

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais - UNIFEI

Dissertação de Mestrado

Estudo computacional da termodinâmica e cinética das reações da cisplatina com a
Glutathione

Discente: Pedro Augusto de Andrade Novaes

Orientação: Profa. Dra. Juliana Fedoce Lopes

Linha de Pesquisa: Química Teórica Computacional

Março de 2023

Itajubá - MG

Pedro Augusto de Andrade Novaes

Estudo computacional da termodinâmica e cinética das reações da cisplatina com a
Glutathione

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

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Fedoce Lopes

Itajubá - MG

Agradecimentos

À Marina, pelo amor e companheirismo constantes, pela paciência diária, obrigado por estar presente em minha vida.

À Mercês e ao Antônio pelo apoio e a ajuda para dar início a esta jornada.

À Melanie e nossos encontros terapêuticos, que por vezes este trabalho fora pauta.

À Profa Juliana Fedoce, por me receber e acolher no LaQC, pela orientação banhada com “Bom dia Brasil”, otimismo, figurinhas do zap, estímulos a carreira acadêmica, senso químico e exímia paciência.

Aos colegas de LaQC, Hercules e a Beatriz pelas inúmeras doses de café, o Mateus pelas suas ilustres visitas a cidade de Itajubá, a Bruna pelas conversas acolhedoras, ao Juliano pelas prosas e almoços, e aos demais colegas, João Paulo, Lucas César, Débora, Rayanne e Rogério que a distância e os desdobramentos da pandemia dificultaram o fortalecimento de nossos laços.

À CAPES pela bolsa concedida, e ao CNPq e a FAPEMIG pelos financiamentos concedidos e a Universidade federal de Itajubá e ao LaQC que permitiram a condução do projeto de pesquisa, em especial a Vanessa e a Vanessa por manter nossos espaços de trabalho sempre digno e limpo, bem como ao Prof Frederico e ao Prof Marcos na figura de coordenadores do programa, a Profa Geise na figura de Diretora do Instituto, com frequência realizando reformas necessárias, porém barulhentas no prédio do biomateriais.

“Abre caminho, guia meu passo
Lidera povo, tira cansaço
Abre a mente, guerreiro valente
A lança e a espada que vai na frente

Sabedoria pra viver
Sabedoria pra sorrir
Sabedoria de aprender
Sabedoria, eu venho a ti”

Criolo

Resumo

Os estudos de complexos metálicos para o uso na quimioterapia do câncer tiveram um grande crescimento depois da descoberta da atividade biológica da *cis*-diaminodicloroplatina(II), mais conhecida como cisplatina. A cisplatina possui efetividade no tratamento de câncer, o mecanismo de ação baseia-se na ligação da platina com o DNA, o que interfere nos processos de transcrição e replicação celular, levando à morte celular ou apoptose. Certos tumores originalmente sensíveis à cisplatina, desenvolvem quimiorresistência sendo esta principal limitação na utilização da cisplatina em tratamentos clínicos e, em geral, multifatorial. A glutathione (GSH) é frequentemente considerada como a principal contribuinte para o sequestro de cisplatina por causa de sua alta concentração intracelular, ou seja, a maior parte da interação modula a toxicidade evitando, assim, que a cisplatina interaja com o DNA. Neste trabalho, foram estudadas as reações da cisplatina e de suas espécies hidrolisadas com a glutathione, para as quais foram caracterizadas as estruturas de espécies reagentes, produtos e também as espécies intermediárias nas quais foram observadas as principais interações intermoleculares envolvidas na reação. Para representar os processos estudados foram realizados cálculos em DFT M062X, com a função de 6-31G(d,p) e Lanl2dz como pseudopotencial para o átomo de platina. Através da análise de ângulo diedro, foram avaliados diferentes conformeros para a Glutathione, onde os diedros $GLUC\alpha-C-C-C(COOH)$ e $CYSN-C-C-N(CH_2COOH)$ e as hidroxilas terminais do ácido glutamato e da glicina foram os parâmetros para categorizar e diferenciar as conformações, foram encontradas três conformações, onde população conformacional para as estruturas foi I) 33,60% II) 33,44% III) 32,97%. Os estados de transição da primeira e da segunda etapa das reações foram determinadas, onde invariavelmente as conformações assumidas pela glutathione, tem relação direta com os parâmetros energéticos calculados. Através dos estados de transição foram realizados cálculos de IRC para a reação entre a cisplatina e a glutathione, foram avaliados a conformação da GSH, diedros $GLUC\alpha-C-C-C(COOH) = -57,8^\circ$ e $CYSN-C-C-N(CH_2COOH) = 52,8^\circ$ e com as distâncias entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas terminais (GLU - GLY) de $9,444\text{\AA}$, comparativamente ao produto obtido via intuição química, $GLUC\alpha-C-C-C(=O) = -57,9^\circ$ e $CYSN-C-C-N(GLY) = 58,21^\circ$, e com as distâncias entre os grupos ácidos de glutamato e glicina de $3,970\text{\AA}$, característico de uma conformação fechada.

Abstract

The studies on metal complexes for use in cancer chemotherapy have greatly increased since the discovery of the biological activity of *cis*-diamminedichloroplatinum(II), better known as cisplatin. Cisplatin is effective in cancer treatment, and its mechanism of action is based on the platinum-DNA binding, which interferes with cellular transcription and replication processes, leading to cell death or apoptosis. However, certain tumors originally sensitive to cisplatin develop chemoresistance, which is the main limitation in the clinical use of cisplatin and is generally multifactorial. Glutathione (GSH) is often considered the primary contributor to the sequestration of cisplatin due to its high intracellular concentration. Therefore, most of the interaction modulates toxicity, preventing cisplatin from interacting with DNA. In this work, the reactions of cisplatin and its hydrolyzed species with glutathione were studied, and the structures of the reacting species, products, and intermediate species, where the main intermolecular interactions involved in the reaction were observed, were characterized. To represent the studied processes, numerous DFT M062X calculations were performed, with the 6-31G(d,p) function and Lanl2dz as the pseudopotential for the platinum atom. Different conformers of glutathione were evaluated, and the $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(\text{COOH})$ and $\text{CYSN-C-C-N}(\text{CH}_2\text{COOH})$ dihedrals and the terminal hydroxyls of glutamate and glycine were the parameters used to categorize and differentiate conformations. Three conformations were found, where the conformational population for the structures was I) 33.60%, II) 33.44%, III) 32.97%. The transition states of the first and second steps of the reactions were determined, where the conformations assumed by glutathione were directly related to the calculated energy parameters. Through the transition states, IRC calculations for reaction A were performed, and the conformation of GSH, the $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(\text{COOH})=-57.8^\circ$ and $\text{CYSN-C-C-N}(\text{CH}_2\text{COOH})=52.8^\circ$ dihedrals, and the distances between the hydrogen atoms of the terminal hydroxyl groups (GLU-GLY) were evaluated, which was 9.444 Å. Comparatively, the product obtained via chemical intuition had $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(=\text{O})=-57.9^\circ$ and $\text{CYSN-C-C-N}(\text{GLY})=58.21^\circ$ and the distances between the glutamate and glycine acid groups were 3.970 Å, which is characteristic of a closed conformation.

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1.1 – Representações estruturais da a) cis-diaminodichloroplatina(II) b) trans-diaminodichloroplatina(II)..... | 1 |
| Figura 1.2 - Número de publicações sobre a cisplatina entre 1980 e 2021. | 3 |
| Figura 1.3 – Representações estruturais dos análogos à cisplatina: a) Carboplatina, b) Oxaliplatina e c) Nedaplatina..... | 3 |
| Figura 1.4 – Representação estrutural dos compostos de Pt(IV) que chegaram aos testes clínicos..... | 4 |
| Figura 1.5 – Esquema geral das reações de substituição com água..... | 7 |
| Figura 1.6 - Representação do mecanismo associativo da reação de substituição em complexos quadrático-planos de Pt(II). | 8 |
| Figura 1.7 - Ligações de hidrogênio entre as bases guanina e citosina e adenina e timina..... | 8 |
| Figura 1.8 - Representação da entrada da Cisplatina na célula e suas principais reações. | 9 |
| Figura 1.9 - Interações da cisplatina no interior da célula | 10 |
| Figura 1.10 - Representação estrutural da Glutathione (GSH)..... | 11 |
| Figura 2.1 - Esquema geral da primeira etapa das reações estudadas..... | 20 |
| Figura 2.2 - Esquema geral da segunda etapa das reações estudadas. | 21 |
| Figura 3.1- Ilustração das ligações peptídicas e grupos hidroxilas terminais da Glutathione, a) Conformação “aberta” b) conformação “fechada”..... | 23 |
| Figura 3.2 – Estrutura otimizada em fase gás DFT M062X/6-31G(d,p) da Glutathione (GSH). | 24 |
| Figura 3.3 - Representação dos átomos que compõe o ângulo diedro rotacionado para a análise conformacional..... | 26 |
| Figura 3.4 - Gráfico da curva de energia potencial para a glutathione. | 26 |
| Figura 3.5 – Comparação das conformações mais estáveis otimizadas para a Glutathione a) confórmero II b) confórmero III..... | 27 |
| Figura 3.6 - Cisplatina otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz..... | 28 |
| Figura 3.7 – Espécies produtos da reação de substituição de ligantes cloros por água a partir da cisplatina otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) MADP b) DADP. | 30 |
| Figura 3.8 - Produtos otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/ LANL2DZ a) P1A b) P1B. | 32 |
| Figura 3.9 – Estruturas dos produtos otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/LANL2DZ incluindo as ligações de hidrogênio presentes a)P1A b)P1B..... | 33 |
| Figura 3.10 - Representação do esquema geral da reação A a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos com as geometrias otimizadas. | 35 |
| Figura 3.11 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1A projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária..... | 36 |
| Figura 3.12 – Reação A com a representação das espécies envolvidas. | 36 |
| Figura 3.13 - Reagente Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da reação IA: RI1A..... | 38 |
| Figura 3.14 - Ligações de hidrogênio da estrutura TS1A otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) ligações com o cloreto b) ligações com a amina..... | 38 |
| Figura 3.15 - P1A otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) Eixo com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura..... | 39 |
| Figura 3.16 – a) IRC calculado para o TS1A; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta. | 41 |

| | |
|--|----|
| Figura 3.17 - Ponto mínimo da curva do IRC otimizado em M062x correspondente ao reagente intermediário..... | 42 |
| Figura 3.18 - Comparativo dos produtos encontrados a) Via intuitiva b) Via IRC..... | 43 |
| Figura 3.19 - PI1A otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz e suas interações com grupos carbonilas..... | 44 |
| Figura 3.20 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS2A projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária..... | 45 |
| Figura 3.21 - a) Coordenada intrínseca de reação do TS2A; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta. | 46 |
| Figura 3.22 - Produto Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da segunda etapa da reação PI2A..... | 47 |
| Figura 3.23 - Produto Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da segunda etapa da reação a)via IRC b) via intuitiva..... | 48 |
| Figura 3.24 - Produto bidentado otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) destaque a ligação bidentada b) Eixo com relação ao plano da Platina. | 49 |
| Figura 3.25 - Representação do esquema geral da reação B a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos. | 50 |
| Figura 3.26 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1B projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária. | 51 |
| Figura 3.27 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1B_2 projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária. | 52 |
| Figura 3.28 - Reação B com a representação das espécies envolvidas. | 52 |
| Figura 3.29 - RI1B otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) Eixo com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares da estrutura..... | 54 |
| Figura 3.30 - Interações intermoleculares da estrutura do estado de transição otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) TS1B b) TS1B_2..... | 55 |
| Figura 3.31 - PI1B otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) Eixo com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura..... | 56 |
| Figura 3.32 - a) Coordenada intrínseca de reação do TS1B_2; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta..... | 58 |
| Figura 3.33 - Ponto mínimo da curva do IRC otimizado em M062x correspondente ao reagente intermediário RI1B. | 59 |
| Figura 3.34 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS2B projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária. | 60 |
| Figura 3.35 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1C projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária..... | 61 |
| Figura 3.36 - a) Coordenada intrínseca de reação do TS1C; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta. | 61 |
| Figura 3.37 - Representação do esquema geral da reação D a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos. | 62 |
| Figura 3.38 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1D projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária..... | 63 |
| Figura 3.39 - Estruturas otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1D_2 projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária..... | 64 |

| | |
|---|----|
| Figura 3.40 - Reação D com as espécies envolvidas..... | 64 |
| Figura 3.41 - Reagente Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da reação D a) com relação ao plano da Platina b) Contendo as interações intramoleculares..... | 66 |
| Figura 3.42 - Interações intermoleculares da estrutura do estado de transição otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) TS1D b) TS1D_2..... | 66 |
| Figura 3.43 - Produto intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) PI1D b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura. | 67 |
| Figura 3.44 - Barreira de energia livre de Gibbs em kcal/mol da Reação A calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz, RI: reagentes intermediário, PI: Produto intermediário. | 70 |
| Figura 3.45 - Barreiras de energia calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) reação A b) reação B c) reação C d) reação D..... | 72 |
| Figura 3.46 - Barreira de energia calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da reação A obtido por IRC..... | 74 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 3.1 - Comprimento ligação da Glutathione (GSH) otimizada em DFT M062x/6-31G(d,p), B3LYP/6-31+G(d,p) ^a e experimental ^b | 24 |
| Tabela 3.2 - Ângulos de ligação da Glutathione (GSH) otimizada em DFT M062x/6-31G(d,p), B3LYP/6-31+G(d,p) ^a e experimental ^b | 25 |
| Tabela 3.3 - Energia livre de Gibbs relativa a conformação II, e a população conformacional em DFT M062X/6-31G(d,p) e T=298,15..... | 27 |
| Tabela 3.4 - Comprimentos de ligação da cis-DDP otimizada em M062x/6-31G(d,p)DFT(M06-2X) e experimental e o módulo da diferença. | 28 |
| Tabela 3.5 - Ângulos de ligação da Cisplatina (cis-DDP) otimizada em M062x/6-31G(d,p) e experimental..... | 29 |
| Tabela 3.6 - Comprimentos de ligação das estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz da cis-DDP, MADP e DADP. | 30 |
| Tabela 3.7 - Ângulos de ligação das estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/ LANL2DZ da cis-DDP, MADP e DADP. | 31 |
| Tabela 3.8 - Equações globais para as reações estudadas. | 34 |
| Tabela 3.9 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação A. | 37 |
| Tabela 3.10 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação A. | 40 |
| Tabela 3.11 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação B..... | 53 |
| Tabela 3.12 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação B. | 56 |
| Tabela 3.13 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação D. | 65 |
| Tabela 3.14 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação D. | 68 |
| Tabela 3.15 - Parâmetros termodinâmicos dos intermediários para as reações propostas, a 298K em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz, pela via intuitiva e por coordenada intrínseca de reação. | 68 |
| Tabela 3.16 - Valores de K para as reações propostas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz. | 71 |

Lista de abreviaturas e siglas

| | |
|-----------------|--|
| <i>cis</i> -DDP | <i>cis</i> -diaminodicloroplatina (II) |
| FDA | <i>Food and drugs administration</i> |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| ABO | Aproximação de Born-Oppenheimer |
| HF | Hartree-Fock |
| DFT | Teoria do Funcional de densidade |
| FG | Fase gás |
| GSH | Glutathiona |
| DZ | Double-zeta |

Sumário

| | |
|---|-----|
| Resumo..... | v |
| Abstract..... | vi |
| Lista de Figuras..... | vii |
| Lista de Tabelas..... | x |
| Lista de abreviaturas e siglas..... | xi |
| Sumário..... | xii |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Cisplatina: Um breve histórico..... | 1 |
| 1.2. Análogos da Cisplatina..... | 3 |
| 1.3. Características químicas e atividade biológica..... | 4 |
| 1.4. Câncer e o tratamento quimioterápico..... | 5 |
| 1.5. Mecanismo de Ação da Cisplatina..... | 6 |
| 1.6. Mecanismo de Resistência e Glutathione (GSH)..... | 9 |
| 2. Fundamentos Teóricos..... | 12 |
| 2.1. Introdução a Química Quântica..... | 13 |
| 2.2. Método de Hatree-Fock..... | 14 |
| 2.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)..... | 15 |
| 2.3.1 Classe de Funcionais de Minnesota (Mys)..... | 16 |
| 2.4. Funções de Base..... | 17 |
| 2.5. Pseudopotencial..... | 18 |
| 2.6. Análise conformacional..... | 18 |
| 2.7. Grau de Trigonalidade..... | 19 |
| 2.8. Metodologia de Execução..... | 19 |
| 3. Resultados e Discussão..... | 23 |
| 3.1. Análise conformacional da Glutathione..... | 23 |
| 3.2. Análise estrutural dos reagentes contendo Platina..... | 28 |
| 3.3. Análise estrutural dos produtos..... | 32 |

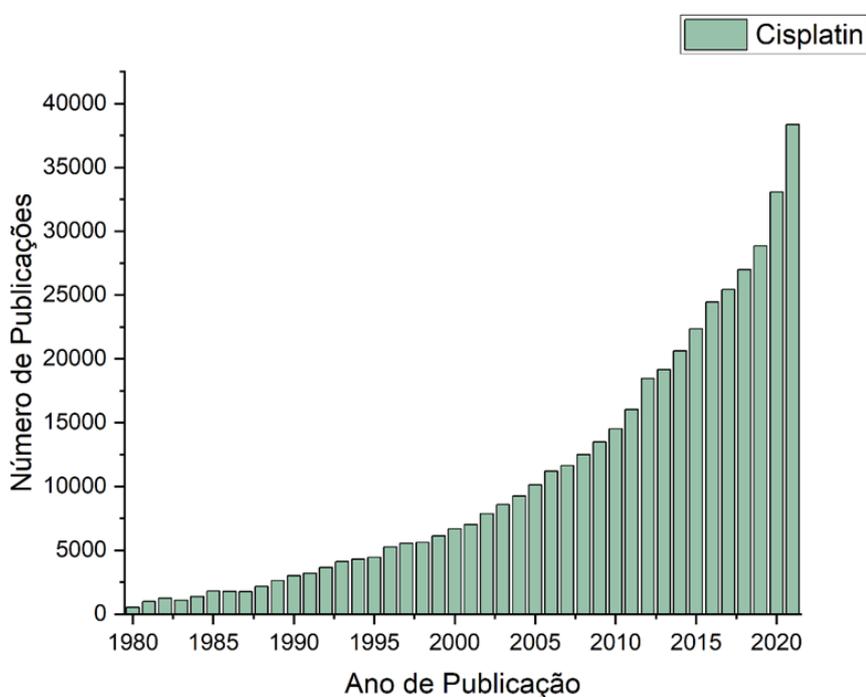
| | | |
|--------|---|----|
| 3.4. | Análise das reações..... | 34 |
| 3.4.1. | Reação A: <i>cis</i> -diaminodicloroplatina(II)-glutaciona..... | 34 |
| 3.4.2. | Reação B: monoaquodiaminocloroplatina(II)-glutaciona..... | 49 |
| 3.4.3. | Reação C: monoaquodiaminocloroplatina(II)-glutaciona | 60 |
| 3.4.4. | Reação D: diaquodiaminoplatina(II)-glutaciona | 62 |
| 3.5. | Análise Termodinâmica e Cinética | 68 |
| 4. | Considerações Finais..... | 75 |
| 5. | Referências | 77 |

A partir destes marcos, complexos de platina têm sido temática relevante ao longo da história recente da Química Bioinorgânica.

Em 1978 a cisplatina recebeu a aprovação da FDA (*Food and Drug Administration*) para uso comercial. Seguido pela aprovação, em 1979, da patente que descreve uma metodologia para regressão de tumores utilizando soluções de cisplatina, dos mesmos autores que observaram a atividade antibacteriana do composto [6], [7]. Em 1981, uma nova patente³, descreve a síntese uma forma microcristalina estável da cisplatina para administrações intravenosas pelo nome de Platinol®, para o tratamento de câncer testicular metastático, câncer de ovário e câncer de bexiga [6], [8].

Desde a descoberta da atividade biológica da cisplatina, diversos pesquisadores buscaram compreender o mecanismo da atividade anticancerígena da cisplatina, o que gerou uma vasta literatura sobre o tema, o qual será aprofundado ao longo do texto. A literatura acerca da cisplatina, envolve variadas áreas da química, como por exemplo, físico-química, química inorgânica e bioquímica, além de outros ramos da ciência como a medicina. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.2, descreve o número de publicações com a palavra-chave “Cisplatin”, entre os anos de 1980 e 2021, os dados foram extraídos da plataforma Scopus:

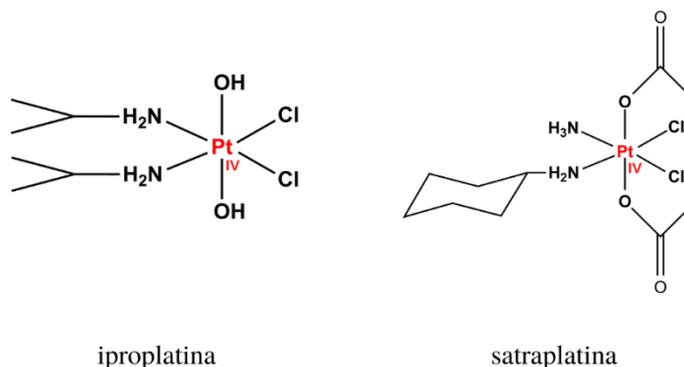


Fonte: Elaborado pelo autor.

³ Cessionária: Bristol-Myers Company.

que entraram em testes clínicos: Iproplatina (*cis*-dicloro-transdihidroxo-bispropilaminoplatina(IV)) e a Satraplatina, (bis(acetato)aminodicloro(ciclohexilamino)platina(IV)), são representadas na Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 1.4 [12]:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.4 – Representação estrutural dos compostos de Pt(IV) que chegaram aos testes clínicos.

A Iproplatina e a Satraplatina não demonstraram vantagens significativas sobre a cisplatina, oxaliplatina e carboplatina, embora a Satraplatina tenha sido o primeiro composto a ser administrado oralmente, uma vantagem em comparação aos tratamentos padrão na quimioterapia [9], [13].

1.3. Características químicas e atividade biológica

A Platina possui dois estados de oxidação comuns, sendo estes +2 e +4. Possuindo uma estrutura geométrica quadrática plana para os complexos de Pt(II) com configuração eletrônica $[Kr]5d^8$ e geometria octaédrica para Pt(IV) na distribuição $[Kr]5d^6$ uma vez que ocorre uma maior energia de estabilização do campo cristalino que essas geometrias promovem, por meio do desdobramentos dos orbitais d.

Tendo em vista a toxicidade, bem como aos mecanismos de resistências inerente a fármacos, além da busca por compostos com capacidade de produção em massa, de forma geral, a síntese de novas moléculas análogas é baseada em análises preliminares da relação estrutura química e sua atividade biológica. Por fim, observada as investigações da literatura acerca da

atividade biológica da cisplatina e de moléculas análogas, é possível descrever algumas características inerentes a atividade biológica:

- (i) Os compostos devem ser eletricamente neutros;
- (ii) A configuração *cis* deve garantir a atividade biológica;
- (iii) Os grupos abandonadores devem possuir labilidade moderada podendo ser mono ou bidentados;
- (iv) Os ligantes que se mantêm coordenados à platina são normalmente aminas relativamente inertes, preferencialmente primárias e com o átomo de nitrogênio diretamente ligado ao metal [14]–[16].

Essas considerações genéricas sobre a perspectiva da química, são indicativos da atividade biológica, embora esses aspectos possam ser fatores que auxiliem a descoberta de novos fármacos, bem como na predição de toxicidade [17].

1.4. Câncer e o tratamento quimioterápico

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS)⁴, o câncer afeta uma expressiva porcentagem da população mundial. Em 2019, o câncer foi a primeira ou segunda principal causa de morte para pacientes antes dos 70 anos em 112 países [18]. No Brasil, a estimativa para o triênio 2020-2022 é de 625 mil casos novos de câncer. A incidência e a mortalidade por câncer vêm aumentando, em decorrência do envelhecimento, bem como o crescimento populacional. Além das mudanças na distribuição e na prevalência dos fatores de risco de câncer, particularmente aos associados ao desenvolvimento socioeconômico [19].

O câncer é um termo que abrange centenas de doenças malignas que têm em comum o crescimento desordenado de células, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos a distância, dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo [20]. As forma de tratamento do câncer envolvem: cirurgia, radioterapia e quimioterapia, de modo geral elas são aplicadas em conjunto, observado apenas quanto à suscetibilidade dos tumores a cada uma das modalidades terapêuticas e à melhor sequência de sua administração [20].

⁴ As estimativas fornecidas não refletem o impacto da síndrome respiratória aguda grave coronavírus (SARS-CoV-2), pois os dados são baseados em extrapolações de dados de câncer coletados em anos anteriores à pandemia.

A quimioterapia utiliza fármacos para destruir as células malignas. Naturalmente, cada medicamento age de forma particular no corpo humano. A citotoxicidade dos medicamentos à base de platina é verificada quando há formação de ligações com o DNA, interferindo assim na replicação ou ainda na transcrição do DNA, processos essenciais para a divisão celular [21]. A cisplatina tem sua aprovação como quimioterápico no tratamento de tumores testiculares e ovarianos, devido à sua alta toxicidade, outros medicamentos são necessários no combate dos efeitos colaterais, além da limitação da dose que pode ser administrada aos pacientes ao longo do tratamento quimioterápico [11].

Nesse sentido, embora o reconhecimento da ação anticâncer, as pesquisas no desenvolvimento de novos compostos são intensas, devido à vários fatores como: baixa seletividade à células cancerosas, nefrotoxicidade, neurotoxicidade e resistência à cisplatina após determinado tempo de administração [22]. A relevância clínica desses mecanismos ainda é esparsa e pouco clara, sendo este um objetivo importante para a terapia anticâncer, inclusive para corroborar com propostas de novas moléculas biologicamente ativas que não apresentem os mesmos mecanismos de resistência [6].

1.5. Mecanismo de Ação da Cisplatina

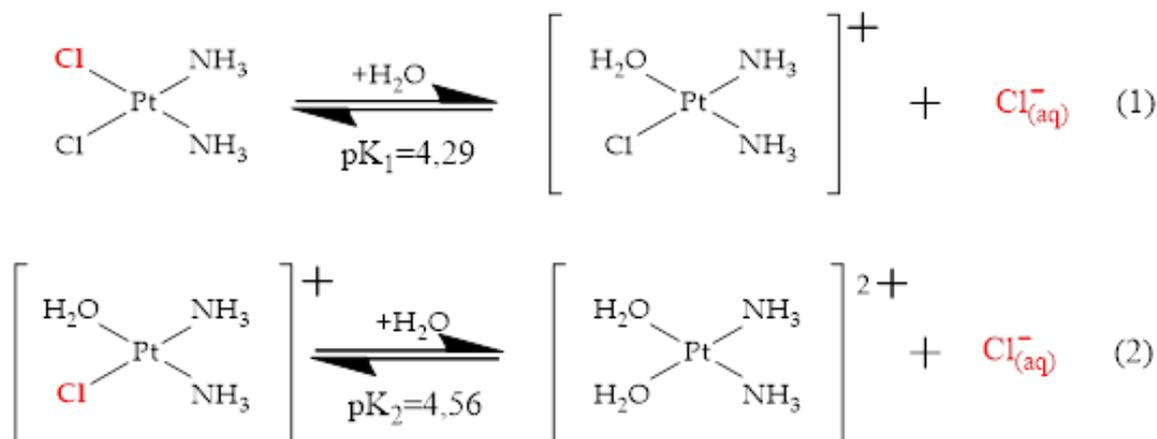
Para a quimioterapia, inicialmente é introduzida a cisplatina no paciente por via intravenosa através de uma solução aquosa de cloreto de sódio, devido a sua baixa solubilidade em água (2,53g/L a 25°C) [23]. Observa-se que a cisplatina no meio sanguíneo tem a manutenção de sua estrutura, devido à alta concentração relativa de íons cloreto (~100 mM), e grande parte das moléculas é eliminada na forma original, e a maior parcela (de 75 a 85%) é ligada a algumas proteínas presentes no plasma sanguíneo, sem atingir o estágio celular [11], [24].

Acerca dos mecanismos bioquímicos envolvidos na entrada da cisplatina na célula, por muito tempo a difusão passiva foi considerada a principal forma de entrada da Cisplatina na membrana celular [22]. Em contrapartida, alguns estudos apontam que o transporte ativo seria a maneira com que a cisplatina entra na célula, visto que o principal canal de transporte de cobre (CTR1) desempenha papel importante na entrada de drogas à base de platina nas células [25].

Nesse sentido, em baixas concentrações, normalmente próxima dos níveis plasmáticos, o transporte ativo atua na captação de forma majoritária, enquanto em concentrações mais elevadas a difusão passiva se torna mais significativa [26].

Após a entrada da cisplatina na célula, a concentração de cloro é substancialmente menor (~4 mM), fazendo com que uma reação de substituição com a água seja facilitada. [24], [27]. Essa reação é descrita na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.5:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.5 - Esquema geral das reações de substituição com água.

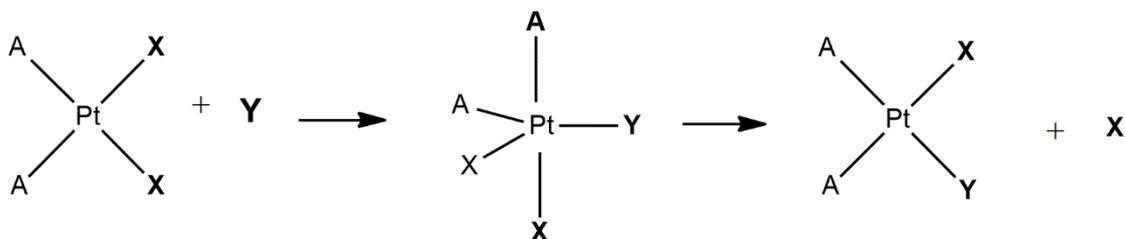
No meio celular, há uma alta concentração de água, que influencia no equilíbrio da reação da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.5, no qual é deslocado para a formação dos produtos das reações (1) e (2), observado o respectivos $\text{pK}_1=4,29$ e $\text{pK}_2=4,56$ [28].

