

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**DOUTORADO EM QUÍMICA**

**Nathália Magalhães Paixão Rosa**

**Interações não covalentes entre SI-PPCs e biomoléculas: um estudo por simulações  
de dinâmica molecular.**

Juiz de Fora

2021

**Nathália Magalhães Paixão Rosa**

**Interações não covalentes entre SI-PPCs e biomoléculas: um estudo por simulações de  
dinâmica molecular.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Química, área de concentração: Físico-  
Química, da Universidade Federal de Juiz de  
Fora, como requisito parcial para a obtenção do  
título de Doutora em Química.

Orientador: Luiz Antônio Sodré Costa

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rosa, Nathália Magalhães Paixão.

Interações não-covalentes entre SI-PPCs e biomoléculas: um estudo por simulações de dinâmica molecular / Nathália Magalhães Paixão Rosa. -- 2021.

130 f.

Orientador: Luiz Antônio Sodré Costa

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

1. Grampos de fosfato. 2. Dinâmica molecular. 3. SI-PPCs. 4. Interações não covalentes. 5. Glicosaminoglicanos. I. Costa, Luiz Antônio Sodré, orient. II. Título.

**Nathália Magalhães Paixão Rosa**

**INTERAÇÕES NÃO COVALENTES ENTRE SI-PPCs E BIOMOLÉCULAS: UM ESTUDO POR SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2021.

**BANCA EXAMINADORA**




Prof. Dr. Luiz Antônio Sodré Costa - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Heitor Avelino de Abreu

Universidade Federal de Minas Gerais



Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

Universidade de São Paulo



Prof. Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade

Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta

Universidade Federal de Juiz de Fora

À minha mãe (Margarete), minha avó (Raeth), minhas irmãs (Lívia e Vanessa) e meu esposo (Pablo), pelo incentivo e paciência durante todo o processo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da minha vida, por sua presença constante ao meu lado velando por mim e me fortalecendo em todos os momentos.

À minha mãe Margarete por sempre acreditar que eu era capaz e por seu amor infinito, minha avó, meu pai e familiares pelo apoio e incentivo.

Às minhas irmãs Lívia e Vanessa pela paciência e parceria da vida toda.

Ao meu esposo Pablo, por todo amor dedicado e por estar sempre ao meu lado vibrando a cada pequena vitória conquistada.

Ao meu cunhado Márcio pelos momentos repletos de alegria e muitas cervejas.

Ao meu tio Guilherme por ser meu primeiro exemplo de pesquisador e por incentivar o meu ingresso na vida acadêmica.

Ao meu orientador Luiz Antônio S. Costa, que se tornou mais do que um professor em minha caminhada acadêmica, me apoiando com sua amizade e acreditando no meu trabalho durante todos esses anos.

Aos meus amigos de laboratório, Yuliana, Júlio e Eduardo e demais alunos, que dividiram muitos momentos no NEQC.

Ao aluno de iniciação científica, Frederico, pelo trabalho realizado e por ter contribuído para a minha formação como coorientadora.

Ao professor Hélio F. dos Santos, pelas inúmeras contribuições no desenvolvimento desse trabalho.

A todos os meus amigos e familiares, que direta ou indiretamente estiveram presentes durante essa etapa.

As agências de fomento à pesquisa, CAPES, FAPEMIG e CNPq, pela bolsa e pelo suporte financeiro ao laboratório.

À Universidade Federal de Juiz de Fora, onde cursei desde a graduação até o Doutorado.

## RESUMO

Vários estudos com complexos polinucleares de platina (II) inertes para substituição (SI-PPC) têm sido sintetizados nos últimos anos devido à forma de ligação ao *DNA* apresentada por esses compostos. Esse novo tipo de coordenação é obtido pelo reconhecimento molecular por meio da formação de estruturas não covalentes, comumente chamadas de grampos e garfos de fosfato, que geram pequenas alterações dos sulcos maior e menor do *DNA*. Esses compostos têm apresentado também, alta capacidade de inibir o processo de metástase através da interação com outras biomoléculas que contém grupos sulfatos, como os glicosaminoglicanos, estabilizando tais grupos e inibindo a atividade de enzimas que estão relacionadas com o processo de angiogênese e conseqüentemente, o processo de metástase. Neste trabalho, usamos simulações de dinâmica molecular (DM) para estudar a formação dessas estruturas cíclicas entre diferentes SI-PPCs e biomoléculas. Os resultados mostraram a influência do complexo através do número de grampos e garfos de fosfato formados. Com base na caracterização conformacional dos fragmentos de *DNA*, mostramos que os SI-PPCs estudados interagem preferencialmente no sulco menor, exceto por dois deles, monoplatinNC e AH44. Os fosfatos dos pares citosina-guanina (C-G) são os principais locais para essas interações não-covalentes. Por outro lado, este trabalho apresenta diversas análises das interações não-covalentes formadas entre uma molécula de heparina (código PDB: 1HPN) e SI-PPCs obtidas através de simulações de dinâmica molecular. Os resultados das análises de posições atômicas mostraram que os complexos diplatinNC e AH44, ambos complexos carregados com carga 6+, foram os mais rígidos. Por outro lado, uma análise de flutuação atômica mostrou que há uma redução na flutuação dos átomos na região central da molécula de heparina, assim como a análise da área de superfície acessível ao solvente (SASA) indica uma redução na área acessível da heparina pelo solvente ao interagir com SI-PPCs. A avaliação das ligações de hidrogênio confirma a formação de ligações não covalentes, o que pode sugerir uma diminuição da ação do 1HPN impedindo a ação das enzimas sobre este substrato. Pelo que sabemos, este trabalho é o primeiro relacionado a SI-PPCs que traz simulações de DM e uma análise completa das interações não-covalentes com diferentes biomoléculas.

**Palavras-chave:** Grampos de fosfato. Dinâmica molecular. SI-PPCs. Interações não-covalentes. Glicosaminoglicanos.

## ABSTRACT

Several studies with inert platinum (II) polynuclear complexes for substitution (SI-PPC) have been carried out in recent years due to the new DNA binding modes presented by these compounds. This form of bonding is achieved by molecular recognition through the formation of non-covalent structures, commonly called phosphate clamps and forks, which generate small changes in the major and minor DNA grooves. These compounds have also shown a high capacity to prevent the process of metastasis through interaction with other biomolecules that contain sulfate groups, such as glycosaminoglycans, stabilizing such groups and inhibiting the activity of enzymes that are related to the angiogenesis process and, consequently, the metastasis process. In this work, we use molecular dynamics (MD) simulations to study the formation of these cyclic structures between different SI-PPCs and biomolecules. The results showed the influence of the complex on the number of phosphate clamps and forks formed. Based on the conformational characterization of the DNA fragments, we show that the SI-PPCs studied here preferentially interact in the minor groove, except for two of them, monoplatinNC and AH44. The phosphates of the cytosine-guanine (C-G) pairs are the main sites for these non-covalent interactions. On the other hand, this work presents several analyzes of the non-covalent interactions formed between a heparin molecule (code PDB: 1HPN) and SI-PPCs obtained through molecular dynamics simulations. The results of the analysis of atomic positions showed that the diplatinNC and AH44 complexes, both complexes with 6+ charge, were the most rigid. On the other hand, an atomic fluctuation analysis showed that there is a reduction in the atomic fluctuation of atoms in the central region of the heparin molecule, as well as the analysis of the solvent accessible surface area (SASA) indicates a reduction in the accessible area of heparin by the solvent when interacting with SI-PPCs. The assessment of hydrogen bonds data confirms the formation of non-covalent bonds, which may suggest a decrease in the action of 1HPN preventing the action of enzymes on this substrate. As far as we know, this work is the first related to SI-PPCs that brings DM simulations and a complete analysis of non-covalent interactions with different biomolecules.

**Keywords:** Phosphate clamps. Molecular dynamics. SI-PPCs. Non-covalent interactions. Glycosaminoglycans.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diferenças entre tipos de tumores.....	17
Figura 2 - Número estimado de novos casos em 2018, em todo o mundo considerando todos os tipos de câncer, ambos os sexos e todas as idades. ....	18
Figura 3 - Fórmula estrutural plana do composto <i>cis</i> -diaminodicloretoplatina(II). ....	20
Figura 4 - Estruturas dos complexos de platina (II) aprovados para uso clínico: (a) carboplatina; (b) oxaliplatina; (c) nedaplatina; (d) lobaplatina; (e) heptaplatina. ....	20
Figura 5 - Representação esquemática da reação de hidrólise da cisplatina. ....	24
Figura 6 - Fórmula estrutural plana do composto BBR3464.....	24
Figura 7 - Estruturas dos SI-PPCs. ....	26
Figura 8 - Estrutura geral dos modos de interação entre um centro de platina não covalente e um grupo fosfato. (a) Grampo de fosfato (b) Garfo de fosfato. ....	27
Figura 9 - Esquema representativo dos principais modos de interação entre SI-PPCs e DNA. ....	29
Figura 10 - Estrutura dos ligantes clássicos de sulco menor. ....	30
Figura 11 - Analogias entre grampos de fosfatos com garfos de argininas em biomoléculas de membrana. ....	32
Figura 12 - Semelhança entre as biomoléculas DNA e heparina. ....	34
Figura 13 - Modelo mimético dos compostos não covalentes.....	37
Figura 14 - Esquemas da estrutura do modelo de heparina. ....	42
Figura 15 - Variação temporal para o fragmento 24_bp_DNA: temperatura da rampa de aquecimento (a), temperatura da etapa de produção (b), densidade durante a última etapa de produção (c), volume durante a última etapa de produção (d), energia total, cinética e potencial durante a última etapa de produção. ....	44
Figura 16 - Variação temporal para o 1HPN: temperatura da rampa de aquecimento (a), temperatura da etapa de produção (b), densidade durante a última etapa de produção (c), volume durante a última etapa de produção (d), energia total, cinética e potencial durante a última etapa de produção. ....	45
Figura 17 - (a) Gráfico das flutuações do RMSD do modelo mimético. (b) Análise dos ângulos diedros. ....	47
Figura 18 - Variação das distâncias de ligação ao longo da trajetória. ....	48
Figura 19 - Variação dos ângulos de 180° ao longo da trajetória. ....	49
Figura 20 - Variação dos ângulos de 90° ao longo da trajetória. ....	50

Figura 21 - (a) Estrutura do complexo MonoplatinNC (os átomos de hidrogênio foram omitidos para uma melhor visualização). (b) Gráfico do RMSD mostrando exemplos de conformações do complexo durante a trajetória.....	51
Figura 22 - (a) Gráfico das flutuações de RMSF dos átomos envolvidos no centro de Platina (II); (b) RMSF dos átomos de C e N envolvidos nos ligantes hexanodiamino.....	52
Figura 23 - Gráficos das flutuações do RMSD.....	53
Figura 24 - Representação das condições periódicas de contorno do evento relacionado aos picos do gráfico do RMSD próximos de 50ns. ....	54
Figura 25 - Sobreposição das estruturas do <i>DNA</i> obtidas ao final da simulação, em azul, e da estrutura relatada no <i>PDB</i> , em vermelho.....	55
Figura 26 - Larguras de sulco menor e maior para DDD···MonoplatinNC* (círculo vermelho), DDD···DiplatinNC* (triângulos azuis claros), DDD···AH44* (triângulo roxo), DDD···AH78P * (triângulo rosa), DDD···TriplatinNC* (losango verde), DDD···AH78H * (triângulo azul escuros, e para o controle DDD** (1BNA, quadrado preto).....	57
Figura 27 - Parâmetros base-base para DDD···MonoplatinNC* (losango azul), DDD···DiplatinNC* (círculo laranja), DDD···AH44* (triângulo cinza) DDD···AH78P* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC* (quadrado vermelho), DDD···AH78H* (quadrado verde) e 1BNA** (círculo preto). ....	58
Figura 28 - Parâmetros de Inter-base para DDD···MonoplatinNC* (losango azul), DDD···DiplatinNC* (círculo laranja), DDD···AH44* (triângulo cinza) DDD···AH78P* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC* (quadrado vermelho), DDD···AH78H* (quadrado verde) e 1BNA** (círculo preto). ....	59
Figura 29 - Parâmetros de eixo-base para DDD···MonoplatinNC* (losango azul), DDD···DiplatinNC* (círculo laranja), DDD···AH44* (triângulo cinza) DDD···AH78P* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC* (quadrado vermelho), DDD···AH78H* (quadrado verde) e 1BNA** (círculo preto). ....	60
Figura 30 - Estruturas finais da trajetória de simulação destacando as principais estruturas não-covalentes formadas entre os SI-PPCs e DNA.....	65
Figura 31 - Posição do complexo TriplatinNC em diferentes tempos de simulação. ....	66
Figura 32 - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com DDD. Os átomos de hidrogênio dos SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção...68	68
Figura 33 - Número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória. ....	69

- Figura 34 - Gráficos das flutuações do RMSD..... 71
- Figura 35 - Larguras médias dos sulcos menor e maior para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (círculos vermelhos), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (triângulos azuis claros), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos roxos claros), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos rosa), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (losangos verdes), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (triângulos azuis escuros), e para o controle 24\_bp\_DNA\* (quadrados pretos). ..... 72
- Figura 36 - Larguras do sulco menor e maior para o 24\_bp\_DNA···AH78P\* (círculos vermelhos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (triângulos azuis), 24\_bp\_DNA···AH78H \* (triângulos rosa) com cut = 12,0Å e o controle 24\_bp\_DNA\* (quadrados pretos). ..... 73
- Figura 37 - Parâmetros base-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. .... 75
- Figura 38 - Parâmetros inter-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. .... 76
- Figura 39 - Parâmetros eixo-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. .... 77
- Figura 40 - Parâmetros base-base para o 24\_bp\_DNA···AH78P\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA···AH78P \* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. .... 78

Figura 41 - Parâmetros inter-base para o 24_bp_DNA···AH78P* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···AH78P * com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	79
Figura 42 - Parâmetros eixo-base para o 24_bp_DNA···AH78P* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···AH78P * com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	80
Figura 43 - Parâmetros base-base para o 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	81
Figura 44 - Parâmetros inter-base para o 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	82
Figura 45 - Parâmetros eixo-base para o 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···TriplatinNC* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	83
Figura 46 - Parâmetros base-base para o 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	84
Figura 47 - Parâmetros inter-base para o 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	85
Figura 48 - Parâmetros eixo-base para o 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24_bp_DNA···AH78H* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2. ....	86
Figura 49 - Principais estruturas não-covalentes formadas ao final de 200 ns dos sistemas 24_bp_DNA ··· SI-PPCs mostrando as principais interações não covalentes. ....	88
Figura 50 - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com 24_bp_DNA. Os átomos de hidrogênio de SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção. ....	91
Figura 51 - Distribuição espacial dos complexos AH78P, TriplatinNC e AH78H com valores de cut 6,0Å e 12,0Å interagindo com 24_bp_DNA. Os átomos de hidrogênio dos complexos foram omitidos para melhor visualização. Essas representações	

referem-se a uma amostra de 50 estruturas selecionadas da trajetória de produção. .....	93
Figura 52 - Número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória. Foi contabilizado o número de passos em que duas ou mais ligações de hidrogênio ocorreram simultaneamente. ....	94
Figura 53 - Principais estruturas não-covalentes formadas ao final de 200ns dos sistemas 1HPN···SI-PPCs mostrando as principais interações não-covalentes. ....	96
Figura 54 - Gráficos das flutuações do RMSD.....	98
Figura 55 - Superfície acessível ao solvente (SASA) do 1HPN.....	99
Figura 56 - RMSF para átomos específicos para os sistemas MonoplatinNC···1HPN (azul); DiplatinNC···1HPN (laranja); AH44···1HPN (cinza); AH78P···1HPN (roxo); TriplatinNC···1HPN (vermelho); AH78H···1HPN (verde); controle 1HPN (preto). .....	100
Figura 57 - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com 1HPN. Os átomos de hidrogênio e carbono dos SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção. ....	103
Figura 58 - Definição dos eixos mostrando as duas cadeias principais destacadas em vermelho. As linhas vermelhas que conectam as representações das bases à cadeia principal representam o ponto onde elas estão conectadas.....	120
Figura 59 - Representação esquemática dos parâmetros Base-base.....	120
Figura 60 - Representação esquemática dos parâmetros Inter-base.....	121
Figura 61 - Representação esquemática dos parâmetros eixo-base.....	121

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Conjuntos de constante de força de ligação $K_b$ em $kcal.mol^{-1}.Å^{-2}$ e ângulo $K_\theta$ em $kcal.mol^{-1}.rad^{-2}$ do centro metálico do modelo mimético e do composto MonoplatinNC.....	39
Tabela 2 - Valores médios das energias de interação em $kcal.mol^{-1}$ para um tempo de simulação de 200ns.....	61
Tabela 3 - Tipos e bases nitrogenadas envolvidas nas interações formadas ao longo da trajetória de simulação. * .....	63
Tabela 4 - Valor médio das distâncias P-P dos sulcos maiores e menores do fragmento 24_bp_DNA. Todos os valores estão expressos em Å.....	74
Tabela 5 - Valores médios de energias de interação com tempo de simulação de 200ns, em $kcal mol^{-1}$ . A média é obtida a partir de um conjunto conformacional com 2.000 estruturas. ....	89
Tabela 6 - Contribuição entrópica dos movimentos translacional, rotacional e vibracional para os sistemas 24_bp_DNA···SI-PPCs. Todos os valores estão em $kcal mol^{-1}$ e a temperatura é 298,15 K. ....	90
Tabela 7 - Distância entre os átomos de S12 e S292, em Å. ....	97
Tabela 8 - Número de ocorrências de estruturas não-covalentes ao longo da trajetória de simulação.....	101
Tabela 9 - Valores médios de energias de interação com tempo de simulação de 200ns, em $kcal mol^{-1}$ . A média é obtida a partir de um conjunto conformacional com 2.000 estruturas. ....	104
Tabela 10 - Contribuição entrópica dos movimentos translacional, rotacional e vibracional para os sistemas SI-PPCs···1HPN. Todos os valores estão em $kcal mol^{-1}$ e a temperatura é 298,15 K. ....	104
Tabela 11 - Parâmetros intramoleculares de moléculas SI-PPCs: valores de equilíbrio $X_{eq}$ para comprimento de ligação em Å, e constantes de força $K$ para alongamento de ligação em $kcal mol^{-1} Å^{-2}$ .....	116
Tabela 12 - Análise H-bond das interações de hidrogênio formadas entre os grupos $NH_2$ e $NH_3$ presentes nos centros de platina II e os átomos O1P e O2P dos grupos fosfato. ....	122
Tabela 13 - Análise H-bond das interações de hidrogênio formadas entre os grupos $NH_2$ e $NH_3$ presentes nos centros de platina II e os átomos de oxigênio dos grupos sulfatos. ....	125

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A-T	Adenina-Timina
C-G	Citosina-Guanina
DDD	Dickerson-Drew Dodecamer
DFT	Density Functional Theory
DM	Dinâmica Molecular
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
FGF	Fibroblast Growth Factor
GAFF	General AMBER Force Field
GAGs	Glicosaminoglicanos
GB	Generalized-Born
GCO	Global Cancer Observatory
HF	Hartree-Fock
HS	Heparan Sulfate
HSPG	Heparan Sulfate Proteoglycans
IR	Infrared
LJ	Lennard-Jones
MMPBSA	Molecular Mechanics Poisson Boltzmann Surface Area
NAB	Nucleic Acid Builder
NBO	Natural Bond Orbital
NPT	Número De Partículas, Pressão e Temperatura Constantes
NVT	Número De Partículas, Volume e Temperatura Constantes
PDB	Protein Data Bank
PPCs	Polynuclear Platinum Complexes
QM/MM	Quantum Mechanics/Molecular Mechanics
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
RMSD	Root Mean Squared Deviation
RMSF	Root Mean Square Fluctuation
SASA	Solvent Accessible Surface Area
SI-PPCs	Substitution-Inert Polynuclear Platinum Complexes
VFFDT	Visual Force Field Derivation Toolkit
VMD	Visual Molecular Dynamics

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
1.1	<i>Câncer</i> .....	16
1.2	<i>Compostos de platina (II) no tratamento do câncer</i> .....	18
1.3	<i>Estudos teóricos de complexos de platina (II)</i> .....	21
1.4	<i>Compostos polinucleares de platina (II)</i> .....	23
1.5	<i>Interações não covalentes</i> .....	26
1.6	<i>SI-PPCs e DNA</i> .....	28
1.7	<i>SI-PPCs e glicosaminoglicanos</i> .....	31
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>35</b>
2.1	<i>Objetivos específicos:</i> .....	35
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>36</b>
3.1	<i>Simulação por Dinâmica Molecular de SI-PPCs</i> .....	36
3.1.1	<i>Definição das configurações iniciais</i> .....	37
3.1.2	<i>Minimização</i> .....	40
3.1.3	<i>Aquecimento e Equilíbrio</i> .....	40
3.1.4	<i>Produção</i> .....	40
3.2	<i>Simulações por dinâmica molecular de SI-PPCs e biomoléculas</i> .....	41
3.2.1	<i>Parametrização do campo de força para os SI-PPCs e biomoléculas</i> .....	41
3.2.2	<i>Simulações de dinâmica molecular</i> .....	43
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
4.1	<i>Simulações por DM dos compostos não covalentes</i> .....	47
4.2	<i>Análise das interações não covalentes entre SI-PPCs e DNA</i> .....	52
4.3	<i>Análise das interações não covalentes entre SI-PPCs e IHPN</i> .....	95
<b>5</b>	<b>PRODUÇÃO CIENTÍFICA</b> .....	<b>106</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>108</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>110</b>
	<b>ANEXO A – Parâmetros intermoleculares</b> .....	<b>116</b>
	<b>ANEXO B – Representações esquemáticas dos parâmetros estruturais do DNA</b>	<b>120</b>
	<b>ANEXO C – Análise H-Bond SI-PPCs e DNA</b> .....	<b>122</b>
	<b>ANEXO D – Análise H-Bond SI-PPCs e IHPN</b> .....	<b>125</b>
	<b>ANEXO E – Artigos publicados</b> .....	<b>127</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo sendo que em diversos países é uma das quatro principais causas de morte prematura, que é quando esta ocorre antes dos 70 anos de idade. Fatores como envelhecimento da população, crescimento populacional e mudanças na distribuição e prevalência dos fatores de risco à doença vem ocasionando um aumento na incidência e mortalidade por câncer em todo o mundo. Tem-se observado uma transição dos principais tipos de câncer observados nos países em desenvolvimento, ocorrendo uma diminuição nos casos associados a infecções e um aumento dos casos associados à melhoria das condições socioeconômicas com a incorporação de hábitos e atitudes associadas à urbanização (sedentarismo, alimentação inadequada, entre outros) (BRAY *et. al.*, 2018).

A estimativa mundial publicada no ano de 2018, aponta que ocorreram no mundo 18 milhões de casos novos de câncer por ano, incluindo os casos de câncer de pele não melanoma, que somam 1 milhão de casos e o número de óbitos ultrapassa 9 milhões. Dentre os tipos de câncer, os mais comuns são de pulmão, que é o mais incidente no mundo com 2,1 milhões de casos, seguido pelo câncer de mama, cólon e reto, e próstata. Observou-se que a incidência em homens representa 53% dos casos novos, sendo um pouco maior que nas mulheres (BRAY *et. al.*, 2018).

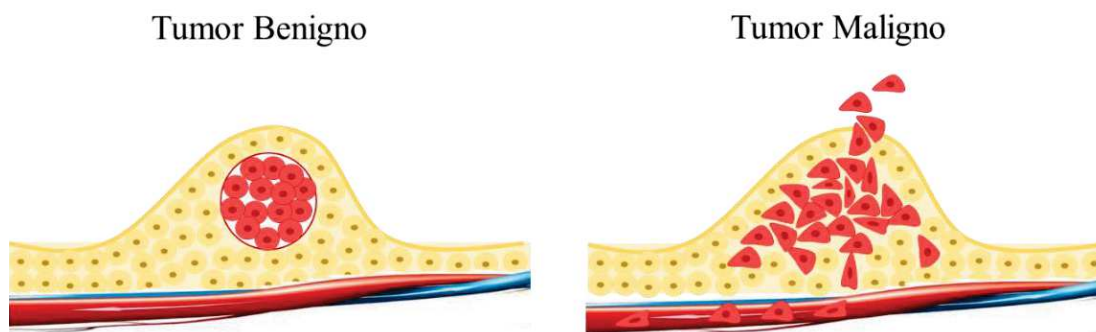
A última estimativa para o Brasil referente ao triênio 2020-2022 aponta que ocorrerão cerca de 625 mil casos novos de câncer por ano, sendo que o câncer de pele não melanoma será o mais incidente (177 mil), seguido pelos cânceres de mama e próstata (66 mil cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e estômago (21 mil). Excluindo-se o câncer de pele não melanoma, os tipos mais incidentes em homens no Brasil serão próstata (29,2%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%). Já nas mulheres os cânceres de mama (29,7%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,4%), pulmão (5,6%) e tireoide (5,4%) figurarão entre os principais. O câncer de pele não melanoma representará 27,1% de todos os casos de câncer em homens e 29,5% em mulheres (INCA, 2019). Os altos índices de incidência de novos casos de câncer incentivam a busca por tratamentos cada vez mais eficientes.

## 1.1 Câncer

O termo câncer vem do grego *karkínos*, que significa caranguejo. Esse termo foi utilizado pela primeira vez por Hipócrates, que é considerado o pai da medicina. Sabe-se que o câncer não é uma doença nova tendo sido detectado em múmias egípcias, o que comprova que essa doença já comprometia a saúde do homem há mais de 3 mil anos antes de Cristo. Atualmente, segundo o Ministério da Saúde, câncer (ou tumor maligno) é definido como sendo um conjunto de mais de 100, doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células. Essas células dividem-se rapidamente e agrupam-se, formando tumores, que por sua vez invadem tecidos e órgãos. O câncer é causado por mutações, que são alterações da estrutura genética do *DNA* (do inglês, *DeoxyriboNucleic acid*) das células, podendo surgir em qualquer parte do corpo, porém alguns órgãos são mais afetados do que outros e um mesmo órgão pode ser acometido por tipos de tumores diferentes, que podem ser mais ou menos agressivos (INCA, 2011).

Os tumores ou neoplasias podem ser benignas ou malignas. As neoplasias benignas ou tumores benignos têm seu crescimento de forma organizada, geralmente lento, expansivo e apresentam limites bem nítidos. Apesar de não invadirem os tecidos vizinhos, podem comprimir os órgãos e tecidos adjacentes. As neoplasias malignas ou tumores malignos, por sua vez, manifestam um maior grau de autonomia e são capazes de invadir tecidos vizinhos e provocar metástases, podendo ser resistentes ao tratamento e causar a morte do hospedeiro. Metástase é a implantação de um foco tumoral à distância do tumor original, decorrente da disseminação do câncer para outros órgãos. O aparecimento de metástases ocorre quando as células cancerígenas se desprendem do tumor primário e entram na corrente sanguínea ou no sistema linfático, podendo circular pelo organismo e se estabelecer em outro órgão (COOK; HURST; WELCH, 2011). De forma ilustrativa, as diferenças entre os tumores benignos e malignos podem ser vistas na Figura 1.

**Figura 1** - Diferenças entre tipos de tumores.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

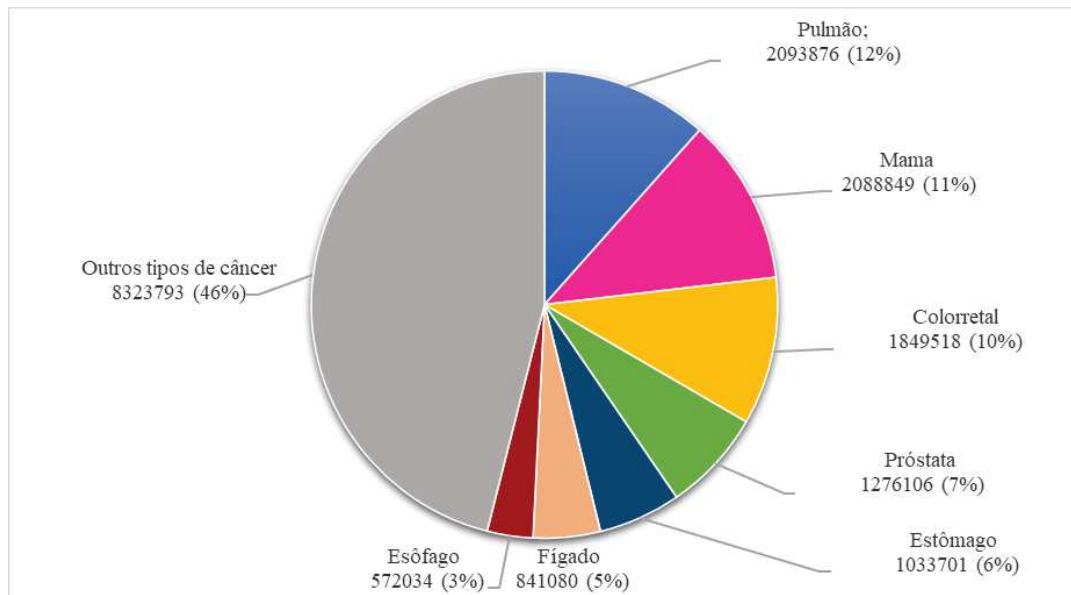
As causas do câncer podem ser diversas, mas estão principalmente relacionadas a dois tipos de fatores: externos e internos, estando ambos inter-relacionados. As causas externas estão relacionadas com o meio ambiente e hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural, como por exemplo substâncias químicas, irradiação, vírus e fatores comportamentais, ou seja, constituem os fatores de risco ambientais. As causas internas como os hormônios, condições imunológicas e mutações genéticas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas e ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões. As causas podem interagir, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células. Cerca de 5% a 10% de todos os tumores malignos têm relação com as características genéticas dos pacientes (FUNDAÇÃO DO CÂNCER, 2019).

A estimativa mundial mostra que em 2012 ocorreram 14,1 milhões de casos novos de câncer (exceto câncer de pele não melanoma) e 8,2 milhões de óbitos. Houve um discreto predomínio do sexo masculino, tanto na incidência (53%), quanto na mortalidade (57%). De modo geral, as maiores taxas de incidência foram observadas nos países desenvolvidos (América do Norte, Europa Ocidental, Japão, Coreia do Sul, Austrália e Nova Zelândia). Taxas intermediárias são vistas na América do Sul e Central, no leste europeu e em grande parte do sudeste asiático (incluindo a China). As menores taxas são vistas em grande parte da África e no sul e oeste da Ásia (incluindo a Índia) (INCA, 2017).

Segundo a Organização mundial da saúde, a incidência de câncer irá aumentar a cada ano. O Global Cancer Observatory (GCO) é uma plataforma interativa online que apresenta estatísticas globais do câncer e, de acordo com essa plataforma, até o ano de 2040, a incidência de casos de câncer poderá alcançar cerca de 29,5 milhões de casos. Em 2018, o número

estimado de novos casos foi de mais de 18 milhões de pessoas. A **Figura 2** mostra o número estimado de novos casos para todos os tipos de câncer em 2018 (GCO, 2019).

**Figura 2** - Número estimado de novos casos em 2018, em todo o mundo considerando todos os tipos de câncer, ambos os sexos e todas as idades.



FONTE: Global Cancer Observatory (2020).

### ***1.2 Compostos de platina (II) no tratamento do câncer***

O tratamento do câncer pode ser feito através de diferentes abordagens, como cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou transplante de medula óssea. Em muitos casos, pode ser necessário combinar mais de uma modalidade. A cirurgia é indicada principalmente quando o câncer está em sua fase inicial, especialmente nos casos de tumores sólidos, com o objetivo de controlar e/ou curar a doença, quando este é o tratamento indicado para o caso. Já a radioterapia consiste em um tratamento no qual se utilizam radiações ionizantes (raio X, por exemplo), energia direcionada para destruir ou impedir que as células do tumor aumentem; os resultados costumam ser muito positivos (CENTRO DE COMBATE AO CÂNCER, 2020a). Existem duas formas de utilizar a radiação no tratamento do câncer: a braquiterapia e a radioterapia externa. A braquiterapia é uma forma de radioterapia na qual uma fonte de radiação selada é colocada no interior ou próxima ao corpo do paciente. Já a radioterapia externa utiliza uma fonte de radiação externa que é emitida de um aparelho em direção ao corpo do paciente. O transplante de medula óssea é indicado como tratamento para alguns tipos de câncer que afetam as células

do sangue, como as leucemias e os linfomas, e consiste na substituição de uma medula óssea doente, ou deficitária, por células saudáveis da medula óssea, com o objetivo de reconstituição de uma nova medula saudável. Por último, a quimioterapia consiste em introduzir na circulação sanguínea, compostos químicos, chamados quimioterápicos, para combater o câncer. Na quimioterapia os medicamentos se misturam com o sangue e são levados a diferentes partes do corpo, destruindo as células doentes que estão formando o tumor e impedindo que se espalhem pelo organismo. Os quimioterápicos são utilizados com quatro finalidades, curativa, adjuvante na prevenção de metástases, prévia ou neoadjuvante utilizada na redução do tumor para posterior cirurgia ou radioterapia e paliativa utilizada para dar melhoria na qualidade de vida e aumento da sobrevivência do paciente (CENTRO DE COMBATE AO CÂNCER, 2020b).

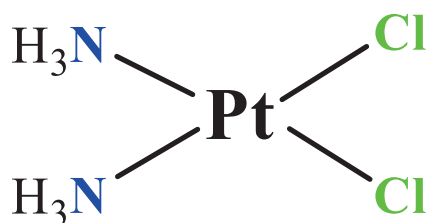
A quimioterapia é uma forma de tratamento sistêmico do câncer onde os medicamentos denominados “quimioterápicos” (ou antineoplásicos) são administrados em intervalos regulares, que variam de acordo com os esquemas terapêuticos. Mais de 100 quimioterápicos são usados no tratamento do câncer, isoladamente ou em combinação com outros medicamentos ou tratamentos. Esses medicamentos apresentam diferenças na composição química, formas de administração, ação específica contra o câncer e nos efeitos colaterais (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2019).

Saber como cada medicamento atua é importante para tentar prevenir os efeitos colaterais. Uma classe de compostos que tem se destacado para o tratamento do câncer são os complexos que contêm metais, como por exemplo platina. O sucesso desses compostos surgiu com a descoberta das atividades antineoplásicas do *cis*-diaminodicloreto platina(II), comumente conhecido como cisplatina (*cis*-DDP) (Figura 3). A cisplatina foi sintetizada pela primeira vez por Peyrone em 1845 (KAUFFMAN *et. al.*, 2010), entretanto o isômero transplatina (*trans*-DDP) já havia sido obtido por Reiset em 1844 (LIPPARD, 1982). A atividade da cisplatina foi descoberta fortuitamente, em 1965, por Rosenberg e colaboradores, através da observação da ação da cisplatina, sobre a indução do crescimento de filamentos em células bacterianas, onde verificaram que tal complexo inibia a divisão celular. Com isso, Rosenberg concluiu que esse complexo poderia agir de maneira semelhante na inibição da divisão celular em células tumorais (ROSENBERG, *et. al.*, 1965; ROSENBERG; VANCAMP, 1970). Desde então, complexos de platina têm sido o foco de diversos (FARRELL, 2015).

Os testes clínicos de fase I para a cisplatina começaram em 1971 e a droga foi aprovada para o tratamento do câncer de próstata em dezembro de 1978. Neste tipo de câncer, a taxa de cura pode atingir 90% dos casos diagnosticados na fase inicial. A cisplatina também é altamente eficaz no tratamento de câncer de ovário, podendo atuar outros tipos de cânceres, como os de

esôfago, colorretal, pulmão, linfoma, melanoma, entre outros (JUNG & LIPPARD, 2007; PETRELLI, *et. al.*, 2016).

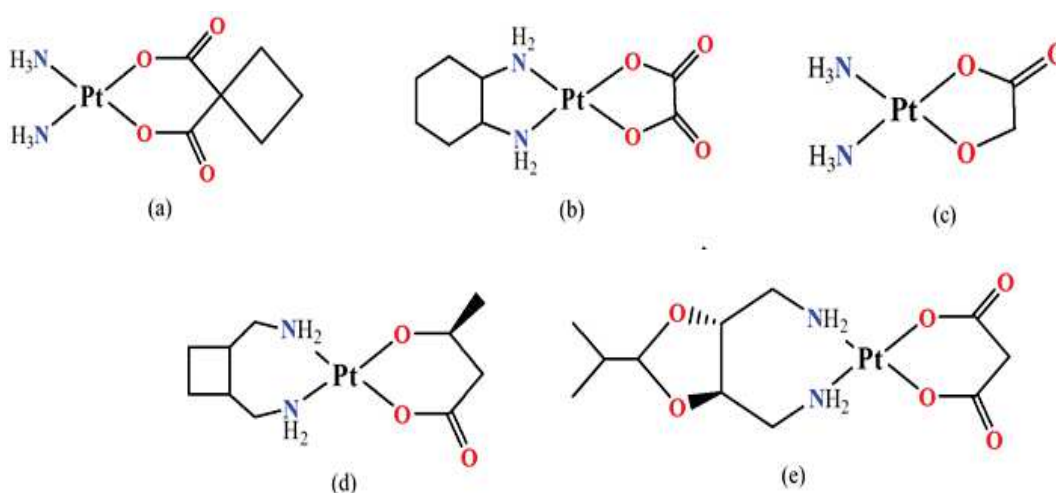
**Figura 3** - Fórmula estrutural plana do composto *cis*-diaminodicloretoplatina(II).



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Atualmente diversas drogas anticâncer a base de platina são utilizadas como agentes citotóxicos e são amplamente prescritos como componentes em quase metade de todos os tratamentos de câncer. Outros dois complexos de platina estão aprovados para uso mundialmente: a carboplatina (Figura 4(a)) e a oxaliplatina (Figura 4(b)), e outros agentes com aprovação mais restrita, como a nedaplatina (Figura 4(c)), aprovada apenas no Japão, a lobaplatina (Figura 4(d)) e a heptaplatina (Figura 4(e)), aprovadas na China e Coréia, respectivamente (OLSZEWSKI & HAMILTON, 2010).

**Figura 4** - Estruturas dos complexos de platina (II) aprovados para uso clínico: (a) carboplatina; (b) oxaliplatina; (c) nedaplatina; (d) lobaplatina; (e) heptaplatina.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Como mencionado anteriormente os compostos de platina, sozinhos ou em combinação com outros fármacos, são bastante usados no tratamento de diferentes tipos de câncer. Isso

demonstra a importância do estudo de tais compostos para o tratamento desta doença, no que diz respeito ao modo de ação e efeitos colaterais. Um novo agente de platina não é aprovado há mais de 10 anos e, portanto, a pesquisa sobre novos medicamentos anticâncer baseados em platina continua a ser realizada, apesar do alto uso desses medicamentos, isoladamente ou em formulações combinadas com outros medicamentos, e encoraja a busca por novos fármacos que possam ser mais eficientes (JOHNSTONE; SUNTHARALINGAM; LIPPARD, 2016). Dessa forma, nos últimos anos, uma nova classe de compostos, que possuem mais de um centro de platina, os PPCs, vem sendo estudada, com o objetivo de encontrar novas drogas, que possuam diferentes modos de ação e efeitos colaterais menos agressivos.

### 1.3 *Estudos teóricos de complexos de platina (II)*

A química teórica, basicamente compreendida em quântica e clássica, tem sido amplamente utilizada nas últimas décadas, através do estudo de diferentes sistemas relacionados ao tratamento do câncer (ALMEIDA *et. al.*, 2019; ROSA *et. al.*, 2019; SÁNCHEZ DELGADO *et. al.*, 2019). Esse aumento é devido em parte ao crescimento da comunidade científica, a popularização de pacotes computacionais de química teórica, a implementação de algoritmos matemáticos e métodos teóricos mais eficientes e equipamentos (computadores e periféricos) com melhor desempenho, em processamento e transmissão de dados, e a custos menores. Dessa forma, o presente trabalho visa realizar o estudo de complexos polinucleares de platina (II) (do inglês, *Polynuclear Platinum Complexes, PPCs*) e suas interações com biomoléculas, através de simulações de dinâmica molecular. Nas próximas seções, o leitor terá acesso ao tema central deste trabalho e à perspectiva de se estudar tais sistemas.

Nas últimas décadas, compostos de platina (II) e suas diferentes formas de interações com alvos distintos têm sido o tema de diferentes estudos teóricos. Podemos encontrar diversos estudos sobre a avaliação do mecanismo de reação da cisplatina e seus análogos com o DNA (ALBERTO *et. al.*, 2009; BAIK; FRIESNER; LIPPARD, 2003; RABER; ZHU; ERIKSSON, 2005) e também sobre o processo de hidrólise, principalmente através de estudos cinéticos e termodinâmicos (ALBERTO *et. al.*, 2009; COSTA *et. al.*, 2003; HUSSAIN; GOUR; DEKA, 2016). Estudos envolvendo cálculos cinéticos e termodinâmicos do mecanismo de hidrólise de *cis*-dicloretoetilenodiaminoplatina (II) foram publicados utilizando o modelo PCM (do inglês, *Polarizable Continuum Method*), para a inclusão dos efeitos do solvente (COSTA *et. al.*, 2004).

Mukherjee e colaboradores avaliaram a citotoxicidade, interação com o DNA e outros parâmetros, através de um estudo teórico e experimental de complexos de platina



mononucleares, bem como suas interações com moléculas contendo átomos de enxofre. A interação entre os centros de platina e os átomos de enxofre foram confirmadas por análises de IR (do inglês, *infrared*) e NBO (do inglês, *Natural Bond Orbital*) (MUKHERJEE *et. al.*, 2016).

Reações de substituição entre a cisplatina e os novos complexos polinucleares de platina (II) (BBR3005 e BBR3464) com biomoléculas doadoras de enxofre, como por exemplo, glutatona, metionina e cisteína, e as bases de purina (guanina e adenina) do DNA foram avaliadas através de um estudo teórico por diferentes metodologias mostrando que o funcional B3LYP pode ser mais adequado para o cálculo do sistema de platina-DNA, quando comparado com o funcional M06. Os resultados demonstraram também que a glutatona é alvo intracelular mais favorável do que as bases do DNA para o complexo BBR3464, confirmando que a platina (II) tem elevada afinidade por biomoléculas contendo átomos de enxofre (CHEN; ZHOU, 2015).

Parâmetros de Lennard-Jones foram obtidos para a cisplatina por Lopes e colaboradores (LOPES *et. al.*, 2006). Tais parâmetros foram relevantes para a descrição da solução aquosa da cisplatina através de simulações de Monte Carlo. Uma análise estatística das interações soluto-solventes foi realizada, observando-se que os grupos  $\text{NH}_3$  estão envolvidos em 53% das ligações de hidrogênio calculadas, com uma contribuição significativa de cloretos (41%) e apenas 6% envolvendo o centro platina (II). Pereira e colaboradores propuseram e modelaram um complexo anticâncer de platina (II), denominado cis-dicloreto-2-aminometilpiridinaplatina (II), ligado a um derivado benzotiazol, desenvolvendo um novo conjunto de parâmetros para o campo de força AMBER, baseados em cálculos utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT) (PEREIRA; PRANDI; RAMALHO, 2020).

Simulações de dinâmica molecular foram realizadas para investigar distorções estruturais do DNA, geradas pela formação de adutos com o complexo monofuncional trinuclear de platina (MTPC), que tem se mostrado um agente antitumoral promissor. O estudo mostra que a coordenação do MTPC com o DNA resulta na diminuição da estabilidade térmica e distorções estruturais do DNA (LI *et. al.*, 2020). O composto BBR3464 foi estudado através de simulações de dinâmica molecular, avaliando a interação nos dois locais de pré-associação, usando cargas obtidas através de cálculos utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT) (MONIODIS *et. al.*, 2015).

Através dessa breve descrição de estudos teóricos de complexos de platina (II), encontrados na literatura, é possível notar uma lacuna existente, principalmente de trabalhos que envolvam simulações de dinâmica molecular de compostos não covalentes, que são o foco do trabalho apresentado nessa tese. A partir disso, o leitor encontrará nas próximas seções a



descrição dos tópicos relacionados ao tema central do trabalho, interações não covalentes entre compostos de platina (II) e biomoléculas.

#### ***1.4 Compostos polinucleares de platina (II)***

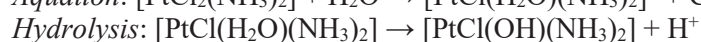
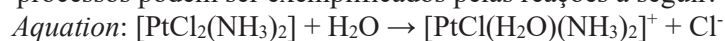
O conceito de PPCs surgiu com foco no principal alvo dos compostos para tratamento de câncer, o DNA, buscando complexos capazes de realizar interações moleculares que não são acessíveis a complexos mononucleares ou agindo por diferentes mecanismos e que permitam um espectro mais amplo de atividade clínica (FARRELL, 2015; MANGRUM; FARRELL, 2010). O desenvolvimento dos PPCs vem crescendo ao longo dos últimos 30 anos, devido à possibilidade desses complexos interagirem a longas distâncias com o DNA, permitindo um dano mais severo e menos facilmente reparável (FARRELL; QU; HACKER, 1990).

