

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

Giset Yuliana Sánchez Delgado

**INFLUÊNCIA DO AMBIENTE ENZIMÁTICO NA REATIVIDADE DE COMPLEXOS
ANTICÂNCER DE OURO(III).**

Juiz de Fora

2021

Giset Yuliana Sánchez Delgado

INFLUÊNCIA DO AMBIENTE ENZIMÁTICO NA REATIVIDADE DE COMPLEXOS
ANTICÂNCER DE OURO(III).

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 Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Ferreira dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Diego Fernando da Silva Paschoal

Juiz de Fora

2021

A mi abuela María Ángela que dedicó muchos años de su vida para cuidarme y educarme con un amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

A minha avó, mãe e toda a minha família por seu amor e apoio ao longo dos anos.

Ao meu orientador Hélio Ferreira dos Santos pela orientação e paciência durante estes anos.

Ao meu coorientador Diego Paschoal pelo apoio e a revisão dos manuscritos durante o doutorado.

Aos meus amigos de laboratório, Júlio, William, Rodrigo, Nathália, Eduardo, Jonahtan, Fred e demais alunos com os que compartilhei muitos momentos no NEQC.

A meu esposo Grigori pelo apoio incondicional durante os anos que cursei a pós-graduação.

Ao professor Luiz Antônio S. Costa, pelo apoio e amizade.

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

À Universidade Federal de Juiz de Fora, em especial ao programa de pós-graduação em química pela confiança.

RESUMO

Complexos de ouro(III) são compostos promissores para a quimioterapia do câncer com mecanismos de ação que envolvem etapas dependentes de sua estabilidade redox. A escolha do ligante é crucial para ajustar a reatividade e atividade biológica destes mesmos. Fosfinas terciárias (PR₃) estão entre os ligantes auxiliares mais usados nestes compostos. A estabilidade redox dos complexos [Au^{III}(C[^]N[^]C)PR₃]⁺ (C[^]N[^]C=2,6-difenilpiridina) (A) e [Au^{III}(N[^]N[^]N)PR₃]³⁺ (N[^]N[^]N=2,2':6',2''-terpiridina) (B) foi investigada para um conjunto de 41 fosfinas, usando o potencial padrão de redução (E^o) para o sistema eletroquímico Au³⁺→Au¹⁺ como referência. Para os compostos (A), E^o variou numa faixa de 829 mV com valores negativos; para os compostos (B) os valores de E^o foram positivos numa faixa de 507 mV. As fosfinas com alto impacto estérico diminuem a estabilidade do complexo apesar de serem fortes doadores σ. Propriedades estéricas e eletrônicas foram usadas para construir modelos quantitativos de relação estrutura-propriedade (QSPR – Quantitative Structure-Properties Relationship), sendo o volume *buried* o principal fator na estabilidade dos compostos estudados. No caso dos compostos (B), o impacto estérico é mais pronunciado nas espécies de ouro(I). A capacidade de doação de elétrons das fosfinas possui maior peso na estabilidade redox dos compostos (B) em relação aos compostos (A).

Posteriormente, quinze compostos com diferentes ligantes bidentados (bident) e tridentados (trident), mantendo fixo o cloreto como ligante auxiliar ([Au^{III}(bident)Cl₂]³⁺ⁿ (bident = do tipo N[^]N e C[^]N) e [Au^{III}(trident)Cl]³⁺ⁿ (trident = do tipo N[^]N[^]N, C[^]N[^]N, C[^]C[^]N, C[^]N[^]C e N[^]C[^]N)), foram estudados. Os valores de E^o calculados abrangeram uma ampla faixa de 2600 mV. Os compostos do tipo [Au^{III}(C[^]C[^]N)Cl] mostraram a maior estabilidade com E^o de aproximadamente -1,60 V em solução aquosa. A análise de orbitais naturais e o E^o indicaram que a inclusão da ligação Au-C é menos eficiente para a estabilização do composto na posição lateral comparada à central. O posicionamento consecutivo de dois ligantes piridina desfavorece a redução dos complexos de ouro(III). No caso do composto [Au^{III}(C[^]N[^]N)Cl], o ligante bipy (N[^]N) se comporta como um ligante redox não-inocente, participando ativamente do processo de redução sem uma mudança estrutural significativa após redução. Os resultados reportados ajudam na previsão da estabilidade redox de complexos de ouro(III), a qual afeta sua reatividade química frente a importantes alvos biológicos.

Finalmente, modelos moleculares foram propostos para o aduto [Au^{III}(C[^]N[^]C)(SHCys-R)]⁺, com a fração [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ ligada ao resíduo Cys498 da TrxR, que representa o produto

da primeira reação de troca de ligante. O composto original $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ apresentou $E^{\circ} = -1,20 \text{ V}$, aumentado para $\sim +0,30 \text{ V}$ nos modelos estudados do aduto, mostrando que E° é principalmente influenciado pela troca do ligante auxiliar (por exemplo, Cl^- por S-R) com um pequeno efeito da estrutura da enzima. Além disso, foi abordada reação final de substituição $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}/\text{Cys497}$, a qual se mostrou dependente do estado de protonação da Cys497. Estudos termodinâmicos e cinéticos sugerem que esta reação é exergônica, exibindo uma barreira de energia de $20,2 \text{ kcal mol}^{-1}$. A transferência completa do íon Au para o sítio ativo da enzima levaria à inibição total da sua atividade, causando a morte das células cancerígenas.

Palavras-chave: Complexos de ouro(III). Fosfinas. Potencial de redução. Volume *buried*. DFT. Tiorredoxina redutase.

ABSTRACT

Gold(III) complexes are promising compounds for cancer chemotherapy with mechanisms of action that involve steps dependent on their redox stability. The choice of the ligand is crucial to adjust their reactivity and biological activity. Tertiary phosphines (PR₃) are among the most used auxiliary ligands in these compounds. The redox stability of [Au^{III}(C[^]N[^]C)(PR₃)]⁺ (C[^]N[^]C=2,6-diphenylpyridine) (A) and [Au^{III}(N[^]N[^]N)(PR₃)]³⁺ (N[^]N[^]N=2,2':6',2''-terpyridine) (B) complexes was herein investigated for a set of 41 phosphines, using the predicted standard reduction potential (E^o) for Au³⁺/Au¹⁺ electrochemical system as reference. For complexes (A), E^o spread over 829 mV and all values were negative; for complexes (B), the E^o values were positive and covered a narrower range of 507 mV. Phosphines with high steric impact decrease the complex stability despite being strong σ-donors. Steric and electronic properties were used to build quantitative structure-property relationship models (QSPR), with the volume buried being the main factor in the stability of the studied compounds. In the case of compounds (B), the steric impact is more pronounced in gold(I) species. The electron-donating ability of phosphines has greater weight in the redox stability of compounds (B) compared to compounds (A).

Later, fifteen compounds with different bidentate (bident) and tridentate (trident) ligands, keeping the chloride fixed as an auxiliary ligand ([Au^{III}(bident)Cl₂]³⁺ⁿ (bident = N[^]N and C[^]N) and [Au^{III}(trident)Cl]³⁺ⁿ (trident = N[^]N[^]N, C[^]N[^]N, C[^]C[^]N, C[^]N[^]C and N[^]C[^]N)), were studied. The calculated E^o values covered a wide range of 2600 mV. The compounds of the type [Au^{III}(C[^]C[^]N)Cl] showed the greatest stability with E^o of approximately -1.60 V in aqueous solution. The analysis of natural orbitals and E^o indicated that the inclusion of the Au-C bond is less efficient for stabilizing the compound in the lateral position compared to the central position. The consecutive positioning of two pyridine ligands disfavors the reduction of gold(III) complexes. In the case of the compound [Au^{III}(C[^]N[^]N)Cl], the bipy ligand (N[^]N) behaves as a non-innocent redox ligand, actively participating in the reduction process without a significant structural change after reduction. The reported results help predict the redox stability of gold(III) complexes, which affects their chemical reactivity against important biological targets.

Finally, molecular models were proposed for [Au^{III}(C[^]N[^]C)(SHCys-R)]⁺ adduct, with the [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ moiety bonded to residue Cys498 of TrxR, which represents the product of the first ligand exchange reaction. The original compound [Au^{III}(C[^]N[^]C)Cl] showed E^o = -

1.20 V, which enlarges to $\sim +0.30$ V for the studied models of the adduct, showing that E° is mainly influenced by auxiliary ligand exchange (eg: Cl^- by SR) with a small effect of the enzyme structure. Furthermore, the final $\text{C}^{\text{N}}\text{C}/\text{Cys497}$ substitution reaction was addressed, which showed to be dependent on the protonation state of Cys497. Thermodynamic and kinetic studies suggest that this reaction is exergonic, exhibiting an energy barrier of $20.2 \text{ kcal mol}^{-1}$. The complete transfer of the Au ion to the enzyme's active site would lead to the total inhibition of its activity, causing cancer cell death.

Keywords: Gold(III) complexes. Phosphines. Reduction potential. Buried volume. DFT. Thioredoxin reductase.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Compostos de ouro utilizados no tratamento da artrite reumatoide. 1 e 2 são polímeros solúveis em água..... 20
- Figura 2 - Número de artigos publicados sobre complexos de ouro(I) e ouro(III) como agentes anticâncer nos últimos 20 anos. Dados obtidos do Scifinder usando as palavras: “complexes, Gold(I), anticancer” para (a) e “complexes, Gold(III), anticancer” para (b)..... 22
- Figura 3 - Estrutura cristalográfica do homodímero da TrxR (unidades C e D tomadas do PDB 2J3N) (FRITZ-WOLF; URIG; BECKER, 2007) com a indicação dos domínios FAD (resíduos 1-163 e 297-367), NADPH (resíduos 164-296) e interface (resíduos 368-499) (a). Representação do braço C-terminal em direção ao centro redox do N-terminal. Nesta estrutura, a região C-terminal (Cys497 e Cys498) encontra-se ao redor de 12 Å do centro redox do N-terminal (Cys59 e Cys64) (b). Representação do braço C-terminal deslocado para a superfície da enzima. Nesta estrutura, a região C-terminal (Cys497 e Cys498) está a 24 Å do centro redox N-terminal (Cys59 e Cys64) (c). 24
- Figura 4 - Mecanismo de reação proposto para a interação de complexos de ouro(I) com a enzima TrxR reduzida..... 26
- Figura 5 - Possíveis caminhos de reação de complexos de ouro(III) em ambiente celular..... 29
- Figura 6 - Exemplos de ligantes multidentados usados para a síntese de complexos estáveis de ouro(III) com atividade anticâncer. 30
- Figura 7 - Curvas de energia potencial representando ambas as rotas de reação para a redução de $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$. O primeiro caminho de reação (em vermelho) envolve a reação de troca Cl^-/Nu [I], seguida pelo processo de redução (3). O segundo caminho de reação (em azul) começa com a redução (1) seguida pela reação do derivado Au^I com o Nu [II]. $R \rightarrow R'$ e $P' \rightarrow P$ representam as energias livres da célula ΔG° vs $\Delta G^{\circ}_{SHE, aq} = -412,42 \text{ kJ mol}^{-1}$ (ISSE; GENNARO, 2010) para as reações de redução..... 33
- Figura 8 - Possíveis mecanismos de ação do complexo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ (1a) como inibidor da TrxR, de acordo com os resultados obtidos no trabalho de 2018. 34
- Figura 9 - Representação da TopoI-DNA interagindo com um complexo de ouro(III) em diferentes posições no sulco maior do DNA. Representação baseada no modelo TopoI-DNA de Yan et al. (YAN et al., 2010) a partir de docking molecular, usando a estrutura cristalográfica da TopoI, PDB 1K4T (STAKER et al., 2002)..... 35
- Figura 10 - Complexos de ouro(III) contendo fosfinas como ligantes auxiliares que foram selecionados. As fosfinas foram retiradas de Karver e colaboradores (KARVER et al., 2009). 38

