

Karla Furtado Andriani

**Estudo de Complexos de Rutênio (II/III) e sua
Interação com Alvos Biológicos - Uma Abordagem
Computacional**

Tese submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Química para a
obtenção do Grau de Doutora em
Química, na área de concentração
Físico-Química.

Universidade Federal de Santa Catarina

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Orientador: Prof. Dr. Giovanni Finoto Caramori

Florianópolis

Maiο de 2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Andriani, Karla Furtado
{Estudo de Complexos de Rutênio (II/III) e sua
Interação com Alvos Biológicos - Uma Abordagem
Computacional / Karla Furtado Andriani ;
orientador, Giovanni Finoto Caramori, 2018.
298 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis,
2018.

Inclui referências.

1. Química. 2. Complexos de rutênio. 3. Agentes
antineoplásicos. 4. Alvos biológicos. 5. DFT,
dockings e dinâmica molecular. I. Caramori, Giovanni
Finoto. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Karla Furtado Andriani

**Estudo de Complexos de Rutênio (II/III) e sua
Interação com Alvos Biológicos - Uma Abordagem
Computacional**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química para a obtenção do Grau de Doutora em Química, na área de concentração Físico-Química.

Esta Tese foi julgada aprovada para a obtenção do Título de “Doutora em Química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química. Florianópolis, 28 de maio de 2018:

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Giovanni Finoto Caramori
Orientador

Prof. Dr. Maximiliano Segala
UFRGS – Porto Alegre/RS
Relator

Prof. Dra. Daniela Zambelli Mezalira
UFSC – Florianópolis/SC

Prof. Dr. Leone do Carmo Garcia
IFSC – São José/SC

Florianópolis
Maio de 2018

Este trabalho é dedicado aos amores da minha vida, meu filho Felipe Andriani Nikitenko Casali e ao meu marido Angelo Estevão Nikitenko Casali. Este trabalho também é dedicado aos meus amados e saudosos pais, Maria Mirna Furtado Andriani e Paulo César Andriani (in memorium).

Agradecimentos

Ao CNPq, CAPES e FAPESC pelo apoio financeiro e competência.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela excelência no ensino.

Ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Agradeço especialmente ao meu orientador, Prof. Dr. Giovanni Finoto Caramori, pelos ensinamentos, paciência e confiança, durante esses sete anos de convivência e de constante aprendizado.

Aos professores Dr. Fabio G. Doro, Dr. Renato L. T. Parreira e Dr. Germano Heinzemann pela colaboração e apoio, contribuindo para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Peifeng Su por disponibilizar o código do GKS-EDA.

Deixo também meus agradecimentos a comunidade de software livre e ao Instituto de Ensino Superior da Grande Florianópolis.

Ao meu amado marido pela compreensão e apoio nas horas mais difíceis. A minha querida sogra, Vovó Neusa, por ter cuidado inúmeras vezes do meu filho para que a presente Tese fosse finalizada. Agradeço a todos da família Nikitenko-Casali por terem me acolhido tão bem, especialmente a Tia Bea e o Vô Ângelo. À minha amada irmã por sempre ter me dado forças para continuar esta jornada.

Agradeço também a todos os colegas e amigos do GEEM pelo companheirismo, especialmente Aninha e Banegas. Ao meu amigo, Ortolan pela colaboração constante.

Enfim, agradeço a todas as pessoas especiais que fazem ou fizeram parte da minha vida tornando este sonho uma realidade.

*"Wer nichts als Chemie versteht, versteht auch die nicht recht."
Georg Christoph Lichtenberg*

Resumo

Foram estudados neste trabalho três classes principais de complexos de metais de transição, a primeira classe engloba o NAMI-A, $[\text{imH}][\text{Ru(III)(dmsO)(im)Cl}_4]$ com im=imidazol e dmsO=dimetilsulfóxido; e seus derivados de hidrólise; a segunda compreende os complexos *cis/trans*- $[\text{Ru(II)(dmsO)}_4\text{Cl}_2]^0$ e suas espécies hidrolisadas; e a última classe corresponde aos nitrosilo complexos de rutênio do tipo *mer(Cl)trans(NO,O)*- $[\text{Ru(II)(NO)Cl}_3(\text{AA}^-)]^-$ com AA^- = glicina (GLY), L-alanina (L-ALA), L-valina (L-VAL), L-prolina (L-PRO), D-prolina (D-PRO), L-serina (L-SER), L-tionina (L-THR), L-tirosina (L-TYR) e ácido picolínico.

Todas as três classes foram investigadas através do estudo de sua estrutura eletrônica utilizando os métodos de GKS-EDA, QTAIM e NBO, com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Assim como, a interação desses complexos com alvos biológicos de interesse foram investigados na luz do Docking e Dinâmica Molecular, já que esses complexos são candidatos a potenciais fármacos, principalmente contra neoplasias.

Os resultados das análises para a primeira classe de complexos estudada, mostraram que a hidrólise do NAMI-A ocorre preferencialmente com a substituição do cloreto nas posições L1 e L2 na primeira esfera de coordenação e que os ligantes aquo nessas posições são estabilizados por ligações de hidrogênio. Os resultados também mostraram que a redução não tem papel significativo na interação do NAMI-A e seus derivados com o *DNA*, ao contrário da hidrólise, que afeta não somente a interação com o *DNA* mas também com a *HSA*. NAMI-A e suas espécies hidrolisadas interagem com o *DNA* através dos pares de bases nitrogenadas $\text{G}_{22\text{B}}\text{-C}_{3\text{A}}$ e $\text{C}_{21\text{B}}\text{-G}_{4\text{A}}$, enquanto a interação com a *HSA* ocorre no domínio IB.

Os isômeros geométricos *cis/trans*- $[\text{Ru(II)(dmsO)}_4\text{Cl}_2]^0$ foram estudados também frente ao seu mecanismo de hidrólise. Os resultados indicaram que a substituição dos ligantes cloreto e dmsO por aquo aumenta a afinidade desses complexos pelo *DNA*. E que o complexo duplamente

hidrolisado do isômero *trans* é a espécie que interagem mais fortemente com o *DNA* através do par de base nitrogenada C_{3A}-G_{22B}, próximo a G_{4A}.

Os resultados das análises sugeriram que a série de complexos *mer*(Cl)*trans*(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl₃(AA⁻)]⁻ com AA⁻ = glicina (GLY), L-alanina (L-ALA), L-valina (L-VAL), L-prolina (L-PRO), D-prolina (D-PRO), L-serina (L-SER), L-tionina (L-THR) e L-tirosina (L-TYR) não são bons liberadores de óxido nítrico exceto para AA⁻ = ácido picolínico, este também mostrou ser o o complexo que possui a maior afinidade pela *HSA*. No qual, a interação desses complexos com a *HSA* é assistida por ligações de hidrogênio e preferencialmente no domínio IIB.

Palavras-chaves: NAMI-A. Ru-NO. *DNA*. *HSA*. GKS-EDA. QTAIM. NBO. *Docking* Molecular. Dinâmica Molecular.

Abstract

Three main classes of transition metal complexes were studied, the first class includes NAMI-A, $[\text{imH}][\text{Ru}(\text{III})(\text{dmsO})(\text{im})\text{Cl}_4]$ with im=imidazole and dmsO=dimethylsulfoxide and their hydrolysis derivatives; the second class comprises the *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]^0$ complexes and their hydrolyzed species; and the latter class corresponds to the nitrosyl ruthenium complexes of *mer(Cl)trans*(NO,O)- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{NO})\text{Cl}_3(\text{AA}^-)]^-$ with AA^- = glycine (GLY), L-alanine (L-ALA), L-valine (L-VAL), L-proline (L-PRO), D-proline (D-PRO), L-serine (L-SER), L-thione (L-THR), L-tyrosine (L-TYR) and picolinic acid.

All three classes were investigated their electronic structure using GKS-EDA, QTAIM and NBO methods, with the BP86-D3/def2-TZVPP level of theory. The interaction of these complexes with relevant biological targets was studied in the light of Docking and Molecular Dynamics since these complexes are potential candidates for antineoplastic drugs.

The results for the first class investigated showed that the NAMI-A hydrolysis occurs preferentially with the chloride substitution at the L1 and L2 positions in the first coordination sphere, and hydrogen bonds stabilize the aquo ligands in these positions. The results also showed that the reduction does not play a significant role in NAMI-A and derivatives interaction with DNA, unlike hydrolysis, which affects not only interaction with DNA but also with HSA. NAMI-A and its hydrolyzed species interact with the DNA through G_{22B}-C_{3A} e C_{21B}-G_{4A} base pairs, while the interaction with the HSA occurs in the IB domain.

The geometric isomers *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]^0$ were also studied in view of their hydrolysis mechanism. The results indicated that the chloride and dmsO substitution by aquo ligands increases the affinity of these complexes for DNA. The *trans* double hydrolyzed complex is the species that most strongly interacts with DNA, through C_{3A}-G_{22B} base pair, close to G_{4A}.

The results suggested that *mer*(Cl)*trans*(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl₃(AA⁻)]⁻ with AA⁻ = glycine (GLY), L-alanine (L-ALA), L-valine (L-VAL), L-proline (L-PRO), D-proline (D-PRO), L-serine (L-SER), L-thione (L-THR) and L-tyrosine (L-TYR) series are not good nitric oxide releasers, except for AA⁻=picoloni acid, which showed to be the complex with the highest affinity with HSA. The interactions between the compounds and HSA are assisted by hydrogen bonds and occurs preferably in the IIB domain.

Key-words: NAMI-A. Ru-NO. DNA. HSA. GKS-EDA. QTAIM. NBO. Molecular Docking. Molecular Dynamics.

Lista de ilustrações

- Figura 4.1 – Descrição esquemática dos passos do EDA para a formação da ligação entre dois fragmentos A e B para originar a supermolécula AB. Fonte: Copyright ©2015 American Chemical Society. Reproduzido com permissão. 54
- Figura 4.2 – Diagrama representativo das interações entre dois fragmentos A e B. Baseado no esquema original da Referência [1]. 55
- Figura 4.3 – Plot 3D para a comparação do NBO, NLMO e MO para σ_{N-C} na molécula CHONH_2 . Fonte: Copyright©2017 nbo6.chem.wisc.edu/tut_cmo.html. Reproduzida com permissão. 64
- Figura 4.4 – Densidade eletrônica (esquerda) e o campo de vetor gradiente (direita) da densidade no plano molecular do BF_3 . As setas azuis conectando os núcleos traçam o caminho de ligação. As linhas magentas delimitando as bacias atômicas traçam a interseção das superfícies de fluxo-zero com o plano. Os pequenos círculos dispostos nos três caminhos de ligação representam os pontos críticos de ligação (BCP). Fonte: Matta e Boyd. Copyright©Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Reproduzido com permissão. Licença 4330460344542. 72
- Figura 4.5 – Interações interatômicas na Mecânica Molecular. Representação *ball and stick*. Imagem reproduzida e modificada com a licença 4295501100361. Copyright©2018 Elsevier. 76
- Figura 5.1 – Fórmulas estruturais do NAMI (1) e NAMI-A (2). . 105

Figura 5.2 – Fórmulas estruturais do KP1019 (3), KP1339 (4) e KP418 (5).	106
Figura 5.3 – <i>Redocking</i> do ligante BOG (preto) no receptor COX-2, em comparação com a estrutura experimental (vermelho).	112
Figura 5.4 – Estimativa da qualidade local dos resíduos da <i>HSA</i>	114
Figura 5.5 – Geometrias experimental e teórica (BP86-D3/def2-TZVPP) e parâmetros geométricos selecionados para o complexo NAMI-A.	116
Figura 5.6 – Mecanismo de hidrólise do NAMI-A em meio fisiológico.	118
Figura 5.7 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados do mecanismo de hidrólise para o NAMI-A (1) e seus aquo derivados, $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)Cl}_4]^{2-}$ (2), $[\text{Ru(III)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^0$ (1.1), $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^-$ (2.1) e $[\text{Ru(III)(H}_2\text{O)(im)Cl}_4]^-$ (1.2).	121
Figura 5.8 – Gráfico dos ângulos de ligação selecionados para os complexos 1 e 2 e seus aquo derivados, 1.1 e 2.1	123
Figura 5.9 – Esquema utilizado para a obtenção dos aquo complexos derivados do NAMI-A nas formas oxidada (1) e reduzida (2).	125
Figura 5.10–Estrutura geométrica dos complexos hidrolisados pela substituição do ligante cloreto pelo aquo nas posições L1 a L4 para os complexos 1 e 2	126
Figura 5.11–Gráfico da diferença da energia livre de Gibbs (em kcal.mol^{-1}) relativo a 1 para os complexos estudados.	127
Figura 5.12–Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol^{-1}) para as interações nos complexos 1 e 2	131
Figura 5.13–Gráfico da contribuição do termo eletrostático ΔE^{es} a energia total de interação (em kcal.mol^{-1}) para as interações nos complexos 1 e 2	132

Figura 5.14–Gráficos das contribuições dos termos de troca ΔE^{ex} (a) e polarização ΔE^{pol} (b) a energia total de interação (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1 e 2	133
Figura 5.15–Gráfico da contribuição do termo de repulsão ΔE^{rep} a energia total de interação (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1 e 2	134
Figura 5.16–Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1 e 1.2	137
Figura 5.17–Gráficos das contribuições dos termos eletrostático ΔE^{es} (a), de repulsão ΔE^{rep} (b), de troca ΔE^{ex} (c) e polarização ΔE^{pol} (b) a energia total de interação (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1 e 1.2	139
Figura 5.18–Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol ⁻¹) para a interação Ru–H ₂ O nas posições L1-L4 nos complexos 1 e 2	140
Figura 5.19–Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1.1 e 2.1	144
Figura 5.20–Gráficos das contribuições dos termos eletrostáticos ΔE^{es} (a) e repulsão ΔE^{rep} (b) a energia total de interação (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1.1 e 2.1	145
Figura 5.21–Gráficos das contribuições dos termos de polarização ΔE^{pol} (a) e de troca ΔE^{ex} (b) a energia total de interação (em kcal.mol ⁻¹) para as interações nos complexos 1.1 e 2.1	146
Figura 5.22–Representação dos três modos mais estáveis do <i> docking</i> molecular dos complexos 1 , 2 , 1.1 , 2.1 e 1.2 com o <i>BDNA</i>	153

Figura 5.25–Representação dos três modos mais estáveis explicitando as ligações de hidrogênio do <i>docking</i> molecular dos complexos 1 , 2 , 1.1 , 2.1 e 1.2 com o <i>BDNA</i> . . .	157
Figura 5.26–Sítios ativos ou domínios conhecidos da <i>HSA</i>	159
Figura 5.27–Representação dos três modos mais estáveis do <i>docking</i> molecular dos complexos 1 , 2 , 1.1 , 2.1 e 1.2 com a <i>HSA</i>	162
Figura 5.28–Representação dos três modos mais estáveis do <i>docking</i> molecular explicitando os resíduos do sítio ativo para os complexos 1 e 2 com a <i>HSA</i>	164
Figura 5.29–Representação dos três modos mais estáveis do <i>docking</i> molecular explicitando os resíduos do sítio ativo para os complexos 1.1 e 2.1 com a <i>HSA</i>	165
Figura 5.30–Representação dos três modos mais estáveis do <i>docking</i> molecular explicitando os resíduos do sítio ativo para o complexo 1.2 com a <i>HSA</i>	166
Figura 6.1 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados (em Å) para os complexos 1 , 2s e 2o com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP.	178
Figura 6.2 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados (em Å) para os complexos 1.1 , 1.2 , 2.1 e 2.2 com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP.	179
Figura 6.3 – Gráfico das distâncias de ligação, em Å, dos complexos 1.1 e 1.2 relativo ao complexo 1	180
Figura 6.4 – Gráfico das distâncias de ligação, em Å, dos complexos 2.1 e 2.2 relativo ao complexo 2o	181
Figura 6.5 – Gráficos da energia total de interação e suas contribuições, em kcal.mol ⁻¹ , para as interações Ru–Cl nos complexos 1 , 2o e 2s com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Sendo, $\Delta E^{orb} = \Delta E^{pol} + \Delta E^{dc} + \Delta E^{cor}$ e $\Delta E^{Pauli} = \Delta E^{rep} + \Delta E^{ex}$	187

Figura 6.6 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol ⁻¹ , para as interações [dms _o] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms_o</i>) ₃ Cl ₂] ⁰ nos complexos 2o e 2s	190
Figura 6.7 – Mecanismo de hidrólise proposto por Brindell et al. [2] para os isômeros <i>trans/cis</i> -[Ru(II)(dms _o) ₄ Cl ₂] ⁰	192
Figura 6.8 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol ⁻¹ , para as interações nos complexos 1 , 1.1 e 1.2	196
Figura 6.9 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol ⁻¹ , para as interações nos complexos 2o , 2.1 e 2.2	200
Figura 6.10–Representação dos três modos mais estáveis do <i>docking</i> molecular dos complexos 1 , 2o e 2s com o <i>BDNA</i>	204
Figura 6.11–Representação do modo 1 modos explicitando as ligações de hidrogênio do <i>docking</i> molecular do complexo 2o o <i>BDNA</i>	206
Figura 6.12–Representações do modo 1 do <i>docking</i> molecular dos complexos 1.1 , 1.2 , 2.1 e 2.2 com o <i>BDNA</i>	210
Figura 6.13–(a) Evolução das distâncias N–Ru começando dos cinco modos do DM para o complexo 1.2 . Eventos espontâneos de ligação para os modos 2, 3 e 5 são mostrados pelas setas coloridas. (b) Evolução e eventos espontâneos para o complexo 2o . (c) Histograma da distância de ligação N–Ru para todas as simulações dos gráficos anteriores para os complexos 1.2 e 2o	212
Figura 6.14–Sequência de eventos da ligação espontânea do complexo 1.2 para o modo 2.	215
Figura 6.15–Evolução da distância de ligação entre N7-G e vários átomos no complexo 1.2 com 20 ns de simulação. <i>snapshots</i> mostrando a variação dos átomos do complexo 1.2 ao interagir com o átomo N7-G (marcado em azul) do <i>BDNA</i>	218

Figura 7.1 – Fórmulas estruturais dos aminoácidos estudados no complexo $mer(Cl)trans(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl_3(AA^-)]^-$ com $AA^- =$ glicina, L-alanina, L-valina, L-prolina, D-prolina, L-serina, L-tionina, L-tirosina e Ácido Pi-colínico.	224
Figura 7.2 – Gráfico da estimativa da similaridade local do modelo 1 (4n0f.3.C).	226
Figura 7.3 – Gráfico do módulo QMEAN4 score normalizado do servidor SWISS-MODEL.	227
Figura 7.4 – Geometria otimizada e parâmetros geométricos selecionados dos complexos 1-6 com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.	230
Figura 7.5 – Geometria otimizada e parâmetros geométricos selecionados dos complexos 7-9 com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.	231
Figura 7.6 – Gráfico dos comprimentos de ligação Ru–N2 e Ru–O2 para os complexos 1-9	233
Figura 7.7 – Gráfico dos comprimentos de ligação Ru–Cln (n=1, 2 e 3) para os complexos 1-9	234
Figura 7.8 – Diferença da energia total de interação, em kcal.mol ⁻¹ , relativa ao complexo 1	238
Figura 7.9 – Orbitais de fronteira HOMO-LUMO (corte de 0,05) e o <i>gap</i> entre eles para os complexos 1-9 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.	245
Figura 7.10–Representações do modo 1 do <i>docking</i> molecular dos complexos 1-9 com a <i>HSA</i>	250
Figura 7.13–Representações dos modos 1 e 2 do <i>docking</i> molecular para os complexos 1-9 com a <i>HSA</i>	254
Figura 7.14–Representações dos modos 3 e 4 do <i>docking</i> molecular para os complexos 1-9 com a <i>HSA</i>	256

Figura 7.15–Representação do modo 5 do docking molecular para
o complexo **1** com a *HSA*. 257

Figura 8.1 – Esquema de numeração dos ligantes na esfera de coor-
denação primária dos complexos *cis/trans*-[Ru(II)(dmso)(im)Cl₄]⁰. 293

Lista de tabelas

Tabela 4.1 – Classificação dos pontos críticos (CP), de acordo com seu <i>rank</i> (ω) e <i>signature</i> (σ).	70
Tabela 5.1 – Parâmetros geométricos, teóricos (BP86-D3/def2-TZVPP) e experimentais, para o complexo 1 . No qual, as frequências vibracionais são dadas em cm^{-1} , os comprimentos de ligação em Å e os ângulos de ligação em $^\circ$	117
Tabela 5.2 – Parâmetros geométricos selecionados para os complexos 1 , 1.1 , 1.2 , 2 e 2.1 com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. No qual, as frequências vibracionais são dadas em cm^{-1} , os comprimentos de ligação em Å e os ângulos de ligação em $^\circ$	120
Tabela 5.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol^{-1} para os complexos 1 e 2 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	128
Tabela 5.4 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol^{-1} para o complexo 1.2 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	136
Tabela 5.5 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol^{-1} para os complexos 1.1 e 2.1 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	143
Tabela 5.6 – Parâmetros de <i>docking</i> molecular para o sistema <i>BDNA</i> (receptor)/ <i>NAMI-A</i> (ligante), com o tratamento do ligante rígido (a) e flexível (b).	148
Tabela 5.7 – Parâmetros de <i>docking</i> molecular para os sistemas <i>BDNA</i> (receptor)/complexos(ligante), com o tratamento do ligante (1 , 2 , 1.1 , 2.1 e 1.2) flexível.	151

Tabela 5.8 – Ligações de hidrogênio, em Å, para os três modos mais estáveis do sistema <i>BDNA</i> (receptor)/complexo (ligante), obtidas da análise pós- <i>docking</i>	156
Tabela 5.9 – Parâmetros de <i>docking</i> molecular para os sistemas <i>HSA</i> (receptor)/complexos (ligante), com o tratamento do ligante (1 , 2 , 1.1 , 2.1 e 1.2) flexível. . . .	160
Tabela 6.1 – Parâmetros geométricos selecionados, calculados (BP86-D3/def2-TZVPP) e experimentais (em itálico), comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e frequências vibracionais (cm ⁻¹), para os complexos 1 a 2.2	177
Tabela 6.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ para os complexos 1 , 2o e 2s com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	184
Tabela 6.3 – Índice de ligação de Wiberg (<i>W_{bi}</i>) e cargas NPA (em u.a.) para os complexos 1,2o e 2s , obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP. . . .	185
188table.caption.66	
Tabela 6.5 – Análise de decomposição de energia GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ para os complexos 1.1 , 1.2 2.1 e 2.2 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	194
Tabela 6.6 – Índice de ligação de Wiberg (<i>W_{bi}</i>) e cargas NPA (em u.a.) para os complexos 1.1,1.2 , 2.1 e 2.2 , obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	197
Tabela 6.7 – Parâmetros topológicos (em u.a.) dos BCPs selecionados para os complexos 1.1 , 1.2 2.1 e 2.2 obtidos com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	199
Tabela 6.8 – Análise de <i>docking</i> e parâmetros selecionados para os três modos mais estáveis dos complexos 1 , 2o e 2s .	202
Tabela 6.9 – Análise de <i>docking</i> e parâmetros selecionados para os três modos mais estáveis dos complexos 1.1 , 1.2 , 2.1 e 2.2	208

Tabela 6.10–Ligações de hidrogênio (Å) para os três modos mais estáveis dos complexos 1.1 , 1.2 , 2.1 e 2.2 obtidas da análise de docking molecular.	209
Tabela 6.11–Resultados da análise MMPBSA para as energias livres de ligação dos cinco modos mais estáveis do complexo 1.2 e do modo mais estável para o complexo 2o . A média do erro padrão é dada entre parênteses.	214
Tabela 7.1 – Parâmetros geométricos selecionados, teóricos (BP86-D3/def2-TZVPP) e experimentais [3] (em itálico), comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e frequências vibracionais (cm ⁻¹), para os complexos 1-9	232
Tabela 7.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ das interações [NO] ⁺ ↔ [Ru(AA ⁻)Cl ₃] ²⁻ e [AA] ⁻ ↔ [(NO)RuCl ₃] ⁰ para os complexos 1-9 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	236
Tabela 7.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ das interações [Cln=1-3] ⁻ ↔ [(NO)Ru(AA ⁻)Cl ₂] ⁰ para os complexos 1-9 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	241
Tabela 7.4 – Índice de ligação de Wiberg (W _{bi}), para os complexos 1-9 , obtidos da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	243
Tabela 7.5 – Cargas do módulo NPA (em u.a.), para os complexos 1-9 , obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	244
Tabela 7.6 – Análise de docking e parâmetros selecionados para os modos mais estáveis dos complexos 1-9	248
Tabela 7.7 – Ligações de hidrogênio (Å), para os três modos mais estáveis dos sistema <i>HSA</i> /complexos, obtidas da análise pós-docking.	259

Tabela 8.1 – Parâmetros geométricos selecionados para os complexos 1L1 , 1L3 , 1L4 , 2L1 , 2L3 e 2L4 com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. No qual, os comprimentos de ligação estão em Å e os ângulos de ligação em $^{\circ}$	292
Tabela 8.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ para os complexos 1L1 , 1L3 e 1L4 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	293
Tabela 8.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol ⁻¹ para os complexos 2L1 , 2L3 e 2L4 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.	294

Lista de siglas, símbolos e abreviaturas

AA	Aminoácido
ADORE	Adjuvant oxaliplatin in rectal cancer
ADNA	Deoxyribonucleic acid in A conformation
AMBER	Assisted model building with energy refinement
AOs	Atômicos orbitais
BCP	Bond critical points
BDE	Bond dissociation energy
BDNA	Deoxyribonucleic acid in B conformation
BFGS	Broyden–Fletcher–Goldfarb–Shanno algorithm
BLAST	Basic local alignment search tool
BOG	B-Octylglucoside
BP	Bond path
BSSE	Basis set superposition error
CCSD(T)	Coupled Cluster single-double and perturbative triple
CHARMM	Chemistry at harvard macromolecular mechanics
CNMR	Carbon-13 (¹³ C)nuclear magnetic resonance
CP	Critical point
COX-2	Cyclooxygenase-2

CUB	Cubebin
MC	Monte Carlo
DNA	Deoxyribonucleic acid
DFT	Density functional theory
DM	Docking molecular
ECP	Effective core potential
EDA	Energy decomposition analysis
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
eNOs	Endothelial nitric oxide synthase
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização electrospray
FF	Force field
GAFF	General AMBER force field
GGA	General gradient approximation
GKS	Generalized Khon-Sham
GUI	Graphical user interface
HF	Hartree-Fock
HSA	Human serum albumim
HSAB	Hard and soft acids and bases
INCA	Instituto Nacional de Câncer
iNOs	Inducible nitric oxide synthase
KS	Khon-Sham
LDA	Local density approximation

LMO	Localized molecular orbitals
LJ	Lennard-Jones
MC	Monte Carlo
MD	Molecular dynamics
MFT	Mean field theory
MM	Molecular mechanics
MM3	Molecular mechanics force field for hydrocarbons
MMPBSA	Molecular mechanics combined with the Poisson–Boltzmann surface area
MMFF94s	Merck molecular force field
MO	Molecular orbital
MP2	Moller-Plesset perturbation
MSP	Maximal segment pair score
NAMI-A	New-antitumor metastasis inhibitor-A: first of a series
NAO	Natural atomic orbital
NBO	Natural bond orbital
NEC	Natural electron configuration
NHO	Natural hybrid orbitals
NLMO	Natural localized molecular orbital
NLS	Non-Lewis structure
NO	Nitric oxide, nitrosyl
NPA	Natural population analysis

NPHs	Non-polar hydrogens
NPT	Ensemble constant number, pressure and temperature
NVT	Ensemble constant number, volume and temperature
NSCLC	Non-small cell lung cancer
OIS	Orbital interaction step
PDF	Probability density function
PME	Particle mesh ewald
PNAO	Pre-ortogonalized natural atomic orbital
QTAIM	Quantum theory of atoms in molecules
RESP	Restrained electrostatic potential
RMSD	Root mean square deviation
RNA	Ribonucleic acid
RNOs	Nitric oxide derivatives
SCF	Self-consistent field
SEM	Standar error of mean
SPE	Potential energy surface
TSRI	The scripps research institute
UV/VIS	espectroscopia no ultravioleta visível
ZDNA	Deoxyribonucleioc acid in Z conformation
ZORA	The zero-order regular approximation

Sumário

I	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	33
1	INTRODUÇÃO	35
2	OBJETIVOS GERAIS	41
3	APRESENTAÇÃO DA TESE	43
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	45
1	Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	45
2	Análise de Decomposição da Energia (EDA)	48
2.1	Princípios Básicos do EDA	49
2.2	Formalismo Matemático do EDA	49
2.3	Breve Histórico do EDA	54
2.4	GKS-EDA	56
2.4.1	Formalismo Matemático do GKS-EDA	57
3	Orbital Natural de Ligação (NBO)	61
3.1	Formalismo Matemático do NBO	64
3.2	Índice de Ligação de Wiberg (W_{bi})	66
3.3	Análise da População Natural (NPA)	67
4	Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM)	68
5	Mecânica Molecular (MM)	74
5.1	Formalismo Matemático dos Campos de Força	76
5.1.1	Ligações Químicas	76
5.1.2	Ângulos de Ligação	77
5.1.3	Termos Não-Ligados ou Interações de van der Waals	77
5.1.4	Interações Eletrostáticas	78
5.1.5	Termos de Torsão	78
5.1.6	Termos Mistos	78

5.2	CHARMM- <i>Chemistry at Harvard Macromolecular Me-</i> <i>chanics</i>	79
5.3	AMBER- <i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>	81
5.4	MMFF94- <i>Merck Molecular Force Field</i>	83
6	<i>Docking Molecular (DM)</i>	83
6.1	<i>Pose</i>	84
6.2	<i>Score</i>	85
6.3	<i>Rank</i>	87
6.4	BLAST- <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>	87
6.5	SWISS-MODEL	90
6.6	PDB_HYDRO	92
6.7	PDB2PQR	94
6.7.1	Módulo PROPKA	95
6.8	DockThor	96
6.9	AutoDock Vina	97
6.9.1	Formalismo Matemático do AutoDock Vina	99

II RESULTADOS E DISCUSSÃO 103

5	MECANISMO DE HIDRÓLISE DO NAMI-A E SUAS INTERAÇÕES COM ALVOS BIOLÓGICOS	105
1	Introdução	105
2	Objetivos	108
3	Metodologia	109
3.1	Cálculos DFT	109
3.2	<i>Docking</i> Molecular	110
3.2.1	Validação do <i>Docking</i> Molecular	110
3.2.2	<i>Docking</i> Molecular com <i>DNA</i>	112
3.2.3	<i>Docking</i> Molecular com <i>HSA</i>	113
4	Resultados e Discussão	115
4.1	Geometria e Frequência Vibracional	115
4.2	GKS-EDA	127
4.3	<i>Docking</i> Molecular	146

4.3.1	<i>Docking</i> Molecular DNA	146
4.3.2	<i>Docking</i> Molecular com HSA	158
5	Conclusões	166
6	INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DOS ISÔMEROS CIS/TRANS- [RU(II)(DMSO)₄CL₂]⁰ E AS ESPÉCIES HIDROLI- SADAS ENVOLVIDAS	169
1	Introdução	169
2	Objetivos	171
3	Metodologia	172
3.1	Cálculos DFT	172
3.2	<i>Docking</i> Molecular	173
3.3	Dinâmica Molecular	173
3.3.1	Cálculos MMPBSA	174
4	Resultados e Discussão	176
4.1	Geometria e Frequência Vibracional	176
4.2	GKS-EDA, NBO e QTAIM	182
4.2.1	Isômeros Geométricos e de Ligação	182
4.2.2	Complexos Hidrolisados	192
4.3	<i>Docking</i> Molecular	201
4.3.1	Isômeros Geométricos e de Ligação	201
4.3.2	Complexos Hidrolisados	206
4.4	Dinâmica Molecular	210
5	Conclusões	219
7	INVESTIGAÇÃO TEÓRICA DA MODULAÇÃO DA INTERAÇÃO RU–NO POR DIFERENTES AMI- NOÁCIDOS E SUA INTERAÇÃO COM A HSA	221
1	Introdução	221
2	Objetivos	224
3	Métodos Computacionais	224
3.1	Cálculos DFT	224
3.2	<i>Docking</i> Molecular	225
4	Resultados e Discussão	228

4.1	Geometria e Frequência Vibracional	228
4.2	GKS-EDA	235
4.3	NBO	242
4.4	Docking Molecular	247
5	Conclusões	260

	REFERÊNCIAS	263
--	------------------------------	------------

III APÊNDICE E ANEXOS 289

8	APÊNDICE	291
1	Tabelas	291
2	Figuras	295
9	ANEXOS	297
1	Publicações com a Temática da Tese e Publicações Anteriores	297
2	Outras Publicações	298
3	Artigos para Submissão	298

Parte I

Fundamentação Teórica

1 Introdução

Desde a descoberta da atividade da cisplatina, $cis\text{-}[\text{Pt}(\text{II})(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]^0$, por Rosemberg em 1965, [4] em inibir a divisão celular bacteriana, não somente complexos de platina mas de outros metais de transição como ferro, rutênio e ósmio, [5–10] têm sido alvos de estudo em diferentes grupos de pesquisa, principalmente devido ao seu extraordinário potencial antitumoral, efetivo contra inúmeros tipos de câncer. [7, 8, 11–18] A cisplatina, como fármaco, apresenta algumas limitações clínicas, [7, 11] dentro dos quais podemos citar: a sua aplicação intravenosa, a eficiência limitada a um pequeno grupo de tumores, a resistência celular que ocorre naturalmente durante o tratamento de quimioterapia e, principalmente, aos severos e inúmeros efeitos colaterais que o paciente apresenta com o decorrer do tratamento, como enjoos, vômitos, perda de cabelo, entre outros. A oxaliplatina [19, 20] e carboplatina [21, 22] foram desenvolvidos para minimizar as limitações da cisplatina, [23] principalmente no quesito dos efeitos colaterais. Atualmente, esses fármacos, em conjunto com o fluoracil e leucovorina, [24, 25] são fármacos coadjuvantes contra câncer de reto no estágio avançado (*ADORE*). [25]

Os complexos de platina (II), como por exemplo, a cisplatina, com geometria quadrado planar, são inertes *in vivo* mas são ativados a espécies mais reativas pela substituição dos seus ligantes aniônicos por ligantes aquo, contudo o número dessas substituições é limitado ao número de coordenação desses complexos. [21] Entretanto, frente a esta limitação estrutural estão os complexos octaédricos de metais de transição, como ferro, ósmio e rutênio, por exemplo, estes por possuírem maiores números de coordenação apresentam maiores sítios de ligação disponíveis e podem originar uma variedade de espécies hidrolisadas. [14, 26–28] Outro fator importante, é que a coordenação octaédrica estabiliza o centro metálico nos seus possíveis estados de oxidação e

portanto, controla o potencial de redução dentro das células neoplásicas. [7, 12] As células neoplásicas são caracterizadas por serem hipóxicas, possuírem um pH ácido (3,0-5,0) e serem ricas em glutathione, um forte agente redutor biológico. Esses fatores, em conjunto, promovem um ambiente redutivo bastante efetivo quando comparado a células normais e portanto, trata-se de um ambiente bastante favorável a ativação de complexos octaédricos por redução. [29, 30]

O maior problema encontrando em compostos quimioterápicos como a cisplatina e o 5-fluoracil, [25, 31] é que estes interferem não somente na divisão das células tumorais, mas também nas células saudáveis, o que tornam estes fármacos não-seletivos e altamente tóxicos ao paciente, já que possuem como alvo principal o *DNA*. Dessa forma, faz-se necessário desenvolver novos metalofármacos capazes de distinguir células tumorais de células saudáveis, assim como outros medicamentos específicos para evitar a metástase de tumores primários, ou seja, fármacos antimetásticos, já que a metástase é uma das principais causas de óbito de pacientes com câncer de acordo com o INCA (Instituto Nacional de Câncer). Pode-se citar algumas características que esses complexos devem apresentar para serem candidatos a metalofármacos em potencial, como por exemplo, estabilidade sólida e em solução, boa solubilidade em água, serem ativados a pH específico e principalmente a ativação deve ocorrer especificamente em células tumorais, para evitar danos a tecidos saudáveis e toxicidade ao indivíduo. [7, 32] Dentre os inúmeros complexos que estão sendo investigados devido à presença de atividade antitumoral e antimetástica, destacam-se os complexos de rutênio (II) e (III). [7, 8, 14, 16, 27, 33, 34]

Um dos principais motivos pelo qual complexos de rutênio têm sido investigados, é devido à capacidade do rutênio em mimetizar o ferro em diferentes moléculas biológicas, como por exemplo, em albumina e transferrina. [35–38] Devido à essa capacidade, esses complexos se ligam reversivamente a moléculas de transferrina, facilitando a sua migração para o tecido neoplásico. No tecido, o sistema complexo-transferrina

adere aos receptores de transferrina, liberando o complexo, motivo pelo qual estes se acumulam preferencialmente em tecidos neoplásicos do que em tecidos saudáveis, tornando esses complexos agentes antimetásticos mais eficazes que análogos de platina, por exemplo. [26, 28, 39, 40] Outra característica importante no uso de complexos de rutênio é a sua atividade dependente do pH. Esses complexos são ativados a espécies mais reativas, de rutênio (III) a rutênio (II) apenas nos tecidos neoplásicos, já que estes são pobres em oxigênio e possuem um ambiente ácido diferente dos tecidos saudáveis.

Diferente dos complexos de platina, nos quais a atividade antitumoral está relacionada ao dano causado ao *DNA*, devido à formação inúmeras espécies de *cross-links*, é conhecido que para os complexos de rutênio em geral, salvo algumas exceções, a atividade antitumoral está relacionada à habilidade destes complexos em se ligar ao *DNA*. [15,18,41] Entretanto, a atividade antitumoral desses complexos está limitada à ativação dos mesmos, já que a maioria desses complexos é inerte *in vivo*. A ativação de complexos de rutênio (III) para rutênio (II) pode ocorrer por vários meios entretanto, destacam-se a ativação fotodinâmica ou redução, sendo esta biológica ou não. [42–45] A ativação torna as ligações no complexo mais lábeis, possibilitando a troca de ligantes por outras moléculas presentes no meio intracelular. Portanto, a citotoxicidade das células neoplásicas é dependente não somente do potencial de redução Ru(III)/Ru(II), mas da própria natureza dos ligantes no ambiente de coordenação. [30]

A associação da citotoxicidade de metalofármacos de rutênio com a afinidade de ligar-se a diferentes substratos, já é bem elucidada, onde esses complexos são capazes de interagir com *DNA*, *RNA* e outros substratos através de três modos: interação eletrostática, interação covalente e intercalação. [13,42,46] Complexos de rutênio contendo dimetilsulfóxido (dmsO) como ligantes, por exemplo o *cis/trans*-[Ru(II)(dmsO)₄Cl₂]⁰, tendem a interagir com o *DNA* através do átomo N7 da guanina, formando *cross-links* e induzindo a mudança conformacional do *DNA*. [47, 48]

Sabe-se ainda que os isômero *trans*, desse tipo de complexo, na maioria das vezes, mostra-se mais eficiente em formar *cross-links* e que na maioria das vezes o ligante dimetilsulfóxido é substituído por ligantes aquo através da hidrólise ou por outras moléculas presentes no meio, como por exemplo o óxido nítrico (NO), formando espécies ainda mais reativas. [47, 48] Esses complexos com ligantes dimetilsulfóxido foram desenvolvidos por Mestroni e colaboradores na década de 90, [43] para apresentarem condições fisiológicas favoráveis como solubilidade e estabilidade em água, condições que complexos com ligantes amônia (NH₃), como o *fac*-[Ru(III)Cl₃(NH₃)₃]⁰, sintetizado e investigado na época por Clarke, não apresentava.

Dentro da classe de complexos contendo ligantes dmsso, destaca-se o NAMI-A, [49] [HIm][*trans*-Ru(III)(dmsso)(im)Cl₄] com im=imidazol, devido suas propriedades antitumorais e também antimetásticas. [7, 14, 26, 50] Apesar de o NAMI-A ligar-se irreversivelmente ao *DNA*, este não altera efetivamente a conformação do *DNA*, como fazem complexos análogos e complexos de platina, mas sim afeta a sua mobilidade eletroforética e inibe o seu reconhecimento, induzindo a sua clivagem. NAMI-A pode ser administrado via oral e abrange uma gama de melanomas e carcinomas. [48, 49, 51–53] Devido à sua atividade antimetástica e propriedades específicas como estabilidade sólida e em efusão atribuída ao NAMI-A, este se torna um candidato modelo ao desenvolvimento de novos complexos como fármacos em potencial. A variação dos ligantes axiais, dimetilsulfóxido e imidazol, por outros ligantes como, por exemplo, óxido nítrico, ligantes heterocíclicos e polipiridínicos, expandem essa classe de complexos a novas possibilidades, como têm sido mostrado por Kepler e Hartinger, [54–58] no desenvolvimento e estudo clínico das drogas KP1019 e NKP1339, entre outras, no qual este último encontra-se em testes clínicos fase II.

Alessio et al, [14] mostraram que não somente o ligante dmsso é o responsável pela atividade bioquímica *in vivo* de derivados de NAMI-A, mas sim, os ligantes cloro equatoriais e os ligantes derivados do imidazol

são cruciais na interação desses complexos com o *DNA*. Isso se deve ao fato, que em ambiente intracelular a hidrólise pode ocorrer originando inúmeras mono/di aquo espécies mais reativas.

Além dos complexos contendo ligantes dmso, destacam-se os complexos com ligantes nitrosil, NO, devido à capacidade desses complexos em liberar, retirar e transportar óxido nítrico em meio fisiológico. [59–63] Desde a descoberta por Palmer [64] que NO e derivados RNOs são EDRFs (*endothelium-derived relaxing factors*), [65, 66] e portanto, participam em inúmeros processos fisiológicos e patológicos, como no controle da pressão arterial através da vasodilatação/vasoconstrição, processos anti-inflamatórios e inclusive na indução a *apoptosis* celular, entre outros. [67, 68] Entretanto, a utilização desses complexos como agentes antineoplásicos, devido a capacidade de liberar NO, ainda é bastante limitada, já que ação do óxido nítrico no meio fisiológico é dúbia, podendo promover ou inibir o crescimento tumoral e metástase. [69, 70]

De acordo com Fukumura et al, [69] o efeito benéfico ou maléfico que o óxido nítrico causa em tumores depende, entre inúmeros fatores, da atividade e localização das isoformas de NOS; que correspondem a nNOS, iNOS e eNOS; da concentração e exposição ao NO, assim como a citotoxicidade ao NO. A liberação de óxido nítrico de complexos de rutênio depende da ativação desses complexos que pode ocorrer via redução ou fotoquímica, [61, 63] no qual a redução popula o orbital $*\pi$ do NO, tornando a interação- π com o metal, de menor intensidade, e conseqüentemente as ligações- σ tornam-se mais lábeis, levando a liberação e substituição do NO e outros ligantes do complexo metálico, por moléculas de água.

Complexos do tipo *trans/cis*-[Ru(III/II)(NO)(L)(N)₂₋₄]^q com L=ligante *cis* ou *trans* ao NO e N=ligantes amínicos, polipiridínicos ou tetraazomacrociclo têm sido investigados, tanto experimentalmente quanto computacionalmente, devido a sua seletividade a células tumorais como potenciais candidatos a agentes antineoplásicos. [60, 71–77]

O mecanismo da interação de nitrosilo complexos de rutênio

com *DNA* não é claro, entretanto, acredita-se que devido a dubiedade do NO, em determinadas tipos de células tumorais ricas em eNOs, possa ocorrer a substituição de ligantes dmsO por NO, por exemplo, em complexos do tipo NAMI-A, evitando assim o crescimento tumoral e metástase. [59, 69, 70]

Para ambas as classes de complexos de rutênio, contendo ligantes dmsO e/ou nitrosilo, as interações com alvos biológicos como *DNA*, *RNA* e proteínas, não são claras. Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de novas abordagens para elucidar o mecanismo de ação destes complexos em alvos de importância biológica, a fim de se obter o conhecimento necessário para modular a atividade biológica com o desenvolvimento de novos fármacos em potencial.

2 Objetivos Gerais

Este trabalho tem como principal objetivo investigar, com Mecânica Quântica através da Teoria do Funcional da Densidade (DFT), a estrutura eletrônica de complexos de rutênio (II/II) pertencentes as classes de complexos contendo os ligantes NO e dmso (complexo NAMI-A e derivados), assim como seus derivados de hidrólise. A fim de elucidar a influência da substituição dos ligantes, principalmente por aquo, na esfera de coordenação primária desses complexos, análises de decomposição da energia serão realizadas.

A influência dos isomerismos geométricos (*cis/trans*) e de ligação (ligante dimetilsulfóxido), também será contemplada, através das análises energéticas, topológicas e orbitais naturais de ligação, quando o isomerismo for crucial para os resultados.

Na luz da Mecânica Molecular, através dos métodos de Docking Molecular e/ou Dinâmica Molecular, a interação dos complexos com alvos biológicos (*DNA* e/ou *HSA*) também será investigada, para elucidar a influência do isomerismo e/ou hidrólise na magnitude da interação alvo biológico/complexo.

3 Apresentação da Tese

Com o intuito de atingir todos os objetivos mencionados anteriormente, a presente Tese está organizada em duas partes principais, no qual a Parte I (Fundamentação Teórica) contempla a Introdução, Objetivos Gerais, Apresentação da Tese, Revisão Bibliográfica, enquanto a Parte II (Resultados e Discussão) é subdividida em três capítulos principais.

Na Parte I, o leitor terá uma breve introdução sobre o tema abordado, complexos metálicos de rutênio (II/III) como potenciais fármacos, situando o mesmo para os capítulos seguintes. No capítulo de Revisão Bibliográfica será fornecido ao leitor uma descrição dos métodos utilizados nesta Tese como a Análise de Decomposição da Energia, Orbital Natural de Ligação, e demais métodos.

A Parte II é subdividida em três capítulos que abordam a temática deste trabalho. Cada capítulo é constituído de uma introdução específica, objetivos específicos, metodologia, resultados e discussão, e por fim, conclusões. O Capítulo 6 aborda a investigação do complexo NAMI-A e espécies derivadas da sua hidrólise, assim como a interação desses complexos com alvos biológicos. O Capítulo 7 traz a temática do isomerismo geométrico e de ligação dos complexos *cis/trans*-[Ru(II)(dms_o)₂Cl₄]²⁻ e a interação desses complexos e seus derivados de hidrólise com o *DNA*. Por fim, o Capítulo 8 investiga como diferentes aminoácidos atuam na modulação da interação Ru-NO no complexo mer(Cl)*trans*(NO, O)-[Ru(II)(NO)Cl₃(AA)] com AA⁻=aminoácido e ácido picolínico, e como a interação com *HSA* é afetada.

Parte dos resultados apresentados no Capítulo 7 referente a metodologia aplicada foi publicada no periódico *Bioorganic medicinal chemistry letters*, a outra parte referente a influência do isomerismo *cis/trans* na interação com o *DNA*, será submetida para publicação no

periódico *Inorganic Chemistry*. Os resultados reportados no Capítulo 8 serão submetidos para publicação no periódico *RSC Advances*. Outras publicações com a temática da presente Tese encontram-se no Anexo.

4 Revisão Bibliográfica

Neste capítulo serão abordados os conceitos e definições sobre os métodos utilizados nesta Tese de doutorado.

1 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Todas as análises neste presente trabalho foram realizadas na luz da Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Diferente dos métodos que analisam a função de onda, como por exemplo, o Hartree–Fock (HF) no qual todas as propriedades do sistema são descritas por funções de onda derivadas da equação de auto-valor de Schrödinger. Na DFT, todas as observáveis físicas, de um determinado sistema eletrônico, são calculadas pela própria densidade eletrônica do referido sistema. Adicionalmente, as propriedades do estado fundamental do sistema eletrônico podem ser descritas por um funcional da densidade eletrônica. [78]

A partir do Teorema de Hohenberg–Kohn, [79] a energia total de um sistema no estado fundamental $E_{tot}[\rho(\mathbf{r})]$, pode ser expressa pelos componentes dispostos na Equação 4.1, no qual cada um deles é função da densidade eletrônica $\rho(\mathbf{r})$.

$$E_{tot}[\rho(\mathbf{r})] = T_e[\rho(\mathbf{r})] + U_{ee}[\rho(\mathbf{r})] + V_{ext}[\rho(\mathbf{r})] \quad (4.1)$$

Sendo, que a densidade eletrônica pode ser calculada pela Equação 4.2:

$$\rho(\mathbf{r}) = N \int \dots \int |\psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 ds_1 dx_1 + dx_2, \dots, dx_N \quad (4.2)$$

Sendo, $T_e[\rho(\mathbf{r})]$ a energia cinética dos elétrons, $U_{ee}[\rho(\mathbf{r})]$ é a energia intereletrônica, e $V_{ext}[\rho(\mathbf{r})]$ é o potencial externo.

A Equação 4.1 pode ser reescrita agrupando os funcionais secundários em relação, originando o termo F_{HK} , conhecido como o

funcional universal de Hohenberg–Kohn.

$$E_{tot}[\rho(\mathbf{r})] = F_{HK}[\rho] + V_{ext}[\rho(\mathbf{r})] = \int \rho(\mathbf{r})V_{ext}(\mathbf{r})d\mathbf{r} + F_{HK}[\rho] \quad (4.3)$$

O método Kohn–Sham [80] utiliza a função de onda em conjunto com a aproximação da densidade para reescrever a Equação 4.1. Nesta, a energia cinética dos elétrons é dependente da função de onda e $E_{tot}[\rho(\mathbf{r})]$ pode ser decomposta nos seguintes termos:

$$E_{tot}[\rho] = T_o[\rho] + \int [V_{ext}(r) + U_{el}(r)]\rho(r)dr + E_{xc}[\rho] \quad (4.4)$$

Sendo, $T_o[\rho]$ a energia cinética dos elétrons não-interagentes, que é corrigida pelas interação Coulômbica clássica (Equação 4.5), e V_{ext} o potencial efetivo do núcleo (Equação 4.6). Todas as contribuições energéticas que não são expressas pelos outros termos são incluídas no termo de troca-correlação $E_{xc}[\rho]$, no qual inclui o termo eletrônico de troca, o termo de correlação, e o termo de energia cinética para corrigir T_o . E_{xc} também corrige a auto-interação introduzida pelo potencial Coulômbico. [78]

$$U_{el} = \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr' \quad (4.5)$$

$$V_{ext} = \sum_a \frac{-Z_a}{|R_a - r|} \quad (4.6)$$

Através do Princípio Variacional e o Método de Lagrange, a energia do sistema expressa pela Equação 4.4 pode ser minimizada em função da densidade eletrônica, originando um conjunto de equações a partir da Equação 4.7. [78]

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla_i^2 + V_{eff}(r)\right]\varphi_i^{KS}(r) = \epsilon_i\varphi_i^{KS}(r) \quad (4.7)$$

Sendo, Equação 4.7, a equação de Schrödinger para um sistema de partículas não-interagentes, somente dependentes da densidade eletrônica, e movendo-se em um potencial efetivo V_{eff} .

A Equação 4.7 pode ser reescrita como uma equação de Schrödinger para um orbital Kohn-Sham de uma única partícula φ_i^{KS} .

$$H^{KS} |\varphi_i^{KS}\rangle = \epsilon_i |\varphi_i^{KS}\rangle \quad (4.8)$$

Sendo, φ_i^{KS} os orbitais Kohn-Sham e estes não correspondem aos do sistema real, contudo, são bem próximos aos orbitais Hartree-Fock.

Entretanto, a Equação 4.4 deixa a energia de troca-correlação $E_{xc}[\rho]$ como uma parte desconhecida do funcional $F[\rho]$. Aproximações locais e não-locais são utilizadas para determinar a energia de troca-correlação. A primeira aproximação implementada é a Aproximação da Densidade Local (LDA), no qual E_{xc} é obtida diretamente da densidade eletrônica local e esta é definida pela Equação 4.9. [78]

$$E_{xc}^{LDA} = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}(\rho(r)) d^3r \quad (4.9)$$

Funcionais LDA usualmente originam resultados satisfatórios. Todavia, a energia de troca é subestimada, enquanto a correlação pode ser superestimada para mais 100%.

Outro método bastante utilizado é a Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA), um método não-local, que é dependente de ambas densidade eletrônica e gradiente da densidade eletrônica (Equação 4.10). Os funcionais GGA mais comuns são: Perdew, Burke, & Ernzerhof [81] (PBE), e Perdew & Wang [82] (PW91).

$$E_{xc}^{GGA} = \int \rho(r) \varepsilon_{xc}(\rho(r), \nabla\rho(r)) d^3r \quad (4.10)$$

Funcionais híbridos, Equação 4.11, são obtidos pela combinação do funcional GGA com a energia de troca exata HF (E_x^{HF}). Os funcionais híbridos mais comumente usados são B3LYP, [83, 84] BP86, [?, 85] e PBE0. [86]

$$E_{xc}^{híbrido} = \alpha(E_x^{HF} - E_x^{GGA}) + E_{xc}^{GGA} \quad (4.11)$$

Sendo, α o coeficiente determinado por métodos semi-empíricos.¹

2 Análise de Decomposição da Energia (EDA)

Desde a concepção heurística de ligação química por Lewis é necessário estender a definição clássica de ligação química ao formalismo da Mecânica Quântica. A concepção fundamental da ligação química é formulada levando em conta a contribuição da energia cinética e as forças eletrostáticas entre os núcleos e os elétrons de dois átomos, A e B, nos quais dois tipos de ligações químicas podem ser definidos. [87,88] Quando o *overlap* (sobreposição) dos orbitais de valência é negligenciado apenas as interações eletrostáticas são predominantes e a ligação formada entre esses dois átomos A e B, é dita do tipo iônica, que pode ser traduzida como a interação eletrostática clássica de cargas pontuais – Lei de Coulomb. Contudo, quando esse *overlap* é significativo; devido ao abaixamento da energia cinética dos elétrons nos orbitais mais difusos e da estabilização de interação orbital pelo fenômeno de ressonância de Heitler-London; na distância de equilíbrio entre os átomos A e B (r_{AB}) a ligação é dita covalente. [87,88] As análises de decomposição da energia (EDA) são métodos que relacionam o conceito clássico de ligação química com a Mecânica Quântica. O princípio destes métodos é baseado no trabalho teórico e pioneiro realizado independentemente por Morokuma & Kitaura, [1,89] e Zigler & Rauk, [90,91] no qual a formação da ligação química entre dois átomos A e B, com energias E_A e E_B , respectivamente, deve ocorrer quando um abaixamento da energia total dos fragmentos interagentes (E_{AB}) é observado, sendo esta energia é decomposta em termos que podem ser interpretados fisicamente. [87]

A soma da energia total de interação (ΔE^{tot}) de uma supermolécula (AB) composta pelos fragmentos A e B, com a energia de preparação (relaxação) dos fragmentos A e B, origina a BDE (Energia de Dissociação da Ligação) que é um observável físico, o que torna os

¹ Informações mais detalhadas sobre DFT, funcionais, funções de base, entre outros, podem ser encontradas na Dissertação de Mestrado da presente autora.

métodos de decomposição da energia, análises atrativas e poderosas para interpretar e explicar fenômenos químicos. [87]

2.1 Princípios Básicos do EDA

Considerando uma supermolécula (AB) constituída de dois fragmentos interagentes (A e B), a energia total de interação instantânea entre esses dois fragmentos, ΔE^{tot} , pode ser dividida em três componentes principais, Equação 4.12.

$$\Delta E^{tot} = \Delta E^{ele} + \Delta E^{Pauli} + \Delta E^{orb} \quad (4.12)$$

Sendo que os três termos possuem significados físicos distintos. O termo ΔE^{ele} é a interação eletrostática quasi-clássica entre as densidades de carga dos átomos não-perturbados. Esse termo indica que a densidade eletrônica é calculada teoricamente mas as interações entre os elétrons e o núcleo são calculadas assumindo a interação clássica de Coulomb. O termo ΔE^{Pauli} é oriundo da mudança energética associada densidade eletrônica dos átomos isolados e portanto, não-perturbados, para a função de onda da supermolécula. Esta, obedece o Princípio de Pauli através da antissimetrização explícita e renormalização da função de onda. Fisicamente, este termo compreende as interações desestabilizadoras ente os elétrons em ambos os átomos ou fragmentos com mesmo spin. O termo ΔE^{orb} quantifica a transferência de carga entre os fragmentos (através das interações doador-aceitador entre os orbitais ocupados de um fragmento e desocupados de outro e vice-versa), e também a polarização (interação HOMO-LUMO de um mesmo fragmento na presença do outro). [87, 88]

2.2 Formalismo Matemático do EDA

O EDA considera a formação de uma supermolécula AB com sua função de onda e energia correspondentes, Ψ_{AB} e E_{AB} , respectivamente, como o resultado da interação entre os fragmentos A (Ψ_A e E_A) e B (Ψ_B e E_B). [87, 88]

No primeiro passo do EDA os fragmentos A_i (Ψ_{A_i}) e B_i (Ψ_{B_i}) são distorcidos da sua geometria de equilíbrio para geometria e estado eletrônico Ψ_A (E_A) e Ψ_B (E_B) que possuem na supermolécula AB. A energia de preparação ΔE^{prep} , Equação 4.13, é definida como a energia total necessária para distorcer e excitar eletronicamente todos os fragmentos, neste caso A e B, para estado AB (Ψ_{AB}). [87, 88]

$$\Delta E^{prep} = E_A - E_{A_i} + E_B - E_{B_i} \quad (4.13)$$

O principal objetivo do EDA é a análise e decomposição da energia total de interação ΔE^{tot} , no qual pode ser definida como a diferença de energia entre a supermolécula AB (E_{AB}) e as energias dos seus fragmentos preparados A (E_A) e B (E_B), Equação 4.14. [87, 88]

$$\Delta E^{tot} = E_{AB} - E_A - E_B \quad (4.14)$$

Por conseguinte, a energia de dissociação ou BDE ($-D_e$, por definição com sinal oposto), pode ser obtida pela soma de ΔE^{tot} e ΔE^{prep} , Equação 4.15. [87, 88]

$$-D_e = \Delta E^{tot} + \Delta E^{prep} \quad (4.15)$$

No primeiro passo para a formação da ligação em AB, de acordo com o EDA, os fragmentos não-perturbados A (Ψ_{A_i} e E_{A_i}) e B (Ψ_{B_i} e E_{B_i}) com suas densidades de carga congeladas ρ_{A_i} e ρ_{B_i} são trazidos de uma separação infinita para as posições de equilíbrio na molécula AB, originando a superposição de densidade dos fragmentos ($\rho_{AB_i} = \rho_{A_i} + \rho_{B_i}$) e a uma pré-molécula com uma função de onda $\{\Psi_{A_i} \Psi_{B_i}\}$ (Produto de Hartree) e energia ΔE_{AB_i} . Portanto, essa interação entre as densidades de carga congeladas de A e B na geometria de equilíbrio de AB é definida como a interação quasi-clássica de Coulomb e que origina o termo ΔE^{ele} , Equação 4.16. [87, 88, 92]

$$\Delta E^{es} = \sum_{\alpha \in A, \beta \in B} \frac{Z_\alpha Z_\beta}{R_{\alpha, \beta}} + \int V_B(r) \rho^A(r) dr + \int V_A(r) \rho^B(r) dr + \int \frac{\rho^A(r_1) \rho^B(r_2)}{r_{12}} \quad (4.16)$$

Sendo, Z_α e Z_β as cargas nucleares dos átomos A e B, respectivamente. $V_A(\mathbf{r})$ e $V_B(\mathbf{r})$ são os potenciais atrativos do núcleo, definidos pela Equação 4.17.

$$V_X(r) = - \sum_{\alpha, \beta \in X} \frac{Z_{\alpha, \beta}}{r - R_{\alpha, \beta}} \quad (4.17)$$

Para X =átomo A ou B.

Quando os sistema A e B se aproximam um do outro e as densidades A e B começam o se sobrepor, o último termo da Equação 4.16, que é repulsivo, torna-se menor que os outros termos, já que nuvens carregadas interpenetráveis possuem uma menor repulsão que cargas pontuais. Contudo, para dois átomos se aproximando com densidades esféricas (Z_α e Z_β) à distâncias abaixo da distância de equilíbrio ($R_{\alpha, \beta}$) a repulsão nuclear (primeiro termo da equação) torna-se singular e domina todos os outros termos, implicando um ΔE^{es} repulsivo. [87, 88, 92]

No segundo passo a função de onda produto $\{\Psi_{A_i} \Psi_{B_i}\}$; que é inicialmente normalizada mas viola o princípio da antissimetrização de Pauli; é antissimetrizada (operador \mathbf{A}) e renormalizada (fator N) para originar o estado intermediário Ψ_o (E_o), Equação 4.18. [87, 88, 92]

$$\Psi_o = NA\{\Psi_{A_i}\Psi_{B_i}\}, E_o = \langle \Psi_o | \mathbf{H} | \Psi_o \rangle \quad (4.18)$$

Sendo, \mathbf{H} o operador Hamiltoniano. E_o a energia de interação entre os fragmentos no estado intermediário, a qual pode ser definida como:

$$\Delta E_o = E_o - E_A - E_B \quad (4.19)$$

A equação acima contém o termo que representa a atração eletrostática clássica entre as distribuições de cargas de A e B não-perturbadas ($\Delta E_{ABo} = \Delta E^{es}$), como também o termo repulsivo que se origina no Princípio de Antissimetrização de Pauli e corresponde ao conceito intuitivo de repulsão estérica. Por isso, que ambos passos, 1 e 2, levam o nome de *Etapa de Interação Estérica (SIS)*. [92]

A diferença de energia entre ΔE_{ABo} e ΔE_o é denominada repulsão de Pauli (ΔE^{Pauli}), Equação 4.20. [92]

$$\Delta E^{Pauli} = \Delta E_{ABo} - \Delta E_o \quad (4.20)$$

Pode-se ainda escrever a Equação 4.21 em termos de energia cinética (ΔT_o) e energia potencial (ΔV_o), conforme a Equação 4.21. [92]

$$\Delta E_o = \Delta V_o + \Delta T_o = \Delta E^{es} + \Delta E^{Pauli} + \Delta T_o \quad (4.21)$$

A repulsão de Pauli será positiva devido a contribuição positiva de ΔT_o , um efeito de energia cinética que depende de um pré-fator de *overlap*, S , como mostra a Equação 4.22. [92]

$$\Delta T_o = \sum_{i=1}^2 \langle \Psi_i | -\frac{1}{2} \nabla^2 | \Psi_i \rangle = T_A + T_B + \frac{S^2}{1 - S^2} (T_A + T_B) \quad (4.22)$$

O aumento da energia cinética é que determina o caráter repulsivo do termo ΔE^{Pauli} sendo significativo em duas situações: i) existe um *overlap* grande dos orbitais de valência difusos e ii) aumento da energia cinética dos orbitais de valência e caroço profundo, cuja ortogonalização aumenta a energia cinética. Portanto, a repulsão de Pauli compreende a interação repulsiva entre elétrons de mesmo spin e dá origem a repulsão estérica quando orbitais de valência ocupados de diferentes fragmentos se sobrepõem e a antissimetização resulta num plano nodal, aumentando a componente cinética da energia orbital. [92]

No terceiro passo, denominado *Passo de Interação Orbital (OIS)*, a função de onda Ψ_o é relaxada para um estado final Ψ_{AB} da molécula AB (E_{AB}). No qual, o abaixamento da energia é proveniente do *mixing* de orbitais ocupados e virtuais, e também pode ser interpretado como uma contribuição covalente para a ligação química denominada *interação orbital* (ΔE^{orb}), Equação 4.23. [87]

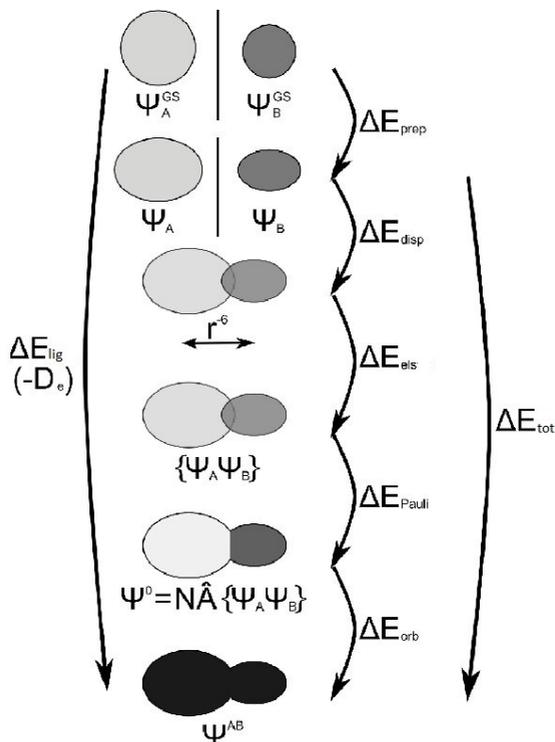
$$\Delta E^{orb} = E_{AB} - E_{ABo} \quad (4.23)$$

Portanto, a soma dos componentes energéticos obtidos nos três passos anteriores, fornece a energia total de interação (ΔE^{tot}), Equação 4.24. [87]

$$\Delta E^{tot} = \Delta E^{es} + \Delta E^{Pauli} + \Delta E^{orb} \quad (4.24)$$

Os três passos anteriores juntamente com a correção da dispersão de Grimme (que será explanado na subseção de GKS-EDA) podem ser esquematicamente representados pela Figura 4.1.

