

9 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

9.1. Discutindo a formação dos complexos

Apesar de se tratar da síntese de complexos no estado sólido, este trabalho teve como foco o entendimento de interações entre um medicamento quimioterápico (cisplatina) e dois ligantes de importância biológica (Gaa e arginina) através da investigação da coordenação entre a platina(II) e os aminoácidos. Portanto, procurou-se trabalhar *in vitro* com condições próximas ao meio biológico utilizando, em função disto, apenas água deionizada como solvente.

9.1.1. Complexos de Gaa-cisplatina

Devido à solubilidade moderada em água tanto da cisplatina como do Gaa, nas primeiras tentativas de síntese obtivemos junto com o complexo formado, uma mistura de cristais de Gaa e de cisplatina, como descrito 6.1.1 e 6.1.2. Realizamos então diferentes procedimentos de síntese variando a forma de adição dos reagentes, e condições reacionais como temperatura e tempo sob agitação bem como aquecimento, visando obter a complexação total dos materiais de partida.

Em função das variações nos procedimentos experimentais de síntese obtivemos dois produtos diferentes como resultado da complexação do Gaa com a cisplatina, que foram chamados de complexo 1 e complexo 2 e que foram sintetizados conforme descrito no capítulo 6 – itens 6.2 e 6.3.

O complexo 1 se encontra sob a forma de um pó fino castanho claro e o complexo 2 sob a forma de um pó fino amarelo claro.

9.1.2. Complexos de Arginina-cisplatina

Conforme descrito no capítulo 6 – itens 6.4 e 6.5, foram sintetizados dois complexos diferentes a partir da reação de arginina com a cisplatina que foram chamados de complexo 3 e complexo 4.

Nas duas sínteses os reagentes foram solubilizados e adicionados um ao outro de maneira análoga e obedecendo as mesmas proporções. Como nas reações de Gaa com a cisplatina, também aqui, variamos a temperatura de aquecimento e o tempo reacional, conforme descrição detalhada em 6.4 e 6.5, o que levou à formação de dois complexos diferentes resultantes da interação da arginina com a cisplatina. O complexo 3 se encontra sob a forma de um pó fino amarelo, e o complexo 4 sob a forma de um sólido branco, que se hidrata com muita facilidade e dá origem a uma substância viscosa transparente semelhante a um polímero.

9.2. Discutindo as caracterizações dos complexos formados

9.2.1. Análise elementar (CHN) e Espectrometria de Absorção Atômica

Para o complexo 4 verificou-se apenas o percentual de platina através da absorção atômica. Não foi possível a realização da análise elementar (CHN) para este complexo, pois ele é muito higroscópico e estava absorvendo uma quantidade muito grande de umidade enquanto era transferido para as cápsulas de estanho durante a pesagem.

Para os demais complexos (1, 2 e 3) obtivemos os dados da análise elementar para carbono, hidrogênio e nitrogênio. Paralelamente mediu-se o percentual de platina em cada complexo através da espectrometria de absorção atômica.

Com os resultados obtidos da análise elementar e absorção atômica foi possível chegar a uma fórmula mínima para os complexos formados 1, 2 e 3.

Conforme foi mostrado em 8.2, os resultados encontrados experimentalmente para C, H, N e Pt se encontram coerentes com os teóricos

calculados para as possíveis moléculas de cada complexo. Os percentuais de cloro e oxigênio foram calculados por diferença. Permaneceu ainda, a dúvida se haviam cloretos se comportando como contra-íon em alguma das moléculas dos complexos, o que foi investigado posteriormente através de análise condutimétrica.

9.2.2. Condutimetria

Foi muito importante a realização da análise condutimétrica para verificar se os complexos foram formados como moléculas neutras ou não.

No caso dos complexos com cisplatina, o cloro facilmente se quebra e pode se ligar ao complexo formado sob a forma de cloreto. A presença de íons cloreto a mais na molécula, altera consideravelmente a massa do complexo formado.

Os valores condutimétricos encontrados para os complexos 1 e 2 (0041 μ s e 0084 μ s, respectivamente) em comparação com os sais utilizados como parâmetro indicam que trata-se de complexos neutros pois estão bem abaixo do valor encontrado para o NaCl (274 μ s). Diferentemente, os valores encontrados para os complexos 3 e 4 (366 μ s e 280 μ s, respectivamente) indicam a presença de contra-íon nas duas moléculas.