Farrell e colaboradores (FARRELL; QU; HACKER, 1990) propuseram a ideia de compostos polinucleares, questionando como diferentes conformações poderiam influenciar na atividade anticâncer de compostos que possuem centros de platina com orientação *cis* e *trans*. Esses compostos têm apresentado também alta capacidade de dificultar o processo de metástase, através da interação com outras biomoléculas que contêm grupos sulfatos, estabilizando tais grupos e inibindo a atividade de enzimas que estão relacionadas com o processo de angiogênese (KATNER *et. al.*, 2018).

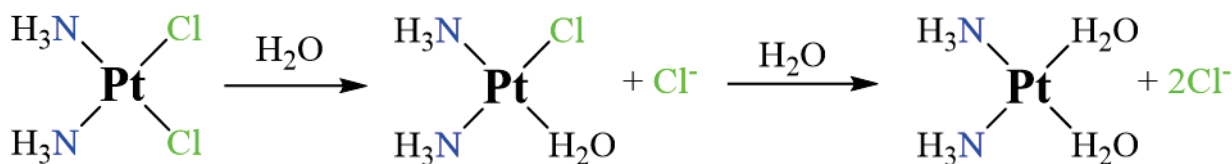
Inicialmente os compostos polinucleares foram propostos de forma análoga à cisplatina, ou seja, contendo grupos abandonadores, com intuito de interagir de forma covalente com o DNA. No caso da cisplatina, quando esta passa para o meio intracelular, ocorre a substituição dos ligantes cloretos por moléculas de água, processo denominado aquação<sup>1</sup>, em português. Essa reação de substituição de ligantes, representada na Figura 5, origina as espécies carregadas positivamente cis-diaminoaquocloretoplatina(II) e cis-diaminodiaquoplatina(II), comumente denominados monoaquo e diaquo, respectivamente.

---

<sup>1</sup> Frequentemente ocorre uma confusão entre os termos *hydrolysis* e *aquation*. A partir disso podemos definir que o termo aquação, refere-se a troca de um ligante (ex.: cloreto) pela molécula de água e o termo *hydrolysis* (hidrólise) refere-se a perda de um H<sup>+</sup> pela molécula de água coordenada. Tais processos podem ser exemplificados pelas reações a seguir:



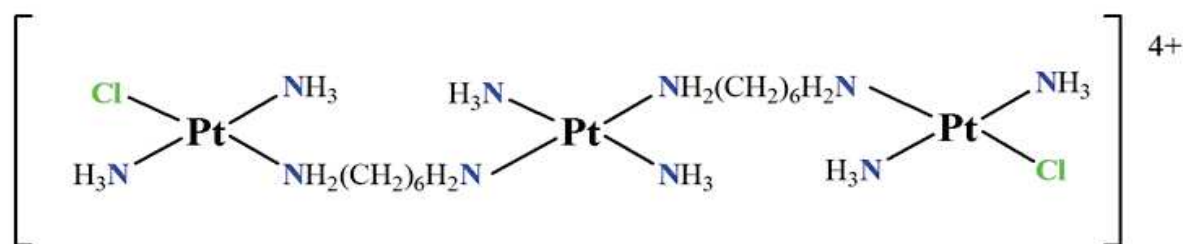
**Figura 5** - Representação esquemática da reação de hidrólise da cisplatina.



FONTE: Elaborado pela autora.

Espera-se que os compostos multinucleares de platina mostrem um espectro de ação bastante distinto do apresentado pela cisplatina e seus análogos mononucleares, pois a interação de tais complexos com o DNA pode ocorrer de forma mais rápida e mais efetiva que nos casos de complexos mononucleares, já que apresentam mais de um centro de platina disponível para se coordenar (BRABEC *et. al.*, 1999). Um composto que demonstrou sucesso para esta abordagem foi o BBR3464 (Figura 6) devido ao avanço em ensaios clínicos humanos de Fase II, sendo este o único análogo do tipo “não-cisplatina” a ser introduzido em humanos (BARRY; SADLER, 2013; FARRELL; QU; HACKER, 1990). O BBR3464 (também denominado como Triplatin) é um agente trinuclear de ligação bifuncional ao DNA, tetrapositivo cujos adutos são estruturalmente diferentes daqueles das drogas mononucleares (FARRELL, 2015).

**Figura 6** - Fórmula estrutural plana do composto BBR3464.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

O avanço para a Fase II de testes clínicos do BBR3464 (Figura 6) foi importante na validação da abordagem dos PPCs e alterou o paradigma de que eram necessários que os compostos de platina fossem neutros para se tornarem clinicamente úteis. Na fase II de testes clínicos participam cerca de 100 a 300 indivíduos que têm a doença ou condição para a qual a droga está sendo estudada e tem como objetivo obter mais dados de segurança e começar a avaliar a eficácia do novo medicamento ou procedimento. Os testes de fase II, geralmente avaliam também diferentes dosagens assim como diferentes indicações do novo medicamento. BBR3464 é um agente citotóxico potente, com valores de IC50 pelo menos 20 vezes mais

baixos do que a cisplatina, para uma ampla gama de tumores humanos sensíveis e resistentes à cisplatina.

Um destaque desse composto são as doses efetivas, de 0,3 a 0,6 mg kg<sup>-1</sup> *in vivo*, que, quando comparadas com as doses padrão de cisplatina, de 3 a 6 mg kg<sup>-1</sup>, apresentam maior citotoxicidade. Essa eficácia impressionante apresentada pelo BBR3464 incluiu regressões tumorais completas em tumores pulmonares. Porém, questões farmacocinéticas, como índice terapêutico<sup>2</sup> relativamente estreito, associado a complicações de aquisições e realinhamento de empresas farmacêuticas, levou o BBR3464 a não avançar além dos ensaios clínicos de Fase II (FARRELL, 2015).

A alta carga do BBR3464 e dos PPCs semelhantes, e a presença de esferas de coordenação do tipo [PtN<sub>4</sub>], que resultam em interações não covalentes ou pré-associação por meio de interações eletrostáticas e de ligações de hidrogênio são observadas, tanto em solução quanto em fase gasosa, com biomoléculas tão diversas como *DNA*, albumina de soro humano e fosfolipídios, devido a porção central do complexo em que a esfera de coordenação do átomo de platina não possui o ligante cloreto (FARRELL, 2015; RUHAYEL *et. al.*, 2009). A substituição de uma ligação Pt-Cl, por NH<sub>3</sub> ou um -NH<sub>2</sub>R, parece prevenir a decomposição por ligantes de enxofre, como por exemplo a glutathione (FARRELL, 2020).

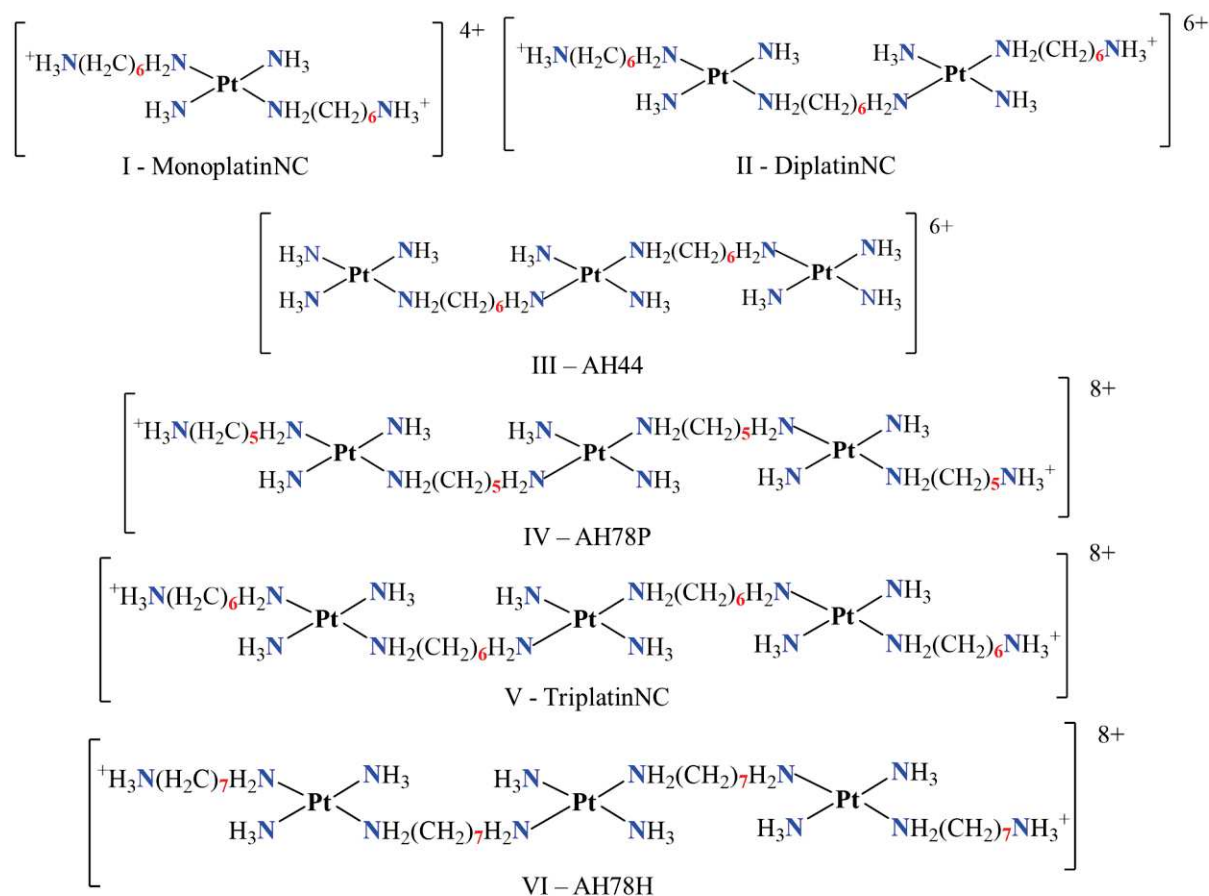
Acreditava-se que as interações covalentes entre os compostos de platina e *DNA* eram essenciais para citotoxicidade dos mesmos, porém o composto TriplatinNC, com carga elevada (+8), contraria outro paradigma, demonstrando citotoxicidade no intervalo micromolar, comparável à cisplatina e seus análogos, devido à formação de interações não covalentes do tipo grampos de fosfato (tradução do inglês, *phosphate clamps*) entre os centros de platina e os grupos fosfato presentes na dupla hélice do *DNA* (HARRIS; RYAN; FARRELL, 2006).

A relevância de tais interações levaram a proposição de alguns compostos capazes de interagir com o *DNA* e outras biomoléculas, apenas de forma não covalente, que são denominados compostos polinucleares de platina (II) com substituintes inertes (do inglês, *Substitution-inert polynuclear platinum complexes*, SI-PPCs) onde as ligações Pt-Cl são substituídas por NH<sub>3</sub> ou amina “pendente” (do inglês, “*dangling*” *amine*) do tipo NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Existe uma ampla gama de possíveis compostos SI-PPCs, da qual destacam-se 6 com carga variando entre +4 e +8 mostrados na Figura 7.

---

<sup>2</sup> Índice Terapêutico é uma proporção que compara a concentração sanguínea na qual um medicamento se torna tóxico e a concentração na qual o medicamento é eficaz. Quanto maior o índice terapêutico, mais segura é a droga.

**Figura 7 - Estruturas dos SI-PPCs.**



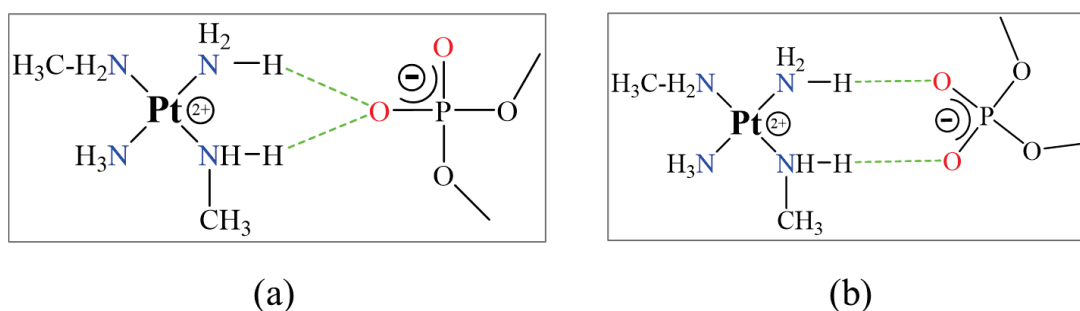
FONTE: Elaborado pela autora (2020).

### 1.5 Interações não covalentes

A ausência de ligantes abandonadores, como por exemplo o cloreto nos SI-PPCs, fez com que tais compostos apresentassem um novo modo de ligação ao DNA, através da formação de ligações não-covalentes, com os átomos de oxigênio presentes nas biomoléculas. Esse é o terceiro modo de ligação com o DNA apresentado por compostos de platina e foi denominado como grupo de fosfato, devido a formação de interações não-covalentes com os grupos fosfato presentes na dupla hélice do DNA. A estrutura do complexo platina-DNA mostra que o centro de platina tem seletividade para os átomos de oxigênio presentes nos grupos fosfato do DNA interagindo através de ligações de hidrogênio formadas entre os grupos amino presentes no complexo trinuclear de platina com os átomos de oxigênio dos grupos fosfato, formando uma estrutura bidentada do tipo  $\text{NH}\cdots\text{O}\cdots\text{HN}$ . Essas estruturas bidentadas são comumente denominadas como grupos de fosfato (KOMEDA *et. al.*, 2006a, 2011).

O grupo de fosfato (Figura 8a) é uma estrutura cíclica em que um único átomo de oxigênio forma duas interações não covalentes do tipo ligações de hidrogênio com dois ligantes amino na posição *cis* de um determinado centro de platina (II). A orientação *cis* dos ligantes amino é fundamental para a formação de tal estrutura, pois ligantes na posição *trans* encontram-se a uma distância muito grande entre os doadores de ligação, o que impede a formação dos grampos de fosfato (KOMEDA *et. al.*, 2006a). Além disso, os grupos envolvidos são Pt-NH<sub>3</sub> e Pt-NH<sub>2</sub>R (KOMEDA *et. al.*, 2011). Komeda e colaboradores relataram que a alta frequência e a regularidade da geometria dessas estruturas sugere que as unidades de platina (II) são utilizadas como elementos de ligação com os ácidos nucleicos. Dessa forma acredita-se que esses elementos podem ser estruturados de forma a maximizar a aproximação com os grupos fosfatos (KOMEDA *et. al.*, 2006a).

**Figura 8** - Estrutura geral dos modos de interação entre um centro de platina não covalente e um grupo fosfato. (a) Grampo de fosfato (b) Garfo de fosfato.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Outra estrutura relatada são os garfos de fosfato que ocorre também entre os centros de platina (II) e os grupos fosfato ou sulfato. Essa estrutura é caracterizada pela formação de um anel de oito membros (incluindo átomos de hidrogênio) estabilizado por duas ligações de hidrogênio entre dois grupos amino na posição *cis* que interagem com dois átomos de oxigênio do fosfato ou sulfato e são semelhantes as estruturas de garfos de arginina (do inglês *Arginine-forks*). Os garfos de arginina são estruturas não covalentes formadas através de ligações de hidrogênio entre os grupos amino de moléculas de arginina e átomos de oxigênio de grupos fosfato e estão relacionados principalmente com o reconhecimento do RNA por proteínas. Os centros de platina (II) do tipo PtN<sub>4</sub> possuem alta seletividade para átomos de oxigênio presentes em biomoléculas como *DNA*, sendo propensos à formação dessas estruturas que possuem geometria altamente conservada (KOMEDA *et. al.*, 2011).

Os compostos não covalentes de platina não possuem ligantes cloretos, o que faz com que esses complexos não sofram reação de substituição no interior da célula, interagindo diretamente com os grupos fosfato ou sulfatos presentes no *DNA* e outras biomoléculas, através da formação de grampos e/ou garfos de arginina. A partir disso, acredita-se que modificar o número de centros de platina e a distância entre eles, possa aumentar a sobreposição dos complexos com o *DNA*, favorecendo a formação dos grampos de fosfato.

### 1.6 SI-PPCs e DNA

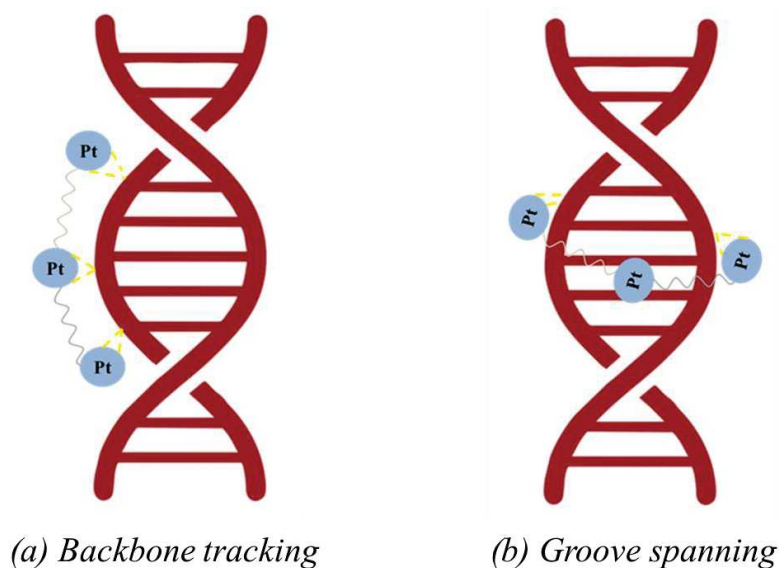
Um dos principais alvos dos SI-PPCs é o DNA, o que está relacionado aos elevados valores de citotoxicidade *in vitro* e acúmulo celular. (HARRIS; RYAN; FARRELL, 2006; QU *et. al.*, 2004) A formação dos grampos de fosfato entre TriplatinNC e DNA altera significativamente a conformação dos grupos fosfato na estrutura conhecida como dodecâmero de Dickerson-Drew, (DDD, [d(CGCGAATTCGCG)]<sub>2</sub>). Os parâmetros helicoidais do DNA são distorcidos e a largura do sulco menor é aumentada quando comparada à estrutura nativa (KOMEDA *et. al.*, 2006b, 2011).

Resultados de cristalografia de raios X mostram que os grampos de fosfato reconhecem dois modos distintos de interação com o DNA, *backbone tracking* e *minor groove spanning*<sup>3</sup>, que aparecem por meio de interações do tipo ligações de hidrogênio (KOMEDA *et. al.*, 2006a, 2016). Essas interações ocorrem através da formação de grampos e garfos de fosfato, onde as unidades de coordenação dos centros de platina com geometria quadrática plana formam todas interações bidentadas através dos átomos N – O – N com átomos de oxigênio OP, dos grupos fosfato. A formação de grampos de fosfato foi confirmada para os compostos BBR3464 e TriplatinNC. Em ambos os casos, a conformação do fragmento DDD diferem significativamente da estrutura nativa (KOMEDA *et. al.*, 2011). Um esquema que representa os modos de interação entre SI-PPCs é mostrado na Figura 9.

---

<sup>3</sup>Para os termos em inglês *backbone tracking* e *minor groove spanning* não foram encontradas traduções que representassem o significado dos mesmos.

**Figura 9** - Esquema representativo dos principais modos de interação entre SI-PPCs e DNA.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Estudos de NMR  $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$  no DDD confirmam a presença do grupo de fosfato em solução e indicaram além da especificidade pela sequência A-T. As mudanças nas constantes de acoplamento  $^1J$  ( $^{195}\text{Pt}-^{15}\text{N}$ ) indicam uma alteração significativa no ambiente químico dos átomos de hidrogênio dos grupos amino/amina, após a formação das estruturas não-covalentes (QU; KIPPING; FARRELL, 2015). Outros estudos revelaram a alta afinidade com oligonucleotídeos, para sequências cada vez mais ricas em AT (KELLETT *et. al.*, 2019; KOMEDA *et. al.*, 2016; PRISECARU *et. al.*, 2014). Estes últimos estudos também sugeriram fortemente que o TriplatinNC interage com o DNA através do modo *minor groove spanning*, para oligômeros ricos em AT enquanto, por outro lado, o composto parece preferir o modo *backbone tracking* em oligômeros ricos em GC (PRISECARU *et. al.*, 2014; QU; KIPPING; FARRELL, 2015).

As interações TriplatinNC-DNA são semelhantes às do grupo guanidino da arginina, demonstrando uma capacidade de fixação ao átomo OP análoga, na qual dois átomos de oxigênio formam uma estrutura semelhante a um garfo de arginina, nesse trabalho denominado como garfo de fosfato (KOMEDA *et. al.*, 2006b, 2011). A pré-associação do BBR3464 ao DNA, antes da formação da ligação covalente, desempenha um papel importante na cinética de ligação, bem como na estrutura dos adutos finais com o DNA, e é provavelmente mediada pelas interações de grupo de fosfato (HEGMANS *et. al.*, 2004; RUHAYEL *et. al.*, 2009).

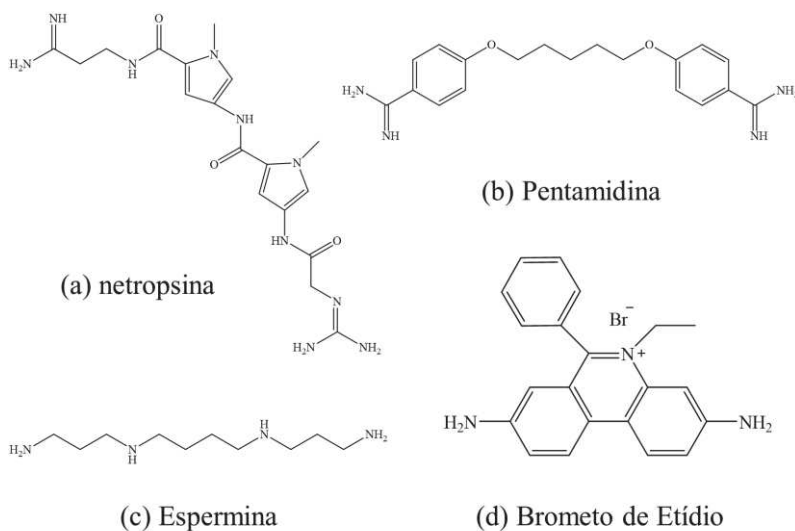
O grupo de fosfato, através do *groove spanning*, possui semelhanças com ligantes clássicos de sulco menor, como por exemplo a netropsina (**Figura 10a**), isso foi verificado



através da estabilização da desnaturação térmica do ácido nucleico, proteção do sulco menor contra alquilação e a presença de muitos contatos no sulco menor AT que foram observados por meio de experimentos de NMR, em sequências ricas em pares A-T (PRISECARU *et. al.*, 2014). Estudos relatam que o modo de interação *backbone tracking* ocorre predominantemente para complexos do tipo TriplatinNC, em sequências contendo pares G-C, enquanto, por outro lado, as interações do tipo *groove spanning* estão localizadas no sulco menor e são especificamente dependentes de sequências A-T. Esse último tem um impacto muito maior na estrutura terciária do ácido nucleico e a residência no sulco menor do complexo de platina é o principal fator que contribui para o efeito de condensação do DNA (PRISECARU *et. al.*, 2014).

Os SI-PPCs apresentam elevados valores de constantes de ligação, em comparação com os valores de ligantes de sulco menor clássicos como a netropsina e a pentamidina (**Figura 10b e c**) (PRISECARU *et. al.*, 2014). A afinidade também é maior do que para o brometo de etídio (**Figura 10d**), porém observa-se que as afinidades de ligação não mudam significativamente com a variação estrutural, como por exemplo, aumento da cadeia carbônica entre os centros de platina (MALINA; FARRELL; BRABEC, 2014a, 2014b).

**Figura 10** - Estrutura dos ligantes clássicos de sulco menor.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Malina e colaboradores relataram que os SI-PPCs têm alta capacidade para condensar/agregar ácidos nucleicos, bem como inibir atividades enzimáticas relacionadas ao DNA. Essas propriedades tornam-se mais pronunciadas com o aumento da carga, de modo que o TetraplatinNC tem uma maior capacidade de condensar os ácidos nucleicos quando comparado ao MonoplatinNC, DiplatinNC e TriplatinNC (MALINA *et. al.*, 2019; MALINA;



FARRELL; BRABEC, 2019). Os resultados confirmaram as vantagens estruturais do grampo de fosfato formados por SI-PPCs, em comparação com poliaminas flexíveis, como a espermina (**Figura 10c**), um conhecido agente de condensação de DNA, na capacidade de gerar fenômenos de condensação e agregação em oligonucleotídeos (MALINA; FARRELL; BRABEC, 2019).

Os estudos também mostram que aumentar a carga total do completo através da adição de grupos amina “pendente” do tipo  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{NH}_3^+$  no lugar de  $\text{NH}_3$  melhora o desempenho de SI-PPCs, em termos de atividade de condensação e inibição de processos enzimáticos relacionados ao DNA. Outro ponto importante a se destacar é que o AH44, que possui três centros metálicos, atinge maior condensação e atividade inibitória do que o diplatinaNC, que possui a mesma carga, porém com aminas “pendentes” e apenas dois centros metálicos (MALINA *et. al.*, 2019). A partir desses resultados foi possível relacionar o aumento da molécula com um relevante aumento nas alterações observadas no DNA, devido à homogeneidade da distribuição de carga no DNA.

### ***1.7 SI-PPCs e glicosaminoglicanos***

Estudos recentes mostraram que outro provável alvo para os PPCs seriam os glicosaminoglicanos (GAGs), como o sulfato de heparano (HS), que são polissacarídeos lineares compostos por unidades de dissacarídeos repetidas. Glicosaminoglicanos (GAGs), como HS, são polissacarídeos aniônicos não ramificados encontrados *in vivo* como grandes unidades estruturais de proteína (HSPG) ou conjugados de lipídeos de tamanho variável. Os GAGs interagem com muitas proteínas importantes, como fatores de crescimento, proteases, proteínas de ligação a lipídios e proteínas de adesão, exercendo papéis regulatórios cruciais para uma gama de atividades biológicas, incluindo adesão e migração celular, angiogênese, progressão tumoral, modulação de respostas imunológicas e progressão da doença (CHIODELLI *et. al.*, 2015; WEISS; ESKO; TOR, 2017).

Estas moléculas estão diretamente relacionadas aos processos de angiogênese e metástase e quando conjugadas a proteínas são encontradas na superfície celular e matriz extracelular com funções críticas na adesão e migração celular. A partir disso, as pesquisas começaram a direcionar sua atenção para as interações de compostos de coordenação com biomoléculas de membrana e componentes da matriz extracelular. Essa direção começou com a descoberta de um novo mecanismo de captação celular para os PPCs e foi estimulada a partir dos resultados de acumulação celular, apresentados pelo BBR3464 e TriplatinaNC, com valores

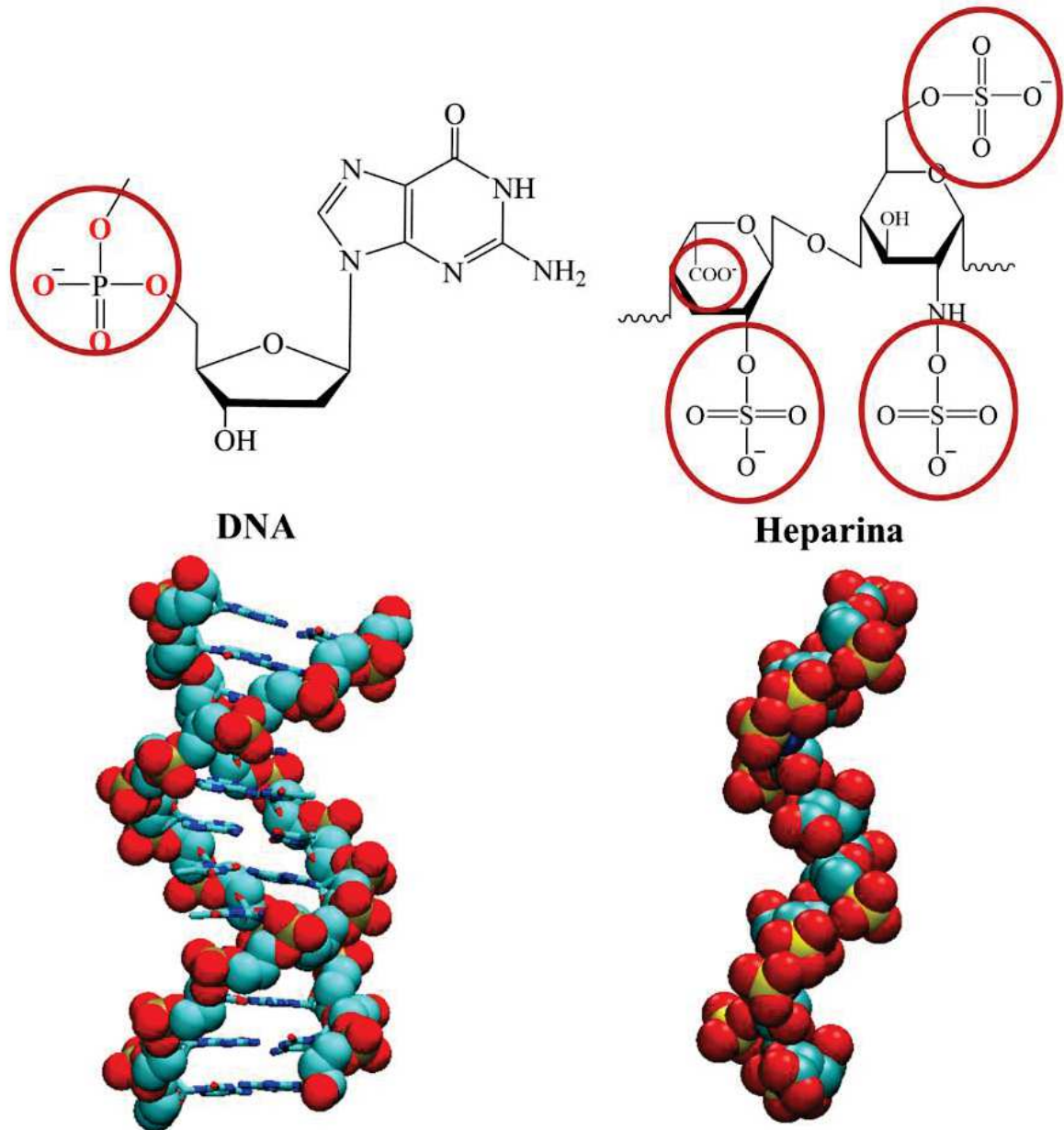


A heparina é um GAG sulfatado localizado nos mastócitos e é amplamente utilizado como uma droga anticoagulante. A diferenciação entre a heparina e o HS pode ser complicada, mas é aceito que a heparina é mais sulfatada do que seu análogo HS. Contudo, Gallagher e colegas sugeriram que essa diferenciação poderia ser baseada no número de certas estruturas na molécula. Nesse caso, as heparinas são as moléculas que possuem um número maior de fragmentos N-sulfatados do que fragmentos N-acetilados e também possuem mais grupos O-sulfatados do que grupos N-acetilados (GALLAGHER; WALKER, 1985; HUMPHRIES *et. al.*, 1999). A heparina é sintetizada dentro dos mastócitos de algumas espécies de animais, enquanto os sulfatos de heparano estão presentes na superfície celular das espécies.

Uma vez produzida pelo corpo, a heparina/sulfato de heparano geralmente interage com diferentes alvos proteicos através da formação de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas entre as regiões sulfatadas do polissacarídeo e os aminoácidos presentes na proteína (CHIODELLI *et. al.*, 2015; LIMA *et. al.*, 2015). Os proteoglicanos de sulfato de heparano estão diretamente ligados a diferentes funções biológicas importantes, como a interação com fatores de crescimento pró-angiogênicos, como o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), que está diretamente relacionado à proliferação de tumores e células endoteliais, bem como à migração e sobrevivência celular (HUDAK; BERTOZZI, 2014; LIMA *et. al.*, 2015). HSPGs são clivados tanto por enzimas bacterianas, como a heparinase, quanto pela heparanase, esta última presente em grandes quantidades em vários tumores e sua presença está correlacionada com o potencial metastático. Essa clivagem de HSPGs por enzimas degrada a matriz extracelular e está relacionada à liberação de fatores de crescimento para a angiogênese tumoral. Assim, os HSPGs são alvo de diferentes drogas que podem diminuir os níveis de proliferação, invasão, angiogênese e migração tumoral (BARAZ *et. al.*, 2006; VLODAVSKY *et. al.*, 1999).

A natureza altamente aniônica da heparina e do HS significa que eles estão associados *in vivo* com cátions fisiologicamente relevantes, da mesma forma que os ácidos nucleicos. A semelhança conformacional entre HS e DNA (Figura 12) justifica a escolha desses alvos para este estudo. (KATNER *et. al.*, 2018) Assim, os SI-PPCs podem interagir com tais biomoléculas por meio de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio com grupos sulfato, por meio da formação de grampos e garfos de sulfato de maneira semelhante ao que ocorre com o DNA, conforme descrito anteriormente. A formação dessas interações inibe a clivagem dos oligossacarídeos realizada pelas enzimas heparanase e heparinase, levando à inibição da angiogênese.

Figura 12 - Semelhança entre as biomoléculas DNA e heparina.



FONTE: Adaptado de KATNER *et. al.*, 2018

## 2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo central avaliar as interações formadas entre compostos do tipo SI-PPCs (do inglês, *Substitution-inert polynuclear platinum complexes*) com os alvos biológicos DNA e HS em solução aquosa através de simulações de dinâmica molecular (DM). Os complexos SI-PPCs propostos nesse trabalho são: MonoplatinNC, DiplatinNC, AH44, AH78P, TriplatinNC e AH78H, com cargas variando entre +4 e +8.

Uma análise cuidadosa sobre as energias de interação foi conduzida como consequência de uma completa avaliação das mudanças estruturais sofridas nos alvos biológicos em função dessas interações não-covalentes, incluindo uma determinação sobre o número de ligações de hidrogênio (chamadas posteriormente de H-bond) das estruturas de grampos e garfos formados.

### 2.1 *Objetivos específicos:*

- a) utilizar metodologias quânticas para a otimização e parametrização dos SI-PPCs estudados com o objetivo de fornecer os parâmetros necessários para as simulações de Dinâmica Molecular;
- b) realizar cálculos de simulações por Dinâmica Molecular dos compostos não covalentes, com o objetivo de desenvolver a metodologia para os compostos estudados, buscando aprimorar a definição dos parâmetros intermoleculares, bem como obter familiarização com o método escolhido para o presente trabalho;
- c) modelos de interação entre SI-PPCs e biomoléculas, como fragmentos de DNA e HS, e realizar cálculos de simulações por Dinâmica Molecular com o intuito de analisar os possíveis efeitos estruturais gerados pela formação das estruturas não-covalentes, bem como as características das estruturas formadas;
- d) analisar a influência de fatores como tamanho do fragmento de DNA e raio de corte (cut) de interações não ligadas sobre a dinâmica da formação dos grampos e garfos de fosfato.

### 3 METODOLOGIA

Nesse trabalho, foi escolhido o método de Dinâmica Molecular (DM) clássica para simular a evolução temporal das interações não covalentes formadas entre SI-PPCs (do inglês, *Substitution-inert polynuclear platinum complexes*) e biomoléculas como DNA e HS, pois, apesar da existência de alguns estudos teóricos envolvendo compostos polinucleares de platina (II), notou-se que os métodos quânticos são os mais utilizados. A partir disso, observou-se uma vacância na literatura, no que diz respeito a trabalhos que envolvem métodos de simulação de Dinâmica Molecular, sendo encontrado apenas um trabalho que relata simulações de DM, com os compostos BBR3464 e AH44, com o objetivo principal de comparar com resultados experimentais de NMR (MONIODIS *et. al.*, 2015).

A dinâmica molecular (DM) é uma forma de simulação computacional cujo foco principal é o estudo do comportamento de um sistema de partículas em função do tempo. Uma das vantagens dos cálculos de dinâmica molecular é a possibilidade da inclusão do solvente de forma explícita. Além do solvente este método permite a inclusão de íons para neutralizar cargas do sistema. Por outro lado, uma limitação para a simulação da dinâmica molecular reside no fato de que para cada nano segundo de simulação são necessários milhões de passos dependendo dos parâmetros definidos para a simulação, acarretando em um custo computacional elevado.

A relevância desse estudo está centrada no fato de que a DM pode fornecer informações relevantes sobre a evolução temporal das estruturas não-covalentes e suas ações sobre as biomoléculas, fornecendo ferramentas que podem auxiliar na descrição de tais estruturas, caracterizando as potencialidades do emprego de SI-PPCs como possíveis fármacos que podem ser utilizados nas terapias anticâncer, bem como agentes antimetastáticos.

#### 3.1 Simulação por Dinâmica Molecular de SI-PPCs

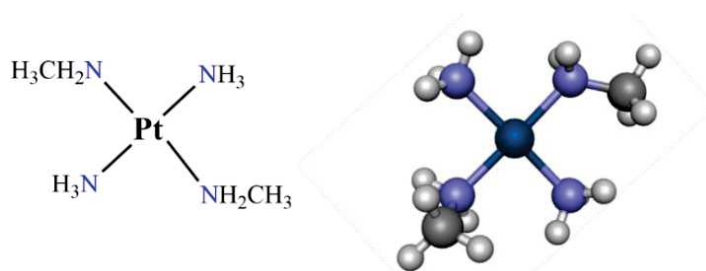
Antes de conduzir as simulações dos sistemas contendo os SI-PPCs e as biomoléculas, foi necessário determinar os parâmetros que compõem o campo de força para os complexos de platina. Nessa perspectiva, essa seção foi subdividida de acordo com as etapas realizadas, desde a definição das configurações iniciais para um modelo mimético para o centro de platina até a etapa final de produção.



### 3.1.1 Definição das configurações iniciais

Inicialmente, foi escolhido um modelo mimético dos compostos não covalentes formado apenas pelo centro de platina (II), com carga +2 (Figura 13), para o desenvolvimento da metodologia. Esse modelo foi escolhido com o propósito de se ambientar com o método escolhido, buscando aprimorar a determinação dos parâmetros que compõem o campo de força, pois o pacote computacional AMBER<sup>®</sup> (CASE *et. al.*, 2012), empregado nas simulações de DM, não possui os parâmetros do campo de força para sistemas contendo íons metálicos como os SI-PPCs. A partir disso, o procedimento de parametrização realizado para o modelo mimético permitiu a familiarização com o método de forma eficaz e em um espaço de tempo razoável, fazendo parte de um trabalho de conclusão da disciplina Bioinformática e Biologia Computacional, cursada no Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional da UFJF.

**Figura 13** - Modelo mimético dos compostos não covalentes.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A estrutura inicial do modelo mimético foi obtida através de um cálculo de otimização de geometria e foi caracterizada como estrutura de mínimo na superfície de energia potencial com um cálculo de frequências harmônicas, utilizando o programa Gaussian09 (GAUSSIAN09, 2009), com o funcional da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) B3LYP (BECKE, 1993; LEE C, YANG W, 1988) e o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p) para os átomos de C, N e H (MCLEAN; CHANDLER, 1980). Para representar o átomo de platina foi utilizado o pseudopotencial LANL2DZ (HAY; WADT, 1985a). A abordagem com o modelo mimético teve como objetivo principal a familiarização com as simulações de dinâmica molecular. Para o modelo mimético foram realizadas todas as etapas necessárias para as simulações, como minimização, aquecimento, equilíbrio e produção. Posteriormente foi estudado o complexo denominado MonoplatinNC, cuja estrutura inicial foi obtida através de

cálculos de otimização de geometria e frequências harmônicas em mesmo nível teórico, citado anteriormente para o modelo mimético.

Para os demais compostos não-covalentes, diplatinoNC, AH44, AH78P, TriplatinoNC e AH78H, não foram realizadas simulações apenas dos compostos isolados. As estruturas dos compostos diplatinoNC, AH44, AH78P, TriplatinoNC e AH78H foram avaliadas nas simulações contendo as biomoléculas DNA e heparina, pois o interesse de tal estudo é avaliar a formação das interações não covalentes entre compostos multinucleares de platina (II) e grupos fosfato e sulfato presentes em tais biomoléculas.

Para a realização das simulações, é necessário definir um campo de força, que é um conjunto completo dos potenciais de interação entre as partículas. O campo de força empírico é conhecido como uma função energia potencial e permite que a energia potencial total do sistema,  $V(r)$ , seja calculada a partir da estrutura tridimensional do sistema.  $V(r)$  é descrito como a soma de vários termos de energia, incluindo os termos para átomos ligados (comprimentos e ângulos de ligação, ângulos diedros) e os termos para átomos não ligados (interações de van der Waals e de Coulomb). Um típico campo de força é representado pela equação 1.

$$V(r) = \sum_{\text{ligações}} k_b [r - r_{eq}]^2 + \sum_{\text{ângulos}} k_\theta [\theta - \theta_{eq}]^2 + \sum_{\text{diedros}} \frac{k_d}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{\text{não-ligados}} \left\{ \left[ \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right] + \left[ \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \right] \right\} \quad \text{Equação 1}$$

Na equação 1, o primeiro somatório é referente aos parâmetros que descrevem as ligações, onde  $k_b$  são as constantes de força de estiramento em  $kcal.mol^{-1}.\text{Å}^{-2}$  e  $r_{eq}$  é o comprimento de ligação na posição de equilíbrio, em  $\text{Å}$ . O segundo somatório, denominado como “ângulos” é referente aos parâmetros que descrevem os ângulos de ligações, onde  $k_\theta$  são as constantes de força de curvatura em  $kcal.mol^{-1}.rad^{-2}$  e  $\theta_{eq}$  é o ângulo de equilíbrio em graus do sistema. O somatório referente aos “diedros” envolve os ângulos diedros próprios onde  $K_d$  é a constante de equilíbrio das torções,  $n$  indica a periodicidade,  $\gamma$  indica a fase e  $\phi$  o ângulo de torção. Por último, o somatório “não-ligados” é referente aos parâmetros do potencial intermolecular, que é representado pela soma do potencial de Lennard-Jones (LJ) e do potencial de Coulomb, onde,  $r_{ij}$  é a distância que separa dois átomos,  $q_i$  é a carga do átomo  $i$  e as constantes  $A_{ij}=4\epsilon_{i,j}\sigma^{12}$  e  $B_{ij}=4\epsilon_{i,j}\sigma^6$ . O parâmetro,  $\epsilon_{i,j}$  é a profundidade do poço de potencial



para a interação entre os átomos  $i$  e  $j$ , e  $\sigma_{i,j}$  é a distância onde o potencial se anula, o que sugere o tamanho aproximado das partículas.

No trabalho em questão, para os ligantes diamino, foi escolhido o campo de força GAFF (do inglês, *General AMBER force field*) que fornece parâmetros para pequenas moléculas orgânicas para facilitar as simulações de fármacos, e os ligantes de moléculas pequenas, em conjugação com as biomoléculas (WANG *et. al.*, 2004). As constantes de força de ligação e constante de força angular envolvendo os centros de platina foram obtidos através do programa VFFDT que utiliza os resultados de cálculos de frequências harmônicas (ZHENG *et. al.*, 2016) e estão mostradas na Tabela 1. Ao lado da tabela está a descrição dos átomos envolvidos para a obtenção dos parâmetros.

**Tabela 1** - Conjuntos de constante de força de ligação  $K_b$  em  $kcal.mol^{-1}.\text{Å}^{-2}$  e ângulo  $K_\theta$  em  $kcal.mol^{-1}.rad^{-2}$  do centro metálico do modelo mimético e do composto MonoplatinNC.

		<i>Modelo Mimético</i>	<i>MonoplatinNC</i>
LIGAÇÕES ( $K_b$ )	Pt-N <sub>1</sub>	114,02	95,68
	Pt-N <sub>2</sub>	110,77	89,15
	Pt-N <sub>3</sub>	117,10	93,26
	Pt-N <sub>4</sub>	118,95	87,64
ÂNGULOS ( $K_\theta$ )	N <sub>1</sub> -Pt-N <sub>4</sub>	173,67	143,25
	N <sub>2</sub> -Pt-N <sub>3</sub>	180,70	210,52
	N <sub>1</sub> -Pt-N <sub>2</sub>	162,78	186,77
	N <sub>1</sub> -Pt-N <sub>3</sub>	167,05	191,81
	N <sub>3</sub> -Pt-N <sub>4</sub>	154,19	183,06
	N <sub>4</sub> -Pt-N <sub>2</sub>	151,70	183,06

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

As cargas atômicas usadas nas simulações de dinâmica molecular incluídas nos arquivos de parâmetros foram obtidas utilizando método Hartree-Fock (HF) (ROOTHAAN, 1951) com o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p) para os átomos não metálicos e o pseudopotencial LANL2DZ, para os átomos de platina. Os parâmetros de Lennard-Jones (LJ), para os átomos de N, C e H, foram obtidos do campo de força GAFF e para a platina foram obtidos do trabalho de Yao e colaboradores (YAO; PLASTARAS; MARZILLI, 1994).