- Figura 11 - Estruturas dos compostos de ouro selecionados contendo diferentes ligantes multidentados (C). Im=imidazol, bim=benzimidazol, dien=dietilenotriamina. ... 39
- Figura 12 - (a) Erro absoluto médio (MUE) obtido do potencial de redução padrão calculado para a reação $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]+2e^{-}\rightarrow[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)]^{+}+Cl^{-}$ no solvente DMF vs o eletrodo de ferroceno (Fc/Fc⁺) e (b) energia livre de Gibbs de ativação calculada em solução aquosa para a reação de troca de ligantes $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(Cl)]+SHCH_3\rightarrow[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(SHCH_3)]^{+}+Cl^{-}$. As barras duplas significam que é um cálculo “single point” usando a geometria e contribuições $\Delta G_{T,g}^{\circ}$ e $\delta\Delta G_{solv}$ (SMD) obtidas no nível B3LYP/def2-TZVP/6-31+G(2df)..... 45
- Figura 13 - (a) Série de compostos de ouro do tipo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C^R)L]^{n+3}$, onde L=Cl⁻, PR₃, py (piridina) e meim-1 (1-metilimidazol) e (b) Comparação dos modelos de solvatação SMD e C-PCM para a predição do potencial de redução dos compostos $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C^R)L]^{n+3}$ 46
- Figura 14 - Ciclo termodinâmico utilizado para estimar o potencial de redução (E₂⁰) do complexo Ci $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ usando a metodologia VT-HAA..... 48
- Figura 15 - Representação do gráfico $-T_0\Delta G_{diag}/T \times T_0/T$ para a obtenção do termo 2ε (entre parêntese) na equação (23). 50
- Figura 16 - Ciclo termodinâmico utilizado para estimar o potencial de redução (E₂⁰) dos complexos catiônicos **Ci** e **Cm** usando a metodologia VT-HXAA (onde X= F⁻, Cl⁻, Br⁻, ClO₄⁻ e F₃CSO₃⁻)..... 51
- Figura 17 - Representação gráfica (a) da esfera usada para calcular o %V_{bur}; e (b) dos mapas de contorno ou mapas estéricos. A partir dos mapas de contorno é possível obter o V_{bur} para cada quadrante ao redor do metal, onde NW=North West, NE=North East, SW=South West e SE=South East..... 52
- Figura 18 - Processos de reação estudados nas etapas III e IV com Cys498 na forma (a) protonada e (b) desprotonada..... 55
- Figura 19 - Cargas atômicas ChelpG atribuídas aos átomos do complexo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(SH-R)]^{+}$ (b). SH- faz parte do resíduo Cys498 do braço terminal (R). As cargas dos átomos de R não foram modificadas em relação ao campo de força usado para o peptídeo..... 59
- Figura 20 - (a) Variação da distância de ligação Au-P e (b) desvio dos ângulos ∠N-Au-P e ∠C-Au-C nos compostos $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(PR_3)]^{+}$ 66
- Figura 21 - (a) Correlação entre o comprimento da ligação Au-N e a capacidade σ-doadora de PR₃ - ε(HOMO), (b), doação total de carga PR₃→Au(C[∧]N[∧]C) - δq e (c) %V_{bur}. Os compostos representados por pontos vermelhos não foram incluídos na linha de correlação..... 67
- Figura 22 - Orbitais NBO para a interação Au^{III}...[C[∧]N[∧]C] e Au^{III}...P(CH₃)₃. Doação do tipo: (a) LP(C)→LP*(Au) (LP=lone pair) (n→6p), (b) LP(N)→LP*(Au) (n→6p), (c) BD(C-C)→LP*(Au) (σ→6p) (BD=2-center bond), (d) BD(P-C)→LP*(Au)

($\sigma \rightarrow 6p$) e (e) retrodoação do tipo $LP(Au) \rightarrow BD^*(P-C)$ ($5d \rightarrow \sigma^*$). O orbital $6p$ é ligeiramente polarizado em 5,4% s, 1,6% d e 0,5% f em (a) e (c) e, ao redor de 3,6% s, 2,6% d e 0,8% f em (b). Para (d), $6p$ é ligeiramente polarizado em 0,2% d e 0,6% f.	69
Figura 23 - Isômeros conformacionais dos compostos A3 (a) e A26 (b).	72
Figura 24 - Porcentagem de volume buried ($\%V_{bur}$) e mapas de contorno para as diferentes conformações dos compostos (a) A3 e (b) A26 (b). O cálculo da $\%V_{bur}$ foi realizado usando uma esfera de raio de 3,5 Å, um espaçamento de malha de 0,1 Å e excluindo os átomos de hidrogênio das estruturas.	73
Figura 25 - Isômeros conformacionais e seu correspondente potencial de redução dos compostos A29 (a) e A32 (b).	74
Figura 26 - Isômeros conformacionais e seu correspondente potencial de redução dos compostos A35 (a) e A36 (b).	75
Figura 27 - Correlação entre o potencial de redução calculado (E° vs SHE) para os compostos $[Au^{III}(C^N^C)(PR_3)]^+$ (A) com: (a) $\%V_{bur}$, (b) energia do orbital HOMO - $\epsilon(HOMO)$, (c) energia do orbital LUMO - $\epsilon(LUMO)$, (d) doação de carga $PR_3 \rightarrow Au(C^N^C)$ (δq_{PR_3}), (e) doação de carga $P \rightarrow Au(C^N^C)$ (δq_P), e (f) ocupação do orbital σ^* envolvido na retrodoação $5d \rightarrow \sigma^*$	77
Figura 28 - Tendência à redução dos complexos $[Au^{III}(C^N^C)(PR_3)]^+$ (A). O potencial de redução calculado (PBE0) é representado na linha vermelha e o estimado pelo Modelo 5 é representado em azul. Os valores fora do intervalo de confiança são destacados em verde. O valor experimental para o composto A31 e o análogo de cloro são representados na cor laranja.	80
Figura 29 - Geometrias otimizadas no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31 G(2d) para os compostos (A) selecionados (A3, A4, A10 e A25). Duas visualizações diferentes são mostradas. Os valores dados no quadro correspondem à distância Au-P. Observe o desvio do ângulo $\angle N-Au-P$ de 180° quando fosfinas volumosas estão presentes.	81
Figura 30 - Comparação do $\%V_{bur}$ e dos mapas de contorno para os isômeros A15 e A16. O cálculo do $\%V_{bur}$ foi realizado usando uma esfera de raio de 3,5 Å, um espaçamento de malha de 0,1 Å e excluindo os átomos de hidrogênio das estruturas.	82
Figura 31 - $\%V_{bur}$ e representação dos mapas estéricos de alguns compostos (A) contendo ligantes de fosfinas com substituintes flexíveis.	83
Figura 32 - Estrutura otimizada do composto B25 nas formas oxidada e reduzida (a). $\%V_{bur}$ e representação do mapa estérico do composto B25 (b).	84
Figura 33 - Orbitais NBO representando a doação $P(CH_3)_3 \cdots Au$. (a) Doação $LP(P) \rightarrow LP^*(Au)$ ($n \rightarrow 6s$) no composto reduzido B0 e (b) $BD^*(Au-P) \rightarrow LP^*(Au)$ ($\sigma^* \rightarrow 6s$) no composto oxidado B0.	87

- Figura 34 - Tendência à redução dos complexos $[Au^{III}(N^{\wedge}N^{\wedge}N)(PR_3)]^+$ (B). O potencial de redução calculado (PBE0) é representado na linha vermelha e o potencial de redução estimado pelo Modelo 1 é representado em azul. Os valores fora do intervalo de confiança são destacados em verde. 90
- Figura 35 - Estruturas otimizadas no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d) na forma reduzida. Os ângulos na horizontal como por exemplo, $\angle N-Au-C$ no composto Ce, são dados em parêntese, enquanto que, os ângulos na vertical, exemplo: $\angle N-Au-Cl$, composto Ce, são dados em colchetes. 92
- Figura 36 - Estruturas otimizadas dos compostos $[Au^{III}(dien)Cl]^{2+}$, Cl (a) e $[Au^{III}(N^{\wedge}N^{\wedge}N)Cl]^{2+}$, Cm (b-f) neutralizados, através da coordenação de diferentes contra-íons. 95
- Figura 37 - Tendência à redução dos compostos (C) contendo diferentes ligantes multidentados. 97
- Figura 38 - Correlações entre o potencial de redução (E° vs SHE) dos compostos (C) com: (a) $\epsilon(HOMO)$, (b) carga local do cloreto, q_{Cl^-} , (c) variação da carga do ouro através da redução (δq_{Au}) e (d) carga do ligante multidentado (lig) na estrutura reduzida ($q_{lig Au^I}$). 100
- Figura 39 - Potencial eletrostático molecular (MEP) calculado para os complexos (a) Ce e (b) Cf. A isodensidade foi definida como 0,0004 e/bohr. 102
- Figura 40 - (a) Distribuição de carga NBO para a redução do composto Ce. (b) Ligante bipy ($N^{\wedge}N$) na forma diânion. 103
- Figura 41 - (a) RMSD para modelos Au-pep e (b) estruturas iniciais e finais dos modelos Au-pep. A estrutura de referência é aquela para os 10 ns da etapa de produção. Os primeiros 10 ns de simulação foram desconsiderados da análise de RMSD, por corresponderem a parte da sua etapa de estabilização. 106
- Figura 42 - Radio de giro (R_g) (a) e área acessível ao solvente (SASA) do fragmento $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)]^+$ (b) nos modelos Au-pep. 107
- Figura 43 - (a) Estruturas correspondentes ao SASA mínimo para os três modelos Au-pep e estruturas PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H, C, N, O)/6-31+G(2d)(S) otimizadas do modelo (b) Au-pep1, (c) Au-pep2 e (d) Au-pep3 na sua forma oxidada. Os valores SASA são relatados entre colchetes. 108
- Figura 44 - Estruturas PBE0 otimizadas dos modelos Au-pep nas formas reduzidas. (a) Au-pep1, (b) Au-pep2 e (c) Au-pep3 para a redução pela abertura do anel quelato (processo 1), e (d) Au-pep1, (e) Au-pep2 e (f) Au-pep3 para a redução por liberação de ligante (processo 2). 110
- Figura 45 - Geometrias otimizadas das espécies reativas que participam do processo (1) de redução para o modelo Au-pep1. A transferência de prótons é auxiliada pela (a) Cys497 ou (b) pelo íon dihidrogenofosfato $H_2PO_4^-$ 114

