesta luta.

Por fim, gostaria de agradecer à CAPES pela bolsa concedida e à todas as instituições de fomento de pesquisa e de popularização em C&T do país, como a FAPEMIG, CNPq e tantas outras, as quais desejo vida longa e prosperidade.

## RESUMO

A cisplatina (*cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]) é conhecida por ser um importante composto agente no combate a diversos tipos de câncer, atuando no DNA e resultando em distorções na estrutura macromolecular que induz a célula à morte programada. Com o uso frequente de cisplatina, a resposta das células é a indução de mecanismos de resistência ao fármaco, dificultando o tratamento. Diversos estudos apontam que as células podem absorver e transportar cisplatina por meio de proteínas transportadoras ATP7A e ATP7B, responsáveis pela regulação de Cu(I). As mesmas também estão relacionadas aos mecanismos de resistência celular ao fármaco devido à intensificação do fluxo de cisplatina para o meio extracelular. Neste trabalho, cálculos de DFT com funcional M06-2X e de NCI para investigação de interações não covalentes foram utilizadas ao longo de propostas mecanísticas para reações de *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>] com o sítio ativo do 6º domínio de ligação à metais (Mnk6) da proteína ATP7A, com e sem presença de Cu(I) na estrutura proteica e tanto na fase gás quanto em solvatação implícita. Os resultados indicaram a existência de diferentes etapas com características associativas. Em fase gás, as coordenadas das reações apontam para maior favorecimento termodinâmico e cinético para o reagente diaquo em comparação com dicloro; e para a forma holoproteica em comparação com a apoproteica. Em meio solvatado, no entanto, as reações entre as formas diaquo e dicloro com o sítio holoproteico apresentaram tanto as energias de barreira quanto as variações de energia livre da reação muito próximas na primeira etapa (por volta de 12,3 kcal.mol<sup>-1</sup> e 12,0 kcal.mol<sup>-1</sup>, respectivamente). Nas formas holoproteicas, foram observadas interações fortemente atrativas de Cu(I) com Pt(II) que podem impactar na velocidade da reação e estabilização de complexos reagentes. Por análises topológicas e demais observações, a hipótese é que se tratam de interações não covalentes, apresentando em vários casos densidades eletrônicas maiores que as observadas para típicas ligações de hidrogênio. Cálculos de NBO ainda apontaram para possíveis transferências de carga de S e Cu(I) para Pt(II), concomitantemente com mudanças de geometrias em relação aos centros metálicos. Entretanto, o recorte estrutural da proteína (isto é, o sítio ativo) e a não obtenção de resultados de IRC sob certos estados de transição pode ser considerados fatores limitantes.

## ABSTRACT

Cisplatin (*cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]) is known to be an important agent in the fight against various types of cancer, acting on DNA and resulting in distortions in the macromolecular structure that induce the cell to programmed death. With the frequent use of cisplatin, the response of cells is the induction of drug resistance mechanisms, complicating treatment. Numerous studies indicate that cells can absorb and transport cisplatin through the ATP7A and ATP7B transport proteins, which are responsible for the regulation of Cu(I). These proteins are also related to the mechanisms of cellular resistance to the drug due to the intensified flow of cisplatin to the extracellular medium. In this work, DFT calculations with the M06-2X functional and NCI for investigating non-covalent interactions were used throughout mechanistic proposals for the reactions of *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] and *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> with the active site of the 6th metal-binding domain (Mnk6) of the ATP7A protein, both in the presence and absence of Cu(I) in the protein structure, and in both gas phase and implicit solvation. The results indicated the existence of distinct stages with associative characteristics. In the gas phase, the reaction coordinates suggest greater thermodynamic and kinetic favorability for the diaquo reagent compared to the dichloro; and for the holoprotein form compared to the apoprotein. In the solvated medium, however, the reactions between the diaquo and dichloro forms with the holoprotein site showed barrier energies and free energy changes for the reaction that were remarkably close in the first stage (around 12.3 kcal·mol<sup>-1</sup> and 12.0 kcal·mol<sup>-1</sup>, respectively). In the holoprotein forms, strongly attractive interactions of Cu(I) with Pt(II) were observed, which may impact the reaction rate and stabilization of reagent complexes. Through topological analyses and other observations, the hypothesis is that these are non-covalent interactions, exhibiting in several cases electronic densities greater than those observed for typical hydrogen bonds. NBO calculations also indicated possible charge transfers from S and Cu(I) to Pt(II), concurrently with changes in geometries concerning the metal centers. However, the structural cut of the protein (i.e., the active site) and the failure to obtain IRC results under certain transition states may be considered limiting factors.

# SUMÁRIO

<b>EPÍGRAFE</b>	I
<b>AGRADECIMENTOS</b>	II
<b>RESUMO</b>	III
<b>SUMÁRIO</b>	V
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	VII
<b>LISTA DE TABELAS</b>	X
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b>	XI
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
1.1 HISTÓRIA, QUÍMICA E AÇÃO DA CISPLATINA	1
1.2 TRANSPORTE DE COMPLEXOS DE PLATINA: ATIVIDADE DE METALOPROTEÍNAS DE Cu(I) E O PROBLEMA DA RESISTÊNCIA CELULAR	4
1.3 ESTRUTURA DA PROTEÍNA ATP7A	7
1.4 QUÍMICA INORGÂNICA DAS REAÇÕES	11
<b>2. OBJETIVOS</b>	16
2.1 OBJETIVOS GERAIS	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
<b>3. METODOLOGIA TEÓRICA</b>	17
3.1 EQUAÇÃO DE SCHRÖDINGER E A APROXIMAÇÃO DE BORN-OPPENHEIMER	17
3.2 MÉTODO DE HARTREE-FOCK (HF) E DETERMINANTES DE SLATER	20
3.3 CONJUNTOS DE BASE E FUNÇÕES DE BASE	21
3.4 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)	23
3.5 PSEUDOPOTENCIAIS OU <i>EFFECTIVE CORE POTENTIALS</i> (ECPs)	25
3.6 TEORIA QUÂNTICA DE ÁTOMOS EM MOLÉCULAS ( <i>QTAIM</i> ) E <i>NON-COVALENT INTERACTIONS INDEX</i> (NCI)	27
3.7 <i>NATURAL BOND ORBITALS</i> (NBO)	30
3.8 MODELOS CONTÍNUOS DE SOLVATAÇÃO	32
<b>4. METODOLOGIA DE EXECUÇÃO</b>	35
4.1 ANÁLISES ESTRUTURAIS E CÁLCULOS DE ENERGIA E DE OTIMIZAÇÃO DOS MODELOS DE REFERÊNCIA	35
4.2 ESTADO DE TRANSIÇÃO (ET) E COORDENADA INTRÍNSECA DA REAÇÃO (IRC)	37
4.3 CÁLCULOS DE NCI	41

4.4	CÁLCULOS DE CARGAS NBO	41
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>42</b>
5.1	REAÇÕES DE CASC E DE $[\text{CuCASC}]^+$ COM $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ E $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ NA FASE GÁS	42
5.1.1	<i>1º caso: reagente cisplatina cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]</i>	42
5.1.2	<i>2º caso: reagente diaquo cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup></i>	56
5.2	REAÇÕES DE $[\text{CuCASC}]^+$ COM $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ E $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub>	78
5.2.1	<i>1ª etapa</i>	79
5.2.2	<i>2ª etapa</i>	85
5.2.3	<i>3ª etapa</i>	91
5.2.4	<i>Análise topológica</i>	100
5.3	CÁLCULOS DE CARGA NBO	104
5.3.1	<i>Fase Gás</i>	104
5.3.2	<i>IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub></i>	108
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>111</b>
<b>7.</b>	<b>APÊNDICE</b>	<b>113</b>
7.1	APÊNDICE 1: SELEÇÃO DE MODELOS APOPROTEICO E HOLOPROTEICO	113
7.2	APÊNDICE 2: ESTRUTURAS DE REAGENTES, ET, PRODUTOS E NCI DE REAÇÕES DE $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ E $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ COM $[\text{CuCASC}]^+$ EM IEFPCM	118
7.3	APÊNDICE 3: DIAGRAMAS DE COORDENADA DE REAÇÃO DE $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ E $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ COM $[\text{CuCASC}]^+$ EM IEFPCM	124
7.4	APÊNDICE 4: CARGAS NBO DE ÁTOMOS EM REAÇÕES DE $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ E $\text{Cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ COM $[\text{CuCASC}]^+$ EM IEFPCM	126
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>128</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL DA CISPLATINA ( <i>CIS</i> -DIAMINODICLOROPLATINA (II)) .....	1
FIGURA 2: ESQUEMA REPRESENTATIVO DO EQUILÍBRIO QUÍMICO DE REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO DE LIGANTES Cl/H <sub>2</sub> O EM <i>CIS</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] .....	2
FIGURA 3: EXEMPLO DE ADUTO BIFUNCIONAL FORMADO PELA REAÇÃO ENTRE CISPLATINA E O DNA .....	3
FIGURA 4: REPRESENTAÇÃO SIMPLIFICADA DA PROTEÍNA ATP7A EM UMA MEMBRANA. ESTÃO REPRESENTADOS OS 8 SEGMENTOS TRANSMEMBRANARES POR CILINDROS DE A A H, OS DLMs (DOMÍNIOS DE LIGAÇÃO A METAIS) DE 1 A 6, E OS DOMÍNIOS P <sub>DKTG</sub> , N E A <sub>TGE</sub> .....	7
FIGURA 5: REPRESENTAÇÕES ESTRUTURAIS DE UM MODELO DE MNK6 APOPROTEICO DA PROTEÍNA ATP7A, COM O SEQUENCIAMENTO DE AMINOÁCIDOS; DESTAQUE EM SOMBREADO PARA O GRUPO CXXC .....	9
FIGURA 6: REPRESENTAÇÕES ESTRUTURAIS CISTEÍNA (ESQUERDA) E PARA O QUELATO ENTRE CXXC DE MNK6 E Cu(I) (DIREITA) .....	10
FIGURA 7: EQUILÍBRIO QUÍMICO ENTRE ATOX1, O 1º DOMÍNIO DA PROTEÍNA ATP7A E Cu(I) .....	11
FIGURA 8: RECorte DA ESTRUTURA, OBTIDA POR CRISTALOGRAFIA DE RAIOS X, PARA INTERAÇÕES DEPENDENTES DE COBRE ENTRE ATOX1 E MNK1 MEDIADAS POR Pt(II) .....	13
FIGURA 9: GRÁFICO DA FUNÇÃO-ORBITAL 5s DE Ag COM ECP SMALL-CORE, LARGE-CORE E SEM ECP .....	26
FIGURA 10: ESCALA DE CORES PARA DESCRIÇÃO DO TIPO E DO NÍVEL DE FORÇA DAS INTERAÇÕES NÃO COVALENTES, PRESENTES EM ISOSUPERFÍCIES DE ESTRUTURAS POR CÁLCULOS DE NCI .....	30
FIGURA 11: REPRESENTAÇÃO SIMPLIFICADA DO MODELO DE SOLVATAÇÃO CONTÍNUA .....	32
FIGURA 12: REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL DE UM MODELO DO MNK6 APOPROTEICO DA PROTEÍNA ATP7A, COM DESTAQUE PARA O SÍTIO ATIVO CASC (C EM CINZA, H EM BRANCO, N EM AZUL, O EM VERMELHO E S EM AMARELO) .....	36
FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL PARA O ET TÍPICO DE COMPLEXOS QUADRÁTICO-PLANOS DE Pt(II), SENDO A O LIGANTE DE ENTRADA E B, O DE SAÍDA .....	39
FIGURA 14: ESTRUTURAS DE ET <sub>1<sub>DICL</sub></sub> E DE ET <sub>1<sub>DICL</sub>CU</sub> COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS .....	43
FIGURA 15: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>1<sub>DICL</sub>CU</sub> EM DIFERENTES PERSPECTIVAS .....	45
FIGURA 16: GRÁFICOS DE IRC VIA ET <sub>1<sub>DICL</sub></sub> (A) E VIA ET <sub>1<sub>DICL</sub>CU</sub> (B) E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) .....	46
FIGURA 17: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1<sub>DICL</sub></sub> (A E B) E ET <sub>1<sub>DICL</sub>CU</sub> (C E D) .....	47
FIGURA 18: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1<sub>DICL</sub>CU</sub> .....	48
FIGURA 19: ESTRUTURA DE ET <sub>2<sub>DICL</sub></sub> COM VETORES DO MODO VIBRACIONAL .....	50
FIGURA 20: GRÁFICO DE IRC VIA ET <sub>2<sub>DICL</sub></sub> E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) .....	51
FIGURA 21: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES (A) E PRODUTOS (B) VIA ET <sub>2<sub>DICL</sub></sub> .....	52
FIGURA 22: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÃO ENTRE [CuCASC] E <i>CIS</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> .....	53
FIGURA 23: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÕES ENTRE CASC E <i>CIS</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] .....	54
FIGURA 24: ESTRUTURAS DE ET <sub>1<sub>DIOH2</sub></sub> (A) E DE ET <sub>1<sub>DIOH2</sub>CU</sub> (B) COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS .....	57
FIGURA 25: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>1<sub>DIOH2</sub>CU</sub> EM DIFERENTES PERSPECTIVAS, COM DESTAQUE PARA POSSÍVEL LIGAÇÃO Cu(I)-O <sub>CYS15</sub> (EM A) .....	58
FIGURA 26: GRÁFICO DE IRC VIA ET <sub>1<sub>DIOH2</sub>CU</sub> E DE DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) .....	59

FIGURA 27: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> (A E B) VIA PERCEPÇÃO QUÍMICA E DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (C E D) VIA IRC .....	60
FIGURA 28: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU .....	62
FIGURA 29: ESTRUTURAS DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> (A) E DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (B) COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS.....	63
FIGURA 30: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM DIFERENTES PERSPECTIVAS .....	64
FIGURA 31: GRÁFICO DE IRC VIA ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) DOS PRINCIPAIS ÁTOMOS .....	65
FIGURA 32: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES E PRODUTOS VIA IRC EM ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> (A E B) E VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” (C E D) EM ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU .....	66
FIGURA 33: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA OS POSSÍVEIS REAGENTES (A) E PRODUTOS (B) VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU .....	67
FIGURA 34: ESTRUTURA DE ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS.....	69
FIGURA 35: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM DIFERENTES PERSPECTIVAS .....	70
FIGURA 36: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTE (A) E PRODUTO (B) VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” PARA ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU.....	71
FIGURA 37: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA O POSSÍVEL PRODUTO VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” DE ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM DIFERENTES PERSPECTIVAS.....	72
FIGURA 38: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÕES DE [CUCASC] <sup>-</sup> COM C <sub>IS</sub> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> EM FASE GÁS .....	74
FIGURA 39: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÕES ENTRE CASC E C <sub>IS</sub> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> .....	76
FIGURA 40: ESTRUTURAS DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU E DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS .....	79
FIGURA 41: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A) E ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (B) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC.....	80
FIGURA 42: GRÁFICOS DE IRC VIA ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A) E VIA ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (B) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC COM DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å).....	81
FIGURA 43: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A E B) E ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (C E D) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	82
FIGURA 44: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A E B) E ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (C E D) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	83
FIGURA 45: ESTRUTURAS DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU E DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS .....	86
FIGURA 46: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A) E ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (B) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC.....	87
FIGURA 47: GRÁFICO DE IRC PARA FORMAÇÃO DE PRODUTOS VIA ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC COM DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) .....	88
FIGURA 48: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A E B) E ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (C E D) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	89
FIGURA 49: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA REAGENTES E PRODUTOS DE ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>CL</sub> CU (A E B) E ET <sub>2</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU (C E D) EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	90
FIGURA 50: ESTRUTURA DE ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU COM VETORES DOS MODOS VIBRACIONAIS.....	92
FIGURA 51: RESULTADO DE CÁLCULOS NCI PARA ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC.....	93
FIGURA 52: ESTRUTURAS OTIMIZADAS DE POSSÍVEIS REAGENTES (A) E PRODUTOS (B) DE ET <sub>3</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	94
FIGURA 53: RESULTADOS DE CÁLCULOS NCI PARA REAGENTES (A) E PRODUTOS (B) DE ET <sub>1</sub> <sub>DI</sub> <sub>OH</sub> <sub>2</sub> CU EM IEFPCM + OH <sub>2</sub> -ADIC .....	95

FIGURA 54: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÕES ENTRE $[\text{CUCASC}]^-$ E $\text{CIS}-[\text{PT}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	97
FIGURA 55: DIAGRAMA DE COORDENADA DE REAÇÕES ENTRE $[\text{CUCASC}]^-$ E $\text{CIS}-[\text{PT}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	99
FIGURA 56: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DCl}}\text{Cu}$ EM FASE GÁS .....	104
FIGURA 57: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DCl}}$ EM FASE GÁS .....	105
FIGURA 58: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DIOH}_2}\text{Cu}$ EM FASE GÁS.....	106
FIGURA 59: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DIOH}_2}$ EM FASE GÁS.....	108
FIGURA 60: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DCl}}\text{Cu}$ EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> ...	109
FIGURA 61: GRÁFICO DE CARGAS NBO (EM C) LOCALIZADAS PARA OS PRINCIPAIS ÁTOMOS DE $\text{ET}_{\text{DIOH}_2}\text{Cu}$ EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub>	110

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) GERAIS PARA A 1 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET1 <sub>DICL</sub> Cu E ET1 <sub>DICL</sub> , AMBOS VIA IRC.....	49
TABELA 2: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (Å) GERAIS PARA A 2 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET2 <sub>DICL</sub> VIA IRC 52	
TABELA 3: VARIAÇÕES DE ENTALPIA E DE ENTROPIA*TEMPERATURA DAS REAÇÕES DE <i>Cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] COM O POLIPEPTÍDIO APOPROTEICO E HOLOPROTEICO, EM KCAL MOL <sup>-1</sup> .....	
55	
TABELA 4: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) GERAIS PARA A 1 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET1 <sub>DIOH2</sub> Cu VIA IRC E ET1 <sub>DIOH2</sub> VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” .....	
61	
TABELA 5: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) GERAIS PARA A 2 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET2 <sub>DIOH2</sub> Cu VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” E ET2 <sub>DIOH2</sub> VIA IRC .....	
68	
TABELA 6: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) GERAIS PARA A 3 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET3 <sub>DIOH2</sub> Cu VIA “PERCEPÇÃO QUÍMICA” .....	
72	
TABELA 7: VARIAÇÕES DE ENTALPIA E DE ENTROPIA*TEMPERATURA DAS REAÇÕES DE <i>Cis</i> -[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> COM O POLIPEPTÍDIO APOPROTEICO E HOLOPROTEICO, EM KCAL MOL <sup>-1</sup> .....	
77	
TABELA 8: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) PARA A 1 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET1 <sub>DICL</sub> Cu E ET1 <sub>DIOH2</sub> Cu EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> , AMBOS VIA IRC.....	
84	
TABELA 9: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) PARA A 2 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET2 <sub>DICL</sub> Cu E ET2 <sub>DIOH2</sub> Cu EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	
91	
TABELA 10: COMPRIMENTOS DE LIGAÇÃO E DISTÂNCIAS INTERATÔMICAS (EM Å) PARA A 3 <sup>a</sup> ETAPA COMPLETA EM ET3 <sub>DIOH2</sub> Cu EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	
95	
TABELA 111: VALORES DO LAPLACIANO DA DENSIDADE ELETRÔNICA ( $\nabla^2\rho$ ) E DE <i>sinal</i> $\lambda 2 * \rho$ DOS PONTOS CRÍTICOS DE LIGAÇÃO (BCP) ENTRE O PAR ATÔMICO Pt(II)…Cu(I) DOS SISTEMAS EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	
101	
TABELA 122: VALORES DO LAPLACIANO DA DENSIDADE ELETRÔNICA ( $\nabla^2\rho$ ) E DE <i>sinal</i> $\lambda 2 * \rho$ DOS PONTOS CRÍTICOS DE LIGAÇÃO (BCP) ENTRE O PAR ATÔMICO Pt(II)…H <sub>CA</sub> DOS SISTEMAS EM IEFPCM + OH <sub>2-ADIC</sub> .....	
103	

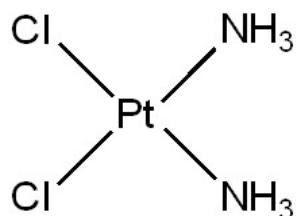
## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Cu-ATPases	Adenosinatrifosfatas do tipo P transportadoras de Cu(I)
<i>MBD</i>	<i>Metal-Binding Domain</i>
	Domínio de Ligação a Metais (DLM)
HF	Hartree-Fock
<i>SCF</i>	<i>Self-Consistent Field</i>
CLOA	Combinação Linear de Orbitais Atômicos
<i>DFT</i>	<i>Density Functional Theory</i>
	Teoria do Funcional da Densidade
<i>STO</i>	<i>Slater Type Orbital</i>
	Orbital do tipo Slater
<i>GTO</i>	<i>Gaussian Type Orbital</i>
	Orbital do tipo Gaussiana
<i>ECP</i>	<i>Effective Core Potential</i>
<i>QTAIM</i>	<i>Quantum Theory of Atoms in Molecules</i>
	Teoria Quântica de Átomos em Moléculas
<i>NCI</i>	<i>Non-covalent Interaction index</i>
<i>NBO</i>	<i>Natural Bond Orbitals</i>
<i>ET</i>	Estado de Transição
<i>IRC</i>	<i>Intrinsic Reaction Coordinate</i>
	Coordenada Intrínseca da Reação
<i>PES</i>	<i>Potential Energy Surface</i>
	Superfície de Energia Potencial
<i>BCP</i>	<i>Bond Critical Point</i>
	Ponto Crítico de Ligação
vdW	Van der Waals

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 História, química e ação da cisplatina

Dentre os fármacos utilizados em quimioterapia na atualidade, a cisplatina (Figura 1) se desponta como um dos agentes atualmente empregados no tratamento de diversos tipos de cânceres(DASARI; NJIKI; MBEMI; YEDJOU *et al.*, 2022; TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021) e, ainda, em estudos recentes para seu uso combinado com outros fármacos para alguns tipos de câncer em estágio avançado(TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021).



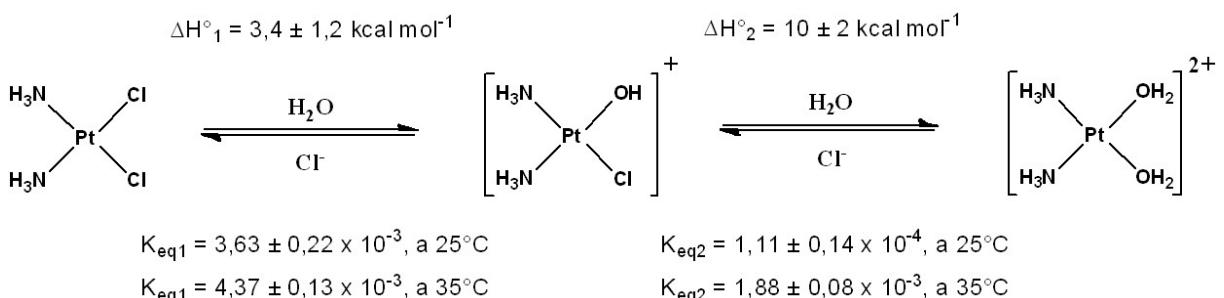
Fonte: elaborado pelo autor em *software ChemDraw Ultra 12.0*

**Figura 1: Representação estrutural da cisplatina (*cis*-diamminodichloroplatinina (II))**

Trata-se de um complexo metálico simples, de geometria quadrático-plana(HOUSECROFT; SHARPE, 2018), sintetizado pela primeira vez pelo químico italiano Michele Peyrone em 1844(ARNESANO; NATILE, 2021; ROTTENBERG; DISLER; PEREGO, 2021), mas que somente em 1965 teve sua atividade biológica reportada pela primeira vez pelo químico Barnett Rosenberg e colaboradores(ROSENBERG; VANCAMP; KRIGAS, 1965; ROSENBERG; VANCAMP; TROSKO; MANSOUR, 1969). Um fato curioso é que a descoberta de tal atividade biológica ocorreu de forma acidental. O grupo estudava os efeitos da eletrólise e de suas variáveis na divisão celular de bactérias *Escherichia Coli* utilizando eletrodos de platina, quando observou a redução da quantidade destes seres unicelulares ou a inibição do processo de divisão celular(ROSENBERG; VANCAMP; KRIGAS, 1965). Com esta importante observação, experimentos posteriores mostraram que o processo de divisão celular não estava diretamente relacionado com a corrente elétrica em si, mas sim com as interações de alguns dos produtos formados advindos de reações químicas que ocorreram na superfície do eletrodo em contato

com a solução contendo a bactéria. Alguns destes produtos eram complexos baseados em  $\text{Pt}^{2+}$ (ROSENBERG; VANCAMP; KRIGAS, 1965).

Embora a cisplatina – um destes produtos – seja considerada um fármaco, os complexos que apresentam atividade farmacológica mais expressivas em células tumorais são as espécies monoáquo  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$  e diaquo *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ (BERNERS-PRICE; FRENKIEL; FREY; RANFORD *et al.*, 1992; CARLONI; ANDREONI; HUTTER; CURIONI *et al.*, 1995), formadas por meio de reações de substituição de ligantes  $\text{Cl}^-$ (MAKOVEC, 2019) (Figura 2).

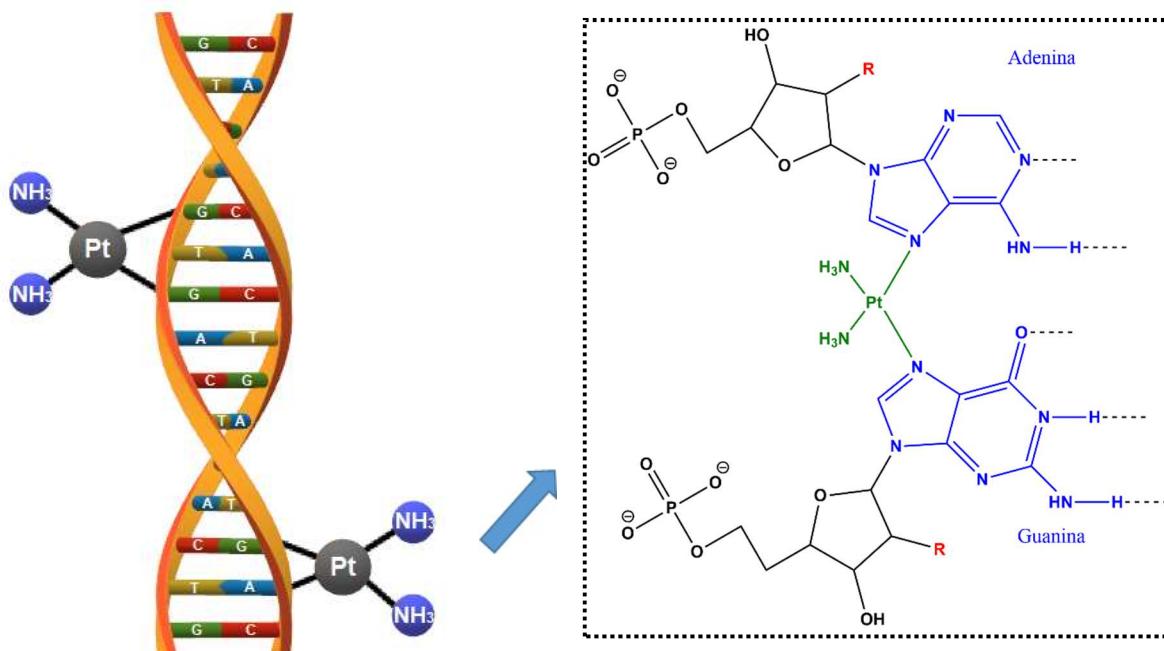


Fonte: elaborado pelo autor em softwares *ChemDraw Ultra 12.0*

**Figura 2: Esquema representativo do equilíbrio químico de reações de substituição de ligantes  $\text{Cl}^-/\text{H}_2\text{O}$  em *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$**

As reações de substituição de ligantes  $\text{Cl}^-$  por  $\text{H}_2\text{O}$  são endotérmicas, e os valores de  $K_{eq1}$  são maiores que de  $K_{eq2}$ (LEE; MARTIN, 1976). Cineticamente, a conversão para a forma aquo apresenta um tempo de meia-vida de 1,05 horas em solução aquosa a 35,5°C(MAKOVEC, 2019). Entretanto, a concentração de  $\text{Cl}^-$  no interior da célula é regularmente menor que no exterior (4 mmol.L<sup>-1</sup> e 103 mmol.L<sup>-1</sup>, respectivamente)(BASU; KRISHNAMURTHY, 2010; MAKOVEC, 2019), de modo que o equilíbrio desta reação no citoplasma é caracterizado pela maior formação de produtos aquo se comparado à uma solução aquosa fora do meio biológico(MAKOVEC, 2019).

Uma vez no núcleo celular, os aquo-complexos podem ligar-se diretamente ao DNA formando adutos mono e bifuncionais, como exemplificado pela Figura 3.



Fonte: elaborado pelo autor em softwares *Paint 3D* e *ChemDraw Ultra 12.0*

**Figura 3: Exemplo de aduto bifuncional formado pela reação entre cisplatina e o DNA**

O centro metálico Pt(II) pode estabelecer ligações químicas, preferencialmente, com os átomos de nitrogênio das posições 7 (denominados N7) em guaninas e adeninas de uma mesma fita do DNA ou das duas fitas, dentre outras formas possíveis de formação de complexos(BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; REEDIJK, 2003). Além disso, os ligantes da platina participam de interações não covalentes com as bases nitrogenadas que impactam na estabilização dos complexos ao DNA(BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003). Estudos teórico-computacionais com espécies *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)\text{Cl}]^+$  e *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ , que mostraram concordância com resultados experimentais, apontam para predominância da ligação Pt–N7 de guaninas(BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; BANCROFT; LEPRE; LIPPARD, 2002). Os cálculos computacionais mostram também que ligações de hidrogênio entre grupos NH<sub>3</sub> da cisplatina e O6 em guaninas contribuem significativamente na diminuição da barreira de energia da reação, que passa por uma estrutura de Estado de Transição (ET) de geometria bipirâmide trigonal com centro Pt(II)(BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; DA SILVA; COSTA; DOS SANTOS, 2007) e que resulta em adutos bifuncionais de menor energia(TODD; LIPPARD, 2009).

As novas ligações Pt–N7 formadas resultam em deformações do DNA e perturbam a rede de interações intermoleculares que a estabiliza, o que induz a célula

a mecanismos de reparação do DNA (TODD; LIPPARD, 2009; WOZNIAK; BLASIAK, 2002). Em muitos casos, no entanto, a reparação estrutural do DNA não é efetiva e os processos celulares essenciais são comprometidos, resultando na apoptose celular (isto é, à morte programada da célula-alvo)(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019; TODD; LIPPARD, 2009). É baseado nestes eventos que a cisplatina se caracteriza por sua atividade farmacológica, sendo largamente utilizada em tratamentos de quimioterapia de vários tipos de câncer em estágio avançado. A cisplatina foi aprovada pelo órgão estadunidense *Food and Drug Administration, FDA* em 1978(ROTTENBERG; DISLER; PEREGO, 2021; TODD; LIPPARD, 2009) e, desde então, utiliza-se da cisplatina para tratamento de cânceres de testículos e ovários, cabeça e pescoço, bexiga, esôfago, pulmão, seios, cervical, estômago e próstata(SEDLETSKA; GIRAUD-PANIS; MALINGE, 2005), e também em alguns tipos de linfomas, neuroblastoma, sarcomas, mielomas múltiplas, melanoma e mesotelioma(ARNESANO; NATILE, 2021).

A aplicação de cisplatina nos pacientes é via intravenosa(EASTMAN, 1999) e, embora a cisplatina seja um fármaco potente, os pacientes com câncer ainda precisam lidar com a resistência celular(LOUIE; BEHRENS; KINSELLA; HAMILTON *et al.*, 1985). As células cancerosas podem resistir aos fármacos de platina de duas formas: intrinsecamente ou adquirindo esta capacidade. A resistência adquirida é considerada mais crítica, uma vez que exige a utilização de elevadas concentrações do fármaco e torna o tratamento progressivamente ineficaz(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Isto soma-se à toxicidade da cisplatina ao paciente: com o aumento da dosagem, os efeitos colaterais severos são intensificados, dentre os quais podem ser citados a insuficiência renal, perda da capacidade auditiva e danos aos neurônios do sistema nervoso periférico(HARRACH; CIARIMBOLI, 2015; RABIK; DOLAN, 2007).

## **1.2 Transporte de complexos de platina: atividade de metaloproteínas de Cu(I) e o problema da resistência celular**

A resistência contra cisplatina que as células podem desenvolver é um fator limitante no tratamento quimioterápico. A sensibilidade da célula ao fármaco pode ser reduzida por vários tipos de mecanismos celulares complexos que comprometem a eficácia do tratamento(SEDLETSKA; GIRAUD-PANIS; MALINGE, 2005). Um deles é

a redução da concentração do ativo no meio intracelular, o que diminui as chances de sucesso na formação de complexos platina–DNA(SEDLETSKA; GIRAUD-PANIS; MALINGE, 2005). Dentre as formas de como isto pode ocorrer incluem a diminuição da absorção de cisplatina, intensificação do efluxo celular, estímulo de rotas alternativas da cisplatina pela célula e reparação do DNA(SEDLETSKA; GIRAUD-PANIS; MALINGE, 2005; TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021).

O efluxo celular de cisplatina, por exemplo, consiste no transporte do fármaco por compartimentos vesiculares para fora da célula e na captura de complexos de platina por alguns grupos de metaloproteínas que, a princípio, são responsáveis pela manutenção da concentração de íons Cu(I) no interior da célula(CALANDRINI; ARNESANO; GALLIANI; NGUYEN *et al.*, 2014; KATANO; KONDO; SAFAEI; HOLZER *et al.*, 2002; PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Compreender a atuação destas metaloproteínas torna-se, portanto, indispensável para entender este tipo de mecanismo de resistência celular à cisplatina.

O cobre é um elemento-traço no organismo humano e seus cátions Cu(I) são essenciais às células. Compõem várias metaloproteínas que executam tarefas como respiração celular, controle de radicais livres para detoxificação, absorção de ferro, desenvolvimento neuronal e remodelagem do colágeno(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Nas membranas plasmáticas, estes cátions são absorvidos pela célula por transporte ativo por meio de proteínas como a Ctr1 e a Ctr2 (proteínas transportadoras de Cu(I) de alta afinidade) e são posteriormente distribuídos por diversas rotas associadas a metabolismos distintos, passados de proteínas para proteínas e evitando-se, portanto, que sejam encontrados na sua forma livre e reativa(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). A partir disso, os íons Cu(I) podem ser transportados pela célula em diferentes rotas. Em uma rota específica, proteínas Atox1 ligam-se aos íons Cu(I) e os entregam às proteínas Cu–ATPases (ATP7A e ATP7B), localizadas na rede trans do complexo de Golgi e fundamentais na regulação dos níveis de Cu(I) no interior celular(LUTSENKO; BARNES; BARTEE; DMITRIEV, 2007; PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Desta forma, se a concentração de Cu(I) dentro da célula é elevada, esta entrega via interação entre tais proteínas induz de forma reversível a expressão e a deslocalização de ATP7A para a membrana plasmática e de ATP7B para vesículas citosólicas, permitindo a expulsão facilitada de

Cu(I) para o meio extracelular(KALAYDA; WAGNER; BUSS; REEDIJK *et al.*, 2008; LUTSENKO; BARNES; BARTEE; DMITRIEV, 2007; SAFAEI, 2006).

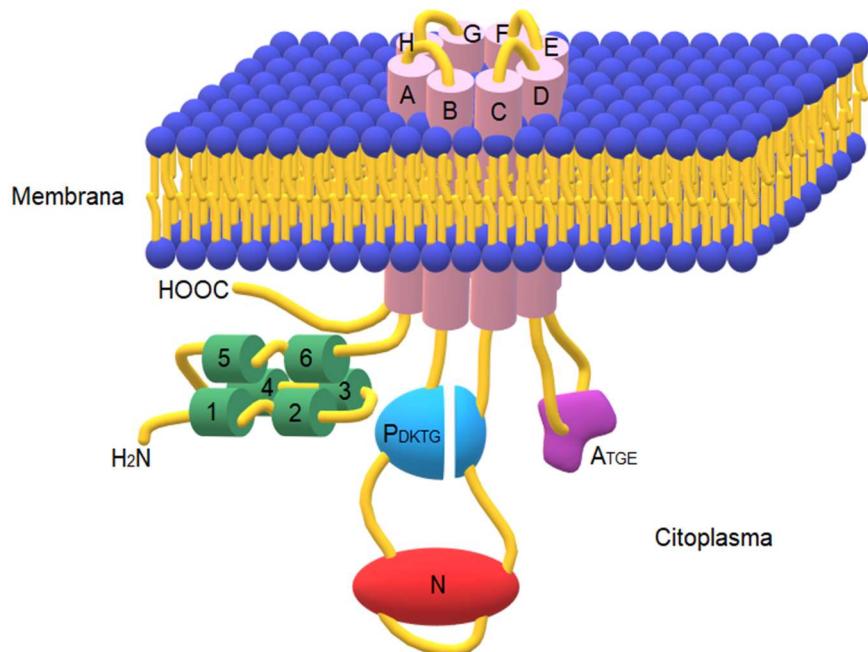
Interessantemente, a cisplatina percorre a célula de forma semelhante. Embora os fármacos de carga neutra como a cisplatina acessem o meio intracelular atravessando a membrana plasmática por difusão passiva (isto é, sem a necessidade de energia por ATP), o transporte ativo é também recorrente na absorção de parte significativa destes fármacos pelas células(TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021). Há uma estimativa de que 50% da cisplatina absorvida seja por meio das proteínas Ctr1 e Ctr2(TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021). Quanto ao seu transporte, suas interações com proteínas e mecanismos bioquímicos de controle de seus níveis no meio interno das células também podem estar ocorrendo de forma semelhante ao Cu(I), como tem sido apontado por pesquisadores. Katano e colaboradores revelaram em seus estudos de 2002 que o acúmulo de cobre em 3 linhas de células resistentes de ovário humano foi de 1,5 a 2,1 vezes menor que em células sensíveis, enquanto que para a cisplatina, houve redução de 5,7 a 8,1 vezes; concomitantemente, observaram expressão elevada das proteínas ATP7A e ATP7B(KATANO; KONDO; SAFAEI; HOLZER *et al.*, 2002). Em 2008, Kalayda e colaboradores mostraram em seus estudos que células de ovário humano com carcinoma, quando expostas à cisplatina, também apresentaram expressão acentuada de Cu-ATPases, cujas proteínas se dispersaram pelo citosol e compunham pronunciadamente as vesículas das regiões periféricas das células (e não mais a rede trans do complexo de Golgi). Isto levou o grupo a sugerir que a expressão aumentada de ATP7A possa estar relacionada não somente com o efluxo celular de complexos de platina, como também o acúmulo do fármaco em compartimentos subcelulares periféricos(KALAYDA; WAGNER; BUSS; REEDIJK *et al.*, 2008).

As Cu-ATPases ainda podem atuar como peças-chave no crescimento do tumor e metástase ao correlacionar sua função de distribuição de Cu(I) pelo complexo de Golgi com os altos níveis deste cátion observados em células cancerosas(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019; ZHU; SHANBHAG; WANG; LEE *et al.*, 2017). Essa hipótese é sustentada pelo fato de que há formação de metaloenzimas de cátion comum, como o grupo das Lisil Oxidases (LOX). Estas são consideradas fundamentais no processo da metástase: uma vez excretadas, as LOX remodelam o

meio extracelular permitindo que as células afetadas migrem para outras partes do corpo(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Além disso, as LOX também são capazes de serem reinseridas nas células, influenciando na sinalização celular(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). Tendo em vista este somatório de observações, é possível que as Cu–ATPases podem exercer um papel essencial no agravamento do câncer.

### 1.3 Estrutura da proteína ATP7A

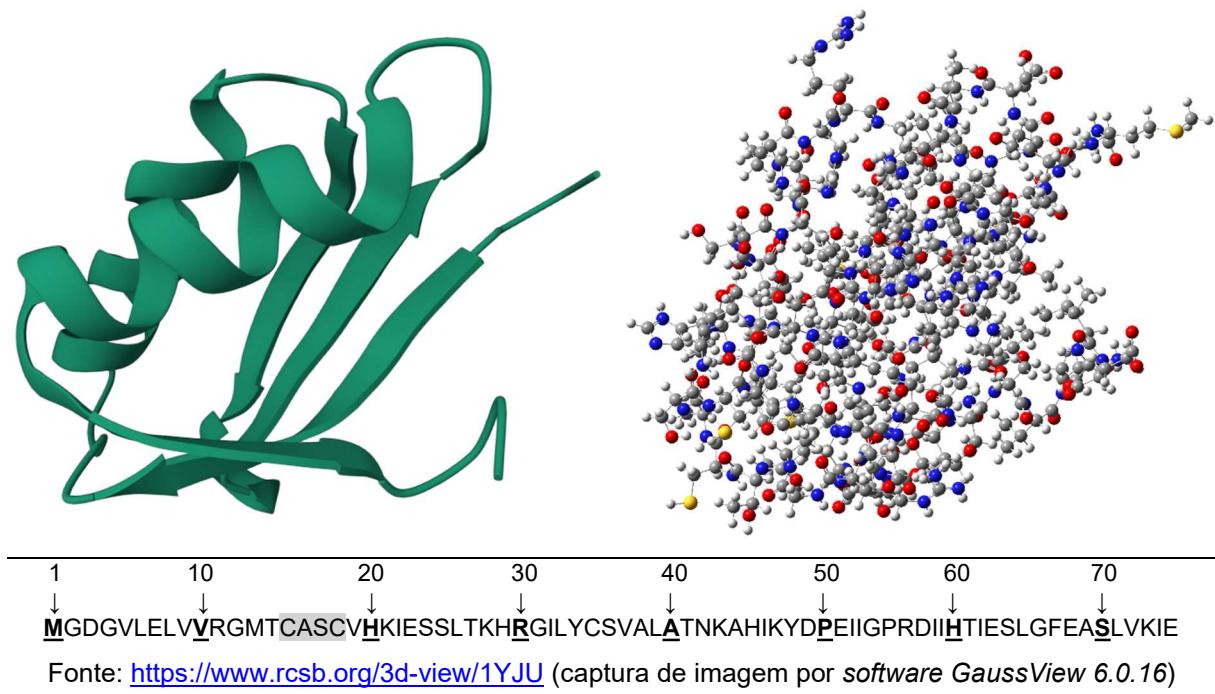
Proteínas Cu–ATPases são grandes biomoléculas pertencentes à família das ATPases do tipo P. Tais proteínas são definidas “do tipo P” por terem a função comum de transporte ativo de cátions pelas células, sendo executada quando a biomolécula adquire a energia necessária por fosforilação reversível por ATP(NELSON; COX, 2014). A ligação da proteína com Cu(I) torna a estrutura mais suscetível à reação de fosforilação com ATP e ADP produzindo mudanças conformacionais que resultam na liberação de Cu(I) no espaço interno do complexo de Golgi(PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019). A Figura 4 ilustra, de forma simplificada, a estrutura da proteína ATP7A em uma membrana, caracterizando seu aspecto transmembranar.



Fonte: elaborado pelo autor em software *Paint 3D*

**Figura 4: Representação simplificada da proteína ATP7A em uma membrana. Estão representados os 8 segmentos transmembranares por cilindros de A a H, os DLMs (Domínios de Ligação a Metais) de 1 a 6, e os domínios P<sub>DKTG</sub>, N e A<sub>TGE</sub>.**

Estruturalmente, a proteína ATP7A dispõe-se de 8 segmentos polipeptídicos transmembranares – isto é, que conectam ambientes externos e internos à membrana – formando canais para o transporte ativo que permitem a homeostase de íons Cu(I)(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012; SAFAEI; HOWELL, 2005). Na região do citoplasma estes segmentos se conectam aos domínios P e N, e ao domínio A, comuns às ATPases do tipo P(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012; NELSON; COX, 2014; SAFAEI; HOWELL, 2005) e que regulam as atividades da proteína(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012). No domínio P ocorre a fosforilação por meio do resíduo aspartato, pertencente a um grupo altamente conservado denominado DKTG (D referente ao ácido aspártico, K à lisina, T à treonina, e G à guanina)(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012; SAFAEI; HOWELL, 2005). Na ATP7A há ainda outros 6 domínios ligados sequencialmente à um único segmento transmembranar, denominados Domínios de Ligação a Metais (DLMs, ou do inglês *Metal Binding Domains*, MBDs). São esses domínios que contém os sítios ativos onde ocorrem as ligações químicas com Cu(I)(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012; SAFAEI; HOWELL, 2005) e, ao que a literatura indica, com complexos de platina(KATANO; KONDO; SAFAEI; HOLZER *et al.*, 2002; LUKANOVIC; HERZOG; KOBAL; CERNE, 2020). A Figura 5 exibe, a exemplo, a estrutura do 6º DLM (Mnk6) simplificada em átomos e ligações explícitos, disponibilizada na plataforma *Protein Data Bank* (PDB) com a codificação 1YJU(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005; BERMAN; HENRICK; NAKAMURA, 2003).



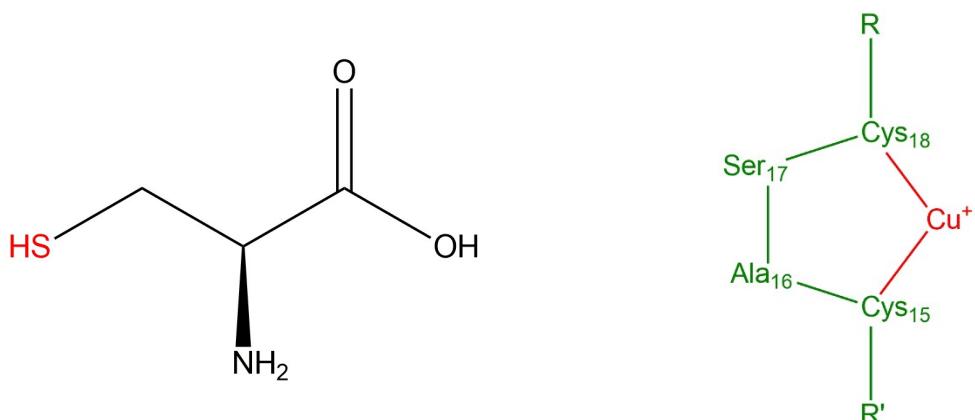
Fonte: <https://www.rcsb.org/3d-view/1YJU> (captura de imagem por software GaussView 6.0.16)

**Figura 5: Representações estruturais de um modelo de Mnk6 apoproteico da proteína ATP7A, com o sequenciamento de aminoácidos; destaque em sombreado para o grupo CXXC.**

Comparando-se ATP7A com ATP7B, verifica-se grande similaridade entre as estruturas: cerca de 67% da sequência de aminoácidos é idêntica entre si, incluindo os DLMs(GOURDON; SITSEL; LYKKEGAARD KARLSEN; BIRK MOLLER *et al.*, 2012; LI; YIN; LIU; LI, 2018). Os DLMs da ATP7A são polipeptídios frequentemente representados separadamente e ordinalmente como Mnk. A codificação “Mnk” refere-se a “Menkes”, sobrenome do neurologista austríaco-estadunidense John Hans Menkes que descreveu pela primeira vez em 1962 a “doença de Menkes”, uma desordem associada à ATP7A e deficiência de Cu(I) na atividade celular(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005; MENKES; ALTER; STEIGLEDER; WEAKLEY *et al.*, 1962). Os DLMs são compostos de 72 a 79 aminoácidos(ACHILA; BANCI; BERTINI; BUNCE *et al.*, 2006; BANCI; BERTINI; CANTINI; CHASAPIS *et al.*, 2005; BANCI; BERTINI; CANTINI; DELLAMALVA *et al.*, 2006) e estão presentes em diversas proteínas transportadoras de cobre como as Ctr1, Ctr2 e Atox1, além das Cu-ATPases ATP7A e ATP7B(CALANDRINI; ARNESANO; GALLIANI; NGUYEN *et al.*, 2014; LI; YIN; LIU; LI, 2018).

Os sítios ativos dos DLMs, por sua vez, consistem de sequências de aminoácidos definidos como CXXC, como enfatizado na Figura 5, onde C corresponde à cisteínas (Cys) e X, a outros aminoácidos que podem variar para cada

DLM(ARNESANO; NATILE, 2021; LUKANOVIC; HERZOG; KOBAL; CERNE, 2020). As cisteínas desempenham um papel fundamental no sítio ativo: são por meio dos grupos tiol ( $-SH$ ) da estrutura CXXC que os DLMs formam ligações com Cu(I)(LUTSENKO; BARNES; BARTEE; DMITRIEV, 2007) e platina, sendo a cisplatina e suas formas monoáquo e diaquo capazes de formar complexos mono e dissubstituídos(GALLIANI; LOSACCO; LASORSA; NATILE *et al.*, 2014; TADINI-BUONINSEGNI; BARTOLOMMEI; MONCELLI; INESI *et al.*, 2014; XU; XI; ZHAO; LIU, 2014). A Figura 6 exibe as estruturas do aminoácido cisteína (à esquerda) e para a região CXXC coordenada ao Cu(I) de forma simplificada, com os aminoácidos indicados ordinalmente (à direita).



Fonte: elaborado pelo autor em *software ChemDraw Ultra 12.0*

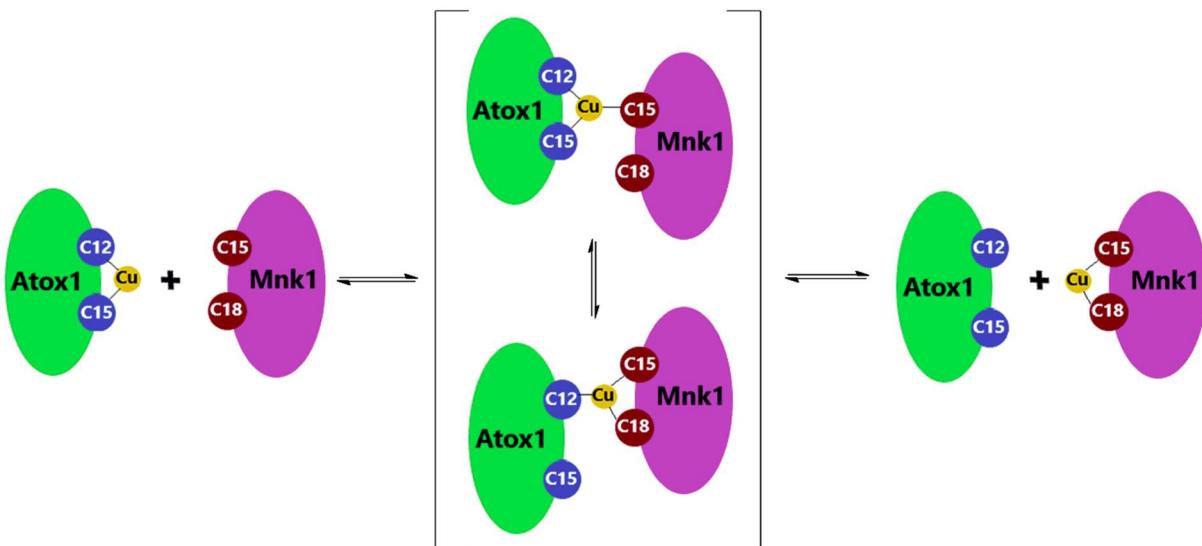
**Figura 6: Representações estruturais cisteína (esquerda) e para o quelato entre CXXC de MnK6 e Cu(I) (direita)**

Do ponto de vista químico, Cu(I) e Pt(II) podem formar ligações com S-doadores tiol(ATKINS, 2010; HOUSECROFT; SHARPE, 2018) em toda faixa de pH(TCHOUNWOU; DASARI; NOUBISSI; RAY *et al.*, 2021). Estudos mostram que Pt(II) pode formar quelatos com cisteínas e metioninas via ligações com N e S, sendo o último mais favorecido(ODENHEIMER; WOLF, 1982; VRANA; BRABEC, 2002). Louie e colaboradores, por exemplo, observaram que células *in vitro* de ovário humano eram 10 vezes mais resistentes à cisplatina quando os níveis de glutationa (GSH, um agente redutor tripeptídico formado por ácido glutâmico, cisteína e glicina) era 3,2 vezes maior que no grupo de células sensíveis(LOUIE; BEHRENS; KINSELLA; HAMILTON *et al.*, 1985; PEREZ; HAMILTON; OZOLS, 1990). Desta forma, átomos de S podem desempenhar um papel central na resistência celular à cisplatina. É baseando-se nas fortes ligações Pt–S, à elevada expressão destas metalotioneínas e

suas relocalizações pelas células (quando na presença destes agentes metálicos) que diversos autores concluem que as Cu-ATPases e GSH estão envolvidas no impulsionamento da resistência celular à cisplatina ao longo do tratamento (ARNESANO; NATILE, 2021; PETRUZZELLI; POLISHCHUK, 2019).

#### 1.4 Química inorgânica das reações

No que concerne à homeostase de Cu(I) pelas proteínas e GSH (sem complexos de platina), acredita-se que a transferência do metal possa ocorrer através de equilíbrios químicos de troca de ligantes e formações de complexos tricoordenados por átomos de enxofre, assim como evidenciado em estudos espectroscópicos envolvendo GSH(CORAZZA; HARVEY; SADLER, 1996) e Atox1 com ATP7A(BANCI; BERTINI; CANTINI; FELLI *et al.*, 2006; WERNIMONT; HUFFMAN; LAMB; O'HALLORAN *et al.*, 2000). A Figura 7 esquematiza o equilíbrio formado entre Atox1 e Mnk1 no processo de transferência de Cu(I).



Fonte: elaborado pelo autor em *software Paint 3D*

**Figura 7: Equilíbrio químico entre Atox1, o 1º domínio da proteína ATP7A e Cu(I)**

A tricoordenação ocorre por meio da ligação de duas cisteínas de uma proteína e uma cisteína de outra, onde as cisteínas Cys12 de Atox1 e Cys15 de Mnk1, mais próximas ao N-terminal (isto é, às extremidades proteicas iniciando-se por grupos  $-\text{NH}_2$ ) se mantém ligadas ao metal, enquanto Cys15 de Atox1 e Cys18 de Mnk1

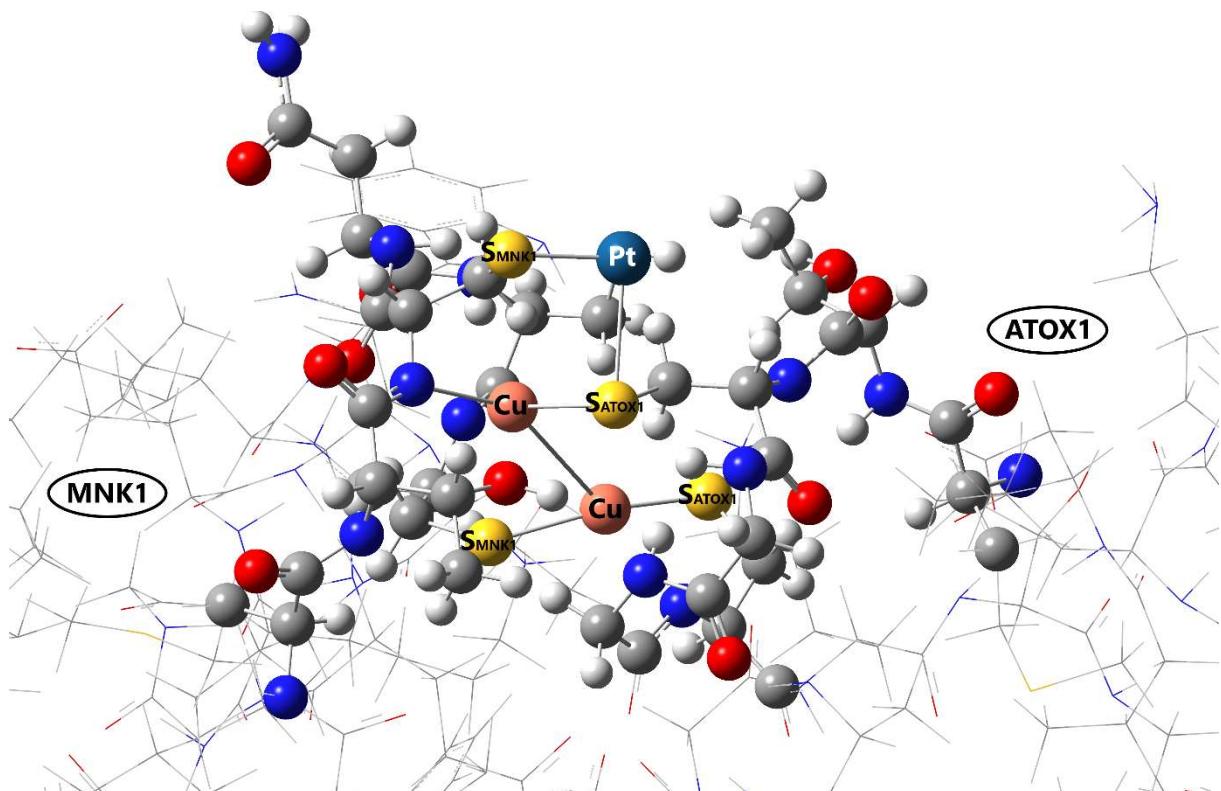
mediam a quebra e formação de novas ligações. Desta forma, as proteínas agem como ligantes de bi e monofuncionalizados no decorrer do processo(BANCI; BERTINI; CALDERONE; DELLA-MALVA *et al.*, 2009; PUFAHL; SINGER; PEARISO; LIN *et al.*, 1997). Embora Cu(I) apresente orbitais d altamente polarizados e de alta afinidade com enxofre, as reações de troca de ligantes ocorrem rapidamente por mecanismos associativos e o cátion metálico é considerado altamente lável nestes sistemas. A justificativa para este fenômeno se dá pela elevada semelhança de energia das ligações devido aos ligantes serem ambos átomos de enxofre(PUFAHL; SINGER; PEARISO; LIN *et al.*, 1997), o que também é reportado em estudos quando o ligante é GSH(CORAZZA; HARVEY; SADLER, 1996).