Os dados obtidos foram comparados com os encontrados na literatura^{7.0}. Mas, como a maioria dos complexos possui baixa solubilidade em água, na literatura utilizada não havia tabela de condutimetria em água para complexos. Foi então utilizada uma tabela condutimétrica^{7.1} cujo solvente era metanol, por ser dentre as tabelas reportadas na literatura utilizada, a que tinha o solvente com polaridade mais próxima à da água. Os resultados obtidos experimentalmente puderam apenas ser comparados com os da literatura^{7.0} em função de se tratar de solventes diferentes.

9.2.3. Análise termogravimétrica (TGA)

Após os dados de análise elementar, absorção atômica e condutimetria, que levaram a fórmula empírica dos complexos, os resultados fornecidos pelas curvas de decomposição térmica de cada complexo, permitiram, através das massas dos fragmentos perdidos em função da temperatura, se sugerir possíveis estruturas para os complexos 1, 2 e 3. Os fragmentos de massa experimentais estão coerentes com os teóricos propostos conforme mostrou a tabela 8.6.

Entretanto, como para os dois aminoácidos (Gaa e arginina) existe mais de uma possibilidade para coordenação, não se pode afirmar só com esses dados se as estruturas propostas estão realmente corretas.

Para o complexo 4 também não foi feita a análise termogravimétrica porque ele estava apresentando características de que se tratava de uma molécula polimérica.

9.2.4. Difração de pó

Todos os complexos formados são pós e, portanto a difração de raio de X não nos forneceu a estrutura da molécula como ocorre quando se trata de cristais. Mesmo assim, informações muito importantes foram obtidas através desta técnica que foi empregada para a cisplatina e para os complexos 1 e 2.

A figura 8-3 mostrou que o complexo 1 apresenta deslocamento diferente da cisplatina, sendo mais uma indicação de que a platina do antineoplásico se complexou com o aminoácido Gaa.

Da mesma forma, a figura 8-5 mostrou deslocamentos diferentes entre a cisplatina e o complexo 2, mais um indicativo de que a platina do quimioterápico se complexou com a Gaa também nesta reação.

Após os deslocamentos terem mostrado que houve complexação nas duas reações de Gaa com cisplatina, outra informação importante foi obtida ao se comparar os dois complexos. A figura 8-6 mostrou, ao se sobrepor os dois complexos, que não existem diferenças significativas entre os deslocamentos do complexo 1 em relação ao complexo 2, apenas as intensidades são diferentes.

As semelhanças observadas nos deslocamentos dois complexos, apontam que o Gaa pode ter se coordenando com a cisplatina de forma semelhante tanto no complexo 1 como no complexo 2.

9.2.5.

Ressonância magnética nuclear

RMN ^{195}Pt

Na literatura existem muitos dados de RMN ^{195}Pt inclusive da própria cisplatina^{9,0}. Seria muito importante para a caracterização de todos os complexos a ressonância magnética nuclear de platina. Como todos os compostos aqui sintetizados apresentam problemas de solubilidade, não conseguimos bons resultados e estes foram descartados.

Todos os complexos foram submetidos a testes de solubilidade com metanol, DMF, DMSO, éter etílico, piridina e água. Nenhum dos complexos foi totalmente solúvel em nenhum dos solventes utilizados. Em água, apenas o complexo 4 apresentou boa solubilidade, os complexos 1 e 3 apresentaram solubilidade moderada e o 2 solubilidade bem baixa.

Foram feitas tentativas de se obter o espectro de RMN ^{195}Pt , para os complexos 1 e 2 utilizando D_2O . As amostras foram colocadas no aparelho mais de uma vez, permanecendo a noite toda, mas parte do material que não havia se solubilizado estava se depositando na parede do tubo capilar comprometendo a análise. Não conseguimos nenhum espectro bom de RMN de platina.

Para os complexos 1 e 3 foram feitas também tentativas de se obter RMN ^1H e MNN ^{13}C também com D_2O . Sendo o complexo 1 bem mais solúvel em água que os demais, conseguimos obter o seu RMN ^1H e RMN ^{13}C .

RMN ^1H

O RMN ^1H do complexo 1 mostrado na figura 8.7, foi comparado com o RMN ^1H do Gaa em solução no pH 7 e pH 8,3 como mostrou a tabela 8.7.