Os produtos das reações descritas na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.5, se formam por meio de um processo relativamente lento, além de ser parcialmente dependente do tempo, sendo a ligação $\text{Pt}\square\text{N}$ cineticamente inerte e termodinamicamente estável, já a ligação $\text{Pt}\square\text{Cl}$ é semi-lábil [29]. A ligação com o grupo de entrada é totalmente formada antes da saída do grupo de saída, num estado de transição de geometria bipirâmide trigonal distorcida num mecanismo associativo, conforme descrito na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.6 [14]:

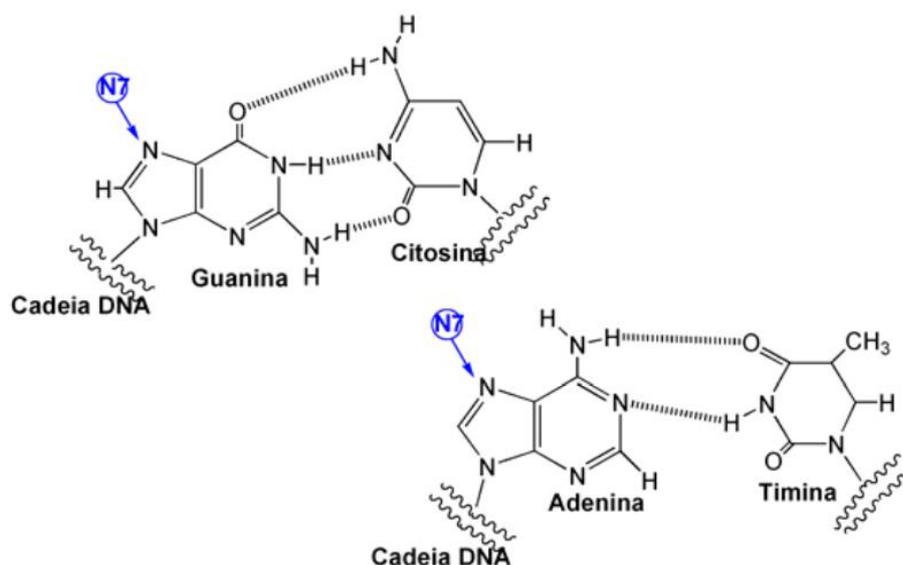


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.6 - Representação do mecanismo associativo da reação de substituição em complexos quadrático-planos de Pt(II).

A citotoxicidade da cisplatina é atribuída à ligação ao DNA, marcada por distorções do DNA de fita simples. Sua coordenação ocorre preferencialmente pelo átomo de nitrogênio (N7) da guanina (G) ou adenina (A), formando adutos cisplatina-DNA, apontados na Fonte: [14].

Figura 1.7:



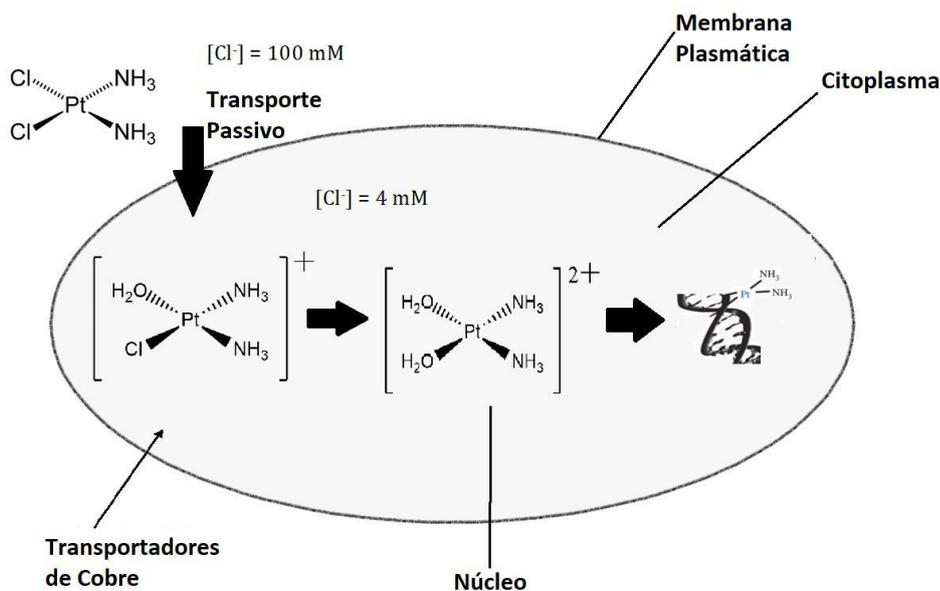
Fonte: [14].

Figura 1.7 - Ligações de hidrogênio entre as bases guanina e citosina e adenina e timina.

Essa coordenação gera distorções significativas na sua estrutura de dupla hélice, causando desnovelamento e torção, que por sua vez são responsáveis pela indução da apoptose celular. Estima-se que apenas 5 a 10% da dose administrada de drogas se coordena ao alvo final, o DNA celular. [11], [30].

Os mecanismos de ação da Cisplatina, desde a sua introdução no meio celular, até a interação com o DNA, discutidos ao longo deste capítulo são generalizados e ilustrados na Fonte: *Adaptado da referência [22].*

Figura 1.8:



Fonte: Adaptado da referência [22].

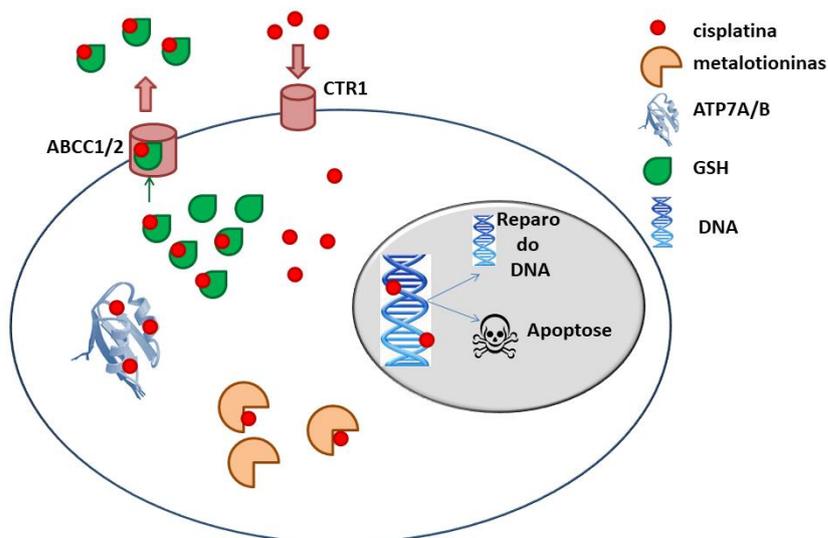
Figura 1.8 - Representação da entrada da Cisplatina na célula e suas principais reações.

1.6. Mecanismo de Resistência e Glutathione (GSH)

Certos tumores originalmente sensíveis à Cisplatina, eventualmente desenvolvem quimioresistência, uma das principais limitações na utilização da cisplatina em tratamentos clínicos, nos casos de câncer colorretal, de pulmão e de próstata [9]. Em geral, a resistência é multifatorial, ou seja, várias reações contribuem simultaneamente, fazendo com que o elevado nível de resistência seja um efeito líquido de múltiplos mecanismos independentes. Embora estes não se sobrepõem completamente, isso fornece a oportunidade de combinar terapias direcionadas com drogas de platina [6].

As espécies ionizadas da Cisplatina, podem formar ligações com nucleófilos endógenos tais como metionina, peptídeos contendo cisteína e polipeptídeos, incluindo glutathione (GSH), bem como metalotionínas (MT), descritas na Fonte: *adaptado da referência [31]*.

Figura 1.9:



Fonte: adaptado da referência [31].

Figura 1.9 - Interações da cisplatina no interior da célula .

Essas interações, compiladas na *Fonte: adaptado da referência [31]*.

Figura 1.9, *umentam o estresse oxidativo gerando efeitos citotóxicos, uma vez que as espécies ionizadas da cisplatina, monoaquodiaminocloroplatina(II) e diaquodiaminoplatina(II) descritas na* *Fonte:*

Elaborado pelo autor.

Figura 1.5, são inativadas por essas eventuais reações, formando então, estruturas que tenham afinidade para interagir com grupos sulfidríla em proteínas e átomos doadores de nitrogênio em ácidos nucleicos protegendo assim a interação com o DNA, conforme *Fonte: adaptado da referência [31]*.

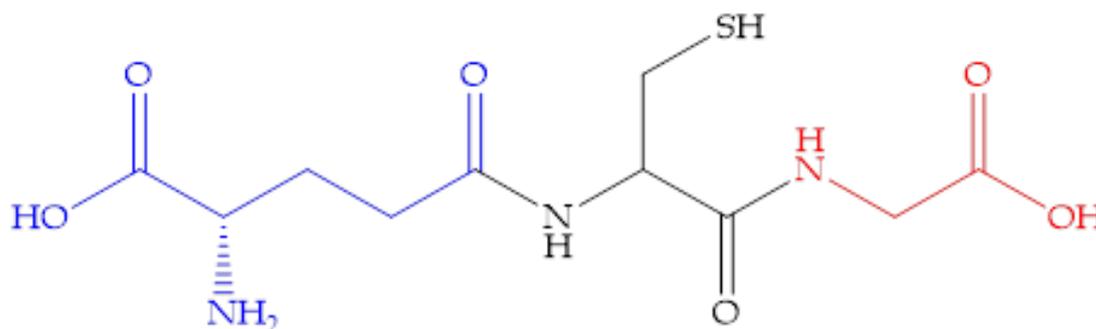
Figura 1.9 [23], [27].

A glutatona (GSH) é frequentemente considerada como a principal contribuinte para o sequestro de cisplatina por causa de sua alta concentração intracelular (0,5-10 mM). Nesse sentido, a maior parte da interação modula a toxicidade evitando, assim, que a cisplatina interage com o DNA, uma vez que os complexos GSH--cis-DDP são prontamente excretados do meio celular [32].

A Glutatona, cuja estrutura está descrita na *Fonte: Elaborado pelo autor.*

Figura 1.10, é um tripeptídeo presente nas células de grande parte dos seres vivos, é formado por três aminoácidos: cisteína (Preto), ácido glutâmico (Azul) e glicina (Vermelho), sendo um dos principais compostos tiolato de baixo peso molecular em células, com uma ligação peptídica entre o grupo amina da cisteína e o grupo carboxílico da cadeia lateral do ácido

glutâmico. Sua principal atuação nos organismos é como agente antioxidante, eliminador de radicais livres ou agente desintoxicante, bem como na defesa das células contra o estresse oxidativo [33], [34].



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 1.10 - Representação estrutural da Glutathione (GSH).

A GSH é o mais abundante tiol celular de baixa massa molecular, sua síntese ocorre no meio intracelular pela adição sequencial de cisteínas ao glutamato, seguida pela adição de glicerina com a ação de duas enzimas. Inicialmente, com a catálise da enzima γ -glutamylcisteína sintetase, acontece a formação de uma ligação peptídica entre os aminoácidos glutâmicos e cisteínas. Em seguida, o dipeptídeo é ligado à glicerina com a atividade da glutathione sintetase [33], [34].

Reações com a GSH podem envolver o grupo sulfidril (SH), altamente polarizável, tornando-o um bom nucleófilo para reações com a cisplatina. A literatura aponta que a GSH é capaz de prevenir danos a importantes componentes celulares causados por espécies reativas de oxigênio, como radicais livres, peróxidos, peróxidos lipídicos e metais [35]. Assim, níveis elevados de GSH, da enzima que catalisa a síntese de GSH, ou da enzima que medeia a conjugação entre cisplatina e a GSH, têm sido observados no contexto da resistência à cisplatina, tanto *in vitro* quanto *in vivo* [9].

A glutathione (GSH) não apresenta uma estrutura precisa em solução, é possível observar um conjunto de conformações que variam de acordo com diferentes fatores como pH, a presença de outras moléculas, temperatura e condições do solvente. [36]. Apesar da estrutura da GSH terem sido publicados em dinâmica molecular, espectroscopia Raman e RMN sob várias condições fornecem a evidência de distintas conformações de GSH, [37], [38] Görbitz e colaboradores realizaram a determinação da estrutura da GSH por difração de Raio-x, na forma cristalina a 120k

[39]. Zahra e colaboradores, avaliaram os aspectos conformacionais da GSH, indicando que não há uma preferência conformacional para as formas iônicas da estrutura [40].

As reações que envolvem a interação Cisplatina com a Glutathione, são conduzidas através de reações associativas e ocorrem em um meio biológico complexo, fator complicador para a interpretação de resultados experimentais, nesse sentido essas reações podem ser compreendidas através de investigações teóricas, que contemplem propriedades eletrônicas e estruturais ao nível molecular podendo inclusive elucidar as estruturas dos estados de transição envolvidos e descrever o caminho mais termodinamicamente e cineticamente favorável das reações.

O presente trabalho tem como objetivo o estudo das propriedades cinéticas, e termodinâmicas e estruturais, a partir de diferentes metodologias teórico-computacionais, que permitissem investigar as reações da cisplatina, *cis*-diaminodicloroplatina (II), com a glutathione, uma vez que os mecanismos de reação da cisplatina com os alvos biológicos, particularmente com a GSH, ainda não são completamente compreendidos.

2. Fundamentos Teóricos

Neste Capítulo, alguns conceitos serão apresentados, particularmente aqueles fundamentais para o entendimento e interpretação dos resultados obtidos através do uso de metodologias teóricas. A química teórica-computacional é construída, com base nas descrições matemáticas formalmente definidas pela mecânica quântica, servindo de ferramenta para investigações de caráter teórico, desenvolvidos pra essa finalidade, dos quais são automatizados para a busca de um resultado numérico que tenha também significado científico [41].

As metodologias teórico-computacionais utilizadas na presente dissertação, tem como base resultados numéricos, que buscam a aproximação da solução analítica. Tais aproximações são decorrentes da dificuldade matemática em resolver equações algebricamente rigorosas, bem como do custo computacional [42].

Nesse sentido, percebe-se que, embora a mecânica quântica forneça uma descrição analítica do comportamento do elétron, a resolução de suas equações é extremamente dependente de técnicas e aproximações matemáticas, tendo como alicerce a equação de Schrödinger independente do tempo:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2.1)$$

A função de onda Ψ descrita na equação (2.1) depende das coordenadas de todas as partículas que constituem o sistema de estudo, onde, \hat{H} é o operador da função de onda, e E é a

energia total correspondente do sistema [43]. Uma vez obtida a solução numérica desta equação, pode-se estudar um sistema molecular de interesse, obtendo sua estrutura, bem como propriedades químicas [44].

2.1. Introdução a Química Quântica

Um dos princípios fundamentais da mecânica quântica é a utilização da função de onda como forma de descrever um determinado estado quântico, e a solução da equação de Schrödinger é a forma de extrair as informações da função que representa esse estado [44]. A função de onda Ψ , da equação (2.2), pode ser reescrita em termos das coordenadas espaciais das partículas que constituem o sistema, ou seja, coordenadas eletrônicas (r) e nucleares (R):

$$\hat{H}\Psi(r, R) = E\Psi(r, R) \quad (2.2)$$

O Hamiltoniano descreve os termos de interação existentes entre as partículas. Ele pode ser descrito para uma molécula poliatômica composta por N elétrons e M núcleos como:

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.3)$$

Na equação (2.3), os somatórios são realizados sobre todos os N elétrons e os M núcleos do sistema. R_{AB} determina a distância entre os núcleos A e B , r_{iA} é a distância entre o núcleo A e o elétron i , r_{ij} é a distância entre os elétrons i e j , Z_A é o número atômico do átomo A , M_A é a massa do núcleo A . Essa equação pode ser reescrita de forma concisa:

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{T}_n + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_n + \hat{V}_e \quad (2.4)$$

Onde:

\hat{T}_e o operador da energia cinética eletrônica;

\hat{T}_n é o operador de energia repulsiva núcleo-núcleo;

\hat{V}_{ne} é o operador referente a atração núcleo-elétron;

\hat{V}_n é o operador da energia cinética nuclear;

\hat{V}_e é o operador da energia repulsiva elétron- elétron [45].

É importante destacar que essa descrição do Hamiltoniano despreza as correções relativísticas para a massa, bem como não diferencia os elétrons em relação aos seus spins, ou seja, é possível apenas resolver analiticamente a equação de Schrödinger para o átomo de hidrogênio ou para sistemas de apenas um elétron [46].

Nesse sentido, foram desenvolvidos vários modelos e aproximações em vista de encontrar uma resolução numérica da equação de Schrödinger para sistemas polieletrônicos, a primeira aproximação realizada com esse intuito foi a aproximação de Born-Oppenheimer [41].

Tal aproximação consiste basicamente na separação da equação de Schrödinger em duas partes: eletrônica e nuclear, uma vez que os núcleos são mais pesados que os elétrons, seus movimentos são muito mais lentos que o movimento eletrônico, podendo considerar os mesmos fixos em relação aos elétrons [41]:

$$\hat{H}_T = \hat{T}_e + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_e \quad (2.5)$$

Por fim, é importante indicar que em sistemas polieletrônicos, não é viável calcular analiticamente o efeito do operador hamiltoniano.

2.2. Método de Hatree-Fock

O método de Hatree-Fock (HF) é um método *ab initio*, e percursos para descrição de sistemas polieletrônicos, no qual o elétron (Z) é descrito individualmente se movendo, dado um potencial médio gerado pelas interações eletrostáticas com os demais elétrons do sistema (Z-1), em detrimento de uma descrição, onde todos os elétrons produzem uma interação instantânea uns com os outros [47].

Assim, a descrição do elétron interagindo com um campo produzido pelos demais elétrons do sistema, é possível simplificar o hamiltoniano, separando-o com a descrição de somente um elétron, juntamente com o potencial dos demais elétrons (Z-1), sendo este descrito pela equação (2.6) [45]:

$$\hat{H} = -\frac{\nabla_{e_1}^2}{2} - \frac{\nabla_{e_2}^2}{2} + U_{ne_1} + U_{ne_2} + U_{e_1e_2} \quad (2.6)$$

Observe que o termo $\frac{\nabla_{e_1}^2}{2}$ descreve a energia cinética do elétron 1, seguida pela descrição da energia cinética do elétron 2 $\frac{\nabla_{e_2}^2}{2}$, as interações elétron-núcleo U_{ne_1} e U_{ne_2} , e por fim a interação elétron-elétron $U_{e_1e_2}$. A substituição da interação elétron-elétron por um potencial efetivo, é descrito, conforme a equação 2.7:

$$\hat{H} = \left[-\frac{\nabla_{e_1}^2}{2} + U_{ne_1} + U_{eff} \right] + \left[\frac{\nabla_{e_2}^2}{2} + U_{ne_2} + U_{eff} \right] \quad (2.7)$$

O potencial efetivo descrito pela equação (2.7)

$$\nabla_{eff} = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \int \frac{|\Phi_i(r')|^2}{|r_1 - r'|} dr' \quad (2.8)$$

Onde $|\Phi_i(\mathbf{r}')|^2$ descreve a densidade eletrônica pelo grupo de elétrons ($Z-1$), que está a uma distância média r' do elétron r_1 , tomado como referência no sistema de coordenadas, assim é possível utilizar duas ou mais funções de onda, para cada elétron do sistema, formando assim orbitais individuais dependentes das coordenadas de cada elétron [45].

As aproximações do método de Hartree-Fock, trazem uma inexatidão no que tange à ausência da correlação eletrônica, de forma explícita, o que promove resultados imprecisos até mesmo para sistemas com poucos elétrons.

2.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

No método Hartree-Fock as propriedades moleculares são obtidas a partir da função de onda, observada a limitação relacionada a correlação entre os elétrons, em vista de um tratamento com maior precisão de sistemas moleculares e reduzir o custo computacional, outros métodos foram desenvolvidos, como a Teoria do Funcional da Densidade (*Density Functional Theory* – DFT) onde se utiliza a densidade eletrônica do sistema, por meio de funcionais que representam operadores de troca e correlação, para calcular as propriedades desejadas [48].

Na DFT a densidade eletrônica é um aspecto importante, que descreve a distribuição dos elétrons de um sistema, sendo dependente apenas das coordenadas, e apresenta a grande vantagem de incluir efeitos de correlação eletrônica, enquanto que o número de funções de onda é proporcional ao número de elétrons envolvidos [45].

A descrição de um sistema de muitos elétrons pode ser determinada usando-se funcionais, $E[\rho(\vec{r})]$ onde a energia depende de uma função dependente da densidade eletrônica, nesse sentido temos que nos métodos baseados em função de onda, a energia também é um funcional, porque depende da função de onda, $E[\Psi(\vec{r})]$, essa descrição garante que a densidade eletrônica como variável fundamental são os teoremas propostos por Hohenberg e Kohn, enunciados a seguir:

- Teorema 1: O potencial externo $v_{ext}(\vec{r})$ sentido pelos elétrons é um funcional único da densidade eletrônica do estado fundamental $\rho_0(\vec{r})$;
- Teorema 2: A energia do estado fundamental $E_0[\rho]$ é mínima para a densidade $\rho_0(\vec{r})$ exata [49].

O teorema 1, aponta que a função de onda é o estado fundamental $\rho_0(\vec{r})$ e partir dela, as demais propriedades deste estado são funcionais da densidade eletrônica $-\rho(\vec{r})$ e o teorema 2

diz que, a energia do estado fundamental de um sistema com muitos elétrons sob um dado potencial externo $v_{ext}(\vec{r})$ é mínima para a densidade exata.

Portanto, a densidade eletrônica determina um potencial eletrônico externo, que é produzido pelos núcleos atômicos e pelo número de elétrons do sistema, desta maneira é possível descrever também o Hamiltoniano molecular do sistema. Além disto, sendo a energia total do sistema sempre maior ou igual a energia exata do mesmo, a densidade eletrônica que descreve esse sistema é aquela que minimiza a energia eletrônica no estado fundamental.

Podemos escrever a energia como um funcional da densidade eletrônica da seguinte forma, na equação (2.9):

$$E[\rho] = T[\rho] + V[\rho] + v_{ext}[\rho] \quad (2.9)$$

Onde:

$T[\rho]$ descreve a energia cinética do sistema;

$V[\rho]$ descreve o potencial de interação entre elétrons e núcleos;

$v_{ext}[\rho]$ descreve o potencial externo gerado pela interação entre elétrons.

De uma forma geral, pode-se dizer que a DFT inclui os efeitos de correlação eletrônica por meio da densidade eletrônica, no entanto há outros métodos que incluem de forma explícita a interação instantânea de pares de elétrons, os quais são conhecidos como métodos correlacionados, estes não fazem parte do escopo da presente dissertação.

2.3.1 Classe de Funcionais de Minnessota (Myz)

Os Funcionais de Minnesota (Myz) são funcionais semiempíricos do tipo meta-GGA *meta-Aproximação de Gradiente Generalizada (meta-Generalized Gradient Approximation -)* desenvolvidos na Universidade de Minnesota, EUA [50]. Há diversos Funcionais de Minnesota, os mais utilizados pela literatura encontra-se na classe M06, nos quais há o funcional M06-2x utilizado na presente dissertação, onde há dependência das seguintes variáveis: densidade de spin (ρ_σ), gradiente de densidade de spin reduzido (x_σ) e densidade de energia cinética de spin (τ_σ), de acordo com as equações (2.10) e (2.11), onde:

$$x_\sigma = \frac{|\nabla\rho_\sigma|}{\rho_\sigma^{2/3}} \leftrightarrow \sigma = \alpha, \beta \quad (2.10)$$

$$\tau_\sigma = \frac{1}{2} \sum_i^{ocupado} |\nabla\Psi_{i\sigma}|^2 \quad (2.11)$$

Particularmente para o funcional M06-2x, há a adição da energia de correlação de troca híbrida, descrita pela equação (2.12):

$$E_x^{HF} = \frac{x}{100} E_x^{HF} + \left(1 - \frac{x}{100}\right) E_x^{HF} + E_c^{HF} \quad (2.12)$$

Onde E_x^{HF} é a descrição da energia de troca Hartree-Fock não local, x é a porcentagem de troca Hartree-Fock no funcional híbrido, E_x^{HF} é a energia de troca DFT local e E_c^{HF} é a energia de correlação de DFT. Particularmente o funcional M06-2x é utilizado para estudos de termoquímica, cinética, interações não-covalentes, estados excitados e metais de transição, onde a porcentagem de troca é de 54%, bem como descreve as interações de dispersão, importantes para estruturas que possuem liberdades conformacional e rotações livres [50].

2.4. Funções de Base

Orbitais atômicos são soluções da equação Hartree-Fock para o átomo e o termo orbital atômico pode ser substituído pelo termo função de base, tais funções descrevem os elétrons nos átomos e os dois tipos mais conhecidos na química computacional são orbitais atômicos do tipo Slater (STO - Slater Type Orbital) e as funções atômicas do tipo Gaussiana (GTO - Gaussian Type Orbitals), sendo essa segunda particularmente mais utilizada em cálculos *ab initio*, pela capacidade em calcular integrais na equação de Schrödinger eletrônica [45].

As GTO são funções descritas por polinômios em coordenadas cartesianas (x, y, z) seguido por uma exponencial em r^2 , representadas pela equação (2.13):

$$g_{ijk} = N x^i y^j z^k e^{-\alpha r^2} \quad (2.13)$$

Quando os índices (i, j, k) forem zero, descreve-se um orbital atômico tipo s, quando o valor for 1, há a descrição de um orbital p e quando o índice é 2 temos a descrição de um orbital atômico d. Tais funções são descritas tendo o átomo de interesse centrado no sistema de coordenadas, gerando uma dificuldade para a descrição da densidade eletrônica entre átomos, ou seja, a descrição da ligação química.

Por essa implicação, os orbitais atômicos podem ser definidos pela combinação linear de GTO, originando novas funções que são descritas como funções contraídas (CGTO). A função representante do orbital espacial então, fica definida como um conjunto de funções que juntas podem formar um conjunto completo de bases [51], conforme a equação (2.14):

$$\Phi_a = \sum_{\mu=1}^k C_{\mu a} \sum_r d_{\mu r} g_r \quad (2.14)$$

Onde, g_r são as funções gaussianas (GTO), e $d_{\mu r}$ é o coeficiente de expansão. Nos cálculos *ab initio*, utilizam-se variadas funções gaussianas, uma vez que se constituem um bom conjunto inicial para a descrição de orbitais.

A função de base 6-31G(d,p), utilizada na presente dissertação, possui os orbitais da camada interna descritos por 1 (CGTO) de seis gaussianas primitivas (6 GTO) e duas (CGTO) de três gaussianas primitivas (3 GTO) e uma gaussiana primitiva (1 GTO), bem como a adição de funções gaussianas polarizadoras do tipo 1d para os átomos do sistema, excetuando o hidrogênio e a função polarizadora 1p para o átomo de hidrogênio. As adições destas funções visam descrever a deformação dos orbitais para fora do eixo internuclear, com a finalidade de descrever as ligações químicas, particularmente aquelas que envolvem ligações de hidrogênio, melhorando a modelagem do sistema de interesse [52].

2.5. Pseudopotencial

Uma das principais dificuldades em tratar sistemas multieletrônicos, principalmente os que contêm átomos de metais de transição, é a dependência entre o número de integrais calculadas, e o número de orbitais moleculares envolvidos, uma vez que átomos de metais de transição podem possuir um número muito grande de elétrons, principalmente os da segunda e terceira séries de transição, levando a um aumento considerável no custo computacional.

De uma forma geral, boa parte dos elétrons presentes nos metais de transição é de camada interna e, a princípio, não estão diretamente envolvidos na formação e quebra de ligações químicas. Avaliando o átomo de platina, pode-se distinguir as camadas internas e de valência dos 78 elétrons: Pt ($Z=78$): onde, os orbitais de valência são representados por: $5s^2 5p^6 5d^9 6s^1$, estes 18 elétrons são tratados de forma explícita, e os demais elétrons tem seus orbitais descritos por um pseudopotencial, também conhecido como *Effective Core Potential* (ECP) [53].

Por fim, vale ressaltar que esta seção não se teve intenção de apresentar todos os métodos usados em química computacional e sim descrever de forma concisa os principais fundamentos de química teórica usados na presente dissertação.

2.6. Análise conformacional

A glutationa tem diferentes arranjos espaciais resultantes da rotação ao longo de uma ligação simples, ou seja, ela possui outras conformações. Para muitas moléculas existe uma mistura de diferentes conformações em equilíbrio, sendo que aquele mais estável será estatisticamente mais populoso quando comparado com os outros confórmeros a uma determinada temperatura.

Por meio de uma varredura sistemática na curva de energia potencial, são determinados os mínimos, em seguida realiza-se cálculos de otimização de geometria e análise vibracional, o último para se obter dados termodinâmicos de determinadas conformações, tornando-se possível determinar qual a população de cada conformero a partir da energia livre de Gibbs (G), uma vez que estas possuem estabilidades termodinâmicas diferentes [45].

A população de cada conformero pode ser determinada através da constante de equilíbrio (K) do processo de interconversão entre conformeros distintos.

$$K_i = \frac{[C]}{[C_i]} = e^{\frac{-\Delta G_i}{RT}} \quad (2.15)$$

De acordo com a equação 2.15, temos C e C_i, são conformações da mesma molécula, e i equivale a quantidade de conformações predominantes, descrevendo o equilíbrio, onde ΔG é a diferença das energias livre de Gibbs das conformações inicial e final, R é a constante universal dos gases e T é a temperatura em Kelvin.