O centro Pt(II) também possui alta afinidade com S e formam-se fortes ligações(ATKINS, 2010; HOUSECROFT; SHARPE, 2018); no entanto, *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] reage lentamente com cisteínas, liberando Cl<sup>-</sup>(ODENHEIMER; WOLF, 1982). No caso de estudos da reação com GSH há observação do efeito *trans*, recorrente nos complexos quadrático-planos e que, no caso da cisplatina, a troca de ligante Cl<sup>-</sup> por S provoca o aumento da labilidade do grupo –NH<sub>3</sub> *trans*; ao final, a reação resulta em produto na proporção 1:2 de cisplatina para GSH, onde cada GSH coordena o centro de forma bidentada(ODENHEIMER; WOLF, 1982).

As proteínas Atox1 e ATP7A, capazes de reagir com cisplatina, também formam adutos bifuncionais em Pt(II). A forma bifuncional, inclusive, foi evidenciada por Calandrini e colaboradores como a predominante com MnK1, em solução em condições anaeróbicas e sem o agente redutor GSH(CALANDRINI; ARNESANO; GALLIANI; NGUYEN *et al.*, 2014). Já Galliani e colaboradores mostraram evidências a respeito da competitividade entre os polipeptídios: na ausência de GSH, a cisplatina reage tanto com Atox1 quanto com MnK1, não sendo observadas quaisquer transferências da platina entre tais ligantes(GALLIANI; LOSACCO; LASORSA; NATILE *et al.*, 2014). O grupo ainda detalha que MnK1 se destaca como bom competidor pela platina, mesmo quando os níveis de GSH são 10 vezes maiores, ao passo que o mesmo não ocorre com Atox1(GALLIANI; LOSACCO; LASORSA; NATILE *et al.*, 2014). Xu e colaboradores, por outro lado, observaram a transferência de cisplatina de Atox1 para MnK4 após 10 horas de reação(XU; XI; ZHAO; LIU, 2014).

Os estudos se estendem para as reações dos complexos de platina com tais proteínas nas formas holoproteicas (isto é, complexadas com Cu(I)). Na presença de

cisplatina, a holoproteína Cu(I)-Atox1 ganha competitividade sobre GSH(GALLIANI; LOSACCO; LASORSA; NATILE *et al.*, 2014). Lasorsa e colaboradores, por sua vez, evidenciaram a formação do complexo heterodimérico Atox1–Cu–Mnk1 com platina, sendo Cu(I) coexistente na estrutura(LASORSA; NARDELLA; ROSATO; MIRABELLI *et al.*, 2019). A Figura 8 exibe a parte da estrutura, obtida por cristalografia de raios X(LASORSA; NARDELLA; ROSATO; MIRABELLI *et al.*, 2019) e disponível na plataforma PDB(BERMAN; HENRICK; NAKAMURA, 2003) pelo código de identificação 5T7L, destacando-se os sítios ativos CXXC de Mnk1 e ATOX1 com os metais ligados.



Fonte: <https://www.rcsb.org/structure/5T7L> (captura de imagem por software GaussView 6.0.16)

**Figura 8: Recorte da estrutura, obtida por cristalografia de raios X, para interações dependentes de cobre entre Atox1 e Mnk1 mediadas por Pt(II)**

Nesta estrutura heterodimérica obtida por Lasorsa e colaboradores, representada na Figura 8, o átomo de Pt(II) está coordenado por Cys12 de Atox1 e Cys15 de Mnk1 com distâncias de 2,8 e 2,3 Å, respectivamente, formando um ângulo S–Pt–S de 86,0°. Dois cátions Cu(I) também estão presentes, sendo um coordenado por Cys15 de Atox1 e Cys18 de Mnk1 com S<sub>Cys15</sub>–Cu e S<sub>Cys18</sub>–Cu de 2,2 e 2,3 Å, respectivamente, e um ângulo de 166,7°; e o outro, por grupos S<sub>Cys12</sub> (2,2 Å) de Atox1,

e  $S_{Cys15}$  (2,6 Å),  $S_{Cys18}$  (2,9 Å) e  $O_{Thr14}$  (2,8 Å) de Mnk1, formando geometria tetraédrica. Os cátions Cu(I) ainda possuem labilidade cinética nestas condições, embora menor, visto que o metal pode ser lentamente liberado pela proteína e capturado por dissulfonato de batocruproína (BCS, um ligante específico ao Cu(I)) e GSH(LASORSA; NARDELLA; ROSATO; MIRABELLI *et al.*, 2019). Além disso, a formação do complexo Atox1–Cu–Mnk1 é um precursor necessário para que haja nova formação de Atox1–Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>–Mnk1 com Cu(I)(LASORSA; NARDELLA; ROSATO; MIRABELLI *et al.*, 2019).

No ponto de vista cinético, Cu(I) tem sido visto como um agente catalítico na reação entre Mnk1 e cisplatina(TADINI-BUONINSEGNI; BARTOLOMMEI; MONCELLI; INESI *et al.*, 2014). Na ausência deste cátion metálico, a forma monodentada do aduto – Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sup>+</sup>–Mnk1 – foi identificada por sinais de ESI-MS após 3 horas de incubação da solução aquosa. O aduto bidentado Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub><sup>2+</sup>–Mnk1 foi identificado por sinais mais intensos, na mesma técnica, apenas após 24 horas. Na presença de Cu(I), no entanto, a forma de aduto bidentado Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub><sup>2+</sup>–Mnk1 já era presente em quase totalidade na solução em apenas 3 horas de incubação(TADINI-BUONINSEGNI; BARTOLOMMEI; MONCELLI; INESI *et al.*, 2014). Fang e colaboradores, por sua vez, observaram que as reações de coordenação de Pt(II) à diferentes DLMs na forma holoproteica, no geral, foram mais rápidas que os mesmos DLMs na forma apoproteica(FANG; TIAN; YUAN; SHENG *et al.*, 2018). Em alguns casos como Mnk2 e Mnk3, os tempos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) das concentrações de reagentes caíram efetivamente, enquanto que outros como Mnk5 e Mnk6, a diferença foi pouco significativa. Em nenhum caso, no entanto, foi registrado o processo inverso, isto é, a diminuição das velocidades de reação das formas holoproteicas em comparação com as apoproteicas. O grupo chegou à conclusão, portanto, que as velocidades das reações de platinação de diferentes DLMs dependem tanto da natureza do próprio DLM quanto de suas formas apoproteica/holoproteica(FANG; TIAN; YUAN; SHENG *et al.*, 2018).

Há estudos computacionais disponíveis na literatura relacionados com reações entre Mnk e cisplatina, dentre os quais podem ser citados o da cinética da reação entre cisplatina e um aminoácido cisteína em diferentes métodos *ab initio*(DA SILVA; COSTA; DOS SANTOS, 2007), docking molecular por meio de QM/MM Car-Parrinello e campo de forças AMBER parm99 de estruturas de Mnk1 com [Pt(NH<sub>3</sub>)]<sup>2+</sup> e

$[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ (CALANDRINI; ARNESANO; GALLIANI; NGUYEN *et al.*, 2014) e a termodinâmica de reações envolvendo Mnk5 e cisplatina por DFT e funcional PBE0(BORGES, 2016). Outros estudos de como pode ocorrer o transporte de Cu(I) entre Atox1 e Mnk(PITTS; HALL, 2013) e reações de aminoácidos sulfurados com complexos polinucleares de Pt(II)(CHEN; ZHOU, 2015) também estão associados. Contudo, os mecanismos de reações entre o sítio ativo de Mnk e cisplatina (e seus derivados) em si ainda carecem de maior compreensão.

O presente trabalho busca propor possíveis mecanismos, por meio de modelagem em química computacional, de hipotéticas reações entre o sítio ativo de Mnk6 em suas formas apoproteicas e holoproteicas com *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  e como *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ , com discussões químicas tanto individuais quanto comparativas de possíveis mecanismos propostos. Embora o estudo seja importante com qualquer DLM da proteína ATP7A, a escolha do Mnk6 foi baseada na maior disponibilidade de informações encontrada na literatura, bem como a boa disponibilidade de soluções estruturais desta porção proteica no *Protein Data Bank*(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005; BERMAN; HENRICK; NAKAMURA, 2003; PDB, 2022). A resolução experimental por RMN empregada nestes modelos fornecem informações estruturais importantes sobre o sistema(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005) e que se soma à bagagem de informações químicas, como as discutidas anteriormente. Os resultados aqui apresentados podem ser importantes no entendimento de como a resistência celular contra cisplatina por meio de proteínas ATP7A pode ocorrer e como pode se comportar diante de variáveis importantes possíveis, com destaque para os impactos de Cu(I) nas reações.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos Gerais

Investigar, por métodos de química computacional, possíveis mecanismos para reações entre complexos *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com modelos do Mnk6 (ou 6º Domínio de Ligação a Metais (DLM)) da proteína transportadora de Cu(I) ATP7A.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Obter e descrever propriedades estruturais, cinéticas e termodinâmicas correspondentes aos mecanismos de reações propostos para a formação de complexos de platina com modelos do domínio Mnk6 da ATP7A por meio de ferramentas de química computacional;
- Avaliar e comparar os aspectos físico-químicos e estruturais gerais decorrentes da presença e da ausência de Cu(I) na estrutura proteica, bem como os diferentes impactos gerados pela formação de interações inter e intramoleculares;
- Comparar os resultados obtidos com os disponíveis na literatura para um melhor entendimento do papel da proteína ATP7A no efluxo celular de cisplatina, relacionado à um dos mecanismos de resistência celular à cisplatina.

### 3. METODOLOGIA TEÓRICA

Neste Capítulo serão abordadas as bases teóricas em físico-química e química computacional que fundamentam as ferramentas computacionais utilizadas para os cálculos de proposições mecanísticas que são objetivo deste trabalho.

#### 3.1 Equação de Schrödinger e a Aproximação de Born-Oppenheimer

A descrição de elétrons em sistemas moleculares já se mostrou incompleta por vias de mecânica clássica para o estudo de alguns fenômenos químicos. Nestes casos, torna-se indispensável o emprego de conceitos de mecânica quântica para a solução teórica destes sistemas (LOWE, 1978; LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSTLUND, 1996). Para a solução de um sistema simples composto por uma partícula de massa  $m$  que se movimenta tridimensionalmente sob um potencial  $V$ , os esforços se concentram na resolução da equação de Schrödinger para o sistema que, independentemente do tempo, é dada pela fórmula:

$$-\left(\frac{\hbar^2}{8\pi^2m}\right)\nabla^2\psi(x,y,z) + V(x,y,z)\psi(x,y,z) = E\psi(x,y,z) \quad (1)$$

ou, de forma simplificada,

$$\hat{H}\psi(x,y,z) = E\psi(x,y,z) \quad (2)$$

onde  $\hbar$  é a constante de Planck,  $\psi$  é a função de onda da partícula,  $\nabla^2$  é o operador Laplaciano sobre a função de onda (isto é,  $\nabla^2\psi = \partial^2\psi/\partial x^2 + \partial^2\psi/\partial y^2 + \partial^2\psi/\partial z^2$ ),  $\hat{H}$  é o operador Hamiltoniano e  $E$ , a energia total associada. O operador Hamiltoniano é formado pelos operadores de energia cinética  $T$ , que corresponde ao primeiro termo da equação 1; e de energia potencial  $V$ . Juntos, compõem a energia total do sistema em um determinado estado (LOWE, 1978; LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSTLUND, 1996). A equação de Schrödinger também é frequentemente dita como de autovalor, sendo o Hamiltoniano a parte da equação que

opera sobre a função  $\psi$  (uma autofunção), resultando em um valor de energia total  $E$  (o autovalor) correspondente a mesma função de onda  $\psi$ (LOWE; PETERSON, 2011).

Em sistemas moleculares, isto é, formado por 2 ou mais partículas, o Hamiltoniano deve ser reformulado, pois torna-se necessário considerar as correlações eletrônicas presentes que afetam as energias cinética  $T$  e potencial  $V$  sob cada partícula. Desta forma, o Hamiltoniano Molecular para um sistema contendo  $N$  elétrons e  $M$  núcleos é dado por:

$$H_{mol} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (3)$$

onde  $M_A$  é a razão entre a massa do núcleo  $A$  e um elétron,  $r_{iA}$  é a distância entre o elétron  $i$  e o núcleo  $A$ ,  $r_{ij}$  é a distância entre o elétron  $i$  e o elétron  $j$ ,  $R_{AB}$  é a distância entre o núcleo  $A$  e o núcleo  $B$ , e  $Z_A$  e  $Z_B$  são os números atômicos dos núcleos  $A$  e  $B$ , respectivamente(LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSLUND, 1996).

O Hamiltoniano Molecular da equação 3 pode ser dado resumidamente como:

$$H_{mol} = T_e + T_n + V_{ne} + V_{ee} + V_{nn} \quad (4)$$

onde  $T_e$  e  $T_n$  são os operadores de energia cinética para os elétrons e para os núcleos, e  $V_{ne}$ ,  $V_{ee}$  e  $V_{nn}$  são os operadores de energia potencial para as interações de atração elétron-núcleo, e repulsão elétron-elétron e núcleo-núcleo, respectivamente. Se a posição espacial de um único elétron muda, não só suas energias cinética e potencial mudam como também mudam para todas as demais partículas do sistema, pois todas elas estão correlacionadas entre si. Desta forma, a dificuldade na resolução equação de Schrödinger nestes casos é tamanha que torna-se impraticável sua solução analítica, uma vez que a quantidade de variáveis em  $\psi$  cresce exponencialmente com o número de elétrons(LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSLUND, 1996).

Para contornar esta questão utiliza-se aproximações metodológicas e matemáticas razoáveis. Em uma importante aproximação faz-se a seguinte consideração: uma vez que os núcleos dos átomos possuem massa muito maior que seus elétrons, então o impacto na energia cinética destes núcleos devido à

movimentação eletrônica é substancialmente menor e poderia ser desprezado. Assim, os núcleos atômicos podem ser considerados fixados no espaço, isto é, seus momentos lineares anulados(LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSTLUND, 1996). Consequentemente,  $\psi$  agora pode ser redefinida como função de onda eletrônica  $\psi_{elet}$ , onde os elétrons ao redor dos núcleos podem ser descritos dependendo-se de suas próprias coordenadas espaciais e apenas parametricamente das coordenadas dos núcleos. Isto é um fator importante na diminuição da complexidade da equação de Schrödinger pois, com os núcleos “estáticos”, suas posições espaciais podem ser utilizadas como referência pelos elétrons no sistema e diminuem-se a quantidade de variáveis dependentes em  $\psi$ . Além disso,  $T_n$  pode ser desprezada e  $V_{nn}$  pode ser considerada uma constante. Assim, a equação de Schrödinger e Hamiltoniano eletrônicos ficam:

$$H_{elet}\psi_{elet} = E_{elet}\psi_{elet} \quad (5)$$

$$H_{elet} = T_e + V_{ne} + V_{ee} \quad (6)$$

O Hamiltoniano total em unidades atômicas é dado pela soma do Hamiltoniano eletrônico com  $V_{nn}$ , tratado como constante com a aproximação discutida(LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSTLUND, 1996):

$$H_{tot} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (7)$$

Esta aproximação é conhecida como aproximação de Born-Oppenheimer. Embora sua grande importância na simplificação da Equação de Schrödinger, o aumento do número de partículas ainda significa o aumento expressivo da complexidade para resolução da equação para sistemas maiores, tornando essencial a utilização de métodos computacionais para que o estudo destes sistemas seja possível. Um dos primeiros métodos para tentar solucionar estes tipos de problema foi desenvolvido pelo inglês Douglas Hartree e pelo russo-soviético Vladimir Fock, conhecido como Método de Hartree-Fock (HF)(LOWE; PETERSON, 2011; MCQUARRIE, 2008; SZABO; OSTLUND, 1996).

### 3.2 Método de Hartree-Fock (HF) e Determinantes de Slater

O Método de Hartree-Fock (HF) é um exemplo de método *ab initio*, isto é, que solucionam problemas “do início”. São tipos de métodos computacionais onde a resolução da equação de Schrödinger é feita teoricamente e sem a utilização de parâmetros experimentais no procedimento de cálculo. No método de HF busca-se encontrar a função de onda total e aproximada  $\psi_{tot}$  partindo-se do pressuposto de que esta é resultante do produto das funções de onda de cada elétron na molécula, o que entendemos por orbitais moleculares(SZABO; OSTLUND, 1996). Chamamos estas funções de spin-orbital e representamos por  $\chi(x)$ , sendo:

$$\chi(x) = \begin{cases} \psi(r)\alpha(\omega) \\ \text{ou} \\ \psi(r)\beta(\omega) \end{cases} \quad (8)$$

onde  $\psi(r)$  é a função de onda do elétron dependente de coordenadas espaciais  $r$ , e  $\alpha(\omega)$  e  $\beta(\omega)$  são as funções de spin “up” e “down”. Desta forma, aplicam-se todas as funções spin-orbital do sistema de forma a adquirir uma única função de onda  $\psi_{tot}$ . Para encontrar tal função, faz-se necessário o emprego do Determinante de Slater, uma técnica matemática que é dado por(SZABO; OSTLUND, 1996):

$$\psi_{tot}(x_1, x_2, \dots, x_N) = (N!)^{-1/2} \begin{vmatrix} \chi_i(x_1) & \chi_j(x_1) & \dots & \chi_k(x_1) \\ \chi_i(x_2) & \chi_j(x_2) & \dots & \chi_k(x_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_i(x_N) & \chi_j(x_N) & \dots & \chi_k(x_N) \end{vmatrix} \quad (9)$$

onde  $\chi_i(x_N)$  é a  $i$ -ésima função spin-orbital do elétron  $N$  nas coordenadas espaciais e de spin  $x_N$ , e  $(N!)^{-1/2}$  é o fator de normalização. O Determinante de Slater é uma técnica que contempla o princípio da exclusão de Pauli em que  $\psi_{tot}$  deve ser antissimétrica, obedecendo a regra que afirma que cada elétron do sistema deve possuir seu estado quântico unicamente (ou seja, uma única função spin-orbital). Desta forma, se  $i = j$ , o Determinante de Slater resulta em  $\psi = 0$  por se tratar de funções ortonormais(SZABO; OSTLUND, 1996).

O início do Método de HF é caracterizado pela escolha aleatória dos coeficientes nos spin-orbitais do Determinante de Slater, sendo a primeira etapa de resolução da equação de Schrödinger para o sistema com suas respectivas posições

espaciais. Na segunda etapa de resolução, utilizam-se como ponto de partida os resultados da primeira, ajustando-se as posições das partículas e os valores dos coeficientes de  $\psi_{tot}$  de modo a contemplar o equilíbrio das forças eletrostáticas não contempladas na primeira resolução. A terceira etapa, por sua vez, passa a utilizar os resultados da segunda, e assim sucessivamente. Esta característica de iteração na busca por maximizações e minimizações de resultados está na essência do Método Variacional, uma metodologia matemática que é empregada nestes tipos de problemas cuja solução desconhecida é de difícil obtenção. No caso de sistemas mais complexos busca-se solucionar o problema de forma iterativa, o método é também conhecido como Método de Campo Autoconsistente (*Self-Consistent Field, SCF*), e o Método de HF é considerado um caso particular de *SCF* no intuito de minimização de  $\psi_{tot}$  e de  $E_{tot}$  do sistema molecular. O sistema otimizado, isto é, de menor energia, se dá quando a  $\psi_{tot}$  é obtida igualmente nos lados esquerdo e direito da equação de Schrödinger, e o autovalor é atribuído ao sistema como sua energia total  $E_{tot}$  (SZABO; OSTLUND, 1996).

Uma grande limitação deste método é a forma como as interações repulsivas elétron-elétron são abordadas. Em HF, o potencial  $V_{ee}$  de cada elétron é dado pela média do campo eletrostático do sistema e, consequentemente, não fornece resultados mais precisos quanto às correlações eletrônicas de cada partícula (JENSEN, 2017; SZABO; OSTLUND, 1996).

### 3.3 Conjuntos de Base e Funções de Base

Métodos computacionais *ab initio*, embora não empreguem dados experimentais no processo de cálculos teóricos de sistemas de muitas partículas, ainda necessitam de uma base experimental como ponto de partida para a resolução da equação de Schrödinger que são os conjuntos de base (JENSEN, 2017). Os conjuntos de base consistem de funções de base, isto é, funções de onda eletrônica conhecidas que são utilizadas para encontrar funções de onda eletrônica desconhecidas por Combinações Lineares de Orbitais Atômicos (CLOA), o que conhecemos como Orbitais Moleculares (JENSEN, 2017). A utilização de funções orbitais atômicos  $\chi_{\alpha}$  para expandir a funções orbitais moleculares  $\phi_i$  é feito pela relação:

$$\phi_i = \sum_{\alpha}^{M_{base}} c_{\alpha i} \chi_{\alpha} \quad (10)$$

onde  $M_{base}$  é o conjunto de funções de base selecionados para o cálculo, e  $c_{\alpha i}$  são coeficientes correspondentes a  $i$  orbitais atômicos do tipo  $\alpha$  que geram  $i$  orbitais moleculares(JENSEN, 2017). Um tipo de conjunto de base, conhecido como Orbitais tipo-Slater (STO)  $\chi_{\zeta, n, l, m}(r, \theta, \varphi)$ , tem seu funcional dado por:

$$\chi_{\zeta, n, l, m}(r, \theta, \varphi) = N Y_{l, m}(\theta, \varphi) r^{n-1} e^{-\zeta r} \quad (11)$$

onde  $N$  é a constante de normalização e  $Y_{l, m}(\theta, \varphi)$  são funções esféricas harmônicas. O conjunto de base STO conta com a parte exponencial da equação e que corresponde ao comportamento das funções hidrogenóides. Entretanto, apresenta limitações na solução analítica que o restringe ao uso em algumas ocasiões, como em sistemas atômicos e diatônicos, fornecendo resultados altamente precisos(JENSEN, 2017).

Existem também os conjuntos de base denominados como funções do tipo Gaussianas (GTO – *Gaussian Type Orbitals*), cujo funcional é descrito por:

$$\chi_{\zeta, n, l, m}(r, \theta, \varphi) = N Y_{l, m}(\theta, \varphi) r^{2n-2-l} e^{-\zeta r^2} \quad (12)$$

As funções GTOs, comparadas às STOs, são caracterizadas por algumas limitações. Devido à dependência de  $r^2$ , a descrição dos elétrons mais próximos ao núcleo perde precisão dos resultados pois, enquanto as STOs apresentam cúspides na aproximação do núcleo, as GTOs por sua vez tendem a zero. Além disso, as GTOs geram resultados onde as funções de onda caem mais rapidamente que STOs quando se distancia do núcleo, também afetando na precisão dos resultados. Entretanto, as GTOs apresentam a vantagem de menor custo computacional, o que permite o uso de maior quantidade de funções orbitais atômicos para fornecer resultados comparáveis aos que seriam obtidos via STO(JENSEN, 2017).

Dentro da classe de conjunto de base GTO existe uma família de funções de base que varia tanto pelo tipo quanto pela quantidade de funções e que podem ser designados distintivamente para cada tipo de sistema a ser estudado. Um exemplo é o conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988) que, simplificadamente, nos indica

se tratar de um conjunto de base GTO que emprega o uso de 6 funções de base primitivas para elétrons mais internos (próximos ao núcleo), 3 funções de base que consiste de 1 função de base primitiva para descrição de cada orbital de valência, e 1 função adicional p de polarização para átomos de H e 1 função adicional de polarização para outros átomos exceto H(FORESMAN; FRISCH, 2015).

### 3.4 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Enquanto no Método de HF a estrutura eletrônica é baseada na formulação da função de onda total do sistema multieletônico, a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), por sua vez, utiliza da densidade eletrônica pelo conceito de um “gás de elétrons” para obter respostas sobre o sistema(HOHENBERG; KOHN, 1964; JENSEN, 2017).

Na DFT, o termo  $\sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}}$  da equação 7 é chamado de “potencial externo”  $v_{ext}(\vec{r})$  e está relacionado com o potencial sentido pelos elétrons devido aos campos eletrostáticos exercidos por outras partículas presentes no sistema(JENSEN, 2017). Neste sentido, Hohenberg e Kohn exploram a constatação de uma função de densidade eletrônica no estado fundamental  $\rho_0$  exclusiva a cada função de  $v_{ext}(\vec{r})$ , resultando em uma única energia para o sistema no estado fundamental  $E_0$ . Isto permite que a resolução da equação de Schrödinger possa ser feita de forma “inversa” ao Método de HF, trabalhando-se a partir de  $\rho_0$  para encontrar  $v_{ext}(\vec{r})$ . Uma vez encontrado  $v_{ext}(\vec{r})$  o Hamiltoniano molecular é posteriormente revelado, e empregam-se métodos ab initio para obter  $\psi_0$ ,  $E_0$  e todas as demais propriedades do sistema(HOHENBERG; KOHN, 1964; JENSEN, 2017).

Como o próprio nome do método explicita, trata-se do uso de funcionais, isto é, funções que dependem de outras funções (ao invés de variáveis independentes) para resultar em valores numéricos. Neste caso, são funcionais de energia que dependem de  $\rho_0(\mathbf{r})$  do sistema que, de forma simplificada, pode ser dada da seguinte forma:

$$V_{ext}[\rho_0(\mathbf{r})] + T[\rho_0(\mathbf{r})] + V_{ee}[\rho_0(\mathbf{r})] = E_0[\rho_0(\mathbf{r})] \quad (13)$$

onde  $V_{ext}$  é o funcional do potencial externo,  $T$  é o funcional de energia cinética,  $V_{ee}$  é o funcional de energia potencial de repulsão elétron-elétron e  $E_0$ , o funcional de energia total do sistema no estado fundamental(HOHENBERG; KOHN, 1964;

JENSEN, 2017). O problema aqui é que não se sabe ao exato a relação funcional  $V_{ext}[\rho_0(\mathbf{r})]$ , o que levaria inevitavelmente ao método de HF para resolução do problema e, assim, o novo método proposto teria sido em vão. Para contornar a situação, Hohenberg e Kohn assumiram que  $E_0 \text{aprox}[\rho_0 \text{aprox}] \geq E_0[\rho_0]$ , onde  $E_0 \text{aprox}[\rho_0 \text{aprox}]$  é o funcional da energia total aproximada do sistema sob a função aproximada da densidade eletrônica do sistema. A função  $\rho_0 \text{aprox}$  também é obtida por Método Variacional e, portanto,  $V_{ext}$  poderia ser avaliada para  $\rho_0 \text{aprox}$  da mesma forma como seria para  $\rho_0$  (HOHENBERG; KOHN, 1964; JENSEN, 2017).

Como a descrição do elétron na DFT é feita de forma diferente de HF, isto é, por meio de  $\rho_0$  ao invés de  $\psi_{tot}$ , então as funções orbitais devem passar por reformulação. Portanto, para a obtenção da densidade eletrônica, Kohn e Sham (JENSEN, 2017; KOHN; SHAM, 1965) definiram em 1965 os chamados orbitais de Kohn-Sham, cuja relação com a função de densidade eletrônica é dada por

$$\rho_S = \sum_i^N |\phi_i|^2 \quad (14)$$

onde  $\phi_i$  é o orbital de Kohn-Sham do elétron  $i$ . (JENSEN, 2017; KOHN; SHAM, 1965) Um problema, no entanto, é que esta forma de representar um elétron por orbital gera discrepâncias na energia cinética e, por isso, o funcional de energia cinética aqui é dividido em 2 funcionais distintos de modo a corrigir a contribuição total desta energia no sistema. Além disso, a DFT ainda considera os importantes ajustes de energias de troca e de correlação eletrônica na energia total do sistema, que podem ser consideradas como funcionais separados e que compõem o funcional de energia de repulsão elétron-elétron  $V_{ee}$ . Com isso, reescrevendo a equação 10 com estes funcionais separados consideração a equação 11, a nova equação para a energia final em DFT fica

$$E_{DFT}[\rho] = T_S[\rho] + E_{ne}[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (15)$$

$$E_{xc}[\rho] = (T[\rho] - T_S[\rho]) + (E_{ee}[\rho] - J[\rho]) \quad (16)$$

onde  $T_S[\rho]$  é o funcional da energia cinética aproximada e calculada por determinante de Slater (utilizando-se orbitais de Kohn-Sham),  $J[\rho]$  é um dos funcionais que contribui

para a energia de correlação eletrônica e chamado de termo de Coulomb, e  $E_{xc}[\rho]$  é o funcional de correlação e troca que contém a correção de energia cinética  $T[\rho] - T_S[\rho]$  e de energias de correlação e de troca  $E_{ee}[\rho] - J[\rho]$ (JENSEN, 2017). Estas correções de energia cinética e de energias de correlação e troca na busca por aproximações mais precisas podem ser substancialmente melhoradas fazendo com que seus funcionais dependam de derivadas das funções de densidade, o que teoricamente passa a considerar a não-homogeneidade do “gás de elétrons”(JENSEN, 2017; KOHN; SHAM, 1965). Baseando-se na busca por melhores aproximações de energias de correlação e troca, diversos tipos de funcionais têm sido desenvolvidos para determinados sistemas objetos de estudo.

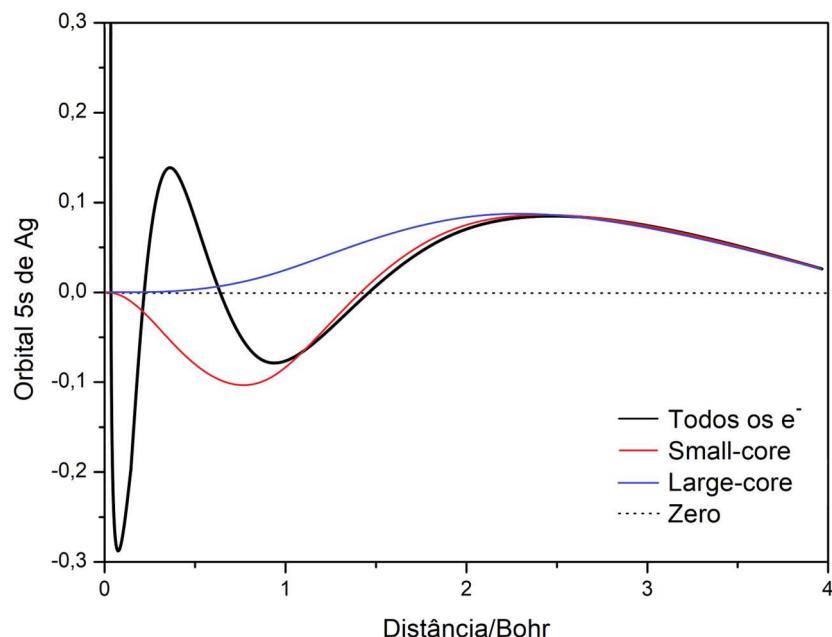
Neste trabalho foi utilizado o funcional M06-2X em todos os cálculos baseados em DFT. Desenvolvido por Yan Zhao e Donald G. Truhlar da Universidade de Minnesota, o funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007) está entre os funcionais mais adequados para cálculos de sistemas que contém espécies orgânicas e metais de transição. Uma característica importante deste funcional é a representação da energia de correlação e troca ( $E_{xc}[\rho]$ ) de forma híbrida, onde a composição da energia de troca é de 54% por Hartree-Fock e 46% por DFT. O funcional M06-2X é também frequentemente considerado um funcional que permite descrições mais precisas de interações dispersivas(ZHAO; TRUHLAR, 2007).

### 3.5 Pseudopotenciais ou *Effective Core Potentials (ECPs)*

Átomos grandes tais como os dos períodos mais inferiores da tabela periódica possuem grandes quantidades de elétrons que, a princípio, necessitariam de uma grande quantidade de funções de base para descrevê-las em sua totalidade e gerar uma  $\psi_{tot}$  do átomo(JENSEN, 2017). Contudo, os fenômenos químicos de interesse envolvem diretamente apenas os elétrons de valência. Isto implica que a consideração destes elétrons na descrição das ligações químicas é de maior prioridade. No entanto, existem átomos com alto número de elétrons internos, de caroço e, nestes casos, torna-se mais adequado o emprego de pseudopotenciais, também conhecidos como *Effective Core Potentials (ECPs)*. ECPs consistem em funções que negligenciam os tratamentos detalhados de cada partícula do caroço de grandes átomos para dar lugar a um tratamento médio que possui boa aproximação e que reduz o custo

computacional. Não somente as complicadas considerações de efeitos de correlação e troca são contempladas, como também os efeitos relativísticos dos elétrons mais externos que se tornam cada vez mais importantes de serem considerados à medida que se aumenta o número de partículas no átomo(JENSEN, 2017).

Uma boa função pseudopotencial precisa atender, além das considerações anteriores, o ajuste das funções pseudo-orbitais com as funções orbitais de valência quando todos os elétrons são considerados(JENSEN, 2017). A Figura 9 ilustra, como exemplo, um ajuste do pseudopotencial adequadamente para o átomo de Ag.



Fonte: página 224 do livro do autor Frank Jensen, 2017,adaptado

**Figura 9: Gráfico da função-orbital 5s de Ag com ECP Small-core, Large-Core e sem ECP**

Percebe-se que as curvas, quando se aplicam pseudopotenciais, tornam-se mais simples em distâncias menores ao núcleo (ou seja, com elétrons que compõem o caroço) do que a função onde todos os elétrons são descritos. Entretanto, as curvas passam a se sobrepor em uma distância que limita o caroço da valência, e que varia para cada elemento. A qualidade do pseudopotencial ainda pode ser classificado em *Large-core* e *Small-core*, com a diferença que o último ainda considera os orbitais vizinhos da mesma valência(JENSEN, 2017). Ainda no caso de Ag que, no estado fundamental possui 47 elétrons, temos:

- Pseudopotencial “*Small-core*”: [core] – 4s<sup>2</sup>, 4p<sup>6</sup>, 4d<sup>10</sup>, 5s<sup>1</sup>
- Pseudopotencial “*Large-core*”: [core] – 4d<sup>10</sup>, 5s<sup>1</sup>

- Todos os elétrons (ECP):  $1s^2, 2s^2, 2p^6, 3s^2, 3p^6, 4s^2, 3d^{10}, 4p^6, 4d^{10}, 5s^1$

Ou seja: os orbitais descritos por uma média estão contidos em [core], enquanto que a descrição mais precisa para os elétrons de valência são aqueles cujos orbitais estão explícitos. Logo, os pseudopotenciais *Small-core* fornecem melhores resultados devido à abrangência de todos os orbitais correspondentes ao número quântico principal  $n - 1$ , isto é, logo antes ao de valência  $n$ (JENSEN, 2017).

### 3.6 Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM) e Non-covalent Interactions Index (NCI)

A essência da Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM, do inglês *Quantum Theory of Atoms in Molecules*) está na descrição da distribuição de densidade de cargas  $\rho(r)$  no sistema. A função  $\rho(r)$  é bem definida em todos os pontos no espaço tridimensional compondo um campo escalar, o que pode ser explorado por meio de análises topológicas destes gráficos moleculares para obter propriedades do sistema(BADER, 1990). A função  $\rho(r)$  é obtida utilizando-se das bases da mecânica quântica nos que diz respeito à probabilidade de se encontrar o elétron, isto é:

$$\rho(r; X) = N \int \psi^*(x; X) \psi(x; X) d\tau' \quad (17)$$

onde  $x$  são as coordenadas e os spins dos elétrons do sistema,  $X$  são as coordenadas dos núcleos,  $N$  é a quantidade de elétrons e  $d\tau'$  é o elemento diferencial de integração das coordenadas cartesianas dos elétrons e de seus spins(BADER, 1990). Uma análise mais efetiva de como a distribuição eletrônica deve ocorrer no espaço, no entanto, pode ser explorada por meio do vetor gradiente  $\nabla \rho(r)$  em cada ponto, que é dado por

$$\nabla \rho(r) = \vec{i} \frac{\partial \rho}{\partial x} + \vec{j} \frac{\partial \rho}{\partial y} + \vec{k} \frac{\partial \rho}{\partial z} \quad (18)$$

sendo este interpretado físico-quimicamente como a variação da magnitude da densidade eletrônica, resultando em campo vetorial, isto é, composto de vetores em todo o espaço diferenciável indicando as direções e sentidos destas variações. Um dos pontos-chave no estudo desta magnitude da distribuição de cargas está no

entendimento de que, quando  $\nabla\rho(r') = 0$ , então o ponto  $r'$  é um máximo, um mínimo ou um ponto de sela destas grandezas, definindo pontos são chamados de “pontos críticos”(BADER, 1990). A diferenciação entre os pontos críticos pode ser feita, por conveniência matemática, quando se aplicam as segundas derivadas de  $\rho(r)$  em uma matriz Hessiana, resultando em uma rotação dos eixos e estabelecendo o ponto crítico na origem da nova configuração dos eixos. Como resultado desta transformação matricial, apenas os elementos da diagonal principal da matriz podem ser diferentes de 0. A somatória destes elementos é conhecida como o Laplaciano de  $\rho(r')$ :

$$\nabla^2\rho(r) = \frac{\partial^2\rho}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\rho}{\partial y^2} + \frac{\partial^2\rho}{\partial z^2} \quad (19)$$

Este é um problema de autovalor e que, de forma mais simples, podem ser explorados apenas os autovalores  $\lambda_i$  associados à estas segundas derivadas:

$$\nabla^2\rho(r) = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 \quad (20)$$

Uma importante análise a ser feita é a de que  $\lambda_i$  pode ser maior, menor ou igual a 0. Sendo assim, uma forma de contextualizar o tipo de ponto crítico que se trata de  $\rho(r')$  é dado por dois valores e que são escritos como o índice  $(\omega, \sigma)$ : o primeiro ( $\omega$ ) consiste na soma de autovalores  $\lambda_i$  diferentes de zero, enquanto que o segundo ( $\sigma$ ) é a soma dos sinais positivos e/ou negativos de cada  $\lambda_i$ (BADER, 1990). Na maioria dos casos onde todos os 3 autovalores  $\lambda_i$  são diferentes de zero, temos 4 tipos de ponto crítico em  $\rho(r')$ :

- (3,-3) possui os 3 autovalores  $\lambda_i$  em  $\rho(r')$  negativas;
- (3,-1) possui 2 autovalores  $\lambda_i$  negativos e 1 positivo em  $\rho(r')$ ;
- (3,+1) possui 1 autovalor  $\lambda_i$  negativos e 2 positivos em  $\rho(r')$ ;
- (3,+3) possui os 3 autovalores  $\lambda_i$  em  $\rho(r')$  positivos.

O ponto crítico (3,-3) é chamado de Ponto Crítico Nuclear (NCP) e revela as posições dos núcleos atômicos do sistema, caracterizado por 3 autovalores negativos e, portanto, 3 máximos nos planos que perpassam  $r'$  em  $\rho(r')$ . O ponto crítico (3,-1) é chamado de Ponto Crítico de Ligação (BCP) e é caracterizado por 2 autovalores negativos e 1 positivo, resultante de máximos em 2 planos definidos e 1 mínimo em um terceiro plano perpendicular. O ponto crítico (3,+1) é chamado de Ponto Crítico de Anel (RCP), possui relação inversa ao BCP em termos de máximos de mínimos e é

geralmente encontrado em centro de anéis. Por fim, o ponto crítico (3,+3) é o Ponto Crítico de Gaiola (CCP) que ocorre em gaiolas moleculares e se caracterizam por mínimos de densidade eletrônica em  $r'$  descrito por  $\rho(r')$ (BADER, 1990).

Uma interpretação mais simples de  $\nabla^2\rho(r)$  é geralmente dada da seguinte forma:  $\nabla^2\rho(r) < 0$  quando há acúmulo de densidade eletrônica em relação às vizinhanças, enquanto que  $\nabla^2\rho(r) > 0$  representa o acúmulo de densidade eletrônica com tendência de escape do ponto  $r$  para o entorno. Em relação aos pares atômicos, assim como em ligações covalentes polares e apolares, as interações não-covalentes também apresentam BCPs. No entanto, enquanto nas interações de compartilhamento de elétrons  $\nabla^2\rho(r) < 0$  no BCP, nas interações não covalentes a densidade eletrônica é mais baixa e localizada mais distamente da superfície atômica, e  $\nabla^2\rho(r) > 0$ (BADER, 1990; PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023).

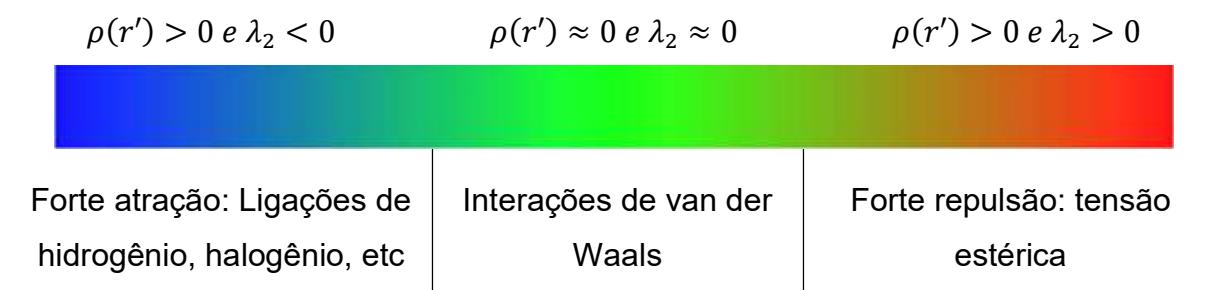
Uma importante ferramenta destinada ao estudo topológico das interações não covalentes é o *Non-covalent interaction index (NCI)*, desenvolvida por Erin Johnson e colaboradores(JOHNSON; KEINAN; MORI-SANCHEZ; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2010) que se baseia na determinação do gradiente de densidade reduzido, também conhecido como RDG, utilizando-se juntamente com  $\rho(r)$ . A RDG é denotada por  $s(r)$  e pode ser calculada em cada ponto do espaço, compondo um campo escalar(JOHNSON; KEINAN; MORI-SANCHEZ; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2010; PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023).  $s(r)$  é adimensional e dependente da função de densidade  $\rho(r)$  pela seguinte relação:

$$s(r) = \frac{|\nabla\rho(r)|}{2(3\pi^2)^{1/3}\rho(r)^{4/3}} \quad (21)$$

Aqui,  $s(r)$  é calculado para cada ponto no espaço, compondo um campo escalar e descrevendo os desvios da homogeneidade na distribuição eletrônica. Quanto menor a densidade de carga, maior será o valor de  $s(r)$ , enquanto que maiores densidades correspondem a  $s(r)$  mais próximos de 0(JOHNSON; KEINAN; MORI-SANCHEZ; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2010; PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023).

A forma como se diferenciam as interações atrativas das repulsivas está na análise dos autovalores advindos do Laplaciano de  $\rho(r)$ . No BCP para interações não covalentes, isto é, (3,-1) e  $\nabla^2\rho > 0$ , temos os autovalores  $\lambda_1 < 0$  e  $\lambda_3 > 0$ . Entretanto,

$\lambda_2$  ainda pode assumir valores positivos ou negativos, a depender da magnitude dos outros autovalores (JOHNSON; KEINAN; MORI-SANCHEZ; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2010; PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023). É baseando-se no sinal e na magnitude do autovalor  $\lambda_2$  que se determina o tipo e magnitude da interação, e a visualização gráfica desta distribuição de interações no espaço pode ser representada por uma escala de cores, como mostra a Figura 10.



Fonte: elaborado pelo autor

**Figura 10: Escala de cores para descrição do tipo e do nível de força das interações não covalentes, presentes em isosuperfícies de estruturas por cálculos de NCI**

Desta forma, os cálculos de NCI geram superfícies coloridas entre os átomos de um sistema (chamadas isosuperfícies) e mostram como a densidade eletrônica de um sistema varia no espaço, qual a magnitude da densidade em cada ponto e qual é a natureza das forças eletrostáticas entre pares atômicos. Neste sentido,  $\lambda_2 < 0$  quando se trata de interações atrativas tais como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo e Van der Waals, e a isosuperfície apresentará colorações variando-se da cor azul ao verde. Por outro lado,  $\lambda_2 > 0$  em regiões no espaço cujas interações entre átomos são repulsivas, assim como as encontradas em centros de anéis e gaiolas moleculares. Nestes casos, as isosuperfícies passam a serem representadas pela coloração avermelhada (JOHNSON; KEINAN; MORI-SANCHEZ; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2010; PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023).

### 3.7 *Natural Bond Orbitals (NBO)*

Definir um átomo e sua população de elétrons quando este encontra-se integrado em moléculas por ligações químicas é uma tarefa desafiadora. Além do problema da definição espacial de limites do que é o átomo na molécula, a descrição do elétron por meio do operador Hamiltoniano ainda depende de apenas 1 ou 2 elétrons (JENSEN, 2017). Entretanto, para átomos e moléculas com  $N$  elétrons, uma

alternativa para resolução do problema da distribuição de elétrons tem sua raiz na chamada “matriz de densidade”  $\Gamma^{(N)}$ , que pode ser obtida por(WEINHOLD, 2012)

$$\Gamma^{(N)} = \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \Psi^*(r'_1, r'_2, \dots, r'_N) \quad (22)$$

Uma vantagem tanto teórica quanto matemática e computacional é que a matriz de densidade  $\Gamma^{(N)}$  pode também ser expressada para subsistema, isto é, uma partição menor do sistema de  $N$  elétrons(WEINHOLD, 2012). Para estes subsistemas, define-se agora a “matriz de densidade reduzida”  $\Gamma^p$  pela seguinte equação:

$$\Gamma^p = \left[ \frac{N!}{p! (N-p!)} \right] \int \Gamma^{(N)} d\tau_N d\tau_{N-1} \dots d\tau_{N-p+1} \quad (23)$$

em que  $p$  é a  $p$ -ésima ordem da matriz, calculada como uma média que depende de todos os elétrons exceto os do subsistema  $p$ . Contudo, apenas as matrizes de densidade reduzida de primeira e segunda ordem  $\Gamma^1$  e  $\Gamma^2$  são necessárias para a obtenção de todas as propriedades da molécula ou átomo que também estão contidos em  $\Psi$ , sendo a primeira ordem a de maior peso(WEINHOLD, 2012).

Uma vez determinada a matriz  $\Gamma^1$ , esta pode ser utilizada na descrição dos orbitais “ótimos” do sistema de  $N$  elétrons como um operador de 1 elétron que opera sobre autofunções orbitais, chamadas de “Orbitais Naturais” (NO, do inglês *Natural Orbitals*), por meio da equação de autovalor(WEINHOLD, 2012)

$$\Gamma^{(1)} \theta_i = n_i \theta_i, \quad i = 1, 2, \dots, \infty \quad (24)$$

onde  $\theta_i$  é o orbital natural e  $n_i$  é a “ocupância”, isto é, o máximo de elétrons (baseado na densidade eletrônica) a ocupar o orbital. A ocupância  $n_i$ , por sua vez, é determinado por(WEINHOLD, 2012)

$$n_i = \int \theta_i^* \Gamma^{(1)} \theta_i d\tau \quad (25)$$

A partir da determinação de  $n_i$ , torna-se possível a descrição dos locais descritos por NO onde a ocupância de elétrons é máxima, podendo corresponder a locais de pares isolados ou de ligações. Desta forma, os NO – que podem ser generalizados como ligações químicas padrões e esperadas – podem ser

denominados “Orbitais Naturais de Ligação” (NBO, do inglês *Natural Bond Orbitals*)(WEINHOLD, 2012).

### 3.8 Modelos Contínuos de Solvatação

Para a simulação de solvatação do soluto em Química Computacional há, basicamente, duas formas de abordagem do efeito do solvente em um soluto: a solvatação explícita e a solvatação implícita (também conhecida como modelos de solvatação contínua). Na solvatação explícita, como o próprio nome sugere, as moléculas do solvente são inseridas explicitamente na modelagem do sistema assim como o(s) soluto(s), o que leva à descrição mais detalhada das partículas que as compõem e que interagem diretamente e/ou indiretamente com o(s) soluto(s). Contudo, são modelos computacionalmente custosos devido ao aumento considerável de variáveis matemáticas e à crescente dificuldade no tratamento quanto-mecânico de interações não covalentes, podendo inviabilizar ou até mesmo serem impeditivos na modelagem de um sistema dependendo de sua complexidade e da capacidade computacional(JENSEN, 2017). Em contrapartida, os modelos de solvatação contínua destacam-se como alternativas viáveis ao simplificar o problema do efeito solvente substituindo as moléculas explícitas por um contínuo dielétrico polarizável(JENSEN, 2017; PLIEGO JR, 2006). A Figura 11 esquematiza o conceito de tal modelo.



Fonte: elaborado pelo autor em *software Paint 3D*

**Figura 11: Representação simplificada do modelo de solvatação contínua**

Nos modelos de solvatação contínua, o soluto (discreto) é delimitado por uma cavidade cuja superfície é polarizada. O contínuo dielétrico substitui as moléculas explícitas do solvente e é dado por um vetor de polarização contínuo  $\vec{P}$ . Tal vetor é definido pela soma das médias térmicas dos momentos de dipolo  $\vec{\mu}_i$  das moléculas de solvente e que se encontram no volume  $\Delta V$ , isto é, o volume que contém  $n$  moléculas do solvente e compreende o contínuo dielétrico(PLIEGO JR, 2006):

$$\vec{P} = \frac{1}{\Delta V} \sum_{i=1}^n \langle \vec{\mu}_i \rangle \quad (26)$$

Desta forma, os momentos de dipolo pontuais podem ser substituídos por um campo vetorial contínuo  $\vec{P}$  que representa um dipolo médio no espaço.  $\vec{P}$  atua no sistema polarizando a superfície  $S_1$  que delimita a cavidade do soluto, a superfície  $S_2$  que delimita a caixa que contém as  $n$  moléculas de solvente e o próprio volume  $\Delta V$ . Como consequência, a polarização do meio gera um potencial eletrostático  $\varphi_d$  no contínuo dielétrico que é dado pela soma destas contribuições(PLIEGO JR, 2006):

$$\varphi_d(\vec{R}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \oint_{S_1+S_2} \frac{\vec{P} \cdot \vec{n}}{|\vec{R} - \vec{r}|} dA_r + \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int_d \frac{-\vec{\nabla}_r \cdot \vec{P}}{|\vec{R} - \vec{r}|} dV_r \quad (27)$$

onde  $\vec{r}$  é a posição no espaço que contém o momento de dipolo  $\vec{\mu}_i$ ,  $\vec{R}$  é a posição no espaço onde um potencial eletrostático é gerado em relação a  $\vec{r}$ ,  $\vec{n}$  é o vetor normal às superfícies  $S_1$  e  $S_2$ , e  $\vec{\nabla}_r$  é o vetor gradiente em  $\vec{r}$ . Em termos de densidade de carga superficial  $\sigma_s(\vec{r})$  e volumétrica  $\sigma_V(\vec{r})$ , a nova equação se torna(PLIEGO JR, 2006):

$$\varphi_d(\vec{R}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \oint_{S_1+S_2} \frac{\sigma_s(\vec{r})}{|\vec{R} - \vec{r}|} dA_r + \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \int_d \frac{\sigma_V(\vec{r})}{|\vec{R} - \vec{r}|} dV_r \quad (28)$$

Embora a equação acima represente (aproximadamente) o potencial gerado pelo contínuo dielétrico, a interação do soluto com o solvente é muitas vezes o objeto de interesse na descrição de um sistema polarizado, o que nos leva ao foco no potencial gerado na superfície da cavidade  $S_1$ . Baseando-se nesta premissa, o Método das Cargas Aparentes de Superfície assume que tanto a densidade de carga do soluto no volume  $\Delta V$  (contínuo dielétrico) quanto o limite de  $S_2$  tendendo ao infinito (ou seja,

a expansão da caixa de solvatação ao infinito) levam suas respectivas integrais a 0, o que faz restar, portanto(PLIEGO JR, 2006):

$$\varphi_d(\vec{R}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \oint_{S_1} \frac{\sigma_s(\vec{r})}{|\vec{R} - \vec{r}|} dA_r \quad (29)$$

Desta forma, o Método das Cargas Aparentes de Superfície afirma que a interação soluto-solvente (isto é, o potencial gerado pelo contínuo dielétrico) pode ser representada pelas cargas de polarização resultantes na superfície  $S_1$  que dependem tanto das cargas do soluto quanto do solvente. A descrição destas cargas aparentes em  $S_1$  é feita assumindo-se que a respectiva densidade destas cargas nesta superfície depende do potencial total gerado pela seguinte relação(PLIEGO JR, 2006):

$$\sigma_s(\vec{r}) = (\kappa - 1)\epsilon_0 \frac{d\varphi}{d\vec{n}} \quad (30)$$

onde  $\kappa$  é a constante dielétrica, dada pela razão entre a permissividade do solvente  $\epsilon$  e a permissividade do vácuo  $\epsilon_0$ (PLIEGO JR, 2006).

O potencial total  $\varphi$  em  $S_1$  é dado pela soma do potencial eletrostático gerado pelo soluto  $\varphi_s$  com o potencial gerado pelo contínuo dielétrico  $\varphi_d$ , definido anteriormente. Os cálculos para o potencial total, assim como no Método de Hartree-Fock, são feitos de forma autoconsistente. O cálculo inicia-se partindo da aproximação  $\varphi_1 = \varphi_s$ , o que gera cargas aproximadas de polarização na superfície da cavidade do soluto  $\sigma_1$ . A partir disto, o potencial gerado pelo contínuo dielétrico passa a ser introduzido em  $\varphi_2$  pela soma  $\varphi_2 = \varphi_s + \varphi_{d1}$ , até o momento em que o potencial total  $\varphi$  é obtido com a convergência dos cálculos computacionais(PLIEGO JR, 2006).

Toda a base teórica apresentada até aqui é a que consiste no método conhecido como PCM (Polarizable Continuum Model). No PCM, a cavidade do soluto é definida por esferas que coincidem com os núcleos atômicos e que se sobrepõem, tendo seus raios definidos especificamente para cada átomo dependendo de suas naturezas(MIERTUŠ; TOMASI, 1982). Além disso, o PCM pode contar também com a correção na descrição da polarização do soluto que possa, porventura, ultrapassar a cavidade, por meio do Formalismo de Equação Integral (Integral Equation Formalism, IEF)(CANCÈS; MENNUCCI; TOMASI, 1997; PLIEGO JR, 2006), resultando no IEFPCM utilizado neste trabalho.

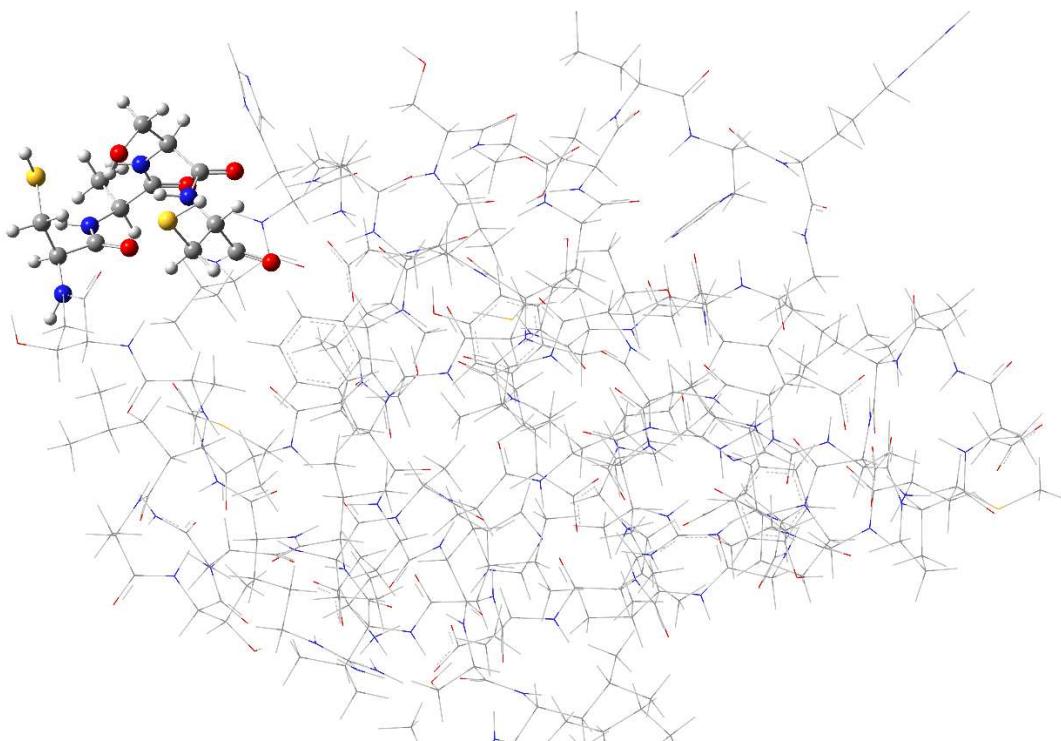
## 4. METODOLOGIA DE EXECUÇÃO

Neste Capítulo são apresentados em detalhes os procedimentos de execução de cálculos computacionais propostos neste trabalho.