- Figura 46 - (a) RMSD para o braço C-terminal na enzima TrxR livre e nos modelos Au-trx. Estruturas finais das simulações de DM para os modelos: (b) TrxR, (c) Au-trx1 e (d) Au-trx2. 116
- Figura 47 - (a) Variação do ângulo diedro C-C_{cys498}-S_{cys498}-Au^{III}, (b) número total de contatos entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e TrxR e (c) Histograma dos contatos nativos entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e TrxR, com uma distância máxima de 4 Å no modelo Au-trx1. 117
- Figura 48 - Número de contato entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e Tyr116 no modelo Au-trx1. 118
- Figura 49 - Número de contato entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e His472 no modelo Au-trx1. 118
- Figura 50 - (a) Número de contatos entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e TrxR com uma distância máxima de 4 Å Au-trx2. O número de contatos é dado entre colchetes para as estruturas de maior e menor contato. (b) SASA do complexo de ouro(III) no modelo Au-trx2. O valor SASA mais baixo é dado entre parênteses. 119
- Figura 51 - Estruturas otimizadas de (a) Au-trx1-1 e (b) Au-trx1-2 para o processo (1) de redução. 120
- Figura 52 - Estruturas otimizadas de (a) Au-trx1-1 e (b) Au-trx1-2 (b) na forma reduzida através do processo (2) de liberação de ligante. 122
- Figura 53 - Estruturas PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S ou Cl) dos compostos [Au^{III}(C[^]N[^]C)L]³⁺ⁿ (L = Cl⁻, H₂O, SHCH₃) em suas respectivas formas oxidada e reduzida. (a) Os parâmetros geométricos calculados e experimentais (entre parênteses) são dados para o complexo com L=cloro (b) estrutura reduzida otimizada formada pela liberação de ligante para a redução do processo 2. 124
- Figura 54 - Curvas de energia potencial para a redução (processo 1, R→R') e reação de substituição do ligante C[^]N[^]C por Cys497 (processo 3, R'→P) do modelo Au-tet. Reações abordadas com a Cys498 na forma (a) protonada e (b) desprotonada. A redução (c) e a reação de substituição assistida por H₂PO₄⁻ (d) são representadas em vermelho e laranja, respectivamente. 129

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Parâmetros inseridos no campo de força do metal. Constantes de força k_b dadas em $\text{kcal mol}^{-1} \text{Å}^{-2}$, k_θ em $\text{kcal mol}^{-1} \text{rad}^{-2}$ e V_ϕ em kcal mol^{-1} 59
- Tabela 2 - Distribuição de carga após a ligação da fração $[\text{Au}^{\text{III}}\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}]^+$ a Cys498 do peptídeo (R). Grupo $^*\text{CH}_2$ ligado a S_{Cys498} 61
- Tabela 3 - Parâmetros estruturais médios para os complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A) calculados no nível PBE0/def2-TZVP/6-31+G(2d) em fase gasosa. 65
- Tabela 4 - Contribuições para a energia livre de Gibbs e valores do potencial de redução em solução aquosa para os compostos (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$, no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31 G(2d). 70
- Tabela 5 - Parâmetros estéricos ($\%V_{\text{bur}}$) e eletrônicos (energias HOMO e LUMO) calculados para os ligantes PR_3 dos compostos (A). 76
- Tabela 6 - Modelos QSPR para a o potencial de redução padrão (E°/V) dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A). 79
- Tabela 7 - $\%V_{\text{bur}}$ calculado para os compostos B nas formas oxidada e reduzida (em parêntese). 85
- Tabela 8 - Potenciais de redução padrão para os complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B) em solução aquosa. 86
- Tabela 9 - Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock em NBO dos compostos $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{PR}_3]^+$ (B). 87
- Tabela 10 - Modelos QSPR para a previsão do potencial de redução padrão (E°/V) dos compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B). 89
- Tabela 11 - Potenciais de redução calculados em solução aquosa (vs SHE) para os compostos (C) com diferentes ligantes multidentados no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d). 93
- Tabela 12 - Potencial de redução VT-HXAA (E_2°) calculado para o composto **Cm** $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]^{2+}$ no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d). Os potenciais são calculados frente ao eletrodo SHE e em relação ao par redox ferroceno/ferrocênio (Fc/Fc^+). 96
- Tabela 13 - Parâmetros eletrônicos dos ligantes e potencial de redução calculado para os compostos (C). 99
- Tabela 14 - Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock desde NBO para a doação $\text{Ph} \rightarrow \text{Au}$ nos compostos (C). 104
- Tabela 15 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H, C, N, O)/6-31+G(2d)(S) para as estruturas dos modelos Au-pep na forma oxidada. 109

Tabela 16 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S) para as estruturas reduzidas através do processo 1 de abertura no anel quelato e o processo (2) de liberação do ligante nos modelos Au-pep.	111
Tabela 17 - Contribuições para a energia livre de Gibbs em solução aquosa e potenciais de redução calculados para o complexo de ouro(III) nos modelos Au-pep no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H, C, N, O, S)//. Todos os termos de energia são expressos em eV e o E° em V.	112
Tabela 18 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31G(H,C,N,O)/6-31+G(d)(S) para [Au ^{III} (C ^N C)] ⁺ nos modelos Au-trx.	121
Tabela 19 - Contribuições para a energia livre de Gibbs em solução aquosa e potenciais de redução calculados para o modelo Au-trx1 no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(d)(H,C,N,O,S)//. Todos os termos de energia são expressos em eV e o potencial de redução em V.	123
Tabela 20 - Potenciais de redução calculados no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H,C,N,O,S)// para os processos (1) e (2) de redução.....	125
Tabela 21 - Propriedades cinéticas e termodinâmicas calculadas para o processo de troca de ligante (3) em solução aquosa a 298,15 K.	126
Tabela 22 - Parâmetros estruturais calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S) para as espécies reativas que participam do processo de ativação da reação de substituição do ligante C ^N C por Cys497.	127

LISTA DE ABREVIATURAS

BSSE	<i>Basis set superposition error</i>
GR	Glutaciona redutase
TrxR	Tioredoxina redutase
GSH	Glutaciona
SHE	<i>Standard hydrogen electrode</i>
DFT	<i>Density functional theory</i>
DM	Dinâmica molecular
ECP	<i>Effective core potential</i>
PCM	<i>Polarizable continuum model</i>
ChelpG	<i>Charges from electrostatic potential, grid method</i>
CPCM	<i>Conductor-like polarizable continuum model</i>
COSMO-RS	<i>Conductor-like screening model for realistic solvents</i>
GAFF	<i>General Amber Force Field</i>
HF	Hartree-Fock
IEFPCM	<i>Integral equation formalism polarizable continuum model</i>
LJ	Lennard-Jones
MPn	<i>Møller-Plesset n-Order Perturbation Theory</i>
RMSD	<i>Root mean square deviation</i>
SMD	<i>Solvation model based on density</i>
C ^N C	2,6-difenilpiridina
meim-1	1-metilimidazol
meim-4	4-metilimidazol
VT-HAA	<i>The variable-temperature H-atom addition/abstraction</i>
NHC	Carbeno N-heterocíclico
MUE	<i>Mean Unsigned Error</i>
TBS	Éter terc-butildimetilsilil

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	AURANOFINA COMO AGENTE ANTICÂNCER	22
1.2	TIORREDOXINA REDUTASE (TrxR)	23
1.3	ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE OURO(I)	25
1.4	COMPLEXOS DE OURO(III)	28
1.4.1	Atividade biológica de complexos de ouro(III)	31
2	OBJETIVOS	37
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
3	METODOLOGIA	38
3.1	MÉTODOS E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ETAPAS I E II	38
3.1.1	Predição da energia livre $\Delta G_{Au,aq}^{\circ}$ e definição do protocolo computacional	41
3.1.2	Metodologia VT-HAA	47
3.1.3	Propriedades estéricas e eletrônicas dos ligantes	51
3.2	METODOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ETAPAS III E IV	54
3.2.1	Modelos de interação de complexos de ouro(III) com a enzima TrxR	56
3.2.2	Cálculo do potencial padrão de redução: E°	63
3.2.3	Reação de troca $C^{\wedge}N^{\wedge}C/Cys497$	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1	ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (A) $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(PR_3)]^{+}$	65
4.1.1	Análise estrutural	65
4.1.2	Análise NBO	68
4.1.3	Redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ dos compostos (A) $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(PR_3)]^{+}$	69
4.1.4	Mudanças conformacionais e seu efeito na estabilidade do complexo	72
4.1.5	Propriedades estéricas e eletrônicas	75
4.1.6	Modelos QSPR para os compostos (A)	78
4.2	ESTRUTURA E ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (B) $[Au^{III}(N^{\wedge}N^{\wedge}N)(PR_3)]^{3+}$	83
4.2.1	Análise NBO	86
4.2.2	Modelos QSPR nos compostos (B)	88