A soma das concentrações de cada conformação dá a população total:

$$[C] = \frac{1}{1 + \sum K_i} \quad (2.16)$$

Tendo as constantes de equilíbrio também é possível calcular as concentrações da seguinte forma:

$$[C_i] = [C_{i-1}][K_{i-1}] \quad (2.17)$$

2.7. Grau de Trigonalidade

O grau de trigonalidade (τ) é um parâmetro numérico que descreve a geometria de compostos de coordenação, sendo está descrita pela seguinte expressão de (2.18) [54]:

$$\tau = \frac{(\beta - \alpha)}{60^\circ} \quad (2.18)$$

Onde β é o ângulo formado pelos ligantes axiais e α é o maior ângulo no plano equatorial. Se β > α, podemos ter: τ=1, a estrutura terá uma simetria D_{3h}, ou seja, uma bipirâmide trigonal “perfeita”. Caso, τ=0, a simetria será C_{4v}, com geometria pirâmide de base quadrada. Para os reagentes e produtos foi determinado o parâmetro τ'₄ para a determinação de sua geometria, dada a seguinte equação (2.19):

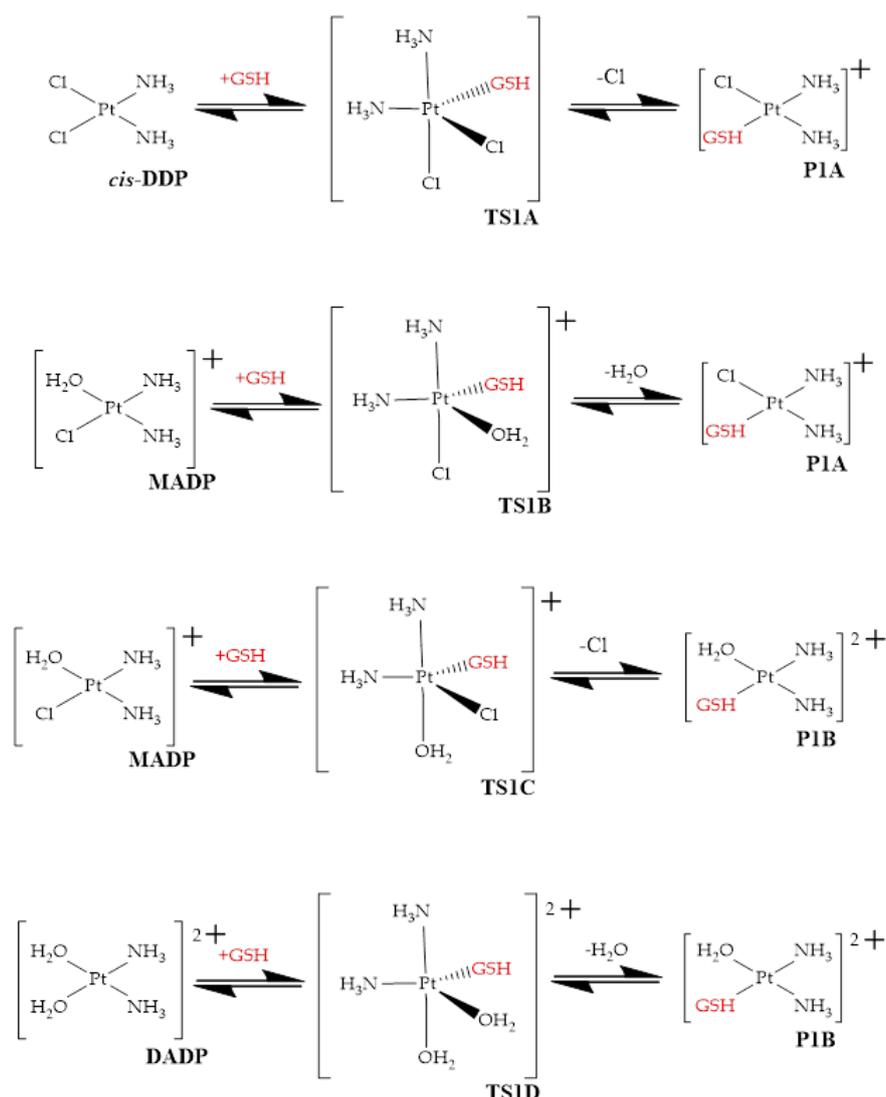
$$\tau'_4 = \frac{(\beta - \alpha)}{360^\circ - \theta} + \frac{180^\circ - \beta}{180^\circ - \theta} \quad (2.19)$$

Onde $\beta > \alpha$, bem como estes são os maiores ângulos com o centro de coordenação e $\theta = 109,5^\circ$ [55]. Onde $\tau_4 = 0$ temos uma geometria quadrático-plana e $\tau_4 = 1$ temos uma geometria tetraédrica.

2.8. Metodologia de Execução

A metodologia de execução envolveu cálculos computacionais, utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT), das reações de substituição da cisplatina com a glutatona, tomando como parâmetro inicial as estruturas otimizadas da Cisplatina e da glutatona de (CHEN; ZHOU, 2015). O esquema geral das reações estudadas é descrito na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.1:



Fonte: Elaborado pelo autor.

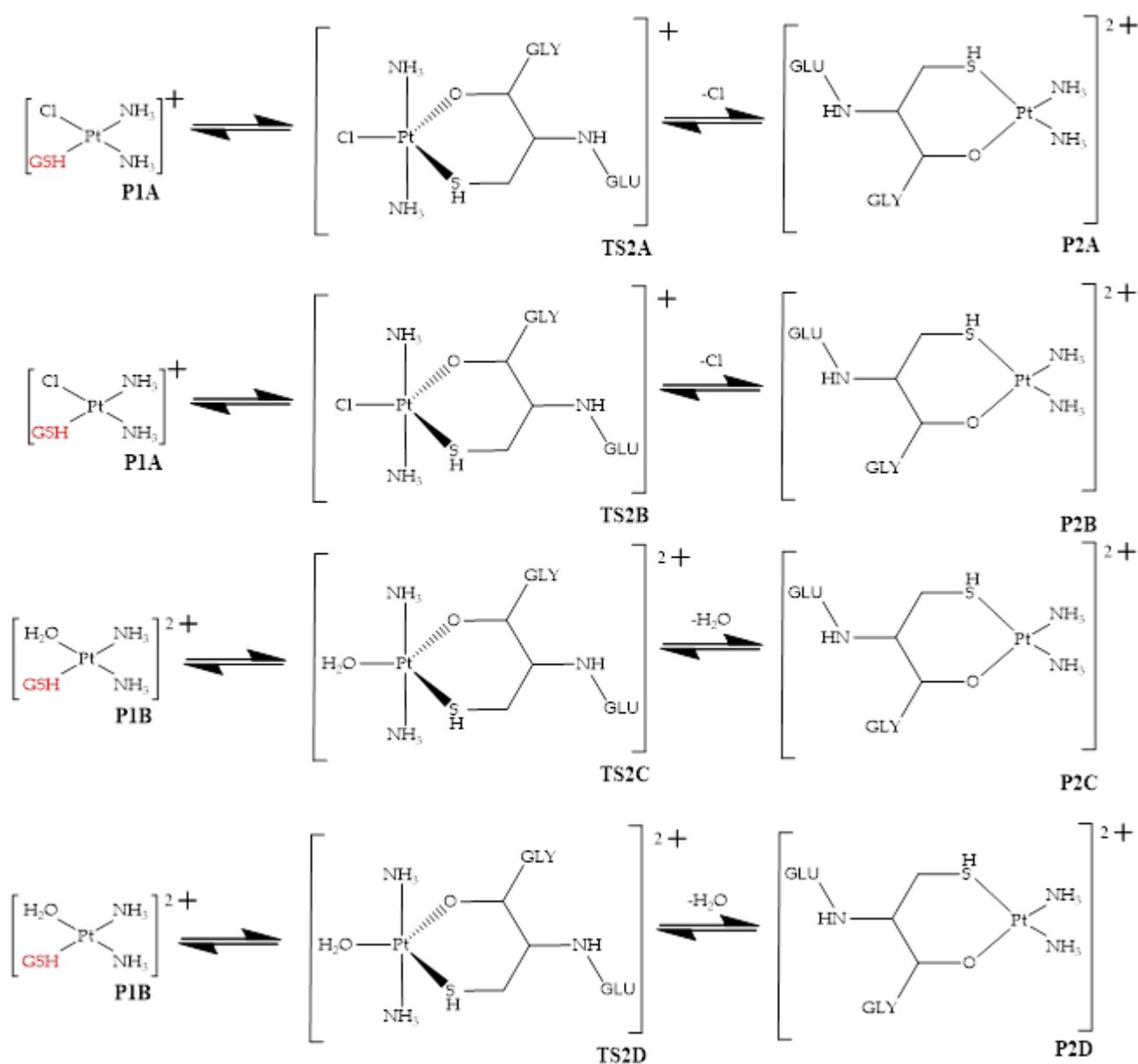
Figura 2.1 - Esquema geral da primeira etapa das reações estudadas.

A cis-diaminodicloroplatina(II), a monoaquodiaminocloroplatina(II) e a cis-diaquodiaminoplatina(II) serão tratadas ao longo do texto pelas siglas: cis-DDP, MADP e DADP respectivamente. Os estados de transição pelas siglas TS1A, TS1B, TS1C e TS1D, e os produtos como P1A e P1B, conforme descritos na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.1. Também foram descritas a segunda etapa das reações da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.1, estas são descritas na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.2:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.2 - Esquema geral da segunda etapa das reações estudadas.

Os estados de transição da segunda etapa serão tratados ao longo do texto pelas siglas TS2A, TS2B, TS2C e TS2D, e os produtos como P2A, P2B, P2C e P2D conforme descritos na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.2. Observe que P2A e P2B tenham a mesma carga e mesma estrutura na representação bidimensional, assim como P2C e P2D, estes produtos são explicitados separados, uma vez que se obteve mais de um estado de transição para as reações propostas, além da variação da conformação da GSH entres es reações propostas.

Os reagentes e produtos das reações propostas foram descritos de duas formas: via IRC, que consiste nos reagentes e produtos calculados a partir dos cálculos de IRC, e via intuitiva, que se baseia nos conhecimentos gerais de química para a elaboração dos reagentes e produtos.

Embora haja, vários sítios para potenciais coordenações entre a platina e a glutathione, para a presente dissertação, foi escolhido o átomo de enxofre como o sítio principal das reações estudadas, particularmente devido ao fato da platina (II) ser considerada um ácido mole de acordo com a teoria HSAB (*Hard Soft Acid Base*) de Pearson, portanto sua ligação, de caráter covalente, será mais estável com uma base mole, logo, ela possui uma alta afinidade com moléculas do meio biológico que contenham o átomo de enxofre [56], [57].

Os cálculos foram realizados com o funcional M062X, este particularmente eficiente para o estudo de interações não-covalentes e a função de base 6-31g(d,p) para os átomos leves e para o átomo de platina foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ, com 18 elétrons são tratados de forma explícita, nas funções de base do tipo DZ [50], [58]. Os cálculos de coordenada intrínseca de reação (IRC) foram realizados em vista de avaliar os pontos estacionários da reação que conectam os estados de transição simulados [59]. Por fim foram calculados o grau de trigonalidade para as estruturas estudadas [54].

Foi utilizado o programa Gaussian09 para todos os cálculos da presente dissertação [60]. A análise vibracional das estruturas otimizadas foi realizada no mesmo nível de teoria dos cálculos de otimização de geometria. As geometrias são mínimos energéticos, contendo somente frequências vibracionais positivas e reais, e para os estados de transição de primeira ordem uma única frequência imaginária [61]. Essa análise norteou também a obtenção dos parâmetros termodinâmicos como a entalpia, H, entropia, S, e energia livre de Gibbs, G [62].

A análise termodinâmica, compreende o estudo das variações da Energia Livre de Gibbs (ΔG), Entalpia (ΔH) e Entropia (ΔS). O ΔG , ΔH e ΔG^\ddagger foram calculados conforme equações (2.20), (2.21), (2.22):

$$\Delta G = G(\sum \text{produtos}) - G(\sum \text{reagentes}) \quad (2.20)$$

$$\Delta H = H(\sum \text{produtos}) - H(\sum \text{reagentes}) \quad (2.21)$$

$$\Delta G^\ddagger = G(\text{Estado de Transição}) - G(\sum \text{reagentes}) \quad (2.22)$$

Para cálculo do ΔS , utilizou-se a equação (2.23):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.23)$$

Também foi calculado, o grau de trigonalidade (τ) das estruturas do estado de transição, e uma análise cinética com o cálculo do parâmetro K [62]. Além dos cálculos de coordenada intrínseca de reação (IRC) foram realizados em vista de avaliar os pontos estacionários da reação que conectam os estados de transição simulados.

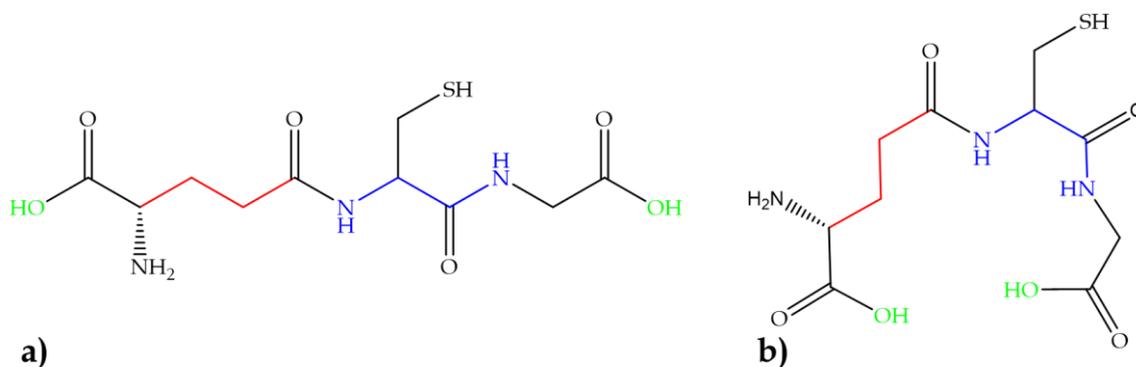
3. Resultados e Discussão

Nesse capítulo serão apresentadas e discutidas as estruturas obtidas em cada etapa. Os resultados obtidos, visam compreender as reações, foram analisadas as estruturas otimizadas, bem como as respectivas análises vibracionais, e estruturais do sistema estudado. Os reagentes e os produtos foram obtidos, além de diferentes conformémeros da glutathiona, bem como as estruturas do estado de transição e respectivas coordenadas intrínsecas de reação.

3.1. Análise conformacional da Glutathiona

Inicialmente foi realizada a otimização de geometria e a análise vibracional da Glutathiona, partindo da estrutura calculada por Chen e colaboradores [56] utilizando função de base 6-31G(d,p), funcional M06-2X, em seguida, servindo como estrutura de partida para os cálculos de análise conformacional. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.1, são apresentados parâmetros geométricos para as estruturas da GSH:



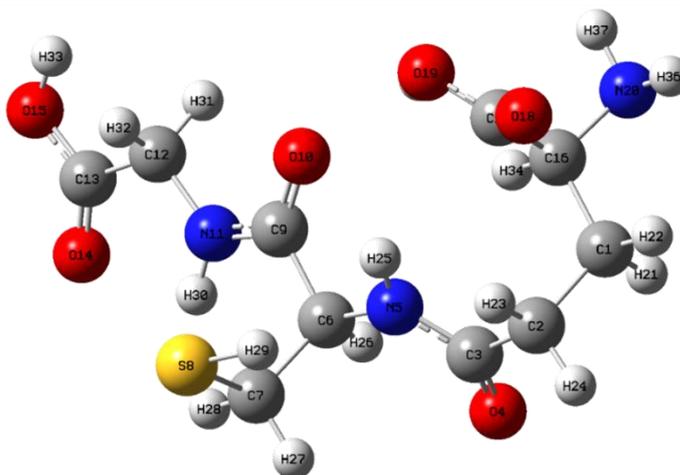
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.1- Ilustração das ligações peptídicas e grupos hidroxilas terminais da Glutaciona, a) Conformação “aberta” b) conformação “fechada”.

Na Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.1 temos em vermelho o diedro $GLUC_{\alpha}-C-C-C(COOH)$, em azul o diedro $CYSN-C-C-N(CH_2COOH)$ e em verde as hidroxilas terminais do ácido glutâmico e da glicina. Os valores dos dois ângulos diedros e a distância entre as hidroxilas terminais, são indicativos do tipo da conformação adotada pela GSH, que será discutido ao longo do texto. A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.2 ilustra a estrutura tridimensional da conformação I da glutaciona a partir da otimização de geometria:



Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.2 - Estrutura otimizada em fase gás DFT M062X/6-31G(d,p) da Glutaciona (GSH).

A GSH possui diferentes conformações, possuindo os seguintes centros quirais: R no Carbono 6 da Cisteína e S no Carbono 16 do Ácido Glutâmico, a Tabela 3.1 apresenta os resultados de comprimento de ligação e ângulo de ligação:

Tabela 3.1 - Comprimento ligação da Glutaciona (GSH) otimizada em DFT M062x/6-31G(d,p), B3LYP/6-31+G(d,p)^a e experimental^b

| Sítios | Comprimento de Ligação (Å) | | | | | |
|---------------|-------------------------------|------|--------------------------------|------|---------------------------|------|
| | M062x/6-31G(d,p) ^a | | B3LYP/6-31+G(d,p) ^b | | Experimental ^c | |
| Cisteína (S8) | -H | -C | -H | -C | -H | -C |
| | 1,34 | 1,83 | 1,35 | 1,84 | - | 1,82 |
| Glicina (C13) | =O | -OH | =O | -OH | =O | -OH |
| | 1,20 | 1,34 | 1,21 | 1,35 | 1,18 | 1,31 |

| | | | | | | |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Ácido glutâmico (C16) | =O | -OH | =O | -OH | =O | -OH |
| | 1,21 | 1,34 | 1,21 | 1,35 | 1,26 | 1,24 |
| Ácido glutâmico (N20) | -H | -H | -H | -H | -H | -H |
| | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 1,01 | - | - |

a - elaborado pelo autor; b - [63]; c - [39]

Os dados da *Tabela 3.1*, apontam uma proximidade entre os valores calculados no presente trabalho e os valores teóricos de [63] para os comprimentos de ligação, todavia, a estrutura geométrica do calculada M062x/6-31G(d,p) e B3LYP/6-31+G(d,p) em fase gás tem diferenças com os resultados experimentais [39], uma vez que à ligação de hidrogênio envolvendo os grupos N—H e O—H, não é bem descrita na fase gás, por descrever somente uma molécula de forma isolada.

Tabela 3.2 - Ângulos de ligação da Glutathiona (GSH) otimizada em DFT M062x/6-31G(d,p), B3LYP/6-31+G(d,p)^a e experimental^b.

| Sítios | Comprimento de Ligação (Å) | | |
|-------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | M062x/6-31G(d,p) ^a | B3LYP/6-31+G(d,p) ^b | Experimental ^c |
| Cys: H-S-C | 98,23 | 97,04 | - |
| Gly: O-C-OH | 121,5 | 123,74 | 123,10 |
| Glu: O-C-OH | 121,3 | 122,82 | 127,00 |
| Glu: H-N-H | 105,9 | 109,16 | - |

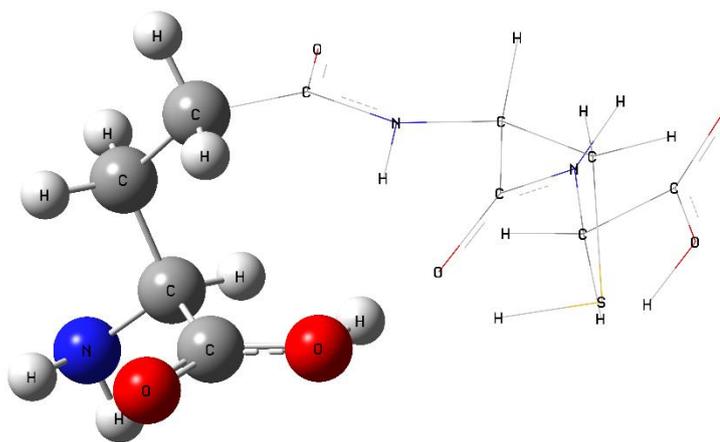
a - elaborado pelo autor; b - [63]; c - [39]

Os dados da *Tabela 3.2*, apresentam os valores calculados no presente trabalho e os valores teóricos de Singh e colaboradores para os ângulos de ligação, todavia, a estrutura geométrica do calculada na presente dissertação e [63] em fase gás tem diferença com resultados experimentais da literatura [39]. Os sítios presentes da estrutura da GSH são aqueles onde as interações com a Cisplatina e suas espécies MADP e DADP podem ocorrer, e a primeira estratégia será avaliar a coordenação com o grupo sulfidril por meio da ligação com o enxofre presente na cisteína da GSH.

Uma compreensão acerca das propriedades conformacionais da glutaciona passa pela determinação de alguns ângulos diedros, uma vez que as rotações livres de sua estrutura podem adotar diferentes conformações. Foram realizados os cálculos de scan a partir da rotação de 10° no ângulo diedro que compõe os átomos de carbono, otimizando cada passo de acordo com a

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.3:



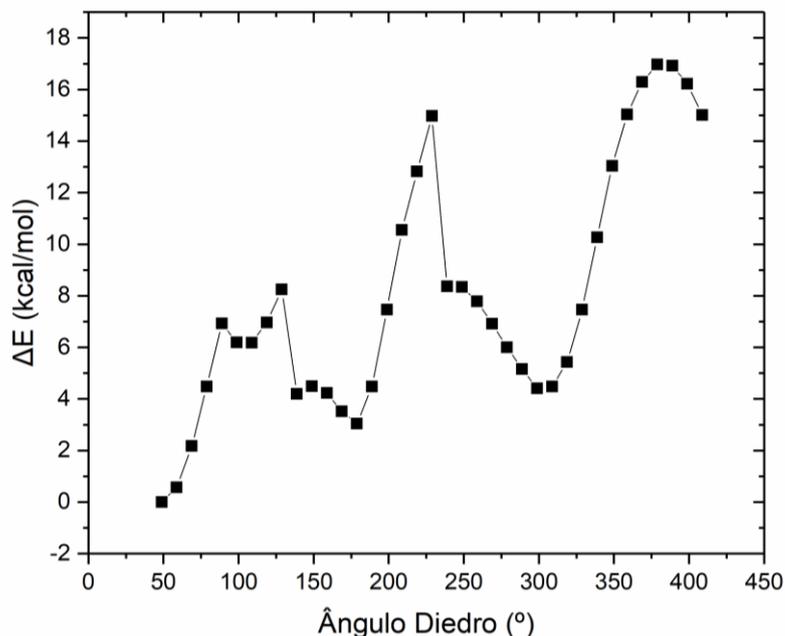
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.3 - Representação dos átomos que compõe o ângulo diedro rotacionado para a análise conformacional.

A partir da rotação do ângulo diedro selecionado, foi obtida uma curva de energia potencial, tornando-se possível analisar alguns mínimos locais, a curva de energia potencial é descrita na

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.4:



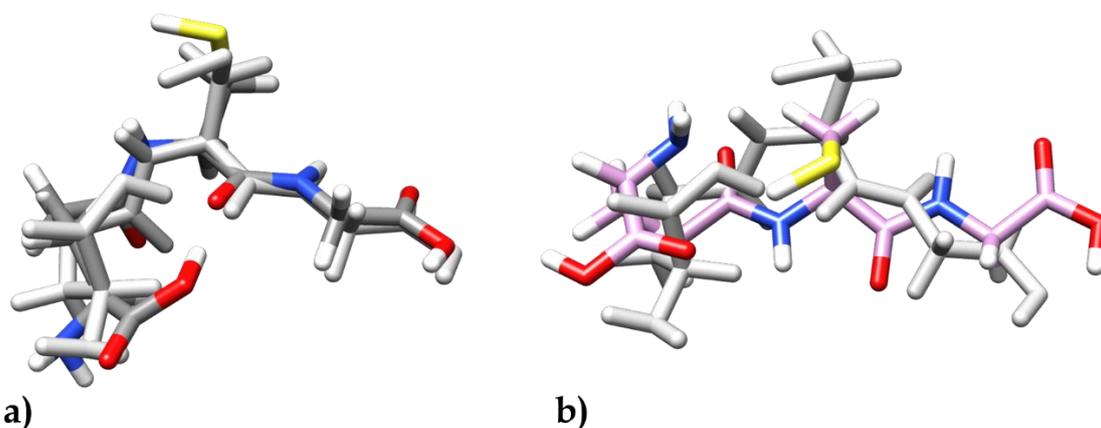
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.4 - Gráfico da curva de energia potencial para a glutatona.

Para a curva representada na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.4, partindo da estrutura já otimizada, estrutura I, analisando os mínimos locais, duas conformações mais estáveis desta molécula, foram selecionadas, com os respectivos ângulos diedros: 178,80° e 298,80°, estruturas II e III respectivamente, ambas estruturas foi realizado um cálculo de otimização e frequência para a confirmação de um mínimo, os confórmeros encontrados estão ilustrados, comparativamente com a estrutura inicial na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.5:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.5 – Comparação das conformações mais estáveis otimizadas para a Glutathione
a) conformero II b) conformero III.

Das três estruturas obtidas em Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.5, a estrutura II, é a mais estável. Temos na conformação I e III interações intermoleculares entre o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína com os oxigênios do ácido carboxílico do ácido glutamato, em I temos $r(\text{H} \cdots \text{OH}) = 2,47\text{\AA}$, já na conformação III temos uma interação em $r(\text{H} \cdots \text{C}=\text{O}) = 2,29\text{\AA}$, já para a conformação II não há nenhuma interação com o hidrogênio do enxofre. Logo, uma vez que se obteve a curva de energia potencial e a conformações das estruturas otimizadas que compõem a curva, é possível realizar a análise populacional das conformações em estudo, os dados estão descritos na Tabela 3.3:

Tabela 3.3 - Energia livre de Gibbs relativa a conformação II, e a população conformacional em DFT M062X/6-31G(d,p) e T=298,15.

| Confórmeros | $\Delta G(\text{kcal/mol})$ | População (%) |
|-------------|-----------------------------|---------------|
| I | 0,0000 | 33,60 |
| II | 0,7135 | 33,44 |
| III | 2,8281 | 32,97 |

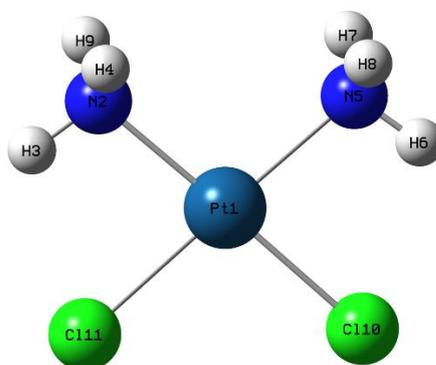
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2. Análise estrutural dos reagentes contendo Platina

A *cis*-DDP apresenta estruturas de mínimo de energia na geometria quadrático-plana, o que é um resultado esperado para espécies de coordenação de platina (II). Além disso, a ausência

de qualquer frequência vibracional imaginária confirmou que a estrutura otimizada corresponde a um mínimo de energia potencial. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.6 representa a estrutura calculada da *cis*-DDP a partir da otimização de geometria:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.6 - Cisplatina otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz.

A estrutura apresentada na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.6, está de acordo com a estrutura encontrada por Ting, M. Schmidtman e colaboradores que realizaram as medidas experimentais para determinar os comprimentos e ângulos de ligações da cisplatina a 220K. A Tabela 3.4 apresenta os resultados de comprimento de ligação, bem como a comparação com os resultados experimentais mais recentes [64]:

Tabela 3.4 - Comprimentos de ligação da *cis*-DDP otimizada em M062x/6-31G(d,p)DFT(M06-2X) e experimental e o módulo da diferença.

| Ligação | Comprimento (Å) | | |
|----------|-----------------|---------------------------|---------------------|
| | Calculado | Experimental ^a | Módulo da Diferença |
| Pt1–N2 | 2,118 | 2,046(7) | 0,072 |
| N2-H3 | 1,024 | 0,98(2) | 0,044 |
| N2-H4 | 1,017 | 0,99(2) | 0,027 |
| Pt1-N5 | 2,118 | 2,058(7) | 0,060 |
| N5-H6 | 1,024 | 0,95(2) | 0,074 |
| N5-H7 | 1,017 | 1,08(3) | 0,063 |
| N5-H8 | 1,017 | 1,04(3) | 0,023 |
| N2-H9 | 1,017 | 1,01(3) | 0,007 |
| Pt1-Cl10 | 2,339 | 2,3180(19) | 0,021 |
| Pt1-Cl11 | 2,339 | 2,3196(19) | 0,021 |

a – [64] Fonte: Elaborado pelo autor.

É possível avaliar na *Tabela 3.4* que o módulo da diferença entre os comprimentos calculados no presente trabalho e os resultados experimentais. A *Tabela 3.5* apresenta os resultados de ângulo de ligação, bem como a comparação com os resultados de Ting, M. Schmidtman e colaboradores [64]:

Tabela 3.5 - Ângulos de ligação da Cisplatina (*cis*-DDP) otimizada em M062x/6-31G(d,p) e experimental.

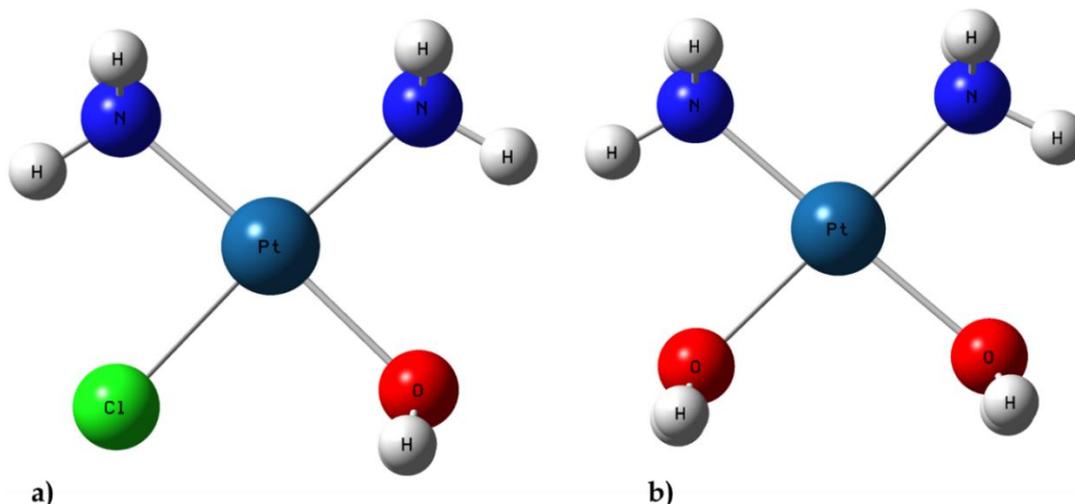
| Ângulos de Ligação | Angulo (°) | | Módulo da Diferença |
|--------------------|------------|---------------------------|---------------------|
| | Calculado | Experimental ^a | |
| Pt1-N2-H3 | 102,3 | 101,2(14) | 1,10 |
| Pt1-N2-H4 | 114,4 | 120,8(13) | 6,38 |
| N2-Pt1-N5 | 97,7 | 90,5(3) | 7,25 |
| Pt1-N5-H6 | 102,3 | 104,0(14) | 1,70 |
| Pt1-N5-H7 | 114,4 | 121,0(20) | 6,59 |
| Pt1-N5-H8 | 114,4 | 110,2(14) | 4,21 |
| Pt1-N2-H9 | 114,4 | 98,8(14) | 15,61 |
| N5-Pt1-Cl10 | 83,3 | 89,3(2) | 5,94 |
| N5-Pt1-Cl11 | 178,9 | 178,4(2) | 0,49 |

a – [64] Fonte: Elaborado pelo autor.

É possível avaliar na *Tabela 3.5* que o módulo da diferença entre os ângulos calculados no presente trabalho e os resultados experimentais, há uma diferença em especial o ângulo Pt1-N2-H9, com o modulo da diferença em 15,61°. Uma vez que as orientações dos grupos NH₃ observadas experimentalmente revelaram uma rede de ligações de hidrogênio intermolecular entre as estruturas do estado sólido, que acabam atuando na diminuição os ângulos de torção H-N-Pt, já estrutura calculada em fase gás, não descreve tal interação.

A espécies MADP e DADP apresentaram como estruturas de mínimos na geometria quadrático-plana, resultado esperado para espécies de coordenação de platina (II). Os cálculos realizados para essas espécies cujas estruturas estão descritas na *Fonte*: Elaborado pelo autor.