### 4.1 Análises estruturais e cálculos de energia e de otimização dos modelos de referência

O ponto de partida para realização desta pesquisa baseia-se na coleta de dados estruturais de Mnk6, disponíveis na base web PDB(BERMAN; HENRICK; NAKAMURA, 2003). Identificados com códigos, as representações a nível atômico das formas apoproteicas e holoproteicas deste fragmento da proteína ATP7A correspondem a 1YJU e 1YJV(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005), respectivamente. Nos arquivos disponibilizados há um total de 30 modelos estruturais, contendo essencialmente coordenadas cartesianas de cada átomo e seus respectivos resíduos de aminoácidos a que pertencem. No caso de Mnk6, o sítio ativo (isto é, seu grupo CXXC) apresenta os resíduos de aminoácidos cisteína, alanina e serina com a ordem Cys15–Ala16–Ser17–Cys18. Isto implica na redenominação do grupo CXXC para CASC, especificamente em Mnk6. É importante salientar que estes modelos são diferentes conformações do mesmo sistema provenientes de resultados obtidos por experimentos de RMN(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005).

Após a coleta, todos os 30 modelos apoproteicos e holoproteicos de Mnk6 foram analisados por meio do software Gaussview na versão 6.0.16. A Figura 11 traz como exemplo a representação do 1º modelo. O grupo CASC responsável pela ligação a Cu(I) e Pt(II) foi destacado por estilo de bolas e varetas (camada alta), enquanto que o restante do Mnk6 é representado por estilo de linhas (camada baixa).



Fonte: <https://www.rcsb.org/structure/1YJU> (captura de imagem por software *GaussView 6.0.16*)

**Figura 12: Representação estrutural de um modelo do Mnk6 apoproteoico da proteína ATP7A, com destaque para o sítio ativo CASC (C em cinza, H em branco, N em azul, O em vermelho e S em amarelo)**

A representação da Figura 11 foi escolhida para ressaltar o recorte para a construção do modelo molecular, estrutural que compreenderá apenas o sítio CASC. Os 30 modelos contêm um total de 75 resíduos de aminoácidos cada; na apoproteína, um total de 1164 átomos e, na holoproteína, 1163 (devido ao acréscimo de Cu(I) e a ausência de 2 hidrogênios do grupo tiol em cisteínas do CASC). Após a coleta e análise dos modelos, foram extraídos apenas os dados relativos aos fragmentos CASC (contendo Cu(I) ou não) para os cálculos computacionais e nomeados de M1 a M30. Estes recortes de M1 a M30 foram feitos nas ligações peptídicas entre os aminoácidos Thr14 (treonina 14) e Cys15, e entre Cys18 e Val19 (valina 19), seguido da adição de grupos –H aos átomos de N (amina) e de grupos –OH aos átomos de C (ácido carboxílico) para completar a valência. Estas e outras análises estruturais a seguir foram realizadas por meio do software *GaussView 6.0.16*(DENNINGTON; KEITH; MILLAM, 2016).

Cálculos de energia no ponto, otimização e de análise vibracional foram realizados sobre estes recortes estruturais em fase gás utilizando-se o software Gaussian09(FRISCH; TRUCKS; SCHLEGEL; SCUSERIA *et al.*, 2016), com método

DFT(HOHENBERG; KOHN, 1964) e com funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007). Para os átomos de H, C, N, O, Cl, S e Cu, foi utilizado o conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988), enquanto que para o átomo de Pt foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ(HAY; WADT, 1985). Seus respectivos resultados de energia no ponto (E) e energia livre de Gibbs absoluto (G) foram tabelados em ordem crescente, seguido de cálculos de  $\Delta E$  e  $\Delta G$  para cada estrutura em relação àquela de menor energia obtida em cada grupo. Estes cálculos iniciais sobre os 30 modelos servem de base comparativa tendo em vista o objetivo de selecionar 1 modelo de CASC apoproteico e 1 modelo de CASC holoproteico para os cálculos de ET, que passaram por 3 critérios sequenciais na avaliação dos resultados em cada caso:

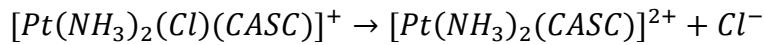
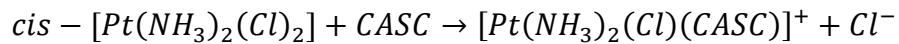
- No 1º critério, fez-se a separação de modelos calculados para otimização cujos  $\Delta G$  não ultrapassem um máximo de 4 kcal.mol<sup>-1</sup> da estrutura mais estável;
- No 2º critério, dentre os modelos selecionados no 1º critério, houve novamente a separação dos modelos calculados para energia no ponto cujos  $\Delta E$  não ultrapassem um máximo de 8 kcal.mol<sup>-1</sup>;
- Pelo 3º critério, o modelo otimizado selecionado para os cálculos de ET seria aquele que teria sofrido menor alteração geométricas possível, quando comparado ao modelo original do banco de dados. A avaliação foi feita visualmente e de forma qualitativa(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005; BERMAN; HENRICK; NAKAMURA, 2003).

Desta forma, a estrutura selecionada seria aquela que estaria, não somente dentre as mais estáveis, como também a mais próxima possível das estruturas originais de referência(BANCI; BERTINI; CANTINI; MIGLIARDI *et al.*, 2005; PDB, 2022). Uma vez selecionados, os modelos apoproteico e holoproteico otimizados selecionados foram utilizados para dar prosseguimento aos cálculos de Estado de Transição (ET).

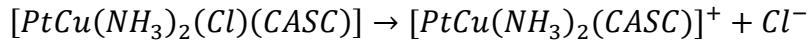
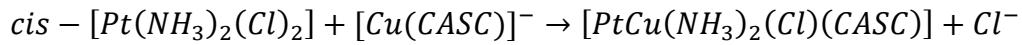
#### 4.2 Estado de Transição (ET) e Coordenada Intrínseca da Reação (IRC)

Após a seleção dos modelos, deu-se o início aos cálculos computacionais de otimização das estruturas para Estado de Transição (ET), isto é, a estrutura intermediária aos reagentes e aos produtos de uma reação. Neste caso, uma das

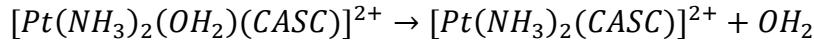
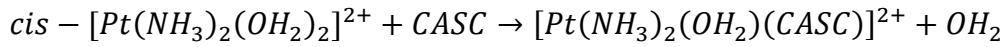
reações estudadas se trata da substituições de ligantes em que *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] libera ânions Cl<sup>–</sup>, trocando-os por grupos tiol (–SH) presentes em resíduos de cisteínas do sítio ativo de MnK6 (CXXC) na forma apoproteica. Desta forma, as ligações Pt–S discutidas no capítulo de Introdução seriam formadas, e a reação seria dada por diferentes etapas:



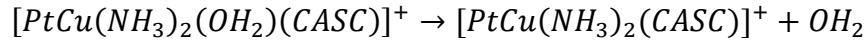
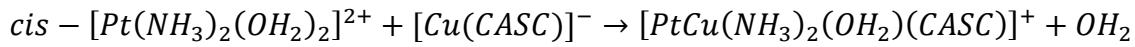
Da mesma forma, no sítio holoproteico:



De forma análoga, as reações de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com o sítio apoproteico também foram simuladas, dividindo-se em etapas subsequentes:

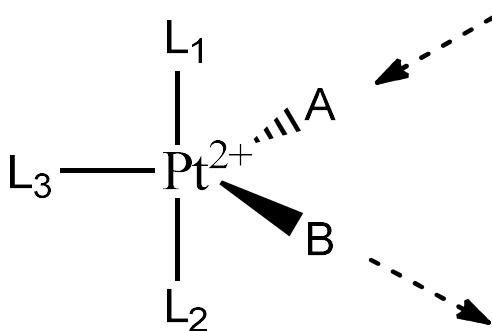


assim como no sítio holoproteico:



Para obter estas reações, foram efetuados cálculos de otimização para ET e de frequências em fase gás para cada etapa de substituição de ligantes nos modelos selecionados utilizando-se *software* Gaussian09(FRISCH; TRUCKS; SCHLEGEL; SCUSERIA *et al.*, 2016), método DFT(HOHENBERG; KOHN, 1964) e funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007). Para átomos de H, C, N, O, Cl, S e Cu, utilizou-se o conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988), enquanto que para o átomo de Pt

foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ(HAY; WADT, 1985). As estruturas foram construídas baseando-se no atual conhecimento que se tem sobre a geometria e o tipo de mecanismo que complexos quadrático-planos de Pt(II) adotam em seus ETs típicos: a formação de uma estrutura bipirâmide trigonal com troca de ligantes por mecanismo associativo(BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; DA SILVA; COSTA; DOS SANTOS, 2007). Nestes casos, os ligantes axiais ( $L_1$  e  $L_2$ ) e um dos ligantes equatoriais ( $L_3$ ) são considerados inertes, enquanto que a substituição ocorre entre os outros dois ligantes equatoriais, o ligante de entrada (A) e o ligante de saída (B). A Figura 12 esquematiza esta estrutura de estado de transição proposta.



Fonte: elaborado pelo autor em *software ChemDraw Ultra 12.0*

**Figura 13: Representação estrutural para o ET típico de complexos quadrático-planos de Pt(II), sendo A o ligante de entrada e B, o de saída**

Para efeito de comparação, as primeiras etapas em todos os casos se iniciaram com a troca de ligantes ocorrendo em  $S_{Cys15}$ . Os ligantes  $NH_3$  foram assumidos como inertes, baseando-se também nas observações feitas por trabalhos anteriores de que se tratam de ligantes menos lábeis a Pt(II) do que  $Cl^-$  e  $H_2O$ (BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; DA SILVA; COSTA; DOS SANTOS, 2007; MAKOVEC, 2019). Além disso, todos os sistemas foram assumidos como multiplicidade de spin singlet.

Em relação às cargas de cada componente, os átomos de enxofre das formas apoproteicas encontram-se ligados covalentemente a hidrogênios e possuem carga formal 0, enquanto que nas formas holoproteicas os hidrogênios não estão presentes e, tanto  $S_{Cys15}$  quanto  $S_{Cys18}$  passam a ter carga formal -1 cada. Desta forma, foram estabelecidas para os sistemas contendo a forma apoproteica as cargas totais 0 com *cis*-[Pt( $NH_3$ )<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e +2 com *cis*-[Pt( $NH_3$ )<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>. Já nas formas holoproteicas, cargas totais -1 com *cis*-[Pt( $NH_3$ )<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e +1 com *cis*-[Pt( $NH_3$ )<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>.

Uma vez encontrados os ETs por suas frequências imaginárias únicas, novos cálculos de IRC em fase gás foram executados sobre estas estruturas, requisitando o

cálculo de 50 passos no caminho de reação para formação de reagentes, e 50 passos para formação de produtos, onde também foi utilizado Gaussian09(FRISCH; TRUCKS; SCHLEGEL; SCUSERIA *et al.*, 2016) e nível de teoria DFT(HOHENBERG; KOHN, 1964) com funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007). O conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988) foi utilizado para os átomos de H, C, N, O, Cl, S e Cu, enquanto que o pseudopotencial LANL2DZ(HAY; WADT, 1985; PASCHOAL; MARCIAL; LOPES; DE ALMEIDA *et al.*, 2012) para o átomo de Pt. Cálculos de IRC são essenciais para confirmação do caminho das reações químicas na busca de estruturas de mínimo local. Ao final dos cálculos de IRC, os últimos passos (que se aproximam de reagentes e produtos) foram otimizados em fase gás com software Gaussian09(FRISCH; TRUCKS; SCHLEGEL; SCUSERIA *et al.*, 2016) por DFT(HOHENBERG; KOHN, 1964) com funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007) e conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988) para os átomos de H, C, N, O, Cl, S e Cu, enquanto que para Pt foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ(HAY; WADT, 1985). Cálculos de frequências também foram executados.

Para as etapas posteriores até a reação completa de Pt(II) com ambos S<sub>Cys15</sub> e S<sub>Cys18</sub>, prosseguiu-se por novos cálculos de ET e de frequências, tomando-se as estruturas dos produtos da etapa anterior como ponto de partida. Foi mantida a geometria de bipirâmide trigonal característica das reações de substituição de ligantes para complexos quadrático-planos de Pt(II), pressupondo-se a substituição de seu segundo ligante. Considerando uma possível sequência entre as etapas, foi admitido que os produtos de uma etapa e os reagentes da etapa subsequente devem possuir semelhança geométrica significativa e proximidade das energias entre as estruturas. É importante salientar, no entanto, que cada etapa foi obtida separadamente, o que implica que o produto de uma etapa não possui conexão direta com o reagente da etapa subsequente, refletindo apenas de forma aproximada as combinações de mecanismos.

Embora os cálculos de IRC sejam cruciais para confirmação dos ET, houve casos em que não foram possíveis executar tais cálculos sob as mesmas palavras-chave para algumas estruturas de ET identificadas. No entanto, uma alternativa foi adotada para que não houvesse interrupção do estudo proposto: utilizando-se do

modo vibracional correspondente à frequência imaginária, foi efetuado o deslocamento manual dos extremos deste movimento associado e que mais se aproximam possíveis reagentes e produtos. Posteriormente, estas estruturas foram otimizadas para mínimo. De modo a diferenciar as etapas em que os cálculos de IRC foram finalizados e dos que não foram, as estruturas de ET, reagentes e produtos com cálculos de IRC foram denominados “via IRC”, enquanto as estruturas sem cálculos de IRC foram denominadas via “percepção química”.

Por fim, para fins de consideração do efeito do solvente, as estruturas obtidas em fase gás foram novamente otimizadas (com mesmo *software* e nível de teoria) utilizando-se o modelo contínuo de solvatação IEFPCM e acrescentando-se uma molécula de água explícita na região das ligações Cu–S.

#### 4.3 Cálculos de NCI

De modo a acompanhar o estudo estrutural em mais detalhes, as considerações de interações não covalentes foram feitas por meio de cálculos de NCI sobre todas as estruturas otimizadas de todas as etapas. Os cálculos foram executados por meio do software Multiwfn na versão 3.8(LU; CHEN, 2012). Foram gerados os pontos críticos e isosuperfícies coloridas de modo a analisar, de forma qualitativa, os tipos e os níveis de força das interações não covalentes, assim como as mudanças que ocorrem ao longo dos mecanismos propostos para as reações.

#### 4.4 Cálculos de Cargas NBO

Após a obtenção de todas as estruturas otimizadas (isto é, ET e reagentes e produtos pós-IRC), foram efetuados cálculos em fase gás de cargas NBO(WEINHOLD, 2012) localizadas nos átomos com a finalidade de melhor compreender, qualitativamente, a mudança da distribuição de cargas ao longo das etapas de reações. Para isto, utilizou-se também o *software* Gaussian09(FRISCH; TRUCKS; SCHLEGEL; SCUSERIA *et al.*, 2016), método DFT(HOHENBERG; KOHN, 1964) com funcional M06-2X(ZHAO; TRUHLAR, 2007). Para átomos de H, C, N, O, Cl, S e Cu, foi utilizado o conjunto de base 6-31G(d,p)(PETERSSON; AL-LAHAM, 1991; PETERSSON; BENNETT; TENSFELDT; AL-LAHAM *et al.*, 1988), enquanto que para o átomo de Pt foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ(HAY; WADT, 1985).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a seleção dos modelos apoproteico e holoproteico – cuja discussão encontra-se no Apêndice 1 – para as reações, este capítulo inicia-se com seção 5.1 abordando análises e discussão de propriedades estruturais obtidas por cálculos de ET e IRC na fase gás. As simulações de reações das espécies *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl<sub>2</sub>)] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com os sítios ativos CASC e [CuCASC]<sup>·</sup> são apresentadas separadamente em 1º caso e 2º caso, detalhando-se etapa por etapa do processo de substituição de ligantes. Estes estudos ainda são acompanhados de resultados de cálculos NCI para considerações de interações inter e intramoleculares, e são finalizados com as coordenadas de cada reação para discussão termodinâmica dos mecanismos propostos.

Na seção 5.2, os sistemas apresentados na seção 5.1 são novamente considerados, porém agora sob efeito de solvente (água) por modelo contínuo de solvatação IEFPCM de modo a trazer discussões químicas mais aproximadas de sistemas reais.

A seção 5.3, por sua vez, traz as considerações de mudanças de cargas parciais localizadas nos principais átomos em foco ao longo de cada processo, obtidas por cálculos de carga NBO.

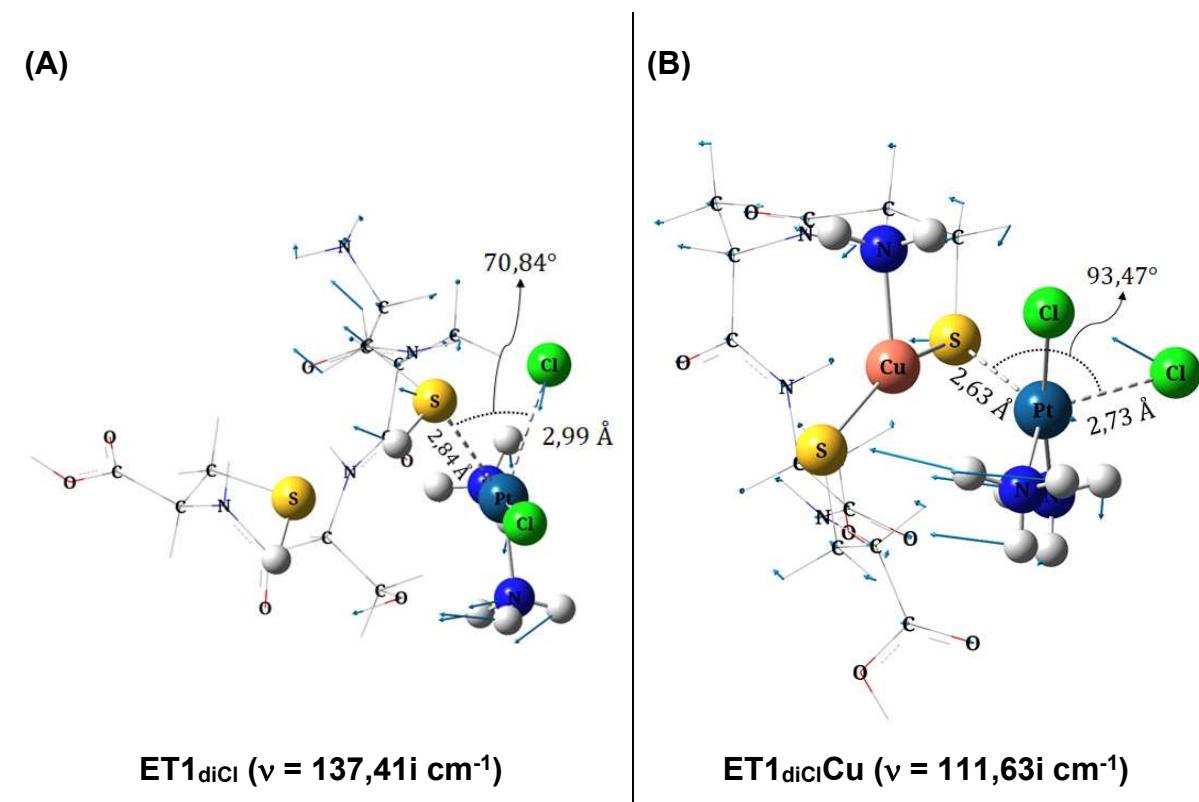
### 5.1 Reações de CASC e de [CuCASC]<sup>·</sup> com *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> na Fase Gás

Após a seleção dos modelos apoproteico (M15) e holoproteico (M26), dois casos de reações químicas estudados são apresentados em separadamente. O 1º caso, na subseção 5.2.1, se trata de estudos mecanísticos com cisplatina, *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>], enquanto que o 2º caso em 5.2.2 se trata de sua forma diaquo *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> visando comparações entre si.

#### 5.1.1 1º caso: reagente cisplatina *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]

Os primeiros ET dos sistemas apoproteico e holoproteico são do tipo “via IRC” e caracterizam-se pela saída do ligante –Cl<sub>saída1</sub> da *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]. Este ligante, juntamente com –SH<sub>Cys15</sub>/–S<sup>·</sup><sub>Cys15</sub>, Pt(II) e um dos grupos –NH<sub>3</sub> formam o plano

equatorial, compõendo a estrutura de geometria bipirâmide trigonal com Pt(II) como centro. O segundo ligante  $-\text{Cl}_{\text{saída}2}$  se mantém inerte nesta etapa. Comparando-se as estruturas de ET1 entre  $[\text{CuCASC}]^-$  e CASC obtidas, um dos aspectos estruturais mais notórios é o nível de distorção geométrica dos complexos. A Figura 14 exibe as estruturas de  $\text{ET1}_{\text{dicl}}$  e  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$ , com as regiões de interesse representadas em estilo de bolas e varetas e o restante da estrutura, em estilo arame. Os modos vibracionais associados à frequência imaginária são representados por vetores em azul.



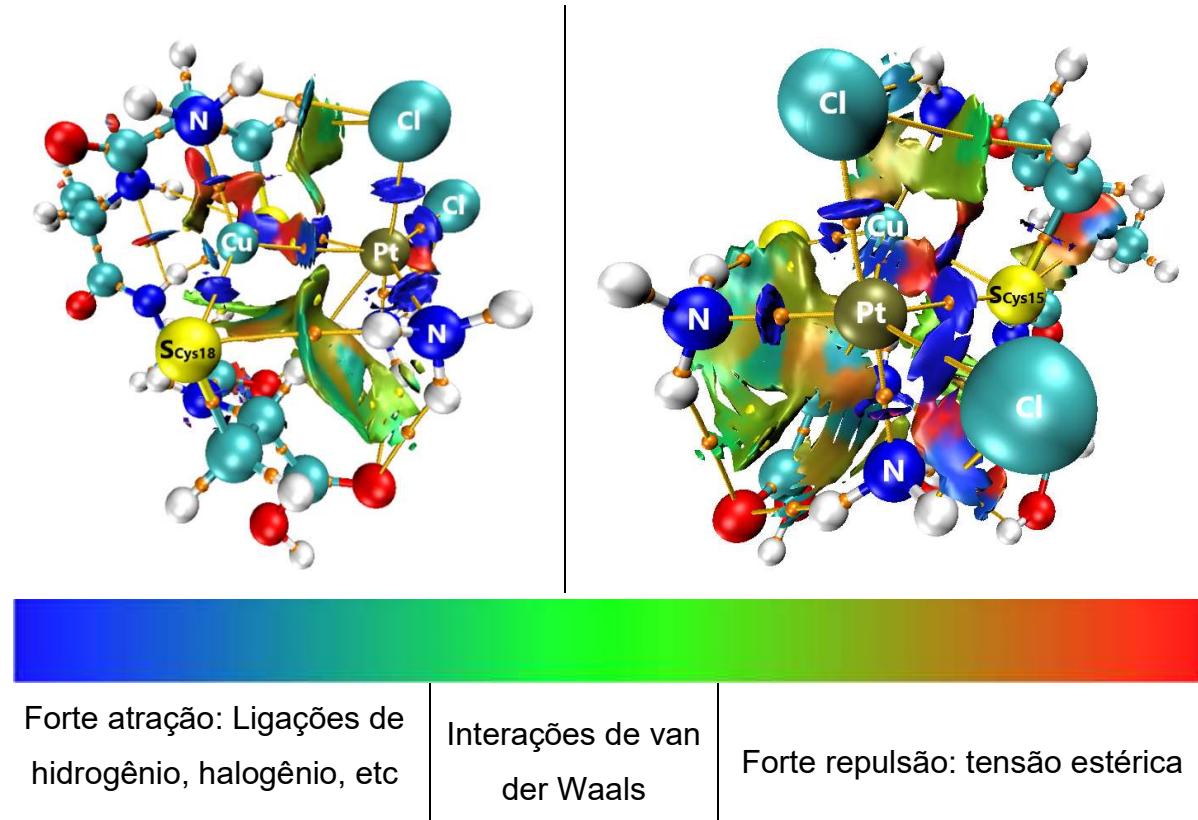
**Figura 14: Estruturas de  $\text{ET1}_{\text{dicl}}$  e de  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$  com vetores dos modos vibracionais**

Analizando as geometrias das estruturas apresentadas na Figura 14, em  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$ , o ângulo  $\angle \text{S-Cys15-Pt(II)-Cl}_{\text{saída}1}$  é  $22,63^\circ$  maior que em  $\text{ET1}_{\text{dicl}}$ . As distâncias interatômicas  $\text{Pt(II)} \cdots \text{S-Cys15}$  e  $\text{Pt(II)} \cdots \text{Cl}_{\text{saída}1}$  na estrutura holoproteica, no entanto, são menores que as distâncias análogas na estrutura apoproteica. Nesta estrutura já é possível notar a distância entre os metais  $\text{Pt(II)} \cdots \text{Cu(I)}$  em  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$  é relativamente pequena, de apenas 2,74 Å. A estrutura de  $\text{ET1}_{\text{dicl}}$  está mais distante de uma bipirâmide trigonal regular que  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$ . Na estrutura sem Cu(I), o plano contendo os grupos de entrada/saída possui grande desvio da perpendicularidade ao eixo contendo  $\text{Cl}_{\text{saída}2}$  axial. Em  $\text{ET1}_{\text{diclCu}}$  os ângulos  $\angle \text{S-Cys15-Pt(II)-Cl}_{\text{saída}2}$  e  $\angle \text{Cl-Cu(II)-Cl}_{\text{saída}2}$

$\text{saída1}\cdots\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}\cdots\text{saída2}$  são de  $99,9^\circ$  e  $98,0^\circ$ , respectivamente; em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$ , no entanto, estes ângulos são de  $74,6^\circ$  e  $114,4^\circ$ , uma diferença expressiva de  $39,8^\circ$ .

Os modos vibracionais associados às regiões diretas de formação e quebra das ligações em ambos os sistemas possuem aspectos de estiramento assimétrico. Entretanto,  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  também apresenta parcialmente o modo vibracional de balanço, uma vez que os vetores de deslocamento resultantes dos grupos  $-\text{Cl}^{\text{saída1}}$  e  $-\text{S}^{\text{-Cys15}}$  não apresentam direções e sentidos puramente característicos de um estiramento assimétrico, e que Pt(II) também apresenta movimento para aproximação de Cu(I) no sentido para formação dos produtos. Desta forma, pode-se dizer que tais vetores obtidos em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  para estes grupos são resultantes de componentes dos dois modos vibracionais (estiramento assimétrico e balanço), enquanto em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$  é predominantemente formado por vetores de estiramento assimétrico apenas. Acredita-se que este fator esteja – majoritariamente – relacionado à presença de Cu(I) na estrutura por dois motivos principais: o primeiro, pela existência da ligação química deste metal com  $-\text{S}^{\text{-Cys15}}$ , o que afeta o grau de liberdade do ligante; e segundo, pelo modo vibracional indicar, não apenas a formação de ligação Pt(II)– $\text{S}^{\text{-Cys15}}$ , como também uma aproximação observada entre os metais.

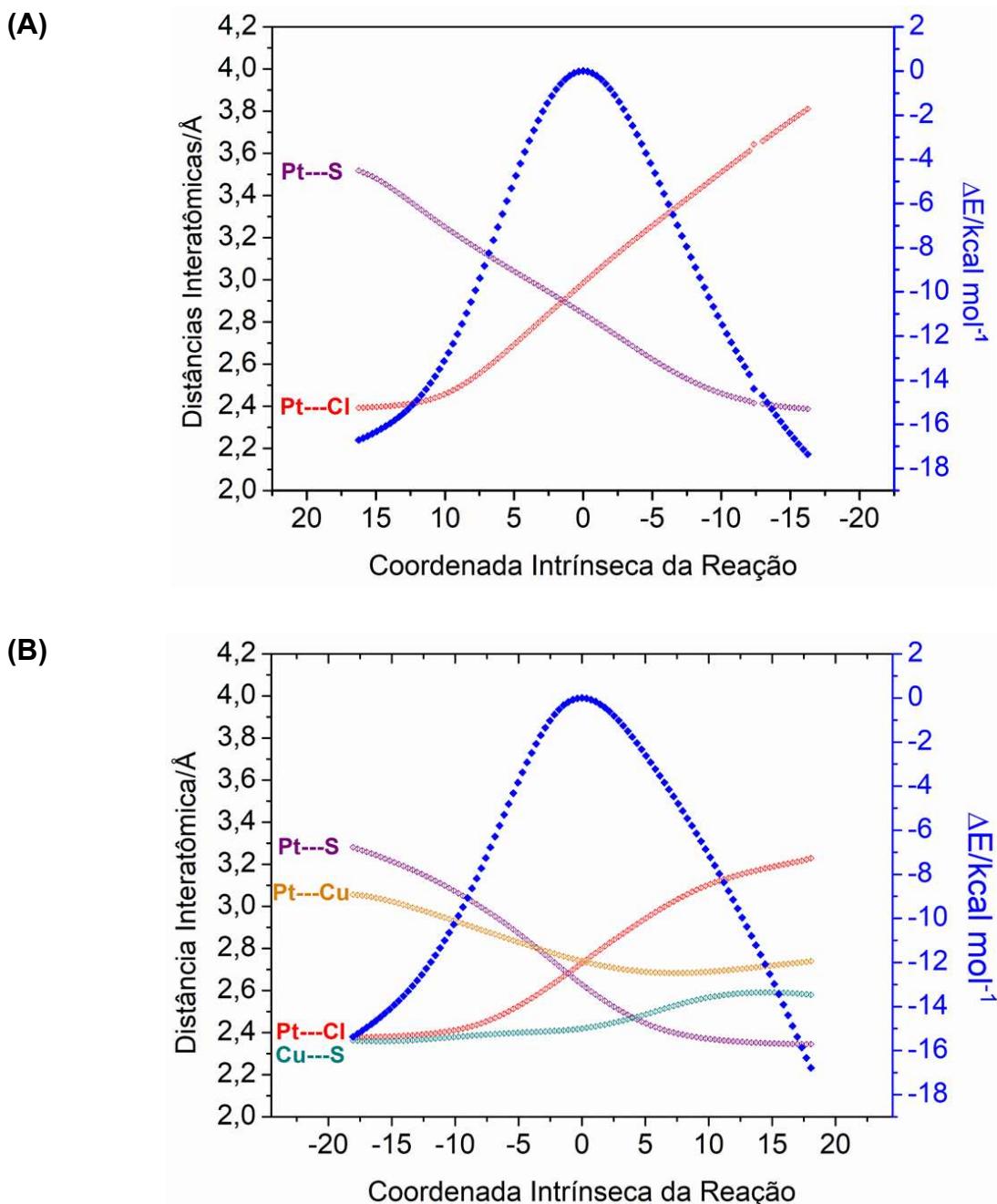
Visando melhor compreensão desta interação e seus possíveis impactos estruturais e de reação, a Figura 15 traz os resultados de cálculos NCI para  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  de modo a analisar a natureza desta interação Pt(II)…Cu(I).



**Figura 15: Resultados de cálculos NCI para ET1<sub>dicl</sub>Cu em diferentes perspectivas**

Na Figura 15 é possível identificar os pontos críticos de ligação (BCP), do tipo (3,-1), entre dois átomos representados por pequenas esferas em laranja. É possível verificar que as interações de van der Waals compõem a maior parte no espaço, tendo sua contribuição tendendo para interações atrativas do complexo de platina em relação ao sítio de reação em [CuCASC]<sup>-</sup> na devida geometria. As isosuperfícies de coloração azul em seu tom mais forte, embora associada às interações não covalentes mais fortes, é também encontrada em regiões entre os metais e seus ligantes, sendo observadas, por exemplo, entre as ligações inertes Pt(II)–NH<sub>3</sub>, refletindo na forma como as ligações de coordenação são representadas por NCI e QTAIM. Baseando-se nesta análise, pode-se dizer qualitativamente que a região entre Pt(II) e Cu(I) são de mesma natureza que às demais regiões citadas anteriormente, o que sugere, portanto, que há também interação fortemente atrativa entre os metais. Não se pode afirmar, no entanto, a existência de uma ligação metal-metal de fato (FARRUGIA; SENN, 2010), uma vez que o NCI não indica a existência de ligações químicas via BCPs, mas sim “caminhos de ligação” (BADER, 2009; BADER, 1990); por outro lado, este fator pode ser um indício importante da contribuição do cobre nestas reações de platinação de MnK6.

De modo a analisar os caminhos destas reações, a Figura 16 exibe os gráficos de IRC efetuados para  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$ .



**Figura 16: Gráficos de IRC via  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$  (A) e via  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  (B) e distâncias interatômicas (em Å)**

Em ambos os eventos, o alongamento da distância  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}_{\text{saída1}}$  e o encurtamento da distância  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys15}}/\text{S}^-_{\text{Cys15}}$  evidencia o esperado para a 1<sup>a</sup> etapa da reação. A distância  $\text{Cu(I)}\cdots\text{S}^-_{\text{Cys15}}$  aumenta pouco e se estabiliza ao longo da reação, o que indica o enfraquecimento da ligação. É interessante notar também que, em ambas as reações, a variação significativa da distância  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys15}}/\text{S}^-_{\text{Cys15}}$

ocorre antes da ligação  $\text{Pt(II)}-\text{Cl}_{\text{saída}1}$  iniciar sua quebra. Além disso, estes resultados mostram que  $\text{Pt(II)}$  encontra-se pentacoordenada apenas nas estruturas de complexo ativado, não constatando-se estruturas de mínimo local com o mesmo número de coordenação ao metal. Desta forma, assume-se que estes resultados apontam para trocas completas de ligantes em uma única etapa, sem formação de intermediário e, portanto, condizente com as definições de mecanismo de intertroca associativo ( $I_a$ ).

Com a otimização das estruturas correspondentes aos pontos extremos dos cálculos de IRC, foram obtidos os reagentes e produtos em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$  e  $\text{ET1}_{\text{diClCu}}$ . A Figura 17 exibe estas estruturas otimizadas.

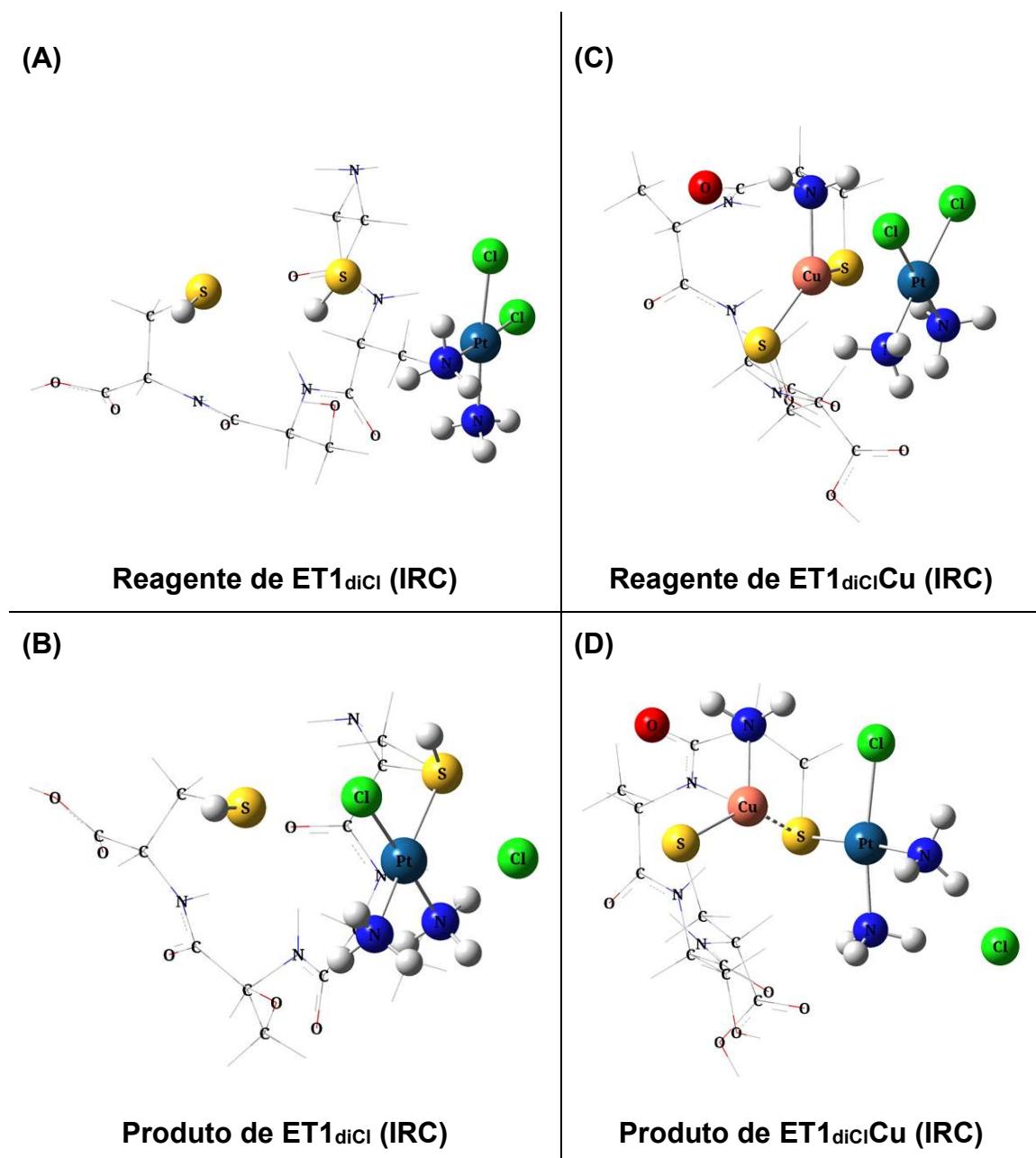
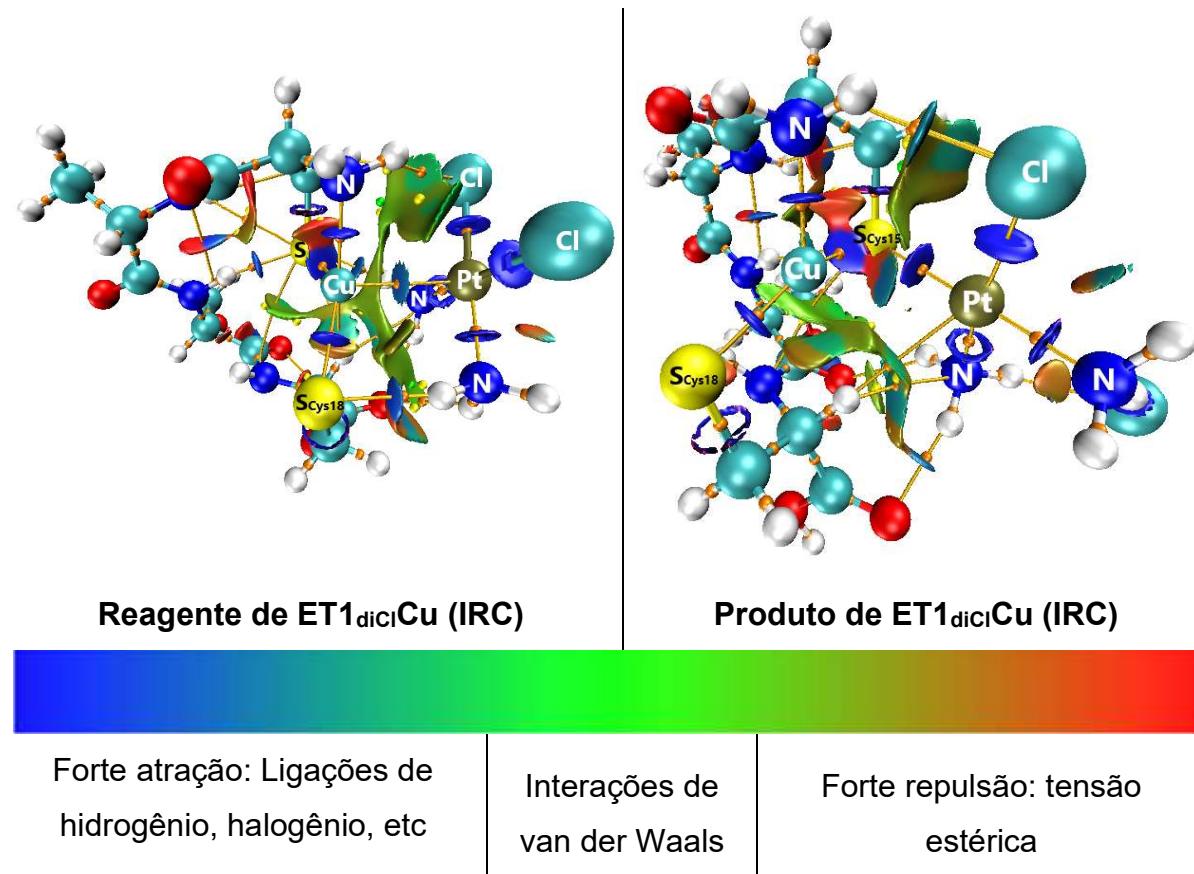


Figura 17: Estruturas otimizadas de reagentes e produtos de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$  (A e B) e  $\text{ET1}_{\text{diClCu}}$  (C e D)

Como esperado, os produtos de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET1}_{\text{diCl}}$  formam novamente a geometria quadrático plana em relação ao cátion Pt(II) central, agora com o novo ligante  $-\text{SH}_{\text{Cys15}}/-\text{S}^{\text{-}}_{\text{Cys15}}$ . O Cu(I) como cátion central mantém sua geometria trigonal plana em relação aos seus ligantes tanto nos reagentes quanto nos produtos.

Com estas novas estruturas, faz-se necessária a análise por NCI das mudanças ocorridas nas importantes interações não covalentes, assim como nas repulsivas. A Figura 18 exibe os resultados de cálculos NCI para as estruturas de reagentes e produtos de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$ .



**Figura 18: Resultados de cálculos NCI para reagentes e produtos de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$**

O ponto crítico de ligação (BCP) que surge entre os metais na estrutura de reagentes é, agora, inexistente nos produtos. As interações atrativas  $\text{Pt}(\text{II})\cdots\text{Cu}(\text{I})$  são enfraquecidas e a ligação  $\text{Cu}(\text{I})-\text{S}^{\text{-}}_{\text{Cys15}}$  é mantida. Além disso, tanto nas estruturas de estado de transição  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  (Figura 15) quanto nas de produtos da Figura 18 há uma pequena região de coloração vermelha localizada ao meio do grupo de átomos Pt(II), Cu(I) e  $\text{S}^{\text{-}}_{\text{Cys15}}$ . Isto indica que uma forte repulsão surge concomitantemente com as interações atrativas  $\text{Pt}(\text{II})\cdots\text{Cu}(\text{I})$  e  $\text{Cu}(\text{I})\cdots\text{S}^{\text{-}}_{\text{Cys15}}$  e que está relacionada à

manutenção da ligação Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> ao invés de sua quebra. Desta forma, –S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> atua como um ligante em ponte aos dois metais.

Nos reagentes, a interação atrativa metal-metal é mais forte que a encontrada para os produtos. Esta e outras observações em cálculos de NCI *index* podem ser analisadas em conjunto com os resultados estruturais exibidos na Tabela 1.

**Tabela 1: Comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) gerais para a 1<sup>a</sup> etapa completa em ET1<sub>dicl</sub>Cu e ET1<sub>dicl</sub>, ambos via IRC**

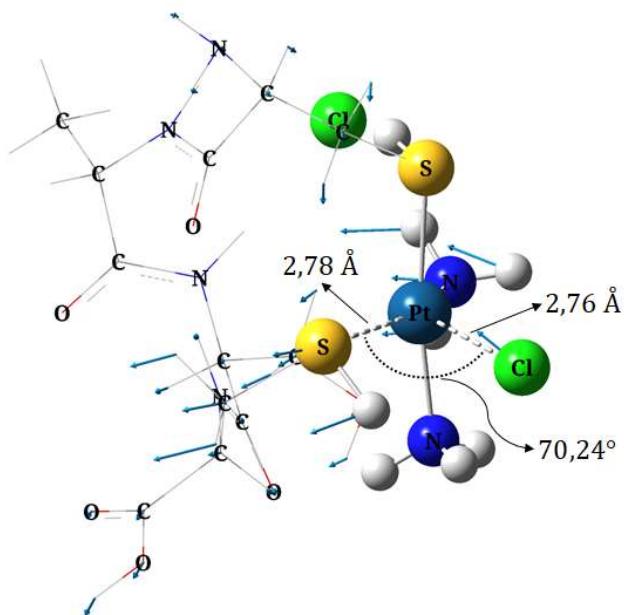
<b>Par atômico</b>	<b>ET1<sub>dicl</sub>Cu</b>			<b>ET1<sub>dicl</sub></b>		
	<b>Reagentes</b>	<b>ET</b>	<b>Produtos</b>	<b>Reagentes</b>	<b>ET</b>	<b>Produtos</b>
<b>Pt(II)…Cl<sup>–</sup><sub>saída1</sub></b>	2,37	2,73	3,99	2,37	2,99	4,32
<b>Pt(II)…SH<sub>Cys15</sub>/S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub></b>	3,84	2,63	2,37	4,14	2,84	2,36
<b>Pt(II)…Cu(I)</b>	2,80	2,74	2,92	-	-	-
<b>Cu(I)…S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub></b>	2,48	2,42	2,45	-	-	-
<b>Cu(I)…N<sub>Cys15</sub></b>	2,04	2,08	2,05	-	-	-

A distância Pt(II)…Cu(I) passa a ser maior na estrutura de produtos em comparação com os reagentes. Além disso, ligações Pt(II)–Cl<sup>–</sup><sub>saída1</sub> (em reagentes) e Pt(II)–SH<sub>Cys15</sub>/–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> (em produtos) para ambos os ET1 também demonstraram ter aproximadamente o mesmo comprimento, indicando que a presença ou não de Cu(I) no polipeptídio não afeta significativamente nestes comprimentos de ligação.

Percebe-se que a distância entre os metais tem sua menor dimensão na estrutura de ET. Além disso, as distâncias entre Pt(II) e seus ligantes de entrada e saída são maiores para a estrutura apoproteica, o que sugere uma necessidade ainda maior de enfraquecimento da ligação Pt(II)–Cl<sup>–</sup><sub>saída1</sub> (e, consequentemente, de mais energia) para que a reação possa ser efetivada. Com estas observações, levanta-se a hipótese de que as interações metal-metal possam ser de grande relevância na estabilização do complexo ativado em sítio holoproteico (se comparado ao sistema apoproteico) e aumentar a velocidade da reação.

Após a análise dos ET1 em reações de [CuCASC]<sup>+</sup> e CASC com cisplatina, prosseguiu-se com cálculos para ET2 baseando-se nas estruturas dos produtos obtidos por ET1 via IRC. No cenário holoproteico, ET2<sub>dicl</sub>Cu não foi encontrado, finalizando aqui este caso de estudo em fase gás. Por outro lado, ET2<sub>dicl</sub> foi obtido e,

assim como ET1<sub>diCl</sub>, também acompanhado de IRC. A Figura 19 ilustra estas estruturas com os modos vibracionais das frequências imaginárias em vetores azuis.

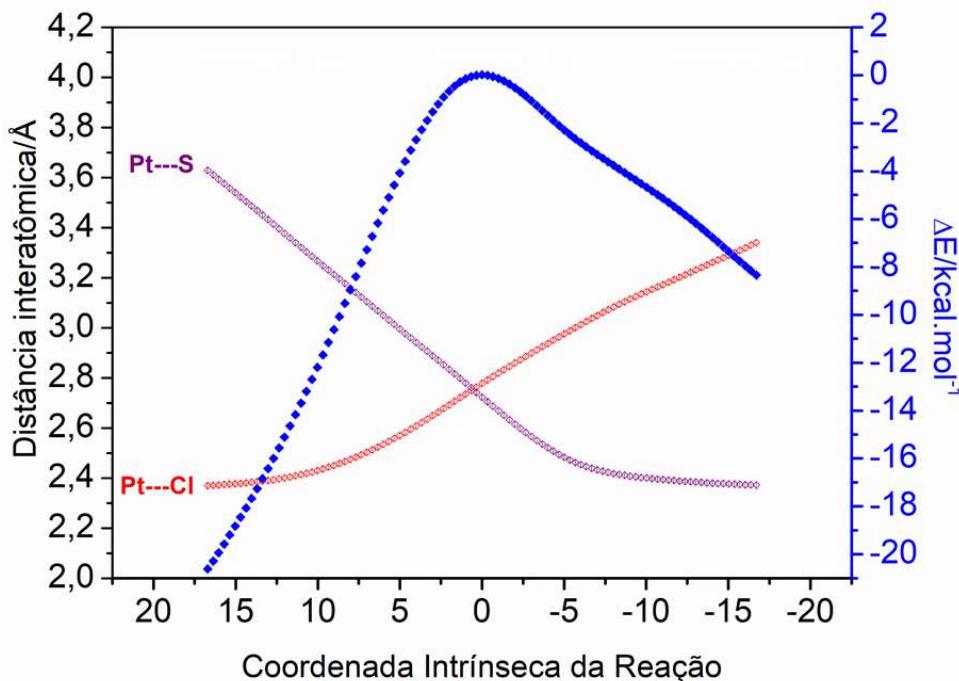


**ET2<sub>diCl</sub> ( $\nu = 121,08i\text{ cm}^{-1}$ )**

**Figura 19: Estrutura de ET2<sub>diCl</sub> com vetores do modo vibracional**

O modo vibracional correspondente à frequência imaginária, assim como em ET1<sub>diCl</sub>, demonstra ser predominantemente do tipo estiramento assimétrico entre Pt(II) e os ligantes de entrada e saída. A geometria bipirâmide trigonal do complexo não apresenta tamanha distorção entre os planos dos ligantes axiais e equatoriais como a encontrada em ET1<sub>diCl</sub>. O ângulo  $\angle\text{SH}_{\text{Cys}18}\cdots\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^-\text{saída}2$  de 70,24° é próximo ao seu análogo em ET1<sub>diCl</sub>; por outro lado, as distâncias interatômicas  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys}18}$  e  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^-\text{saída}2$  são menores que as distâncias  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys}15}$  e  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^-\text{saída}1$  encontradas na primeira substituição de ligantes.

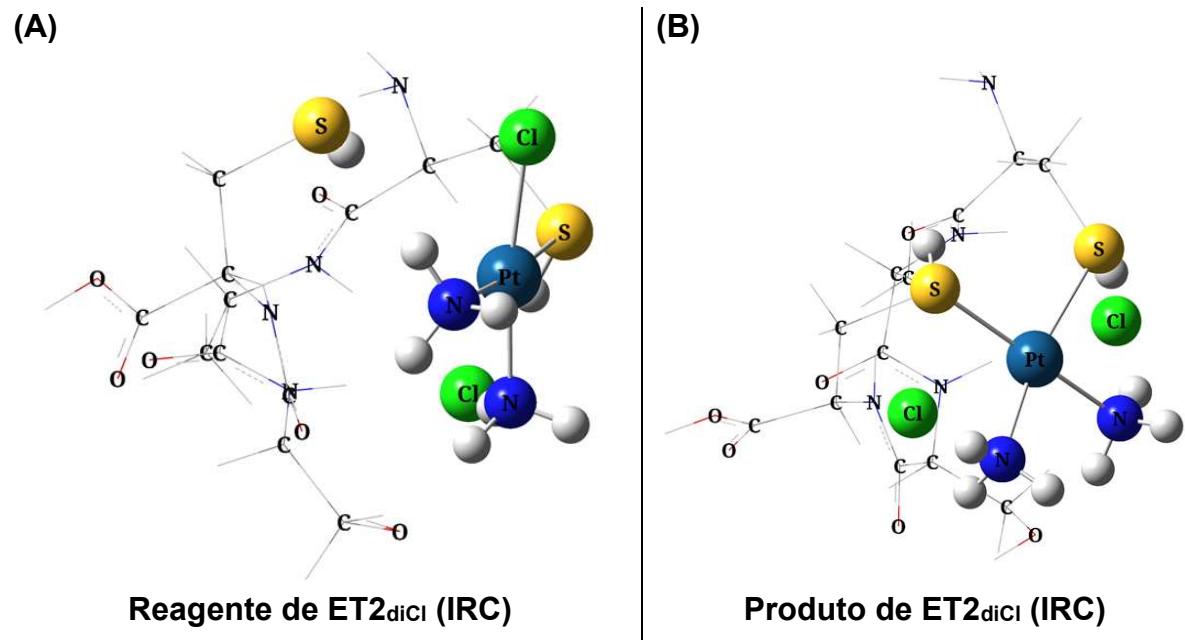
O comportamento do caminho de reação para se somar à discussão pode ser visualizado pelos resultados dos cálculos de IRC sobre ET2<sub>diCl</sub>, exibidos na Figura 20.



**Figura 20: Gráfico de IRC via ET2<sub>dici</sub> e distâncias interatômicas (em Å)**

A curva de energia relativa aos passos da reação mostra que há uma clara tendência de  $\Delta G$  maior que 0, isto é, uma reação não espontânea. Isto indica que, na ausência de Cu(I), o ânion cloreto seria mais favorecido na coordenação à Pt(II) que o grupo tiol. Além disso, percebe-se novamente a variação acentuada da distância Pt(II)…SH<sub>Cys18</sub> antes que a variação de Pt(II)…Cl<sup>-</sup><sub>saída2</sub> passe a ser significativa. Isto é somado à não formação de intermediário (isto é, a reação de substituição de ligantes se completa em uma única etapa) e, portanto, também apresentando características de mecanismo de intertroca associativo ( $I_a$ ).

Com a conclusão dos cálculos de IRC, obtém-se as estruturas de reagentes e produtos otimizados que podem ser visualizadas pela Figura 21.



**Figura 21: Estruturas otimizadas de reagentes (A) e produtos (B) via ET2<sub>diCl</sub>**

A geometria quadrático-plana é evidente em ambas as estruturas de reagente e produto da reação. Comparando-se o reagente desta etapa com o produto da etapa anterior, as diferenças estruturais mais significativas estão nas rotações de grupos saturados nos aminoácidos Ala<sub>16</sub> e Ser<sub>17</sub> e as posições dos ânions cloreto com os hidrogênios dos grupos tiol em interação íon-dipolo, sendo mais presentes no reagente da 2<sup>a</sup> etapa. Já no produto de ET2<sub>diCl</sub>, a ligação Pt(II)–SH<sub>Cys18</sub> é completa, o que marca o desfecho do ciclo de reações. Os dados estruturais de distâncias interatômicas e comprimentos de ligação ao longo da 2<sup>a</sup> etapa está disponível na Tabela 2.

**Tabela 2: Comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (Å) gerais para a 2<sup>a</sup> etapa completa em ET2<sub>diCl</sub> via IRC**

ET2 <sub>diCl</sub>			
Par atômico (Å)	Reagentes	ET	Produtos
Pt(II)…Cl <sup>-</sup> <sub>saída2</sub>	2,37	2,78	4,00
Pt(II)…SH <sub>Cys18</sub>	4,06	2,72	2,40

Os comprimentos das ligações Pt(II)–Cl<sup>-</sup><sub>saída2</sub> no reagente e Pt(II)–SH<sub>Cys18</sub> no produto são próximos aos observados para as ligações análogas discutidas em ET1<sub>diCl</sub>.

As estruturas otimizadas para máximo local (ET) e para mínimo local (reagentes e produtos) fornecem dados termodinâmicos essenciais para a construção dos gráficos a seguir e tornam possíveis as conceituações de favorecimento ou desfavorecimento cinético de cada etapa de troca de ligantes. A Figura 22 inicia estas análises para a reação entre *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e [CuCASC]<sup>–</sup>.

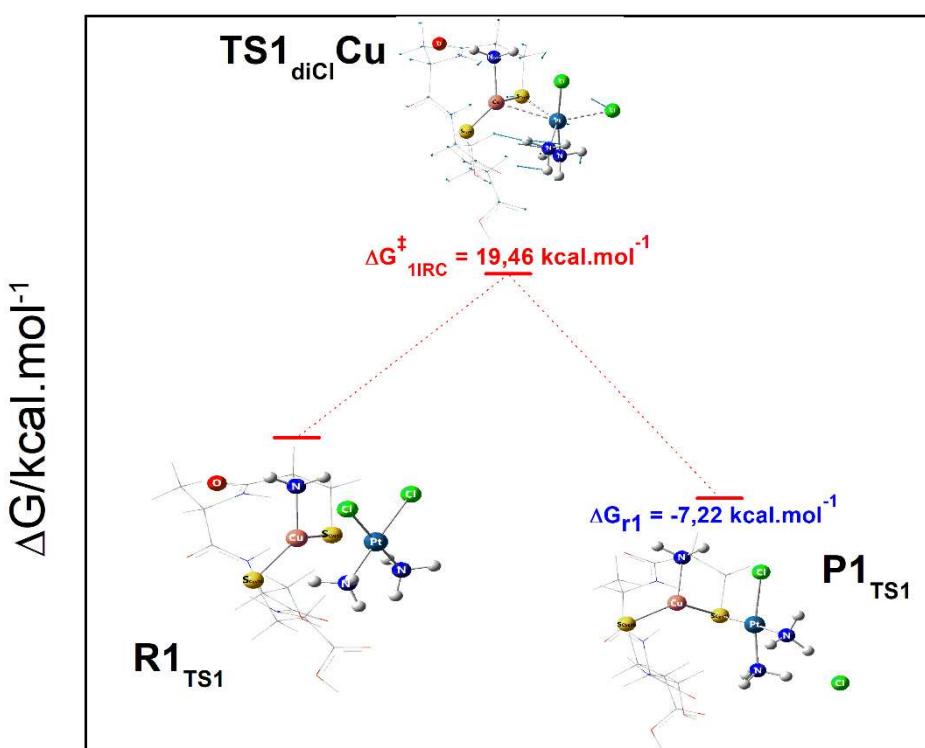


Figura 22: Diagrama de coordenada de reação entre [CuCASC]<sup>–</sup> e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>

A reação apresenta uma barreira de energia considerável e que pode estar principalmente associado à dificuldade que ligantes  $\text{Cl}^-$  têm de abandonar o complexo por sua forte ligação de coordenação ao centro Pt(II). A reação demonstra também espontaneidade, o que pode ter relação com o novo ligante tiolato que, além de sua carga parcial, é também uma base de Lewis mais macia e polarizável, podendo então se tornar um ligante mais forte que  $\text{Cl}^-$  e liberar energia. Mas esta análise pode ser mais rica se comparada com as reações de CASC sem Cu(I). A Figura 23 exibe o esquema completo de coordenada destas reações.