Figura 4.1 – Descrição esquemática dos passos do EDA para a formação da ligação entre dois fragmentos A e B para originar a supermolécula AB. Fonte: Copyright ©2015 American Chemical Society. Reproduzido com permissão.



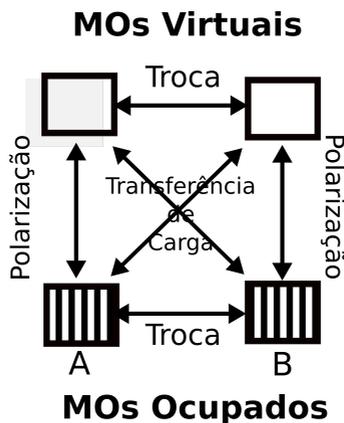
2.3 Breve Histórico do EDA

No primeiro método de EDA formulado por Morokuma e Kitaura, LMO-EDA (análise de decomposição de energia de orbitais moleculares localizados), [1, 89] que foram pioneiros em quantificar as interações químicas com este tipo de análise, a energia total de interação é definida como a diferença entre a energia Hartree-Fock da molécula AB (supermolécula) e dos fragmentos isolados (A+B). A energia total de interação no LMO-EDA pode ser decomposta em quatro termos principais, Equação 4.25. [1]

$$\Delta E^{tot} = \Delta E^{es} + \Delta E^{pol} + \Delta E^{ex} + \Delta E^{ct} \quad (4.25)$$

Sendo que, ΔE^{es} também representa a interação eletrostática clássica entre os orbitais moleculares ocupados separados de cada fragmento. ΔE^{pol} é associado a interação proveniente do *mixing* entre os orbitais ocupados e vazios de cada fragmento. ΔE^{ex} representa a interação entre os MOs (orbitais moleculares) ocupados que ocasiona a troca e delocalização dos elétrons entre os fragmentos. ΔE^{ct} , representa a transferência de carga ocasionada pela interação que causa a delocalização intermolecular pelo *mixing* de MOs ocupados de um fragmento com os MOs vazios de outro fragmento e vice-versa. A interpretação desses termos pode ser representada pelo diagrama da Figura 4.2. [1]

Figura 4.2 – Diagrama representativo das interações entre dois fragmentos A e B. Baseado no esquema original da Referência [1].



Como o método LMO-EDA inicialmente foi formulado para o método Hartree-Fock no qual, necessariamente os fragmentos A e B de uma molécula devem ser de camada fechada e estarem no estado fundamental. Contudo, a maior vantagem do LMO-EDA é a definição explícita da energia de transferência de carga que é obtida diretamente da diferença total da energia de interação com os outros três termos restantes.

Um outro método de EDA, o Su-Li EDA, [93] é uma extensão e modificação do LMO-EDA. Nos quais quatro implementações o difere diretamente do seus predecessor. A primeira é que os termos ΔE^{es} , ΔE^{ex} e ΔE^{rep} são isolados de acordo com o Método de Hayes e Stone [94] (método de particionamento da energia em termos aditivos e não-aditivos). No método anterior, ΔE^{rep} e ΔE^{ex} não eram separados, e além disso, devido toda a formulação ser baseada em spin-orbitais, o método possui a limitação da supermolécula ser de camada fechada. A segunda vantagem é que a energia de polarização é definida como a relaxação orbital indo dos monômeros para a supermolécula, similar a energia eletrônica de interação definida por HF-Slater no Método de Ziegler e Rauk [90, 91] (Método do Estado de Transição). A terceira

vantagem é que a energia de dispersão (ΔE^{disp}) é derivada da supermolécula através de métodos de correlação como MP2 e CCSD(T). A quarta vantagem é que para métodos DFT-KS, ΔE^{tot} é decomposta nas seguintes contribuições: eletrostática ΔE^{es} , troca ΔE^{ex} , polarização ΔE^{pol} , dispersão ΔE^{disp} e repulsão ΔE^{rep} .

2.4 GKS-EDA

Em 2014, uma nova análise de decomposição da energia foi proposta por Su e colaboradores, [95] o GKS-EDA. Esta análise é baseada no método GKS [96] (General Kohn-Sham) e na decomposição da energia em orbitais moleculares localizados (LMO-EDA). Alguns refinamentos, tornam o GKS-EDA mais vantajoso do que o método original, o LMO-EDA. Dentre essas vantagens, pode-se citar que os cálculos, por serem baseados em DFT-KS, tornam o método versátil, pois permite utilizar uma variedade de funcionais. Uma outra vantagem é que os termos de troca, repulsão e polarização são determinados por orbitais DFT. O termo de correlação é obtido diretamente como a diferença da energia de correlação entre o monômero e da supermolécula. [95] A versatilidade e simplicidade porém robustez do GKS-EDA, o faz uma ferramenta única e essencial para estudar interações químicas em inúmeros sistemas, por exemplo, o GKS-EDA pode ser aplicado a fase condensada, para estudar interações não-covalentes e também no estudo de adsorção de superfícies, entre outros. [93, 97]

2.4.1 Formalismo Matemático do GKS-EDA

A energia fundamental de um sistema eletrônico (Ψ) pode ser acessada, de acordo com a Mecânica Quântica, através do valor expectativa do operador Hamiltoniano (\mathbf{H}), no qual este pode ser definido pela Equação 4.26. [95]

$$\mathbf{H} = \mathbf{T} + \mathbf{V}_{ee} + \mathbf{V}_{ne} \quad (4.26)$$

Sendo, \mathbf{T} , \mathbf{V}_{ee} e \mathbf{V}_{ne} os operadores de energia cinética, interação elétron-elétron, interação núcleo-elétron (potencial externo), respectivamente.

De acordo com o Teorema de Hohenberg-Kohn, a energia total (E) de um sistema com N elétrons é um funcional único da densidade eletrônica $\rho(r)$. [95] De acordo com Seidl et al, [96] a energia pode ser acessada através do princípio variacional e expressa de acordo com a Equação 4.27.

$$E = \min_{\rho \rightarrow N} \left[\min_{\Psi \rightarrow \rho} \langle \Psi | \mathbf{T} + \mathbf{V}_{ee} | \Psi \rangle + \int \rho(r) V_{ne}(r) dr^3 \right] \quad (4.27)$$

Sendo, ρ a densidade eletrônica e Ψ a função de onda do sistema com N elétrons.

Sendo,

$$F(\rho) = \min_{\Psi \rightarrow \rho} \langle \Psi | \mathbf{T} + \mathbf{V}_{ee} | \Psi \rangle \quad (4.28)$$

O funcional de Hohenberg-Kohn dependente da função de onda Ψ .

De acordo com o esquema Kohn-Sham, o cálculo de Ψ pode ser substituído por um determinante de Slater, Φ , que representa um modelo do sistema não-interagente e que fornece a mesma densidade eletrônica que Ψ , no estado fundamental. Contudo o valor expectativa de \mathbf{H} em função de Φ resgata uma grande porção da energia total, sendo a parte restante computada localmente pelo funcional de troca e correlação. No esquema GKS não somente a energia cinética é tratada exata mas também a energia potencial elétron-elétron. [95]

Pelo esquema HF-KS, a energia de correlação pode ser expressa pela Equação 4.29, que relaciona a diferença de energia entre o funcional HK expresso em Ψ e em Φ . [95]

$$E_{cor}^{GKS} = F(\rho) - F_s(\rho) \quad (4.29)$$

A densidade ρ pode ser obtida através dos orbitais Φ_i e que são computados pelas seguintes equações: [95]

$$\left(\frac{-1}{2} \nabla_i^2 + \mathbf{V}_x^{GKS} + \mathbf{V}_{ee} + \mathbf{V}_{ne} + \mathbf{V}_c^{GKS} \right) |\Phi_i\rangle = \xi_i |\Phi_i\rangle \quad (4.30)$$

Sendo, V_x e V_c os potenciais de troca e correlação, obtidos da minimização dos funcionais de troca (E_x) e correlação (E_c), respectivamente, com relação a densidade (ρ), Equações 4.31 e 4.32.

$$E_c^{GKS} = \langle \Phi^{GKS} | \mathbf{V}_{ee} | \Phi^{GKS} \rangle - J(\rho) \quad (4.31)$$

Sendo que, $J(\rho)$ representa a repulsão elétron-elétron.

$$E_c^{GKS} = E_c(\rho) + (1 - \gamma)(E_x(\rho) - E_x^{GKS}) \quad (4.32)$$

Sendo, γ a porção exata de energia HF e que varia de 0 a 1.

Pode-se ainda separar o funcional de HK no método GKS, (F^{GKS}) no termos F^D e \mathbf{V}_c^{GKS} , onde F^D é definido pela Equação 4.33. [95]

$$F^D = \frac{-1}{2} \nabla_i^2 + \mathbf{V}_x^{GKS} + \mathbf{V}_{ee} + \mathbf{V}_{ne} \quad (4.33)$$

Para uma supermolécula (S) composta por n monômeros (M), a energia total de interação, ΔE^{tot} pode ser expressa em: [95]

$$\Delta E^{tot} = \langle \Phi_S | F_S^{GKS} | \Phi_S \rangle - \sum_M \langle \Phi_M | F_M^{GKS} | \Phi_M \rangle \quad (4.34)$$

A Equação 4.34 pode ser reescrita ($F^{GKS} = F^D + \mathbf{V}_c^{GKS}$) como: [95]

$$\Delta E^{tot} = \langle \Phi_S | F_S^D | \Phi_S \rangle - \sum_M \langle \Phi_M | F_M^D | \Phi_M \rangle + \langle \Phi_S | \mathbf{V}_c^{GKS} | \Phi_S \rangle - \sum_M \langle \Phi_M | \mathbf{V}_c^{GKS} | \Phi_M \rangle \quad (4.35)$$

A soma dos dois primeiros termos da Equação 4.35 dão origem aos termos, eletrostático, troca, repulsão e polarização, respectivamente, Equação 4.36.

$$\langle \Phi_S | F_S^D | \Phi_S \rangle - \sum_M \langle \Phi_M | F_M^D | \Phi_M \rangle = \Delta E^{es} + \Delta E^{ex} + \Delta E^{rep} + \Delta E^{pol} \quad (4.36)$$

Inicialmente, não existe nenhuma interação entre os monômeros da supermolécula, no qual a função de onda neste passo (Passo 0) é o

produto de Hartree das funções de onda dos monômeros, Equação 4.37. [95]

$$\Phi^{DP} = \Pi_M \Phi_M \quad (4.37)$$

Quando o Método de Counterpoise é aplicado para o erro de superposição de base (BSSE), os orbitais KS em Φ_M são expandidos nas funções de base da supermolécula, então a energia é expressa pela Equação 4.38. [95]

$$E_S^{(0)} = \langle \Phi^{DP} | \sum_M F_M^D | \Phi^{DP} \rangle = \sum_M \langle \Phi_M | F_M^D | \Phi_M \rangle \quad (4.38)$$

Se não há nenhuma sobreposição orbital entre os monômeros a função de onda Φ^{DP} é a mesma que na Equação 4.37. Contudo, se a soma dos operadores GKS dos monômeros F_M^D for substituída pelo operador da supermolécula F_S^D , a energia $E_S^{(1)}$ correspondente pode ser definida como: [95]

$$E_S^{(1)} = \langle \Phi^{DP} | F_S^{DP} | \Phi^{DP} \rangle \quad (4.39)$$

A interação eletrostática pode ser definida pela diferença das Equações 4.38 e 4.39. [95]

$$\Delta E^{es} = \langle \Phi^{DP} | F_S^D | \Phi^{DP} \rangle - \sum_M \langle \Phi_M | F_M^D | \Phi_M \rangle \quad (4.40)$$

Para um segundo passo, a sobreposição orbital é levada em conta e a função de onda Φ^{DP} é antissimetrizada e normalizada, Equação 4.41. [95]

$$\Phi^{ASN} = A\Phi^{DP} \quad (4.41)$$

A energia correspondente $E_S^{(2)}$ pode ser expressa pela Equação 4.42. [95]

$$E_S^{(2)} = \langle \Phi^{ASN} | F_S^D | \Phi^{ASN} \rangle \quad (4.42)$$

A densidade eletrônica de Φ^{ASN} comparada com Φ^{DP} diminui entre os monômeros e aumenta para cada monômero remoto um do outro,

levando a forças repulsivas entre os monômeros. A diferença de energia entre as Equações 4.42 e 4.39 dá origem a interação repulsão-troca, ΔE^{exrep} . [95]

$$\Delta E^{exrep} = \langle \Phi^{ASN} | F_S^D | \Phi^{ASN} \rangle - \langle \Phi^{DP} | F_S^D | \Phi^{DP} \rangle \quad (4.43)$$

O termo de troca é explicitamente expresso pela variação de energia E_{ex}^{GKS} do Passo 1 para o Passo 2, Equação 4.44. [95]

$$\Delta E^{ex} = E_{ex}^{GKS}(2) - E_{ex}^{GKS}(1) \quad (4.44)$$

Então, ΔE^{rep} pode ser obtido diretamente da Equação 4.45. [95]

$$\Delta E^{rep} = \Delta E^{exrep} - \Delta E^{ex} \quad (4.45)$$

No terceiro passo, com o procedimento SCF, Φ^{ASN} é otimizado como Φ_S , e o termo de polarização pode ser definido pela Equação 4.46. [95]

$$\Delta E^{pol} = \langle \Phi_S | F_S^D | \Phi_S \rangle - \langle \Phi^{ASN} | F_S^D | \Phi^{ASN} \rangle \quad (4.46)$$

A expressão acima significa que o termo de polarização é proveniente do termo de relaxação do procedimento SCF.

Se a correção de dispersão é especificada no cálculo, a energia de dispersão ΔE^{disp} é adicionada e pode ser calculada como: [95]

$$\Delta E^{disp} = E_S^{disp} - \sum_M E_M^{disp} \quad (4.47)$$

Sendo, E^{disp} a energia de dispersão. Se for utilizada a correção da dispersão de Grimme então a Equação 4.47 é expressa pela Equação 4.48.²

$$E^{dc} = - \sum_{AB} \sum_{n=6,8,10} S_n \frac{C_n^{AB}}{R_{AB}^n} f_{damp}(R_{AB}) \quad (4.48)$$

² Como no presente trabalho foi utilizado a correção de Grimme, a partir deste momento, o termo de dispersão ΔE^{disp} será representado por ΔE^{dc} .

Sendo, S_n um fator de escalonamento global. R_{AB} a distância entre os átomos A e B. Cn^{AB} o coeficiente médio de dispersão para o par AB. f_{damp} a função de *damping* que determina a extensão da correção de dispersão.

Em suma, a soma de todos os termos gerados anteriormente, pela metodologia do GKS-EDA, fornece a energia total de interação ΔE^{tot} , Equação 4.49. [95]

$$\Delta E^{tot} = \Delta E^{es} + \Delta E^{ex} + \Delta E^{rep} + \Delta E^{pol} + \Delta E^{dc} + \Delta E^{cor} \quad (4.49)$$

3 Orbital Natural de Ligação (NBO)

No método NBO, uma série de algoritmos matemáticos analisam a função de onda perante o conceito de ligações e elétrons localizados de Lewis. Portanto todas as propriedades obtidas neste método são expressas na luz da estrutura natural de Lewis (NLS), no qual nessa descrição ambos elétrons de um centro (par isolado - 1c) e de dois centros (pares ligados - 2c) são associados ao tipo Lewis (L) nos quais os elétrons que não se encaixam nessa descrição são considerados como NL (Não-Lewis). Nesse contexto a função de onda é descrita em termos das contribuições de L e NL. Portanto, o método NBO no conceito de Lewis pode trazer importante *insights* tanto para espécies di ou poliatômicas sobre carga atômica, estrutura de Lewis, tipo de ligação, hibridização, ordem de ligação, cargas, etc. [98]

O NBO é formulado a partir de orbitais naturais atômicos (NAOs), um conjunto ortonormal completo que descreve com efetividade os orbitais naturais localizados de 1c, correspondendo aos orbitais efetivos de um átomo A no ambiente molecular, no qual em grandes separações os NAOs são simplesmente os orbitais atômicos intrínsecos dos átomos (AOs). No ambiente molecular os NAOs são distintos dos AOs, refletindo as mudanças devido as interações eletrônicas e esses dependem da escolha da função de base. Os NAOs diferem dos OAS, devido a dois fatores, a dependência do mesmo com a carga atômica

efetiva (tamanho) e as características nodais (forma). A difusão espacial dos NAOs é dependente da carga atômica efetiva no ambiente molecular, no qual um átomo catiônico apresenta concentração de carga e um átomo aniônico, a carga é depletada e portanto mais difusa. As características nodais são aferidas devido as franjas exteriores originadas devido ao confinamento estérico no ambiente molecular. Os NAOs de valência do átomo A incorporam adequadamente os nós internos preservando a ortogonalidade do seu próprio núcleo e também os nós externos, preservando a ortogonalidade dos orbitais preenchidos em outro átomo B, Equação 4.50. [98,99]

$$\langle \phi_j^A | \phi_K^B \rangle = \delta_{j,k} \delta_{A,B} \quad (4.50)$$

As condições de ortogonalidade Intra A e Inter B (Equação 4.50) devem ser respeitadas já que são critérios para as propriedades estéricas reais no ambiente molecular e que são ignoradas na descrição dos OAs e nos orbitais de base. Contudo, alguns algoritmos retiram essas condições de ortogonalidade interatômica e dão origem aos orbitais naturais atômicos pré-ortogonais (PNAOs). O efeito estérico no ambiente molecular é o fator que difere energeticamente os PNAOs dos NAOs. Os PNAOs são descritos quase de uma forma equivalente aos AOs, o que torna os NAOs uma representação mais precisa do ambiente eletrônico. [98,99]

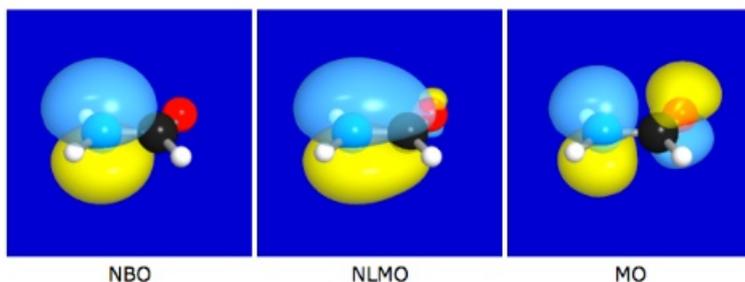
Neste método que analisa a função de onda, o primeiro passo para obter os orbitais naturais atômicos a partir dos orbitais naturais, é utilizar a combinação do algoritmo de Löwdin para a ortogonalização simétrica com o critério de máxima ocupância (Teorema de Carlson-Keller), que define o caráter intrínseco da matriz de densidade de primeira ordem. [100]

$$\mathbf{AOs} \xrightarrow{T} \mathbf{NAOs} \xrightarrow{U} \mathbf{NHOs} \xrightarrow{U} \mathbf{NBOs} \xrightarrow{U} \mathbf{NLMOs} \xrightarrow{U} \mathbf{MOs}$$

Em uma segunda etapa, a matriz de densidade é particionada em blocos de 1c e 2c, que são diagonalizados para obter os orbitais

naturais de ligação ou orbitais naturais híbridos, os NBOs ou NHOs, respectivamente. No passo seguinte, os NLMOs (Orbitais Moleculares Naturais Localizados) são obtidos através da deslocalização mínima dos NBOs a partir de rotações de Jacobi 2x2 que removem o acoplamento entre Lewis e Não-Lewis dos NBOs, dando origem a ocupância máxima de dois elétrons que é característica dos MOs, por exemplo, Figura 4.3. Todas essas transformações unitárias não possuem efeito na energia, densidade ou qualquer propriedade mensurável, já que preserva a intrínseca localização dos NAOs de partida, no qual cada um deles formam um conjunto ortonormal completo. A condição de ortogonalidade mantida nesses passos garante a não-violação do princípio da exclusão de Pauli ou qualquer outro problema que seja oriundo da não-ortogonalidade dos orbitais. [100]

Figura 4.3 – Plot 3D para a comparação do NBO, NLMO e MO para σ_{N-C} na molécula CHONH_2 . Fonte: Copyright©2017 nbo6.chem.wisc.edu/tut_cmo.html. Reproduzida com permissão.



3.1 Formalismo Matemático do NBO

Como os orbitais naturais de ligação são intermediários entre os orbitais naturais e os orbitais moleculares canônicos, sua definição matemática parte da própria definição dos orbitais naturais. Os orbitais naturais são orbitais atômicos escolhidos pela função de onda como sendo ótimos em sua própria descrição, portanto são intrínsecos a função

de onda, e independem da escolha das funções de base que os descrevem, sejam elas Gaussianas, de Slater, etc. Pode-se definir o conjunto de orbitais naturais (ϕ_k) de uma função de onda (ψ_k) como: [99, 101]

$$\Gamma^1 \phi_k = \rho_k \phi_k \quad (4.51)$$

Sendo, ρ_k o autovalor da Equação 4.51 e representa a população ou ocupação da autofunção ϕ_k para o operador de densidade eletrônica Γ^1 que atua sobre ψ_k .

O operador de densidade eletrônica Γ^1 pode ser definido como: [101]

$$\Gamma^1 = N \int |\psi(1, 2, \dots, N)|^2 d\tau_2 d\tau_3, \dots, d\tau_N \quad (4.52)$$

Quando o operador de densidade atua num orbital θ_k , origina como autovalores os spin-orbitais naturais n_k como mostram as Equações 4.53 e 4.54. [101]

$$\Gamma^1 \theta_k = n_k \theta_k \quad (4.53)$$

Pelo Princípio Variacional, n_k pode ser obtido como:

$$n_k = \langle \theta_k | \Gamma^1 | \theta_k \rangle = \int \theta_k^* \Gamma^1 \theta_k d\tau_1 \quad (4.54)$$

Sendo, n_k a população de elétrons no spin orbital que obedece o princípio da exclusão de Pauli:

$$0 \leq n_k \leq 1 \quad (4.55)$$

A Equação 4.54 é resolvida geralmente escolhendo orbitais de bases que não precisam ser necessariamente ortogonais. [101]

A soma da ocupação de todos os NAOs origina a configuração eletrônica natural (NEC), Equação 4.56 para cada átomo no ambiente molecular, assim como a sua densidade eletrônica (N), Equação 4.57. Densidade esta que é equivalente a densidade eletrônica no método QTAIM, contudo estas diferem devido suas origens. [100, 101]

$$NEC = [\theta_1(n_1)] + [\theta_2(n_2)] + \dots \quad (4.56)$$

$$N = \int \rho d\tau = \int [\rho_1 + \dots + \rho_N] d\tau \quad (4.57)$$

O módulo NBO busca todos os padrões de ligação para alta ocupação de orbitais do tipo Lewis, que por sua vez é associado a uma função de onda única. A estrutura de Lewis obtida é associada aos ótimos orbitais naturais de ligação NBO que descrevem a densidade eletrônica total, sendo o erro quantificado pela ocupação residual de orbitais NLs. [99]

Mesmo que o conjunto de L forneça a melhor descrição e representação de Lewis, a função de onda correspondente tem seu máximo de densidade reduzido. Para casos, por exemplo, com muitas ligações conjugadas e pares de elétrons isolados, é necessário a correção da ressonância na qual a opção \$NRT pode reconhecer a melhor representação de Lewis de um conjunto de estruturas de ressonância, derivadas da curva SPE da estrutura em questão. Contudo, a opção \$CHOOSE pode ser usada quando se deseja obter e julgar uma estrutura de ressonância específica, conservando um determinado padrão de ligação. [100, 101]

Algebricamente, os NBOs, Ω_{AB} , são compostos por orbitais naturais híbridos, h_A , que são, por sua vez, combinações lineares de NAOs. [99]

$$\Omega_{AB} = a_A h_a + a_B h_b \quad (4.58)$$

$$h_A = \sum_k a^k \phi_k^A \quad (4.59)$$

Sendo, a_A e a_B são os coeficientes de polarização, se $a_A = a_B$ a interação é dita covalente, entretanto, se $a_A \geq a_B$ a interação é dita iônica.

A classificação dos NBOs é feita de acordo com peso da combinação linear que os originam, se forem contribuições puras de NAOs são denominados core-NBOs (caroço), se forem formados por 1c, h_A , são denominados como LP-NBOs (par isolado), entretanto as combina-

ções lineares de $2c$ dá origem aos BD-NBOs (NBO ligantes- Ω_{AB}) e aos BD*-NBOs (NBOs antiligantes- Ω_{AB}^*). [99]

Além de fornecer informações da estrutura eletrônica em termos de orbitais naturais de ligação, bem como sua da natureza e magnitude, o módulo NBO permite calcular ordem de ligação, cargas de Mulliken, Löwdin, além de realizar a análise populacional natural (NPA), gerar orbitais moleculares HOMO e LUMO, a partir dos NLMOs, etc.

3.2 Índice de Ligação de Wiberg (W_{bi})

Mayer [102, 103] relata que com o surgimento e ampla utilização do conceito de orbitais moleculares é necessário distinguir os elétrons que ocupam orbitais ligantes e antiligantes, neste sentido a definição de ordem de ligação pode ser dada pela Equação 4.60 abaixo:

$$B = \frac{N_{bond} + N_{antibond}}{2} \quad (4.60)$$

Sendo, N_{bond} e $N_{antibond}$ os números de elétrons que ocupam os orbitais ligantes e antiligantes, respectivamente.

Wiberg [104, 105] introduziu um novo conceito de ordem de ligação, o índice de ligação, W_{AB} , também conhecido por W_{bi} , que é equivalente ao valor inteiro da ordem de ligação que usualmente aferimos em uma molécula. De acordo com a Equação 4.61, sua magnitude é dada pela segunda potência da matriz de densidade e possui sua própria invariância, característica ótima quando comparada a própria ordem de ligação de Mayer, cuja determinação é sensível a operações de rotação da matriz de densidade, devido as limitações da sua própria definição.

$$W_{AB} = \sum_{\mu \in A} \sum_{\nu \in B} |\Gamma_{\mu\nu}|^2 \quad (4.61)$$

3.3 Análise da População Natural (NPA)

Os NAOs também são subjacentes a análise da população natural (NPA) que é a quantificação da população natural de elétrons

no orbital ($q_i^{(A)}$) e a carga atômica ($q^{(A)}$) em cada centro atômico. Essas quantidades podem ser estimadas através das equações abaixo. [106,107]

$$q_i^{(A)} = \langle \theta_i^{(A)} | \Gamma^1 | \theta_i^{(A)} \rangle \quad (4.62)$$

$$q^{(A)} = Z_A - \sum_i q_i^{(A)} \quad (4.63)$$

Sendo, Γ^1 o operador da densidade reduzida de primeira ordem sobre todo o sistema e Z_A é o número atômico do átomo A.

Como pode ser observado nas equações acima, devido a sua natureza dependente de θ_i as cargas NPAs são estáveis frente a extensão e variações da função de base.

A análise populacional também satisfaz as restrições físicas do princípio da exclusão de Pauli, segundo a Equação 4.64.

$$0 \leq q_i^{(A)} \leq 2 \quad (4.64)$$

O somatório de todos $q_i^{(A)}$ sobre todos os átomos A fornece o número total de elétrons (N) do sistema. [107]

4 Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM)

A Teoria Quântica de Átomos em Moléculas, elaborada por Richard Bader na década de 80, é baseada no particionamento não arbitrário da densidade eletrônica da distribuição da carga total numa molécula, originando subunidades atômicas que são transferíveis de uma molécula para outra, átomo ou grupo funcional. Portanto, neste particionamento, o átomo é definido pelas propriedades topológicas da densidade eletrônica, no qual o núcleo atua como um atrator de densidade e dá origem ao particionamento da distribuição de carga total em regiões mononucleares (Ω). Essas regiões são delimitadas por vetores gradientes de fluxos zero de densidade eletrônica, onde nenhum desses vetores gradientes se cruzam em nenhum ponto, originando uma

superfície de fluxo zero, o que é equivalente satisfazer a condição na Equação 4.65. [108,109]

$$\nabla\rho(r)\cdot n(r) = 0 \quad (4.65)$$

Neste contexto, nascem os conceitos de transferabilidade e aditividade, no qual qualquer propriedade de uma molécula é dada pela contribuição de cada átomo ou grupo funcional constituinte, onde cada grupo é considerado um sistema próprio aberto. [110]

Um sistema próprio aberto são átomos que também seguem a Equação 4.65, isto porque, suas propriedades além de serem características e únicas são aditivas e transferíveis de um sistema para outro como são suas formas atômicas no espaço real, que é transferível tanto quanto sua distribuição de carga. [111]

O particionamento da molécula nessas regiões mononucleares pode prever as contribuições experimentais de propriedades atômicas e de grupos que são essencialmente transferíveis e aditíveis como por exemplo, volume e polarizabilidade. O que torna o QTAIM um método que resgata diretamente os conceitos experimentais. [110–112]

Como o átomo é caracterizado pela propriedade topológica da densidade eletrônica, é justamente a força de atração elétron-núcleo que determina excepcionalmente a principal característica topológica da densidade. Um máximo é exibido na posição nuclear, levando ao particionamento em regiões atômicas disjuntas no espaço real (regiões mononucleares), chamadas bacias atômicas, no qual para cada bacia todos os vetores gradiente que a compõem convergem somente para um único atrator. [109]

Em QTAIM, um átomo ligado ou livre é definido como a união de um atrator com sua bacia associada que satisfazem a Equação 4.65. Como ainda cada bacia pode ser delimitada por uma ou mais superfícies de fluxo zero, uma alternativa equivalente do conceito de átomo em uma molécula pode ser proposta, como uma região no espaço delimitada por uma ou mais superfícies de fluxo zero. [108,112,113]

Considerando o espaço real, a aproximação de dois átomos resulta na formação de um ponto crítico (CP) na densidade, que é definido como um ponto delimitado por $\rho(r)$ no qual a primeira derivada é nula em cada direção x, y e z, tornando também o operador gradiente da densidade ($\nabla\rho(r)$) nulo, Equação 4.66. [109]

$$\nabla\rho(r) = \mathbf{i}\frac{d\rho}{dx} + \mathbf{j}\frac{d\rho}{dy} + \mathbf{k}\frac{d\rho}{dz} \quad (4.66)$$

Contudo, existem regiões de $\rho(r)$ de máximo e de mínimo, no qual são discriminadas levando em consideração a segunda derivada da densidade eletrônica. Essas nove derivadas são organizadas em uma matriz 3x3 conhecida como matriz Hessiana $A(r_c)$, Equação 4.67, que avalia um determinado CP na posição r_c . [109]

$$A(r_c) = \begin{bmatrix} \frac{d^2\rho}{dx^2} & \frac{d^2\rho}{dx dy} & \frac{d^2\rho}{dx dz} \\ \frac{d^2\rho}{dy dx} & \frac{d^2\rho}{dy^2} & \frac{d^2\rho}{dy dz} \\ \frac{d^2\rho}{dz dx} & \frac{d^2\rho}{dz dy} & \frac{d^2\rho}{dz^2} \end{bmatrix} \quad (4.67)$$

A diagonalização da matriz Hessiana origina a matriz abaixo Λ , no qual os elementos da diagonal principal representam as curvaturas λ_1 , λ_2 e λ_3 da densidade $\rho(r)$ nos eixos x, y e z, respectivamente. [109]

$$\Lambda = \begin{bmatrix} \frac{d^2\rho}{dx^2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{d^2\rho}{dy^2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{d^2\rho}{dz^2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix} \quad (4.68)$$

O número das curvaturas não nulas e a soma algébrica dos sinais das curvaturas, de magnitude +1 ou -1, dependendo se ela é negativa ou positiva, dão origem ao *rank* (ω) e a *signature* (σ), respectivamente, cujo valor caracteriza cada tipo de CP conforme pode ser observado na Tabela 4.1. [109]

Tabela 4.1 – Classificação dos pontos críticos (CP), de acordo com seu *rank* (ω) e *signature* (σ).

CP	ω	σ	Nome	Descrição
NCP	3	-3	Ponto Crítico Nuclear	Três curvaturas negativas e $\rho(r)$ é um máx. local.
BCP	3	-1	Ponto Crítico de Ligação	Duas curvaturas negativas, $\rho(r)$ é um máximo no plano definido pelas duas curvatura mas é um mínimo local ao terceiro eixo perpendicular a esse plano.
RCP	3	+1	Ponto Crítico de Anel	Duas curvaturas positivas, $\rho(r)$ é um mínimo no plano definido pelas duas curvaturas mas é um máximo local ao terceiro eixo perpendicular a esse plano.
CCP	3	+3	Ponto Crítico de Gaiola	Três curvaturas positivas e $\rho(r)$ é um mín. local.

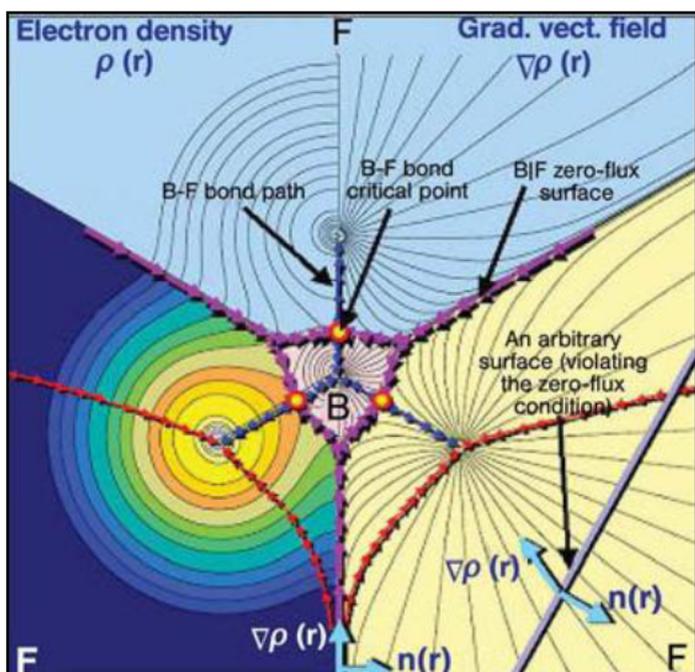
A estabilidade topológica é alcançada quando o número de CPs de uma molécula segue a relação topológica de Poincaré-Hopf, Equação 4.69. [109]

$$n_{NCP} - n_{BCP} + n_{RCP} - n_{CCP} = 1 \quad (4.69)$$

Sendo, n o número total do CP específico.

No espaço real, considerando dois núcleos ligados, existe uma linha única no qual a densidade eletrônica é máxima, essa linha é denominada caminho de ligação (BP), sendo um indicador topológico de ligação química. Analogamente, no caminho de ligação encontra-se um único ponto, que possui o menor valor da densidade eletrônica, o ponto crítico de ligação (BCP), onde a Hessiana neste ponto possui dois autovalores negativos e um positivo (3,-1). No BCP é onde ocorre a terminação do conjunto de vetores gradiente da densidade oriundos do atrator, definindo então uma superfície interatômica. Portanto, é nesse ponto em que os caminhos de ligação interceptam a superfície de fluxo zero entre dois átomos, separando-os, Figura 4.4. [108, 111]

Figura 4.4 – Densidade eletrônica (esquerda) e o campo de vetor gradiente (direita) da densidade no plano molecular do BF_3 . As setas azuis conectando os núcleos traçam o caminho de ligação. As linhas magentas delimitando as bacias atômicas traçam a interseção das superfícies de fluxo-zero com o plano. Os pequenos círculos dispostos nos três caminhos de ligação representam os pontos críticos de ligação (BCP). Fonte: Matta e Boyd. Copyright©Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduzido com permissão. Licença 4330460344542.



O QTAIM torna-se uma ferramenta muito útil, pois através das propriedades da densidade eletrônica pode-se obter propriedades de ligação química, já que a formação do BCP e da superfície interatômica é uma consequência direta da interação entre dois átomos. Dentre essas propriedades, o Laplaciano da densidade $\nabla^2\rho_b$ (é utilizado o subscrito b para indicar a densidade no BCP) é uma propriedade muito útil para

distinguir, por exemplo, as interações químicas. [109,114]

O Laplaciano da densidade eletrônica é definido como a soma das curvaturas da matriz Hessiana (Equação 4.70), ou seja, é a soma da segunda derivada da densidade sobre os planos x , y e z em um CP, indicando as regiões onde a carga local está reduzida ou concentrada. Entretanto, para um determinado BCP a carga estará localizada num plano e reduzida no eixo perpendicular a este plano. [109]

$$\nabla^2 \rho_b = \nabla \cdot \nabla \rho_b = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 \quad (4.70)$$

O sinal do Laplaciano no BCP entre dois átomos é um importante e poderoso indicador da classificação da interação química. Numa interação covalente, $\nabla^2 \rho_b < 0$, devido a dominância das curvaturas negativas, a densidade de carga está concentrada e contraída na região entre o núcleo e a superfície interatômica, caracterizando uma base de Lewis. Esta interação é dominada pelo abaixamento da energia potencial local, resultado direto da concentração de carga. Contudo, se $\nabla^2 \rho_b > 0$ no BCP, a interação é caracterizada como camada-fechada (iônica, van der Waals, hidrogênio), onde a densidade de carga local está reduzida e expandida no BCP e na superfície interatômica, isto porque segundo o princípio de Pauli, a densidade deve ser retirada da região de contato entre as interações e como resultado, a curvatura positiva é dominante. Como resultado, esta interação é localmente dominada pela energia cinética dos elétrons. [109,114]

Valores de ρ_b também são usados para reforçar a natureza física da interação, sendo classificada como camada fechada as interações que possuem um valor próximo a 0,10 u.a., enquanto um valor consideravelmente alto deste acompanha as interações covalentes. [109]

Uma outra propriedade da densidade eletrônica também muito utilizada é a elipticidade (Equação 4.71), que quantifica a extensão em que a densidade eletrônica é preferencialmente acumulada em um determinado plano. Nesse sentido o caráter- π da ligação química pode ser estimado, se $\lambda_1 = \lambda_2$ a ligação é dita simétrica no eixo e está entre

o limite de simples e tripla ligação, entretanto quando apresenta valores entre 0,2-0,4, atribui-se o caráter de dupla ligação. [109]

$$\varepsilon = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} - 1 \quad (4.71)$$

Não somente o QTAIM é utilizado para fornecer *insights* sobre a natureza da ligação química como também pode se tornar uma ferramenta útil associada a técnicas experimentais, como por exemplo, a cristalografia no estudo da interação receptor-fármaco pela medida da densidade eletrônica de interação. [115]

5 Mecânica Molecular (MM)

Diferente da Mecânica Quântica, no qual a estrutura e energia de uma molécula é estabelecida pelos elétrons ou densidade eletrônica, é o movimento do núcleo que rege a Mecânica Molecular (MM). Entretanto, os elétrons são considerados, só que implicitamente, pela aproximação de Bohr-Oppenheimer. Na MM uma molécula é tratada com o ponto de vista clássico, sendo um conjunto de esferas, conectados por molas, nos quais as esferas representam os átomos e as molas representam as ligações químicas. Nesse contexto, as propriedades moleculares e as interações entre essas partículas são obtidas através das leis da mecânica clássica, por meio de funções potenciais. Cada tipo de interação entre as esferas é tratada com um potencial específico, onde esses potenciais são provenientes de parâmetros empíricos que descrevem determinados tipos de átomos, a esse conjunto de parâmetros e funções potenciais, se dá o nome de campo de força (FF). [78,116]

O FF consiste, então, de um conjuntos de funções e constantes para determinar a energia potencial de uma molécula em função de suas coordenadas nucleares (\mathbf{x}), podendo, de uma maneira geral, ser representado pela Equação 4.72.

$$E = \sum_{ij} k_{ij} x_i x_j + \sum_{ijk} k_{ijk} x_i x_j x_k \quad (4.72)$$

A equação fornece a energia potencial de um sistema em termos das funções do FF. Sendo, k_{ij} e k_{ijk} as constantes que dependem do comprimento de ligação entre x_i e x_j e do ângulo de ligação entre x_i , x_j e x_k , respectivamente.

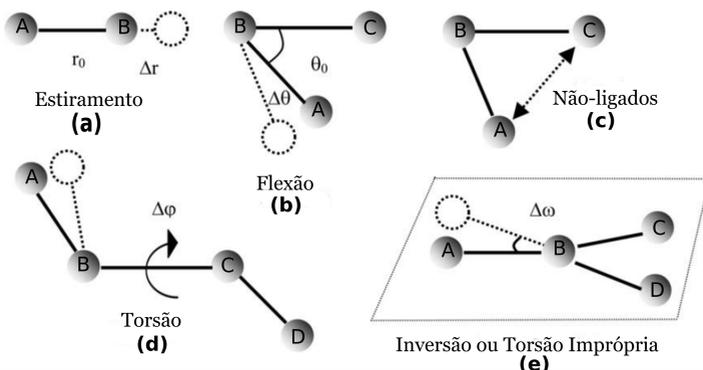
Com o campo de força já estabelecido, os parâmetros inclusos no conjunto servem como pontos de referências e constantes para tratar os cálculos de energia potencial, incluindo termos de atração e repulsão interatômica. Os algoritmos de otimização geométrica ou minimização mais utilizados pra calcular as novas geometrias otimizadas de uma dada configuração inicial são: *steepest descent*, gradiente conjugado, Newton-Raphson, etc. [78, 116]

A expressão da energia total E, para cada sistema dependerá do campo de força utilizado, entretanto a Equação 4.73, é uma expressão geral de E. [78, 116]

$$E = E_r + E_\theta + E_\phi + E_{nb} + E_{st} \quad (4.73)$$

Como pode ser observado na Equação 4.73, a energia total E definida pelo campo de força, é expressa pela soma das energias associadas as diversas interações interatômicas (Figura 4.5), como o estiramento da ligação (E_r), a flexão do ângulo de ligação (E_θ), a torsão do ângulo (E_ϕ), aos termos não-ligantes (E_{nb}), e a termos especiais (E_{st}), que variam de sistema pra sistema como o E_{hb} , referente a ligação de hidrogênio em sistemas biológicos. A maioria das equações que expressam E são parecidas, entretanto, elas podem diferir significativamente pelas funções que descrevem cada termo, dando origem a diferentes campos de força. [78, 116]

Figura 4.5 – Interações interatômicas na Mecânica Molecular. Representação *ball and stick*. Imagem reproduzida e modificada com a licença 4295501100361. Copyright©2018 Elsevier.



5.1 Formalismo Matemático dos Campos de Força

Em termos matemáticos, o FF é uma expressão da energia $E(\mathbf{r})$ ou $V(\mathbf{r})$ em função das coordenadas ou configurações nucleares (\mathbf{r}). Considerando um átomo A na posição x_i , y_i e z_i , a força que atua sobre ele pode ser escrita de acordo com a Equação 4.74. [78]

$$F_i = -\nabla_i V(\mathbf{r}) \quad (4.74)$$

A Equação 4.74 mostra que $V(\mathbf{r})$ é um escalar e o seu valor real representaria o autovalor da Equação de Schroedinger resolvida para todos os possíveis valores de \mathbf{r} . Entretanto, os cálculos seriam extremamente pesados considerando apenas alguns átomos. Desse modo, os valores de $V(\mathbf{r})$ são minimizados e caracterizados nos seguintes termos: ligações químicas, ângulos de ligação, interações de van der Waals, interações eletrostáticas, interações de torsão e termos mistos. [78]

5.1.1 Ligações Químicas

O termo de ligação química, para estiramento ou compressão, entre dois átomos é descrito através dos comprimentos de ligação (r),

Figura 4.5 (a). Considerando dois átomos, A e B, separados inicialmente por uma distância r_0 , a energia associada a compressão ou estiramento, será escrita em termos harmônicos de acordo com a Lei de Hooke, Equação 4.75. [78]

$$E_r = 143,88 \frac{1}{2} k_{xy} (r - r_o)^2 [(r - r_o)] \quad (4.75)$$

Sendo, k_{xy} a constante de força em $\text{mdyn} \cdot \text{Å}^{-1}$. A Equação 4.75 é utilizada para qualquer tipo de átomo e incorpora gradativamente termos harmônicos enquanto a dependência dos termos anarmônicos são substituídos pela aproximação harmônica.

5.1.2 Ângulos de Ligação

Preservando a distância r entre as ligações A–B e B–C, qualquer mudança no ângulo $\theta = \text{A–B–C}$ muda a distância entre A–C, Figura 4.5 (b), esta mudança deve ser acompanhada com um aumento de energia, expressa também em termos harmônicos, Equação 4.76. [78]

$$E_\theta = 0,21914 k_\theta (\theta - \theta_o)^2 [1 + 7.10^8 (\theta - \theta_o)^4] \quad (4.76)$$

Sendo, k_θ a constante de força associada a ligação em $\text{mdyn} \cdot \text{Å}^{-1} \cdot \text{rad}^{-2}$.

5.1.3 Termos Não-Ligados ou Interações de van der Waals

O termos de van der Waals são incluídos quando dois átomos A e C, não formam uma ligação química formal A–C mas ainda interagem entre si (Figura 4.5 (c)).

O raio de van der Waals de um átomo é o seu próprio tamanho, entretanto quando dois átomos se aproximam e interagem a uma distância menor que a soma dos seus raios, ocorre um aumento da energia, já que a força de van der Waals e sua energia correspondente são inversamente proporcionais a distância. Entretanto, a longas distâncias interatômicas, os dois átomos se mantêm unidos pelas interações de dispersão no limite de r^{-6} . O potencial de Lennard-Jones (LJ ou 12-6),

Equação 4.77, descreve a energia E_{nb} , no qual existe uma distância de equilíbrio r_e em que a energia dos átomos não-ligados é mínima ($-\varepsilon$). [78]

$$E_{nb} = \varepsilon \left[\left(\frac{r_e}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_e}{r} \right)^6 \right] \quad (4.77)$$

5.1.4 Interações Eletrostáticas

Em alguns campos de força, as atrações eletrostáticas entre os átomos são incluídas em função dos seus momentos de dipolo ou suas cargas atômicas, aplicando-se a lei de Coulomb. No qual a energia eletrostática (E_q) entre os átomo A e B, separados por uma distância r , é dada pela Equação 4.78. [78]

$$E_q = \frac{q_A q_B}{r} \quad (4.78)$$

Sendo, q_A e q_B as cargas fixas para os átomos A e B, respectivamente.

5.1.5 Termos de Torsão

O termo de torsão do ângulo ψ , Equação 4.79, é adicionado a expressão geral da energia, devido ao fato que para cada ângulo de torsão ψ , a energia muda de acordo com a rotação de θ sobre a ligação B–C, na sequência A–B–C–D (Figura4.5 (d)). O potencial de torsão é dado pela série de Fourier para 1-4 termos através da Equação 4.79. [78]

$$E_\psi = \sum_n \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\psi)) \quad (4.79)$$

Sendo, V_n a constante de força na série de Fourier em kcal.mol^{-1} e ψ o ângulo de torsão que varia entre 0 a 180° .

5.1.6 Termos Mistos

A adição dos termos mistos surge devido a dependência dos comprimentos com os ângulos de ligação. Por exemplo, quando um ângulo de ligação é quebrado, as duas ligações que formam este ângulo irão esticar para aliviar a tensão. A energia potencial para esta mudança

é dada então em ambos termos, ângulo e comprimento de ligação, como pode ser observado na Equação 4.80. [78]

$$E_{r\theta} = 2,5124k_{r\theta}(\theta - \theta_o)[(r - r_o)_A - (r - r_o)_B] \quad (4.80)$$

Sendo, $k_{r\theta}$ a constante de força em $\text{mdyn} \cdot \text{Å}^{-1} \cdot \text{rad}^{-1}$.

Pode-se dizer, que a MM é um método de obtenção da configuração nuclear mais estável, no qual se minimiza a energia E em função das respectivas coordenadas (r). Portanto E, é dependente não somente dos campos de força que a descreve, mas também dos parâmetros utilizados que os constituem, sendo que os campos de força mais conhecidos e aplicados a problemas biológicos são: CHARMM, AMBER e MMFF. A parametrização de cada campo de força citado, os tornam únicos e específicos para determinados tipos de análise, nos quais estes parâmetros podem ser provenientes de dados experimentais como cristalografia de raios X, ou mesmo cálculos de mecânica quântica com alto nível de teoria, em um conjunto de substâncias que servem como referências, como aminoácidos, funções orgânicas, íons, etc.

5.2 CHARMM-*Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*

O campo de força CHARMM [117, 118] criado por Martin Karplus e Bruce Gelin, em Harvard, inicialmente foi desenvolvido para tratar moléculas isoladas, e posteriormente novas versões passaram a tratar moléculas em solução, assim como sólidos cristalinos, proteínas, ácidos nucleicos e grupos prostáticos. O *CHARMM* foi inicialmente parametrizado por dados experimentais, no qual o programa ou campo de força, de mesmo nome, pode ser utilizado para ler/construir modelos, para minimizar a energia, busca conformacional, obter frequências vibracionais, assim como realizar e interpretar dados de dinâmica molecular, etc. Na concepção do *CHARMM*, os átomos são considerados como pontos de massa carregados, no qual cada átomo no sistema real corresponde a um único átomo no *CHARMM*. Assim como em outros campos de força, a representação *all-atom* pode ser substituída pela *extended-atom*

para sistemas com grande número de átomos, entretanto, o CHARMM suporta as três representações possíveis, as duas já citadas e a *explicit h-h bonding only*, nos quais cada uma dessas representações possuem suas respectivas vantagens e desvantagens dependendo do sistema a serem aplicadas. [118]

A Equação 4.81 descreve o funcional da energia para o campo de força do CHARMM. [117]

$$E = E_{lig} + E_{\theta} + E_{\psi} + E_{\omega} + E_{vdW} + E_{els} + E_{lig-H} + E_{cr} + E_{c\phi} \quad (4.81)$$

Nos quais os quatro primeiros termos correspondem aos termos de energia interna, sendo E_{lig} (Equação 4.82) e E_{θ} (Equação 4.83) à energia do potencial da ligação e do ângulo de ligação, respectivamente. [117] Ambos possuem a mesma dependência harmônica discutida anteriormente.

$$E_{lig} = \sum k_{lig}(r - r_o)^2 \quad (4.82)$$

$$E_{\theta} = \sum k_{\theta}(\theta - \theta_o)^2 \quad (4.83)$$

No CHARMM, o termo de torsão é dividido em duas componentes, uma relativa ao ângulo diedro entre dois átomos, E_{ϕ} (Equação 4.84), e a torsão imprópria E_{ω} (Equação 4.85) para garantir quiralidade e planaridade em determinados tipos de átomos, proporcionando um melhor comportamento do FF na região de mínimo. [117]

$$E_{\phi} = \sum |k_{\phi}| - k_{\phi} \cos(n\phi) \quad (4.84)$$

$$E_{\omega} = \sum k_{\omega}(\omega - \omega_o)^2 \quad (4.85)$$

Como dito anteriormente, desde o seu desenvolvimento o CHARMM conta com um amplo banco de parâmetros para as constantes geométricas e de força, obtidas de dados experimentais como cristalografia,

espectroscopiaIV, etc. O termos não-ligantes das Equações 4.86 e 4.87, constituem as interações de van der Waals (E_{vdW}) e o potencial eletrostático (E_{elst}), respectivamente. [117]

$$E_{vdW} = \sum_{i,j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{i,j}}{r_i^6} \right) sw(r_{ij}^2, r_{on}^2, r_{off}^2) \quad (4.86)$$

$$E_{els} = \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon r_{ij}} \quad (4.87)$$

Sendo que, sw são “*switching functions*” com $sw(x, x_{on}, x_{off})=1$ para $x \leq x_{on}$ e 0 para $x \geq x_{off}$.

No *CHARMM* as interações de hidrogênio, envolvendo os átomos AA, A, H, D (receptor antecedente, receptor, hidrogênio, doador) são computadas em termos da distância A–D e do ângulo A–H–D, como mostra a Equação 4.88 abaixo. [117]

$$E_{lig-H} = \sum \left(\frac{A}{r_{AD}^i} - \frac{B}{r_{AD}^j} \right) \cos^m(\theta_{A-H-D}) \cos^n(\theta_{AA-A-H}) sw(r_{AD}^2, r_{Hon}^2, r_{Hoff}^2) \\ sw[\cos^2(\theta_{A-H-D}), \cos^2(\theta_{Hon}), \cos^2(\theta_{Hoff})] \quad (4.88)$$

Nos quais, os últimos termos na Equação 4.88 servem para restringir as harmônicas e os ângulos diedros, quando se faz necessário restringir mudanças na estrutura geométrica.

5.3 AMBER-Assisted Model Building with Energy Refinement

O conceito do *AMBER* [119] como campo de força/programa foi desenvolvido em 1978 na *UCSF* (*University of California, San Francisco*) por Paul Weiner e Peter Kollman, sendo o primeiro aluno de pós-doc de Martin Kaplus (um dos desenvolvedores do *CHARMM*). Inicialmente, o *AMBER* foi criado para tratar apenas moléculas orgânicas; entretanto, foi sendo aperfeiçoado para tratar sistemas mais complexos como proteínas, polímeros e ácidos nucleicos. A utilização da representação *united-atom* ao invés da representação *all-atom* acelera os cálculos

quando comparados a outros campo de força, nessa representação os hidrogênios não-polares são omitidos. Além disso, o *AMBER* inclui o termo para tratar ligações de hidrogênio e os parâmetros são obtidos teoricamente, principalmente utilizando o nível de teoria MP2/6-311* para inúmeras funções orgânicas, incluindo aminoácidos. [119]

Desde as primeiras versões, o *AMBER* minimiza a função de energia potencial através dos métodos *steepest descent* ou gradiente conjugado. Por sua vez, essa energia poder ser decomposta em quatro contribuições principais: [119] E_{lig} (Equação 4.89-energia que engloba os átomos ligados covalentemente), E_{θ} (Equação 4.90-energia associada aos ângulos de ligação na geometria), E_{ω} (Equação 4.91-energia associada a torsão de uma ligação) e E_{nb} (Equação 4.92-energia para todos os pares de átomos não-ligados). As Equações 4.89 a 4.92 são equações gerais, sendo seus parâmetros e constantes modificados de acordo com o FF, como por exemplo, no *GAFF* (*General AMBER Force Field*), *PARM* (*AMBER* parametrizado para pequenas moléculas), etc. [120]

$$E_{lig} = \sum k_{lig}(l - l_o)^2 \quad (4.89)$$

$$E_{\theta} = \sum k_{\theta}(\theta - \theta_o)^2 \quad (4.90)$$

$$E_{\omega} = \sum \sum_n \frac{1}{2} V_n [1 + \cos(n\omega - \gamma)] \quad (4.91)$$

$$E_{nb} = \sum_{j=1}^{N-1} \sum_{i=j+1}^N f_{ij} \left\{ \varepsilon \left[\left(\frac{r_{oij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_{oij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi \varepsilon_o r_{ij}} \right\} \quad (4.92)$$

Sendo que, na Equação 4.92 o primeiro e último termo do somatória equivalem a interação de van der Waals (E_{vdW}) e a atração eletrostática de Coulomb (E_Q), respectivamente.

5.4 MMFF94-Merck Molecular Force Field

O *MMFF94* [121] desenvolvido por Halgren foi inicialmente parametrizado através de um conjunto de dados computacionais com níveis de teoria MP2/6-31G* e HF/6-31G*, como alternativa ao MM3 para fases condensadas em dinâmica molecular, sendo aplicado a pequenas moléculas, proteínas, fármacos e no estudo de interações doador-aceptor. Por ser parametrizado teoricamente para uma gama de substâncias e conformações, o *MMFF94* proporciona excelentes resultados para análises em fase condensada, assim como ocorre no *OPLS (Optimized Potential for Liquid Simulations)* [122] é utilizado o *effective pair potential*, que trata a distribuição de cargas a partir da polarizabilidade molecular do solvente utilizado. A Equação 4.93 mostra a expressão geral da energia para o *MMFF94*.

$$E = E_{rij} + E_{\theta_{ijk}} + E_{r,\theta_{i,j,k}} + E_{\omega_{i,j,k,l}} + E_{OOP\omega_{i,j,k,l}} + E_{vdWi,j} + E_{Qi,j} \quad (4.93)$$

Sendo, $E_{OOP\omega_{i,j,k,l}}$ a energia referente a torção imprópria fora do plano formado pelos átomos i, j, k e l.

6 Docking Molecular (DM)

Dentro da modelagem molecular, o *docking* ou docagem molecular (DM) é uma das possíveis abordagens para prever interações do tipo não-covalente entre macromoléculas (receptor/alvo biológico) e pequenas moléculas (ligante/substrato). O DM pode ser usado tanto para prever os sítios ativos da macromolécula e/ou obter as diferentes conformações do ligante, assim como é uma ferramenta muito útil e versátil para elucidar o metabolismo em função do *design* de fármacos. O DM têm sido utilizado desde a década de 80, sendo originalmente desenvolvido para simular interações entre pequenas moléculas e proteínas, contudo continua sendo até hoje, uma área de intenso avanço. Atualmente, o *docking* juntamente com *virtual screening*, é amplamente utilizado no design de novos fármacos, devido ao seu baixo custo computacional

comparado, por exemplo, as técnicas de simulação, como a dinâmica molecular. [123–125]

A necessidade de elucidar ao nível molecular as interações de sistemas complexos possibilita o desenvolvimento de softwares e novos métodos que se encaixem as diversas situações a serem estudadas. Dentro dessa vasta gama de possibilidades, os sistemas mais recorrentes na literatura são sistemas proteicos-fármacos, proteína-proteína, proteína-enzima, e, portanto, a maioria dos *softwares* é projetada para atender e elucidar situações bioquímicas deste tipo, já que são necessárias informações experimentais, para validação dos resultados obtidos pela docagem. [123–125] Os programas mais utilizados e reportados na literatura para tais fins são: DOCK, [126] AutoDock, [127] AutoDock Vina, [128] FLEXX, [129] HADDOK, [130] GOLD, [131] assim como servidores de uso *online* como o SwissDock, [132] DockThor, [133] Hex, [134] entre outros.

Em geral, o processo do *docking* na maioria dos programas e servidores citados consiste em três passos principais: *pose*, *score* e *rank*. No qual cada etapa adiciona um grau de complexidade ao processo de *docking*.

6.1 Pose

Nesta primeira etapa o algoritmo específico para cada programa prevê se a conformação e orientação do ligante se encaixam nos sítios ativos do receptor. Devido ao alto grau de liberdade das várias conformações possíveis, este processo resulta em inúmeros resultados aleatórios, centenas até milhares de conformações. Entretanto, esta etapa é determinante pra obtenção de resultados mais precisos de *docking*, já que a flexibilidade do ligante-receptor é um fator determinante desta etapa inicial. [123–125]

Dentro dos métodos de *posing* possíveis, o mais utilizado é manter o receptor rígido e tornar o ligante flexível/rígido, diminuindo

consideravelmente o número de conformações obtidas. Esta flexibilidade pode ser tratada com três métodos principais: sistemáticos, estocásticos e por simulação. O método sistemático, por exemplo, implementado no programa DOCK, consiste em investigar cada grau de liberdade do ligante, pela partição do ligante em fragmentos rígidos e flexíveis, no qual ocorre o “crescimento” do ligante em torno do caroço rígido no sítio ativo do receptor. Já o método estocástico, utilizado no programa AutoDock, consiste em algoritmos que operam aleatoriamente, fazendo pequenas alterações no ligante, no qual é avaliada a nova conformação através da raiz quadrada do desvio padrão médio (rmsd) da geometria e da energia comparada à conformação anterior. Apesar da dinâmica molecular ser um dos métodos mais comuns em simulação, seu alto tempo de execução e a necessidade de recursos computacionais mais complexos, a tornam limitada para buscas conformacionais, contudo é uma opção válida, já que é um dos únicos métodos no qual o solvente, a temperatura e até pressão são incluídos no cálculo (efeitos entrópicos) tornando o ambiente de simulação mais fiel ao experimental real. [123–125]

6.2 Score

O processo de *scoring* é aplicado para refinar os resultados obtidos na etapa de *posing*, já que são algoritmos complementares que tentam quantificar e avaliar a natureza da interação ligante-receptor, levando em consideração a geometria e/ou termo eletrostático (van der Waals). Entretanto, ambos os fatores entálpicos e entrópicos modulam essa interação, infelizmente até hoje, a maioria dos programas de *docking* não possuem algoritmos que incluam o termo entrópico em seus refinamentos, tornando o processo de *scoring* deficiente e limitado a termos entálpicos. Além da omissão do termo entrópico dos algoritmos de *scoring*, outros fatores tornam o processo de *docking* bastante complexo e longe de ser uma abordagem completa. Dentre alguns fatores se destacam a falta de estruturas cristalográficas de ligantes e principalmente receptores com boa resolução ($< 2,0 \text{ \AA}$), além da omissão da participação de solvente e outras moléculas como íons, nas

interações ligantes-receptores, principalmente entre ligantes-proteínas, fármacos-DNA, etc. [123–125]

Atualmente as funções de *scoring* podem ser classificadas em três tipos principais: baseada em campos de força, empíricas e *knowledge-based*. As funções baseadas em campo de força quantificam a energia de interação entre ligante-receptor e as ligações internas dos ligantes, ambas são descritas essencialmente pelos termos de van der Waals (Potencial de Lennard-Jones - Equação 4.94) e eletrostático (Potencial de Coulomb - Equação 4.95). [123–125]

$$E_{vdW}(r) = \sum_{j=1}^N \sum_{i=1}^N 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (4.94)$$

$$E_Q(r) = \sum_{i=1}^{N_A} \sum_{j=1}^{N_B} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_o r_{ij}} \quad (4.95)$$

Entretanto, pela natureza da formulação desses campos de força, como no caso do *AMBER* para o AutoDock, não há inclusão de termos de solvatação e outros termos entrópicos, além de ser limitada a acuracidade do tratamento das interações de longo alcance. Uma alternativa, presente no próprio AutoDock e GOLD é incluir explicitamente as ligações-hidrogênio, aumentando desta maneira o potencial de reconhecimento molecular. [123–125]

As funções de *scoring* empíricas são desenvolvidas através do ajuste de parâmetros para tentar reproduzir dados experimentais como energias de ligação e/ou conformações, através de várias funções parametrizadas. O *design* dessas funções é mais simples que as baseadas em campo de força, nos quais os coeficientes dessas funções são obtidos por regressão linear utilizando parâmetros de energia e potencial, obtidos da cristalografia de raios-X. Uma das principais desvantagens desse método é a dependência de dados experimentais assim como a própria natureza dos ajustes. Contudo, essas funções empíricas podem ser desenvolvidas para incluir termos entrópicos e efeitos de solvatação

(PCM). Por último, as funções *knowledge-based* são desenvolvidas para reproduzir parâmetros experimentais e não energias de ligação, no qual a interação ligante-receptor é modelada pelo potencial atômico entre os átomos.