Figura 3.7:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.7 – Espécies produtos da reação de substituição de ligantes cloros por água a partir da cisplatina otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) MADP b) DADP.

Observando as imagens das estruturas otimizadas, apresentadas na Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 3.7, podemos perceber que a conformação mais estável indica a presença de interações intramoleculares. Na MADP e DADP, dois hidrogênios das aminas estão acima e abaixo do plano definido pela coordenação da platina aos ligantes e o terceiro hidrogênio está interagindo, sobre o plano com os grupos aceptores de hidrogênio seja oxigênio do ligante aquo, seja o cloro. Os comprimentos de ligação da Cisplatina e suas espécies hidrolisadas, são descritas na Tabela 3.6

Tabela 3.6 - Comprimentos de ligação das estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da *cis*-DDP, MADP e DADP.

| Ligação | Comprimento (Å) | | |
|---------|-----------------|-------|-------|
| | <i>cis</i> -DDP | MADP | DADP |
| Pt1-N2 | 2,118 | 2,131 | 2,042 |
| N2-H3 | 1,024 | 1,022 | 1,026 |
| N2-H4 | 1,017 | 1,020 | 1,024 |
| Pt1-N5 | 2,118 | 2,044 | 2,042 |
| N5-H6 | 1,024 | 1,026 | 1,026 |
| N5-H7 | 1,017 | 1,020 | 1,024 |
| N5-H8 | 1,017 | 1,020 | 1,024 |
| N2-H9 | 1,017 | 1,020 | 1,024 |

| | | | |
|----------|-------|-------|-------|
| Pt1-Cl10 | 2,339 | 2,310 | - |
| Pt1-X | 2,339 | 2,310 | 2,138 |

X: *cis*-DDP = Cl; MADP = H₂O; DADP = H₂O Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3.6, é possível aferir que as espécies substituídas da Cisplatina, para as ligações com os grupos aminas tem valores de comprimentos de ligação próximos, já para a ligação com a água, temos um aumento no tamanho de ligação, 2,310 Å para a estrutura MADP e 2,138 Å para a estrutura DADP. A Tabela 3.7, descreve os ângulos de ligação da cisplatina, MADP e DADP:

Tabela 3.7 – Ângulos de ligação das estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/LANL2DZ da *cis*-DDP, MADP e DADP.

| Ângulos de Ligação | Ângulos (°) | | |
|--------------------|-----------------|--------|--------|
| | <i>cis</i> -DDP | MADP | DADP |
| Pt1-N2-H3 | 102,3 | 107,73 | 109,11 |
| Pt1-N2-H4 | 114,4 | 114,01 | 113,76 |
| N2-Pt1-N5 | 97,7 | 96,63 | 94,13 |
| Pt1-N5-H6 | 102,3 | 106,05 | 109,11 |
| Pt1-N5-H7 | 114,4 | 113,74 | 113,75 |
| Pt1-N5-H8 | 114,4 | 113,72 | 113,76 |
| Pt1-N2-H9 | 114,4 | 113,99 | 113,75 |
| N5-Pt1-Cl10 | 83,30 | 87,20 | - |
| N5-Pt1-X | 178,90 | 176,53 | 179,42 |

X: *cis*-DDP = Cl; MADP = H₂O; DADP = H₂O Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3.7, é possível aferir que para as espécies MADP e DADP, há diferenças nos ângulos para os quais ocorrem a substituição do grupo Cl- para H₂O, onde há um aumento de 83,30° para 87,20° das estruturas *cis*-DDP e MADP.

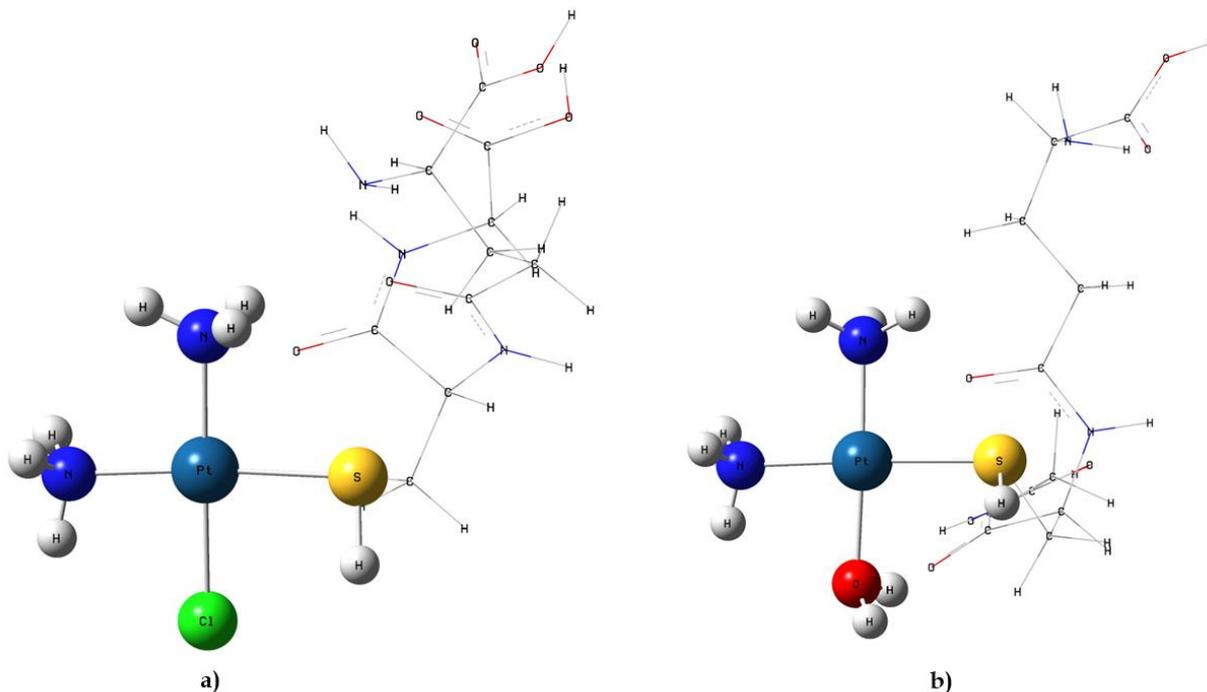
As estruturas da cisplatina, da MADP e DADP serão utilizadas como reagentes na avaliação computacional da reação de substituição com a glutatona em sua forma reduzida.

3.3. Análise estrutural dos produtos

Os produtos calculados apresentaram como estruturas de mínimos na geometria quadrático-plana, resultado esperado para espécies de coordenação de platina (II), bem como a

ausência de qualquer frequência vibracional imaginária confirmou que as estruturas otimizadas correspondem ao mínimo de energia potencial são apresentados na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.8. O produto P1A, pode ser originado pelos estados de transição TS1A e TS1B. Já o produto P1B pode ser obtido por meio pelos estados de transição TS1C e TS1D.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.8 - Produtos otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/ LANL2DZ a) P1A b) P1B.

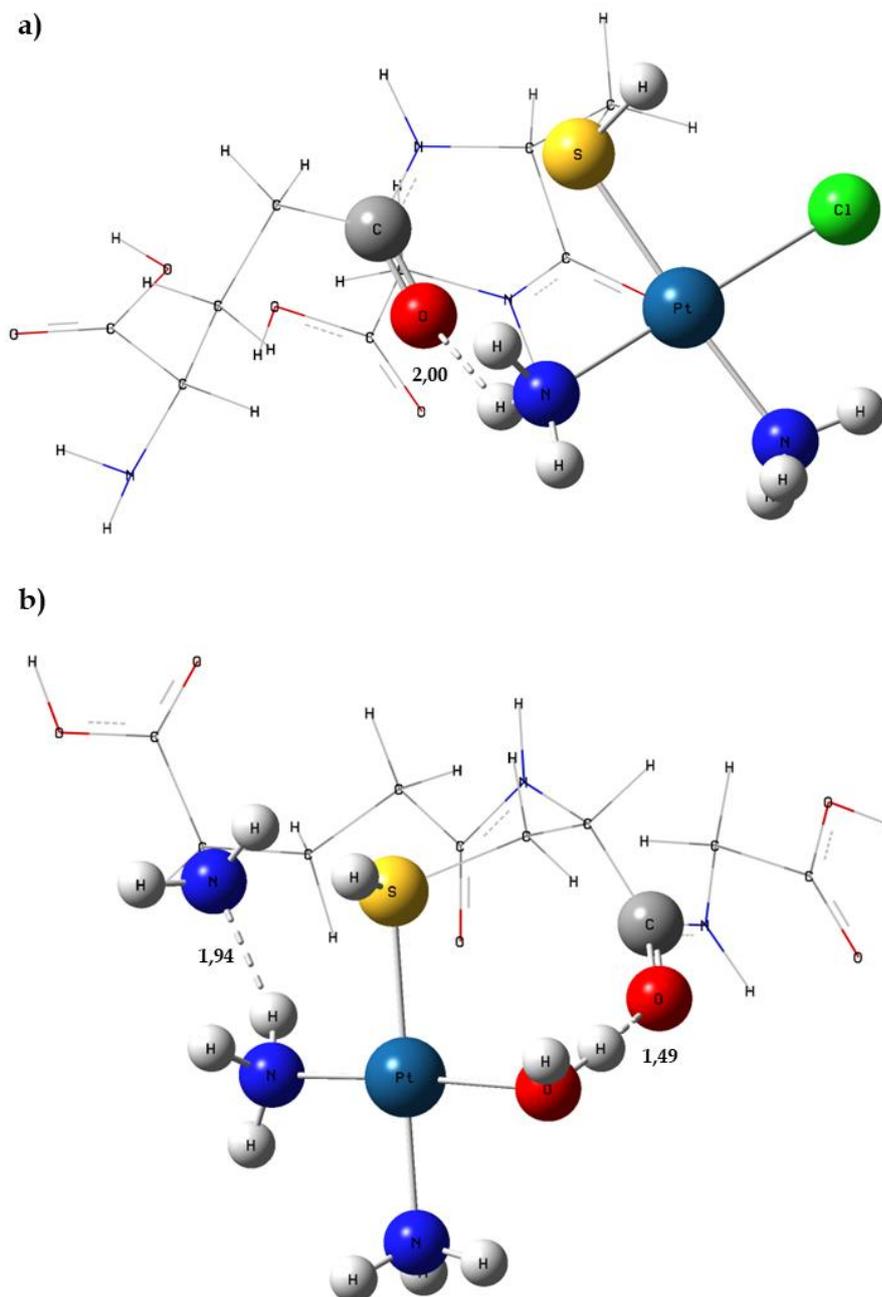
Os produtos são descritos como mínimos de energia na geometria quadrático-plana, o que é um resultado esperado para espécies de coordenação de platina (II), assim como a ausência de qualquer frequência vibracional imaginária confirma que a estrutura otimizada corresponde a um mínimo de energia potencial.

Os comprimentos de ligação Pt—S para P1A = 2,345Å e P1B=2,368Å descrevem a efetiva ligação química formada para essas estruturas, além da ligação Platina-Enxofre, os produtos P1A

e P1B, também formam ligações de hidrogênio para essa conformação da GSH, estabilizam a estrutura, conforme

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.9:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.9 – Estruturas dos produtos otimizados em DFT M062X/6-31G(d,p)/LANL2DZ incluindo as ligações de hidrogênio presentes a)P1A b)P1B.

De acordo com a

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.9 podemos aferir que em P1A há a formação de uma ligação de hidrogênio de 2,00 Å entre o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico ligado ao hidrogênio da amina coordenada a platina, já P1B possui duas ligações de hidrogênio: Uma ligação de 1,94 Å entre o hidrogênio da amina e o nitrogênio do ácido glutâmico e outra ligação de 1,49 Å entre o hidrogênio da água e o oxigênio da carbonila da cisteína.

3.4. Análise das reações

As reações de substituição da glutathione com a cisplatina, tendo como primeira etapa a coordenação pelo enxofre do tiol, sítio da cisteína da glutathione, com a cisplatina, MADP e DADP tiveram seus reagentes e estado de transição calculados, e os produtos antes mesmo de obter as estruturas de estados de transição. As estruturas TS1A, TS1B, TS1C e TS1D, no cálculo de frequência apresentaram apenas um valor numérico imaginário, indicativo de que essas espécies são os estados de transição de primeira ordem para as interações Platina-Enxofre. Com base na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2.1, podemos racionalizar quatro possíveis reações, de acordo com a Tabela 3.8:

Tabela 3.8 - Equações globais para as reações estudadas.

| Reação | Equação Química |
|--------|---|
| A | $cis - Pt(NH_3)_2Cl_2 + GSH \rightarrow [Pt(NH_3)_2ClGSH]^+ + Cl^-$ |
| B | $[Pt(NH_3)_2ClH_2O]^+ + GSH \rightarrow [Pt(NH_3)_2ClGSH]^+ + H_2O$ |
| C | $[Pt(NH_3)_2ClH_2O]^+ + GSH \rightarrow [Pt(NH_3)_2H_2OGSH]^{2+} + Cl^-$ |
| D | $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+} + GSH \rightarrow [Pt(NH_3)_2H_2OGSH]^{2+} + H_2O$ |

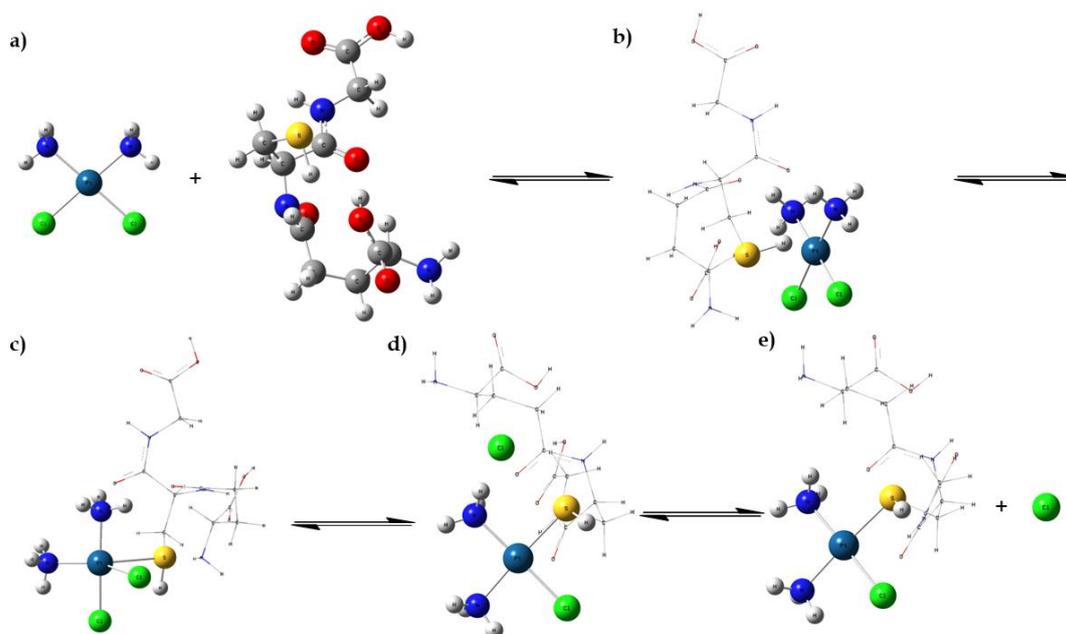
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4.1. Reação A: *cis*-diaminodicloroplatina(II)-glutathione

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.10, apresenta todas as espécies envolvidas da reação A da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.10:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.10 - Representação do esquema geral da reação A a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos com as geometrias otimizadas.

O reagente e o produto intermediário da reação A representada em b) e d) respectivamente da Fonte: Elaborado pelo autor.

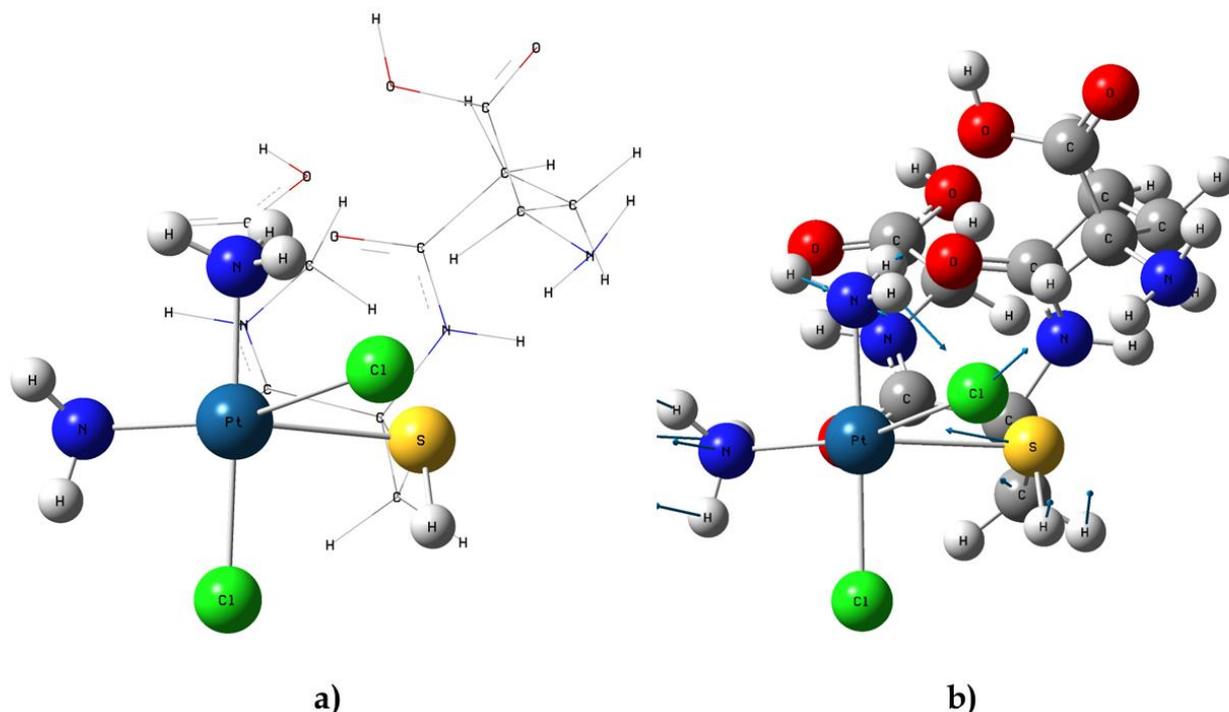
Figura 3.10 foram calculados partindo da estrutura do estado de transição calculado, afastando o átomo de platina do átomo de enxofre, bem como aproximando a estrutura do reagente e do produto a geometria quadrático-plana, estes serão tratados ao longo do texto pelas siglas: RI1A e PI1A.

3.4.1.1. Estado de Transição

A estrutura da espécie TS1A da reação A representada em c) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.10 foi otimizada e confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, no qual foi encontrada uma frequência imaginária de $144,57\text{icm}^{-1}$, de acordo com a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.11:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.11 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz do estado de transição TS1A projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

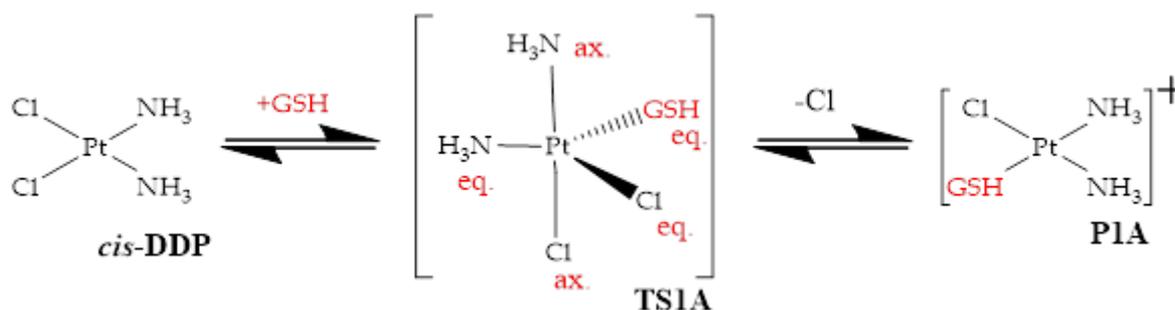
Observe que os vetores que compõem o modo vibracional imaginário, descrevem a saída do cloreto axial e a formação da ligação Pt-S, bem como uma movimentação nos hidrogênios das aminas coordenadas a platina conforme b) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.11.

3.4.1.2. Via Intuitiva

Os resultados estruturais obtidos para as espécies envolvidas na Reação A da Tabela 3.8; tem a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.12 como referência na definição dos ligantes envolvidos nos parâmetros geométricos sumarizados na Tabela 3.9.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.12 - Reação A com a representação das espécies envolvidas.

Tabela 3.9 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação A.

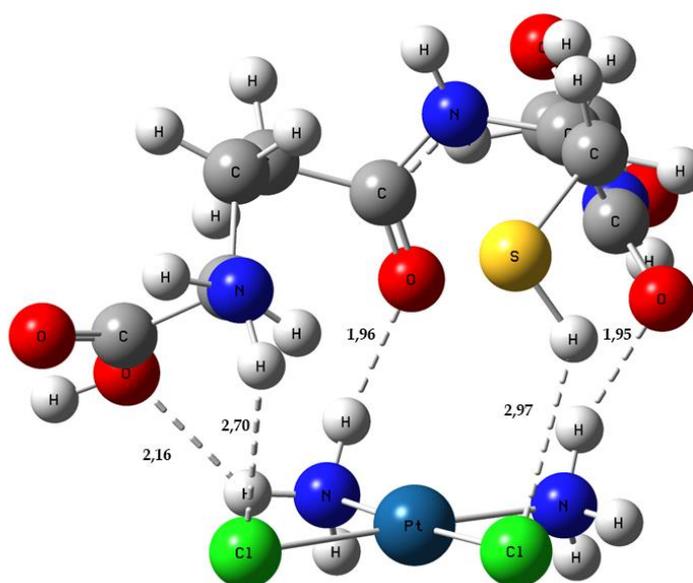
| Ligação | <i>cis</i> -ddp (Å) | TS1A (Å) | P1A (Å) |
|---|---------------------|----------|---------|
| Pt-Cl _{eq.} | 2,34 | 2,97 | - |
| Pt-Cl _{ax.} | 2,34 | 2,38 | 2,34 |
| Pt-N _{eq.} | 2,12 | 2,09 | 2,10 |
| Pt-N _{ax.} | 2,12 | 2,08 | 2,10 |
| Pt-S _{eq.} | - | 2,62 | 2,35 |
| Ângulo | <i>cis</i> -ddp (°) | TS1A (°) | P1A (°) |
| Cl _{ax.} -Pt-Cl _{eq.} | 95,53 | 107,41 | - |
| β : Cl _{ax.} -Pt-N _{ax.} | 83,36 | 177,23 | 86,02 |
| N _{ax.} -Pt-N _{eq.} | 97,75 | 95,33 | 93,09 |
| α : Cl _{eq.} -Pt-N _{ax.} | 83,36 | 146,62 | - |
| N _{eq.} -Pt-S _{eq.} | - | 143,70 | 92,00 |
| S _{eq.} -Pt-Cl _{ax.} | - | 69,48 | 88,94 |

α , β = Parâmetros para o cálculo de τ . Fonte: Elaborado pelo autor.

Como pode-se observar na Tabela 3.9, as mudanças estruturais mais significativas se dão na estrutura TS1A do estado de transição, uma vez que possui cinco ligantes, e foi determinado o parâmetro $\tau = 0,51$, indicativo de uma geometria intermediária entre bipirâmide trigonal e pirâmide base quadrada.

O reagente *cis*-DDP e o produto P1A tem geometrias semelhantes $\tau'_4 = 0,02$ e $\tau'_4 = 0,04$ respectivamente, indicando uma geometria quadrático-plana. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.13 apresenta a estrutura otimizada de R1A:



Fonte: Elaborado pelo autor.

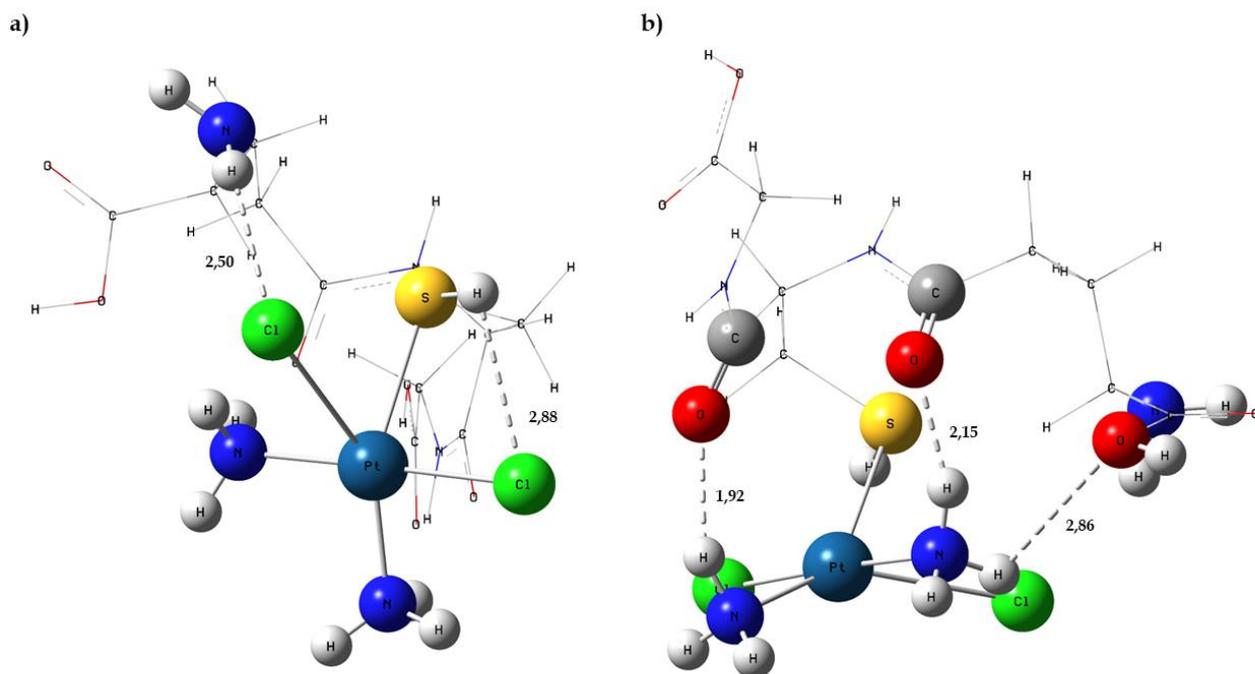
Figura 3.13 - Reagente Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da reação IA: RI1A.

Observando a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.13, pode-se perceber que há duas interações intermoleculares na orientação proposta neste cálculo, entre a cis-DDP e a cisteína da GSH, uma entre o cloreto e o hidrogênio ligado ao enxofre em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,97\text{\AA}$, e outra com o hidrogênio da amina com o oxigênio da carbonila em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,95\text{\AA}$. Bem como há três interações intermoleculares entre a cis-DDP e o ácido glutâmico da GSH, uma entre o cloreto e o hidrogênio ligado a amina em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,70\text{\AA}$, uma com o hidrogênio da amina com o oxigênio da carbonila em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,96\text{\AA}$, e outra com o hidrogênio da amina com o oxigênio do ácido carboxílico em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,16\text{\AA}$. Tais interações, são indicativo uma estabilidade para este intermediário, visto que tais interações são o parâmetros indicativos de ligação de hidrogênio, entre átomos reconhecidamente doadores e aceptores de hidrogênio.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.14 aponta as interações intramoleculares do estado de transição:



Fonte: Elaborado pelo autor.

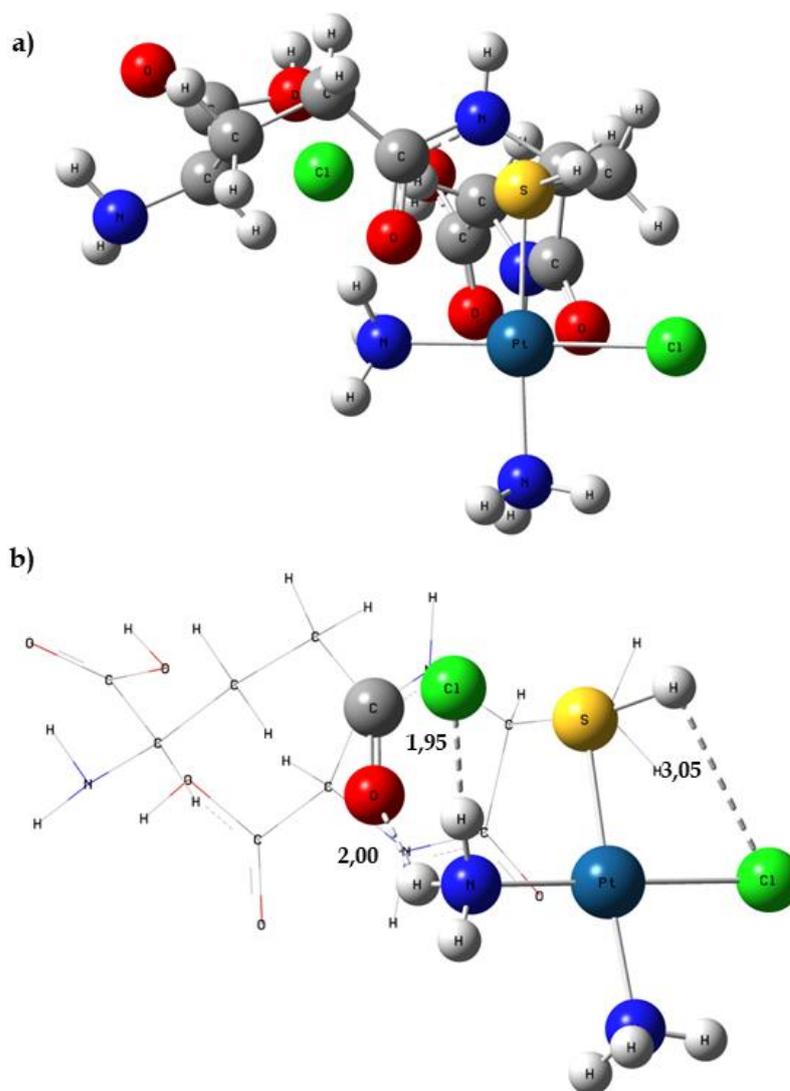
Figura 3.14 - Ligações de hidrogênio da estrutura TS1A otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) ligações com o cloreto b) ligações com a amina.

Observando a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.14, pode-se perceber em a) que o cloreto equatorial que participa do mecanismo de substituição de ligantes, possui uma interação intramolecular com o hidrogênio da amina do ácido glutâmico em $r(\text{Cl}\cdots\text{H}) = 2,50\text{\AA}$. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o cloreto axial com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl}\cdots\text{H}) = 2,88\text{\AA}$. Em b) temos as interações intermoleculares das aminas, $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,92\text{\AA}$ com o oxigênio da carbonila da cisteína, $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 2,15\text{\AA}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico e $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 2,86\text{\AA}$ com o oxigênio o ácido carboxílico do ácido glutâmico.