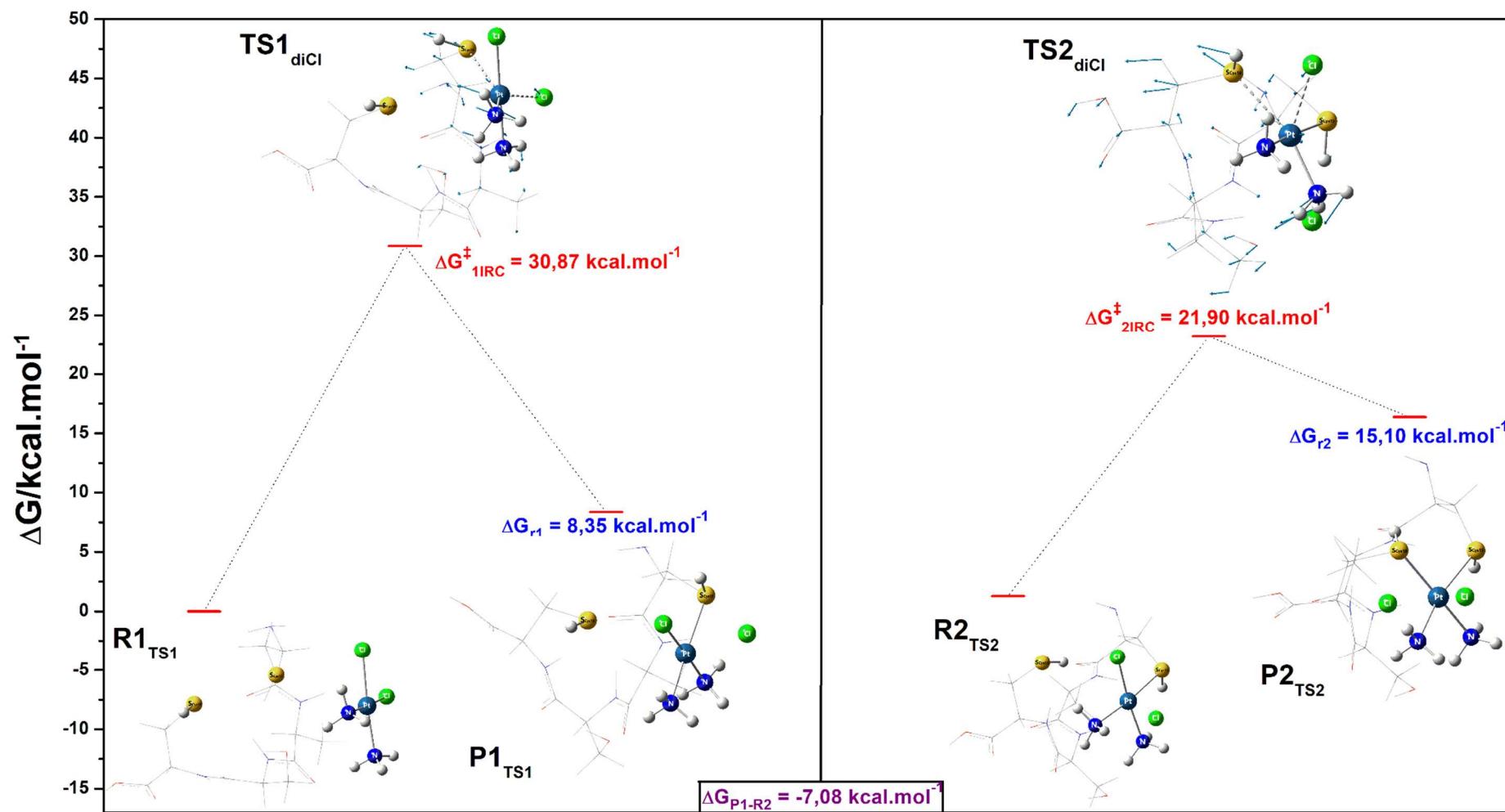


Figura 23: Diagrama de coordenada de reações entre CASC e *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]

É interessante notar que as propriedades cinéticas e termodinâmicas da substituição de ligantes à Pt(II) pode ser significativamente alterada dependendo se Cu(I) se faz presente ou não na estrutura. Em  $ET1_{\text{diCl}}$ ,  $\Delta G^\ddagger$  é quase 60% maior que a observada em  $ET1_{\text{diCl}}\text{Cu}$ , e  $\Delta G_{r1}$  passa a ser positivo, indicando, portanto, de se tratar de uma reação não espontânea. Estes resultados, em consonância com as interações fortemente atrativas metal-metal discutidas anteriormente, sugerem que a presença de Cu(I) em MnK6 possa causar grande impacto na reação não somente induzindo o aumento da velocidade da reação, como também no favorecimento de formação de produtos em um equilíbrio químico.

No sistema apoproteico, os resultados discutidos anteriormente mostraram que as distâncias  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^{\text{saída}2}$  e  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys}18}$  são menores que  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^{\text{saída}1}$  e  $\text{Pt(II)}\cdots\text{SH}_{\text{Cys}15}$ . Isto levanta-se a hipótese de que a troca de ligantes ocorrida em  $ET1_{\text{diCl}}$  teria influenciado em  $ET2_{\text{diCl}}$ : o enxofre do grupo tiol, mais macio e polarizável, seria um melhor doador de densidade eletrônica para Pt(II) do que o ânion cloreto. Isto resultaria na necessidade de menores distâncias  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^{\text{saída}2}$  para atingir a estrutura de complexo ativado  $ET2_{\text{diCl}}$  na segunda substituição de ligantes e, portanto, menor energia de ativação necessária para que a reação ocorra.

O parâmetro  $\Delta G_{P1-R2}$  reflete a diferença de energia entre as estruturas de produtos da 1<sup>a</sup> etapa e reagentes da 2<sup>a</sup> etapa. De fato, as estruturas se localizam em mínimos locais distintos na PES e mostram como as diferentes conformações podem afetar no percurso de reações subsequentes. No entanto, é importante lembrar que estas mudanças conformacionais também poderiam estar associadas à outras barreiras de energia e que tal estudo não é o foco deste trabalho.

Uma discussão termodinâmica mais detalhada pode ser feita com os resultados de variações de entalpia e entropia das reações, apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 3: variações de entalpia e de entropia\*temperatura das reações de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] com o polipeptídio apoproteico e holoproteico, em kcal mol<sup>-1</sup>**

	1 <sup>a</sup> etapa		2 <sup>a</sup> etapa	
	<b>ΔH</b>	<b>TΔS</b>	<b>ΔH</b>	<b>TΔS</b>
<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] + [CuCASC] <sup>-</sup>	-6,19	1,03	-	-
<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ] + CASC	7,52	-0,83	14,04	-1,06

Verifica-se a indicação de espontaneidade da reação em  $[\text{CuCASC}]^-$ , enquanto em CASC nenhuma das etapas demonstra o mesmo. Nos sistemas holoproteicos, ambos os reagentes e produtos apresentam os 4 aminoácidos e o metal coordenado formando uma estrutura fechada. Isto implica, de modo geral, na restrição dos graus de liberdade rotacionais e translacionais, podendo ser considerados praticamente os mesmos. Entretanto, a estrutura de produto exibe menor quantidade de pontos de interações não covalentes entre ligantes da platina e sítios polares dos aminoácidos, e o enfraquecimento da interação atrativa metal-metal. Isto deve conferir menor restrição de movimentos ao complexo e, portanto, estar relacionado com o aumento da entropia do sistema.

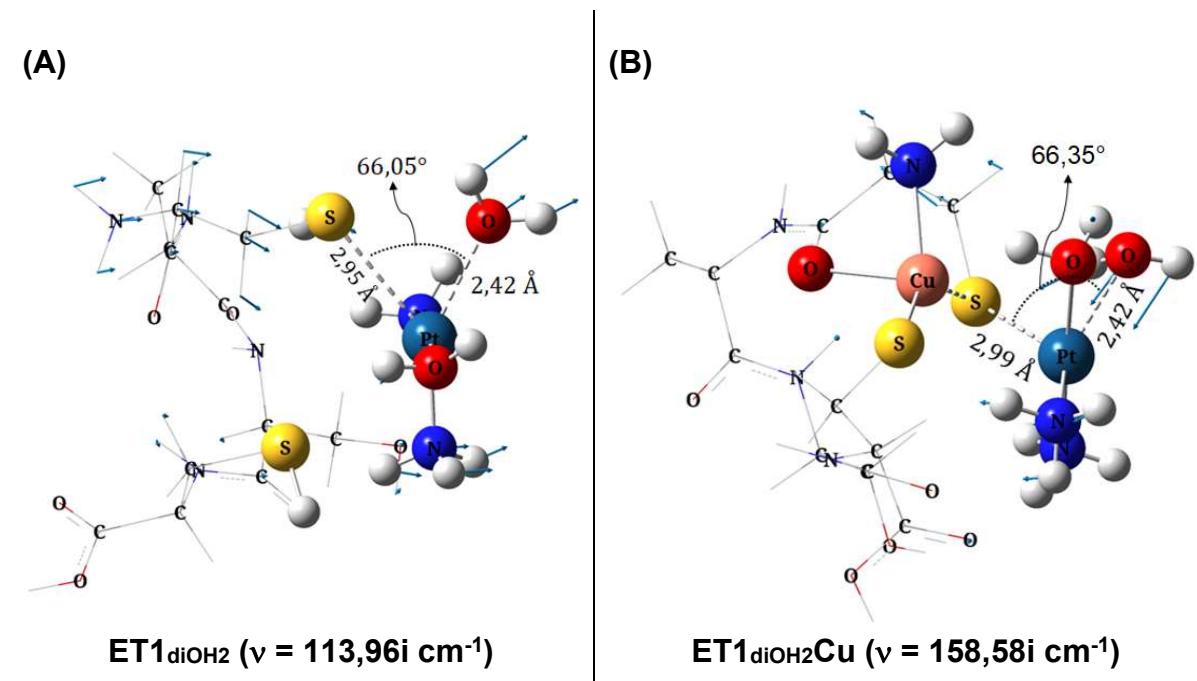
Por outro lado, percebe-se o oposto no sítio apoproteico. A importante interação metal-metal no reagente  $[\text{CuCASC}]^-$  é inexistente no reagente CASC e, desta forma, há uma área menor de rede de interações não covalentes entre o fragmento proteico e o complexo de Pt(II). Com a formação do produto  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})(\text{CASC})]^+$ , acredita-se que os movimentos de rotação e translação do novo complexo seja mais restrito que os reagentes mais livres, contribuindo para a diminuição da entropia do sistema. Tais restrições de movimento são ainda mais intensificadas quando a 2<sup>a</sup> etapa resulta em uma estrutura fechada, resultando em diminuição da entropia ainda maior.

Outra questão importante é a forma como os enxofres se encontram na estrutura. Em CASC, os átomos de enxofres apresentam-se em grupos tióis, enquanto em  $[\text{CuCASC}]^-$  estão em forma de tiolatos. Desta forma, a maior concentração de cargas nos átomos de enxofre de grupo tiolato da holoproteína justificaria sua maior reatividade ao complexo de Pt(II) que o enxofre de tiol de apoproteína. Neste sentido, é provável que a forma como o novo ligante de entrada se dispõe também cause considerável impacto tanto em  $\Delta G^\ddagger$  quanto em  $\Delta H_r$ .

### 5.1.2 2º caso: reagente diaquo *cis*– $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$

No caso dos complexos de Pt(II) com ligantes  $-\text{OH}_2$ ,  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  foi possível ser estudado via IRC, enquanto  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}$  apenas via “percepção química”. Novamente, a geometria característica de ET encontrada para ambas as estruturas é de bipirâmide trigonal, tendo  $-\text{OH}_{2\text{-saída}1}$  na posição equatorial como o primeiro grupo de saída e mantendo  $-\text{OH}_{2\text{-saída}2}$  na posição axial como ligante inerte na 1<sup>a</sup> etapa da reação. As propriedades geométricas destes complexos ativados podem ser

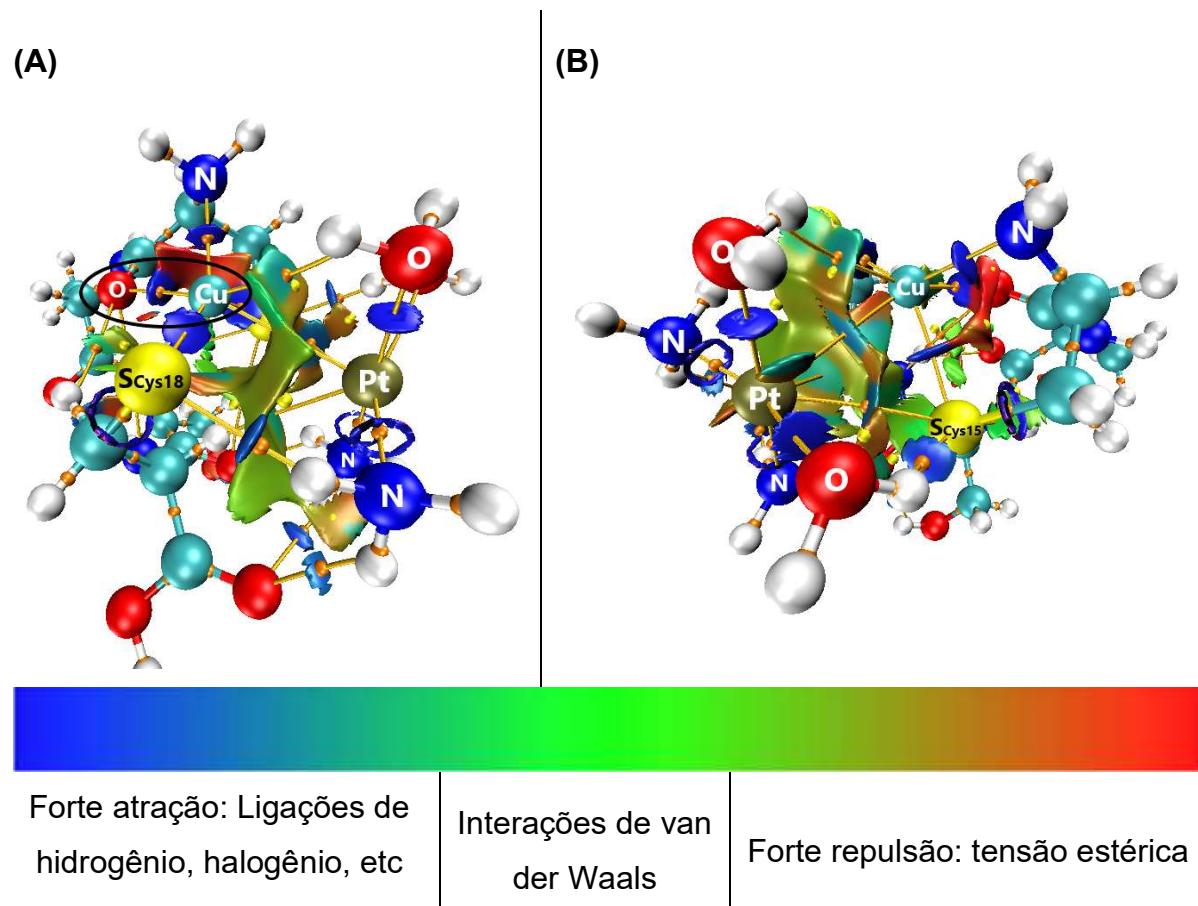
visualizadas pela Figura 24, onde se encontram também os vetores associados aos seus modos vibracionais.



**Figura 24: Estruturas de ET1<sub>dioH2</sub> (A) e de ET1<sub>dioH2Cu</sub> (B) com vetores dos modos vibracionais**

Neste caso ocorre também o mesmo tipo de distorção geométrica que a observada na 1<sup>a</sup> etapa do 1º caso (ET1<sub>dioCl</sub>Cu e ET1<sub>dioCl</sub>). Agora, no entanto, a estrutura apoproteica é a que apresenta o plano dos grupos equatoriais mais próximo da perpendicularidade ao eixo axial, ao passo que a maior distorção (ou seja, mais distante da perpendicularidade) é encontrada para a estrutura holoproteica. Os ângulos  $\angle S\text{-Cys15-Pt(II)-O}_{\text{saída}2}$  e  $\angle O_{\text{saída}1\text{-Pt(II)}}\text{-O}_{\text{saída}2}$  para ET1<sub>dioH2Cu</sub> são de 104,6° e 74,1°, respectivamente; enquanto que para ET1<sub>dioH2</sub>, os ângulos são de 91,5° e 100,3°.

Em ambas estruturas, predomina-se o modo vibracional característico de estiramento assimétrico entre  $-S\text{-Cys15-SH}_{\text{Cys15}}$  e  $-OH_{2\text{-saída}1}$  tendo Pt(II) como centro. Em contraste com o 1º caso com cisplatina, observa-se aqui que o átomo de oxigênio da carbonila em Cys15 ( $O_{\text{Cys15}}$ ) apresenta-se como um quarto grupo que estabiliza Cu(I), cuja natureza da interação (covalente ou não covalente) é desconhecida. Os resultados de cálculos NCI para ET1<sub>dioH2Cu</sub> mostram esta evidência pela Figura 25.



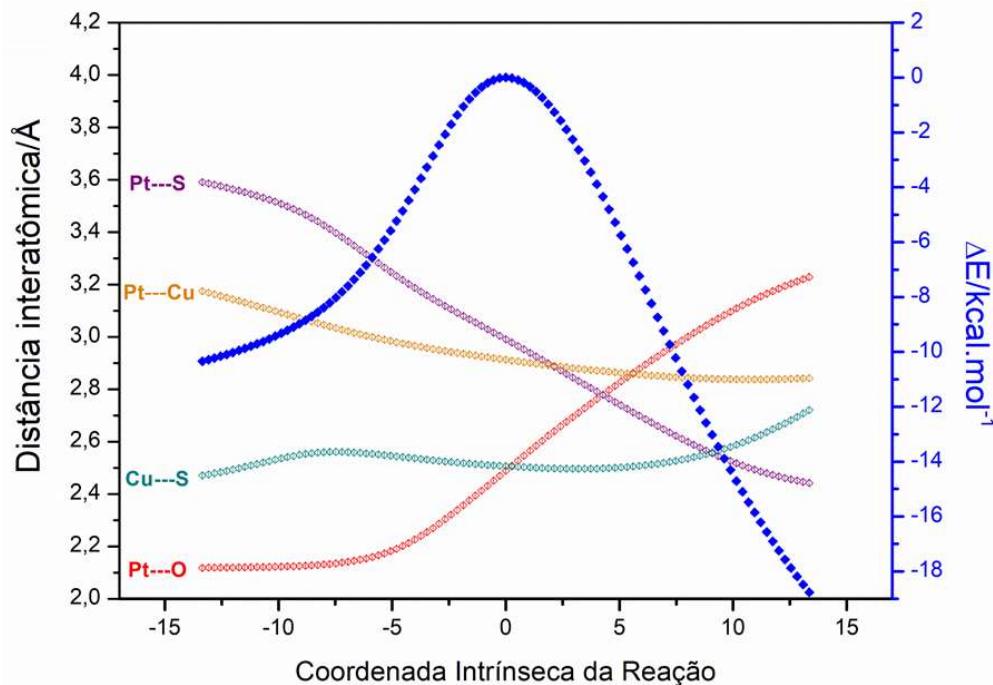
**Figura 25: Resultados de cálculos NCI para  $\text{ET1}_{\text{dioH}_2}\text{Cu}$  em diferentes perspectivas, com destaque para possível ligação  $\text{Cu}(\text{I})-\text{O}_{\text{Cys}15}$  (em A)**

A coloração azul intensa entre  $\text{Cu}(\text{I})$  e  $\text{O}_{\text{Cys}15}$  e o surgimento de um BCP evidenciam a forte interação atrativa entre os átomos. Além disso, nota-se que a região da isosuperfície localizada entre  $\text{Cu}(\text{I})$  e  $\text{Pt}(\text{II})$  possui coloração azul-esverdeada e um BCP, indicando a existência de interações de van der Waals, mais fracas que as observadas em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$ . De fato, a distância interatômica  $\text{Cu}(\text{I})\cdots\text{Pt}(\text{II})$  é quase 0,2 Å maior que no 1º caso.

Outro fator de grande relevância consiste nas interações não covalentes de modo geral: há maior recorrência de regiões com interações mais efetivas (isto é, em tons de azul mais escuros) entre alguns grupos de  $[\text{CuCASC}]^-$  e os ligantes de *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ , se comparado ao  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$ . Isto pode ser um indício de que, dadas as condições estruturais exibidas aqui, os ligantes  $-\text{OH}_2$  podem também ter um papel importante quanto à estabilização da estrutura de ET, sendo mais efetivos que ligantes  $-\text{Cl}^-$  por permitir interações não covalentes mais fortes e em maior número.

O caminho da reação em  $\text{ET1}_{\text{dioH}_2}\text{Cu}$  pode ser analisado pelo gráfico de IRC gerado com base na estrutura de ET, como exposto pela Figura 26. As variações das

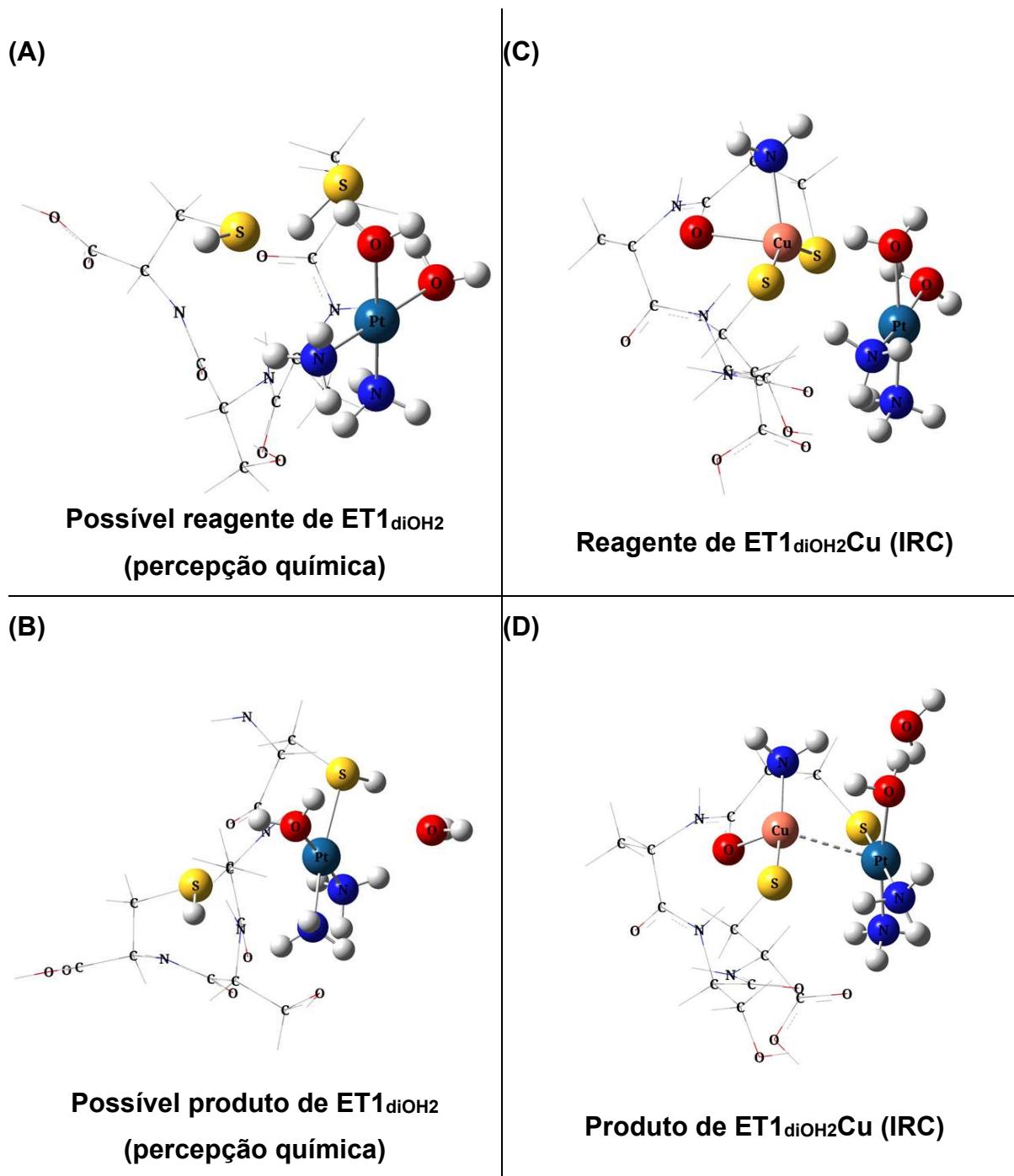
distâncias entre os principais átomos do sítio ativo e de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> também encontram-se no mesmo gráfico para observação do comportamento da reação.



**Figura 26: Gráfico de IRC via ET1<sub>dioH2</sub>Cu e de distâncias interatômicas (em Å)**

Da mesma forma como descrita para o caso de ET1<sub>dicl</sub>Cu, há o encurtamento pronunciado de Pt(II)···S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> que caracteriza a formação da nova ligação e o alongamento de Pt(II)···OH<sub>2-saída1</sub> caracterizando a quebra da ligação. Novamente, a troca de ligantes ocorre por completo, e a variação de Pt(II)···S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> se torna grande antes que Pt(II)···OH<sub>2-saída1</sub> passe a variar consideravelmente, o que nos indica o mecanismo desta reação também possa ser do tipo intertroca associativa (*I<sub>a</sub>*).

O encurtamento de Pt(II)···Cu(I) também é evidenciado em ET1<sub>dioH2</sub>Cu; no entanto, estas distâncias ao longo do IRC são maiores que as encontradas para ET1<sub>dicl</sub>Cu. Além disso, a curva representando o aumento da distância Cu(I)···S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> apresenta uma variação crescente ao final do IRC para formação de produtos, fato que não ocorre em ET1<sub>dicl</sub>Cu e que aponta para tendência de quebra desta ligação. Esta e outras propriedades estruturais podem ser mais bem visualizadas com a Figura 27.



**Figura 27: Estruturas otimizadas de reagentes e produtos de  $ET1_{dioH2}$  (A e B) via percepção química e de  $ET1_{dioH2}Cu$  (C e D) via IRC**

Em relação ao centro Pt(II), as geometrias quadrático planas são formadas nos reagentes e produtos tanto no sistema apoproteico quanto holoproteico. Em relação a Cu(I), no entanto, não é possível afirmar a geometria do complexo em relação à este centro devido à falta de confirmação da natureza da interação Cu(I)…O<sub>Cys15</sub>. No entanto, os resultados mostram que Cu(I) é fortemente estabilizado por 4 grupos em ambas as estruturas otimizadas de reagente e produto.

Os resultados encontrados de algumas mudanças estruturais mais relevantes neste estudo podem ser visualizados pela Tabela 4.

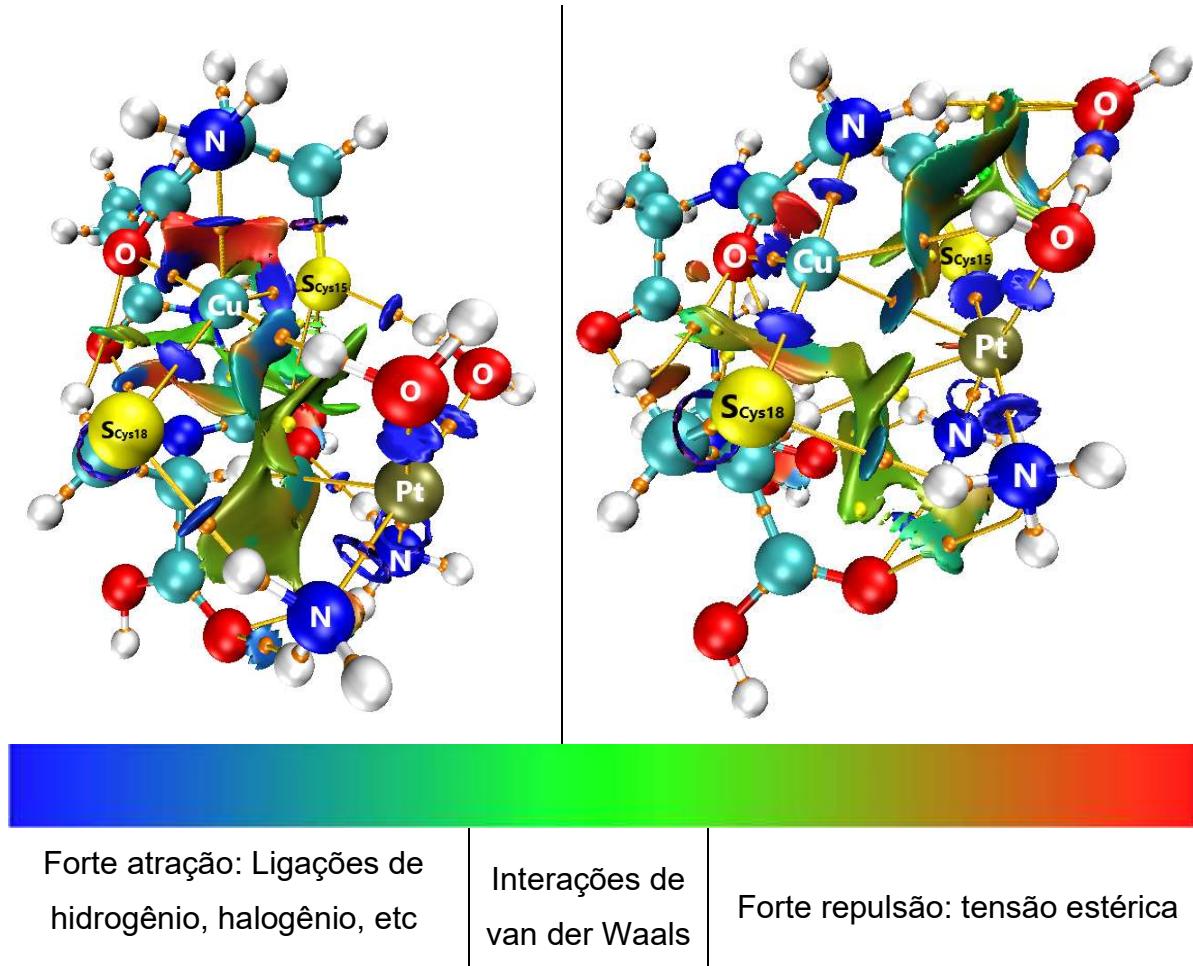
**Tabela 4: comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) gerais para a 1<sup>a</sup> etapa completa em ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu via IRC e ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub> via “percepção química”**

Par atômico (Å)	ET1 <sub>diOH<sub>2</sub></sub> Cu			ET1 <sub>diOH<sub>2</sub></sub>		
	Reagentes	ET	Produtos	Reagentes	ET	Produtos
Pt(II)…OH <sub>2</sub> -saída1	2,12	2,49	3,58	2,13	2,42	3,87
Pt(II)…S <sup>-</sup> <sub>Cys15</sub> /SH <sub>Cys15</sub>	3,74	2,99	2,38	3,65	2,95	2,37
Pt(II)…Cu(I)	3,51	2,91	2,84	-	-	-
Cu(I)…S <sup>-</sup> <sub>Cys15</sub>	2,38	2,51	3,74	-	-	-
Cu(I)…N <sub>Cys15</sub>	2,16	2,13	2,02	-	-	-
Cu(I)…O <sub>Cys15</sub>	2,28	2,26	2,16	-	-	-

No sentido da tendência da curva representando a distância de Cu(I)…S<sup>-</sup><sub>Cys15</sub> da Figura 26, os resultados mostram que esta ligação é de fato quebrada na primeira etapa da reação, sendo outra grande diferença em relação ao ET1<sub>diCl</sub>Cu. Ao mesmo tempo, as distâncias Cu(I)…N<sub>Cys15</sub> e Cu(I)…O<sub>Cys15</sub> são encurtadas.

Outra observação interessante é que as distâncias entre Pt(II) e seus ligantes de entrada nos estados de transição apoproteico e holoproteico são semelhantes, cujas diferenças se restringem a segunda casa decimal. Esta observação também é verdadeira quanto às distâncias entre Pt(II) e seus ligantes de saída. Em contraste com o 1º caso com ligantes de saída –Cl<sup>-</sup>, uma diferença mínima de 0,2 Å foi encontrada entre as distâncias Pt(II)…SH<sub>Cys15</sub> e Pt(II)…S<sup>-</sup><sub>Cys15</sub>, assim como em distâncias Pt(II)…Cl<sup>-</sup> entre sistema apoproteico e holoproteico. Isto pode ser um indicativo de que a propriedade que o ligante –OH<sub>2</sub> tem de ser bom grupo abandonador à Pt(II) seja mais relevante que as demais variáveis que impactam nas estruturas eletrônicas dos sistemas.

Os cálculos NCI também foram efetuados para averiguar esta interação metal-metal nos produtos de ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu e se somar à discussão acima, sendo apresentado na Figura 28.



**Figura 28: Resultados de cálculos NCI para reagentes e produtos de ET1<sub>dioH2</sub>Cu**

Nota-se que a interação metal-metal é mais fraca nos reagentes e torna-se mais forte nos produtos, isto é, o oposto do observado para ET1<sub>dioCl</sub>Cu. Percebe-se também a ausência de interações atrativas entre Cu(I) e  $-S^-_{Cys15}$ , reforçando a constatação de quebra da ligação entre estes átomos no decorrer da 1<sup>a</sup> etapa.

Com a finalização da análise estrutural das 1<sup>as</sup> etapas, inicia-se agora a análise das etapas subsequentes. As 2<sup>as</sup> etapas das reações, contrariamente às 1<sup>as</sup> etapas, se caracterizam por formações de reagentes e produtos “via IRC” em ET2<sub>dioH2</sub>, ao passo que em ET2<sub>dioH2</sub>Cu não foi possível a execução de cálculo de caminho da reação por IRC. Nestes casos, portanto, os resultados de possíveis reagentes e produtos foram obtidos por via “percepção química”.

A Figura 29 exibe tais estruturas com seus vetores de modos vibracionais correspondentes.

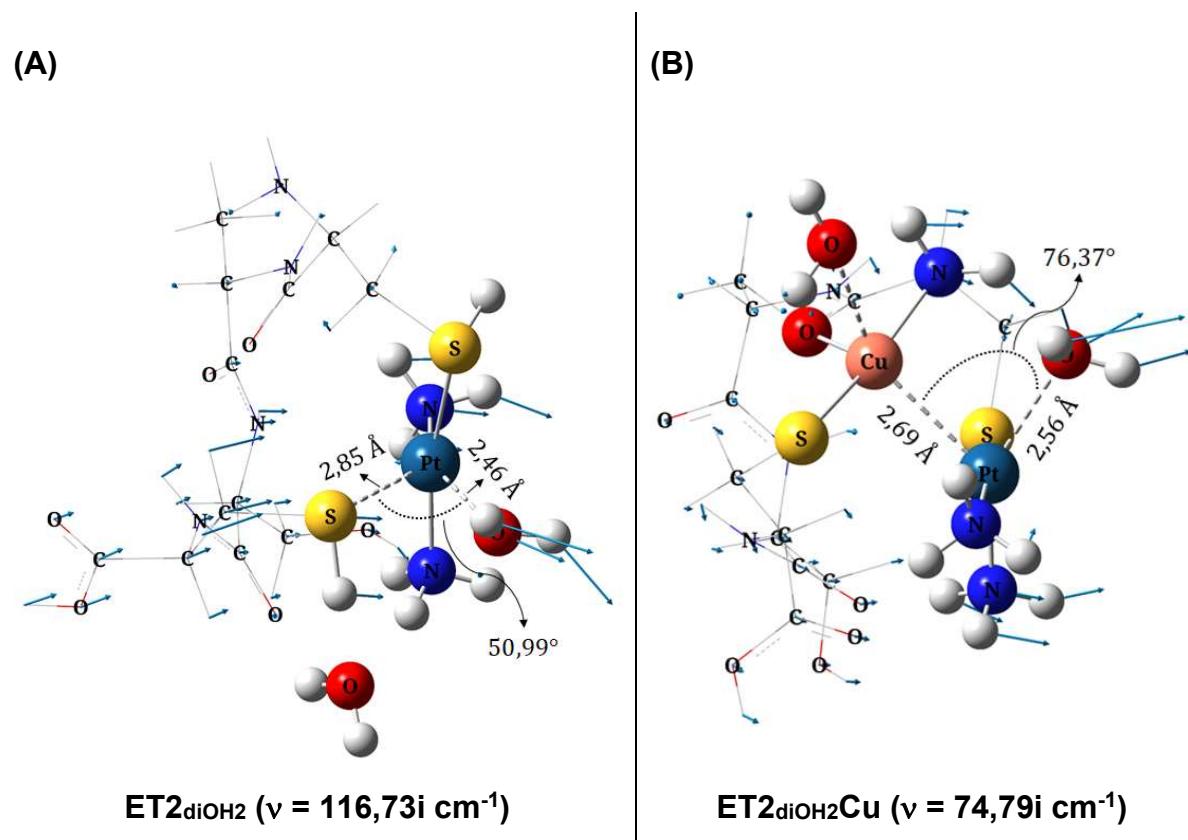


Figura 29: Estruturas de ET<sub>2</sub><sub>dioH2</sub> (A) e de ET<sub>2</sub><sub>dioH2Cu</sub> (B) com vetores dos modos vibracionais

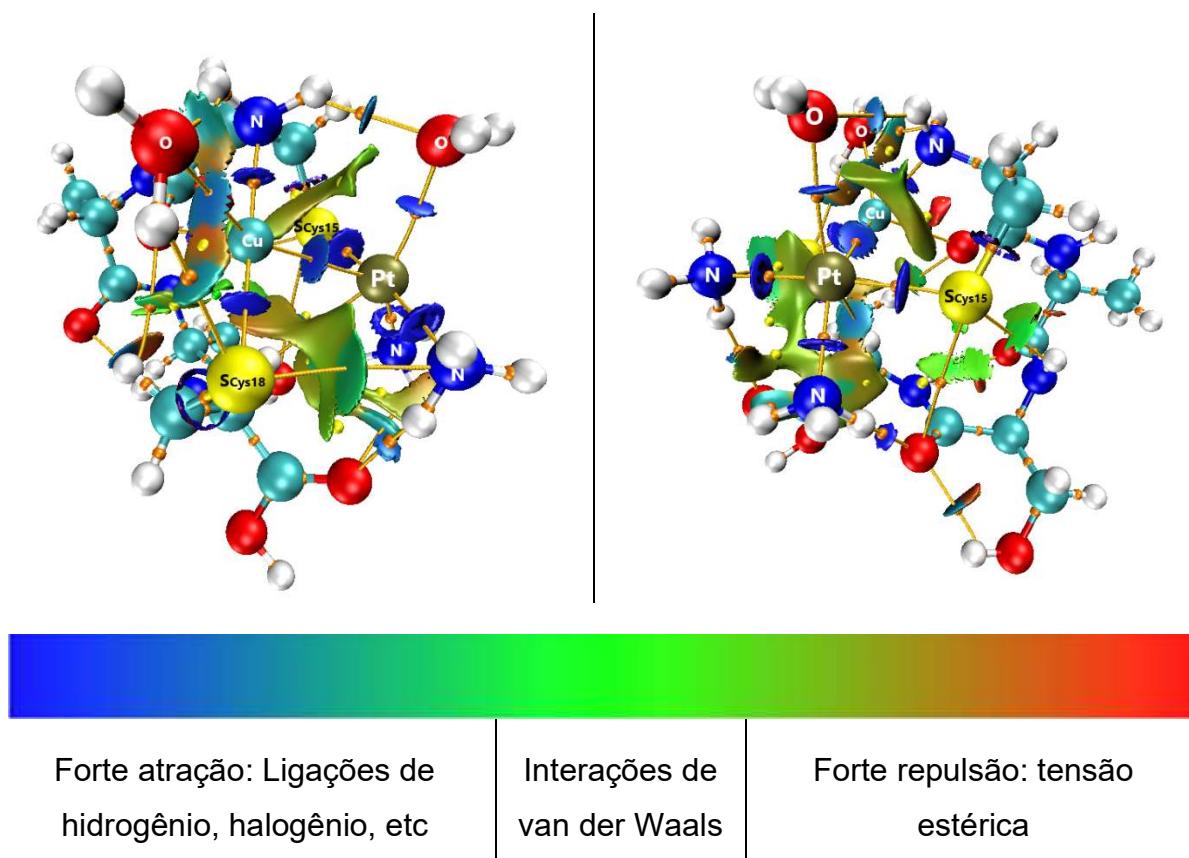
Aqui, destaca-se a estrutura de ET<sub>2</sub><sub>dioH2Cu</sub> que é considerada uma etapa adicional antes da ligação Pt(II)–S<sub>Cys18</sub> ser formada. O segundo ligante –OH<sub>2</sub> abandona o complexo e dá lugar ao fortalecimento ainda maior das interações metal-metal, o que levanta-se a hipótese de uma possível formação de ligação metal-metal. Em ET<sub>2</sub><sub>dioH2</sub>, por outro lado, indica a formação de Pt(II)–S<sub>Cys18</sub>, finalizando a reação proposta neste trabalho com a formação de um quelato bidentado e já discutido sobre sua possível formação (CALANDRINI; ARNESANO; GALLIANI; NGUYEN *et al.*, 2014).

Outra questão estrutural importante a ser mencionada é que a translocação manual da molécula de água (que foi expelida do complexo de Pt(II) na 1<sup>a</sup> etapa, OH<sub>2</sub>-saída1) para a esfera de coordenação de Cu(I) foi fundamental na obtenção de ET<sub>2</sub><sub>dioH2Cu</sub>. Este resultado aponta para mudanças importantes na estrutura eletrônica do complexo ao longo da reação, uma vez que um grupo adicional seria necessário para a estabilização de Cu(I) na mesma etapa onde a distância metal-metal é ainda menor. Desta forma, Cu(I) passa a interagir fortemente com 5 grupos; no entanto, ainda carece de estudos mais detalhados de estrutura eletrônica para se afirmar uma

pentacoordenação. A partir daqui a molécula de água adicionada será denominada como OH<sub>2</sub>-adic.

O ângulo  $\angle \text{Cu(I)}-\text{Pt(II)}-\text{OH}_{2-\text{saída}2}$  encontrado para ET2<sub>diOH2</sub>Cu é 25,38° maior que  $\angle \text{SH}_{\text{Cys}18}-\text{Pt(II)}-\text{OH}_{2-\text{saída}2}$  em ET2<sub>diOH2</sub>. Os modos vibracionais associados às frequências imaginárias em ambos os casos correspondem ao estiramento assimétrico entre os grupos Cu(I)…Pt(II)…OH<sub>2-saída2</sub> (em ET2<sub>diOH2</sub>Cu) e os grupos SH<sub>Cys18</sub>…Pt(II)…OH<sub>2-saída2</sub> (em ET2<sub>diOH2</sub>). Ademais, a estrutura holoproteica exibe concomitantemente um modo vibracional de estiramento Cu(I)…OH<sub>2-adic</sub>. No estado de transição, a geometria bipirâmide trigonal passa a ser presente não só em relação ao centro Pt(II), como também em relação ao centro Cu(I). Neste último, o eixo axial seria formado por S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub>…Cu(I)…N<sub>Cys15</sub> e Pt(II) passaria a compor esta formação geométrica como um grupo equatorial.

De modo a explorar as interações não covalentes e as ligações de coordenação em ET2<sub>diOH2</sub>Cu, a Figura 30 exibe os resultados do cálculo de NCI para esta estrutura.

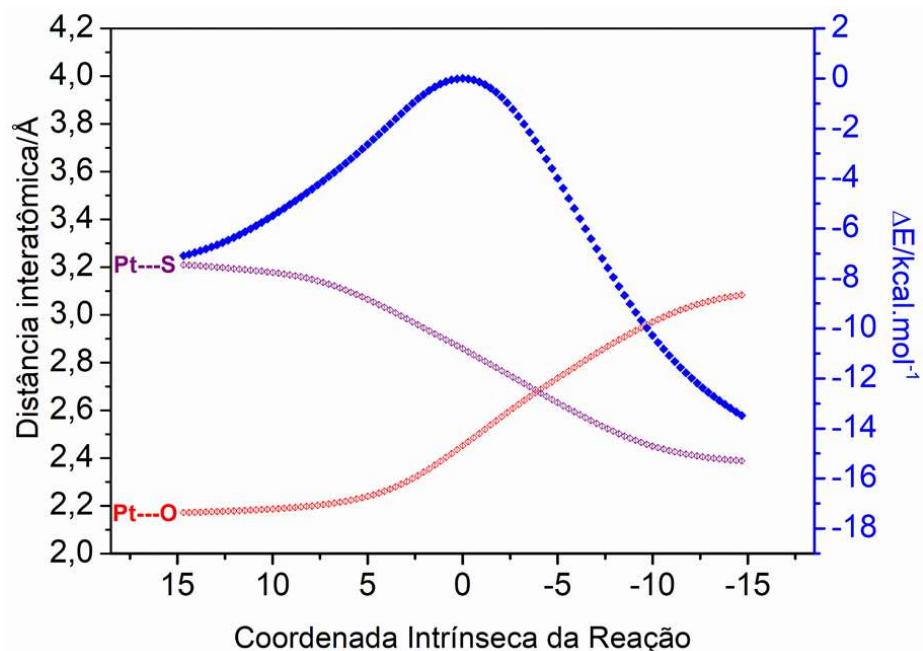


**Figura 30: Resultados de cálculos NCI para ET2<sub>diOH2</sub>Cu em diferentes perspectivas**

Notavelmente, a região azul intensa da isosuperfície entre os átomos Pt(II) e Cu(I) indica forte atração, ainda maior que a presenciada na etapa anterior

ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu. Esta observação por NCI, em consonância com os sentidos dos vetores nos modos vibracionais, mostra que a tendência na formação de possíveis produtos é de aproximação ainda maior entre os metais. Além disso, os vetores também indicam que Cu(I)–OH<sub>2</sub>-adic seria uma possível nova ligação de coordenação a ser formada.

Dado que o cálculo de IRC foi possível somente para ET2<sub>diOH<sub>2</sub></sub>, a Figura 31 exibe em gráfico o comportamento da energia ponto-a-ponto pela reação em conjunto com as distâncias Pt(II)···SH<sub>Cys18</sub> e Pt(II)···OH<sub>2-saída2</sub>.

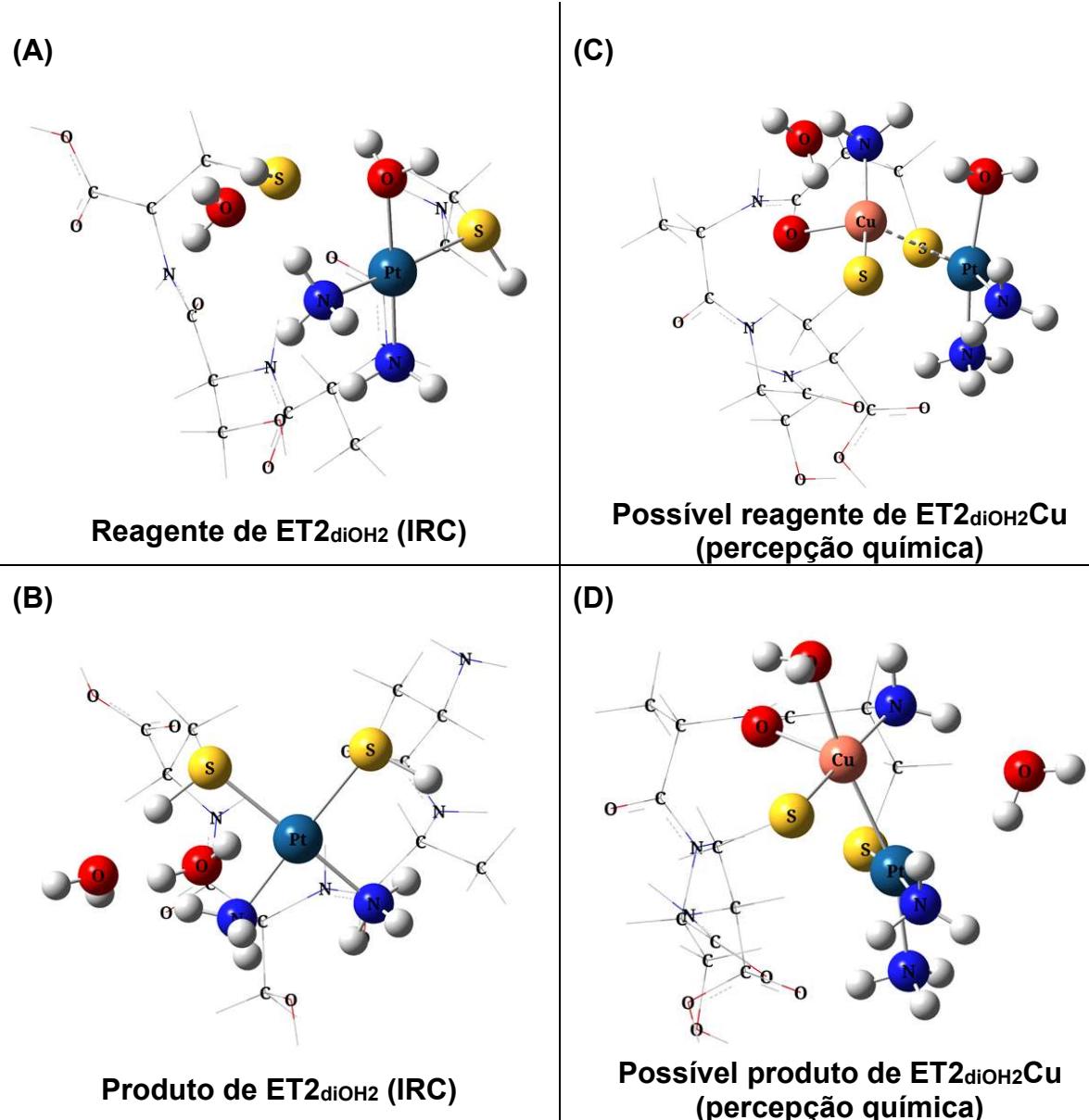


**Figura 31: Gráfico de IRC via ET2<sub>diOH<sub>2</sub></sub> e distâncias interatômicas (em Å) dos principais átomos**

O gráfico de IRC acima mostra tendência de uma reação exergônica. Este resultado vai de acordo com o princípio de ácidos moles e duros de Pearson ao considerarmos que o enxofre, mais polarizável que o oxigênio, tende a reagir com o metal de grande raio iônico para formar ligação Pt(II)–S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub> de maior estabilidade que Pt(II)–OH<sub>2-saída2</sub>. Quanto ao tipo de mecanismo desta reação, observa-se que as variações das distâncias entre o metal e ligantes de entrada e saída se iniciam concomitantemente. Contudo, a reação ocorre integralmente em uma única etapa. Estes fatores sugerem-nos ser condizente com um mecanismo de intertroca(1).

Embora a ausência de IRC para a estrutura ET2<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu, foi possível otimizar as estruturas obtidas pelos extremos do modo vibracional, o que resultou em possíveis reagentes e produtos desta etapa. Em ET2<sub>diOH<sub>2</sub></sub>, no entanto, o caminho da reação

forneceu estruturas mais próximas a reagentes e produtos “via IRC”, partindo das estruturas correspondentes às extremidades da curva ponto-a-ponto. A Figura 32 apresenta estas estruturas otimizadas.



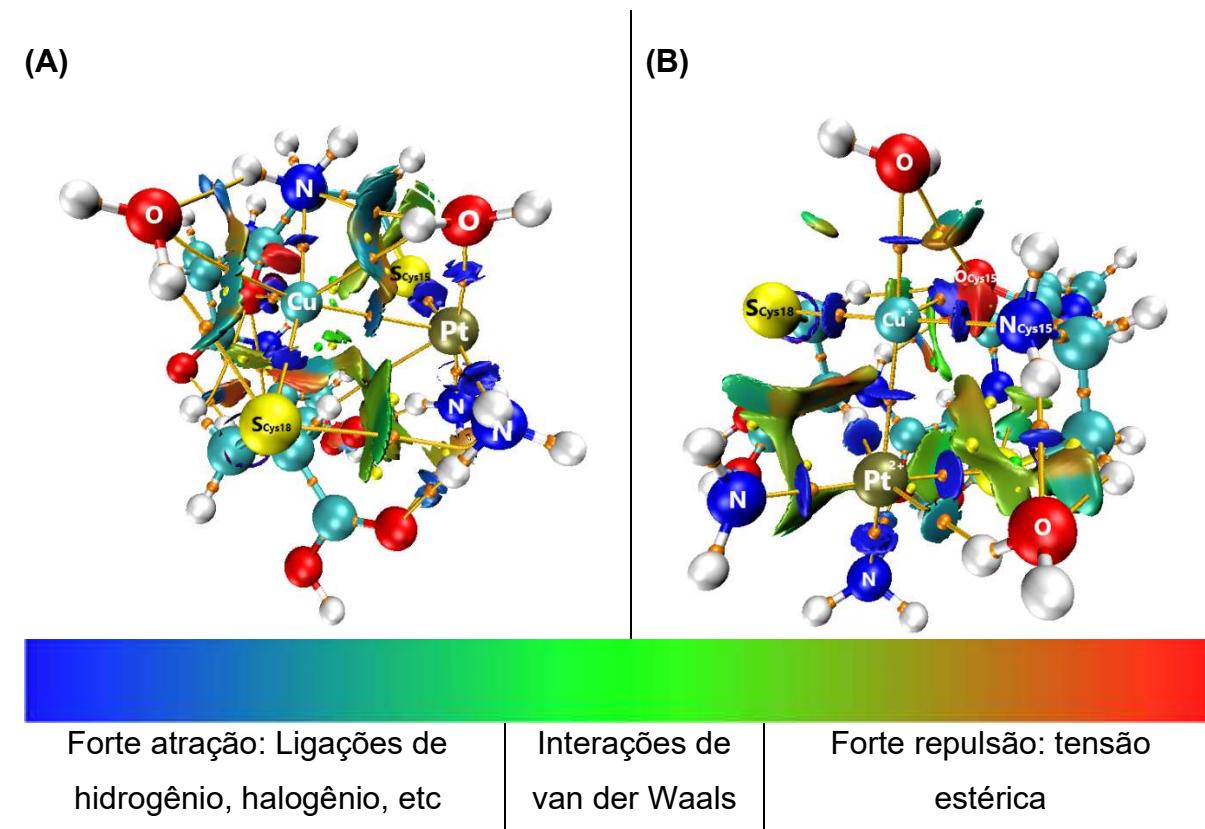
**Figura 32: Estruturas otimizadas de reagentes e produtos via IRC em  $ET2_{diOH2}$  (A e B) e via “percepção química” (C e D) em  $ET2_{diOH2}Cu$**

O possível reagente originado de  $ET2_{diOH2}Cu$  possui semelhança estrutural em relação ao produto de  $ET1_{diOH2}Cu$  (Figura 29). A maior diferença observada está na posição do grupo  $-OH_2\text{-adic}$  que foi adicionado da etapa anterior. Em relação a Cu(I) observa-se a partida de uma geometria possivelmente tetraédrica para formar uma pirâmide de base quadrada distorcida em seu possível produto, onde O<sub>Cys15</sub> é o ligante da ponta da pirâmide e Pt(II) se encontra pela base. É interessante notar também que

a geometria quadrática plana em Pt(II) é reestabelecida, contudo com distorção significativa de seus ligantes, resultando em uma angulação  $\angle\text{Cu(I)}-\text{Pt(II)}-\text{NH}_3$  de 162,4°.

Quanto às estruturas apoproteicas, o reagente de  $\text{ET2}_{\text{diOH}_2}$  demonstra ter grande semelhança conformacional com o possível produto de  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}$ , com a maior diferença para a localização do primeiro ligante de saída  $-\text{OH}_{2\text{-saída1}}$  gerado pela substituição ocorrida na 1ª etapa. Presume-se então que ambas as etapas de reação de substituição dos ligantes possam ser consideradas aproximadamente sequenciais. O produto de  $\text{ET2}_{\text{diOH}_2}$  conclui a reação com a substituição do ligante  $-\text{OH}_{2\text{-saída2}}$  por  $-\text{SH}_{\text{Cys18}}$ , tendo ambos os átomos de enxofre com seus respectivos hidrogênios e restauração da geometria quadrática plana em relação à Pt(II).

Os resultados de NCI para os possíveis reagentes e produtos de  $\text{ET2}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  ajudam na compreensão desta nova estrutura. A Figura 33 traz esta visualização.



**Figura 33: Resultados de cálculos NCI para os possíveis reagentes (A) e produtos (B) via “percepção química” de  $\text{ET2}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$**

Com 5 pontos de forte interação, Cu(I) se estabiliza em geometria mais próxima a uma bipirâmide trigonal nos reagentes, ao passo que, nos produtos, a geometria de pirâmide de base quadrada prevalece. Outro aspecto interessante que os cálculos de

NCI exibem é a estabilização de Pt(II) por forças atrativas relativamente fortes com mais 2 átomos de hidrogênio, sendo um pertencente ao segundo ligante de saída – OH<sub>2-saída2</sub> e, o outro, ligado a um carbono alfa (C<sub>α</sub>) em relação ao grupo ácido carboxílico de Cys18. Estes são localizados perpendicularmente ao plano formado por Pt(II) e seus ligantes, cujas distâncias ao centro metálico foram de 2,55 Å e 2,27 Å, respectivamente. Contabilizando estes hidrogênios como grupos estabilizadores adicionais, a forma geométrica estabelecida lembra um octaedro, embora a natureza destas interações sejam provavelmente do tipo não covalentes.