4.3	ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (C) CONTENDO DIFERENTES LIGANTES MULTIDENTADOS.....	91
4.3.1	Análise estrutural	91
4.3.2	Predição do potencial de redução para os compostos (C)	93
4.3.3	Potencial de redução e propriedades eletrônicas	98
4.3.4	Efeito do grupo bipy na estabilidade dos compostos (C).....	101
4.3.5	Efeito do grupo Ph na estabilidade dos compostos (C).....	104
4.4	O PAPEL DO AMBIENTE ENZIMÁTICO NA REATIVIDADE DOS COMPLEXOS ANTICÂNCER DE OURO(III)	105
4.4.1	Modelos Au-pep.....	106
4.4.2	Modelo Au-trx	115
4.4.3	Modelo Au-tet.....	124
4.4.4	Reação de troca do ligante C [^] N [^] C por Cys497 (processo 3).....	126
5	PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O DOUTORADO	132
6	CONCLUSÕES	134
	REFERÊNCIAS	139
	APÊNDICE A – Contribuições para a energia livre de Gibbs e potencial de redução calculado para o complexo [Au ^{III} (C [^] N [^] C)(PPh ₃)].	150
	APÊNDICE B – Parâmetros estruturais para os complexos [Au ^{III} (C [^] N [^] C)(PR ₃)] ⁺ (A).....	151
	APÊNDICE C – Resultados da análise da teoria de perturbação de segunda ordem da Matriz Fock em NBO para os compostos (A) [Au ^{III} (C [^] N [^] C)(PR ₃)] ⁺	152
	APÊNDICE D – Parâmetros estruturais dos complexos [Au ^{III} (N [^] N [^] N)(PR ₃)] ³⁺ (B).....	153
	APÊNDICE E - Resultados da análise da teoria de perturbação de segunda ordem da Matriz Fock em NBO para os compostos (B) [Au ^{III} (N [^] N [^] N)PR ₃] ³⁺	154
	APÊNDICE F – Parâmetros geométricos dos complexos (C) contendo diferentes ligantes multidentados.....	155
	APÊNDICE G – Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock desde NBO para a doação N→Au.....	157
	APÊNDICE H – Estruturas PBE0 para a redução do composto [Au ^{III} (C [^] N [^] C)Cl] pela abertura do anel quelato. A neutralização do carbânion é assistida pelo íon H ₂ PO ₄ ⁻	158

1 INTRODUÇÃO

Desde tempos imemoriáveis, o ouro vem sendo usado no tratamento de diversas doenças, em virtude das muitas propriedades curativas. Porém, sua primeira aplicação terapêutica data de aproximadamente 2500 a.C., quando ouro era utilizado pelas medicinas chinesa e árabe (SADLER; SUE, 1994). O interesse moderno na aplicação do ouro nesta área originou-se em 1890, quando Robert Koch observou a inibição do bacilo da tuberculose pelo sal cianeto de ouro(I), embora tenha sido demonstrado que este tinha poucos benefícios para o tratamento da doença. A partir daí, aumentou-se o interesse pela busca de compostos de ouro(I) com potencial antituberculose e de baixa toxicidade (SADLER; SUE, 1994; BENEDEK, 2004).

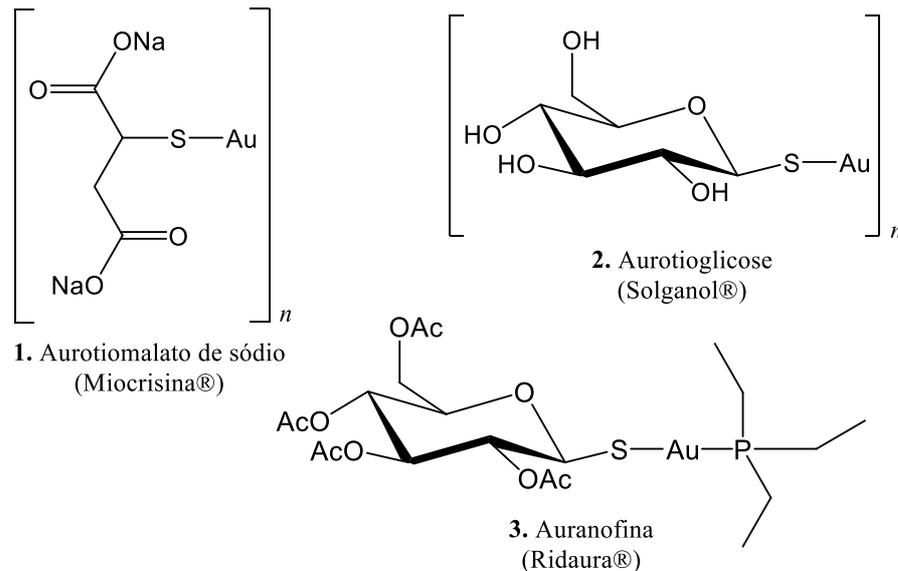
Durante a década de 1925-1935, sais de tiolato de ouro(I) foram utilizados para o tratamento da tuberculose, apesar da falta de evidências experimentais de que estes curassem a doença. Já em 1929, o cientista francês Jacques Foriester investigou o uso de compostos de ouro para o tratamento da artrite reumatoide; entretanto, somente em 1960 que ensaios clínicos controlados provaram a eficácia da terapia com ouro (BENEDEK, 2004; BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011; ZOU et al., 2015).

Atualmente, alguns tiolatos injetáveis de ouro(I), representados na Figura 1, são pouco usados clinicamente, porém, mantêm-se na classe de drogas antirreumáticas que retardam a progressão da doença. Em 1985, o composto de fosfina de ouro(I), conhecido como Auranofina (AF) (Figura 1) foi aprovado para o tratamento da artrite reumatoide. A AF substituiu o tratamento clínico com tiolatos injetáveis de ouro, sendo usada amplamente por muitos anos, mostrando alguns efeitos secundários. Posteriormente, a AF mostrou-se menos eficaz do que outros fármacos antirreumáticos, tais como o metotrexato, o que levou a uma diminuição do seu uso clínico. Em meados dos anos 80, a AF mostrou-se um potente inibidor do crescimento de células tumorais *in vitro*, com atividade antitumoral *in vivo* limitada em modelos tumorais de camundongos (MIRABELLI et al., 1985; BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011).

Desde então, a busca por compostos promissores de ouro anticâncer tem sido continuamente ativa e um grande número de complexos de ouro(I) e ouro(III) têm sido sintetizados nas últimas décadas. Tais compostos de ouro vêm sendo testados como agentes anticâncer e têm mostrado resultados bastante promissores. Alguns desses compostos também têm sido testados como possíveis agentes antiparasitários, antimicrobiais, anti-HIV, entre outros (NAVARRO, 2009; NAVARRO et al., 2011; GLIŠIĆ; DJURAN, 2014; MAIA; DEFLON, 2014; BERNARDES et al., 2016; DE PAIVA et al., 2017; ONG et al., 2019). Recentes avanços e novas percepções sobre a atividade antiparasitária de compostos de ouro,

podem ser encontrados em uma recente revisão da autora desta tese, a qual aborda amplamente o papel dos compostos metálicos e seus diferentes ligantes contra doenças infecciosas como leishmaniose, doença de Chagas e tripanossomíase (NAVARRO et al., 2020).

Figura 1 - Compostos de ouro utilizados no tratamento da artrite reumatoide. 1 e 2 são polímeros solúveis em água.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2020.

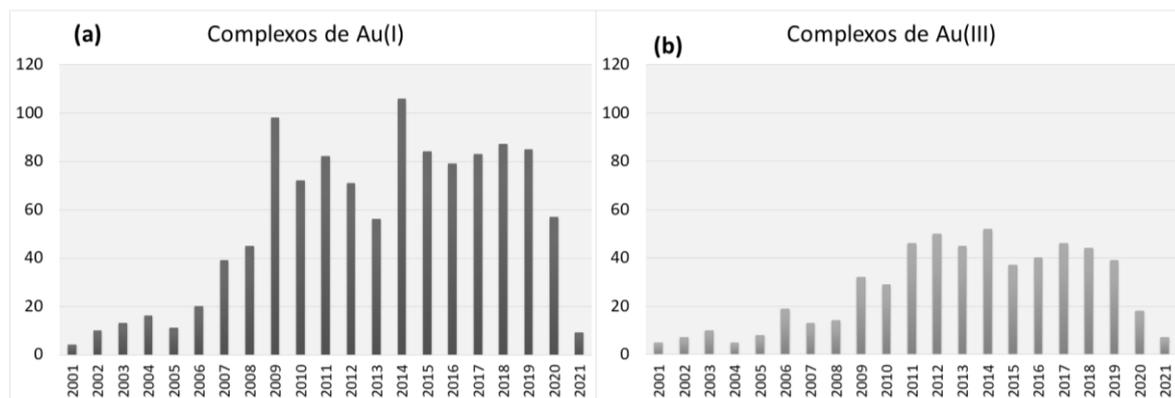
A AF, utilizada como antiartrítico, exibiu potenciais efeitos anticancerígenos *in vitro* em diferentes linhagens celulares de câncer humano e mostrou efeitos *in vivo* no modelo de camundongos com leucemia P388 (WATTENBERG, 1985). Mediante tais resultados, uma grande variedade de análogos de AF foram testados como agentes anticâncer, apresentando os complexos de ouro(I) como potenciais inibidores do crescimento de células tumorais *in vitro*. Estudos de relação estrutura-atividade sobre AF indicaram que o ligante fosfina é muito mais importante para a atividade biológica do que a fração de tioglicose (BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011). De fato, extensivos estudos mecanísticos mostraram que tanto a AF como o $[\text{Au}(\text{PEt}_3)\text{Cl}]$ afetam a função mitocondrial, levando a indução de vias apoptóticas (BARNARD; BERNERS-PRICE, 2007; BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011). Conseqüentemente, o uso das fosfinas (PR_3 , $\text{R}=\text{H}$, alquil, aril, etc.) como ligante auxiliar, tem acompanhado a síntese de vários compostos de ouro (OTT, 2009; SUN et al., 2013). As fosfinas são ligantes σ -doadores e π -receptores e estabilizam principalmente metais de baixo estado de oxidação, como o íon Au^{1+} e, ao mesmo tempo, são um dos poucos ligantes cujas propriedades eletrônicas podem ser amplamente modificadas de uma forma sistemática pela alteração dos

grupos R. Além disso, conferem um caráter lipofílico aos compostos quimioterápicos, facilitando a captação celular (BERNERS-PRICE et al., 1986; BERNERS-PRICE; SADLER, 1988; HUMPHREYS et al., 2007; MIRZADEH; REDDY; BHARGAVA, 2019).

Nos últimos anos, tem sido relatada a atividade antitumoral de complexos lineares de ouro(I) contendo carbenos N-heterocíclicos (NHC). Tais ligantes são considerados alternativos às fosfinas e atuam como fortes ligantes doadores de elétrons para uma ampla gama de metais de transição. Além disso, o fato de os NHC serem altamente estáveis, facilmente sintetizados e quimicamente modificados, aumenta o interesse na obtenção de novos fármacos em que estes ligantes coordenam-se aos metais de transição (HUYNH, 2018). Vários complexos Au^I-NHC foram sintetizados realizando variações sistemáticas de diferentes grupos alquila no átomo de nitrogênio secundário para facilitar a captação celular. Tal interesse se dá pelo fato de que estas alterações estruturais permitiram aos pesquisadores obterem informações importantes sobre lipofilicidade, carga, reatividade, citotoxicidade e interação com proteínas/enzimas, como a tiorredoxina redutase (TrxR). Assim, foram preparados um grande número de compostos de ouro estruturalmente diversificados, estabilizados por ligantes de fosfinas PR₃ e NHC, e verificou-se que estes induzem efeitos anticancerígenos importantes, tanto *in vitro* como *in vivo* (ZOU et al., 2015; MORA; GIMENO; VISBAL, 2019).