Os complexos estudados possuem carga total positiva, dessa forma é necessário adicionar contra-íons  $Cl^-$  para neutralizar o sistema a ser estudado. Em seguida, foi gerada uma caixa solvatação em formato octaédrico truncado para a inserção das moléculas de água do tipo

TIP3P (JORGENSEN *et. al.*, 1983), definindo o tamanho do raio da caixa, de forma que os átomos do complexo estão a 12.0Å da borda da caixa.

### 3.1.2 Minimização

A etapa de minimização do sistema é semelhante ao cálculo de uma otimização de geometria muito comum em cálculos quânticos, ou seja, o programa irá procurar uma estrutura próxima de um ponto de mínimo de energia, modificando a estrutura do complexo e eliminando possíveis conflitos na mesma. Nos sistemas em questão, foi realizada uma única etapa de minimização mantendo todas as moléculas de soluto e solvente livres.

### 3.1.3 Aquecimento e Equilíbrio

Após a minimização do sistema foi realizada uma rampa de aquecimento, que consiste em aquecer o sistema de 0 K até 300 K em intervalos de 50 K. Nessa etapa utilizou-se um *ensemble* NVT (número de partículas, volume e temperatura constante) e o termostato de Langevin ( $\gamma_{ln}=2.0 \text{ ps}^{-1}$ ) (SINDHIKARA *et. al.*, 2009; UBERUAGA; ANGHEL; VOTER, 2004). Cada etapa de aquecimento é seguida de uma etapa de equilíbrio de 10 ps, com *ensemble* NPT (número de partículas, pressão e temperatura constante) e barostato Berendsen (BERENDSEN *et. al.*, 1984), com pressão 1 bar, utilizando o algoritmo SHAKE (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977) para restrição do estiramento dos átomos de hidrogênio, o que permitiu empregar fator de integração  $dt = 2 \text{ fs}$ .

### 3.1.4 Produção

A simulação foi conduzida no *ensemble* NPT utilizando-se o termostato de Langevin, mantendo a temperatura em 300 K ( $\gamma_{ln}=2.0 \text{ ps}^{-1}$ ). A pressão foi equilibrada em 1 bar utilizando o barostato Berendsen. O tempo de simulação foi de 10 ns e, para todos os passos de integração, as interações não ligadas foram truncadas a partir de uma distância de 6,0Å. Utilizou-se o algoritmo SHAKE (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977) para restrição do estiramento dos átomos de hidrogênio, o que permitiu empregar fator de integração  $dt = 2 \text{ fs}$ . A integração numérica foi realizada utilizando o método *leap-frog*.

### 3.2 Simulações por dinâmica molecular de SI-PPCs e biomoléculas

Esta seção traz a metodologia utilizada para a realização de simulações de dinâmica molecular de sistemas formados pelos SI-PPCs e as biomoléculas DNA e HS. De forma semelhante à seção anterior, esta foi dividida seguindo a ordem de realização das etapas necessárias, desde a construção dos modelos de interação, até a apresentação dos detalhes computacionais das simulações de DM desenvolvidas ao longo do trabalho.

#### 3.2.1 Parametrização do campo de força para os SI-PPCs e biomoléculas

O procedimento de parametrização dos SI-PPCs, representados na Figura 7, foi realizado para os potenciais intra e intermoleculares. Os parâmetros intramoleculares, como comprimentos de ligação de equilíbrio ( $r_{eq}$ ) e ângulos ( $\theta_{eq}$ ), foram obtidos a partir da otimização da geometria utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT), com o funcional B3LYP (BECKE, 1993; LEE C, YANG W, 1988) e o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p) (HEHRE; DITCHFIELD; POPLE, 1972) definida para átomos não metálicos e o pseudopotencial LANL2DZ (HAY; WADT, 1985b) para átomos de platina. Para a cadeia de carbono dos ligantes diamino foi definido o campo de força geral do AMBER (GAFF) (WANG *et al.*, 2004), que é usado para fornecer parâmetros para pequenas moléculas orgânicas e biomoléculas. As constantes de força para ligações e ângulos envolvendo os centros de platina foram obtidas através do software Visual Force Field Derivation Toolkit (VFFDT) (SEMINARIO, 1996; ZHENG *et al.*, 2016), desenvolvido por Zheng e colaboradores usando a matriz Hessiana calculada no nível B3LYP/6-31G(d,p). Os parâmetros intramoleculares usados para todas as simulações de DM estão dispostos no anexo 1. As geometrias e constantes de força foram determinadas em solução aquosa usando o modelo de polarização contínua (PCM), com o formalismo de equação integral (IEFPCM) (CANCÈS; MENNUCCI; TOMASI, 1997). Cálculos de mecânica quântica foram realizados usando o programa de versão Gaussian 09 D.01 (GAUSSIAN09, 2009).

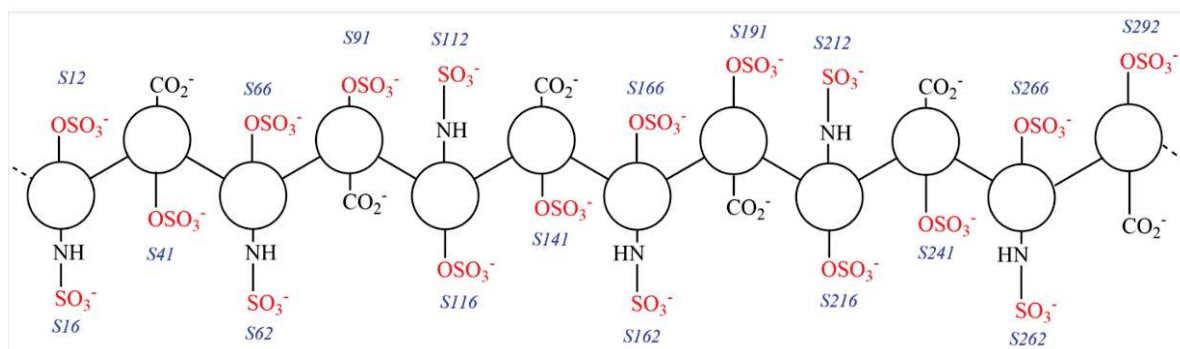
As cargas atômicas usadas nas simulações DM foram obtidas usando o método Hartree-Fock (HF) (ROOTHAAN, 1951), com o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p) definido para os átomos não metálicos e o pseudopotencial LANL2DZ para átomos de platina. Os parâmetros intermoleculares para o potencial de Lennard-Jones (LJ) incluindo os valores de  $\epsilon/\text{kcal mol}^{-1}$  e  $\sigma/\text{Å}$ , para os átomos de N, C e H foram obtidos do GAFF, enquanto os valores

de platina foram obtidos do trabalho de Yao e colaboradores (YAO; PLASTARAS; MARZILLI, 1994).

A estrutura inicial do fragmento de DNA foi baseada na estrutura obtida do banco de dados PDB, código 2DYW, relatada por Komeda e colaboradores (KOMEDA *et. al.*, 2006a), que é dada pela sequência [d(CGCGAATTCGCG)]<sub>2</sub> (Dickerson Dodecamer, DDD). Para evitar efeitos de borda, um fragmento de DNA mais longo (24 pares de bases) foi montado usando a rotina fd\_helix presente no ambiente NAB do pacote Amber 16. Esse segundo fragmento de DNA foi obtido através da duplicação do fragmento DDD e é formado pela sequência [d(CGCGAATTCGCGCGCGAATTCGCG)]<sub>2</sub>, que será chamada neste trabalho de 24\_bp\_DNA (MILLS *et. al.*, 2010; YU; LARSON, 2014). O campo de força ff99SB (SÁNCHEZ DELGADO *et. al.*, 2019; SVOZIL *et. al.*, 2008) foi usado para os fragmentos de DNA citados.

Neste trabalho, a molécula de heparina obtida do banco de dados PDB, código 1HPN, relatada por Mulloy e colaboradores (MULLOY *et. al.*, 1993), foi utilizada como estrutura inicial. Um esquema da estrutura do modelo de heparina utilizado, é mostrado na Figura 14. A estrutura da heparina foi obtida através de cálculos de otimização da geometria, foram otimizados utilizando o método semi-empírico PM3. As cargas atômicas da molécula de heparina foram obtidas usando o método Hartree-Fock (HF) (ROOTHAAN, 1951), com o conjunto de funções de base 6-31+G(d,p), e foi definido o campo de força ff99SB, para a realização das simulações de DM.

**Figura 14** - Esquemas da estrutura do modelo de heparina.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os sistemas SI-PPC\_DNA e SI-PPC\_HS estudados possuem carga total negativa. Dessa forma, é necessário adicionar contra-íons Na<sup>+</sup> para neutralizar o sistema a ser estudado. Em seguida, foi gerada uma caixa solvatação com a inserção de solvente explícito, em formato de

um octaédrico truncado, utilizando o modelo TIP3P (JORGENSEN *et. al.*, 1983), definindo o tamanho do raio da caixa, de forma que os átomos do complexo estão a 12,0 Å da borda da caixa.

### 3.2.2 Simulações de dinâmica molecular

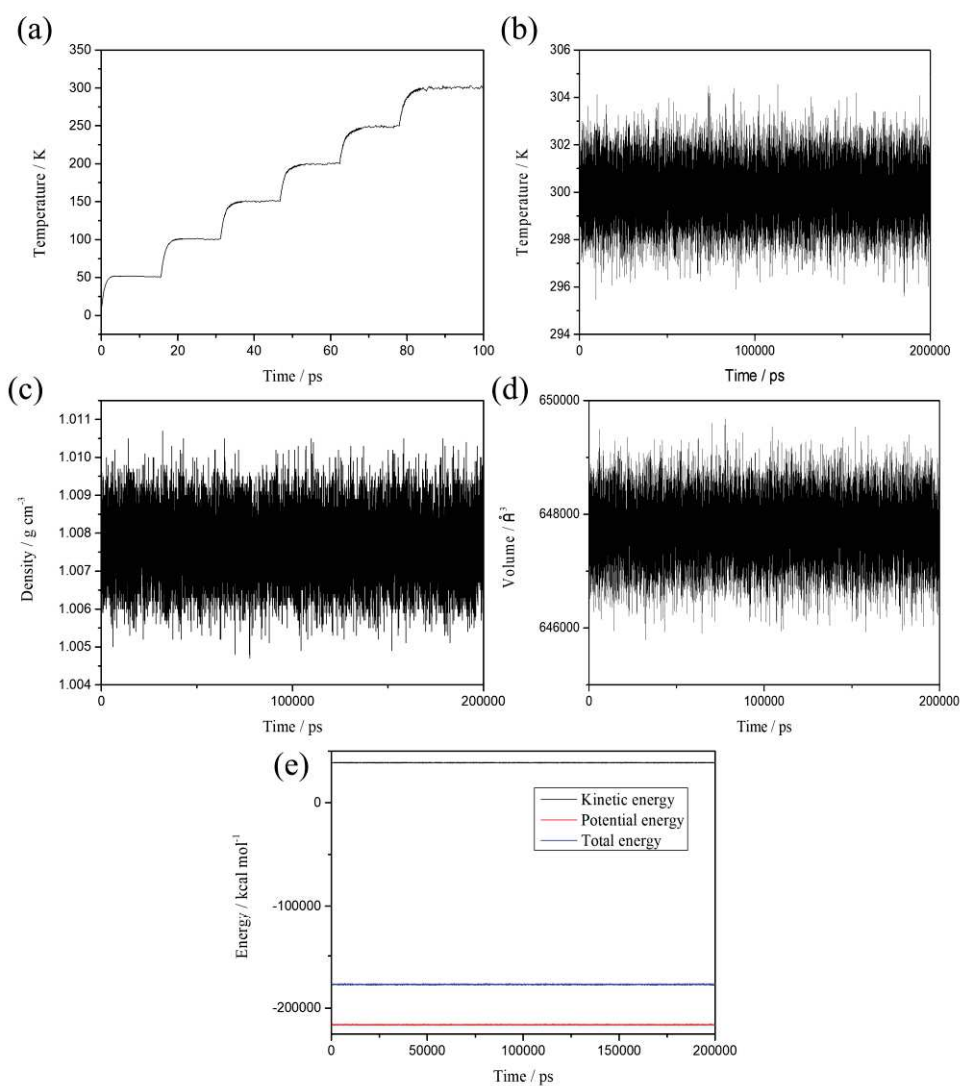
Todas as simulações de DM foram realizadas com o software AMBER 16<sup>®</sup>. (CASE *et. al.*, 2012) Os sistemas foram centralizados individualmente em uma caixa de simulação com uma forma de octaedro truncado, incluindo moléculas de água explícitas como solvente representadas pelo modelo TIP3P, com arestas com dimensões de 18,774Å (JORGENSEN *et. al.*, 1983). Inicialmente, o protocolo de simulação envolveu duas etapas de minimização de energia, a primeira sendo aplicada para moléculas de água com uma constante de força de restrição de soluto de 500 kcal mol<sup>-1</sup>Å<sup>-2</sup>, e a segunda etapa sem restrições. Cada etapa de minimização envolveu 2500 ciclos, com os primeiros 1000 ciclos usando descida mais íngreme, (ARFKEN, G. B., WEBER, 1985) e os 1500 ciclos finais usando algoritmo de gradiente conjugado (HESTENES; STIEFEL, 1952).

Em seguida, foram realizadas etapas de aquecimento com temperatura inicial de 0K até atingir 300K em intervalos de 50K; cada etapa executou 2.800 ciclos com um intervalo de tempo de 2fs, usando condições periódicas de volume constante (NVT). Cada etapa de aquecimento foi seguida por uma etapa de equilíbrio, com um total de 5.000 ciclos também com um intervalo de 2fs, usando condição periódica de pressão constante, com uma pressão média de 1bar (NPT). A variação temporal para a rampa de aquecimento para o fragmento de DNA de controle 24\_bp\_DNA e para a molécula 1HPN, são mostradas nas Figuras 14(a) e 15(a).

A fase de produção foi conduzida no *ensemble* NPT, usando o termostato Langevin (UBERUAGA; ANGHEL; VOTER, 2004), mantendo a temperatura em 300K e a pressão balanceada em 1bar usando o barostato Berendsen (BERENDSEN *et. al.*, 1984). A etapa de produção foi conduzida para o tempo de simulação foi de 200ns com ciclos de 2fs e as interações não ligadas foram truncadas a partir de uma distância de 6,0 Å. As simulações dos três sistemas que apresentaram os menores valores de energia de interação (24\_bp\_DNA ... AH78P, 24\_bp\_DNA ... TriplatinNC e 24\_bp\_DNA ... AH78H) foram repetidas onde as interações não ligadas foram truncadas a partir de uma distância de 12,0Å. O algoritmo SHAKE (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977) foi usado para restringir o estiramento de átomos de hidrogênio. A variação temporal de temperatura, densidade, volume e energia total,

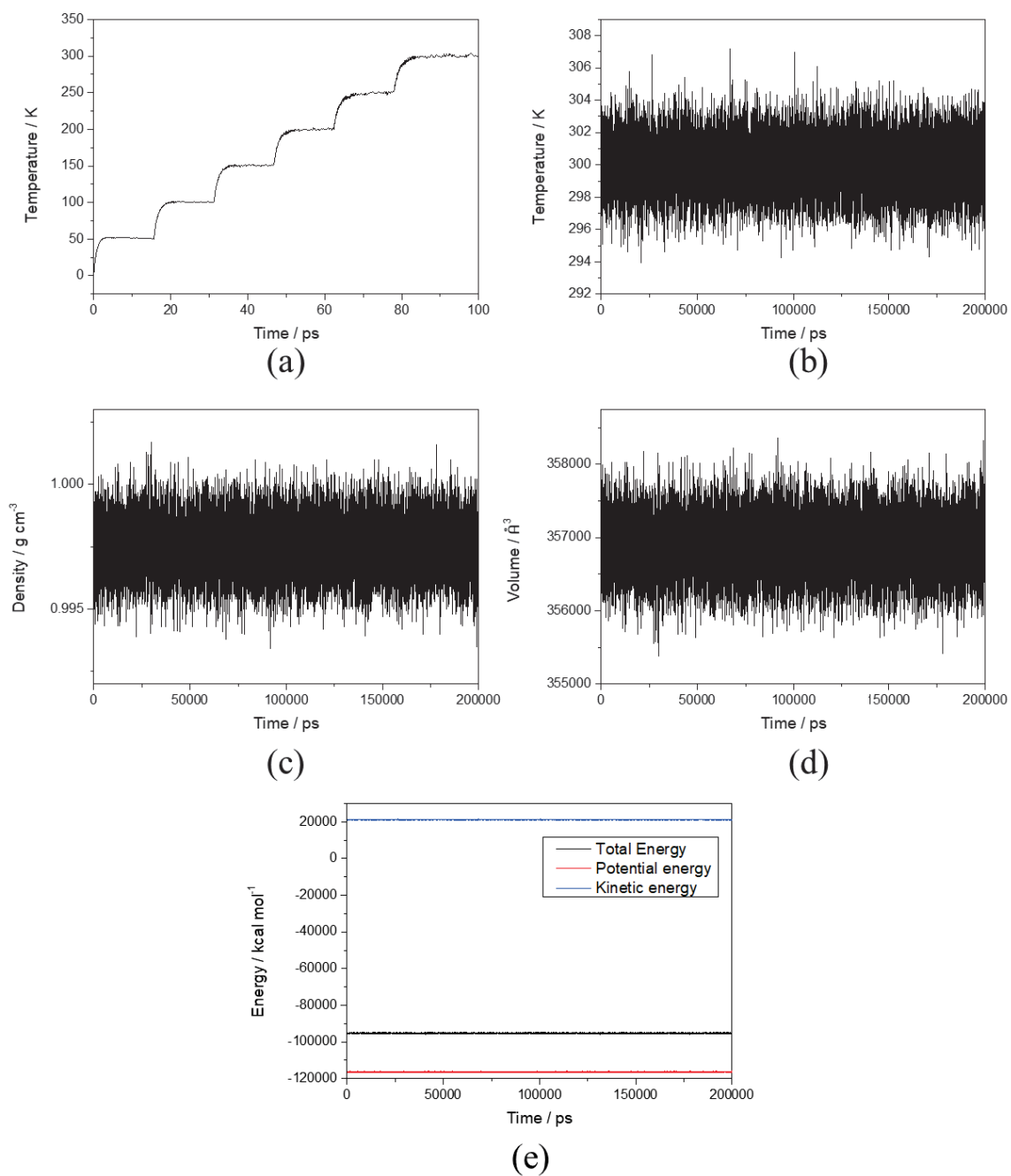
cinética e potencial durante as simulações para 24\_bp\_DNA e 1HPN, são mostradas na Figura 15 e na Figura 16, respectivamente.

**Figura 15** - Variação temporal para o fragmento 24\_bp\_DNA: temperatura da rampa de aquecimento (a), temperatura da etapa de produção (b), densidade durante a última etapa de produção (c), volume durante a última etapa de produção (d), energia total, cinética e potencial durante a última etapa de produção.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 16** - Variação temporal para o IHPN: temperatura da rampa de aquecimento (a), temperatura da etapa de produção (b), densidade durante a última etapa de produção (c), volume durante a última etapa de produção (d), energia total, cinética e potencial durante a última etapa de produção.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A interação de energia livre foi avaliada por meio do *script Python MMPBSA.py* (do inglês, *Molecular Mechanics Generalized-Born Surface Area*), que é um método em que um conjunto de conformações é usado para calcular a energia livre entre dois estados (receptor e ligante) e que se encontra implementado no pacote AMBER®. A energia livre para cada espécie (ligante, receptor ou complexo) é decomposta em uma energia de fase gasosa ("entalpia"), uma energia livre de solvatação e um termo de entropia, como mostrado na equação 2.

$$G = E_{gas} + G_{solv} - T.S = E_{bat} + E_{vdw} + E_{coul} + E_{solv,polar} + G_{solv,nonpolar} - T.S$$

*Equação 2*

Onde  $E_{bat}$  é a soma dos termos de ligação, ângulo e torção no campo de força,  $E_{vdw}$  e  $E_{coul}$  são os termos de energia de van der Waals e de Coulomb,  $G_{solv,polar}$  é a contribuição polar para a energia livre de solvatação e  $G_{solv,não polar}$  é a energia livre de solvatação não polar.

Todas as trajetórias foram analisadas usando as ferramentas CPPTRAJ (ROE; CHEATHAM, 2013), e as imagens foram renderizadas usando o software Visual Molecular Dynamics (VMD) (BARROSO, 2012).



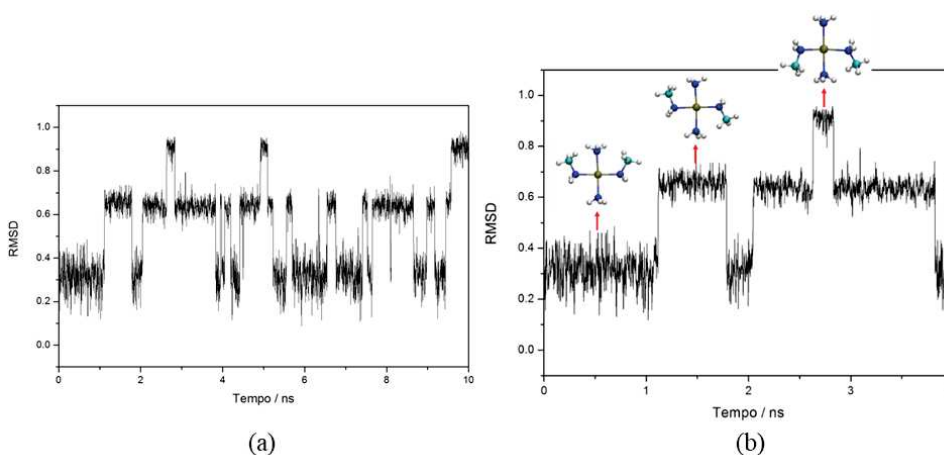
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados inicialmente os resultados referentes às simulações do modelo mimético para o centro de platina (II), seguido dos resultados obtidos para o complexo MonoplatinNC. Em seguida, serão mostrados os resultados relacionados à formação de interações não-covalentes, subdivididos em seções de acordo com a biomolécula estudada.

### 4.1 Simulações por DM dos compostos não covalentes

Primeiramente foi realizada uma análise de RMSD (do inglês, *root mean squared deviation*) para a simulação de DM do modelo mimético. O RMSD foi calculado através do valor médio para o desvio médio dos átomos da estrutura em um determinado ponto da simulação, relativamente a estrutura inicial da trajetória de simulação. Quanto maior este valor, maior é a diferença estrutural entre as estruturas que estão sendo comparadas. O gráfico RMSD representa a raiz quadrada do desvio médio das massas, e em outras palavras, demonstra as diferenças entre a nova estrutura da simulação em relação a estrutura de inicial da etapa de produção, podendo observar mudanças conformacionais e concluir se a estrutura já se encontra em uma configuração estável. O gráfico obtido para o RMSD está mostrado na Figura 17(a). A Figura 17(b) apresenta os primeiros 4ns de simulação, onde é possível observar que o diedro em questão apresenta 3 configurações cujos ângulos são  $0^\circ$  ou  $180^\circ$ . Essas variações na estrutura são exclusivamente relacionadas à rotação desse diedro.

**Figura 17** - (a) Gráfico das flutuações do RMSD do modelo mimético. (b) Análise dos ângulos diedros.



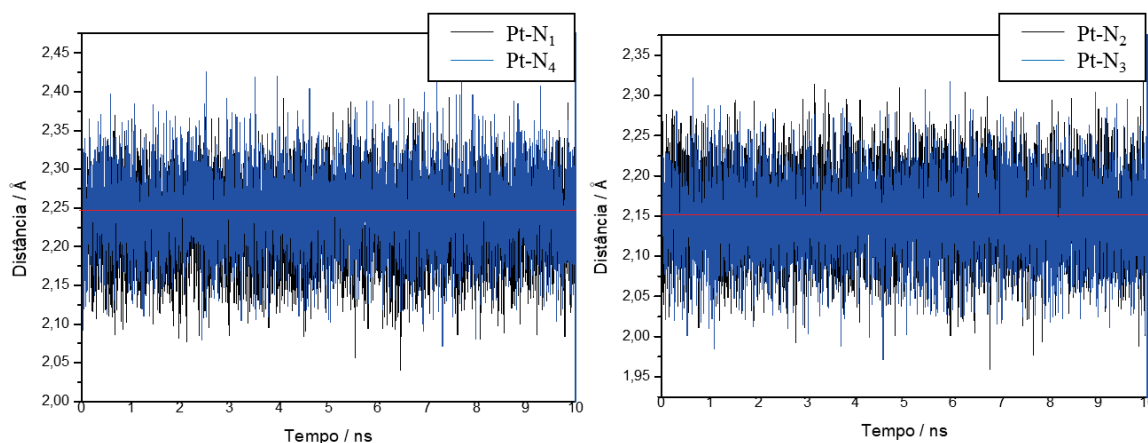
FONTE: Elaborado pela autora (2018).

É possível observar que o gráfico apresenta variações na estrutura do complexo, tendo em vista que o mesmo foi obtido sem contabilizar as moléculas de água, o que conseqüentemente iria levar a um valor extremamente elevado, devido à grande variação de posições dessas moléculas. Essas mudanças estão relacionadas à rotação do ângulo diedro entre os átomos C-N-N-C; durante a simulação, esse ângulo diedro alterna entre as configurações mais estáveis.

Os parâmetros geométricos, como distâncias e ângulos de ligação também foram analisados ao longo da trajetória. A Figura 18 mostra a variação das distâncias de ligação Pt-NH<sub>2</sub> em (a) e Pt-NH<sub>3</sub> em (b), seguindo a definição dos átomos de N mostrada na **Tabela 1**. É possível observar que tais distâncias permanecem próximas de um valor de equilíbrio de 2.15 Å para a ligação Pt-NH<sub>2</sub> (descritas através das ligações Pt-N<sub>2</sub> e Pt-N<sub>3</sub>) e 2.25 Å para a ligação Pt-NH<sub>3</sub> (descritas através das ligações Pt-N<sub>1</sub> e Pt-N<sub>4</sub>) ao longo de toda a simulação.

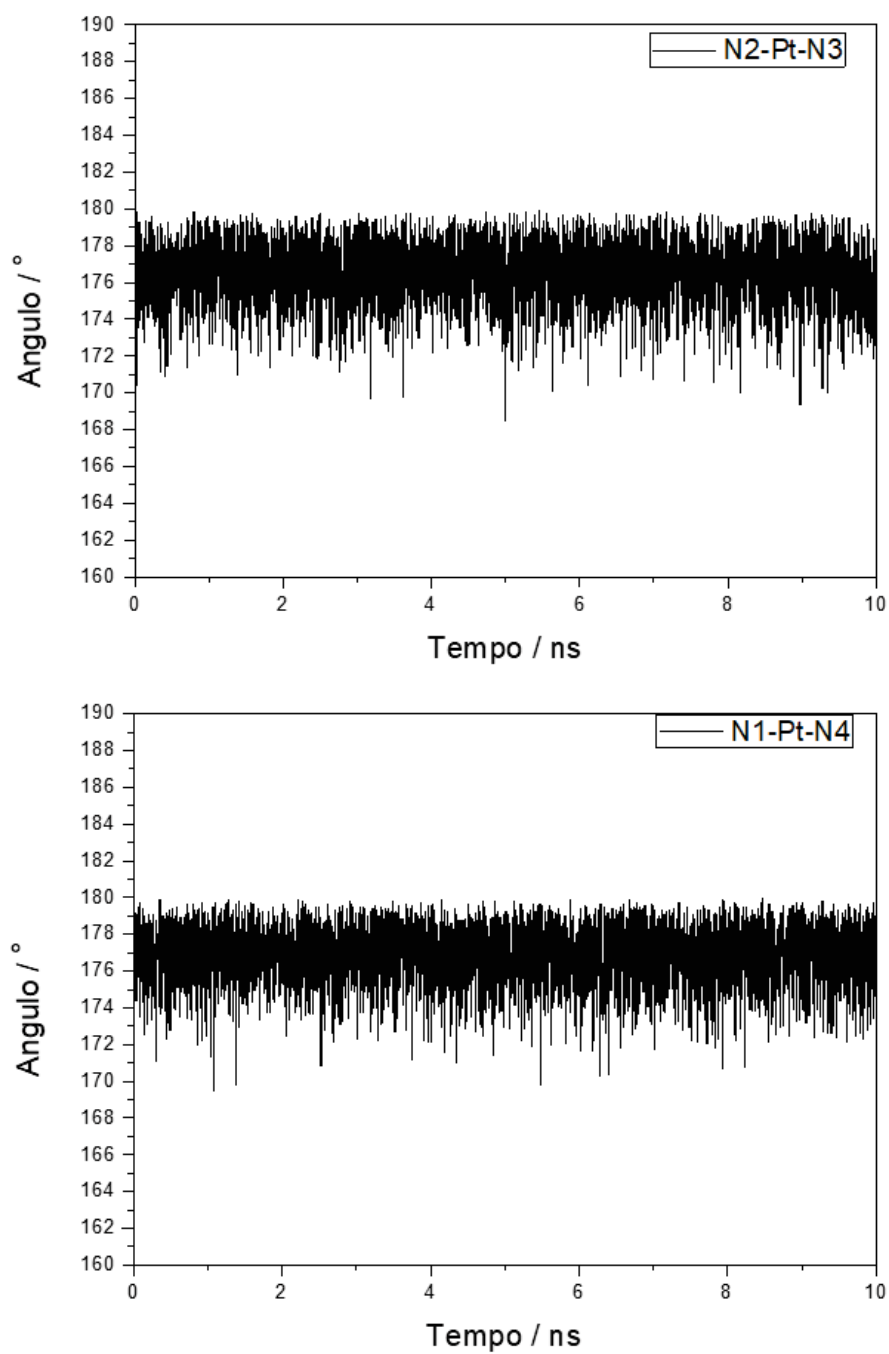
As alterações nos ângulos de ligação presentes no centro de Platina foram investigados ao longo de toda a trajetória e os gráficos estão mostrados nas **Figura 19** e **Figura 20**. Nota-se que todos os ângulos oscilam em torno de um valor de equilíbrio, seja próximo de 90° ou 180°, confirmando que a geometria do complexo se mantém quadrática plana durante a simulação.

**Figura 18** - Variação das distâncias de ligação ao longo da trajetória.



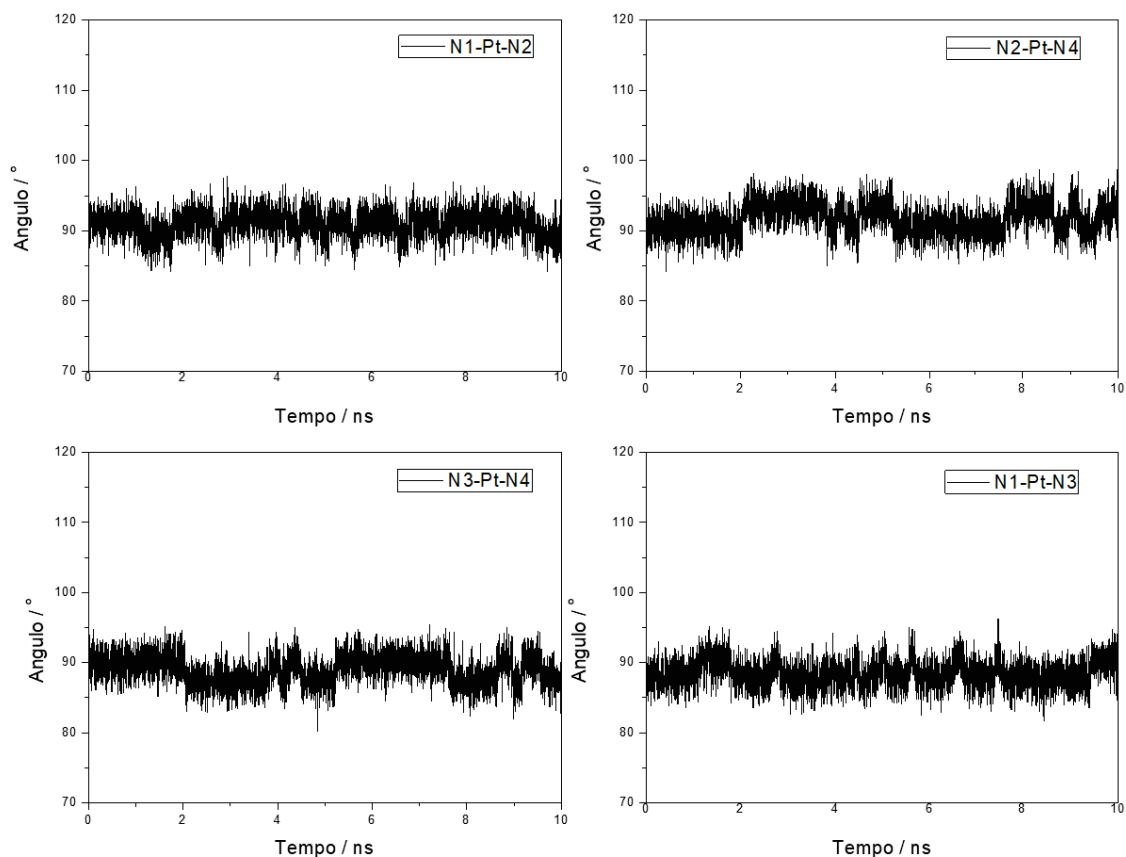
FONTE: Elaborado pela autora (2018).

**Figura 19** - Variação dos ângulos de  $180^\circ$  ao longo da trajetória.



FONTE: Elaborado pela autora (2018).

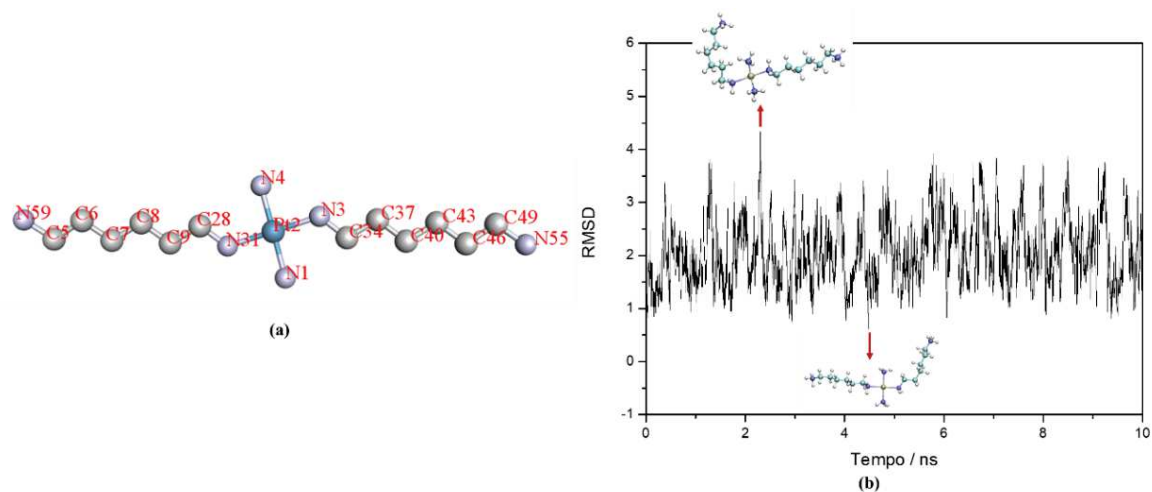
**Figura 20** - Variação dos ângulos de 90° ao longo da trajetória.



FONTE: Elaborado pela autora (2018).

Para o complexo MonoplatinNC foram avaliados os parâmetros estruturais, bem como o RMSD que está apresentado na **Figura 21(b)**. Como a molécula (**Figura 21(a)**) em questão apresenta o ligante do tipo hexanodiamina, que possui livre rotação dos grupos  $\text{NH}_3$  terminais, e dos ângulos diedros da cadeia carbônica, o RMSD mostra grandes variações da estrutura ao longo da simulação, porém o valor médio é de  $2,057\text{\AA}$ . A **Figura 21(b)** mostra dois exemplos de mudanças nos ângulos diedros da cadeia carbônica que ocorrem próximo de 2ns e 4ns, respectivamente.

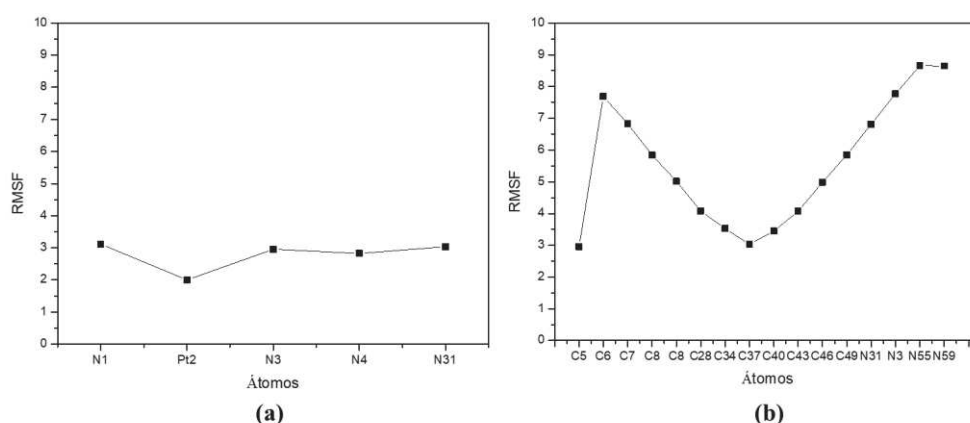
**Figura 21** - (a) Estrutura do complexo MonoplatinNC (os átomos de hidrogênio foram omitidos para uma melhor visualização). (b) Gráfico do RMSD mostrando exemplos de conformações do complexo durante a trajetória.



FONTE: Elaborado pela autora (2018).

Com o intuito de avaliar a flutuação dos átomos, realizou-se uma análise de RMSF, que descreve a variação da posição dos átomos durante a simulação através de um valor médio, podendo gerar informações sobre a flexibilidade do sistema. Foram realizadas duas análises de RMSF: a primeira (**Figura 22(a)**), em que foram definidos os átomos do centro metálico, N1, Pt2, N3, N4 e N31 (conforme numeração mostrada na Figura 21(a)) e a segunda (**Figura 22(b)**), em que foram considerados os 12 átomos de carbono e os quatro átomos de nitrogênio presentes nos ligantes hexanodiamino. Os resultados do RMSF mostram que ocorrem poucas flutuações nas posições dos átomos que estão ligados ao átomo de platina, mostrando que durante a simulação a geometria quadrática plana do centro metálico se mantém. Em (b) verifica-se flutuações maiores nos átomos mais distantes do centro de platina, como por exemplo os átomos de carbono C6 e C49, bem como para os átomos de nitrogênio N55 e N59. Com essa análise, concluiu-se que o centro de platina dos compostos estudados mantém a geometria quadrática plana durante a simulação e que os parâmetros utilizados definem bem o sistema em questão.

**Figura 22** - (a) Gráfico das flutuações de RMSF dos átomos envolvidos no centro de Platina (II); (b) RMSF dos átomos de C e N envolvidos nos ligantes hexanodiamino.



FONTE: Elaborado pela autora (2018).

#### 4.2 Análise das interações não covalentes entre SI-PPCs e DNA

Nessa seção serão abordados os resultados referentes às interações não-covalentes formadas entre os SI-PPCs com dois fragmentos de *DNA* diferentes, denominados DDD e *24\_bp\_DNA*.

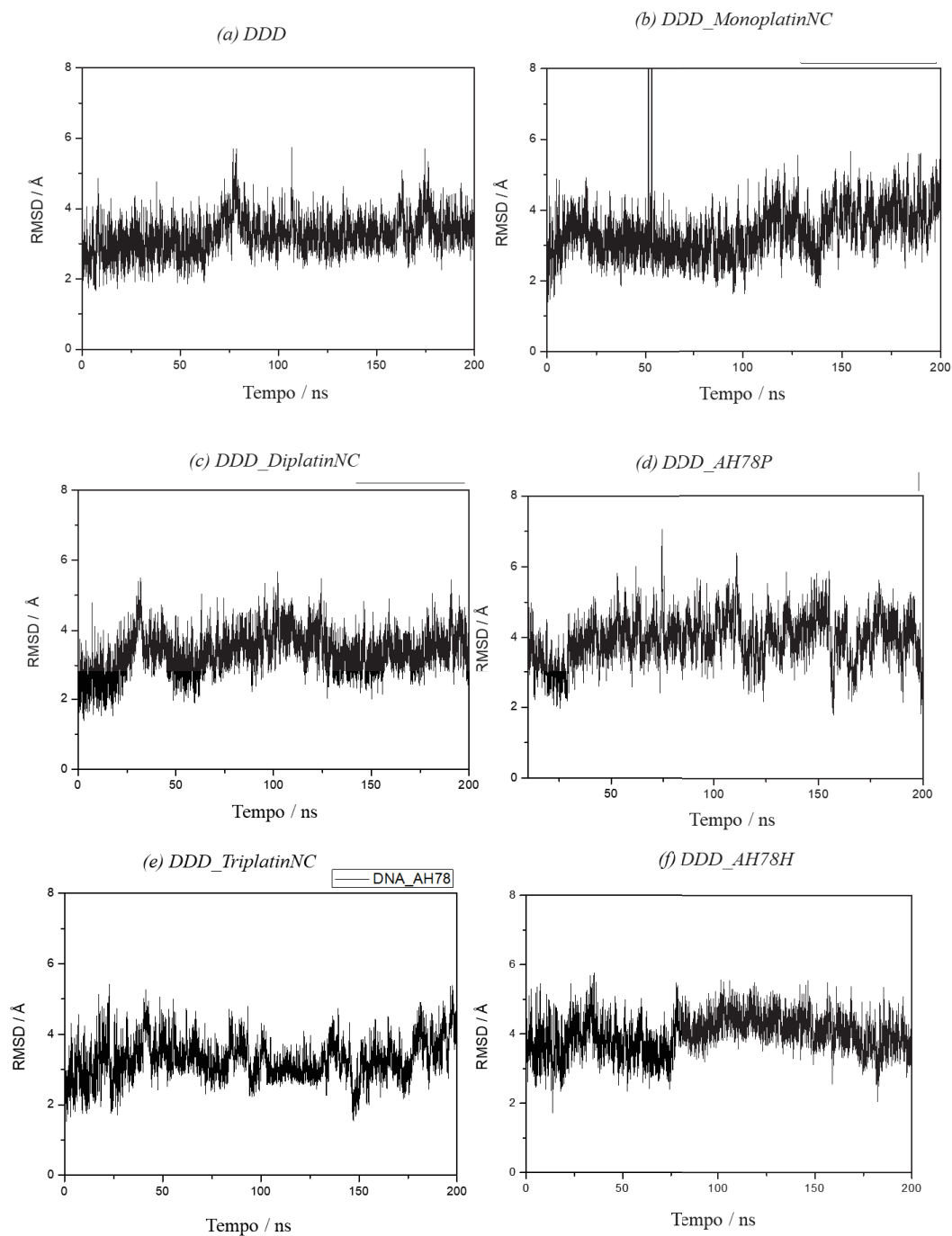
##### 4.2.1 DDD...SI-PPCs

Após a simulação de 200 ns para cada SI-PPC (do inglês, *Substitution-inert polynuclear platinum complexes*) mostrado na Figura 7 juntamente com o fragmento DDD, uma análise estrutural foi realizada, inicialmente com base no cálculo de RMSD. A **Figura 23** mostra os gráficos de RMSD para o DDD isolado e na presença dos compostos não covalentes. Observa-se que, em todos os casos, ocorreram flutuações estruturais ao longo da simulação. O DNA isolado apresentou flutuações da ordem de 3,23Å, enquanto na presença dos complexos TriplatinNC e AH78H o *DNA* apresentou os maiores valores médios de flutuações, da ordem de 3,97Å e 3,90Å. Porém, os complexos AH78P, MonoplatinNC e DiplatinNC, apresentaram valores médios de 3,27Å, 3,38Å e 3,37Å, respectivamente, mais próximos do valor apresentado pelo DNA isolado.