Para o Gaa observamos 3 sinais, o primeiro próximo a 3,7 ppm é referente aos prótons do carbono α , o segundo próximo a 6,6 ppm do H do grupo amino e um terceiro perto de 7,7 ppm que são os prótons do NH, NH_2 do grupo guanidino.

Para o complexo 1 obtivemos um singleto em 3,71 ppm e o outro 4,68 ppm. Apenas o sinal em 3,71 é referente aos prótons do complexo, são dos hidrogênios ligados ao carbono α . Os prótons das aminas que deveriam aparecer em torno de 6 e 8 ppm não foram vistos porque foram substituídos, houve uma troca com o D₂O usado como solvente. O sinal em 4,68 ppm é de água.

RMN¹³C

O Gaa pode se coordenar monodentadamente pelo átomo de nitrogênio do grupamento amino ou pelo átomo de oxigênio do carboxilato, ou de forma bidentada através dos dois. O RMN¹³C forneceu informações importantes para que se pudesse propor como o Gaa havia se coordenado com a platina no complexo 1.

O RMN¹³C do Gaa mostra o sinal de carbono do carboxilato próximo a 175 ppm, o carbono α em 43 ppm e o carbono do grupo guanidino em 158 ppm, como mostrou a a figura 8.8. O complexo apresentou o sinal de C do carboxilato com pouco deslocamento em relação ao do Gaa caindo em 178 ppm,. O carbono α e o carbono do grupo guanidino apresentaram pequenos deslocamentos também como mostrou a figura 8.9.

A tabela 8.8 compara os valores encontrados para os carbonos no Gaa e no complexo 1 e mostra que apenas o carbono α apresentou maior deslocamento, passando de 43 para 47 ppm. O pequeno deslocamento no carbono que possui o grupamento carboxilato é um grande indicativo de que a coordenação não se deu pelo átomo de oxigênio do carboxiliato, pois se a coordenação fosse por ali, o deslocamento deste carbono teria sido maior. Isto sugere então que a coordenação se deu pelo átomo de nitrogênio do grupo amino e que o carbono α e o carbono do grupo guanidino sofreram um pequeno deslocamento porque estão na vizinhança do átomo de nitrogênio que se coordenou.

9.2.6. Infravermelho

9.2.6.1. Complexos de Gaa-cisplatina: Complexos 1 e 2

Como descrito em 6.2 e 6.3 foram feitas algumas variações nos procedimentos experimentais de síntese ao se complexar Gaa com a cisplatina o que deu origem aos complexos 1 e 2. Os espectros de infravermelho obtidos se encontram no anexo B.

As bandas de infravermelho mostradas na tabela 8-9 permitiram a visualização da formação dos complexos resultantes da interação do Gaa com a cisplatina nas duas reações, em função dos deslocamentos das principais bandas características do Gaa (ν N-H do grupo guanidino: 3386 cm^{-1} ; ν_s e ν_{as} N-H: 3200 a 3000 cm^{-1} ; ν C=N guanidino: 1671 e 1625 cm^{-1} ; ν_s e ν_{as} COO^- : 1574 , 1410 e 1372 cm^{-1}) e da cisplatina (ν N-H 3286 e 3204 cm^{-1} ; Pt-N 540 e 509 cm^{-1} ; Pt-Cl 329 - 319 cm^{-1}) e pela formação de bandas de metal-ligante na região de baixa energia nos dois complexos formados.

O NH guanidino aparece sem deslocamento nenhum nos dois complexos (3385 cm^{-1} nos dois). No Gaa esta banda cai em 3385 - 3386 cm^{-1} . Isto mostra que o grupo guanidino, como era esperado, não participa da coordenação.

Foi possível observar para cada um dos complexos ao se comparar com o IV do Gaa e da cisplatina, também como mostra a tabela 8-9, diferenças nos deslocamentos de algumas das principais bandas nas regiões de IV médio (ν N-H: 3303 e 3172 cm^{-1} para o Gaa; 3286 e 3204 cm^{-1} para a cisplatina; 3289 e 3177 cm^{-1} no complexo 1; 3287 e 3175 cm^{-1} no complexo 2) e IV afastado (Pt-N: 540 e 509 cm^{-1} para cisplatina; 549 e 566 cm^{-1} no complexo 1; 563 e 575 cm^{-1} no complexo 2).