Uma visão geral das principais mudanças de distâncias interatômicas da 2<sup>a</sup> etapa, tanto para a estrutura contendo Cu(I) quanto para a ausente de Cu(I), pode ser visualizada pela Tabela 5.

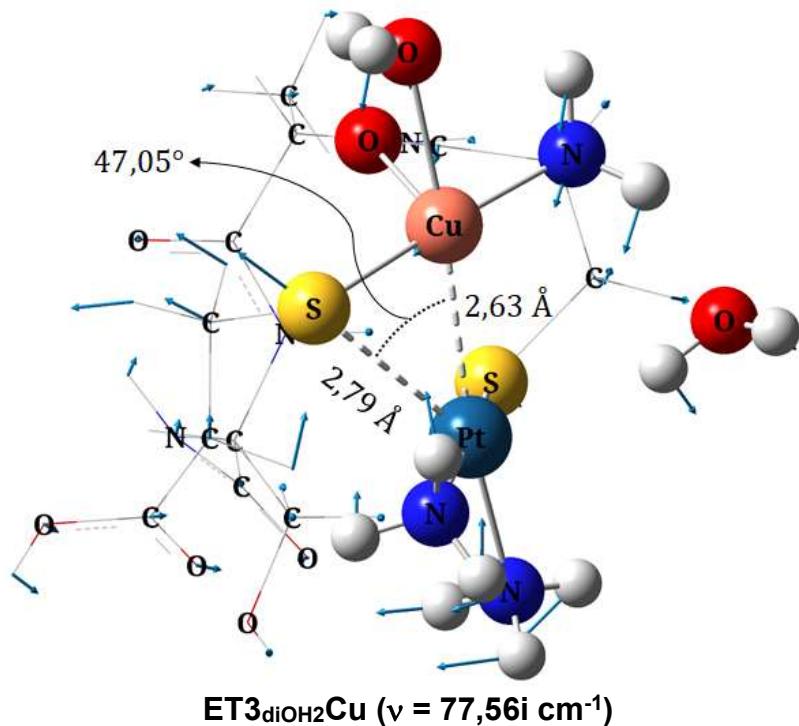
**Tabela 5: comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) gerais para a 2<sup>a</sup> etapa completa em ET2<sub>diOH2</sub>Cu via “percepção química” e ET2<sub>diOH2</sub> via IRC**

Par atômico (Å)	ET2 <sub>diOH2</sub> Cu			ET2 <sub>diOH2</sub>		
	Reagentes	ET	Produtos	Reagentes	ET	Produtos
Pt(II)…OH <sub>2-saída2</sub>	2,20	2,56	3,33	2,16	2,45	3,36
Pt(II)…S <sup>-</sup> <sub>Cys18</sub> / SH <sub>Cys18</sub>	3,89	3,61	3,28	3,25	2,86	2,36
Pt(II)…Cu(I)	2,84	2,69	2,53	-	-	-
Cu(I)…S <sup>-</sup> <sub>Cys15</sub>	3,51	3,45	3,44	-	-	-
Cu(I)…OH <sub>2-saída1</sub>	2,77	2,54	2,20	-	-	-

O valor de Pt(II)…Cu(I) dado pela Tabela 5 reflete em uma das mais curtas distâncias entre os metais encontradas neste trabalho. Embora o entendimento de que o ponto crítico de ligação (BCP) esteja associado ao acúmulo de densidade eletrônica entre os átomos (BADER, 1990), não é possível afirmar que se trate de uma ligação química Pt(II)–Cu(I), uma vez que as definições de “caminho de ligação” na Teoria Quântica de Átomos em Moléculas não são as mesmas da “ligação química” de acordo com a Teoria de Orbitais Moleculares (BADER, 2009). Neste caso, haveria a necessidade de mais evidências teóricas e experimentais para se chegar a uma conclusão.

Por fim, a ligação de Pt(II) ao segundo átomo de enxofre (S<sub>Cys18</sub>) no sítio holoproteico se dá por ET3<sub>diOH2</sub>Cu. Os cálculos de IRC também não foram possíveis

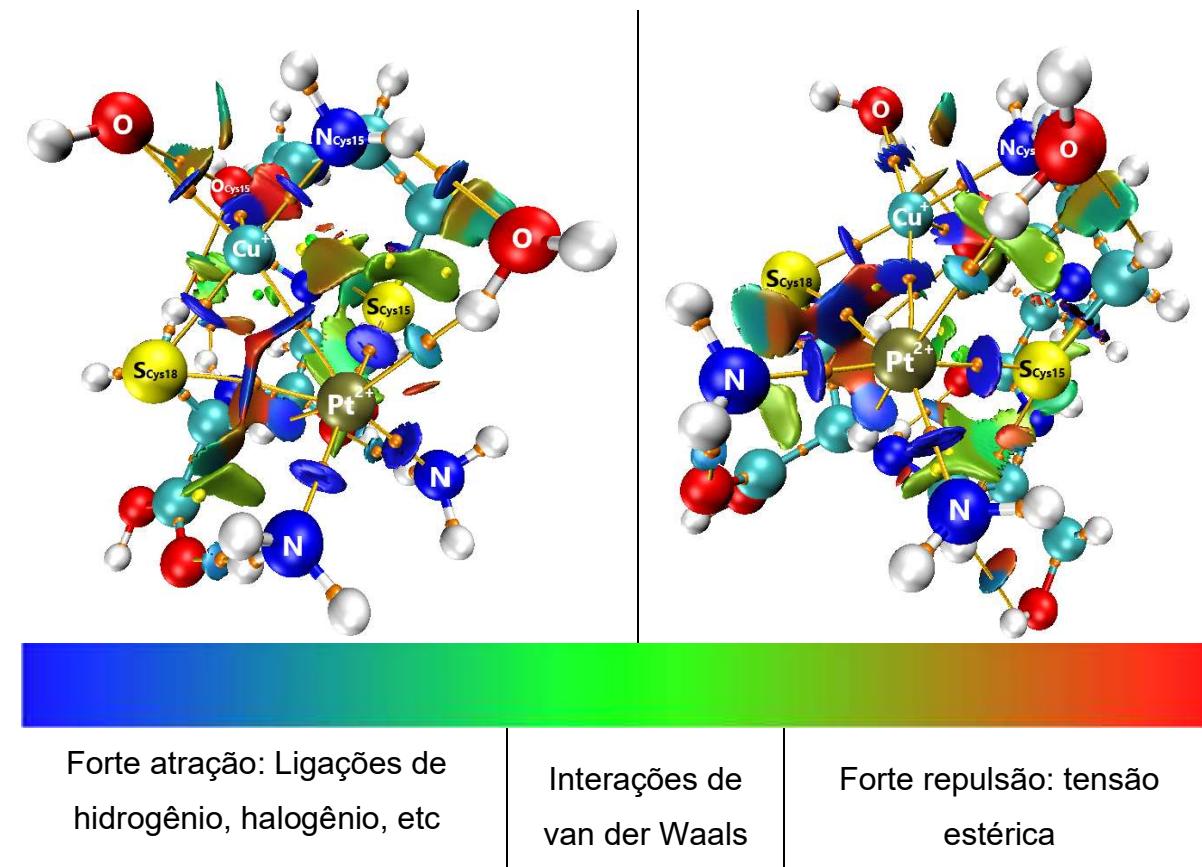
para esta última etapa, tendo, portanto, seus possíveis reagentes e produtos adquiridos via “percepção química”. Esta etapa é caracterizada basicamente pela troca da forte interação metal-metal pela nova ligação Pt(II)–S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub>, como pode ser visualizado pela Figura 34.



**Figura 34: Estrutura de ET3<sub>dioH2</sub>Cu com vetores dos modos vibracionais**

O modo vibracional encontrado para esta estrutura também é característico de um estiramento assimétrico. Aqui, a geometria com centro Pt(II) é considerada uma bipirâmide trigonal com distorção significativa dos ligantes na posição equatorial. Em relação ao eixo axial formado por N<sub>axial</sub>···Pt(II)···S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub>, o plano que contém Cu(I), S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub> e N<sub>equat</sub> encontram-se muito distante da perpendicularidade. As propriedades estruturais que tornam as distorções mais nítidas são os ângulos  $\angle N_{\text{axial}}\text{--Pt(II)}\text{--S}^{\text{--}}\text{Cys18}$  e  $\angle N_{\text{axial}}\text{--Pt(II)}\text{--Cu(I)}$ , com valores de 73,2° e 109,4°, respectivamente; e os ângulos  $\angle N_{\text{equat}}\text{--Pt(II)}\text{--Cu(I)}$  e  $\angle S^{\text{--}}\text{Cys18}\text{--Pt(II)}\text{--Cu(I)}$ , de 159,1° e 47,1°, respectivamente.

Com esta nova mudança estrutural, a Figura 35 exibe os resultados de NCI para análise das interações intermoleculares em comparação com a etapa anterior.



**Figura 35: Resultados de cálculos NCI para ET3<sub>dioH2</sub>Cu em diferentes perspectivas**

A principal mudança observada em relação ao possível produto de ET2<sub>dioH2</sub>Cu é o aparecimento de um novo ponto crítico de ligação (BCP) entre Pt(II) e S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub>, em conjunto com a coloração azul intensa da região da isosuperfície localizada entre estes dois átomos, indicando a tendência para formação da nova ligação. Pt(II) ainda mantém interações atrativas forte/moderada com os dois hidrogênios vizinhos, discutidos na etapa anterior. No entorno de Cu(I), por outro lado, temos a deformação significativa da pirâmide de base quadrada formada na etapa anterior devido ao direcionamento de Pt(II) para formar a nova ligação com S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub>, caracterizando outra mudança geométrica importante.

Estas tendências de transformação estrutural podem ser mais bem elucidadas com a visualização dos possíveis reagentes e produtos que, por não ter sido possível a realização de cálculos de IRC, foram obtidas otimizando-se as estruturas de deslocamento máximo dos modos vibracionais obtidos em ET3<sub>dioH2</sub>Cu, sendo estas exibidas logo abaixo na Figura 36.

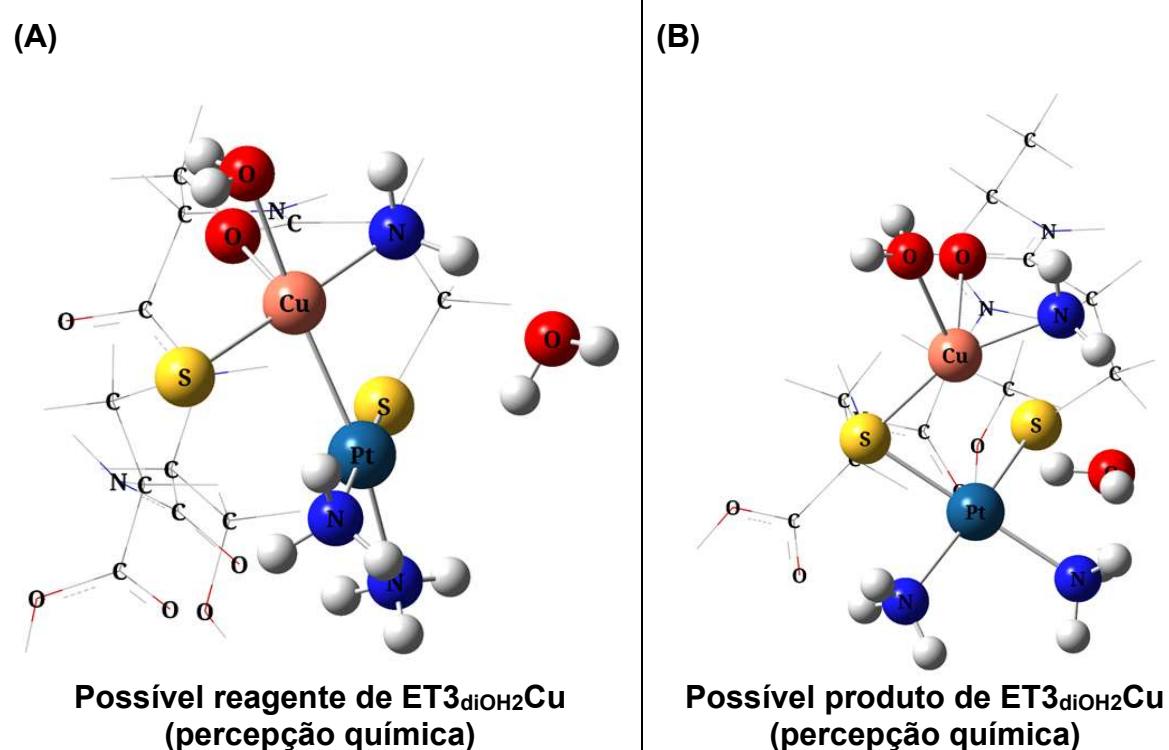


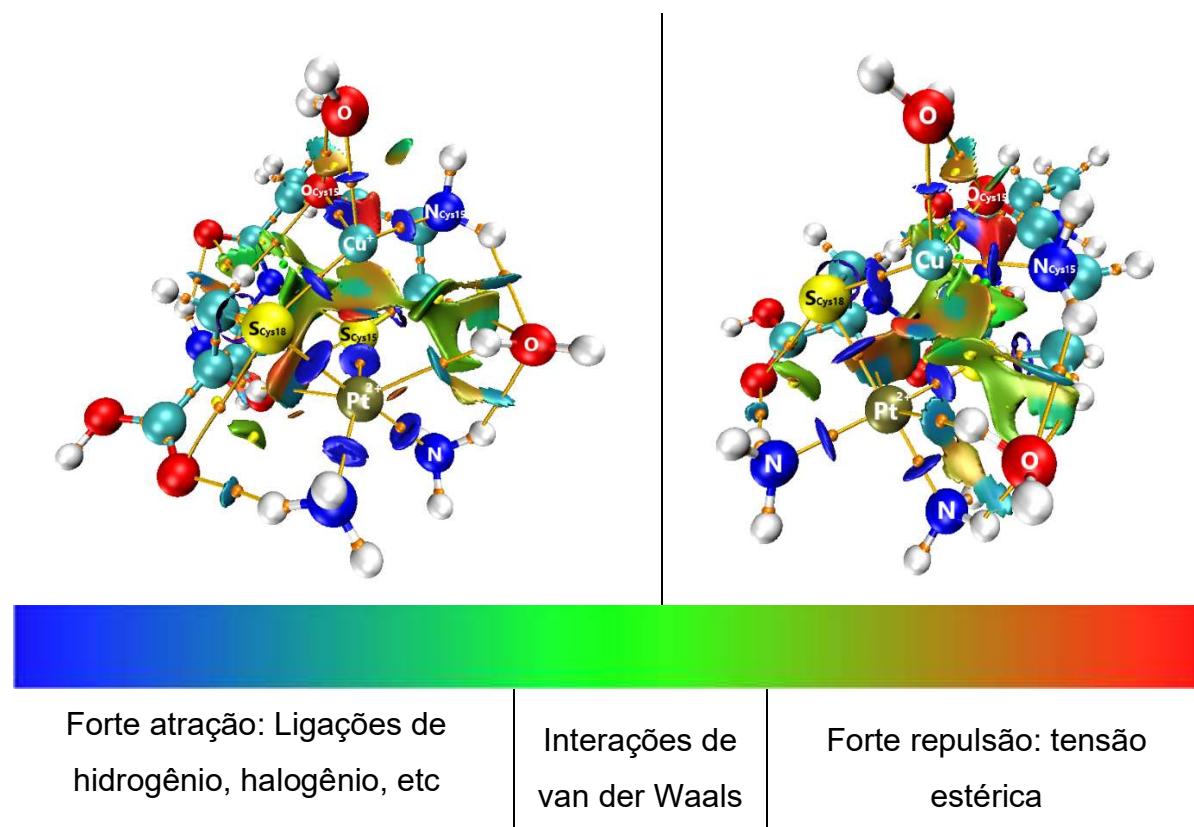
Figura 36: Estruturas otimizadas de reagente (A) e produto (B) via “percepção química” para  $\text{ET3}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$

Nesta etapa há também semelhança estrutural conformacional entre o possível reagente de  $\text{ET3}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$  e o possível produto de  $\text{ET2}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$ , o que permite associar uma possível conexão aproximada entre as etapas de reação. Já no sistema de produtos de  $\text{ET3}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$ , observa-se que o sistema reagente apresenta formação tetraédrica em relação ao centro Cu(I), e também a formação quadrática plana em relação ao centro Pt(II) (agora, com as substituições por ligantes  $-\text{S}^-\text{Cys15}$  e  $-\text{S}^-\text{Cys18}$  concluídas). É interessante notar que a geometria pirâmide de base quadrada formada na estabilização de Cu(I) na segunda etapa é substituída pela formação tetraédrica, uma vez que o produto da terceira etapa resulta no aumento da distância entre os metais e que representa o enfraquecimento substancial das interações metal-metal. Algumas das distâncias interatômicas mais relevantes são exibidas na Tabela 6, caracterizando algumas propriedades estruturais do produto.

**Tabela 6: comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) gerais para a 3<sup>a</sup> etapa completa em ET3<sub>diOH2</sub>Cu via “percepção química”**

ET3 <sub>diOH2</sub> Cu			
Par atômico (Å)	Reagentes	ET	Produtos
Pt(II)…S <sup>-</sup> <sub>Cys18</sub>	3,27	2,79	2,35
Pt(II)…Cu(I)	2,54	2,63	2,95
Cu(I)…S <sup>-</sup> <sub>Cys18</sub>	2,20	2,16	2,25

Além da nova ligação Pt(II)–S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> formada, a ligação Cu(I)–S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> não é quebrada, indicando que S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> se torna um ligante em ponte a ambos os metais. Simultaneamente, a distância Pt(II)…Cu(I) atinge quase 3,00 Å. Estes resultados levantam a hipótese de que Cu(I) poderia atuar como uma espécie de “ponte” de modo a facilitar a reação do complexo de Pt(II) com o sítio ativo de MnK6. O enfraquecimento das interação metal-metal torna-se evidente de acordo com os resultados de NCI para o produto de ET3<sub>diOH2</sub>Cu, disponível na Figura 37.



**Figura 37: Resultados de cálculos NCI para o possível produto via “percepção química” de ET3<sub>diOH2</sub>Cu em diferentes perspectivas**

Com a formação dos produtos de  $\text{ET3}_{\text{diOH}2}\text{Cu}$ , o ponto crítico de ligação (BCP) outrora evidente entre os metais de transição, agora é ausente, e as interações fortemente atrativas passam a não mais existirem.  $\text{S}^-\text{Cys18}$  se encontra em ligação de coordenação a ambos os metais e apresenta um novo BCP com o oxigênio  $\text{sp}^2$  do grupo carboxílico vizinho. Isto também já havia acontecido com  $\text{S}^-\text{Cys15}$  após a reação com  $\text{Pt(II)}$  na primeira etapa. Antes da reação, os enxofres apresentavam BCPs apenas com hidrogênios vizinhos, característico de nucleofilicidade. Após a reação, no entanto, os BCPs voltam a aparecer não somente com os hidrogênios como também com oxigênios, podendo este ser considerado um indício de que os grupos tiolato possam ter diminuído o acúmulo de densidade eletrônica para grupos adjacentes e intensificado sua polarização, demonstrando características anfifílicas.

Agora vejamos como as coordenadas das reações se procedem quando o sítio ativo de  $\text{Mnk6}$  reage com a forma diaquo da cisplatina. A Figura 38 introduz o caso envolvendo quando o fragmento proteico se encontra como  $[\text{CuCASC}]^-$ .

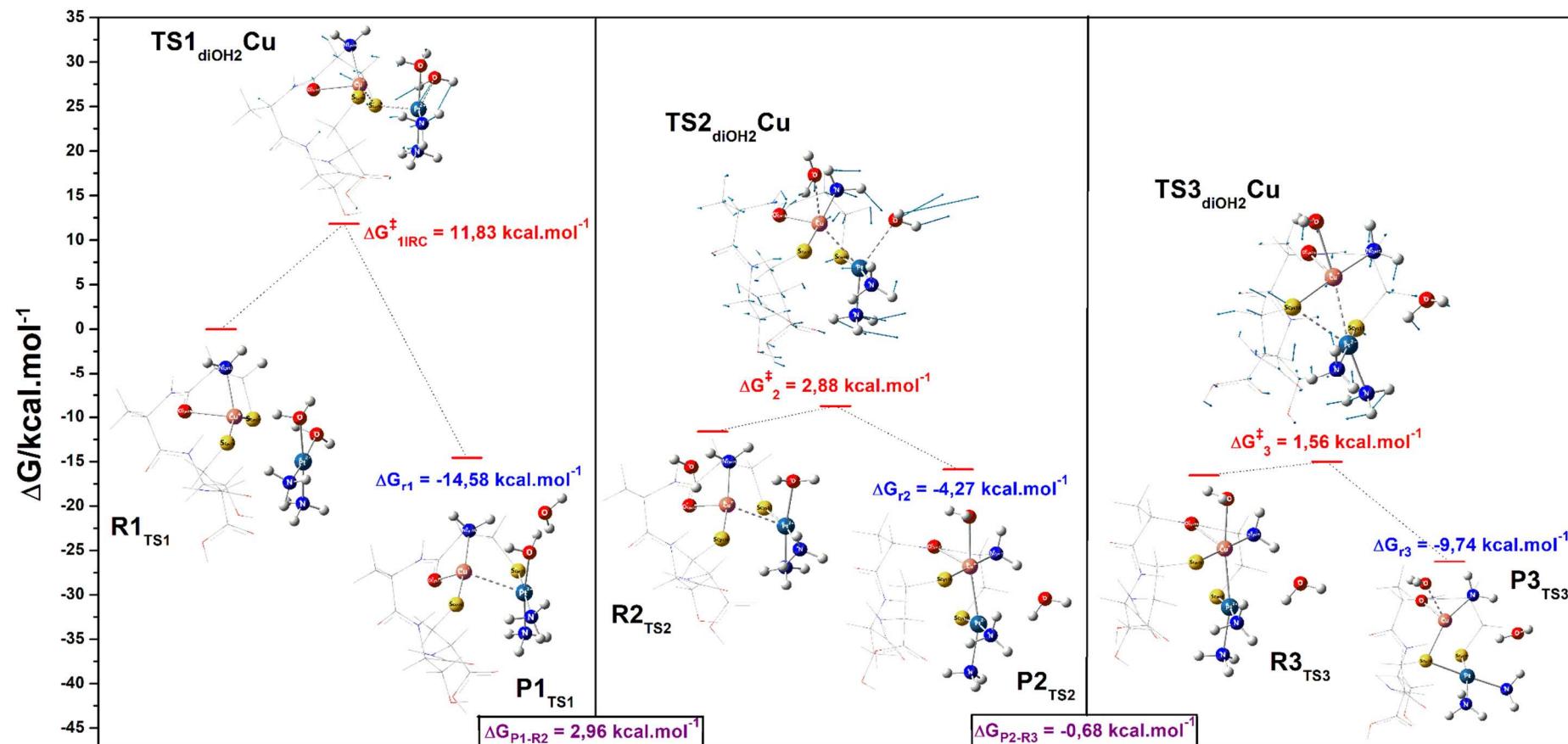


Figura 38: Diagrama de coordenada de reações de  $[\text{CuCASC}]$  com  $cis\text{--}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  em fase gás

Comparando-se com o caso de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$ , a primeira etapa de reação  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  demonstra ser cineticamente mais favorável ao resultar em um  $\Delta G^\ddagger$  de quase a metade da energia de barreira. Além disso, a reação é também mais exergônica e, portanto, termodinamicamente ainda mais favorável. Isto nos leva a pressupor que, nesta reação,  $-\text{OH}_2$  se desponta como um grupo de saída à  $\text{Pt}(\text{II})$  mais lábil que  $-\text{Cl}^-$  não somente pelo que prevê a Teoria de ácidos e bases duros e moles de Pearson, mas também por outros fatores já discutidos em seções anteriores (como as interações não covalentes mais numerosas e mais fortes entre o polipeptídio e ligantes  $-\text{OH}_2$ ; e o aumento de densidade eletrônica em  $\text{Pt}(\text{II})$ ). Outro fator que pode estar associado ao favorecimento da reação é o surgimento de  $\text{O}_{\text{Cys15}}$  como o 4º grupo estabilizador de  $\text{Cu}(\text{I})$  que, de certa forma, poderia estar contribuindo para a quebra da ligação  $\text{Cu}(\text{I})-\text{S}^-\text{Cys15}$ , tornando o enxofre mais disponível e reativo à  $\text{Pt}(\text{II})$ .

A 2ª etapa de reação exibe uma barreira de energia muito pequena e que aponta para um grande favorecimento cinético, presumindo-se que a estrutura de produto da 1ª etapa deve ter um tempo de vida muito curto. Os fatores-chave desta etapa são as interações metal-metal resultante, a liberação do 2º grupo (bom abandonador)  $-\text{OH}_2$ , a formação de pirâmide de base quadrada em relação a  $\text{Cu}(\text{I})$  e a estabilização de  $\text{Pt}(\text{II})$  por 2 hidrogênios adjacentes em uma geometria que nos lembra um octaedro.

A 3ª etapa apresenta uma barreira de energia ainda menor, o que sugere que o produto da 2ª etapa deve ter um tempo de vida ainda menor que o da 1ª e que pode estar associado à tendência de  $\text{Pt}(\text{II})$  formar ligações mais fortes com enxofres do que manter as interações metal-metal com  $\text{Cu}(\text{I})$ . Com estas discussões, o que se pode inferir é que a 1ª etapa é a determinante da velocidade da reação.

Agora, faz-se a análise quando  $\text{Cu}(\text{I})$  é ausente a partir da Figura 39.

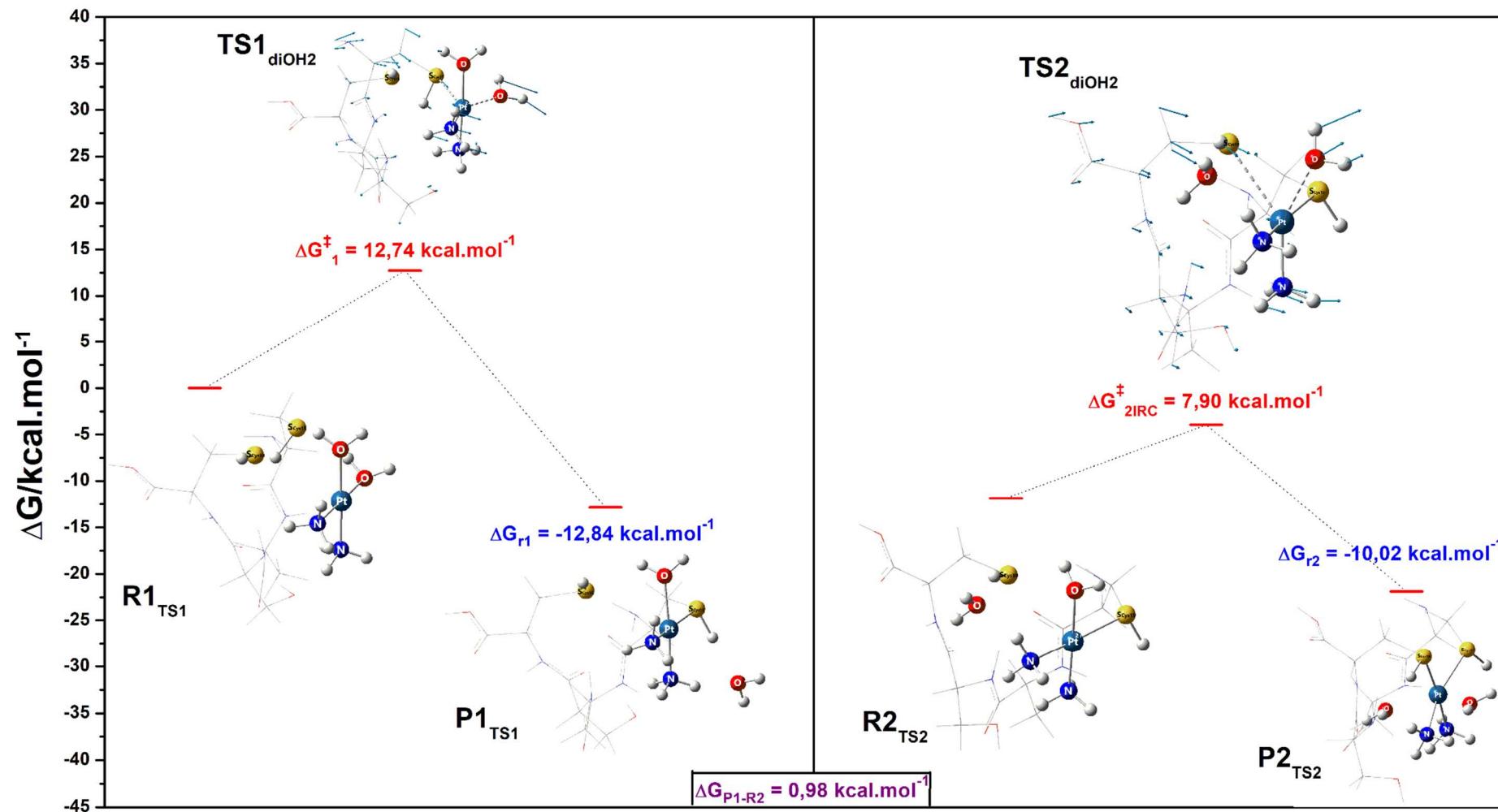


Figura 39: Diagrama de coordenada de reações entre CASC e *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>

Pela comparação entre as etapas iniciais do 1º caso ( $ET1_{\text{diCl}Cu}$  e  $ET1_{\text{diCl}}$ ), ficam evidentes as diferenças expressivas de valores de  $\Delta G^\ddagger$  e  $\Delta G_r$ . No entanto, o 2º caso ( $ET1_{\text{diOH}_2}Cu$  e  $ET1_{\text{diOH}_2}$ ) não seguiu a mesma tendência e apresentou valores muito próximos de  $\Delta G^\ddagger$  e de  $\Delta G_r$ . Este é um resultado curioso e prenuncia que Cu(I) pode não afetar relevantemente esta etapa, possivelmente porque a natureza do ligante de saída (base dura de Lewis,  $\text{OH}_2$ ) deve ter um peso muito mais significativo na determinação da energia de ET em comparação com a interação metal-metal. Isto reforça a discussão feita anteriormente de que Cu(I) possivelmente afeta a etapa determinante da reação de forma mais expressiva quando o ligante é  $\text{Cl}^-$ , um ligante que demonstra ser de mais difícil saída ao complexo de Pt(II). Sendo assim, as interações metal-metal poderiam causar maior impacto nas barreiras de energia das etapas determinantes da velocidade nos casos em que Pt(II) é coordenada à grupos abandonadores ruins.

Agora, na 2ª etapa, a ausência de Cu(I) parece fazer sua maior diferença tanto em  $\Delta G^\ddagger$  quanto em  $\Delta G_r$ . A formação da ligação Pt(II)– $\text{S}^-_{\text{Cys}18}$  em  $ET2_{\text{diOH}_2}$  demanda mais energia de ativação que os  $\Delta G^\ddagger$  de  $ET2_{\text{diOH}_2}Cu$  e  $ET3_{\text{diOH}_2}Cu$  somados. É a partir desta etapa que Cu(I) poderia causar maior impacto na velocidade da reação pois este seria um contribuinte adicional forte para a estabilizar Pt(II) e facilitar especialmente seu acesso ao  $-\text{S}^-_{\text{Cys}18}$  devido aos fatores geométricos, atuando como “ponte” e mantendo o novo ligante mais próximo ao metal. É importante ponderar, no entanto, que não é possível afirmar que Cu(I) seja um catalisador devido ao desconhecimento de sua atuação na proteína ATP7A na totalidade do mecanismo e à necessidade de mais evidências experimentais.

A seguir, a Tabela 7 fornece resultados termodinâmicos para discussão.

**Tabela 7: variações de entalpia e de entropia\*temperatura das reações de *cis*– $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2]^{2+}$  com o polipeptídio apoproteico e holoproteico, em kcal mol<sup>-1</sup>**

	1ª etapa		2ª etapa		3ª etapa	
	$\Delta H$	$T\Delta S$	$\Delta H$	$T\Delta S$	$\Delta H$	$T\Delta S$
<i>cis</i> – $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2]^{2+}$ + [CuCASC] <sup>-</sup>	-14,15	0,43	-4,91	-0,64	-7,96	1,78
<i>cis</i> – $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH})_2]^{2+}$ + CASC	-11,27	1,58	-8,63	1,39	-	-

Em comparação com a reação de  $[\text{CuCASC}]^-$  com cisplatina, nota-se a queda mais acentuada na entalpia dos produtos em relação a seus reagentes quando trocam-se ligantes  $-\text{Cl}^-$  por  $-\text{OH}_2$ , com uma diferença de  $7,96 \text{ kcal.mol}^{-1}$  entre seus  $\Delta H_r$  de 1<sup>a</sup> etapa. Além da natureza dos ligantes, outros fatores que poderiam ser contribuintes destacáveis para o  $\Delta H_r$  mais negativo seria o fortalecimento da interação metal-metal e a quebra da ligação  $\text{Cu}-\text{S}^-_{\text{Cys}15}$ . Interessantemente, a 2<sup>a</sup> etapa que caracteriza a substituição do segundo ligante  $-\text{OH}_2$  por  $\text{Cu}(\text{I})$  para formação da ligação metal-metal é exotérmica, mas entropicamente desfavorecida. Esta observação reforça ainda mais a grande diferença entre os ligantes em relação à Pt(II): enquanto  $-\text{Cl}^-$  compete comparavelmente com tiol/tiolatos pela ligação ao metal,  $-\text{OH}_2$  por sua vez é um ótimo grupo abandonador até mesmo em comparação a  $\text{Cu}(\text{I})$ .

No caso da fração apoproteica, todas as etapas com  $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  passam a ser exotérmicas, enquanto que com  $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  as reações são endotérmicas. Mesmo na forma de  $-\text{SH}$  (menos reativos que  $-\text{S}^-$ ), estes grupos ainda são bastante favorecidos na coordenação à Pt(II) em comparação com  $-\text{OH}_2$ , um ligante duro e bom abandonador do complexo.

## 5.2 Reações de $[\text{CuCASC}]^-$ com $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ e $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ em IEFPCM + $\text{OH}_2$ -adic

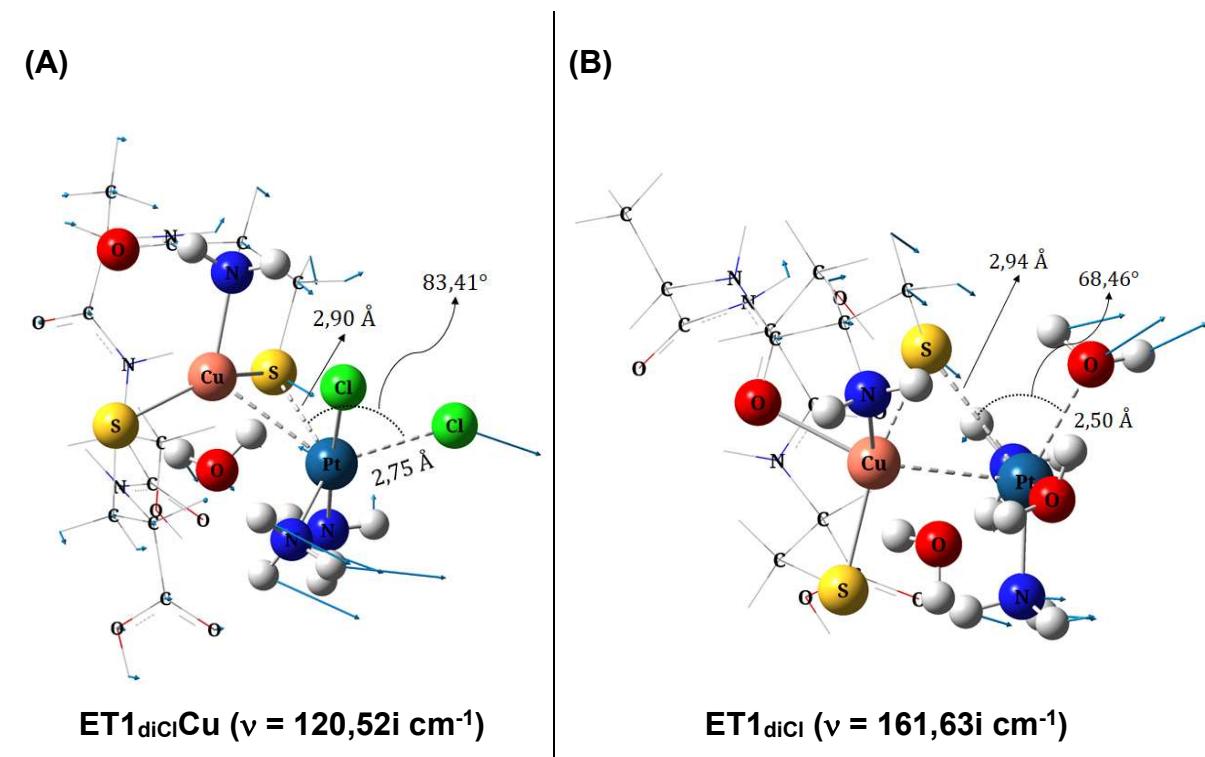
Nesta nova seção, o efeito do solvente é considerado para a avaliação das reações de  $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  e de  $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  com o sítio holoproteico. As reações dos complexos de Pt(II) com o sítio apoproteico em IEFPCM não foram contempladas neste trabalho.

As considerações do efeito solvente foram feitas em duas situações distintas. Na primeira, os cálculos executados em fase gás (seções 5.1.1 e 5.1.2) foram reproduzidos, com a diferença de que o modelo contínuo de solvatação IEFPCM foi empregado à todas as estruturas. Já na segunda, além do modelo IEFPCM, foi também adicionada 1 molécula de água nas proximidades dos átomos  $\text{Cu}(\text{I})$ ,  $\text{N}_{\text{Cys}15}$ ,  $\text{O}_{\text{Cys}15}$  e  $\text{S}^-_{\text{Cys}18}$ . O intuito do acréscimo desta molécula de água adicional se baseia na observação feita na subseção 5.1.2 onde levantou-se a hipótese de que tal molécula poderia desempenhar um papel importante na estabilização de  $\text{Cu}(\text{I})$  a partir da 2<sup>a</sup> etapa das reações de substituição de ligantes, fazendo-se necessária sua consideração nestes sistemas de forma explícita.

De modo geral, o acréscimo do modelo IEFPCM aos cálculos representaram poucas mudanças significativas às estruturas em comparação com àquelas obtidas em fase gás. Por isso, as discussões químicas qualitativas já abordadas nas seções 5.1.1 e 5.1.2 se fazem as mesmas aqui, enquanto seus resultados quantitativos serão apresentados comparativamente nesta seção. Figuras de estruturas e IRC estão disponíveis no Apêndice 2 (seção 7.2).

### 5.2.1 1<sup>a</sup> etapa

O uso do modelo IEFPCM de solvatação contínua e da molécula de água adicional proporcionaram diferenças importantes nos resultados em relação àqueles em fase gás. A discussão é iniciada pela apresentação de ET1<sub>dicl</sub>Cu e ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu pela Figura 40.

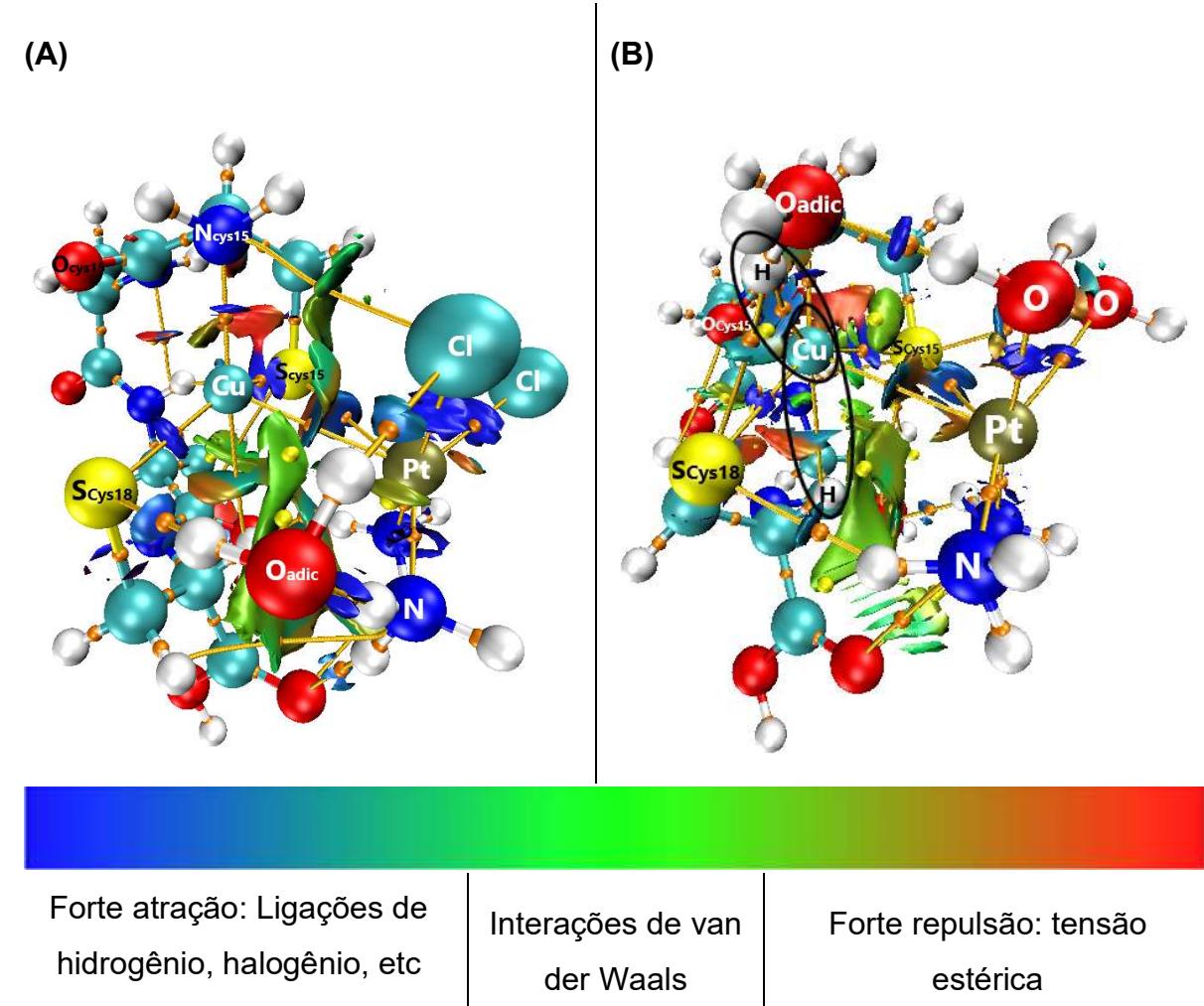


**Figura 40: Estruturas de ET1<sub>dicl</sub>Cu e de ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic com vetores dos modos vibracionais**

Comparando-se com os resultados obtidos em fase gás, as mudanças estruturais mais significativas no sistema de ET1<sub>dicl</sub>Cu são, principalmente, a distância Pt(II)…S<sup>-</sup><sub>Cys15</sub> (0,27 Å maior) e o ângulo  $\angle S^{-}_{\text{Cys15}} \cdots \text{Pt(II)} \cdots \text{Cl}^{-}_{\text{saída1}}$  (10,06° menor). Por outro lado, o sistema de ET1<sub>diOH<sub>2</sub></sub>Cu apresentou mudanças pouco expressivas de modo geral. O fato das mudanças serem mais significativas em ET1<sub>dicl</sub>Cu estão –

possivelmente – associados com a estabilização mais efetiva do sistema devido à polarização mais intensa, uma vez que as interações do tipo íon-dipolo estão mais presentes.

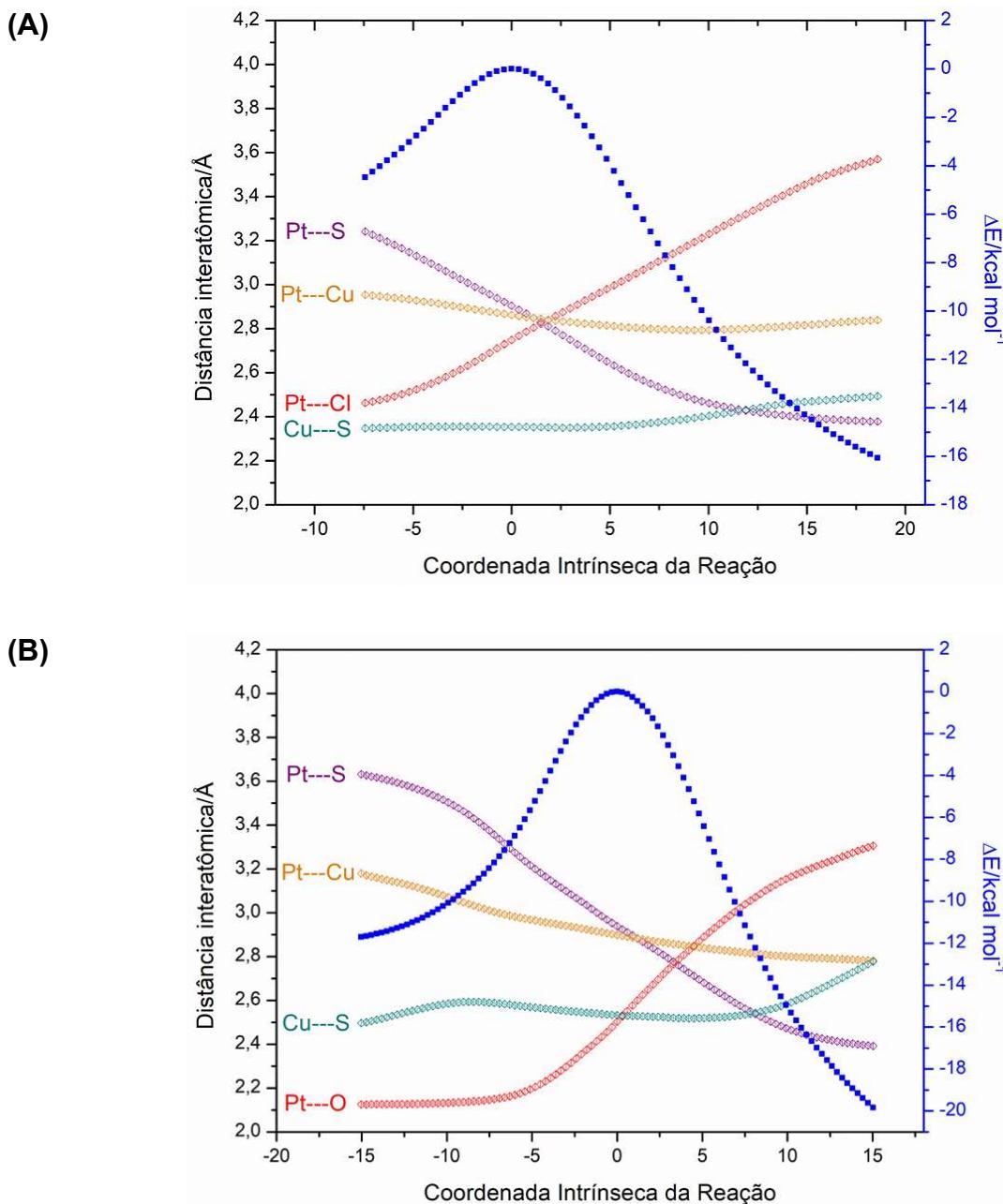
Outra diferença é a posição da molécula de água adicional, que pode ser discutida a partir da Figura 41.



**Figura 41: Resultados de cálculos NCI para ET1<sub>dicl</sub>Cu (A) e ET1<sub>dioh2</sub>Cu (B) em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>**

Os resultados de cálculos NCI mostram que Cu(I) em ET1<sub>dioh2</sub>Cu estabelece interações atrativas com 2 hidrogênios, um proveniente de OH<sub>2-adic</sub> e o outro do carbono quiral de Cys18. Nota-se também a existência de BCPs entre cada um destes pares atômicos. É possível portanto que Cu(I) também possua características anfifílicas além de S<sup>-</sup><sub>Cys15</sub>, S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> e Pt(II), como discutido nas seções 5.1.1 e 5.1.2. Por outro lado, ET1<sub>dicl</sub>Cu não apresentou um comportamento parecido nos cálculos realizados, resultando na realocação de OH<sub>2-adic</sub> para interação com os grupos Cl<sup>-</sup><sub>saída2</sub> e S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> à medida que o cálculo de ET tendia para convergência.

Os caminhos das reações de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  em IEFPCM e com  $\text{OH}_2$  adicional foram obtidos por cálculos de IRC e são apresentados na Figura 42.

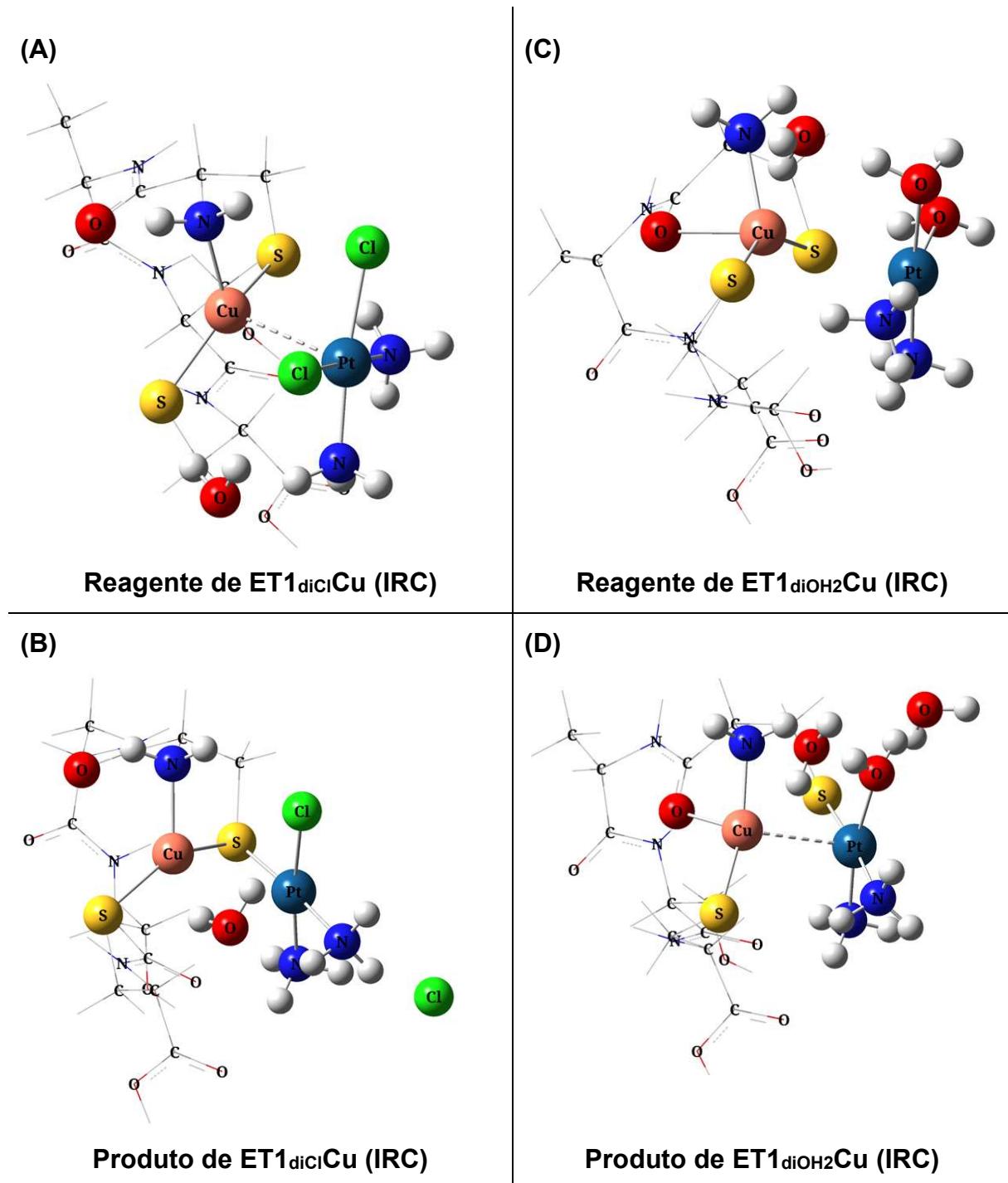


**Figura 42: Gráficos de IRC via  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  (A) e via  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  (B) em IEFPCM +  $\text{OH}_2$ -adic com distâncias interatômicas (em Å)**

Embora os resultados de IRCs dos sistemas análogos em fase gás apresentem comportamentos de curvas de distâncias interatômicas bastante parecidas com os sistemas solvatados, a curva de energia ponto-a-ponto, por outro lado, apresenta mudanças. No caso de  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2$ -adic tal curva é mais suave (isto é, com menor taxa de variação) que seu análogo em fase gás (subseção 5.1.1). O

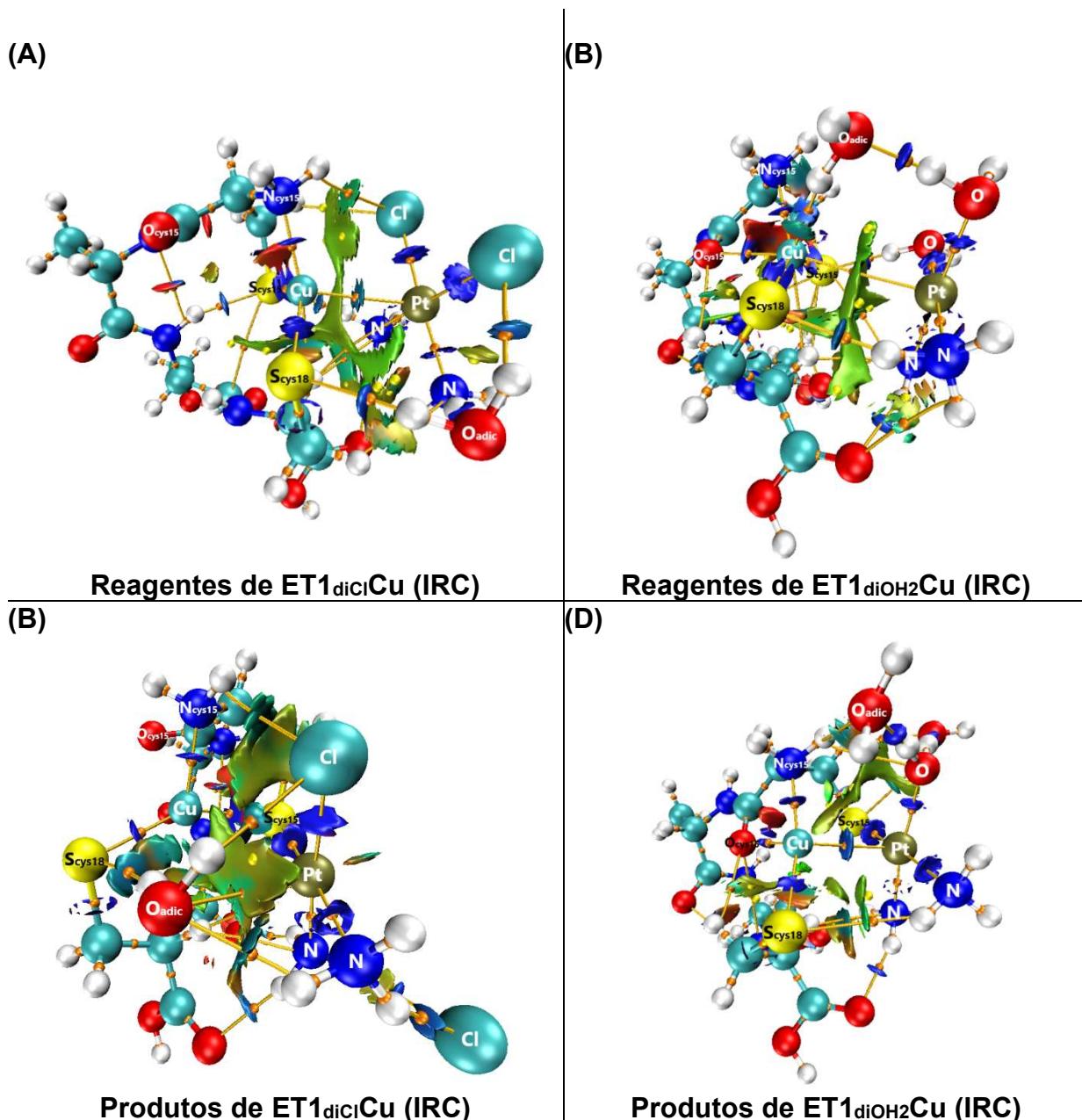
mesmo não é observado para  $\text{ET1}_{\text{dilCl}}\text{Cu}$ . Isto reforça a discussão de que, em resposta à forte polarização do meio, a estabilização pela inclusão de um contínuo dielétrico deva ser mais efetiva. Uma vez que as interações íon-dipolo são mais fortes, maiores variações na superfície de energia potencial são esperadas.

Os pontos finais de cada IRC foram otimizados para mínimos locais, obtendo-se reagentes e produtos apresentados pela Figura 43.