O gráfico do RMSD para o *DNA* na presença da MonoplatinNC mostra picos com valores de 30Å em aproximadamente 50ns. Esses picos são eventos relacionados às condições periódicas de contorno utilizadas durante a simulação. Como o *DNA* é uma molécula não-ligada, ao se aproximar da borda da caixa, uma das fitas sai da caixa e é reproduzida entrando

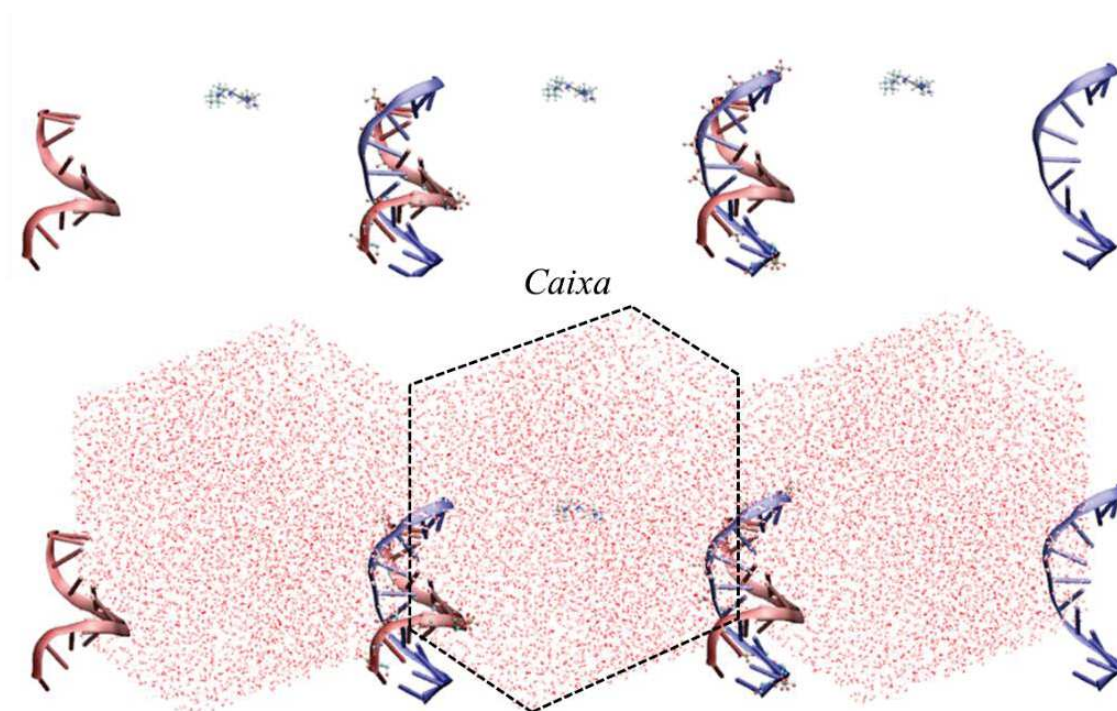
pelo lado oposto da mesma caixa, porém a segunda fita ainda não saiu da caixa, de forma que as mesmas estão em lados opostos. A **Figura 24** mostra um dos frames em que esse evento acontece, com a reprodução das condições periódicas de contorno.

**Figura 23** - Gráficos das flutuações do RMSD.



FONTE: Elaborado pela autora (2018).

**Figura 24** - Representação das condições periódicas de contorno do evento relacionado aos picos do gráfico do RMSD próximos de 50ns.

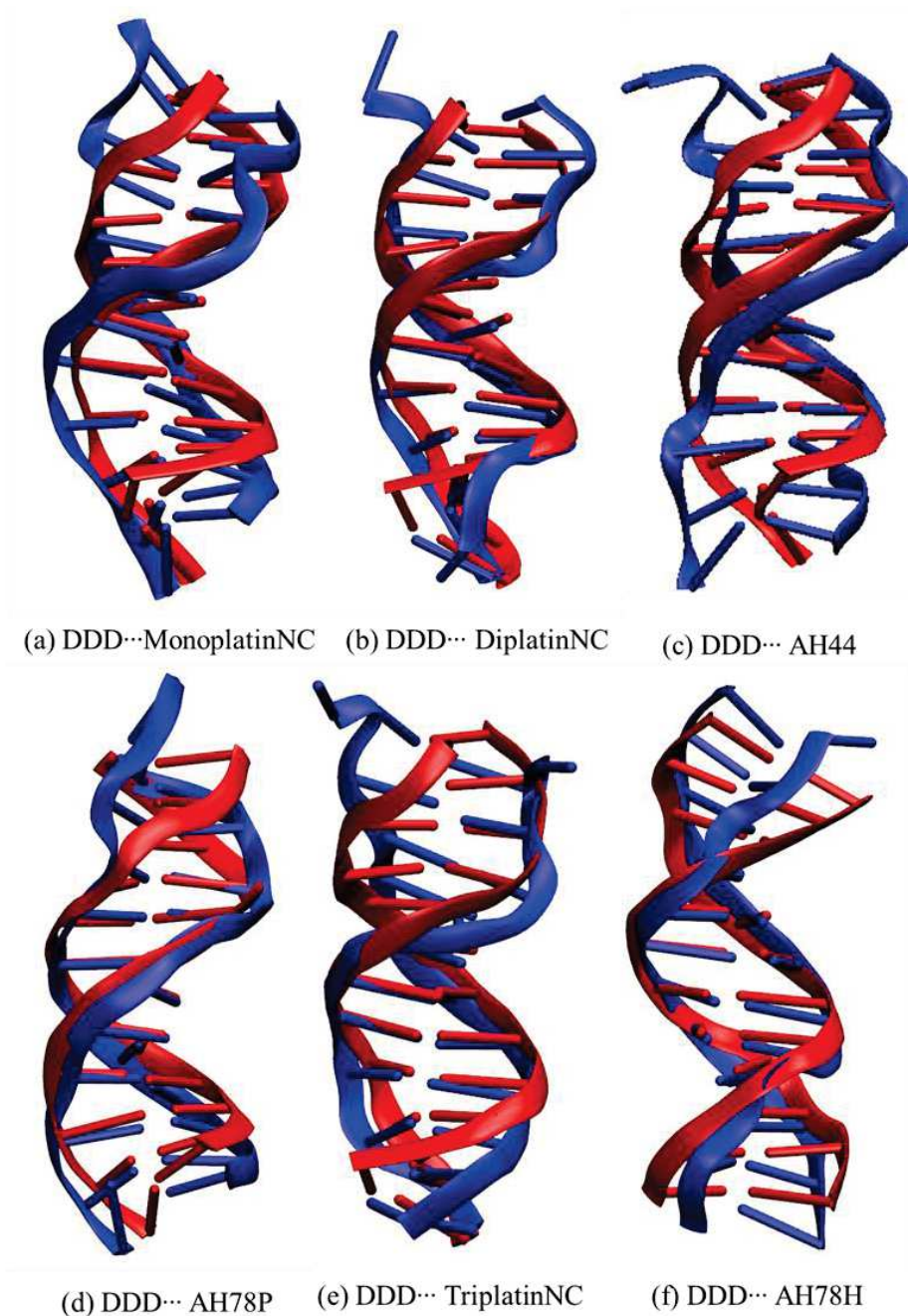


FONTE: Elaborado pela autora (2018).

A **Figura 25** mostra uma comparação entre as estruturas do *DNA* ao final da simulação, em azul, e estrutura cristalográfica em vermelho. Observam-se desvios significativos, principalmente nas bases nitrogenadas localizadas nas extremidades, devido aos efeitos de borda. Dessa forma, os pares de bases terminais não serão considerados na análise.



**Figura 25** - Sobreposição das estruturas do *DNA* obtidas ao final da simulação, em azul, e da estrutura relatada no *PDB*, em vermelho.



FONTE: Elaborado pela autora (2019).

Para todos os sistemas estudados neste trabalho, foi possível observar que os SI-PPCs interagem com o *DNA* preferencialmente através do *backbone tracking* e *groove spanning* devido, principalmente, à formação de estruturas não covalentes, como grampo de fosfato e garfos. Segundo Komeda e colaboradores (KOMEDA *et. al.*, 2011). Nesse trabalho, foram avaliadas as mudanças na conformação do *DNA* após a interação com os SI-PPCs. A **Figura**

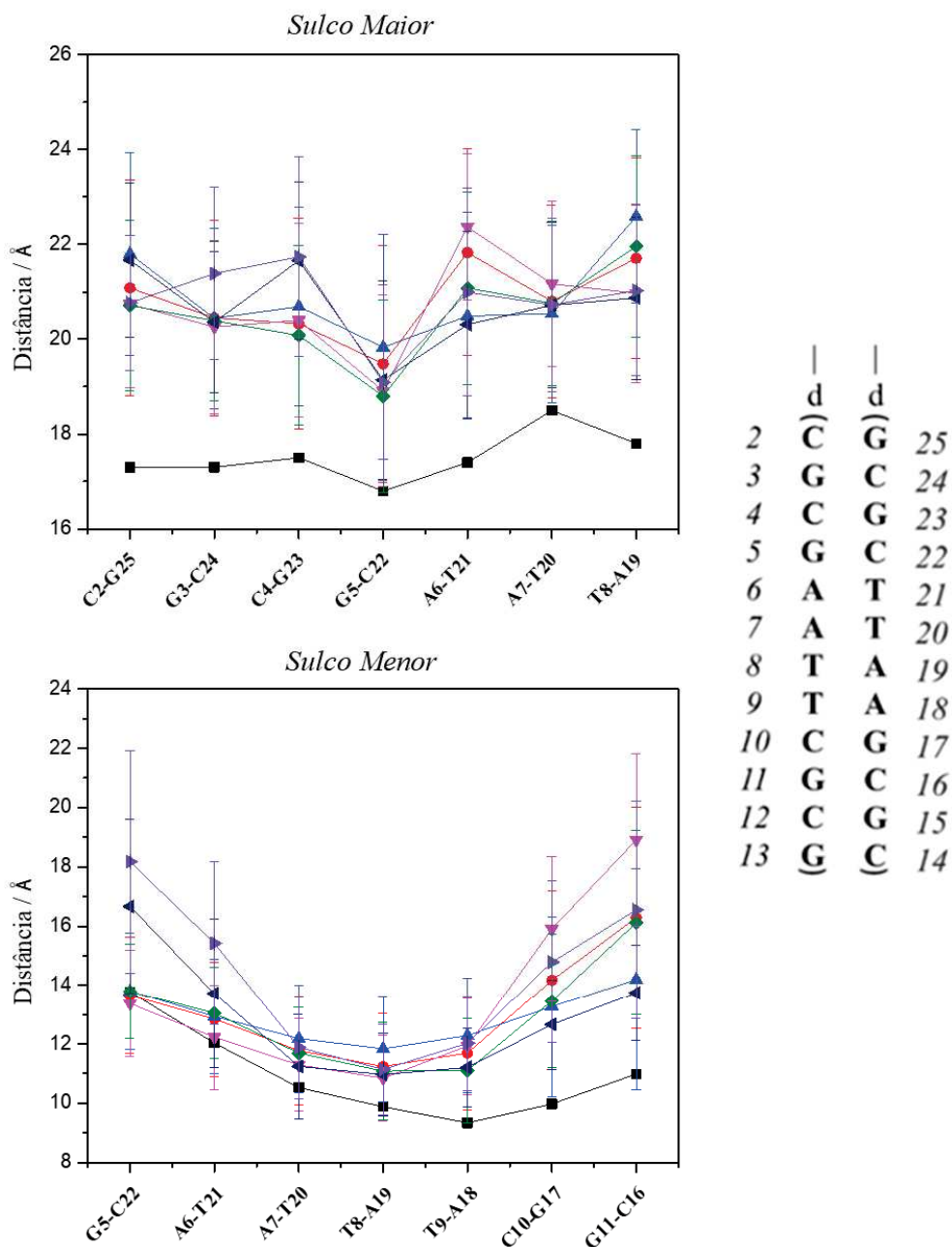
26 mostra as larguras médias dos sulcos principais e secundários do DNA, calculadas ao longo de todas as trajetórias de DM. Os valores foram obtidos medindo-se as distâncias P-P (EL HASSAN; CALLADINE, 1998) em cada região. Comparada com a estrutura nativa, nota-se um aumento na largura de ambos os sulcos após ocorrerem as interações não covalentes. Os parâmetros base-base, inter-base e eixo-base dos pares de bases do fragmento DDD são mostrados nas **Figura 27**, **Figura 28** e **Figura 29**.

Esses parâmetros, bem como a convenção dos eixos, são mostrados nas Figuras 58 a 61 no Anexo 2. A combinação dos movimentos relacionados a cada parâmetro é o que dá à hélice sua conformação e diferencia as conformações A-, B- e Z-DNA. A maioria dos parâmetros obtidos varia em torno do valor médio, pois a molécula de DNA não é rígida e está constantemente sofrendo torções, deformações e curvaturas locais sem que a estrutura global sofra alterações, por isso apenas alguns parâmetros serão destacados nesta discussão.

As bases terminais do fragmento DDD apresentam os maiores desvios, quando comparadas à estrutura de código PDB, 1BNA, principalmente para os ângulos “buckle”, “propeller” e “opening”, em contraste com as bases da região central, que apresentam os menores desvios. Os valores para o parâmetro “roll” para a região central do DDD···SI-PPCs são positivos, sendo maiores que os apresentados pela estrutura 1BNA, o que representa uma tendência para os sulcos maiores e menores terem larguras mais simétricas.

Os sistemas DDD···AH44 e DDD···AH78H apresentam valores elevados para o parâmetro translacional “slide” nos pares de bases C4-G23, que estão localizados mais próximos da região terminal do fragmento, resultando no aumento do diâmetro da dupla hélice nessa região. Para todos os SI-PPCs analisados, observou-se valores acima do apresentado pela estrutura 1BNA para o parâmetro “X-displacement”, sendo esse aumento mais expressivo para os pares C4-G23 e C10-G17, gerando uma cavidade central característica da conformação A-DNA, ao contrário da conformação B-DNA esperada para esta sequência. Alguns parâmetros como “roll” e “inclination”, que estão relacionados à conformação da dupla hélice, na prática se mostram como indicadores fracos de mudanças conformacionais.

**Figura 26** - Larguras de sulco menor e maior para DDD···MonoplatinNC\* (círculo vermelho), DDD···DiplatinNC\* (triângulos azuis claros), DDD···AH44\* (triângulo roxo), DDD···AH78P \* (triângulo rosa), DDD···TriplatinNC\* (losango verde), DDD···AH78H \* (triângulo azul escuros, e para o controle DDD\*\* (1BNA, quadrado preto).



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação, incluindo as barras de desvio padrão.

\*\* Valores obtidos por meio da plataforma online 3DNA.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 27** - Parâmetros base-base para DDD···MonoplatinNC\* (losango azul), DDD···DiplatinNC\* (círculo laranja), DDD···AH44\* (triângulo cinza) DDD···AH78P\* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC\* (quadrado vermelho), DDD···AH78H\* (quadrado verde) e 1BNA\*\* (círculo preto).

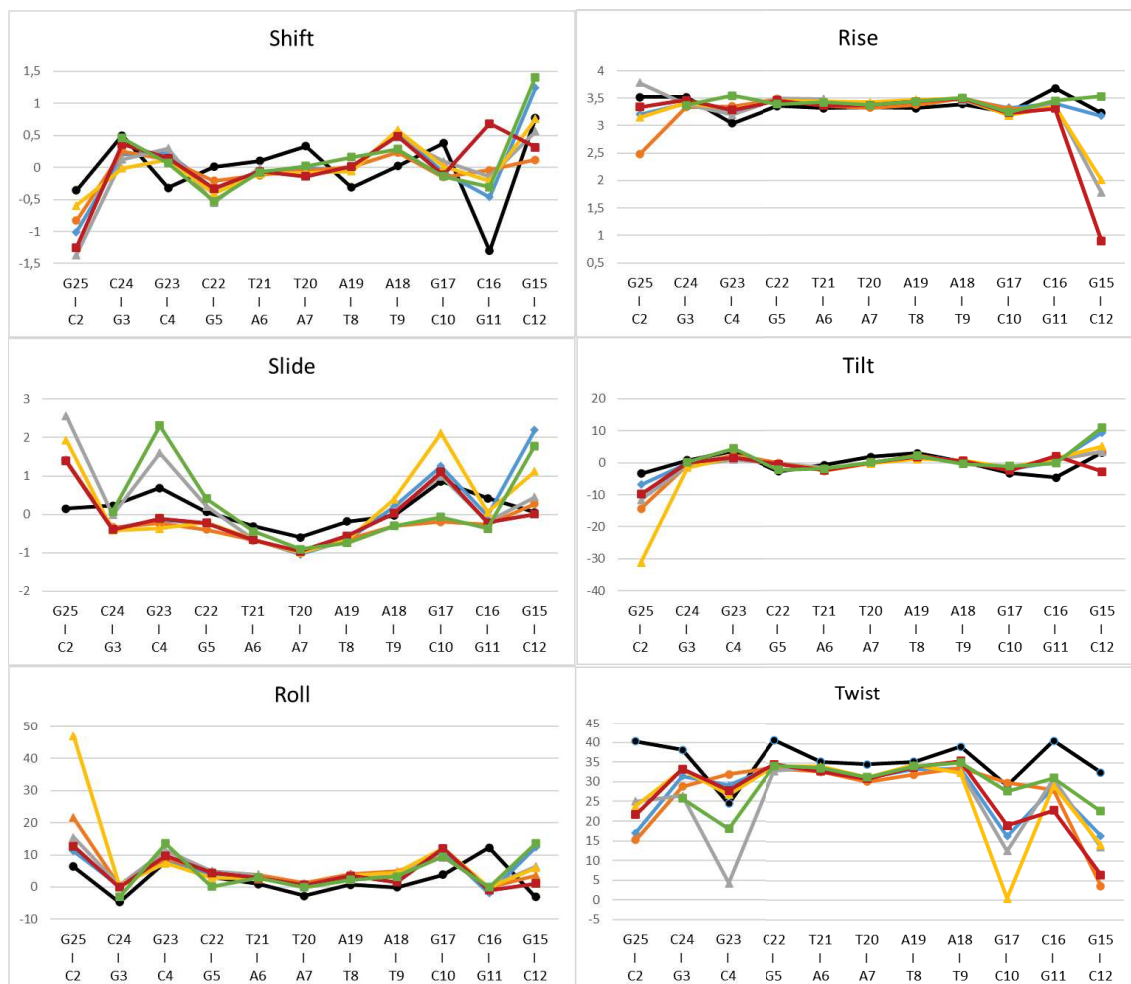


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação, incluindo as barras de desvio padrão.

\*\* Valores obtidos por meio da plataforma online 3DNA.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 28** - Parâmetros de Inter-base para DDD···MonoplatinNC\* (losango azul), DDD···DiplatinNC\* (círculo laranja), DDD···AH44\* (triângulo cinza) DDD···AH78P\* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC\* (quadrado vermelho), DDD···AH78H\* (quadrado verde) e 1BNA\*\* (círculo preto).

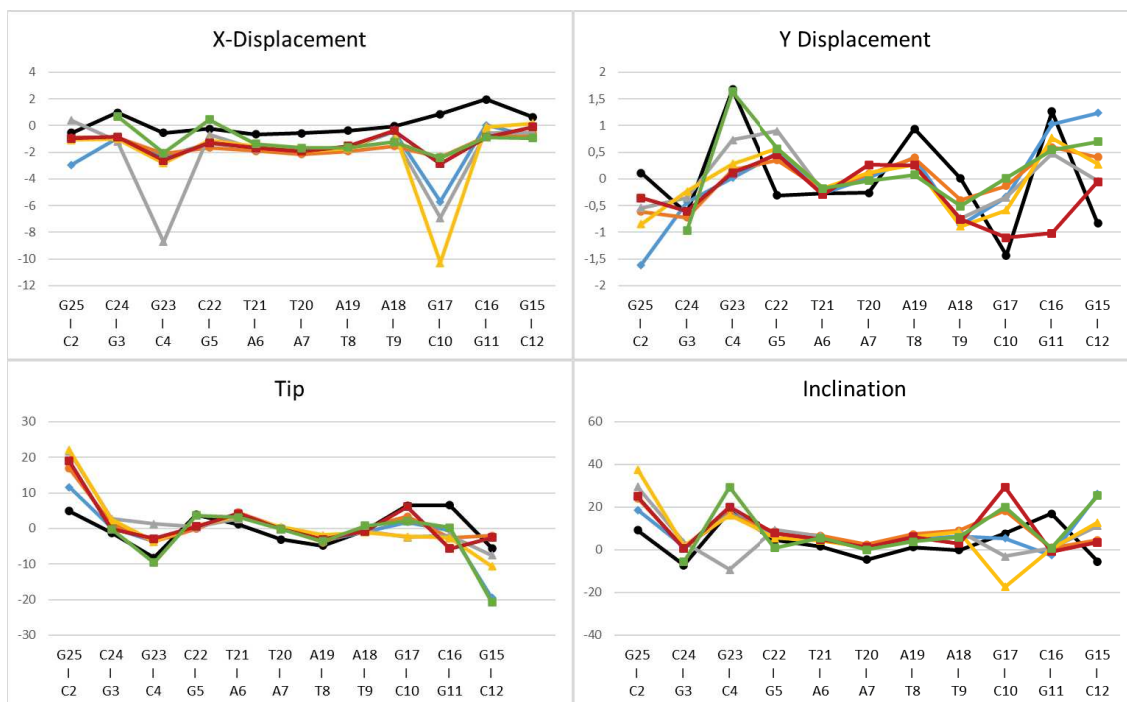


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação, incluindo as barras de desvio padrão.

\*\* Valores obtidos por meio da plataforma online 3DNA.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 29** - Parâmetros de eixo-base para DDD···MonoplatinNC\* (losango azul), DDD···DiplatinNC\* (círculo laranja), DDD···AH44\* (triângulo cinza) DDD···AH78P\* (triângulo amarelo), DDD···TriplatinNC\* (quadrado vermelho), DDD···AH78H\* (quadrado verde) e 1BNA\*\* (círculo preto).



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação, incluindo as barras de desvio padrão.

\*\* Valores obtidos por meio da plataforma online 3DNA.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A metodologia MM-GBSA foi utilizada para calcular a energia de interação considerando o modelo de solvatação implícita Generalized-Born (GB). Nesta abordagem, as energias livres de interação são calculadas subtraindo as energias livres dos sistemas DDD···SI-PPCs das energias livres do ligante (DDD) e receptor (SI-PPCs) através da equação 3 (MILLER *et. al.*, 2012).

$$\Delta G_{int,solv} = \Delta G_{complexo,solv} - (\Delta G_{receptor,solv} + \Delta G_{ligante,solv}) \quad \text{Equação 3}$$



Na Eq. (3), os termos  $\Delta G_{\text{complexo,solv}}$ ,  $\Delta G_{\text{receptor,solv}}$  e  $\Delta G_{\text{ligante,solv}}$  representam as energias livres de Gibbs das moléculas em solução DDD...SI-PPCs, DDD e SI-PPCs, respectivamente, e são calculados de acordo com a seguinte equação.

$$\Delta G_{i,\text{solv}} = \Delta H - T\Delta S \approx \Delta E_{\text{gas}} + \Delta G_{\text{solv}} - T\Delta S_{\text{soluto}} \quad \text{Equação 4}$$

O  $\Delta E_{\text{gas}}$  é a energia da fase gasosa e inclui uma soma das energias dos átomos ligados (interna) e não ligados (eletrostática e van der Waals). O  $\Delta G_{\text{solv}}$  é a energia livre de solvatação calculada pelo modelo GB. No método MM-GBSA, o  $\Delta G_{\text{int}}$  é calculado como uma média sobre um conjunto de passos de DM selecionados a partir de uma trajetória específica. As energias de interação foram obtidas ao longo da simulação em intervalos de 10ns e os valores médios são mostrados na **Tabela 2**. Todos os processos, exceto DDD...MonoplatinNC, são termodinamicamente favoráveis com energia livre média inferior a  $-35,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Conforme o número de centros de platina (II) aumenta, a energia de interação se torna mais negativa, e, para complexos trinucleares, quanto maior for o tamanho da cadeia carbônica entre os centros metálicos, menor a energia de interação. Acredita-se que o tamanho dos complexos favorece a formação de um maior número de interações, tornando o valor da energia de interação mais negativo.

**Tabela 2** - Valores médios das energias de interação em  $\text{kcal.mol}^{-1}$  para um tempo de simulação de 200ns.

DDD_SI-PPC	$\Delta G_{\text{int}}$	$\Delta E_{\text{vdw}}$	$\Delta E_{\text{elet}}$
<i>DDD...MonoplatinNC</i>	5,39	-8,04	-1842,25
<i>DDD...DiplatinNC</i>	-40,81	-10,65	-2687,70
<i>DDD...AH44</i>	-46,28	-14,82	-2730,79
<i>DDD...AH78P</i>	-52,30	-19,55	-3729,64
<i>DDD...TriplatinNC</i>	-59,28	-23,70	-3800,38
<i>DDD...AH78H</i>	-79,08	-42,60	-3826,68

FONTE: Elaborada pela autora (2020).

Nota-se que as contribuições de van der Waals e eletrostática são ambas negativas, com o termo eletrostático desempenhando um papel primordial para a estabilização do complexo DDD...SI-PPCs. Esta alta contribuição eletrostática deve-se principalmente às cargas apresentadas pelos SI-PPCs e DDD, variando de +4 a +8 nos complexos de platina (II) e -22 no modelo de DNA. Essas contribuições seguem o mesmo perfil apresentado nas energias livres de Gibbs, onde os valores diminuem de acordo com o aumento do número de centros de platina

e também com o aumento do número de átomos de carbono para os complexos com 3 átomos de platina.

A **Tabela 3** mostra as bases nitrogenadas envolvidas na formação das interações e quais são os tipos de interações, que podem ser simples, formadas entre um grupo amino e um átomo de oxigênio, ou estruturas cíclicas, formando os grampos ou garfos de fosfato. Para os complexos monoplatinNC e diplatinNC verificou-se um grande número de interações simples formadas principalmente pelos grupos  $\text{NH}_3$  terminais. Esses grupos se mostram importantes ao longo da simulação por manterem o complexo próximo ao *DNA*, o que se acredita que irá impedir a aproximação de outras moléculas como enzimas reparadoras, fatores de transcrição, entre outras que estão envolvidas nos processos de reparo do *DNA*.

Vale ressaltar que, para um mesmo tempo de simulação, podem aparecer mais de uma vez o mesmo tipo de resíduo, isso deve-se ao fato de um centro metálico interagir com duas bases adjacentes, ou mais, de um centro metálico interagir com bases nitrogenadas do mesmo tipo. Nota-se que os complexos não possuem preferência por grupos fosfatos de uma base nitrogenada específica. Ao longo das simulações, os complexos formam interações com as diferentes bases presentes no modelo de *DNA* estudado. Os complexos trinucleares AH78P, triplatinNC e AH78H apresentam um maior número de interações quando comparados com os complexos monoplatinNC e diplatinNC devido ao maior número de centros metálicos disponíveis para interagir. As interações formadas por tais compostos são preferencialmente estruturas cíclicas, sejam grampos ou garfos de fosfato, podendo ocorrer as duas estruturas simultaneamente envolvendo um único centro metálico.

Ao longo das trajetórias de DM, foi observada a formação das estruturas cíclicas do tipo grampos e garfos de fosfato em todos os sistemas estudados. Para os complexos monoplatinNC e diplatinNC, houve um grande número de interações simples formadas principalmente pelos grupos  $-\text{NH}_3$  terminais. Notou-se também em todos os sistemas que cada centro metálico pode interagir com uma ou duas bases adjacentes simultaneamente. Da mesma forma, cada base nitrogenada interage com até dois centros metálicos ao mesmo tempo. Observou-se que os ligantes SI-PPCs não interagem preferencialmente com os grupos fosfato de uma base de nitrogênio específica. A **Figura 30** mostra as estruturas não-covalentes formadas ao final de 200ns de simulação.



**Tabela 3** - Tipos e bases nitrogenadas envolvidas nas interações formadas ao longo da trajetória de simulação. \*

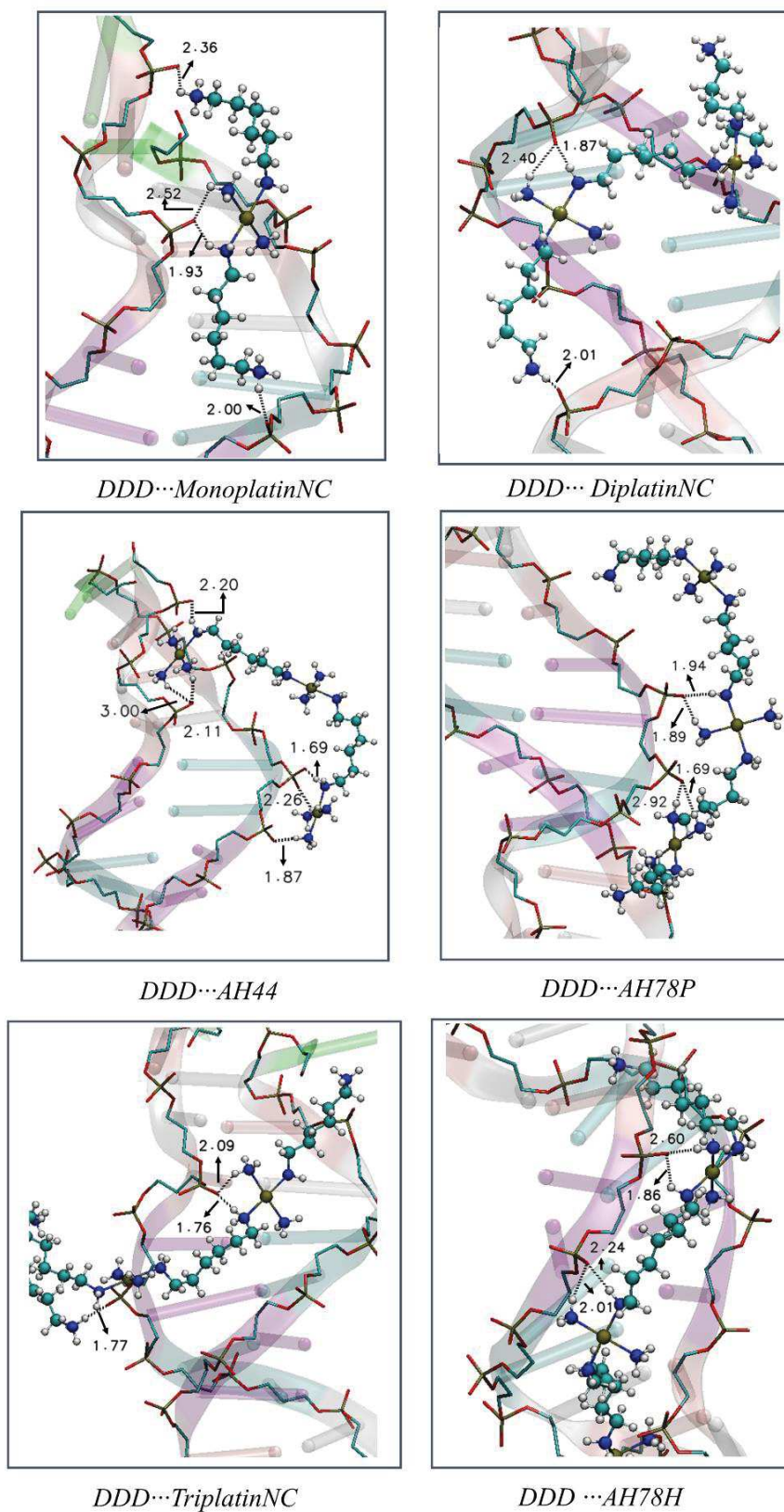
ns	DDD...MonoplatinNC		DDD...DiplatinNC		DDD...AH78P		DDD...TriplatinNC		DDD...AH78H	
	Resíduo	Interação	Resíduo	Interação	Resíduo	Interação	Resíduo	Interação	Resíduo	Interação
20	A	IS <sup>#</sup>	C G	GR GR	C A T	GA, GR IS IS <sup>#</sup>	G A A A	GA, GR GA GR GA	A T	GA, GR IS
40	G A T	IS <sup>#</sup> GR IS	A C G C	GR, GA IS <sup>#</sup> GR, GA IS <sup>#</sup>	T A A	GA, GR GA, GR GA	A A	GA, GR GA	G A G T	GA, GR GA IS IS <sup>#</sup>
60	G A	IS <sup>#</sup> GR	A G A	IS <sup>#</sup> GR IS <sup>#</sup>	A G C	GA, GR, IS GA, GR GA	G A T C	IS IS IS IS <sup>#</sup>	T C G	GA, GR GA, GR GA
80	G G	IS IS <sup>#</sup>	A	IS <sup>#</sup>	A A C G	GR IS GA IS <sup>#</sup>	A A G C	GA IS GA IS <sup>#</sup>	G G C G	IS GR GA, GR IS
100	A A	IS <sup>#</sup> GA	C G A	IS <sup>#</sup> GA GR, GA	A T C	GA, GR GA, GR IS <sup>#</sup>	T T C	GA IS GA	C T T G C G	IS IS GA, GR GR IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup>
120	A G	IS <sup>#</sup> IS	G G C	IS <sup>#</sup> IS GR	A A G	GA, GR IS IS <sup>#</sup>	G A G A	GA, GR GA GA, GR IS <sup>#</sup>	T T G G	IS <sup>#</sup> GR GA IS

<b>140</b>	G G	IS <sup>#</sup> IS	C G	IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup>	A A A T G	GR IS GA, GR IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup>	G T C G G	IS <sup>#</sup> IS GA, GR GA IS <sup>#</sup>	C G G	IS IS GR
<b>160</b>	C G	IS <sup>#</sup> IS	T	GR, GA	A T T A	GA, GR IS GA, GR IS <sup>#</sup>	A G C	IS <sup>#</sup> GA IS	G C T	GA IS GA
<b>180</b>	A	IS	G G	GA IS <sup>#</sup>	A T C C	GA, GR GR GA, GR GA	C T G A A	IS <sup>#</sup> GA GA GR IS	G G T T C G	IS <sup>#</sup> GA GR IS GA, GR GA
<b>200</b>	G T G	GR, GA IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup>	A C	GR IS <sup>#</sup>	T T	GA, GR IS	G C T	GA, GR IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup>	C G T C	IS <sup>#</sup> IS <sup>#</sup> GA, GR IS

\*IS – interação simples; IS<sup>#</sup> - interação simples formada pelos grupos NH<sub>3</sub> terminais; GR – grampo de fosfato; GA – Garfo de fosfato.

FONTE: Elaborada pela autora (2020).

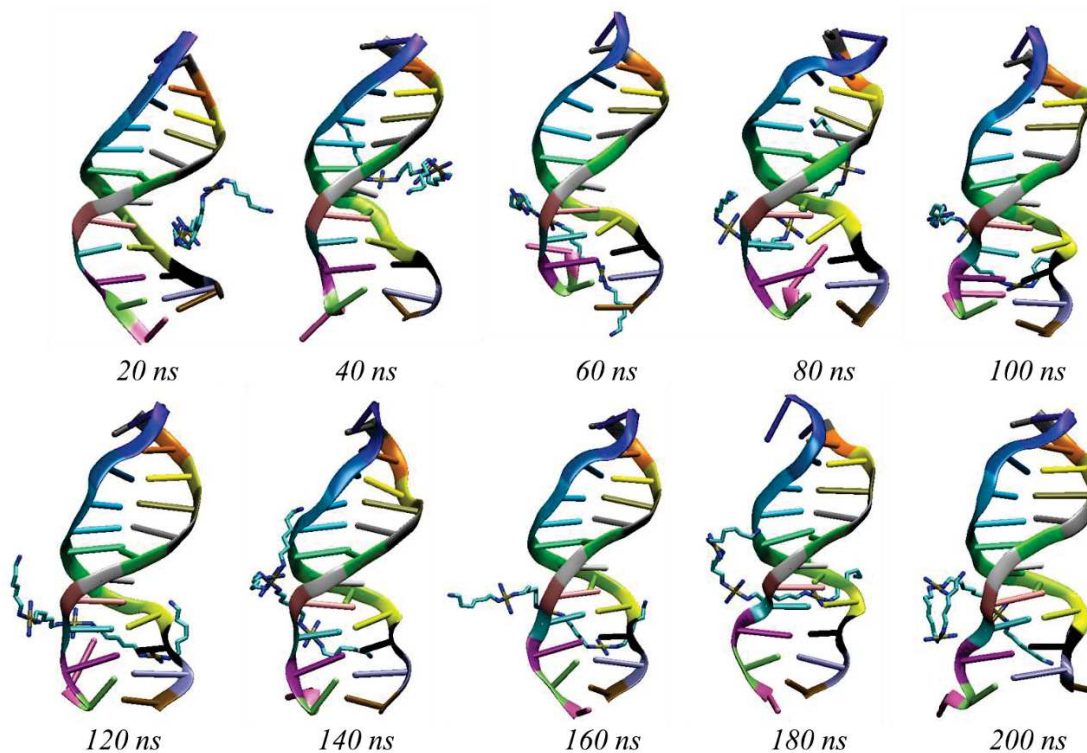
**Figura 30** - Estruturas finais da trajetória de simulação destacando as principais estruturas não-covalentes formadas entre os SI-PPCs e DNA.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Uma última análise desse sistema envolveu o mapeamento da posição dos centros de platina em relação ao DNA, ao longo da simulação, utilizando o *software VMD*<sup>®</sup> (*Visual Molecular Dynamics*). A **Figura 31** mostra a posição do complexo triplatinNC em relação ao fragmento de DNA em diferentes tempos ao longo da simulação e permite visualizar como o mapeamento da distribuição espacial dos SI-PPCs foi realizado. Notamos que há uma flutuação na posição do complexo em relação ao fragmento de DNA durante a trajetória.

**Figura 31** - Posição do complexo TriplatinNC em diferentes tempos de simulação.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Com o objetivo de analisar se ocorre preferência dos SI-PPCs por uma determinada região do DNA foi realizada uma análise da distribuição espacial dos complexos em relação ao DNA, onde a posição do mesmo é fixada. Tal mapeamento é mostrado na **Figura 32** e mostra a sobreposição de 50 frames da trajetória de simulação. Nessa figura temos 50 imagens semelhantes às mostradas na figura 31 colocadas justapostas com destaque para as posições dos SI-PPCs em relação ao fragmento de DNA.

Analisando os complexos trinucleares, observou-se que para os sistemas DDD...AH44 e DDD...AH78P, os três centros de platina interagem preferencialmente

entre os sulcos (*groove spanning*), principalmente no sulco menor na região composta por pares A-T, e no sulco maior na região C-G. Para os sistemas que contêm complexos TriplatinNC e AH78H, os centros de Pt são espalhados ao longo do sulco menor, através do modo *backbone tracking*, que pode ser visto claramente na estrutura DDD...AH78H. Isso é resultado da longa cadeia de carbono, que permite a formação de um maior número de interações ao longo da cadeia dos grupos fosfatos presentes na espinha dorsal do DNA. Semelhante aos compostos mono e dinucleares, a região de interação é predominantemente composta por pares C-G.

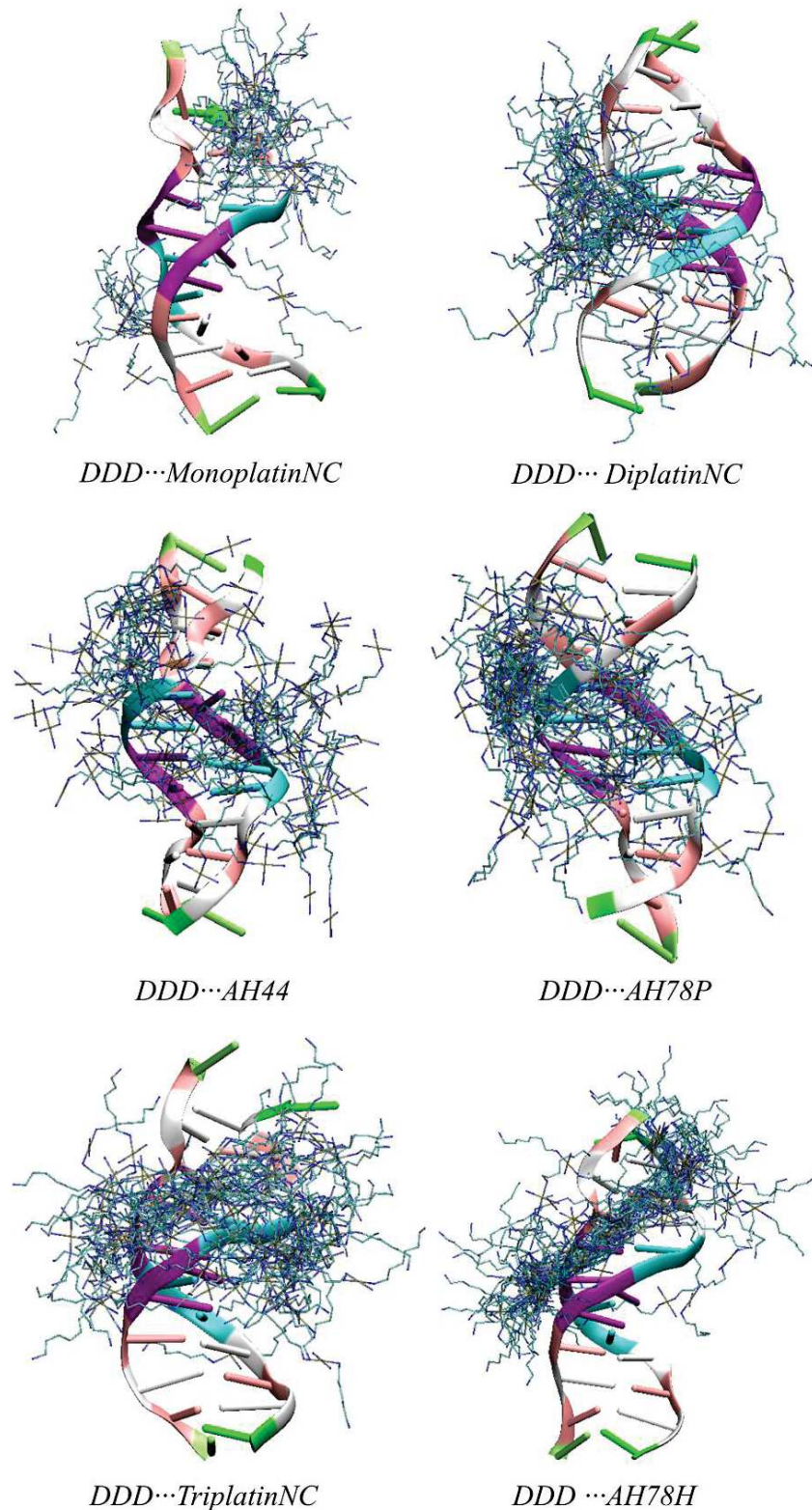
No caso do complexo DDD...MonoplatinNC, observam-se duas regiões preferenciais do centro metálico. Essas regiões do DNA são compostas principalmente por pares C-G na região do sulco menor. Vale a pena salientar que o composto MonoplatinNC interage preferencialmente através dos grupos  $\text{NH}_3$  terminais através da formação de estruturas não covalentes com grupos fosfato que se localizam na região central do sulco menor. Analisando o mapeamento dos dois centros de platina, presentes no complexo DDD...DiplatinNC, é possível verificar que as interações ocorrem na região do sulco maior onde há maior concentração de pares de bases A-T.

Outro resultado obtido foi a análise *H-bond* onde foi possível contabilizar o número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória e os resultados estão mostrados na **Figura 33**, que mostra um gráfico do número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória. Foram contabilizados os números de *frames* em que duas ou mais ligações de hidrogênio ocorreram simultaneamente.

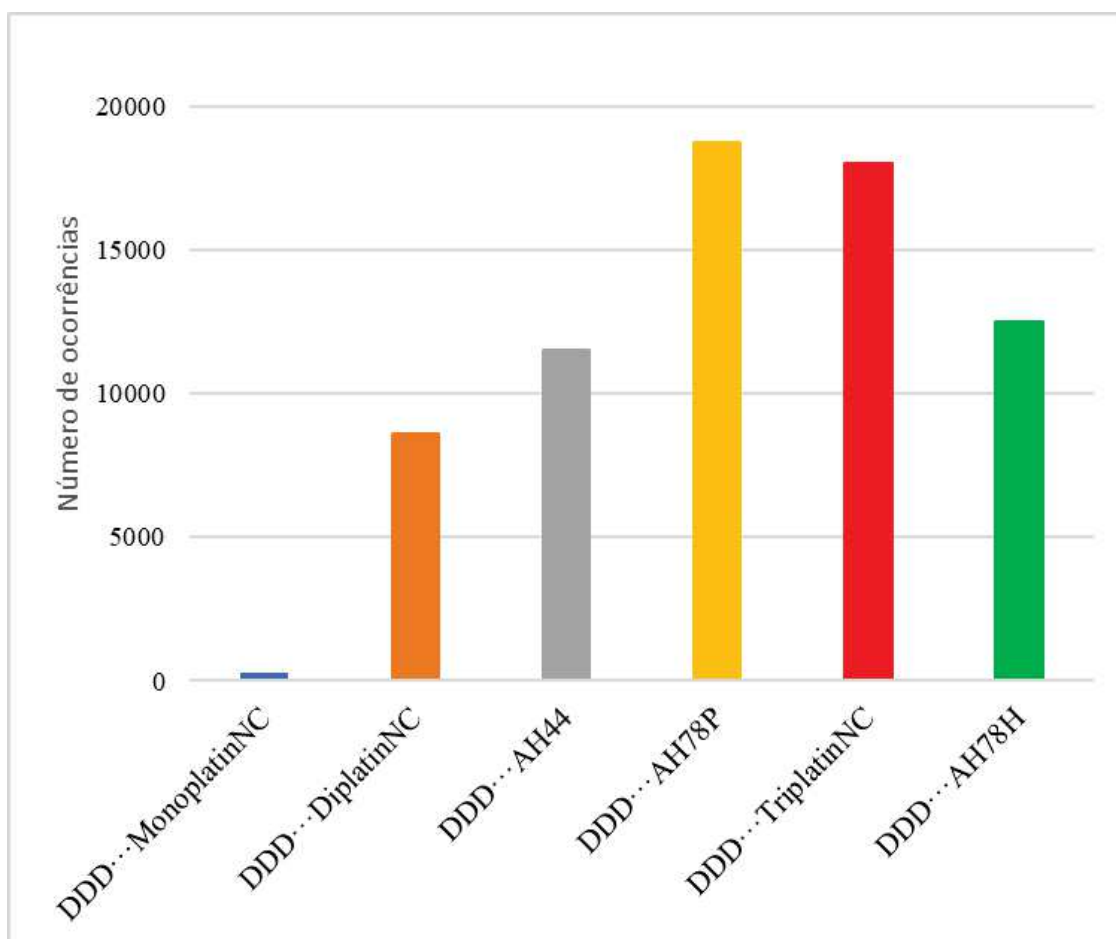
É importante ressaltar que um único centro de platina pode formar um grampo e um garfo de fosfato simultaneamente com o mesmo grupo fosfato e que nesta análise não foram contados grampos de fosfato incompletos, apenas estruturas com duas ou mais ligações de hidrogênio, formadas por cada par de grupos amina localizados na posição *cis*. É possível notar que os complexos que possuem mais de um centro de platina e com grupos de aminas “pendentes” possuem os maiores valores, onde destacam-se os sistemas DDD...AH78P e DDD...TriplatinNC.