6.3 Rank

A etapa de *rank* é a mais avançada e estima com acuracidade as energias de ligação ou afinidade entre ligante-receptor das diversas conformações obtidas, entretanto, envolve cálculos mais elaborados que o processo de *scoring*, no qual é intrínseco ao algoritmo de cada programa.

A efetividade ou sucesso do *docking* molecular depende então dos três principais processos citados acima e das escolhas inerentes a eles. Frente a outros métodos como a dinâmica molecular, este possui vantagens e desvantagens dependendo do sistema a ser estudado e dos objetivos a serem alcançados. Para cálculos de otimização geométrica ou minimização de energia e afinidade, é uma das ferramentas mais úteis, pelo processamento rápido e funcional, mas ainda é uma metodologia muito limitada, necessitando de desenvolvimentos futuros. Contudo, inúmeras ferramentas *online* (servidores e programas) estão disponíveis gratuitamente para não somente tornar a metodologia de *docking* mais acurada mas também automatizada. Dentre essas ferramentas destacam-se os servidores *online* BLAST, SWISS-MODEL, PDB_HYDRO, PDB2PQR, DockThor e o programa AutoDock Vina, que foram utilizados no decorrer deste trabalho, e em conjunto, formaram um protocolo para investigar as interações receptor-ligante de interesse.

6.4 BLAST-*Basic Local Alignment Search Tool*

O servidor BLAST [135–138], criado em 1990 e atualmente hospedado no *NCBI* (*National Center for Biotechnology Information*), é uma ferramenta que procura regiões de similaridade local entre sequências, sejam estas nucleotídeos (*Nucleotide BLAST*) ou resíduos (ami-

noácidos) em proteínas (*Protein BLAST*). O programa compara a sequência desejada a um *database* de sequências e calcula estatisticamente os resultados obtidos. Devido ao seu algoritmo simples e robusto, ele é implementado de inúmeras maneiras, como por exemplo, para traduzir uma sequência de nucleotídeos em proteína, pelo módulo *blastx*, enquanto o processo contrário é realizado no módulo *tblastn*, entre outros.

Além disso, o algoritmo local a partir de uma sequência definida procura apenas por subsequências conservadas e por simples comparação, origina várias subsequências ou modelos. Essas sequências, que no caso de proteínas são um segmento contínuo de resíduos, podem apresentar qualquer tamanho. O *BLAST*, por comparação entre duas sequências alinhadas e de mesmo tamanho, fornece um *score* (pode ser interpretado como uma pontuação) sobre a similaridade local, sendo esta a soma da semelhança para cada par de resíduos alinhados. Neste sentido pode ser definido o par de segmentos de comprimento idêntico, que apresenta a pontuação mais alta (MSP). A pontuação MSP é calculada heurísticamente pelo *BLAST* e fornece uma medida da similaridade local para qualquer par de sequências, no qual o tempo de cálculo é proporcional ao produto dos comprimentos das duas sequências.

Os resultados obtidos podem ser refinados adotando um *score* de corte (S), no qual é incluída a sequência de maior MSP, pode-se ainda, dentro dos modelos e *templates* obtidos, escolher sequências com similaridade variadas. Contudo, na comparação entre sequências de espécies diferente a similaridade desejada deve ser a mais próxima de 100% , para garantir a homologia entre as sequências desejadas. Intrinsecamente, para acelerar e refinar os resultados, o *BLAST* compara um par de palavras (w), que é um segmento de comprimento fixo, entre os resultados com um *score* de no mínimo T. Apesar do aumento do custo computacional, quanto menor o valor de T, maior a chance de um par de segmentos com pontuação no mínimo S conter um par de palavras (w) com esse *score*.

A primeira versão do *BLAST*, verificava 500.000 resíduos/s para uma base de dados de proteínas. Para nucleotídeos a abordagem é feita diferente, quatro nucleotídeos são agrupados em um *byte*, aumentando a velocidade de busca no banco de dados em quatro vezes, cerca de 2.106 bases/s poderiam ser escaneados. Claro que hoje, com o avanço da tecnologia e uso de computadores potentes esses números são bem mais significativos, tornando o processo de busca ultra-rápido. Matematicamente quando duas seqüências aleatórias de comprimentos m e n , respectivamente, são comparadas, a probabilidade de achar um par de segmentos com *score* maior ou igual a S , é dada por:

$$1 - e^{-Kme^{-\lambda S}} \quad (4.96)$$

Sendo, K e λ parâmetros estatísticos.

Contudo, a probabilidade de encontrar c ou mais pares de segmentos distintos, todos com uma pontuação de pelo menos S , é calculada pela Equação 4.97.

$$1 - e^{-Kme^{-\lambda S}} \sum_{i=0}^{c-1} \frac{1 - e^{-Kme^{-\lambda S}}}{i!} \quad (4.97)$$

O tempo necessário para executar o *BLAST* é a soma dos tempos requeridos para: compilar uma lista de palavras w que possuem *score* no mínimo T (*score* acima de S); para escanear o banco de dados e para ampliar os resultados na busca de pares de segmentos com *score* maior que T . Portanto, o tempo para realizar essas tarefas depende dos parâmetros w e T . O tempo computacional do *BLAST* para proteínas pode ser estimado através da Equação 4.98.

$$t = aW + bN + \frac{cNW}{20W} \quad (4.98)$$

Sendo, W o número de palavras geradas, N o número de resíduos no banco de dados e a , b e c constantes. O termo W conta para compilar a lista de palavras, o termo N abrange a varredura do banco de dados e o termo NW é para estender o número de tentativas.

6.5 SWISS-MODEL

O SWISS-MODEL [139–142] é um servidor totalmente automatizado que realiza a homologia de proteínas a partir de uma sequência de aminoácidos específica. O SWISS-MODEL é hospedado no *Biozentrum-The Center of Molecular Life Sciences* e foi o primeiro servidor *online* no estudo de homologia entre proteínas há quase 25 anos.

Estudos de homologia são necessários quando os modelos 3D experimentais das proteínas não estão disponíveis ou estão com uma baixa resolução cristalográfica, ou ainda, quando é desejado comparar uma determinada proteína entre espécies diferentes. O estudo de homologia (ou modelagem comparativa) entre duas ou mais sequências pode ser dividido em três etapas: i) identificação do modelo alvo, ii) seleção do modelo, e iv) estimativa da qualidade do modelo.

O SWISS-MODEL gera modelos 3D confiáveis, via interface-web, no qual todos os modelos gerados tem sua qualidade estimada. Devido a interface simples, sem a necessidade de baixar programas que utilizem MM ou grandes bases de dados, o SWISS-MODEL é um dos servidores mais utilizados no mundo, estima-se que aproximadamente 1 modelo/min seja avaliado. Com a ajuda dessa interface simples o usuário pode procurar modelos em duas bases de dados disponíveis, usando o HMM (*Hidden Markov Models*) ou o SMTL (*SWISS-MODEL Template Library*), além disso, o SWISS-MODEL apresenta outras facilidades como análise entre modelos, alinhamento de sequências, efeito da participação de ligantes e cofatores, etc.

A identificação do modelo nas bibliotecas disponíveis pode ser feita a partir de dados iniciais diferentes, como o fornecimento da sequência FASTA dos resíduos, a identificação UniProt ou até mesmo o arquivo *.pdb*. Dificilmente a sequência não será achada nas bibliotecas, já que são robustas e atualizadas, pois a cada estrutura lançada pelo RCS-PDB, as coordenadas e as informações são processadas e importadas na SMTL.

A SMTL em conjunto com o BLAST e Hhblits, que trabalham em paralelo, identificam e obtêm modelos alinhados com a sequência desejada, garantindo uma identidade de sequência ótima. O alinhamento de sequências é regido pela probabilidade da função de densidade (PDF), tendo seu valor máximo atribuído a estrutura semelhante mais provável, no qual é estimado pela magnitude do GMQE (Índice Estimado da Qualidade Global).

Se no conjunto de resultados, um ou mais modelos são idênticos a sequência desejada, a informação do alinhamento; sequências e coordenadas 3D dos modelos específicos, que podem ser selecionados manualmente ou não; são usadas para construir o modelo final da proteína de interesse. A sequência manual é facilitada já que todos os modelos adequados para a sequência alvo estão dispostos em tabelas e classificados pelo GMQE. Pode-se ainda verificar cada modelo em um ambiente 3D, assim como suas propriedades, analisar a superposição estrutural, alinhamento das sequências, entre outros.

O processo final, quando o modelo já foi construído, é estimar a sua qualidade, que é avaliada pela função de pontuação QMEAN, [143] que utiliza a combinação linear de seis descritores estruturais, sendo quatro deles potenciais estatísticos da força média. Dentre esses, a geometria local é avaliada pelo potencial do ângulo de torção sobre três aminoácidos consecutivos. Dois potenciais dependentes da distância sobre todos os átomos são usados para incluir as interações de longo alcance. Um potencial de solvatação que descreve o estado dos resíduos e dois termos que refletem a afinidade da estrutura secundária calculada e predita a acessibilidade do solvente.

Os parâmetros acima são comparados as distribuições estatísticas obtidas a partir de estruturas experimentais de alta resolução. Cada resíduo da sequência recebe uma pontuação (*score*) de confiabilidade que varia entre 0 e 1, afim de descrever a semelhança estrutural entre o resíduo e as estruturas disponíveis no banco de dados. Um *score* global do QMEAN também é estimado, chamado de *Z-score*, que indica a

qualidade geral do modelo, relacionando os valores de score obtidos com os scores calculados de um expressivo conjunto de estruturas de raios-X de alta resolução.

6.6 PDB_HYDRO

O servidor PDB_HYDRO [144, 145] desenvolvido no Dela-rue Group, no Instituto Pasteur, tem como principal aplicação pre-dizer/arrumar as posições dos átomos das cadeias laterais de uma proteína a partir das coordenadas dos átomos da cadeia principal. O método que é baseado na aproximação *MFT* (*Mean Field Theory*) utiliza de uma biblioteca de rotâmeros que iterativamente refina a matriz conformacional das cadeias laterais de uma proteína (CM), no qual o elemento de cada ciclo $CM(ij)$ fornece a probabilidade da cadeia lateral i adotar a conformação do seu possível rotâmero j . Onde, cada resíduo sente a média de todos os ambientes possíveis, com o peso de suas respectivas probabilidades. A dimensão da matriz conformacional (CM), pode ser definida pelo produto do número de resíduos da proteína (N) pelo número máximo de rotâmeros possíveis (K_i) para uma dada cadeia lateral i . Então, a somatória de todas as probabilidades da cadeia lateral i adotar a conformação descrita pelo rotâmero, de k a K_i , deve ser igual 1, Equação 4.99.

$$\sum_{k=1}^{K_i} CM(i, k) = 1 \quad (4.99)$$

Pela aproximação MFT, o k^{esimo} possível rotâmero do resíduo i possui um potencial efetivo (médio), $E(i, k)$, definido pela Equação 4.100.

$$E(i, k) = \int \rho(X)U(i, k, X)dX \quad (4.100)$$

Sendo, X uma variável espacial e ρ é a função de densidade de probabilidade para a variável X , normalizada para 1.

A função de densidade de probabilidade sobre todas as coordenadas de X é dada pelo produto de densidades de probabilidades,

Equação 4.101.

$$\rho(X) = \prod_{j=0}^N \rho_j(x_j) \quad (4.101)$$

Sendo que, na equação acima o produto das densidades de probabilidade equivalem a particionar a proteína em sua cadeia principal e cadeias laterais, considerando-as independentes.

A energia potencial (U), neste método ignora as interações eletrostáticas assim como as energias associadas as torsões, apenas são incluídas as interações de van der Waals e parâmetros tabelados para a formação de pontes dissulfeto, Equação 4.102.

$$U = \varepsilon \left[\left(\frac{r_o}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_o}{r} \right)^6 \right] \quad (4.102)$$

Sendo, r a distância interatômica entre os átomos A e B, e ε e r_o parâmetros dependentes da natureza química da de A e B.

A escolha final da conformação do resíduo i na cadeia lateral deve atender a dois critérios, o rotâmero deve ter a menor energia potencial e maior probabilidade. Então, o modelo final da estrutura da proteína é construído, com a formação das cadeias laterais, onde cada resíduo segue esses critérios. Posteriormente, a conformação é minimizada com o campo de força *CHARMM*, utilizando a representação *explicit-hydrogen* (os átomos de hidrogênio são combinados com os átomos pesados enquanto os hidrogênio polares são tratados explicitamente).

O PDB_HYDRO também tem outras funcionalidades, como solvatar a estrutura pelo método *MMPBSA* (*Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area*), adicionar cargas, entre outros.

6.7 PDB2PQR

O aplicativo e servidor PDB2PQR [146] foi escrito por Baker e colaboradores para resolver de uma forma rápida e eficiente os passos necessários para solvatação contínua de proteínas, como o método de Poisson-Boltzmann, afim de investigar a influência eletrostática no ambiente biomolecular. Para isso, o servidor automatiza várias tarefas comuns

no preparo das estruturas para o cálculo eletrostático de solvatação contínua. Os métodos de solvatação contínua, no entanto, são dependentes de dados estruturais completos e parâmetros de campo de força, como carga e raio atômico, sendo esses fatores limitantes para o seu uso. Contudo, os métodos no qual o solvente é tratado implicitamente (contínuo ou médio) ainda são preferíveis aos métodos de solvatação explícita, já que requerem um esforço computacional significativamente menor.

O primeiro passo na rotina do PDB2PQR é a partir de um arquivo *.pdb* ou PDBID, verificar a sintaxe do arquivo e procurar os possíveis átomos faltantes. Se a reconstrução dos átomos pesados (átomos que não são hidrogênios) for viável o PDB2PQR utiliza topologias padrões de aminoácidos, e são determinadas as novas posições para os átomos faltantes. Uma opção de *debump* está disponível para garantir que os átomos pesados faltantes não estão sendo colocados em um espaço menor que o raio de van der Waals de outros átomos vizinhos. Há também a opção de desativar este recurso.

Em um segundo passo, os hidrogênios são adicionados a estrutura através do método de Monte-Carlo garantindo ângulos de fase ótimas para os resíduos. Em seguida, os hidrogênios da água são inseridos e otimizados também por Monte-Carlo para se obter o máximo de ligações de hidrogênio entre água-água e proteína-proteína. Nesse passo, também é atribuído os estados de protonação dos resíduos, pelo módulo PROPKA, [147] com base em valores ótimos de ligação de hidrogênio, energia local e modelo de pKa. A verificação do posicionamento dos hidrogênios também é realizada para evitar os conflitos estéricos.

No passo seguinte, o PDB2PQR atribui cargas e raios atômicos baseados na escolha do campo de força (*CHARMM*, *AMBER*, etc). Nesta etapa o arquivo *.pdb* da origem ao arquivo *.pqr* que engloba esses atributos e que pode ser usado em programas como o AutoDock e AMBER. Se o usuário deseja fazer os cálculos de solvatação contínua pelo modelo de Poisson-Boltzmann, a partir do arquivo *.pqr* será gerado

um arquivo de submissão para o programa APBS-Poisson-Boltzmann Solver.

6.7.1 Módulo PROPKA

Para realizar qualquer estudo de interação no qual o alvo seja proteínas é indispensável saber os estados de protonação de cada resíduo constituinte, já que a dependência da proteína com o pH, afeta sua afinidade, atividade catalítica, solubilidade, carga e também sua estabilidade, tornando ela *fold* ou *unfold*.

O PROPKA [147] seja ele usado como módulo do PDB2PQR ou como programa com GUI (*Graphic User Interface*), prevê o pKa (Equação 4.103) dos resíduos da proteína de uma maneira rápida e precisa. Esses valores são calculados utilizando o método de perturbação do valor do modelo pKa, pK_{model} , devido ao ambiente proteico. Essa perturbação vem da penalidade da desolvatação (DS), das ligações de hidrogênio do *back-bone* da proteína, de cadeias laterais (HB) e de interações com outros grupos carregados (CC).

$$pKa = pK_{model} + \Delta pK_{DS} + \Delta pK_{HB} + \Delta pK_{CC} \quad (4.103)$$

A forma funcional destes termos e os parâmetros associados são determinados empiricamente e a relação entre a perturbação e a estrutura é descrita por funções simples de distância e ângulo.

Os resultados dos cálculos do PROPKA são salvos em um arquivo de texto formatado que contém os valores pKa e pK_{model} para cada resíduo ionizável. O arquivo de saída PROPKA também contém a carga total da proteína e a energia livre dependente de pH do desdobramento, tanto como em funções de pH. No qual, a energia livre pode ser calculada a partir da diferença na carga proteica total entre o estado fold e unfolded a um determinado pH, Equação 4.104.

$$\Delta G_{ij}(pH) = \Delta G_{ij}(pH_{ref}) + 1,36 \int_{pH_{ref}}^{pH} (Q_{ij} - Q_{ref}) dpH \quad (4.104)$$

Sendo, $G_{ij}(\text{pH}_{ref})$ a energia livre de desdobramento devido a diferença de pH, e o último termo é a mudança dependente do pH na energia livre de desdobramento relacionada à troca na carga de proteína Q entre dois estados dobráveis.

6.8 DockThor

O portal brasileiro DockThor [133,148] desenvolvido pelo grupo MMSB/LNCC Laboratório Nacional de Computação Científica), utiliza recursos do SINAPAD (Sistema Nacional de Processamento de Alto Desempenho), especificamente do Santos Dumont, o supercomputador com maior capacidade da América Latina, para realizar o *docking* de ligantes altamente flexíveis assim como realizar o *virtual screening* em larga escala para o desenvolvimento de novos fármacos.

O *docking* molecular realizado no DockThor pode ser de dois tipos, rígido-rígido ou flexível-rígido, no qual o receptor ou alvo biológico é considerado rígido. Contudo, o portal é constantemente atualizado frente as necessidades do usuário, e portanto novas versões devem incluir a flexibilidade do receptor, tornando possível a realização do ensemble docking e do *docking* com receptores não-proteicos

O primeiro passo para a realização do *docking* no DockThor é preparar o receptor, no qual o usuário envia a proteína alvo em formato *.pdb* ou *.in*. Em seguida, todos os hidrogênios da proteína serão removidos e posteriormente adicionados. Em uma etapa opcional, o usuário prepara a proteína considerando os estados de ionização dos aminoácidos, para isso essa informação deve ser obtida em programas externos como o PROPKA e o resultado gerado deve ser adicionado manualmente na sessão de preparação da proteína. Em um quarto passo o receptor é enviado para a realização do *docking*. O portal DockThor ainda fornece a facilidade de em cada passa o usuário poder baixar os arquivos gerados.

A preparação do ligante é de forma semelhante, um arquivo

.pdb, *.sdl* ou *.mol2* pode ser enviado e os hidrogênios são removidos e novamente adicionados na etapa de preparação do ligante. O ligante é parametrizado com o campo de força *MMFF94s*, ou seja, a função de *score* do DockThor é baseada em campo de força. Em uma etapa opcional, a de reparação, o usuário escolhe manualmente quais ligações terão flexibilidade. E por último o arquivo do ligante estará pronto e será enviado para o *docking*.

Se no domínio das proteínas, cofatores ou água de cristalização forem cruciais para a interação ligante-receptor, eles devem ser adicionados antes da realização do *docking* molecular.

No pré-*docking* a escolha do *grid* englobando a proteína ou seu domínio é realizado, no qual as informações do *grid center* obtido (via aplicativo 3D Jsmol) são inseridas automaticamente. A extensão entre dois pontos no *grid* também pode ser escolhida (*default*=0,250 Å). O portal ainda oferece a funcionalidade de alterar parâmetros do algoritmo genético (GA), contudo esses valores já são otimizados.

Na etapa de *rank* o DockThor possibilita a escolha entre energia total e energia de interação. Esses resultados são vistos interativamente, via imagens 3D e fornecidos numa tabela que lista a corrida, o modelo, ambas energias total e de interação (kcal.mol^{-1}) e o RMSD, no caso da opção *redocking* ter sido aferida.

6.9 AutoDock Vina

O AutoDock Vina [128] é um programa gratuito que realiza *docking* molecular e *virtual screening*, foi desenvolvido e implementado pelo Prof. Dr. Oleg Trott no *TSRI* (*The Scripps Research Institute*).

Comparado com o seu predecessor o AutoDock 4, o Vina além de ser mais rápido gera resultados de maior acuracidade. Um dos aspectos mais importantes do Vina, e diferente quando comparado a rotina do AutoDock, é o cálculo interno do mapa do *grid* assim como a energia de interação entre cada par de átomo.

Ambas etapas de preparação do receptor e preparação do ligante podem ser feitas no AutoDock Tools. [149] Resumidamente, em uma etapa inicial a molécula do receptor é preparada a partir de um arquivo *.pdb* por exemplo, onde os hidrogênios não polares, são retirados e apenas os polares são mantidos (representação NPHs), o arquivo *.pdb* então é verificado e reescrito como *.pdbqt* onde as cargas parciais do tipo Gasteiger-Marsili [150, 151] são adicionadas para cada átomo. Contudo, o arquivo *.pdb* contendo o modelo correto do alvo biológico que será tratado como receptor deve ser pré-preparado em outros programas ou servidores *online*. O ligante também é preparado de forma análoga nesta etapa *pré-docking*. Nesta, etapa pode-se escolher, na preparação do ligante, as ligações que serão tratadas como flexíveis ou rígidas.

Numa etapa posterior e interativamente, é obtido as dimensões e tamanho da caixa de *grid*, que deve englobar todo o receptor, quando é desconhecido o seu domínio (sítio ativo) ou englobar apenas o sítio ativo de interesse. Os pontos nos eixos *x*, *y* e *z* assim como as coordenadas do *grid box* e quantidade de pontos, podem ser exportadas num arquivo *.txt* para o *script* de submissão do Vina.

Com ambos arquivos de submissão preparados, *.pdbqt* do ligante e receptor e os parâmetros da caixa de *grid*, pode-se iniciar o Vina no ambiente *bash* ou ainda através de vários *plugins* disponíveis como no próprio AutoDock Tools ou no PyMol, ambos programas são disponíveis no pacote MGLTools. [149] Antes de iniciar o Vina, pode ser necessário mudar algumas configurações de *default* para garantir a acuracidade dos resultados a serem obtidos.

Um dos parâmetros mais importantes é a *exhaustiveness* que controla o número de corridas independentes que o programa irá fazer a partir de conformações randômicas. Portanto, para *exhaustiveness* = 8 (*default*) o Vina realiza 8 corridas, contudo cada corrida é composta por *n* passos, que são determinados heurísticamente pelo algoritmo do programa (método estocástico), cada passo, por sua vez, depende do tamanho e flexibilidade do ligante. Cada passo envolve realizar uma per-

turbação randômica da conformação (algoritmo de otimização) seguida por uma otimização local. Sendo avaliado pelo critério de Metropolis-Hastings [152] enquanto a otimização local é regida pelo algoritmo Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno [153, 154] (BFGS), que é um método Quasi-Newton para resolver problemas não-lineares de otimização. Portanto o método de otimização do Vina é o *Iterated Local Search*, um algoritmo genético com gradiente local de otimização.

No final de cada corrida, os resultados mais promissores são selecionados, refinados e organizados em ordem crescente de *binding* (aka energia de interação ou afinidade) para dar origem ao resultado final do *docking* molecular. O Vina pelo *default* escolhe os 9 modos mais estáveis, contudo este número pode ser alterado pelo usuário.

6.9.1 Formalismo Matemático do AutoDock Vina

A função de *score* (pontuação) do Vina possui uma parte dependente das conformações, que pode ser definida como:

$$c = \sum_{i < j} f_{titj}(r_{ij}) \quad (4.105)$$

Sendo c , a soma que engloba para todos os pares de átomos (i,j) que podem se mover um relativamente ao outro, com o limite até as interações 1-4. Cada átomo i é considerado como um tipo t_i e cada átomo j como t_j . f_{titj} é um conjunto de funções de interação entre os átomos i e j que são dependentes da distância entre i e j , r_{ij} .

A função c , dependente das conformações, também pode ser interpretada como a soma das contribuições inter (c_{inter}) e intramoleculares (c_{intra}), Equação 4.106. Apenas as contribuições intramoleculares são levadas em conta pelo algoritmo de otimização (BFGS) que tem o objetivo de achar o mínimo global de c e "rankear" as outras conformações de baixo *score*.

$$c = c_{intra} + c_{inter} \quad (4.106)$$

A energia livre de ligação (interação) ou afinidade pode ser calculada em termos da parte intermolecular que apresentam a menores valores de c , representada com o subscrito 1, Equação 4.107.

$$s_1 = g(c_1 - c_{intra1}) = g(c_{inter1}) \quad (4.107)$$

A Equação 4.107 acima pode ser escrita de um modo geral para representar as outras conformações resultantes, oito no total, também em termos de 1.

$$s_i = g(c_i - c_{intra1}) \quad (4.108)$$

Ou seja, o Vina "rankea" as outras conformações com a Equação 4.108.

As funções de interação, f_{titj} , podem ser definidas pela Equação 4.109.

$$f_{titj}(r_{ij}) = h_{titj}d_{ij} \quad (4.109)$$

No qual distância é dada pela relação:

$$d_{ij} = r_{ij} - R_{ti} - R_{tj} \quad (4.110)$$

Sendo, R_t o raio de van der Waals do átomo t .

Por sua vez h_{titj} é o peso das soma das interações: estéricas (que são idênticas para todos os pares de átomos), hidrofóbicas (atração entre átomos apolares), e de hidrogênio (atração entre átomo polar com um átomo de carga oposta), Equação 4.111.

$$h_{titj} = I_{este} - 0,0351I_{hidro} - 0,587I_H \quad (4.111)$$

O termo estérico I_{este} é constituído de duas funções gaussianas e uma de repulsão, Equação 4.112.

$$I_{este} = -0,0356e^{-\left(\frac{d}{0,5\text{\AA}}\right)^2} - 0,0051e^{-\left(\frac{d-3\text{\AA}}{2\text{\AA}}\right)^2} + 0,840rep(d) \quad (4.112)$$

Na condição $rep(d) = d^2$ se $d < 0$ e $rep(d) = 0$ se $d > 0$. As condições de I_{hidro} são: $I_{hidro} = 1$ se $d < 0,5 \text{\AA}$ e $d > 1,5 \text{\AA}$. Enquanto para $I_H = 1$ se $d > 0$.

Parte II

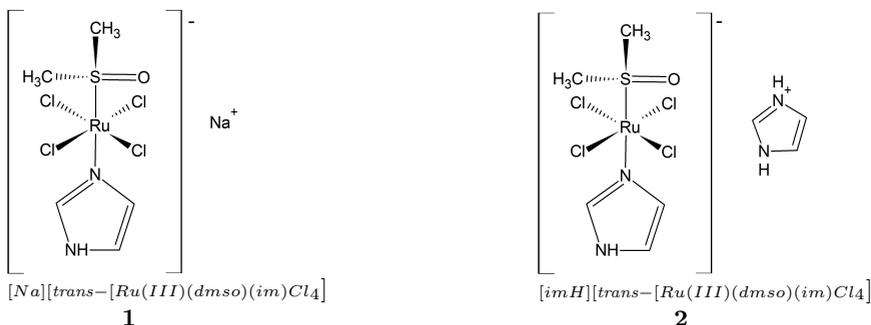
Resultados e Discussão

5 Mecanismo de Hidrólise do NAMI-A e Suas Interações Com Alvos Biológicos

1 Introdução

Há quase 30 anos o composto de coordenação [imH][*trans*-[Ru(III)(dmsO)(im)Cl₄]] com dmsO=dimetilsulfóxido e im=imidazol (Figura 5.1), conhecido por NAMI-A, [155] acrônimo de "*new-antitumor metastasis inhibitor-A: first of a series*" de acordo com Gava, tem sido alvo de estudos experimentais, teóricos e modelo para o desenvolvimento de outras classes complexos, já que é o primeiro e até então, o único complexo metálico de rutênio a alcançar estudos clínicos de fases I/II. [13]

Figura 5.1 – Fórmulas estruturais do NAMI (1) e NAMI-A (2).



A escolha do NAMI como o primeiro e potencial fármaco de rutênio, segundo os autores Alessio, Mestroni e Sava, que são os principais envolvidos no estudo do NAMI e derivados desde 1988, [48, 49, 156, 157]

ensaios farmacocinéticos realizados em 1999, e publicados somente em 2004. [155] Contudo, como esperado, os pacientes apresentaram sintomas de toxicidade moderada quando comparados aos sintomas clínicos do uso da cisplatina, como por exemplo: náusea, vômito e diarreia. Surpreendentemente, o rastreamento dos metabólitos do NAMI-A não mostraram a formação de adutos GG ou AG no *DNA* extraído dos linfócitos dos pacientes, [35] apesar de terem sido detectados em proteínas plasmáticas, sugerindo que este complexo não interaja diretamente com o *DNA*, mas sim primeiramente com proteínas como a *HSA* (*Human Serum albumin*). [32,161] Como seus metabólitos chegam a célula ainda é uma questão a ser respondida, [11, 38, 162] já que foi eliminada a ideia da recepção celular pelo transporte efetuada pela transferrina. [37] Entretanto, alguns resultados apontam a relação da toxicidade com a perturbação do metabolismo do ferro. [163] Os processos de redução e hidrólise desse complexo ocorrem instantaneamente após ser liberado pela *HSA*, mas não há relação explícita entre a atividade antineoplásica com ambos os processos. [164] Excepcionalmente, os trabalhos de Alessio e Mestroni [14] tem mostrado não somente uma correlação significativa dos metabólitos hidrolisados com a atividade antineoplásica, mas também do papel da redução em células neoplásicas, [165] em compostos como *cis/trans*-[Ru(II)Cl₂(dms_o)₄]⁰, que são derivados direto do NAMI-A. [2,14]

Os testes clínicos de fases I/II associado com a gemcitabina foram realizados em 2004, [166] afim de mimetizar, erroneamente, o mesmo regime utilizado com cisplatina para pacientes com *NSCLC* (*Non-Small Cell Lung Cancer*). [26, 31, 167] Novamente, o NAMI-A deixou a desejar e foi declarado ineficaz para uso futuro e possível substituto da cisplatina. [166] O próprio pesquisador Enzo Alessio, em um trabalho recente, [35] questiona as falhas nessas investigações iniciais. Dentre elas, a primeira e mais discrepante, é tratar o NAMI-A como se fosse cisplatina, sendo o último um ótimo agente antitumoral enquanto o primeiro é um excelente agente antimetastático. Na perspectiva pessoal o próprio autor comenta:

"Pode haver inúmeras razões para a falha substancial dessas investigações clínicas, (deixando de lado a possibilidade mais óbvia, que o complexo pode não ser bom o suficiente, e que o ser humano não é um rato de 75 kg), o modelo de tumor pode ter sido erroneamente escolhido, a combinação terapêutica pode ter sido escolhida errado, o regime de tratamento pode ter sido escolhido errado..."

Apesar dos resultados clínicos iniciais serem, condicionalmente, decepcionantes, sem dúvidas o NAMI-A é o complexo de rutênio mais importante dos últimos 30 anos, sendo o precursor de uma nova classe de potenciais agentes antimetastáticos (KPs e NKPs, RAPTAs, nitrosilo complexos, etc) [7, 14, 18, 27, 56, 168] fortalecendo e ampliando a grandiosa química de complexos de rutênio e tirando a hegemonia da cisplatina como único fármaco contendo metal de transição. [40]

O futuro do NAMI-A como potencial fármaco é incerto, entretanto se faz necessário maiores investigações, experimentais e teóricas, sobre o mecanismos de ação do mesmo, para somente então, podermos compreender e responder certas perguntas em aberto e ainda repensarmos o *design* de novos complexos para maximizar suas propriedades desejáveis, como a alta atividade antimetastática e baixa toxicidade.

Com este intuito, neste capítulo será investigado a influência do processo de redução e hidrólise nas interações metal-ligante assim como na interação do NAMI-A e seus derivados de hidrólise com os alvos biológicos *DNA* e *HSA*.

2 Objetivos

- Investigar através da análise de GKS-EDA a natureza e magnitude das interações metal-ligante no complexo NAMI-A, assim como em seus derivados hidrolisados;
- Investigar teoricamente em quais posições na esfera de coordenação

primária do NAMI-A ocorre preferencialmente a substituição dos ligantes cloreto por aquo e correlacionar com o mecanismo proposto experimentalmente;

- Elucidar o papel da redução monoelétrica na natureza e magnitude das interações metal-ligante no complexo NAMI-A, assim como em seus derivados hidrolisados através do GKS-EDA;
- Avaliar a magnitude e como a interação do NAMI-A e seus derivados hidrolisados com o *DNA* e posteriormente o *HSA*, através da análise de *Docking* Molecular e como estes resultados podem ser correlacionados com os achados experimentais.

3 Metodologia

3.1 Cálculos DFT

Com o pacote de programas ORCA v.3.0.2 [169] foram realizadas as otimizações geométricas e os cálculos das frequências vibracionais com o nível de teoria BP86-D3 [170–174]/def2-TZVPP, [175] incluindo os efeitos relativísticos do átomo de rutênio com o uso da aproximação relativística de ordem zero, ZORA. [176] A ausência de valores negativos na matriz Hessiana, confirmou a ausência de frequências imaginárias, indicando que todas as estruturas reportadas estavam no mínimo local da superfície de energia potencial. A natureza física e magnitude das interações dos ligantes com centro metálico no complexo NAMI-A e seus derivados hidrolisados foram analisadas através do módulo GKS-EDA [95] no programa GAMESS-US [177] com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP, utilizando o potencial efetivo de caroço (ECP) para o átomo de rutênio (28 elétrons internos) e correção da dispersão de Grimme. [172–174]

3.2 Docking Molecular

3.2.1 Validação do Docking Molecular

Inicialmente, antes de realizar as análises do *docking* molecular com os complexos metálicos de rutênio, foi necessário validar a metodologia, que é inédita, proposta na presente Tese. Esta metodologia consiste em diversos passos que, em conjunto, formam um protocolo preciso para estudar a interação de complexos metálicos, podendo ser estes de rutênio ou não, com alvos biológicos. Cada passo é baseado nos métodos descritos no capítulo de Fundamentação Teórica.

Essa validação torna-se indispensável, já que o *docking* de complexos metálicos não é trivial e é pouco utilizado devido as limitações que a maioria dos programas de DM apresentam, dentre essas limitações, pode-se citar a falta de parâmetros para átomos metálicos, íons e substratos não-proteicos.

O sistema modelo escolhido foi estudar a interação da ciclooxigenase-2 (COX-2) com o BOG (B-octilglucosídeo), este último é um ligante que faz parte do próprio sítio ativo da COX-2. Portanto, foi realizado o *redocking* para validar a metodologia.

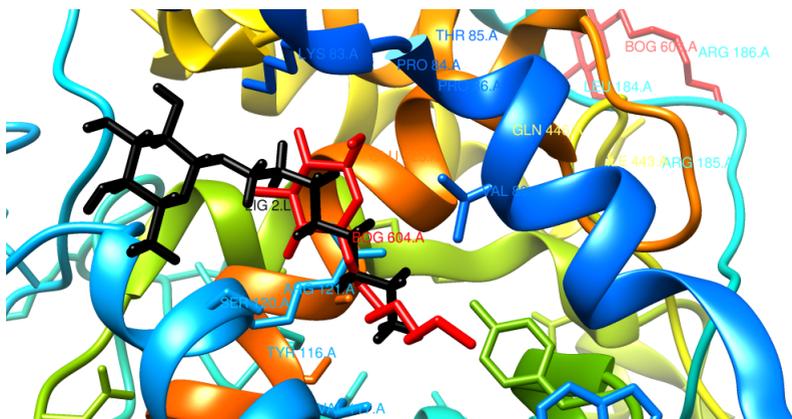
O *redocking* consistiu em retirar o ligante BOG da COX-2 manualmente e tratar o receptor COX-2 com os seguintes passos (resumidamente):

1. Primeiramente o arquivo *.pdb* da COX-2 foi obtido no *Protein Data Bank* (PDBID: **4ph9**) com resolução de 1,81 Å;
2. Em seguida foi utilizado o servidor *BLAST*, para a escolha do modelo mais apropriado e garantir a qualidade do arquivo;
3. O servidor SWISS-MODEL foi utilizado para realizar o estudo da homologia entre as espécies *Mus musculus* do arquivo *.pdb* com a referência *Homo sapiens*;

4. O PDB_Hydro foi utilizado para averiguar as cadeias laterais faltantes;
5. O PDB2PQR pelo módulo PROPKA, forneceu os pKas para cada resíduo a pH=7,00, utilizando o campo de força *AMBER*;
6. O módulo QMEAN do servidor SWISS-MODEL, forneceu a qualidade do modelo, no qual foi obtido o valor 0,88/1,00;
7. O arquivo da COX-2 foi submetido ao programa DockThor, no qual foram incluídos manualmente os estados de protonação de cada resíduo. Paralelamente o arquivo da BOG, não alterado, foi também submetido ao programa, sendo este tratado como ligante flexível, para a realização do *redocking*.

Como mostra a Figura 5.3, a BOG continua interagindo com a COX-2 pelo mesmo sítio ativo fornecido experimentalmente, sendo a sua conformação a única diferença encontrada, devido o tratamento flexível. Portanto, esses resultados validaram a metodologia proposta e que foi estendida para estudar a interação entre cubebina (CUB) e seus derivados com a COX-2, assim como, posteriormente, os complexos de metais de transição com alvos biológicos. Esses resultados, inclusive a validação da metodologia, foram publicados no periódico *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* 27 (2017) 176–179 em parceria com o Prof. Dr. Renato L. T. Parreira.

Figura 5.3 – *Redocking* do ligante BOG (preto) no receptor COX-2, em comparação com a estrutura experimental (vermelho).



3.2.2 Docking Molecular com DNA

Após a obtenção das geometrias otimizadas e de mínimo, o *docking* molecular do complexo NAMI-A e seus derivados de hidrólise com o *BDNA* (código PDB: **1BNA**) [178] foi realizado no programa AutoDock Vina v.1.1.2 [179] e implementado com os parâmetros do AutoDock v.4.2 [149]. O *BDNA* foi escolhido como receptor frente às outras conformações *ADNA* e *ZDNA*, já que o *DNA* em solução aquosa sem excesso de sais (cátions e ânions) tende a assumir essa conformação. Devido à ausência de parâmetros específicos para o átomo de rutênio (II e III), o mesmo foi mimetizado com o elemento ferro, pela utilização de seus parâmetros estruturais, abordagem comum na literatura. [180] O receptor *BDNA*, dodecâmero com resolução de 1,9 Å, foi tratado previamente no programa AutoDock Tools [149] para adição dos átomos de hidrogênio a fim de obter um pH = 7,4, considerado pela literatura [14] valor ideal para ativação biológica do complexo, exceto para o complexo **1.2** (Figura ??), no qual a adição dos hidrogênios foi estipulada para o pH = 4,0, valor no qual este complexo é ativo. A metodologia utilizada em todas as análises foi manter o *BDNA* rígido (receptor rígido) enquanto foi variada a flexibilidade das ligações

do NAMI-A, portanto, inicialmente dois *docking* moleculares foram realizados, um com o ligante¹ totalmente rígido e outro no qual as ligações Ru–N(1) e Ru–S(1) poderiam torcer em busca da conformação mais estável (ligante flexível). Entretanto, em ambas as análises os hidrogênios não-polares foram tratados com a representação *extended-atom*, onde os mesmo são fundidos aos átomos ligados a eles, ficando em evidência apenas os hidrogênios polares. As configurações operacionais para as análises no AutoDock Vina foram mantidas as mesmas, nos quais as coordenadas de busca conformacional foram ajustadas para um *grid* de pontos 58, 58, 100 (x,y,z) com espaçamento entre cada ponto de 0,425 Å e *exhaustiveness* = 10 (*default* = 8), garantindo um maior tempo de busca para a obtenção dos sítios ativos de mínimo. Todos esses ajustes de configuração foram realizadas previamente no AutoDock Tools e importadas para um *script* de submissão para ser lido posteriormente no programa AutoDock Vina. Os resultados das análises e obtenção gráfica das figuras das diferentes configurações dos *docking* moleculares foram realizadas no programa Chimera v.1.11 [181] assim como a análise pós-*docking* da formação de ligações de hidrogênio entre o receptor-ligante para cada configuração obtida.

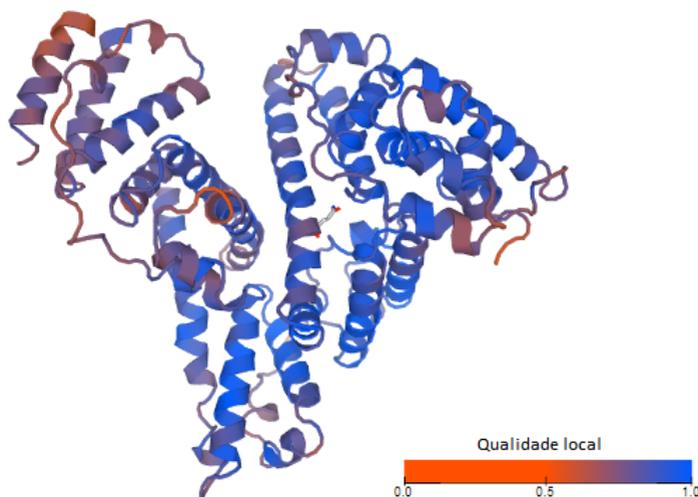
3.2.3 Docking Molecular com HSA

Como novas evidências apontam que o NAMI-A e seus metabólitos de hidrólise interagem preferencialmente com proteínas plasmáticas do que com o *DNA*, uma nova análise de *docking* molecular foi realizada, considerando agora como receptor a *HSA*. Na etapa pré-*docking*, que consiste na preparação de ambos, receptor e ligante para o *docking*, o código FASTA da *HSA* foi obtido através do *Protein Data Bank*, pelo modelo de código PDB: **1h9z**, [182] com resolução cristalográfica de 2,5 Å. A sequência FASTA foi submetida então ao servidor *BLAST*, [136–138] para reconstrução da estrutura terciária da *HSA* e escolha do melhor modelo. O modelo escolhido foi o do *template* 3a732.A com resolução de

¹ No *Docking* Molecular, *ligante* é a substância que interage com o receptor, onde este último também é conhecido por substrato ou alvo biológico.

2,19 Å e com 100% de homologia. O modelo apresentou valores ótimos de GMQE (0,74) e QMEAN, o que conferiu uma ótima qualidade local para descrição da maioria dos resíduos, como mostra a Figura 5.4.

Figura 5.4 – Estimativa da qualidade local dos resíduos da *HSA*.



Em uma etapa posterior, o arquivo *.pdb* do *template* escolhido obtido no servidor SWISS-MODEL [139, 140, 142] foi submetido ao módulo do PDB_HYDRO, [145, 183] para averiguar a existência de cadeias e/ou átomos laterais faltantes. O novo arquivo *.pdb* do receptor *HSA* foi submetido ao servidor PDB2PQR, [146] no qual o módulo PROPKA forneceu os pKas dos 576 resíduos da *HSA*, sendo este resultado originado pelo tratamento do receptor com cálculo eletrostático de Poisson-Boltzmann e para isso, utilizando o campo de força *AMBER*. A etapa de obtenção do pKa para cada resíduo da *HSA* foi realizada duas vezes, uma considerando pH = 7,4 (pH fisiológico) e outro pH = 4,0 (pH ótimo para o complexo **1.2**). Numa etapa final, os arquivos *.pdb* foram modificados manualmente sendo incluído o estado de protonação de cada resíduo da *HSA*, para o seu respectivo pH, esta etapa foi realizada no programa DockThor [?, 133]. Uma nova verificação da qualidade

local foi realizada no módulo QMEAN do SWISS-MODEL, onde foram obtidos os ótimos valores de GMQE de 0,71 (pH = 7,4) e 0,68 (pH = 4,0).

A estrutura ótima do receptor *HSA* então foi preparada no programa AutoDock Tools [149] no qual foi aplicado o tratamento rígido e a representação *NPHs*, enquanto para o ligante (complexos) foi utilizado o tratamento flexível. Para originar o *grid* necessário para análise de *docking*, uma caixa com 90 pontos em cada eixo x, y e z e espaçamento entre os pontos de 0,75 Å foi utilizada. Devido a falta de parâmetros para o átomo de rutênio, foi adotada a estratégia em utilizar os parâmetros do ferro no lugar e manualmente o átomo de rutênio foi substituído pelo átomo de ferro, na etapa de preparação do arquivo de submissão para o ligante.

O programa AutoDock Vina v.1.1.2 [179] foi então utilizado para análise de docking molecular, no qual o arquivo de configurações foi modificado para ajustar a *exhaustiveness* para 10. Ao final da análise foram obtidas 45 configurações finais, nove para cada sistema *HSA*/complexo, contudo apenas as três primeiras configurações mais estáveis para cada sistema foram mostradas e discutidas. O programa Chimera v.1.11 [181] foi utilizado na análise pós-*docking* para o refinamento e análise das ligações de hidrogênio para cada sistema, assim como para gerar as figuras das representações dos resultados da análise de *docking*.

4 Resultados e Discussão

4.1 Geometria e Frequência Vibracional

Com a finalidade de validar o nível de teoria proposto, inicialmente o complexo NAMI-A, *trans*-[Ru(III)(dmsO)(im)Cl₄]⁻ com im = imidazol e dmsO = dimetilsulfóxido (**1**) foi considerado como referência, devido a presença de uma significativa quantidade de dados experimentais e teóricos, disponíveis na literatura. [14, 184] Como mostram os

parâmetros geométricos na Figura 5.5 e Tabela 5.1, o nível de teoria empregada na otimização geométrica, BP86-D3/def2-TZVPP está de acordo e descreve muito bem os comprimentos de ligação, ângulos e frequências vibracionais, apresentando um baixo desvio padrão para os parâmetros citados. No qual o maior desvio padrão, entre o valor experimental e valor teórico, obtido é para o ângulo de ligação Ru–S(1)–O(1), em aproximadamente 4,28°.

Figura 5.5 – Geometrias experimental e teórica (BP86-D3/def2-TZVPP) e parâmetros geométricos selecionados para o complexo NAMI-A.

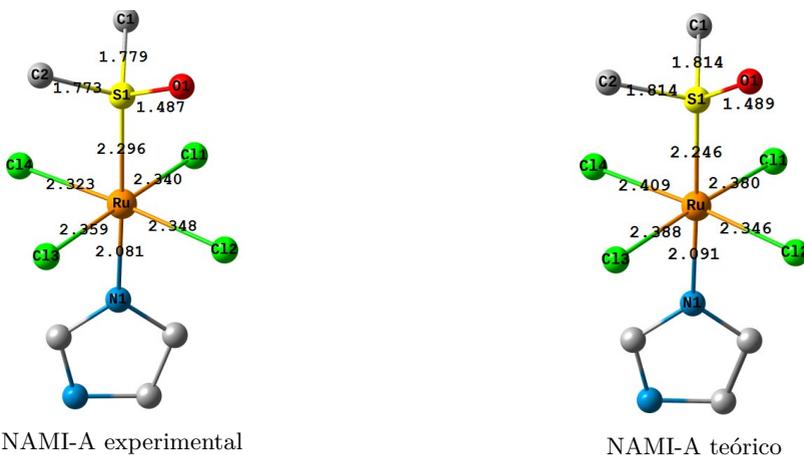
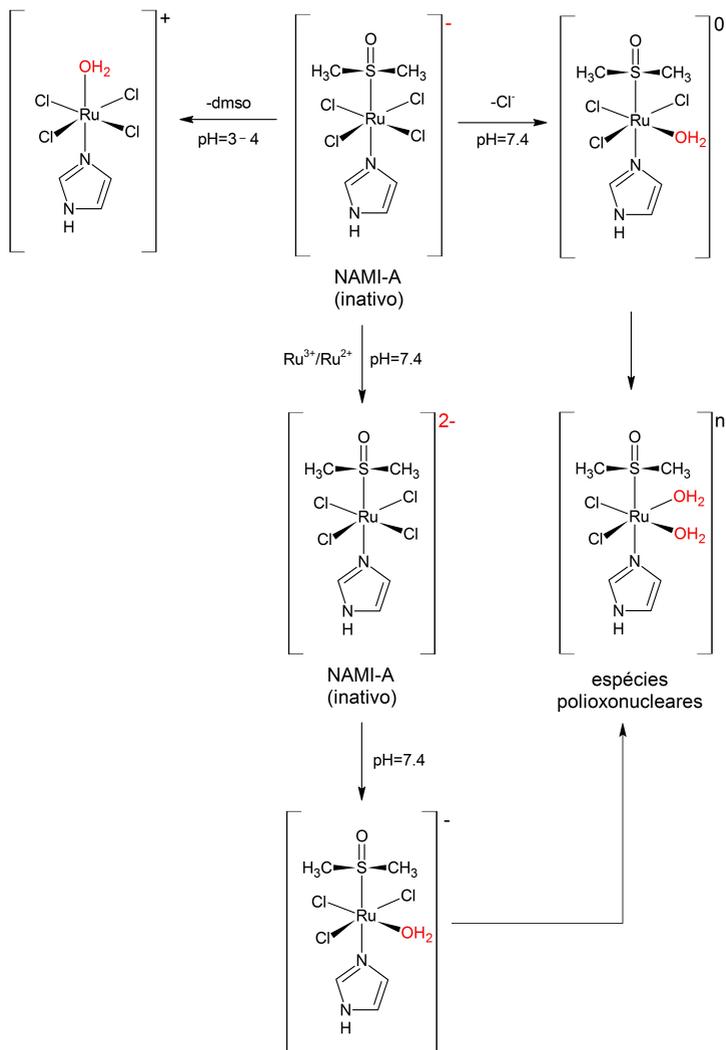


Tabela 5.1 – Parâmetros geométricos, teóricos (BP86-D3/def2-TZVPP) e experimentais, para o complexo **1**. No qual, as frequências vibracionais são dadas em cm^{-1} , os comprimentos de ligação em Å e os ângulos de ligação em $^\circ$.

Parâmetros Geométricos	Valor Experimental ^a	Valor Teórico ^b	Desvio Padrão
$\nu Ru-S_{dmso}$	428	414	10
$\nu Ru-Cl$	345	340	4
$\nu S = O_{dmso}$	1096	1115	13
Ru–S(1)	2,081	2,246	0,165
S(1)–O(1)	1,487	1,489	0,001
Ru–N(1)	2,081	2,091	0,007
Ru–Cl(1)	2,340	2,380	0,028
Ru–Cl(2)	2,348	2,346	0,001
Ru–Cl(3)	2,359	2,388	0,021
Ru–Cl(4)	2,323	2,409	0,061
S(1)–Ru–N(1)	176,89	178,15	0,891
Ru–S(1)–C(1)	112,71	109,56	2,226
Ru–S(1)–C(2)	114,49	109,55	3,492
Ru–S(1)–O(1)	115,54	121,60	4,283
C(1)–S(1)–C(2)	99,80	97,86	1,373
O(1)–S(1)–C(1)	106,71	106,60	0,078
O(1)–S(1)–C(2)	106,31	106,59	0,196
N(1)–Ru–Cl(1)	89,55	87,62	1,366
N(1)–Ru–Cl(2)	88,41	88,05	0,257
N(1)–Ru–Cl(3)	89,58	87,35	1,578
N(1)–Ru–Cl(4)	87,66	87,56	0,073

Trabalhos publicados por Alessio e Mestroni [14] têm correlacionado à atividade biológica do NAMI-A e seus derivados com sua hidrólise. Apesar de ainda não ser totalmente esclarecido o mecanismo de hidrólise, de uma maneira geral, pode ser representado pela Figura 5.6 abaixo:

Figura 5.6 – Mecanismo de hidrólise do NAMI-A em meio fisiológico.



Detalhes de como esse mecanismo ocorre e como este é influenciado pela substituição dos ligantes no ambiente de coordenação é de suma importância para compreender a atividade biológica que esta classe de complexos apresenta. Sabe-se que estes complexos são ativos apenas após hidrólise, ambos $[\text{Ru(III)(dmsO)(im)Cl}_4]^-$ (**1**) e $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)Cl}_4]^{2-}$ (**2**) são inativos a pH fisiológico (7,4). Acredita-se ainda que a redução de **1** para **2** facilite este mecanismo, tornando as ligações mais lábeis, favorecendo então a substituição dos ligantes cloreto por aquo, no qual essa redução pode ocorrer *in vivo* ou *in vitro*. No meio fisiológico, esta redução ocorre somente em células tumorais, caracterizadas por apresentarem um ambiente bastante redutor e ácido (pH = 3,0 – 4,0), tornando estes complexos fortes candidatos a fármacos devido ao seu grande potencial antitumoral. De acordo com a Figura 5.6, a hidrólise pode ocorrer por duas vias principais, pela substituição dos ligantes cloreto ou dmsO pelo ligante aquo. A substituição dos ligantes dmsO na esfera de coordenação do NAMI-A ocorre em pH mais ácido (3,0 – 4,0) que o fisiológico (7,4) formando o complexo $[\text{Ru(III)(H}_2\text{O)(im)Cl}_4]^-$ (**1.2**). Enquanto, a substituição dos ligantes cloro equatoriais ocorre em pH fisiológico, formando espécies oxonucleares como os complexos $[\text{Ru(III)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^0$ (**1.1**) e $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^-$ (**2.1**), Figura ?? [14]

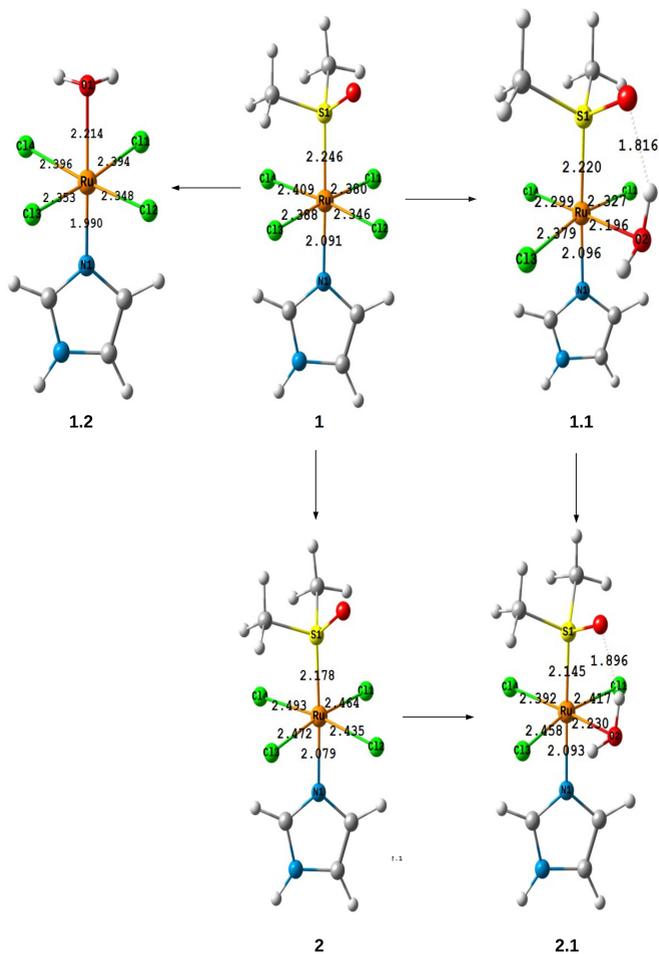
Com objetivo de esclarecer as principais diferenças estruturais entre os complexos, **1** e **2**, assim como seus aquo derivados, **1.1**, **1.2** e **2.1**, as estruturas geométricas dos complexos foram otimizadas e os parâmetros geométricos, para as estruturas de mínimo da superfície de energias potencial, estão dispostos na Figura 5.7 e Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Parâmetros geométricos selecionados para os complexos **1**, **1.1**, **1.2**, **2** e **2.1** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. No qual, as frequências vibracionais são dadas em cm^{-1} , os comprimentos de ligação em Å e os ângulos de ligação em $^{\circ}$.

Parâmetros Geométricos	1	1.1	1.2	2	2.1
$\nu\text{Ru-S1/O1}$	414	fa	303 e 344	430	231, 327 e 457
$\nu\text{Ru-Cl}$	340	fa	311	333	239
$\nu\text{S1=O}$	1115	fa	-	1059	1037
Ru-S1	2,246	2,220	2,214	2,178	2,145
Ru-N1	2,091	2,096	1,990	2,079	2,093
Ru-L1	2,380	2,327	2,394	2,464	2,417
Ru-L2	2,346	2,196	2,348	2,435	2,230
Ru-L3	2,388	2,379	2,353	2,472	2,458
Ru-L4	2,409	2,299	2,396	2,493	2,392
S1-Ru-N1	178,15	176,32	173,88	176,85	178,01
L1-Ru-L3	174,85	175,57	175,66	172,70	169,13
L2-Ru-L4	175,63	167,02	176,25	172,57	174,59
L1-Ru-L2	90,25	86,87	89,63	88,96	91,61
L3-Ru-L4	88,89	95,07	89,17	88,78	95,36

O termo fa significa frequência acoplada. O complexo **1.2** não apresenta estiramento S1=O.

Figura 5.7 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados do mecanismo de hidrólise para o NAMI-A (**1**) e seus aquo derivados, $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)Cl}_4]^{2-}$ (**2**), $[\text{Ru(III)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^0$ (**1.1**), $[\text{Ru(II)(dmsO)(im)(H}_2\text{O)Cl}_3]^-$ (**2.1**) e $[\text{Ru(III)(H}_2\text{O)(im)Cl}_4]^-$ (**1.2**).



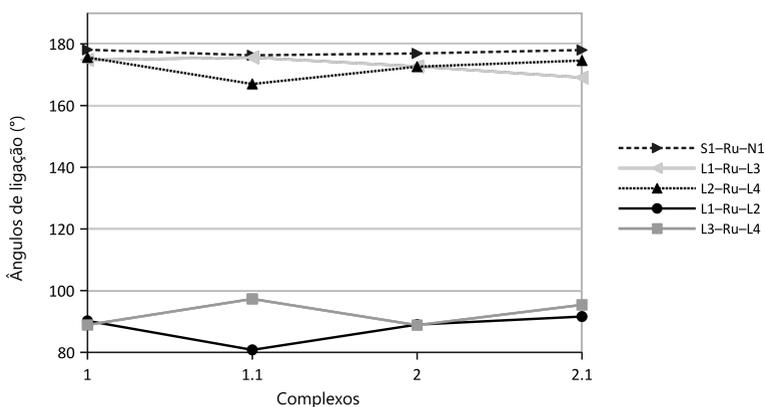
Como pode ser observado nos resultados dispostos na Tabela 5.2 e Figura 5.7, ocorre apenas um pequeno aumento geral no comprimento das ligações no complexo **2** quando comparado ao complexo **1**. Esse pequeno aumento, de +0,10 Å no comprimento das ligações Ru–Cl(1-4) sugere uma maior labilidade das ligações do NAMI-A após a redução monoelétrica. Em contraste, a ligação Ru–N(1) quase não é afetada, seu comprimento de ligação diminui de 2,091 Å para 2,079 Å, enquanto a ligação Ru–S(1) diminui seu comprimento em apenas -0,07 Å. Entretanto, a natureza do ligante *trans* ao grupo dmsO é um dos responsáveis por labilizar as ligações equatoriais, já que estabilizam os íons rutênio(III/II), de acordo com o seu caráter π -doador. O comportamento entre os ângulos de ligação também é similar as distâncias de ligação, no qual não há diferenças relevantes entre os ângulos dos complexos complexos **1** e **2**, como pode ser observado na Tabela 5.2, entretanto as maiores variações são observadas para o ângulo S1–Ru–N1. Em geral, os ângulos de ligação para o complexo **2** são menores do que os observados em **1**. Os ângulos formados entre os ligantes equatoriais *trans* entre si (L1–Ru–L3 e L2–Ru–L4) desviam da linearidade, no qual o complexo **2** apresenta os menores valores, 172,70° para L1–Ru–L3 e 172,57° para L2–Ru–L4. Contudo para os ângulos formados entre os ligantes na posição *cis* entre si (L1–Ru–L2 e L3–Ru–L4) os valores são mais próximos de 90°, como pode ser observado na Tabela 5.2.

A substituição ligante cloreto (Cl2) pelo ligante aquo também acarreta numa pequena diminuição do comprimento de ligação para Ru–S1, de 2,246 Å (**1**) para 2,220 Å (**2**) enquanto o comprimento da ligação Ru–N(1) é aumentado. Assim como observado para os complexos **1** e **2**, a magnitude de Ru–S(1) é maior que a observada em Ru–N(1), para os complexos **1.1** (2,220 Å e 2,096 Å) e **2.1** (2,145 Å e 2,093 Å). A Figura 5.7 também mostra que o complexo **2.1** as menores distâncias de ligação quando comparado ao complexo na forma oxidada (**1.1**), por exemplo para o complexo **1.1** o comprimento da ligação Ru–S1 é 2,220 Å enquanto a mesma ligação para o complexo **2.1** é de 2,145 Å. Para ambos complexos, as ligações Ru–Cln apresentam menores valores

quando comparados aos seus análogos, **1** e **2**, por exemplo, a ligação Ru–Cl4 possui um valor de 2,299 Å no complexo **1.1**, enquanto para o complexo **1** o valor é de 2,409 Å.

Como mostra o gráfico da Figura 5.8, o ângulo de ligação S1–Ru–N1 não é afetado com a substituição do cloreto pelo ligante aquo nem com a redução monoelétrica, estando próximo a linearidade com um valor médio de $177,16^\circ$. Para os ângulos L1–Ru–L3 e L2–Ru–L4 no qual os ligantes estão na posição *trans* entre si ocorre uma maior variação dos valores médios de $-9,20^\circ$ para L1–Ru–L3 e $-9,15^\circ$ para L2–Ru–L4.

Figura 5.8 – Gráfico dos ângulos de ligação selecionados para os complexos **1** e **2** e seus aquo derivados, **1.1** e **2.1**.