Na Figura 2, é apresentado o número de publicações nos últimos 20 anos sobre complexos de ouro(I) e ouro(III) como agentes anticâncer. É interessante notar que na última década este tema tem atraído a atenção dos cientistas. Os complexos de ouro(I) tiveram aproximadamente o dobro do número de publicações comparado aos complexos de ouro(III), o que é atribuído ao grande número de compostos derivados da AF que foram testados como agentes quimioterapêuticos nesta última década.

Figura 2 - Número de artigos publicados sobre complexos de ouro(I) e ouro(III) como agentes anticâncer nos últimos 20 anos. Dados obtidos do Scifinder usando as palavras: “complexes, Gold(I), anticancer” para (a) e “complexes, Gold(III), anticancer” para (b).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2020.

1.1 AURANOFINA COMO AGENTE ANTICÂNCER

A AF (o antiartrítico conhecido comercialmente como Riadura[®], **3**; Figura 1) é conhecida por inibir o crescimento de diferentes células cancerígenas *in vitro*. Porém, como já mencionado, sua atividade antitumoral *in vivo* tem sido limitada. A AF aumentou efetivamente o tempo de vida de camundongos inoculados com células de leucemia linfocítica P388 de maneira dependente da concentração e da dose. No entanto, Mirabelli *et al.* relataram que para camundongos portadores do modelo de leucemia P388, a AF só foi eficaz quando administrada via intraperitoneal, mas permaneceu inativa quando administrada por via intravenosa ou via subcutânea. Não obstante, a AF exibiu um espectro limitado de atividade antitumoral *in vivo*, já que não inibiu o crescimento nem prolongou a sobrevivência dos camundongos com vários modelos de tumores implantados, diferentes a P388 (MIRABELLI et al., 1985). Estudos sobre o mecanismo de ação revelaram que a AF reage rapidamente com a Cys34 de albumina sérica, a qual é a proteína mais abundante no soro sanguíneo (concentração de 3,5 a 5,0 g 100 mL⁻¹). Descobriu-se que a albumina do soro transporta cerca de 80-95% de ouro da AF adicionada ao sangue total. Na estrutura da forma principal da albumina está presente um resíduo de Cys34 que transporta um grupo tiol ácido (KAMAL; ZHAO; ZEWAİL, 2004). Este grupo é normalmente desprotonado em pH fisiológico (pKa <5,0) e oferece um potencial sítio de ligação para Au¹⁺ (ZOU et al., 2015). Apesar do fato de que tiol-proteínas da membrana celular podem mediar a captação de íons de ouro que se ligam à albumina, a captação celular é muito mais lenta, tendo como resultado uma baixa citotoxicidade (ZOU et al., 2015). Isto poderia

explicar a baixa eficácia da AF em diferentes modelos tumorais *in vivo*. Apesar destas limitações mencionadas, a AF atualmente encontra-se em fase II de ensaios clínicos em pacientes com câncer de pulmão e de ovário na clínica Mayo em colaboração com o Instituto Nacional de Câncer (NCI) nos Estados Unidos de América (“Auranofin and Sirolimus in Treating Participants With Ovarian Cancer - Mayo Clinic”).

1.2 TIORREDOXINA REDUTASE (TrxR)

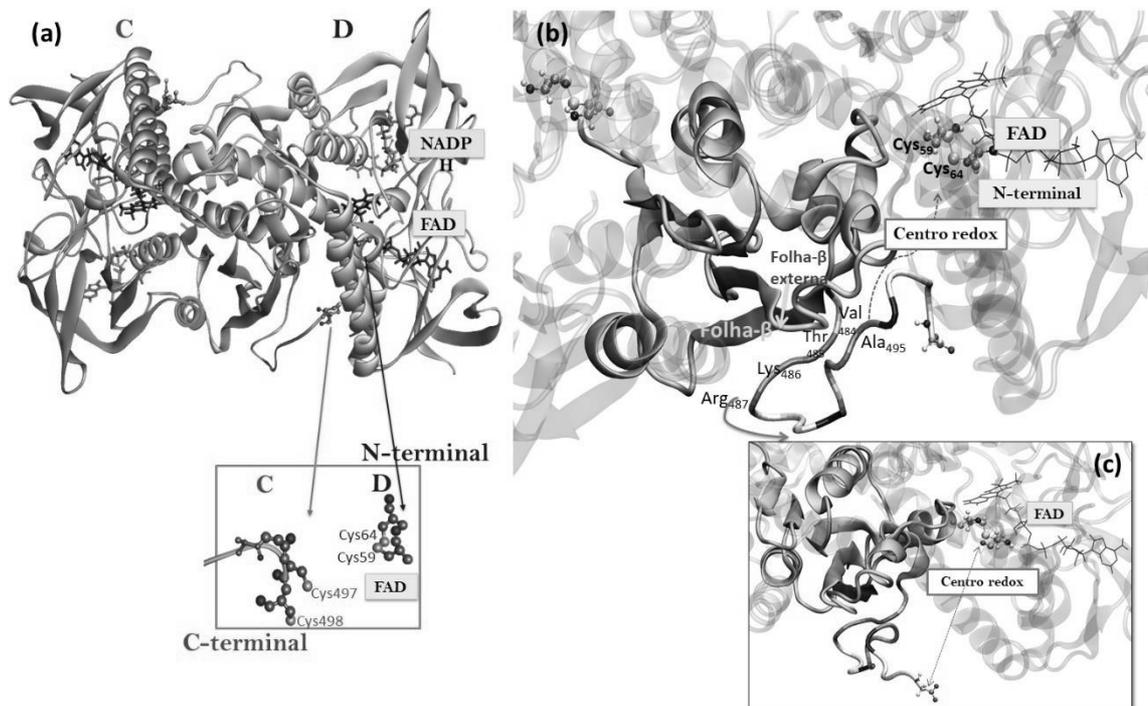
Nas últimas quatro décadas ficou estabelecido que tanto complexos de ouro(I) como de ouro(III), exibem uma elevada afinidade por enzimas que contêm grupos tiois, tais como a TrxR, glutatona redutase (GR) e cisteína protease, as quais encontram-se altamente expostas em células cancerosas proporcionando, assim, potenciais alvos para a terapia com complexos de ouro. Dentre estas enzimas mencionadas, podemos afirmar que a TrxR é o alvo mais estudado para os compostos anticâncer de ouro. A TrxR é uma importante flavoproteína responsável por catalisar a redução da proteína antioxidante Tiorredoxina (Trx), mediada pelo processo $2\text{NADPH} + \text{FAD} \rightarrow 2\text{NADP}^+ + \text{FADH}_2 + 2\text{e}^-$. A TrxR é uma enzima essencial para reduzir as espécies reativas de oxigênio (ROS) e controlar a concentração de outras espécies prejudiciais à célula, como hidroperóxidos lipídicos e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BINDOLI et al., 2009; HOLMGREN; LU, 2010; ZHANG et al., 2017; SCALCON; BINDOLI; RIGOBELLO, 2018).

A estrutura básica da TrxR é um homodímero, cada monômero consiste em um domínio de ligação FAD (resíduos 1-163 e 297-367), um domínio de ligação NADPH (resíduos 164-296) e um domínio de interface (resíduos 368-499) (Figura 3a) (FRITZ-WOLF; URIG; BECKER, 2007; CHENG et al., 2009). O sítio ativo da enzima contém uma ligação dissulfeto, onde resíduos da interface e do domínio FAD são responsáveis pela redução da Trx. O mecanismo enzimático é descrito por uma sequência de etapas de formação e quebra de pontes dissulfeto nos resíduos de cisteína Cys59-Cys64 (N-terminal) e Cys497-Cys498 ou Cys497-Sec498 (C-terminal), portanto, o dímero deve ser considerado a forma funcional da enzima (FRITZ-WOLF; URIG; BECKER, 2007; CHENG et al., 2009). O braço C-terminal consiste na sequência de aminoácidos Val₄₈₄-Thr₄₈₅-Lys₄₈₆-Arg₄₈₇-Ser₄₈₈-Gly₄₈₉-Ala₄₉₀-Ser₄₉₁-Ile₄₉₂-Leu₄₉₃-Gln₄₉₄-Ala₄₉₅-Gly₄₉₆-Cys₄₉₇-Cys₄₉₈-Gly₄₉₉ (VTKRSGASILQAGC₄₉₇C₄₉₈G). Os três primeiros resíduos (VTK) são direcionados para a superfície da enzima, ficando antiparalelos

à terminação da folha β no mesmo domínio de interface como mostrado na Figura 3b. A partir do resíduo Arg487, a cadeia se curva ficando paralela a uma folha β externa. Desde o resíduo Ala495, o braço é direcionado para o centro redox (N-terminal) da segunda subunidade. Quando os últimos resíduos do braço acessam à cavidade do centro redox, eles são estabilizados principalmente por forças de Van der Waals (CHENG et al., 2009; TEIXEIRA; CAPACHO; MACHUQUEIRO, 2016). Um aspecto importante do mecanismo da TrxR é a mobilidade e flexibilidade do braço C-terminal, o que facilita o transporte de elétrons e permite a redução de muitos substratos como a Trx.

Figura 3 - Estrutura cristalográfica do homodímero da TrxR (unidades C e D tomadas do PDB 2J3N) (FRITZ-WOLF; URIG; BECKER, 2007) com a indicação dos domínios FAD (resíduos 1-163 e 297-367), NADPH (resíduos 164-296) e interface (resíduos 368-499) (a).

Representação do braço C-terminal em direção ao centro redox do N-terminal. Nesta estrutura, a região C-terminal (Cys497 e Cys498) encontra-se ao redor de 12 Å do centro redox do N-terminal (Cys59 e Cys64) (b). Representação do braço C-terminal deslocado para a superfície da enzima. Nesta estrutura, a região C-terminal (Cys497 e Cys498) está a 24 Å do centro redox N-terminal (Cys59 e Cys64) (c).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Diferentes estudos sugerem que o braço C-terminal pode alternar entre diferentes posições: i) em direção ao centro redox N-terminal (Figura 3b), especialmente se esse centro

estiver em sua forma reduzida; e ii) deslocado em direção à superfície da enzima, distante do centro redox, uma vez que os resíduos Cys497-Cys498 são reduzidos (Figura 3c) (CHENG et al., 2009; KRISHNA P. BHABAK, BHASKAR J. BHUYAN, 2011; TEIXEIRA; CAPACHO; MACHUQUEIRO, 2016). Este último arranjo é importante para o transporte de elétrons para a superfície da enzima. Nessa condição, a TrxR está pronta para reduzir a Trx e, portanto, é vantajoso manter o braço C-terminal próximo à superfície, expondo o grupo tiolato Cys498 ou Selenato Sec.