**Figura 32** - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com DDD. Os átomos de hidrogênio dos SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 33** - Número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os resultados apresentados até esse ponto da tese mostraram que os derivados SI-PPCs são capazes de interagir com grupos fosfato no DNA, por meio da formação de estruturas cíclicas não-covalentes, denominadas grampos e garfos de fosfatos. Esses resultados estão em concordância com os dados apresentados em um trabalho recente, onde mostramos que os centros não covalentes de Pt (II) têm a capacidade de interagir com os grupos fosfato presentes no DNA, utilizando a metodologia híbrida QM/MM ONIOM (ROSA *et. al.*, 2019).

#### 4.2.2 24\_bp\_DNA···SI-PPCs

Com o objetivo de minimizar os efeitos de borda presentes no fragmento de DNA, foram realizadas simulações de DM utilizando um fragmento de DNA mais longo formado por 24 pares de bases, cuja sequência é dada por [d(CGCGAATTCGCGCGCGAATTCGCG)]<sub>2</sub>, e foi denominado nesse trabalho como 24\_bp\_DNA. Para todos os sistemas estudados neste tópico, os SI-PPCs ligam-se preferencialmente ao DNA através dos modos *backbone tracking* e *groove spanning* devido, principalmente à formação de estruturas não-covalentes, como grampos e garfos de fosfato. Como já dito anteriormente, Komeda e colaboradores (KOMEDA *et. al.*, 2016) relataram que a presença de estruturas não-covalentes afeta as larguras dos sulcos maiores e menores no DNA. A partir disso avaliamos as mudanças na conformação do DNA após a ligação dos SI-PPCs, mostrados na **Figura 7**.

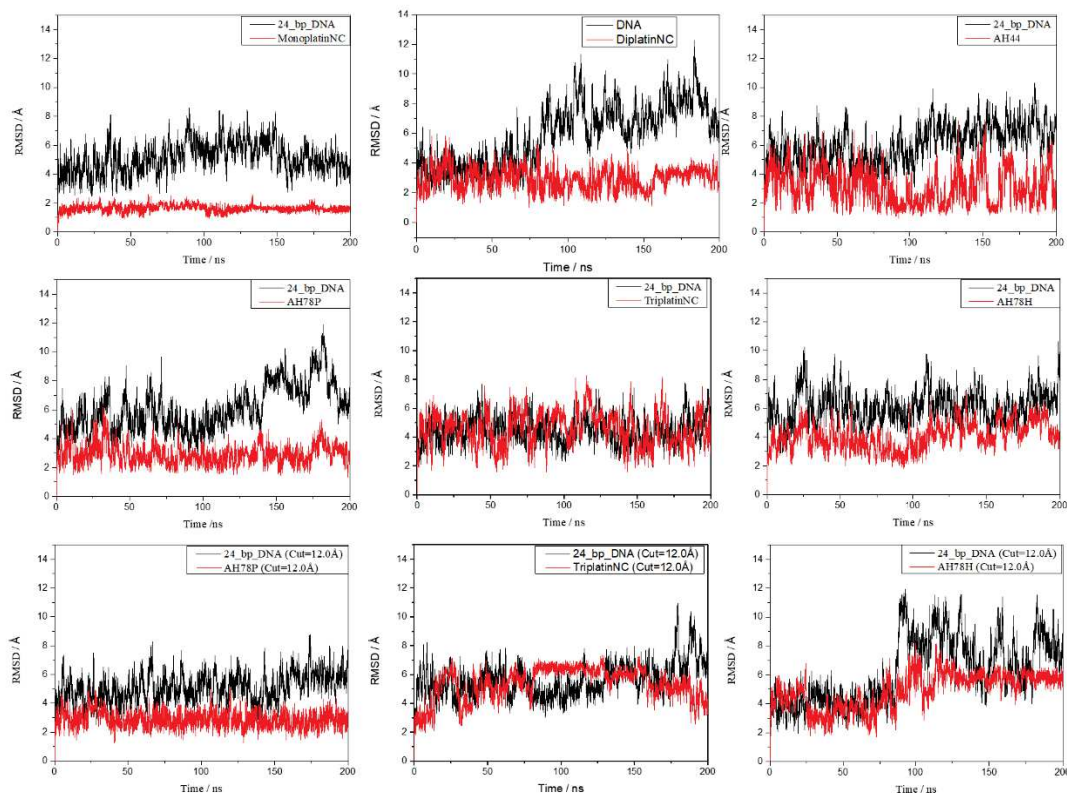
Para analisar a estabilidade estrutural ao longo da trajetória, foram calculados os valores do desvio quadrático médio (RMSD) do DNA e SI-PPCs, mostrados na **Figura 34**. Os complexos MonoplatinNC, AH44 e AH78P mostraram-se bastante rígidos, com os menores valores médios de RMSD, 1,6 Å, 3,1 Å e 2,9 Å. Com cut = 12,0 Å, o valor mais baixo é observado para o AH78P, 2,8 Å. Os fragmentos de DNA apresentaram valores médios de RMSD acima de 4,0. Sistemas contendo complexos trinucleares apresentam os maiores valores de RMSD para DNA, e a alteração no valor de cut não apresentou diferenças significativas, exceto para o sistema 24\_bp\_DNA···AH78H, que com cut = 12,0 Å, que após 100ns aumenta a flutuação de DNA, atingindo um valor próximo a 10,0 Å. O mesmo é observado para DiplatinNC a partir de 80ns, que atinge valores próximos a 12,0 Å. Acredita-se que o maior número de estruturas não covalentes formadas por complexos trinucleares favorece o aumento das flutuações na estrutura do DNA.

A **Figura 35** mostra a média das larguras de sulco maior e menor do DNA, calculada ao longo de todas as trajetórias MD onde as interações não ligadas foram truncadas a partir de uma distância de 6,0 Å e na **Figura 36** as interações não ligadas foram truncadas a partir de uma distância 12,0 Å. Os valores foram obtidos medindo as distâncias P-P (EL HASSAN; CALLADINE, 1998) em cada região. Em comparação com a estrutura de controle, nota-se um aumento na largura de ambos os sulcos em algumas regiões, após a formação da interação, devido a presença das estruturas não-covalentes.



No sulco menor, o efeito é mais pronunciado na região central do fragmento, devido a uma ligeira diminuição nas distâncias dos grupos fosfato no sulco maior.

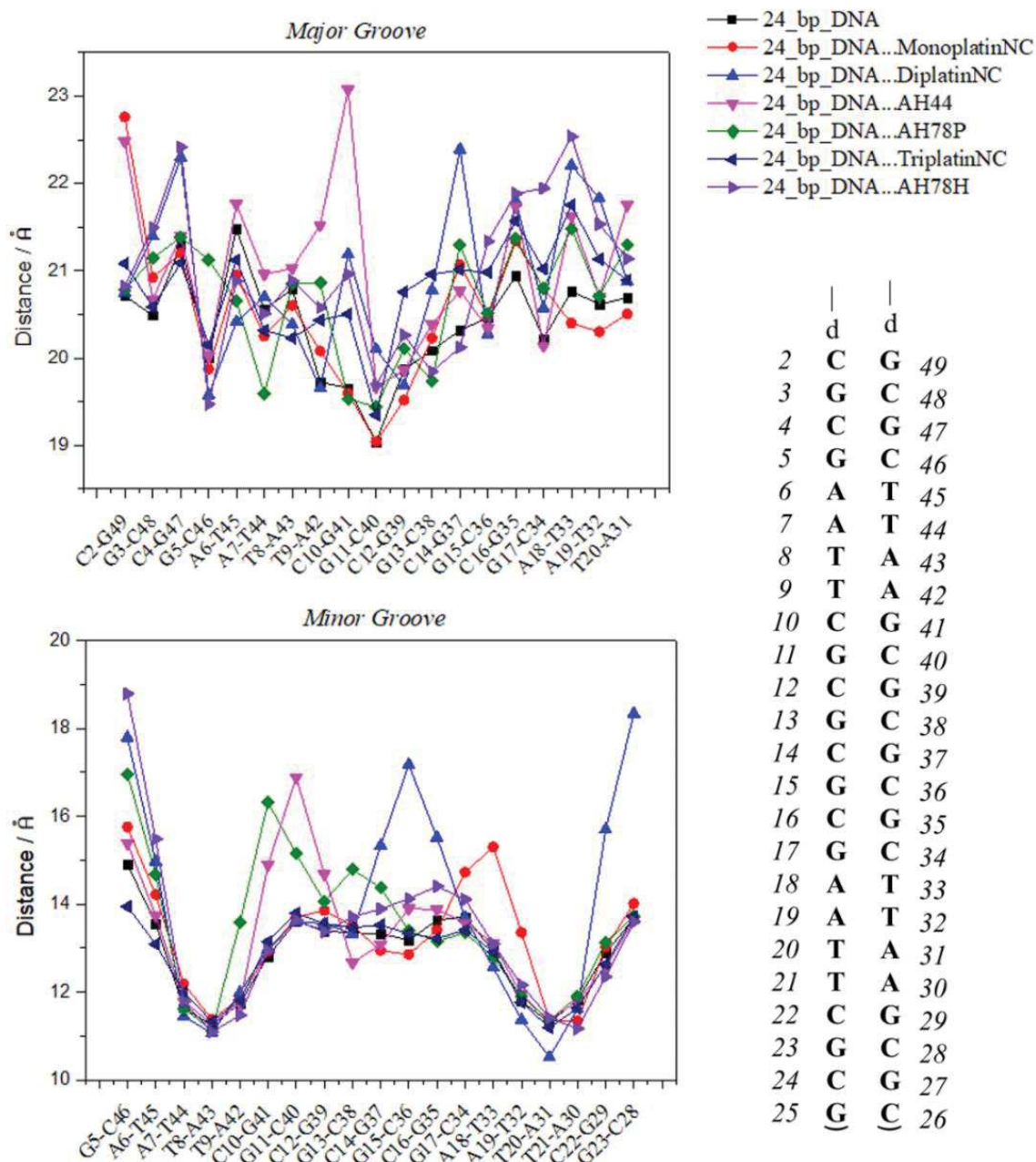
**Figura 34** - Gráficos das flutuações do RMSD



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A partir dos dados apresentados na **Tabela 4**, é razoável observar que em média a o aumento nas distâncias P-P no sulco maior é mais pronunciado em 24\_bp\_DNA...DiplatinNC, 24\_bp\_DNA...AH44 e 24\_bp\_DNA...AH78H. No caso do sulco menor, o aumento ocorre mais acentuadamente nos sistemas 24\_bp\_DNA...MonoplatinNC e 24\_bp\_DNA...DiplatinNC. Analisando as simulações realizadas com cut = 12,0 Å observamos que, para o sulco maior, há uma diminuição mais significativa no valor da distância média nos sistemas com TriplatinNC e AH78H. Já para o sulco menor, observamos um aumento na distância média para os três sistemas estudados.

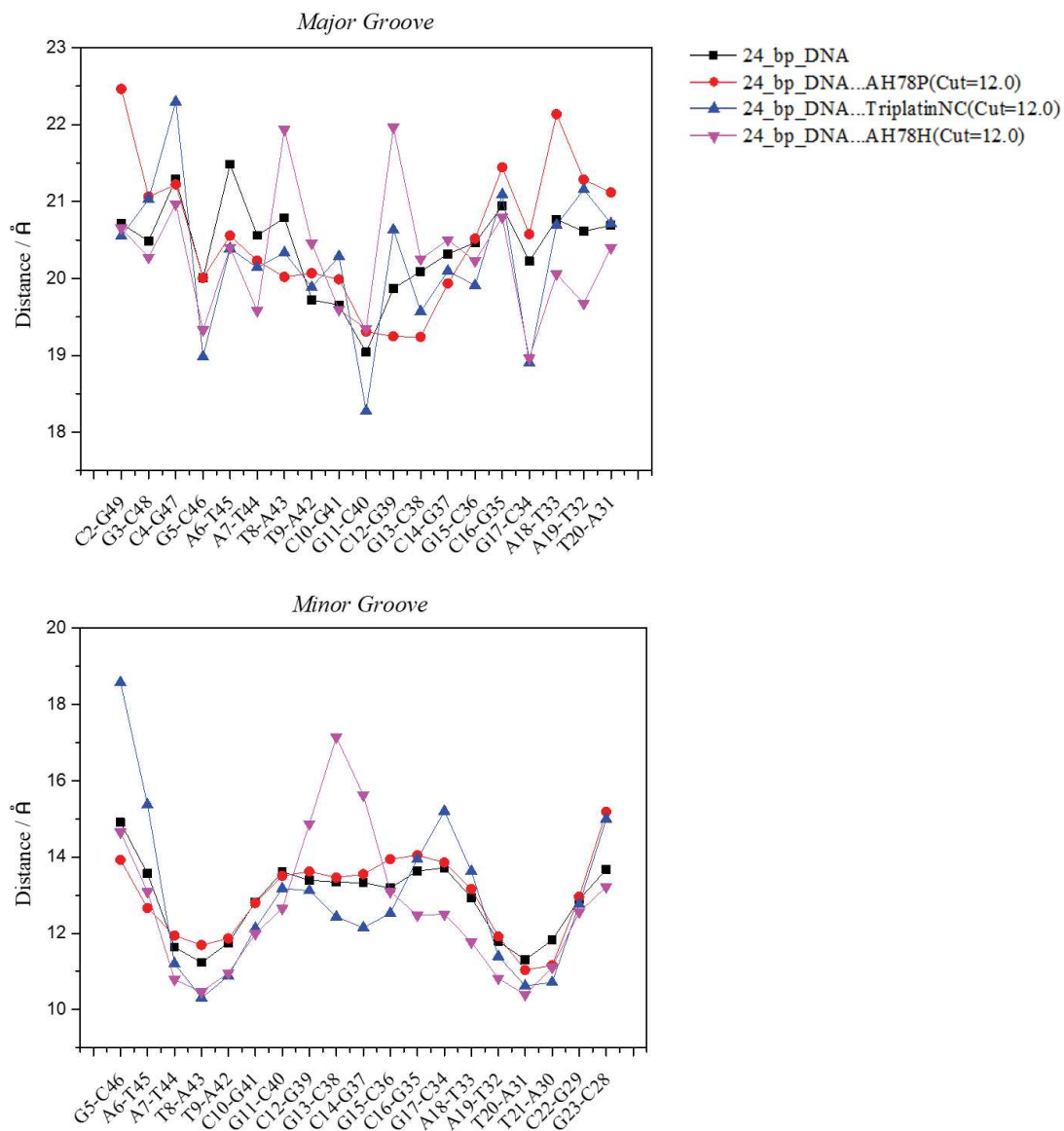
**Figura 35** - Larguras médias dos sulcos menor e maior para 24\_bp\_DNA...MonoplatinNC\* (círculos vermelhos), 24\_bp\_DNA...DiplatinNC\* (triângulos azuis claros), 24\_bp\_DNA...AH44\* (triângulos roxos claros), 24\_bp\_DNA...AH78P\* (triângulos rosa), 24\_bp\_DNA...TriplatinNC\* (losangos verdes), 24\_bp\_DNA...AH78H\* (triângulos azuis escuros), e para o controle 24\_bp\_DNA\* (quadrados pretos).



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 36** - Larguras do sulco menor e maior para o 24\_bp\_DNA...AH78P\* (círculos vermelhos), 24\_bp\_DNA...TriplatinNC\* (triângulos azuis), 24\_bp\_DNA...AH78H\* (triângulos rosa) com cut = 12,0Å e o controle 24\_bp\_DNA\* (quadrados pretos).



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Tabela 4** - Valor médio das distâncias P-P dos sulcos maiores e menores do fragmento 24\_bp\_DNA. Todos os valores estão expressos em Å.

24_bp_DNA···SI-PPC	MAJOR GROOVE	MINOR GROOVE
24_bp_DNA	20,41 ± 2,00	12,59 ± 1,53
24_bp_DNA ...MonoplatinNC	20,52 ± 1,99	13,30 ± 2,18
24_bp_DNA ...DiplatinNC	20,89 ± 2,02	13,40 ± 2,22
24_bp_DNA ...AH44	21,05 ± 2,02	12,57 ± 1,61
24_bp_DNA ...AH78P	20,67 ± 1,99	12,59 ± 1,62
24_bp_DNA···AH78P*	20,55 ± 1,99	12,96± 1,76
24_bp_DNA ...TriplatinNC	20,78 ± 2,14	12,46 ± 1,57
24_bp_DNA ...TriplatinNC*	20,26 ± 1,94	12,98 ± 1,94
24_bp_DNA ...AH78H	20,96 ± 1,98	12,55 ± 1,57
24_bp_DNA ...AH78H*	20,28 ± 1,93	12,64 ± 1,95

\* Valor médio das distâncias P-P dos sulcos maiores e menores do fragmento com cut=12,0Å.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

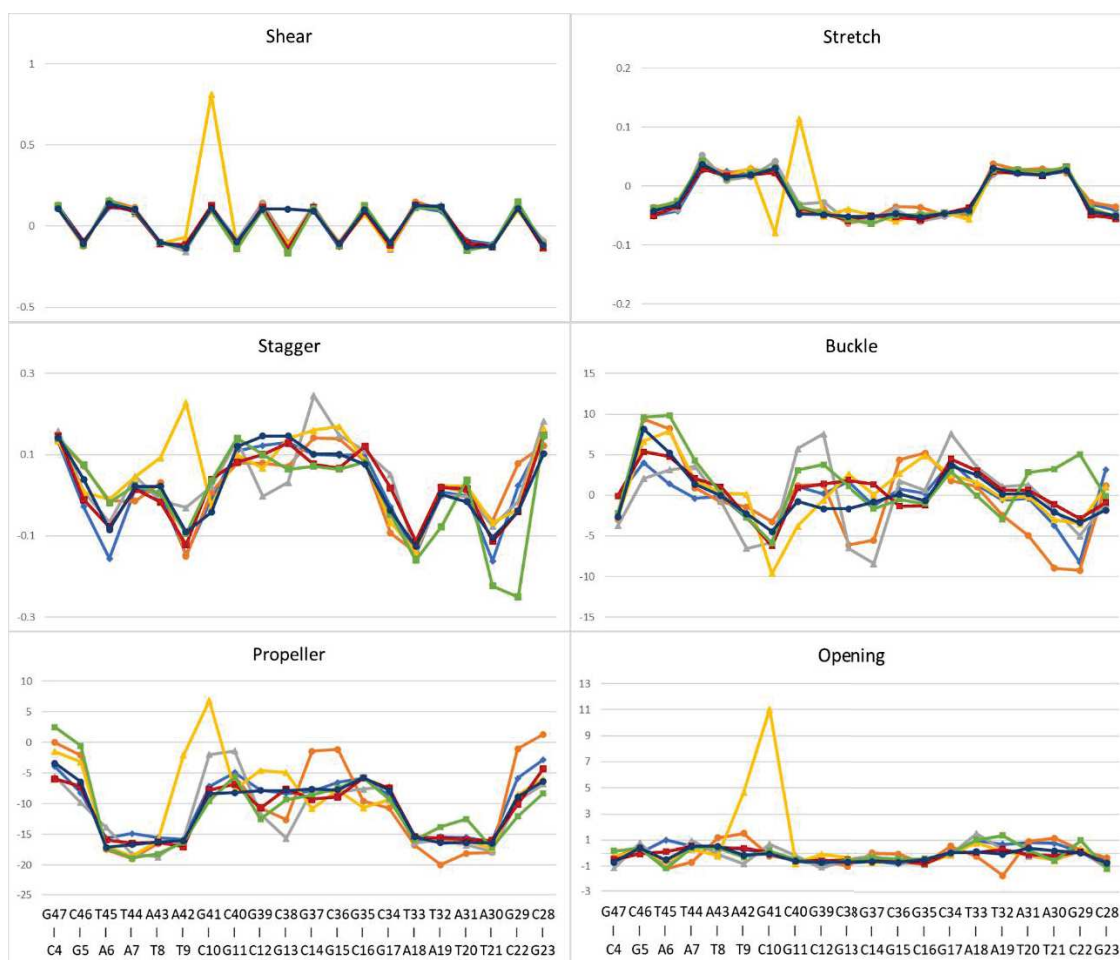
A estrutura da hélice do DNA depende de fatores estruturais relacionados aos pares de bases e estes, por sua vez, dependem da sequência em que os pares são inseridos. Por este motivo, analisamos os grupos de parâmetros rotacionais e translacionais que descrevem cada base em relação à sua base complementar (parâmetros base-base), cada par de bases em relação ao par de bases vizinho (parâmetros inter-base) e cada par de bases em relação ao eixo central da hélice (parâmetros eixo-base) (DICKERSON, 1992; DICKERSON; DREW, 1981). Esses parâmetros, bem como a convenção dos eixos, são mostrados no anexo 2. A combinação dos movimentos relacionados a cada parâmetro é o que dá à hélice sua conformação e diferencia as conformações A-, B- e Z-DNA.

A maioria dos parâmetros obtidos varia em torno do valor médio, pois a molécula de DNA não é rígida e está constantemente sofrendo torções, deformações e curvaturas locais sem que a estrutura global sofra alterações. Por esse motivo, apenas alguns parâmetros serão destacados nesta discussão. Os parâmetros de base-base, inter-base e eixo-base com cut = 6,0 Å são mostrados nas **Figura 37**, **Figura 38** e **Figura 39** e com cut = 12,0 Å são mostrados nas **Figura 40** a **Figura 48**. Para reduzir os efeitos de borda, os pares C2-G49, G3-C48, C24-G27 e G25-C26 foram excluídos da análise.

Os valores do parâmetro “roll” são em sua maioria positivos, o que representa uma tendência dos sulcos maior e menor terem larguras mais simétricas. Os sistemas 24\_bp\_DNA···DiplatinNC, 24\_bp\_DNA···AH44 e 24\_bp\_DNA···AH78P apresentam valores elevados para o parâmetro translacional “slide”, principalmente nos pares de bases das regiões centrais, resultando no aumento do diâmetro da dupla hélice. Os

parâmetros “propeller” e “twist” apresentam grandes variações, mas se correlacionam com a sequência e não tanto com a conformação (CALLADINE, 1982).

**Figura 37** - Parâmetros base-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

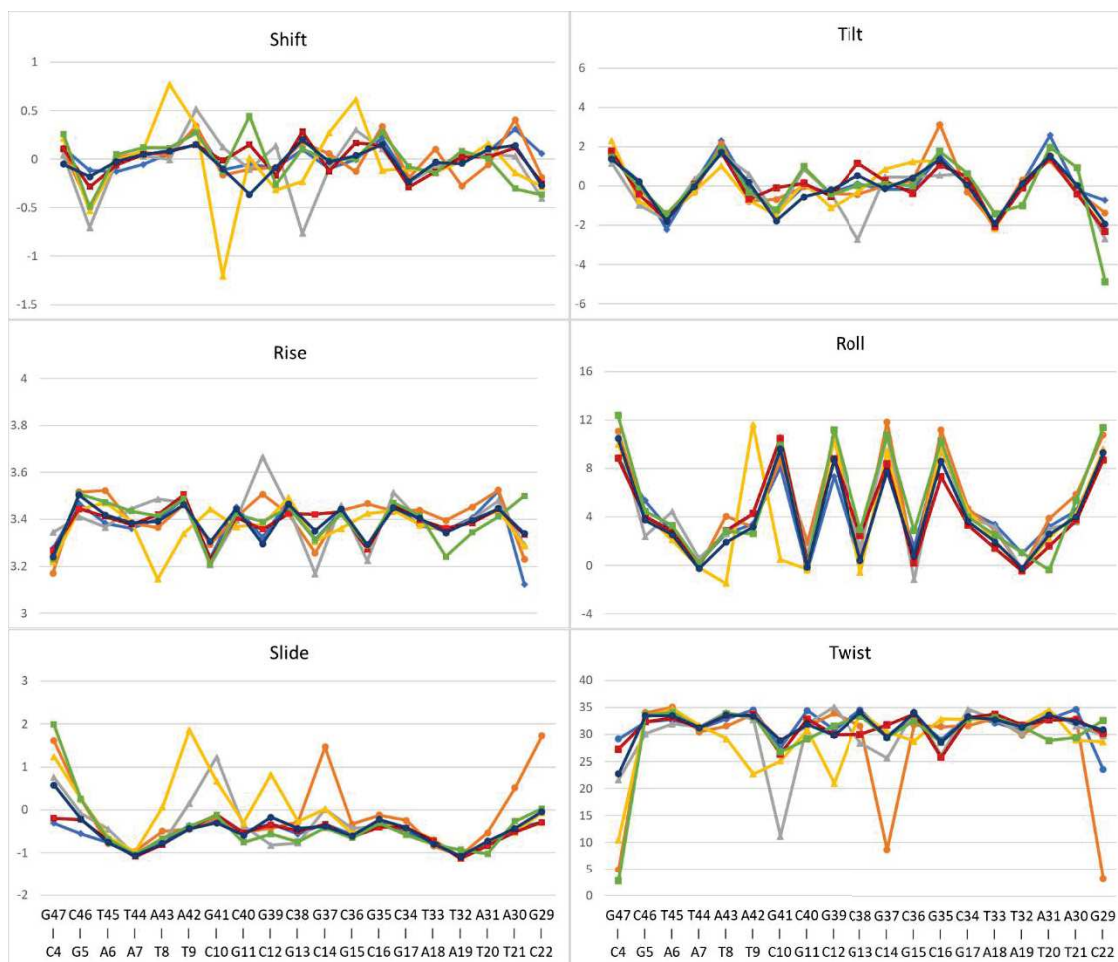


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).



**Figura 38** - Parâmetros inter-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

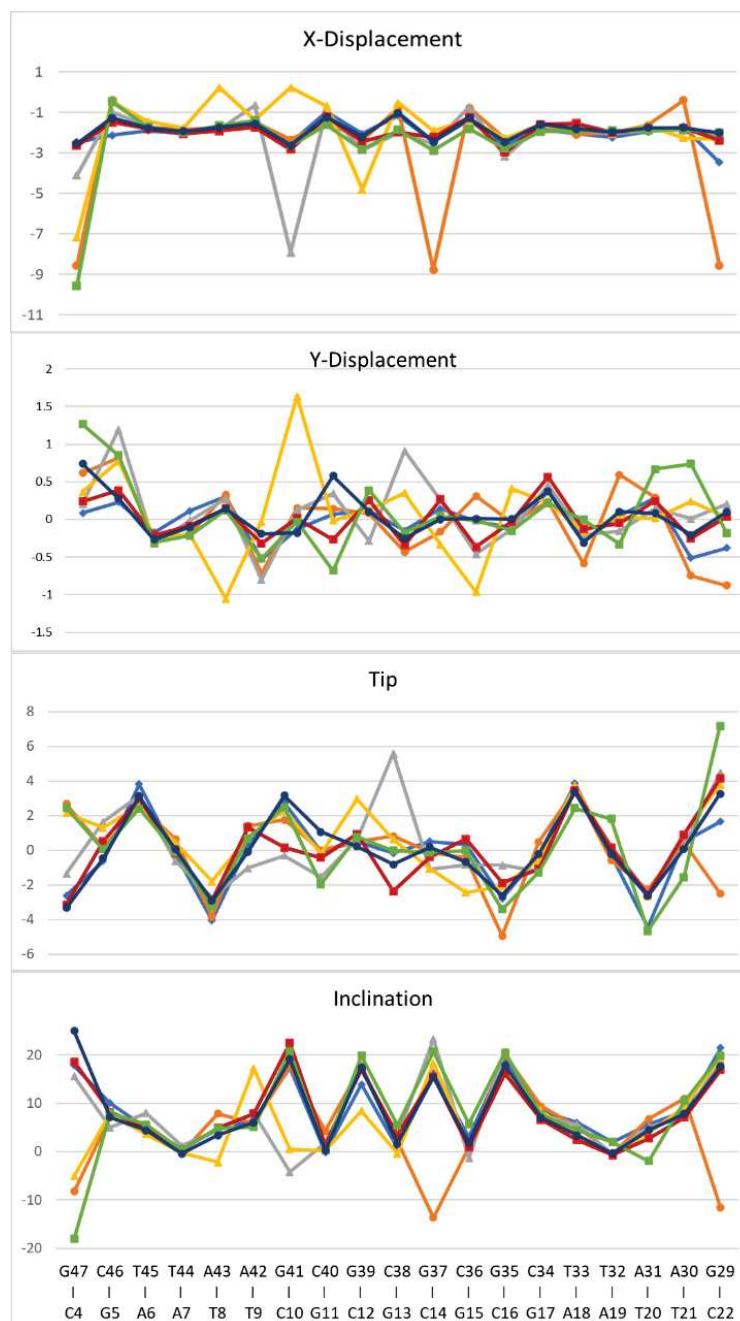


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os sistemas com os compostos AH44, AH78P e DiplatinNC têm altos valores negativos de “X-Displacement” para os pares C10-G41, C12-G39 e C14-G37, respectivamente, gerando uma cavidade central característica da conformação A-DNA, ao contrário da conformação B-DNA esperada para esta sequência. Alguns parâmetros como “roll” e “inclination” que estão relacionados com a conformação da dupla hélice, na prática se mostram fracos indicadores de mudanças conformacionais.

**Figura 39** - Parâmetros eixo-base para 24\_bp\_DNA···MonoplatinNC\* (losangos azuis claros), 24\_bp\_DNA···DiplatinNC\* (círculos laranja), 24\_bp\_DNA···AH44\* (triângulos cinza), 24\_bp\_DNA···AH78P\* (triângulos amarelos), 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* (quadrados vermelhos), 24\_bp\_DNA···AH78H\* (círculos verdes), fragmento de controle 24\_bp\_DNA (círculos azuis escuros). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.



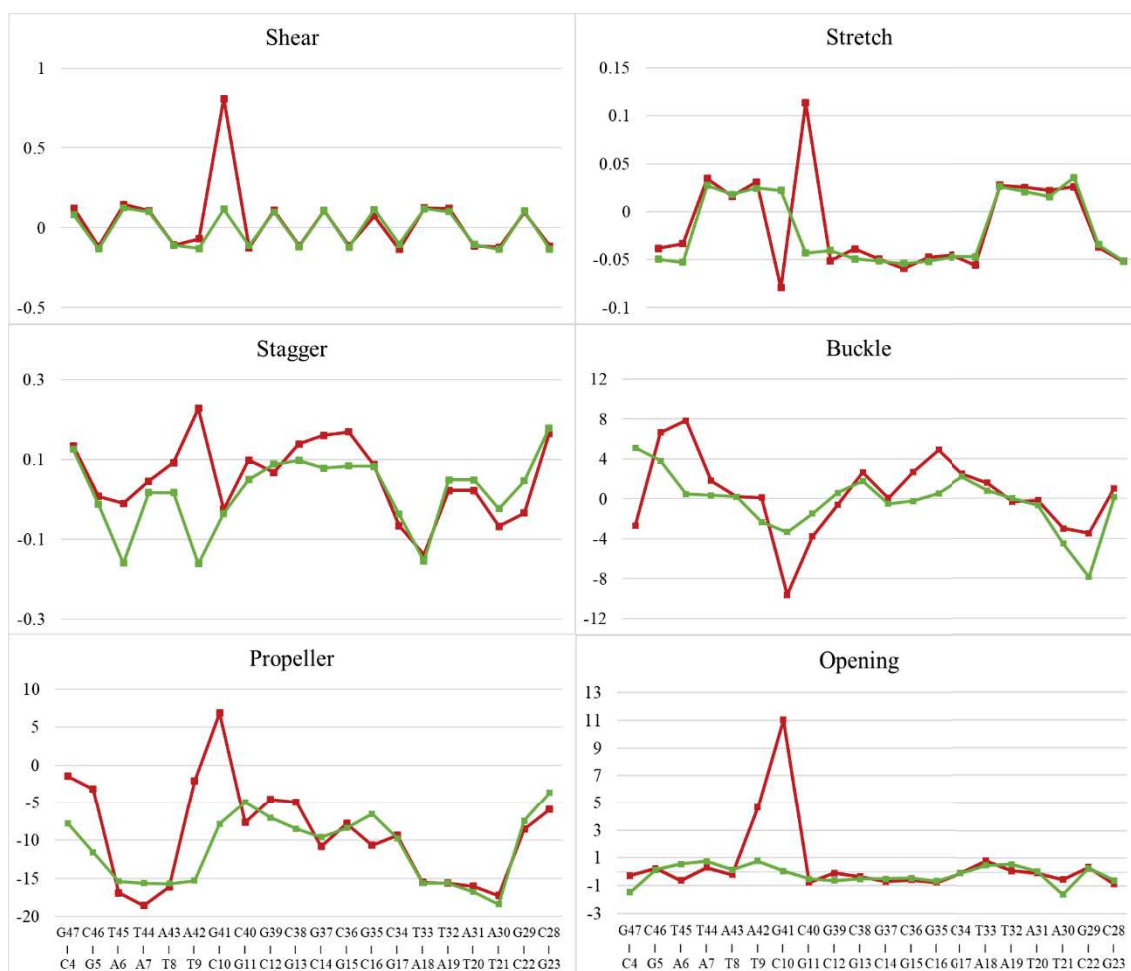
\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os parâmetros relacionados à estrutura da hélice do DNA, observados nas trajetórias de simulação com  $\text{cut} = 12,0 \text{ \AA}$  apresentaram tendências semelhantes às observadas nos resultados iniciais obtidos com  $\text{cut} = 6,0 \text{ \AA}$ . Podemos destacar que para alguns parâmetros, como “shear”, “stretch” e “opening” as diferenças apresentadas com  $\text{cut} = 6,0 \text{ \AA}$  para alguns pares de bases são minimizadas.

**Figura 40** - Parâmetros base-base para o 24\_bp\_DNA...AH78P\* com  $\text{cut} = 6,0 \text{ \AA}$  (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA...AH78P\* com  $\text{cut} = 12,0 \text{ \AA}$  (círculos verdes).

Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

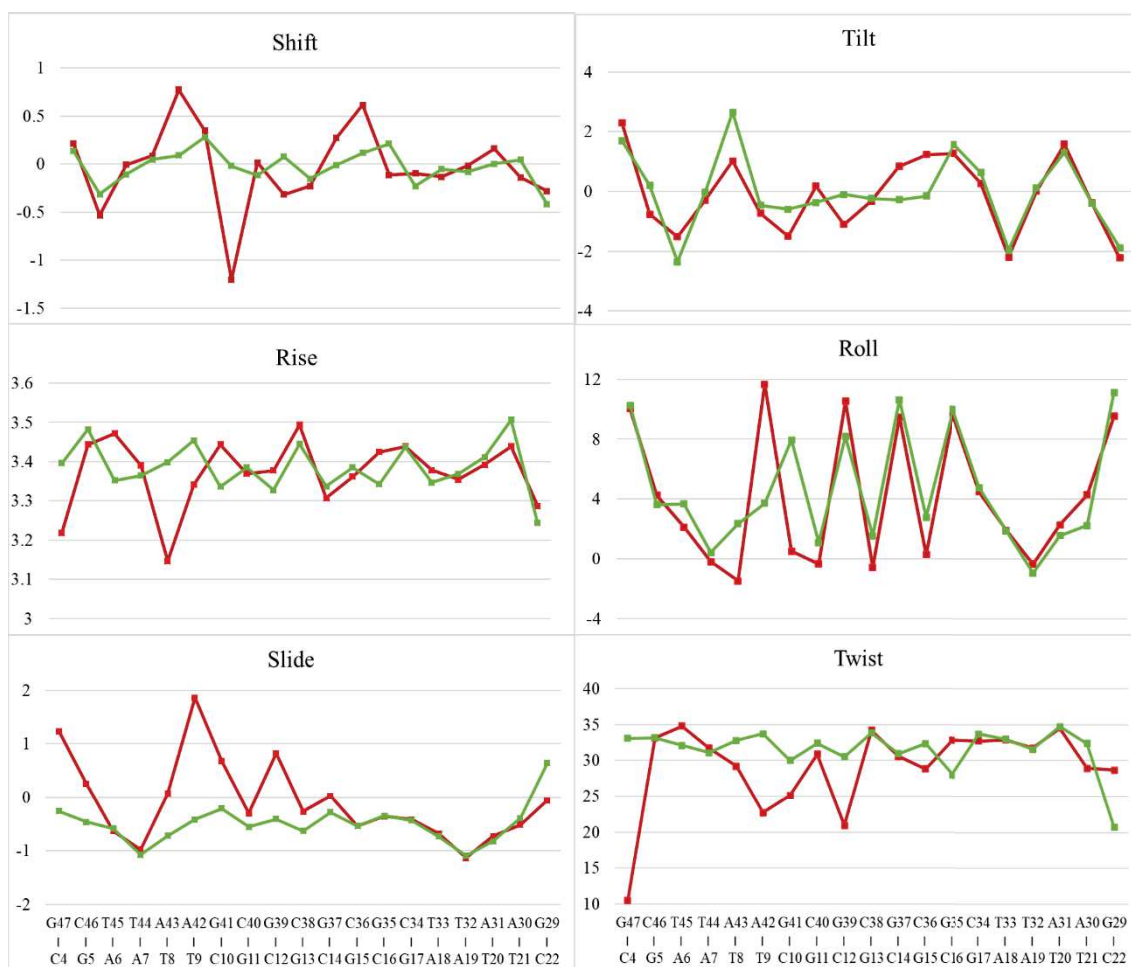


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).



**Figura 41** - Parâmetros inter-base para o 24\_bp\_DNA...AH78P\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA...AH78P \* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

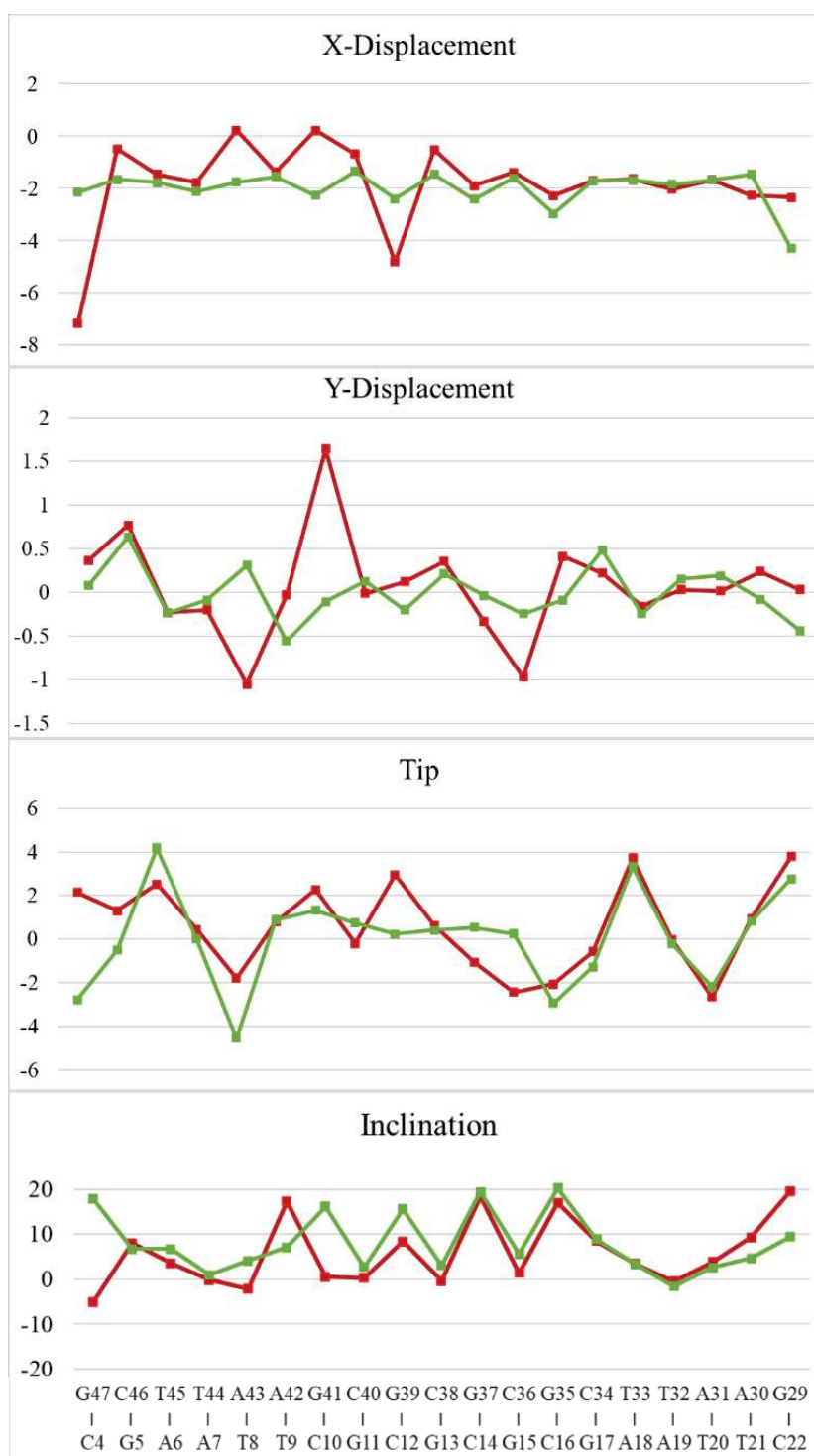


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 42** - Parâmetros eixo-base para o 24\_bp\_DNA...AH78P\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA...AH78P\* com cut = 12,0Å (círculos verdes).