**Figura 43:** Estruturas otimizadas de reagentes e produtos de  $\text{ET1}_{\text{dilCl}}\text{Cu}$  (A e B) e  $\text{ET1}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$  (C e D) em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic

Assim como nos sistemas em fase gás, diversas propriedades estruturais se repetiram em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic, tais como a interação de Cu(I) com O<sub>Cys15</sub>, a quebra da ligação Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> e a aproximação Cu(I)···Pt(II) no sistema com reagente diaquo; assim como a manutenção da ligação Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> e o distanciamento entre Cu(I) e Pt(II) no sistema com cisplatina. As principais diferenças estão na posição de OH<sub>2</sub>-adic: nos produtos do sistema com reagente dicloro, o hidrogênio de OH<sub>2</sub>-adic se aproxima de Cu(I), ao passo que o mesmo átomo no caso diaquo se distancia do metal. Os resultados de NCI contribuem para melhor compreensão da magnitude desta interação Cu(I)···H<sub>OH2</sub>-adic, como pode ser visualizado na Figura 44.



**Figura 44:** Resultados de cálculos NCI para reagentes e produtos de ET1<sub>dicl</sub>Cu (A e B) e ET1<sub>dioH2</sub>Cu (C e D) em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic

As interações  $\text{Cu(I)}\cdots\text{HOH}_2\text{-adic}$  estão presentes nos dois casos, embora em passos diferentes da primeira etapa. No complexo reagente com diaquo, estas interações demonstram ser mais fortemente atrativas que no complexo ativado ( $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$ ), até que na estrutura de produtos esta interação praticamente desaparece. Por outro lado, esta interação é inexistente tanto nos reagentes quanto em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  do caso dicloro, até que nos produtos passa a surgir como uma fraca interação atrativa de van der Waals. Isto reforça o fato de que não apenas Pt(II) pode interagir não covalentemente com hidrogênios, como também é possível com Cu(I).

A evolução das distâncias interatômicas entre os principais átomos ao longo das primeiras etapas estão disponíveis pela Tabela 8.

**Tabela 8: Comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) para a 1<sup>a</sup> etapa completa em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET1}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2\text{-adic}$ , ambos via IRC**

Par atômico	ET1 <sub>diCl</sub> Cu			ET1 <sub>diOH<sub>2</sub></sub> Cu		
	Reagentes	ET	Produtos	Reagentes	ET	Produtos
$\text{Pt(II)}\cdots\text{Cl}^-_{\text{saída1}}$	2,41	2,79	4,06	-	-	-
$\text{Pt(II)}\cdots\text{O}_{\text{OH}_2\text{-saída1}}$	-	-	-	2,13	2,50	3,58
$\text{Pt(II)}\cdots\text{S}^-_{\text{Cys15}}$	3,97	2,86	2,36	3,72	2,94	2,35
$\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$	2,88	2,76	2,89	3,28	2,90	2,76
$\text{Cu(I)}\cdots\text{S}^-_{\text{Cys15}}$	2,42	2,35	2,46	2,46	2,53	3,46
$\text{Cu(I)}\cdots\text{O}_{\text{Cys15}}$	3,29	3,25	3,15	2,34	2,32	2,25
$\text{Cu(I)}\cdots\text{HOH}_2\text{-adic}$	3,70	3,39	2,44	2,11	2,23	3,23

Em comparação com a fase gás, as maiores diferenças observadas correspondem às distâncias  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$  e  $\text{Cu(I)}\cdots\text{S}^-_{\text{Cys15}}$ . Em relação ao par atômico  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$ , a distância encontrada nos reagentes de *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  em meio solvatado é maior que o sistema análogo na fase gás; por outro lado, em *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  em meio solvatado foi observado encurtamento de  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$  não só nos reagentes como também nos produtos. É provável que a solvatação no caso do reagente dicloro cause mais impacto na distribuição de cargas da estrutura e em Pt(II), uma vez que os ânions  $-\text{Cl}^-$  estão mais suscetíveis aos efeitos de polarização pelo contínuo dielétrico do que ligantes  $-\text{OH}_2$ . Desta forma, uma menor carga eletrônica concentrada em Pt(II) devido à polarização de seus ligantes proporcionaria também menor contribuição para interações com Cu(I), enfraquecendo as interações

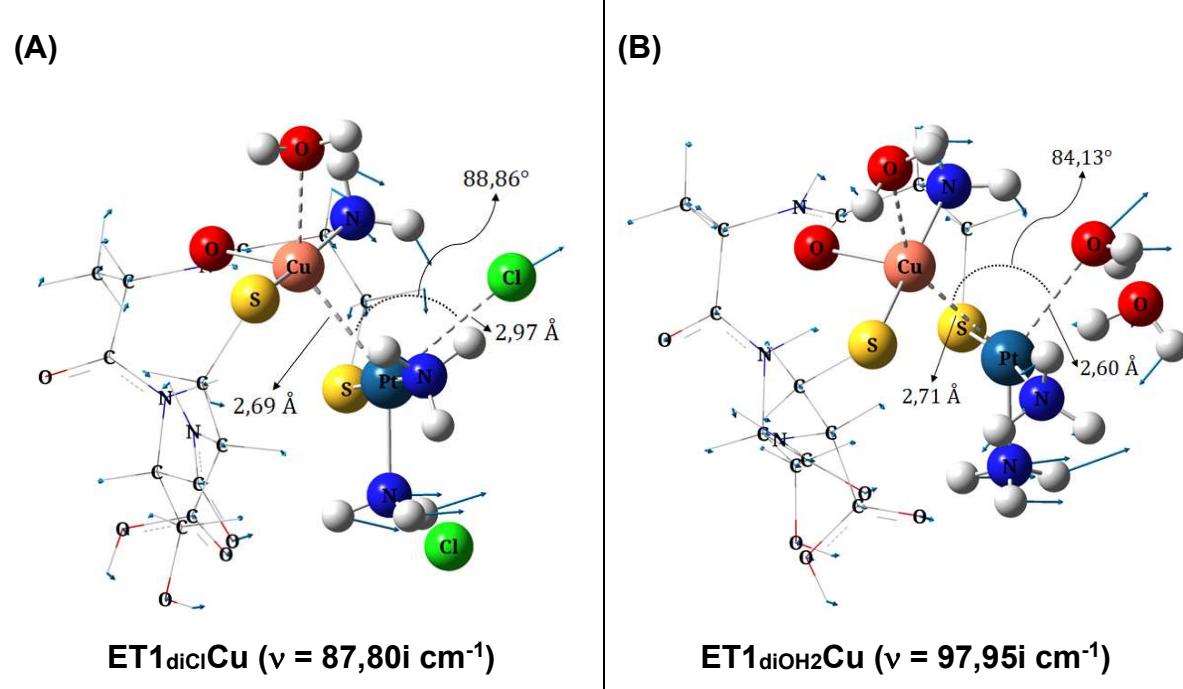
metal-metal. Apesar disso, a distância  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$  no reagente dicloro continua sendo bem menor que em diaquo.

Quanto ao par atômico  $\text{Cu(I)}\cdots\text{S}^-\text{Cys15}$ , o sistema contendo o reagente dicloro apresentou diminuição desta distância, enquanto no sistema contendo reagente diaquo foi observado aumento. Agora, a observação que se faz associando-se o efeito da solvatação é oposta à discussão do par  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$ : há possibilidade do solvente estar atuando nos sistemas de modo a enfraquecer a interação  $\text{Cu(I)}\cdots\text{S}^-\text{Cys15}$  no reagente diaquo e fortalecer no reagente dicloro. Contudo, estas observações ainda carecem de outros aspectos importantes não apresentados aqui, como a presença de maior quantidade de moléculas explícitas de solvente ocupando a cavidade, uma vez que a grande diferença da posição espacial de  $\text{OH}_{2\text{-adic}}$  dentre as estruturas não permite comparações mais precisas destas propriedades.

Outra questão interessante é a curta distância (de apenas 2,11 Å) do par  $\text{Cu(I)}\cdots\text{H}_{\text{OH2-adic}}$  no reagente diaquo. Como discutido anteriormente, os cálculos computacionais apontam para possível existência interações não covalentes fortes entre os átomos. Mais detalhes relacionados ao estudo topológico das estruturas são apresentados na subseção 5.2.4.

### 5.2.2 2<sup>a</sup> etapa

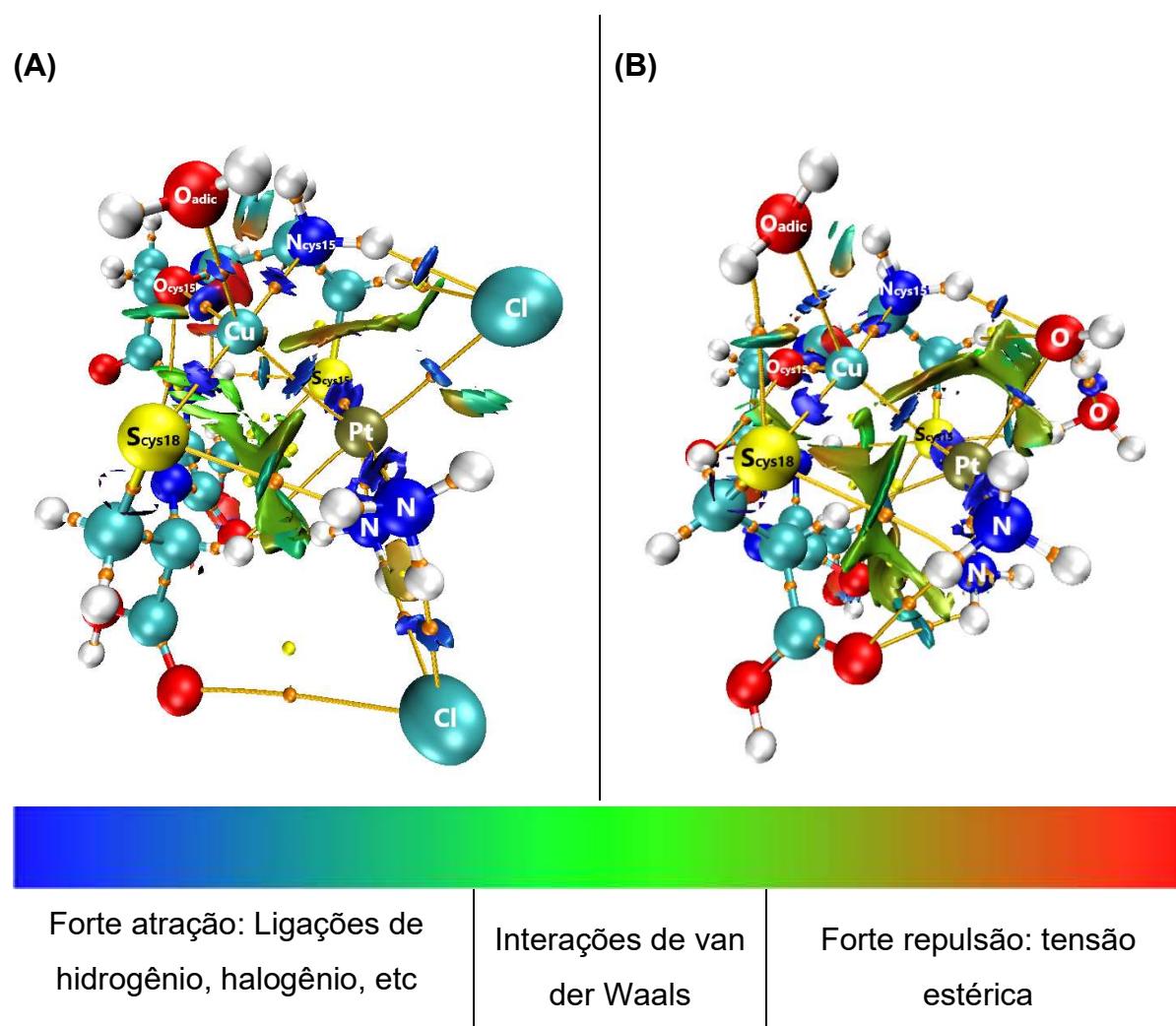
As novidades nesta subseção são o aparecimento do estado de transição correspondente à 2<sup>a</sup> etapa na reação do caso dicloro ( $\text{ET2}_{\text{diClCu}}$ ) e os resultados de IRC para  $\text{ET2}_{\text{diOH2Cu}}$ . A Figura 45 exibe estas estruturas de estado de transição.



**Figura 45: Estruturas de ET2<sub>dioCl</sub>Cu e de ET2<sub>dioOH2</sub>Cu em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic com vetores dos modos vibracionais**

Assim como caracterizado para ET2<sub>dioOH2</sub>Cu em fase gás (subseção 5.1.2), as geometrias obtidas de estados de transição em ambos casos consiste de uma bipirâmide trigonal em relação ao centro Pt(II), e outra bipirâmide trigonal em relação ao centro Cu(I), sendo a interação Pt(II)···Cu(I) integrante aos eixos equatoriais de cada uma das formas geométricas. Os modos vibracionais de estiramento assimétrico, como esperado, são recorrentes nos grupos OH<sub>2</sub>-adic···Cu(I)···Pt(II), Cu(I)···Pt(II)···Cl<sup>-</sup> (em ET2<sub>dioCl</sub>Cu) e Cu(I)···Pt(II)···OH<sub>2</sub> (em ET2<sub>dioOH2</sub>Cu).

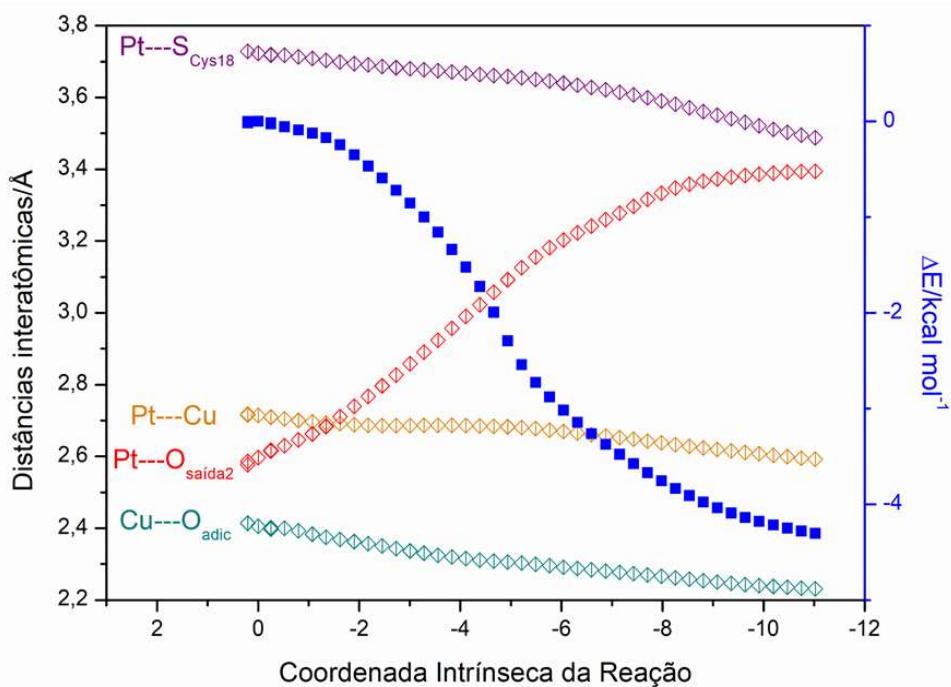
A interação Cu(I)···O<sub>OH2-adic</sub> (isto é, do metal com oxigênio) também é prevista, uma vez que a translocação manual do grupo OH<sub>2</sub>-saída1 feita nos mecanismos em fase gás (subseção 5.1.2) foi fundamental para encontrar a estrutura de ET2<sub>dioOH2</sub>Cu. Quando se leva em consideração as interações atrativas Cu(I)···H<sub>OH2-adic</sub> evidenciadas na 1<sup>a</sup> etapa, percebe-se que mudanças importantes na distribuição de cargas devem estar ocorrendo de uma etapa a outra: antes, Cu(I) apresentou certa característica nucleofílica devido ao surgimento da interação Cu(I)···H<sub>OH2-adic</sub>, enquanto agora tal interação desaparece e passa a ser Cu(I)···O<sub>OH2-adic</sub>, o que muda para eletrofilicidade. Esta nova interação é mostrada na Figura 46.



**Figura 46: Resultados de cálculos NCI para ET2<sub>d1</sub>ClCu (A) e ET2<sub>d1</sub>OH<sub>2</sub>Cu (B) em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>**

A maior alteração estrutural que ocorre entre o produto de ET1 e ET2 é o encurtamento da distância Cu(I)…Pt(II). À medida que Pt(II) se aproxima de Cu(I), o último passa a interagir com a água com característica mais eletrofílica. Desta forma, é possível que Pt(II) desempenhe um papel importante na distribuição eletrônica e/ou na polarização de Cu(I), podendo ser o fator de maior impacto nesta mudança das interações não covalentes.

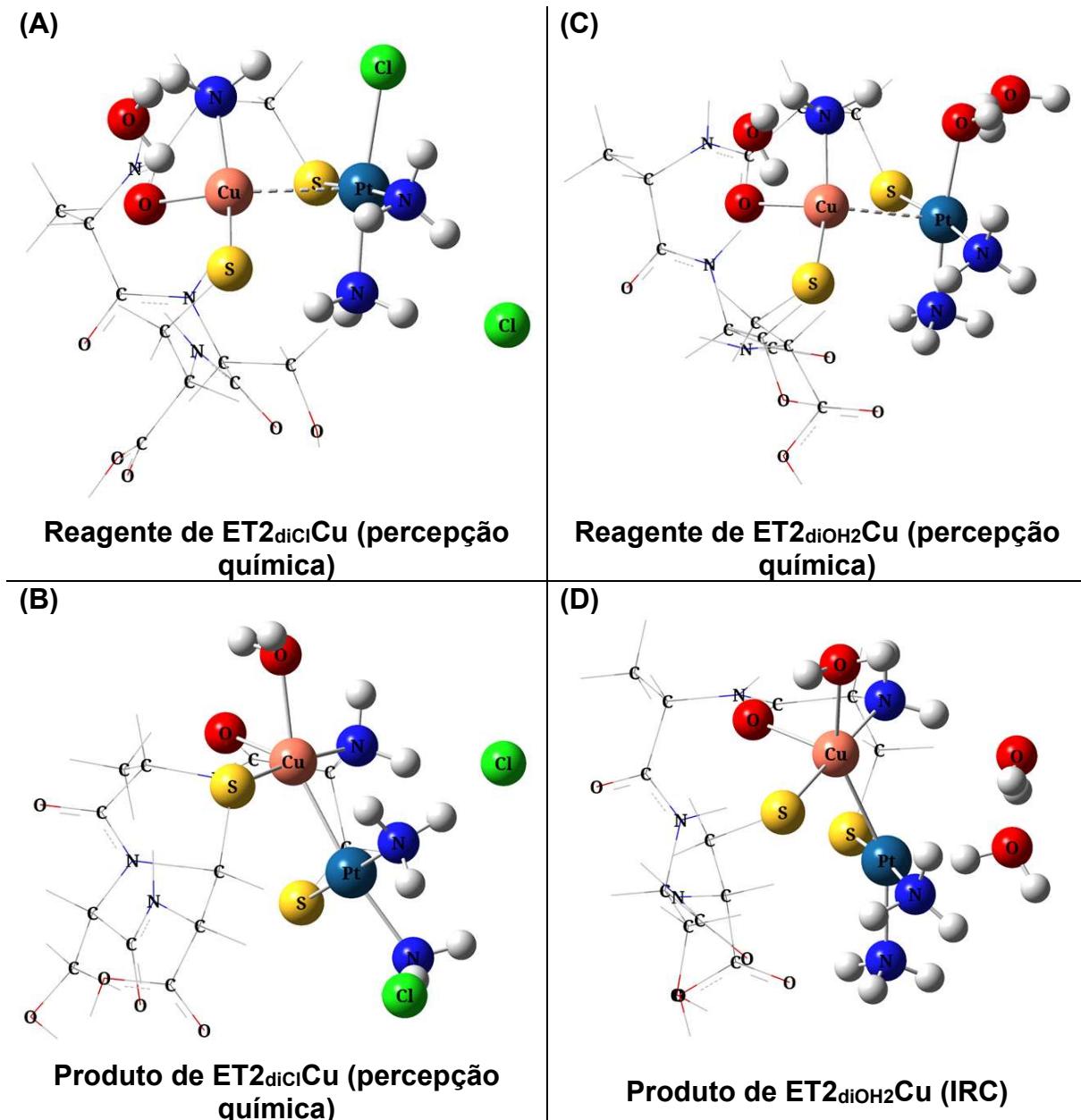
Das tentativas de cálculos de IRC realizados, apenas o caminho de reação partindo do estado de transição para produto em ET2<sub>d1</sub>OH<sub>2</sub>Cu foi obtido. A Figura 47 mostra o comportamento da curva de energia ponto-a-ponto, assim como as distâncias interatômicas ao longo da coordenada de reação.



**Figura 47: Gráfico de IRC para formação de produtos via  $ET2_{dioH2}Cu$  em IEFPCM +  $OH_{2-adi}$  com distâncias interatômicas (em Å)**

Percebe-se a pequena variação de energia entre a estrutura no ponto de estado de transição e o último ponto calculado (4 kcal mol<sup>-1</sup>, aproximadamente). O comportamento do ligante de saída ( $OH_{2saída2}$ ) em relação à Pt(II) apresenta grande variação, ao passo que as curvas representando aproximações de Pt(II) e  $O_{OH2-adi}$  ao Cu(I) são mais suaves. Esta observação leva-nos a pressupor que a conversão do complexo ativado em produtos tem a eliminação do ligante  $OH_{2saída2}$  como fator mais impactante na estabilização da estrutura. Além disso, devido à não confirmação de ligação metal-metal, juntamente com a ausência da parte do IRC que caracteriza a conversão do complexo ativo em reagentes, não é possível inferir o tipo de mecanismo potencial para esta etapa.

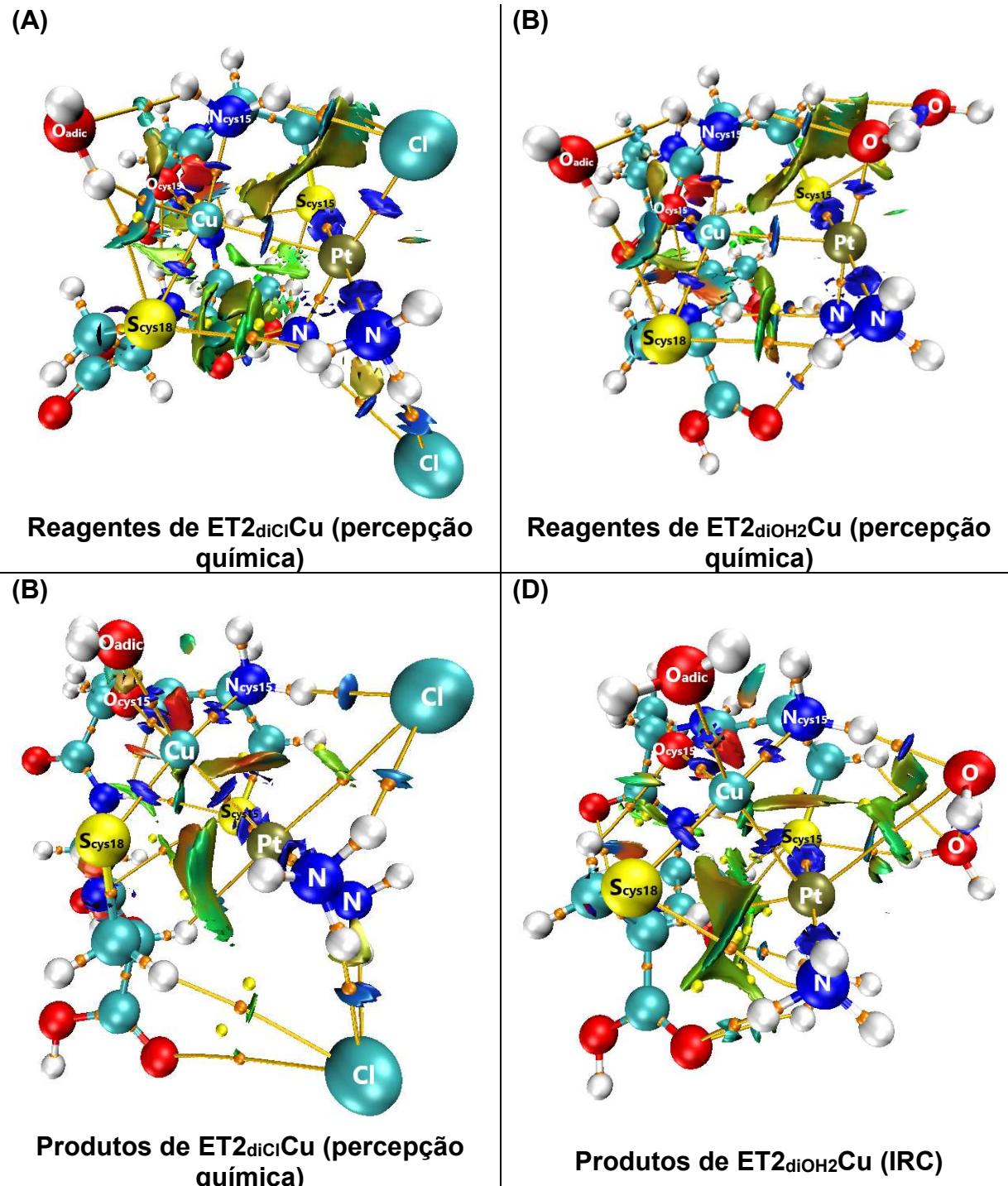
Por via IRC ou percepção química, as estruturas de possíveis reagentes e de produtos possíveis/via IRC foram obtidos por cálculos de otimização, como é mostrado pela Figura 48.



**Figura 48: Estruturas otimizadas de reagentes e produtos de  $\text{ET2}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  (A e B) e  $\text{ET2}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$  (C e D) em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

Todas as discussões em termos de estrutura feitas ao longo da subseção 5.1.2 (em relação a  $\text{ET2}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$ ) se aplicam também aqui. Quanto aos contrastes, observa-se que as distâncias  $\text{Cu(I)}\cdots\text{HOH}_2\text{-adic}$  voltam a se encurtarem nos possíveis reagentes de  $\text{ET2}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  e de  $\text{ET2}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$ , assim como observado na 1<sup>a</sup> etapa das reações. Nota-se também que a estrutura de produtos de  $\text{ET2}_{\text{diOH2}}\text{Cu}$  via IRC apresenta a mesma distorção da geometria quadrática plana com centro Pt(II) como sua correspondente em fase gás; em  $\text{ET2}_{\text{diCl}}\text{Cu}$ , no entanto, esta distorção não é observada, e Pt(II) também estabiliza-se nesta mesma geometria por interações fortemente atrativas com

Cu(I). Mais adiante, na subseção 5.2.4, estas interações importantes que surgem ao longo dos mecanismos propostos serão mais detalhadas em termos de análise topológica por NCI. Por enquanto, por análise qualitativa das isosuperfícies de interações não covalentes, a Figura 49 exibe os cálculos de NCI para as estruturas de possíveis reagentes e via percepção química/IRC de produtos da 2<sup>a</sup> etapa.



**Figura 49: Resultados de cálculos NCI para reagentes e produtos de  $ET2_{dicl}Cu$  (A e B) e  $ET2_{dioH2}Cu$  (C e D) em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>**

Os resultados de cálculos de NCI para estruturas de produtos de  $\text{ET2}_{\text{dicl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET2}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$  mostram o surgimento de novas interações atrativas  $\text{Pt(II)}\cdots\text{H}$  relativamente fortes, sendo o hidrogênio proveniente do carbono alfa ( $\text{C}\alpha$ ) do grupo ácido carboxílico de Cys18. Nestes casos, entretanto, o arranjo octaédrico em torno de Pt(II) é completado por interações não covalentes diferentes que as obtidas em fase gás. No caso do dicloro, as interações de Pt(II) são formadas com o hidrogênio de Cys18 e com  $\text{Cl}^-_{\text{saída2}}$ ; já o caso diaquo, a forma octaédrica é distorcida e tem a participação de interações do metal com o mesmo hidrogênio e  $\text{O}_{\text{OH2-saída2}}$ . As mudanças estruturais ocorridas na segunda etapa de reação são mostradas em termos de distâncias entre pares atômicos pela Tabela 9.

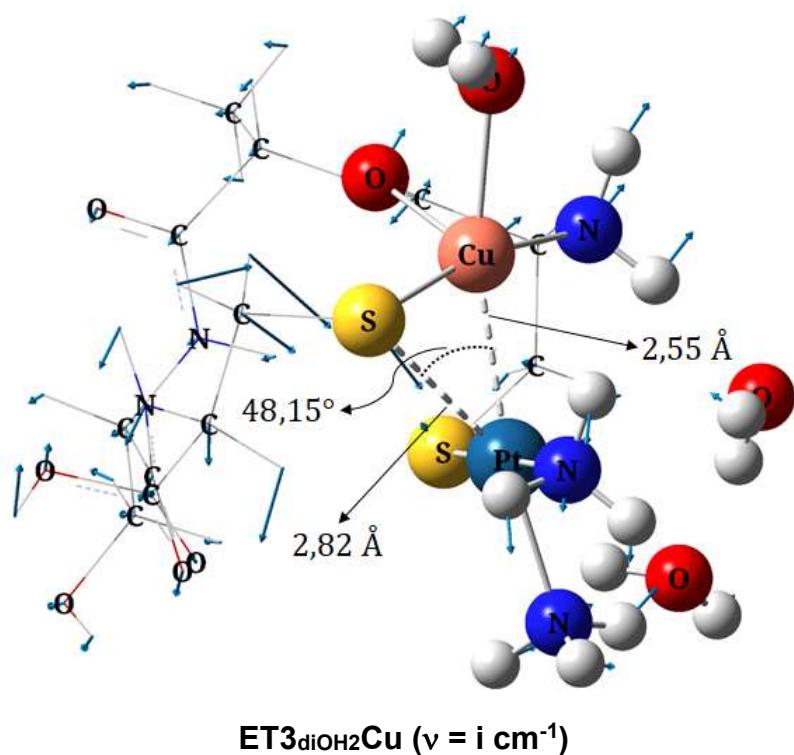
**Tabela 9: Comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) para a 2<sup>a</sup> etapa completa em  $\text{ET2}_{\text{dicl}}\text{Cu}$  e  $\text{ET2}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$  em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

<b>Par atômico</b>	<b><math>\text{ET2}_{\text{dicl}}\text{Cu}</math></b>			<b><math>\text{ET2}_{\text{dioH2}}\text{Cu}</math></b>		
	<b>Reagentes</b>	<b>ET</b>	<b>Produtos</b>	<b>Reagentes</b>	<b>ET</b>	<b>Produtos</b>
<b>Pt(II)…<math>\text{Cl}^-_{\text{saída2}}</math></b>	2,43	2,97	3,72	-	-	-
<b>Pt(II)…<math>\text{O}_{\text{OH2-saída2}}</math></b>	-	-	-	2,15	2,60	3,39
<b>Pt(II)…Cu(I)</b>	2,71	2,69	2,50	2,73	2,71	2,58
<b>Cu(I)…<math>\text{O}_{\text{OH2-adic}}</math></b>	3,02	2,35	2,16	3,01	2,41	2,23
<b>Pt(II)…<math>\text{H}_{\text{C}\alpha}</math></b>	4,97	2,84	2,61	3,16	2,52	2,33

A distância Cu(I)…Pt(II) nos produtos de  $\text{ET2}_{\text{dicl}}\text{Cu}$  tem o menor valor encontrado neste trabalho, de apenas 2,50 Å. No entanto, o encurtamento da distância entre estes átomos ocorre com uma variação pequena se comparada às variações entre Pt(II) e seus ligantes de saída. Pt(II)… $\text{H}_{\text{C}\alpha}$ , por outro lado, apresenta grandes variações e atinge curta distância nos produtos, em consonância com a discussão feita anteriormente quanto às interações entre estes átomos. Mais detalhes quanto à análise topológica destas interações serão abordados na subseção 5.2.4.

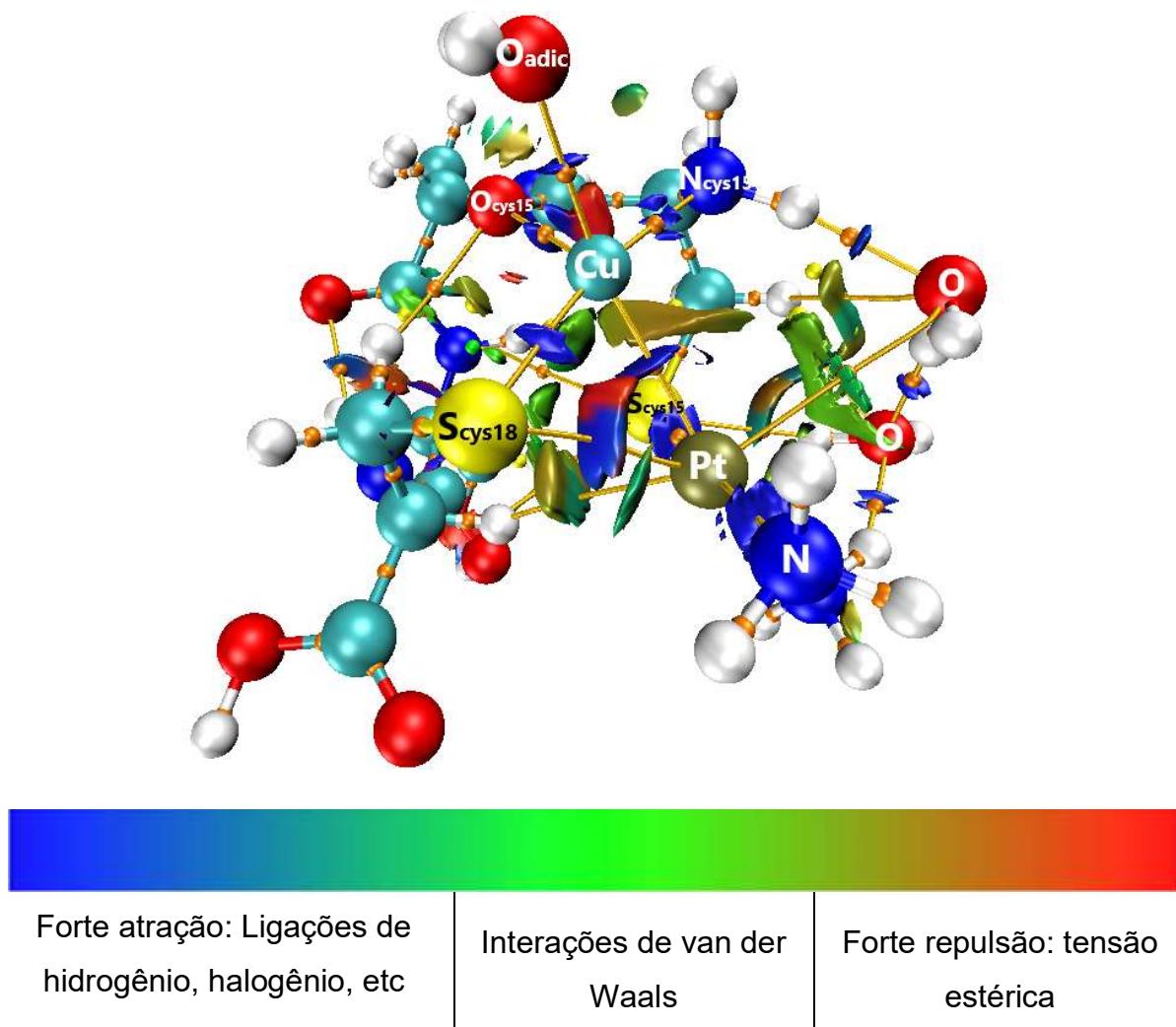
### 5.2.3 3<sup>a</sup> etapa

Para a 3<sup>a</sup> etapa que consiste na formação da ligação Pt(II)–S–Cys18, apenas o caso diaquo foi caracterizado. Assim como na fase gás, também sem a possibilidade de execução de cálculos de IRC. A Figura 50 exibe a estrutura de  $\text{ET3}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$ .



**Figura 50: Estrutura de ET3<sub>dioH2</sub>Cu com vetores dos modos vibracionais**

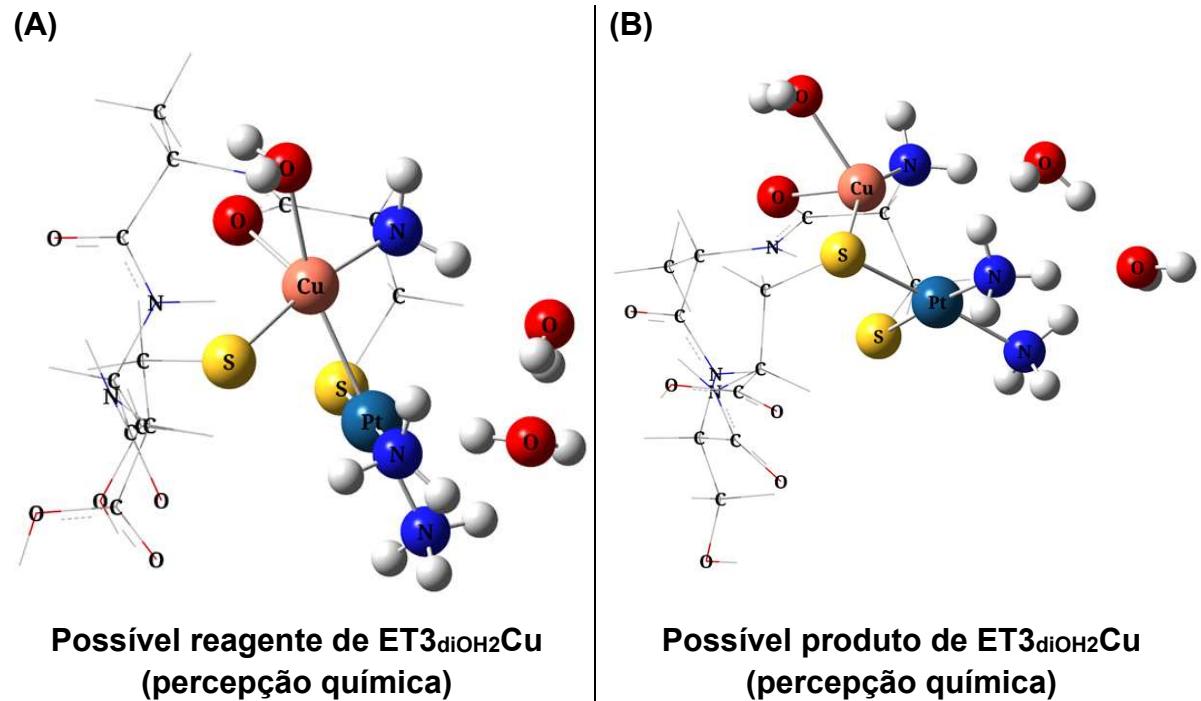
A grande distorção da bipirâmide trigonal e a predominância do modo vibracional de estiramento assimétrico são também presentes no caso do sistema solvatado. O modo vibracional associado à frequência imaginária não prevê a quebra da ligação Cu(I)···S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub>, mas sim a tendência de S<sup>-</sup><sub>Cys18</sub> manter sua coordenação aos dois metais concomitantemente, formando um complexo dinuclear em ponte. Para isto, Pt(II) se distancia de Cu(I) e diminui consideravelmente a intensidade de suas interações atrativas, dando lugar à uma nova interação repulsiva que impede esta aproximação metal-metal. Os resultados dos cálculos NCI mostram as interações que descrevem esta tendência.



**Figura 51: Resultado de cálculos NCI para  $\text{ET3}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2\text{-adic}$**

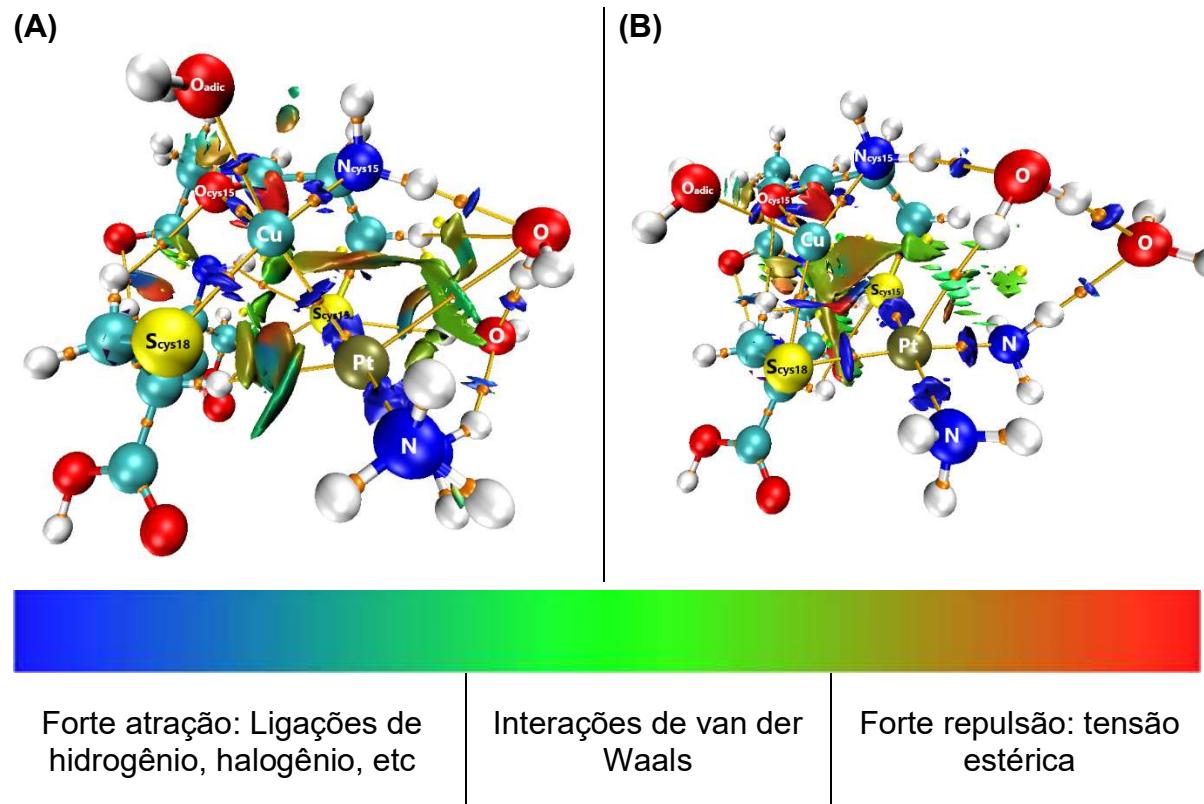
Pt(II) ainda demonstra interações atrativas (mais fracas) com  $\text{H}_{\text{C}\alpha}$  e a molécula de água substituída na 2<sup>a</sup> etapa, sendo estabilizado por interações fracas de van der Waals pelas posições perpendiculares ao quadrático plano (novamente lembrando uma geometria octaédrica). Como não há indícios de quebra da ligação  $\text{Cu(I)}-\text{S}^-\text{Cys18}$ , uma região em vermelho surge na isosuperfície entre os três átomos, indicando interações repulsivas que lembram-nos o observado em  $\text{ET1}_{\text{diCl}}\text{Cu}$  ( $\text{Pt(II)}\cdots\text{S}^-\text{Cys15}\cdots\text{Cu(I)}$ ).

Acredita-se que a superfície associada à conversão de  $\text{ET3}_{\text{diOH}_2}\text{Cu}$  em reagentes e produtos possua uma curvatura muito suave, uma vez que os cálculos de IRC também não foram possíveis neste caso. Alternativamente, as estruturas de possíveis reagentes e produtos foi obtida por deslocalização das posições atômicas de acordo com o modo vibracional, e seus resultados são exibidos na Figura 52.



**Figura 52: Estruturas otimizadas de possíveis reagentes (A) e produtos (B) de  $\text{ET3}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$  em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

Em contraste com os produtos resultantes de  $\text{ET2}_{\text{dioH2}}\text{Cu}$ , aqui os possíveis reagentes não apresentam tamanha distorção na geometria quadrática plana em relação à Pt(II). Nos possíveis produtos há formação tetraédrica com Cu(I) como centro, e a distância Cu(I)…Pt(II) passa a ser maior. Naturalmente, esta interação metal-metal, agora, deve ter sua menor contribuição para a estabilização complexo. Os resultados de NCI são mostrados pela Figura 53.



**Figura 53: Resultados de cálculos NCI para reagentes (A) e produtos (B) de  $ET1_{dioH2}Cu$  em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

Os resultados de NCI mostram que, na estrutura de possível produto, a isosuperfície que caracteriza a interação metal-metal agora aponta para fraca atração e ausência de BCP, mais próxima de interação de van der Waals. Nos possíveis reagentes, o quadrático plano sem tamanha distorção encontrada na 2<sup>a</sup> etapa surge junto com uma região de maior força atrativa de Pt(II)…S<sup>-</sup>Cys18. Além disso, as interações Pt(II)…O<sub>OH2-saída2</sub> e Pt(II)…H<sub>Cα</sub> ainda são presentes nestas duas estruturas.

Por fim, os dados que ilustram as mudanças importantes ocorridas nesta 3<sup>a</sup> etapa são mostrados na Tabela 10.

**Tabela 10: Comprimentos de ligação e distâncias interatômicas (em Å) para a 3<sup>a</sup> etapa completa em  $ET3_{dioH2}Cu$  em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

	<b><math>ET3_{dioH2}Cu</math></b>		
<b>Par atômico</b>	<b>Reagentes</b>	<b>ET</b>	<b>Produtos</b>
<b>Pt(II)…S<sup>-</sup>Cys18</b>	3,16	2,82	2,37
<b>Pt(II)…Cu(I)</b>	2,52	2,55	2,78
<b>Cu(I)…S<sup>-</sup>Cys18</b>	2,22	2,20	2,33

A ligação Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub>, ao final da reação de substituição de ligantes em meio solvatado, é maior que a encontrada para seu análogo em fase gás e pode ter o efeito do solvente como a contribuição mais importante para esta observação. Embora a distância Cu(I)…Pt(II) não seja grande ao final do mecanismo proposto, suas interações atrativas estão entre as mais fracas encontradas neste trabalho. Por fim, o comprimento de ligações Pt(II)–S em todo o estudo se manteve em 2,36 e 2,37 Å, o que pode estar associado à força da ligação que é discutida na literatura(ODENHEIMER; WOLF, 1982; VRANA; BRABEC, 2002).

Ao final da apresentação em detalhes das estruturas que compõem os mecanismos propostos, são agora apresentadas as coordenadas as reações com seus respectivos valores de energias de barreira e de formação. A Figura 54 se inicia pela reação entre [CuCASC]<sup>–</sup> e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>].

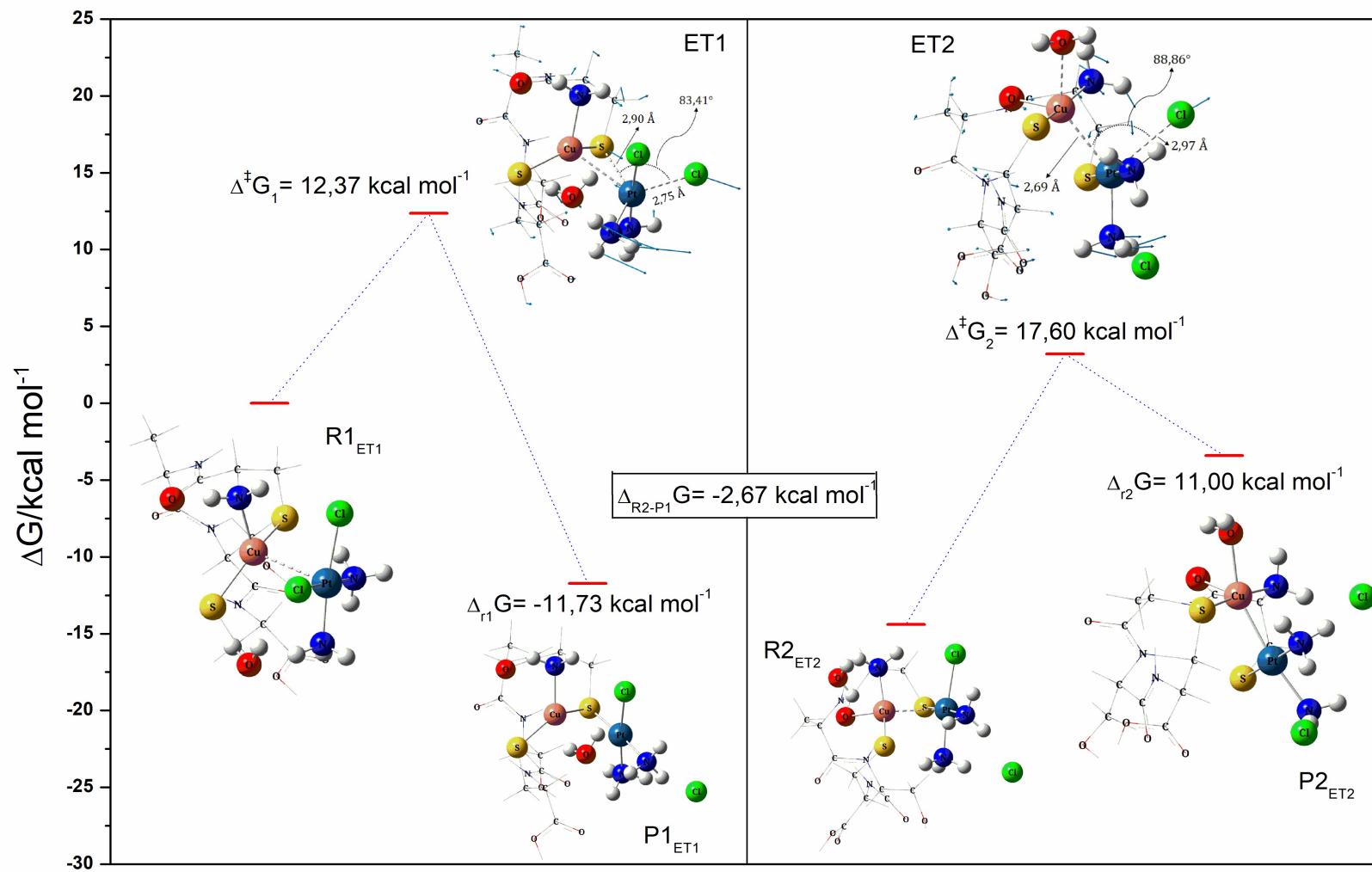


Figura 54: Diagrama de coordenada de reações entre  $[\text{CuCASC}]$  e  $cis-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2$ -adic

Nota-se uma diferença de 7 kcal.mol<sup>-1</sup> que existe entre as energias de barreira entre a fase gás e o sistema em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic. Como se trata de um sistema onde há maior quantidade de íons, espera-se que a polarização que na cavidade do soluto seja mais intensa e as cargas aparentes maiores, uma vez que as interações íon-dipolo estão entre as interações não covalentes mais fortes. A solvatação não afeta apenas a barreira, como também o  $\Delta_{r1}G$  com uma diferença de pouco mais de 4 kcal.mol<sup>-1</sup> em relação ao encontrado em fase gás. Ou seja: a solvatação do sistema evidencia uma reação mais rápida e mais exergônica.

Em contraste, a 2<sup>a</sup> etapa agora possui a maior energia de barreira e potencialmente se tornaria a etapa determinante da velocidade. De fato, com a substituição de um ligante Cl<sup>-</sup> por uma interação não covalente forte (porém, de menor densidade eletrônica) com Cu(I), era de se esperar que se trataria de uma reação mais lenta e não espontânea. No caso da água, um ligante mais duro, esta troca de ligante deve ser de mais fácil ocorrência.

A Figura 55, agora, apresenta a coordenada de reação para o caso diaquo.

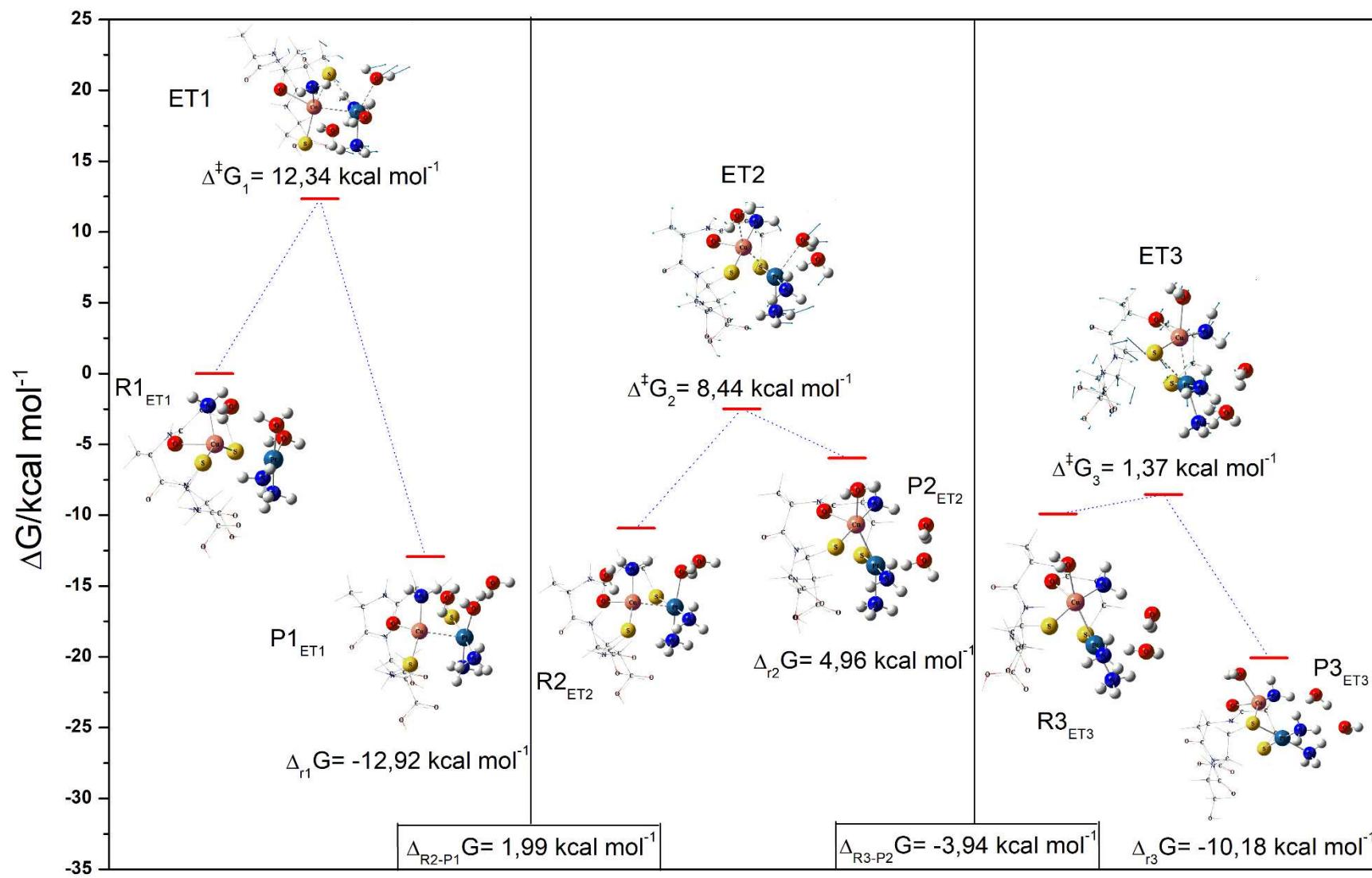


Figura 55: Diagrama de coordenada de reações entre  $[\text{CuCASC}]^-$  e  $\text{cis}-[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2$ -adic

No caso diaquo, a solvatação implícita e a adição de uma molécula de água explícita não afetaram significativamente nas variações de energia livre de Gibbs da 1<sup>a</sup> etapa, ao contrário do caso dicloro. Isto pode ser um indício de que a polarização ocasionada na superfície da cavidade do soluto não seja suficiente para provocar estabilização mais acentuada no meio. Por outro lado, a posição da água adicional é um fator importante e que não é comparado com outros sistemas diferentes possíveis.

A segunda etapa se caracteriza pela substituição do segundo ligante  $-\text{OH}_{2\text{-saída}2}$  pelo fortalecimento da interação  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$ . Em comparação com sua respectiva em fase gás, apresentou maior barreira de energia e não espontaneidade da reação, embora a uma variação de  $\Delta r_2G$  menor que 5 kcal.mol<sup>-1</sup>. Ou seja: é possível que a estrutura de reagente em ET2 seja mais estabilizado em meio solvatado do que seu correspondente produto. A hipótese sobre estas circunstâncias é a de que as contribuições da solvatação do meio para a estabilização do sistema seja mais importante que as interações metal-metal. Mesmo um ligante mais duro como a água demonstra ter certa “dificuldade” de abandonar o centro Pt(II), o que corrobora com a sinalização de que  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$  não seja forte o suficiente para ser considerada uma ligação química, mas sim uma interação não covalente. Por fim, a terceira e última etapa, assim como a primeira, não sofreu diferenças significativas pós-solvatação, mantendo todas as discussões feitas referentes à fase gás como verdadeiras aqui também.