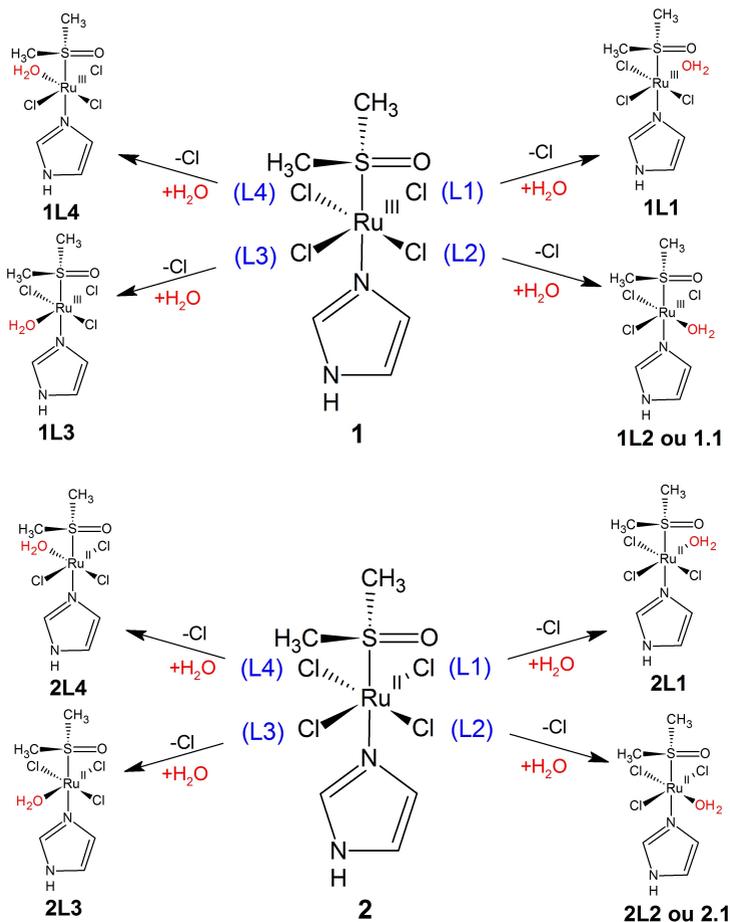


Para os ângulos formados, nos quais os ligantes estão *cis* entre si, a variação observada ainda é significativamente menor de $-3,77^\circ$ para o ângulo L1–Ru–L2 e de $+6,34^\circ$ para o ângulo L3–Ru–L4. A mudanças nos ângulos e também no comprimento dessas ligações nos complexos **1.1** e **1.2**, ocorre devido à deformação que o complexo sofre para formar a ligação de hidrogênio entre o oxigênio do ligante dmsu (O1) e o hidrogênio (H2) do ligante aquo na posição L2, como pode ser observado pela Figura 5.7, com valor de 1,816 Å e 1,896 Å, para os complexos **1.1** e **1.2**, respectivamente.

O complexo **1.2** apresenta um comportamento diferente do observado para os demais aquocomplexos **1.1** e **1.2**, nos quais os comprimentos de ligação neste complexo são pouco afetados com a substituição do ligante dmso pelo ligante aquo na esfera de coordenação, mostrando que o efeito *trans* que o ligante aquo exerce é menor que o do ligante dmso nesse complexo. Entretanto, os ângulos de ligação são mais afetados do que acontece nos complexos **1.1** e **2.1**, indo para valores maiores, no qual o ângulo N(1)–Ru–Cl(1) é o que sofre a maior perturbação, variando de 87,62° para 94,60°. Os maiores valores desses ângulos pode ser associado ao menor impedimento estérico que o ligante aquo exerce nos ligantes cloretos na posição equatorial, o que torna essas ligações mais relaxadas e menos tensionadas quando comparadas as ligações no complexo **1**.

A fim de investigar o porque dá substituição do ligante cloreto por aquo ocorre preferencialmente na posição L2 segundo a literatura, novos complexos foram gerados e otimizados, substituindo o ligante cloreto nas posições L1, L3 e L4 pelo ligante aquo e dando origem aos complexos **1L1**, **1L3** e **1L4** para o complexo **1**, e **2L1**, **2L3** e **2L4** para o complexo **2**, respectivamente, Figura 5.9.

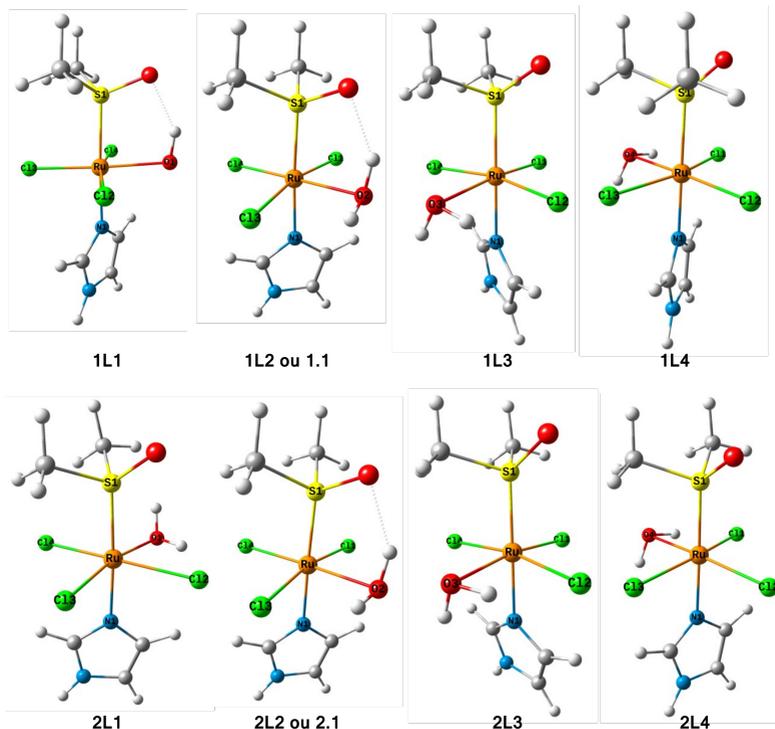
Figura 5.9 – Esquema utilizado para a obtenção dos aquo complexos derivados do NAMI-A nas formas oxidada (**1**) e reduzida (**2**).



Analisando os parâmetros geométricos obtidos para os novos complexos (Apêndice 8.1) e a Figura 5.10, nota-se que, com exceção dos complexos **1L3** e **2L3** no qual o ligante aquo se encontra na posição L3, todos os outros complexos distorcem da sua geometria inicial para se aproximarem da geometria dos complexos **1.1** e **2.1**. No qual para os complexos **1L1** e **2L1**, ocorre uma rotação dos ligantes axiais

dimetilsulfóxido e imidazol afim de adquirir a geometria presente nos complexos **1.1** e **2.1**, respectivamente. Já os complexos **1L4** e **2L4**, tendem a adquirir a geometria observada nos complexos **1L1** e **2L1**, respectivamente, essas observações são feitas considerando os ligantes L1–4 fixos na posição geométrica em que se encontram nos complexos **1** e **2**. Esses resultados já dão indícios que a preferência da substituição do ligante cloreto pelo ligante aquo da-se nas posições L1 e L2 para os ambos estados de oxidação do NAMI-A (**1** e **2**).

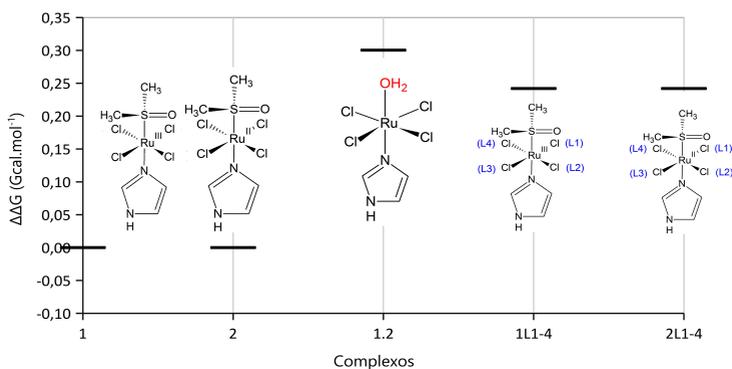
Figura 5.10 – Estrutura geométrica dos complexos hidrolisados pela substituição do ligante cloreto pelo aquo nas posições L1 a L4 para os complexos **1** e **2**.



O gráfico da Figura 5.11, que foi obtido pela ligação entre os pontos, sugere que o complexo NAMI-A nas formas oxidada (**1**)

e reduzida (**2**) são os complexos mais estáveis considerando todas as espécies do seu mecanismo de hidrólise e que o complexo **1.2** é o que mais desestabiliza com a substituição do dmsso pelo ligante aquo, devido ao seu maior valor de $\Delta\Delta G$, $+0,30 \text{ Gcal.mol}^{-1}$ (relativo a **1**). Contudo, não há como afirmar com precisão qual espécie é mais estável, já que devido as suas configurações parecidas, possuem quase a mesma magnitude de energia livre de Gibbs ($\Delta\Delta G = +0,24 \text{ Gcal.mol}^{-1}$ relativo a **1**). Apenas os complexos **1L1** e **2L1** possuem ligação de hidrogênio, e portanto, espera-se que tanto nesses complexos como nos complexos **1.1** e **2.1**, as interações Ru–H₂O sejam mais estabilizadas que nos demais complexos. Porém, esses resultados corroboram com alguns resultados experimentais e indo contra as observações de Alessio e Mestroni, [14] que indicam que não somente a redução, mas a hidrólise desses complexos é substancial para afetar a estabilidade e atividade do NAMI-A.

Figura 5.11 – Gráfico da diferença da energia livre de Gibbs (em Gcal.mol^{-1}) relativo a **1** para os complexos estudados.



4.2 GKS-EDA

As análises energéticas da interação dos ligantes com o ambiente de coordenação do NAMI-A (**1**), Tabela 5.3, elucidam por meios da análise de decomposição da energia, a tendência do mecanismo de hidrólise proposto na Figura 5.6.

Tabela 5.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para os complexos **1** e **2** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁰	1	-67,16	-74,50	-134,32	234,97	-82,57	-4,26	-6,49
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁻	2	23,71	19,89	-113,51	187,66	-54,05	-4,26	-12,01
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁰	1	-63,86	-67,42	-133,20	237,20	-90,28	-3,53	-6,63
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁻	2	28,36	27,57	-109,22	183,07	-55,24	-3,53	-14,30
[Cl3] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁰	1	-67,52	-76,57	-135,88	236,94	-81,92	-4,26	-6,48
[Cl3] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁻	2	22,57	17,41	-115,35	190,23	-53,73	-4,30	-11,69
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁰	1	-69,56	-80,29	-137,36	236,71	-77,39	-4,82	-6,41
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(dmso)(im)Cl ₃] ⁻	2	19,19	12,80	-118,71	193,65	-53,35	-4,88	-10,40
[dmso] ⁰ ↔ [Ru(im)Cl ₄] ⁻	1	-35,76	-56,52	-112,77	199,40	-55,70	-13,22	3,04
[dmso] ⁰ ↔ [Ru(im)Cl ₄] ²⁻	2	-63,40	-86,07	-178,53	327,33	-78,03	-10,89	-37,21
[im] ⁰ ↔ [Ru(im)Cl ₄] ⁻	1	-31,71	-67,82	-133,79	243,44	-62,29	-8,60	-2,56
[im] ⁰ ↔ [Ru(im)Cl ₄] ²⁻	2	-24,97	-63,13	-141,11	254,47	-55,47	-8,67	-11,05

Os resultados da análise de GKS-EDA para o complexo NAMI-A (**1**), Tabela 5.3 são bem distintos quando comparados aos observados para a sua forma reduzida (**2**). No qual, para o complexo **1** as interações mais estáveis, ou seja, com um maior valor de ΔE^{tot} são as interações dos cloretos equatoriais $[Cl1-4]^- \leftrightarrow [Ru(III)(dmso)(im)Cl_3]^0$, com uma variação na magnitude de ΔE^{tot} entre $-63,86 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl2) a $-69,56 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl4). Diferente do esperado, a natureza dessas interações não é essencialmente de caráter eletrostático como mostra os valores das contribuições energéticas a magnitude de ΔE^{tot} , Tabela 5.3, mas ocorre também uma contribuição, porém menos significativa, do termo de polarização, ΔE^{pol} ($-82,57 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Contudo, o termo que contribui majoritariamente para a magnitude de ΔE^{tot} é o termo de troca, no qual não é observado uma variação significativa da sua magnitude nas interações Ru–Cl1-4, sendo atribuído um valor médio de $-135,19 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Essa maior contribuição do termo ΔE^{ex} é proveniente da interação dos MOs ocupados dos fragmentos $[Cl1-4]^-$ e $[Ru(III)(dmso)(im)Cl_3]^0$, que ocasiona a delocalização e *exchange* dos elétrons nesses fragmentos interagentes. Diferente do observado para ΔE^{ex} , a magnitude do termo eletrostático ΔE^{es} , varia menos significativamente entre $-67,42 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl2) a $-80,29 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl4). A pequena contribuição estabilizadora do termo eletrostático para a magnitude de ΔE^{tot} nas interações $[Cl1-4]^- \leftrightarrow [Ru(III)(dmso)(im)Cl_3]^0$ surge da atração clássica Coulômbica entre os fragmentos interagentes, cloreto (carregado negativamente) e a unidade metálica (carga nula), o que torna a atração dessas cargas pontuais pouco estabilizadora, refletindo na magnitude de ΔE^{es} . A contribuição do termo de polarização ΔE^{pol} , a magnitude da energia total de interação, é sempre mais significativa que ΔE^{es} , variando entre $-77,39 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl4) a $-90,28 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl2), exceto para Ru–Cl4 ($\Delta E^{pol} = -77,39 \text{ kcal.mol}^{-1}$ e $\Delta E^{es} = -80,29 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Essa maior contribuição de ΔE^{pol} , ocorre devido ao relaxamento dos orbitais dos fragmentos interagentes e portanto da densidade eletrônica, deixando de ser pontual como ocorre em ΔE^{es} , sendo esta melhor distribuída especialmente no

fragmento $[\text{Ru(III)(dmsO)(im)Cl}_3]^0$, tornando o termo de polarização mais estabilizador que o termo eletrostático nessas interações.

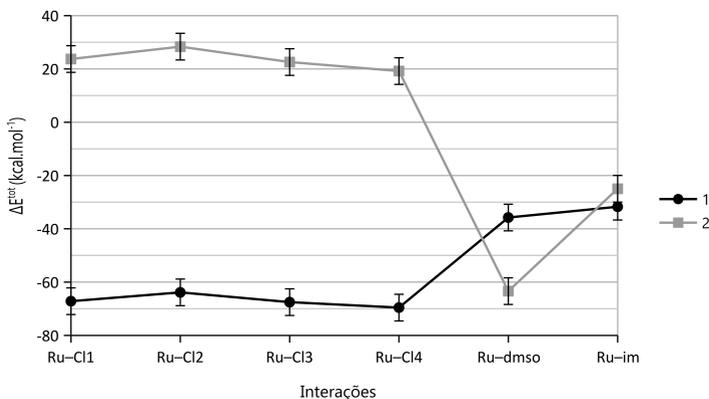
Entretanto, dentre as interações, $[\text{Cl1-4}]^- \leftrightarrow [\text{Ru(III)(dmsO)(im)Cl}_3]^0$ a interação Ru–Cl2 possui o menor valor de ΔE^{tot} (-63,86 kcal.mol⁻¹), principalmente devido a menor contribuição do caráter eletrostático, contudo possui uma maior contribuição do termo de polarização, $\Delta E^{pol} = -90,28$ kcal.mol⁻¹. O oposto pode ser observado para interação mais forte, Ru–Cl4 ($\Delta E^{tot} = -69,56$ kcal.mol⁻¹), o termo eletrostático ($\Delta E^{es} = -80,29$ kcal.mol⁻¹) é insignificamente maior que o termo de polarização ($\Delta E^{pol} = -77,39$ kcal.mol⁻¹). O único termo que desestabiliza essas interações é o termo de repulsão, ΔE^{rep} que é muito semelhante nas interações $[\text{Cl1-4}]^- \leftrightarrow [\text{Ru(III)(dmsO)(im)Cl}_3]^0$ (+236,5 kcal.mol⁻¹ em média) já que representa a repulsão intereletrônica da densidade entre os fragmentos interagentes, que para estas interações são praticamente iguais.

As interações axiais entre os fragmentos $[\text{im}]^0 \leftrightarrow [\text{Ru(III)(dmsO)Cl}_4]^-$ e $[\text{dmsO}]^0 \leftrightarrow [\text{Ru(III)(im)Cl}_4]^-$ possuem magnitudes de ΔE^{tot} de -31,71 kcal.mol⁻¹ e -35,76 kcal.mol⁻¹, respectivamente, e natureza semelhantes. Para essas interações ambos os termos eletrostáticos e polarização, ΔE^{es} e ΔE^{pol} , contribuem em conjunto com o termo de troca, ΔE^{ex} , para modular a magnitude da energia total de interação. Como pode ser observado na Tabela 5.3, na interação Ru–dmsO os termos ΔE^{ex} (-56,52 kcal.mol⁻¹) e ΔE^{pol} (-55,70 kcal.mol⁻¹) são menores quando comparados aos valores observados na interação Ru–im, -67,82 kcal.mol⁻¹ e -62,29 kcal.mol⁻¹, respectivamente. Isto é devido ao fato do fragmento imidazol possuir uma maior densidade eletrônica que o fragmento dimetilsulfóxido, o que torna a contribuição dos termos energéticos muito mais expressiva na interação Ru–im do que na interação Ru–dmsO. Contudo, a maior densidade eletrônica em Ru–im acarreta também no maior valor de ΔE^{rep} (+243,44 kcal.mol⁻¹) quando comparado a interação Ru–dmsO ($\Delta E^{rep} = +199,40$ kcal.mol⁻¹), devido a repulsão do maior número de elétrons de mesmo spin entre os fragmen-

tos interagentes para a interação Ru–im. Porém, é o termo de troca ΔE^{ex} , que mais varia entre essas interações, $-112,27 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para Ru–dmsO e $-133,79 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para Ru–im. Tal variação também pode ser explicado pelo mesmo princípio, já discutido anteriormente. Contudo, a magnitude dos termos energéticos são muito próximos entre si, comparando ambas interações, sendo a maior estabilização da interação Ru–dmsO atribuída, essencialmente ao baixo valor da magnitude do termo de repulsão.

Como mostra os resultados da Tabela 5.3 e Figura 5.12, a natureza das interações do complexo NAMI-A (**2**) são afetadas consideravelmente após a redução, como pode ser observado nas variações de ΔE^{tot} para o complexo **2**.

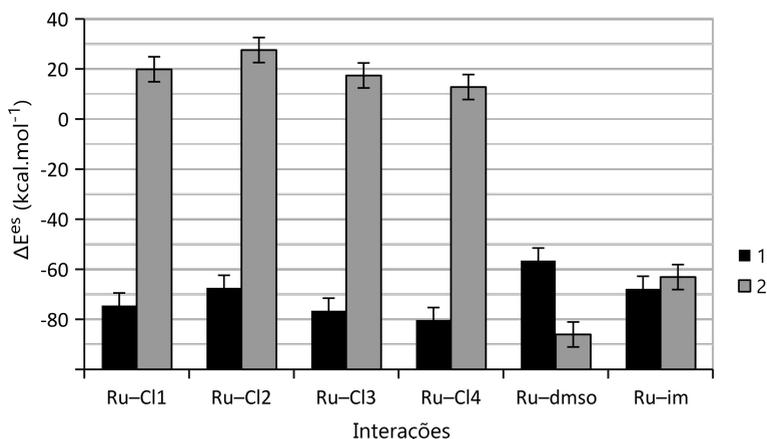
Figura 5.12 – Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol^{-1}) para as interações nos complexos **1** e **2**.



As interações $[Cl1-4]^{-} \leftrightarrow [Ru(II)(dmsO)(im)Cl_3]^{-}$ no complexo reduzido do NAMI-A (**2**) são desestabilizantes, apresentando uma variação de $+19,19 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl4) a $+28,36 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Ru–Cl2) na magnitude de ΔE^{tot} (Figura 5.12). Essa destabilização é devido, principalmente, a contribuição também desestabilizadora do termo eletrostático na magnitude da energia total de interação, no qual

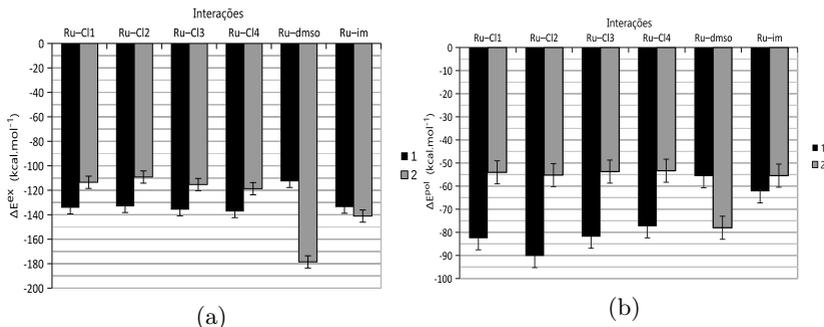
ΔE^{es} varia entre +12,80 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl4) a +27,57 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl2), Figura 5.13.

Figura 5.13 – Gráfico da contribuição do termo eletrostático ΔE^{es} a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1** e **2**.



O sinal positivo na contribuição de ΔE^{es} é oriundo da repulsão eletrostática entre os cloretos, que são carregados negativamente, com a unidade metálica, também carregada negativamente, já que a redução monoeltrônica é modelada adicionando um elétron a este fragmento, tornando o cátion de rutênio bivalente ([Kr] 4d⁶). Esta repulsão eletrostática entre os fragmentos interagentes acarreta também na diminuição da contribuição dos termos de troca e polarização na magnitude de ΔE^{tot} quando comparada ao complexo **1** (Figura 5.14), onde ΔE^{ex} e ΔE^{pol} possuem valores médios de -114,20 kcal.mol⁻¹ e -54,09 kcal.mol⁻¹, respectivamente.

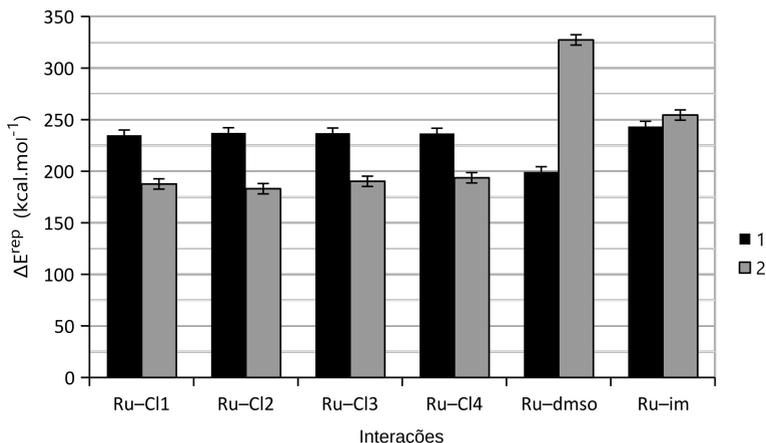
Figura 5.14 – Gráficos das contribuições dos termos de troca ΔE^{ex} (a) e polarização ΔE^{pol} (b) a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1** e **2**.



Todavia, assim como para o NAMI-A, o termo de troca ΔE^{ex} continua sendo o termo que contribui majoritariamente na magnitude de ΔE^{tot} , para as interações Ru-Cl1-4 no complexo **2**, entretanto a magnitude deste termo varia entre -109,22 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl2) a -118,71 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl4), sendo menor quando comparado aos valores observados no complexo **1**, -133,20 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl2) a -137,36 kcal.mol⁻¹ (Ru-Cl4).

As ligações axiais Ru-dmso e Ru-im também são afetadas com a redução, como pode ser observado no gráfico da Figura 5.12. Para a interação $[\text{dmso}]^0 \leftrightarrow [\text{Ru}(\text{II})(\text{im})\text{Cl}_4]^{2-}$ ocorre um aumento significativo na magnitude de ΔE^{tot} de -35,76 kcal.mol⁻¹ para -63,40 kcal.mol⁻¹. Como pode ser observado nos gráficos das Figuras 5.13 e 5.14 este aumento é resultado do acréscimo nas contribuições dos termos eletrostático ΔE^{es} (-86,07 kcal.mol⁻¹), polarização ΔE^{pol} (-78,03 kcal.mol⁻¹) e principalmente dos termos de troca ΔE^{ex} e correlação ΔE^{cor} , -178,53 kcal.mol⁻¹ e -37,21 kcal.mol⁻¹, respectivamente. É observado também um incremento significativo no termo de repulsão que passa de +199,40 kcal.mol⁻¹ (**1**) a +327,33 kcal.mol⁻¹ (**2**), sendo o único termo que contribui para desestabilizar a interação $[\text{dmso}]^0 \leftrightarrow [\text{Ru}(\text{II})(\text{im})\text{Cl}_4]^{2-}$, Figura 5.15.

Figura 5.15 – Gráfico da contribuição do termo de repulsão ΔE^{rep} a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1** e **2**.



O oposto ocorre para a interação $[im]^0 \leftrightarrow [Ru(II)(dmso)Cl_4]^{2-}$, a redução do complexo torna a interação Ru-im mais fraca ($\Delta E^{tot} = -24,97$ kcal.mol⁻¹), e ambos os termos eletrostático e polarização diminuem, de $-67,82$ kcal.mol⁻¹ (**1**) para $-63,13$ kcal.mol⁻¹ (**2**) e de $-62,29$ kcal.mol⁻¹ (**1**) para $-55,47$ kcal.mol⁻¹ (**2**) enquanto o termo de repulsão ΔE^{rep} apresenta um pequeno aumento de $+243,44$ kcal.mol⁻¹ (**1**) para $+254,47$ kcal.mol⁻¹ (**2**), em conjunto, e contribuindo para desestabilizar a ligação Ru-im. Entretanto, o termo de troca, contribui para amenizar esta desestabilização, apresentando um aumento de $-7,32$ kcal.mol⁻¹ ($\Delta E^{ex} = -141,11$ kcal.mol⁻¹).

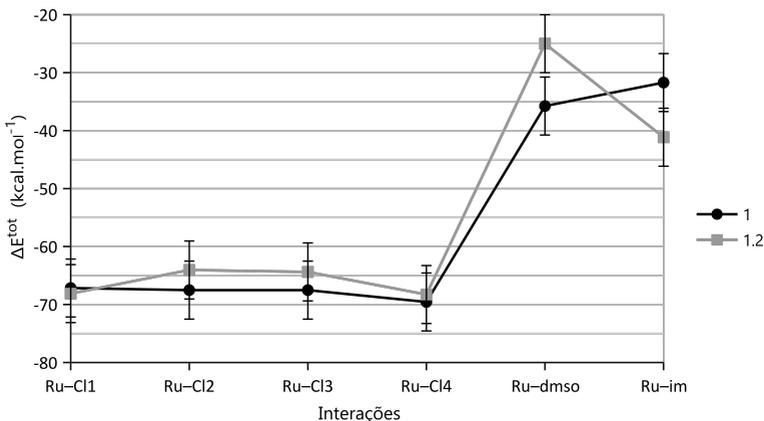
De acordo com o mecanismo proposto por Alessio et al, [14] um dos complexos hidrolisados do NAMI-A, **1.2** ocorre com a substituição do ligante dimetilsulfóxido pelo ligante aquo na esfera de coordenação primária, em condição ácida, pH = 3,0–4,0. Os resultados da Tabela 5.4 mostram que as interações equatoriais Ru-Cl1-4 são quase invariantes com essa substituição, já que apresentam valores muito próximos de ΔE^{tot} , por exemplo a interação Ru-Cl1 possui magnitude de $-67,16$

kcal.mol⁻¹ no complexo **1** enquanto que no complexo **1.2** a mesma interação possui um valor de -68,12 kcal.mol⁻¹.

Tabela 5.4 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para o complexo **1.2** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(H ₂ O)(im)Cl ₃] ⁰	-68,12	-81,14	-132,88	232,50	-74,28	-3,45	-8,86
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(H ₂ O)(im)Cl ₃] ⁰	-64,05	-69,18	-126,91	225,67	-79,94	-3,45	-10,24
[Cl3] ⁻ ↔ [Ru(H ₂ O)(im)Cl ₃] ⁰	-64,38	-71,50	-129,50	229,37	-79,15	-3,42	-10,19
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(H ₂ O)(im)Cl ₃] ⁰	-68,28	-82,06	-133,15	232,54	-73,89	-3,53	-8,20
[H ₂ O] ⁰ ↔ [Ru(im)Cl ₄] ⁻	-25,00	-47,66	-80,00	144,27	-30,25	-2,97	-8,38
[im] ⁰ ↔ [Ru(H ₂ O)Cl ₄] ⁻	-41,14	-88,75	-167,41	315,32	-81,27	-9,14	-9,89

Figura 5.16 – Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1** e **1.2**.



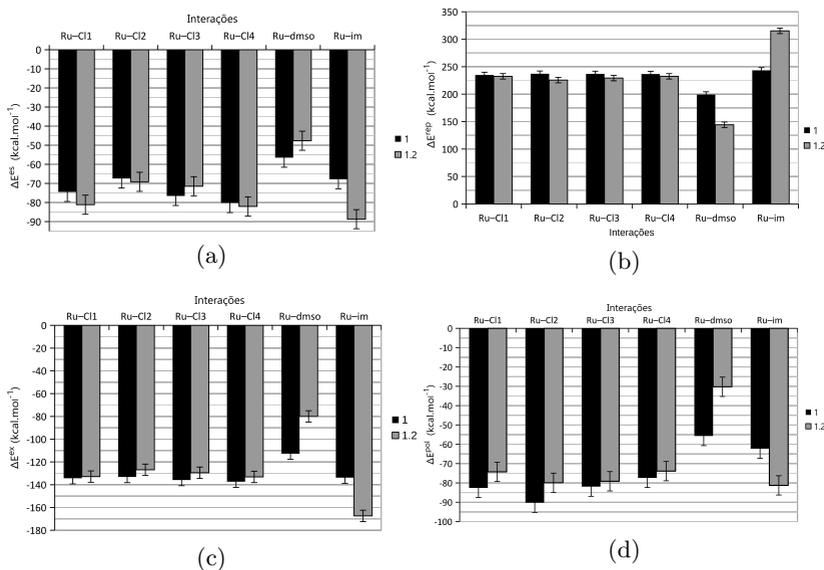
Também não é observado uma tendência específica entre essas variações, no qual a interação Ru-Cl1 no complexo **1.2**, quando comparada a **1**, apresenta um aumento desprezível na magnitude da energia total de interação (-0,96 kcal.mol⁻¹) enquanto para as interações Ru-Cl(2, 3 e 4) ΔE^{tot} diminui, Figura 5.16.

Ambos os termos de troca ΔE^{ex} e ΔE^{pol} diminuem em média +4,58 kcal.mol⁻¹ e +6,22 kcal.mol⁻¹, respectivamente, desestabilizando mais as interações Ru-Cl1-4 no complexo **1.2**, no entanto essa desestabilização adicional é balanceada pela diminuição do termo de repulsão ΔE^{rep} (-6,44 kcal.mol⁻¹ em média). As variações na magnitude desses termos provem diretamente da substituição do ligante dimetilsulfóxido, rico em elétrons) pelo ligante aquo (pobre em elétrons), o que acarreta numa menor repulsão entre os fragmentos interagentes, $[Cl1-4]^- \leftrightarrow [Ru(III)(H_2O)(im)Cl_3]^0$ entretanto, numa menor contribuição estabilizante dos termos ΔE^{pol} e ΔE^{ex} na magnitude da energia total de interação.

A partir do gráfico da Figura 5.16 fica evidente que as interações que mais sofrem com a substituição do ligante dmso pelo aquo são as inte-

rações axiais Ru–im e a própria interação Ru–H₂O. Esta última possui uma energia total de interação de -25,00 kcal.mol⁻¹, quase 10 kcal.mol⁻¹ menor que a interação Ru–dmsO (-35,76 kcal.mol⁻¹) observada no complexo **1**. O menor valor de ΔE^{tot} pode ser atribuído as menores contribuições dos termos eletrostático ($\Delta E^{es} = -47,66$ kcal.mol⁻¹), troca ($\Delta E^{ex} = -80$ kcal.mol⁻¹) e polarização ($\Delta E^{pol} = -30,25$ kcal.mol⁻¹), conforme pode ser verificado na Figura 5.17. Contudo a substituição do ligante dmsO por aquo acarreta numa diminuição significativa da repulsão intereletrônica dos fragmentos interagentes, $[H_2O]^0 \leftrightarrow [Ru(III)(im)Cl_4]^-$, que é refletido no menor valor de ΔE^{rep} (+144,27 kcal.mol⁻¹), +955 kcal.mol⁻¹ a menos que a interação Ru–dmsO ($\Delta E^{rep} = +199,40$ kcal.mol⁻¹). Entretanto, apesar das diferenças significativas das contribuições energéticas à magnitude de ΔE^{tot} , ambas interações, Ru–dmsO e Ru–H₂O no complexo **1.2** possuem natureza física semelhante e são moduladas principalmente pela contribuição do termo de troca ΔE^{ex} , Figura 5.17(c).

Figura 5.17 – Gráficos das contribuições dos termos eletrostático ΔE^{es} (a), de repulsão ΔE^{rep} (b), de troca ΔE^{ex} (c) e polarização ΔE^{pol} (b) a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1** e **1.2**.

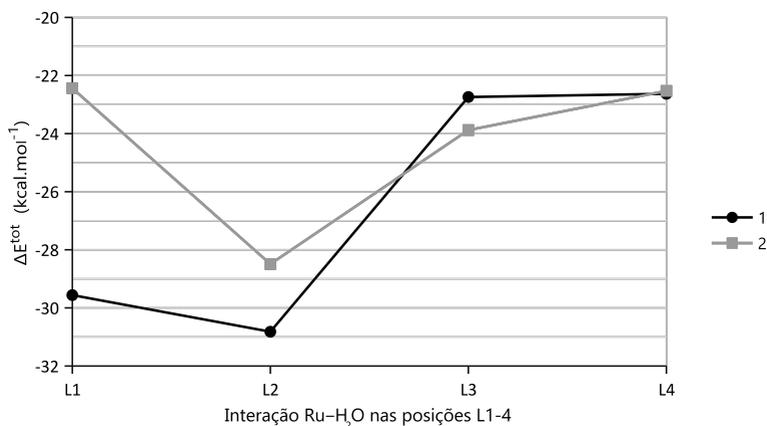


A interação Ru–im é a interação mais afetada com a substituição do ligante dmso pelo aquo (Figura 5.16), esta apresenta um aumento de quase -10 kcal.mol⁻¹ na magnitude de ΔE^{tot} . Este aumento é decorrente também do incremento nas magnitudes dos termos eletrostático ($\Delta\Delta E^{es} = -20,93$ kcal.mol⁻¹), troca ($\Delta\Delta E^{ex} = -33,62$ kcal.mol⁻¹), polarização ($\Delta\Delta E^{pol} = -18,98$ kcal.mol⁻¹), sugerindo que a interação Ru–im é fortalecida devido a troca de uma interação mais estabilizadora Ru–dmso pela interação Ru–H₂O, E fazendo com que a interação Ru–im compense essa desestabilização. Porém, o aumento na magnitude de ΔE^{tot} é acompanhado por aumento expressivo do termo de repulsão, que varia de +243,44 kcal.mol⁻¹ (**1**) para +315,32 kcal.mol⁻¹ (**1.2**).

Com a finalidade de investigar em qual posição equatorial o

ligante aquo é mais estabilizado na esfera de coordenação primária do complexo $[\text{Ru(III)}(\text{dmsO})(\text{im})\text{Cl}_4]^-$ foram realizadas análises de decomposição de energia, considerando a substituição do cloreto pelo ligante aquo nas posições L1 a L4, antes e após a redução, de acordo com o esquema da Figura 5.9 e dando origem aos complexos **1L1-1L4** e aos complexos **2L1-2L4** (Figura 5.10). Como pode ser observado na Figura 5.18, a análise de GKS-EDA sugere que o ligante aquo é mais estabilizado nas posições **1L1** e **1L2** devido aos valores mais negativos de ΔE^{tot} para a interação $[\text{H}_2\text{O}]^0 \leftrightarrow [\text{Ru(III)}(\text{dmsO})(\text{im})\text{Cl}_4]^-$, com magnitudes de $-30,82 \text{ kcal.mol}^{-1}$ e $-29,56 \text{ kcal.mol}^{-1}$, respectivamente. Os menores valores de ΔE^{tot} são observados para as posições **1L3** ($-22,74 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e **1L4** ($-22,63 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Entretanto, no complexo reduzido $[\text{Ru(II)}(\text{dmsO})(\text{im})\text{Cl}_4]^{2-}$ a mesma tendência não é observada, a magnitude de ΔE^{tot} é significativamente maior quando o ligante aquo está na posição **2L2** ($-28,48 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e nas demais posições as magnitudes de ΔE^{tot} são muito próximas e assumem um valor médio de $-22,95 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Figura 5.18 – Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol^{-1}) para a interação Ru–H₂O nas posições L1-L4 nos complexos **1** e **2**.



Os resultados de GKS-EDA apresentados corroboram com os

resultados experimentais descritos na literatura, no qual a hidrólise do NAMI-A, e portanto a estabilização da interação Ru–H₂O ocorre preferencialmente na posição L2, associado ao fato, em que nesta posição o ligante também é estabilizado por ligação de hidrogênio. Os resultados do Apêndice 8.2, mostram que a estabilização da interação Ru–H₂O nas posições **1L1** e **1L2** é advinda de um incremento significativo nas contribuições dos termos eletrostático (-24,55 kcal.mol⁻¹), troca (-42,05 kcal.mol⁻¹) e polarização (-24,56 kcal.mol⁻¹). Antagonicamente, o termo de repulsão ΔE^{rep} desestabiliza mais a interação, em torno de +180,14 kcal.mol⁻¹, enquanto que nas posições **1L3** e **1L4**, assume o valor de +100,36 kcal.mol⁻¹ em média. Também é possível observar que uma mesma tendência dos termos energéticos é mantida para a interação Ru–H₂O no complexo [Ru(II)(dmsO)(im)Cl₄]⁻ (**2**), NAMI-A reduzido (Apêndice 8.3). No qual, apesar da magnitude do termo de repulsão ser maior +163,67 kcal.mol⁻¹ (**2L2**) quando comparado a **2L3** (+117,58 kcal.mol⁻¹) e **2L4** (+115,26 kcal.mol⁻¹), os termos estabilizantes, ΔE^{es} (-54,20 kcal.mol⁻¹), ΔE^{pol} (-35,21 kcal.mol⁻¹) e ΔE^{ex} (-91,29 kcal.mol⁻¹), contribuem para tornar a interação Ru–H₂O na posição **2L2** a mais estabilizadora.

Os resultados obtidos teoricamente convergem com os sugeridos na literatura, no qual a hidrólise do NAMI-A deve ocorrer preferencialmente quando o ligante cloreto é substituído pelo ligante aquo na posição L2, as discussões dos resultados conseguintes serão baseadas nos complexos **1.1** e **2.1**, que justamente são os complexos hidrolisados na posição L2 do NAMI-A antes da redução e após a redução. Contudo, os resultados do GKS-EDA para os demais complexos encontram-se nas Tabelas do Apêndice 8.2 e 8.3.

Alguns estudos de citotoxicidade com ensaios de *DNA*, ainda indicam que a atividade do NAMI-A é dependente da redução monoelétrica, que ocorre no meio intracelular, e só então o complexo é ativo em suas formas hidrolisadas para ocorrer a interação com o *DNA*. [14,35] Porém, recentemente, evidências experimentais sugerem que o NAMI-A

interaja preferencialmente no meio extracelular, e que o mesmo seja transportado até o núcleo celular por proteínas plasmáticas como a *HSA*. [185–187]

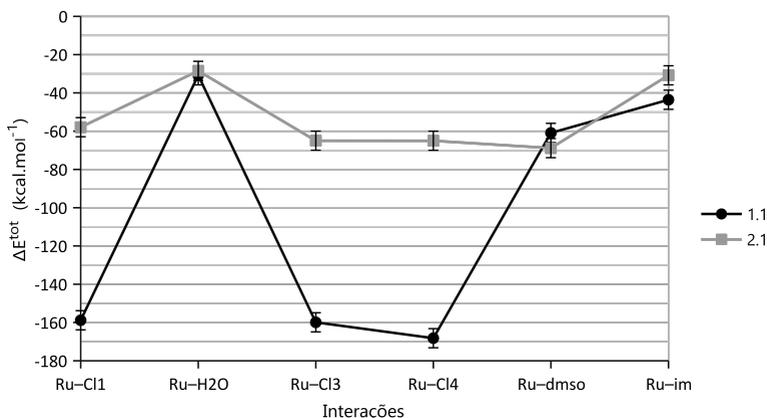
Os resultados de GKS-EDA, Tabela 5.5, indicam que a redução monoelétrica afeta substancialmente não apenas a magnitude das interações dos aquo complexos **1.1** e **2.1**, devido a mudança significativa da magnitude de ΔE^{tot} mas também a sua natureza física, pela variação observada também na magnitude das suas contribuições energéticas.

Tabela 5.5 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para os complexos **1.1** e **2.1** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
$[Cl1]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^-$	1.1	-158,83	-162,00	-138,54	251,35	-95,21	-4,39	-10,04
$[Cl1]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^0$	2.1	-57,92	-65,63	-124,39	213,29	-64,63	-4,25	-12,31
$[H_2O]^0 \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_3]^0$	1.1	-30,82	-58,69	-98,66	181,72	-48,26	-3,50	-3,44
$[H_2O]^0 \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_3]^-$	2.1	-28,49	-54,20	-91,29	163,67	-35,21	-3,24	-8,22
$[Cl3]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^-$	1.1	-159,91	-171,87	-143,39	254,69	-86,69	-4,48	-8,16
$[Cl3]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^0$	2.1	-64,99	-83,94	-139,38	237,47	-65,37	-4,37	-9,40
$[Cl4]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^-$	1.1	-168,20	-165,36	-142,78	259,34	-108,55	-4,47	-6,38
$[Cl4]^- \leftrightarrow [Ru(dmso)(im)Cl_2H_2O]^0$	2.1	-65,02	-66,03	-120,11	205,51	-64,03	-4,57	-15,78
$[dmso]^0 \leftrightarrow [Ru(im)Cl_3H_2O]^0$	1.1	-60,90	-95,80	-175,62	329,86	-82,47	-10,59	-26,28
$[dmso]^0 \leftrightarrow [Ru(im)Cl_3H_2O]^-$	2.1	-68,85	-107,89	-203,23	381,05	-93,15	-10,79	-34,84
$[im]^0 \leftrightarrow [Ru(dmso)Cl_3H_2O]^0$	1.1	-43,58	-71,08	-119,23	219,99	-64,16	-7,84	-1,26
$[im]^0 \leftrightarrow [Ru(dmso)Cl_3H_2O]^0$	2.1	-30,81	-63,1	-121,71	221,69	-52,05	-7,80	-7,84

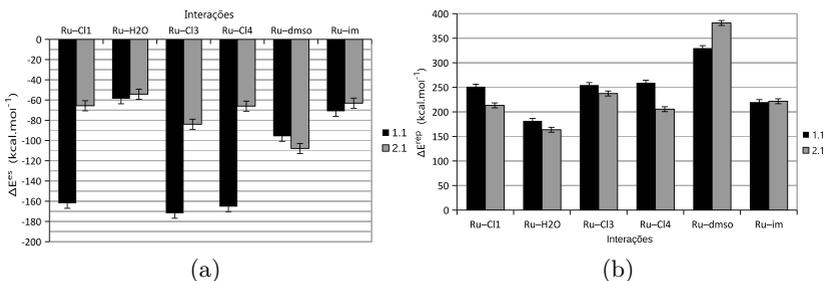
De acordo com o gráfico da Figura 5.19 e Tabela 5.5 as interações mais afetadas são as interações Ru–Cl, apresentando uma diminuição expressiva na magnitude de ΔE^{tot} em torno de 61% em média, principalmente para a interação Ru–Cl1 no qual ΔE^{tot} passa de $-160,70 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para $-57,92 \text{ kcal.mol}^{-1}$, diminuição em grande parte, causada pela próprio decréscimo da contribuição do termo eletrostático ΔE^{es} a magnitude de ΔE^{tot} .

Figura 5.19 – Gráfico da energia total de interação ΔE^{tot} (em kcal.mol^{-1}) para as interações nos complexos **1.1** e **2.1**.



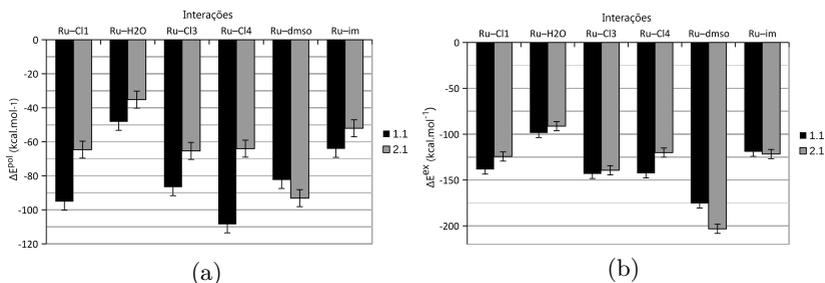
Por exemplo para a interação Ru–Cl3 ΔE^{es} diminui de $-164,70 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1.1**) para $-83,94 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**2.1**). Essa diminuição do caráter eletrostático da interação Ru–Cl é provocada pela mudanças nas cargas do fragmento metálico interagente, que passa a ter carga formal -2, $[\text{Ru(II)(dmso)(im)Cl}_4]^{2-}$, este ao interagir com o ânion cloreto, que é carregado negativamente, dá origem a uma interação eletrostática desestabilizadora, no ponto de vista clássico. Porém, essa perda na magnitude de ΔE^{tot} , é um pouco resgatada com o decréscimo do termo de repulsão ΔE^{rep} , que para a interação Ru–Cl1 varia de $+255,25 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1.1**) para $+213,29 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**2.1**), Figura 5.20.

Figura 5.20 – Gráficos das contribuições dos termos eletrostáticos ΔE^{es} (a) e repulsão ΔE^{rep} (b) a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1.1** e **2.1**.



As interações axiais são pouco fortalecidas com a redução, ocorrendo um aumento pouco expressivo na magnitude de ΔE^{tot} que varia de -60,99 kcal.mol⁻¹ (**1.1**) a -68,85 kcal.mol⁻¹ (**2.1**) para a interação Ru-dmso enquanto para a interação Ru-im, a variação ocorre de -24,23 kcal.mol⁻¹ (**1.1**) a -30,81 kcal.mol⁻¹. Assim como ocorre para os complexos **1** e **2**, esse pequeno aumento é modulado pelas contribuições dos termos eletrostático, polarização ΔE^{pol} e troca ΔE^{ex} (Figura 5.21), e em contraste também ocorre um aumento no termo de repulsão. Por exemplo, para a interação Ru-dmso é observado um incremento de -12,26 kcal.mol⁻¹ e -26,99 kcal.mol⁻¹ para os termos ΔE^{es} e ΔE^{ex} , respectivamente, porém o termo de repulsão desestabiliza a interação com um acréscimo em sua magnitude, que varia de +330,70 kcal.mol⁻¹ (**1.1**) a +381,05 kcal.mol⁻¹ (**2.1**).

Figura 5.21 – Gráficos das contribuições dos termos de polarização ΔE^{pol} (a) e de troca ΔE^{ex} (b) a energia total de interação (em kcal.mol⁻¹) para as interações nos complexos **1.1** e **2.1**.



Ademais, os resultados sugerem que a redução excepcionalmente não altera a própria interação Ru-H₂O, como pode ser observado no valor quase imutável de ΔE^{tot} , -30,82 kcal.mol⁻¹ para o complexo **1.1** e -28,49 kcal.mol⁻¹ para o complexo **2.1**, entretanto esta pequena diferença é crucial para o complexo NAMI-A apresentar atividade antimetastática e até antitumoral.

4.3 Docking Molecular

4.3.1 Docking Molecular DNA

Para investigar como ocorre a interação do NAMI-A (**1**) com o DNA e como esta é afetada com a hidrólise, foram realizadas as análises de *docking* molecular e a princípio tratando o ligante rígido e posteriormente flexível, para fins de comparação.

Os resultados da Tabela 5.6 mostram a comparação das análises de docking molecular considerando o ligante; neste caso, o complexo NAMI-A (**1**); rígido (a) e flexível (b) interagindo com o receptor *BDNA*, tratado exclusivamente rígido. No qual, para o tratamento rígido, não há grande variação dos sítios ativos ou domínios exceto pela configuração 8 (A_{5A}), nas demais conformações ou modos, o NAMI-A ajusta-se

por inserção aos sítios ativos do *minor-groove* composto pelos pares de bases nitrogenadas G_{22B}-C_{3A} e C_{21B}-G_{4A}. As conformações são muito próximas entre si geometricamente, entretanto, de acordo com a Tabela 5.6, a conformação 1 é a configuração nuclear obtida mais estável, como pode ser avaliado pelos valores de rmsd e de afinidade eletrônica. As demais conformações são avaliadas comparando-as com 1, onde energeticamente, as conformações 2 e 3 também podem ser consideradas possíveis candidatas de mínimo, já que diferem de 1, apenas geometricamente devido as rotações do ligante, possuindo o mesmo valor de afinidade de -4,7 kcal.mol⁻¹.

Tabela 5.6 – Parâmetros de *docking* molecular para o sistema *BDNA*(receptor)/*NAMI-A*(ligante), com o tratamento do ligante rígido (a) e flexível (b).

Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)		RMSD do modo 1 (ub/lb)* (Å)		Sítio Ativo	
	a	b	a	b	a	b
1	-4,7	-4,6	0/0	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
2	-4,7	-4,6	3,284/4,607	0,09/1,813	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
3	-4,7	-4,6	1,209/3,099	0,086/2,543	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
4	-4,6	-4,6	1,798/2,266	0,068/1,816	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
5	-4,5	-4,4	2,679/3,482	2,913/3,113	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
6	-4,5	-4,3	3,517/4,804	3,234/5,002	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
7	-4,4	-4,2	3,74/5,066	1,866/3,007	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
8	-4,4	-4,2	12,942/14,369	3,256/4,960	A _{5A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
9	-4,2	-4,1	2,445/3,520	2,828/3,084	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}

*desvio médio padrão relativo ao modo 1 da ligação acima (ub) e da ligação abaixo (lb).

Os resultados de afinidade mostram que o aumento do grau de liberdade do ligante, através do tratamento flexível, diminuem em $0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a afinidade que estes tem com o *BDNA*, entretanto, esta flexibilidade adicional, torna os valores de RMSD menores e mais próximos da conformação de mínimo, 1. Assim como no docking anterior, os sítios ativos preferidos das conformações 1 a 9 continuam sendo o poli(CG)₂ do *minor-groove*, o que mostra que a flexibilidade do ligante, neste caso, não afeta as preferências de *binding* dos complexos, mas sim, suas posições geométricas. Portanto, as próximas análises de *docking* molecular foram realizadas apenas considerando o ligante flexível, devido aos melhores valores de rmsd entre as conformações e a configuração nuclear de mínimo.

Como pode ser observado na Tabela 5.7, ambos os processos, redução e substituição dos ligantes axiais e equatoriais pelo ligante aquo quase não modificam a interação dos complexos com o *BDNA*. Entretanto, não há grandes diferenças na afinidade entre os ligantes e o receptor, onde a magnitude da afinidade das diferentes conformações varia entre $-4,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-5,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$. De acordo com os resultados dispostos na Tabela 5.7, fica evidenciada a maior, mas não significativa, afinidade do NAMI-A com o *BDNA* quando o mesmo sofre substituição do ligante cloreto Cl(2) pelo ligante aquo H₂O, tendo um acréscimo de $-0,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$ na afinidade. Contudo, a afinidade diminui $0,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ comparando os complexos **1** ($-4,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e **1.2** ($-4,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$) com a substituição do ligante dmsu por H₂O. Observa-se também que a redução de **1** para **2**, diminui a afinidade em $+0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$, entretanto a substituição do cloreto pelo ligante aquo (**2.1**) aumenta em $-0,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a afinidade, evidenciando também que a hidrólise não tem um papel crucial na interação desse tipo de complexos com o *DNA*.

Não somente a afinidade receptor-ligante é afetada nos diferentes complexos, mas também a maneira de como esses se inserem no *BDNA*, contudo os domínios são quase invariantes, nos quais os

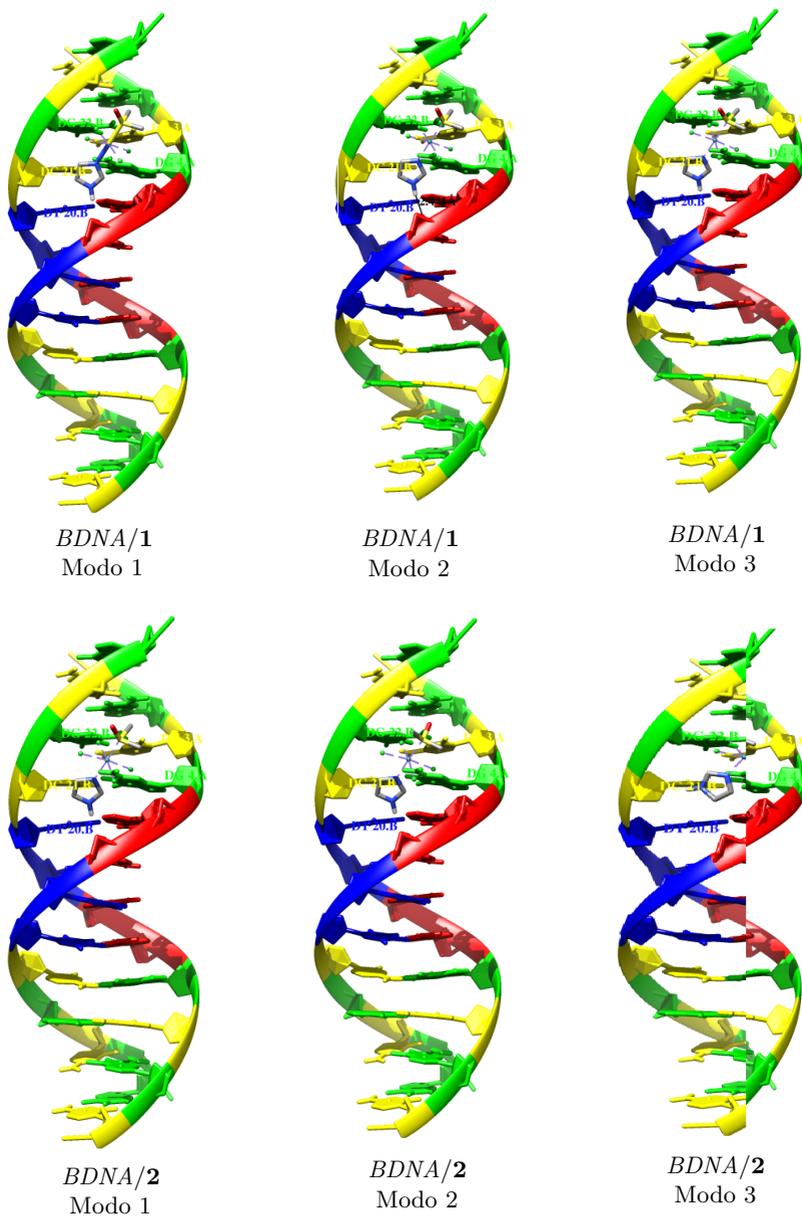
complexos se inserem entre os pares de bases nitrogenadas G_{22B}-C_{3A} e C_{21B}-G_{4A} do *minor-groove* do *BDNA*, Figura ?? . No qual o complexo NAMI-A (**1**) tem sua geometria direcionada ao par de base C_{21B}-G_{4A} e os demais complexos ao par G_{22B}-C_{3A}.

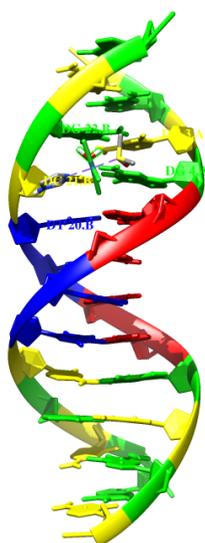
Tabela 5.7 – Parâmetros de *docking* molecular para os sistemas *BDNA*(receptor)/complexos(ligante), com o tratamento do ligante (**1**, **2**, **1.1**, **2.1** e **1.2**) flexível.

Complexos	Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)	RMSD do modo 1 (ub/lb)* (Å)	Sítio Ativo
1	1	-4,7	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	2	-4,7	0,313 /1,885	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	3	-4,7	1,061 /1,881	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
2	1	-4,6	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	2	-4,6	1,179 /2,388	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	3	-4,6	3,614 /4,270	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
1.1	1	-5,3	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	2	-5,3	2,688 /3,082	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	3	-5,2	3,048 /5,513	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
2.1	1	-5,1	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	2	-5	3,528 /5231	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	3	-5	2,539 /2,871	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
1.2	1	-4,4	0	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	2	-4,4	0,221 /2,865	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}
	3	-4,3	0,854 / 2,230	G _{22B} -C _{3A} /C _{21B} -G _{4A}

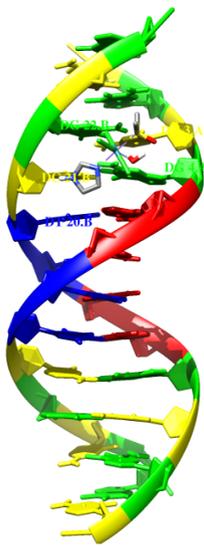
*desvio médio padrão relativo ao modo 1 da ligação acima (ub) e da ligação abaixo (lb).

Figura 5.22 – Representação dos três modos mais estáveis do *docking* molecular dos complexos 1, 2, 1.1, 2.1 e 1.2 com o *BDNA*.

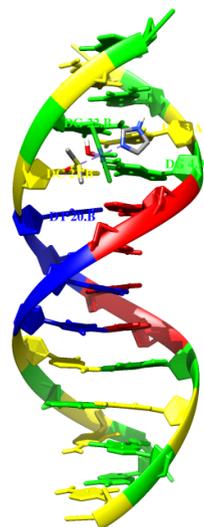




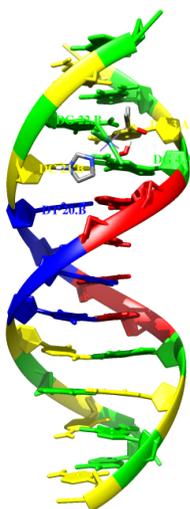
BDNA/1.1
Modo 1



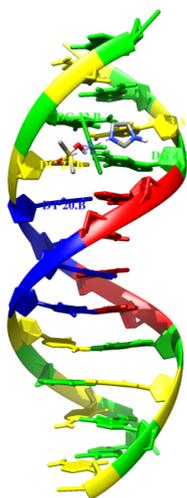
BDNA/1.1
Modo 2



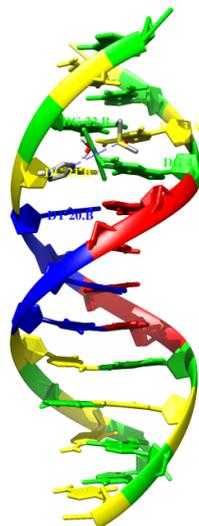
BDNA/1.1
Modo 3



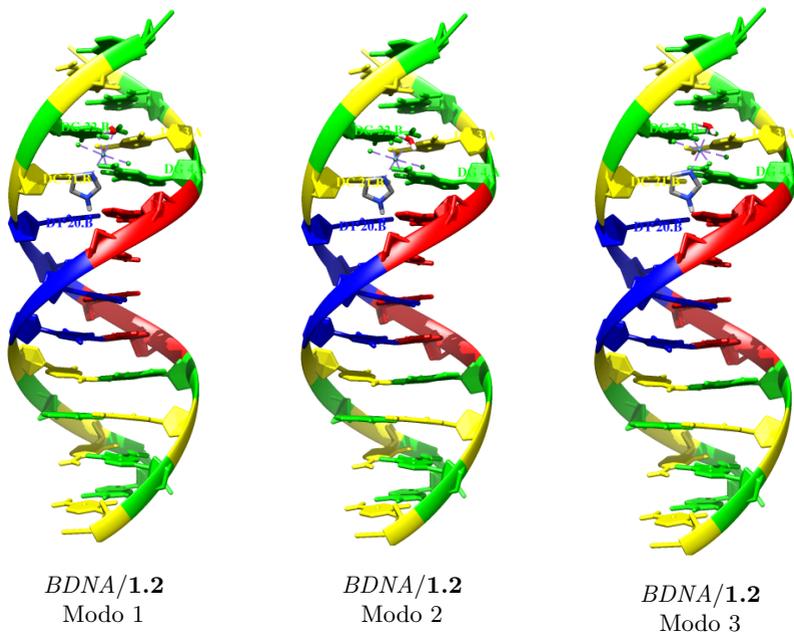
BDNA/2.1
Modo 1



BDNA/2.1
Modo 2



BDNA/2.1
Modo 3



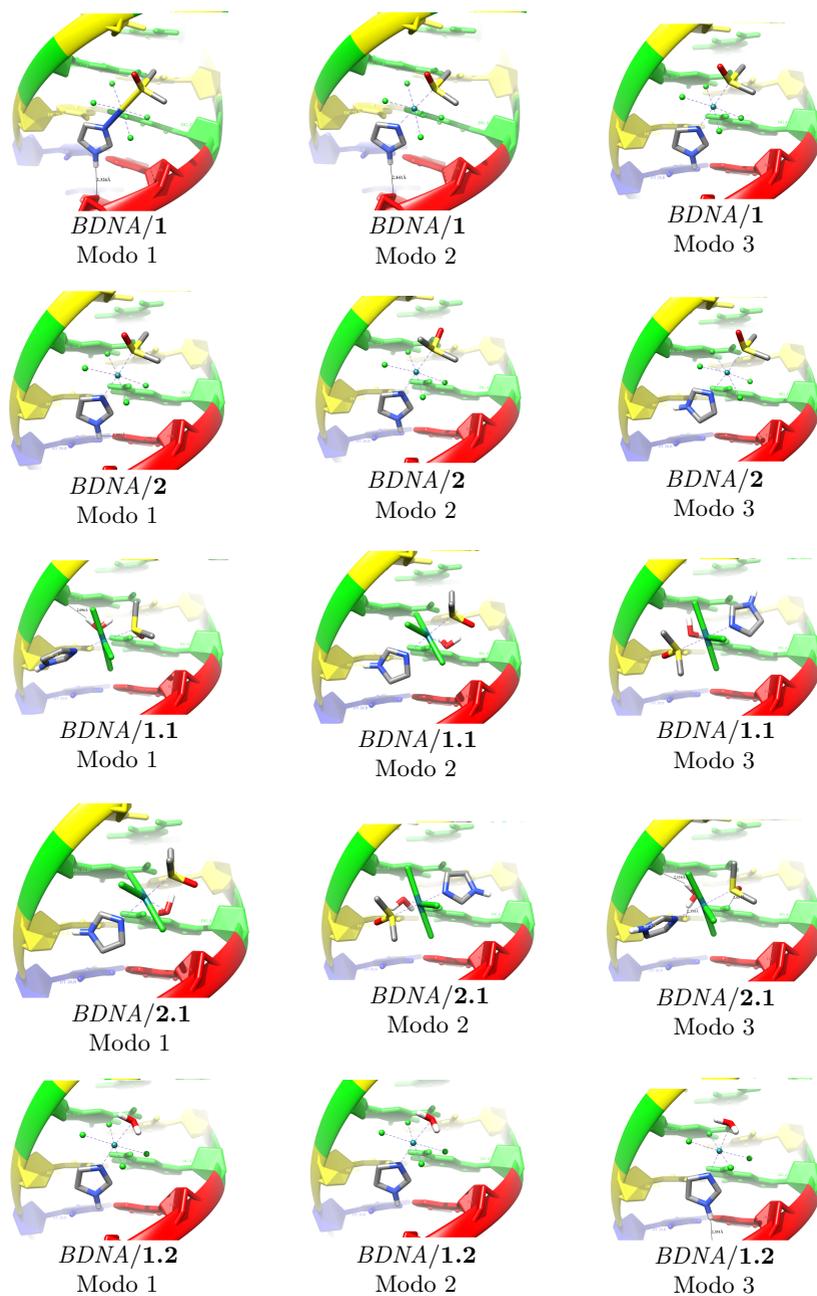
De acordo com a Figura 5.25 e os resultados da Tabela 5.8, a formação de ligação de hidrogênio não está associada as configurações ou modos mais estáveis para todos os complexos. No complexo (1), para ambas configurações 1 e 2 está associada uma única ligação de hidrogênio para cada, sendo esta de mesma natureza, ocorrendo entre o átomo de H associado ao nitrogênio do ligante imidazol com o átomo de oxigênio (O4) da adenina (A_{6A}) do *BDNA*, com um valor de 2,326 Å para o modo 1 enquanto que para o modo 2, 2,441 Å. Contudo, a forma reduzida do complexo apresenta uma única ligação de hidrogênio (2,551 Å) que ocorre para a configuração mais estável 1, sendo esta formada pelo átomo de H do ligante imidazol, atuando como doador, com o átomo de nitrogênio (N3) da base adenina (A_{5A}), como receptor. O mesmo pode ser observado para os aquo complexos **1.1**, **2.1** e **1.2**, no qual é observada duas ligação de hidrogênio para o modo 1 do complexo **1.1** de natureza diferentes, uma entre o átomo de H da guanina (G_{4A})

do *BDNA* com o oxigênio do ligante aquo (1,910 Å) do complexo e outra (2,096 Å) ocorrendo entre o H do ligante aquo com o átomo de oxigênio O4 da guanina G_{22B}. O complexo **2.1** na configuração 3 forma três ligações de hidrogênio com o *BDNA*, sendo estas da mesma natureza mas com magnitudes diferentes que as ligações de hidrogênio observadas no complexo **1.1**, Tabela 5.8. Já o complexo **1.2** é o aquo complexo com o menor número de ligações de hidrogênio, apenas uma para o modo 3, sendo esta de mesma natureza que as ligações observadas no complexo **1**, com magnitude de 2,351 Å.