1.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE OURO(I)

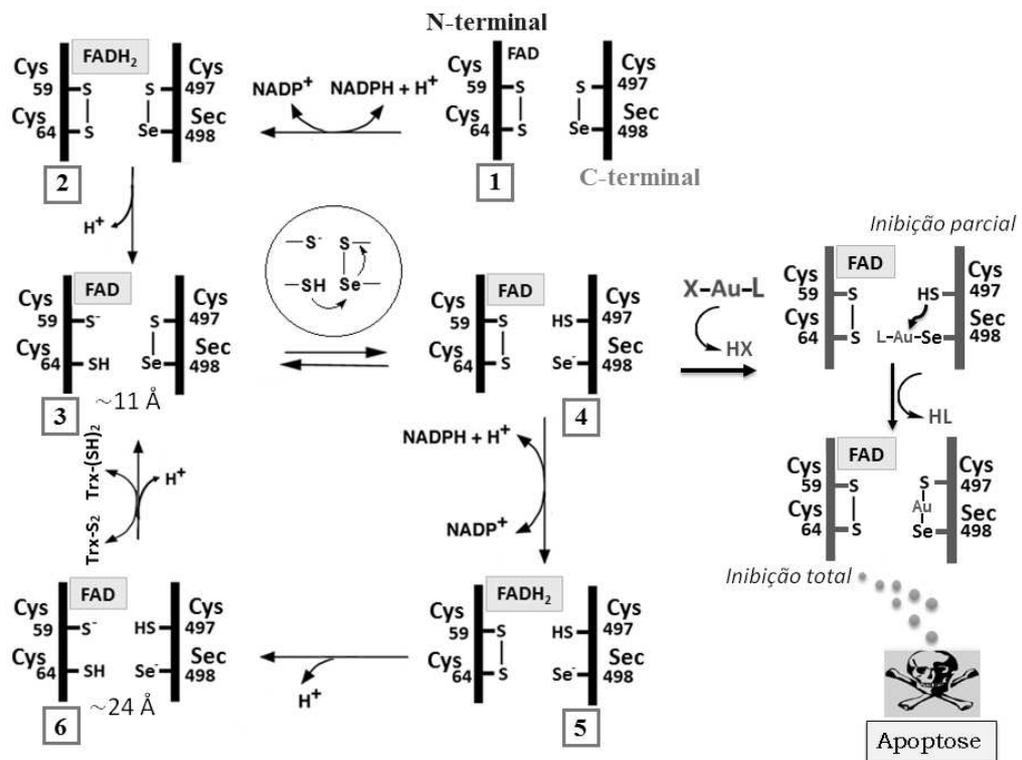
Tanto em células cancerosas como nas células normais, a atividade da enzima TrxR é essencial para o crescimento e sobrevivência celular, portanto, esta enzima pode ser vista como um alvo para pesquisas sobre a quimioterapia antitumoral e outras doenças. Nesse contexto, compostos de ouro exibem uma elevada afinidade pelas enzimas, especialmente aquelas que contêm grupos tiois. Esta característica é atribuída à forte afinidade de ligação dos íons de ouro com tiois (WATTENBERG, 1985; BARNARD; BERNERS-PRICE, 2007; BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011; ZOU et al., 2015).

Várias estruturas de adutos de Au^I-proteína têm sido estudadas usando cristalografia de raios X. A maioria destas estruturas apresentam interações entre as ligações Cys-S-Au-S-Cys e/ou Cys-S-Au-ligante no sítio ativo da enzima, motivo pelo qual acredita-se que a ligação Au-S seja responsável pela forte inibição observada da atividade enzimática (ZOU et al., 2015). Como mencionado anteriormente, as enzimas GR e TrxR desempenham um papel fundamental na regulação redox de importantes processos celulares, como síntese de DNA, transcrição, crescimento celular e resistência a fármacos. No caso da TrxR, acredita-se que sua inibição pode causar um estresse oxidativo celular devido à acumulação de espécies reativas de oxigênio o que, posteriormente, leva à liberação de sinalizadores de apoptose causando a morte celular (BARNARD; BERNERS-PRICE, 2007).

A inibição da atividade da TrxR foi estudada por Smith *et al.* (SMITH et al., 1999) em camundongos utilizando aurotioglicose (ATG) como inibidor. Doses baixas de 0,025 mg de ATG g⁻¹ por peso corporal de ratos causaram uma inibição significativa e prolongada da atividade da TrxR no fígado, coração, rim e pâncreas (SMITH et al., 1999). Um estudo detalhado sobre as interações Au^I-TrxR por espectrometria de massas indicou que até quatro fragmentos de Au-PEt₃ podem ser ligados à proteína. Outros estudos *in vitro* mostraram formas similares de interação em adutos de ouro(I) com tiorredoxina-glutationa redutase (TGR), uma

enzima parasitária similar à TrxR, após reação com a AF (ANGELUCCI et al., 2009; ZOU et al., 2015). A interação da enzima TrxR humana na sua forma reduzida com complexos de Au^I também pode levar à formação do complexo proteína-selenolato de ouro (TrxR-Se-Au-R) pela reação com o resíduo Sec498 e, posteriormente, o produto final conteria o íon Au^I preso pelas ligações Se-Au-S. Embora interações Au-Se não tenham sido elucidadas neste tipo de adutos, algumas reações entre compostos de ouro e selenol têm apresentado informações relevantes (SENGUPTA et al., 2001; KRISHNA P. BHABAK, BHASKAR J. BHUYAN, 2011). Semelhante à substituição de ligantes de fosfina por tiois, tal reação de deslocamento do ligante ocorre na presença de selenol. A reação entre o composto [Au(PET₃)Cl] com o selenol leva à formação do complexo contendo ligações Se-Au-PET₃. Logo, o ataque nucleofílico do selenol ao centro de ouro leva à eliminação de PET₃ e o íon Au^{I+} é preso pelas ligações Se-Au-Se e, após liberação, a fosfina sofre uma oxidação espontânea para produzir O=PET₃ (KRISHNA P. BHABAK, BHASKAR J. BHUYAN, 2011). Com base nessas observações, têm-se proposto caminhos de reação, como o representado na Figura 4, para a inibição da TrxR por complexos de ouro(I) (CHENG et al., 2009).

Figura 4 - Mecanismo de reação proposto para a interação de complexos de ouro(I) com a enzima TrxR reduzida.



Fonte: Adaptada de ANGELUCCI et al., 2009; CHENG et al., 2009; SÁNCHEZ DELGADO et al., 2020.

Na Figura 4 é apresentado uma proposta de reação para a interação de complexos de ouro(I) com a enzima TrxR reduzida, no composto X-Au-L, onde X representa um ligante de caráter lábil como tetraacetil- β -D-tioglucoose ou cloreto e, L um ligante doador de elétrons forte como PR_3 ou NHC. O ciclo se inicia com a enzima totalmente oxidada (etapa 1), onde o cofator FAD é reduzido pelo NADPH (etapa 2). Na etapa 3, o braço C-terminal dirige-se para o centro redox N-terminal para ser reduzido. A distância entre os grupos Cys497 e Cys/Sec498 (C-terminal) e Cys59 e Cys64 (N-terminal) é ao redor de 11 Å. Uma vez reduzidos a região C-terminal e o FAD (etapas 4 e 5 respectivamente), o braço C-terminal desloca-se para a superfície da enzima ficando longe da região N-terminal a uma distância de ~24 Å como representado na etapa 6. Esta última posição tem importância no transporte dos elétrons para a superfície da enzima. Nesta etapa 6, a TrxR está pronta para reduzir a Trx, portanto é vantajoso manter o braço C-terminal próximo à superfície expondo o grupo tiolato/selenato (Cys/Sec498). A interação covalente entre o composto de ouro e o braço C-terminal durante as etapas 4 ou 5, pode causar a inibição parcial ou total das atividades da enzima, o que conseqüentemente poderia desencadear a liberação de sinalizadores de apoptose celular.

Embora a Sec e Cys sejam amplamente consideradas como principais alvos de ligação para o ouro, a coordenação entre íons Au^{1+} e outros aminoácidos também tem sido encontrada nos sítios ativos das proteínas/enzimas. Na recente revisão de 2020 sobre estudos entre os produtos das reações entre compostos de ouro e proteínas/enzimas (GIORGIO; MERLINO, 2020), Giorgio e Merlino, sugerem vários mecanismos de ligação possíveis, onde verifica-se que os complexos de ouro(III) sofrem modificação da sua estrutura antes ou após a ligação às proteínas, observando-se a redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ durante esse processo. De acordo com a teoria dos ácidos e bases duros e macios (HSAB) (PEARSON, 1963), os centros de Au^{1+} preferem tiolatos de cadeias laterais de Cys livres. Os átomos de enxofre de aminoácidos como metionina são observados com menos frequência. Outros possíveis locais de ligação de ouro envolvem átomos de nitrogênio das cadeias laterais de His, Lys, Arg e Gln. Átomos de oxigênio de Glu e Asp também são possíveis locais de ligação de ouro. Adicionalmente, interações $Au \cdots \pi$ com grupos aromáticos de aminoácidos como His também podem ser formadas. A formação de adutos ouro/proteína não altera a estrutura geral das proteínas investigadas, mas pode modificar a conformação do sítio ativo, inibindo a atividade enzimática (GIORGIO; MERLINO, 2020). Zou *et al.*, (ZOU *et al.*, 2000) relataram a estrutura cristalina de um aduto de $[Au(PEt_3)Cl]$ com a enzima ciclofilina 3 (Cyp-3). Esta enzima contém quatro resíduos de cisteína, dos quais os resíduos Cys163 e Cys168 são acessíveis para a ligação Au-S. No entanto, a estrutura cristalina

do aduto $\text{Au}^{\text{I}}\text{-Cyp-3}$ não apresentou a esperada coordenação $\text{S}_{\text{Cys}}\text{-Au}^{\text{I}}$, em vez disso, evidenciou-se a ligação $\text{N}_{\text{His}}\text{-Au}^{\text{I}}\text{-PEt}_3$. O ensaio acoplado com a enzima quimotripsina revelou que a ligação de $\text{His133-Au}^{\text{I}}$ de Cyp-3 pode inibir significativamente a atividade da peptidilprolil isomerase (PPIase) (também conhecida como CypA) com o composto $[\text{Au}(\text{PEt}_3)\text{Cl}]$ em uma concentração inibitória média (IC_{50}) de 14 nmol L^{-1} (ZOU et al., 2000). Resultados de estudos teóricos sugerem que a reação com selenatos é mais rápida e espontânea do que com tiois. Porém, a energia de ativação para a reação de Au^{1+} com His se mostra bastante próxima à da cisteína (DOS SANTOS, 2014; SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018).