#### 5.2.4 Análise topológica

Embora a análise qualitativa seja um tanto elucidativa e importante, o tratamento quantitativo da topologia da densidade eletrônica por NCI ainda é de suma importância para se entender a magnitude das interações não covalentes de um sistema. A análise de interesse pode ser feita baseando-se em 2 parâmetros já apresentados na seção 3.6 em Metodologia Teórica, sendo eles o Laplaciano da densidade eletrônica ( $\nabla^2\rho$ ) e o sinal do autovalor  $\lambda_2$  multiplicado pela densidade eletrônica ( $\text{sinal}\lambda_2 * \rho$ ). Com estes parâmetros, avaliam-se a natureza da interação atrativa (covalente/não covalente) e a magnitude da interação baseada na magnitude da densidade eletrônica acumulada na região do ponto crítico. A análise topológica se inicia pelas interações  $\text{Pt(II)}\cdots\text{Cu(I)}$ , cuja evolução pelas estruturas de mecanismos propostos é dado em termos dos parâmetros  $\nabla^2\rho$  e  $\text{sinal}\lambda_2 * \rho$  pela Tabela 11.

**Tabela 111: valores do Laplaciano da densidade eletrônica ( $\nabla^2\rho$ ) e de  $(sinal\lambda_2) * \rho$  dos pontos críticos de ligação (BCP) entre o par atômico Pt(II)···Cu(I) dos sistemas em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>**

<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ]		<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>		
	$\nabla^2\rho$	$(sinal\lambda_2) * \rho$	$\nabla^2\rho$	$(sinal\lambda_2) * \rho$
<b>R1<sub>ET1</sub></b>	0,0905	-0,0235	0,0364	-0,0112
<b>ET1</b>	0,0899	-0,0253	0,0840	-0,0234
<b>P1<sub>ET1</sub></b>	Sem BCP	Sem BCP	0,1119	-0,0316
<b>R2<sub>ET2</sub></b>	0,1204	-0,0348	0,1171	-0,0331
<b>ET2</b>	0,0994	-0,0352	0,0998	-0,0345
<b>P2<sub>ET2</sub></b>	0,1215	-0,0539	0,1038	-0,0461
<b>R3<sub>ET3</sub></b>	-	-	0,1108	-0,0536
<b>ET3</b>	-	-	0,1022	-0,0508
<b>P3<sub>ET3</sub></b>	-	-	Sem BCP	Sem BCP

Para efeitos de comparação, vamos considerar os sinais de  $\nabla^2\rho$  e os valores de  $(sinal\lambda_2) * \rho$  médios das interações covalentes O–H da água e das interações não covalentes (ligação de hidrogênio) O···H. Nas interações covalentes, o Laplaciano é negativo e o  $(sinal\lambda_2) * \rho$  gira em torno de 0,2 a.u.; já nas ligações de hidrogênio, o Laplaciano é positivo e  $(sinal\lambda_2) * \rho$  está por volta de 0,03 a.u.(PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023). Deste modo, todos os valores do Laplaciano para as interações Pt(II)···Cu(I) são positivos, sugerindo que se trata de interações não covalentes. Quanto aos valores de  $(sinal\lambda_2) * \rho$ , percebe-se que a densidade eletrônica localizada no BCP entre o par atômico é crescente em quase todas as etapas das reações em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>. Neste sentido, nota-se que a densidade no BCP de Pt(II)···Cu(I) no complexo reagente do caso dicloro é próxima ao valor médio que encontra-se em ligação de hidrogênio, e quase duas vezes maior que a correspondente no caso diaquo. No entanto, os produtos do caso dicloro não apresentam tal BCP devido à manutenção da ligação Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> somada às interações repulsivas entre as ligações Cu(I)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> e Pt(II)–S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub>. Já no caso

diaquo, a densidade no BCP aumenta progressivamente e chega a um valor próximo de uma ligação de hidrogênio na estrutura de produtos.

Na segunda etapa dos dois casos, a densidade também aumenta nos devidos BCPs até a formação de produtos. No caso do dicloro, o valor da densidade nos produtos de ET2 chega a quase o dobro da encontrada em uma ligação de hidrogênio, dado na literatura(PENDÁS; CONTRERAS-GARCÍA, 2023). Tal magnitude de densidade eletrônica pode ser observada também no caso diaquo, embora em etapa distinta (ET3). Desta forma, entende-se aqui que a presença de Cu(I) na estrutura proteica pode proporcionar grande impacto na termodinâmica e na cinética das reações com tais complexos de Pt(II), uma vez que as interações metal-metal encontradas são reflexo de grandes acúmulos de densidade eletrônica localizadas entre os átomos. À medida que as etapas da reação de substituição de ligantes avança, percebe-se o aumento progressivo da densidade eletrônica em Pt(II)…Cu(I) concomitantemente com as diminuições da energia de barreira, apresentadas nas seções 5.1 e 5.2. As interações metal-metal, portanto, podem ser agentes de grande participação na estabilização de reagentes e complexos ativados na complexa rede de interações não covalentes que se geram nas estruturas.

Como dito anteriormente, mais considerações teórico-computacionais e experimentais são necessárias para chegarmos à conclusão de que se trata de ligação Pt(II)–Cu(I) ou de interações metal-metal de natureza não covalente, embora fortemente atrativas. No entanto, é importante mencionar que já existem trabalhos na literatura evidenciando complexos organometálicos e bioinorgânicos onde um determinado metal de transição pode se estabilizar mesmo se houver um número de coordenação menor que a prevista para a geometria do complexo e se o estado de oxidação do metal é mantido. A nova denominação para este casos, chamada de hemiquelação, foi proposta em 2013 e sugere que interações predominantemente não covalentes entre um centro metálico e um grupo adjacente (podendo também ser outro metal de transição) são possíveis e capazes de estabilizar estas estruturas(CORNATON; DJUKIC, 2021; WERLE; BAILLY; KARMAZIN-BRELOT; LE GOFF *et al.*, 2013; WERLE; DOHM; BAILLY; KARMAZIN *et al.*, 2017).

A análise topológica agora se concentra nas interações Pt(II)…H<sub>Cα</sub>, o hidrogênio do carbono quiral de Cys18. Seus parâmetros  $\nabla^2\rho$  e  $\sin\lambda_2 * \rho$  dados na Tabela 12.

**Tabela 122: valores do Laplaciano da densidade eletrônica ( $\nabla^2\rho$ ) e de  $(sinal \lambda_2) * \rho$  dos pontos críticos de ligação (BCP) entre o par atômico Pt(II)···H<sub>Cα</sub> dos sistemas em IEFPCM + OH<sub>2-adic</sub>**

<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (Cl) <sub>2</sub> ]		<i>cis</i> –[Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>		
	$\nabla^2\rho$	$(sinal \lambda_2) * \rho$	$\nabla^2\rho$	$(sinal \lambda_2) * \rho$
<b>R1<sub>ET1</sub></b>	0,0201	-0,0077	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>
<b>ET1</b>	0,0415	-0,015	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>
<b>P1<sub>ET1</sub></b>	0,0350	-0,0113	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>
<b>R2<sub>ET2</sub></b>	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>	<i>Sem BCP</i>
<b>ET2</b>	0,0344	-0,0108	0,0535	-0,0190
<b>P2<sub>ET2</sub></b>	0,0544	-0,0165	0,0701	-0,0268
<b>R3<sub>ET3</sub></b>	-	-	0,0409	-0,0129
<b>ET3</b>	-	-	0,0371	-0,0114
<b>P3<sub>ET3</sub></b>	-	-	0,0220	-0,0065

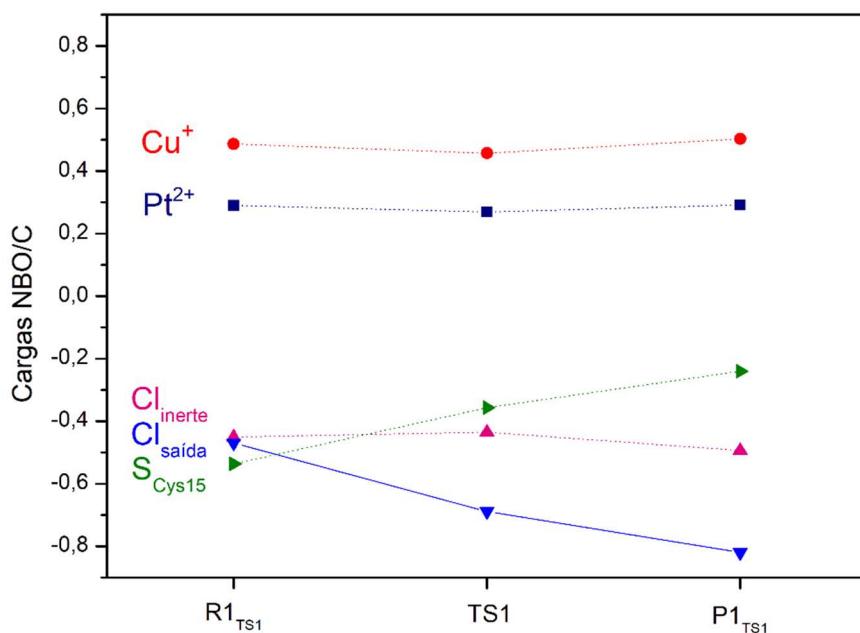
Aqui os valores dos parâmetros mostram que todas as interações Pt(II)···H<sub>Cα</sub> também são atrativas. As densidades eletrônicas localizadas entre este par atômico podem variar desde a terceira casa decimal até valores próximos à média de densidade eletrônica que encontra-se em ligações de hidrogênio (como é o caso dos produtos de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>). Assim como na análise de Pt(II)···Cu(I), alguns tipos de interação metal···hidrogênio similares também já são reportados na literatura, podendo existir com hidrogênios da água(LOPES; DE; DUARTE; ROCHA *et al.*, 2006) e de ligantes alquila(JERHAOUI; DJUKIC; WENCHEL-DELORD; COLOBERT, 2019; WU; DERAEDT; CORNATON; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2020). Nestes casos, os autores utilizam a denominação “interação agóstica” e define que se trata de uma interação deficiente de elétrons, contendo 3 centros e 2 elétrons. O metal, no caso, interage com os elétrons envolvidos na ligação H–C e H–O(WU; DERAEDT; CORNATON; CONTRERAS-GARCIA *et al.*, 2020).

### 5.3 Cálculos de carga NBO

Visando-se o suporte de propriedades de estrutura eletrônica para melhor compreensão dos mecanismos detalhados anteriormente, foram realizados cálculos de cargas NBO sobre cada estrutura obtida de cada mecanismo e seus dados de cargas localizadas nos principais átomos envolvidos diretamente na reação (ligantes de entrada e saída, Cu(I) e Pt(II)) foram disponibilizados em gráficos.

#### 5.3.1 Fase Gás

Inicia-se pelos sistemas estudados em fase gás. Os demais átomos do sistema não considerados – carbonos, hidrogênios, oxigênios, nitrogênios das porções proteicas – não apresentaram mudanças significativas de carga ao longo de todos os processos. A Figura 56 apresenta um destes gráficos, a iniciar-se pela forma holoproteica ( $ET_{dicl}Cu$ ) 1º caso (apresentado na subseção 5.1.1).



**Figura 56: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de  $ET_{dicl}Cu$  em fase gás**

O gráfico acima apresenta uma redistribuição de cargas atômicas no processo de substituição de ligantes. Nesta redistribuição,  $S^{-}_{Cys15}$  varia a carga de -0,537 C nos reagentes para -0,240 C nos produtos, enquanto em  $-Cl^{-}_{saída}$  a variação é de -0,470 C a -0,820 C. É possível que a dinâmica da distribuição de cargas esteja ocorrendo de forma a recompor a carga em Pt(II) durante o processo de troca de ligantes, pois

sua variação é pequena ao passo que as variações das cargas nos ligantes de entrada e saída são mais expressivas. É possível, portanto, que  $-S^-_{Cys15}$  esteja doando carga para o metal durante o processo de formação da nova ligação de coordenação, uma vez que o ligante  $-Cl^-_{saída}$  encontra-se na forma aniónica nos produtos e com carga negativa mais acentuada que nas estruturas de reagentes e de  $ET1_{dicl}$ . A carga em Cu(I) demonstra ser pouco afetada, embora  $-S^-_{Cys15}$  esteja coordenado concomitantemente em ponte com ambos os metais, formando o complexo bimetálico. O comportamento observado em Pt(II) e  $-SH_{Cys15}$  demonstra-se parecido mesmo na apoproteína pela Figura 57.

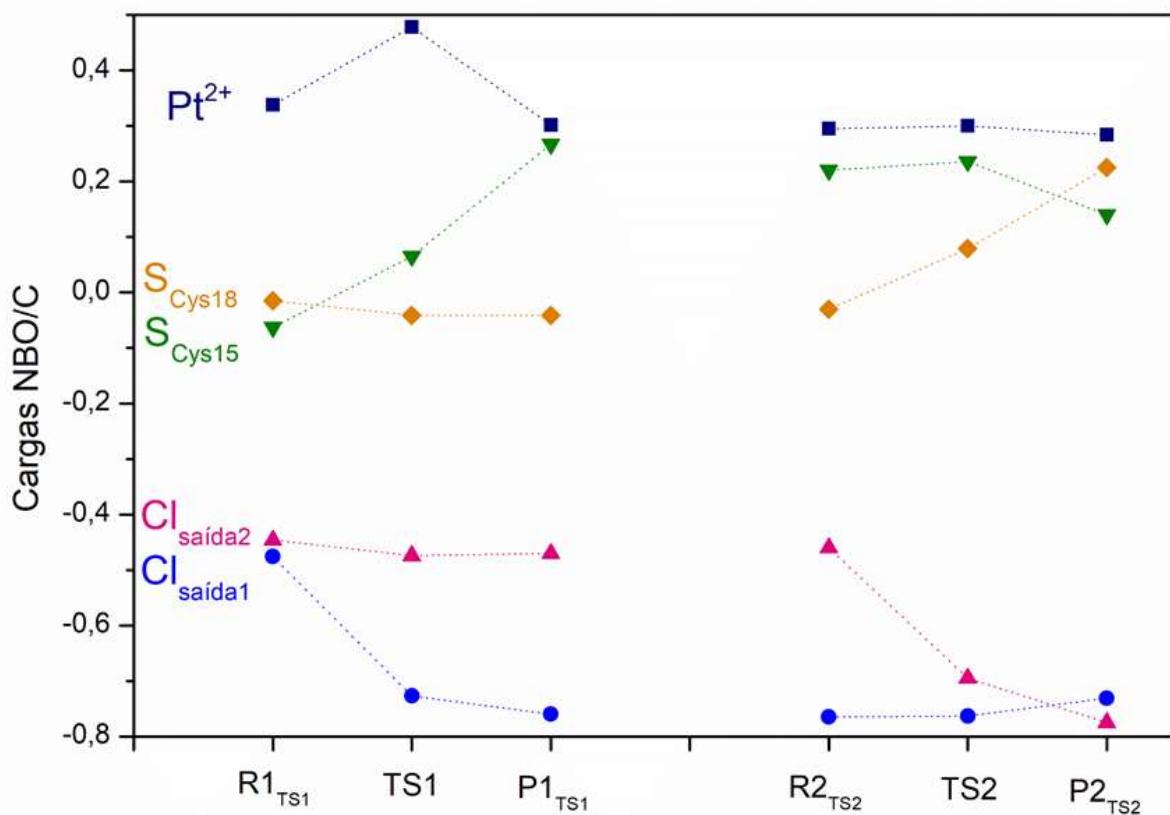
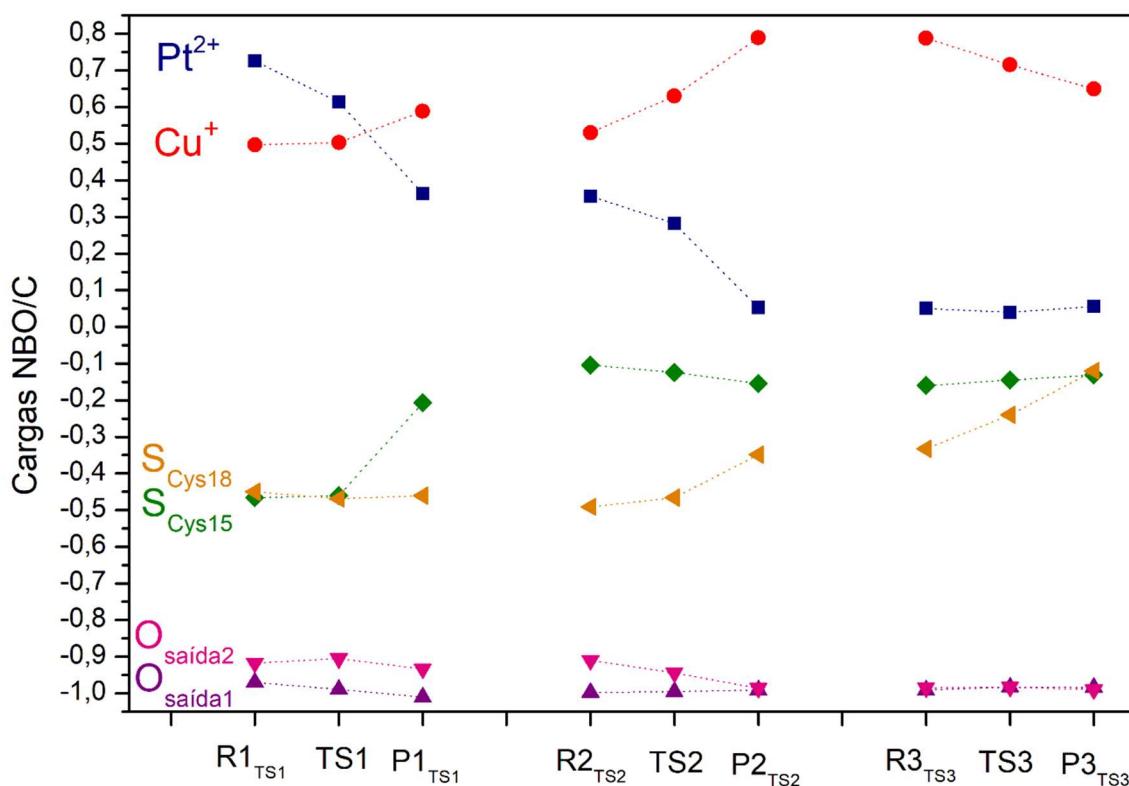


Figura 57: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de  $ET_{dicl}$  em fase gás

Pt(II) demonstra pouca alteração de sua carga parcial ao final da reação, mantendo-se praticamente no mesmo estado observado em  $ET1_{dicl}Cu$ . As cargas de  $SH_{Cys15}$  e  $SH_{Cys18}$  também variam semelhantemente com a reação na holoproteína, embora se iniciem por carga parcial mais positiva devido à sua forma tiol (em comparação com tiolato). Desta forma, a presença de Cu(I) não se desponta como um fator impactante na dinâmica das cargas nos átomos ao longo destas reações, o

que nos leva a pressupor que a natureza dos ligantes  $-\text{Cl}^-$  e  $-\text{SH}/-\text{S}^-$  sejam muito mais relevantes.

Por outro lado, os casos de complexos de Pt(II) diaquo têm demonstrado comportamentos distintos. Como citado na subseção 5.2.2, houve indícios de que as cargas atômicas pelos complexos formados ao longo das etapas estariam passando por mudanças importantes, e que agora podem ser mais bem compreendidas pelas cargas NBO calculadas, a iniciar por  $[\text{CuCASC}]^-$  pela Figura 58.



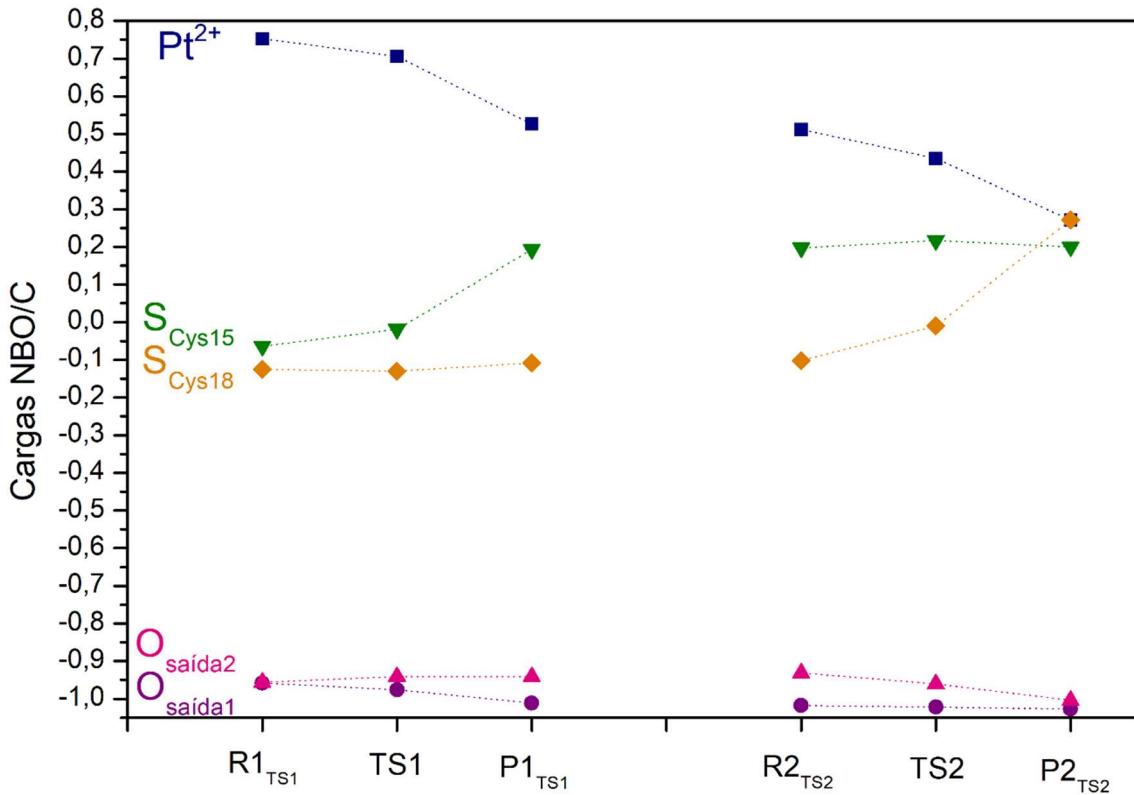
**Figura 58: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de  $\text{ET}_{\text{dioH}2}\text{Cu}$  em fase gás**

No caso onde a platina tem  $-\text{OH}_2$  como ligantes, o metal se inicia como reagente com mais baixa carga atômica localizada em si do que em *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$  e que deve estar atrelado ao fato do átomo de oxigênio ser menos polarizável que  $\text{Cl}^-$  e, portanto, uma base de Lewis mais dura. O gráfico acima torna evidente o processo de mudança de cargas em Pt(II) com o avanço das etapas sucessivas de reações de substituição dos ligantes. Na primeira etapa,  $-\text{S}^-_{\text{Cys}15}$  se torna o primeiro ligante de entrada e se pronuncia como possível principal doador de carga eletrônica para Pt(II). Na segunda etapa (na qual ocorre a provável formação ligação metal-metal), o comportamento do gráfico sugere que tanto  $\text{Cu}(\text{I})$  quanto  $-\text{S}^-_{\text{Cys}18}$  atuam como

doadores de carga para platina concomitantemente. Já na terceira e última etapa, a alteração líquida da carga concentrada em Pt(II) é desprezível e o deslocamento da carga eletrônica parece ocorrer de  $-S^-_{Cys18}$  para Cu(I) “compensatoriamente”. Nota-se, portanto, que a recepção de carga eletrônica pela platina pode ser efetivada não somente quando se estabelecem as novas ligações químicas com átomos doadores, como também pela deslocalização de cargas para o metal a partir de  $-S^-_{Cys18}$  na 2<sup>a</sup> etapa da reação mesmo que antes de formação da ligação (que ocorre somente na 3<sup>a</sup> etapa), possivelmente relacionado com a ligação metal-metal. Para os demais grupos ligantes de Pt(II) (grupos  $-NH_3$  inertes e  $-OH_2$  de saída) e de Cu(I) ( $-N_{Cys15}$ ,  $-O_{Cys15}$  e  $-OH_2$  advindo de Pt(II)), não foram observadas mudanças de cargas atômicas NBO na mesma magnitude que os átomos discutidos aqui.

Estas observações ajudam a compreender várias discussões feitas anteriormente. O fato dos cálculos de NCI para os possíveis produtos de  $ET2_{diOH_2}Cu$  mostrarem fortes interações de platina com hidrogênios vizinhos, por exemplo, pode estar relacionado com a carga próxima de 0 para Pt(II), passando a ter um caráter maior de doador de carga eletrônica em interações não covalentes. Além disso, a formação da pirâmide de base quadrada com Cu(I) central também ocorre simultaneamente com seu aumento de carga positiva durante a segunda etapa. Tendo em vista as abordagens teórico-computacionais aqui mostradas, há indícios de que Cu(I) pode se somar à cadeia polipeptídica para desempenhar um papel suplementar na estabilização do complexo  $[CuCASC]^-$  com *cis*- $[Pt(NH_3)_2(OH_2)_2]^{2+}$  ao participar diretamente de uma rede de interações não covalentes, possível formação de uma ligação metal-metal e por dinâmicas importantes das cargas atômicas no sítio ativo.

Quando Cu(I) é ausente do sítio ativo da proteína, os cálculos computacionais indicam semelhanças e diferenças importantes nas distribuições de cargas se comparada à estrutura contendo tal cátion metálico. A Figura 59 traz os resultados de cargas NBO localizadas nos principais átomos organizadas em gráfico.

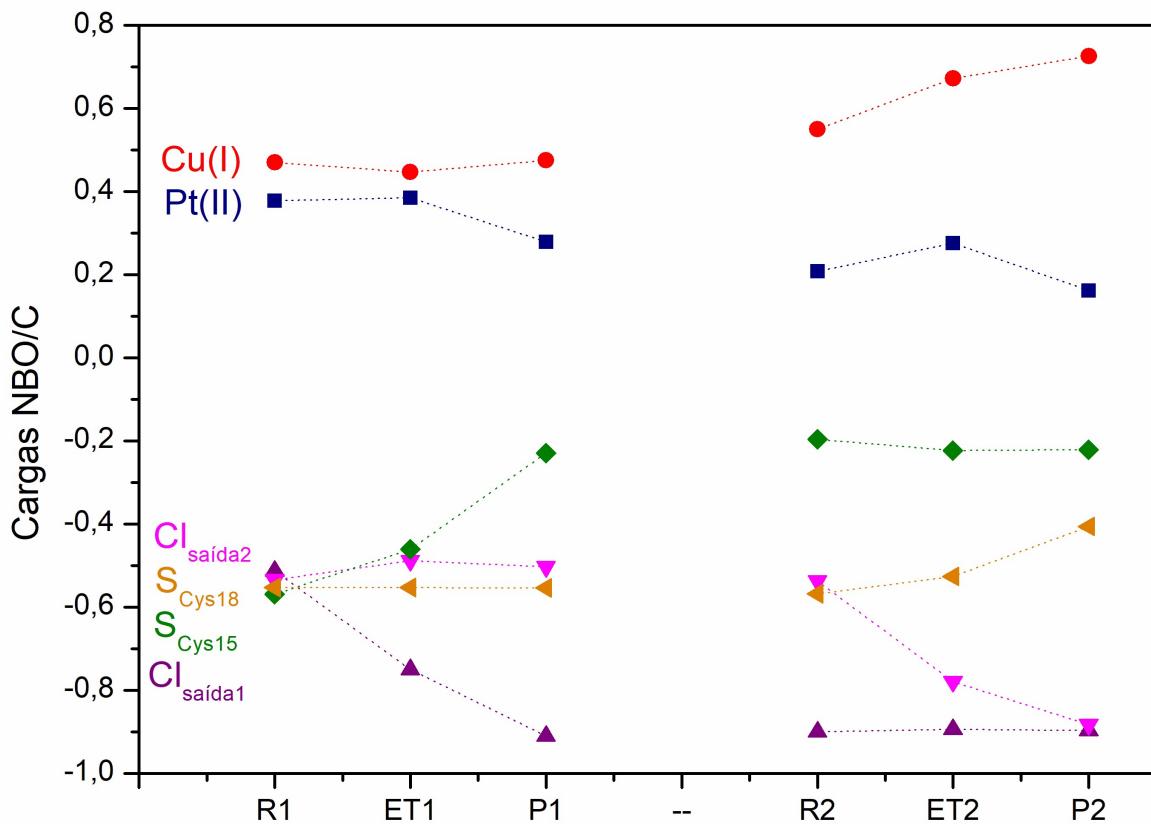


**Figura 59: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de ET<sub>dioH2</sub> em fase gás**

Percebe-se aqui que Pt(II) também adquire mais carga negativa no decorrer das reações, com a diferença de que ocorre de forma mais suave e que não atinge a carga parcial próxima de zero ao final da platinação dos grupos –SH. Por outro lado, as variações de carga totais em SH<sub>Cys15</sub> e SH<sub>Cys18</sub> são próximas às observadas na Figura 58. Os principais fatores que podem estar relacionados à estas diferenças nas cargas parciais são a presença de hidrogênios ligados covalentemente aos enxofres e à própria ausência de Cu(I) que, no caso anterior, poderia atuar como um doador de carga eletrônica para estes grupos ligantes.

### 5.3.2 IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic

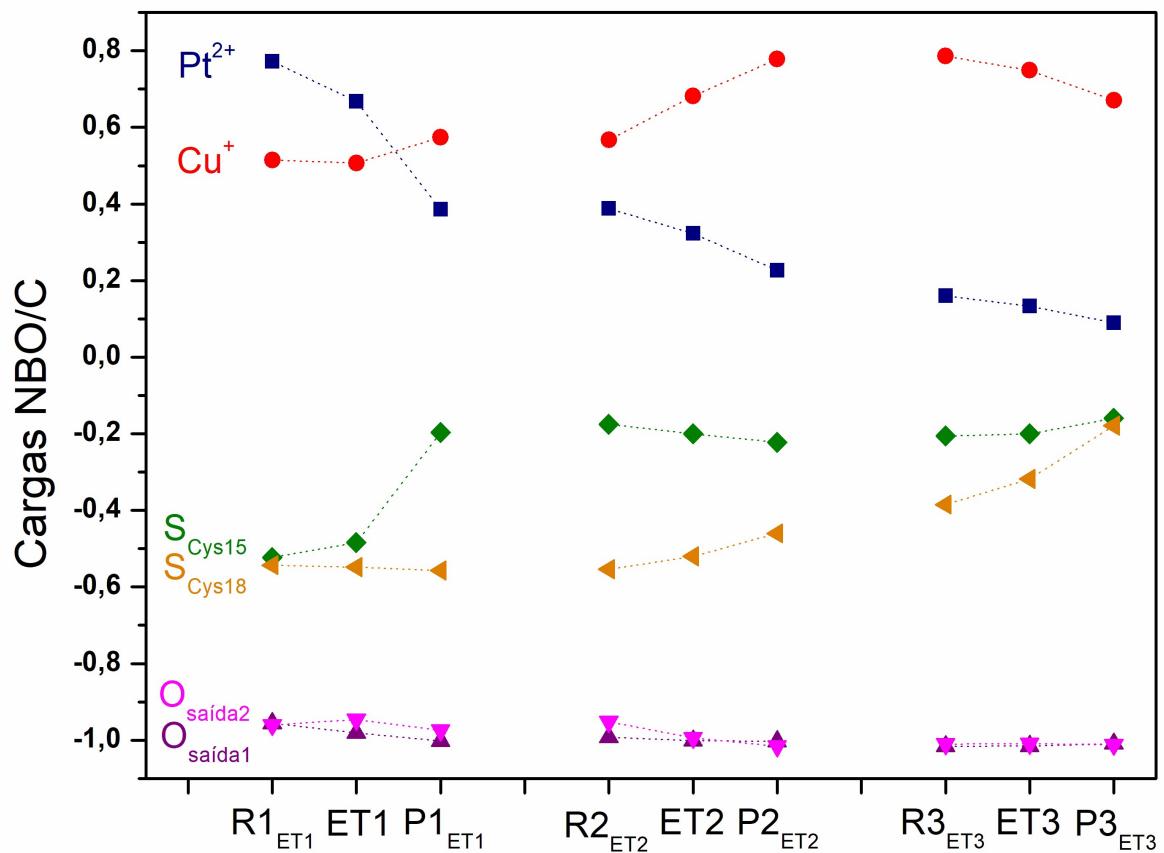
A Figura 60 mostra as mudanças nas cargas atômicas ocorridas no caso dicloro em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic.



**Figura 60: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de  $\text{ET}_{\text{dioH}_2}\text{Cu}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2\text{-adic}$**

Neste caso onde foi possível a obtenção de uma segunda etapa, nota-se que os comportamentos de mudança de cargas para os metais são praticamente os mesmos observados em  $\text{ET}_{\text{dioH}_2}\text{Cu}$  em fase gás, embora sejam mudanças mais brandas. Estes resultados levam a considerar a hipótese de que Cu(I) possa ser um doador de carga, possivelmente pela polarização que estaria ocorrendo com o encurtamento da distância entre os metais. Ou seja, Pt(II) provavelmente seria um centro que possua mais eletrofilicidade que Cu(I). Quanto aos demais ligantes de entrada e saída, os comportamentos das curvas se repetem aos casos anteriores já discutidos.

Por fim, as mudanças nas cargas atômicas para o sistema  $\text{ET}_{\text{dioH}_2}\text{Cu}$  em IEFPCM +  $\text{OH}_2\text{-adic}$  é apresentado em gráfico pela Figura 61.



**Figura 61: Gráfico de cargas NBO (em C) localizadas para os principais átomos de ET<sub>dioH<sub>2</sub>Cu</sub> em IEFPCM + OH<sub>2</sub>-adic**

Observa-se que os comportamentos das curvas, no geral, também se repetem em comparação com a fase gás, tendo apenas leves mudanças nos valores de cargas atômicas.

## 6. CONCLUSÕES

Propriedades estruturais, cinéticas e termodinâmicas de reações teoricamente propostas entre o sítio ativo de MnK6 (nas formas apoproteica e holoproteica) e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> foram investigados e discutidos neste trabalho. Os resultados indicam o maior favorecimento cinético e termodinâmico na fase gás das reações com complexos de Pt(II) diaquo, uma vez que os ligantes –OH<sub>2</sub> demonstram ser grupos abandonadores consideravelmente melhores que –Cl<sup>–</sup>. Por outro lado, os efeitos de solvatação mostraram que os casos envolvendo reagentes dicloro e diaquo possuem energias de ativação e de reação comparáveis.

Os resultados relativos às formas holoproteicas de CASC de MnK6 também indicaram que Cu(I) pode desempenhar um papel de destaque nas reações com complexos de Pt(II). No caso do reagente diaquo, o cátion pouco afeta na 1<sup>a</sup> etapa de reação (potencial etapa determinante da velocidade), mas passa a contribuir para o aumento da velocidade nas etapas seguintes e torna o processo mais exotérmico. Já nos reagentes dicloro, a presença do metal causa maior impacto ao tornar a reação consideravelmente mais rápida e espontânea, uma vez que o caso destes reagentes na ausência de Cu(I) foi o único a apresentar  $\Delta G_r$  positivo. É possível que Cu(I) possa ser considerado um catalisador nestas reações, uma vez que as interações não covalentes fortes com Pt(II) poderiam estabilizar reagentes e complexos ativados. Além disso, Cu(I) poderia atuar como um agente doador adicional de carga à Pt(II), permitir que os enxofres se encontrem na forma de tiolatos (mais reativos que tióis) e facilitar a reação de substituição em Pt(II) por S<sup>–</sup><sub>Cys15</sub> e S<sup>–</sup><sub>Cys18</sub> devido a fatores geométricos. A presença de Cu(I) e em efeito quelante com tiolatos permite que estes ligantes estejam mais próximos e disponíveis para reação com Pt(II). No que tange as etapas em que foram possíveis a execução de cálculos de IRC, os resultados quanto aos mecanismos das reações de substituição de ligantes sugerem que as trocas de ligantes ocorrem por mecanismo de intertroca associativa.

O efeito da solvatação implícita é mais significativo ao reagente dicloro em comparação ao diaquo. Também vale ressaltar que as redes de interações intermoleculares atrativas possam ser mais fortes nos sistemas envolvendo o complexo diaquo de Pt(II) e o sítio holoproteico de CASC do que no caso do reagente

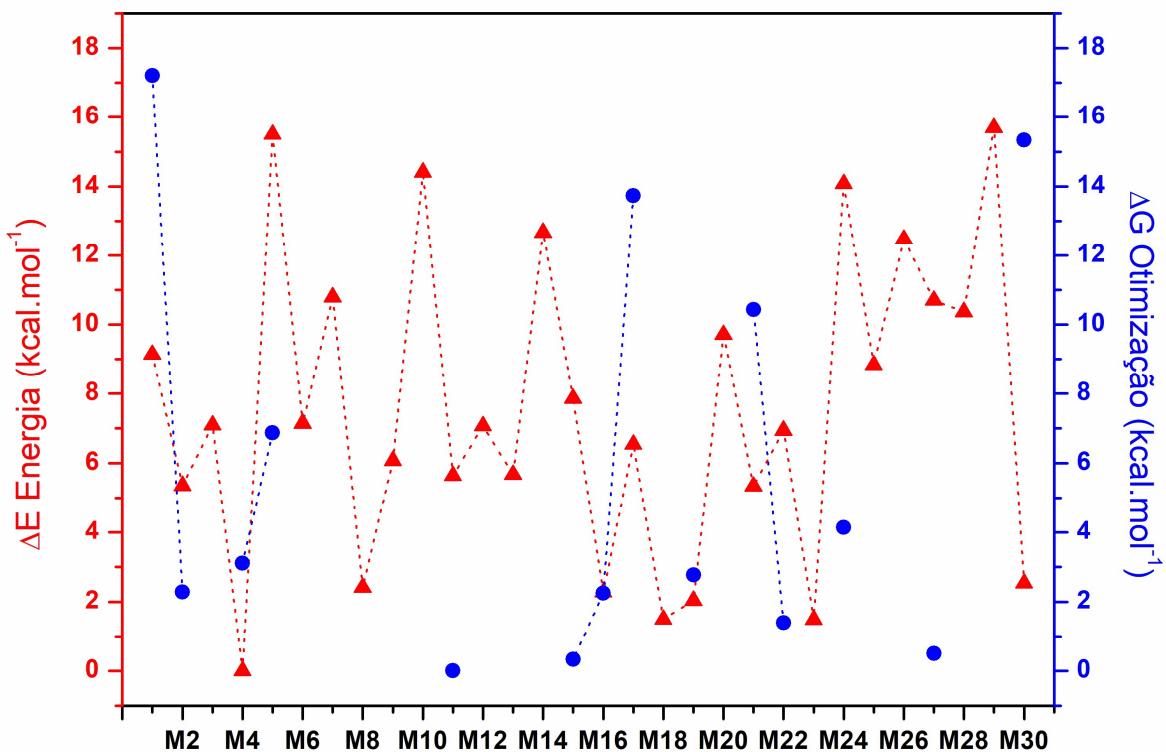
dicloro de Pt(II), podendo contribuir de forma mais significativa na estabilização dos complexos ativados das etapas determinantes de velocidade (1<sup>a</sup> etapa).

Os cálculos NCI ainda proporcionaram análise topológica quantitativa e seus dados sugerem que as interações entre os metais de transição possuem caráter não covalente, sendo mais fortes que ligações de hidrogênio na maioria dos casos e podendo ser um caso de hemiquelação. Além disso, interações Pt(II)···H<sub>Cα</sub> também foram observadas e, embora mais fracas que ligações de hidrogênio, são importantes na estabilização da platina e podem ser casos de interações agósticas.

## 7. APÊNDICE

### 7.1 Apêndice 1: Seleção de modelos apoproteico e holoproteico

Inicia-se aqui a apresentação dos resultados pela triagem dos modelos estruturais da proteína advindos de resultados experimentais. A Figura 1A.1 corresponde ao gráfico de variações de energia no ponto ( $\Delta E$ ) e de energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) calculadas para os 30 modelos de CASC de Mnk6 sem a presença de Cu(I). Os valores de  $\Delta E$  e  $\Delta G$  de cada modelo foram obtidos em relação aos menores valores de energias E e G da estrutura original e de otimização, respectivamente.

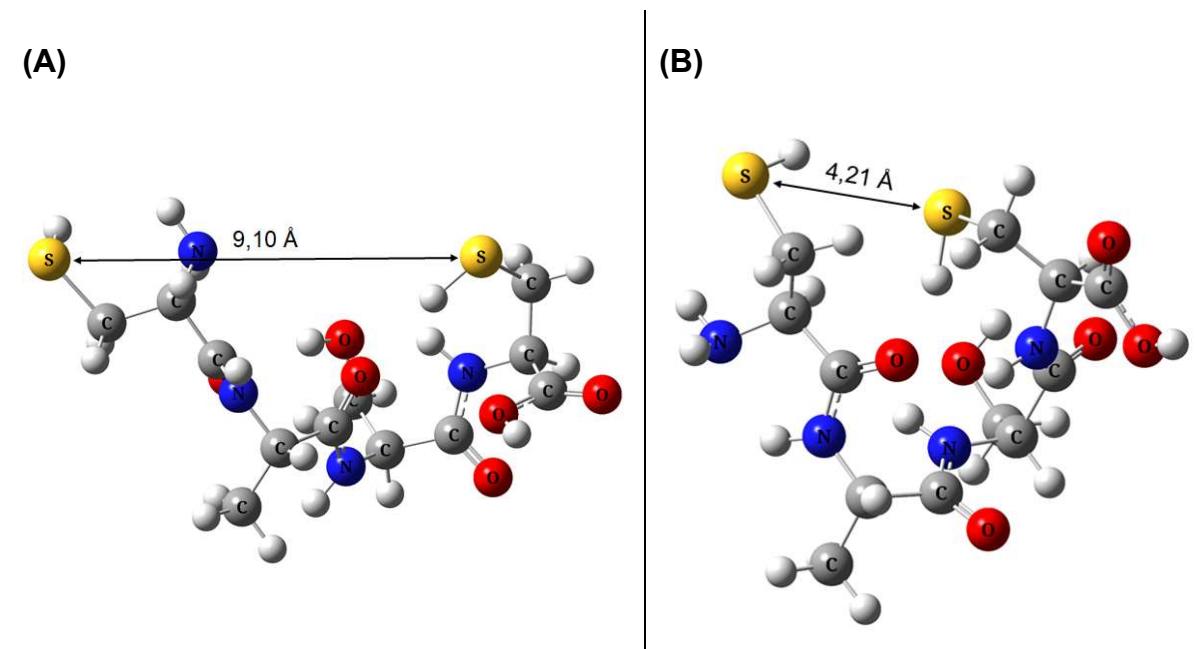


**Figura 1A. 1: Gráfico de variações de energia no ponto ( $\Delta E$ , em vermelho) e de energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ , em azul) dos modelos de CASC sem Cu(I), em DFT**

O modelo estrutural cuja energia no ponto foi a menor obtida refere-se ao modelo M4, sendo, portanto, utilizado como valor de base para os cálculos de  $\Delta E$  dos modelos restantes. Por outro lado, o modelo M11 correspondeu à estrutura de menor G absoluto. Não foi possível a obtenção de todas as estruturas otimizadas por DFT para CASC. Pode-se atribuir a quantidade considerável de problemas ao elevado grau de liberdade que esta fração polipeptídica possui (consideravelmente maior se

comparado com a estrutura completa do DLM e com a forma coordenada ao Cu(I)), à ausência de solvente e a não consideração da continuidade da cadeia polipeptídica. Como resultado, estes fatores dificultam na convergência dos cálculos.

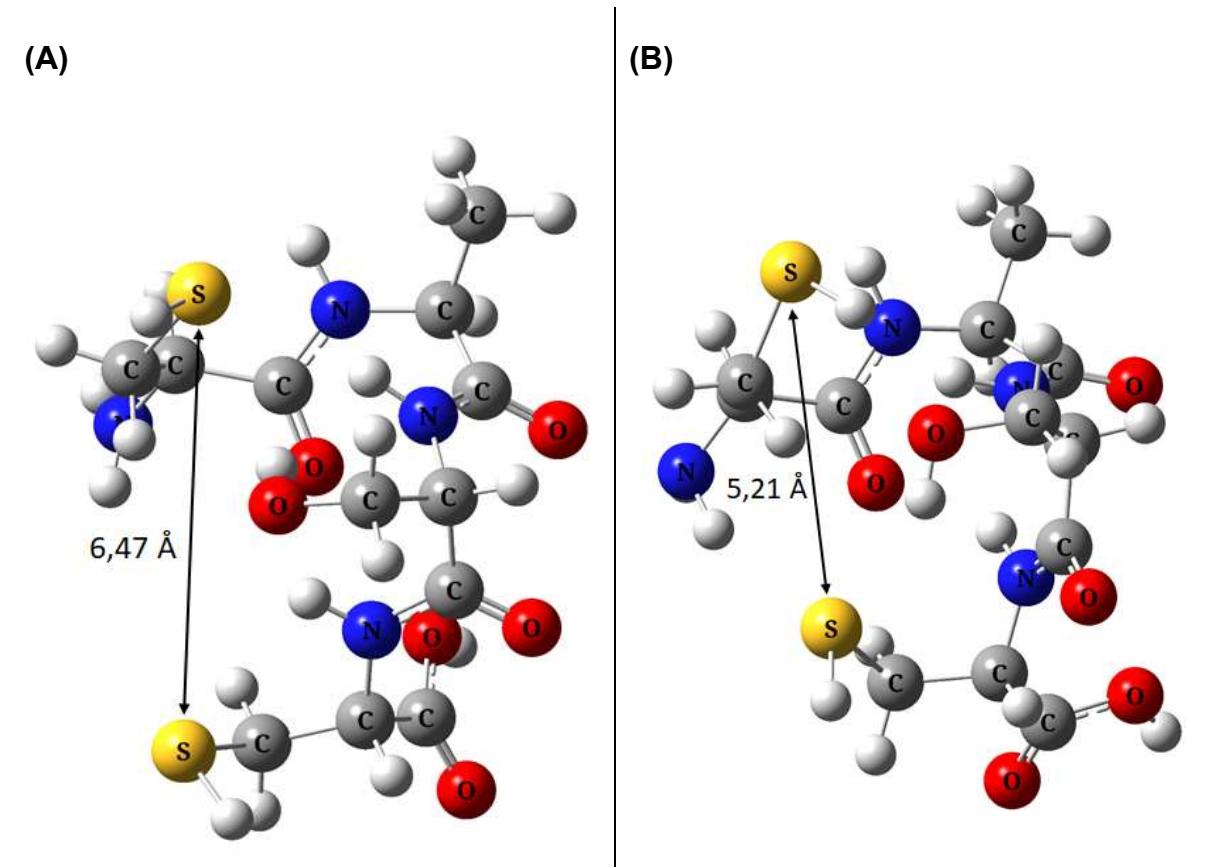
Pelo 1º critério (seção 4.1), fazem parte do grupo selecionado os modelos M2, M4, M11, M15, M16, M19, M22 e M27. Na comparação entre os cálculos de otimização de CASC em cada grupo de modelos que convergiram, o nível de condensação das estruturas é aspecto mais visível. Como ilustração, a Figura 1A.2 exibe as estruturas otimizadas dos modelos M1 e M11, correspondentes às de maior e de menor  $\Delta G$ , respectivamente.



**Figura 1A. 2: Estruturas otimizadas em DFT dos modelos M1 (A) e M11 (B), com destaque para os átomos de SH<sub>Cys15</sub> e SH<sub>Cys18</sub> em amarelo**

As estruturas que apresentaram maior distanciamento SH<sub>Cys15</sub>–SH<sub>Cys18</sub> estão entre as de maior  $\Delta G$ , provavelmente por disporem de menor quantidade de pontos de interação intramolecular. Várias regiões de alta densidade eletrônica (como oxigênios, nitrogênios e enxofres) estão dispostas no espaço sem a presença de hidrogênios ou quaisquer outros grupos positivamente polarizados vizinhos para estabilização destes átomos mais eletronegativos. As estruturas de menor  $\Delta G$ , por sua vez, apresentam maior aproximação entre os aminoácidos e maior concentração de interações intramoleculares. Como consequência, a distância entre os átomos SH<sub>Cys15</sub> e SH<sub>Cys18</sub> localizados nas extremidades desta fração proteica é menor que as estruturas menos estáveis.

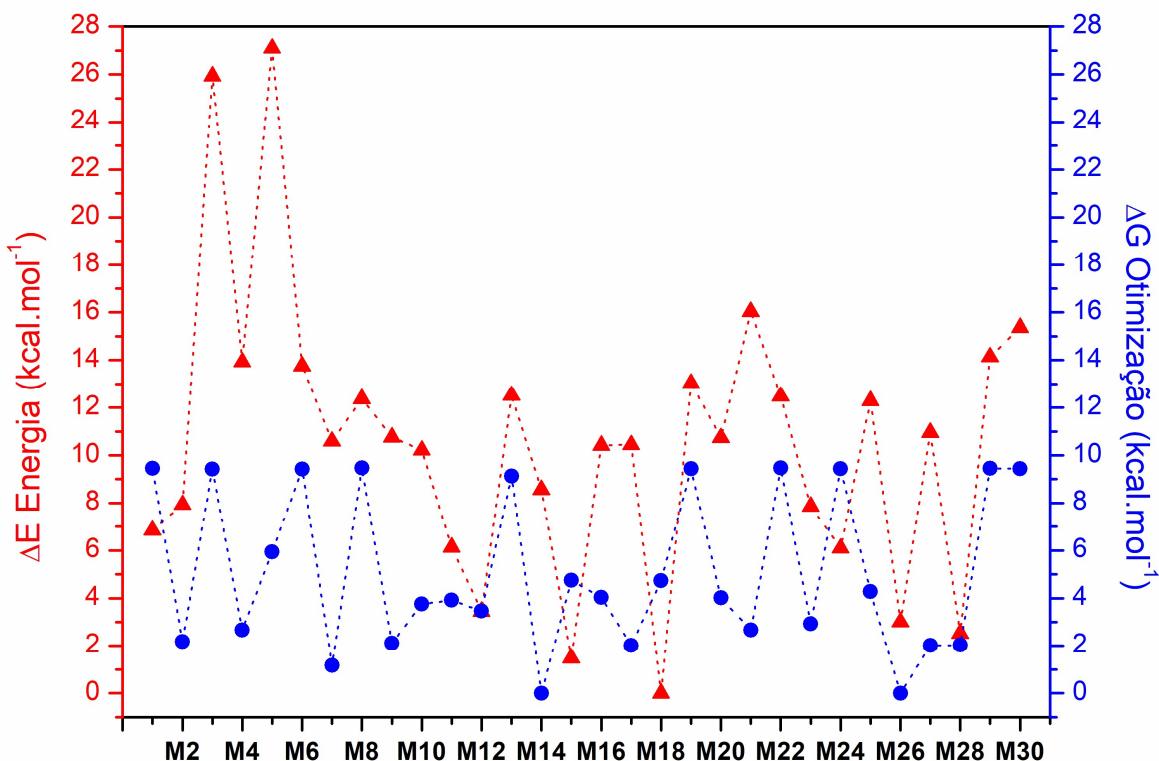
Pelo 2º critério (seção 4.1), apenas M27 foi excluído e, portanto, foi aplicado o 3º critério (seção 4.1) para todos os outros modelos restantes, onde chegou-se à conclusão que M15 seria o modelo selecionado. A Figura 1A.3 exibe as estruturas resultantes de cálculos de energia no ponto e de otimização para o modelo M15 de Mnk6, em perspectiva aproximada entre si.



**Figura 1A.3: Estruturas resultantes de cálculos no ponto (A) e de otimização (B) para o modelo de CASC M15 de Mnk6**

Nota-se que as diferenças mais marcantes entre as estruturas acima são a rotação do grupo  $-\text{COOH}$  terminal de Cys18 e do grupo  $\text{N}-\text{C}=\text{O}$  da ligação peptídica entre os aminoácidos Ser17 e Cys18, e rotações de hidrogênios para estabilização com centros mais eletronegativos.

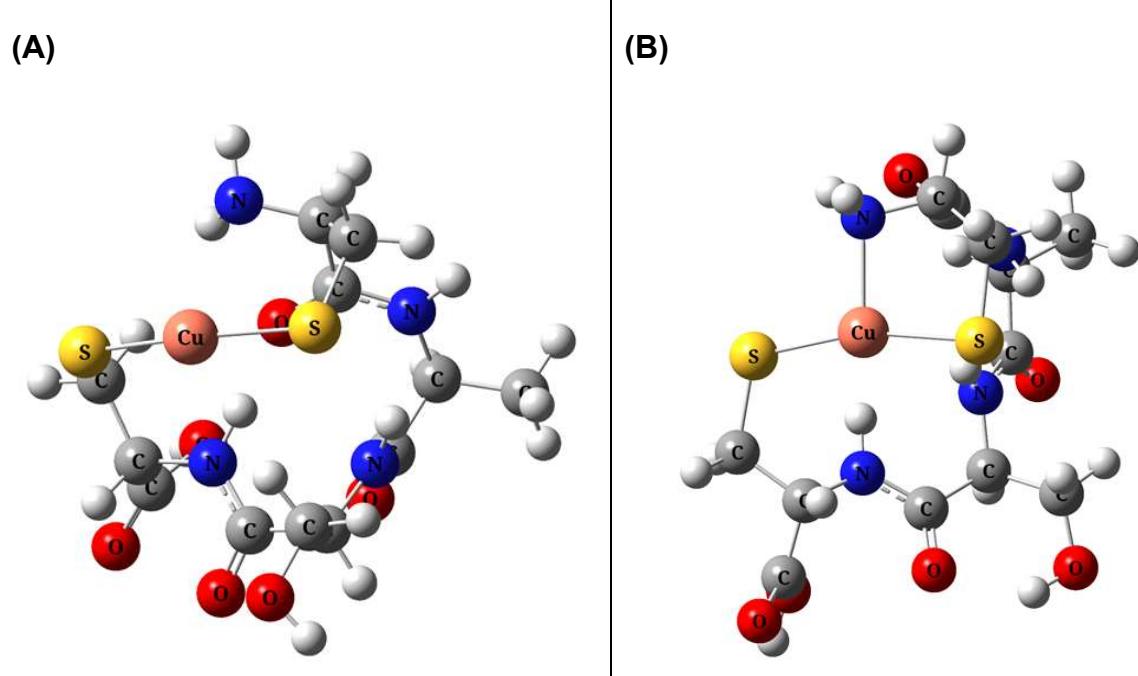
Da mesma forma que a feita para o sítio ativo apoproteico, faz-se necessária a mesma avaliação das variações de energias para as estruturas holoproteicas. A Figura 1A.4 exibe este gráfico, produzido da mesma forma à apresentada anteriormente.



**Figura 1A. 4: Gráfico de variações de energia no ponto ( $\Delta E$ , em vermelho) e de energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ , em azul) dos modelos de  $[\text{CuCASC}]^-$ , em DFT**

O modelo M26, após otimização em DFT, foi o mais estável dentre o grupo. No entanto, as diferenças de  $\Delta G$  entre M26 e os demais modelos são, no geral, pequenos, sendo M8 a estrutura associada ao máximo de energia encontrado (aproximadamente  $9,47 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ). Este fator, somado com a maior taxa de sucesso na otimização dos modelos, podem ser atribuídos ao fato de que o grau de liberdade das estruturas é reduzido com a presença de Cu(I) coordenado, em comparação com os modelos CASC sem o metal.

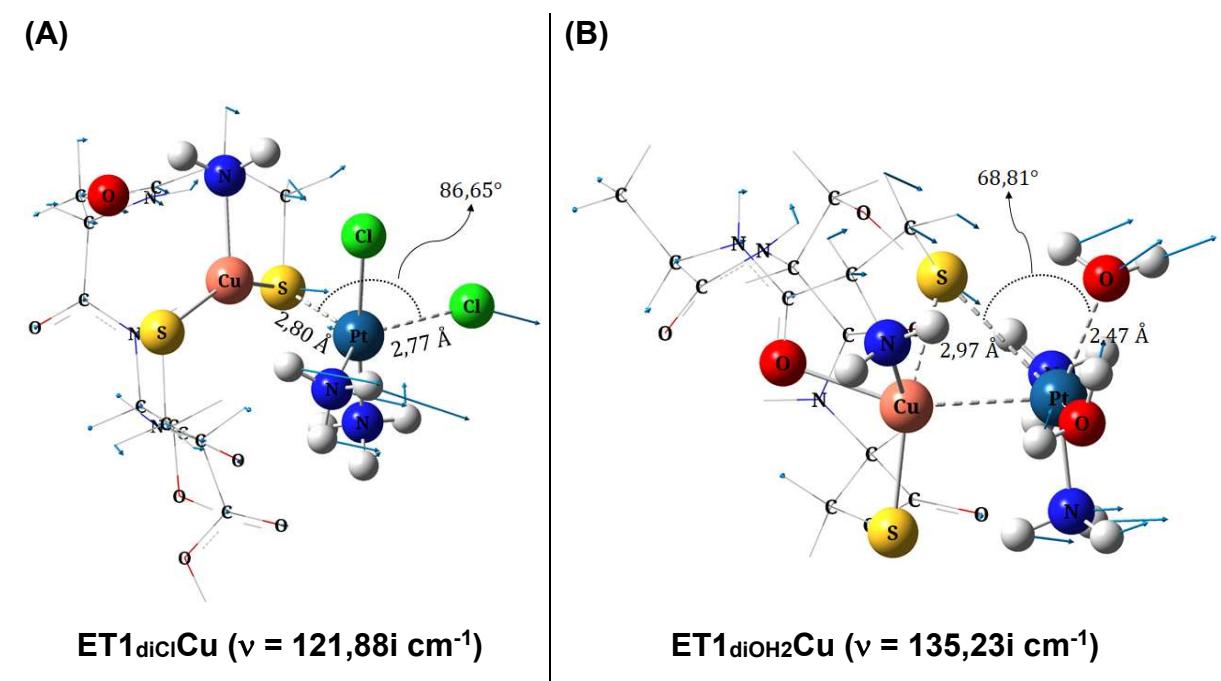
Baseando-se nos critérios estabelecidos, pôde-se concluir que os modelos M26 e M28 de  $[\text{CuCASC}]^-$  são considerados os melhores candidatos para dar prosseguimento com as simulações de reação com os complexos de platina. M26 sobressai pela maior estabilidade alcançada dentre os modelos; M28, no entanto, foi o modelo que apresentou menor modificação estrutural após a otimização em fase gás. Para fins de continuidade com os estudos de suas reações com complexos de platina, foi escolhido o M26 como estrutura-modelo de base para os cálculos de ET. Tal fração polipeptídica é exibida na Figura 1A.5, utilizando-se o grupo  $\text{S-Cys15-Cu(I)-S-Cys18}$  como referência de perspectiva no espaço.