O produto intermediário PI1A da reação A, também possui interações intermoleculares e intramoleculares, descritas na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.15:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.15 - PI1A otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) Eixo perpendicular com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura.

A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.15 aponta uma interação intramolecular entre o cloreto ligado a platina com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 3,05 \text{ \AA}$. Existe ainda uma interação entre o hidrogênio da amina e o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico, que apresenta uma distância de $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,00 \text{ \AA}$. Além disso, é possível descrever uma interação intramolecular entre o cloreto de saída e o hidrogênio da amina, com uma distância de $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 1,95 \text{ \AA}$.

É importante avaliar também que na comparação das interações intramoleculares de RI1A da Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.13, o TS1A da Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.14 e o PI1A da Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.15, sumarizados na Tabela 3.10:

Tabela 3.10 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação A.

| Sítio (GSH) | Função Química (GSH) | Interação | RI1A(Å) | TS1A(Å) | PI1A(Å) |
|-----------------|----------------------|--------------------------------|---------|---------|---------|
| Cisteína | Tiol | $r(\text{Cl} \cdots \text{H})$ | 2,97 | 2,88 | 3,05 |
| Cisteína | Carbonila | $r(\text{H} \cdots \text{O})$ | 1,95 | 1,92 | - |
| Ácido glutâmico | Amina | $r(\text{Cl} \cdots \text{H})$ | 2,70 | 2,50 | - |
| Ácido glutâmico | Carbonila | $r(\text{H} \cdots \text{O})$ | 1,96 | 2,15 | 2,00 |
| Ácido glutâmico | Ácido Carboxílico | $r(\text{H} \cdots \text{O})$ | 2,16 | 2,86 | - |

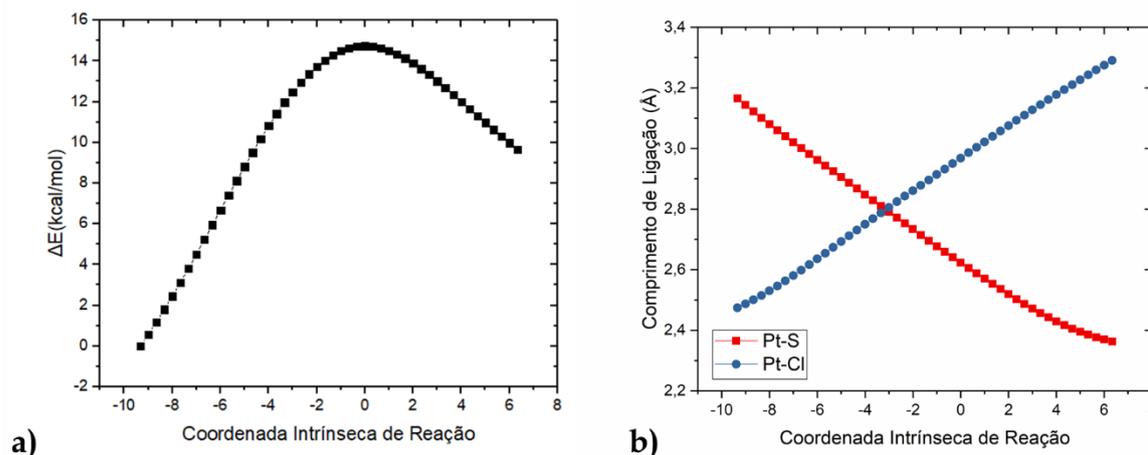
Fonte: *Elaborado pelo autor.*

A Tabela 3.10 aponta para uma mudança nas interações das estruturas, onde o PI1A deixa de possuir uma interação com a carbonila do sítio cisteína da GSH, bem como com a amina e o ácido carboxílico do sítio Ácido glutâmico da GSH, indicando uma mudança na conformação de sua estrutura, uma vez que a platina e seus ligantes tem a manutenção entre o reagente e produto intermediário da geometria quadrático-plana.

3.4.1.3. Via coordenada intrínseca de reação

A partir dos estados de transição da reação A, com a *cis*-diaminodicloroplatina(II) foram realizados os cálculos de IRC utilizados para confirmar que os estados de transição encontrados eram correspondentes ao ponto de sela da superfície de energia potencial que conectava os pontos de mínimo obtidos. O perfil IRC para reação A, é descrito na Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 3.16:



Fonte: Elaborado pelo autor.

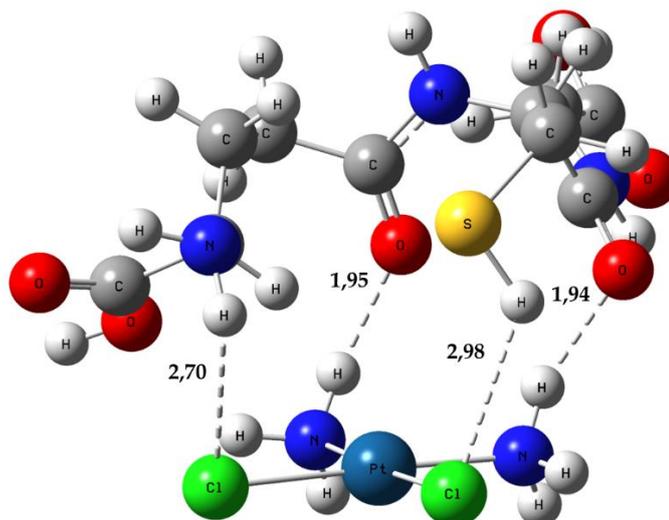
Figura 3.16 - a) IRC calculado para o TS1A; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta.

As geometrias finais em ambos os lados do IRC foram otimizadas para garantir a convergência total de energia e, em seguida, cálculos de frequências foram feitos para obter a energia livre de Gibbs correspondem aos intermediários da reação. A Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 3.16 a) mostra a energia associada a cada ponto do IRC, desde do reagente até o produto, em b) temos os comprimentos de ligação envolvidos na reação de substituição de ligantes, onde o enxofre se coordena a platina e o cloreto é o grupo de saída, no ponto inicial, representativo do reagente temos os seguintes comprimentos de ligação: Pt-S = 3,1652Å e Pt-Cl = 2,4744Å, no último ponto representativo do produto temos: Pt-S = 2,3629Å e Pt-Cl = 3,2908Å. Os intermediários de reação A, obtidos a partir do cálculo do IRC, compartilham praticamente a mesma geometria ao redor da coordenação com a platina.

A Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 3.17 descreve o reagente intermediário otimizado, partindo do resultado de IRC:



Fonte: Elaborado pelo autor.

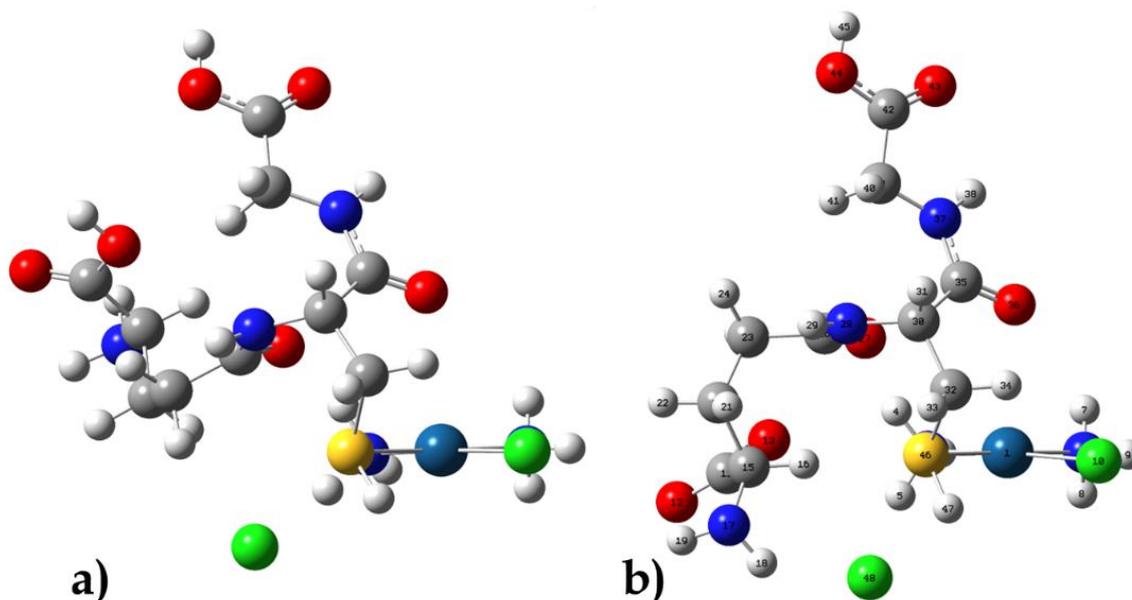
Figura 3.17 - Ponto mínimo da curva do IRC otimizado em M062x correspondente ao reagente intermediário.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.17, sendo o ponto mínimo otimizado que representa os reagentes, possuindo interações intramoleculares entre eles, uma interação intramolecular entre o cloreto ligado a platina com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,98 \text{ \AA}$, bem como com o hidrogênio da amina da glicina em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,70 \text{ \AA}$. Há também uma interação com o hidrogênio da amina em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,94 \text{ \AA}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico, bem como, com o oxigênio da carbonila da cisteína em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,95 \text{ \AA}$. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o cloreto de saída com o hidrogênio da amina $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 1,95 \text{ \AA}$.

Foi possível realizar também, análises comparativas entre os produtos intermediários da via intuitiva e por meio de IRC descritos até aqui, a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.18 faz este comparativo:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.18 - Comparativo dos produtos encontrados a) Via intuitiva b) Via IRC

As duas estruturas da Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.18 mantém uma geometria quadrático plana em relação à coordenação do átomo platina, mas diferem em relação à conformação da GSH. O peptídeo parece ter uma função importante na estabilização do estado de transição, uma vez que na estrutura obtida em consequência do IRC, item b) o grupo NH_2 do glutâmico. Existe uma interação à uma distância de $2,505\text{\AA}$ entre o hidrogênio da amina do ácido glutâmico e o cloreto de saída.

O cloreto, grupo de saída, também é estabilizado por um grupo amina coordenado, com uma uma distância mais curta de $2,045\text{\AA}$. Para compor essa estrutura do item b) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.18, os ângulos da GSH são definidos da seguinte forma: $\text{GLUC}_\alpha\text{-C-C-C}(\text{COOH}) = -57,8^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N}(\text{CH}_2\text{COOH}) = 52,8^\circ$ e com a distâncias entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas terminais (GLU - GLY) de $9,444\text{\AA}$, definindo a conformação “aberta” da GSH.

Já na estrutura do produto obtida via intuição química, para estabilizar o cloreto apenas a interação com a amina ligante é observada, a uma distância de $1,948\text{\AA}$ e a conformação da GSH é outra, mais fechada, com os ângulos diedros sendo: $\text{GLUC}_\alpha\text{-C-C-C}(=\text{O}) = -57,9^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N}(\text{GLY}) = 58,21^\circ$, e com as distâncias entre os grupos ácidos de glutamato e glicina de $3,970\text{\AA}$, definindo a conformação “fechada” da GSH.

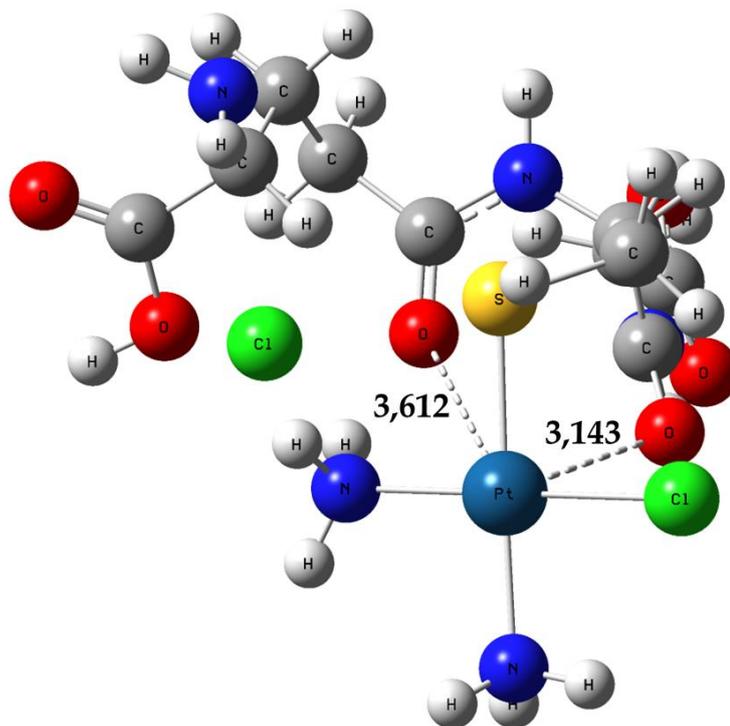
A Estrutura obtida via IRC, b) é apenas $1,82\text{ kcal/mol}$ mais estável do que a via intuitiva, indicando a possibilidade de haver diferentes produtos viáveis em equilíbrio. Porém, a

flexibilidade da GSH monocoordenada a platina é um complicador para encontrar essas estruturas e por consequência as estruturas da segunda etapa da reação de substituição.

3.4.1.4. Segunda Etapa da reação

A segunda etapa da reação da cis-diaminodicloroplatina(II) com a glutathiona foi estudada tendo como reagente o produto PI1A. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.19, descreve as distâncias da platina aos oxigênios da carbonila produto PI1A



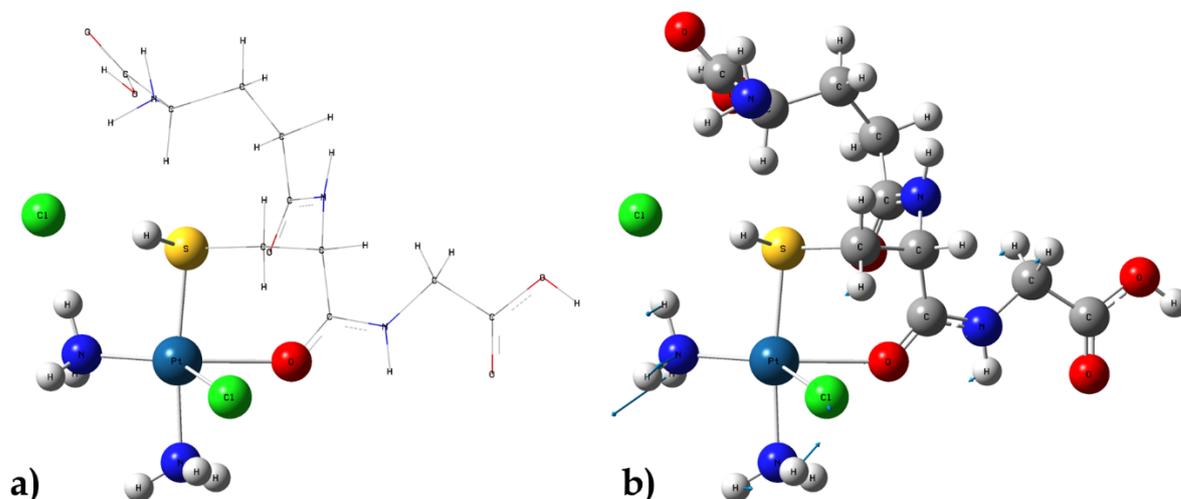
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.19 - PI1A otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz e suas interações com grupos carbonilas.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.19 aponta que a distância entre a platina e a carbonila da cisteína é de $r(\text{Pt} \cdots \text{O}) = 3,143 \text{ \AA}$ e de $r(\text{Pt} \cdots \text{O}) = 3,612 \text{ \AA}$ para o oxigênio da carbonila do ácido glutamato. Observe que a carbonila da cisteína tem maior liberdade conformacional para uma possível interação com a platina, uma vez que uma possível interação com a carbonila do ácido glutamato passa por uma mudança conformacional da glutathiona. Embora um possível produto com a carbonila da cisteína teria um anel de seis membros, enquanto com a carbonila do ácido glutamato um anel de sete membros. Um possível estado de transição com o oxigênio da carbonila da cisteína foi determinado, e é descrito na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.20:



Fonte: Elaborado pelo autor.

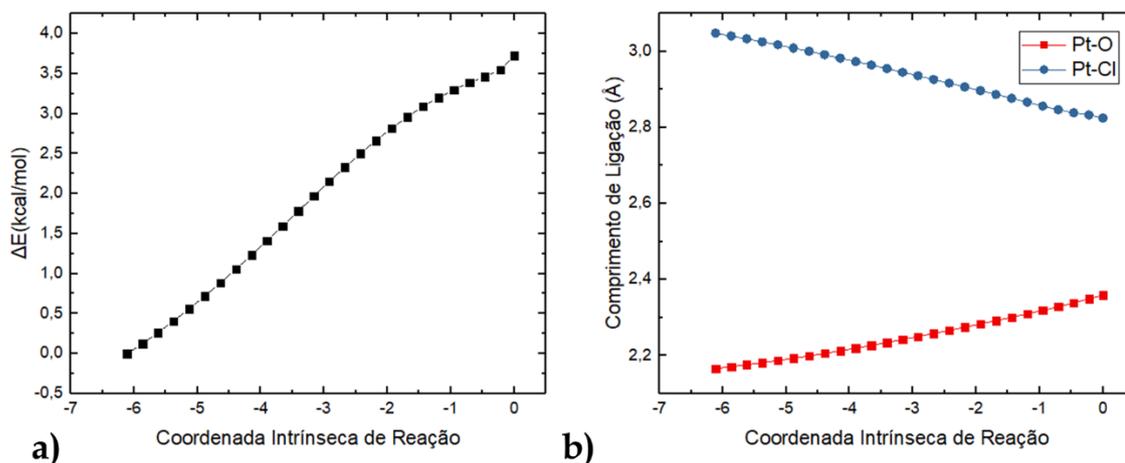
Figura 3.20 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz do estado de transição TS2A projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

A estrutura da espécie TS2A da reação A representada em a) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.20 foi otimizada como estado de transição, através do cálculo de otimização e frequência, foi determinado o parâmetro $\tau = 0,31$, indicativo de uma geometria pirâmide base quadrada distorcida. Foi determinado também uma frequência imaginária de $123,64\text{icm}^{-1}$. Observe que os vetores que compõem o modo vibracional imaginário, descreve a saída do cloreto axial e a formação da ligação Pt-O, bem como uma movimentação nos hidrogênios das aminas coordenadas a platina. Partindo da estrutura da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.20 foram realizados cálculos de IRC, o perfil para a segunda etapa da reação A, para o estado de transição TS2A é descrito na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.21:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.21 - a) Coordenada intrínseca de reação do TS2A; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta.

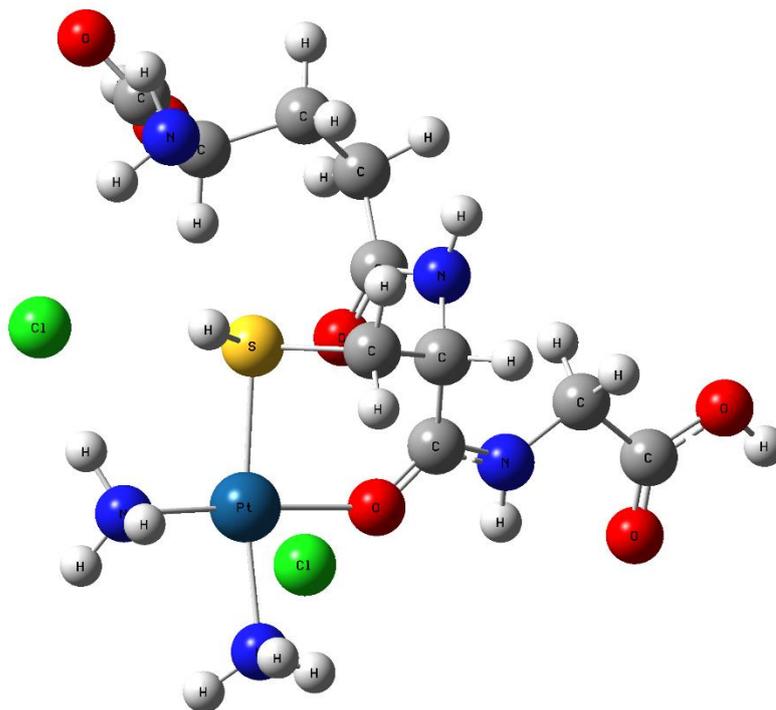
O ponto mínimo da curva de IRC do item a) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.21 corresponde ao intermediário da reação. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.21 a) mostra a energia associada a cada ponto do IRC, desde do reagente até o estado de transição, em b) temos os comprimentos de ligação envolvidos na reação de substituição de ligantes, onde o oxigênio da carbonila da cisteína se coordena a platina e o cloreto é o grupo de saída, no ponto inicial, representativo do reagente temos os seguintes comprimentos de ligação: Pt-O = 2,1659Å e Pt-Cl = 3,0483Å, no último ponto representativo do estado de transição temos: Pt-S = 2,3592Å e Pt-Cl = 2,8249Å. Foram realizadas tentativas de se obter os pontos do IRC para o reagente monodentado, variando o número da passos do cálculo bem como o tamanho do passo, porem uma estrutura representativa do produto intermediário não foi encontrada.

A geometria final do IRC foi otimizada para garantir a convergência total de energia e, em seguida, cálculos de frequências foram feitos para obter a energia livre de Gibbs, no qual foi encontrado o produto intermediário PI2A, descrito na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.22:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.22 - Produto Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da segunda etapa da reação PI2A.

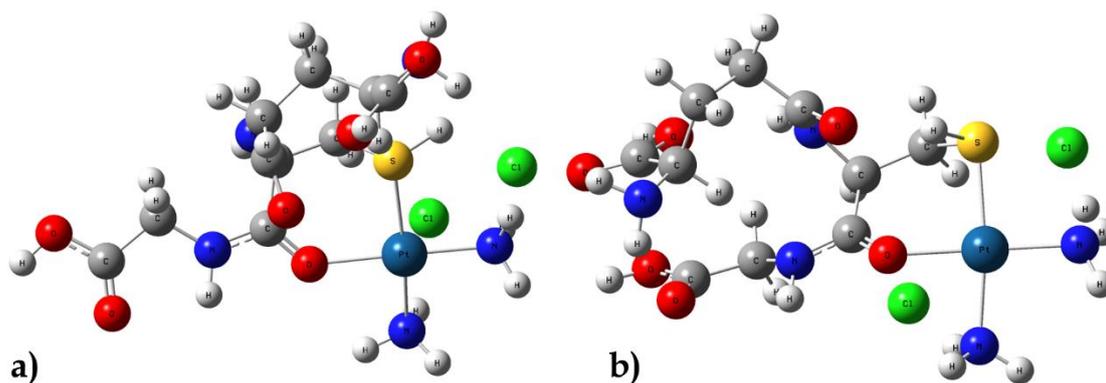
A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.22 descreve o produto otimizado do último ponto do cálculo de IRC, no qual a ligação formada possui o seguinte comprimento, $r(\text{Pt} \cdots \text{O}) = 2,130 \text{ \AA}$, além do cálculo do parâmetro $t4' = 0,09$ indicativo de geometria quadrático plana. Foram realizadas tentativas para a descrição do reagente intermediário, estas sem sucesso, indicativo de que embora a estrutura da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.20 possui frequência imaginária e geometria característica para estados de transição de compostos de Pt(II), tal frequência imaginária pode ser indicativo de um possível intermediário para a reação, uma vez que a cisteína e a glicina compõem o vetor da frequência imaginária.

A segunda etapa da reação tem a flexibilidade da GSH monocoordenada a platina como um fator complicador na descrição de estados de transição que conectam reagentes e produtos estáveis. Nesse sentido foi realizado um cálculo por via intuitiva para um segundo produto intermediário PI2A_2 possuindo uma conformação distinta para a GSH, a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23 - Produto Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da segunda etapa da reação a) via IRC b) via intuitiva.

As duas estruturas da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23 mantém uma geometria quadrático plana em relação à coordenação do átomo platina, mas se diferem muito em relação à conformação da GSH, indicativo de que o peptídeo parece ter uma função importante na estabilização do estado de transição, tanto da primeira quanto da segunda etapa. No item a) Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23 produto do IRC, o cloreto, grupo de saída, é estabilizado pelos dois grupos amina coordenado, com a seguintes distâncias 2,258Å e 2,518Å, já a estrutura intuitiva do item b) temos 2,234Å e 4,958Å.

O produto intermediário do item a) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23, via IRC, os ângulos da GSH são definidos da seguinte forma: $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(\text{COOH}) = -68,47^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N}(\text{CH}_2\text{COOH}) = 62,07^\circ$ e com a distâncias entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas terminais (GLU - GLY) de 10,597Å.

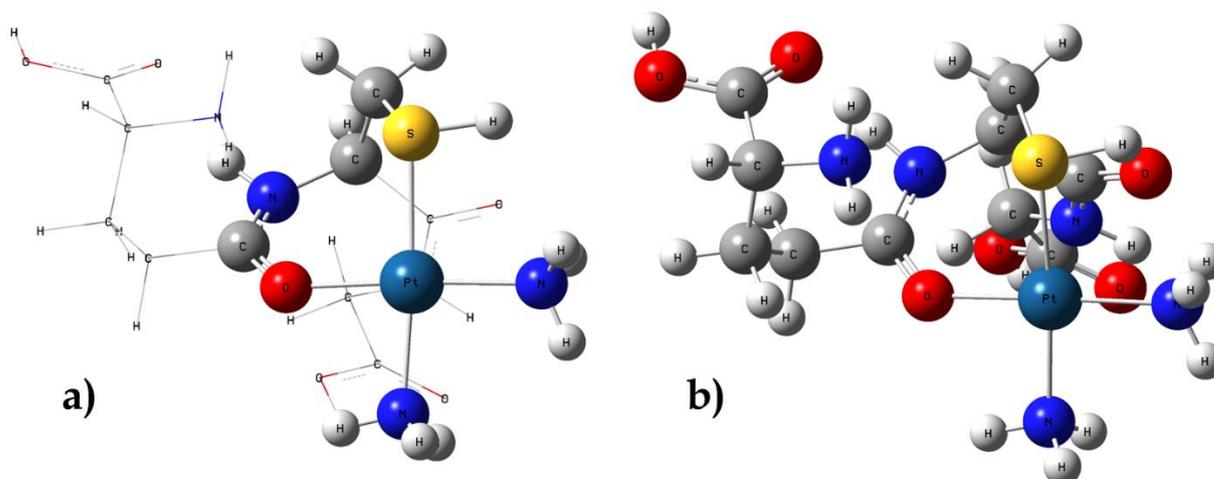
Já o produto intermediário do item b) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.23, via intuitiva, a conformação da GSH é outra, mais fechada, com os ângulos diedros sendo: $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(=\text{O}) = -55,68^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N}(\text{GLY}) = 55,69^\circ$, e com as distâncias entre os grupos ácidos de glutamato e glicina de 3,194Å, definindo a conformação "Fechada".

A Estrutura obtida via IRC, a) é apenas 1,73 kcal/mol mais estável do que a via intuitiva, indicando a possibilidade de haver diferentes produtos viáveis em equilíbrio, assim como ocorre para a primeira etapa da reação.

Embora as tentativas de descrever o estado de transição da segunda etapa com a formação da ligação com o oxigênio da carbonila da cisteína, devido a sua proximidade a platina, foi calculado calculado intuitivamente um produto com um anel de sete membros com o oxigênio do ácido glutamato, a glutamato, a estrutura é descrita na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.24:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.24 - Produto bidentado otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) destaque a ligação bidentada b) Eixo com relação ao plano da Platina.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.24 descreve um possível produto de segunda etapa para a reação A, é importante notar que tal estrutura foi calculada sem considerar os cloretos, grupos de saídas, das etapas da reação, o que dificulta comparações termodinâmicas com outros produtos, uma vez que a carga do sistema é distinta.

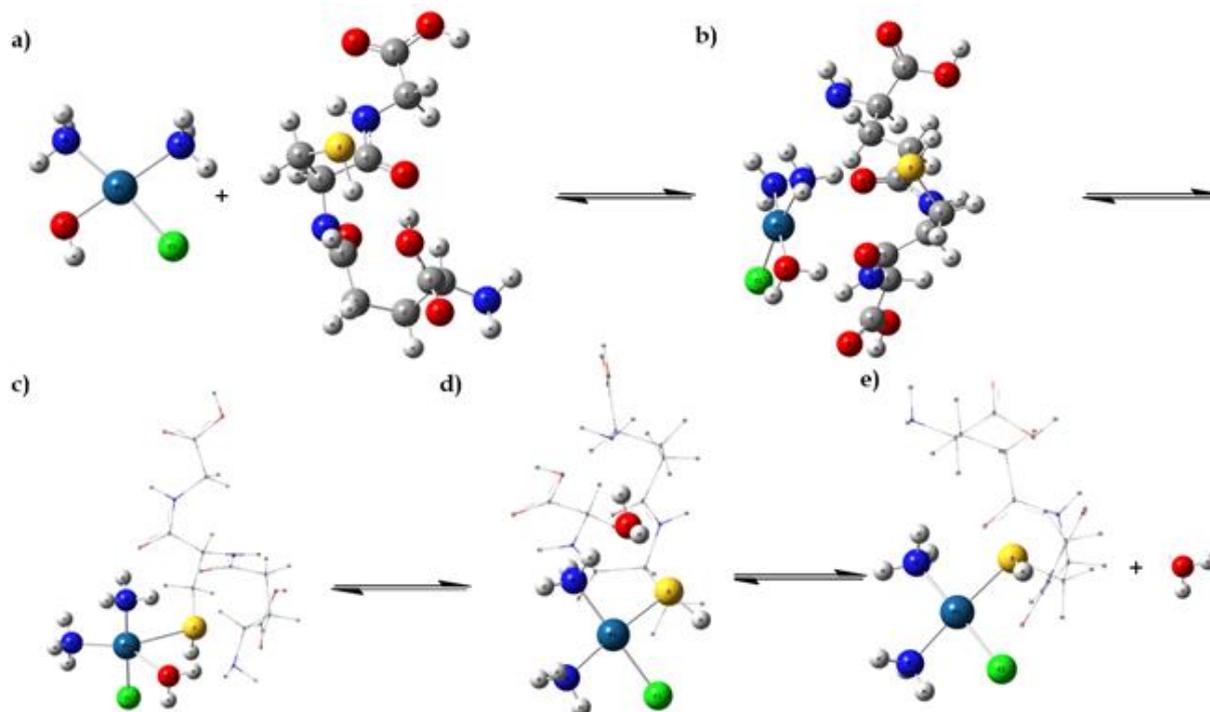
O produto da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.24, via intuitiva, os ângulos da GSH foram medidos da seguinte forma: $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C}(\text{COOH})=56,106^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N}(\text{CH}_2\text{COOH})=42,563^\circ$ e com a distâncias entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas terminais (GLU-GLY) de $9,563\text{\AA}$. Mais um indicativo que a conformação da GSH é fator imprescindível na descrição das estruturas que compõem a reação.