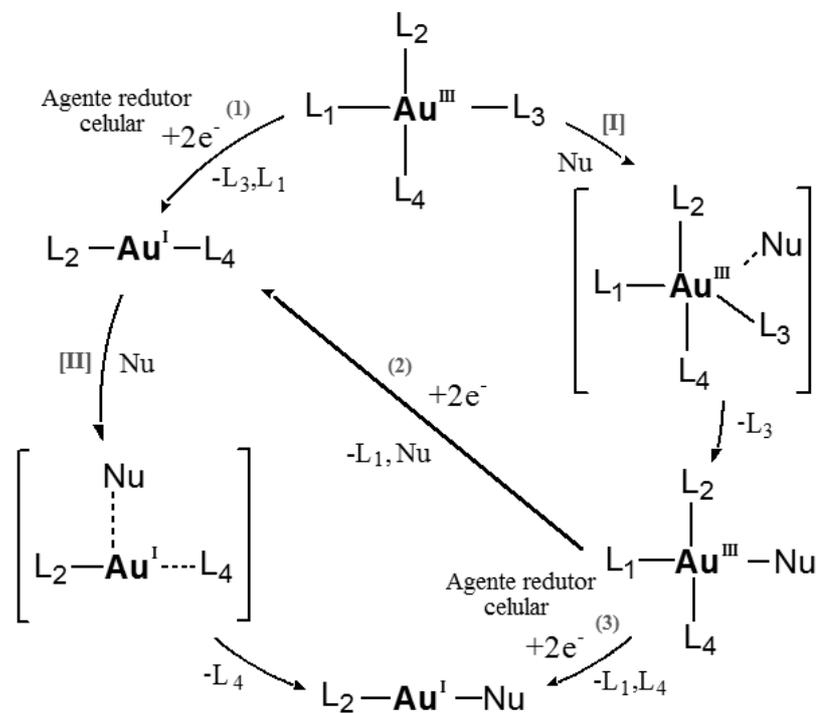
1.4 COMPLEXOS DE OURO(III)

Complexos de ouro(III) têm geometria quadrática plana e são isoeletrônicos dos complexos de platina(II) (configuração eletrônica de valência d^8), portanto, têm sido considerados desde os anos 80 como outra classe de compostos promissores para o tratamento do câncer, AIDS e outras doenças. Em contraste com os complexos de platina(II), complexos de ouro(III) são menos estáveis em condições fisiológicas, devido ao seu alto potencial de redução e rápida taxa de hidrólise. Devido a isso, na última década, cresceu o interesse particular na síntese de estruturas mais estáveis para estes compostos (BERTRAND; CASINI, 2014).

Sabe-se que em condições fisiológicas, a redução de Au^{3+} em Au^{1+} ocorre rapidamente, e as espécies formadas de Au^{I} podem sofrer reações de troca de ligantes. Complexos de ouro(III) podem ser reduzidos por agentes redutores celulares como a glutatona (GSH), a qual é o tiol intracelular mais abundante, apresentando concentrações de $0,5$ a 10 mmol L^{-1} em células cancerosas. Outros agentes como o ácido ascórbico também podem causar a redução dos complexos de ouro(III) (ZOU et al., 2015). Com base nessas observações, propusemos duas possíveis vias de reação para um complexo de ouro(III) uma vez que este ingresse na célula, como mostra a Figura 5. Como os complexos de ouro(III) são geralmente tetracoordenados e complexos de ouro(I)/(0) comumente contém menos de quatro ligantes coordenados (geralmente são estruturas lineares), a redução do Au^{3+} será acompanhada pela liberação de ligantes (ZOU et al., 2015; SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017, 2018). Na etapa (1), mostra-se a redução de um complexo de ouro(III) tetracoordenado até ouro(I) dicoordenado, acompanhado da liberação de ligantes. Subsequentemente, a etapa [II] representa a reação de troca de ligantes com o nucleófilo através de um estado de transição trigonal plano. Considerando o caminho de reação na direção oposta, o complexo de ouro(III)

tetracoordenado sofre primeiramente uma reação de substituição nucleofílica através de um estado de transição pentacoordenado (etapa [I]) e depois é reduzido a Au^{I+} (2),(3), considerando duas reduções com liberação de ligantes (incluindo a liberação do nucleófilo). Dependendo do tipo de ligante, a etapa [I] pode acontecer via uma reação de hidrólise prévia (L_n/H_2O) e posterior substituição da água por um nucleófilo mais forte (H_2O/Nu). A via de reação a seguir dependerá da estabilidade do complexo de ouro(III).

Figura 5 - Possíveis caminhos de reação de complexos de ouro(III) em ambiente celular.



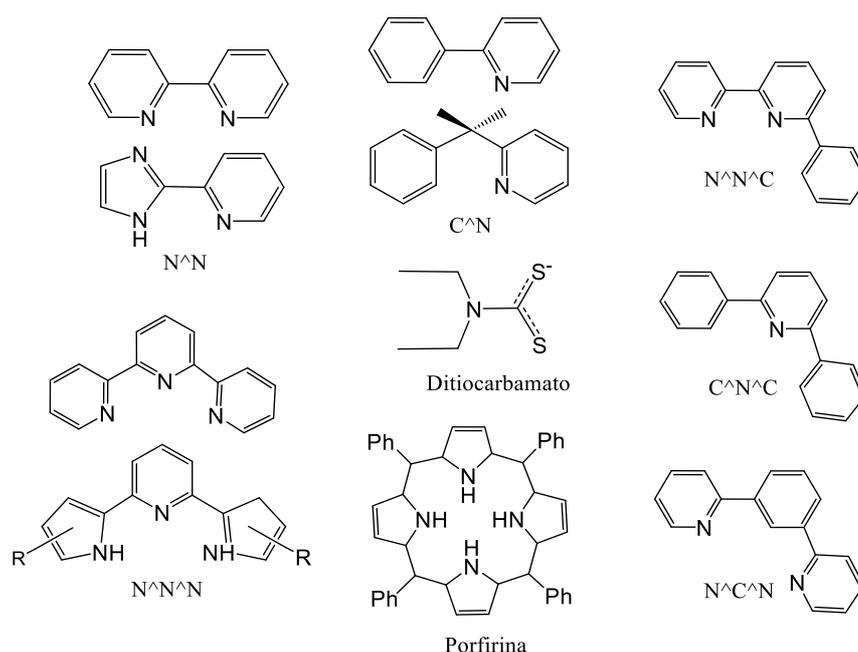
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017, 2018; SÁNCHEZ DELGADO et al., 2020.

Como mencionado anteriormente, complexos de ouro(III) são menos estáveis do que análogos de platina(II) em condições fisiológicas e podem ser facilmente reduzidos a derivados de ouro(I) por tiois intracelulares, como GSH e Cys, ou por enzimas dissulfeto-redutase (BINDOLI et al., 2009; GLIŠIĆ; RYCHLEWSKA; DJURAN, 2012; ZOU et al., 2013). A oxidação dessas biomoléculas leva à formação do dímero com ligação dissulfeto RSSR ($2RSH \rightarrow RSSR + 2H^+ + 2e^-$), fornecendo os elétrons para a redução dos complexos de ouro(III) (GLIŠIĆ; RYCHLEWSKA; DJURAN, 2012; ZOU et al., 2013). Estudos de mecanismos de reação para complexos de ouro(III) no ambiente celular são escassos (GLIŠIĆ;

RYCHLEWSKA; DJURAN, 2012; ZOU et al., 2013; GUARRA et al., 2020). No entanto, é evidente que a habilidade do ouro para formar complexos estáveis é um fator importante para melhorar seu comportamento em condições fisiológicas e, ao mesmo tempo, para definir seus mecanismos de ação biológica. No trabalho de perspectiva de Glišić *et al.* sobre a reatividade de complexos de ouro(III), os autores concluíram que as reações com aminoácidos e peptídeos contendo enxofre ocorrem principalmente através da redução de ouro(III) e oxidação do aminoácido, como por exemplo a cisteína, para a reação com L-Cys. Estruturas do tipo, Au^I-L-Cys foram isoladas e caracterizadas após reação L-Cys e K[AuBr₄] em uma fração molar de 1:3 em solução ácida. Os autores sugeriram que esse processo redox poderia alterar a estrutura de proteínas contendo enxofre e, conseqüentemente, interferindo na sua função biológica (GLIŠIĆ; RYCHLEWSKA; DJURAN, 2012).

A estabilidade dos complexos metálicos é geralmente melhorada por ligantes quelantes multidentados, fazendo com que a maioria dos compostos de ouro(III) desenvolvidos atualmente contenham ligantes bidentados N[^]N, C[^]N, tridentados N[^]N[^]N, N[^]N[^]C, C[^]N[^]C, N[^]C[^]N, porfirinas, ditiocarbamatos, entre outros (Figura 6). Além disso, a escolha do ligante auxiliar é de suma importância no ajuste de sua reatividade e ação biológica (BERNERS-PRICE et al., 1986; LI et al., 2006; OTT, 2009; BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011; SUN et al., 2013; ZOU et al., 2013, 2015).

Figura 6 - Exemplos de ligantes multidentados usados para a síntese de complexos estáveis de ouro(III) com atividade anticâncer.



Fonte: Adaptada de ZOU et al., 2015.

1.4.1 Atividade biológica de complexos de ouro(III)

A maioria dos complexos organometálicos de ouro(III) são estáveis em solução aquosa porque contêm átomos de carbono desprotonados doadores (C^- -carbânion), exibindo estabilidade redox contra agentes redutores celulares, como o ácido ascórbico e a GSH, em concentração similar à do ambiente fisiológico (BERTRAND; CASINI, 2014; ZOU et al., 2015). Os compostos contendo ligantes *pincer*, como C^N , C^N^N e C^N^C , mostraram que após o tratamento com GSH (1-2 mM em solução salina tamponada (TBS)) não sofreram demetalção em um período de 24 horas. (LI et al., 2006; GABBIANI et al., 2012; MEIER et al., 2016) Adicionalmente, análise de voltametria cíclica em DMF para compostos do tipo $[Au^{III}(C^N^C)L]^{3+n}$, revelou valores de potenciais de redução bastante negativos, em uma faixa de -1,43 a -1,83 V, versus o padrão interno de ferroceno (Fc^+/Fc) (LI et al., 2006).

Estudos usando técnicas de espectroscopia de absorção UV-Vis e espectrometria de massa com ionização por eletrospray (ESI-MS) revelaram que compostos ciclometálicos de ouro(III) contendo pelo menos uma ligação Au-C em sua estrutura (C^N , C^N^N), formam adutos estáveis mono-metados com tiol/selenol-aminoácidos/proteínas, conservando o centro de Au^{3+} e seu ligante *pincer*. Por outro lado, complexos de ouro(III) contendo ligantes fenantrolina (N^N) e terpiridina (N^N^N) mostraram menos estabilidade frente a tióis celulares. Estes últimos mostraram a formação de adutos estáveis Au^I -proteína. Já para os complexos dinucleares $[(bipy^{2Me})_2Au^{III}_2(\mu-O)_2]^{2+}$ (*bipy*=bipiridina) e $[(phen^{2Me})_2Au^{III}_2(\mu-O)_2]^{2+}$ (*phen*= fenantrolina), houve formação de adutos com ao menos quatro íons de Au^{1+} ligados à proteína. Estes últimos resultados indicam uma redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ anterior à formação do aduto (GABBIANI et al., 2012; MEIER et al., 2016).