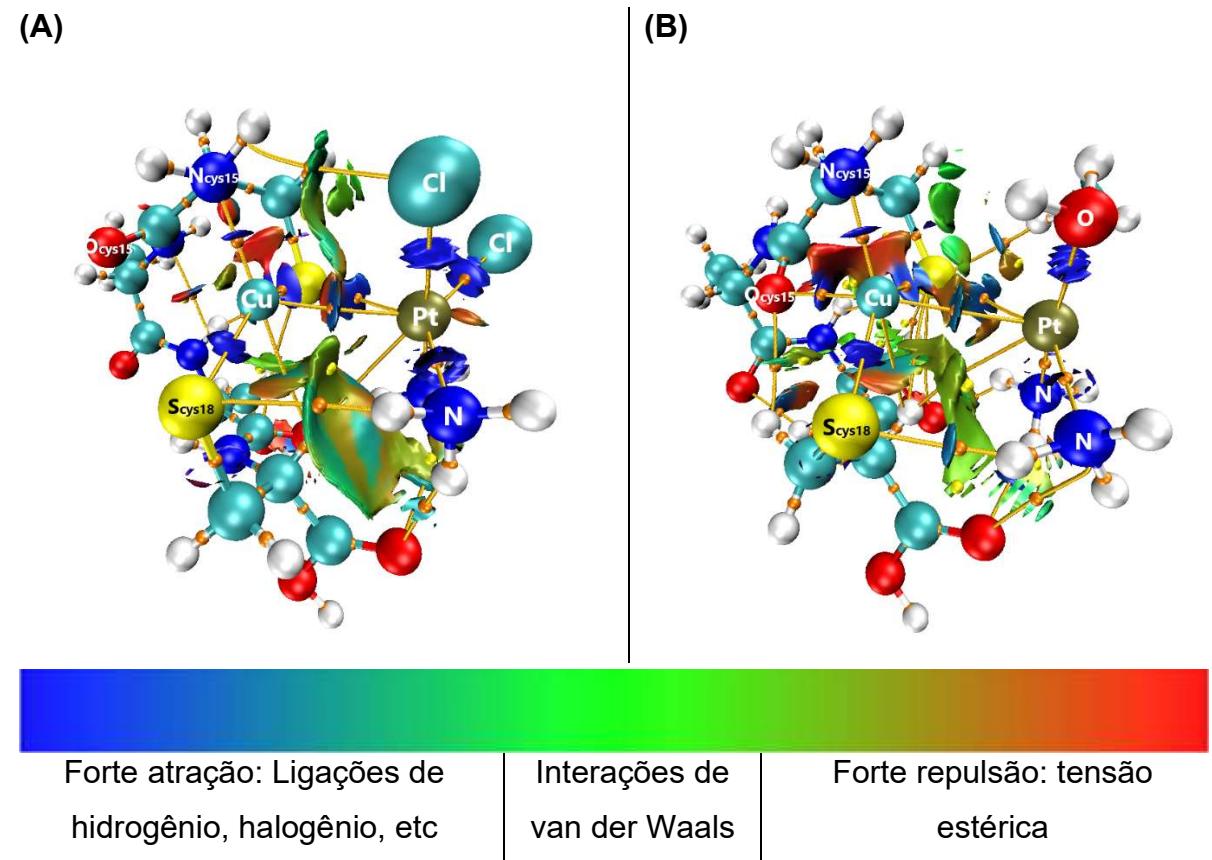
**Figura 1A. 5: Estruturas resultantes de cálculos no ponto (A) e de otimização (B) para o modelo de  $[\text{CuCASC}]^- \text{M26}$  de Mnk6**

No M26 otimizado por DFT, o Cu(I) encontra-se coordenado pelos ligantes  $\text{S}_{\text{Cys}15}$  e  $\text{S}_{\text{Cys}18}$  com comprimentos de ligação de aproximadamente 2,27 Å e 2,21 Å, respectivamente. Além das próprias ligações de Cu(I) com  $\text{S}_{\text{Cys}15}$  e  $\text{S}_{\text{Cys}18}$ , o resultado da estrutura otimizada mostra que há também uma proximidade significativa de Cu(I) com  $\text{N}_{\text{Cys}15}$ , de aproximadamente 2,14 Å. Este fator nos leva a sugerir que este átomo de caráter nucleofílico pode atuar como ligante na coordenação com o centro metálico, com geometria trigonal plana. Embora a tricoordenação seja rara para Cu(I), esta observação vai ao encontro com o enunciado por outros trabalhos(BANCI; BERTINI; CALDERONE; DELLA-MALVA *et al.*, 2009; BANCI; BERTINI; CANTINI; FELLI *et al.*, 2006; CORAZZA; HARVEY; SADLER, 1996; PUFAHL; SINGER; PEARISO; LIN *et al.*, 1997; WERNIMONT; HUFFMAN; LAMB; O'HALLORAN *et al.*, 2000). Existem ainda alguns casos clássicos para este tipo de complexo, onde um centro metálico grande pode ser coordenado por 3 ligantes volumosos(ATKINS, 2010). Possivelmente,  $\text{N}_{\text{Cys}15}$  seria um dos responsáveis na atuação direta do sítio ativo de CASC para captação e/ou liberação de Cu(I) pelo DLM. No entanto, é importante frisar que a estrutura em estudo é um recorte da proteína, e as demais interações com aminoácidos vizinhos são aqui negligenciadas.

**7.2 Apêndice 2: Estruturas de reagentes, ET, produtos e NCI de reações de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com [CuCASC]<sup>–</sup> em IEFPCM**



**Figura 2A. 1: Estruturas de ET1<sub>diCl</sub>Cu e de ET1<sub>diOH2</sub>Cu em IEFPCM**



**Figura 2A. 2: Resultados de NCI para ET1<sub>diCl</sub>Cu e ET1<sub>diOH2</sub>Cu em IEFPCM**

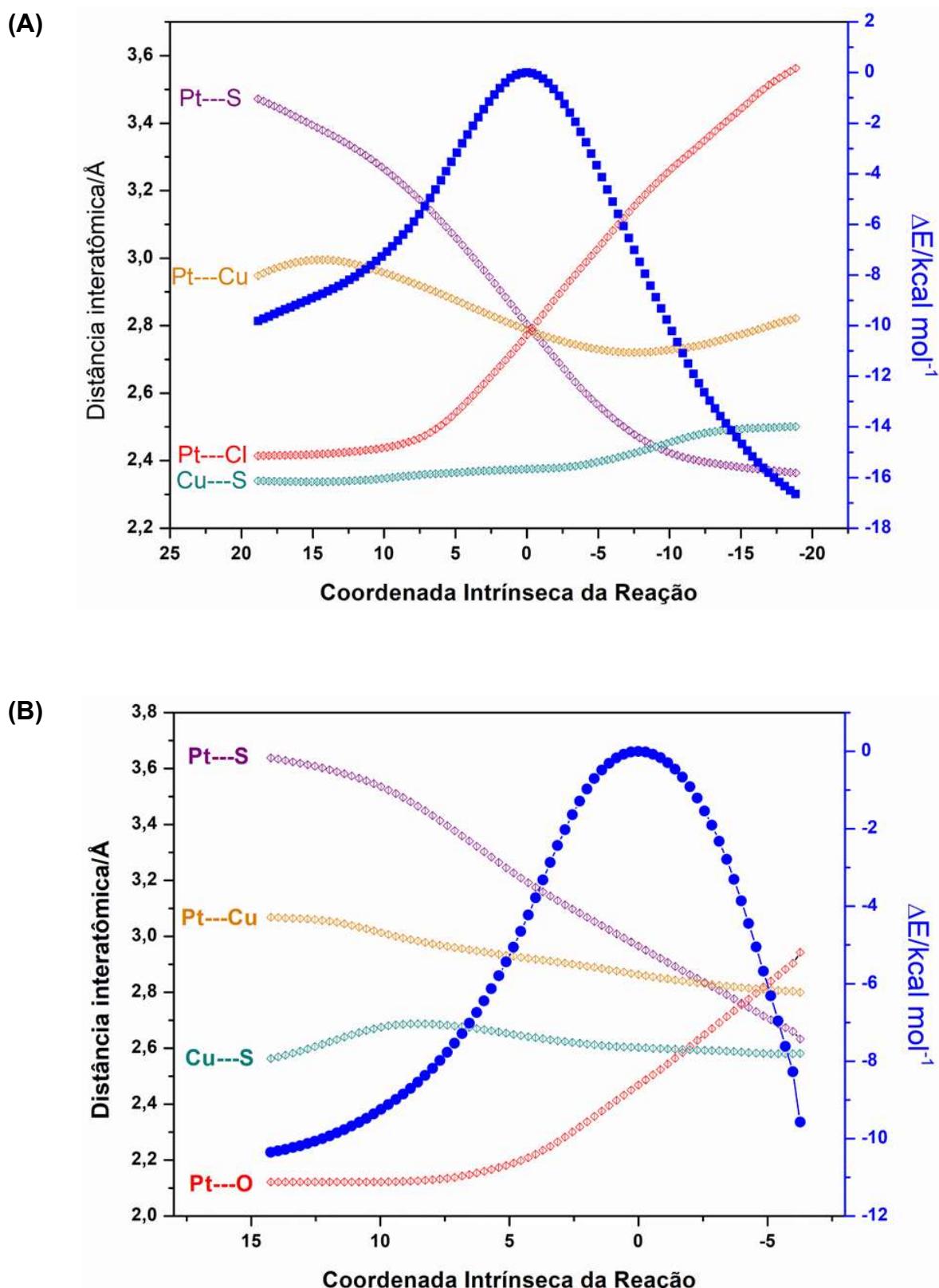
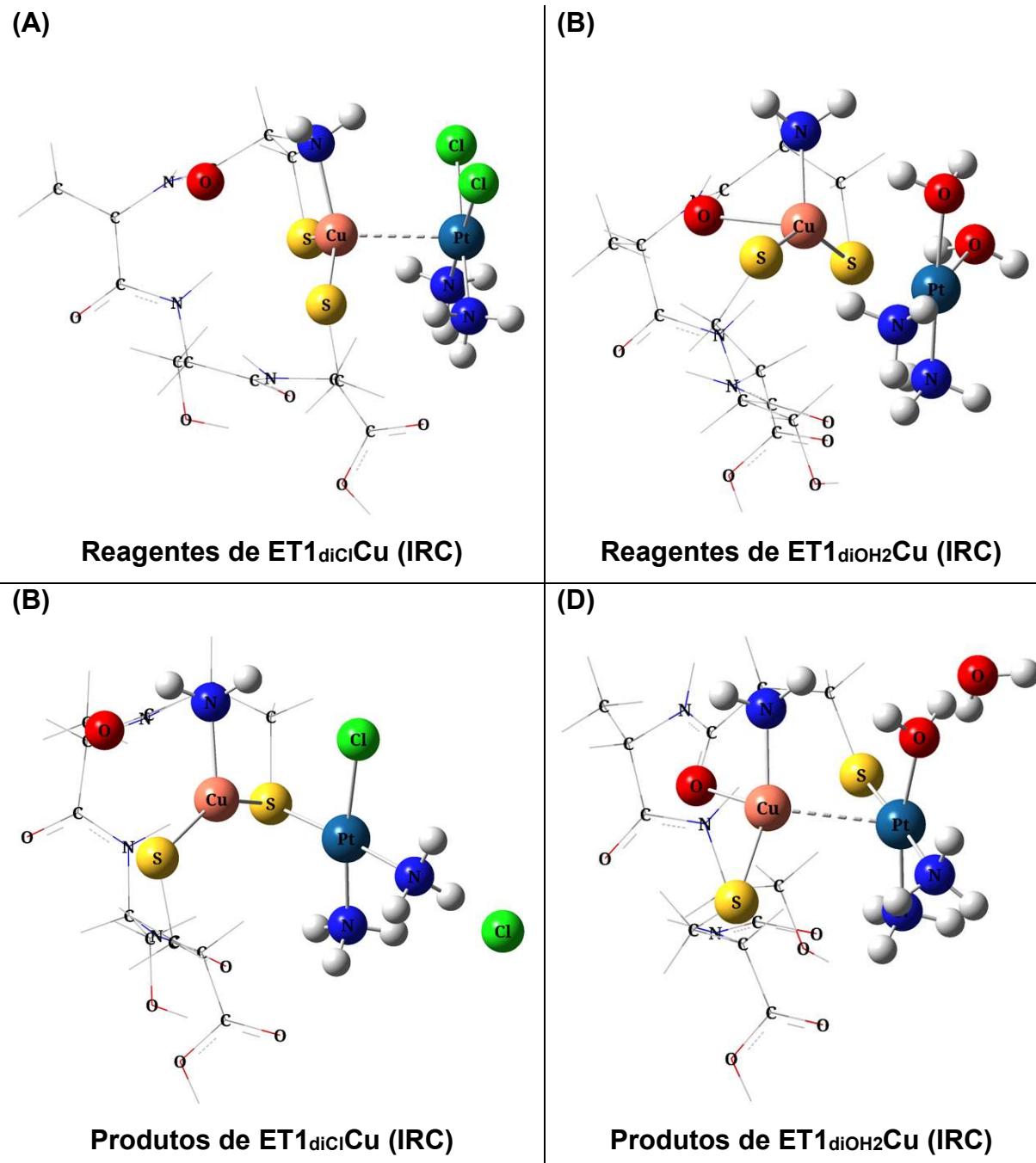
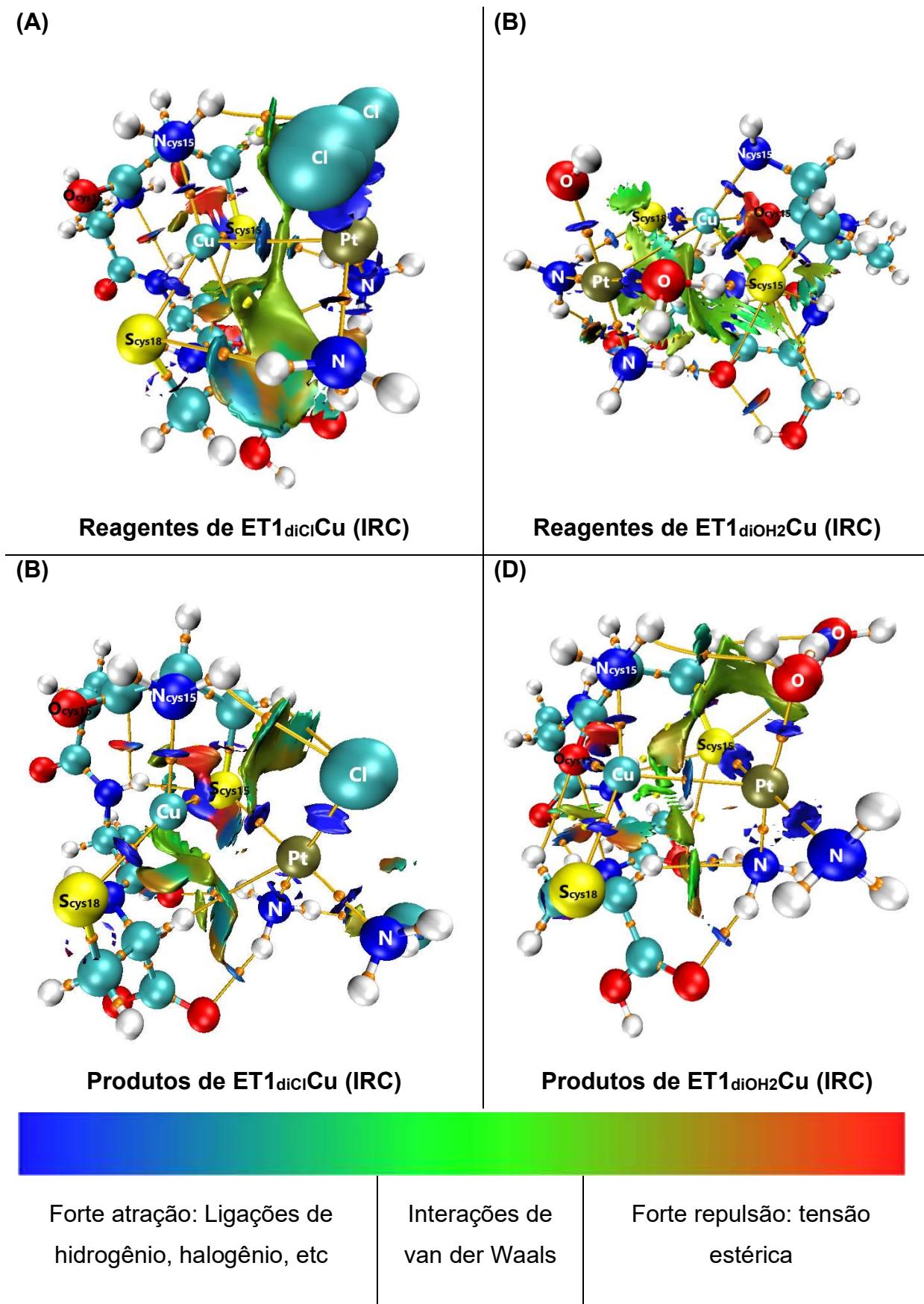


Figura 2A. 3: Gráficos de IRC via  $ET1_{dICl}Cu$  (A) e via  $ET1_{dIOH_2}Cu$  (B) em IEFPCM e distâncias interatômicas (em Å)



**Figura 2A. 4: Estruturas otimizadas de reagentes e produtos de  $ET1_{dCl}Cu$  (A e B) e  $ET1_{dOH_2}Cu$  (C e D) em IEFPCM**



**Figura 2A. 5: Resultados de NCI para reagentes e produtos de  $ET1_{dCl}Cu$  (A e B) e de  $ET1_{dOH_2}Cu$  (C e D) em IEFPCM**

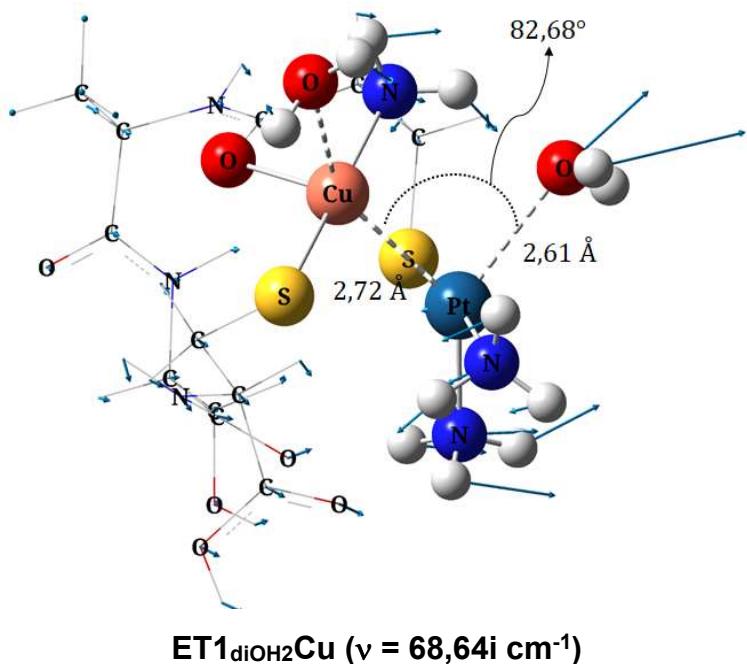


Figura 2A. 6: Estrutura de ET2<sub>dioH<sub>2</sub></sub>Cu em IEFPCM

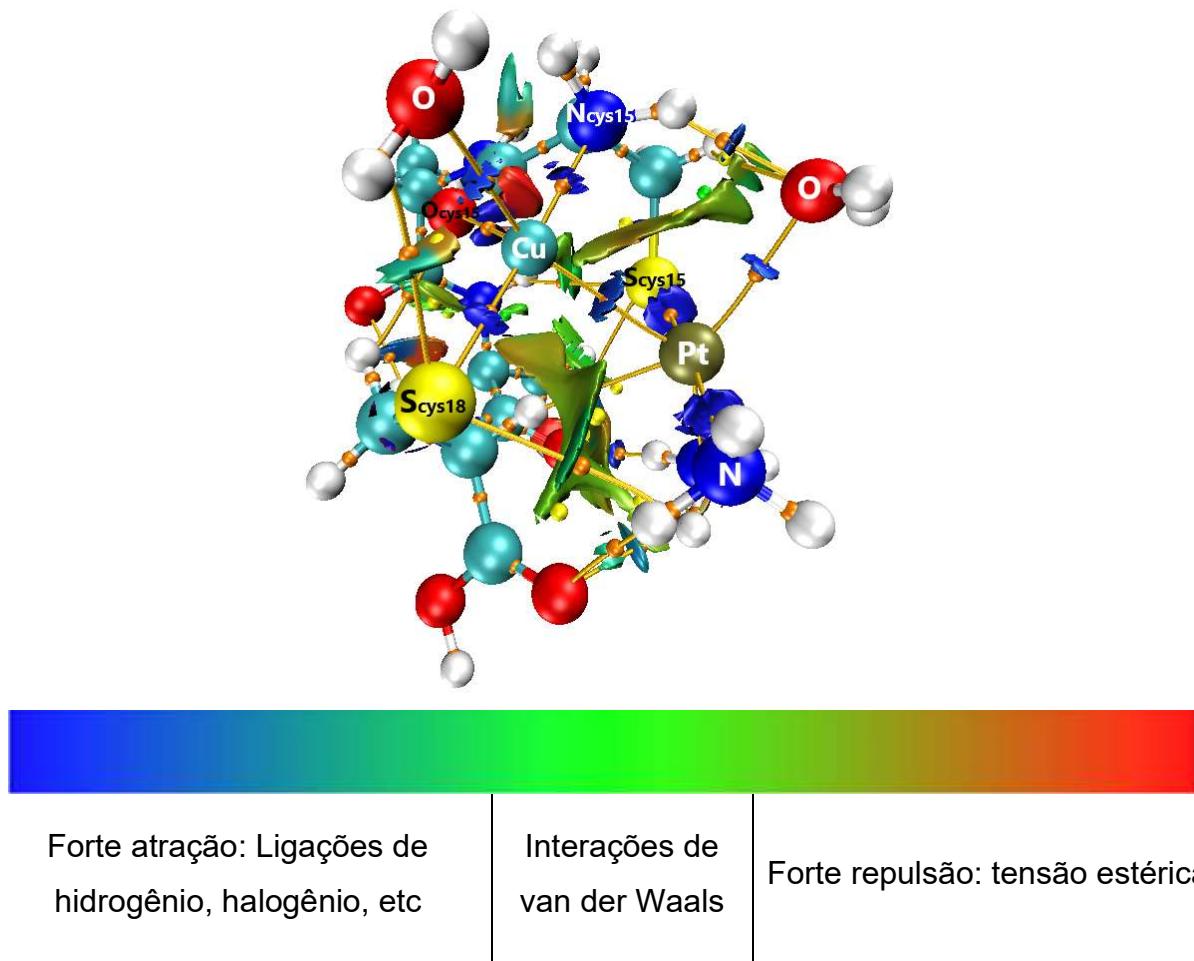
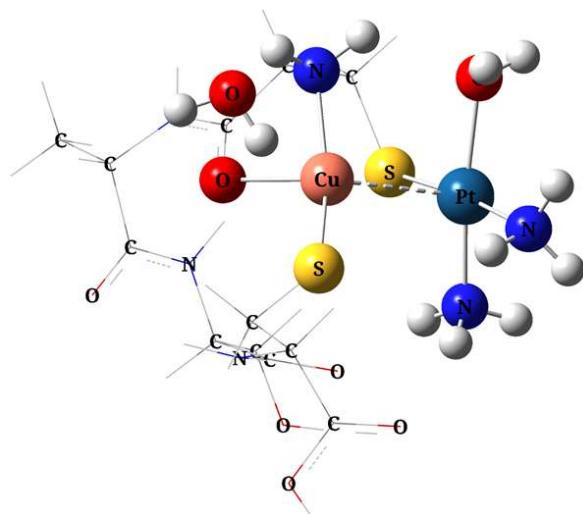
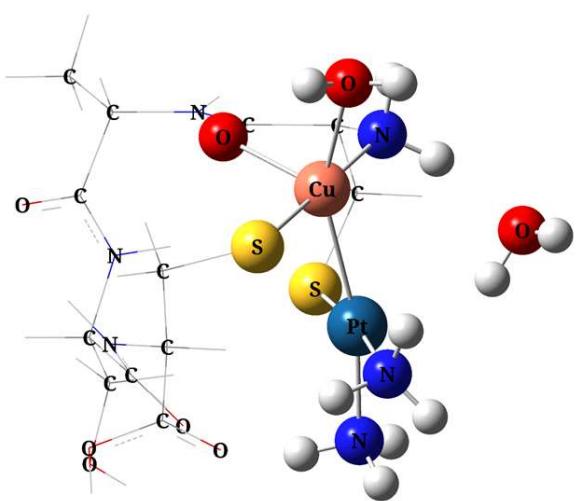


Figura 2A. 7: Resultados de NCI para ET2<sub>dioH<sub>2</sub></sub>Cu em IEFPCM

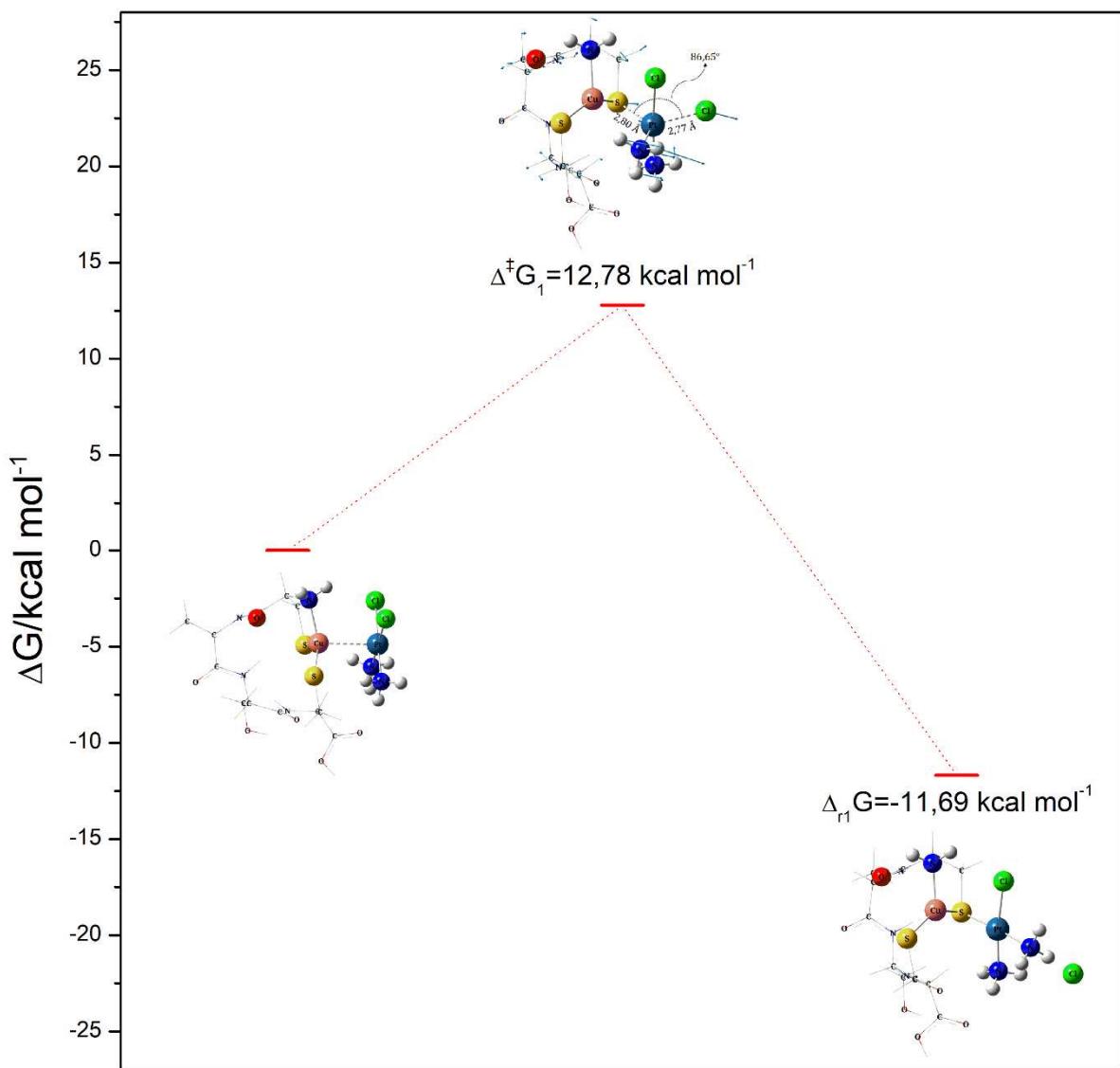
(A)

Reagentes de ET<sub>2</sub>diOH<sub>2</sub>Cu (IRC)

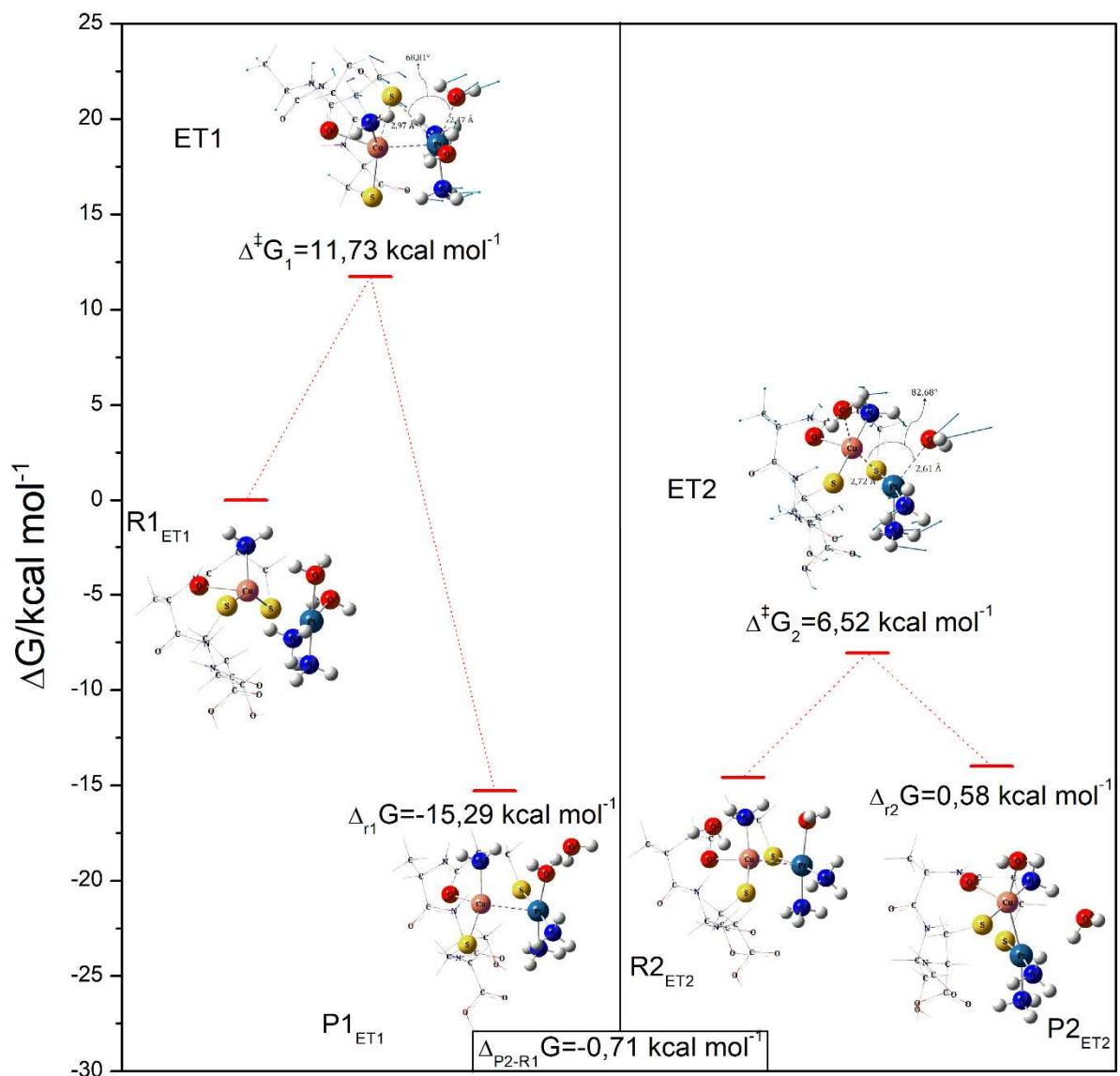
(B)

Produtos de ET<sub>2</sub>diOH<sub>2</sub>Cu (IRC)Figura 2A. 8: Estruturas otimizadas de reagentes (A) e produtos (B) de ET<sub>2</sub>diOH<sub>2</sub>Cu em IEFPCM

**7.3 Apêndice 3: Diagramas de coordenada de reação de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com [CuCASC]<sup>–</sup> em IEFPCM**



**Figura 3A. 1: Diagrama de coordenada de reação entre [CuCASC]<sup>–</sup> e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] em IEFPCM**



**Figura 3A. 2: Diagrama de coordenada de reação entre  $[\text{CuCASC}]^-$  e *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  em IEFPCM**

#### 7.4 Apêndice 4: Cargas NBO de átomos em reações de *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>] e *cis*–[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> com [CuCASC]<sup>–</sup> em IEFPCM

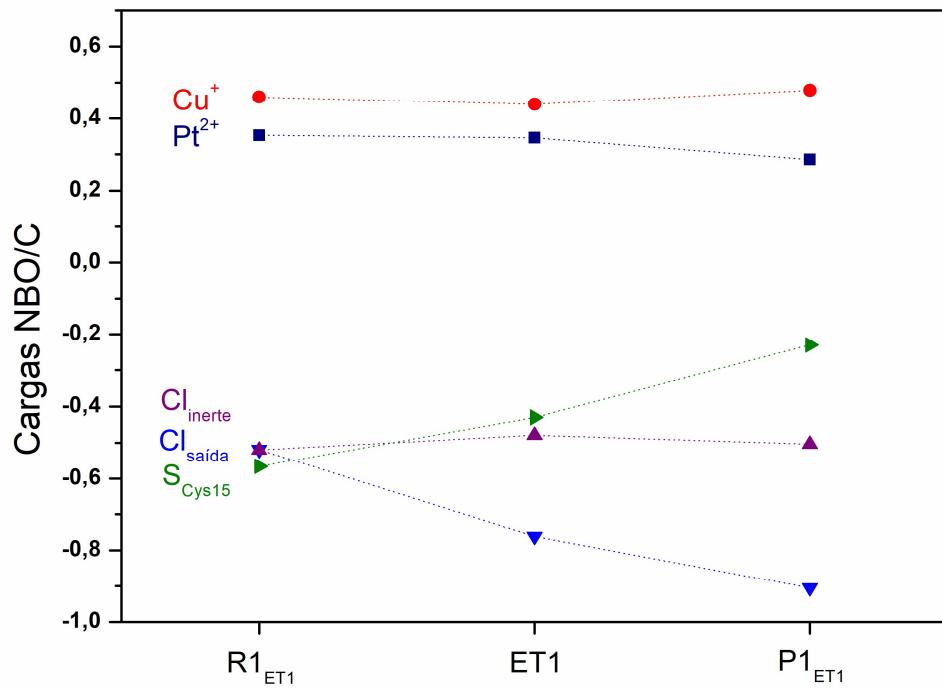


Figura 4A. 1: Gráfico de cargas NBO (em C) dos principais átomos de ET<sub>dicl</sub>Cu em IEFPCM

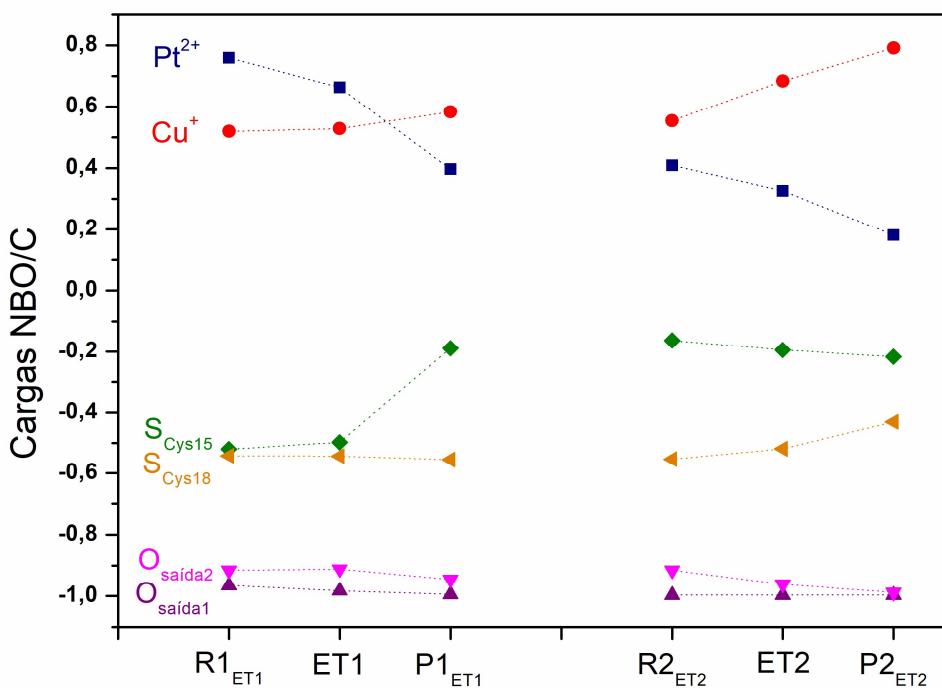


Figura 4A. 2: Gráfico de cargas NBO (em C) dos principais átomos de ET<sub>diOH2</sub>Cu em IEFPCM



## 8. REFERÊNCIAS

ACHILA, D.; BANCI, L.; BERTINI, I.; BUNCE, J. *et al.* Structure of human Wilson protein domains 5 and 6 and their interplay with domain 4 and the copper chaperone HAH1 in copper uptake. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 103, n. 15, p. 5729-5734, Apr 11 2006.

ARNESANO, F.; NATILE, G. Interference between copper transport systems and platinum drugs. **Semin Cancer Biol**, 76, p. 173-188, Nov 2021.

ATKINS, P. **Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry**. OUP Oxford, 2010. 9780199236176.

BADER, R. F. Bond paths are not chemical bonds. **J Phys Chem A**, 113, n. 38, p. 10391-10396, Sep 24 2009.

BADER, R. F. W. **Atoms in molecules : a quantum theory**. Oxford : Clarendon press, 1990. 0198558651  
0198551681.

BAIK, M. H.; FRIESNER, R. A.; LIPPARD, S. J. Theoretical study of cisplatin binding to purine bases: why does cisplatin prefer guanine over adenine? **J Am Chem Soc**, 125, n. 46, p. 14082-14092, Nov 19 2003.

BANCI, L.; BERTINI, I.; CALDERONE, V.; DELLA-MALVA, N. *et al.* Copper(I)-mediated protein-protein interactions result from suboptimal interaction surfaces. **Biochem J**, 422, n. 1, p. 37-42, Jul 29 2009.

BANCI, L.; BERTINI, I.; CANTINI, F.; CHASAPIS, C. T. *et al.* A NMR study of the interaction of a three-domain construct of ATP7A with copper(I) and copper(I)-HAH1: the interplay of domains. **J Biol Chem**, 280, n. 46, p. 38259-38263, Nov 18 2005.

BANCI, L.; BERTINI, I.; CANTINI, F.; DELLAMALVA, N. *et al.* Solution structure and intermolecular interactions of the third metal-binding domain of ATP7A, the Menkes disease protein. **J Biol Chem**, 281, n. 39, p. 29141-29147, Sep 29 2006.

BANCI, L.; BERTINI, I.; CANTINI, F.; FELLI, I. C. *et al.* The Atx1-Ccc2 complex is a metal-mediated protein-protein interaction. **Nat Chem Biol**, 2, n. 7, p. 367-368, Jul 2006.

BANCI, L.; BERTINI, I.; CANTINI, F.; MIGLIARDI, M. *et al.* An atomic-level investigation of the disease-causing A629P mutant of the Menkes protein, ATP7A. **J Mol Biol**, 352, n. 2, p. 409-417, Sep 16 2005.

BANCROFT, D. P.; LEPRE, C. A.; LIPPARD, S. J. Platinum-195 NMR kinetic and mechanistic studies of cis- and trans-diamminedichloroplatinum(II) binding to DNA. **Journal of the American Chemical Society**, 112, n. 19, p. 6860-6871, 1990/09/01 2002.

BASU, A.; KRISHNAMURTHY, S. Cellular responses to Cisplatin-induced DNA damage. **J Nucleic Acids**, 2010, p. 201367, Aug 8 2010.

BERMAN, H.; HENRICK, K.; NAKAMURA, H. Announcing the worldwide Protein Data Bank. **Nat Struct Biol**, 10, n. 12, p. 980, Dec 2003.

BERNERS-PRICE, S. J.; FRENKIEL, T. A.; FREY, U.; RANFORD, J. D. *et al.* Hydrolysis products of cisplatin: pK a determinations via[1H, 15N] NMR spectroscopy. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 10, p. 789-791, 1992. 10.1039/C39920000789.

BORGES, C. T. **Estudo Teórico da Interação da Proteína ATP7A com a Cisplatina.** Orientador: LOPES, J. F. 2016. 87 f. (Mestrado) - Instituto de Física e Química, Universidade Federal de Itajubá.

CALANDRINI, V.; ARNESANO, F.; GALLIANI, A.; NGUYEN, T. H. *et al.* Platination of the copper transporter ATP7A involved in anticancer drug resistance. **Dalton Trans**, 43, n. 31, p. 12085-12094, Aug 21 2014.

CANCÈS, E.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. **The Journal of Chemical Physics**, 107, n. 8, p. 3032-3041, 1997.

CARLONI, P.; ANDREONI, W.; HUTTER, J.; CURIONI, A. *et al.* Structure and Bonding in Cisplatin and Other Pt(II) Complexes. **Chemical Physics Letters**, 234, n. 1-3, p. 50-56, Mar 3 1995.

CHEN, B. F.; ZHOU, L. X. Computational study on mechanisms of the anticancer drug: Cisplatin and novel polynuclear platinum(II) interaction with sulfur-donor biomolecules and DNA purine bases. **Computational and Theoretical Chemistry**, 1074, p. 36-49, Dec 15 2015.

CORAZZA, A.; HARVEY, I.; SADLER, P. J. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-NMR and X-ray absorption studies of copper(I) glutathione complexes. **Eur J Biochem**, 236, n. 2, p. 697-705, Mar 1 1996.

CORNATON, Y.; DJUKIC, J. P. Noncovalent Interactions in Organometallic Chemistry: From Cohesion to Reactivity, a New Chapter. **Acc Chem Res**, 54, n. 20, p. 3828-3840, Oct 19 2021.

DA SILVA, V. J.; COSTA, L. A. S.; DOS SANTOS, H. F. Ab initio reaction path for cisplatin interaction with L-cysteine and L-methionine. **International Journal of Quantum Chemistry**, 108, n. 2, p. 401-414, 2008/01/01 2007. <https://doi.org/10.1002/qua.21494>.

DASARI, S.; NJIKI, S.; MBEMI, A.; YEDJOU, C. G. *et al.* Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy. **Int J Mol Sci**, 23, n. 3, Jan 28 2022.

DENNINGTON, R.; KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView**. Versão 6.0.16. Shawnee Mission, Kansas: Semichem Inc., 2016.

EASTMAN, A. The Mechanism of Action of Cisplatin: From Adducts to Apoptosis. *In: Cisplatin*, 1999. p. 111-134.

FANG, T.; TIAN, Y.; YUAN, S.; SHENG, Y. *et al.* Differential Reactivity of Metal Binding Domains of Copper ATPases towards Cisplatin and Colocalization of Copper and Platinum. **Chemistry**, 24, n. 36, p. 8999-9003, Jun 26 2018.

FARRUGIA, L. J.; SENN, H. M. Metal-metal and metal-ligand bonding at a QTAIM catastrophe: a combined experimental and theoretical charge density study on the alkylidyne cluster Fe<sub>3</sub>(μ-H)(μ-COMe)(CO)<sub>10</sub>. **J Phys Chem A**, 114, n. 51, p. 13418-13433, Dec 30 2010.

FORESMAN, J. B.; FRISCH, Å. **Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods**. 3 ed. Wallingford, CT: Gaussian, Inc., 2015. 978-1-935522-03-4.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E. *et al.* **Gaussian Inc.** Wallingford CT: 2016.

GALLIANI, A.; LOSACCO, M.; LASORSA, A.; NATILE, G. *et al.* Cisplatin handover between copper transporters: the effect of reducing agents. **J Biol Inorg Chem**, 19, n. 4-5, p. 705-714, Jun 2014.

GOURDON, P.; SITSEL, O.; LYKKEGAARD KARLSEN, J.; BIRK MOLLER, L. *et al.* Structural models of the human copper P-type ATPases ATP7A and ATP7B. **Biol Chem**, 393, n. 4, p. 205-216, Apr 2012.

HARRACH, S.; CIARIMBOLI, G. Role of transporters in the distribution of platinum-based drugs. **Front Pharmacol**, 6, p. 85, APR 24 2015.

HAY, P. J.; WADT, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. **The Journal of Chemical Physics**, 82, n. 1, p. 299-310, 1985.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review B**, 136, n. 3b, p. B864-+, 11/09/ 1964.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic chemistry**. Fifth edition. ed. Harlow, England: Pearson, 2018. 9781292134161.

JENSEN, F. **Introduction to Computational Chemistry**. Wiley, 2017. 9781118825990.

JERHAOUI, S.; DJUKIC, J.-P.; WENCEL-DELORD, J.; COLOBERT, F. Asymmetric, Nearly Barrierless C(sp<sub>3</sub>)-H Activation Promoted by Easily-AccessibleN-Protected Aminosulfoxides as New Chiral Ligands. **ACS Catalysis**, 9, n. 3, p. 2532-2542, 2019/03/01 2019.

JOHNSON, E. R.; KEINAN, S.; MORI-SANCHEZ, P.; CONTRERAS-GARCIA, J. *et al.* Revealing noncovalent interactions. **J Am Chem Soc**, 132, n. 18, p. 6498-6506, May 12 2010.

KALAYDA, G. V.; WAGNER, C. H.; BUSS, I.; REEDIJK, J. *et al.* Altered localisation of the copper efflux transporters ATP7A and ATP7B associated with cisplatin resistance in human ovarian carcinoma cells. **BMC Cancer**, 8, n. 1, p. 175, Jun 19 2008.

KATANO, K.; KONDO, A.; SAFAEI, R.; HOLZER, A. *et al.* Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. **Cancer Research**, 62, n. 22, p. 6559-6565, Nov 15 2002.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, 140, n. 4a, p. 1133-&, 11/15/ 1965.

LASORSA, A.; NARDELLA, M. I.; ROSATO, A.; MIRABELLI, V. *et al.* Mechanistic and Structural Basis for Inhibition of Copper Trafficking by Platinum Anticancer Drugs. **J Am Chem Soc**, 141, n. 30, p. 12109-12120, Jul 31 2019.

LEE, K. W.; MARTIN, D. S. Cis-Dichlorodiammineplatinum(II) - Aquation Equilibria and Isotopic-Exchange of Chloride Ligands with Free Chloride and Tetrachloroplatinate(II). **Inorganica Chimica Acta**, 17, n. 1, p. 105-110, 1976/01/01/ 1976.

LI, Y. Q.; YIN, J. Y.; LIU, Z. Q.; LI, X. P. Copper efflux transporters ATP7A and ATP7B: Novel biomarkers for platinum drug resistance and targets for therapy. **IUBMB Life**, 70, n. 3, p. 183-191, Mar 2018.

LOPES, J. F.; DE, A. M. V. S.; DUARTE, H. A.; ROCHA, W. R. *et al.* Monte Carlo simulation of cisplatin molecule in aqueous solution. **J Phys Chem B**, 110, n. 24, p. 12047-12054, Jun 22 2006.

LOUIE, K. G.; BEHRENS, B. C.; KINSELLA, T. J.; HAMILTON, T. C. *et al.* Radiation Survival Parameters of Antineoplastic Drug-Sensitive and Drug-Resistant Human Ovarian-Cancer Cell-Lines and Their Modification by Buthionine Sulfoximine. **Cancer Research**, 45, n. 5, p. 2110-2115, 1985.

LOWE, J. P. **Quantum Chemistry: Student Edition**. Academic Press, 1978.

LOWE, J. P.; PETERSON, K. **Quantum Chemistry**. Elsevier Science, 2011. 9780080470788.

LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. **J Comput Chem**, 33, n. 5, p. 580-592, Feb 15 2012.

LUKANOVIC, D.; HERZOG, M.; KOBAL, B.; CERNE, K. The contribution of copper efflux transporters ATP7A and ATP7B to chemoresistance and personalized medicine in ovarian cancer. **Biomed Pharmacother**, 129, p. 110401, Sep 2020.

LUTSENKO, S.; BARNES, N. L.; BARTEE, M. Y.; DMITRIEV, O. Y. Function and regulation of human copper-transporting ATPases. **Physiol Rev**, 87, n. 3, p. 1011-1046, Jul 2007.

MAKOVEC, T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. **Radiol Oncol**, 53, n. 2, p. 148-158, Mar 28 2019.

MCQUARRIE, D. A. **Quantum Chemistry**. University Science Books, 2008. 9781891389504.

MENKES, J. H.; ALTER, M.; STEIGLEDER, G. K.; WEAKLEY, D. R. *et al.* A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair, and focal cerebral and cerebellar degeneration. **Pediatrics**, 29, n. 5, p. 764-779, May 1962.

MIERTUŠ, S.; TOMASI, J. Approximate evaluations of the electrostatic free energy and internal energy changes in solution processes. **Chemical Physics**, 65, n. 2, p. 239-245, 1982/03/01/ 1982.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1250 p.

ODENHEIMER, B.; WOLF, W. Reactions of cisplatin with sulfur-containing amino acids and peptides I. Cysteine and glutathione. **Inorganica Chimica Acta**, 66, n. 3, p. L41-L43, 1982.

PASCHOAL, D.; MARCIAL, B. L.; LOPES, J. F.; DE ALMEIDA, W. B. *et al.* The role of the basis set and the level of quantum mechanical theory in the prediction of the structure and reactivity of cisplatin. **J Comput Chem**, 33, n. 29, p. 2292-2302, Nov 5 2012.

PDB, R. **Protein Data Bank**. 2022. Disponível em: <https://www.rcsb.org/>.

PENDÁS, Á. M.; CONTRERAS-GARCÍA, J. **Topological Approaches to the Chemical Bond**. Springer International Publishing, 2023. 9783031136672.

PEREZ, R. P.; HAMILTON, T. C.; OZOLS, R. F. Resistance to alkylating agents and cisplatin: insights from ovarian carcinoma model systems. **Pharmacol Ther**, 48, n. 1, p. 19-27, 1990.

PETERSSON, G. A.; AL-LAHAM, M. A. A complete basis set model chemistry. II. Open-shell systems and the total energies of the first-row atoms. **The Journal of Chemical Physics**, 94, n. 9, p. 6081-6090, 1991.

PETERSSON, G. A.; BENNETT, A.; TENSFELDT, T. G.; AL-LAHAM, M. A. *et al.* A complete basis set model chemistry. I. The total energies of closed-shell atoms and hydrides of the first-row elements. **The Journal of Chemical Physics**, 89, n. 4, p. 2193-2218, 1988.

PETRUZZELLI, R.; POLISHCHUK, R. S. Activity and Trafficking of Copper-Transporting ATPases in Tumor Development and Defense against Platinum-Based Drugs. **Cells**, 8, n. 9, Sep 13 2019.

PITTS, A. L.; HALL, M. B. Investigating the electronic structure of the Atox1 copper(I) transfer mechanism with density functional theory. **Inorg Chem**, 52, n. 18, p. 10387-10393, Sep 16 2013.

PLIEGO JR, J. R. Modelos contínuos do solvente: fundamentos. **Química Nova**, 29, 2006.

PUFAHL, R. A.; SINGER, C. P.; PEARISO, K. L.; LIN, S. J. *et al.* Metal ion chaperone function of the soluble Cu(I) receptor Atx1. **Science**, 278, n. 5339, p. 853-856, Oct 31 1997.

RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. **Cancer Treat Rev**, 33, n. 1, p. 9-23, Feb 2007.

REEDIJK, J. New clues for platinum antitumor chemistry: kinetically controlled metal binding to DNA. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 100, n. 7, p. 3611-3616, Apr 1 2003.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**, 205, n. 4972, p. 698-699, Feb 13 1965.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, 222, n. 5191, p. 385-386, Apr 26 1969.

ROTTENBERG, S.; DISLER, C.; PEREGO, P. The rediscovery of platinum-based cancer therapy. **Nat Rev Cancer**, 21, n. 1, p. 37-50, Jan 2021.

SAFAEI, R. Role of copper transporters in the uptake and efflux of platinum containing drugs. **Cancer Lett**, 234, n. 1, p. 34-39, Mar 8 2006.

SAFAEI, R.; HOWELL, S. B. Copper transporters regulate the cellular pharmacology and sensitivity to Pt drugs. **Crit Rev Oncol Hematol**, 53, n. 1, p. 13-23, Jan 2005.

SEDLETSKA, Y.; GIRAUD-PANIS, M. J.; MALINGE, J. M. Cisplatin is a DNA-damaging antitumour compound triggering multifactorial biochemical responses in cancer cells: importance of apoptotic pathways. **Curr Med Chem Anticancer Agents**, 5, n. 3, p. 251-265, May 2005.

SZABO, A.; OSTLUND, N. S. **Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory**. Dover Publications, 1996. 9780486691862.

TADINI-BUONINSEGNI, F.; BARTOLOMMEI, G.; MONCELLI, M. R.; INESI, G. *et al.* Translocation of platinum anticancer drugs by human copper ATPases ATP7A and ATP7B. **Angew Chem Int Ed Engl**, 53, n. 5, p. 1297-1301, Jan 27 2014.

TCHOUNWOU, P. B.; DASARI, S.; NOUBISSI, F. K.; RAY, P. *et al.* Advances in Our Understanding of the Molecular Mechanisms of Action of Cisplatin in Cancer Therapy. **J Exp Pharmacol**, 13, p. 303-328, 2021.

TODD, R. C.; LIPPARD, S. J. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. **Metallomics**, 1, n. 4, p. 280-291, 2009.

VRANA, O.; BRABEC, V. L-methionine inhibits reaction of DNA with anticancer cis-diamminedichloroplatinum(II). **Biochemistry**, 41, n. 36, p. 10994-10999, Sep 10 2002.

WEINHOLD, F. **Discovering Chemistry With Natural Bond Orbitals**. Wiley, 2012. 9781118229163.

WERLE, C.; BAILLY, C.; KARMAZIN-BRELOT, L.; LE GOFF, X. F. *et al.* Hemichelation, a way to stabilize electron-unsaturated complexes: the case of T-

shaped Pd and Pt metallacycles. **J Am Chem Soc**, 135, n. 47, p. 17839-17852, Nov 27 2013.

WERLE, C.; DOHM, S.; BAILLY, C.; KARMAZIN, L. *et al.* trans-cis C-Pd-C rearrangement in hemichelates. **Dalton Trans**, 46, n. 25, p. 8125-8137, Jun 27 2017. 10.1039/C7DT00872D.

WERNIMONT, A. K.; HUFFMAN, D. L.; LAMB, A. L.; O'HALLORAN, T. V. *et al.* Structural basis for copper transfer by the metallochaperone for the Menkes/Wilson disease proteins. **Nat Struct Biol**, 7, n. 9, p. 766-771, Sep 2000.

WOZNIAK, K.; BLASIAK, J. Recognition and repair of DNA-cisplatin adducts. **Acta Biochim Pol**, 49, n. 3, p. 583-596, 2002.

WU, F.; DERAEDT, C.; CORNATON, Y.; CONTRERAS-GARCIA, J. *et al.* Making Base-Assisted C–H Bond Activation by Cp\*Co(III) Effective: A Noncovalent Interaction-Inclusive Theoretical Insight and Experimental Validation. **Organometallics**, 39, n. 14, p. 2609-2629, 2020/07/27 2020.

XU, D. C.; XI, Z. Y.; ZHAO, L. H.; LIU, Y. Z. Transporting platinum drugs from a copper chaperone to ATPase: the mechanistic implication of drug efflux mediated cisplatin resistance. **Inorganic Chemistry Frontiers**, 1, n. 2, p. 149-152, 2014. 10.1039/C3QI00068K.

ZHAO, Y.; TRUHLAR, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. **Theoretical Chemistry Accounts**, 120, n. 1-3, p. 215-241, 2008/05/01 2007.

ZHU, S.; SHANBHAG, V.; WANG, Y.; LEE, J. *et al.* A Role for The ATP7A Copper Transporter in Tumorigenesis and Cisplatin Resistance. **J Cancer**, 8, n. 11, p. 1952-1958, 2017.