Tabela 5.8 – Ligações de hidrogênio, em Å, para os três modos mais estáveis do sistema *BDNA* (receptor)/complexo (ligante), obtidas da análise pós-*docking*.

Complexos	Modos	Ligação de Hidrogênio	
		Doador (D-H) → Aceitador (A)	R(H-A) em Å
1	1	H(N _{im}) → O4'(A _{6A})	2,326
	2	H(N _{im}) → O4'(A _{6A})	2,441
	3	Não foi observada	
2	1	H(N _{im}) → N3'(A _{5A})	2,551
	2	Não foi observada	
	3	Não foi observada	
1.1	1	H(G _{4A}) → O(H ₂ O)	1,910
		H(H ₂ O) → O4(G _{22B})	2,096
	2	Não foi observada	
2.1	3	Não foi observada	
	1	Não foi observada	
	2	Não foi observada	
1.2	3	H(G _{4A}) → O(H ₂ O)	2,084
	3	H(H ₂ O) → O(C _{21B})	2,358
	3	H(H ₂ O) → O4(G _{22B})	2,116
1.2	1	Não foi observada	
	2	Não foi observada	
	3	H(N _{im}) → O4'(A _{6A})	2,351

Figura 5.25 – Representação dos três modos mais estáveis explicitando as ligações de hidrogênio do *docking* molecular dos complexos 1, 2, 1.1, 2.1 e 1.2 com o *BDNA*.



4.3.2 Docking Molecular com HSA

Os resultados da análise do *docking* molecular dos complexos com a HSA (Figura ??), Tabela 5.9, seguem a mesma tendência que os resultados observados na Tabela 5.7, no qual a hidrólise do complexo NAMI-A aumenta a afinidade com a HSA, no qual sua magnitude varia de $-4,8 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1**) para $-5,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1.1**) para o modo 1, enquanto para os modos 2 e 3, um aumento médio de $-0,25 \text{ kcal.mol}^{-1}$ é observado. Uma variação menos expressiva ainda é observada quando se comparam os valores da afinidade para os complexos **1** e **2**, no qual a afinidade diminui cerca de $+0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para o modo 1, contudo se mantêm constante e aumenta em $-0,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$, para os modos 2 e 3, respectivamente, sugerindo também que a redução não tem papel importante na afinidade desses complexos com a HSA. Contudo, como esperado, o complexo **2.1** possui uma afinidade com a HSA quase invariante quando comparados aos valores observados para os seu análogo não hidrolisado **2**, Tabela 5.9. Os menores valores de afinidade também são observados para o complexo **1.2**, apresentando uma magnitude de $-4,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para os modos 1 e 2, e $-4,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para o modo 3.

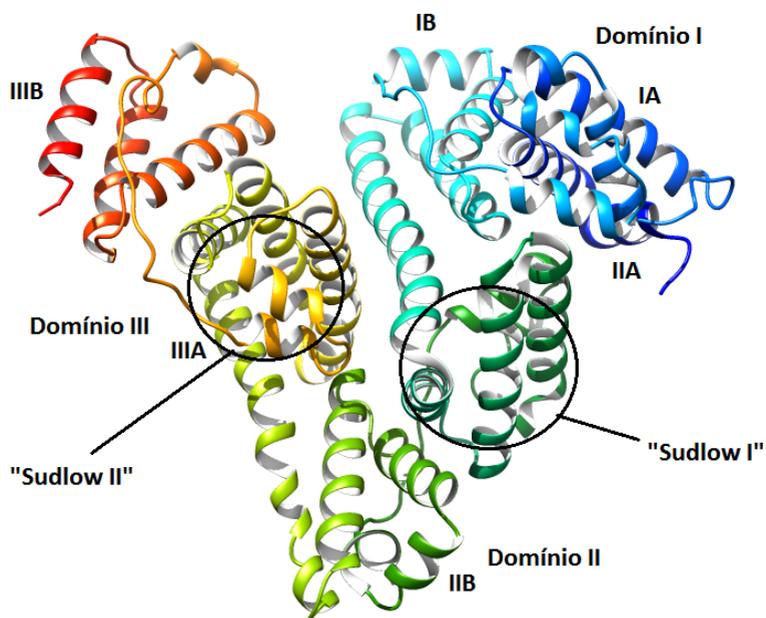
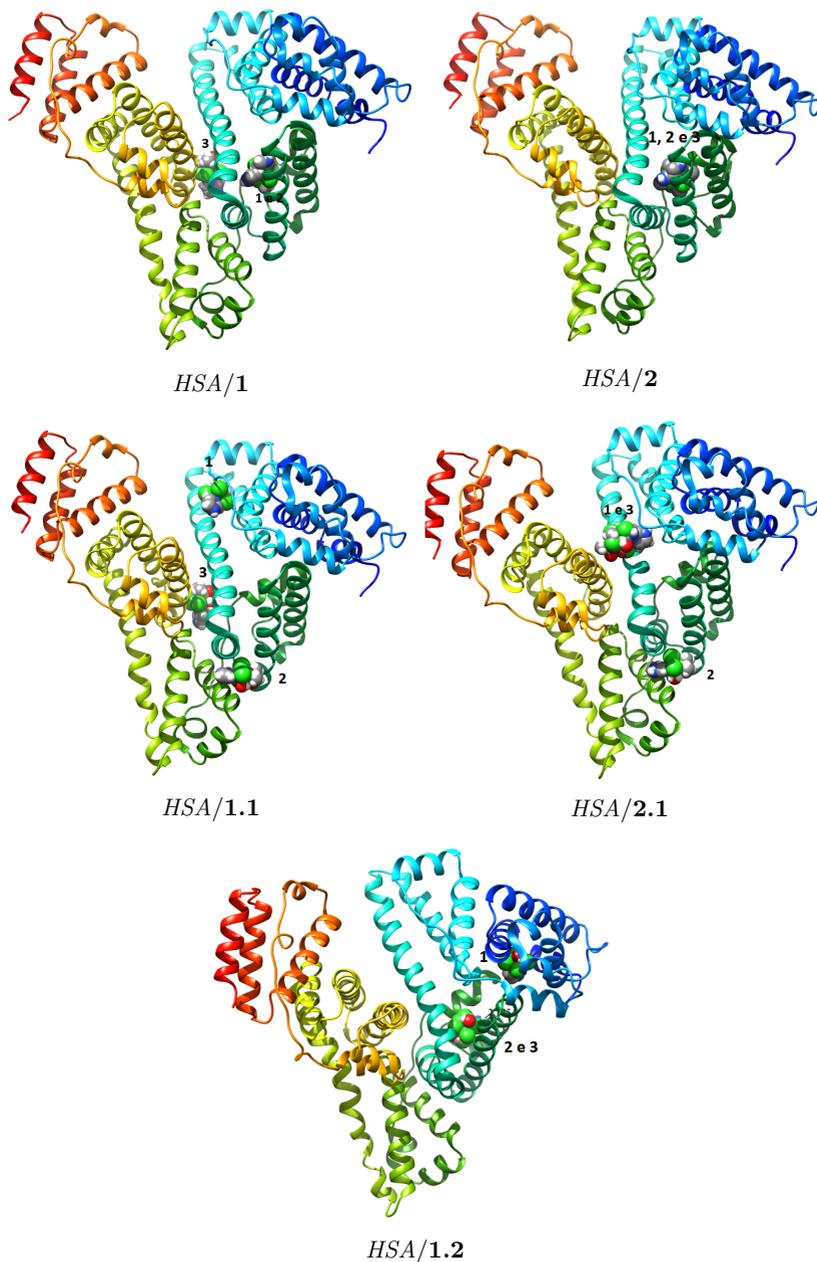
Figura 5.26 – Sítios ativos ou domínios conhecidos da *HSA*.

Tabela 5.9 – Parâmetros de *docking* molecular para os sistemas HSA (receptor)/complexos (ligante), com o tratamento do ligante (1, 2, 1.1, 2.1 e 1.2) flexível.

Complexos	Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)	RMSD do modo 1 (ub/lb) (Å)	Sítio Ativo	Resíduos Próximos
1	1	-4,8	0	“Sudlow I”	LYS198-HIS241-CYS244
	2	-4,7	2,647/3,174	“Sudlow I”	LYS 198-SER286-ALA290
	3	-4,5	14,791/15,976	IIIB	LYS443-LYS447-ASP450
2	1	-4,7	0	“Sudlow I”	LYS198-HIS241-ALA260
	2	-4,7	3,193/4,662	“Sudlow I”	LYS198-HIS241-CYS244
	3	-4,6	2,643/3,101	“Sudlow I”	LYS198-HIS241-LEU259
1.1	1	-5,0	0	IB	ARG113-TYR160-ARG185
	2	-4,9	39,743/40,382	IIB	ARG208-SER231-GLY327
	3	-4,8	24,466/25,539	IB e IIIA	GLU203-PRO446-ASP450
2.1	1	-4,8	0	IB	ASP107-SER192-ALA193
	2	-4,7	30,055/30,795	IIB	ARG208-SER231-GLY327
	3	-4,7	2,696/2,944	IB e IIIA	ASP107-LYS189-ALA193
1.2	1	-4,5	0	IA	ARG9-LEU13-LEU283
	2	-4,5	17,908/18,735	“Sudlow I”	HIS241-LEU259-ALA260
	3	-4,4	17,672/18,533	“Sudlow I”	ILE289-HYS241-CYS244

Apesar dos valores da afinidade serem muito próximos entre si para as configurações dos diferentes complexos, ela é suficiente para discriminar os diferentes sítios ativos da *HSA*. Como pode ser observado na Tabela 5.9 e Figura 5.27, para um mesmo complexo, há dois ou três sítios ativos diferentes, sendo a única exceção o sistema *HSA*/complexo **2**, no qual os três modos mais estáveis apresentam o mesmo sítio ativo, o "sudlow I". O complexo NAMI-A interage com a *HSA* em dois diferentes sítios, o "sudlow I" (modos 1 e 2) e o domínio IIIB, no qual é relativamente próximo ao "sudlow I". A interação dos complexos hidrolisados **1.1** e **2.1** com a *HSA* acontece no mesmo sítio ativo para seus diferentes modos e sendo estes também diferentes entre si, no modo 1, mais favorável, a interação ocorre no domínio IB enquanto no modo 2 no domínio IIB e o modo 3 ocorre numa região inusitada entre os domínios IB e IIIA. Excepcionalmente, esses resultados corroboram com os recentes achados experimentais de Gou *et al.* [186], em que a interação do NAMI-A, em suas formas metabólicas, com a *HSA* da-se preferencialmente nos domínios IB e IIA. A única interação no domínio IA é observada para o modo 1 do complexo **1.2**, sendo os demais modos também ocorrendo no "sudlow I".

Figura 5.27 – Representação dos três modos mais estáveis do *docking* molecular dos complexos 1, 2, 1.1, 2.1 e 1.2 com a *HSA*.



Como pode ser observado nas Figuras 5.28-5.30 e Tabela 5.9, os complexos que apresentam interação no sítio ativo "sudlow I" possuem pelo menos um resíduo comum entre si, a HIS241. Para os outros dois resíduos próximos reportados ocorre uma grande variação, por exemplo no modo 1, o complexo **1** está situado entre os resíduos LYS198-HIS241-CYS244, enquanto o complexo **1.2** (modo 2) encontra-se próximo os resíduos HIS241-LEU259-ALA260. Uma situação parecida ocorre para o modo 2 dos complexos **1.1** e **2.1**, no qual os resíduos mais próximos do domínio IIB são os mesmos, ARG208-SER231-GLY327. Os resíduos próximos dos demais sítios ativos para domínios encontrados são bem distintos entre si.

Na análise pós-*docking* foram encontradas apenas duas ligações de hidrogênio entre o ligante e receptor, onde a primeira com magnitude de 2,159 Å é formada pelo H do grupo imidazol do complexo **1** no modo 3 com átomo de oxigênio OD1 do resíduo ASN294. A segunda ligação de hidrogênio também é formada pelo átomo de H do grupo imidazol, atuando como doador, do complexo **1.2** também no modo 3 com o átomo de oxigênio do resíduo ARG256, com magnitude 2,175 Å.

Figura 5.29 – Representação dos três modos mais estáveis do *docking* molecular explicitando os resíduos do sítio ativo para os complexos **1.1** e **2.1** com a *HSA*.

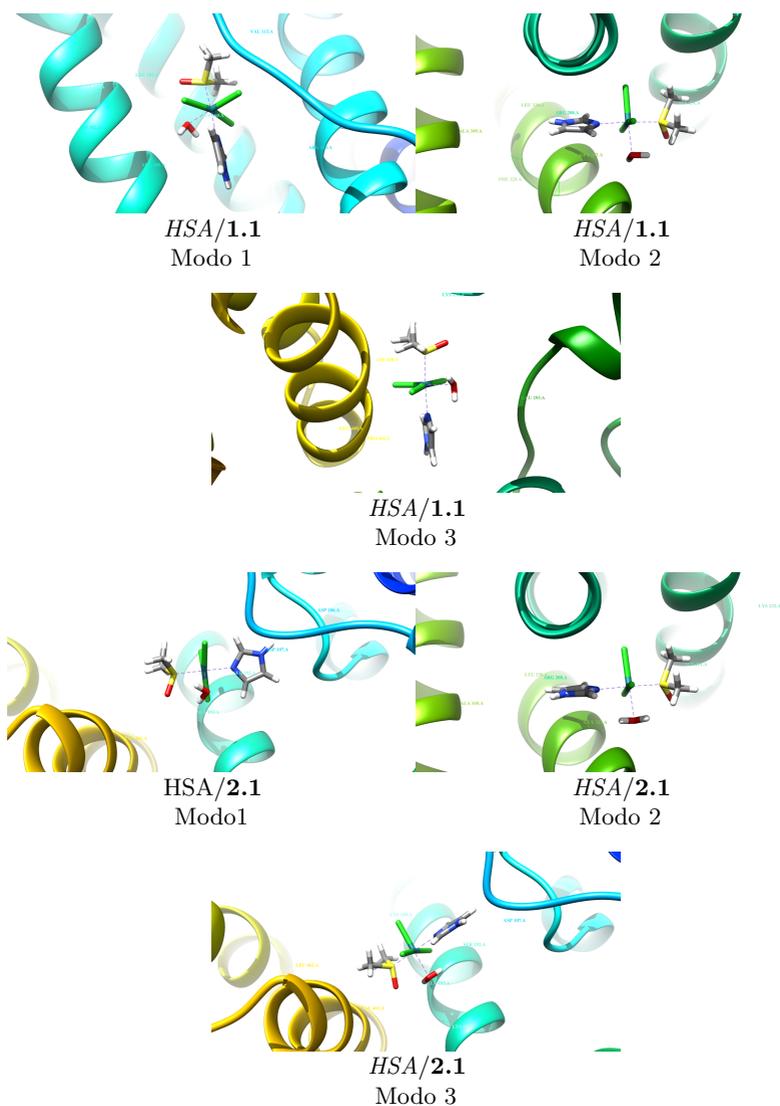
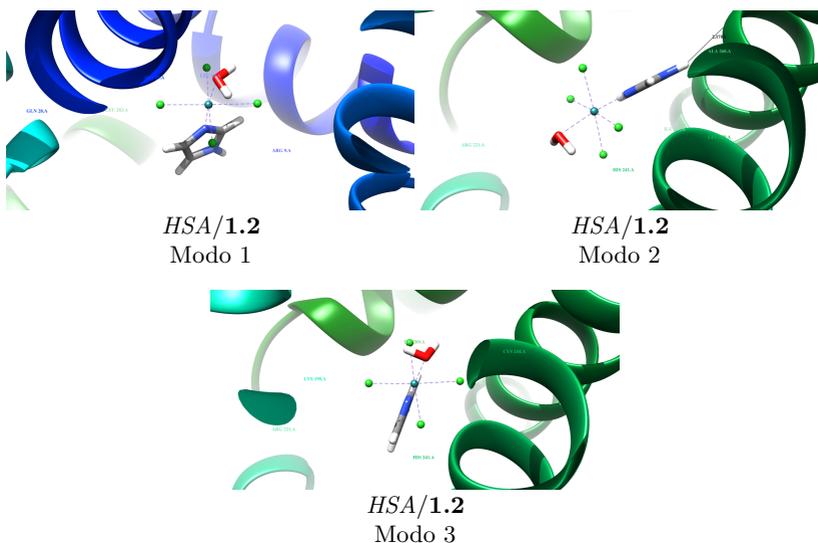


Figura 5.30 – Representação dos três modos mais estáveis do *docking* molecular explicitando os resíduos do sítio ativo para o complexo **1.2** com a *HSA*.



5 Conclusões

Ambos resultados de parâmetros geométricos e GKS-EDA apontam a preferência da hidrólise ocorrer preferencialmente nas posições equatoriais L1 e L2 pela substituição do ligante cloreto pelo ligante aquo no complexo NAMI-A. Sendo o primeiro conjunto de resultados baseados na geometria em que os aquocomplexos adotam, onde os mesmos tendem a adquirir a geometria observada nos complexos **1.1** e **2.1**, no qual o ligante aquo exclusivamente nesses complexos é estabilizado por ligação de hidrogênio. A estabilização do ligante aquo na posição L1 e L2 é confirmada pelos maiores valores de ΔE^{tot} , $-30,82 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1L1**) e $-29,52 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (**1L2**) para a forma oxidada, enquanto a forma reduzida do NAMI-A, o ligante aquo é mais estabilizado na posição **2L2**, com valor de ΔE^{tot} mais significativo entre as posições **2L1-2L4**, $-21,48 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

A natureza das interações entre os ligantes e o complexo é afetada com a redução, principalmente as interações equatoriais Ru–Cln (n=1 a 4), no qual diferente do esperado é a contribuição do termo de troca ΔE^{ex} (valor médio de $-135,18 \text{ kcal.mol}^{-1}$) que modula a magnitude dessas interações, em conjunto também com as menores contribuições dos termos eletrostático e polarização. A redução desestabiliza essas interações devido a contribuição desestabilizadora do termo eletrostático ΔE^{es} com magnitudes que variam de $+19,19 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $+28,36 \text{ kcal.mol}^{-1}$. A magnitude de ΔE^{tot} das interações axiais Ru–dmso e Ru–im é modulada por ambos termos eletrostático e polarização, sendo a interação Ru–dmso mais forte que a interação Ru–im. Contudo a redução também afeta essas interações, principalmente estabilizando a interação Ru–dmso, para o qual ΔE^{tot} varia de $-35,76 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-63,40 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Em geral, a hidrólise afeta consideravelmente a magnitude das interações Ru–Cln que diminuem em média cerca de 61% sua magnitude, essa decréscimo no valor de ΔE^{tot} é devido a diminuição da magnitude do termo eletrostático, contudo a hidrólise não afeta quase a magnitude das interações axiais, no qual ocorre um pequeno aumento no valor de ΔE^{tot} , contudo menor que $-10 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para Ru–dmso e Ru–im.

Os resultados de *docking* molecular sugerem que a redução não tem papel crucial na interação do NAMI-A com o DNA, no qual o valor de afinidade varia apenas de $-4,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para $-4,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$, após a redução. Contudo, a hidrólise apresenta um papel muito mais significativo, no qual a afinidade varia de $-4,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-5,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Ambos processos de hidrólise e redução não mudam o sítio ativo no qual os complexos interagem, NAMI-A e seus aquocomplexos interagem com o BDNA através dos pares de bases nitrogenadas G_{22B}-C_{3A} e C_{21B}-G_{4A}. A mesma tendência também é observada para a interação com a HSA, no qual a hidrólise estabiliza a interação HSA/complexo, no qual a afinidade varia de $-4,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-5,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ após a hidrólise. Apesar da pequena variação dos valores da afinidade, os sítios

ativos são bem distintos para cada complexo, onde, majoritariamente os complexos, incluindo o NAMI-A, interagem no domínio "sudlow I", que é um sítio ativo específico para fármacos aniônicos. Contudo, o modo 1 das espécies hidrolisadas **1.1** e **2.1**, que possuem a maior afinidade, interagem com o domínio IB da *HSA*, corroborando com os recentes dados da literatura. Surpreendentemente, para ambas análises de *docking* molecular, a presença de ligação de hidrogênio não foi um fator determinante para a estabilização dos sistemas receptor/ligante estudados.

6 Investigação Teórica dos Isômeros *cis/trans*-[Ru(II)(dmso)₄Cl₂]⁰ e as Espécies Hidrolisadas Envolvidas

1 Introdução

Complexos de metais de transição constituem uma classe de agentes antineoplásicos que são amplamente investigados, [28, 32, 188] sendo o complexo cisdiaminodichloroplatinato ou cisplatina, [4] o mais importante e conhecido, por ter sido o primeiro complexo de metal de transição, aprovado para utilização clínica como fármaco. [46] Até nos dias atuais, a cisplatina e seus derivados [21] são utilizados em uma pequena faixa de neoplasias, como no tratamento do câncer testicular [189] e de ovário, [190] e em alguns carcinomas, como o NSCLC. [191–193] Essa limitação da cisplatina, de ser eficaz a uma pequena faixa de neoplasias, associada a resistência adquirida e resistência primária ao seu uso, juntamente com os efeitos colaterais (toxicidade) que os pacientes sofrem devido sua administração ser intravenosa, torna necessário o desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos que apresentem maior eficácia, menor toxicidade assim como propriedades antimetásticas.

Os complexos de metais de transição contendo ferro, rutênio e ósmio são candidatos em potencial para substituir a cisplatina, já que são desenvolvidos e investigados a fim de buscar melhores resultados no ponto de vista citotóxico e toxicológico. De acordo com Brabec, [46] quatro são as vantagens principais em substituir a platina por outros íons de metais de transição, 1) a primeira consiste em utilizar metais com número de coordenações maiores originando um maior número de metabólitos ou espécies mais reativas; 2) a segunda vantagem que está em paralelo com a primeira, é que devido a maior gama de

possibilidades em alterar os ligantes na esfera de coordenação primária, pode-se modular a cinética de substituição desses ligantes; 3) a terceira vantagem é que esses metais possuem diferentes estados de oxidação, sendo atribuída uma maior estabilidade para um estado específico; 4) e por fim, devido a esses diferentes estados de oxidação, a ativação desses complexos, pode ser obtida através da terapia fotodinâmica. Todas essas características em conjunto fazem esses complexos, exibirem atividade antineoplásica e efeitos colaterais diferentes da cisplatina, isso porque, no geral possuirão comportamento químico diferente, cinética e mecanismo de ações diferentes.

Pode-se ainda classificar os complexos de metais de transição de acordo com a sua atividade frente ao alvo biológico. Neste contexto cinco classificações podem ser propostas: a primeira classificação compreende i) os complexos cujo o íon metálico interage diretamente com o alvo biológico; a segunda engloba ii) os complexos cuja estrutura é crucial para a interação com o alvo biológico, que ocorre não-covalentemente; iii) nessa classe um ligante com atividade conhecida é carregado pelo metal até o alvo biológico; a quarta classificação iv) compreende os complexos que são catalisadores *in vivo*, muitas vezes produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS); e a última classe v) compreende os metais que são ativados via luz. [7]

Dentre as classes citadas, destacam-se os complexos de rutênio, pertencente a classe (i), contendo dimetilsulfóxido (dms_o) como ligantes, por exemplo os complexos *cis/trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰. Esses complexos, tendem a interagir com o *DNA* através do átomo N7 da guanina (G-N7), formando *cross-links* e induzindo a mudança conformacional do *DNA*. [47, 48] Sabe-se ainda que os isômero *trans*, desse tipo de complexo, geralmente mostra-se mais eficiente em formar *cross-links* e que na maioria das vezes o ligante dimetilsulfóxido é substituído por ligantes aquo através da hidrólise ou por outras moléculas presentes no meio, como por exemplo, o óxido nítrico (NO), formando espécies ainda mais reativas. [47, 48, 194]

Esses complexos com ligantes dimetilsulfóxido foram desenvolvidos por Mestroni e colaboradores na década de 90, [43] para apresentarem condições fisiológicas favoráveis como solubilidade e estabilidade em água, condições que complexos com ligantes amônia (NH_3), como o *fac*- $[\text{Ru}(\text{III})\text{Cl}_3(\text{NH}_3)_3]^0$, sintetizado e investigado na época por Clarke, não apresentava.

Sava e colaboradores [159, 194] estudaram a relação da toxicidade com o isomerismo *cis/trans*, e concluíram que ambos isômeros apresentam toxicidade *in vivo* menor que a cisplatina entretanto, ambos apresentam maior atividade antimetástica na inibição de tumores primários, quando comparados a cisplatina.

Brindell e colaboradores [2] investigaram experimentalmente atividade dos isômeros *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]^0$ e mostraram que na presença ou ausência de luz, o isômero *trans* é mais efetivo contra células neoplásicas humanas (SK-MEL 188) e de camundongos (S91). Contudo, ambos isômeros originam com o *DNA* adutos do tipo $\text{Ru}(\text{G-N7})_2$ e apresentam maior atividade na presença de luz. O mecanismo de hidrólise desses dois complexos ocorre com uma primeira etapa rápida com a liberação do ligante dimetilsulfóxido (dmsO) substituído por ligantes aquo, e numa posterior e lenta etapa, a saída e substituições dos ligantes cloreto na primeira esfera de coordenação.

No presente capítulo é investigado a influência do isomerismo geométrico *cis-trans* em complexos do tipo *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]^0$ assim como em suas espécies hidrolisadas e como estes afetam a interação com o *DNA*. O isomerismo de ligação presente no ligante dimetilsulfóxido nos complexos *trans* também é investigado.

2 Objetivos

- Investigar através das análises GKS-EDA, QTAIM e NBO como o isomerismo geométrico afeta as interações metal-ligante em complexos do tipo *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dmsO})_4\text{Cl}_2]^0$;

- Investigar o isomerismo de ligação do ligante dimetilsulfóxido no complexo *trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰ através de análises energéticas e topológicas;
- Elucidar as diferenças energéticas entre as espécies hidrolisadas dos complexos *cis/trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰;
- Investigar quais complexos interagem mais fortemente com o *DNA* assim como compreender o papel da hidrólise nesse tipo de interação, através das análises de *docking* e dinâmica molecular.

3 Metodologia

3.1 Cálculos DFT

As otimizações geométricas foram realizadas no pacote de programas ORCA v.3.0.2, [169] assim como os cálculos de frequências vibracionais no nível de teoria BP86-D3 [170–174]/def2-TZVPP. [175] A aproximação relativística de ordem zero (ZORA) [176] foi utilizada para incluir os efeitos relativísticos para o átomo de rutênio.

A ausência de frequências imaginárias na matriz Hessiana confirmou que todas as estruturas reportadas estavam no mínimo local da superfície de energia potencial (SPE). A natureza física das interações dos ligantes com o centro metálico de rutênio foram analisadas aplicando GKS-EDA [95] e NBO [98,99] no programa GAMESS-US 2012 [177] com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP e para ambas análises foi utilizado ECP para os átomos de rutênio e correção de dispersão empírica de Grimme.

Para dar suporte as análises anteriores também foi realizada a análise QTAIM, no programa Multiwfn v3.3.9 [195] com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Também para essa análise foi utilizada ECP para os átomos de rutênio e correção de Grimme.

3.2 Docking Molecular

Para investigar as diferentes conformações dos ligantes, os possíveis sítios de atividade (domínios) e a afinidade eletrônica, todas as análises de *docking* molecular foram realizadas utilizando as estruturas otimizadas dos complexos de rutênio como ligantes flexíveis interagindo com um dodecâmero de *BDNA* (5'D(CGCGAATTCGCG)-3C') (código PDB: **1BNA**) [178] como receptor rígido. A estrutura cristalográfica com 1,9 Å de resolução foi obtida no *Protein Data Bank*. A preparação dos receptores foi feita com o pacote de programas AutoDock Tools v.1.5.6, [149] no qual as moléculas de água foram removidas da estrutura cristalográfica do *DNA*, os hidrogênios não-polares foram tratados com a representação *extended-atom*. Para a procura dos sítios ativos, uma caixa com *grid* 30:30:30 pontos sobre os eixos x, y, e z foi fixada sobre o *BDNA* e a busca conformacional foi realizada com o programa AutoDock Vina v.1.1.2 [179] com as configurações iniciais, exceto para *exhaustiveness*, que foi fixada em 10. As análises e figuras das melhores conformações do *docking* molecular foram obtidas utilizando o programa Chimera v.1.11. [179]

3.3 Dinâmica Molecular

As simulações de dinâmica molecular (MD)¹ foram realizadas utilizando o *software pmemd.cuda* do AMBER [196] com o modelo TIP3P [197] para água e o campo de força OL15 [198] para o *DNA*. Os parâmetros para os complexos de rutênio foram obtidos utilizando os programas Antechamber [199] e MCPB.py [200] do AmberTools. As cargas parciais foram obtidas do cálculo do potencial eletrostático e por RESP (*Restrained Electrostatic Potential*), [201] os parâmetros de ligação foram obtidos utilizando ambos GAFF [120] ou do MCPB.py/GAMESS-US.¹ Cada sistema MD utilizou de princípio os modos mais estáveis obtidos da análise de *docking* molecular solvatado em uma caixa com aproxi-

¹ As simulações de MD foram realizadas e discutidas em parceria com o Prof. Dr. Germano Heinzemann do Departamento de Física da Universidade Federal de Santa Catarina.

madamente 12000 moléculas de água e 21 ou 22 íons de sódio (Na⁺) necessários para a neutralização. O tamanho final da caixa de simulação foi de 70x70x80 Å, totalizando cerca de 37000 átomos.

Inicialmente foi realizada a minimização da energia do sistema, seguido do aquecimento gradual a volume constante e variando a temperatura de 10 K a 298,15 K durante 1,0 ns. Em seguida, foi realizado o equilíbrio a *NPT* (valores constantes de número N, pressão P e temperatura T) durante 2,0 ns, até o sistema atingir uma densidade final a T = 298,15 K e pressão de 1,0 bar. Corridas subsequentes foram realizadas nas condições *NPT*, utilizando o termostato de Langevin [202] com colisão de frequência de 1,0 psi, assim como controle da pressão através do barostato de Monte-Carlo. [203]

As interações não-ligantes tiveram um corte de 9,0 Å, e as interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas utilizando o método PME (*Particle Mesh Ewald*). [204] As ligações envolvendo hidrogênio foram restringidas utilizando o algoritmo SHAKE. [205] Para todas as simulações foi utilizado um tempo de passo de 2 fs.

3.3.1 Cálculos MMPBSA

As energias livres de ligação dos complexos em seus diferentes modos com o *DNA* foram calculadas através do método *MMPBSA* (*Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area*), [206] utilizando o programa MMPBSA.py do AmberTools. De acordo com o método, a energia livre de ligação de um dado sistema receptor-ligante pode ser calculada através da Equação 6.1 .

$$\Delta G_{lig,sol} = \Delta G_{sis,sol} - [\Delta G_{rec,sol} + \Delta G_{lig,sol}] \quad (6.1)$$

A mudança na energia livre associada a cada termo solvatado do lado direito da Equação 6.1 pode ser decomposta nas seguintes contribuições, de acordo com a Equação 6.2:

$$\Delta G_{sol} = E_{gas} + \Delta G_{solvatação} - TS_{soluto} \quad (6.2)$$

Sendo, o termo E_{gas} é a energia de interação MM provinda do campo de força na fase gasosa que inclui os termos das interações ligantes e não-ligantes. O termo $\Delta G_{solvação}$ é a energia livre de solvatação do soluto, obtida utilizando solvente implícito. Este último termo possui uma componente eletrostática, calculada com a equação de Poisson-Boltzmann e uma componente não-polar, baseada na área superficial exposta do solvente (SA). O termo $-TS_{soluto}$ é a contribuição entrópica a energia livre, que é calculada utilizando a análise dos modos normais, que incluem os procedimentos MMPBSA.py.

Os cálculos de ΔG_{sol} foram realizados separadamente para ambos ligante e receptor, assim como para o sistema ligado, que possui uma energia final de ligação no solvente $\Delta G_{lig,sol}$ dada pela Equação 6.1.

Os estados de *input* do sistema para todos os cálculos *MMPBSA* são 50 *snapshots* obtidas a partir do sistema equilibrado e coletadas em intervalos de 50 ps, totalizando 2,5 ns de amostragem no estado ligado. A abordagem da trajetória única é utilizada para cada pose, com os mesmos quadros usados para o cálculo do *MMPBSA* e a análise do modo normal. A constante dielétrica igual a 1 foi utilizada para o soluto e de 80 para água com um espaçamento de *grid* de 0,5 Å e raio de 1,4 Å, utilizando 1000 iterações para a convergência da energia. As incertezas são fornecidas pela média padrão dos erros (SEM) das contribuições entálpicas e entrópicas, providas de seus respectivos arquivos de *output* do MMPBSA.py e sendo sua soma utilizada no valor final da energia livre de ligação.

4 Resultados e Discussão

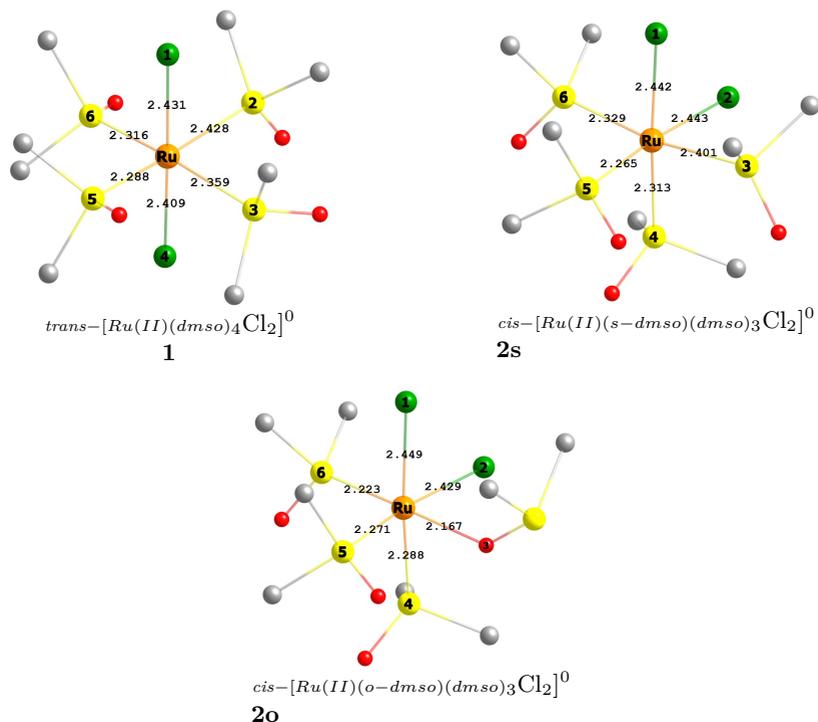
4.1 Geometria e Frequência Vibracional

Os complexos estudados, *cis/trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰ com dms_o=dimetilsulfóxido, e suas espécies hidrolisadas como mostram as Figuras 6.1 e 6.2, possuem geometria pseudo-octaédrica pertencente ao grupo de ponto C_1 . A numeração dos ligantes (L1–6) na esfera de coordenação primária dos complexos foi realizada seguindo o sentido horário começando pelo ligante na posição axial e de acordo com o Apêndice 8.1.

Os resultados da Tabela 6.1 mostram que o nível de teoria utilizado, BP86-D3/def2-TZVPP, é apropriado para obtenção das estruturas otimizadas dos complexos, já que os parâmetros geométricos obtidos para o complexo **2o**² são muito próximos dos disponíveis experimentalmente. [2] Por exemplo, para o comprimento de ligação Ru–o-dms_o (Ru–L3) para o complexo **2o** o valor obtido foi de 2,17 Å enquanto o valor reportado experimentalmente na literatura é de 2,13 Å.

² O complexo **2o** é o isômero de ligação do complexo **2s**, onde o ligante dms_o está ligado pelo átomo de oxigênio na posição L3.

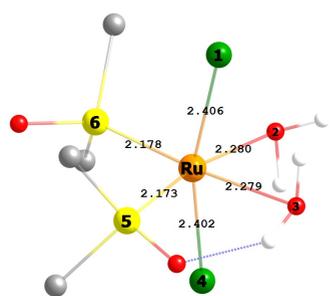
Figura 6.1 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados (em Å) para os complexos **1**, **2s** e **2o** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP.



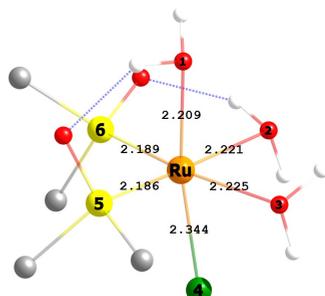
Como pode ser observado na Figura 6.2, a distorção da geometria octaédrica dá-se principalmente pela presença de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os ligantes dms_o e aquo, principalmente nas espécies hidrolisadas. O complexo **1.2** possui o maior número de ligações hidrogênio, formada entre o átomo de hidrogênio do ligante aquo (doador) com o átomo de oxigênio do ligante dms_o (receptor).

Os parâmetros geométricos dispostos na Tabela 6.1 e Figura 6.1 mostram que para os isômeros *cis* (**2o** e **2s**) não há diferença significativa para as distâncias de ligação Ru–L1-6, com magnitudes que variam de 2,21 Å (Ru–L5) a 2,45 Å (Ru–L1) para o complexo **2o** e de 2,26 Å

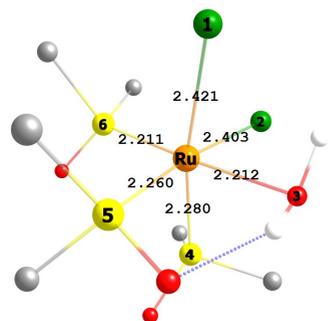
Figura 6.2 – Estruturas e parâmetros geométricos selecionados (em Å) para os complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP.



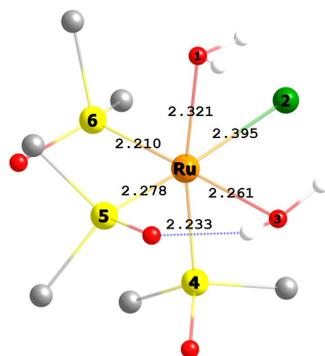
trans-[Ru(II)(*dmsO*)₂(H₂O)₂Cl₂]⁰
1.1



trans-[Ru(II)(*dmsO*)₂(H₂O)₃Cl]⁺
1.2



cis-[Ru(II)(*dmsO*)₃(H₂O)Cl₂]⁰
2.1



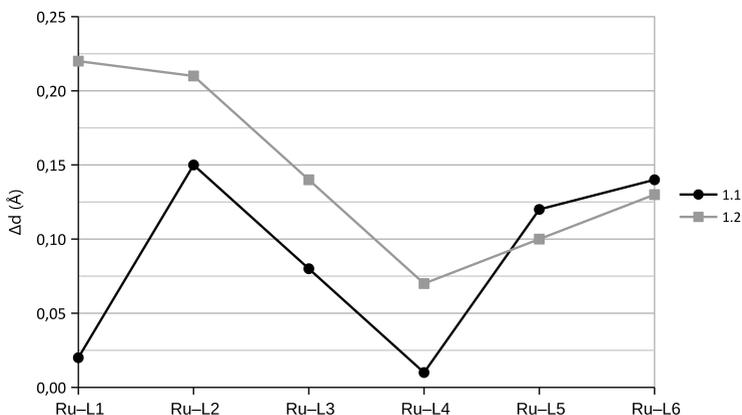
cis-[Ru(II)(*dmsO*)₃(H₂O)₂Cl]⁺
2.2

(Ru–L5) a 2,44 Å (Ru–L1) para o complexo **2s**, respectivamente. A única exceção ocorre para a ligação Ru–L3, no qual é observado um aumento em sua magnitude no complexo **2s**. Este pequeno aumento é devido ao isomerismo de ligação do ligante dimetilsulfóxido com a coordenação *s*-*dmsO*, por causa do maior raio atômico do enxofre quando comparado ao raio do oxigênio, o que torna a distância de ligação Ru–L3 (L3=O–*dmsO*) no complexo **2o** menor (2,17 Å) quando comparado com o complexo **2s** (2,40 Å). A única diferença relativamente significativa ocorre para o comprimento de ligação Ru–L4 quando comparados os

complexos **1** com **2o** e **2s**, o maior comprimento da ligação Ru–L4 (2,41 Å) para o complexo **1** ocorre devido ao isomerismo geométrico entre os complexos, que implica na mudança das posições dos ligantes na esfera de coordenação, já que para os isômeros *cis* (**2o**) o ligante na posição L4 é o dimetilsulfóxido e não o cloreto como ocorre no isômero *trans* (**1**).

Como mostram os gráficos das Figuras 6.3 e 6.4, ocorre uma grande mudança no comprimento de ligação das espécies hidrolisadas, devido principalmente a troca de ligantes dmso por aquo na esfera de coordenação. Após a hidrólise, o complexo **1** apresenta uma diminuição geral nos comprimentos de ligação Ru–L1-6 principalmente quando comparado a segunda espécie hidrolisada **1.2**. Como mostra o gráfico da Figura 6.3, essa diminuição do comprimento de ligação é mais significativa para as ligações Ru–L1 (-0,22 Å) e Ru–L2 (-0,21 Å) para o complexo **1.2**, já que os ligantes cloreto (Ru–Cl) e dimetilsulfóxido (Ru–S) são substituídos por ligantes aquo (Ru–O).

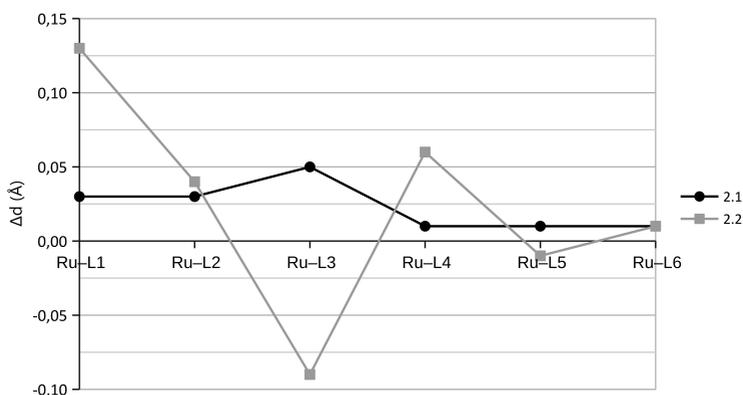
Figura 6.3 – Gráfico das distâncias de ligação, em Å, dos complexos **1.1** e **1.2** relativo ao complexo **1**.



O mesmo comportamento dos comprimentos de ligação é observado para o complexo **2o**, no qual ocorre também o decréscimo nas

distâncias de ligação Ru–L1-6, Figura 6.4. Contudo, a segunda espécie hidrolisada **2.2** apresenta duas ligações alongadas em comparação com **2o**, as ligações Ru–L3 (+0,09 Å) e Ru–L5 (+0,01 Å), Figura 6.4. Nota-se que para os complexos **2.1** e **2.2**, o alongamento e encurtamento das ligações são pouco expressivos, principalmente comparados ao comportamento das ligações no isômero *trans*.

Figura 6.4 – Gráfico das distâncias de ligação, em Å, dos complexos **2.1** e **2.2** relativo ao complexo **2o**.



Em geral, os complexos *cis* apresentam um menor encurtamento das ligações que os complexo *trans*. Entretanto, a diminuição do comprimento de ligação para a segunda espécie hidrolisada é relativamente maior do que a primeira, para ambos isômeros, sugerindo que as ligações Ru–L1-6 tornam-se mais fortes após hidrólise. Os resultados da Tabela 6.1 mostram que são os ângulos de ligação os parâmetros geométricos mais afetados com a substituição dos ligantes dmsO e cloreto por ligantes aquo porém não há uma relação explícita com a formação de ligações hidrogênio. Por exemplo, os isômeros *trans* sofrem as menores variações enquanto os complexos *cis* sofrem as maiores, mesmo possuindo um menor número de ligações hidrogênio intramoleculares. Contudo, percebe-se que as maiores variações ocorrem para o complexo

2.2. Sendo que, o ângulo L6–Ru–L2 varia de 93,9° (**2o**) para 83,0° (**2.2**), uma variação considerável de -10,9°, sendo uma das maiores observadas.

4.2 GKS-EDA, NBO e QTAIM

4.2.1 Isômeros Geométricos e de Ligação

Os resultados dispostos na Tabela 6.2 mostram que para todos os complexos a energia total de interação para [Cl_n]⁻ ↔ [Ru(dms_o)₄Cl]⁺ (n=1, 2 ou 4) possui uma maior magnitude do que a interação com o ligante dimetilsulfóxido, [(dms_o)]⁰ ↔ [Ru(dms_o)₃Cl₂]⁺ (n=2-6).

Tabela 6.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para os complexos **1**, **2o** e **2s** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	<i>trans</i> -[Ru(dms _o) ₄ Cl ₂] ⁰ (1)									
	ΔE_{tot}	ΔE_{es}	ΔE_{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE_{dc}	ΔE_{cor}	ΔE_{tot}	ΔE_{es}	ΔE_{ex}
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-152,38	-153,35	-136,26	233,27	-85,26	-5,14	-5,65			
[dms _o 2] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-39,40	-58,71	-133,64	240,37	-59,32	-14,35	-13,74			
[dms _o 3] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-40,62	-70,63	-161,58	293,91	-67,14	-16,24	-18,93			
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-160,43	-163,54	-135,56	227,01	-74,62	-6,57	-7,16			
[dms _o 5] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-47,12	-83,20	-177,66	324,22	-75,45	-17,16	-17,87			
[dms _o 6] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-46,38	-73,88	-154,78	280,66	-70,28	-15,37	-13,22			
<i>cis</i> -[Ru(dms _o) ₄ Cl ₂] ⁰ (2o)										
	ΔE_{tot}	ΔE_{es}	ΔE_{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE_{dc}	ΔE_{cor}			
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-145,64	-161,75	-154,80	259,81	-76,02	-5,93	6,95			
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-140,96	-152,27	-142,99	243,64	-75,80	-5,66	-7,88			
[dms _o 3] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-35,76	-56,52	-112,77	199,40	-55,70	-13,22	3,04			
[dms _o 4] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-56,02	-82,60	-166,68	305,11	-80,46	-14,27	-17,12			
[dms _o 5] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-54,38	-75,16	-161,60	294,21	-72,73	-16,66	-22,45			
[dms _o 6] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-61,14	-88,56	-184,96	339,95	-88,63	-15,67	-23,28			
<i>cis</i> -[Ru(dms _o) ₄ Cl ₂] ⁰ (2s)										
	ΔE_{tot}	ΔE_{es}	ΔE_{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE_{dc}	ΔE_{cor}			
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-146,95	-163,45	-154,28	262,18	-81,59	-5,56	-4,25			
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(dms _o) ₄ Cl] ⁺	-153,01	-166,35	-151,69	255,27	-82,04	-5,75	-2,45			
[dms _o 3] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-45,36	-71,47	-145,04	269,33	-68,21	-14,59	-10,38			
[dms _o 4] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-57,58	-80,57	-165,83	300,84	-80,51	-15,22	-16,29			
[dms _o 5] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-55,33	-78,31	-170,99	311,48	-78,36	-17,11	-22,04			
[dms _o 6] ⁰ ↔ [Ru(dms _o) ₃ Cl ₂] ⁰	-48,81	-78,02	-164,28	297,71	-74,93	-15,89	-13,40			

Todavia não há nenhuma tendência observada pelos índices de ligação de Wiberg, W_{bi} (Tabela 6.3) que confirme a magnitude das interações Ru–Cl e Ru–dmsO. Contudo, para o complexo **1**, ocorre um pequeno decréscimo nos valores de W_{bi} para as ligações Ru–Cl1 (0,500 u.a.) e Ru–Cl4 (0,455 u.a.), em comparação com Ru–Cl1 (0,405 u.a. e 0,414 u.a.) e Ru–Cl2 (0,428 u.a. e 0,420 u.a.) para os complexos **2o** e **2s**, respectivamente, nos quais esses maiores valores estão em concordância com a maior magnitude de ΔE^{tot} para as interações Ru–Cl_n (n=1 e 4) no complexo **1**, -152,38 kcal.mol⁻¹ e -160,43 kcal.mol⁻¹, respectivamente.

Tabela 6.3 – Índice de ligação de Wiberg (W_{bi}) e cargas NPA (em u.a.) para os complexos **1**, **2o** e **2s**, obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

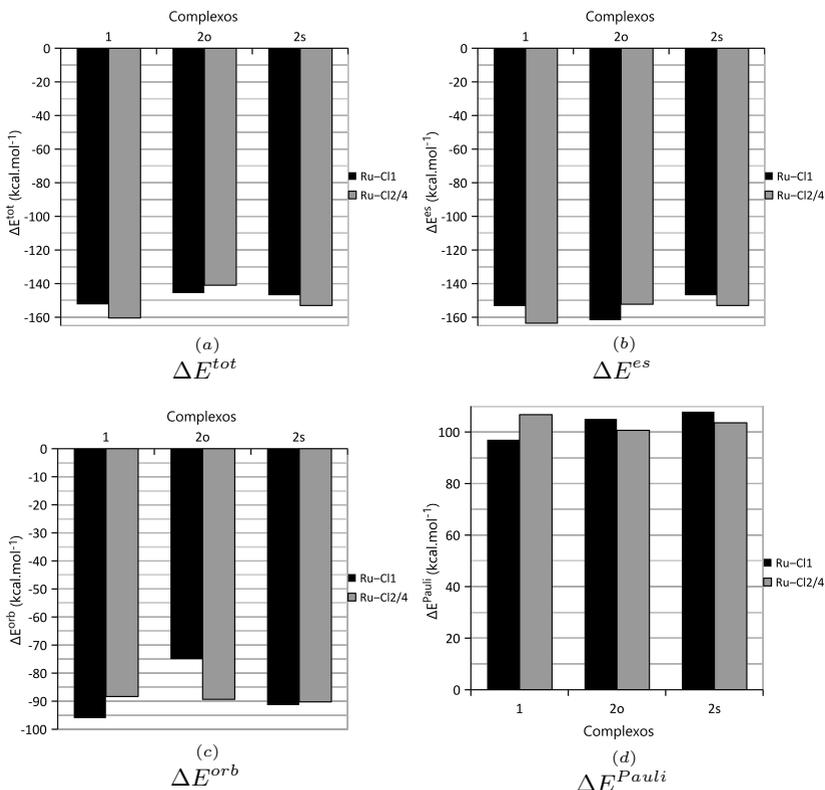
Complexos	Ligações	W_{bi}	NPA	
			Átomos	q_{AB}
1			Ru	-0,540
	Ru–Cl1	0,500	Cl1	-0,478
	Ru–dmsO2	0,460	S2	1,461
	Ru–dmsO3	0,488	S3	1,456
	Ru–Cl4	0,455	Cl4	-0,535
	Ru–dmsO5	0,518	S5	1,459
2o	Ru–dmsO6	0,430	S6	1,460
			Ru	-0,301
	Ru–Cl1	0,405	Cl1	-0,544
	Ru–Cl2	0,428	Cl2	-0,529
	Ru–dmsO3	0,283	O3	-0,872
	Ru–dmsO4	0,552	S4	1,490
2s	Ru–dmsO5	0,563	S5	1,467
	Ru–dmsO6	0,684	S6	1,501
			Ru	-0,543
	Ru–Cl1	0,414	Cl1	-0,530
	Ru–Cl2	0,420	Cl2	-0,527
	Ru–dmsO3	0,438	S3	1,459
Ru–dmsO4	0,531	S4	1,482	
Ru–dmsO5	0,570	S5	1,467	
Ru–dmsO6	0,484	S6	1,449	

Para o complexo **1** a magnitude da energia total de interação para as interações Ru–Cl_n (n=1 e 4) é expressivamente maior do que a observada para os complexos **2o** e **2s**, Figura 6.5. Por exemplo, para a interação [Cl1]⁻ ↔ [Ru(*dms*)₄Cl]⁺ o valor de Δ*E*^{tot} observado é de -152,38 kcal.mol⁻¹ enquanto para os complexos **2o** e **2s** são -145,64 kcal.mol⁻¹ e -146,95 kcal.mol⁻¹, respectivamente. A maior magnitude de Δ*E*^{tot} para essas interações quando comparadas as interações Ru–*dms*o, é devido em grande parte a contribuição expressiva do termo eletrostático, Δ*E*^{es} (Tabela 6.2). Por exemplo, para o complexo **1** o valor de Δ*E*^{es} é -163,54 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl4) e de -153,35 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl1) enquanto para o complexo **2s** varia de -161,75 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl1) a -152,27 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl2). Essa grande contribuição estabilizadora do termo eletrostático na magnitude da energia total de interação surge devido a atração Coulômbica entre o cloreto, carregado negativamente e o complexo metálico, carregado positivamente.

Para todos os complexos, em conjunto com Δ*E*^{es}, o termo de troca Δ*E*^{ex} também contribui para estabilizar as interações [Cl_n]⁻ ↔ [Ru(*dms*)₄Cl]⁺. Por exemplo, para o complexo **1**, o valor de Δ*E*^{ex} é -135,56 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl4) e -136,26 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl1), enquanto para os complexos **2o** e **2s**, a magnitude de Δ*E*^{ex} é um pouco maior, -154,80 kcal.mol⁻¹ e -154,28 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl1), -142,99 kcal.mol⁻¹ e -151,69 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl2), respectivamente. Entretanto, esta magnitude é sempre menor que a contribuição eletrostática na energia total de interação (Tabela 6.2).

Como pode ser observado na Tabela 6.2, com uma menor contribuição na magnitude de Δ*E*^{tot}, o termo de polarização Δ*E*^{pol} também proporciona uma estabilização adicional as interações [Cl_n]⁻ ↔ [Ru(*dms*)₄Cl]⁺, variando a sua magnitude de -74,62 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl4) a -85,26 kcal.mol⁻¹ (Ru–Cl1), para o complexo **1**. Essa pequena contribuição resulta na adição de um pequeno caráter covalente e não significante a interação Ru–Cl nesses complexos. Os valores positivos do Laplaciano da densidade eletrônica e negativos de densidade

Figura 6.5 – Gráficos da energia total de interação e suas contribuições, em kcal.mol^{-1} , para as interações Ru–Cl nos complexos **1**, **2o** e **2s** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Sendo, $\Delta E^{orb} = \Delta E^{pol} + \Delta E^{dc} + \Delta E^{cor}$ e $\Delta E^{Pauli} = \Delta E^{rep} + \Delta E^{ex}$.



eletrônica para BCPs das ligações Ru–Cl dispostos na Tabela ??, confirmam a natureza dessas interações sendo tipicamente interações de camada fechada. Os valores das propriedades topológicas para os BCPs dessas interações são similares entre si, exceto para a Ru–Cl4 (complexo **1**), no qual apresenta o maior valor de densidade eletrônica (0,107 u.a.) e um Laplaciano positivo (0,291 u.a.). Apesar das propriedades topológicas não convergirem totalmente com os resultados do GKS-EDA, a análise

QTAIM suporta e confirma o fato da maior magnitude da energia total de interação ΔE^{tot} ser encontrada para a interação Ru–Cl4 no complexo **1**.

Tabela 6.4 – Parâmetros topológicos (em u.a.) dos BCPs selecionados para os complexos **1**, **2o** e **2s** obtidos com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.³

Complexos	BCP	ρb	$\nabla^2 \rho b$	ε
1	Ru–Cl1	0,069	0,183	0,018
	Ru–dms _o 2	0,094	0,237	0,196
	Ru–dms _o 3	0,099	0,239	0,069
	Ru–Cl4	0,107	0,291	0,106
	Ru–dms _o 5	0,083	0,193	0,081
	Ru–dms _o 6	0,068	0,184	0,055
2o	Ru–Cl1	0,067	0,184	0,063
	Ru–Cl2	0,071	0,181	0,095
	Ru–dms _o 3	0,069	0,322	0,029
	Ru–dms _o 4	0,104	0,249	0,038
	Ru–dms _o 5	0,106	0,261	0,176
	Ru–dms _o 6	0,116	0,288	0,061
2s	Ru–Cl1	0,069	0,184	0,055
	Ru–Cl2	0,069	0,183	0,018
	Ru–dms _o 3	0,093	0,192	0,081
	Ru–dms _o 4	0,099	0,239	0,069
	Ru–dms _o 5	0,107	0,276	0,106
	Ru–dms _o 6	0,094	0,237	0,088

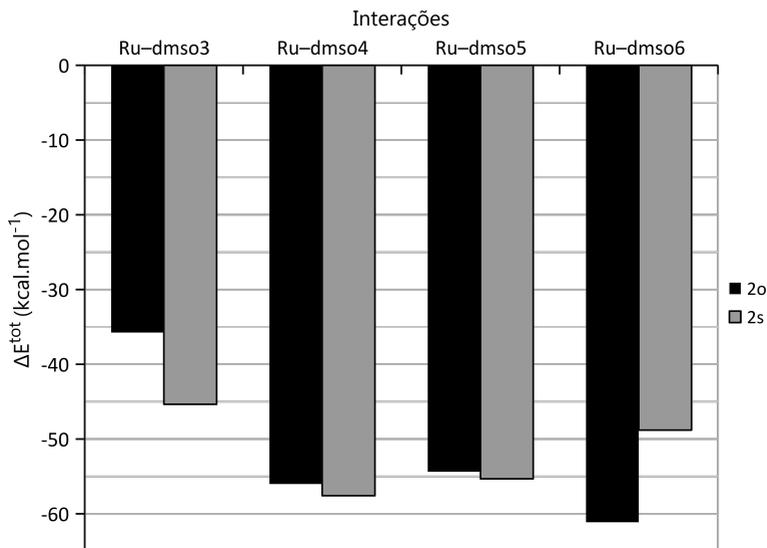
Como esperado, as interações do ligante dimetilsulfóxido com o complexo metálico possui uma menor magnitude que as interações Ru–Cl, variando o valor de ΔE^{tot} de -39,40 kcal.mol⁻¹ a -47,12 kcal.mol⁻¹ para o complexo **1**, -35,76 kcal.mol⁻¹ a -61,14 kcal.mol⁻¹ para o complexo **2o** e -45,36 kcal.mol⁻¹ a -57,58 kcal.mol⁻¹ para o complexo **2s**. Contudo, a magnitude da energia total de interação para as interações [dms_o]⁰ ↔ [Ru(dms_o)₃Cl₂]⁰ não possui nenhuma relação com os comprimentos de ligação, na verdade é contraintuitivo, no qual os menores comprimentos de ligação são observados para as interações Ru–dms_o com menores valores de ΔE^{tot} . Entretanto, para as interações Ru–dms_o5

e Ru–dms₆ no complexo **1** os menores valores de W_{bi} (0,518 u.a. e 0,430 u.a) refletem em menores valores de ΔE^{tot} (-47,17 kcal.mol⁻¹ e -46,36 kcal.mol⁻¹) em comparação com **2o** (-54,38 kcal.mol⁻¹ e -61,14 kcal.mol⁻¹) e **2s** (-55,33 kcal.mol⁻¹ e -48,81 kcal.mol⁻¹). Nas interações Ru–dms_o é o termo de troca ΔE^{ex} que modula a magnitude da energia total de interação, no qual o aumento de ΔE^{ex} nessas interações é uma medida direta da transferência de elétrons de mesmo spin entre os orbitais moleculares dos fragmentos interagentes. A magnitude de ΔE^{ex} varia de -133,64 kcal.mol⁻¹ a -177,66 kcal.mol⁻¹, -112,77 kcal.mol⁻¹ a -184,96 kcal.mol⁻¹, -145,04 kcal.mol⁻¹ a -170,99 kcal.mol⁻¹ para os complexos **1**, **2o** e **2s**, respectivamente, entretanto não há nenhuma tendência no comportamento de ΔE^{ex} na série de complexos.

Em conjunto com o termo ΔE^{ex} , ambos os termos eletrostático ΔE^{es} e ΔE^{pol} contribuem, em modular a magnitude da energia total de interação, variando entre -56,52 kcal.mol⁻¹ a -88,56 kcal.mol⁻¹ para ΔE^{es} e de -55,70 kcal.mol⁻¹ para -88,65 kcal.mol⁻¹ para ΔE^{pol} . Contudo, a contribuição de ΔE^{es} é bem menos significativa que a do termo ΔE^{ex} na magnitude de ΔE^{tot} , isto porque, a atração Coulômbica entre os fragmentos interagentes é desfavorecida, já que ambos possuem carga nula, o que torna o termo ΔE^{es} pouco efetivo em estabilizar a interação Ru–dms_o.

Os resultados da Tabela 6.2 e Figura 6.6 revelam que um mesmo ligante quando se coordena em diferentes modos, apresenta diferentes magnitudes na energia total de interação (ΔE^{tot}), já que os diferentes modos de coordenação dão origem a diferentes interações. Neste sentido, o isomerismo de ligação do ligante dimetilsulfóxido afeta diretamente a magnitude da energia total de interação para as interações [dms_o]⁰ ↔ [Ru(dmso)₃Cl₂]⁰, no qual ΔE^{tot} tem uma diminuição significativa com a alteração do modo de ligação de *s*-dms_o (-45,36 kcal.mol⁻¹) para *o*-dms_o (-35,76 kcal.mol⁻¹).