Comparando os espectros dos complexos 1 e 2 nota-se bandas em comum com pequenas diferenças de deslocamento, mas com grandes diferenças na intensidade de absorção.

Analisando as regiões de baixa energia nota-se que algumas bandas estão presentes em um complexo e ausentes no outro. Foram observadas, após comparação com os dados encontrados na literatura^{9,0}, bandas que indicam a

presença de Pt-Cl-Pt em ponte no complexo 2, enquanto que no complexo 1 observamos bandas Pt-Cl terminal, sendo indicativo que se tratam de complexos diferentes. Entretanto, apenas as observações dos espectros de infravermelho não são suficientes para se afirmar que os complexos são diferentes, pois ao se comparar cuidadosamente as principais bandas dos dois complexos, nota-se que as diferenças nos deslocamentos são sutis, havendo em algumas regiões do espectro diferença acentuada apenas na intensidade das bandas, o que indicaria se tratar de um mesmo composto. A utilização de modelagem molecular para as estruturas propostas para os complexos 1 e 2, nos permitiria verificar através dos espectros teóricos bandas referentes a cada molécula respectivamente e por comparação poderíamos verificar se os complexos 1 e 2 são realmente diferentes.

Foram então as demais caracterizações, juntamente com as diferenças físicas observadas entre os produtos das duas reações (complexo 1: castanho claro, solubilidade moderada em água; complexo 2: amarelo, baixa solubilidade em água), que nos levaram a manter a indicação de que se tratam de dois complexos diferentes, o que será discutido em 9.3.1.

9.2.6.2.

Complexos de Arginina-cisplatina: Complexos 3 e 4

De maneira análoga a síntese dos complexos 1 e 2, também foram realizadas variações no tempo e temperatura das reações entre arginina e cisplatina como descrito em 6.4 e 6.5, dando origem a dois compostos também com características físicas diferentes. O complexo 3 que é um pó amarelo e o complexo 4 um pó branco muito higroscópico. Os espectros de infravermelho obtidos se encontram no anexo B.

O espectro de infravermelho da arginina mostra algumas bandas bem próximas às do Gaa, uma vez que também possui grupo guanidino e carboxilato. As bandas de N-H da arginina encontram-se na faixa de 3000 a 3300 cm^{-1} , o C=N guanidino cai em 1683 e 1645 cm^{-1} e as bandas de C=O em 1421 e 1377 cm^{-1} , como mostra a tabela 8-10.

As bandas de N-H se deslocaram mais do que o observado para os complexos 1 e 2 (ν N-H: 3290 e 3097 cm^{-1} – arginina; 3282 e 3174 cm^{-1} –

complexo 3; 3385 e 3177 cm^{-1} – complexo 4.) Para as bandas de C=O e C=N guanidino os deslocamentos observados para os complexos em relação à arginina foi pequeno, como se pode ver na tabela 8-10. Na reação do IV afastado observou-se bandas de Pt-N e Pt-Cl para os dois complexos (complexo 3: Pt-N: 537 cm^{-1} e Pt-Cl: 325 cm^{-1} ; complexo 4: Pt-N: 535 cm^{-1} e Pt-Cl: 327 cm^{-1}). Não foram vistas bandas características de M-ponte em nenhum dos dois complexos.

Não foi possível fazer nenhuma proposta de estrutura para o complexo 4 uma vez que ele não foi devidamente caracterizado por se hidratar com muita facilidade. Para este complexo só foram feitas as análises de absorção atômica, condutimetria e infravermelho. Este composto, que é um pó branco, conforme descrito anteriormente, é extremamente higroscópico e torna-se um composto pastoso, com características de ser um polímero. Portanto, pode-se sugerir que ao absorver água, o carboxilato se dissocia, tornando-se um sítio negativo que interage com o grupamento guanidino. Estas interações carboxilato-guanidino já foram estudadas^{9.1}.

Para o complexo 3, após se analisar os dados de todas as caracterizações, foi possível propor uma estrutura que apresentou o Gaa coordenado também de forma monodentada com a platina. Na arginina o carbono α possui um átomo de nitrogênio, podendo este ter sido o sítio de coordenação. A proposta de estrutura encontra-se no capítulo 10.3.