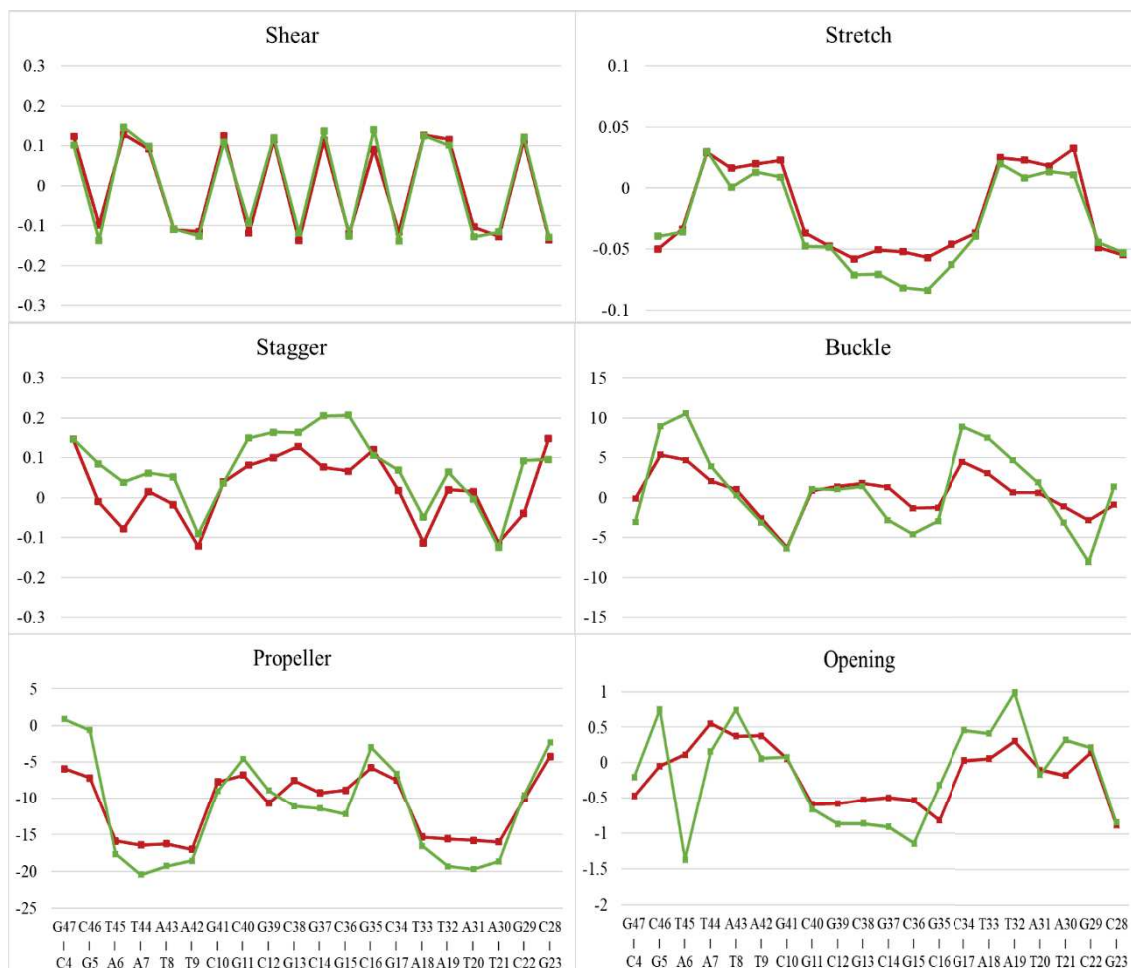
Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

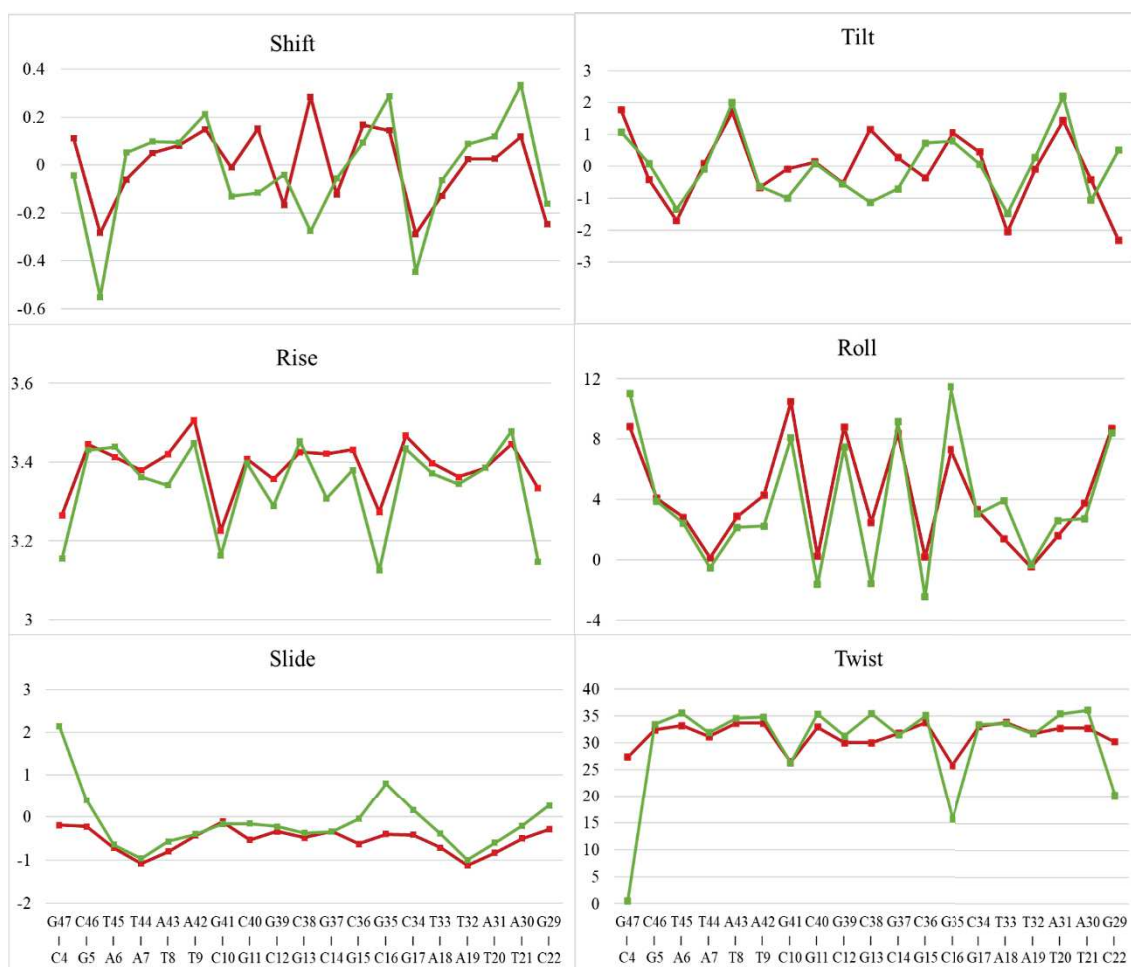
**Figura 43** - Parâmetros base-base para o 24\_bp\_DNA...TriplatinNC\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA...TriplatinNC\* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 44** - Parâmetros inter-base para o 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

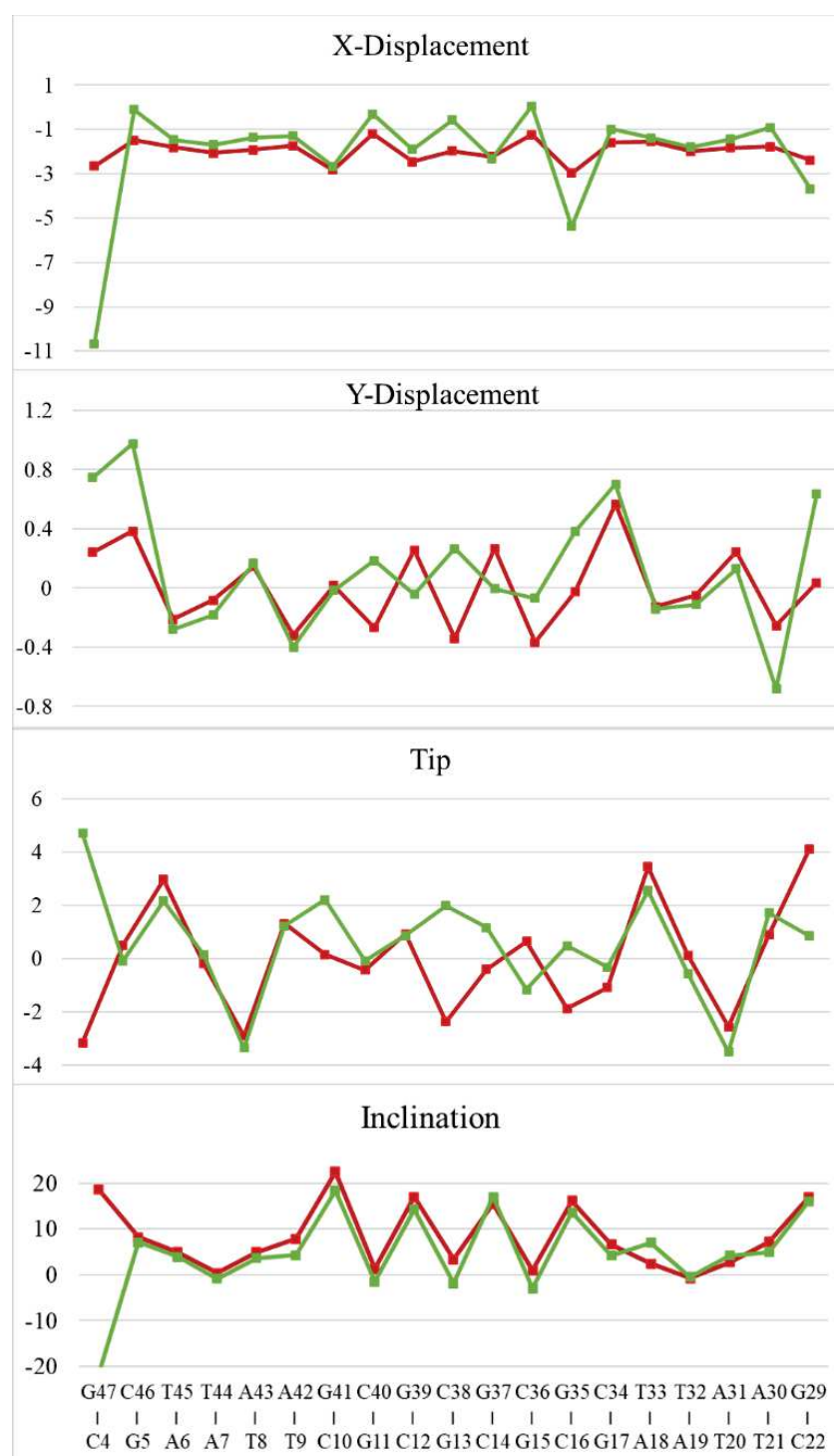


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

O valor negativo significativo do “X-Displacement” para o par C12-G39 em 24\_bp\_DNA···AH78P com cut = 6,0 Å não foi observado na nova simulação. O aumento do diâmetro da dupla hélice relacionado aos altos valores do parâmetro “slide” não é observado para 24\_bp\_DNA···AH78P, porém observamos um aumento desses valores nos pares da região central do fragmento para 24\_bp\_DNA···TriplatinNC e 24\_bp\_DNA···AH78H.

**Figura 45** - Parâmetros eixo-base para o 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA···TriplatinNC\* com cut = 12,0Å (círculos verdes). Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

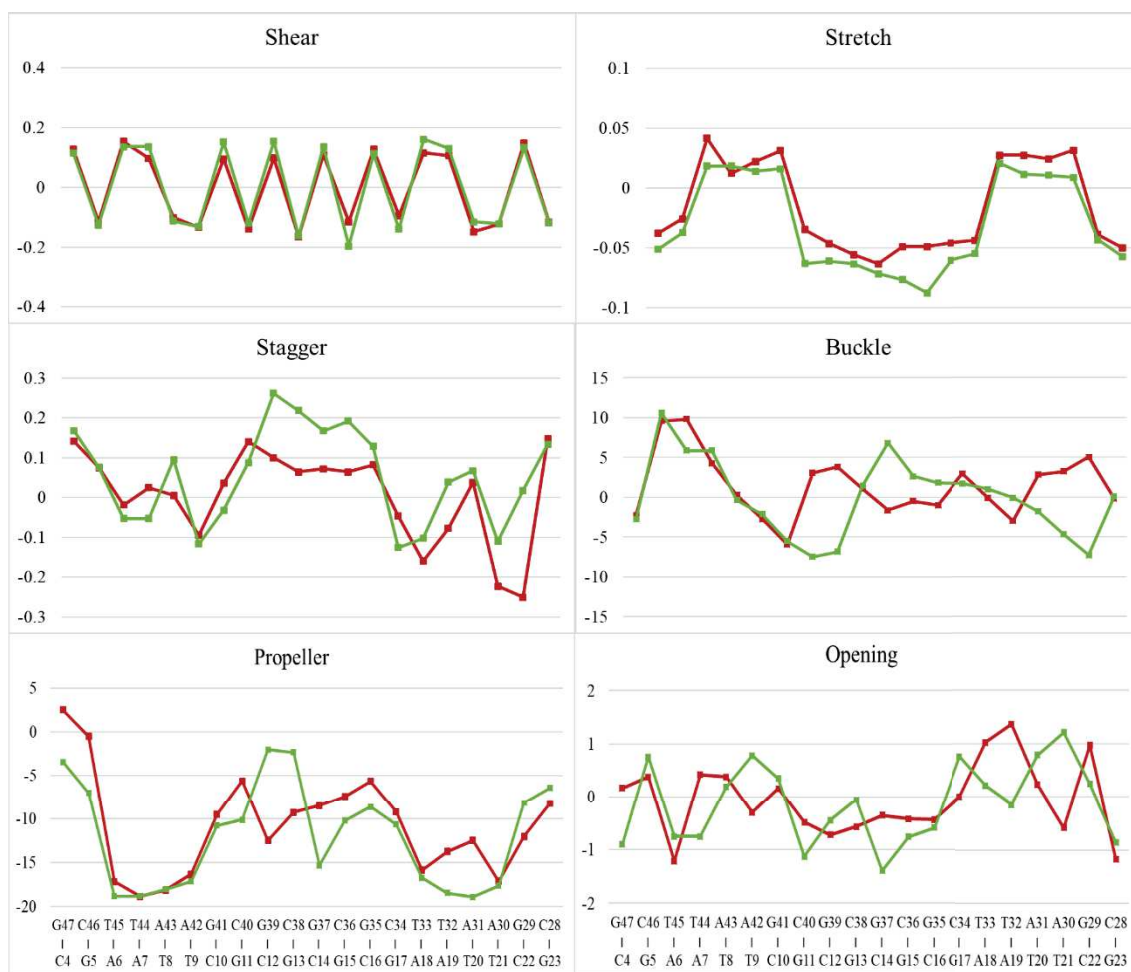


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 46** - Parâmetros base-base para o 24\_bp\_DNA...AH78H\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA...AH78H\* com cut = 12,0Å (círculos verdes).

Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.



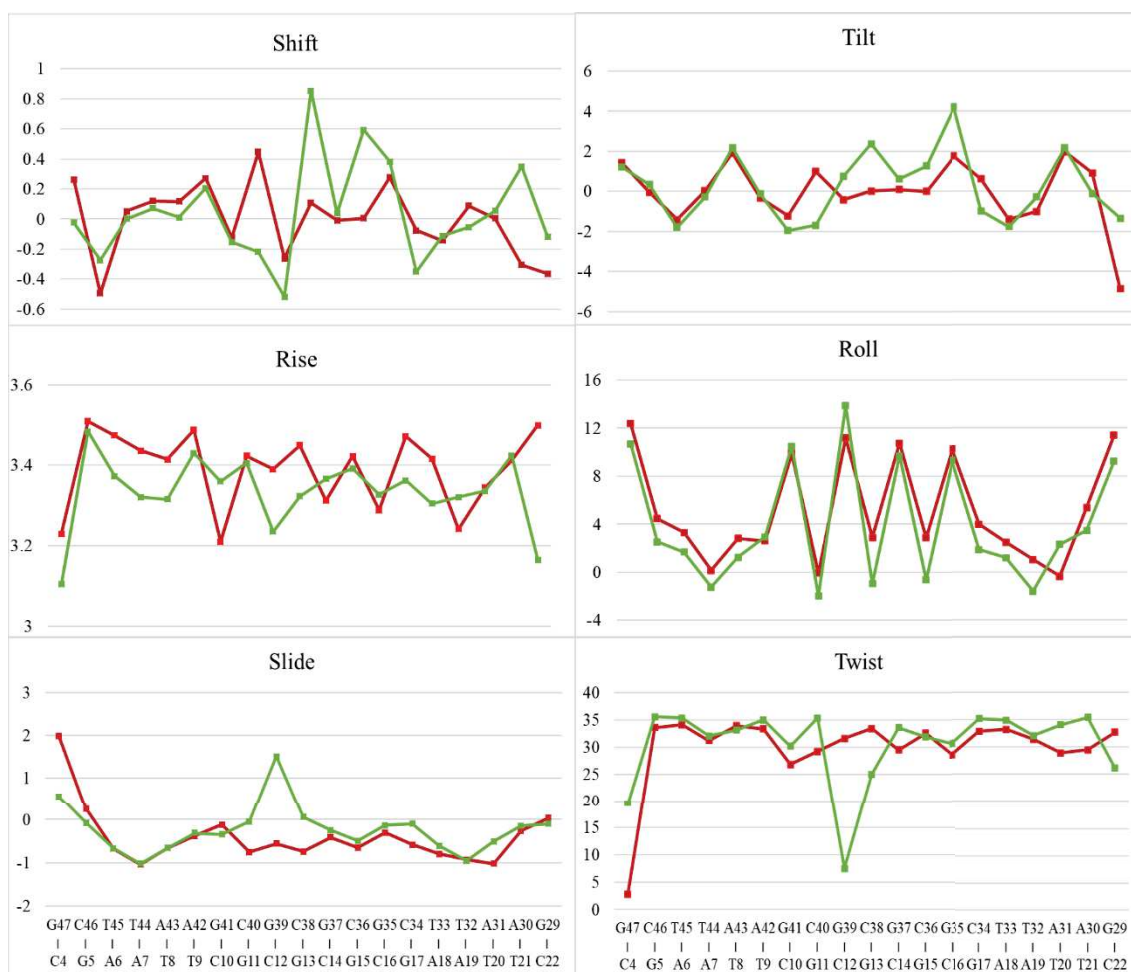
\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).



**Figura 47** - Parâmetros inter-base para o 24\_bp\_DNA···AH78H\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA···AH78H\* com cut = 12,0Å (círculos verdes).

Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.

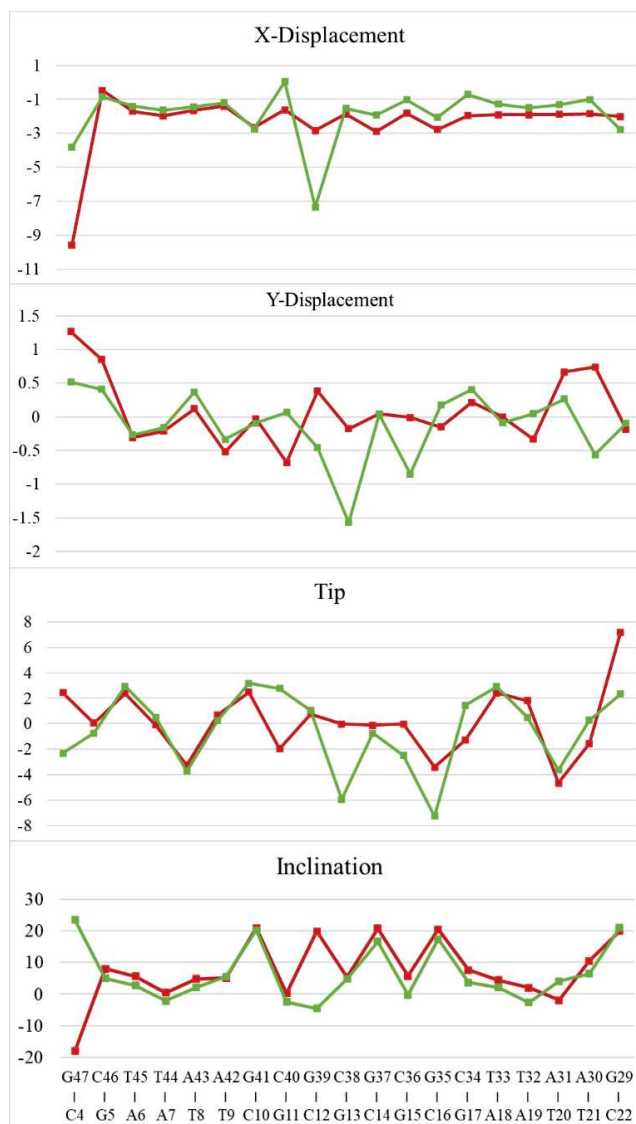


\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 48** - Parâmetros eixo-base para o 24\_bp\_DNA···AH78H\* com cut = 6,0Å (quadrados vermelhos) e 24\_bp\_DNA···AH78H\* com cut = 12,0Å (círculos verdes).

Os parâmetros envolvidos estão descritos nas figuras do anexo 2.



\* Valores médios ao longo da trajetória de simulação.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Ao longo das trajetórias de DM, observou-se a formação das estruturas cíclicas grampos e garfos para todos os sistemas estudados conforme mostrado na **Figura 49**. Observou-se, em todos os sistemas, que cada centro metálico pode interagir com uma ou duas bases adjacentes simultaneamente como pode ser visto na Figura 7 para os sistemas 24\_bp\_DNA···DiplatinNC, 24\_bp\_DNA···AH44 e 24\_bp\_DNA···AH78P. Os complexos DiplatinNC e AH78P interagem através do modo *groove spanning*, formando grampos e garfos com grupos fosfatos diferentes devido à posição de ponte dos centros



de platina, entre duas fitas de DNA, na região do sulco menor. Para o sistema 24\_bp\_DNA...DiplatinNC os grampos ocorrem nos fosfatos C22, T33, C34 e T20, sendo que com este último é formado um grampo incompleto, definido por apenas uma ligação NH<sub>2</sub>-O1P.

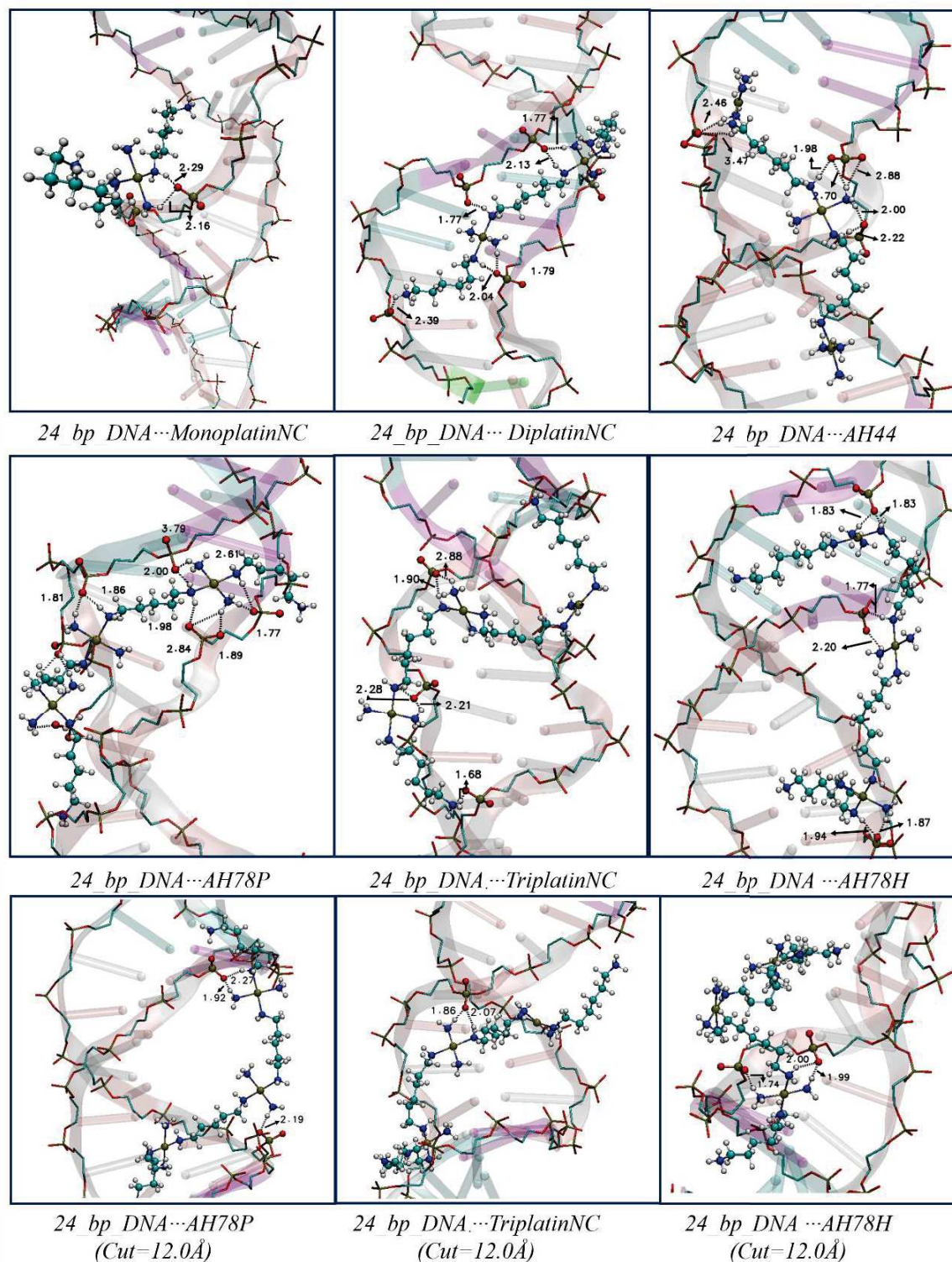
Para o complexo AH78P, observamos a formação de cinco grampos de fosfato e dois garfos de fosfato envolvendo três centros Pt<sup>2+</sup>, onde um único centro Pt<sup>2+</sup> forma três grampos e um garfo com fosfatos C10, G11 e T44, um grampo com fosfatos A43 e G41 e um grampo incompleto com G39. AH44 e AH78H interagem simultaneamente nos sulcos menor e maior e as alterações ocorrem devido à formação de grampos e garfos nos fosfatos da região central do fragmento estudado, que é composto preferencialmente por pares C-G. TriplatinNC está posicionado no sulco menor formando as estruturas não covalentes com os fosfatos C38 e C40, ambos pertencentes à mesma fita e interações simples formadas pelos grupos NH<sub>3</sub> das ligantes aminas “pendentes” e grupos fosfato.

Esses resultados estão de acordo com os dados publicados por PriseCaru e colaboradores (PRISECARU *et. al.*, 2014), que relataram que os complexos de PtN<sub>4</sub> não-covalentes se ligam através da formação de grampos de fosfato previamente caracterizados pelos modos *backbone tracking* e *groove spanning* e que TriplatinNC tem um modo de ligação predominante do tipo *backbone tracking* na região composta por pares C-G, enquanto que nas regiões A-T as interações ocorrem preferencialmente através do modo *groove spanning* e estão localizadas no sulco menor.

Notou-se que os ligantes SI-PPCs não interagem preferencialmente com os grupos fosfato de uma base nitrogenada específica. Os complexos AH44, AH78P, TriplatinNC e AH78H apresentam maior número de interações, quando comparados aos complexos MonoplatinNC e DiplatinNC devido ao maior número de centros metálicos disponíveis. Em geral, todos os complexos formam estruturas não-covalentes com grupos fosfatos próximos, principalmente na região de pares C-G, facilitando assim as alterações no sulco, embora as posições e regiões específicas do fragmento 24\_bp\_DNA não sejam exatamente as mesmas.

Para os sistemas 24\_bp\_DNA...AH78P, 24\_bp\_DNA...TriplatinNC e 24\_bp\_DNA...AH78H para os quais foram realizadas simulações com cut = 12,0Å, também foi possível observar a formação de estruturas cíclicas. Na **Figura 49** vemos que cada um possui um grampo de fosfato com os fosfatos G11, G13 e G37, respectivamente. AH78P e AH78H, além do grampo de fosfato, formam um grampo incompleto com os fosfatos G35 e C36.

**Figura 49** - Principais estruturas não-covalentes formadas ao final de 200 ns dos sistemas 24\_bp\_DNA ... SI-PPCs mostrando as principais interações não covalentes.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A metodologia MM-GBSA foi utilizada para calcular a energia de interação, considerando o modelo de solvatação implícita Generalized-Born (GB). Nesta abordagem, as energias livres de interação são calculadas subtraindo as energias livres dos sistemas 24\_bp\_DNA...SI-PPCs das energias livres do receptor (24\_bp\_DNA) e do ligante (SI-PPCs) (MILLER *et. al.*, 2012). A Tabela 5 mostra a energia livre de ligação total média e todas as contribuições individuais, calculadas ao longo das trajetórias obtidas para um conjunto de 2.000 passos de simulação, e as contribuições entrópicas, obtidas através da aproximação quase-harmônica, são mostradas na **Tabela 6**.

Foi realizada uma análise das energias de interação (**Tabela 5**) e os resultados mostram que os complexos trinucleares apresentam os menores valores. Observamos que quanto maior o número de centros de platina presentes nos SI-PPCs, as energias de interação tornam-se mais negativas. Acredita-se que o tamanho dos complexos favoreça a formação de um maior número de interações, devido ao aumento do número de centros de platina disponíveis para a formação das interações, levando a uma diminuição do valor da energia de interação. É notado que as contribuições de van der Waals e eletrostática são ambas negativas, com o termo eletrostático desempenhando um papel primordial para a estabilização do complexo 24\_bp\_DNA...SI-PPCs. Esta alta contribuição eletrostática deve-se às cargas apresentadas, nomeadamente +4 a +8 nos complexos de platina (II) e -22 no modelo de DNA.

**Tabela 5** - Valores médios de energias de interação com tempo de simulação de 200ns, em kcal mol<sup>-1</sup>. A média é obtida a partir de um conjunto conformacional com 2.000 estruturas.

24_bp_DNA...SI-PPC	$\Delta G_{INT}$	$\Delta E_{VDW}$	$\Delta E_{ELET}$	$\Delta G_{INT,solv}$
24_BP_DNA...MonoplatinNC	-7,0 ± 9,0	-12,4 ± 6,4	-3109,7 ± 138,6	3115,1 ± 145,8
24_BP_DNA...DiplatinNC	-76,0 ± 15,6	-22,4 ± 10,1	-4427,5 ± 291,1	4373,8 ± 285,5
24_BP_DNA...AH44	-69,6 ± 10,1	-18,8 ± 7,1	-4535,6 ± 199,1	4484,8 ± 197,2
24_BP_DNA...AH78P	-103,5 ± 16,7	-29,1 ± 12,4	-6116,2 ± 221,3	6041,9 ± 217,3
24_BP_DNA...AH78P*	-88,2 ± 10,0	-18,2 ± 5,7	-5863,8 ± 255,0	5793,7 ± 251,7
24_BP_DNA...TriplatinNC	-91,5 ± 12,6	-23,7 ± 8,7	-5914,1 ± 248,7	5846,3 ± 245,2
24_BP_DNA...TriplatinNC*	-105,9 ± 11,6	-38,7 ± 11,4	-6217,5 ± 168,9	6150,3 ± 168,5
24_BP_DNA...AH78H	-99,6 ± 14,6	-30,3 ± 11,1	-5998,6 ± 220,0	5929,4 ± 217,8
24_BP_DNA...AH78H*	-111,1 ± 18,2	-42,7 ± 12,1	-6284,3 ± 220,4	6215,9 ± 217,1

\* Valores médios de energias de interação com cut = 12,0Å.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Tabela 6** - Contribuição entrópica dos movimentos translacional, rotacional e vibracional para os sistemas 24\_bp\_DNA...SI-PPCs. Todos os valores estão em kcal mol<sup>-1</sup> e a temperatura é 298,15 K.

24_bp_DNA...SI-PPC	TΔS <sub>TRANS</sub>	TΔS <sub>ROT</sub>	TΔS <sub>VIB</sub>	TΔS <sub>TOT</sub>
24_BP_DNA...MonoplatinNC	-13,16	-10,50	-3,10	-26,78
24_BP_DNA...DiplatinNC	-13,64	-11,93	-29,97	-55,55
24_BP_DNA...AH44	-13,78	-12,40	-14,06	-40,24
24_BP_DNA...AH78P	-13,89	-12,58	-44,77	-71,26
24_BP_DNA...AH78P*	-13,89	-12,59	-35,70	-62,19
24_BP_DNA...TriplatinNC	-13,93	-12,85	-44,90	-71,69
24_BP_DNA...TriplatinNC*	-13,94	-12,83	-54,14	-80,92
24_BP_DNA...AH78H	-13,97	-13,02	-58,24	-85,24
24_BP_DNA...AH78H*	-13,97	-12,99	-65,57	-92,54

\* Contribuição entrópica com cut = 12,0Å.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

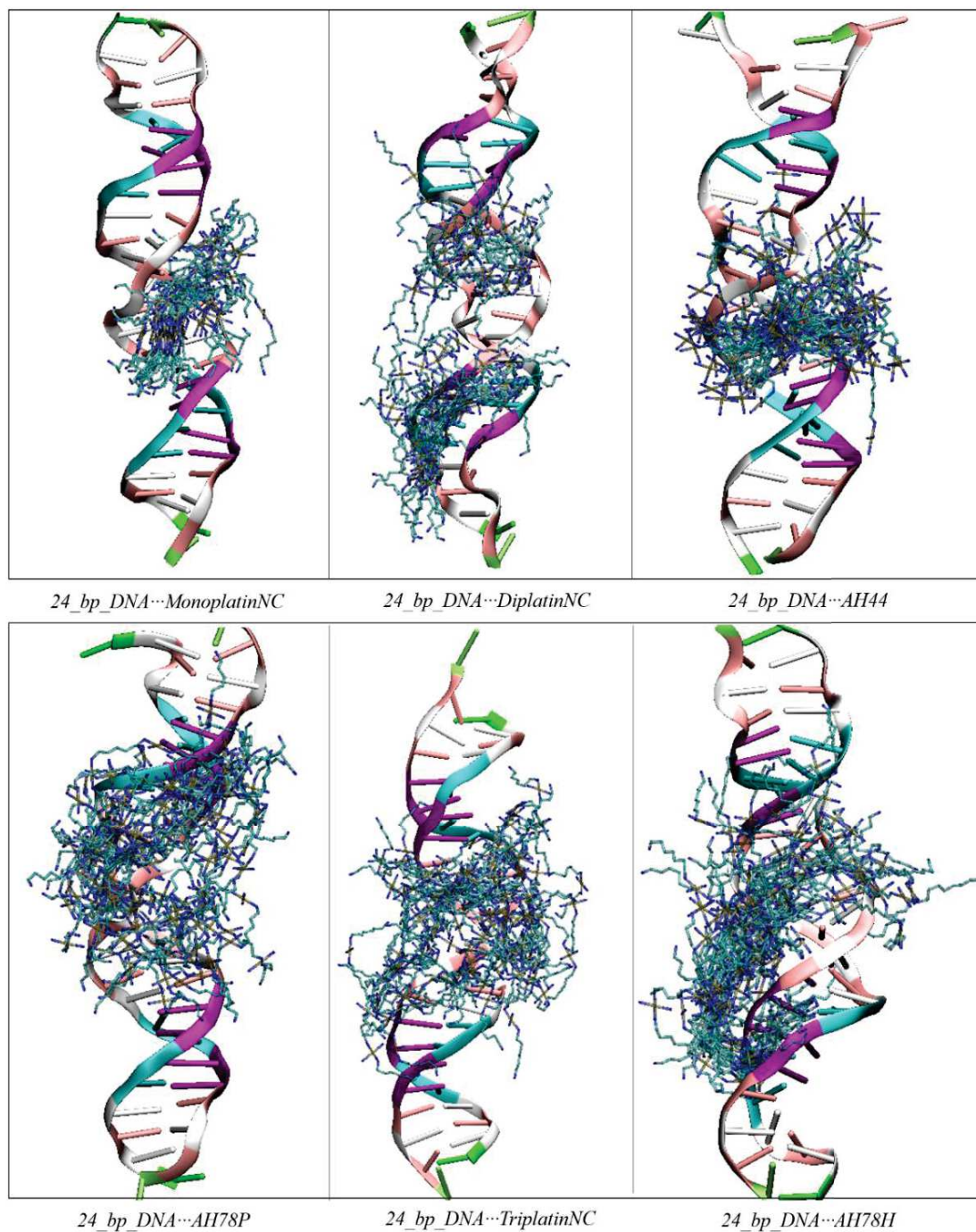
A partir do valor de S negativo de para todos os sistemas, é possível verificar que eles são entropicamente desfavoráveis em água pura. No entanto, isso simboliza a diminuição dos microestados disponíveis à medida que os SI-PPCs e 24\_bp\_DNA interagem um com o outro. Esta diminuição nos microestados disponíveis é principalmente devido à mobilidade limitada do ligante enquanto ele está interagindo com o DNA.

As posições relativas dos centros de platina (II) ao longo da trajetória são mostradas na **Figura 50**. A figura mostra a superposição das posições relativas dos SI-PPCs, em relação ao DNA representando 50 frames da trajetória de produção simultaneamente. Vemos que os SI-PPCs interagem preferencialmente nas regiões do sulco menor, exceto para os sistemas com os complexos MonoplatinNC, AH44 e AH78H, que também são encontrados na região do sulco maior. Nesses casos, observamos que o MonoplatinNC forma interações por meio do *backbone tracking* e o AH44 interage preferencialmente por meio do modo *groove spanning* nas regiões C-G. O AH78H, por outro lado, apresenta os dois modos de interação, com dois centros de platina (II) interagindo através do sulco maior por *backbone tracking* e o outro preferencialmente por *groove spanning* nas regiões A-T. Novamente, confirmando as duas formas possíveis de interação desses complexos relatadas na literatura. (PRISECARU *et. al.*, 2014) Além disso, nota-se que os compostos de platina (II) formam interações não-covalentes principalmente com os grupos fosfato em regiões ricas em pares de C-G, exceto para os



sistemas 24\_bp\_DNA···DiplatinNC e 24\_bp\_DNA···AH78H, que também são encontrados nas regiões A-T.

**Figura 50** - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com 24\_bp\_DNA. Os átomos de hidrogênio de SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção.



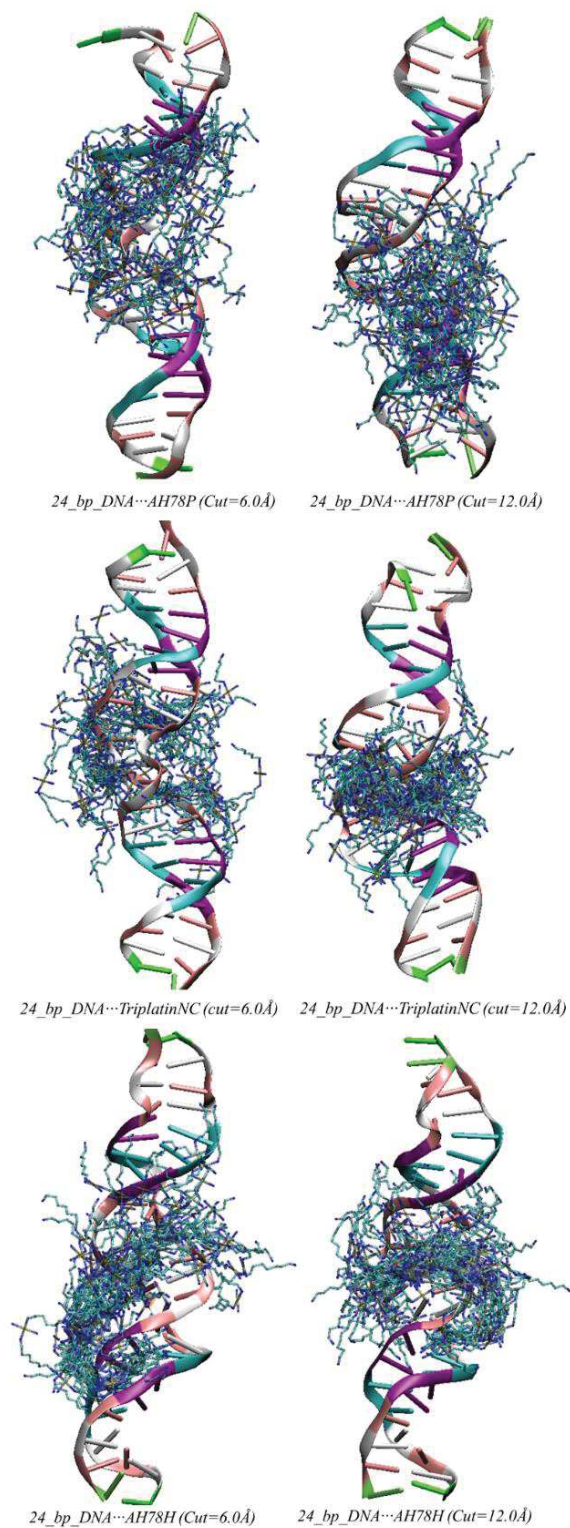
FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A **Figura 51** mostra uma imagem comparativa entre as posições relativas dos centros de platina (II) ao longo da trajetória dos complexos AH78P, TriplatinNC e AH78H com valores de cut de 6,0 Å e 12,0 Å. É possível notar mudanças na posição relativa dos complexos. No caso do AH78P, este se encontra posicionado tanto o sulco maior na região dos pares C-G quanto o sulco menor na região A-T, sendo difíceis de diferenciar visualmente se ocorrerem por *backbone tracking* ou *spanning groove*. O TriplatinNC, por outro lado, interage preferencialmente na região central do fragmento composta por pares C-G, através do modo *groove spanning* no sulco menor e *backbone tracking* no sulco maior. O AH78H interage de forma semelhante para ambos os casos, porém, com cut = 12,0 Å as interações ocorrem preferencialmente na região C-G. Esta descoberta foi confirmada pela análise da ligação H envolvendo os ligantes NH<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> dos centros de platina (II) e os átomos O1P e O2P dos grupos fosfato. Os resultados mostram que a incidência das interações não-covalentes ocorre preferencialmente com átomos de oxigênio dos grupos fosfato presentes nas regiões dos pares C-G (anexo 3).

Outro resultado da análise H-bond é o número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória mostrada na **Figura 52**, que mostra um gráfico do número de passos de simulação que mostraram a formação de estruturas não-covalentes ao longo da trajetória. É importante notar que um único centro de platina pode formar um grampo de fosfato e um garfo simultaneamente com o mesmo grupo fosfato, contabilizando apenas um passo de simulação com estruturas não covalentes e que neste gráfico não são contados grampos de fosfato incompletos, apenas estruturas com duas ou mais ligações de hidrogênio formadas por cada par de grupos amina localizados na posição *cis*. É possível notar que os complexos que possuem mais de um centro de platina e com grupos de aminas “pendentes” possuem os maiores valores. Os sistemas 24\_bp\_DNA⋯AH78P, 24\_bp\_DNA⋯TriplatinNC e 24\_bp\_DNA⋯AH78H com cut = 12,0 Å apresentaram menor número de estruturas não covalentes em relação aos dados obtidos com cut = 6,0 Å.

Em resumo, os resultados apresentados nessa seção novamente confirmaram a presença das estruturas não-covalentes formadas entre os derivados SI-PPCs e grupos fosfatos presentes no DNA. As estruturas cíclicas formadas são do tipo grampos ou garfos de fosfato. Os SI-PPCs interagem preferencialmente através de dois modos distintos de interação, *backbone tracking* e *groove spanning*.

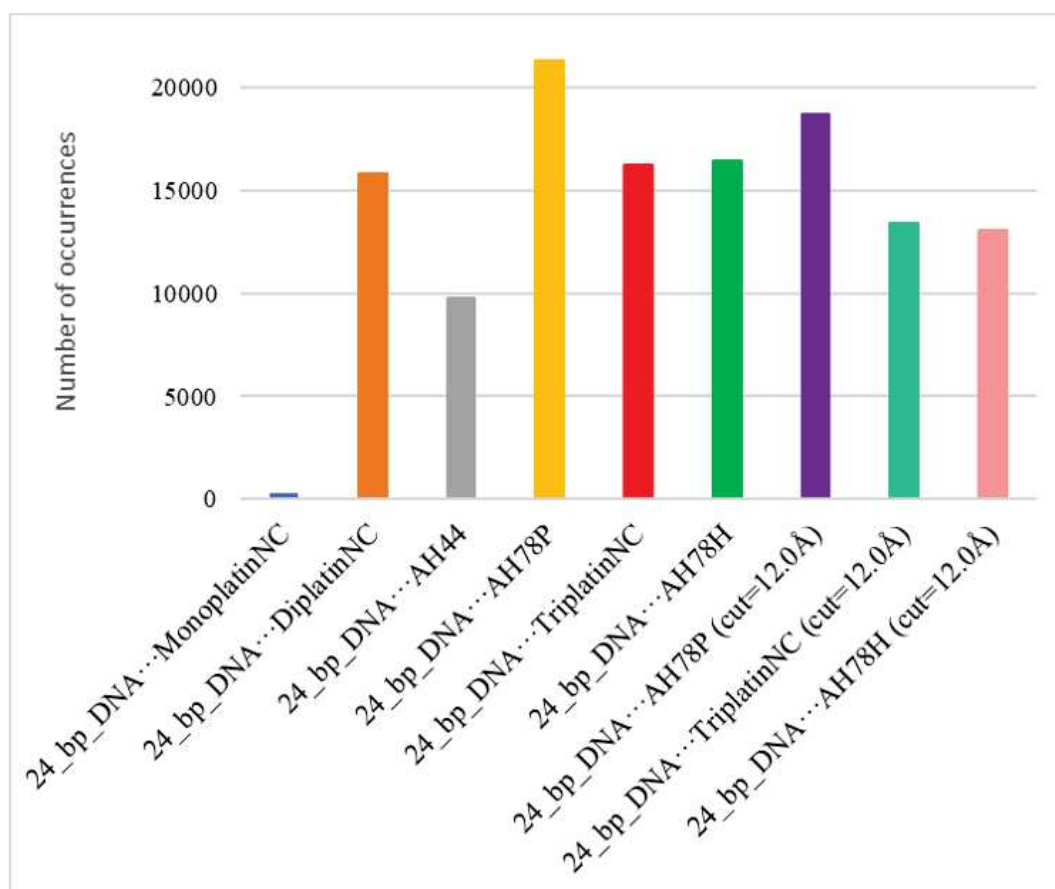
**Figura 51** - Distribuição espacial dos complexos AH78P, TriplatinNC e AH78H com valores de cut 6,0Å e 12,0Å interagindo com 24\_bp\_DNA. Os átomos de hidrogênio dos complexos foram omitidos para melhor visualização. Essas representações referem-se a uma amostra de 50 estruturas selecionadas da trajetória de produção.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).