Figura 6.6 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol⁻¹, para as interações [dmso]⁰ ↔ [Ru(dmso)₃Cl₂]⁰ nos complexos **2o** e **2s**.



O maior valor de ΔE^{tot} para o ligante *s*-dms_o pode ser explicado através da natureza dos átomos pelas Teoria HSAB (*Hard and Soft Acids and Bases*) de Pearson, no qual o átomo de rutênio é classificado como um ácido intermediário, sendo a carga que carrega um fator determinante para decidir sua natureza ácida ou básica. Nesta série de complexos, **1**, **2s** e **2o**, o átomo de rutênio é classificado como um ácido mole, já que é um íon bivalente. Pela Teoria HSAB de Pearson ácido mole prefere se ligar a base mole, formando ligações fortes com um grande caráter covalente, fato observado na magnitude de ΔE^{pol} , -68,21 kcal.mol⁻¹ para **2s**, quando comparado com *o*-dms_o, ($\Delta E^{pol} = -55,70$ kcal.mol⁻¹).

Uma outra racionalização sobre a magnitude da interação nesse isomerismo provêm da própria diferença entre a natureza dos átomos de enxofre e oxigênio. O átomo de enxofre por possuir uma menor eletro-negatividade que o átomo de oxigênio, torna o ligante dimetilsulfóxido

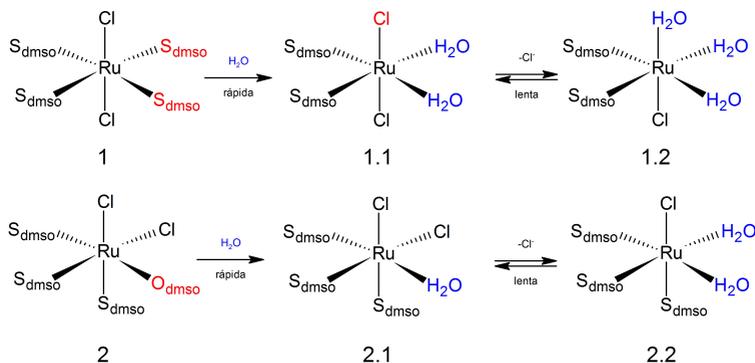
mais polarizado efetivamente, no qual é atribuído ao átomo de enxofre, no complexo, uma carga positiva (+1,459 u.a.), como mostra a análise NPA da Tabela 6.3, enquanto o átomo de oxigênio possui uma carga negativa (-0,872 u.a.). Essa diferença de cargas entre esses dois modos de ligação reflete diretamente na diferença do termo eletrostático, no qual a interação Ru-*s*-dmsO é mais favorecida ($\Delta E^{es} = -71,47 \text{ kcal.mol}^{-1}$) do que a interação Ru-*o*-dmsO ($\Delta E^{es} = -56,52 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Entretanto, não somente o termo ΔE^{es} contribui na magnitude de ΔE^{tot} , mas também os termos de troca ΔE^{ex} e polarização ΔE^{pol} , no qual este último é expressivamente menor que o primeiro. Como mostram os resultados na Tabela 6.2, ΔE^{ex} varia entre $-145,04 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (*s*-dmsO) a $-112,77 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (*o*-dmsO), enquanto ΔE^{pol} varia de $-68,21 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (*s*-dmsO) a $-55,70 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (*o*-dmsO). As maiores magnitudes dos termos ΔE^{pol} e ΔE^{ex} , assim como a maior modulação de ΔE^{tot} para o isômero de ligação *s*-dmsO, é advinda da maior contribuição direta do átomo de enxofre; devido ao seu maior número de elétrons; às interações HOMO-LUMO intrafragmentos e interfragmentos, respectivamente, quando comparados ao átomo de oxigênio, com um menor número de elétrons. Neste sentido, também é explicado o menor termo de ΔE^{rep} para a interação Ru-*o*-dmsO, $-112,77 \text{ kcal.mol}^{-1}$ quando comparado a interação Ru-*s*-dmsO, $-145,04 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Não somente as interações com o ligante dmsO são afetadas com o isomerismo de ligação, como mostra a Figura 6.6, mas também interações dos demais ligantes com o complexo metálico. Em geral, Tabela 6.2, para os ligantes cloreto o termo ΔE^{pol} sofre a maior influência com o isomerismo, por exemplo para Ru-Cl1, ΔE^{pol} é $-81,59 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para *s*-dmsO enquanto para *o*-dmsO é $-76,02 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Como mostram os resultados de GKS-EDA, para o complexo **1**, por exemplo, os ligantes dmsO2 ($\Delta E^{tot} = -39,40 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e dmsO3 ($\Delta E^{tot} = -40,62 \text{ kcal.mol}^{-1}$) devem sofrer substituição por ligantes aquo em um processo de hidrólise, devido à baixa magnitude de ΔE^{tot} para essas interações. De fato, de acordo com Brindell e colaboradores, [2] a

hidrólise ocorre para o complexo **1** primeiramente com a substituição dos ligantes dimetilsulfóxido (dms_o2 e dms_o3) por ligantes aquo em uma etapa rápida seguida da substituição do ligante cloreto (Cl₄) por outra molécula de água na etapa determinante da velocidade, como mostra o mecanismo da Figura 6.7 e indo de acordo com os resultados obtidos com a análise GKS-EDA. Além disso, os resultados obtidos também corroboram com os resultados experimentais, no qual para o complexo **2o** a etapa rápida ocorre com a hidrólise do ligante *o*-dms_o (dms_o3) seguida da hidrólise do ligante cloreto (Cl₁), em uma etapa lenta. Além disso, os autores ainda explicam que devido as posições mais lábeis no complexo **1** e os impedimentos estéricos presentes no complexo **2o**, não somente afetam a velocidade de reação como também a reatividade desses complexos com o *DNA*, que será discutida na próxima seção.

Figura 6.7 – Mecanismo de hidrólise proposto por Brindell et al. [2] para os isômeros *trans/cis*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰.



4.2.2 Complexos Hidrolisados

Os resultados na Tabela 6.5 mostram que para o complexo **1.1**, a substituição do dms_o por ligantes aquo não somente diminui significativamente a magnitude da energia total de interação de -29,88 kcal.mol⁻¹ e -27,43 kcal.mol⁻¹ para H₂O₂ e H₂O₃, respectivamente, mas também os valores de *W*_{*b*_{*i*}} em quase 50%, Tabela 6.6, confirmando

que mudança de coordenação de Ru–S (dmso) para Ru–O (H₂O) tornam essas interações mais fracas. Por exemplo, o valor de W_{bi} para a ligação Ru–dmso3 para o complexo **1** é 0,488 enquanto para a ligação Ru–H₂O3 (**1.1**) é de 0,223. A diminuição observada na magnitude de ΔE^{tot} acompanha também a diminuição na magnitude de ΔE^{ex} , que varia entre -133,64 kcal.mol⁻¹ a -83,92 kcal.mol⁻¹ para substituição do dmso2 por H₂O2 e de -161,08 kcal.mol⁻¹ a -65,24 kcal.mol⁻¹ para substituição do dmso3 por H₂O3. O mesmo comportamento é observado nas interação Ru–dmso para os complexos **1**, **2o** e **2s**, também é observado para o complexo **1.1** no qual o termo de troca ΔE^{ex} continua a modular majoritariamente a magnitude de ΔE^{tot} para as interações do tipo Ru–dmso.

Tabela 6.5 – Análise de decomposição de energia GKS-EDA em kcal.mol⁻¹ para os complexos 1.1, 1.2 2.1 e 2.2 com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações		ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-165,95	-169,03	-126,92	219,56	-73,76	-5,84	-10,26
[H ₂ O2] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁰		-29,88	-51,37	-83,92	151,13	-38,81	-4,50	-2,41
[H ₂ O3] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁰		-27,43	-42,40	-65,24	116,52	-28,78	-4,69	-2,83
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-165,68	-168,93	-124,71	215,43	-71,95	-5,91	-9,52
[<i>dms</i> o5] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁰		-71,85	-84,12	-165,36	309,14	-85,86	-14,43	-31,23
[<i>dms</i> o6] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁰		-78,38	-98,21	-183,90	344,77	-96,28	-13,91	-30,85
Interações		ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[H ₂ O1] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-36,13	-48,33	-71,96	130,01	-39,58	-4,97	-1,29
[H ₂ O2] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-33,94	-54,82	-84,77	154,83	-44,31	-4,50	-0,38
[H ₂ O3] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-30,85	-44,75	-63,68	115,38	-32,1	-4,69	-1,01
[Cl4] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₃] ⁺		-261,11	-254,68	-125,41	221,69	-81,67	-6,24	-14,79
[<i>dms</i> o5] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₃ Cl] ⁺		-78,52	-88,78	-163,83	310,71	-90,36	-14,15	-32,10
[<i>dms</i> o6] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₃ Cl] ⁺		-78,82	-86,37	-164,45	309,36	86,82	-14,30	-36,24
Interações		ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[Cl1] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ (H ₂ O)Cl] ⁺		-151,41	-164,98	-144,18	247,55	-79,53	-4,24	-6,04
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ (H ₂ O)Cl] ⁺		-149,90	-158,74	-140,48	243,05	-79,79	-4,89	-9,05
[H ₂ O3] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ Cl] ⁰		-29,76	-61,58	-105,19	191,82	-50,16	-3,77	-0,88
[<i>dms</i> o4] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O)Cl] ⁰		-57,18	-83,28	-165,25	303,19	-80,71	-14,44	-16,69
[<i>dms</i> o5] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O)Cl] ⁰		-62,15	-94,56	-182,77	336,50	-86,71	-13,74	-20,87
[<i>dms</i> o6] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O)Cl] ⁰		-66,24	-83,79	-172,22	317,72	-86,14	-15,66	-26,15
Interações		ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
[H ₂ O1] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ (H ₂ O)Cl] ⁺		-28,06	-42,19	-68,44	120,96	-31,6	-6,04	-0,76
[Cl2] ⁻ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ (H ₂ O)] ²⁺		-245,06	-248,52	-133,00	233,02	-80,96	-6,51	-9,09
[H ₂ O3] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₃ (H ₂ O)Cl] ⁺		-32,53	-49,86	-79,36	142,67	-43,71	-5,49	-3,22
[<i>dms</i> o4] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-75,01	-70,78	-144,50	268,23	-85,26	-16,38	-26,32
[<i>dms</i> o5] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-70,05	-85,11	-155,39	288,74	-84,68	-15,99	-17,63
[<i>dms</i> o6] ⁰ ↔ [Ru(<i>dms</i> o) ₂ (H ₂ O) ₂ Cl] ⁺		-75,27	-79,87	-158,83	296,03	-88,88	-17,71	-26,01

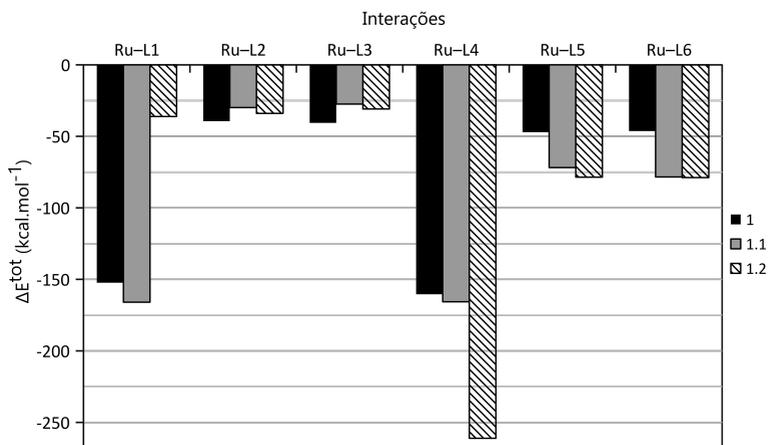
O aumento do W_{bi} para as interações, Ru–Cl4 (+0,04), Ru–dms05 (+0,24) e Ru–dms06 (+0,33) no complexo **1.1**, Tabela 6.6, estão de acordo com os resultados de GKS-EDA dispostos na Tabela 6.5, no qual ocorre o aumento da magnitude da energia total de interação para as interações Ru–Cl e Ru–dms0, sendo uma consequência direta do acréscimo da contribuição eletrostática ΔE^{es} , principalmente para a interação Ru–dms06 que aumenta de -73,88 kcal.mol⁻¹ para -98,21 kcal.mol⁻¹. Entretanto, para os outros ligantes este incremento não é significativo, por exemplo, para a interação Ru–dms05 ocorre a variação de -83,20 kcal.mol⁻¹ a -84,12 kcal.mol⁻¹, enquanto para Ru–Cl4 a variação ocorre de -163,54 kcal.mol⁻¹ a -168,93 kcal.mol⁻¹.

Para todas as interações no complexo **1.1** o aumento do termo eletrostático acompanha o decréscimo do termo de repulsão ΔE^{rep} , exceto para a interação Ru–dms06. A diminuição observada na magnitude do termo de repulsão ocorre devido ao decréscimo da população de elétrons com o mesmo spin entre os fragmentos interagentes quando se substitui os ligantes dms0 por ligantes aquo. Todavia, ΔE^{rep} continua sendo a única contribuição desestabilizadora na magnitude da energia total de interação, sendo significativa para as interações Ru–Cl e Ru–dms0, principalmente para Ru–dms06 ($\Delta E^{rep} = +344,77$ kcal.mol⁻¹) no complexo **1.1**. As propriedades topológicas, também estão de acordo com os maiores valores de ΔE^{tot} e W_{bi} para os complexos hidrolisados. Os resultados contidos na Tabela 6.7 também mostram que ocorre um aumento, não muito significativo, em ambas propriedades, densidade eletrônica e Laplaciano para os BCPs das interações do complexo hidrolisado **1.1**. Por exemplo, para Ru–dms05 ocorre um incremento de +0,045 u.a. e +0,120 u.a., respectivamente, confirmando o aumento do caráter de camada fechada dessas interações em paralelo com o acréscimo na magnitude de ΔE^{tot} .

O mesmo comportamento das contribuições energéticas de ΔE^{tot} em **1.1** é observado para o complexo **1.2**, sendo a maior diferença observada nas magnitudes das interações Ru–dms0, no qual a substitui-

ção do dms_o por ligantes aquo aumenta a magnitude de ΔE^{tot} , de -47,20 kcal.mol⁻¹ a -78,52 kcal.mol⁻¹ para Ru-dms_o5 e -46,38 kcal.mol⁻¹ para Ru-dms_o6, Figura 6.8.

Figura 6.8 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol⁻¹, para as interações nos complexos **1**, **1.1** e **1.2**.



Ambas análises, NPA (Tabela 6.6) e QTAIM (Tabela 6.7) sustentam os resultados obtidos do GKS-EDA, no qual ocorre o aumento na magnitude de ΔE^{tot} com o aumento de W_{bi} , +0,219 u.a. para Ru-dms_o5 e +0,320 u.a. para Ru-dms_o6, assim como também é observado o aumento, quase insignificante, da magnitude de ρ_b e $\nabla^2\rho_b$ nos BCPS para Ru-dms_o5 e Ru-dms_o6, caracterizando também a natureza dessas interações como camada fechada.

Tabela 6.6 – Índice de ligação de Wiberg (W_{bi}) e cargas NPA (em u.a.) para os complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2**, obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Complexos	Ligações	W_{bi}	NPA	
			Átomos	q_{AB}
1.1	Ru–Cl1	0,488	Ru	-0,095
	Ru–H ₂ O2	0,243	Cl1	-0,515
	Ru–H ₂ O3	0,223	O2	-0,864
	Ru–Cl4	0,489	O3	-0,850
	Ru–dms05	0,755	Cl4	-0,528
	Ru–dms06	0,761	S5	1,516
			S6	1,531
1.2	Ru–H ₂ O1	0,277	Ru	0,033
	Ru–H ₂ O2	0,261	O1	-0,847
	Ru–H ₂ O3	0,243	O2	-0,861
	Ru–Cl4	0,620	O3	-0,848
	Ru–dms05	0,737	Cl4	-0,457
	Ru–dms06	0,750	S5	1,482
			S6	1,482
2.1	Ru–Cl1	0,432	Ru	-0,329
	Ru–Cl2	0,462	Cl1	-0,518
	Ru–H ₂ O3	0,268	Cl2	-0,493
	Ru–dms04	0,546	O3	-0,852
	Ru–dms05	0,562	S4	1,477
	Ru–dms06	0,702	S5	1,440
			S6	1,506
2.2	Ru–Cl1	0,456	Ru	-0,224
	Ru–H ₂ O2	0,239	Cl1	-0,500
	Ru–H ₂ O3	0,209	O2	-0,870
	Ru–dms04	0,543	O3	-0,872
	Ru–dms05	0,702	S4	1,436
	Ru–dms06	0,693	S5	1,494
			S6	1,520

A interação de maior magnitude para o complexo **1.2** ocorre para Ru–Cl4 ($\Delta E^{tot} = -261,11 \text{ kcal.mol}^{-1}$), apresentando uma estabilização adicional de $+100 \text{ kcal.mol}^{-1}$ que a interação no complexo **1** e um aumento de aproximadamente $+0,2$ no W_{bi} também é observado.

Comparando os complexos **1.2** e **1.1**, como observado na Tabela 6.5 e Figura 6.8, ocorre um pequeno aumento de ΔE^{tot} simultaneamente com o aumento de ΔE^{es} para todas as interações, com a substituição do Cl1 (**1.1**) por H₂O1 (**1.2**). A única exceção ocorre para a interação Ru–H₂O1, no qual é observada uma diminuição de ΔE^{tot} de -46,38 kcal.mol⁻¹ para -36,13 kcal.mol⁻¹. A contribuição do termo de polarização, ΔE^{pol} à magnitude de ΔE^{tot} também aumenta para todas as interações no complexo **1.2**, no qual varia entre -32,12 kcal.mol⁻¹ a -86,82 kcal.mol⁻¹, exceto para as interações Ru–H₂O, no qual a interação Ru–H₂O1 apresenta o decréscimo no valor de ΔE^{pol} de -96,28 kcal.mol⁻¹ para -86,82 kcal.mol⁻¹. Entretanto, também ocorre um decréscimo na magnitude do termo de polarização para a interação Ru–H₂O2 (de -59,32 kcal.mol⁻¹ para -44,31 kcal.mol⁻¹) e muito mais significativo para a interação Ru–H₂O3 (de -67,14 kcal.mol⁻¹ para -32,10 kcal.mol⁻¹). A diminuição e o aumento gradativo nas magnitudes de ΔE^{pol} e ΔE^{es} , respectivamente, refletem no aumento do caráter eletrostático entre as interações ligante-complexo com a hidrólise dos ligantes, contudo as interações Ru–H₂O são enfraquecidas no processo. A contribuição do termo de repulsão para desestabilizar as interações no complexo **1.2** é quase invariante quando comparado ao complexo **1.1**, no qual a sua magnitude é relativamente maior ou menor por 5 kcal.mol⁻¹. Essa pequena variação é esperada já que a diferença estrutural entre os dois complexos é a substituição do ligante cloreto (Cl1) por aquo.

Tabela 6.7 – Parâmetros topológicos (em u.a.) dos BCPs selecionados para os complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2** obtidos com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

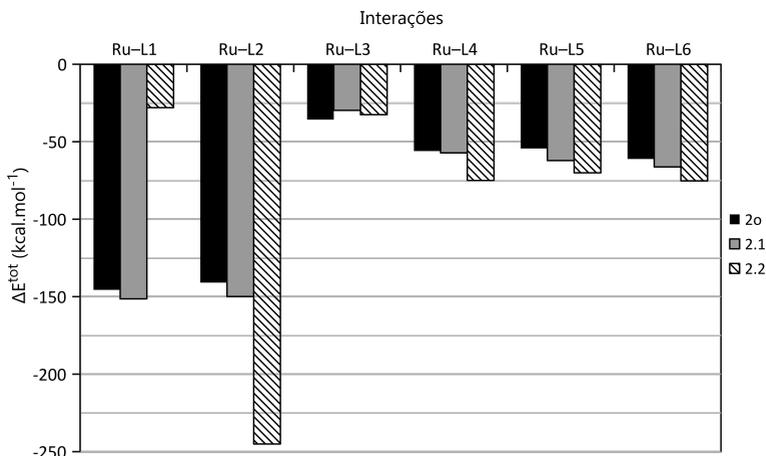
Complexos	BCP	ρb	$\nabla^2 \rho b$	ε
1.1	Ru–Cl1	0,075	0,193	-0,020
	Ru–H ₂ O2	0,575	0,241	-0,008
	Ru–H ₂ O3	0,558	0,242	-0,008
	Ru–Cl4	0,754	0,192	-0,019
	Ru–dms05	0,128	0,313	-0,055
	Ru–dms06	0,131	0,291	-0,058
1.2	Ru–H ₂ O1	0,064	0,306	-0,010
	Ru–H ₂ O2	0,065	0,287	-0,011
	Ru–H ₂ O3	0,063	0,283	-0,010
	Ru–Cl4	0,086	0,209	-0,026
	Ru–dms05	0,127	0,207	-0,055
	Ru–dms06	0,126	0,278	-0,055
2.1	Ru–Cl1	0,073	0,185	-0,018
	Ru–Cl2	0,076	0,187	-0,020
	Ru–H ₂ O3	0,067	0,283	-0,012
	Ru–dms04	0,105	0,250	-0,039
	Ru–dms05	0,108	0,266	-0,041
	Ru–dms06	0,120	0,292	-0,049
2.2	Ru–Cl1	0,078	0,193	-0,021
	Ru–H ₂ O2	0,058	0,261	-0,008
	Ru–H ₂ O3	0,051	0,217	-0,006
	Ru–dms04	0,106	0,239	-0,040
	Ru–dms05	0,122	0,276	-0,051
	Ru–dms06	0,119	0,230	-0,049

Entretanto, em comparação com o complexo **1**, o termo de repulsão tem um diminuição significativa de sua magnitude (de +199,40 kcal.mol⁻¹ para +115,38 kcal.mol⁻¹) devido as diferentes substituições devido a hidrólise diminuírem expressivamente a repulsão intereletrônica entre os fragmentos interagentes.

Para o complexo **2.1**, como mostram os resultados da Tabela 6.5 e Figura 6.9, a substituição do ligante dms03 por H₂O3 aumenta a magnitude de ΔE^{tot} para todas as interações, todavia as interações mais afe-

tadas são a Ru–Cl₂ que varia de -140,96 kcal.mol⁻¹ a -149,90 kcal.mol⁻¹ e Ru–dms_o5 que varia de -54,38 kcal.mol⁻¹ a -62,15 kcal.mol⁻¹.

Figura 6.9 – Gráfico comparativo da energia total de interação, em kcal.mol⁻¹, para as interações nos complexos **2o**, **2.1** e **2.2**.



Os maiores valores de ΔE^{tot} ocorre devido ao incremento de ambos termos, eletrostático e polarização. Contudo, o único aumento significativo desses termos é observado para a interação Ru–dms_o5, no qual é observado um acréscimo de -19,40 kcal.mol⁻¹ e -13,98 kcal.mol⁻¹ para os termos eletrostático e polarização, respectivamente. A magnitude do termo de repulsão, que continua sendo o único termo desestabilizante, para o complexo **2.1** é quase invariante comparado ao observado para o complexo **2o**, entretanto a única exceção ocorre para a interação Ru–dms_o5, no qual ΔE^{rep} aumenta de +294,21 kcal.mol⁻¹ (**2o**) para +336,50 kcal.mol⁻¹ (**2.1**). Apesar do termo ΔE^{rep} desestabilizar a interação Ru–dms_o5, o termo de troca ΔE^{ex} estabiliza a interação no complexo **2.1** com um acréscimo em sua magnitude de -21,7 kcal.mol⁻¹. O aumento da magnitude dessas interações nos complexos hidrolisados pela substituição do ligante dms_o3 por H₂O3 também acompanha o aumento no valor de W_{bi} (+0,218) e também nos parâmetros topológicos

ρb (+0,026 u.a.) e $\nabla^2 \rho b$ (+0,055 u.a.), principalmente para a interação Ru–dms06, Tabelas 6.7 e 6.6.

A mesma tendência no comportamento dos termos que compõem ΔE^{tot} observada para o complexo **2.1** repete-se para o complexo **2.2**, no qual o aumento na magnitude de ΔE^{tot} é acompanhado pelo aumento das propriedades topológicas e de W_{bi} , Tabelas 6.7 e 6.6, reforçando que a substituição sucessiva dos ligantes na esfera de coordenação primário por ligantes aquo, tornam as interações Ru–dms0 e Ru–Cl mais fortes devido ao aumento do caráter eletrostático, enquanto as interações Ru–H₂O tornam-se mais fracas. Contudo, para o complexo **2.2**, o aumento na magnitude de ΔE^{tot} é mais significativo, principalmente para as interações Ru–Cl₂ e Ru–dms04-6 (Figura 6.9), que variam em média de -140,96 kcal.mol⁻¹ a -245,06 kcal.mol⁻¹ e de -57,18 kcal.mol⁻¹ a -73,61 kcal.mol⁻¹, respectivamente.

4.3 Docking Molecular

4.3.1 Isômeros Geométricos e de Ligação

Os resultados dos *dockings* moleculares dispostos nas Tabelas 6.8 e 6.9 sugerem que os complexos hidrolisados **1.1** a **2.2** possuem uma maior afinidade com o *BDNA* (-4,7 kcal.mol⁻¹ a -5,3 kcal.mol⁻¹) que os complexos **1**, **2s** e **2o** (-4,0 kcal.mol⁻¹ a -4,6 kcal.mol⁻¹), em concordância com os resultados experimentais obtidos por Alessio e colaboradores, [14] no qual a hidrólise aumenta a afinidade dos complexos com o *DNA*.

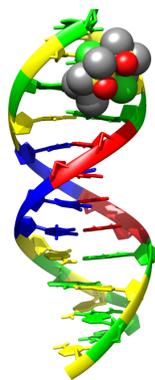
Tabela 6.8 – Análise de *docking* e parâmetros selecionados para os três modos mais estáveis dos complexos **1**, **2o** e **2s**.

Complexos	Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)	RMSD do modo 1 (ub/lb) (Å)	Sítio Ativo
1	1	-4,6	0/0	C _{3A} ⁻ -G _{22B}
	2	-4,5	1,20/4,66	C _{3A} ⁻ -G _{22B} /G _{2A} ⁻ -C _{33B}
	3	-4,4	1,24/5,58	C _{3A} ⁻ -G _{22B} /G _{2A} ⁻ -C _{33B}
2o	1	-4,1	0/0	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}
	2	-4,0	1,88/4,65	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}
	3	-4,0	1,46/1,70	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}
2s	1	-4,5	0/0	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}
	2	-4,3	0,29/5,14	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}
	3	-4,1	2,12/5,29	A _{6A} ⁻ -T _{19B} /T _{7A} ⁻ -A _{18B}

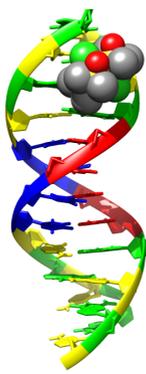
Todavia, as maiores afinidades encontradas pela análise de *docking* para o isômero *trans* (**1**) e seus complexos hidrolisados (**1.1** e **1.2**) corroboram com os resultados experimentais obtidos por Brindell [164] ao comparar a atividade dos complexos **1** e **2o** com a cisplatina, no qual mostraram que ambos isômeros ligam-se irreversivelmente ao *DNA*, sendo o isômero *trans* (**1**) mais efetivo em modificar a conformação do *DNA*, além de interferir na síntese do *RNA* pela inibição da enzima *RNA*-polimerase, induzindo a apoptose celular. A maior eficiência da atividade antineoplásica do complexo **1** quando comparado ao complexo **2o** é associada ao menor impedimento estérico causado pelos ligantes na esfera de coordenação primária do isômero *trans*, tornando a formação de adutos *intrastrands* e *interstrands*, além de *cross-links*, mais facilitada.

Como pode ser observado na Tabela 6.8 e Figura 6.10, os resultados de *docking* indicam que há dois domínios preferíveis para a interação dos complexos **1**, **2o** e **2s** com o *BDNA*, o primeiro formado entre os pares de base C_{3A}-G_{22B} e G_{2A}-C_{23B}, que são representados pela região verde e amarela, e o domínio A_{6A}-T_{19B} e T_{7A}-A_{18B}, representados pela região vermelha e azul (Figura 6.10).

Figura 6.10 – Representação dos três modos mais estáveis do *docking* molecular dos complexos **1**, **2o** e **2s** com o *BDNA*.



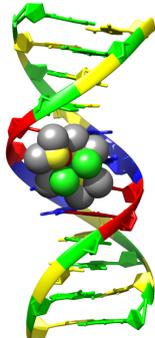
BDNA/1
Modo 1



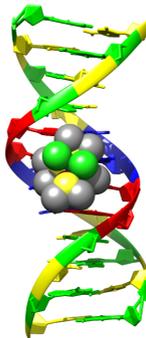
BDNA/1
Modo 2



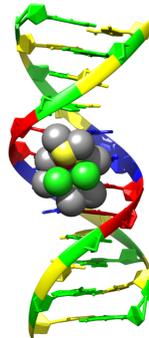
BDNA/1
Modo 3



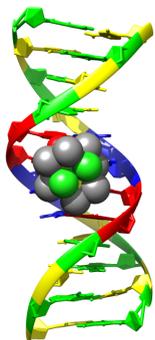
BDNA/2o
Modo 1



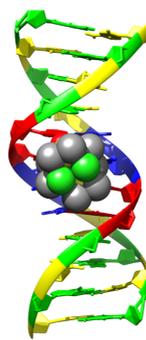
BDNA/2o
Modo 2



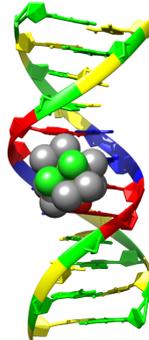
BDNA/2o
Modo 3



BDNA/2s
Modo 1



BDNA/2s
Modo 2

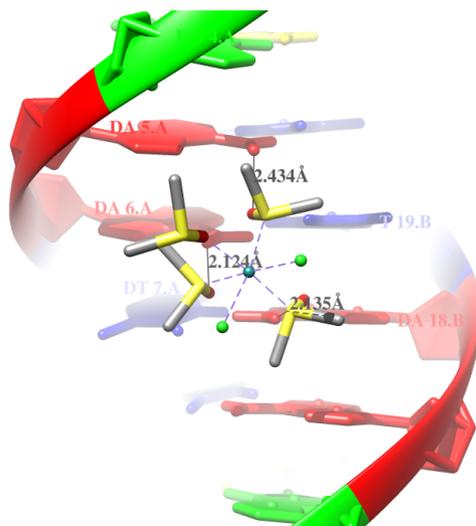


BDNA/2s
Modo 3

A afinidade dos três modos mais estáveis do complexo **1** pelo *DNA* varia entre $-4,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-4,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Entretanto, o sítio de ligação para as três configurações é o mesmo, entre os pares de base nitrogenadas $C_{3A}-G_{22B}$ (Figura 6.10). Para os isômeros *cis* a afinidade pelo *BDNA* é menos pronunciada para ambos complexos, **2o** ($-4,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-4,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e **2s** ($-4,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-4,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$) quando comparados com o complexo **1**, Figura 6.10. Entretanto, os domínios de ligação para estes complexos são os mesmos, eles interagem com os pares de bases nitrogenadas $A_{6A}-T_{19B}$ e $T_{7A}-A_{18B}$.

Para os complexo **1** e **2s** não há evidência de formação de ligação hidrogênio entre o receptor e o ligante. Contudo, três ligações de hidrogênio são observadas para o modo 1 do complexo **2o**, como mostra a Figura 6.11, essas ligações são essencialmente formadas pelo átomo de oxigênio do ligante *dmsO* com o hidrogênio adjacente da base adenina. Esses resultados sugerem que o aumento da afinidade desses complexos pelo *DNA* não é diretamente correlacionado com o número de ligações hidrogênio entre os ligantes-receptor.

Figura 6.11 – Representação do modo 1 modos explicitando as ligações de hidrogênio do *docking* molecular do complexo **2o** o *BDNA*.



4.3.2 Complexos Hidrolisados

Como discutido na seção anterior e como mostram os resultados contidos na Tabela 6.9, os complexos hidrolisados possuem maior afinidade pelo *BDNA* do que seus isômeros, no qual os complexos **1.2** (-5,5 kcal.mol⁻¹ a -5,6 kcal.mol⁻¹) e **2.2** (-4,8 kcal.mol⁻¹ a kcal.mol⁻¹) possuem maior magnitude na afinidade do que os complexos **1.1** (-4,6 kcal.mol⁻¹ a -4,9 kcal.mol⁻¹) e **2.1** (-4,7 kcal.mol⁻¹), sugerindo que o processo de hidrólise aumenta a magnitude das interações dos complexos com o *DNA*. Além disso, o processo de hidrólise também modifica as interações intermoleculares entre os complexos **1.1** e **1.2** que passam a interagir com o *DNA* por meio de ligações de hidrogênio formadas principalmente pelo átomo de hidrogênio do ligante aquo com um átomo de oxigênio como receptor das bases nitrogenadas guanina ou citosina.

Entretanto, como mostra a Tabela 6.9, os complexos hidrolisados perdem sua especificidade em relação ao isomerismo geométrico, no

qual todos os complexos interagem com o *DNA* através do par de bases C_{3A} - G_{22B} , próximos a base G_{4A} , Figura 6.12. Além disso, os complexos **2.1** e **2.2** apresentam um maior número de ligações de hidrogênio do que o complexo **2.0**, devido ao maior número de substituições dos ligantes cloreto e dmsO por ligantes aquo, (Tabela 6.10). Majoritariamente essas ligações de hidrogênio ocorrem entre o átomo de hidrogênio da base nitrogenada guanina atuando com o átomo de oxigênio da ligante dimetilsulfóxido atuando como receptor. Todavia, para o modo 1 do complexo **1.2** que possui a maior afinidade pelo *DNA*, não foi observada ligação de hidrogênio, enquanto os complexos **2.1** e **2.2** apresentaram no mínimo uma ligação de hidrogênio para os seus três modos mais estáveis (Tabela 6.10 e Figura 6.12).

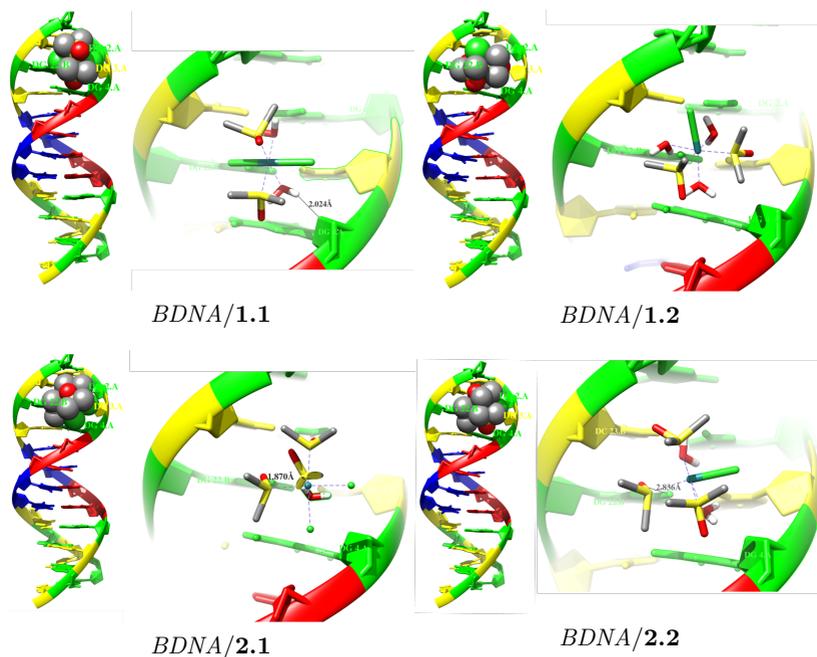
Tabela 6.9 – Análise de docking e parâmetros selecionados para os três modos mais estáveis dos complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2**.

Complexos	Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)	RMSD do modo 1 (ub/lb) (Å)	Sítio Ativo
1.1	1	-4,9	0	G _{22B} -C _{3A}
	2	-4,8	1,338/4,280	G _{22B} -C _{3A}
	3	-4,6	2,264/4,433	G _{22B} -C _{3A}
1.2	1	-5,6	0	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}
	2	-5,5	2,079/3,469	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}
	3	-5,5	1,980/4,270	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}
2.1	1	-4,7	0	G _{22B} -C _{3A}
	2	-4,7	2,586/4,449	G _{22B} -C _{3A}
	3	-4,7	2,528/4,423	G _{22B} -C _{3A}
2.2	1	-5,3	0	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}
	2	-5,1	1,935/2,451	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}
	3	-4,8	2,415/3,604	G _{22B} -C _{3A} , G _{4A}

Tabela 6.10 – Ligações de hidrogênio (Å) para os três modos mais estáveis dos complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2** obtidas da análise de docking molecular.

Complexos	Modos	Ligações de Hidrogênio	
		Doador (HX) → Receptor (Y)	R(H–Y) (Å)
1.1	1	H _{H2O} → O _{G4A}	2,02
	2	Não foi encontrada ligação de hidrogênio	
	3	Não foi encontrada ligação de hidrogênio	
1.2	1	Não foi encontrada ligação de hidrogênio	
	2	H _{H2O} → O _{C23B}	2,30
	3	Não foi encontrada ligação de hidrogênio	
2.1	1	H _{G22B} → O _{dmso}	1,87
	2	H _{G4A} → O _{dmso}	2,10
	3	H _{G22B} → O _{dmso}	1,98
2.2	1	H _{G22B} → O _{dmso}	1,86
	2	H _{H2O} → N _{G4A}	2,26
	3	H _{G4A} → O _{dmso}	2,03
		H _{G4A} → O _{dmso}	2,02

Figura 6.12 – Representações do modo 1 do *docking* molecular dos complexos **1.1**, **1.2**, **2.1** e **2.2** com o *BDNA*.



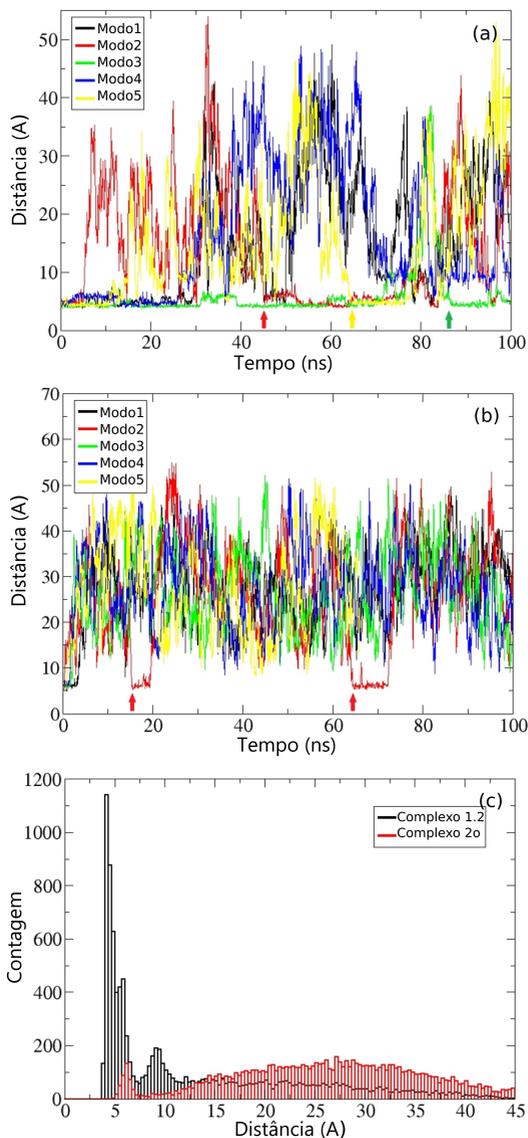
4.4 Dinâmica Molecular

Para as simulações MD foram escolhidos os complexos **2o** e **1.2**, que apresentaram a menor ($-4,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e maior ($-5,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$) afinidade pelo *BDNA*, respectivamente, de acordo com os resultados do *docking* molecular. Como descrito na seção de Metodologia as simulações partiram dos complexos docados com o *BDNA*, considerando os cinco dos nove modos mais estáveis.

A Figura 6.13 mostra a evolução da distância entre o átomo de rutênio do complexo e o átomo de nitrogênio mais próximo do *DNA* (N–Ru) durante 100 ns de simulação para os cinco modos mais estáveis do *docking* molecular dos complexos **1.2** e **2o**. Pode ser observado na Figura 6.13 (a) que quatro dos cinco modos do complexo **1.2** permane-

cem próximos a macromolécula de *DNA* no mínimo 10 ns e um deles se separa depois de 5 ns, indicando que este complexo, em geral, permanece ligado do *DNA* após o procedimento de *docking*.

Figura 6.13 – (a) Evolução das distâncias N–Ru começando dos cinco modos do DM para o complexo **1.2**. Eventos espontâneos de ligação para os modos 2, 3 e 5 são mostrados pelas setas coloridas. (b) Evolução e eventos espontâneos para o complexo **2o**. (c) Histograma da distância de ligação N–Ru para todas as simulações dos gráficos anteriores para os complexos **1.2** e **2o**.



Também é observado, Figura 6.13 (b), a ligação espontânea durante a simulação dos modos 2, 3 e 5 para o complexo **1.2** indicados na Figura 6.13 (a) com as setas coloridas. O complexo **2o**, apresenta um comportamento diferente, onde todos os cinco modos permanecem não ligados ao *DNA* após 5 ns de simulação, indicando uma menor afinidade pelo *DNA* quando comparado ao complexo **1.2**. Apenas um dos modos do complexo **2o** mostrou eventos de ligação espontânea (seta vermelha), contudo esses estados são de vida-curta, não mais de 10 ns, comparados com o complexo **1.2**.

A Figura 6.13 (c) mostra o histograma das distâncias de ligação N–Ru das cinco trajetórias (100 ns) para cada complexo, no qual a maior afinidade do complexo **1.2** pelo *DNA* fica mais evidente. Para este último, dois picos são identificados, um à distância de 5,0 Å e um pico menor a uma distância próxima de 10,0 Å. No caso do complexo **2o** apenas um pequeno pico é observado à 7,0 Å e uma barreira de energia livre na posição do segundo pico.

Grande parte das diferenças de interação entre esses complexos com o *DNA* pode ser atribuída, pelo menos em parte, as suas cargas formais, sendo a carga +1 atribuída ao complexo **1.2** e carga 0 ao complexo **2o**. Como o modelo de *DNA* escolhido tem uma forte carga negativa, uma atração eletrostática grande é esperada para ligantes que possuem cargas positivas. Ao contrário, para complexos neutros as interações eletrostáticas são mais fracas, fazendo com que as moléculas de água desloquem o complexo do seu modo inicial para a seio da solução.

A Tabela 6.11 mostra as energias livres de ligação (ΔG_{lig}) para os cinco modos do complexo **1.2** e para um modo do complexo **2o**, que foi o único modo que ficou no sítio de ligação por mais de 2,5 ns necessários para a realização da análise MMPBSA.

Tabela 6.11 – Resultados da análise MMPBSA para as energias livres de ligação dos cinco modos mais estáveis do complexo **1.2** e do modo mais estável para o complexo **2o**. A média do erro padrão é dada entre parênteses.

Complexos	Modos	ΔH (kcal.mol ⁻¹)	$-T\Delta S$ (kcal.mol ⁻¹)	ΔG (kcal.mol ⁻¹)
1.2	1	-19,8 (1,3)	16,8 (0,6)	-3,0 (1,4)
	2	-21,6 (1,8)	18,5 (0,7)	-3,1 (1,9)
	3	-23,5 (1,6)	21,6 (1,4)	-1,9 (2,1)
	4	-22,8 (1,9)	18,8 (1,1)	-4,0 (2,2)
	5	-21,7 (2,1)	16,7 (0,8)	-5,0 (2,2)
2o	1	-4,7 (0,8)	15,4 (1,1)	10,7 (1,4)

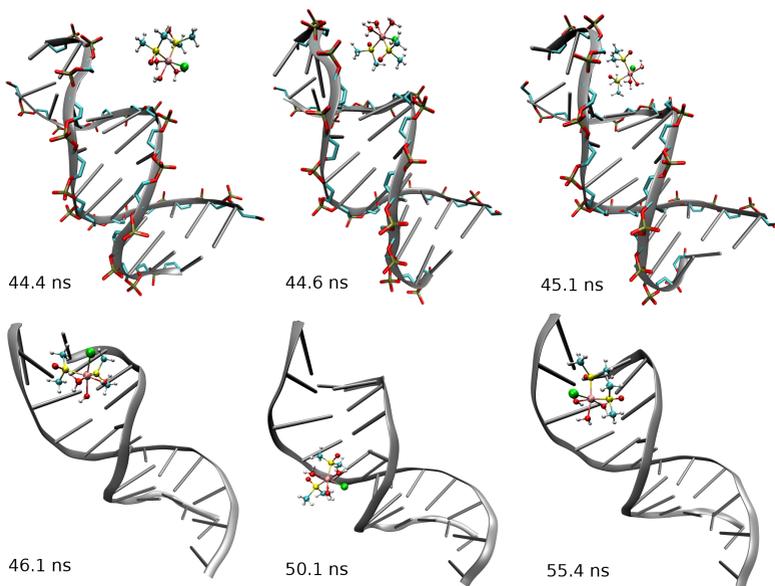
Os resultados indicam que o complexo **1.2** é relativamente estável, com as afinidades pelo *BDNA* variando entre -2,0 kcal.mol⁻¹ a -5,0 kcal.mol⁻¹. Pode ser observado também na Tabela 6.11, que a contribuição entálpica é muito próxima para os diferentes modos, com magnitudes próximas a -20 kcal.mol⁻¹, indicando uma forte porém, não-específica interação entre o *BDNA* e o complexo **1.2**. Em conjunto, esses resultados sugerem que o complexo possa ter múltiplos modos de ligação com afinidades próximas, tornando a transição rápida entre esses modos possíveis.

Como esperado, o complexo **2o** possui uma menor e positiva afinidade pelo *DNA*, cerca de +10,7 kcal.mol⁻¹. Mesmo com esse valor não favorável de ΔG_{lig} à contribuição entálpica, a energia livre de ligação é favorável (-4,7 kcal.mol⁻¹), que é consistente com o pequeno pico para este complexo no estado ligado que é observado na Figura 6.13 (b). Este pequeno valor negativo de entalpia é suficiente para deixar o complexo **2o** ligado ao *DNA* em um estado metaestável, que possui uma vida curta devido as flutuações de temperatura em conjunto com uma grande termo entrópico do sistema (-TS) no estado não-ligado.

O mecanismo de ligação do complexo **1.2** com o *BDNA*, assim como a dinâmica dos complexos no sítio de ligação, traz importantes *in-*

sights sobre o mecanismo de ação dessa classe de complexos. Para todos os modos do complexo **1.2** foi observado uma sequência comum de eventos para a interação complexo-*DNA*, onde na Figura 6.14 são mostradas as *snapshots* referentes ao modo 2 obtido do *docking* molecular.

Figura 6.14 – Sequência de eventos da ligação espontânea do complexo **1.2** para o modo 2.



Inicialmente, a simulação MD ocorre com o modo 2 do complexo **1.2** docado com o *BDNA*, no qual ambas moléculas começam a interagir perto da marca de 44 ns. O mecanismo de ligação inicia com a atração eletrostática entre o grupo fosfato do *BDNA* e os átomos de hidrogênio dos ligantes aquo e dmsso do complexo. Essa interação faz com que o complexo se aproxime do *DNA*, contudo sem entrar no *groove* do *DNA*, como previsto pelos resultados anteriores de DM. Este estado corresponde ao segundo pico no histograma da Figura 6.13(c), localizado a uma distância de 10,0 Å do átomo de nitrogênio mais perto das bases nitrogenadas do *DNA*. Por exemplo, para o modo 2 (Figura 6.14), este

estado permanece durante 0,5 ns e posteriormente as fitas de *DNA* distorcem, fazendo que o *DNA* abra para acomodar o complexo no interior do *groove*. Entretanto, como mostra a Figura 6.13 (a), não é observado para todos os modos, para o modo 4, por exemplo, a distância N–Ru permanece próxima a 10,0 Å entre 70 e 100 ns. Neste caso, o complexo permanece um grande tempo ligado ao *backbone* açúcar-fosfato, sem entrar no *groove* para interagir com os nitrogênios das bases.

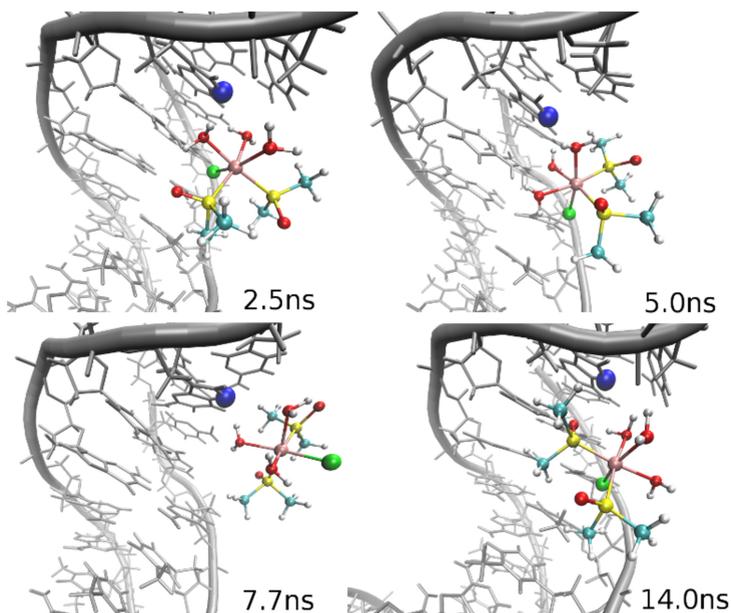
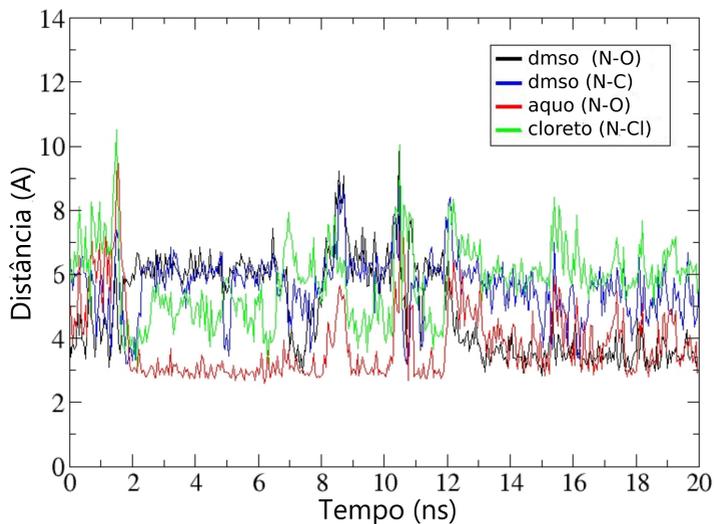
Uma vez que o complexo é alojado no *groove* do *DNA*, a sua distância do nitrogênio mais perto do *DNA* corresponde ao pico mais alto do histograma da Figura 6.13 (c). Neste estado, o complexo não possui apenas um modo de interagir com o *DNA* mas é capaz de rotacionar no *groove*, mudando rapidamente sua posição e coordenação com os átomos do *DNA*. Esta dinâmica é observada não somente para o modo 2 (Figura 6.14), mas nas diferentes regiões em que o complexo pode-se ligar a molécula de *DNA*.

Este comportamento é oposto ao observado para os complexos de rutênio que se ligam ao *DNA* através da intercalação, no qual somente uma conformação é dominante. [207] Uma possível explicação para esta diferença é que o mecanismo de intercalação possui um caráter predominantemente não-covalente, contudo para os complexos investigados neste capítulo, acredita-se na formação posterior de uma ligação covalente entre o *DNA* e o complexo, que ocorre entre o átomo de rutênio e o nitrogênio N7 da base nitrogenada guanina. Contudo, nenhum dos modos do complexo **1.2** interagem perto do sítio N7-G, exceto para o modo 3 (seta verde) em que o complexo está perto do N7 (Figura 6.13 (a)).

Na Figura 6.15 é mostrado a distância entre os átomos N7-G e quatro diferentes átomos do complexo **1.2** durante 20 ns de simulação. A análise começa no momento em que o complexo se liga próximo ao átomo N7 da guanina e termina, rapidamente antes do complexo voltar ao seio da solução. O gráfico da Figura 6.15 mostra que o ligante aquo do complexo é o grupo que fica mais tempo perto do N7-G, corroborando

com as análises de GKS-EDA que mostram que o ligante aquo possui a menor energia total de interação e que são os grupos mais favoráveis para serem substituídos pelo átomo N7-G. Na Figura 6.15 é indicado o átomo N7 da guanina e o complexo **1.2**, sendo observada a mesma dinâmica de ligação que as simulações da Figura 6.14, ocorrendo a transição rápida entre várias conformações e de magnitudes semelhantes de ΔG_{lig} . Este estado pode ser considerado como um estado temporário que precede a interação covalente, no qual após o mesmo, uma ligação covalente entre o complexo **1.2** e a macromolécula de *DNA* pode ser formada.

Figura 6.15 – Evolução da distância de ligação entre N7-G e vários átomos no complexo **1.2** com 20 ns de simulação. *snapshots* mostrando a variação dos átomos do complexo **1.2** ao interagir com o átomo N7-G (marcado em azul) do *BDNA*.



5 Conclusões

Em conjunto com os resultados de QTAIM e NBO, os resultados de GKS-EDA mostraram que isomerismo geométrico afeta diretamente as interações entre os ligantes e o complexo metálico. O isômero *trans* (complexo **1**) apresenta uma maior magnitude de ΔE^{tot} ($-156,40 \text{ kcal.mol}^{-1}$ em média) para as interações axiais Ru–Cl_{in} do que os complexos **2o** e **2s** ($-146,64 \text{ kcal.mol}^{-1}$), isômeros *cis*. Opostamente, as interações Ru–dms_o são menos estáveis para o complexo **1** ($+8,60 \text{ kcal.mol}^{-1}$ em média). Contudo, a estabilidade das interações Ru–Cl_{in} no complexo **1**, deve-se principalmente as contribuições eletrostática ΔE^{es} e de troca ΔE^{ex} na magnitude de ΔE^{tot} . Os resultados das análises corroboraram com os resultados experimentais disponíveis na literatura, no qual em um processo de hidrólise dos complexos **1** e **2o**, os ligantes dimetilsulfóxido ($\Delta E^{tot} = -43,68 \text{ kcal.mol}^{-1}$ em média) são substituídos mais facilmente por ligantes aquo quando comparados com os ligantes cloretos ($\Delta E^{tot} = -156,40 \text{ kcal.mol}^{-1}$ em média), principalmente no complexo **1**. A substituição de um ligante, seja este dms_o ou cloreto, por ligantes aquo acarreta numa estabilização adicional das interações, principalmente nas interações Ru–Cl. Entretanto esta estabilização é aditiva, as segundas espécies hidrolisadas (**1.2** e **2.2**) apresentaram um maior acréscimo na magnitude de ΔE^{tot} para as interações Ru–dms_o ($-7,11 \text{ kcal.mol}^{-1}$ e $-11,58 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e Ru–Cl ($-95,29 \text{ kcal.mol}^{-1}$ e $-95,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$) sendo os fatores determinantes para o aumento dessas interações em razão, do acréscimo na magnitude do termo eletrostático ΔE^{es} e diminuição do termo de repulsão ΔE^{rep} .

O isomerismo de ligação do dimetilsulfóxido também influencia na magnitude das interações do complexo metálico, no qual as interações no complexo **2s** possuem uma maior magnitude de ΔE^{tot} do que as mesmas interações no complexo **2o**, devido a mudança da coordenação *o*-dms_o para *s*-dms_o. No qual, o termo ΔE^{es} é o que mais contribui para a estabilização das interações no complexo **2s**.

Os resultados de *docking* corroboraram com os resultados ex-

perimentais disponíveis, no qual o isômero *trans* (**1**) possui uma maior afinidade pelo *BDNA* do que os isômeros *cis* (**2o** e **2s**). Entretanto, o complexo **1** interage com os pares de base C_{3A}-G_{22B} e C_{2A}-G_{23B}, enquanto os complexos **2o** e **2s** interagem com os pares de bases nitrogenadas A_{6A}-T_{19B} e T_{7A}-A_{18B}, como observado experimentalmente. A mesma tendência observada nos resultados de GKS-EDA também foi observada nos resultados de *docking*, no qual a hidrólise desses complexos resultou em uma maior afinidade pelo *DNA*, sendo este um efeito aditivo, nos quais os complexos hidrolisados **1.2** e **2.2** interagiram mais fortemente com o *DNA* através do par de base G_{23A}-C_{3A}, próximo a G_{4A}. Contudo, os resultados indicam que as ligações de hidrogênio não são cruciais para essas estabilização.

Os valores da energia livre de Gibbs do método *MMPBSA*, obtidos das simulações MD, mostraram que o complexo **1.2** (-5,0 kcal.mol⁻¹) interage mais fortemente com o *DNA* do que o complexo **2o** (+10,7 kcal.mol⁻¹). Também foram obtidos indícios de uma possível formação de ligação covalente entre o complexo **1.2** e o átomo N7 da guanina.

Os resultados das simulações de MD corroboram com os resultados do *docking*, no qual ambos comprovaram as especulações experimentais da literatura, em que a interação de complexos do tipo *cis/trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰ com o *DNA*, através do átomo N7 da guanina, é favorecida quando estes complexos estão na forma geométrica *trans*-[Ru(II)(dms_o)₄Cl₂]⁰ e que é fortalecida após a substituição dos ligantes por água em um processo de hidrólise. Além disso, os resultados obtidos teoricamente quando comparados os experimentais mostraram a exímia precisão e importância da metodologia proposta neste trabalho.

7 Investigação Teórica da Modulação da Interação Ru–NO por Diferentes Aminoácidos e sua Interação com a *HSA*

1 Introdução

Desde a descoberta do óxido nítrico (NO) e seus derivados (RNOs) como fatores da relaxação derivados do endotélio (EDRF) na década de 90, [65, 66, 208, 209] a comunidade científica têm sido estimulada a identificar o papel do NO em diferentes processos biológicos, [208, 210–216] dentre os quais, um dos papéis mais importantes do NO é na indução da apoptose celular, [68, 217] principalmente de células neoplásicas. Entretanto, sabe-se que a ação do NO no meio biológico depende muitas vezes de sua liberação de moléculas transportadoras como proteínas e complexos metálico, neste último dando-se através da ativação fotoquímica ou por redução monoelétrica. [218–220]

Diversas são as vantagens que complexos de rutênio apresentam frente a outros complexos com metais de transição, como a facilidade em síntese relativo a síntese de complexos análogos de ferro, estados de oxidação acessíveis, solubilidade em água, dentre outros, [46, 221–223] mas principalmente na habilidade de mimetizar ferro em importantes moléculas biológicas como a transferrina, tem tornando complexos metálicos de rutênio candidatos em potencial no desenvolvimento de novos fármacos. [159, 224] Por exemplo, nitrosilo complexos de rutênio têm sido desenvolvidos para apresentar atividade antimetástica e antitumoral, muitas vezes apresentando maior citotoxicidade e menor toxicidade que

a cisplatina. [224]

A interação de complexos de rutênio com o *DNA*, *RNA* e proteínas, ocorre mais efetivamente com a hidrólise desses complexos ou substituição de alguns de seus ligantes por moléculas presentes no meio biológico, como por exemplo, o próprio óxido nítrico ou moléculas de água. [63, 221, 225–227] Dentre as diversas classes de ligantes tem-se um enorme interesse em utilizar aminoácidos (AA) como ligantes, devido à participação dos AA na biotransformação de complexos metálicos no metabolismo humano. [3, 228–231] Apesar da grande importância de nitrosilo complexos de rutênio contendo AA, poucos estudos até o presente momento foram reportados. [3, 232]

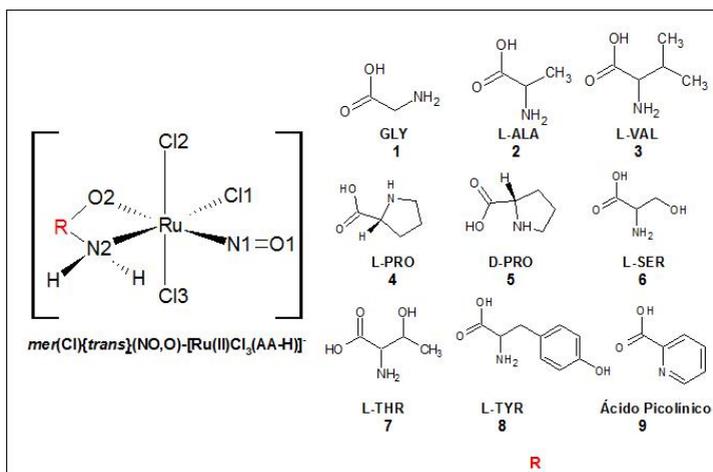
Em 2013 Luneau, Arion e colaboradores [232] reportaram a síntese e caracterização de uma série de nitrosilo complexos contendo ósmio com os aminoácidos glicina, ácido picolínico, L-prolina e D-prolina. Mais recentemente, os mesmos pesquisadores reportaram uma segunda série de nitrosilo complexos mas contendo rutênio, adicionando novos AA, L-alanina, L-valina, D-prolina, L-serina, L-treonina e L-tirosina. [3]

Os complexos sintetizados por Rahtgeb, [3] *mer(Cl)trans(NO,O)-[M(NO)Cl₃(AA–H)]⁻* com M=Ru(II) e Os(II), e L=AA⁻, foram caracterizados por difração de raios X, na forma cristalizada e em solução foram caracterizados por espectroscopia UV/VIS, ESI-MS, ¹H e ¹³CNMR, além de medidas eletroquímicas. Em ambos estudos, todos os complexos mostraram ser inertes em solução aquosa, relativo a hidrólise, e apresentaram elevada estabilidade na presença de 4 equivalentes de ácido ascórbico e ascorbato de sódio. A atividade desses complexos foi avaliada pela inibição do crescimento de células neoplásicas de ovário (CH1), cólon (SW489) e células de carcinoma não alongadas (A549), no qual os complexos de rutênio se mostraram com uma notável e elevada atividade antiproliferativa quando comparado com os complexos análogos de ósmio. [3] Os estudos sugerem ainda uma relação entre a natureza do centro metálico e os aminoácidos na resposta anti-tumoral, entretanto, a citotoxicidade encontrado foi considerada moderada ou

baixa e dependente da cultura celular. [3]

A liberação de óxido nítrico, e portanto a modulação da interação Ru–NO de nitrosilo complexos de rutênio, têm sido comumente alvo de estudos, experimentais e teóricos, [72,75,233,234] devido a associação da participação ativa do óxido nítrico na apoptose celular de células neoplásicas. Contudo, devido a ausência significativa de resultados que elucidam a influência de diferentes aminoácidos como ligantes agindo na modulação da interação Ru–NO. Este capítulo propõem-se a investigar teoricamente este efeito nos complexos sintetizados por Rathgeb [3], complexos do tipo *mer*(Cl)*trans*(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl₃(AA⁻)]⁻ com AA⁻ = glicina (GLY), L-alanina (L-ALA), L-valina (L-VAL), L-prolina (L-PRO), D-prolina (D-PRO), L-serina (L-SER), L-tionina (L-THR), L-tirosina (L-TYR) e ácido picolínico para efeitos de comparação, utilizando a análise de decomposição de energia (GKS-EDA) e orbitais naturais de ligação (NBO) como métodos computacionais assim como o *docking* molecular (DM) para elucidar a interação desses complexos com a *HSA* (Figura 7.1).