3.4.2. Reação B: monoaquodiaminocloroplatina(II)-glutaciona

O produto P1A discutido até o momento, também é um produto de outros caminhos reacionais, como é o caso da reação B da Tabela 3.8, a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.25, apresenta todas as espécies envolvidas nesta reação:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.25 - Representação do esquema geral da reação B a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos.

O reagente e o produto intermediário da reação B representada em b) e d) respectivamente da

Fonte: Elaborado pelo autor.

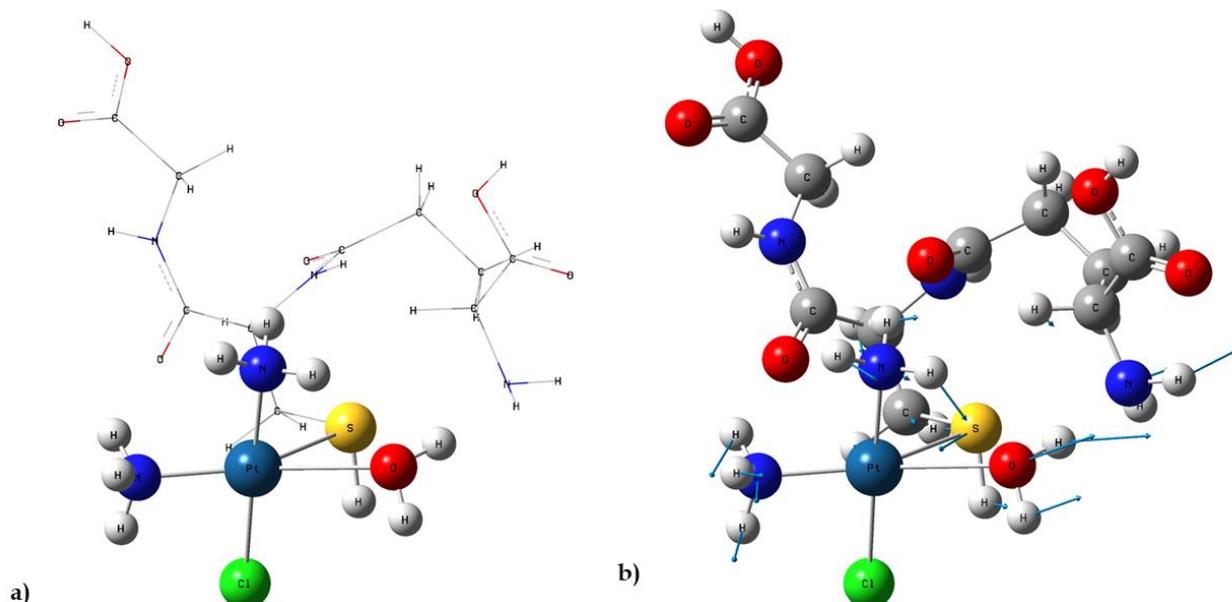
Figura 3.25 foram calculados e serão tratados ao longo do texto pelas siglas: RI1B e PI1B.

3.4.2.1. Estado de Transição

A estrutura da espécie TS1B da reação B representada em c) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.25 foi otimizada e confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, na qual foi encontrada uma frequência imaginária de $-140,24\text{cm}^{-1}$. O modo vibracional correspondente, descreve a saída do cloreto axial e a formação da ligação Pt-S, conforme b) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.26:



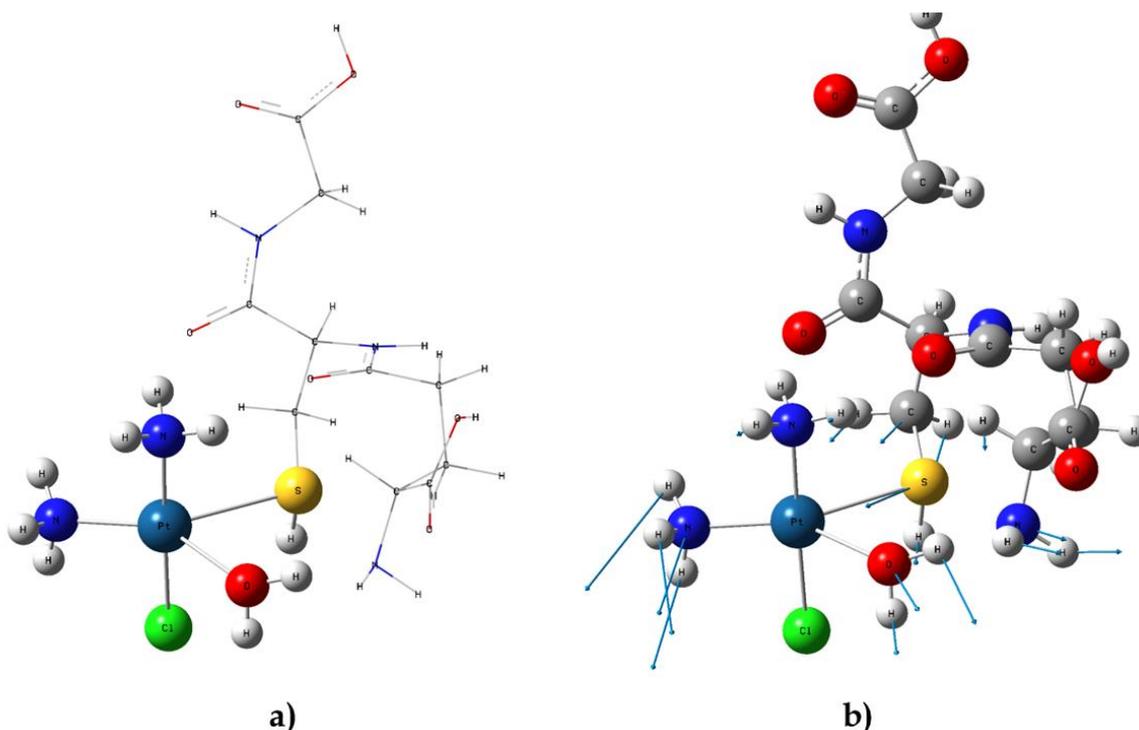
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.26 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1B projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

Foi determinado o parâmetro $\tau = 0,60$ para o estado de transição TS1B, indicativo de uma geometria bipirâmide trigonal distorcida, também foi encontrado um segundo estado de transição para a reação B, que será tratado como TS1B_2, também confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, na qual foi encontrada uma frequência imaginária de $-139,40\text{cm}^{-1}$. O modo vibracional correspondente, descreve a saída da água axial e a formação da ligação Pt–S, conforme

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.27:



Fonte: Elaborado pelo autor.

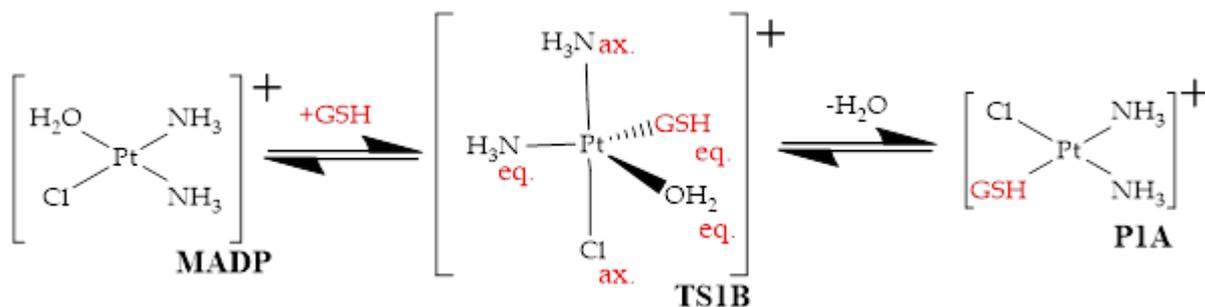
Figura 3.27 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1B_2 projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

Foi determinado o parâmetro $\tau = 0,60$ para o estado de transição TS1B_2, indicativo de uma geometria bipirâmide trigonal distorcida.

3.4.2.2. Via Intuitiva

Os resultados estruturais obtidos para as espécies envolvidas na Reação B da Tabela 3.8, tem a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.28 como referência na definição dos ligantes envolvidos nos parâmetros geométricos sumarizados na Tabela 3.11:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.28 - Reação B com a representação das espécies envolvidas.

Tabela 3.11 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação B.

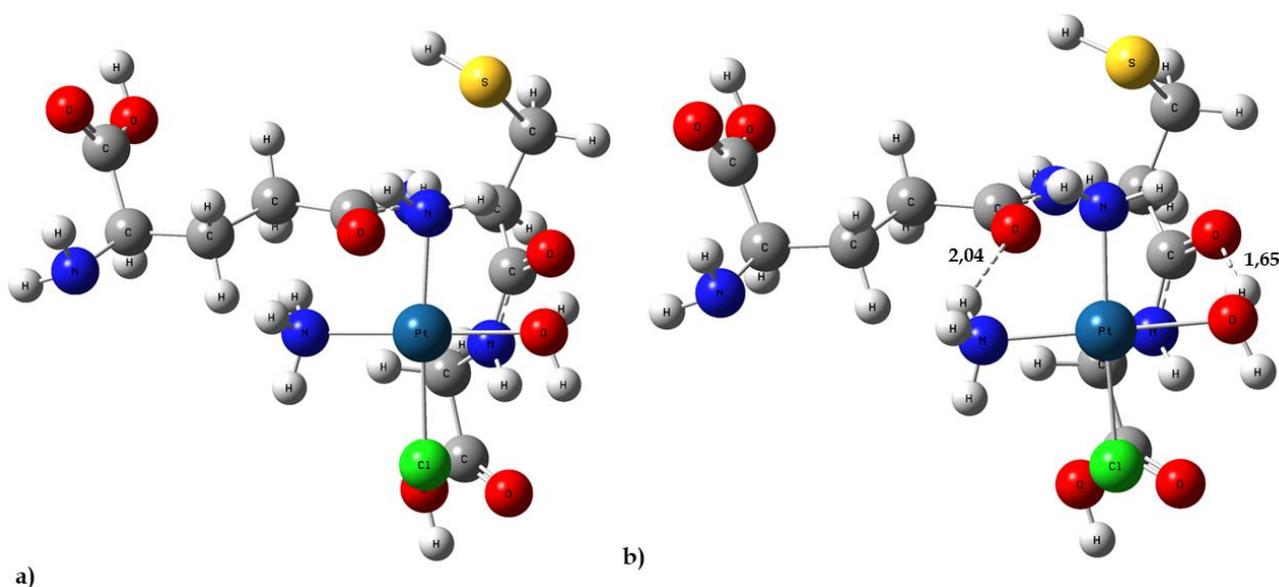
| Ligação | MADP (Å) | TS1B (Å) | TS1B_2 (Å) | P1A (Å) |
|---|----------|----------|------------|---------|
| Pt-OH _{2eq.} | 1,97 | 2,65 | 2,65 | - |
| Pt-Cl _{ax.} | 2,36 | 2,35 | 2,35 | 2,34 |
| Pt-N _{eq.} | 2,11 | 2,05 | 2,05 | 2,10 |
| Pt-N _{ax.} | 2,16 | 2,08 | 2,08 | 2,10 |
| Pt-S _{eq.} | - | 2,68 | 2,69 | 2,35 |
| Ângulo | MADP (°) | TS1B (°) | TS1B_2 (°) | P1A (°) |
| H ₂ O _{eq.} -Pt-Cl _{ax.} | 95,61 | 104,26 | 104,26 | - |
| Cl _{ax.} -Pt-N _{ax.} | 84,56 | 177,82 | 177,82 | 86,02 |
| N _{ax.} -Pt-N _{eq.} | 102,26 | 94,08 | 94,08 | 93,09 |
| H ₂ O _{eq.} -Pt-N _{eq.} | 77,57 | 150,00 | 150,00 | - |
| N _{eq.} -Pt-S _{eq.} | - | 138,96 | 138,96 | 92,00 |
| S _{eq.} -Pt-Cl _{ax.} | - | 84,76 | 84,76 | 88,94 |

Fonte: Elaborado pelo autor.

O reagente MADP e o produto P1A tem geometrias semelhantes $\tau'_4 = 0,03$ e $\tau'_4 = 0,04$ respectivamente, indicando uma geometria quadrático-plana. Ambos os estados de transição determinados possuem valores quase idênticos nas ligações dos átomos coordenados a platina, além do aumento de ligação com a água que passa de 1,97Å no reagente para 2,65Å no estado de transição, tendo a quebra de ligação no produto, e a formação da ligação Pt-S de 2,68Å (TS1B) e 2,69Å (TS1B_2) no estado de transição que tem sua diminuição no tamanho de ligação no produto para 2,35Å.

A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.29 representa o reagente intermediário RI1B otimizado:



Fonte: Elaborado pelo autor.

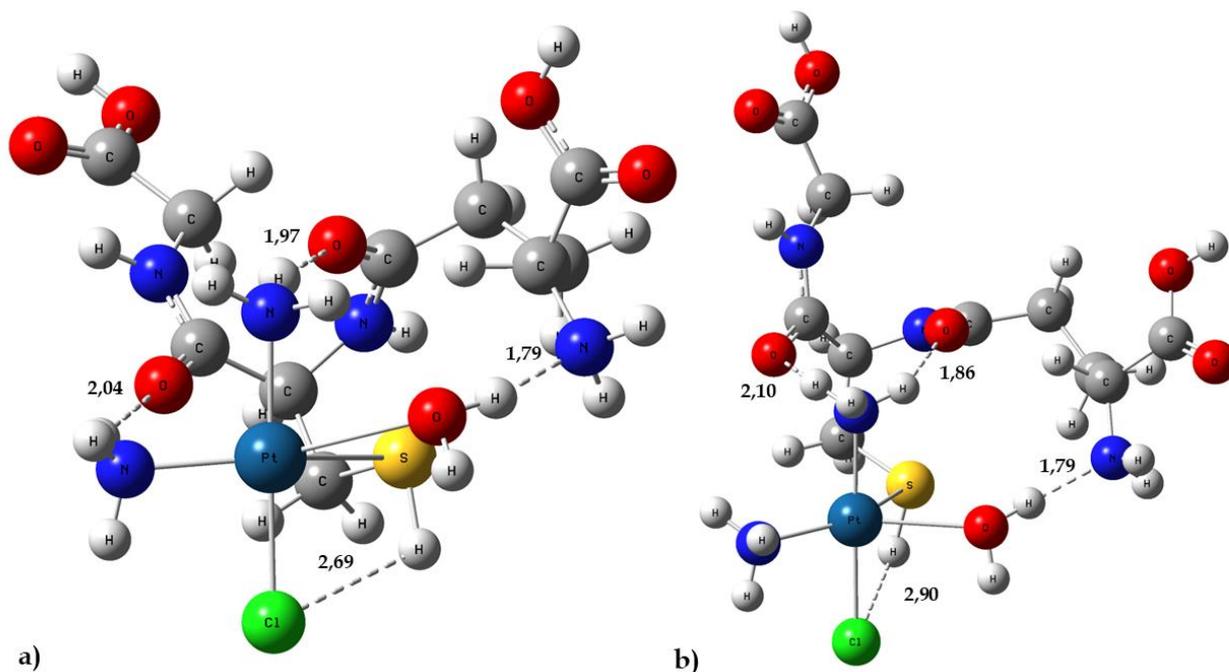
Figura 3.29 - RI1B otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) Eixo com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares da estrutura.

O reagente intermediário proposta da reação B, exposto na Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.29 temos em b) que RI1B possui duas interações intramoleculares, um com o hidrogênio da água em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,65 \text{ \AA}$ com o oxigênio da carbonila da cisteína, e outra com o hidrogênio da amina em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,04 \text{ \AA}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico, tais interações corroboram com que a distância entre o átomo de platina e o átomo de enxofre tenha a magnitude de $5,00 \text{ \AA}$, indicativo de que o intermediário proposto é estável, e que o grupo tiol seja o grupo mais favorável a coordenação com a platina.

A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.30 aponta as interações intramoleculares dos estados de transição:



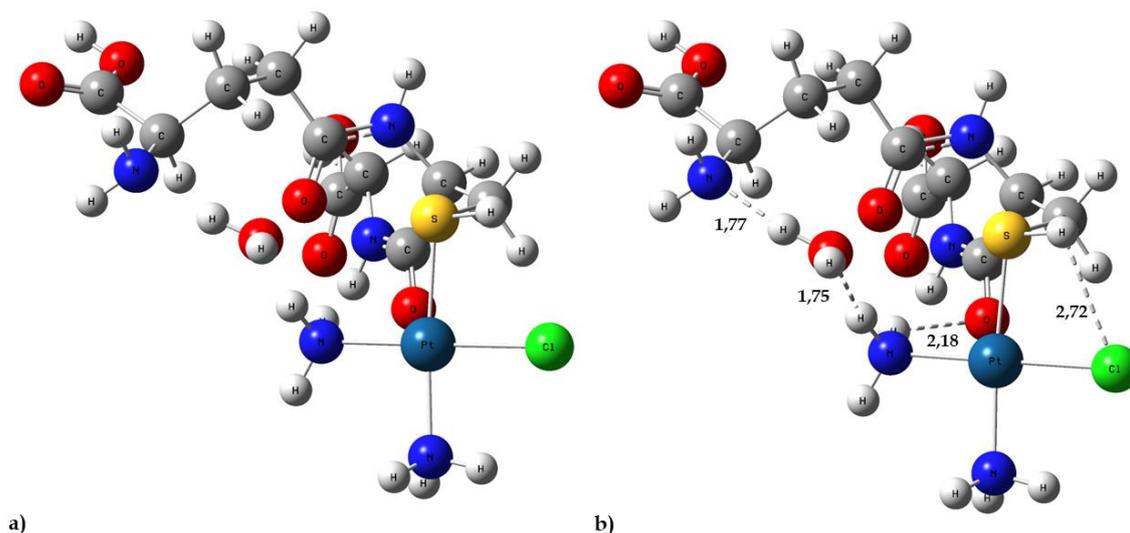
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.30 - Interações intermoleculares da estrutura do estado de transição otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) TS1B b) TS1B_2.

Na Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.30 a) TS1B pode-se observar que o hidrogênio da água equatorial que participa do mecanismo de substituição de ligantes, possui uma interação intramolecular com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico em $r(\text{H} \cdots \text{N}) = 1,79\text{Å}$, que contribuiu para a diminuição da barreira de energia desta reação. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o cloreto axial com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,69\text{Å}$. Há também as interações intermoleculares das aminas, $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,04\text{Å}$ com o oxigênio da carbonila da cisteína, $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,97\text{Å}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico. Para TS1B_2 pode-se observar que o hidrogênio da água equatorial que participa do mecanismo de substituição de ligantes, possui uma interação intramolecular com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico em $r(\text{H} \cdots \text{N}) = 1,79\text{Å}$. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o cloreto axial com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,90\text{Å}$. Há também as interações intermoleculares das aminas, $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,10\text{Å}$ com o oxigênio da carbonila da cisteína, $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,86\text{Å}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico. O produto intermediário PI1B da reação B, também possui interações intermoleculares e intramoleculares, descritas na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.31:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.31 - PI1B otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) Eixo com relação ao plano da Platina b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.31 aponta uma interação intramolecular entre o cloreto ligado a platina com o hidrogênio ligado ao enxofre da cisteína em $r(\text{Cl} \cdots \text{H}) = 2,72\text{\AA}$, e uma interação entre o hidrogênio da amina e o oxigênio da carbonila da cisteína em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 2,18\text{\AA}$. Há também duas interações intramoleculares uma com o hidrogênio da amina em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,75\text{\AA}$ com o oxigênio da água e outra entre o hidrogênio da água com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico $r(\text{H} \cdots \text{N}) = 1,77\text{\AA}$. É importante avaliar também que na comparação das interações intramoleculares de RI1B da

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.29, o TS1B da

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.31, sumarizados na Tabela 3.12:

Tabela 3.12 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação B.

| Sítio (GSH) | Função | | RI1B(Å) | TS1B(Å) | TS1B_2(Å) | PI1B(Å) |
|-------------|---------------|--------------------------------|---------|---------|-----------|---------|
| | Química (GSH) | Interação | | | | |
| Cisteína | Tiol | $r(\text{Cl} \cdots \text{H})$ | - | 2,69 | 2,90 | 2,72 |
| Cisteína | Carbonila | $r(\text{H} \cdots \text{O})$ | 1,65 | 2,04 | 2,10 | 2,18 |

| | | | | | | |
|--------------------|-----------|-------------------------------|------|------|------|------|
| Ácido Glutâmico | Amina | $r(\text{H} \cdots \text{N})$ | - | 1,79 | 1,79 | 1,77 |
| Ácido Glutâmico | Carbonila | $r(\text{H} \cdots \text{O})$ | 2,04 | 1,97 | 1,86 | - |

Fonte: Elaborado pelo autor.

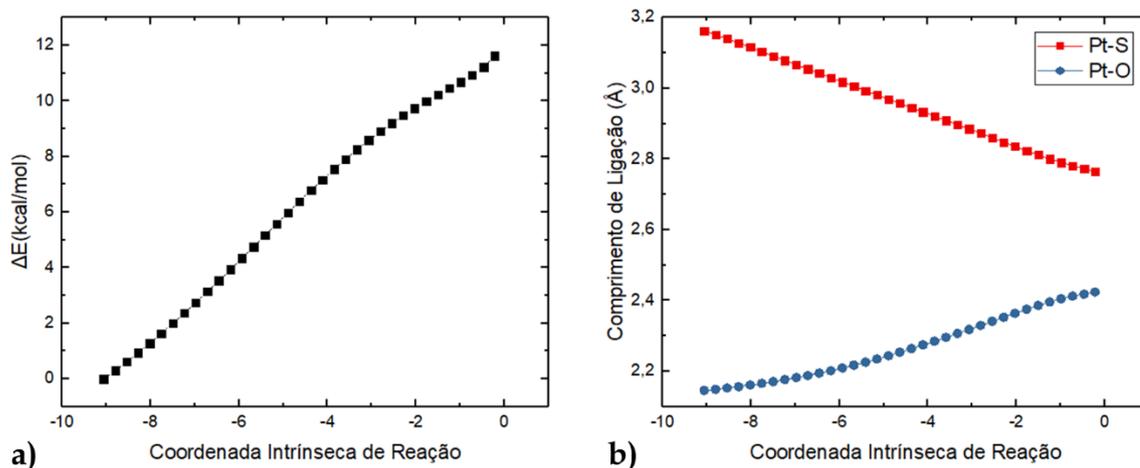
A Tabela 3.12 aponta para uma mudança nas interações das estruturas, onde o PI1B deixa de possuir uma interação com a carbonila do sítio ácido glutâmico da GSH, bem como o RI1B não possui interação com o tiol do sítio da cisteína, curiosamente as interações com os oxigênios da carbonila para TS1B_2 ocorrem com os hidrogênios da amina equatorial, já para TS1B a amina equatorial e axial participam das interações.

As reações C e D da Tabela 3.8 possuem o mesmo produto P1B, embora partam de reagentes distintos, MADP e DADP respectivamente, o estado de transição TS1C que faz parte da reação B até a presente qualificação não foi determinado, a análise que segue é da reação D e seus respectivos reagentes e produtos intermediários.

3.4.2.3. Via coordenada intrínseca de reação

A partir dos estados de transição da reação B: monoaquodiaminocloroplatina(II) foram realizados os cálculos de IRC utilizados para confirmar que os estados de transição encontrados eram correspondentes ao ponto de sela da superfície de energia potencial que conectava os pontos de mínimo obtidos. O perfil IRC para reação B, para o estado de transição TS1B_2 é descrito na Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.32:



Fonte: Elaborado pelo autor.

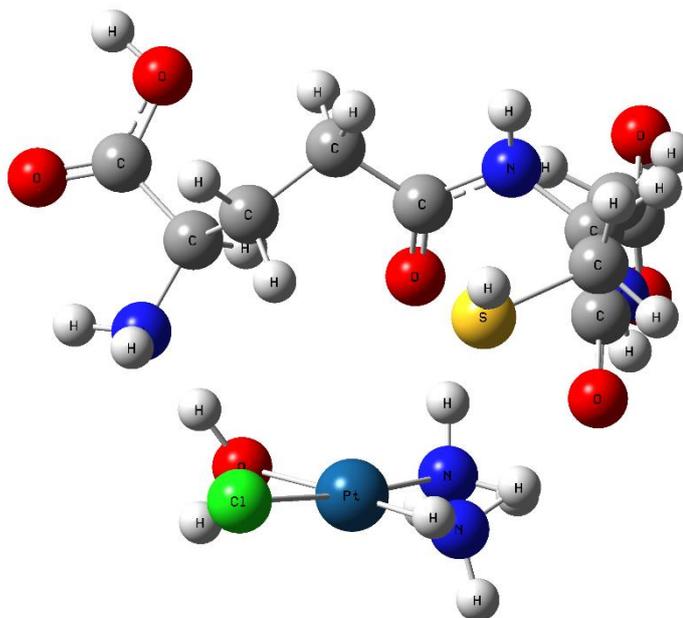
Figura 3.32 - a) Um ramo na direção dos reagentes da Coordenada intrínseca de reação do TS1B_2; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta.

O ponto de menor energia na curva de IRC do item a) da Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.32 foi otimizado, correspondendo ao intermediário da reação. A geometria final do IRC foi otimizada para garantir a convergência total de energia e, em seguida, cálculos de frequências foram feitos para obter a energia livre de Gibbs. A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.32 a) mostra a energia associada a cada ponto do IRC, desde do reagente até o estado de transição, em b) temos os comprimentos de ligação envolvidos na reação de substituição de ligantes, onde o enxofre se coordena a platina e o cloreto é o grupo de saída, no ponto inicial, representativo do reagente temos os seguintes comprimentos de ligação: Pt-S = 3,1621Å e Pt-Cl = 2,1460Å, no último ponto representativo do estado de transição temos: Pt-S = 2,7531Å e Pt-Cl = 2,4338Å. Foram realizadas tentativas de se obter os pontos do IRC para o produto monodentado, variando o número da passos do cálculo bem como o tamanho do passo, porem uma estrutura representativa do produto intermediário não foi encontrada, indicativo de que a estrutura proposta do estado de transição não descreve a reação de forma completa. A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.33 descreve o reagente intermediário otimizado, partindo do resultado de IRC:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.33 - Ponto mínimo da curva do IRC otimizado em M062x correspondente ao reagente intermediário RI1B.

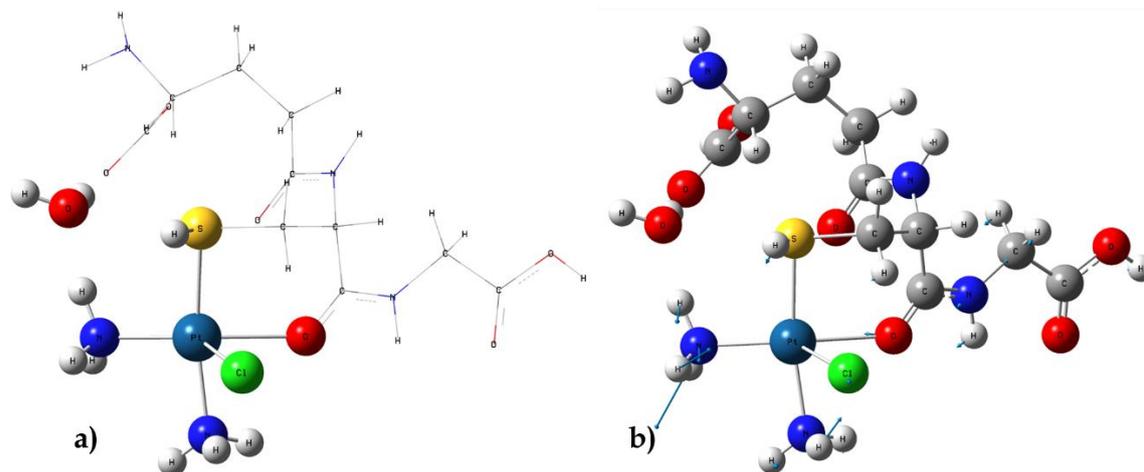
O reagente intermediário da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.33 possui uma geometria quadrático-plana ao redor da platina, os dados termodinâmicos são discutidos no capítulo 3.5.

3.4.2.4. Segunda Etapa da reação

Na segunda etapa da reação da monoaquodiaminocloroplatina(II) com a glutathione foi buscado determinar um possível estado de transição, inspirado no estado de transição TS1A, uma vez que sua estrutura é a mesma, tendo como diferença, o grupo de saída da primeira etapa da reação, a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.34 descreve a estrutura de TS2B:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.34 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz do estado de transição TS2B projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

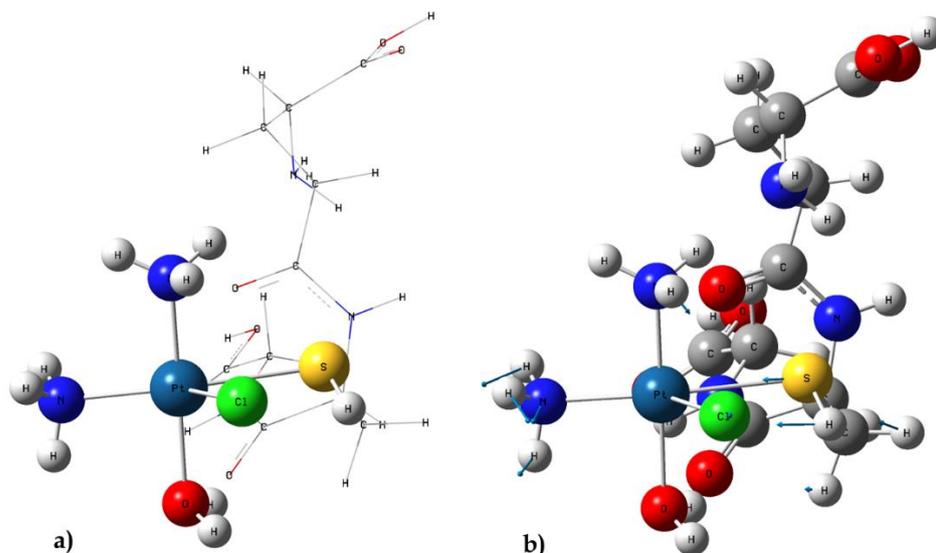
A estrutura da espécie TS2B da reação B representada em a) da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.34 foi otimizada como estado de transição, através do cálculo de otimização e frequência, foi determinado o parâmetro $\tau = 0,24$ para a estrutura, indicativo de uma geometria pirâmide base quadrada distorcida. Foi determinado também uma frequência imaginária de $130,12\text{icm}^{-1}$. Observe que o modo vibracional imaginário, descreve a saída do cloreto axial e a formação da ligação Pt-O, bem como uma movimentação nos hidrogênios das aminas coordenadas a platina, da mesma forma que ocorre com a estrutura TS1A. Além disso foi preciso modificar o algoritmo de Direct Inversion in the Iterative Subspace (DIIS) para quadratically convergent (QC) [60], que possui um custo computacional mais elevado embora mais confiável, para encontrar uma estrutura que possuísse somente uma frequência imaginária.