**Figura 52** - Número de ocorrências de estruturas não covalentes ao longo da trajetória. Foi contabilizado o número de passos em que duas ou mais ligações de hidrogênio ocorreram simultaneamente.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A partir dos resultados apresentados até este ponto, podemos concluir que o DNA é um alvo dos SI-PPCs, devido a formação dos grampos e garfos de fosfato. Os resultados obtidos através das simulações de DM permitiram analisar as alterações estruturais observadas nos fragmentos de DNA estudados e confirmaram a presença das interações não-covalentes formadas entre os SI-PPCs e grupos fosfatos presentes na dupla hélice. Outro ponto importante a se destacar é que a mudança no valor de cut de 6,0 Å para 12,0 Å não forneceu informações relevantes quanto à conformação da hélice do DNA. Por fim espera-se que os resultados apresentados possam corroborar com a literatura sobre investigações teóricas de compostos polinucleares de platina (II) não-covalentes.

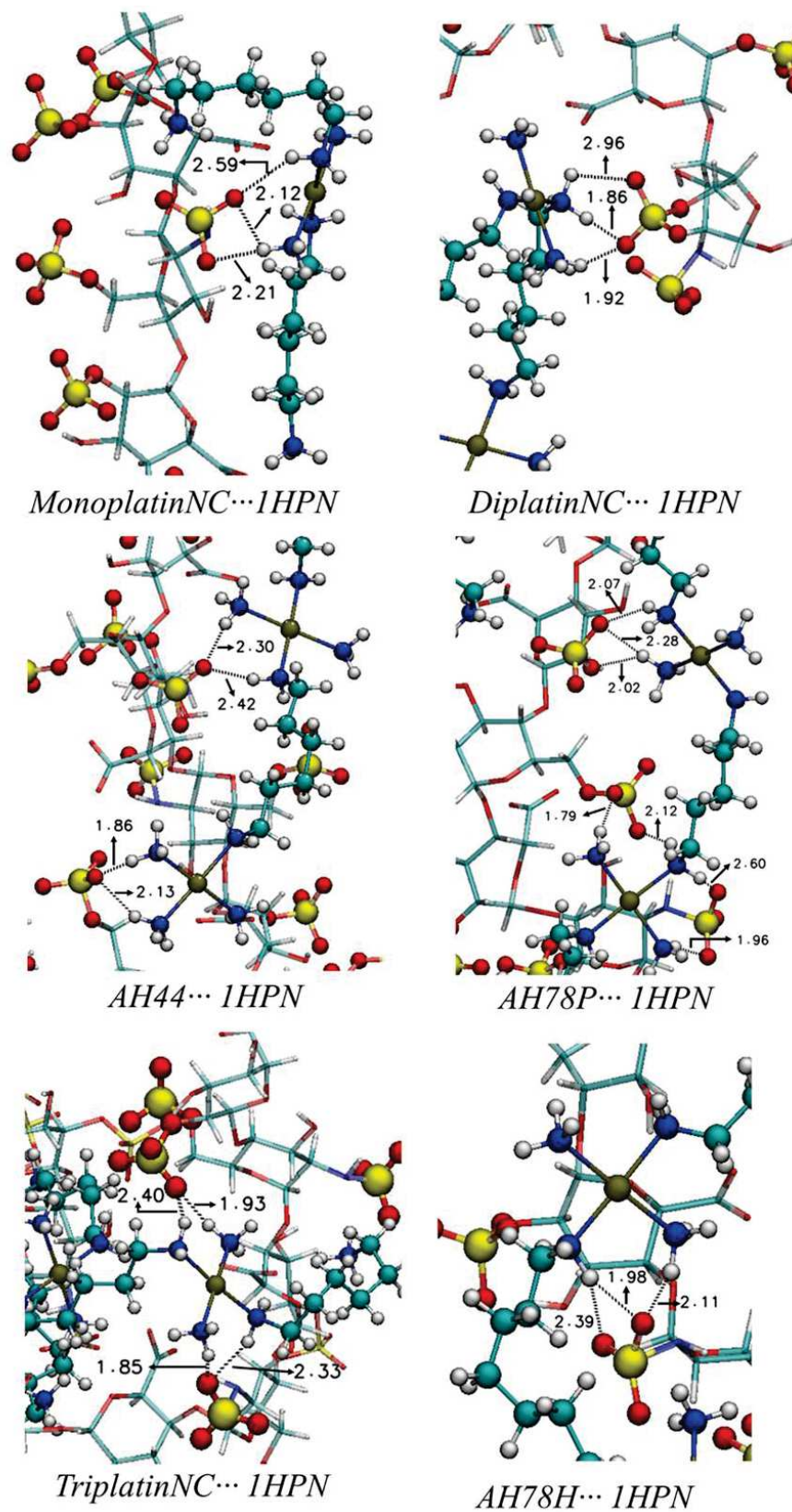
### 4.3 *Análise das interações não covalentes entre SI-PPCs e 1HPN*

Para todos os sistemas estudados, observou-se que os SI-PPCs formam interações não-covalentes do tipo grampos e garfos de sulfato, principalmente com grupos sulfato presentes na região central da molécula de heparina estudada. A **Figura 53** mostra a estrutura final da trajetória de simulação com ênfase nas estruturas não-covalentes formadas.

Observou-se que cada centro metálico interage com até dois grupos sulfato, como pode ser visto para os sistemas TriplatinNC...1HPN e AH78H...1HPN. O número de interações formadas parece ser favorecido pelo maior número de centros de platina disponíveis, ou seja, o sistema MonoplatinNC...1HPN apresenta um grampo, um garfo e uma interação simples formada pelo grupo NH<sub>3</sub> da amina "pendente", já o sistema TriplatinNC...1HPN possui dois grampos e um garfo de sulfato. Para os sistemas DiplatinNC...1HPN e AH44...1HPN, observamos a formação de um grampo de sulfato em cada estrutura e uma interação simples e um grampo incompleto respectivamente. O AH78P apresenta um garfo e um grampo de sulfato. A formação dessas estruturas parece alterar a estrutura da heparina, que foi inicialmente analisada pela distância entre os átomos de S12 e S292, que são mostrados na **Tabela 7**.

Observamos um aumento na distância S-S em todos os sistemas, exceto para DiplatinNC...1HPN. Os grupos sulfato presentes na heparina têm conformações mais flexíveis quando comparados aos grupos fosfato presentes no DNA, o que resulta em uma grande variação nas distâncias sulfato-sulfato, isso explica as faixas de variação mostradas na **Tabela 7** (PETERSON *et. al.*, 2016). Em princípio, SI-PPCs podem proteger a heparina evitando a ação enzimática e/ou o reconhecimento da proteína.

**Figura 53** - Principais estruturas não-covalentes formadas ao final de 200ns dos sistemas 1HPN...SI-PPCs mostrando as principais interações não-covalentes.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

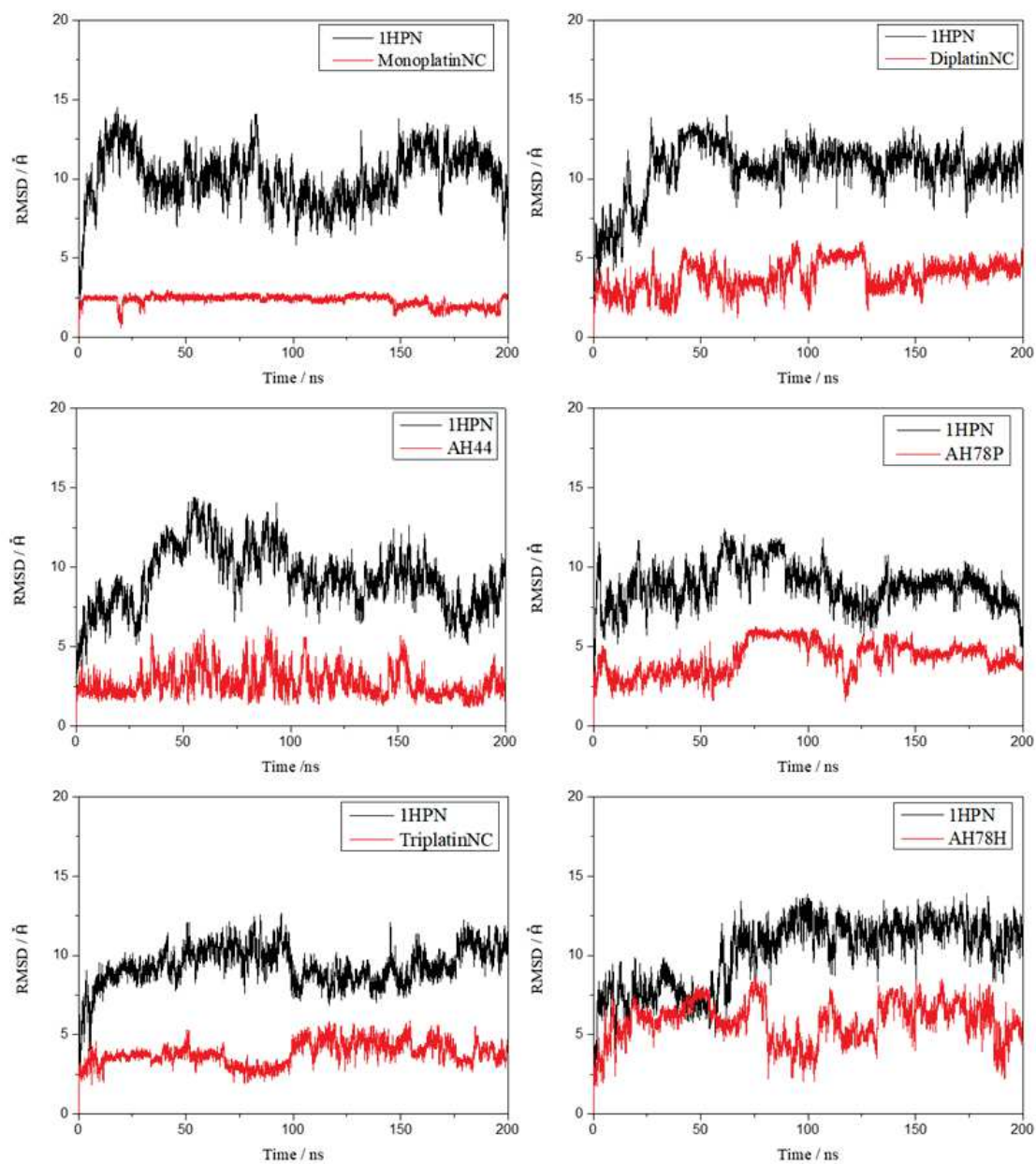
**Tabela 7** - Distância entre os átomos de S12 e S292, em Å.

	<b>Distância</b>
<b>1HPN</b>	24,3 ± 8,9
<b>MonoplatinNC···1HPN</b>	28,0 ± 8,5
<b>DiplatinNC···1HPN</b>	21,7 ± 7,3
<b>AH44···1HPN</b>	31,9 ± 7,0
<b>AH78P···1HPN</b>	29,4 ± 7,8
<b>TriplatinNC···1HPN</b>	30,1 ± 5,8
<b>AH78H···1HPN</b>	30,7 ± 6,4

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os dados de estabilidade estrutural ao longo da trajetória foram analisados usando os valores de RMSD do 1HPN e dos SI-PPCs, mostrados na **Figura 54**. A molécula de heparina apresentou valores de RMSD acima de 8,85 Å, sendo este valor associado ao sistema TriplatinNC···1HPN. O maior valor de RMSD para 1HPN foi de 10,63 Å para o sistema DiplatinNC···1HPN. Os complexos MonoplatinNC e AH44 mostraram-se os mais rígidos com os menores valores médios de RMSD, 2,32 Å e 2,73 Å, respectivamente, seguidos dos complexos DiplatinNC e TriplatinNC que apresentaram valores médios na ordem de 3,80 Å. AH78P e AH78H tiveram valores médios de 4,27 Å e 5,81 Å respectivamente. Observamos um aumento na flutuação da molécula de heparina após 50ns, exceto para sistemas contendo MonoplatinNC, AH78P e TriplatinNC, nos quais esse aumento ocorre antes de atingir o tempo de trajetória de 50ns.

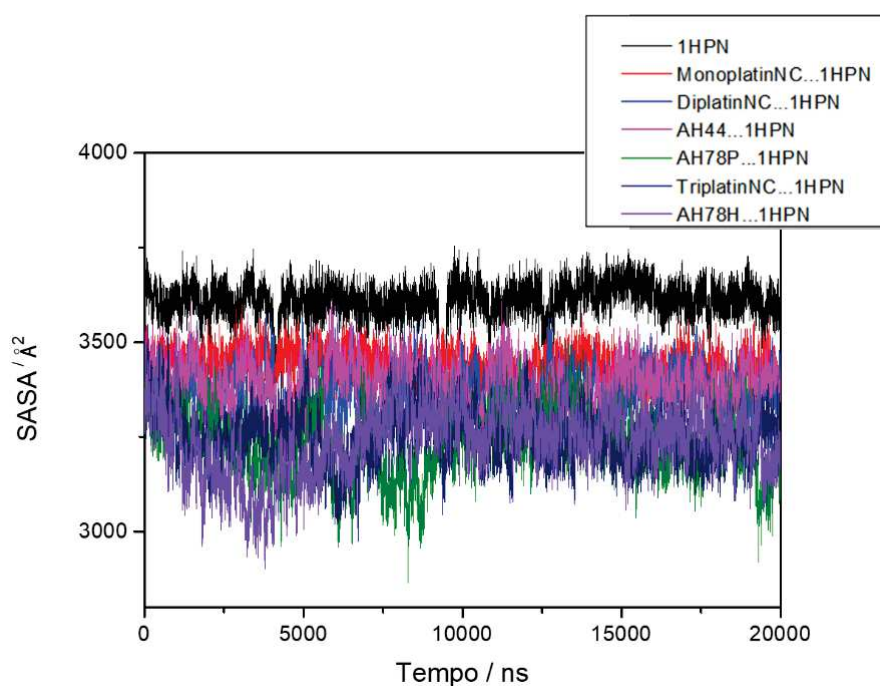
Estima-se que metade das interações entre proteínas e GAGs, como a heparina, são mediadas por moléculas de água (SAMSONOV; TEYRA; PISABARRO, 2011). Análises da área de superfície acessível ao solvente (SASA) e da flutuação quadrada média de átomos/resíduos específicos (RMSF) também foram realizadas. A variação de SASA ao longo da trajetória é mostrada na **Figura 55**, e podemos ver que há uma diminuição na superfície acessível ao solvente na presença de SI-PPCs, mostrando que a formação de interações não covalentes protege os grupos sulfato em comparação com o oligossacarídeo livre. De acordo com Mangrum e colaboradores, a capacidade de inibir a degradação de oligossacarídeos usando os SI-PPCs é uma abordagem alternativa para a inibição enzimática (MANGRUM *et. al.*, 2014).

**Figura 54** - Gráficos das flutuações do RMSD.

FONTE: Elaborado pela autora (2020).



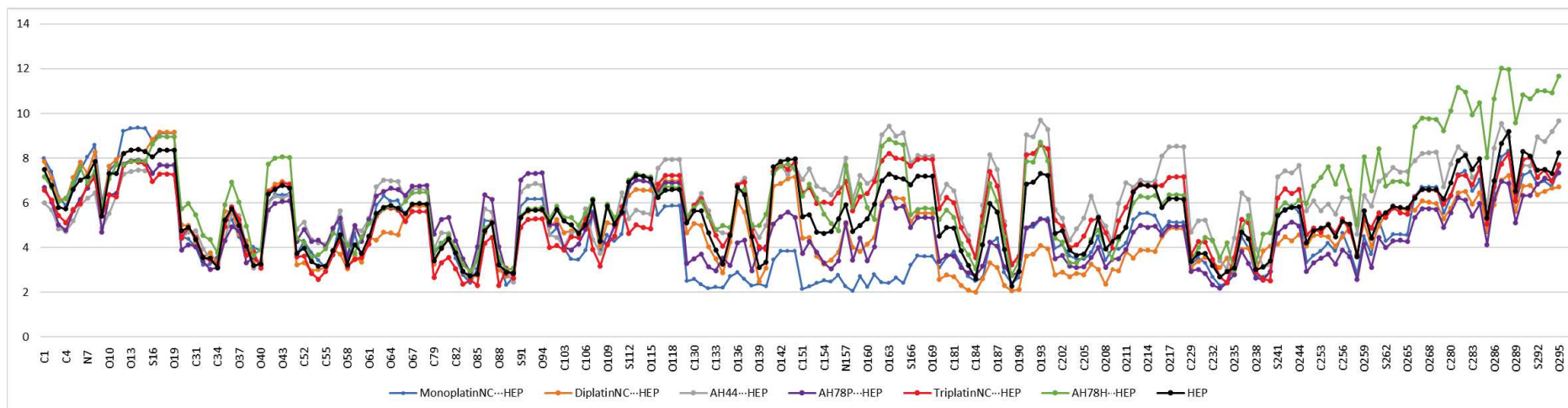
**Figura 55** - Superfície acessível ao solvente (SASA) do 1HPN.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Os resultados do RMSF apresentam informações sobre a flexibilidade individual de resíduos ou átomos, ou o quanto um determinado resíduo/átomo flutua durante uma simulação. Assim, a partir dos resultados apresentados na **Figura 56** observamos que há uma diminuição significativa na flexibilidade dos átomos na região central da molécula de heparina, entre os átomos O118 e C184 no MonoplatinNC...1HPN, DiplatinNC...1HPN e AH78P...1HPN, comparado à molécula livre. Para os sistemas AH44...1HPN e AH78H...1HPN, há um aumento na flexibilidade da molécula de heparina na região terminal, entre os átomos C253 e O295. Para TriplatinNC...1HPN, observamos um aumento na flexibilidade dos átomos na região central entre os átomos C154 e O169 e uma diminuição na região entre C101 e O115. Observamos também que as principais alterações na flexibilidade ocorrem para os grupos  $\text{OSO}_3^-$ , sejam elas representadas como aumento ou diminuição do valor de RMSF. A partir desses resultados, podemos ver que as estruturas não-covalentes são formadas principalmente na região central da molécula de heparina.

**Figura 56** - RMSF para átomos específicos para os sistemas MonoplatinNC...1HPN (azul); DiplatinNC...1HPN (laranja); AH44...1HPN (cinza); AH78P...1HPN (roxo); TriplatinNC...1HPN (vermelho); AH78H...1HPN (verde); controle 1HPN (preto).



FONTE: Elaborado pela autora (2020).



Este resultado é confirmado pela análise H-bond mostrada na Tabela 12 (anexo 4). Observamos que as interações mais incidentes ao longo da trajetória para os sistemas MonoplatinNC, DiplatinNC e AH78P ocorrem entre os grupos amino e átomos de oxigênio ligados ao átomo S162, gerando uma diminuição na flexibilidade da molécula de heparina naquela região. Podemos destacar também as ligações de hidrogênio formadas com os átomos de oxigênio do S112 que ocorrem nos sistemas DiplatinNC, AH44 e TriplatinNC que também levam à diminuição do valor de RMSF. O sulfato S62 também possui ligações de hidrogênio incidentes ao longo das trajetórias para AH78H···1HPN, assim como o sulfato S92 em AH44···1HPN. Outro ponto importante é que os grupos terminais NH<sub>3</sub> ligados às aminas “pendentes” formam ligações de hidrogênio que estão entre as mais incidentes. As ligações de hidrogênio mostradas na tabela em questão têm uma distância O-H média de  $2,84 \pm 0,02\text{Å}$ .

A partir da análise H-bond, também foi possível obter o número de ocorrências de estruturas não-covalentes, sejam do tipo grampo ou garfo de sulfato. Este resultado foi obtido contando o número de passos de simulação de DM em que duas ou mais ligações de hidrogênio ocorrem para cada par de grupos -NH<sub>3</sub> e -NH<sub>2</sub> na posição *cis* dos centros de platina e os dados são mostrados na **Tabela 8**.

**Tabela 8** - Número de ocorrências de estruturas não-covalentes ao longo da trajetória de simulação.

<i>SI-PPCs···1HPN</i>	<i>Número de ocorrências</i>	<i>Percentual</i>
<b>MonoplatinNC···1HPN</b>	417	2,6
<b>DiplatinNC···1HPN</b>	10937	20,6
<b>AH44···1HPN</b>	17556	21,1
<b>AH78P···1HPN</b>	24596	23,6
<b>TriplatinNC···1HPN</b>	26863	24,6
<b>AH78H···1HPN</b>	22277	23,9

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

Notamos que o maior número de ocorrências de estruturas não covalentes ocorre para TriplatinNC···1HPN e essas ocorrências aumentam com o aumento do número de centros de platina. A tabela também mostra a porcentagem de estruturas não-covalentes em relação ao número total de ocorrências de ligações de hidrogênio ao longo da trajetória para todos os pares de grupos amino na posição *cis*. Este número total inclui todos os

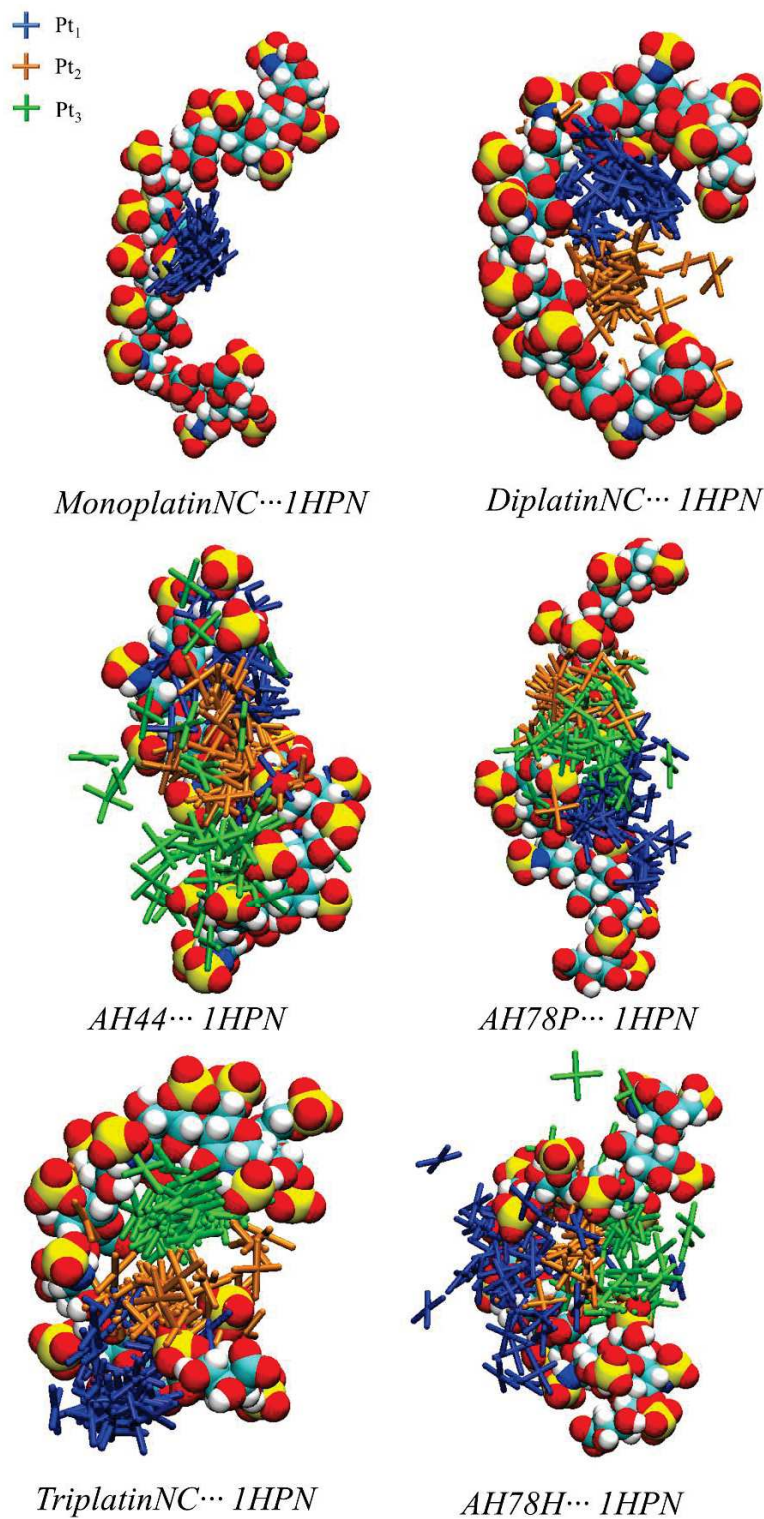
passos de simulação de DM em que pelo menos uma ligação de hidrogênio ocorreu, ou seja, em um determinado passo pode haver ligações de hidrogênio que podem ser grampos ou garfos de sulfato incompletos, duas ligações que podem formar grampos ou garfos, ou três ou mais conexões, onde grampos de sulfato e garfos podem estar ocorrendo simultaneamente. A partir dos dados percentuais, observamos que estruturas não covalentes ocorrem em cerca de 20% do total de ligações de hidrogênio formadas ao longo das trajetórias, exceto para MonoplatinNC...1HPN e que o maior percentual é atribuído ao sistema TriplatinNC...1HPN.

A **Figura 57** mostra as posições relativas dos centros de platina SI-PPCs ao longo da trajetória. Para tornar a visualização mais clara, os átomos de hidrogênio não estão sendo mostrados, assim como os átomos de carbono dos ligantes diamino, além disso, os centros de platina são representados por cores diferentes. Pelos dados mostrados na **Figura 57**, é possível perceber que os centros de platina interagem preferencialmente com grupos sulfato na região central, porém observamos que os centros podem se posicionar também próximo aos grupos sulfato nas extremidades, como é o caso do sulfato S292, como por exemplo para TriplatinNC...1HPN.

Podemos ver facilmente que o centro de platina (II) do complexo MonoplatinNC interage com o grupo sulfato do átomo S162 praticamente durante toda a trajetória de simulação. Para outros sistemas como DiplatinNC...1HPN, AH44...1HPN, AH78P...1HPN, TriplatinNC...1HPN e AH78H...1HPN os compostos estão posicionados ao longo da estrutura da molécula de heparina, interagindo preferencialmente com os grupos sulfato S12, S62, S112, S116, S162, S141 e S266. Estes resultados estão de acordo com as análises de H-bond mostradas anteriormente e enfatizam a preferência de formar ligações não covalentes com os grupos sulfato na região entre S62 e S112.

Utilizamos a metodologia MM-GBSA para obter os valores de energia de interação, considerando o modelo de solvatação implícita de Borne Generalizado (GB) para sistemas SI-PPCs...1HPN. Os resultados da energia de interação são mostrados na **Tabela 9** e as contribuições da entropia do soluto também foram obtidas e são mostradas na **Tabela 10**. Todos os dados de energia apresentados nessa seção foram calculados ao longo das trajetórias de DM para um conjunto de 2.000 passos.

**Figura 57** - Distribuição espacial dos SI-PPCs interagindo com 1HPN. Os átomos de hidrogênio e carbono dos SI-PPCs foram omitidos para melhor visualização. Essas representações são referentes a uma amostra de 50 frames selecionados da trajetória de produção.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Tabela 9** - Valores médios de energias de interação com tempo de simulação de 200ns, em kcal mol<sup>-1</sup>. A média é obtida a partir de um conjunto conformacional com 2.000 estruturas.

SI-PPC...1HPN	$\Delta G_{int}$	$\Delta E_{vdw}$	$\Delta E_{elet}$	$\Delta G_{int,solv}$
<i>MonoplatinNC...1HPN</i>	-7,8 ± 11,9	-4,3 ± 4,8	-2950,1 ± 135,4	2946,5 ± 133,4
<i>DiplatinNC...1HPN</i>	-85,3 ± 13,8	-17,9 ± 5,2	-4244,0 ± 253,0	4176,5 ± 245,5
<i>AH44...1HPN</i>	-80,0 ± 11,2	-20,9 ± 5,7	-4043,4 ± 255,0	3984,3 ± 250,3
<i>AH78P...1HPN</i>	-118,4 ± 17,3	-26,2 ± 7,4	-5578,5 ± 353,6	5486,3 ± 342,4
<i>TriplatinNC...1HPN</i>	-135,3 ± 18,4	-28,2 ± 6,6	-5769,3 ± 298,0	5662,2 ± 286,2
<i>AH78H...1HPN</i>	-112,7 ± 17,8	-28,4 ± 7,7	-5456,6 ± 328,2	5372,3 ± 318,4

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Tabela 10** - Contribuição entrópica dos movimentos translacional, rotacional e vibracional para os sistemas SI-PPCs...1HPN. Todos os valores estão em kcal mol<sup>-1</sup> e a temperatura é 298,15 K.

SI-PPC...1HPN	$T\Delta S_{trans}$	$T\Delta S_{rot}$	$T\Delta S_{vib}$	$T\Delta S_{tot}$
<i>MonoplatinNC...1HPN</i>	-13,08	-10,69	1,12	-22,65
<i>DiplatinNC...1HPN</i>	-13,50	-11,80	6,27	-19,04
<i>AH44...1HPN</i>	-13,62	-12,12	10,12	-15,62
<i>AH78P...1HPN</i>	-13,72	-12,42	-7,48	-33,61
<i>TriplatinNC...1HPN</i>	-13,75	-12,54	-15,36	-41,65
<i>AH78H...1HPN</i>	-13,78	-12,64	-2,24	-28,66

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

A partir da análise das energias de interação (Tabela 9), observamos que o complexo de TriplatinNC possui o menor valor e que quanto maior o número de centros de platina SI-PPCs, as energias de interação tornam-se mais negativas. Com base nesse resultado, acreditamos que o tamanho dos SI-PPCs favorece a formação de um maior número de estruturas não-covalentes. Dessa forma, maximizando as posições dos centros de platina (II) em relação a posição dos grupos fosfato, facilitando a formação das estruturas não-covalentes semelhante ao observado para com os fragmentos de DNA. O tamanho dos complexos favorece a formação de interações não-covalentes levando a uma diminuição nos valores de energia da interação.

Nota-se que os termos referentes às contribuições de van der Waals e eletrostática são ambos negativos, sendo que o termo referente à energia eletrostática se mostra essencial para a estabilização do complexo SI-PPCs...1HPN, isto se deve principalmente às altas cargas apresentadas pelo moléculas em questão, variando de +4 a +8 no caso de

SI-PPCs e -24 da molécula 1HPN. Os elevados valores dos desvios padrão apresentados na Tabela 9 podem estar relacionados às flutuações naturais dos sistemas em questão, uma vez que os centros de platina podem interagir com qualquer grupo sulfato no 1HPN, levando à formação de estruturas não-covalentes com diferentes sulfatos ao longo da trajetória.

Observamos também que os valores de entropia apresentados na Tabela 10 são todos negativos, com os valores diminuindo conforme o aumento do tamanho dos SI-PPCs, exceto para o caso do sistema AH78H $\cdots$ 1HPN. Essa diminuição nos valores de entropia nos leva a concluir que a formação de interações não-covalentes acarreta uma diminuição no número de microestados disponíveis e que esses sistemas são entropicamente desfavoráveis em água.

Em resumo, todos os resultados apresentados nessa seção nos levaram a concluir que SI-PPCs são capazes de formar grampos e garfos com os grupos sulfato presentes na molécula de heparina estudada. Esses resultados corroboram com diversos estudos sobre a capacidade de interação de SI-PPCs e proteoglicanos de sulfato de heparano (KATNER *et. al.*, 2018; MANGRUM *et. al.*, 2014; PETERSON *et. al.*, 2016) e se mostra uma ferramenta útil na descrição de estruturas cíclicas não-covalentes como forma de interação entre platina (II) complexos e biomoléculas.

## 5 *PRODUÇÃO CIENTÍFICA*

Nessa seção serão apresentados os trabalhos apresentados em eventos relacionados ao tema desenvolvido nessa tese, bem como os artigos publicados durante o período de realização do doutorado.

### *5.1 Trabalhos apresentados em eventos*

ROSA, N. M. P.; FARRELL, N. P.; COSTA, L. A. S.; Molecular dynamics of non-covalent compounds of Platinum (II): phosphate clamps and sulfate clamps. **Gordon Research Conference - Metals in Medicine**, 2018, Andover, NH, US.

ROSA, N. M. P.; FARRELL, N. P.; COSTA, L. A. S.; Molecular dynamics of non-covalent interactions of the trinuclear Platinum (II) complexes with DNA. **Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – Minas Gerais**. 2018, Juiz de Fora, MG. *Apresentação de Pôster*.

FERREIRA, F. H. C.; ROSA, N. M. P.; COSTA, L. A. S.; A molecular dynamics study of non-covalent interactions between SI-PPCs and biomolecules. **2020 RSC Poster Twitter Conference**. 2020.

FERREIRA, F. H. C.; ROSA, N. M. P.; COSTA, L. A. S.; Non-covalent interactions study between SI-PPC and biomolecules through a theoretical molecular dynamics approach. **43ª Reunião Anual Virtual da SBQ**. 2020.

### *5.2 Artigo publicado relacionado a esta tese*

ROSA, N. M. P.; ARVELLOS, J. A. F.; COSTA, L. A. S.; Molecular dynamics simulation of non-covalent interactions between polynuclear platinum(II) complexes and DNA. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**. v.25, p.963 - 978, 2020.

Fator de Impacto (2019 JCR): 3,2460.

ROSA, N. M. P.; FERREIRA, F. H. C.; FARRELL, N. P.; COSTA, L. A. S.;  
Substitution-inert polynuclear platinum complexes and Glycosaminoglycans: a  
molecular dynamics study of its non-covalent interactions (**título provisório**)  
*Fase final de revisão*

### 5.3 Artigos não relacionados a essa tese publicados no período

ROSA, N. M. P.; FERREIRA, F. H. C.; FARRELL, N. P.; COSTA, L. A. S.;  
TriplatinNC and Biomolecules: Building Models Based on Non-covalent Interactions  
**Frontiers in Chemistry**, v. 7, p. 1–12, 2019.  
Fator de Impacto (2019 JCR): 3,6930.

MAIA, L. F.; ALMEIDA, M. R.; CARVALHO, D. F.; ROSA, N. M. P.; SANT'ANA,  
A. C.; COSTA, L. A. S.; OLIVEIRA, V. E.; PINTO, A. C.; OLIVEIRA, L. F. C.;  
Tracking pereirine and flavopereirine in pau-pereira using Raman and SERS  
spectroscopies. **New Journal of Chemistry**. v.43, p.11200 - 11208, 2019.  
Fator de Impacto (2019 JCR): 3,2880.

JUSTO, R. M. S.; BORBA-SANTOS, L.P.; VISBAL, G. G.; ROZENTAL, S.; ROSA, N.  
M. P.; COSTA, L. A. S.; NAVARRO, M.; Synthesis, characterization and biological  
evaluation of zinc and copper azasterol complexes against *Sporothrix brasiliensis*  
*Em preparação*

SILVEIRA, C. H.; VIECELI V.; CHAVES, O. A.; MARQUES, A. C.; ROSA, N. M. P.;  
COSTA, L. A. S.; IGLESIAS, B. A.; Synthesis, photophysics, computational approaches  
and biomolecule interactive studies of metalloporphyrins containing pyrenyl units  
*Fase final de revisão*



## 6 CONCLUSÃO

A primeira etapa do trabalho mostrou que a metodologia utilizada para a parametrização dos compostos de platina, com o emprego de suas cargas em solução aquosa no nível HF/6-31+G(d,p)/LANL2DZ, constantes de força, também em solução aquosa, no nível B3LYP/6-31+G(d,p)/LANL2DZ e parâmetros de LJ para os átomos de N, Cl e H do GAFF e para a Pt relatados por Yao e colaboradores (YAO, *et. al.*, 1994), se mostraram apropriados para a DM dos compostos em questão.

As etapas seguintes relataram simulações de DM para uma classe de compostos polinucleares de platina (II), denominados SI-PPCs, interagindo com dois modelos de DNA e um de heparina. Os resultados aqui apresentados mostraram o papel dos grampos e garfos de fosfato e sulfato nas estruturas das biomoléculas estudadas. Os dados corroboram com a literatura, que confirma que SI-PPCs com mais de um centro de platina não covalente (II) se ligam aos grupos fosfato de DNA e grupos sulfato de glicosaminoglicanos, formando estruturas cíclicas não-covalentes.

A interação de tais compostos com o DNA ocorre através de dois modos, denominados como *backbone tracking* e *groove spanning*, dependendo da sequência de bases presentes na hélice do DNA. Outra conclusão que se pode tirar é que os compostos interagem em regiões formadas principalmente por pares C-G, exceto para os compostos DiplatinNC e AH78P que formam estruturas não covalentes também com fosfatos pertencentes aos pares A-T. Cálculos de energia de interação sugeriram que as interações entre SI-PPCs e DNA são termodinamicamente favoráveis, sendo a principal contribuição principal proveniente de interações eletrostáticas.

A mudança no valor de cut de 6,0 Å para 12,0 Å não forneceu informações relevantes quanto à conformação da hélice do DNA, apresentando tendências semelhantes às observadas nos resultados iniciais. Em relação aos resultados de energia de interação e entropia, destaca-se a diminuição no valor de  $\Delta G_{\text{int}}$  para os sistemas 24\_bp\_DNA...TriplatinNC e 24\_bp\_DNA...AH78H. O mesmo foi observado para os dados  $T\Delta S_{\text{VIB}}$  e  $T\Delta S_{\text{TOT}}$ , com diferenças da ordem de 10 kcal mol<sup>-1</sup>.

Os resultados da análise H-bond mostraram que TriplatinNC tem o maior número de interações com grupos fosfato ligados a pares C-G e que predominam os modos o *backbone tracking* e o *groove spanning*, dependendo da especificidade das bases presentes na hélice do DNA. O mesmo é observado para os outros complexos, exceto para DiplatinNC e AH78P, que possuem um elevado número de interações com grupos

fosfatos ligados a pares A-T, mas ambos também possuem dois modos de ligação ao DNA.

A literatura mostra que (i) diferenças na citotoxicidade entre AH44 e TriplatinNC podem refletir diferenças no acúmulo de células; (ii) que a maior carga positiva produz maior acúmulo, facilitando o acesso ao DNA, resultando em uma maior frequência de deformação através de grampos de fosfato. Aqui, observamos que, quanto maior a carga positiva, maior o número de estruturas não-covalentes formadas, confirmando achados experimentais anteriores. Nesse sentido, acreditamos que os presentes achados fornecem dados relevantes para experimentalistas bioinorgânicos.

As diferentes análises, baseadas em simulações de DM da última etapa desse trabalho, mostram que a interação entre SI-PPC e 1HPN está presente ao longo de toda a trajetória e, devido ao seu perfil não-covalente, abre um novo modo de ação para medicamentos antineoplásicos. As abordagens de RMSF e SASA indicam a possibilidade de redução da ação do 1HPN que expressa a eficácia dos SI-PPCs, na interação com essa biomolécula e, supostamente, impedindo-a de se ligar à enzima responsável pela clivagem. A análise *H-bond* mostrou que o TriplatinNC apresenta o maior número de ocorrências de estruturas não-covalentes ao longo da trajetória, bem como a relação direta entre o número de centros de platina e o aumento do número de estruturas não covalentes formadas.

A análise das posições relativas dos centros de platina mostrou que SI-PPCs estão preferencialmente posicionados na região central da molécula de heparina, e que os grupos sulfato S112 e S62 são responsáveis pela maioria das estruturas não-covalentes observadas por todos os sistemas, exceto para MonoplatinNC...1HPN e DiplatinNC...1HPN. Além disso, outras análises como a energia de interação mostraram que a interação SI-PPC...1HPN é termodinamicamente favorável, expressado pela média negativa dos valores de energia livre de Gibbs ao longo da trajetória de simulação.

Este trabalho corrobora com dados da literatura em que a interação de Si-PPCs com grupos sulfato protege tais grupos do reconhecimento por resíduos proteicos carregados, o que leva à prevenção da ação de proteínas e enzimas. Esse comprometimento das funções de 1HPN está diretamente ligada às consequências celulares, como a inibição da migração celular e a formação de novos vasos sanguíneos por meio da angiogênese. A “metaloproteção” de grupos sulfato tem se mostrado uma importante abordagem para inibir a atividade de moléculas sulfatadas, como o 1HPN.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. R. *et al.* Molecular dynamics of carbon nanohorns and their complexes with cisplatin in aqueous solution. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 89, p. 167–177, 2019.
- ARFKEN, G. B., WEBER, H. J. **Mathematical Methods for Physicists**. Ohio: [s.n.].
- BARAZ, L. *et al.* Tumor suppressor p53 regulates heparanase gene expression. **Oncogene**, v. 25, n. 28, p. 3939–3947, 2006.
- BARROSO, E. D. VMD: Visual Molecular Dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 2012.
- BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: Towards new targets. **Chemical Communications**, v. 49, n. 45, p. 5106–5131, 2013.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1993.
- BELTING, M. Heparan sulfate proteoglycan as a plasma membrane carrier. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 28, n. 3, p. 145–151, 2003.
- BERENDSEN, H. J. C. *et al.* Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of Chemical Physics**, v. 81, n. 8, p. 3684–3690, 1984.
- BRABEC, V. *et al.* DNA modifications by a novel bifunctional trinuclear platinum Phase I anticancer agent. **Biochemistry**, v. 38, n. 21, p. 6781–6790, 1999.
- BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.
- CALLADINE, C. R. Mechanics of sequence-dependent stacking of bases in B-DNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 161, n. 2, p. 343–352, 1982.
- CANCÈS, E.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. **Journal of Chemical Physics**, v. 107, n. 8, p. 3032–3041, 1997.
- CASE, D. A. *et al.* **Amber 12** University of California, San Francisco San Francisco, 2012.
- CENTRO DE COMBATE AO CÂNCER. **No Title**. Disponível em: <http://www.cccancer.net/tratamento/o-que-e-radioterapia/>. Acesso em: 31 ago. 2020a.
- CENTRO DE COMBATE AO CÂNCER. **No Title**. Disponível em: <http://www.cccancer.net/tratamento/o-que-e-quimioterapia/>. Acesso em: 31 ago. 2020b.
- CHIODELLI, P. *et al.* Heparin/heparan sulfate proteoglycans glycomic interactome in angiogenesis: Biological implications and therapeutical use. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 6342–6388, 2015.
- COOK, L. M.; HURST, D. R.; WELCH, D. R. Metastasis suppressors and the tumor microenvironment. **Seminars in Cancer Biology**, v. 21, n. 2, p. 113–122, 2011.

DICKERSON, R. E. DNA structure from A to Z. **Methods in Enzymology**, v. 211, n. C, p. 67–111, 1992.

DICKERSON, R. E.; DREW, H. R. Kinematic model for B-DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, n. 12 II, p. 7318–7322, 1981.

EL HASSAN, M. A.; CALLADINE, C. R. Two distinct modes of protein-induced bending in DNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 282, n. 2, p. 331–343, 1998.

FARRELL, N. P. Multi-platinum anti-cancer agents. Substitution-inert compounds for tumor selectivity and new targets. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 24, p. 8773–8785, 2015.

FARRELL, N. P. **Medicinal inorganic chemistry: New perspectives and targets for the periodic table**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 75

FARRELL, N. P.; QU, Y.; HACKER, M. P. Cytotoxicity and Antitumor Activity of Bis(platinum) Complexes. A Novel Class. v. 12, p. 2179–2184, 1990.

GALLAGHER, J. T.; WALKER, A. Molecular distinctions between heparan sulphate and heparin. Analysis of sulphation patterns indicates that heparan sulphate and heparin are separate families of N-sulphated polysaccharides. **Biochemical Journal**, v. 230, n. 3, p. 665–674, 1985.

HALL, M. D. *et. al.* The role of cellular accumulation in determining sensitivity to platinum-based chemotherapy. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 48, p. 495–535, 2008.

HARRIS, A. L. *et. al.* Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a novel highly charged trinuclear platinum compound. Enhancement of cellular uptake with charge. **Inorganic Chemistry**, v. 44, n. 26, p. 9598–9600, 2005.

HARRIS, A. L.; RYAN, J. J.; FARRELL, N. Biological Consequences of Trinuclear Platinum Complexes : **Molecular Pharmacology**, v. 69, n. 2, p. 666–672, 2006.

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

HAY, P. J.; WADT, W. R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg. **The Journal of Chemical Physics**, v. 82, n. 1, p. 270–283, 1985b.

HEGMANS, A. *et. al.* Long Range 1,4 and 1,6-Interstrand Cross-Links Formed by a Trinuclear Platinum Complex. Minor Groove Preassociation Affects Kinetics and Mechanism of Cross-Link Formation as Well as Adduct Structure. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 7, p. 2166–2180, 2004.