Figura 7.1 – Fórmulas estruturais dos aminoácidos estudados no complexo $mer(Cl)trans(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl_3(AA^-)]^-$ com AA^- = glicina, L-alanina, L-valina, L-prolina, D-prolina, L-serina, L-tionina, L-tirosina e Ácido Picolínico.



2 Objetivos

- Investigar como a natureza dos ligantes AA^- afetam a magnitude da interação Ru–NO na série de complexos $mer(Cl)trans(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl_3(AA^-)]^-$ com AA^- = glicina, L-alanina, L-valina, L-prolina, D-prolina, L-serina, L-tionina, L-tirosina e ácido picolínico empregando para tal fim as análises GKS-EDA e NBO;
- Investigar através do DM como a interação desses complexos com a *HSA* é afetada pela diferente natureza dos AA^- .

3 Métodos Computacionais

3.1 Cálculos DFT

As otimizações geométricas e frequências vibracionais foram realizadas no pacote programas ORCA v.3.0.2, [169] com o funcional de

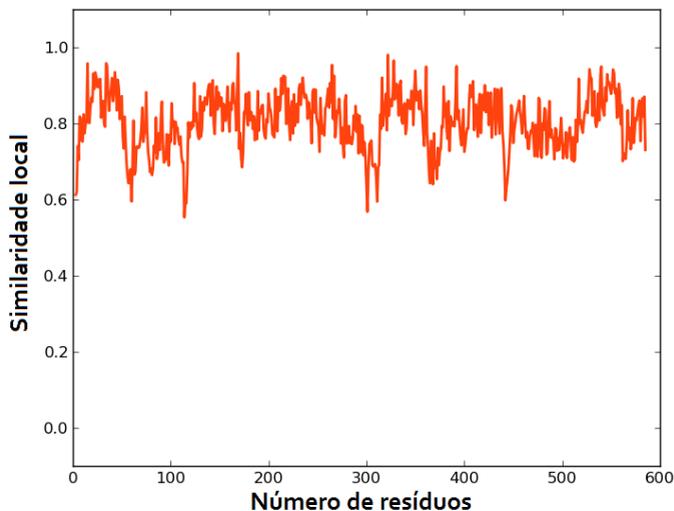
troca de Becke [170] e de correlação de Perdew, [171] com a presença da correção de Grimme [172–174] para dispersão, com a função de base de qualidade tripla zeta de Ahlrich, [175] BP86-D3/def2-TZVPP. Os efeitos relativísticos para o átomo de rutênio foram considerados através da aproximação relativística de ordem zero (ZORA). [176] Todas as estruturas reportadas foram verificadas como mínimos locais devido à ausência de autovalores imaginários na matriz Hessiana.

A natureza dos ligantes presente nos nitrosilo complexos de rutênio do tipo *mer*(Cl)*trans*(NO,O)-[Ru(II)(NO)Cl₃(AA⁻)⁻ e a influência dos ligantes AA⁻ na magnitude dessas interações foram investigadas através das técnicas de GKS-EDA [95] e NBO [98, 99] com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP no programa GAMESS-US 2013. [177]

3.2 Docking Molecular

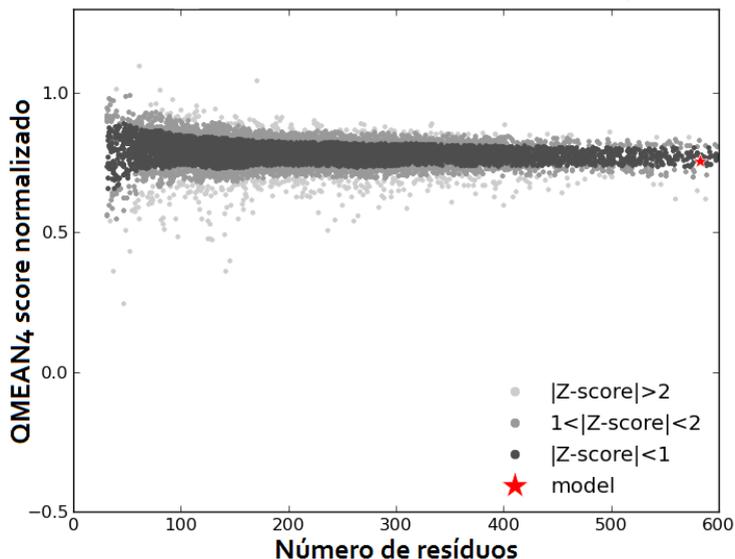
Com a finalidade de investigar a interação dos complexos com a *HSA* foi realizado o *docking* molecular utilizando as estruturas otimizadas dos complexos de rutênio atuando como ligantes flexíveis e a *HSA* (código PDB:**1h9z**) [182] como receptor rígido. A estrutura de raiosX foi obtida no *Protein Data Bank* com resolução de 2,5 Å e submetida ao servidor BLAST, [136–138] para a escolha do melhor modelo, pelos valores ótimos de GMQE (0,99) e QMEAN (-0,31). O modelo escolhido no servidor *BLAST* foi o do *template 4n0f.3.C* (modelo 1) com 100% de identidade sequencial e com resolução de 3,02 Å, o que conferiu uma ótima qualidade local dos resíduos, apresentando uma flutuação da similaridade local média de 0,89 como mostra o gráfico da Figura 7.2.

Figura 7.2 – Gráfico da estimativa da similaridade local do modelo 1 (4n0f.3.C).



O modelo foi então submetido ao servidor SWISS-MODEL [139–142] para reconstrução do arquivo *.pdb* necessário para a análise DM. Em seguida foi submetido ao PDB_Hydro [145,183] para averiguar a construção correta e verificar as possíveis cadeias (ou átomos) laterais faltantes. Os estados de protonação da *HSA* foram verificados através do módulo PROPKA contido no servidor PDB2PQR [146], no qual foram adicionados carga e raio atômico no arquivo *.pdb*, pelo tratamento com MM, utilizando o campo de força *AMBER* e considerando pH neutro (pH=7). A mudança nos estado de protonação dos aminoácidos foi realizada manualmente no servidor DockThor. [133,148] Em uma etapa final, o modelo do receptor então foi submetido ao módulo QMEAN do SWISS-MODEL para reavaliar sua reabilidade, no qual foi obtido o score de 0,763, que se encontra na faixa ideal de Z-score < 1, como observado na Figura 7.3.

Figura 7.3 – Gráfico do módulo QMEAN4 score normalizado do servidor SWISS-MODEL.



Durante o pré-*docking* realizado com o pacote de programas AutoDock Tools v.1.5.6, [149] o receptor foi considerado rígido e apenas os hidrogênios polares foram julgados, contudo foi atribuída flexibilidade aos ligantes e novamente apenas os hidrogênios polares foram mantidos. As análises de *docking* foram realizadas no programa AutoDock Vina v.1.1.2 [179] com as configurações de *default*; já descritas na seção de *Métodos Computacionais*; exceto para *exhaustiveness*, que foi fixada em 10. Para isso, uma caixa com 72:82:106 pontos nos eixos x, y e z, respectivamente, e com espaçamento de 0,75 Å foi utilizada para construir um *grid* de 648313 pontos englobando o receptor *HSA*. A busca conformacional foi então realizada com o programa Vina no qual foram obtidas 90 conformações, entretanto, serão apenas apresentadas as três conformações mais estáveis para cada complexo. Para análise

e refinamento dos resultados, o programa Chimera v.1.11 [181] foi utilizado.

4 Resultados e Discussão

4.1 Geometria e Frequência Vibracional

Para a realização dos cálculos, os complexos foram modelados como negativamente carregados, com o ligante aminoácido sendo ambidentados e também negativamente carregado como reportado experimentalmente por Gavriluta [232] e Rathgeb [3]. Exceto para o complexo **9a** (AA^- = ácido picolínico), o grupo amino (NH_2 ou NH) presente foi considerado protonado e o grupo carboxílico sempre desprotonado (CO_2^-). Dos três isômeros possíveis foi considerado apenas os análogos aos sintetizados, nos quais os ligantes cloreto estão na posição meridional e o ligante nitrosil está na posição *trans* ao oxigênio do grupo carboxílico do AA^- correspondente ou ácido picolínico no caso do complexo **9**, Figura 7.1 .

Como mostra as estruturas contidas nas Figuras 7.4 e 7.5 todos os complexos reportados neste capítulo possuem geometria pseudo-octaédrica com o grupo de ponto $C1$, nos quais os parâmetros geométricos obtidos, como comprimento de ligação e ângulo de ligação estão muito próximos aos parâmetros experimentais disponíveis na literatura (Figura 7.4 e 7.5 e Tabela 7.1). O caráter nitrosônio do grupo NO foi confirmado devido a quase linearidade do ângulo Ru–N1–O1 ($172,1^\circ$ em média), no qual pode ser definido como $\{RuNO\}^6$ pela notação de Enemark-Feltham. Entretanto este ângulo Ru–N1–O1 é quase invariante na série de complexos **1-9**, variando de $170,0^\circ$ para o complexo **7** a $173,1^\circ$ para o complexo **9**. A mesma invariância no comprimento de ligação também é observado para os comprimentos de ligação de N1–O1, com um valor médio de $1,17 \text{ \AA}$. Como esperado os menores comprimentos de ligação para N1–O1 refletem nos maiores valores de frequências vibracionais, como mostra os resultados da Tabela 7.1. Em

média essas frequências estão em torno de 1816 cm^{-1} , indicando um forte carácter nitrosônio do ligante NO e dando suporte à configuração $\{RuNO\}^6$, em concordância com os valores experimentais reportados na literatura para esses complexos.

Figura 7.4 – Geometria otimizada e parâmetros geométricos selecionados dos complexos **1-6** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.

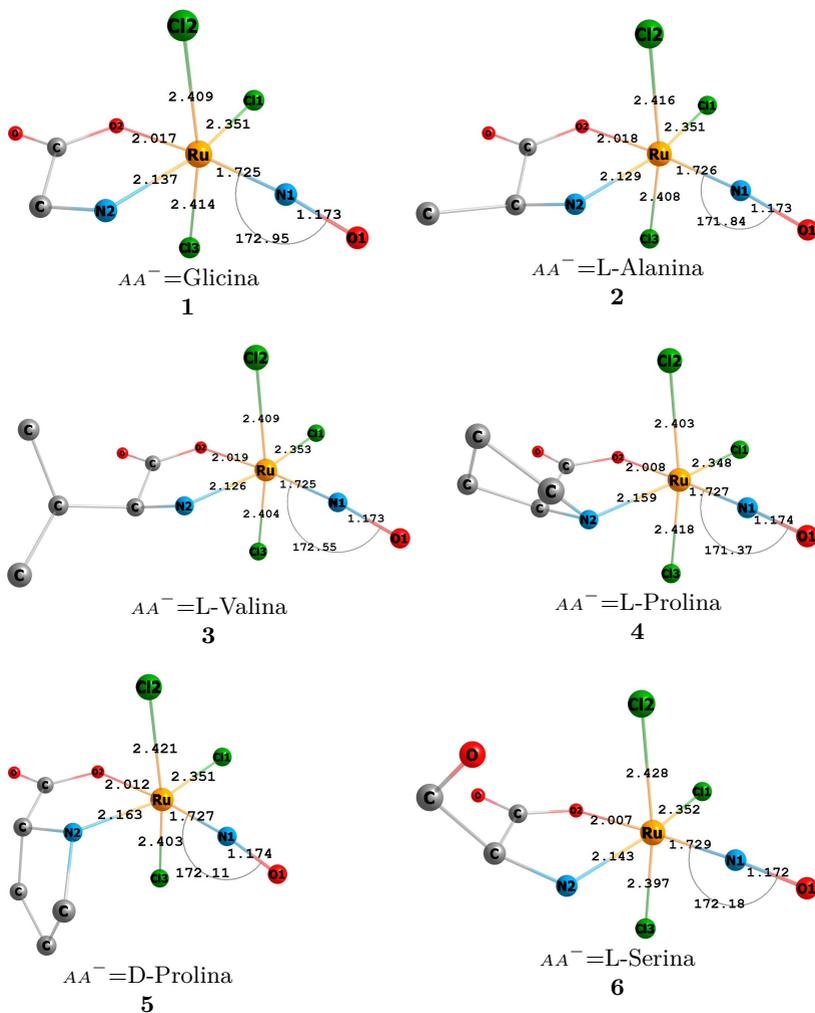


Figura 7.5 – Geometria otimizada e parâmetros geométricos selecionados dos complexos **7-9** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.

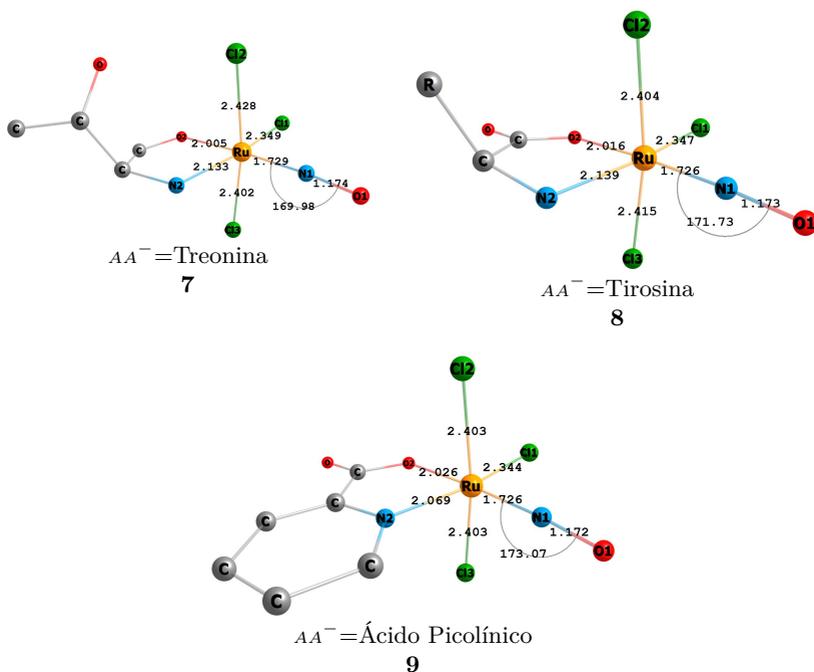
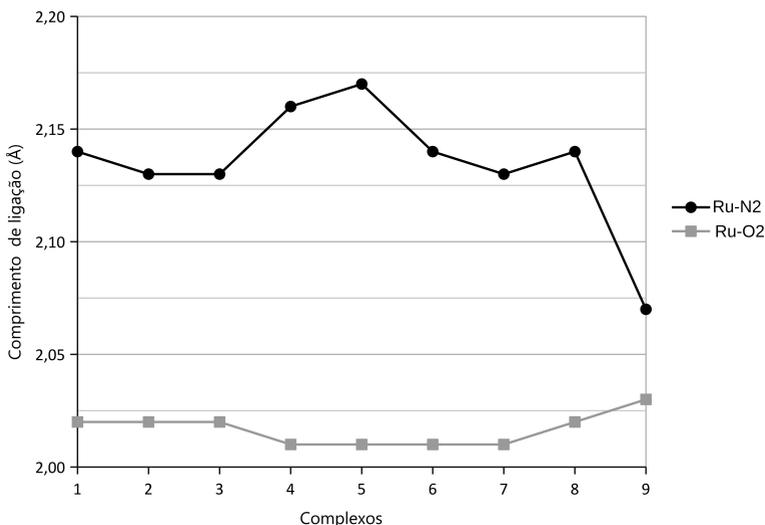


Tabela 7.1 – Parâmetros geométricos selecionados, teóricos (BP86-D3/def2-TZVPP) e experimentais [3] (em itálico), para os complexos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e frequências vibracionais (cm^{-1}), para os complexos 1-9.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Simetria	C_1	C_1							
ν_{NO}	1820 (1862)	1815 (1858)	1821 (1852)	1809 (1845)	1814 (1845)	1819 (1855)	1812 (1849)	1817 (1885)	1817
ν_{COO^-}	1685 (1669)	1677 (1666)	1671 (1663)	1683 (1647)	1685 (1647)	1678 (1644)	1686 (1642)	1663 (1641)	1669
$\nu_{s}NH_2$	3313 (3124)	3280 (3120)	3290 (3187)	1683 (1647)	1685 (1647)	3293 (3120)	3335	3286 (3101)	3169
$\nu_{as}NH_2$	3464 (3193)	3448 (3190)	3450	3346 (3169)	3240 (3168)	3391 (3190)	3415 (3293)	3446 (3169)	3169
Ru–N1	1,72 (1,70)	1,73 (1,71)	1,73 (1,73)	3346 (3169)	3240 (3168)	3391 (3190)	3415 (3293)	3446 (3169)	1,73
Ru–O1	1,17 (1,15)	1,17 (1,18)	1,17 (1,16)	1,17 (1,15)	1,17 (1,14)	1,17 (1,15)	1,17 (1,15)	1,17 (1,14)	1,17
Ru–N2	2,14 (2,05)	2,13 (2,08)	2,13 (2,10)	2,16 (2,11)	2,17 (2,13)	2,14 (2,07)	2,13 (2,08)	2,14 (2,08)	2,07
Ru–O2	2,02 (2,00)	2,02 (2,01)	2,02 (2,00)	2,01 (2,00)	2,04 (2,00)	2,01 (2,01)	2,00 (2,01)	2,02 (2,02)	2,03
Ru–C11	2,35 (2,36)	2,35 (2,38)	2,35 (2,36)	2,35 (2,38)	2,35 (2,38)	2,40 (2,37)	2,35 (2,36)	2,35 (2,38)	2,34
Ru–C12	2,41 (2,36)	2,42 (2,37)	2,41 (2,38)	2,40 (2,38)	2,43 (2,37)	2,35 (2,35)	2,43 (2,37)	2,40 (2,37)	2,40
Ru–C13	2,414 (2,38)	2,41 (2,36)	2,40 (2,37)	2,42 (2,36)	2,40 (2,38)	2,43 (2,38)	2,40 (2,38)	2,42 (2,37)	2,40
Ru–N1–O1	172,9 (179,1)	171,8 (171,9)	172,5 (177,7)	171,4 (176,6)	173,1 (176,5)	172,2 (178,3)	170,0 (174,1)	171,7 (179,4)	173,1
N1–Ru–N2	95,2	94,5	95	93,1	95,7	94	92	94,2	95,3
N1–Ru–O2	173,9	173,1	173,7	172,5	173,8	172,9	171,2	172,6	147
C11–Ru–C12	95,2	95,1	94,5	92,4	94,6	94,3	93,3	92,8	91,9
C12–Ru–C13	168,1 (172,8)	169,6 (173,7)	170,7 (174,0)	171,2 (174,9)	173,2 (175,4)	171,5 (172,4)	170,3 (173,9)	170,6 (172,7)	172,7
C11–Ru–C13	95,4	93,6	93,1	94,3	89,7	94,3	95,2	94,8	91,8

Assim como ocorre para N1–O1, a distância de ligação para Ru–N1 é pouco afetada com a natureza dos aminoácidos, tendo um valor médio de 1,73 Å. O contrário ocorre com as distâncias de ligação entre o átomo de rutênio e o aminoácido, no qual as distâncias de ligação para Ru–N2 e Ru–O2 são um pouco mais sensíveis a natureza dos AA⁻. Contudo, como pode ser observado na Figura 7.6, as distâncias Ru–O2 (2,00 Å em média) são sempre menores que as distâncias para Ru–N2 (2,10 Å em média). Devido à natureza macia do ácido de Lewis, Ru(II), esse é bem estabilizado com os átomos de nitrogênio, que são bases mais moles que os átomos de oxigênio e como resultado ocorre um aumento nas distâncias de ligação Ru–N2. O oposto é válido para as ligações Ru–O2, a natureza dura do átomo de oxigênio do grupo RCOO⁻ dos aminoácidos diminui a estabilização do centro metálico, devido a carga negativa do átomo de oxigênio, esse efeito eletrônico é grande e como resultado as distâncias Ru–O2 são menores.

Figura 7.6 – Gráfico dos comprimentos de ligação Ru–N2 e Ru–O2 para os complexos 1-9.

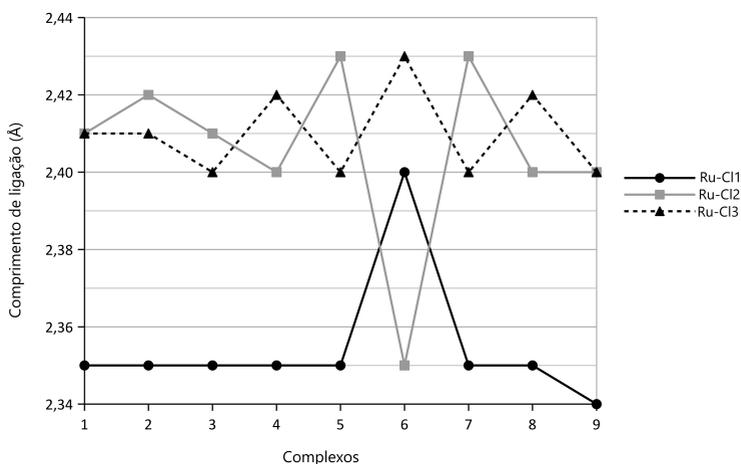


Como pode ser observado na Figura 7.6, em uma mesma série esses valores são bem próximos, apresentando poucos desvios, entre-

tanto para as distâncias de ligação Ru–N2 esses desvios são causados principalmente pela própria natureza dos aminoácidos: aminoácidos contendo hidrogênio no átomo N2, como por exemplo, nos complexos **4** (L-prolina) e **5** (D-prolina), e aminoácidos sem H no átomo N2, no caso do complexo **9** (ácido picolínico). As distâncias de ligação para Ru–N2 nos complexos **4** e **5** comparadas com o complexo **1** (2,14 Å), são insignificativamente maiores, +0,02 Å e +0,03 Å, enquanto para o complexo **9**, a magnitude da ligação é -0,07 Å menor quando comparada ao complexo **1**.

Dentre as três ligações com cloreto, a ligação Ru–Cl1 apresenta os menores comprimentos com um valor médio de 2,35 Å, enquanto o valor médio para Ru–Cl2 e Ru–Cl3 são 2,41 Å e 2,40 Å, respectivamente. A Figura 7.7 mostra que a natureza dos diferentes aminoácidos tem uma maior influência nas distâncias de ligação, principalmente para Ru–Cl1 e Ru–Cl2, no qual para o complexos **6** essa diferença é mais significativa que para os demais complexos.

Figura 7.7 – Gráfico dos comprimentos de ligação Ru–Cln (n=1, 2 e 3) para os complexos **1-9**.



Para o complexo **6** no qual o ligante AA^- é a L-serina os maiores desvios observados, porém não muito significativos, relativo ao complexo **1** ocorre para os comprimentos de ligação Ru–Cl1 (+0,05 Å) e Ru–Cl2 (-0,06 Å), como pode ser observado nas depleções do gráfico da Figura 7.7.

Os ângulos de ligação, como observado na Tabela 7.1 possuem uma discrepância maior dos seus resultados quando comparados aos ângulos de um octaedro perfeito, entretanto algumas tendências são observadas. Para os ângulos N1–Ru–N2, Cl1–Ru–Cl2 e Cl1–Ru–Cl3 ocorre um aumento de quase 6° na sua magnitude mostrando que esses grupos estão um pouco mais afastados entre si quando comparados ao ângulo de 90° de um octaedro perfeito, sendo que a única exceção ocorre para o ângulo Cl1–Ru–Cl3 no complexo **5** apresentando um valor de $89,7^\circ$. O oposto ocorre para os ângulos N1–Ru–O2 e Cl2–Ru–Cl3 no qual suas menores magnitudes de no máximo -12° (**1**) relativo an ângulo de 180° , revelam que os ligantes formadores desses ângulos estão mais próximos entre si, com um valor médio de 172° .

4.2 GKS-EDA

Para investigar o efeito dos diferentes aminoácidos na magnitude da interação Ru–NO foi considerado o seguinte esquema de partição na análise de decomposição de energia (GKS-EDA): $[NO]^+ \leftrightarrow [Ru(AA^-)Cl_3]^{2-}$, $[AA]^- \leftrightarrow [(NO)RuCl_3]^0$ e $[Cl_n=1-3]^- \leftrightarrow [(NO)Ru(AA^-)Cl_2]^0$, no qual os resultados das análises de decomposição de energia das duas primeiras fragmentações para os complexos **1-9** estão dispostos na Tabela 7.2. A fim de facilitar a discussão dos resultados foram adicionadas mais duas colunas à Tabela 7.2, ΔE^{Pauli} ; que equivale a soma dos termos de repulsão (ΔE^{rep}) e troca (ΔE^{ex}); e ΔE^{orb} ; que inclui as contribuições dos termos de polarização (ΔE^{pol}), correção da dispersão de Grimme (ΔE^{dc}) e correlação (ΔE^{cor}).

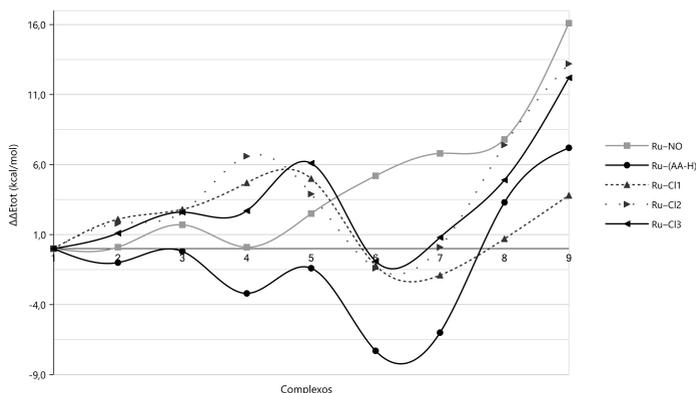
Tabela 7.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ das interações [NO]⁺ ↔ [Ru(AA⁻)Cl₃]²⁻ e [AA]⁻ ↔ [(NO)RuCl₃]⁰ para os complexos **1-9** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

[NO] ⁺ ↔ [Ru(AA ⁻)Cl ₃] ²⁻									
Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{Pauli}	ΔE^{es}	ΔE^{orb}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
1	-364,0	203,3	-212,9	-354,5	-172,3	375,7	-265,1	-3,4	-86,0
2	-363,9	204,9	-212,8	-356,0	-172,8	377,6	-267,8	-3,4	-84,8
3	-362,3	203,1	-209,9	-355,5	-171,7	374,8	-269,2	-3,3	-82,9
4	-363,9	209,8	-214,5	-359,2	-175,6	385,3	-273,3	-3,7	-82,2
5	-361,5	201,9	-207,5	-355,9	-170,7	372,6	-271,0	-3,8	-81,1
6	-358,8	204,5	-210,3	-353,0	-172,1	376,5	-264,3	-3,3	-85,4
7	-357,2	215,8	-214,5	-358,5	-179,0	394,9	-270,4	-3,3	-84,8
8	-356,2	207,2	-200,2	-363,2	-172,9	380,1	-301,6	-3,3	-58,3
9	-347,9	192,6	-192,1	-348,3	-164,3	356,9	-284,2	-3,9	-60,3
[AA] ⁻ ↔ [(NO)RuCl ₃] ⁰									
Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{Pauli}	ΔE^{es}	ΔE^{orb}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
1	-129,6	202,3	-157,0	-175,0	-231,2	433,5	-175,2	-7,9	8,2
2	-130,6	202,9	-156,9	-176,7	-232,2	435,1	-176,2	-8,4	8,0
3	-129,8	201,6	-155,1	-176,4	-230,0	431,6	-176,9	-9,3	9,8
4	-132,8	204,0	-156,2	-180,6	-235,1	439,1	-175,3	-11,4	6,1
5	-131,0	207,9	-157,2	-181,7	-239,2	447,0	-175,0	-11,7	4,9
6	-136,9	217,4	-165,3	-189,1	-249,3	466,8	-182,9	-9,6	3,4
7	-135,6	218,7	-164,7	-189,6	-250,2	468,8	-184,8	-9,9	5,1
8	-126,3	201,5	-153,2	-174,6	-229,8	431,3	-174,5	-9,6	9,5
9	-122,4	201,9	-148,0	-176,3	-225,5	427,4	-162,0	-9,3	-5,0

Os resultados da Tabela 7.2 indicam que na série de complexos **1-9** a interação mais estabilizante ocorre entre o ligante NO⁺ e a unidade metálica [Ru(AA⁻)Cl₃]²⁻, no qual o valor médio da energia total de interação ΔE^{tot} encontrado é de -361,9 kcal.mol⁻¹. Sendo significativamente maior em magnitude que a mesma interação em outros nitrosilo complexos de rutênio reportados na literatura. [75, 234] O que sugere também que esses complexos não são bom liberadores de NO. Os termos energéticos que mais contribuem para os altos valores na magnitude de ΔE^{tot} para a interação Ru–NO são os termos orbital ΔE^{orb} (62% em média) e eletrostático ΔE^{es} (37% em média), mostrando que a interação Ru–NO possui um caráter predominantemente covalente. Contraditori-

amente, era esperado que a contribuição do termo eletrostático (-192,1 kcal.mol⁻¹ a -214,5 kcal.mol⁻¹) fosse mais significativa que a do termo ΔE^{orb} (-348,3 kcal.mol⁻¹ a -363,2 kcal.mol⁻¹), devido a atração Coulômbica das cargas formais dos fragmentos [NO], carga +1, e da unidade metálica, [Ru(AA⁻)Cl₃], que possui carga -2. Contudo, a magnitude do termo orbital é modulada majoritariamente pela contribuição de ΔE^{pol} , que varia de -264,3 kcal.mol⁻¹ (**6**) a -301,6 kcal.mol⁻¹ (**8**), mostrando que a interação [NO]⁺ ↔ [Ru(AA⁻)Cl₃]²⁻ é estabilizada pelo *mixing* das interações HOMO-LUMO dos fragmentos interagentes. O termo de troca ΔE^{ex} também exerce grande influência para estabilizar a interação Ru-NO, variando entre -164,3 kcal.mol⁻¹ (**9**) a -175,6 kcal.mol⁻¹ (**4**), mostrando que as interações doados-aceitador interfragmentos também é responsável para estabilizar a interação [NO]⁺ ↔ [Ru(AA⁻)Cl₃]²⁻. O único termo desestabilizador da interação Ru-NO é o termo de repulsão intereletrônica que leva em conta a repulsão de elétrons de mesmo spin entre os fragmentos interagentes, com uma magnitude de +377,2 kcal.mol⁻¹ em média para a série de complexos, contudo sendo mais significativo para o complexo **7** (AA⁻=L-Treonina) com um valor de +394,9 kcal.mol⁻¹. Como pode ser observado não há grande mudanças na magnitude de ΔE^{tot} com a natureza dos AA⁻ para a interação Ru-NO, isto deve-se ao fato que apesarem de serem diferentes, pelos menos em sua nomenclatura, os AA⁻ são estruturalmente muito parecidos diferindo apenas em alguns átomos. Esta pequena diferença dá origem a estruturas eletrônicas muito semelhantes e por conseguinte, é observada uma variação muito pequena na magnitude de ΔE^{tot} e de seus componentes que a modulam. A mesma observação pode ser estendida as outras interações. A interação [AA]⁻ ↔ [(NO)RuCl₃]⁰ é a segunda mais estabilizante como mostra os resultados da Tabela 7.2 e Figura 7.8, apresentando o valor médio de ΔE^{tot} de -130,8 kcal.mol⁻¹. Dentre os diferentes aminoácidos, o complexo **6** com AA⁻=L-serina apresenta o maior valor de ΔE^{tot} (-136,9 kcal.mol⁻¹) na série de complexos, enquanto o menor valor de ΔE^{tot} (-122,4 kcal.mol⁻¹) é atribuído ao complexo **9** (AA⁻=ácido picolínico).

Figura 7.8 – Diferença da energia total de interação, em kcal.mol⁻¹, relativa ao complexo **1**.



Esse menor valor de ΔE^{tot} é diretamente correlacionado com a maior distância de ligação Ru–N1 e aos valores pequenos dos termos ΔE^{orb} (-176,3 kcal.mol⁻¹) e ΔE^{es} (-148,0 kcal.mol⁻¹), no entanto apresenta também um valor reduzido de ΔE^{rep} (+427,54 kcal.mol⁻¹). Em suma, como mostra a Figura 7.8, para os complexos **6-9** ocorre um aumento de ΔE^{tot} , não significativo, maior que 5 kcal.mol⁻¹ quando comparados ao complexo **1**. Nessa fragmentação o termo ΔE^{orb} (-180,0 kcal.mol⁻¹) também é um dos termos principais que controlam a estabilização da interação Ru–(AA⁻), contudo ele é bem menos significativo quanto comparado a interação Ru–NO (-356,1 kcal.mol⁻¹ em média). Por exemplo, para o complexo **1**, a contribuição de ΔE^{orb} é de -175 kcal.mol⁻¹, equivalente a 52% da magnitude de ΔE^{tot} . A atração Coulômbica entre os fragmentos é menos atrativa devido a carga negativa do AA⁻ e o outro fragmento apresentar carga zero, o que torna a contribuição do termo ΔE^{es} bem menos significativa quando comparada aos valores observados para a interação Ru–NO, em média ocorre uma redução de 25% na magnitude de ΔE^{es} (-157,0 kcal.mol⁻¹). Em geral, os termos ΔE^{es} e ΔE^{orb} , possuem magnitudes semelhantes, com uma contribuição média a magnitude de ΔE^{tot} , e portanto na estabilização

da ligação Ru-(AA⁻) de 47 % e 53%, respectivamente. Devido ao maior número de elétrons de mesmo spin entre os fragmentos interagentes, [AA]⁻ e [(NO)RuCl₃]⁰, pode ser observada uma maior magnitude do termo ΔE^{rep} (+442,3 kcal.mol⁻¹ em média), em contrapartida, ocorre um aumento significativo do termo ΔE^{ex} , que varia de -225,5 kcal.mol⁻¹ (**9**) a -239,2 kcal.mol⁻¹ (**5**), em conjunto ambos os termos de repulsão e troca, tornam a magnitude do termo de repulsão de Pauli da interação Ru-(AA⁻) (+206,5 kcal.mol⁻¹ em média) muito próximos aos valores observados para a interação Ru-NO (+204,8 kcal.mol⁻¹ em média).

Como esperado, as interações [Cln=1-3]⁻ ↔ [(NO)Ru(AA⁻)Cl₂]⁰ são as menos estabilizadas no qual o valor médio de ΔE^{tot} para Ru-Cl1, Ru-Cl2 e Ru-Cl3, são -73,0, -73,2 e -72,5 kcal.mol⁻¹, respectivamente. Contudo, esses valores induzem que as interações Ru-Cl1 e Ru-Cl2 sejam mais fortes que a interação Ru-Cl3. Entretanto esta tendência não é verdadeira para todos os complexos na série, como mostra a magnitude de ΔE^{tot} é muito próxima entre os ligantes cloretos. O índice de ligação de Wiberg também confirma que não há correlação entre os diferentes cloretos com a sua contribuição na magnitude de ΔE^{tot} , entretanto, a análise NPA dá suporte ao aumento do termo ΔE^{es} para as interações Ru-Cl2 e Ru-Cl3 quando comparadas com RuCl1, no qual esse aumento é um resultado direto do aumento de carga negativa sobre os átomos Cl2 e Cl3. Por exemplo, para o complexo **1** o termo ΔE^{es} possui as seguintes contribuições na magnitude de ΔE^{tot} : 44,5% para Ru-Cl1 (-0,405 a.u.), 51,8% para Ru-Cl2 (0,492 a.u.) e de 51,3% (-0,488 a.u.) para Ru-Cl3. Mais detalhes sobre a análise NBO serão discutidos na próxima seção. Todavia, as interações Ru-Cln (n=1, 2 e 3) são estabilizadas não somente pelo termo eletrostático mas majoritariamente também pelo termo orbital, que varia entre -97,2 kcal.mol⁻¹ a -102,8 kcal.mol⁻¹ para a interação Ru-Cl1, por exemplo. Essa grande contribuição do termo orbital na magnitude de ΔE^{tot} para as interações entre os fragmentos é esperada já que a interação entre os fragmentos [Cln=1-3]⁻ e [(NO)Ru(AA⁻)Cl₂]⁰ que possuem carga -1 e 0, respectivamente não são estabilizadas efetivamente pelo termo

eletrostático, devido a natureza não atrativa de suas cargas, do ponto de vista Coulômbico clássico. A mesma tendência observada na magnitude de ΔE^{es} também é repetida na contribuição desestabilizadora do termo de repulsão ΔE^{rep} , por exemplo, para o complexo **1**, a magnitude de ΔE^{rep} para a interação Ru–Cl2 e Ru–Cl3 é de +275,4 kcal.mol⁻¹ e +271,6 kcal.mol⁻¹, respectivamente, enquanto para a interação Ru–Cl1 é de +225,6 kcal.mol⁻¹, significativamente menor em aproximadamente 50 kcal.mol⁻¹.

Tabela 7.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ das interações [Cln=1-3]⁻ ↔ [(NO)Ru(AA⁻)Cl₂]⁰ para os complexos **1-9** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{Pauli}	ΔE^{es}	[Cl1] ⁻ ↔ [(NO)Ru(AA ⁻)Cl ₂] ⁰		ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
				ΔE^{orb}	ΔE^{ex}				
1	-74,4	100,8	-77,9	-97,2	-124,8	225,6	-96,0	-2,5	1,2
2	-72,3	101,9	-76,6	-97,6	-126,5	228,3	-96,3	-2,5	1,6
3	-71,6	102,4	-76,1	-97,9	-127,3	229,7	-96,3	-2,4	0,9
4	-69,7	104,9	-75,5	-99,0	-130,3	235,1	-99,0	-2,3	2,2
5	-69,4	108,0	-76,6	-100,9	-134,1	242,1	-100,9	-2,2	2,2
6	-75,6	102,7	-79,7	-98,6	-127,3	230,0	-97,8	-2,3	1,5
7	-76,3	101,6	-79,5	-98,5	-125,5	227,1	-98,5	-2,3	2,4
8	-73,7	104,7	-77,0	-101,4	-130,0	234,6	-103,2	-2,4	4,2
9	-70,6	109,2	-77,0	-102,8	-135,1	244,3	-93,6	-2,4	-6,8
Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{Pauli}	ΔE^{es}	[Cl2] ⁻ ↔ [(NO)Ru(AA ⁻)Cl ₂] ⁰		ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
				ΔE^{orb}	ΔE^{ex}				
1	-73,4	122,4	-101,3	-94,5	-153,0	275,4	-94,0	-3,3	2,8
2	-72,6	119,9	-98,8	-93,8	-151,0	270,9	-92,8	-3,3	2,4
3	-72,8	120,5	-98,2	-95,1	-152,5	273,0	-93,6	-3,7	2,2
4	-69,8	124,2	-95,5	-98,5	-160,3	284,5	-96,8	-4,5	2,8
5	-73,5	119,0	-99,2	-93,3	-151,8	270,7	-90,9	-3	0,6
6	-79,8	133,0	-111,8	-101,0	-174,1	307,1	-97,9	-4,3	1,1
7	-79,3	133,7	-112,2	-100,7	-174,3	307,9	-97,8	-4,2	1,2
8	-73,0	121,8	-96,3	-98,5	-156,2	278,0	-98,7	-4,6	4,7
9	-68,2	115,7	-87,9	-96,1	-145,1	260,8	-89,1	-3,5	-3,5
Complexos	ΔE^{tot}	ΔE^{Pauli}	ΔE^{es}	[Cl3] ⁻ ↔ [(NO)Ru(AA ⁻)Cl ₂] ⁰		ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
				ΔE^{orb}	ΔE^{ex}				
1	-72,4	120,1	-98,8	-93,7	-151,5	271,6	-94,3	-3,9	4,5
2	-72,3	120,4	-97,4	-95,3	-152,6	273,0	-95,3	-4,0	4,0
3	-71,8	120,1	-96,0	-95,9	-152,5	272,6	-95,7	-3,9	3,8
4	-72,7	119,9	-99,3	-93,3	-153,1	273,0	-92,1	-3,6	2,4
5	-70,3	126,0	-96,0	-100,3	-163,9	289,9	-98,2	-4,6	2,4
6	-78,3	121,0	-102,1	-97,2	-152,0	273,0	-97,3	-4,6	3,3
7	-77,6	122,1	-102,3	-97,5	-152,8	274,9	-97,6	-3,5	3,6
8	-74,5	120,2	-99,6	-95,1	-151,6	271,8	-94,5	-3,2	2,7
9	-68,2	115,8	-88,0	-96,0	-145,2	261,0	-89,0	-3,5	-3,5

4.3 NBO

Os resultados do índice de ligação de Wiberg, W_{bi} , que estão dispostos na Tabela 7.4 corroboram com a análise de GKS-EDA, no qual foi vista a significativa magnitude da interação Ru–NO quando comparada com as demais analisadas. Pelos valores de W_{bi} em média de 1,47 u.a. para a ligação Ru–N1 (ligação referente a interação Ru–NO), esta é caracterizada com um caráter intermediário de simples e dupla ligação, enquanto as demais ligações que possuem um valor máximo de 0,61 u.a. são tipicamente interações de camada fechada típicas de complexos de metais de transição. Exceto para a ligação N1–O1 que possui um valor médio de W_{bi} de 1,79 u.a., sendo atribuído então um caráter tipicamente de dupla a essa ligação, que é característica do grupo nitrosonium.

Diferente do que é observado nos resultados de GKS-EDA para a interação Ru–NO, a diferente natureza dos aminoácidos presente nos complexos **1-9** não afeta significativamente a magnitude dos W_{bi} para a interação Ru–NO, todavia para o complexo **9** é observado o menor valor de W_{bi} , 1,459 u.a., em concordância com o menor valor observado de ΔE^{tot} , -347,9 kcal.mol⁻¹ para a interação Ru–NO. Um comportamento oposto é observado para as interações Ru–N2 e Ru–O2, no qual o complexo **9** possui os maiores valores de W_{bi} , 0,424 u.a. e 0,404 u.a., porém o maior valor de ΔE^{tot} para a interação Ru–AA–H, -122,4 kcal.mol⁻¹. Essas diferenças observadas para o complexo **9** podem ser atribuídas a diferente estrutura eletrônica que o ácido picolínico apresenta quando comparada aos aminoácidos, onde o átomo de nitrogênio (N2) apresenta uma hibridização aparente sp² no ácido picolínico enquanto nos AA⁻ a hibridização aparente é sp³. Os resultados dispostos na Tabela 7.4 ainda mostram que não há dependência linear entre os valores de W_{bi} com os resultados obtidos de GKS-EDA devido as flutuações na magnitude de W_{bi} , mesmo antagonicamente, assim como não há como correlacionar os diferentes valores de W_{bi} com a natureza dos aminoácidos para as interações Ru–Cln (n=1, 2 e 3).

Tabela 7.4 – Índice de ligação de Wiberg (W_{bi}), para os complexos **1-9**, obtidos da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Complexos	Ru–N1	N1–O1	Ru–N2	Ru–O2	Ru–Cl1	Ru–Cl2	Ru–Cl3
1	1,474	1,795	0,412	0,368	0,485	0,494	0,601
2	1,474	1,792	0,412	0,371	0,481	0,497	0,598
3	1,475	1,795	0,409	0,370	0,498	0,598	0,480
4	1,469	1,787	0,413	0,362	0,499	0,602	0,474
5	1,469	1,791	0,414	0,359	0,465	0,505	0,602
6	1,462	1,830	0,418	0,373	0,460	0,596	0,508
7	1,461	1,791	0,424	0,370	0,508	0,458	0,601
8	1,471	1,787	0,408	0,364	0,503	0,475	0,611
9	1,459	1,809	0,424	0,404	0,593	0,493	0,493

A análise de cargas do módulo NPA para os complexos **1-9**, Tabela 7.5 permite estabelecer a direção da transferência de carga entre os fragmentos interagentes assim como estabelecer uma correlação com a magnitude de ΔE^{es} da análise prévia de GKS-EDA. Como pode ser observado na Tabela 7.5 o centro metálico de Ru(II) recebe grande parte da carga negativa dos ligantes presentes na sua esfera de coordenação principalmente do ligante AA–H (-1 u.a.) que perde em cerca de 60% (**9**) a 70% de sua carga intrínseca.¹ Os ligantes cloreto (-1 u.a.), todavia, participam com 50% a 60%, não sendo possível também discriminar um comportamento entre os diferentes cloretos, Cl_n (n=1, 2 e 3), muito menos entre a série de complexos **1-9**, como também foi observado no comportamento de W_{bi} .

¹ As porcentagens são calculadas através da diferença entre a carga formal esperada e a apresentada na Tabela 7.5.

Tabela 7.5 – Cargas do módulo NPA (em u.a.), para os complexos **1-9**, obtidas da análise NBO com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

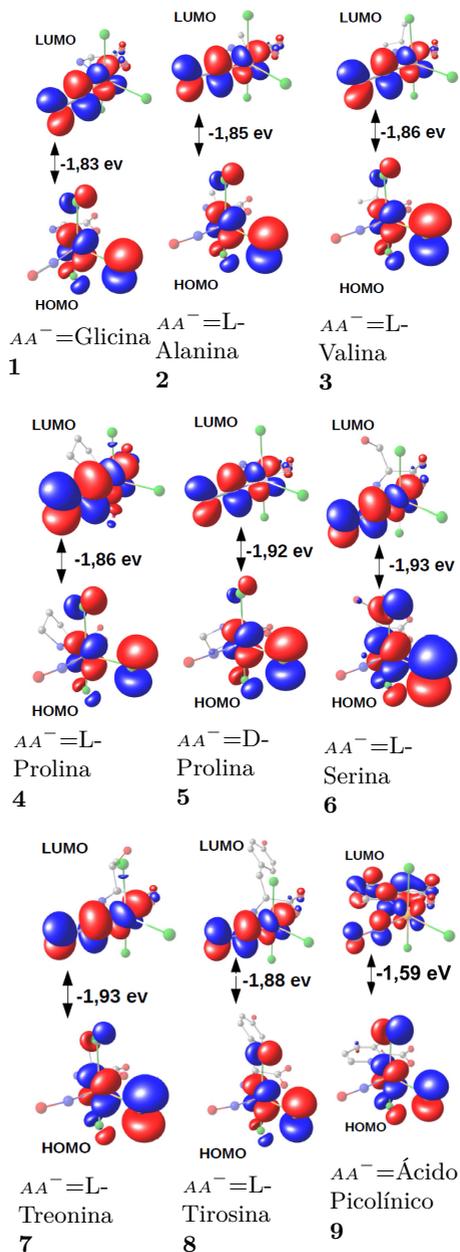
Complexos	Ru	NO	AA ⁻	C11	C12	C13
1	0,588	0,071	-0,271	-0,488	-0,492	-0,408
2	0,589	0,067	-0,274	-0,490	-0,485	-0,407
3	0,587	0,073	-0,283	-0,483	-0,407	-0,487
4	0,589	0,058	-0,277	-0,476	-0,399	-0,495
5	0,584	0,065	-0,298	-0,487	-0,468	-0,396
6	0,583	0,073	-0,319	-0,465	-0,404	-0,468
7	0,591	0,061	-0,304	-0,472	-0,474	-0,402
8	0,586	0,059	-0,297	-0,473	-0,485	-0,390
9	0,604	0,086	-0,378	-0,382	-0,465	-0,465

Contudo, nota-se que os grupos NO⁺ apresentam, no entanto, cargas nulas, indicando a ocorrência da retrodoação do centro metálico de rutênio para o mesmo, que é bem característica em nitrosilo complexos de rutênio e ocorre entre os orbitais *d* do átomo de rutênio para os orbitais π^* do ligante nitrosonium, conferindo estabilidade a interação Ru–NO. Os maiores valores positivos, porém não tão significantes, da carga para o átomo de rutênio (0,604 u.a.) e para ligante nitrosonium (0,086 u.a.) no complexo **9** sugere que a contribuição do termo eletrostático seja menos estabilizante quando comparada aos demais complexos, de fato o é, o complexo **9** possui a menor magnitude de ΔE^{es} para a interação Ru–NO, -192,10 kcal.mol⁻¹.

A análise dos orbitais de fronteira HOMO-LUMO assim como o *gap* entre eles para os complexos **1-9**, Figura 7.9, condizem com os resultados anteriores, no qual a diferente natureza do aminoácidos não modifica efetivamente a estrutura eletrônica dos complexos, o que reflete também na modulação insignificativa da magnitude do *gap* HOMO-LUMO, que sofre uma pequena variação de -1,59 ev (**9**) a -1,93 ev (**6**).

Os valores mais negativos de *gap* para os complexos **1** a **8** são atribuídos aos menores níveis de energia para os orbitais HOMO (menos

Figura 7.9 – Orbitais de fronteira HOMO-LUMO (corte de 0,05) e o *gap* entre eles para os complexos **1-9** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização.



negativos). Para a maioria dos complexos é formado pela combinação linear dos orbitais atômicos d do átomo de rutênio com os orbitais p dos ligantes cloreto. Enquanto, os orbitais LUMO possuem uma menor energia (mais positivos) e são formados essencialmente pela *LCAO* (*Linear Combination of Atomic Orbitals*) dos orbitais d do átomo de rutênio com orbitais π^* do ligante NO, o que confere uma maior estabilidade a esses complexos quando comparados ao complexo **9**. Ao complexo **9** está associado um *gap* de -1,59 eV, conferindo a este uma maior reatividade provinda do maior estabilização da energia de ambos HOMO (-1,86 eV) e LUMO (-0,27 eV), no qual este último é formado não somente pela LCAO dos átomos de rutênio e NO mas também pela contribuição efetiva dos átomos N2; principalmente dos orbitais p ; e O2 do ácido picolínico.

4.4 Docking Molecular

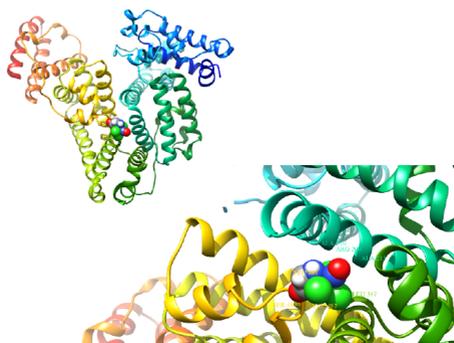
Como mostram os resultados de DM dispostos na Tabela 7.6 e Figura ??, a interação dos complexos **1-9** com a *HSA* é significativamente afetada devido à natureza dos aminoácidos, no qual a menor energia de interação para a configuração 1 foi de $-5,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para o complexo **6** ($\text{AA}^- = \text{L-serina}$), enquanto o maior valor encontrado foi de $-7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ para o complexo **9** ($\text{AA}^- = \text{ácido picolínico}$).

Tabela 7.6 – Análise de docking e parâmetros selecionados para os modos mais estáveis dos complexos 1-9.

Complexos	Modos	Afinidade (kcal.mol ⁻¹)	RMSD do modo I (Å)	Sítio Ativo	Resíduos Próximos
1	1	-5,8	0	IB e IIB	ALA210-ALA213-LEU437
	2	-5,4	2,75/4,37	IIB	ARG209-LEU347-ALA-482
	3	-5,0	20,72/21,45	“Sudlow I”	TYR150-LYS195-ALA291
	4	-5,0	25,10/26,16	IIIa e IB	VAL418-VAL469
	5	-5,0	37,12/37,91	IA e IIA	ALA21-LEU135-ALA158
2	1	-6,4	0	IB e IIB	PHE206-ALA213-VAL482
	2	-6,6	2,99/4,65	IIB	ARG209-LEU347-VAL482
	3	-5,6	1,90/2,41	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
	4	-5,5	40,59/41,61	IA e IIA	VAL46-LYS73
3	1	-6,5	0	IB e IIB	PHE206-LEU347-VAL482
	2	-6,2	3,01/4,46	IIB	ARG209-LEU347-VAL482
	3	-6,1	25,04/ 25,96	IIIa e IB	VAL418-VAL469
4	1	-6,1	18,53/19,32	IIB	TYR150-ARG222 ALA291
	2	-6,0	38,08/38,97	IIB	PHE206-LYS351-VAL482
	3	-5,9	2,93/4,50	IA	GLU17-ALA21-LEU139
	4	-6,6	0	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
5	1	-6,6	0	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
	2	-6,6	2,75/4,55	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
	3	-6,3	2,81/3,68	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
6	1	-5,3	0	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
	2	-5,2	2,41/2,54	IIB	PHE206-LYS351-VAL482
	3	-5,2	2,86/4,84	IIB	PHE206-LYS351-VAL482
7	1	-5,5	0	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
	2	-5,1	2,95/4,40	IIB	ARG209-LYS351-VAL482
8	1	-5,1	25,64/26,54	IIIa e IB	VAL418-VAL469
	2	-6,4	19,49/20,94	IIB	PHE206-LEU331-VAL482
	3	-6,1	2,243/2,77	IA	LYS195-LYS436-VAL455
9	1	-7,5	0	IIB	LYS205- LEU327-VAL482
	2	-6,9	2,87/4,74	IIB	PHE206-LYS351-VAL482
	3	-6,7	3,76/4,80	IIB	PHE206-LYS351-VAL482
	4	-6,7	37,50/38,16	IA e IIA	ALA21-GLU132-LYS162

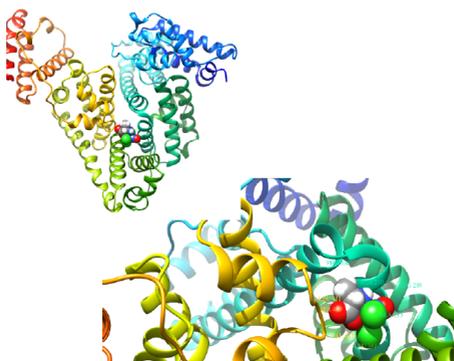
*desvio médio padrão relativo ao modo I da ligação acima (ub) e da ligação abaixo (lb).

Figura 7.10 – Representações do modo 1 do *docking* molecular dos complexos **1-9** com a *HSA*.



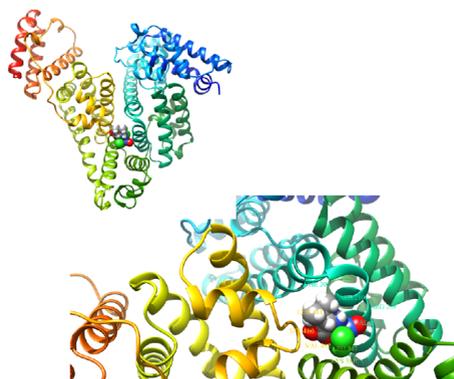
AA^- = Glicina

1



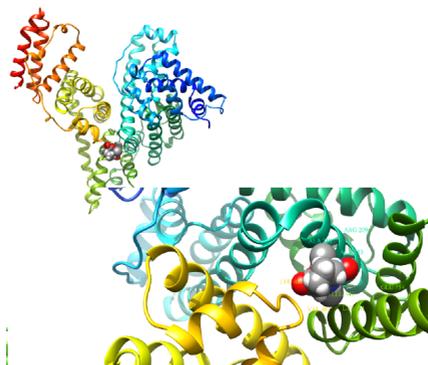
AA^- = L-Alanina

2

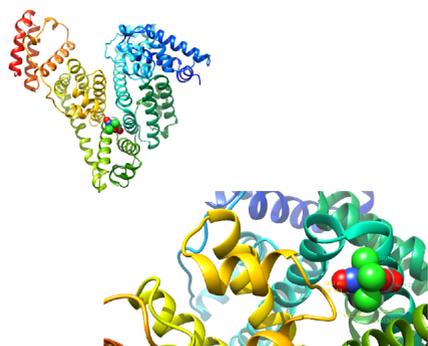


AA^- = L-Valina

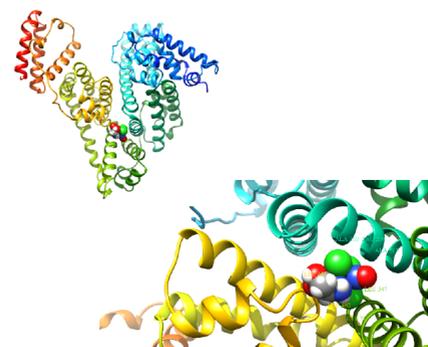
3

 $AA^- = \text{L-Prolina}$

4

 $AA^- = \text{D-Prolina}$

5

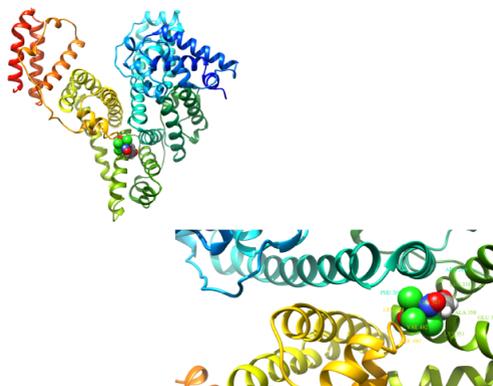
 $AA^- = \text{L-Serina}$

6



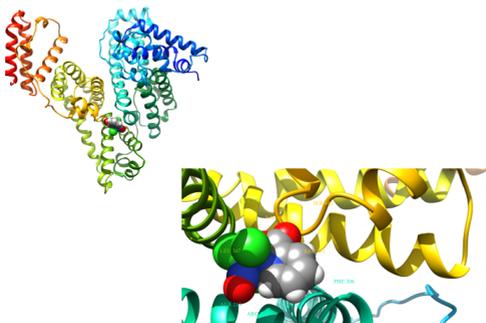
$AA^- = \text{Treonina}$

7



$AA^- = \text{Tirosina}$

8

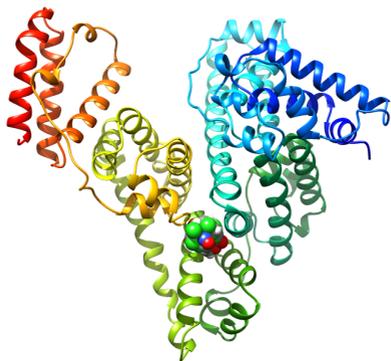


$AA^- = \text{Ácido Picolínico}$

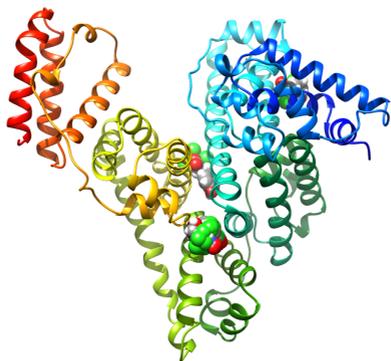
9

Pela análise de docking molecular, a *HSA* apresenta três sítios ativos principais ou domínios para a série de complexos **1-9**, como mostra a Figura 7.13, no qual para todos os complexos a configuração ou modo mais estável 1 ocorre entre os aminoácidos PHE206 e VAL482, mudando apenas como estes complexos estão orientados no sítio ativo da proteína, que corresponde as regiões entre IB e IIB, ou somente nesta última. O segundo modo mais estável também ocorre no domínio IIB próxima aos aminoácidos PHE206 e VAL482, exceto para os complexos **4** e **8**, nos quais estão no domínio IA e localizados entre os resíduos de aminoácidos GLU17-LEU139 e LYS195-VAL455, respectivamente.

Figura 7.13 – Representações dos modos 1 e 2 do *docking* molecular para os complexos **1-9** com a *HSA*.



Modo
1

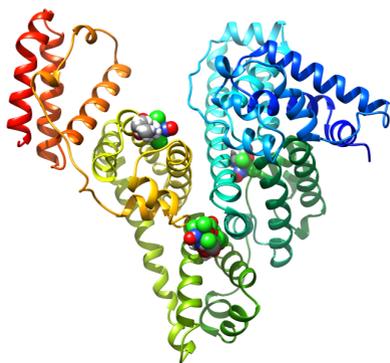


Modo
2

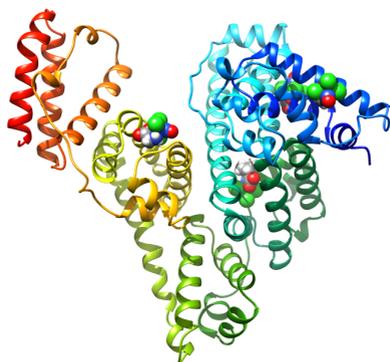
No entanto, exceto para os complexos **1**, **3** e **7** a terceira configuração mais estável apresenta o mesmo sítio ativo que a primeira, porém dois novos sítios ativos são observados, o primeiro localizado entre os domínios IIIA e IB, próximo aos resíduos VAL418-469 para os complexos **3** e **7**, e o segundo no "sudlow I", onde está localizado o complexo **1** que está próximo aos resíduos TYR150-ALA291, Figura 7.14

.

Figura 7.14 – Representações dos modos 3 e 4 do *docking* molecular para os complexos 1-9 com a HSA.



Modo
3

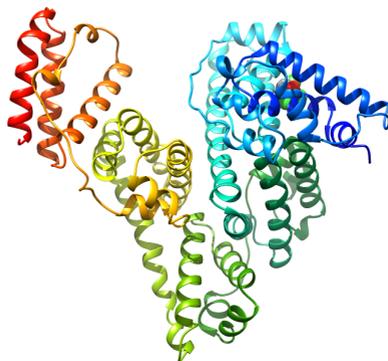


Modo
4

Além disso, os complexos 1-3 e 9 apresentam um quarto modo com a mesma energia que o terceiro, todavia os sítios ativos que esses se encontram são diferentes entre si, como mostra a Figura 7.14, o complexo 1 está localizado na região entre os domínios IIA e IB, já os complexos 2 e 9 estão localizados entre as regiões IA e IIA, enquanto o

complexo **3** está no "sudlow I". A configuração 5, atribuída unicamente ao complexo **1**, está orientada entre os domínios IA e IIA, como mostra a Figura 7.15.

Figura 7.15 – Representação do modo 5 do docking molecular para o complexo **1** com a *HSA*.



Modo
5

Os resultados também sugerem que a estabilidade da configuração 1 para os complexos **1-3** e **9** está associada a formação de ligação hidrogênio, nos quais duas ligações de hidrogênio são formadas, uma entre o átomo de H do grupo NH da ARG, atuando como doador, com o átomo de O do aminoácido do ligante, atuando como receptor. A segunda ligação de hidrogênio ocorre entre o átomo de H do grupo NH da valina com o átomo de O do aminoácido. No entanto, como pode ser observado na Tabela 7.7, outros aminoácidos também são responsáveis pela formação de ligação hidrogênio como a LYS e SER. O complexo **9** apresenta duas ligações de hidrogênio para ambas configurações 1 e 2, enquanto para as configurações 3 e 4 não há evidência de ligação de hidrogênio. O complexo **3** é o único complexo que apresenta pelo menos uma ligação de hidrogênio para cada configuração ao contrário do complexo **4** em que não há evidência de formação de ligação de

hidrogênio.

Tabela 7.7 – Ligações de hidrogênio (Å), para os três modos mais estáveis dos sistema *HSA*/complexos, obtidas da análise pós-docking.