3.4.3. Reação C: monoaquodiaminocloroplatina(II)-glutationa

A estrutura da espécie TS1C foi otimizada e confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, na qual foi encontrada uma frequência imaginária de $130,20\text{icm}^{-1}$. O modo vibracional, descreve a saída da água axial e a formação da ligação Pt-S, conforme Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.35:

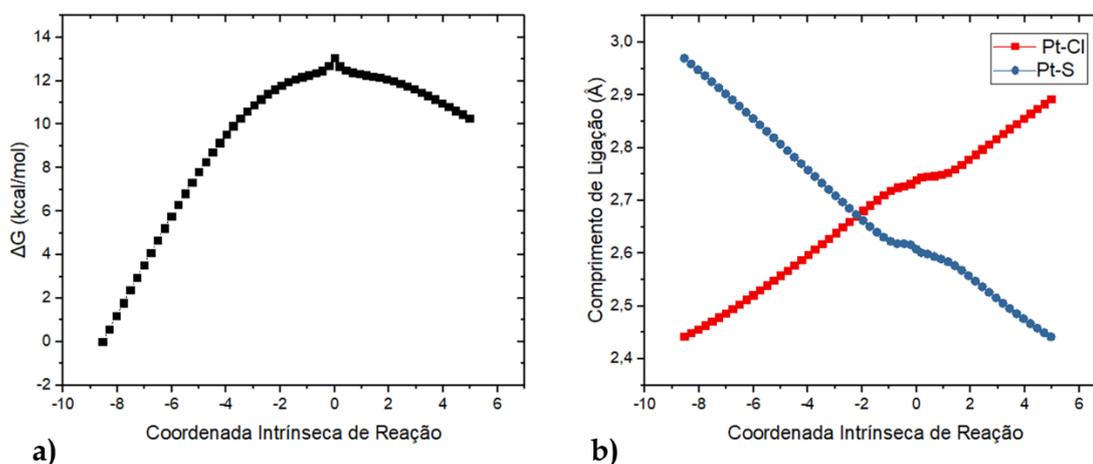


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.35 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz do estado de transição TS1C projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária. Foi determinado o parâmetro $\tau = 0,31$ para o estado de transição TS1C da Fonte:

Elaborado pelo autor.

Figura 3.35, indicativo de uma geometria pirâmide base quadrada distorcida.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.36 - a) Coordenada intrínseca de reação do TS1C; b) Progressão do comprimento da ligação entre os átomos envolvidos no estado de transição para a reação proposta.

Os pontos mínimos em cada lado da curva IRC foram otimizados, correspondendo aos intermediários da reação. As geometrias finais em ambos os lados do IRC foram otimizadas para

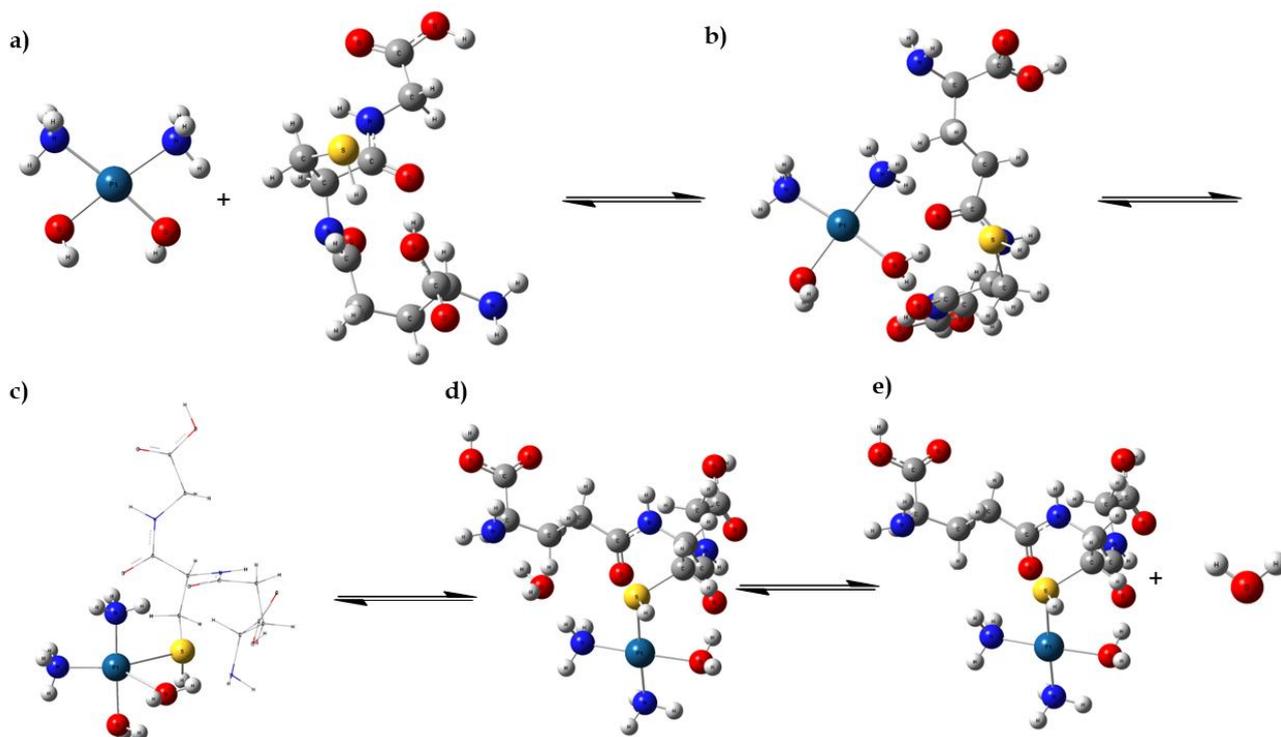
garantir a convergência total de energia e, em seguida, cálculos de frequências foram feitos para obter a energia livre de Gibbs. A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.36 a) mostra a energia associada a cada ponto do IRC, desde do reagente até o produto, em b) temos os comprimentos de ligação envolvidos na reação de substituição de ligantes, onde o enxofre se coordena a platina e o cloreto é o grupo de saída, no ponto inicial, representativo do reagente temos os seguintes comprimentos de ligação: Pt-S = 2,9696Å e Pt-Cl = 2,4432Å, no último ponto representativo do produto temos: Pt-S = 2,4420Å e Pt-Cl = 2,8928Å. Os intermediários de reação A, obtidos a partir do cálculo do IRC, compartilham praticamente a mesma geometria ao redor da coordenação com a platina.

3.4.4. Reação D: diaquodiaminoplatina(II)-glutathiona

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.37 apresenta todas as espécies envolvidas da reação D da Tabela 3.8:



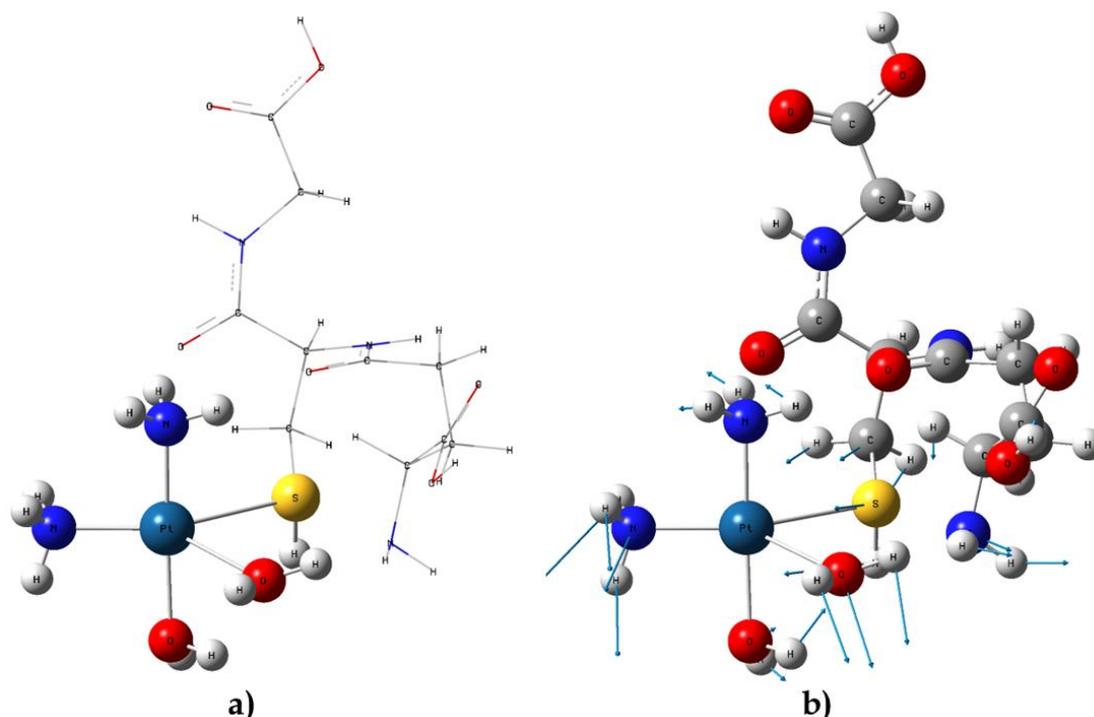
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.37 - Representação do esquema geral da reação D a) reagentes b) reagente intermediário c) estado de transição d) produto intermediário e) produtos.

O reagente e o produto intermediário da reação B representada em b) e d) respectivamente da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.37 foram calculados e serão tratados ao longo do texto pelas siglas: RI1D e PI1D. A estrutura da espécie TS1D foi otimizada e confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, na qual foi encontrada uma frequência imaginária de $-135,99\text{cm}^{-1}$. O modo vibracional, descreve a saída da água axial e a formação da ligação Pt-S, conforme Fonte: *Elaborado pelo autor*.

Figura 3.38:



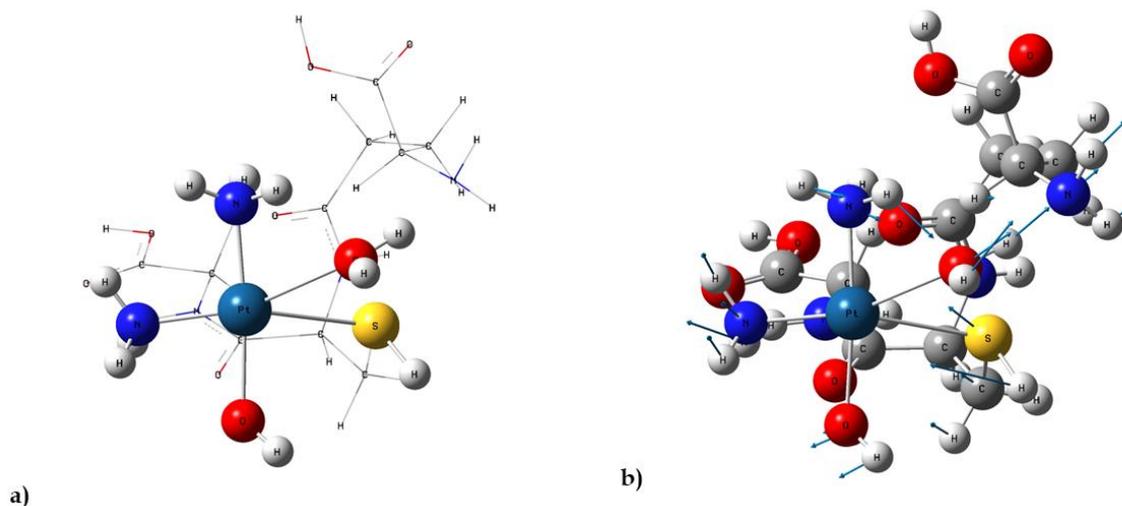
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.38 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz do estado de transição TS1D projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

Foi determinado o parâmetro $\tau = 0,54$ para o estado de transição TS1D da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.38, indicativo de uma geometria intermediária entre bipirâmide trigonal e pirâmide base quadrada. Foi também encontrado um segundo estado de transição para a reação D, que será tratado como TS1D_2, também confirmada como estado de transição de primeira ordem, através do cálculo de otimização e frequência, na qual foi encontrada uma frequência imaginária de $-149,52\text{cm}^{-1}$. O modo vibracional, descreve a saída da água axial e a formação da ligação Pt-S, conforme Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.39:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.39 - Estruturas otimizadas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz do estado de transição TS1D_2 projeção a) em relação ao eixo axial b) contendo os vetores da frequência imaginária.

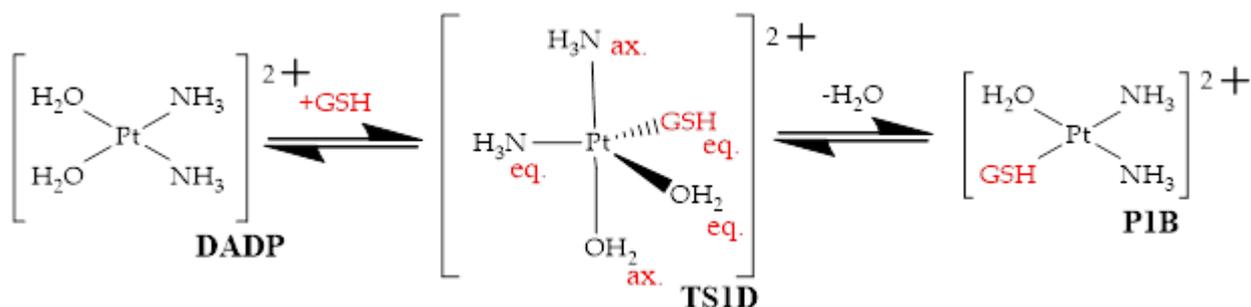
Foi determinado o parâmetro $\tau = 0,54$ para o estado de transição TS1D_2 da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.39, indicativo de uma geometria intermediária entre bipirâmide trigonal e pirâmide de base quadrada.

Os resultados estruturais obtidos para as espécies envolvidas na Reação D Tabela 3.8, tem a

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.40 como referência na definição dos ligantes envolvidos nos parâmetros geométricos sumarizados na Tabela 3.13:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.40 - Reação D com as espécies envolvidas.

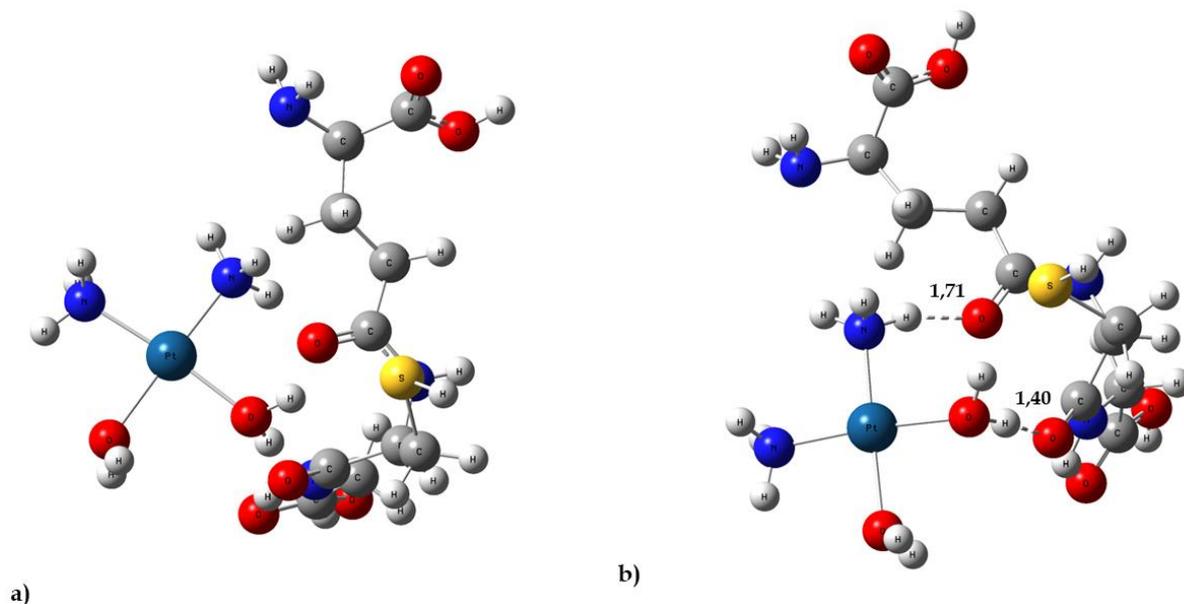
Tabela 3.13 - Ângulos e comprimento de ligação para as espécies envolvidas na reação D.

| Ligação | DADP (Å) | TS1D (Å) | TS1D_2 (Å) | P1B (Å) |
|---|----------|----------|------------|---------|
| Pt-OH _{2eq.} | 1,99 | 2,42 | 2,42 | - |
| Pt-OH _{2ax.} | 1,99 | 2,14 | 2,14 | 2,11 |
| Pt-N _{eq.} | 2,14 | 2,11 | 2,11 | 2,09 |
| Pt-N _{ax.} | 2,14 | 2,03 | 2,03 | 2,05 |
| Pt-S _{eq.} | - | 2,85 | 2,85 | 2,37 |
| Ângulo | DADP (°) | TS1D (°) | TS1D_2 (Å) | P1B (°) |
| H ₂ O _{eq.} -Pt- OH _{2ax.} | 97,47 | 72,57 | 72,57 | - |
| H ₂ O _{ax.} -Pt-N _{ax.} | 174,95 | 175,14 | 175,13 | 172,79 |
| N _{ax.} -Pt-N _{eq.} | 106,92 | 91,46 | 91,46 | 92,56 |
| H ₂ O _{eq.} -Pt-N _{eq.} | 77,83 | 142,95 | 142,95 | 83,71 |
| N _{eq.} -Pt-S _{eq.} | - | 140,09 | 140,09 | 89,03 |
| S _{eq.} -Pt-OH _{2ax.} | - | 93,53 | 93,53 | 94,73 |

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os estados de transição encontrados a despeito dos comprimentos e ângulos de ligação com a platina, possuem valores quase idênticos.

A Figura 3.41 descreve o reagente intermediário, bem como as interações intermoleculares presentes:

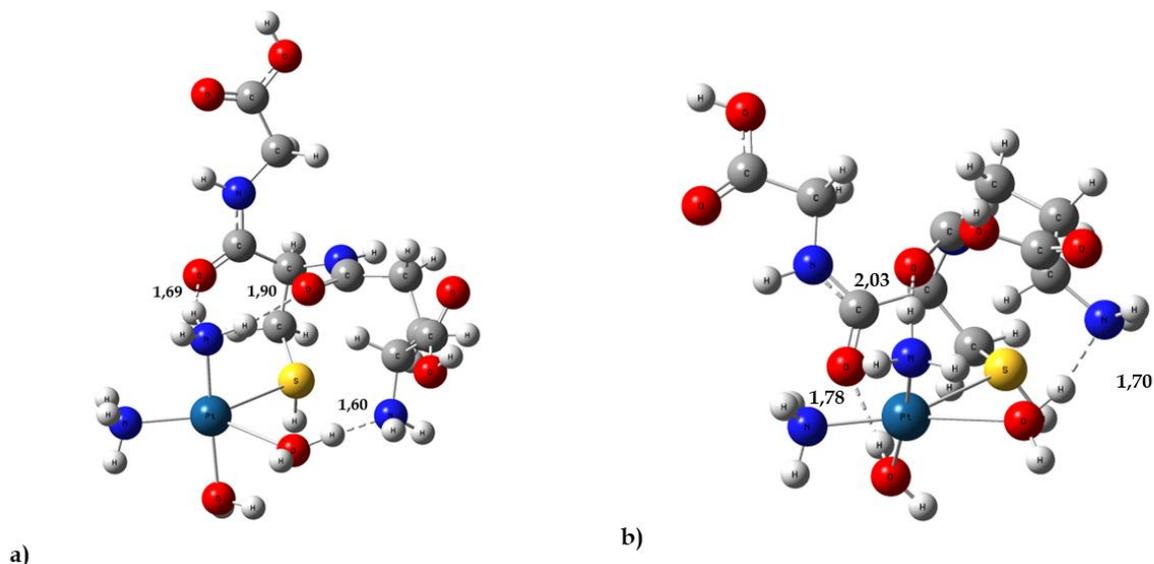


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.41 - Reagente Intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da reação D a) com relação ao plano da Platina b) Contendo as interações intramoleculares.

O reagente intermediário proposta da reação D, exposto na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.41 b) temos que RI1D possui duas interações intramoleculares, um com o hidrogênio da água em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,40\text{\AA}$ com o oxigênio da carbonila da cisteína, e outra com o hidrogênio da amina em $r(\text{H} \cdots \text{O}) = 1,71\text{\AA}$ com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico.

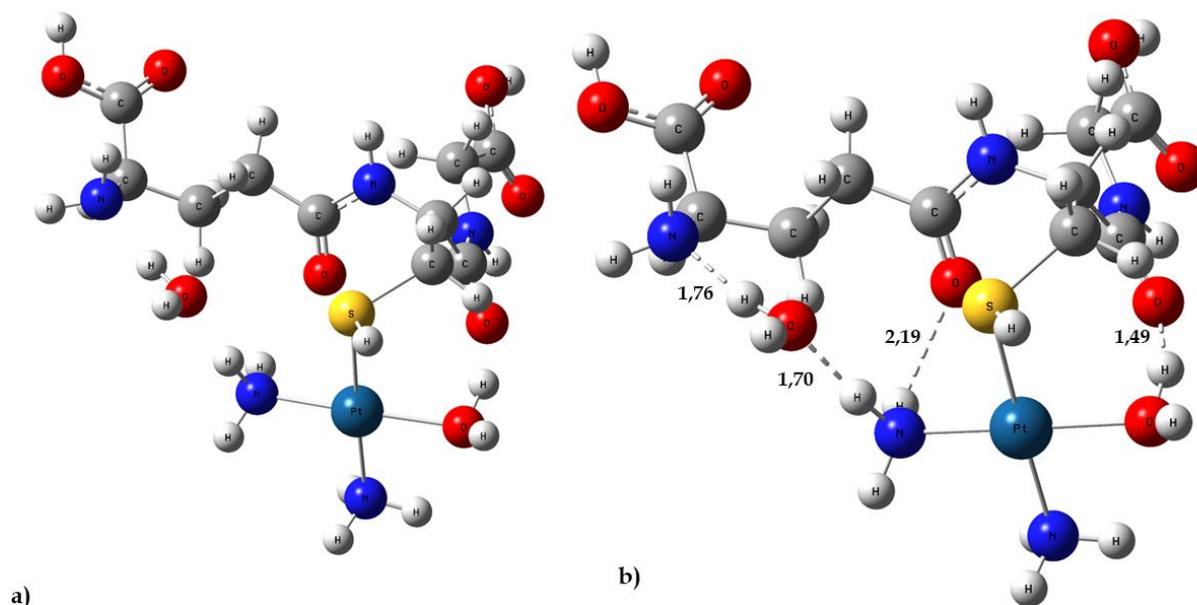


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.42 - Interações intermoleculares da estrutura do estado de transição otimizada em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) TS1D b) TS1D_2.

Na Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.42 a) pode-se observar que o hidrogênio da água equatorial que participa do mecanismo de substituição de ligantes, possui uma interação intramolecular com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico em $r(\text{H}\cdots\text{N}) = 1,60\text{\AA}$. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o hidrogênio da amina com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,90\text{\AA}$. Há também uma interação em o hidrogênio da amina com o oxigênio da carbonila da cisteína em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,69\text{\AA}$. O estado de transição TS1D_2 b) pode-se observar que o hidrogênio da água equatorial que participa do mecanismo de substituição de ligantes, possui uma interação intramolecular com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico em $r(\text{H}\cdots\text{N}) = 1,70\text{\AA}$. É possível descrever também uma interação intramolecular entre o hidrogênio da amina com o oxigênio da carbonila da cisteína em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 2,03\text{\AA}$. Há também uma interação em o hidrogênio da água com o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,78\text{\AA}$. Vale ressaltar que embora as estruturas TS1D e TS1D_2 tenham interações intermoleculares com a cisteína e com o ácido glutâmico, bem como comprimentos e ângulos de ligação com relação a platina idênticos, a liberdade conformacional para a GSH, pode também ser observada na diferença do ângulo diedro $\angle(\text{Pt-S-C-C})$, para TS1D = $91,07^\circ$ e para TS1D_2 $65,62^\circ$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.43 – Produto intermediário otimizado em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz a) PI1D b) Interações intramoleculares e intermoleculares da estrutura.

Na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.43 há uma interação entre o hidrogênio da água e o oxigênio da carbonila da cisteína em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,49\text{\AA}$ e uma interação entre o hidrogênio da amina e o oxigênio da carbonila do ácido glutâmico em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 2,19\text{\AA}$. Há também duas interações intramoleculares: uma com o hidrogênio da amina em $r(\text{H}\cdots\text{O}) = 1,70\text{\AA}$ com o oxigênio da água e outra entre o hidrogênio da água com o nitrogênio da amina do ácido glutâmico $r(\text{H}\cdots\text{N}) = 1,76\text{\AA}$.

Tabela 3.14 - Comparação das interações entre reagente intermediário, estado de transição e produto intermediário da reação D.

| Sítio (GSH) | Função Química (GSH) | Interação | RI1D(Å) | TS1D(Å) | TS1D_2(Å) | PI1D(Å) |
|-----------------|----------------------|------------------------------|---------|---------|-----------|---------|
| | | | | | | |
| Cisteína | Carbonila | $r(\text{H}\cdots\text{O})$ | 1,40 | 1,96 | 2,03 | 1,49 |
| Ácido glutâmico | Amina | $r(\text{Cl}\cdots\text{H})$ | - | 1,60 | - | 1,76 |
| Ácido glutâmico | Carbonila | $r(\text{H}\cdots\text{O})$ | 1,71 | 1,90 | 1,78 | 2,19 |

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 3.14 descreve as interações entre reagente intermediário, estados de transição e produto intermediário, onde a interação com a carbonila da cisteína e do ácido glutâmico é presente para todas as estruturas calculadas.

3.5. Análise Termodinâmica e Cinética

O cálculo de parâmetros termodinâmicos de cada espécie em fase gás foi realizado a temperatura de 298K para as reações: A, B C e D.

Tabela 3.15 descreve os parâmetros termodinâmicos considerando as reações partindo dos intermediários descritos pelo IRC e pela via intuitiva, apresentadas a seguir, que representam as reações estudadas:

Tabela 3.15 - Parâmetros termodinâmicos dos intermediários para as reações propostas, a 298K em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz, pela via intuitiva e por coordenada intrínseca de reação.

| Reação | Parâmetros Termodinâmicos (kcal/mol) | | | | | |
|--------|--------------------------------------|-------|------------|-------|--------------|--------|
| | ΔG | | ΔH | | $-T\Delta S$ | |
| | Intuitiva | IRC | Intuitiva | IRC | Intuitiva | IRC |
| A | 2,45 | 15,06 | 11,13 | 14,87 | -1,76 | -0,188 |

| | | | | | | |
|---|--------|-------|--------|-------|-------|-------|
| B | -4,28 | - | -5,23 | - | -0,94 | - |
| C | - | 28,81 | - | 29,69 | - | 0,879 |
| D | -12,88 | - | -15,76 | - | -2,88 | - |

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a *Tabela 3.15* podemos observar que as reação A apresenta variação positiva para a energia livre de Gibbs (ΔG) e para a variação de entalpia (ΔH), indicando, que nas condições dos cálculos, estas reações são endotérmicas, já as reações B e D tem uma variação negativa para a energia livre de Gibbs (ΔG) para a variação de entalpia (ΔH), indicando reações exotérmicas e que as reações ocorrem de maneira espontânea, as interações inter e intramoleculares contribuem para a definição do caráter endotérmico ou exotérmico de cada reação apresentada.

Os valores da variação de entropia (ΔS) são todos positivos, fazendo com que o termo $-T\Delta S$ contribua para a espontaneidade da reação, uma vez que são todos negativos, contribuindo para a espontaneidade da reação, com exceção para a reação C. Observando a variação entrópica, há um aumento de entropia (ΔS) para as reações A, B e D, garantindo a espontaneidade das reações propostas, valores esses que conferem maior estabilidade para o sistema, com a melhor configuração.

Observe que produto da reação D tem a maior variação negativa ΔG , já que P1B possui duas ligações de hidrogênio: uma ligação de 1,94 Å entre o hidrogênio da amina e o nitrogênio do ácido glutâmico e outra ligação de 1,49 Å entre o hidrogênio da água e o oxigênio da cisteína, que auxiliam na estabilidade sua estrutura, as ligações são descritas na

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.9, o mesmo pode ser aferido para o P1A da reação B, que tem uma ligação de hidrogênio estabilizando a estrutura, por fim vale ressaltar também que a I possui variação de carga no complexo $Pt(NH_3)_2Cl_2 \rightarrow [Pt(NH_3)_2ClGSH]^+$ corroborando também na variação positiva de ΔG , gera um resultado superestimado das energias eletrônica-nuclear nas espécie do produto que possui carga diferente de zero, o que não ocorre para as reações B e D.

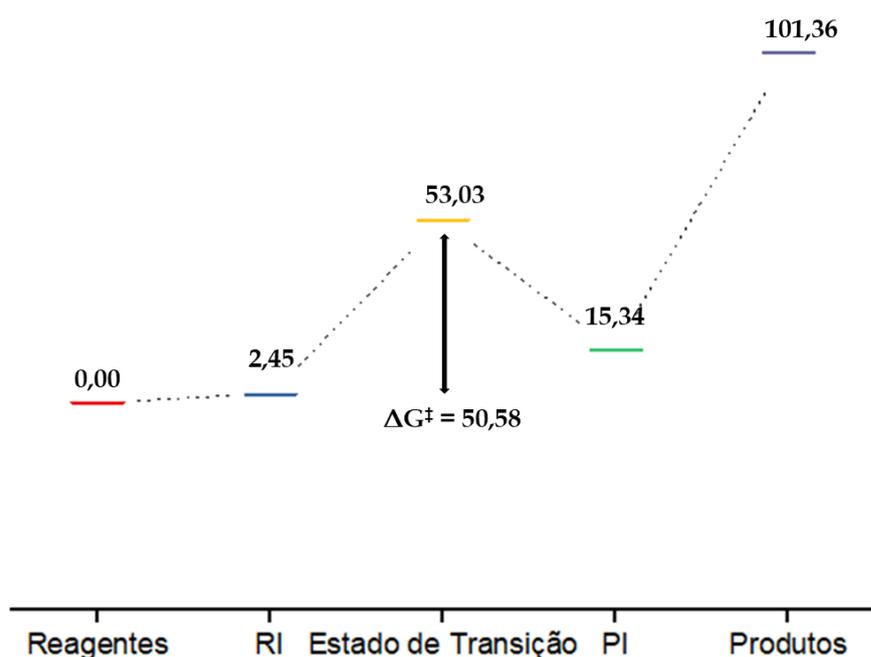
Também é possível considerar as reações contemplando os reagentes e produtos individualmente, individualmente, sendo esses discutidos nas sessões 3.1 e 3.2, a Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.44 descreve a barreira de reação A, em preto considerando os reagentes e produtos individualmente e em vermelho considerando as diferenças energéticas do reagente e

produto intermediário, os cálculos realizados para o molécula de água e o átomo de cloreto foram realizados em DFT M062X/6-31G(d,p).