9.3.

Discutindo as estruturas propostas

9.3.1.

Complexos de Gaa-cisplatina: Complexos 1 e 2

Obtivemos como produto de duas reações de Gaa com cisplanina, como descrito em 6.2. e 6.3, dois complexos com características físicas diferentes. O que foi chamado de complexo 1 apresentou-se sob a forma de um pó fino castanho claro com solubilidade moderada em água e o que foi chamado de complexo 2 apresentou-se sob a forma de um pó amarelo com baixa solubilidade em água.

Após todas as carecterizações propuzemos que no complexo 1 o Gaa se comporta como um ligante monodentado se coordenando com a cisplatina pelo nitrogênio do grupamento amino e que no complexo 2 houve a formação de um dímero. O complexo 2 então, seria um dímero do complexo 1 tendo dois átomos de platina ligados pelos cloretos em ponte e o Gaa se coordenando também monodentadamente em cada lado da estrutura dimérica.

No que diz respeito ao infravermelho essa proposta justificaria a existência de bandas bem parecidas para os dois complexos, apenas com intensidades diferentes. Apenas uma banda Cl-Pt-Cl muito intensa em 151 cm^{-1} aparece no espectro do composto 2 e não aparece no do composto 1, indicando que Cl-Pt-Cl estão em ponte. Esta idéia foi também reforçada com os resultados da difração de pó, que não mostrou deferenças significativas entre os dois complexos, indicando coordenações semelhantes.

Para complexo 1, após as devidas caracterizações terem levado a fórmula molecular ($\text{PtC}_3\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl}$), a termogravimetria permitiu, através das quebras obtidas, propor uma estrutura, que está coerente com os dados observados no espectro de infravermelho do composto que sugere a existência de ligação Pt-Cl e Pt-N, mostrando o Gaa se coordenando monodentadamente com a platina pelo nitrogênio do grupamento amino (figura 10-1). Pelo infravermelho não se pode afirmar precisamente a ausência da ligação Pt-O, pois as regiões de Pt-N e Pt-O são bem próximas sendo suas diferenças muito sutis ou até mesmo inexistentes.

Para o complexo 2, as caracterizações levaram a fórmula molecular ($\text{Pt}_2\text{C}_6\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}_5\text{Cl}_2$), e se propôs que havia ocorrido a formação de um composto

dimérico. Após as caracterizações terem levado a sua fórmula molecular, se chegou a uma proposta de estrutura onde o Gaa estaria se comportando como um ligante monodentado em cada um dos lados do dímero formado, existindo a possibilidade da ligação ser através do O do carboxilato ou do N da amina. Pela análise termogravimétrica não foi possível identificar qual dos dois era realmente o átomo doador. Através do infravermelho também não se pode verificar a coordenação, pois a região Pt-N e Pt-O são bem próximas e difíceis de serem diferenciadas. Mas como N é mais macio que o oxigênio e no complexo arginina-cisplatina (complexo 3), foi possível observar as ligações Pt-N, sugeriu-se então que a coordenação se deu pelo nitrogênio do grupo amina (Figura 10-2) e não pelo oxigênio. O espectro de RMN¹³C do composto 1 confirma, por comparação com o RMN¹³C do Gaa, esta suposição pela ausência de deslocamento da carboxila e maior deslocamento do carbono α que é vizinho ao N onde ocorreu a coordenação.

9.3.2.

Complexos de Arginina-cisplatina: Complexos 3 e 4

Para o complexo 3 formado pela interação entre a arginina e a cisplatina, após a análise elementar foi possível propor a fórmula molecular ($\text{PtC}_6\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_2\text{Cl}_2$). A presença de um dos cloros como contra-íon foi confirmada por condutimetria. Os espectros de infravermelho do composto formado evidenciam deslocamentos de bandas quando comparados com os espectros da arginina e da cisplatina. A análise termogravimétrica sugere que a arginina está se complexando monodentadamente pelo grupamento NH_2 próximo ao carboxilato devido a um fragmento de massa elevada. A Figura 10.3, mostra a estrutura proposta para o complexo 3.

Para o complexo 4 não foi possível fazer nenhuma proposta de estrutura porque sua caracterização foi incompleta. Para este complexo só foram feitas as análises de absorção atômica, condutimetria e infravermelho.