Complexos	Modos	Ligação de Hidrogênio	
		Doador-H(X) →	Receptor(Y) R(XY) R(Y...H)
1	1	ARG209 NH1(HH1) →	LIG O 2,80 2,02 VAL482 N(H) → LIG O 2,93 1,98
	2	VAL482 N(H) →	LIG O 2,89 1,93
	3	LYS199 NZ(HZ1) →	LIG O 2,86 2,12
	4	SER419 N(H) →	LIG O 2,84 1,83
2	1	ARG209 NH1(HH1) →	LIG O 2,80 2,04 VAL482 N(H) → LIG O 2,95 2,01
	2	VAL482 N(H) →	LIG O 2,80 1,85
	3		
	4	LYS64 NZ(HZ1) →	LIG O 3,01 2,21
3	1	VAL482 N(H) →	LIG O 3,09 2,13 ARG209 NH1(HH11) → LIG O 2,80 2,06
	2	VAL482 N(H) →	LIG O 2,80 1,88
	3	SER419 N(H) →	LIG O 2,95 1,96
	4	ARG218 NH2(HH21) →	LIG O 3,00 2,24
4	1	Não foi observado ligação de hidrogênio	
	2		
	3		
5	1		
	2	ARG209 NH1(HH11) →	LIG O 2,80 2,01 VAL482 N(H) → LIG O 2,94 1,98
6	1		
	2	VAL482 N(H) →	LIG O 3,00 2,08
	3	VAL482 N(H) →	LIG O 2,80 1,81
7	1	VAL482 N(H) →	LIG O 3,09 2,12
	2	VAL482 N(H) →	LIG O 2,85 1,92
	3	SER419 N(H) →	LIG O 2,95 1,95
8	1	VAL482 N(H) →	LIG O 3,09 2,13
	2		
	3		
9	1	ARG209 NH1(HH11) →	LIG O 2,80 2,02 VAL482 N(H) → LIG O 2,97 2,00
	2	ARG209 NH1(HH11) →	LIG O 3,09 2,18 LEU481 N(H) → LIG O 3,30 2,41
	3		
4	1		
	2		

5 Conclusões

Os resultados mostram que a natureza dos diferentes aminoácidos no complexo não afetam a interação $[\text{NO}]^+ \leftrightarrow [\text{Ru}(\text{AA}^-)\text{Cl}_3]^{2-}$, nos quais os termos orbital e eletrostático são os maiores contribuintes para modular a magnitude da energia total de interação para a interação Ru–NO. Dentro da série de complexos, o complexo **9** ($\text{AA}^- =$ ácido picolínico) apresenta o menor valor de ΔE^{tot} ($-347,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$), o que sugere que esse complexo deva liberar o ligante NO mais facilmente que os aminoácidos carregados. Entretanto pela análise de NBO, o mesmo apresenta o menor *gap* HOMO-LUMO ($-1,59 \text{ eV}$) e portanto é o menos estável quando comparado aos demais complexos que apresentam o ligante AA^- com hibridização sp^3 ao invés de sp^2 .

Na série de complexo **1-9**, a ligação Ru–NO possui caráter predominantemente covalente devido a contribuição do termo orbital ΔE^{orb} (62% em média) a magnitude da energia total de interação ser quase duas vezes maior que a contribuição do termo eletrostático ΔE^{es} (37% em média).

A natureza da interação $[\text{AA}]^- \leftrightarrow [(\text{NO})\text{RuCl}_3]^0$ foi bem definida entre um caráter eletrostático e covalente, nos quais ambos os termos ΔE^{orb} e ΔE^{es} competem para modular os valores de ΔE^{tot} , esses termos possuem entre si uma pequena diferença energética, cerca de 6% em média, em suas magnitudes.

Uma pequena variação na magnitude de ΔE^{tot} para as interações $[\text{Cln}]^- \leftrightarrow [(\text{NO})\text{Ru}(\text{AA}^-)\text{Cl}_2]^0$ com $n=1, 2, \text{ e } 3$, também foram observados. Contudo, a magnitude de ΔE^{tot} é modulada principalmente pela contribuição de ΔE^{es} , conferindo a essas interações um caráter predominantemente eletrostático.

Apesar dos resultados GKS-EDA sugerirem que o uso de aminoácidos como ligantes em nitrosilo complexos de rutênio não são a melhor escolha para modular a interação Ru–NO, os resultados de docking molecular mostraram serem mais sensíveis a natureza dos aminoácidos,

já que a interação desses complexos com a *HSA* são bem distintas em magnitude, variando entre $-5,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Contudo, os domínios da interação ocorrem preferencialmente na região IIB. Entretanto, diferente do que acontece na análise de GKS-EDA, o complexo **9** apresenta a maior energia de interação com *HSA* para as três primeiras configurações mais estáveis ($-6,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$ a $-7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$), no qual tal estabilidade, comparada com os demais complexos, é assistida pela formação de ligações de hidrogênio.

Em conjunto, os resultados convergem para a irrelevância da influência da natureza dos AA^- em nitrosilo complexos de rutênio e que justamente o complexo **9** no qual o ligante é o ácido picolínico e não um AA^- , é o complexo que supostamente deva liberar mais facilmente NO e interagir mais fortemente com o *HSA*.

Referências

- 1 KITAURA, K.; MOROKUMA, K. A new energy decomposition scheme for molecular interactions within the Hartree-Fock approximation. *International Journal of Quantum Chemistry*, v. 10, n. 2, p. 325–340, 1976.
- 2 BRINDELL, M. et al. Light-induced anticancer activity of [RuCl₂(DMSO)₄] complexes. *J. Med. Chem.*, v. 48, n. 23, p. 7298–7304, nov. 2005. ISSN 0022-2623.
- 3 RATHGEB, A. et al. Ruthenium-nitrosyl complexes with glycine, L-alanine, L-valine, L-proline, D-proline, L-serine, L-threonine, and L-tyrosine: Synthesis, X-ray diffraction structures, spectroscopic and electrochemical properties, and antiproliferative activity. *Inorg. Chem.*, v. 53, n. 5, p. 2718–2729, 2014.
- 4 ROSENBERG, B.; CAMP, L. V.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature*, v. 205, n. 4972, p. 698–699, fev. 1965. ISSN 0028-0836. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/205698a0>>.
- 5 MCCLEVERTY, J. A. Iron, ruthenium, and osmium annual survey covering the year 1971. *Journal of Organometallic Chemistry*, v. 48, n. 1, p. 351–433, fev. 1973. ISSN 0022-328X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022328X00879589>>.
- 6 PRANEETH, V. K. K. et al. Electronic Structure of Six-Coordinate Iron(III)Porphyrin NO Adducts: The Elusive Iron(III)NO(radical) State and Its Influence on the Properties of These Complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 130, n. 46, p. 15288–15303, nov. 2008. ISSN 0002-7863. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ja801860u>>.
- 7 BRATSOS, I. et al. Ruthenium Anticancer Compounds: Challenges and Expectations. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, v. 61, n. 11, p. 692–697, nov. 2007.
- 8 LEVINA, A.; MITRA, A.; LAY, P. a. Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics*, v. 1, n. 6, p. 458–470, 2009.

- 9 AZZELLINI, M. A. A. et al. Interactions of di-imine copper(II) complexes with albumin: competitive equilibria, promoted oxidative damage and DFT studies. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 21, n. 7, p. 1303–1317, 2010. ISSN 0103-5053. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-50532010000700018&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.
- 10 SPEELMAN, A. L.; LEHNERT, N. Heme versus non-heme iron-nitroxyl {FeN(H)O} complexes: electronic structure and biologically relevant reactivity. *Acc. Chem. Res.*, v. 47, n. 4, p. 1106–1116, abr. 2014. ISSN 1520-4898.
- 11 WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.*, v. 99, n. 9, p. 2451–2466, set. 1999. ISSN 1520-6890.
- 12 BACAC, M. et al. The hydrolysis of the anti-cancer ruthenium complex NAMI-A affects its DNA binding and antimetastatic activity: an NMR evaluation. *J. Inorg. Biochem.*, v. 98, n. 2, p. 402–412, fev. 2004. ISSN 0162-0134.
- 13 PLUIM, D. et al. Cytotoxicity of the organic ruthenium anticancer drug Nami-A is correlated with DNA binding in four different human tumor cell lines. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, v. 54, n. 1, p. 71–78, jul. 2004. ISSN 0344-5704.
- 14 ALESSIO, E. et al. Ruthenium antimetastatic agents. *Curr Top Med Chem*, v. 4, n. 15, p. 1525–1535, 2004. ISSN 1568-0266.
- 15 PIZARRO, A. M.; SADLER, P. J. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. *Biochimie*, v. 91, n. 10, p. 1198–1211, out. 2009. ISSN 1638-6183.
- 16 ANTONARAKIS, E. S.; EMADI, A. Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time? *Cancer Chemother. Pharmacol.*, v. 66, n. 1, p. 1–9, maio 2010. ISSN 1432-0843.
- 17 BERGAMO, A. et al. In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 104, n. 1, p. 79–86, jan. 2010. ISSN 01620134. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013409002530>>.

- 18 BERGAMO, A.; SAVA, G. Ruthenium anticancer compounds: myths and realities of the emerging metal-based drugs. *Dalton Trans.*, v. 40, n. 31, p. 7817–7823, ago. 2011. ISSN 1477-9234.
- 19 BÉCOUARN, Y. et al. Phase II trial of oxaliplatin as first-line chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. Digestive Group of French Federation of Cancer Centers. *J. Clin. Oncol.*, v. 16, n. 8, p. 2739–2744, ago. 1998. ISSN 0732-183X.
- 20 GRAHAM, J.; MUHSIN, M.; KIRKPATRICK, P. Oxaliplatin. *Nat Rev Drug Discov*, v. 3, n. 1, p. 11–12, jan. 2004. ISSN 1474-1776. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrd/journal/v3/n1/full/nrd1287.html>>.
- 21 GIACCONE, G. Clinical perspectives on platinum resistance. *Drugs*, v. 59 Suppl 4, p. 9–17; discussion 37–38, 2000. ISSN 0012-6667.
- 22 OLIVER, R. et al. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial. *The Lancet*, v. 366, n. 9482, p. 293–300, jul. 2005. ISSN 0140-6736. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014067360566984X>>.
- 23 WHEATE, N. J. et al. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. *Dalton Trans.*, v. 39, n. 35, p. 8113–8127, ago. 2010. ISSN 1477-9234. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/dt/c0dt00292e>>.
- 24 GRAMONT, A. de et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.*, v. 18, n. 16, p. 2938–2947, ago. 2000. ISSN 0732-183X.
- 25 HONG, Y. S. et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus fluorouracil and leucovorin as adjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer after preoperative chemoradiotherapy (ADORE): an open-label, multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.*, v. 15, n. 11, p. 1245–1253, out. 2014. ISSN 1474-5488.
- 26 BERGAMO, A.; SAVA, G. Linking the future of anticancer metal-complexes to the therapy of tumour metastases. *Chem Soc Rev*, v. 44, n. 24, p. 8818–8835, dez. 2015. ISSN 1460-4744.
- 27 ABID, M.; SHAMSI, F.; AZAM, A. Ruthenium Complexes: An Emerging Ground to the Development of Metallopharmaceuticals for

Cancer Therapy. *Mini Rev Med Chem*, v. 16, n. 10, p. 772–786, 2016. ISSN 1875-5607.

28 LAZAREVIĆ, T.; RILAK, A.; BUGARĀIĆ, D. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *Eur J Med Chem*, v. 142, p. 8–31, dez. 2017. ISSN 1768-3254.

29 PALMER, B. D. et al. Hypoxia-selective antitumor agents. 3. Relationships between structure and cytotoxicity against cultured tumor cells for substituted N,N-bis(2-chloroethyl)anilines. *J. Med. Chem.*, v. 33, n. 1, p. 112–121, jan. 1990. ISSN 0022-2623.

30 GIANFERRARA, T.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E. A categorization of metal anticancer compounds based on their mode of action. *Dalton Trans*, n. 37, p. 7588–7598, out. 2009. ISSN 1477-9234.

31 COLUCCIA, M. et al. Efficacy of 5-FU Combined to Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im], A Novel Selective Antimetastatic Agent, on the Survival Time of Mice With P388 Leukemia, P388/DDP subline and MCa Mammary Carcinoma. *Met Based Drugs*, v. 2, n. 4, p. 195–199, 1995. ISSN 0793-0291. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2364973/>>.

32 LEVINA, A.; MITRA, A.; LAY, P. A. Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics*, v. 1, n. 6, p. 458–470, nov. 2009. ISSN 1756-591X.

33 CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 236, n. 1–2, p. 209–233, jan. 2003. ISSN 0010-8545. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854502003120>>.

34 333 THE STY, . U. K. S. R. H. S. A. . . B. P. L. *Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects*. 2001. Disponível em: <<http://www.technology.matthey.com/article/45/2/62-69/>>.

35 ALESSIO, E. Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective: Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective. *European Journal of Inorganic Chemistry*, v. 2017, n. 12, p. 1549–1560, mar. 2017. ISSN 14341948. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ejic.201600986>>.

- 36 LIU, P. et al. Recent Advances on Dark and Light-Activated Cytotoxicity of Imidazole-Containing Ruthenium Complexes. *Mini Rev Med Chem*, v. 16, n. 4, p. 272–289, 2016. ISSN 1875-5607.
- 37 LEVINA, A.; LAY, P. A. Influence of an anti-metastatic ruthenium(III) prodrug on extracellular protein–protein interactions: studies by bio-layer interferometry. *Inorg. Chem. Front.*, v. 1, n. 1, p. 44–48, jan. 2014. ISSN 2052-1553. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/qi/c3qi00054k>>.
- 38 SULYOK, M. et al. Two dimensional separation schemes for investigation of the interaction of an anticancer ruthenium(III) compound with plasma proteins. *J. Anal. At. Spectrom.*, v. 20, n. 9, p. 856–863, ago. 2005. ISSN 1364-5544. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2005/ja/b508060f>>.
- 39 BRABEC, V.; NOVAKOVA, O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resistance Updates*, v. 9, n. 3, p. 111–122, jun. 2006. ISSN 13687646. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1368764606000252>>.
- 40 BERGAMO, A. et al. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. *J. Inorg. Biochem.*, v. 106, n. 1, p. 90–99, jan. 2012. ISSN 1873-3344.
- 41 CRUL, M. et al. DNA-based drug interactions of cisplatin. *Cancer Treat. Rev.*, v. 28, n. 6, p. 291–303, dez. 2002. ISSN 0305-7372.
- 42 GILL, M. R.; THOMAS, J. A. Ruthenium(II) polypyridyl complexes and DNA—from structural probes to cellular imaging and therapeutics. *Chem Soc Rev*, v. 41, n. 8, p. 3179–3192, abr. 2012. ISSN 1460-4744.
- 43 MESTRONI, G. et al. Water-Soluble Ruthenium(III)-Dimethyl Sulfoxide Complexes: Chemical Behaviour and Pharmaceutical Properties. *Met Based Drugs*, v. 1, n. 1, p. 41–63, 1994. ISSN 0793-0291. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2364872/>>.
- 44 ROSE, M. J.; MASCHARAK, P. K. Photoactive Ruthenium Nitrosyls: Effects of Light and Potential Application as NO Donors. *Coord Chem Rev*, v. 252, n. 18-20, p. 2093–2114, out. 2008. ISSN 0010-8545.

- 45 DOLMANS, D. E. J. G. J.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. K. Photodynamic therapy for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, v. 3, n. 5, p. 380–387, maio 2003. ISSN 1474-175X.
- 46 BRABEC, V.; NOVÁKOVÁ, O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resist. Updat.*, v. 9, n. 3, p. 111–122, 2006.
- 47 SAVA, G. et al. Antineoplastic activity and toxicity of an organometallic complex of ruthenium(II) in comparison with cis-PDD in mice bearing solid malignant neoplasms. *Eur J Cancer Clin Oncol*, v. 20, n. 6, p. 841–847, jun. 1984. ISSN 0277-5379.
- 48 SAVA, G. et al. Antitumour properties of dimethylsulphoxide ruthenium (II) complexes in the Lewis lung carcinoma system. *Pharmacol. Res.*, v. 21, n. 5, p. 617–628, out. 1989. ISSN 1043-6618.
- 49 SAVA, G. et al. Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im], a metal complex of ruthenium with antimetastatic properties. *Clin. Exp. Metastasis*, v. 10, n. 4, p. 273–280, jul. 1992. ISSN 0262-0898.
- 50 PILLOZZI, S. et al. NAMI-A is highly cytotoxic toward leukaemia cell lines: evidence of inhibition of KCa 3.1 channels. *Dalton Trans*, v. 43, n. 32, p. 12150–12155, ago. 2014. ISSN 1477-9234.
- 51 SAVA, G. et al. Actin-dependent tumour cell adhesion after short-term exposure to the antimetastasis ruthenium complex NAMI-A. *Eur. J. Cancer*, v. 40, n. 9, p. 1383–1396, jun. 2004. ISSN 0959-8049.
- 52 GARZON, F. T. et al. Comparative antitumor activity of ruthenium derivatives with 5'-deoxy-5-fluorouridine in chemically induced colorectal tumors in SD rats. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, v. 19, n. 4, p. 347–349, 1987. ISSN 0344-5704.
- 53 SAVA, G. et al. Influence of chemical stability on the activity of the antimetastasis ruthenium compound NAMI-A. *Eur. J. Cancer*, v. 38, n. 3, p. 427–435, fev. 2002. ISSN 0959-8049.
- 54 KEPPLER, B. K.; RUPP, W. Antitumor activity of imidazolium-bisimidazole-tetrachlororuthenate (III). A representative of a new class of inorganic antitumor agents. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, v. 111, n. 2, p. 166–168, 1986. ISSN 0171-5216.

- 55 KEPPLER, B. K. et al. Synthesis, molecular structure, and tumor-inhibiting properties of imidazolium trans-bis(imidazole)tetrachlororuthenate(III) and its methyl-substituted derivatives. *Inorg. Chem.*, v. 26, n. 26, p. 4366–4370, dez. 1987. ISSN 0020-1669. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ic00273a018>>.
- 56 HARTINGER, C. et al. KP1019, A New Redox-Active Anticancer Agent – Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients. *Chemistry & Biodiversity*, v. 5, n. 10, p. 2140–2155, out. 2008. ISSN 1612-1880. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200890195/abstract>>.
- 57 HARTINGER, C. G. et al. From bench to bedside – preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1h-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14a). *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 100, n. 5–6, p. 891–904, maio 2006. ISSN 0162-0134. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0162013406000754>>.
- 58 TRONDL, R. et al. NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application. *Chemical Science*, v. 5, n. 8, p. 2925–2932, 2014. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2014/SC/C3SC53243G>>.
- 59 MORBIDELLI, L. et al. Antiangiogenic properties of selected ruthenium(III) complexes that are nitric oxide scavengers. *Br. J. Cancer*, v. 88, n. 9, p. 1484–1491, maio 2003. ISSN 0007-0920.
- 60 TFOUNI, E. et al. Biological activity of ruthenium nitrosyl complexes. *Nitric Oxide*, v. 26, n. 1, p. 38–53, jan. 2012. ISSN 1089-8611.
- 61 GIGLMEIER, H. et al. Nitric-oxide photorelease and photoinduced linkage isomerism on solid [Ru(NO)(terpy)(L)]BPh₄ (L = glycolate dianion). *Dalton Trans*, n. 42, p. 9113–9116, nov. 2009. ISSN 1477-9234.
- 62 OLIVEIRA, F. d. S. et al. Nitrosyl ruthenium complex as nitric oxide delivery agent: synthesis, characterization and photochemical properties. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 7, n. 2, p. 160–164, fev. 2004. ISSN 1387-7003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387700303003757>>.
- 63 ROSE, M. J.; MASCHARAK, P. K. Photoactive Ruthenium Nitrosyls: Effects of Light and Potential Application as NO Donors. *Coord. Chem. Rev.*, v. 252, n. 18-20, p. 2093–2114, 2008.

- 64 PALMER, R. M. J.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, v. 327, n. 6122, p. 524–526, jun. 1987. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v327/n6122/abs/327524a0.html>>.
- 65 IGNARRO, L. Endothelium-derived and properties nitric oxide : actions. *FASEB J.*, v. 3, n. 1, p. 31–36, 1989.
- 66 IGNARRO, L. J. et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 84, n. 24, p. 9265–9269, 1987.
- 67 LOW, S. Y. Application of pharmaceuticals to nitric oxide. *Mol. Aspects Med.*, v. 26, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 97–138, 2005.
- 68 WINK, D. a.; MITCHELL, J. B. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 25, n. 4-5, p. 434–456, 1998.
- 69 FUKUMURA, D.; KASHIWAGI, S.; JAIN, R. K. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer*, v. 6, n. 7, p. 521–534, jul. 2006. ISSN 1474-175X.
- 70 FLITNEY, F. W. et al. Antitumor Actions of Ruthenium(III)-Based Nitric Oxide Scavengers and Nitric Oxide Synthase Inhibitors. *Mol Cancer Ther.*, v. 10, n. 9, p. 1571–1580, set. 2011. ISSN 1535-7163, 1538-8514. Disponível em: <<http://mct.aacrjournals.org/content/10/9/1571>>.
- 71 SILVA, F. O. et al. Mechanism and biological implications of the NO release of cis-[Ru(bpy)2l(NO)]n+ complexes: A key role of physiological thiols. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 105, n. 5, p. 624–629, maio 2011. ISSN 01620134. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0162013411000328>>.
- 72 TFOUNI, E. et al. Ru(II) and Ru(III) complexes with cyclam and related species. *Coord. Chem. Rev.*, v. 249, n. 3-4 SPEC. ISS., p. 405–418, 2005.
- 73 SERLI, B. et al. Coordination and release of NO by ruthenium–dimethylsulfoxide complexes—implications for antimetastases activity. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 245, n. 1–2, p. 73–83, out. 2003. ISSN 0010-8545. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854503000560>>.

- 74 OLIVEIRA, R. S. de et al. A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin. *Polyhedron*, v. 114, p. 232–241, ago. 2016. ISSN 0277-5387. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538715007792>>.
- 75 ANDRIANI, K. F. et al. The influence of l ligands on the RuNO₆/7 bonding situation in cis-[ru(no)(no₂)l₁₋₄]q complexes: a theoretical insight. *RSC Adv.*, v. 5, p. 69057–69066, 2015.
- 76 ANDRIANI, K. F. et al. The influence of L ligands on the {RuNO₆/7 bonding situation in cis-[Ru(NO)(NO₂)L₁₋₄]q complexes: a theoretical insight. *RSC Adv.*, v. 5, n. 85, p. 69057–69066, ago. 2015. ISSN 2046-2069. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c5ra10888h>>.
- 77 CARAMORI, G. F. et al. The nature of Ru–NO bonds in ruthenium tetraazamacrocyclic nitrosyl complexes—a computational study. *Dalton Trans.*, v. 41, n. 24, p. 7327–7339, maio 2012. ISSN 1477-9234. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/dt/c2dt12094a>>.
- 78 RAMACHANDRAN, K. I.; DEEPA, G.; NAMBOORI, K. *Computational Chemistry and Molecular Modeling: Principles and Applications*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. ISBN 978-3-540-77302-3. Disponível em: <<http://www.springer.com/br/book/9783540773023>>.
- 79 HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.*, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, nov. 1964. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.136.B864>>.
- 80 KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.*, v. 140, n. 4A, p. A1133–A1138, nov. 1965. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.140.A1133>>.
- 81 PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. *Phys. Rev. Lett.*, v. 77, n. 18, p. 3865–3868, out. 1996. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.77.3865>>.
- 82 BURKE, K.; PERDEW, J. P.; WANG, Y. Derivation of a Generalized Gradient Approximation: The PW91 Density Functional.

In: *Electronic Density Functional Theory*. Springer, Boston, MA, 1998. p. 81–111. ISBN 978-1-4899-0318-1 978-1-4899-0316-7. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4899-0316-7_7>.

83 BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, abr. 1993. ISSN 0021-9606. Disponível em: <<https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.464913>>.

84 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, v. 37, n. 2, p. 785–789, jan. 1988. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.37.785>>.

85 PERDEW, J. P. Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B*, v. 33, n. 12, p. 8822–8824, jun. 1986. Disponível em: <<https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.33.8822>>.

86 PAIER, J. et al. The Perdew-Burke-Ernzerhof exchange-correlation functional applied to the G2-1 test set using a plane-wave basis set. *J Chem Phys*, v. 122, n. 23, p. 234102, jun. 2005. ISSN 0021-9606.

87 HOPFFGARTEN, M. v.; FRENKING, G. Energy decomposition analysis: Energy decomposition analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, v. 2, n. 1, p. 43–62, jan. 2012. ISSN 17590876. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/wcms.71>>.

88 WOLTERS, L. P.; BICKELHAUPT, F. M. The activation strain model and molecular orbital theory: Activation strain model and molecular orbital theory. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, v. 5, n. 4, p. 324–343, jul. 2015. ISSN 17590876. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/wcms.1221>>.

89 MOROKUMA, K. Molecular Orbital Studies of Hydrogen Bonds. III. C=O...H-O Hydrogen Bond in H₂CO...H₂O and H₂CO...2H₂O. *The Journal of Chemical Physics*, v. 55, n. 3, p. 1236–1244, ago. 1971. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1676210>>.

90 ZIEGLER, T.; RAUK, A. On the calculation of bonding energies by the Hartree Fock Slater method. *Theoretica chimica acta*, v. 46, n. 1, p. 1–10, 1977.

- 91 ZIEGLER, T.; RAUK, A. A theoretical study of the ethylene-metal bond in complexes between copper (1+), silver (1+), gold (1+), platinum (0) or platinum (2+) and ethylene, based on the Hartree-Fock-Slater transition-state method. *Inorganic Chemistry*, v. 18, n. 6, p. 1558–1565, 1979.
- 92 BICKELHAUPT, F. M.; BAERENDS, E. J. Kohn-sham density functional theory: Predicting and understanding chemistry. In: _____. *Reviews in Computational Chemistry*. John Wiley Sons, Inc., 2007. p. 1–86. ISBN 9780470125922. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/9780470125922.ch1>>.
- 93 SU, P.; LI, H. Energy decomposition analysis of covalent bonds and intermolecular interactions. *The Journal of Chemical Physics*, v. 131, n. 1, p. 014102, jul. 2009. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.3159673>>.
- 94 HAYES, I.; STONE, A. An intermolecular perturbation theory for the region of moderate overlap. *Molecular Physics*, v. 53, n. 1, p. 83–105, set. 1984. ISSN 0026-8976, 1362-3028. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00268978400102151>>.
- 95 SU, P. et al. Energy decomposition scheme based on the generalized Kohn-Sham scheme. *J. Phys. Chem. A*, v. 118, n. 13, p. 2531–2542, 2014.
- 96 SEIDL, A. et al. Generalized Kohn-Sham schemes and the band-gap problem. *Physical Review B*, v. 53, n. 7, p. 3764, 1996.
- 97 RAUPACH, M.; TONNER, R. A periodic energy decomposition analysis method for the investigation of chemical bonding in extended systems. *The Journal of Chemical Physics*, v. 142, n. 19, p. 194105, maio 2015. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4919943>>.
- 98 GLENDENING, E. D.; LANDIS, C. R.; WEINHOLD, F. Natural bond orbital methods. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, v. 2, n. 1, p. 1–42, 2012.
- 99 WEINHOLD, F.; LANDIS, C. R. Natural Bond Orbitals and Extensions of Localized Bonding Concepts. *Chem. Educ. Res. Pract.*, v. 2, n. 2, p. 91, 2001.
- 100 WEINHOLD, F.; LANDIS, C.; GLENDENING, E. What is NBO analysis and how is it useful? *International*

- Reviews in Physical Chemistry*, v. 35, n. 3, p. 399–440, jul. 2016. ISSN 0144-235X, 1366-591X. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0144235X.2016.1192262>>.
- 101 WEINHOLD, F. Natural bond orbital analysis: A critical overview of relationships to alternative bonding perspectives. *Journal of Computational Chemistry*, v. 33, n. 30, p. 2363–2379, nov. 2012. ISSN 01928651. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jcc.23060>>.
- 102 MAYER, I. Bond order and valence indices: A personal account. *Journal of Computational Chemistry*, v. 28, n. 1, p. 204–221, jan. 2007. ISSN 01928651, 1096987X. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jcc.20494>>.
- 103 BRIDGEMAN, A. J. et al. The Mayer bond order as a tool in inorganic chemistry†. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, n. 14, p. 2095–2108, 2001. ISSN 14727773, 13645447. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=b102094n>>.
- 104 WIBERG, K. B. Application of the pople-santry-segal CNDO method to the cyclopropylcarbinyl and cyclobutyl cation and to bicyclobutane. *Tetrahedron*, v. 24, n. 3, p. 1083–1096, 1968.
- 105 TRINDLE, C. Bond index description of delocalization. *Journal of the American Chemical Society*, v. 91, n. 1, p. 219–220, 1969.
- 106 REED, A. E.; WEINSTOCK, R. B.; WEINHOLD, F. Natural population analysis. *The Journal of Chemical Physics*, v. 83, n. 2, p. 735–746, jul. 1985. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.449486>>.
- 107 OZIMIŃSKI, W. P.; DOBROWOLSKI, J. C. - and -electron contributions to the substituent effect: natural population analysis. *Journal of Physical Organic Chemistry*, v. 22, n. 8, p. 769–778, ago. 2009. ISSN 08943230, 10991395. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/poc.1530>>.
- 108 BADER, R. F.; LAIDIG, K. E. The prediction and calculation of properties of atoms in molecules. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v. 234, p. 75–94, 1991.
- 109 MATTA, C. F.; BOYD, R. J. An introduction to the quantum theory of atoms in molecules. Wiley-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, p. 1–34, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/9783527610709.ch1>>.

- 110 BADER, R. F. W.; BAYLES, D. Properties of Atoms in Molecules: Group Additivity. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 104, n. 23, p. 5579–5589, jun. 2000. ISSN 1089-5639, 1520-5215. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp9943631>>.
- 111 HERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.; BADER, R. F. W. Properties of Atoms in Molecules: Atoms Forming Molecules. *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 104, n. 8, p. 1779–1794, mar. 2000. ISSN 1089-5639, 1520-5215. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp994096z>>.
- 112 MATTA, C. F.; BADER, R. F. An experimentalist's reply to "What is an atom in a molecule?". *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 110, n. 19, p. 6365–6371, 2006.
- 113 BIEGLER-KÖNIG, F. W.; BADER, R. F.; TANG, T.-H. Calculation of the average properties of atoms in molecules. II. *Journal of Computational Chemistry*, v. 3, n. 3, p. 317–328, 1982.
- 114 BADER, R. F. W.; MATTA, C. F. Atoms in molecules as non-overlapping, bounded, space-filling open quantum systems. *Foundations of Chemistry*, v. 15, n. 3, p. 253–276, out. 2013. ISSN 1386-4238, 1572-8463. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10698-012-9153-1>>.
- 115 DITTRICH, B.; MATTA, C. F. Contributions of charge-density research to medicinal chemistry. *IUCrJ*, v. 1, n. 6, p. 457–469, nov. 2014. ISSN 2052-2525. Disponível em: <<http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S2052252514018867>>.
- 116 PIELA, L. *Ideas of Quantum Chemistry*. [S.l.]: Elsevier, 2006. Google-Books-ID: nbdITbfsP6oC. ISBN 978-0-08-046676-7.
- 117 BROOKS, B. R. et al. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *J. Comput. Chem.*, v. 4, n. 2, p. 187–217, jun. 1983. ISSN 1096-987X. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.540040211/abstract>>.
- 118 BROOKS, B. R. et al. CHARMM: The biomolecular simulation program. *J. Comput. Chem.*, v. 30, n. 10, p. 1545–1614, jul. 2009. ISSN 1096-987X. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21287/abstract>>.
- 119 WEINER, P. K.; KOLLMAN, P. A. AMBER: Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling

- molecules and their interactions. *J. Comput. Chem.*, v. 2, n. 3, p. 287–303, set. 1981. ISSN 1096-987X. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.540020311/abstract>>.
- 120 GAFF. Disponível em: <<http://ambermd.org/antechamber/gaff.html>>.
- 121 HALGREN, T. A. Merck molecular force field. i. basis, form, scope, parameterization, and performance of mmff94. *Journal of Computational Chemistry*, John Wiley Sons, Inc., v. 17, n. 5-6, p. 490–519, 1996. ISSN 1096-987X. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P)>.
- 122 JORGENSEN, W. L.; TIRADO-RIVES, J. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 110, n. 6, p. 1657–1666, mar. 1988. ISSN 0002-7863.
- 123 ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Med. Res. Rev.*, v. 26, n. 5, p. 531–568, set. 2006. ISSN 1098-1128. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/med.20067/abstract>>.
- 124 KITCHEN, D. B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n. 11, p. 935–949, nov. 2004. ISSN 1474-1784. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrd1549>>.
- 125 FRĄCZEK, T.; SIWEK, A.; PANETH, P. Assessing Molecular Docking Tools for Relative Biological Activity Prediction: A Case Study of Triazole HIV-1 NNRTIs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 53, n. 12, p. 3326–3342, dez. 2013. ISSN 1549-9596, 1549-960X. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ci400427a>>.
- 126 KUNTZ, I. D. et al. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, v. 161, n. 2, p. 269–288, out. 1982. ISSN 0022-2836. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002228368290153X>>.
- 127 PARK, H.; LEE, J.; LEE, S. Critical assessment of the automated AutoDock as a new docking tool for virtual screening. *Proteins*, v. 65, n. 3, p. 549–554, nov. 2006. ISSN 1097-0134. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.21183/abstract>>.

- 128 TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, p. NA–NA, 2009. ISSN 01928651, 1096987X. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jcc.21334>>.
- 129 KRAMER, B.; RAREY, M.; LENGAUER, T. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein-ligand docking. *Proteins*, v. 37, n. 2, p. 228–241, nov. 1999. ISSN 0887-3585.
- 130 DOMINGUEZ, C.; BOELEN, R.; BONVIN, A. M. J. J. HADDOCK: a protein-protein docking approach based on biochemical or biophysical information. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 125, n. 7, p. 1731–1737, fev. 2003. ISSN 0002-7863.
- 131 JONES, G. et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.*, v. 267, n. 3, p. 727–748, abr. 1997. ISSN 0022-2836.
- 132 GROSDIDIER, A.; ZOETE, V.; MICHIELIN, O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. *Nucleic Acids Res.*, v. 39, n. Web Server issue, p. W270–277, jul. 2011. ISSN 1362-4962.
- 133 MAGALHÃES, C. S. de et al. A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands. *Information Sciences*, v. 289, p. 206–224, dez. 2014. ISSN 00200255. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020025514007919>>.
- 134 MACINDOE, G. et al. HexServer: an FFT-based protein docking server powered by graphics processors. *Nucleic Acids Res*, v. 38, n. Web Server issue, p. W445–W449, jul. 2010. ISSN 0305-1048. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2896144/>>.
- 135 ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, v. 215, n. 3, p. 403–410, 1990.
- 136 MCGINNIS, S.; MADDEN, T. L. Blast: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Research*, v. 32, n. suppl₂, p. W20 – –W25, 2004.
- 137 BORATYN, G. M. et al. Blast: a more efficient report with usability improvements. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n. W1, p. W29–W33, 2013.

- 138 YE, J.; MCGINNIS, S.; MADDEN, T. L. Blast: improvements for better sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, v. 34, n. suppl₂, p.W6 – –W9, 2006.
- 139 ARNOLD, K. et al. The swiss-model workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling. *Bioinformatics*, v. 22, n. 2, p. 195–201, 2006.
- 140 BIASINI, M. et al. Swiss-model: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Research*, v. 42, n. W1, p. W252–W258, 2014.
- 141 BIENERT, S. et al. The swiss-model repository—new features and functionality. *Nucleic Acids Research*, v. 45, n. D1, p. D313–D319, 2017.
- 142 GUEX, N.; PEITSCH, M. C.; SCHWEDE, T. Automated comparative protein structure modeling with swiss-model and swiss-pdbviewer: A historical perspective. *ELECTROPHORESIS*, WILEY-VCH Verlag, v. 30, n. S1, p. S162–S173, 2009.
- 143 BENKERT, P.; KÜNZLI, M.; SCHWEDE, T. QMEAN server for protein model quality estimation. *Nucleic Acids Research*, v. 37, n. suppl_2, p. W510–W514, jul. 2009. ISSN 1362-4962, 0305-1048. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkp322>>.
- 144 KOEHL, P.; ORLAND, H.; DELARUE, M. Adapting Poisson-Boltzmann to the self-consistent mean field theory: Application to protein side-chain modeling. *The Journal of Chemical Physics*, v. 135, n. 5, p. 055104, ago. 2011. ISSN 0021-9606, 1089-7690. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.3621831>>.
- 145 KOEHL, P.; ORLAND, H.; DELARUE, M. Adapting poisson-boltzmann to the self-consistent mean field theory: Application to protein side-chain modeling. *The Journal of Chemical Physics*, v. 135, n. 5, p. 055104, 2011.
- 146 DOLINSKY, T. J. et al. Pdb2pqr: an automated pipeline for the setup of poisson–boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Research*, v. 32, n. suppl₂, p.W665 – –W667, 2004.
- 147 ROSTKOWSKI, M. et al. Graphical analysis of pH-dependent properties of proteins predicted using PROPKA. *BMC structural biology*, v. 11, n. 1, p. 6, 2011.

- 148 MAGALHAES, C. S. de et al. A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands. *Information Sciences*, v. 289, n. Complete, p. 206–224, 2014.
- 149 MORRIS, G. M. et al. Autodock4 and autodocktools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009. ISSN 1096-987X.
- 150 GASTEIGER, J.; MARSILI, M. A new model for calculating atomic charges in molecules. *Tetrahedron Letters*, v. 19, n. 34, p. 3181–3184, 1978.
- 151 GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, v. 36, n. 22, p. 3219–3228, 1980.
- 152 HASTINGS, W. K. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. *Biometrika*, v. 57, n. 1, p. 97–109, abr. 1970. ISSN 0006-3444. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biomet/article/57/1/97/284580>>.
- 153 BROYDEN, C. G.; DENNIS, J. E.; MORÉ, J. J. On the Local and Superlinear Convergence of Quasi-Newton Methods. *IMA J Appl Math*, v. 12, n. 3, p. 223–245, dez. 1973. ISSN 0272-4960. Disponível em: <<https://academic.oup.com/imamat/article/12/3/223/664306>>.
- 154 HEAD, J. D.; ZERNER, M. C. A Broyden—Fletcher—Goldfarb—Shanno optimization procedure for molecular geometries. *Chemical Physics Letters*, v. 122, n. 3, p. 264–270, dez. 1985. ISSN 0009-2614. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0009261485805741>>.
- 155 RADEMAKER-LAKHAI, J. M. et al. A phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent. *Clinical Cancer Research*, v. 10, n. 11, p. 3717–3727, 2004.
- 156 SAVA, G. et al. Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im], a metal complex of ruthenium with antimetastatic properties. *Clin Exp Metast*, v. 10, n. 4, p. 273–280. ISSN 0262-0898, 1573-7276. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007/BF00133563>>.
- 157 SAVA, G. et al. Effects of the Ru(III) complexes [mer-RuCl₃(DMSO)₂im]degrees and Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im] on solid

mouse tumors. *Anticancer Drugs*, v. 3, n. 1, p. 25–31, fev. 1992. ISSN 0959-4973.

158 KP1019, A New Redox-Active Anticancer Agent – Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients - Hartinger - 2008 - Chemistry & Biodiversity - Wiley Online Library. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200890195/abstract>>.

159 SAVA, G. et al. Dual Action of NAMI-A in Inhibition of Solid Tumor Metastasis : Selective Targeting of Metastatic Cells and Binding to Collagen Dual Action of NAMI-A in Inhibition of Solid Tumor Metastasis : Selective Targeting of Metastatic Cells and Binding to Collagen. *Clin. Cancer Res.*, v. 9, n. May, p. 1898–1905, 2003.

160 WEBB, M. I.; WALSBY, C. J. EPR as a probe of the intracellular speciation of ruthenium(III) anticancer compounds. *Metallomics*, v. 5, n. 12, p. 1624–1633, dez. 2013. ISSN 1756-591X.

161 LIU, M. et al. Characterization of a Ruthenium(III)/NAMI-A Adduct with Bovine Serum Albumin that Exhibits a High Anti-Metastatic Activity. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 49, n. 9, p. 1661–1664, fev. 2010. ISSN 1521-3773. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.200906079/abstract>>.

162 SUN, H.; LI, H.; SADLER, P. J. Transferrin as a metal ion mediator. *Chem. Rev.*, v. 99, n. 9, p. 2817–2842, set. 1999. ISSN 1520-6890.

163 AITKEN, J. B. et al. Distinct cellular fates for KP1019 and NAMI-A determined by X-ray fluorescence imaging of single cells. *Metallomics*, v. 4, n. 10, p. 1051–1056, out. 2012. ISSN 1756-591X. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/mt/c2mt20072d>>.

164 BRATSOS, I. et al. Influence of the anionic ligands on the anticancer activity of Ru(II)-dmsO complexes: Kinetics of aquation and in vitro cytotoxicity of new dicarboxylate compounds in comparison with their chloride precursors. *J. Inorg. Biochem.*, v. 102, n. 4, p. 606–617, abr. 2008. ISSN 0162-0134.

165 LEVINA, A. et al. Biotransformations of Anticancer Ruthenium(III) Complexes: An X-Ray Absorption Spectroscopic Study. *Chem. Eur. J.*, v. 19, n. 11, p. 3609–3619, mar. 2013. ISSN 1521-3765.

Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.201203127/abstract>>.

166 LEIJEN, S. et al. Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy. *Invest New Drugs*, v. 33, n. 1, p. 201–214, fev. 2015. ISSN 1573-0646.

167 JASSEM, J. et al. A phase II study of gemcitabine plus cisplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer: clinical outcomes and quality of life. *Lung Cancer*, v. 35, n. 1, p. 73–79, jan. 2002. ISSN 0169-5002.

168 ZHENG, K. et al. Ruthenium(II) Complexes as Potential Apoptosis Inducers in Chemotherapy. *Anticancer Agents Med Chem*, v. 17, n. 1, p. 29–39, 2017. ISSN 1875-5992.

169 NEESE, F. The ORCA program system. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, v. 2, n. 1, p. 73–78, 2012.

170 BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A*, v. 38, n. 6, p. 3098–3100, 1988.

171 PERDEW, J. Density-functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B*, v. 33, n. 12, p. 8822–8824, 1986.

172 GRIMME, S. et al. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *J. Chem. Phys.*, v. 132, n. 15, p. 154104, 2010.

173 GRIMME, S. Density functional theory with London dispersion corrections. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.*, v. 1, n. 2, p. 211–228, 2011.

174 GRIMME, S.; EHRLICH, S.; GOERIGK, L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.*, v. 32, n. 7, p. 1456–1465, 2011.

175 AHLRICHS, R.; MAY, K. Contracted all-electron Gaussian basis sets for atoms Rb to Xe. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 2, n. 5, p. 943–945, 2000.

- 176 LENTHE, E. van; SNIJDERS, J. G.; BAERENDS, E. J. The zero-order regular approximation for relativistic effects: The effect of spin-orbit coupling in closed shell molecules. *J. Chem. Phys.*, v. 105, n. 15, p. 6505, 1996.
- 177 SCHMIDT, M. et al. General atomic and molecular electronic structure system. *J. Comput. Chem.*, v. 14, p. 1347–1363, 1993.
- 178 DREW, H. R. et al. Structure of a B-DNA dodecamer: conformation and dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 78, n. 4, p. 2179–2183, abr. 1981. ISSN 0027-8424.
- 179 TROTT, O.; OLSON, A. J. Autodock vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010. ISSN 1096-987X.
- 180 VARGIU, A. V. et al. The hydrolysis mechanism of the anticancer ruthenium drugs NAMI-A and ICR investigated by DFT-PCM calculations. *J Phys Chem B*, v. 112, n. 14, p. 4401–4409, abr. 2008. ISSN 1520-6106.
- 181 PETTERSEN, E. F. et al. Ucsf chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, John Wiley Sons, Inc., v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004. ISSN 1096-987X.
- 182 PETITPAS, I. et al. Crystal structure analysis of warfarin binding to human serum albumin: Anatomy of drug site i. *Journal of Biological Chemistry*, 2001.
- 183 ABE, H. et al. Rapid calculation of first and second derivatives of conformational energy with respect to dihedral angles for proteins general recurrent equations. *Computational Biology and Chemistry*, Elsevier Limited, v. 8, n. 4, p. 239–247, 1984. ISSN 1476-9271.
- 184 ALESSIO, E. et al. Synthesis and characterization of two new classes of ruthenium(III)-sulfoxide complexes with nitrogen donor ligands (L): Na[trans-RuCl₄(R₂so)(L)] and mer, cis-RuCl₃(R₂so)(R₂so)(L). The crystal structure of Na[trans-RuCl₄(DMSO)(NH₃)] · 2dmso, Na[trans-RuCl₄(DMSO)(Im)] · H₂o, Me₂co (Im = imidazole) and mer, cis-RuCl₃(DMSO)(DMSO)(NH₃). *Inorganica Chimica Acta*, v. 203, n. 2, p. 205–217, jan. 1993. ISSN

0020-1693. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002016930081659X>>.

185 NOVOHRADSKÝ, V. et al. Influence of the binding of reduced NAMI-A to human serum albumin on the pharmacokinetics and biological activity. *Dalton Trans.*, v. 44, n. 4, p. 1905–1913, dez. 2014. ISSN 1477-9234. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/dt/c4dt02865a>>.

186 GOU, Y. et al. HSA-based multi-target combination therapy: regulating drugs' release from HSA and overcoming single drug resistance in a breast cancer model. *Drug Deliv.*, v. 25, n. 1, p. 321–329, nov. 2018. ISSN 1521-0464.

187 SIGEL, A. et al. *Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents: Development and Action of Anticancer Agents*. [S.l.]: Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2018. Google-Books-ID: 4nBLDwAAQBAJ. ISBN 978-3-11-047073-4.

188 SIGEL, A. et al. *Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents: Development and Action of Anticancer Agents*. [S.l.]: Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2018. Google-Books-ID: 4nBLDwAAQBAJ. ISBN 978-3-11-047073-4.

189 HANNA, N.; EINHORN, L. H. Testicular Cancer: A Reflection on 50 Years of Discovery. *JCO*, v. 32, n. 28, p. 3085–3092, out. 2014. ISSN 0732-183X. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/full/10.1200/jco.2014.56.0896>>.

190 BERGAMINI, A. et al. Cisplatin can be safely administered to ovarian cancer patients with hypersensitivity to carboplatin. *Gynecologic Oncology*, v. 144, n. 1, p. 72–76, jan. 2017. ISSN 0090-8258. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0090825816315049>>.

191 COSAERT, J.; QUOIX, E. Platinum drugs in the treatment of non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*, v. 87, n. 8, p. 825–833, out. 2002. ISSN 0007-0920. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2376170/>>.

192 ZATLOUKAL, P.; PETRUZELKA, L. Gemcitabine/carboplatin in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, v. 38 Suppl 2, p. S33–36, nov. 2002. ISSN 0169-5002.

- 193 RAEZ, L. E.; KOBINA, S.; SANTOS, E. S. Oxaliplatin in first-line therapy for advanced non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*, v. 11, n. 1, p. 18–24, jan. 2010. ISSN 1938-0690.
- 194 SAVA, G.; BERGAMO, A. Ruthenium-based compounds and tumour growth control (review). *Int. J. Oncol.*, v. 17, n. 2, p. 353–365, ago. 2000. ISSN 1019-6439.
- 195 LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. *Journal of Computational Chemistry*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, v. 33, n. 5, p. 580–592, 2012. ISSN 1096-987X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jcc.22885>>.
- 196 CASE, D. A. et al. *AMBER16*. San Francisco, CA: University of California, San Francisco, 2016.
- 197 JORGENSEN, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.*, v. 79, n. 2, p. 926–935, jul. 1983. ISSN 0021-9606. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.445869>>.
- 198 ZGARBOVA, M. et al. Refinement of the Sugar–Phosphate Backbone Torsion Beta for AMBER Force Fields Improves the Description of Z- and B-DNA. *J. Chem. Theory Comput.*, v. 11, n. 12, p. 5723–5736, dez. 2015. ISSN 1549-9618. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00716>>.
- 199 WANG, J. et al. Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *J. Mol. Graph. Model.*, v. 25, n. 2, p. 247–260, out. 2006. ISSN 1093-3263.
- 200 LI, P.; MERZ, K. M. MCPB.py: A Python Based Metal Center Parameter Builder. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 56, n. 4, p. 599–604, abr. 2016. ISSN 1549-9596. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00674>>.
- 201 A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model - The Journal of Physical Chemistry (ACS Publications). Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100142a004>>.
- 202 LONCHARICH, R. J.; BROOKS, B. R.; PASTOR, R. W. Langevin dynamics of peptides: The frictional dependence of isomerization rates of N-acetylalanyl-N-methylamide. *Biopolymers*,

- v. 32, n. 5, p. 523–535, maio 1992. ISSN 1097-0282. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bip.360320508/abstract>>.
- 203 MOLECULAR dynamics simulations of water and biomolecules with a Monte Carlo constant pressure algorithm - ScienceDirect. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009261403021687>>.
- 204 DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An Nlog(N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, jun. 1993. ISSN 0021-9606. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.464397>>.
- 205 MIYAMOTO, S.; KOLLMAN, P. A. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *J. Comput. Chem.*, v. 13, n. 8, p. 952–962, out. 1992. ISSN 1096-987X. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.540130805/abstract>>.
- 206 MILLER, B. R. et al. MMPBSA.py: An Efficient Program for End-State Free Energy Calculations. *J. Chem. Theory Comput.*, v. 8, n. 9, p. 3314–3321, set. 2012. ISSN 1549-9618. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ct300418h>>.
- 207 VARGIU, A. V.; MAGISTRATO, A. Detecting DNA Mismatches with Metallo-Insertors: A Molecular Simulation Study. *Inorg. Chem.*, v. 51, n. 4, p. 2046–2057, fev. 2012. ISSN 0020-1669. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ic201659v>>.
- 208 RADOMSKI, M. W.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 148, n. 3, p. 1482–9, 1987.
- 209 ARCHER, S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J.*, v. 7, p. 349–360, 1993.
- 210 MARIN, J.; SANCHEZ-FERRER, C. F. Role of endothelium-formed nitric oxide on vascular responses. *Gen. Pharmacol.*, n. 5, p. 575–587.
- 211 KOLB, H.; KOLB-BACHOFEN, V. Nitric Oxide: a pathogenic factor in autoimmunity. *Immunol. Today*, v. 13, n. 5, p. 157–160, 1992.
- 212 ANDERSON, T. J. et al. Nitric oxide and nitrovasodilators: similarities, differences and potential interactions. *J. Am. Coll. Cardiol.*, v. 24, n. 2, p. 555–566, 1994.

- 213 LOSCALZO, J.; WELCH, G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, v. 38, n. 2, p. 87–104, 1995.
- 214 PAYEN, D. M. Inhaled nitric oxide and acute lung injury. *Clin. Chest Med.*, v. 21, n. 3, p. 519–529, ix, 2000.
- 215 DUNCAN, A. J.; HEALES, S. J. R. Nitric oxide and neurological disorders. *Mol. Aspects Med.*, v. 26, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 67–96, 2005.
- 216 KAVYA, R. et al. Nitric oxide synthase regulation and diversity : Implications in Parkinson ' s disease . *Nitric Oxide - Biol. Chem.*, v. 15, p. 280–294, 2006.
- 217 BURNEY, S. et al. The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxyxynitrite. *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.*, v. 424, n. 1-2, p. 37–49, 1999.
- 218 FORD, P. C. et al. Photochemistry of metal nitrosyl complexes. Delivery of nitric oxide to biological targets. *Coord. Chem. Rev.*, v. 171, p. 185–202, 1998.
- 219 CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coord. Chem. Rev.*, v. 232, n. 1-2, p. 69–93, 2002.
- 220 FORD, P. C.; WECKSLER, S. Photochemical reactions leading to NO and NO_x generation. *Coord. Chem. Rev.*, v. 249, n. 13-14, p. 1382–1395, 2005.
- 221 ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in medicine: Current clinical uses and future prospects. *Platin. Met. Rev.*, v. 45, n. 2, p. 62–69, 2001.
- 222 REEDIJK, J. Metal-ligand exchange kinetics in platinum and ruthenium complexes: Significance for effectiveness as anticancer drugs. *Platin. Met. Rev.*, v. 52, n. 1, p. 2–11, 2008.
- 223 RIJT, S. H. van; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. *Drug Discov. Today*, v. 14, n. 23-24, p. 1089–1097, 2009.
- 224 GOLFETO, C. C. et al. Synthesis, characterization and cytotoxic activities of the [RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆ complexes. *J. Inorg. Biochem.*, Elsevier Inc., v. 104, n. 5, p. 489–495, 2010.

- 225 BEZERRA, C. W. B. et al. Water π -Donation in trans-Tetraammineruthenium(II): Effect on Coordinated-Water Properties Induced by a Trans NO Ligand. *Inorg. Chem.*, v. 38, n. 25, p. 5660–5667, 1999.
- 226 BORGES, S. d. S. S. et al. Ruthenium Nitrosyl Complexes with N-Heterocyclic Ligands. *Inorg. Chem.*, v. 37, n. 11, p. 2670–2677, 1998.
- 227 TOLEDO, J. C. et al. Release of NO by a nitrosyl complex upon activation by the mitochondrial reducing power. *J. Inorg. Biochem.*, v. 89, n. 3-4, p. 267–271, 2002.
- 228 QUIG, D.; PH, D. Cysteine Metabolism and Metal Toxicity Cysteine & Heavy Metals. *Altern. Med. Rev.*, v. 3, n. 4, p. 262–270, 1998.
- 229 ZANGL, A. et al. Photoinduced linkage isomerism of RuNO6 complexes with bioligands and related chelators. *Dalton Trans.*, p. 1034–1045, 2009.
- 230 PAUL, L. E. H.; FURRER, J.; THERRIEN, B. Reactions of a cytotoxic hexanuclear arene ruthenium assembly with biological ligands. *J. Organomet. Chem.*, Elsevier B.V, v. 734, p. 45–52, 2013.
- 231 SANTINI, C. et al. Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chem. Rev.*, v. 114, n. 1, p. 815–862, 2014.
- 232 GAVRILUTA, A. et al. Osmium-nitrosyl complexes with glycine, picolinic acid, l-proline and d-proline: Synthesis, structures and antiproliferative activity. *Z. Anorg. Allg. Chem.*, v. 639, n. 8-9, p. 1590–1597, 2013.
- 233 TFOUNI, E. et al. Biological activity of ruthenium nitrosyl complexes. *Nitric Oxide - Biol. Chem.*, Elsevier Inc., v. 26, n. 1, p. 38–53, 2012.
- 234 CARAMORI, G. F. et al. The nature of ru-no bonds in ruthenium tetraazamacrocyclic nitrosyl complexes—a computational study. *Dalton Trans.*, v. 41, p. 7327–7339, 2012.

Parte III

Apêndice e Anexos

8 Apêndice

1 Tabelas

Tabela 8.1 – Parâmetros geométricos selecionados para os complexos **1L1**, **1L3**, **1L4**, **2L1**, **2L3** e **2L4** com o nível de teoria BP86-D3/def2-TZVPP. No qual, os comprimentos de ligação estão em Å e os ângulos de ligação em $^{\circ}$.

Parâmetros Geométricos						
	1L1	1L3	1L4	2L1	2L3	2L4
Ru-S1	2,219	2,247	2,247	2,179	2,169	2,176
Ru-N1	2,108	2,181	2,180	2,128	2,176	2,159
Ru-L1	2,375	2,270	2,363	2,398	2,375	2,483
Ru-L2	2,202	2,361	2,370	2,463	2,464	2,358
Ru-L3	2,333	2,408	2,352	2,376	2,373	2,438
Ru-L4	2,297	2,354	2,408	2,444	2,458	2,384
S1-Ru-N1	177,41	178,54	179,59	176,70	177,68	178,49
L1-Ru-L3	166,40	174,51	160,98	169,62	170,65	166,52
L2-Ru-L4	176,61	161,01	174,90	168,28	167,09	169,34
L1-Ru-L2	80,82	99,66	99,75	73,90	98,16	97,10
L3-Ru-L4	96,69	84,49	84,45	91,85	93,30	93,14

Tabela 8.2 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para os complexos **1L1**, **1L3** e **1L4** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
1L1							
Ru-H ₂ O1	-29,56	-56,96	-97,01	178,57	-46,77	-3,47	-3,92
Ru-Cl2	-160,71	-171,86	-143,46	255,25	-87,57	-4,47	-8,60
Ru-Cl3	-159,40	-164,76	-143,43	259,31	-95,47	-4,37	-9,67
Ru-Cl4	-168,31	-164,44	-142,19	258,39	-109,57	-4,45	-6,05
Ru-dmso	-60,99	-95,63	-176,24	330,70	-82,65	-10,64	-26,53
Ru-im	-24,23	-63,10	-121,71	221,69	-52,05	-7,80	-1,26
1L3							
Ru-Cl1	-172,43	-169,88	-160,86	298,53	-128,63	-5,09	-6,49
Ru-Cl2	-160,61	-168,02	-144,62	260,69	-97,35	-4,80	-6,51
Ru-H ₂ O3	-22,74	-33,32	-56,77	100,36	-22,98	-4,99	-5,04
Ru-Cl4	-165,52	-172,59	-141,26	252,62	-90,63	-6,08	-7,58
Ru-dmso	-54,09	-70,16	-143,83	268,64	-69,41	-11,48	-27,86
Ru-im	-40,73	-62,90	-107,95	193,44	-55,66	-8,97	-1,30
1L4							
Ru-Cl1	-160,57	-167,36	-143,33	258,29	-96,73	-4,81	-6,64
Ru-Cl2							
Ru-Cl3	-165,41	-172,65	-141,85	253,86	-91,06	-6,09	-7,62
Ru-H ₂ O4	-22,63	-33,31	-56,80	100,37	-22,93	-5,03	-4,93
Ru-dmso	-40,71	-62,83	-107,84	193,32	-55,59	-9,01	1,24
Ru-im	-53,89	-70,35	-144,30	269,59	-69,56	-11,48	-27,79

não houve convergência do SCF

Tabela 8.3 – Análise de decomposição de energia (GKS-EDA) em kcal.mol⁻¹ para os complexos **2L1**, **2L3** e **2L4** com o nível de teoria BP86/def2-TZVPP.

Interações	ΔE^{tot}	ΔE^{es}	ΔE^{ex}	ΔE^{rep}	ΔE^{pol}	ΔE^{dc}	ΔE^{cor}
2L1							
Ru-H ₂ O1	-22,44	-35,26	-65,39	114,25	-21,39	-4,78	-9,87
Ru-Cl2	-64,14	-78,21	-138,78	239,62	-71,68	-4,65	-10,45
Ru-Cl3	-68,77	-65,48	-123,63	212,70	-69,64	-5,38	-17,44
Ru-Cl4	-64,90	-74,76	-132,05	223,40	-65,98	-5,75	-9,75
Ru-dmsO	-58,45	-83,10	-175,64	324,85	-74,95	-11,84	-37,78
Ru-im	-31,05	-59,81	-118,10	212,63	-50,81	-9,07	-5,89
2L3							
Ru-Cl1	-66,64	-60,49	-115,201	198,70	-67,61	-5,18	-16,86
Ru-Cl2	-63,91	-82,01	-145,17	250,77	-73,66	-4,60	-9,22
Ru-H ₂ O3	-23,88	-38,07	-67,24	117,58	-23,25	-4,62	-8,28
Ru-Cl4	-65,35	-79,50	-137,48	232,64	-67,37	-5,69	-7,92
Ru-dmsO	-60,97	-82,39	-171,11	318,83	-75,81	-11,52	-38,97
Ru-im	-29,97	-59,82	-118,53	209,70	-48,18	-8,77	-4,39
2L4							
Ru-Cl1	-67,38	-91,82	-154,08	264,08	-73,49	-5,50	-6,57
Ru-Cl2	-60,48	-52,68	-114,51	200,35	-71,62	-4,56	-17,47
Ru-Cl3	-61,64	-76,68	-139,09	238,47	-71,20	-5,11	-8,02
Ru-H ₂ O4	-22,53	-37,19	-66,18	115,26	-21,44	-5,09	-7,90
Ru-dmsO	-56,08	-76,52	-163,97	306,25	-72,00	-11,37	-38,47
Ru-im	-29,71	-62,42	-124,89	221,86	-50,96	-8,98	-4,33

2 Figuras

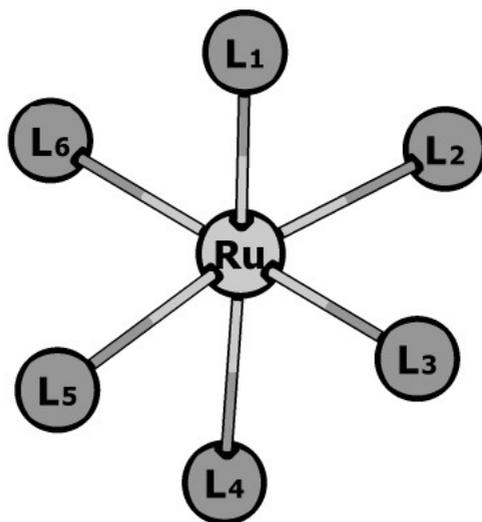


Figura 8.1 – Esquema de numeração dos ligantes na esfera de coordenação primária dos complexos *cis/trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{dms})(\text{im})\text{Cl}_4]^0$.

9 Anexos

1 Publicações com a Temática da Tese e Publicações Anteriores

1. Lima, Thaís C. et al *In vivo and in silico anti-inflammatory mechanism of action of the semisynthetic (-)-cubebin derivatives (-)-hinokinin and (-)-O-benzylcubebin*. Bioinorganic Medicinal Chemistry Letters. v.27, p.176-179, 2017.
doi:10.1016/j.bmcl.2016.11.081 (doutorado)
2. de Oliveira, Roger S. *A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin*. Polyhedron. v.110, p.10.1016/, 2016.
doi:10.1016/j.poly.2015.12.029 (doutorado)
3. Andriani, Karla F. et al *The influence of L ligands on the RuNO bonding situation in cis-[Ru(NO)(NO₂)L] complexes: a theoretical insight*. RSC Advances: an international journal to further the chemical sciences., v.5, p.69057-69066, 2015.
doi:10.1039/c5ra10888h (mestrado)
4. Andriani, Karla F. et al. *Ru-NO and Ru-NO₂ bonding linkage isomerism in cis-[Ru(NO)(NO(bpy)₂]^{2+/+} complexes - a theoretical insight*. Dalton Transactions, v.43, p.8792, 2014.
doi:10.1039/c4dt00016a (mestrado)
5. Caramori, Giovanni F. et al. *The nature of Ru-NO bonds in ruthenium tetraazamacrocyclic nitrosyl complexes—a computational study*. Dalton Transactions. v.41, p.7327-7339, 2012.
doi:10.1039/C2DT12094A (mestrado)

2 Outras Publicações

1. Stock, Rafaela I. et al *Synthesis and Solvatochromism of Substituted 4-(Nitrostyryl)phenolate Dyes*. Journal of Organic Chemistry. v.80, p.7971-7983, 2015.
doi/abs/10.1021/acs.joc.5b00983 (doutorado)

3 Artigos para Submissão

1. Andriani, Karla F. et al *Shedding Light on cis/trans-[Ru(dmsO)₄Cl₂]^q Hydrolysis Mechanism and their Interactions with DNA-A Computational Perspective*. (doutorado)
2. Andriani, Karla F. et al *Evaluating the Influence of Amino Acids on the Metal-NO⁺ Strength in Ruthenium(II) and Osmium(II) Nitrosyl Complexes - Insights from Computation* (doutorado)