HEHRE, W. J.; DITCHFIELD, K.; POPL, J. A. Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules. **The Journal of Chemical Physics**, v. 56, n. 5, p. 2257–2261, 1972.

- HESTENES, M. R.; STIEFEL, E. Methods of conjugate gradients for solving linear systems. **Journal of Research of the National Bureau of Standards**, v. 49, n. 6, p. 409, 1952.
- HUDAK, J. E.; BERTOZZI, C. R. Glycotherapy: New advances inspire a reemergence of glycans in medicine. **Chemistry and Biology**, v. 21, n. 1, p. 16–37, 2014.
- HUMPHRIES, D. E. *et al.* Heparin is essential for the storage of specific granule proteases in mast cells. **Nature**, v. 400, n. 6746, p. 769–772, 1999.
- JOHNSTONE, T. C.; SUNTHARALINGAM, K.; LIPPARD, S. J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 5, p. 3436–3486, 2016.
- JORGENSEN, W. L. *et al.* Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983.
- KATNER, S. J. *et al.* Comparison of Metal-Ammine Compounds Binding to DNA and Heparin. Glycans as Ligands in Bioinorganic Chemistry. **Inorganic Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 3116–3125, 2018.
- KAUFFMAN, G. B. *et al.* Michele Peyrone (1813-1883), discoverer of Cisplatin. **Platinum Metals Review**, v. 54, n. 4, p. 250–256, 2010.
- KELLETT, A. *et al.* Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug-DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 4, p. 971–988, 2019.
- KOMEDA, S. *et al.* A third mode of DNA binding: Phosphate clamps by a polynuclear platinum complex. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 50, p. 16092–16103, 2006a.
- KOMEDA, S. *et al.* Phosphate Clamps by a Polynuclear Platinum Complex.pdf. n. 6, p. 16092–16103, 2006b.
- KOMEDA, S. *et al.* The phosphate clamp: A small and independent motif for nucleic acid backbone recognition. **Nucleic Acids Research**, v. 39, n. 1, p. 325–336, 2011.
- KOMEDA, S. *et al.* The phosphate clamp as recognition motif in platinum–DNA interactions. **Inorganica Chimica Acta**, v. 452, p. 25–33, 2016.
- LEE C, YANG W, P. R. **P785\_1.PdfPhys Rev**, 1988.
- LIMA, M. A. *et al.* Heparan sulfate and heparin: Structure and function. **Sulfated Polysaccharides**, p. 1–16, 2015.
- LIPPARD, S. J. New chemistry of an old molecule: cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]. **Science**, v. 218, n. 4577, p. 1075–1082, 1982.
- MALINA, J. *et al.* Substitution-Inert Polynuclear Platinum Complexes with Dangling Amines: Condensation/Aggregation of Nucleic Acids and Inhibition of DNA-Related Enzymatic Activities. **Inorganic Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 6804–6810, 2019.

- MALINA, J.; FARRELL, N. P.; BRABEC, V. Substitution-Inert Trinuclear Platinum Complexes Efficiently Condense/Aggregate Nucleic Acids and Inhibit Enzymatic Activity. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 47, p. 12812–12816, 2014a.
- MALINA, J.; FARRELL, N. P.; BRABEC, V. DNA condensing effects and sequence selectivity of DNA binding of antitumor noncovalent polynuclear platinum complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 1662–1671, 2014b.
- MALINA, J.; FARRELL, N. P.; BRABEC, V. Substitution-Inert Polynuclear Platinum Complexes Act as Potent Inducers of Condensation/Aggregation of Short Single- and Double-Stranded DNA and RNA Oligonucleotides. **Chemistry - A European Journal**, v. 25, n. 12, p. 2995–2999, 2019.
- MANGRUM, J. B. *et. al.* A new approach to glycan targeting: Enzyme inhibition by oligosaccharide metalloshielding. **Chemical Communications**, v. 50, n. 31, p. 4056–4058, 2014.
- MANGRUM, J. B.; FARRELL, N. P. Excursions in polynuclear platinum DNA binding. **Chemical Communications**, v. 46, n. 36, p. 6640–6650, 2010.
- MCLEAN, A. D.; CHANDLER, G. S. Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z=11-18. **The Journal of Chemical Physics**, v. 72, n. 10, p. 5639–5648, 1980.
- MILLER, B. R. *et. al.* MMPBSA.py: An efficient program for end-state free energy calculations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 8, n. 9, p. 3314–3321, 2012.
- MILLS, M. *et. al.* Microscopic basis for the mesoscopic extensibility of dendrimer-compacted DNA. **Biophysical Journal**, v. 98, n. 5, p. 834–842, 2010.
- MONIODIS, J. J. *et. al.* Competitive formation of DNA linkage isomers by a trinuclear platinum complex and the influence of pre-association. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 8, p. 3583–3593, 2015.
- MULLOY, B. *et. al.* N.m.r. And molecular-modelling studies of the solution conformation of heparin. **Biochemical Journal**, v. 293, n. 3, p. 849–858, 1993.
- PETERSON, E. J. *et. al.* Antiangiogenic platinum through glycan targeting. **Chemical Science**, v. 8, n. 1, p. 241–252, 2016.
- PRISECARU, A. *et. al.* The phosphate clamp: Sequence selective nucleic acid binding profiles and conformational induction of endonuclease inhibition by cationic Triplatin complexes. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. 22, p. 13474–13487, 2014.
- QU, Y. *et. al.* Synthesis and DNA conformational changes of non-covalent polynuclear platinum complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 10 SPEC. ISS., p. 1591–1598, 2004.
- QU, Y.; KIPPING, R. G.; FARRELL, N. P. Solution studies on DNA interactions of substitution-inert platinum complexes mediated via the phosphate clamp. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 8, p. 3563–3572, 2015.



- ROE, D. R.; CHEATHAM, T. E. PTRAJ and CPPTRAJ: Software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 9, n. 7, p. 3084–3095, 2013.
- ROOTHAAN, C. C. J. New developments in molecular orbital theory. **Reviews of Modern Physics**, v. 23, n. 2, p. 69–89, 1951.
- ROSA, N. M. P. *et. al.* TriplatinNC and biomolecules: Building models based on non-covalent interactions. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, n. MAY, p. 1–12, 2019.
- ROSENBERG, B.; VANCAMP, L. The Successful Regression of Large Solid Sarcoma 180 Tumors by Platinum Compounds. **Cancer Research**, v. 30, n. 6, p. 1799–1802, 1970.
- RUHAYEL, R. A. *et. al.* Factors affecting DNA-DNA interstrand cross-links in the antiparallel 3'-3' sense: a comparison with the 5'-5' directional isomer. **Chemistry - A European Journal**, v. 15, n. 37, p. 9365–9374, 2009.
- RYCKAERT, J. P.; CICCOTTI, G.; BERENDSEN, H. J. C. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. **Journal of Computational Physics**, v. 23, n. 3, p. 327–341, 1977.
- SAMSONOV, S. A.; TEYRA, J.; PISABARRO, M. T. Docking glycosaminoglycans to proteins: Analysis of solvent inclusion. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 25, n. 5, p. 477–489, 2011.
- SÁNCHEZ DELGADO, G. Y. *et. al.* Structure and redox stability of [Au(III)(X<sup>N</sup>)<sub>3</sub>PR<sub>3</sub>] complexes (X = C or N) in aqueous solution: The role of phosphine auxiliary ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 200, n. May, p. 110804, 2019.
- SEMINARIO, J. M. Calculation of intramolecular force fields from second-derivative tensors. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 60, n. 7, p. 1271–1277, 1996.
- SILVA, H. *et. al.* Heparan sulfate proteoglycan-mediated entry pathway for charged tri-platinum compounds: Differential cellular accumulation mechanisms for platinum. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 6, p. 1795–1802, 2012a.
- SILVA, H. *et. al.* Pathway for Charged Tri-Platinum Compounds. **Molecular pharmacology**, v. 9, n. 6, p. 1795–1802, 2012b.
- SINDHIKARA, D. J. *et. al.* Bad Seeds Sprout Perilous Dynamics : Stochastic Thermostat Induced Trajectory Synchronization in Biomolecules. p. 1624–1631, 2009.
- SVOZIL, D. *et. al.* Geometrical and electronic structure variability of the sugar-phosphate backbone in nucleic acids. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 27, p. 8188–8197, 2008.
- UBERUAGA, B. P.; ANGHEL, M.; VOTER, A. F. Synchronization of trajectories in canonical molecular-dynamics simulations: Observation, explanation, and exploitation. **Journal of Chemical Physics**, v. 120, n. 14, p. 6363–6374, 2004.



VLODAVSKY, I. *et. al.* Mammalian heparanase: Gene cloning, expression and function in tumor progression and metastasis. **Nature Medicine**, v. 5, n. 7, p. 793–802, 1999.

WANG, J. *et. al.* Development and Testing of a General Amber Force Field. **Journal of Computational Chemistry**, v. 56531, n. 9, p. 1157–1174, 2004.

WEISS, R. J.; ESKO, J. D.; TOR, Y. Targeting heparin and heparan sulfate protein interactions. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 15, n. 27, p. 5656–5668, 2017.

YAO, S.; PLASTARAS, J. P.; MARZILLI, L. G. A Molecular Mechanics AMBER-Type Force Field for Modeling Platinum Complexes of Guanine Derivatives. **Inorganic Chemistry**, v. 33, n. 26, p. 6061–6077, 1994.

YU, S.; LARSON, R. G. Monte-Carlo simulations of PAMAM dendrimer-DNA interactions. **Soft Matter**, v. 10, n. 29, p. 5325–5336, 2014.

ZHENG, S. *et. al.* VFFDT: A New Software for Preparing AMBER Force Field Parameters for Metal-Containing Molecular Systems. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 56, n. 4, p. 811–818, 2016.

## ANEXO A – Parâmetros intermoleculares

**Tabela 11** - Parâmetros intramoleculares de moléculas SI-PPCs: valores de equilíbrio  $X_{eq}$  para comprimento de ligação em Å, e constantes de força K para alongamento de ligação em kcal mol<sup>-1</sup> Å<sup>-2</sup>.

			$X_{eq}$	K
MonoplatinNC	<i>Pt1</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	95,68
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	93,26
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,14	87,64
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,14	89,15
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,53	143,25
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,27	210,52
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	92,61	191,81
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	87,86	183,06
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	87,86	183,06
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	87,80	186,77
DiplatinNC	<i>Pt1</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,07	114,14
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,07	114,49
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,07	114,14
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,07	110,72
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,84	179,17
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,93	179,89
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,84	160,61
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,23	160,46
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,71	160,69
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,22	160,10
	<i>Pt2</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,07	110,48
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,07	110,37
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,07	113,23
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,07	112,67
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,84	179,17
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,78	158,12
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,75	160,20
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,21	159,22
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,87	159,10
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,17	160,10
AH44	<i>Pt1</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	103,85
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	101,03
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	92,92
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	95,46
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	178,07	174,29
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	177,92	150,14
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	88,19	179,43
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	89,89	143,63
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	88,04	148,09
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,88	186,45	
<i>Pt2</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	97,77	

AH78P		Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	97,49
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	99,63
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	100,10
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,64	231,58
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,71	161,40
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,71	175,95
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,65	179,63
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,50	176,04
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,14	172,46
		Pt3	Pt-NH <sub>2</sub>	2,10
	Pt-NH <sub>2</sub>		2,10	96,54
	Pt-NH <sub>3</sub>		2,09	99,74
	Pt-NH <sub>3</sub>		2,09	100,26
	H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		177,72	184,08
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		179,13	178,04
	H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		93,23	173,02
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		89,03	150,53
	H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		90,15	149,90
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		87,59	172,42
	Pt1	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	102,87
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	104,28
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	99,56
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	101,49
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,70	239,79
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,10	156,50
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,80	167,91
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,42	169,86
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	87,14	171,46
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	92,64	168,30
	Pt2	Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	96,28
Pt-NH <sub>2</sub>		2,11	96,45	
Pt-NH <sub>3</sub>		2,10	96,44	
Pt-NH <sub>3</sub>		2,09	103,93	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		179,03	175,75	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		177,28	216,07	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		90,91	169,96	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		86,89	183,46	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>		93,88	172,05	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>		88,34	160,08	
Pt3	Pt-NH <sub>2</sub>	2,09	99,13	
	Pt-NH <sub>2</sub>	2,09	97,32	
	Pt-NH <sub>3</sub>	2,11	98,51	
	Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	96,29	
	H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	178,93	122,61	
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,63	160,55	
	H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	90,34	156,77	
	H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	89,66	156,02	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	90,43	156,47		

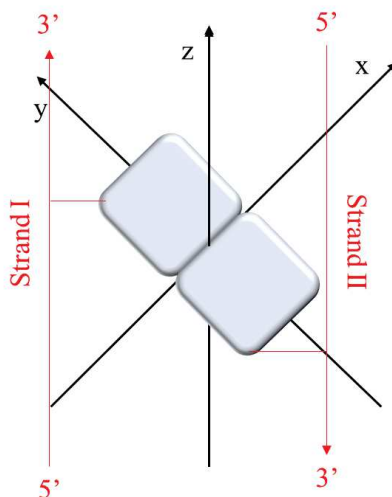
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	89,57	157,63	
TriplatinNC	Pt1	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	95,96	
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	96,12	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	101,58	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	93,94	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	177,52	217,77	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	178,25	194,73	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	88,25	165,65	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	94,06	183,68	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	87,61	198,49	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	90,07	177,25	
	Pt2	Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	100,81	
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	96,21	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	95,54	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	97,55	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,22	161,88	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,51	157,73	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	89,35	148,16	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	91,04	141,00	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	89,16	143,23	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	90,45	149,01	
	Pt3	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	97,61	
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	97,99	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	101,46	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	104,08	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	177,49	184,09	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	184,09	164,19	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,85	173,31	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	90,66	153,45	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	88,47	159,28	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	94,02	181,55	
	AH78H	Pt1	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	93,51
			Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	93,16
			Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	102,25
Pt-NH <sub>3</sub>			2,09	131,14	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>			179,71	201,82	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>			179,46	167,74	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>			86,83	174,56	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>			92,96	172,47	
H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>			86,54	172,23	
H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>			93,67	174,30	
Pt2		Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	103,06	
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,09	105,01	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,11	99,45	
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,11	97,01	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	179,36	185,33	
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	178,93	237,85	
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	86,76	188,21	

		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	93,85	178,60
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	87,20	178,60
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	92,20	181,33
	<i>Pt3</i>	Pt-NH <sub>2</sub>	2,11	103,30
		Pt-NH <sub>2</sub>	2,10	98,62
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,10	97,43
		Pt-NH <sub>3</sub>	2,09	98,62
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	178,08	192,88
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	179,43	178,64
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	87,81	176,84
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	90,27	164,24
		H <sub>2</sub> N-Pt-NH <sub>3</sub>	89,25	167,77
		H <sub>3</sub> N-Pt-NH <sub>2</sub>	92,66	181,00

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

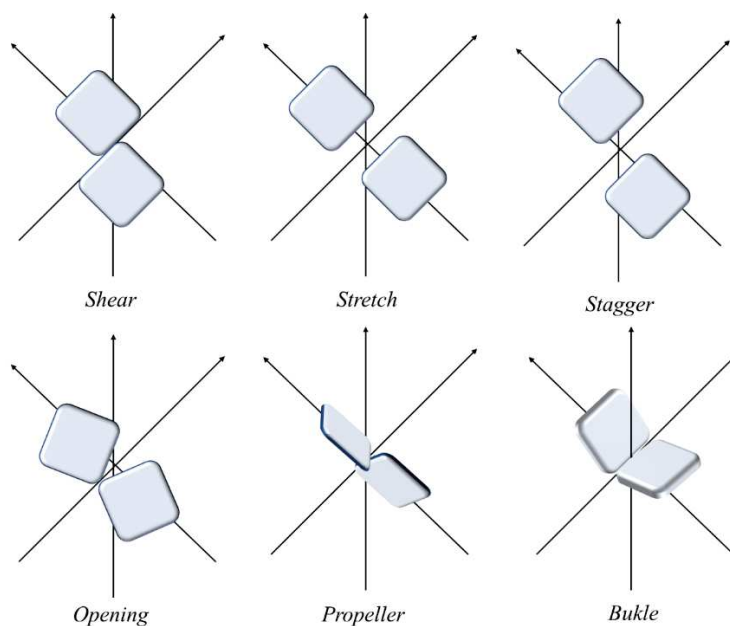
**ANEXO B – Representações esquemáticas dos parâmetros estruturais do DNA**

**Figura 58** - Definição dos eixos mostrando as duas cadeias principais destacadas em vermelho. As linhas vermelhas que conectam as representações das bases à cadeia principal representam o ponto onde elas estão conectadas.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

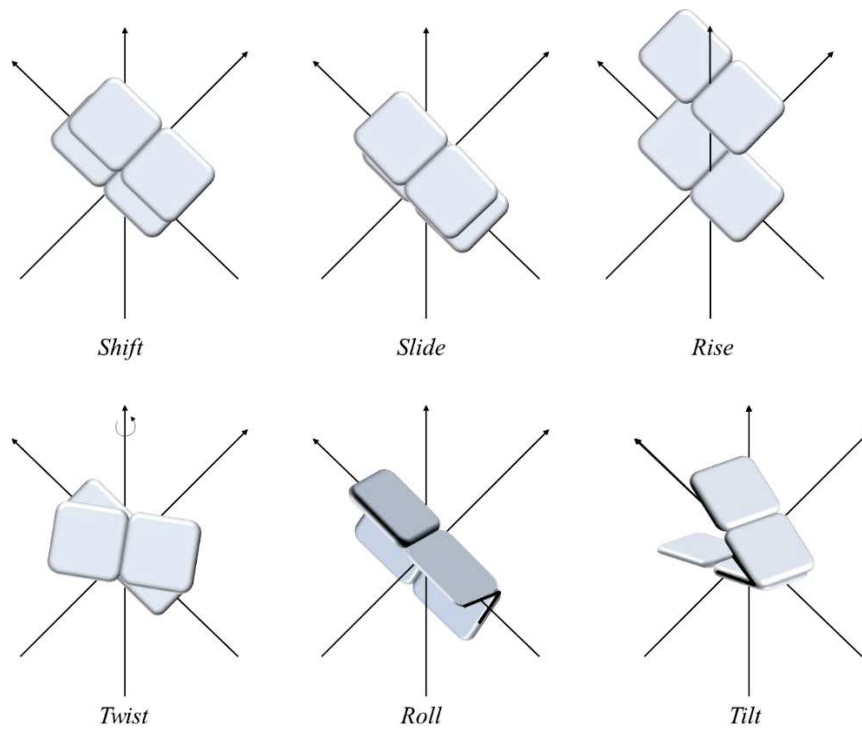
**Figura 59** - Representação esquemática dos parâmetros Base-base.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

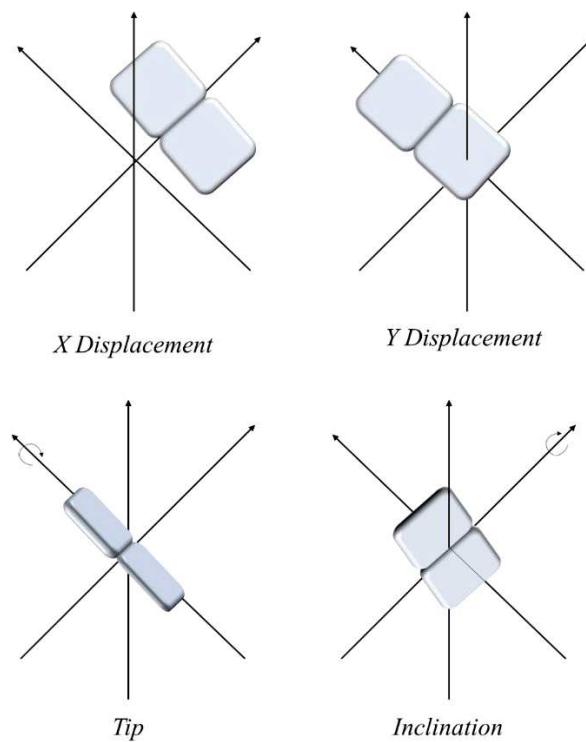


**Figura 60** - Representação esquemática dos parâmetros Inter-base.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

**Figura 61** - Representação esquemática dos parâmetros eixo-base.



FONTE: Elaborado pela autora (2020).

## ANEXO C – Análise H-Bond SI-PPCs e DNA

**Tabela 12** - Análise H-bond das interações de hidrogênio formadas entre os grupos NH<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> presentes nos centros de platina II e os átomos O1P e O2P dos grupos fosfato.

	#Acceptor	DonorH	Donor	Frames	AvgDist
24_bp_DNA...MonoplatinNC	DT 33@O2P	MonoplatinNC@H57	MonoplatinNC@N59	381	2,7676
	DC 38@O2P	MonoplatinNC@H58	MonoplatinNC@N59	352	2,7573
	DC 10@O2P	MonoplatinNC@H56	MonoplatinNC@N59	348	2,7712
	DT 33@O2P	MonoplatinNC@H58	MonoplatinNC@N59	316	2,7736
	DC 10@O1P	MonoplatinNC@H56	MonoplatinNC@N59	312	2,7854
	DG 35@O2P	MonoplatinNC@H11	MonoplatinNC@N1	303	2,7909
	DT 33@O2P	MonoplatinNC@H56	MonoplatinNC@N59	280	2,7767
	DG 35@O2P	MonoplatinNC@H25	MonoplatinNC@N1	264	2,7816
	DG 35@O2P	MonoplatinNC@H10	MonoplatinNC@N1	236	2,7978
	DC 34@O1P	MonoplatinNC@H56	MonoplatinNC@N59	219	2,7673
24_bp_DNA...DiplatinNC	DT 20@O1P	DiplatinNC@H54	DiplatinNC@N55	1175	2,7979
	DT 20@O1P	DiplatinNC@H53	DiplatinNC@N55	1073	2,79
	DT 20@O1P	DiplatinNC@H52	DiplatinNC@N55	1056	2,7972
	DT 33@O1P	DiplatinNC@H33	DiplatinNC@N31	1025	2,8457
	DT 33@O1P	DiplatinNC@H70	DiplatinNC@N68	1019	2,8442
	DT 32@O1P	DiplatinNC@H27	DiplatinNC@N3	969	2,8562
	DT 32@O1P	DiplatinNC@H67	DiplatinNC@N58	955	2,8628
	DT 33@O1P	DiplatinNC@H12	DiplatinNC@N3	953	2,8377
	DC 22@O1P	DiplatinNC@H69	DiplatinNC@N68	901	2,8436
	DT 33@O1P	DiplatinNC@H32	DiplatinNC@N31	876	2,8402
24_bp_DNA...AH44	DG 15@O2P	AH44@H12	AH44@N3	1218	2,8325
	DG 15@O2P	AH44@H7	AH44@N3	1017	2,817
	DC 34@O2P	AH44@H68	AH44@N67	906	2,8377
	DG 35@O2P	AH44@H69	AH44@N67	685	2,8299
	DG 35@O2P	AH44@H74	AH44@N70	675	2,8168
	DC 34@O2P	AH44@H69	AH44@N67	653	2,835
	DG 35@O2P	AH44@H68	AH44@N67	583	2,8283
	DC 34@O1P	AH44@H78	AH44@N73	556	2,8201
	DG 35@O2P	AH44@H75	AH44@N70	544	2,831
	DG 15@O2P	AH44@H10	AH44@N1	516	2,8356

24_bp_DNA...AH78P	DA 42@O1P	AH78P@H46	AH78P@N8	1553	2,8429
	DG 41@O1P	AH78P@H112	AH78P@N15	1328	2,8466
	DG 41@O1P	AH78P@H111	AH78P@N13	985	2,8115
	DG 41@O1P	AH78P@H52	AH78P@N13	934	2,8217
	DC 10@O1P	AH78P@H47	AH78P@N9	930	2,8449
	DC 10@O1P	AH78P@H40	AH78P@N3	858	2,8447
	DC 14@O1P	AH78P@H110	AH78P@N11	824	2,8598
	DC 10@O2P	AH78P@H104	AH78P@N5	813	2,844
	DG 11@O1P	AH78P@H43	AH78P@N5	789	2,8533
	DG 39@O1P	AH78P@H55	AH78P@N15	713	2,8589
24_bp_DNA...TriplatinNC	DC 38@O2P	TriplatinNC@H57	TriplatinNC@N8	897	2,8462
	DC 38@O1P	TriplatinNC@H55	TriplatinNC@N6	628	2,8168
	DC 38@O1P	TriplatinNC@H26	TriplatinNC@N6	611	2,8201
	DG 39@O2P	TriplatinNC@H57	TriplatinNC@N8	597	2,8466
	DG 39@O2P	TriplatinNC@H29	TriplatinNC@N9	538	2,8255
	DG 35@O2P	TriplatinNC@H30	TriplatinNC@N9	537	2,822
	DG 35@O2P	TriplatinNC@H29	TriplatinNC@N9	532	2,8198
	DG 39@O1P	TriplatinNC@H25	TriplatinNC@N5	520	2,8516
	DG 39@O2P	TriplatinNC@H30	TriplatinNC@N9	494	2,8221
	DG 35@O2P	TriplatinNC@H69	TriplatinNC@N68	493	2,8559
24_bp_DNA...AH78H	DC 22@O1P	AH78H@H133	AH78H@N11	2901	2,851
	DT 33@O1P	AH78H@H131	AH78H@N8	1708	2,8397
	DC 22@O1P	AH78H@H136	AH78H@N13	1471	2,8401
	DC 22@O1P	AH78H@H60	AH78H@N13	1389	2,8466
	DC 22@O1P	AH78H@H59	AH78H@N13	1027	2,8556
	DT 32@O1P	AH78H@H58	AH78H@N11	840	2,8537
	DT 33@O1P	AH78H@H63	AH78H@N15	761	2,833
	DT 33@O2P	AH78H@H54	AH78H@N8	668	2,8486
	DC 12@O2P	AH78H@H129	AH78H@N9	635	2,8529
	DT 33@O2P	AH78H@H132	AH78H@N10	619	2,8407
24_bp_DNA...AH78P (Cut=12.0Å)	DT 32@O1P	AH78P@H50	AH78P@N11	1152	2,858
	DT 32@O1P	AH78P@H108	AH78P@N8	780	2,8469
	DG 23@O1P	AH78P@H112	AH78P@N15	750	2,8408
	DT 33@O1P	AH78P@H55	AH78P@N15	635	2,8612
	DT 33@O1P	AH78P@H110	AH78P@N11	595	2,8507
	DT 32@O1P	AH78P@H52	AH78P@N13	577	2,8315
	DG 13@O1P	AH78P@H104	AH78P@N5	551	2,8467
	DT 33@O2P	AH78P@H106	AH78P@N9	533	2,8419
	DT 32@O1P	AH78P@H46	AH78P@N8	504	2,8418
	DT 32@O1P	AH78P@H111	AH78P@N13	493	2,8351

24_bp_DNA···TriplatinNC (Cut=12.0Å)	DG_15@O2P	TriplatinNC@H26	TriplatinNC@N6	1850	2,8139
	DG_15@O2P	TriplatinNC@H55	TriplatinNC@N6	1834	2,8168
	DC_16@O2P	TriplatinNC@H29	TriplatinNC@N9	1766	2,8137
	DC_16@O2P	TriplatinNC@H30	TriplatinNC@N9	1484	2,8145
	DG_15@O2P	TriplatinNC@H27	TriplatinNC@N6	1387	2,8235
	DC_16@O2P	TriplatinNC@H56	TriplatinNC@N9	1277	2,8239
	DG_15@O1P	TriplatinNC@H55	TriplatinNC@N6	1131	2,8305
	DG_15@O1P	TriplatinNC@H26	TriplatinNC@N6	1109	2,8336
	DG_39@O1P	TriplatinNC@H22	TriplatinNC@N3	1049	2,8464
	DC_14@O2P	TriplatinNC@H57	TriplatinNC@N8	1015	2,844

FONTE: Elaborado pela autora (2020).

## ANEXO D – Análise H-Bond SI-PPCs e 1HPN

**Tabela 13** - Análise H-bond das interações de hidrogênio formadas entre os grupos NH<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> presentes nos centros de platina II e os átomos de oxigênio dos grupos sulfatos.

	#Acceptor	DonorH	Donor	Frames	AvgDist
MonoplatinNC...1HPN	1HPN@O163	MonoplatinNC@H53	MonoplatinNC@N55	3350	2,83
	1HPN@O164	MonoplatinNC@H11	MonoplatinNC@N1	2936	2,88
	1HPN@O163	MonoplatinNC@H52	MonoplatinNC@N55	2654	2,82
	1HPN@O163	MonoplatinNC@H54	MonoplatinNC@N55	2595	2,83
	1HPN@O164	MonoplatinNC@H25	MonoplatinNC@N1	1795	2,87
	1HPN@O164	MonoplatinNC@H10	MonoplatinNC@N1	1389	2,88
	1HPN@O165	MonoplatinNC@H27	MonoplatinNC@N3	901	2,92
	1HPN@O165	MonoplatinNC@H11	MonoplatinNC@N1	567	2,80
	1HPN@O165	MonoplatinNC@H53	MonoplatinNC@N55	539	2,81
	1HPN@O165	MonoplatinNC@H54	MonoplatinNC@N55	432	2,81
DiplatinNC...1HPN	1HPN@O13	DiplatinNC@H32	DiplatinNC@N31	1066	2,85
	1HPN@O236	DiplatinNC@H70	DiplatinNC@N68	854	2,87
	1HPN@O165	DiplatinNC@H53	DiplatinNC@N55	782	2,82
	1HPN@O165	DiplatinNC@H52	DiplatinNC@N55	727	2,83
	1HPN@O14	DiplatinNC@H32	DiplatinNC@N31	691	2,85
	1HPN@O165	DiplatinNC@H54	DiplatinNC@N55	642	2,82
	1HPN@O15	DiplatinNC@H32	DiplatinNC@N31	591	2,85
	1HPN@O243	DiplatinNC@H62	DiplatinNC@N58	582	2,84
	1HPN@O236	DiplatinNC@H62	DiplatinNC@N58	546	2,85
	1HPN@O164	DiplatinNC@H53	DiplatinNC@N55	500	2,80
AH44...1HPN	1HPN@O115	AH44@H43	AH44@N39	2220	2,83
	1HPN@O114	AH44@H43	AH44@N39	1453	2,84
	1HPN@O113	AH44@H43	AH44@N39	1428	2,84
	1HPN@O114	AH44@H48	AH44@N39	1056	2,86
	1HPN@O94	AH44@H48	AH44@N39	956	2,84
	1HPN@O115	AH44@H48	AH44@N39	750	2,85
	1HPN@O113	AH44@H48	AH44@N39	686	2,86
	1HPN@O115	AH44@H42	AH44@N37	658	2,86
	1HPN@O92	AH44@H48	AH44@N39	608	2,83
	1HPN@O115	AH44@H46	AH44@N37	524	2,86

AH78P...1HPN	1HPN@O136	AH78P@H110	AH78P@N11	1406	2,88
	1HPN@O163	AH78P@H43	AH78P@N5	1127	2,86
	1HPN@O165	AH78P@H49	AH78P@N10	900	2,83
	1HPN@O114	AH78P@H98	AH78P@N37	766	2,80
	1HPN@O136	AH78P@H53	AH78P@N14	734	2,85
	1HPN@O136	AH78P@H54	AH78P@N14	717	2,86
	1HPN@O169	AH78P@H112	AH78P@N15	716	2,85
	1HPN@O142	AH78P@H97	AH78P@N36	709	2,77
	1HPN@O63	AH78P@H99	AH78P@N37	700	2,81
	1HPN@O165	AH78P@H107	AH78P@N10	662	2,84
TriplatinNC...1HPN	1HPN@O115	TriplatinNC@H91	TriplatinNC@N89	2149	2,85
	1HPN@O114	TriplatinNC@H90	TriplatinNC@N89	1966	2,87
	1HPN@O114	TriplatinNC@H91	TriplatinNC@N89	1610	2,85
	1HPN@O294	TriplatinNC@H7	TriplatinNC@N3	1481	2,88
	1HPN@O265	TriplatinNC@H57	TriplatinNC@N54	1409	2,83
	1HPN@O113	TriplatinNC@H91	TriplatinNC@N89	1388	2,85
	1HPN@O294	TriplatinNC@H11	TriplatinNC@N4	1268	2,85
	1HPN@O115	TriplatinNC@H90	TriplatinNC@N89	1184	2,87
	1HPN@O115	TriplatinNC@H101	TriplatinNC@N93	1171	2,85
	1HPN@O214	TriplatinNC@H15	TriplatinNC@N13	1134	2,85
AH78H...1HPN	1HPN@O65	AH78H@H54	AH78H@N8	1131	2,84
	1HPN@O63	AH78H@H54	AH78H@N8	1089	2,85
	1HPN@O211	AH78H@H117	AH78H@N42	896	2,86
	1HPN@O115	AH78H@H63	AH78H@N15	884	2,87
	1HPN@O64	AH78H@H54	AH78H@N8	842	2,85
	1HPN@O211	AH78H@H116	AH78H@N42	762	2,86
	1HPN@O211	AH78H@H124	AH78H@N42	717	2,86
	1HPN@O114	AH78H@H122	AH78H@N45	650	2,80
	1HPN@O114	AH78H@H123	AH78H@N45	632	2,81
	1HPN@O65	AH78H@H131	AH78H@N8	554	2,85

FONTE: Elaborado pela autora (2020).



## ANEXO E – Artigos publicados

JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry  
<https://doi.org/10.1007/s00775-020-01817-9>

ORIGINAL PAPER



## Molecular dynamics simulation of non-covalent interactions between polynuclear platinum(II) complexes and DNA

Nathália M. P. Rosa<sup>1</sup> · Júlio A. F. Arvellos<sup>1</sup> · Luiz Antônio S. Costa<sup>1</sup>

Received: 28 April 2020 / Accepted: 30 August 2020  
 © Society for Biological Inorganic Chemistry (SBIC) 2020

### Abstract

Several studies with substitution-inert polynuclear platinum(II) complexes (SI-PPC) have been carried out in recent years due to the form of DNA binding presented by these compounds. This form of bonding is achieved by molecular recognition through the formation of non-covalent structures, commonly called phosphate clamps and forks, which generate small extensions of the major and minor grooves. In this work, we use molecular dynamics simulations (MD) to study the formation of these cyclical structures between six different SI-PPCs and a double DNA dodecamer, here called 24\_bp\_DNA. The results showed the influence of the complex expressed on the number of phosphate clamps and forks formed. Based on the conformational characterization of the DNA fragment, we show that the studied SI-PPCs interact preferentially in the minor groove, causing groove spanning, except for two of them, Monoplatin and AH44. The phosphates of C–G pairs are the main sites for such non-covalent interactions. The Gibbs interaction energy of solvated species points out to AH78P, AH78H, and TriplatinNC as the most probable ones when coupled with DNA. As far as we know, this work is the very first one related to SI-PPCs which brings MD simulations and a complete analysis of the non-covalent interactions with a double DNA dodecamer.

**Keywords** Phosphate clamps · Intermolecular interactions · TriplatinNC · Molecular dynamics · Force field parametrization · Major and minor groove

### Introduction

Platinum anticancer agents represent a class of drugs that are prominent in the treatment of this disease and are widely used. The highlight of this class is cisplatin, which has a cure rate above 95% in patients with testicular cancer. The success of cisplatin in the treatment of cancer is due to its ability to form covalent adducts with DNA and alter the structure. Upon entering the cell, this drug undergoes successive hydrolysis reactions to form activated aquo species as  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$  and  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$  that will bind covalently to the DNA of different ways with N7 atoms

of the purine bases (G or A) [1, 2]. Two other platinum-containing drugs are also approved worldwide for the treatment of cancer in humans, carboplatin, and oxaliplatin, in addition to three others that are approved for use in specific countries known as nedaplatin (Japan), lobaplatin (China), and heptaplatin (Korea). A new platinum agent has not been approved for more than 10 years and, therefore, research on new platinum-based anticancer drugs continues to be carried out despite the high use of these drugs alone or in formulations combined with the other drugs [3].

Polynuclear platinum compounds with trans geometry form a class of active anticancer agents and are designed with the objective of forming long-distance cross-links, due to the greater number of platinum centers available [4, 5]. The highlight of this class is the compound BBR3464, which is absorbed in large quantities by cancer cells and forms cross-links characteristic of 1,4-interstand DNA. BBR3464 showed in vitro and in vivo toxicity of up to three orders of magnitude more potent than cisplatin and is capable of overcoming resistance to cisplatin in various types of cancer [4, 6].

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00775-020-01817-9>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Luiz Antônio S. Costa  
[luiz.costa@ufjf.edu.br](mailto:luiz.costa@ufjf.edu.br)

<sup>1</sup> NEQC-Núcleo de Estudos em Química Computacional, Departamento de Química, ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brazil

Published online: 10 September 2020

Springer





# TriplatinNC and Biomolecules: Building Models Based on Non-covalent Interactions

Nathália M. P. Rosa<sup>1\*</sup>, Frederico Henrique do C. Ferreira<sup>1</sup>, Nicholas P. Farrell<sup>2</sup> and Luiz Antônio S. Costa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Estudos em Química Computacional, Departamento de Química, ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil, <sup>2</sup> Department of Chemistry, Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, United States

The class of polynuclear platinum(II) compounds have demonstrated a great interest because their high activity against cancer cells. Among these new compounds, the TriplatinNC also called AH78, demonstrated surprising antitumor activity, in some cases equivalent to cisplatin. It is well-known that complex charge +8 favors interaction with DNA and other biomolecules non-covalently, through the hydrogen bonds with phosphate and sulfate groups present in these structures. The hydrogen atoms of the amine interact with the oxygen atoms of the phosphate and sulfate groups present in the DNA strand and heparan sulfate, respectively. These interactions can cause significant twists in double helix and inhibit the activity of these biomolecules. The present investigation is an attempt to provide a benchmark theoretical study about TriplatinNC. We have described the non-covalent interactions through small reliable mimetic models. The non-covalent interactions were also evaluated on larger models containing DNA fractions with six nitrogenous base pairs (CGCGAA) and fractions of the disaccharide that makes the HS evaluated by the hybrid QM/MM ONIOM methodology.

**Keywords:** triplatin complexes, biomolecules, phosphate clamps, sulfate clamps, arginine-forks, mimetic model, DFT, ONIOM

## INTRODUCTION

Cisplatin has been the most widely metal-based drug used for the treatment of cancer in almost four decades, but the efficacy of this drug has become more difficult because of acquired resistance and severe side effects such as nephrotoxicity, neurotoxicity, and hearing system damage (Wong and Giandomenico, 1999). Other platinum complexes have been approved for clinical use worldwide, such as carboplatin (second generation), oxaliplatin (third generation), and three compounds as nedaplatin, lobaplatin, and heptaplatin, which have been approved only in Japan, China, and South Korea, respectively (Barry and Sadler, 2013). Therefore, approaches that have a different cellular response from that of cisplatin have been the target of studies in several areas.

The searching for new compounds such as polynuclear platinum complexes (PPCs) that show anti-cancer activity have increase in recent years (Mangrum and Farrell, 2010; Prisecaru et al., 2014; Farrell, 2015; Qu et al., 2015). PPCs have shown great promise against cancer cells due to faster and more effective interactions with the DNA when compared to mononuclear complexes because they have more than one platinum core available to coordinate, exhibiting chemical and biological properties that differ significantly to cisplatin (Qu et al., 2004).

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Nino Russo,  
University of Calabria, Italy

### Reviewed by:

Piercarlo Fantucci,  
University of Milano-Bicocca, Italy  
Cina Foroutan-Nejad,  
Masaryk University, Czechia

### \*Correspondence:

Nathália M. P. Rosa  
nathympaixao@yahoo.com.br  
Luiz Antônio S. Costa  
luiz.costa@uff.edu.br

### Specialty section:

This article was submitted to  
Theoretical and Computational  
Chemistry,  
a section of the journal  
Frontiers in Chemistry

**Received:** 06 February 2019

**Accepted:** 18 April 2019

**Published:** 21 May 2019

### Citation:

Rosa NMP, Ferreira FHC, Farrell NP  
and Costa LAS (2019) TriplatinNC and  
Biomolecules: Building Models Based  
on Non-covalent Interactions.  
Front. Chem. 7:307.  
doi: 10.3389/fchem.2019.00307



Cite this: *New J. Chem.*, 2019, 43, 11200

Received 18th March 2019,  
Accepted 8th June 2019

DOI: 10.1039/c9nj01314h

rsc.li/njc

## Tracking pereirine and flavopereirine in pau-pereira using Raman and SERS spectroscopies†

Lenize F. Maia,<sup>a</sup> Márcia R. Almeida,<sup>b</sup> Dhieniffer F. Carvalho,<sup>a</sup> Nathália M. P. Rosa,<sup>c</sup> Antonio Carlos Sant'Ana,<sup>a</sup> Luiz Antônio S. Costa,<sup>c</sup> Vanessa End de Oliveira,<sup>d</sup> Angelo C. Pinto‡<sup>e</sup> and Luiz Fernando C. de Oliveira<sup>a</sup>

Pau-pereira (*Geissospermum vellosii*) is a native tree of Brazil from which a mixture of alkaloids named pereirine and the compound flavopereirine has been isolated. Preventive and curative properties have been recorded by ethnopharmacological studies performed with *Geissospermum* species. Pereirine has been prescribed as a herbal drug since the early 1830's and flavopereirine has shown anticancer properties. In this work, the alkaloid content produced by *G. vellosii* has been investigated from 20 commercial samples collected from different localities. The identification of compounds has been performed by Raman and surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopies, with the assignment of Raman bands supported by theoretical calculations. The obtained results have demonstrated that Raman and SERS techniques are suitable to detect both pereirine and flavopereirine from raw materials, infusions prepared as teas and ethanolic extracts, which is the extraction procedure to prepare tinctures. Chemometric analysis was able to discriminate the alkaloid content present in each sample type according to the extraction methodology.

### Introduction

Pereirine (PR) was first isolated in 1838 by a Brazilian pharmacist as a mixture of alkaloids obtained from the bark of *Geissospermum vellosii* Allemão, an apocynaceous tree indigenous to Brazil (Fig. 1).<sup>1–4</sup> *Geissospermum* species like *G. vellosii*, *G. sericeum*, *G. laeve*, *G. reticulatum* and *G. argenteum* are a source of indolic alkaloids bearing similar carbon skeletons. *G. vellosii*, known as pau-pereira is a rich source of bioactive metabolites that have been used as bark decoctions prepared in water or alcohol by traditional communities in the Amazon region of Brazil and the Andean people.<sup>5,6</sup> The bioactivity covers the treatment of malaria,<sup>7–12</sup> fever,<sup>4,13</sup> stomach disorders and constipation.<sup>9</sup>

*In vitro* assays performed with crude extracts have shown antiparasitic<sup>14</sup> and anticancer activities.<sup>15,16</sup> *In vivo* experiments have demonstrated antinociceptive effects of *G. vellosii* in behavioral models of nociception.<sup>17</sup>

A controversial discussion on the chemical composition of PR has been reported in the literature;<sup>4</sup> however, there is a consensus that geissoschizoline (GC) (compound 1, Fig. 1) is the main active compound present in the mixture formulated as a natural medicine described by Santos in 1848.<sup>18</sup> PR has been addressed as the bioactive compound found in tinctures (alcoholic extracts) and teas, and is commercialized as a powder, splinter or unprocessed stem bark.<sup>4</sup> Nevertheless, barks of *G. vellosii* submitted to fractionation based on both the basicity and partition coefficients furnished the alkaloid flavopereirine (FP) (compound 2),<sup>1,2</sup> a bioactive compound bearing a structure biosynthetically related to PR, also present in infusions and ethanolic extracts.<sup>19</sup> FP has extensively been investigated showing anticancer<sup>20</sup> and antiviral properties.<sup>21</sup> Due to its potential bioactivity, several synthetic routes have been proposed.<sup>22–24</sup>

The effectiveness and safety of using herbal medicines depend on the authenticity of the sources. In this context, there is a great concern about adulteration due to mixing different herbal materials as substitutes for the original plants. Commercially packaged stem bark is available in several drugstores and public markets; the identification of the plant material and the content of formulations is crucial to guarantee the quality of the phytomedicine.

<sup>a</sup> Núcleo de Espectroscopia e Estrutura Molecular – Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário s/n, Martelos, Juiz de Fora, MG, 36033-620, Brazil. E-mail: lenmaia@uol.com.br

<sup>b</sup> Faculdade de Tecnologia – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Polo Industrial, Rodovia Presidente Dutra km 298, Resende, RJ, 27537-000, Brazil

<sup>c</sup> Núcleo de Estudos em Química Computacional – Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário s/n, Martelos, Juiz de Fora, MG, 36033-620, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Ciências da Natureza, Universidade Federal Fluminense, Campus Universitário de Rio das Ostras, Rua Recife, s/n, Jardim Bela Vista, Rio das Ostras, RJ, 28890-000, Brazil

<sup>e</sup> Instituto de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro Instituto de Química, Ilha do Fundão, 21945-970, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c9nj01314h

‡ In memoriam.