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.44 descreve as barreiras de energia da reação A, levando em consideração os reagentes e produtos isolados, os quais possuem variações de energia quando comparado a seus Produtos intermediários, uma vez que os produtos intermediários, possuem interações que estabilizam o sistema.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.44 - Barreira de energia livre de Gibbs em kcal/mol da Reação A calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz, RI: reagentes intermediário, PI: Produto intermediário.

A barreira de reação representada pela cor preta da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.44 gera um resultado superestimado da energia eletrônica-nuclear nas espécies dos produtos isolados que possuem carga positiva (produto Pt-GSH) e cloreto, enquanto os reagentes possuem carga zero. O produto da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.44 tem variação positiva para a energia livre de Gibbs (ΔG) de 15,34 kcal/mol em relação aos reagentes isolados, vale destacar que a barreira de energia entre o estado de transição e o produto intermediário é de 50,58kcal/mol.

A Tabela 3.16 mostra os valores calculados de K e os valores de ΔG^\ddagger para as reações A, B, C e D:

Tabela 3.16 – Valores de K para as reações propostas em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz.

| Reação | ΔG^\ddagger (kcal/mol) | K_1 (s.L/Mol) | K_2 (s.L/Mol) |
|--------|--------------------------------|------------------------|--------------------|
| A | 50,58 | $4,95 \times 10^{-25}$ | - |
| B | 14,05/15,99 | $3,06 \times 10^2$ | 11,57 |
| C | 32,81 | $5,34 \times 10^{-12}$ | - |
| D | 11,56/6,62 | $2,05 \times 10^4$ | $8,62 \times 10^7$ |

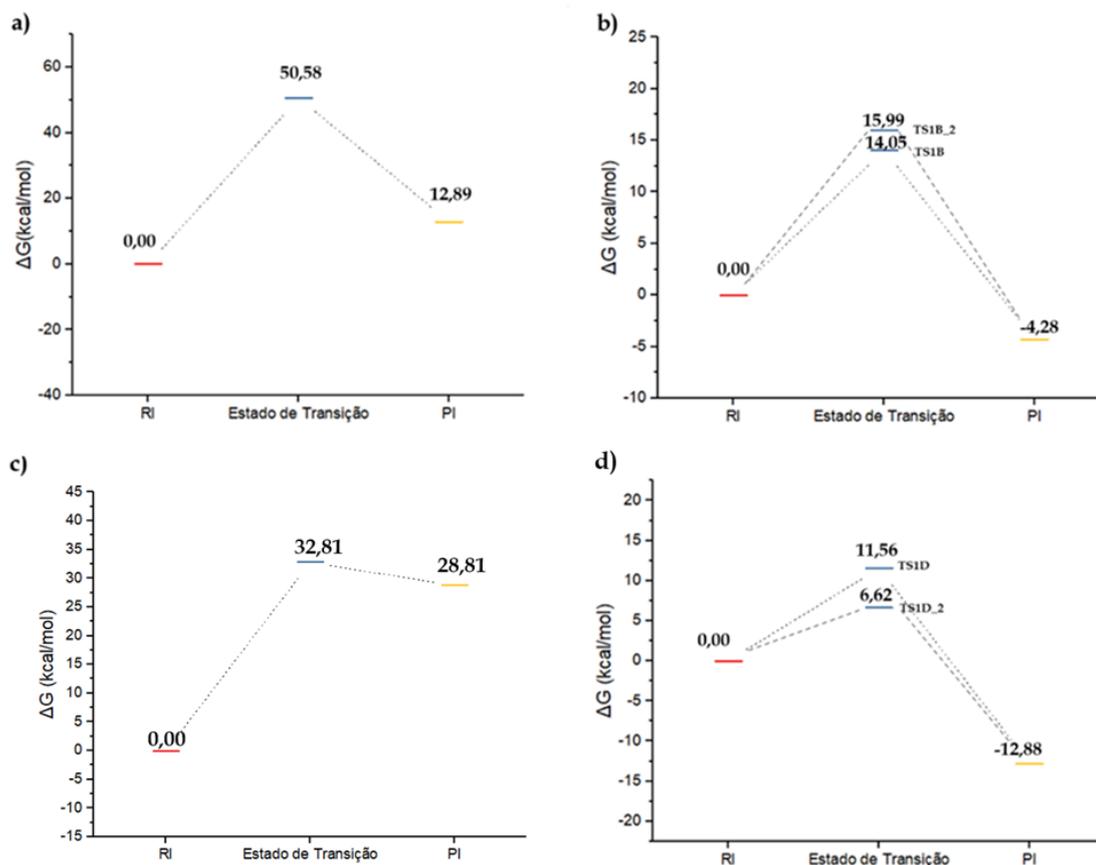
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na *Tabela 3.16* podemos aferir que quando maior o valor de ΔG^\ddagger menor é o valor de K, ou seja as reações A e C que possuem K pequenos são reações que possuem uma alta barreira de energia que a reação precisa superar para ocorrer e, portanto, menor será a velocidade da reação, ou seja, são cineticamente desfavoráveis.

Já as reações B e D possuem uma barreira de energia menor e valores maiores de K, na reação D a diferença entre os ΔG^\ddagger encontrados é de 4,94 kcal/mol, já a diferença da ordem de K é de 10^3 , ou seja, quando menor a barreira de energia, maior será a velocidade da reação. Uma comparação destes valores com valores experimentais foi deixada de lado, uma vez que as descrições das espécies que compõem as reações propostas foram realizadas em fase gás e unimolecular, bem distinto de um sistema real, ainda sim a comparação entre as reações é elucidativa de quais das reações propostas terá uma cinética favorável ou não.

A Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 descreve as barreiras das reações A, B e D, considerando os reagentes e produtos intermediários pela via intuitiva, bem como os estados de transição das reações, onde RI é o reagente intermediário e PI é o produto intermediário.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 - Barreiras de energia calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz a) reação A b) reação B c) reação C d) reação D.

A reação A da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 a) tem uma variação positiva para a energia livre de Gibbs (ΔG) no produto de 12,89 kcal/mol, indicando que a reação é endoergônica, o valor de energia do estado de transição, 50,58 kcal/mol possui um valor alto quando comparado com as barreiras de energia de b), c) e d). Já a reação C da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 a) tem uma variação positiva para a energia livre de Gibbs (ΔG) no produto de 28,81 kcal/mol, indicando que a reação é endoergônica, o valor de energia do estado de transição, 32,81 kcal/mol, indicando, que nas condições dos cálculos, estas reações possuem caráter endotérmico, bem como um indicativo de que o mecanismo de resistência que passa pela interação com a GSH, ocorre num meio onde as espécies MADP e DADP possuem alta concentração, como no caso do interior da célula.

A reação B da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 b) tem uma variação negativa para a energia livre de Gibbs (ΔG) no produto de -4,28 kcal/mol, indicando que a reação é exergônica que ocorre de maneira espontânea, bem

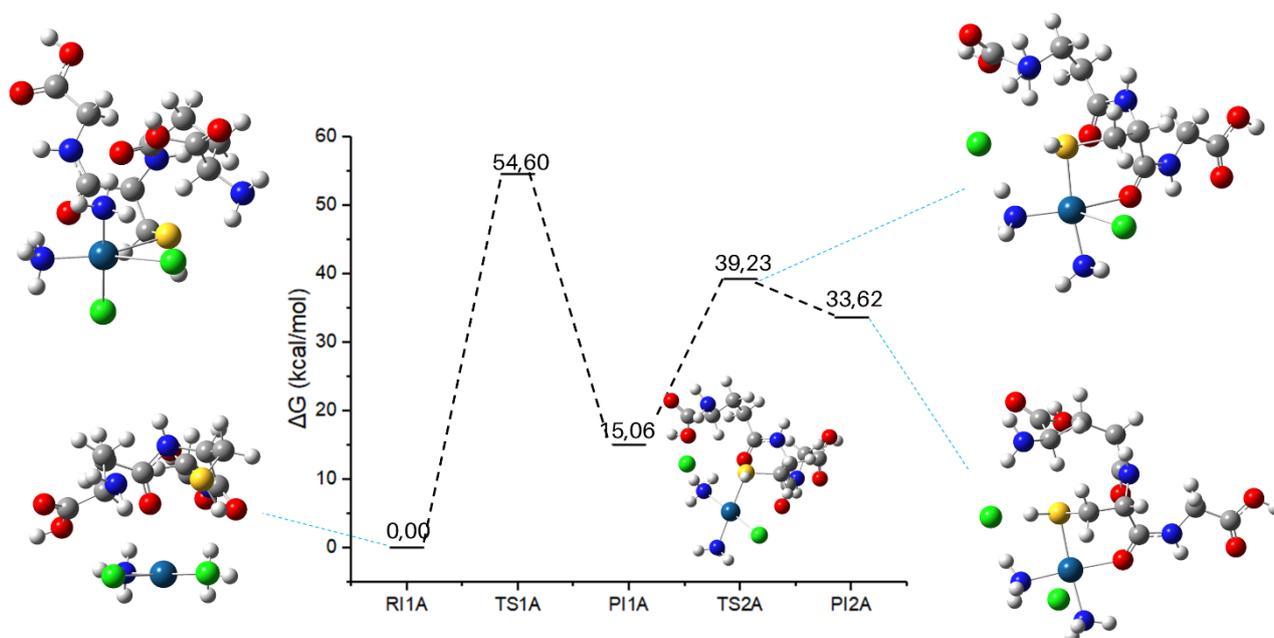
como as interações inter e intramoleculares contribuem para a definição do caráter exotérmico. B. Chen e colaboradores [56], descrevem essa reação utilizando DFT M062X/6-31G(d,p)/Lanl2dz e descrevendo o efeito solvente por IEF-PCM, com o valor de energia do estado de transição 13,44 kcal/mol e para o produto -7,17 kcal/mol, onde o efeito solvente estabiliza as estruturas do estado de transição e do produto descrevendo um caminho possível de menor energia para a reação proposta.

A reação D da Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.45 c) tem uma variação negativa para a energia livre de Gibbs (ΔG) no produto de -12,88 kcal/mol, indicando que a reação é exotérmica e que ocorre de maneira espontânea, bem como as interações inter e intramoleculares contribuem para a definição do caráter exotérmico. B. Chen e colaboradores [56], descrevem essa reação utilizando o funcional M062x e descrevendo o efeito solvente por IEF-PCM, com o valor de energia do estado de transição 8,39 kcal/mol e para o produto -15,16 kcal/mol, observe que embora o estado de transição TS1D_2 fora calculado em fase gás, este possui um valor de menor energia quando comparado ao estado de transição incluindo o efeito solvente, indicando que a liberdade conformacional da glutathione é um fator importante para a caracterização das estruturas que participam das reações. Além disso os reagentes intermediários propostos por B. Chen e colaboradores [56] possuem uma estabilidade distinta dos reagentes intermediários propostos no presente trabalho, o que impacta no valor numérico calculado.

A Fonte: *Elaborado pelo autor.*

Figura 3.46 descreve a barreira de energia das duas etapas da reação A, onde os reagentes e produtos foram obtidos pelo cálculo de IRC:



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.46 - Barreira de energia calculados em DFT M062X/6-31G(d,p)/Lan12dz da reação A obtido por IRC.

Na Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3.46 temos que a barreira da primeira etapa da reação envolve a coordenação do enxofre à platina, com uma barreira de energia de 54,60 kcal/mol formando uma ligação monodentada. Na segunda etapa, ocorre a coordenação formando uma coordenação bidentada com oxigênio da carbonila, com uma barreira de energia menor, de 24,17 kcal/mol. A formação de um complexo bidentado na segunda etapa é termodinamicamente mais favorável pois sua estabilidade proporcionada pela coordenação bidentada da Glutathione com a platina, o que leva à formação de uma estrutura mais rígida e estável em comparação com o produto da primeira etapa, vale ressaltar também que TS2A e PI2A possuem o cloreto de saída da primeira etapa. Embora haja uma diminuição significativa nas barreiras de energia dos estados de transição, a energia do produto da segunda etapa é aproximadamente o dobro da energia do produto da primeira etapa, reforçando que as reações da cisplatina-glutathione vão ocorrer preferencialmente após a substituição dos ligantes cloro por água na cisplatina.

Por fim, os cálculos para as estruturas dos estados de transição para a segunda etapa das reações propostas temos o cálculo de frequência gerando mais do que um modo vibracional imaginário, indicativo de erro numérico bem como a posição inicial descrita nas coordenadas cartesianas não condizem com um possível estado de transição. Além disso algumas possíveis

estruturas indicativas do estado de transição não geraram reagentes e produtos intermediários estáveis nos cálculos de coordenada intrínseca de reação, fator que dificulta a descrição através da metodologia do IRC, observe que para os produtos bidentados pela via intuitiva, a menor liberdade conformacional da glutatona, foi uma fator que facilitou a convergência das estruturas propostas no presente trabalho.

4. Considerações Finais

Este trabalho teve como objetivo entender as reações entre a cisplatina e a Glutaciona, observando que tal interação é um dos mecanismos de resistência da cisplatina no tratamento do câncer. Sendo o meio biológico um sistema complexo, as estruturas MADP e DADP também foram consideradas nesse estudo, observado que essas espécies participam do mecanismo de ação dos compostos de platina(II). Para isto, uma análise minuciosa e detalhada foi realizada com o objetivo de compreender tais reações.

As estruturas obtidas utilizando DFT, por cálculos de otimização apresentaram comprimentos de ligação, ângulo entre os átomos, próximos aos valores de disponíveis na literatura tanto experimental quanto cálculo teórico. A análise vibracional foi utilizada para identificar os estados estacionários correspondentes aos pontos da reação assim como inferir sobre os resultados de energia livre de Gibbs, Entalpia e Entropia da reação.

As interações intramoleculares dos reagentes intermediários e as interações intermoleculares dos produtos intermediários tiveram estabilizações significativas com o ácido glutâmico que compõe a estrutura da GSH, bem como para o estado de transição, na reação D o produto intermediário pela via intuitiva, possui duas interações intramoleculares com o ácido glutâmico, enquanto para reação A e B há somente uma interação intermolecular com o ácido glutamato. Foram determinados os possíveis estados de transição para estas reações A, B e D, particularmente para as reações B e D foram encontrados dois estados de transição, para os quais indicando a influência da conformação da GSH para os valores de barreira de energia.

A análise conformacional da glutaciona, indicou a presença de diferentes confórmeros, no qual a população dos três confórmeros são quase idênticas, indicando a liberdade conformacional da GSH embora possam assumir a conformação 'fechada' ou 'aberta' propostas na presente dissertação, ainda podem ocorrer de forma concomitante e competitiva. Os diedros $GLUC_{\alpha-C-C-C}(COOH)$ e $CYSN-C-C-N(CH_2COOH)$ e as hidroxilas terminais do ácido glutâmico e da glicina são bons parâmetros para determinar a conformação da Glutaciona.

Os produtos da reação A, pelos cálculos de coordenada intrínseca de reação, possuem os valores diedros $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C(COOH)} = -57,8^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N(CH}_2\text{COOH)} = 52,8^\circ$ e com a distâncias entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas terminais (GLU - GLY) de $9,444\text{\AA}$, comparativamente ao produto obtido via intuição química, para estabilizar o cloreto apenas a interação com a amina ligante é observada, a uma distância de $1,948\text{\AA}$ e a conformação da GSH é outra, mais fechada, com os ângulos diedros sendo: $\text{GLUC}\alpha\text{-C-C-C(=O)} = -57,9^\circ$ e $\text{CYSN-C-C-N(GLY)} = 58,21^\circ$, e com as distâncias entre os grupos ácidos de glutamato e glicina de $3,970\text{\AA}$, definindo a conformação “fechada” da GSH, fatores relevantes para a estabilidade das estruturas e seus dados termodinâmicos.

A análise termodinâmica, descreve que a reação A é endotérmica, e as reações C e D são exotérmicas, indicando eu o mecanismo de resistência deve ocorrer a partir das estruturas MADP e DADP, bem como os possíveis estados de transição para as reações estudadas, temos que a estrutura da GSH pode assumir diferentes conformações, como observado para os estados de transição: TS1B, TS1B_2, TS1D e TS1D_2, e na análise cinética temos que quanto menor o valor da barreira de energia, maior é o valor de k, e portanto, cineticamente favorável a reação será.

5. Referências

- [1] W. Caseri, "Derivatives of Magnus' green salt from intractable materials to solution-processed transistors," *Platin. Met. Rev.*, vol. 48, no. 3, pp. 91–100, 2004, doi: 10.1595/147106704X1504.
- [2] G. B. Kauffman, R. Pentimalli, S. Doldi, and M. D. Hall, "Michele Peyrone (1813-1883), discoverer of Cisplatin," *Platin. Met. Rev.*, vol. 54, no. 4, pp. 250–256, 2010, doi: 10.1595/147106710X534326.
- [3] N. P. E. Barry and P. J. Sadler, "100 years of metal coordination chemistry: From Alfred Werner to anticancer metallodrugs," *Pure Appl. Chem.*, vol. 86, no. 12, pp. 1897–1910, 2014, doi: 10.1515/pac-2014-0504.
- [4] T. ROSENBERG, B., VAN CAMP, L. & KRIGAS, "Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode," *Nat. Publ. Gr.*, vol. 205, no. 5007, pp. 498–499, 1965.
- [5] L. Rosenberg, B., Van Camp, J. E. Trosko, and V. H. Mansour, "Platinum Compounds: a new class of potent antitumour agents," *Nature*, vol. 222, pp. 385–386, 1969, doi: 10.1038/222385a0.
- [6] S. Rottenberg, C. Disler, and P. Perego, "The rediscovery of platinum-based cancer therapy," *Nat. Rev. Cancer*, vol. 21, no. 1, pp. 37–50, Jan. 2021, doi: 10.1038/s41568-020-00308-y.
- [7] T. ROSENBERG, B., VAN CAMP, L. & KRIGAS, "Anti-animal tumor method," 1979
- [8] S. Murray A. Kaplan and both of N. Y. Alphonse P. Granatek, Baldwinsville, "PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS," 1981
- [9] L. Galluzzi *et al.*, "Molecular mechanisms of cisplatin resistance," *Oncogene*, vol. 31, no. 15, pp. 1869–1883, 2012, doi: 10.1038/onc.2011.384.
- [10] N. FARRELL, "Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents," in *Journal of Nervous and Mental Disease*, vol. 162, no. 5, 1976, pp. 313–322. doi: 10.1097/00005053-197605000-00002.
- [11] E. Wong and C. M. Giandomenico, "Current status of platinum-based antitumor drugs," *Chem. Rev.*, vol. 99, no. 9, pp. 2451–2466, 1999, doi: 10.1021/cr980420v.
- [12] J. Dong, H. Tian, C. Song, T. Shi, and L. I. Elding, "Reduction of ormaplatin by an

- extended series of thiols unravels a remarkable correlation," *Dalt. Trans.*, vol. 47, no. 16, pp. 5548–5552, 2018, doi: 10.1039/c8dt00852c.
- [13] M. D. Hall, H. R. Mellor, R. Callaghan, and T. W. Hambley, "Basis for design and development of platinum(IV) anticancer complexes," *J. Med. Chem.*, vol. 50, no. 15, pp. 3403–3411, 2007, doi: 10.1021/jm070280u.
- [14] J. F. Lopes, "ESTUDO TEÓRICO DAS INTERAÇÕES DA CISPLATINA E ANÁLOGOS EM SOLUÇÃO," Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.
- [15] J. J. Wilson and S. J. Lippard, "Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes," *Chem. Rev.*, vol. 114, no. 8, pp. 4470–4495, 2014, doi: 10.1021/cr4004314.
- [16] N. P. Farrell, *Uses of Inorganic Chemistry in Medicine*. The Royal Society of Chemistry, 1999.
- [17] D. Paul, G. Sanap, S. Shenoy, D. Kalyane, K. Kalia, and R. K. Tekade, "Artificial intelligence in drug discovery and development," *Drug Discov. Today*, vol. 26, no. 1, pp. 80–93, 2021, doi: 10.1016/j.drudis.2020.10.010.
- [18] H. Sung *et al.*, "Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 71, no. 3, pp. 209–249, 2021, doi: 10.3322/caac.21660.
- [19] INCA, "Estimativa | 2020 Incidência de Câncer no Brasil," 2020.
- [20] INCA, *ABC do Câncer: Abordagens Básicas para o Controle do Câncer*, 6^a. Rio de Janeiro, 2020.
- [21] B. Lippert, *Cisplatin Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*. 1999. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00288-8.
- [22] A. P. Neves and M. D. Vargas, "Platinum(II) complexes in cancer therapy," *Rev. Virtual Quim.*, vol. 3, no. 3, pp. 196–209, 2011, doi: 10.5935/1984-6835.20110023.
- [23] P. B. Tchounwou, S. Dasari, F. K. Noubissi, P. Ray, and S. Kumar, "Advances in our understanding of the molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer therapy," *J. Exp. Pharmacol.*, vol. 13, pp. 303–328, 2021, doi: 10.2147/JEP.S267383.
- [24] A. Basu and S. Krishnamurthy, "Cellular responses to cisplatin-induced DNA damage," *J. Nucleic Acids*, vol. 2010, 2010, doi: 10.4061/2010/201367.

- [25] A. Galliani and M. Losacco, "Cisplatin handover between copper transporters: the effect of reducing agents," pp. 705–714, 2014, doi: 10.1007/s00775-014-1138-1.
- [26] M. D. Hall, M. Okabe, D. W. Shen, X. J. Liang, and M. M. Gottesman, "The role of cellular accumulation in determining sensitivity to platinum-based chemotherapy," *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 48, pp. 495–535, 2008, doi: 10.1146/annurev.pharmtox.48.080907.180426.
- [27] J. Kryczka, J. Kryczka, K. H. Czarnecka-Chrebelska, and E. Brzezińska-Lasota, "Molecular mechanisms of chemoresistance induced by cisplatin in NSCLC cancer therapy," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 16, 2021, doi: 10.3390/ijms22168885.
- [28] T. Makovec, "Cisplatin and beyond: Molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy," *Radiol. Oncol.*, vol. 53, no. 2, pp. 148–158, 2019, doi: 10.2478/raon-2019-0018.
- [29] T. Zimmermann, Z. Chval, and J. V. Burda, "Cisplatin interaction with cysteine and methionine in aqueous solution: Computational DFT/PCM study," *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, no. 10, pp. 3139–3150, 2009, doi: 10.1021/jp807645x.
- [30] R. C. Todd and S. J. Lippard, "Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds," *Metallomics*, vol. 1, no. 4, pp. 280–291, 2009, doi: 10.1039/b907567d.
- [31] C. T. Borges, "ESTUDO TEÓRICO DA INTERAÇÃO DA PROTEÍNA ATP7A COM A CISPLATINA," Universidade Federal de Itajubá, 2016.
- [32] T. Minervini, B. Cardey, S. Foley, C. Ramseyer, and M. Enescu, "Fate of cisplatin and its main hydrolysed forms in the presence of thiolates: A comprehensive computational and experimental study," *Metallomics*, vol. 11, no. 4, pp. 833–844, 2019, doi: 10.1039/c8mt00371h.
- [33] H. J. Forman, H. Zhang, and A. Rinna, "Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis," *Mol. Aspects Med.*, vol. 30, no. 1–2, pp. 1–12, 2009, doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006.
- [34] P. C. Huber, W. P. Almeida, and Â. De Fátima, "Glutationa e enzimas relacionadas: Papel biológico e importância em processos patológicos," *Quim. Nova*, vol. 31, no. 5, pp. 1170–1179, 2008, doi: 10.1590/S0100-40422008000500046.
- [35] D. Shukla, P. K. Mandal, L. Ersland, and E. R. Gr, "A Multi-Center Study on Human

- Brain Glutathione Conformation using Magnetic Resonance Spectroscopy,” vol. 66, pp. 517–532, 2018, doi: 10.3233/JAD-180648.
- [36] D. Vila-Viçosa, V. H. Teixeira, H. A. F. Santos, and M. Machuqueiro, “Conformational study of GSH and GSSG using constant-pH molecular dynamics simulations,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 117, no. 25, pp. 7507–7517, 2013, doi: 10.1021/jp401066v.
- [37] P. K. Mandal, D. Shukla, V. Govind, Y. Boulard, and L. Erstrand, “Glutathione Conformations and Its Implications for in vivo Magnetic Resonance Spectroscopy,” *J. Alzheimer’s Dis.*, vol. 59, no. 2, pp. 537–541, 2017, doi: 10.3233/JAD-170350.
- [38] S. Fujiwara, G. Formicka-Kozłowska, and H. Kozłowski, “Conformational Study of Glutathione by NMR.” *Bulletin of the chemical society of Japan*, pp. 3131–3135, 1977.
- [39] C. H. Görbitz, “A Redetermination of the crystal and molecular structure of glutathione (gamma-L-Glutamyl-L-cysteinylglycine) at 120 K.,” *Acta Chem. Scand.*, vol. 41b, pp. 362–366, 1987.
- [40] Z. Aliakbar Tehrani and A. Fattahi, “Conformational aspects of glutathione tripeptide: Electron density topological & natural bond orbital analyses,” *Struct. Chem.*, vol. 24, no. 1, pp. 147–158, 2013, doi: 10.1007/s11224-012-0023-1.
- [41] I. N. Levine, *Quantum Chemistry*, Sétima. 2014.
- [42] D. Young, *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*, vol. 9. 2001. [Online]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_quantum_chemistry_and_solid_state_physics_software
- [43] K. Morgon, Nelson H.; Coutinho, *Métodos de Química Teórica e modelagem molecular*. 2007.
- [44] R. Custodio, J. R. Dos Santos Politi, M. Segala, R. L. A. Haiduke, and M. Cyrillo, “Four alternatives to solve schrödinger equation,” *Quim. Nova*, vol. 25, no. 1, pp. 159–170, 2002, doi: 10.1590/s0100-40422002000100025.
- [45] C. J. Cramer, *Essentials of Computational Chemistry Theories and Models*, Second. 2004.
- [46] N. H. Morgon, “COMPUTAÇÃO EM QUÍMICA TEÓRICA: INFORMAÇÕES TÉCNICAS,” *Quim. Nova*, vol. 24, no. 5, pp. 676–682, 2001.
- [47] A. Szabo and N. S. Ostlund, *Modern quantum chemistry Introduction to advanced electronic*

structure theory. New York, 1947.

- [48] N. H. Morgon and R. Custódio, "Teoria do Funcional de Densidade," *Quim. Nova*, vol. 18, 1995.
- [49] E. S. Kryachko, "Hohenberg-Kohn Theorem," vol. XVIII, pp. 1029–1035, 1980.
- [50] Y. Zhao and D. G. Truhlar, "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 function," *Theor. Chem. Acc.*, vol. 120, no. 1–3, pp. 215–241, 2008, doi: 10.1007/s00214-007-0310-x.
- [51] S. HUZINAGA, "Gaussian-Type Functions for Polyatomic Systems. I," vol. 42, no. October 1964, 1965.
- [52] W. J. Hehre, R. Ditchfield, and J. A. Pople, "Self – Consistent Molecular Orbital Methods . XII . Further Extensions of Gaussian – Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules," vol. 284, no. 1985, 2003.
- [53] P. J. Hay, W. R. Wadt, P. J. Hay, and W. R. Wadt, "Ab initio effective core potentials for molecular calculations . Potentials for K to Au including the outermost core orbitals Potentials for K to Au including the outermost core orbitals," vol. 299, 1985, doi: 10.1063/1.448975.
- [54] A. W. A. T. N. R. J. R. J. van R. G. C. V. Rao, "Synthesis, Structure, and Spectroscopic Properties of Copper(II) Compounds containing Nitrogen-Sulphur Donor Ligands ; the Crystal and Molecular Structure of Aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)- 2,6-dithiaheptane]copper(ii) Perchlorate," *Polyhedron*, vol. 17, no. 21, pp. 3671–3679, 1984, doi: 10.1016/S0277-5387(98)00128-4.
- [55] A. Okuniewski, D. Rosiak, J. Chojnacki, and B. Becker, "Coordination polymers and molecular structures among complexes of mercury(II) halides with selected 1-benzoylthioureas," *Polyhedron*, vol. 90, pp. 47–57, 2015, doi: 10.1016/j.poly.2015.01.035.
- [56] B. Chen and L. Zhou, "Computational study on mechanisms of the anticancer drug: Cisplatin and novel polynuclear platinum(II) interaction with sulfur-donor biomolecules and DNA purine bases," *Comput. Theor. Chem.*, vol. 1074, pp. 36–49, 2015, doi: 10.1016/j.comptc.2015.09.023.

- [57] T. Soldatović, "Correlation between HSAB Principle and Substitution Reactions in Bioinorganic Reactions," *Photophysics, Photochem. Substit. React. - Recent Adv.*, pp. 1–13, 2021, doi: 10.5772/intechopen.91682.
- [58] L. E. Roy, P. J. Hay, and R. L. Martin, "Revised basis sets for the LANL effective core potentials," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 4, no. 7, pp. 1029–1031, 2008, doi: 10.1021/ct8000409.
- [59] K. Fukui, "The Path of Chemical Reactions - The IRC Approach," *Acc. Chem. Res.*, vol. 14, no. 12, pp. 363–368, 1981, doi: 10.1021/ar00072a001.
- [60] M. J. Frisch *et al.*, "Gaussian 09 Revision A.2." 2009.
- [61] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*. 2017.
- [62] J. W. Ochterski, "Thermochemistry in Gaussian," *Gaussian, Inc.*, p. 19, 2000, [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscatal.9b04746>
- [63] G. Singh *et al.*, "Structure and vibrations of glutathione studied by vibrational spectroscopy and density functional theory," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 149, pp. 505–515, 2015, doi: 10.1016/j.saa.2015.04.062.
- [64] V. P. Ting, M. Schmidtman, C. C. Wilson, and M. T. Weller, "Cisplatin: Polymorphism and structural insights into an important chemotherapeutic drug," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 49, no. 49, pp. 9408–9411, 2010, doi: 10.1002/anie.201003185.