Em 2013, Zou e colaboradores (ZOU et al., 2013), relataram uma série de complexos $[Au^{III}(N^N^N)(NHC-R)]^+$, onde $N^N^N = 2,6$ -bis(imidazol-2-il)piridina. Esses compostos atuam como marcadores fluorescentes de tióis, resultantes da emissão dos ligantes HN^N^NH após serem liberados pelo processo de redução de $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$. Experimentos têm mostrado que, uma vez que GSH ou Cys é adicionado, os sinais de emissão são detectados em apenas alguns minutos devido à liberação dos ligantes HN^N^NH . A oxidação dos dois equivalentes de GSH foi revelada, levando à formação da espécie GSSG e do GSH coordenado ao complexo de ouro(I), formando a espécie $[Au^I(NHC-R)(GS)]$. Os autores sugeriram que a espécie de Au^I é responsável pelo efeito anticâncer, sendo a TrxR o alvo principal (ZOU et al., 2013). Posteriormente, Durović *et al.* também estudaram a influência de ligantes tridentados N^N^N na estabilidade e reatividade de complexos de ouro(III) em condições fisiológicas (DUROVIĆ

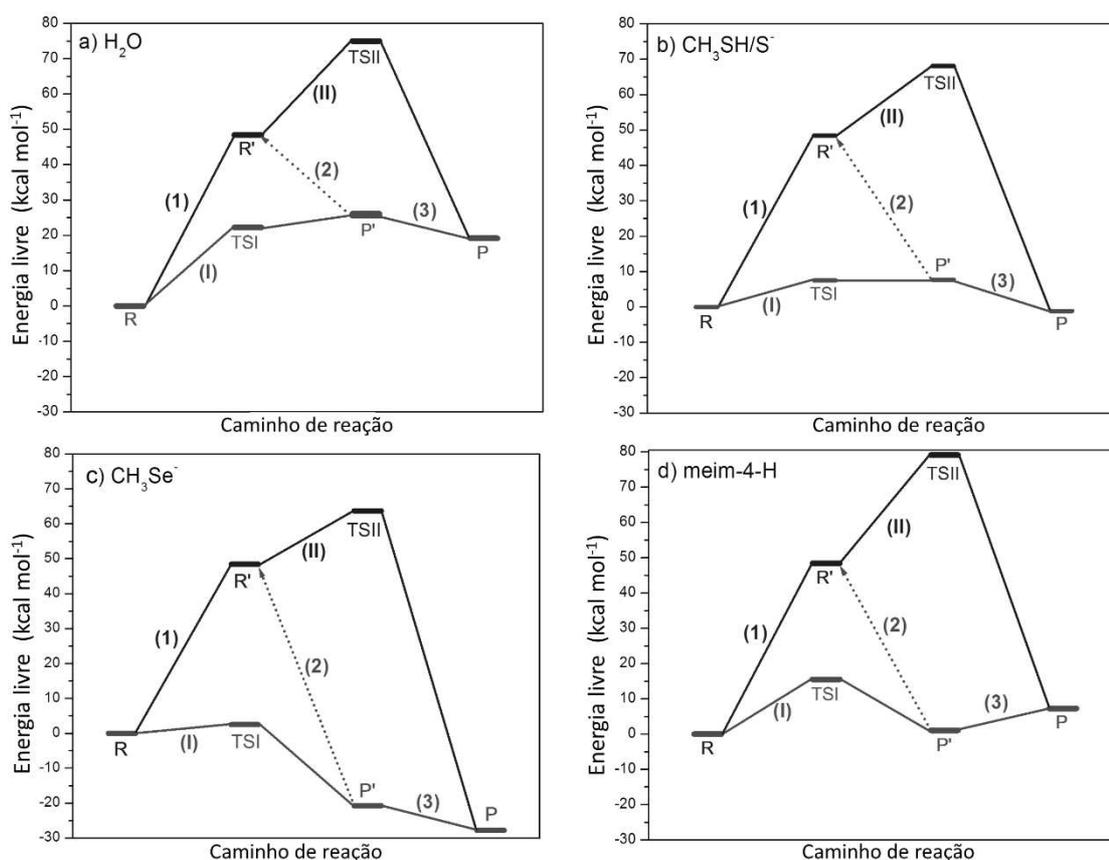
et al., 2014). Usando espectroscopia UV-VIS, voltametria cíclica, espectroscopia de RMN de ^1H e técnicas de ESI-MS, foi demonstrado que a reação de substituição de $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{terpy})\text{Cl}]^{2+}$ (terpy = 2,2';6',2''-terpiridina), $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{bpma})\text{Cl}]^{2+}$ (bpma = bis (piridil-metil) amina) e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$ (dien = dietilenotriamina) com L-Cys, GSH e L-Met ocorrem antes da redução inicial. Assim, os autores sugerem que o efeito citotóxico observado desses compostos é dado após redução *in vivo* e a espécie Au^{I} é a responsável pela atividade anticâncer (DUROVIĆ et al., 2014).

Conclusões semelhantes à experiência de Duvoric *et al.*, foram obtidas em nosso trabalho de 2018 desenvolvido durante o final de mestrado e início do doutorado (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018). As duas vias representadas na Figura 5, foram abordadas para estudar a redução do composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ (**1a**) ao derivado de Au^{I} . Ambas as vias de reação foram calculadas em solução aquosa frente a nucleófilos (Nu) contendo S, Se e N (Nu= H_2O , CH_3SH , CH_3Se^- , meim-4-H (meim=metilimidazol)). A primeira via envolveu a reação direta entre o composto parental com os nucleófilos, por meio do processo de troca de ligantes Cl^-/Nu [I], seguido pela redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ (3). A segunda rota começou com a redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ (1), seguida pela reação do derivado de Au^{I} com os nucleófilos, através do processo de abertura do anel quelato ($\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$) [II]. Em concordância com a alta estabilidade observada para complexos organometálicos de ouro(III), os resultados indicaram que o composto **1a** é mais propenso a sofrer reações de troca de ligantes do que uma redução inicial, quando na presença de nucleófilos S e Se. Levando em consideração os primeiros passos de ambas as rotas, é possível ver que a energia de ativação na troca de cloreto (7,1-24,2 kcal mol $^{-1}$) foi muito menor do que a energia necessária para a redução direta $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ (47,8 kcal mol $^{-1}$) em relação ao eletrodo SHE. Além disso, a estabilidade redox do composto formado $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Nu}]^{3+n}$ ($E^{\circ} = < -1,0$ V) foi menor do que a predita para o composto inicial (**1a**). Esses resultados sugeriram que o composto **1a** e seus análogos podem atuar como pró-fármacos, sendo ativados por reações de troca de ligantes com os nucleófilos disponíveis no organismo, incluindo água, e subsequentemente, reduzidos a Au^{I} .

De acordo com os perfis de reação da Figura 7 para todos os Nu testados, a reação de troca Cl^-/Nu [I] deve acontecer primeiro; onde o correspondente metabólito deve ser reduzido espontaneamente (3) com a abertura do anel quelato para produzir o produto final P (Figura 7). Entre os nucleófilos testados, a reação de troca de ligantes do composto **1a** com CH_3Se^- foi a mais rápida ($k_{\text{f}} = \sim 10^7$ L mol $^{-1}$ s $^{-1}$) e espontânea ($\Delta G^{\circ} = -20,7$ kcal mol $^{-1}$), seguida pelo nucleófilo $\text{CH}_3\text{SH}/\text{CH}_3\text{S}^-$, o qual é concordante com trabalhos experimentais (MEIER et al., 2016). As

energias livres de ativação foram, $\Delta G^\ddagger=15,6$ e $7,1$ kcal mol⁻¹ para a troca Cl⁻/CH₃SH/S⁻ e Cl⁻/CH₃Se⁻, respectivamente (Figuras 7b e 7c).

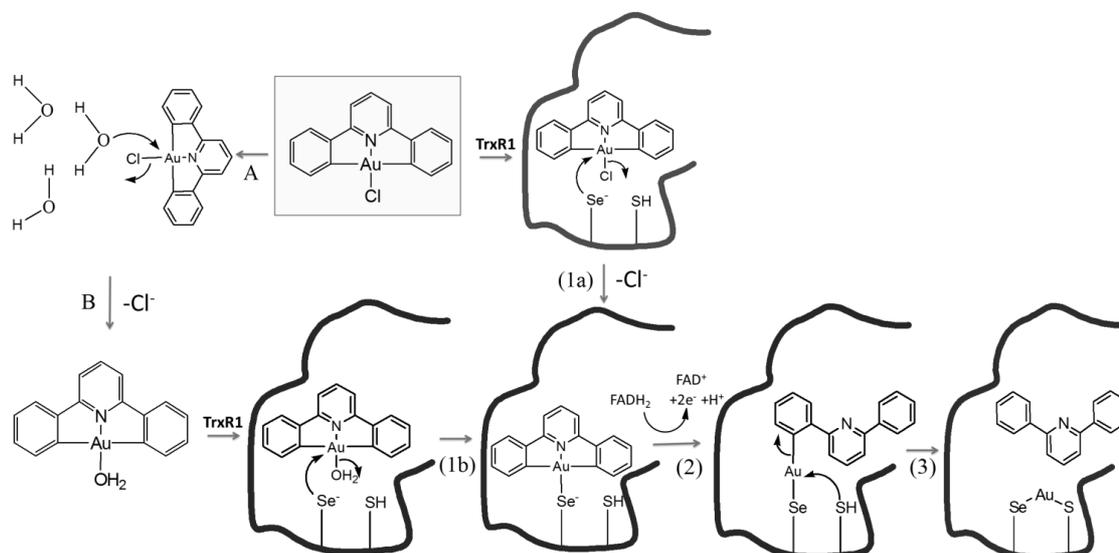
Figura 7 - Curvas de energia potencial representando ambas as rotas de reação para a redução de [Au^{III}(C^{^N^C})Cl]. O primeiro caminho de reação (em vermelho) envolve a reação de troca Cl⁻/Nu [I], seguida pelo processo de redução (3). O segundo caminho de reação (em azul) começa com a redução (1) seguida pela reação do derivado Au^I com o Nu [II]. R→R' e P'→P representam as energias livres da célula ΔG° vs $\Delta G^\circ_{SHE, aq} = -412,42$ kJ mol⁻¹ (ISSE; GENNARO, 2010) para as reações de redução.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018.

Os resultados obtidos no trabalho de 2018 podem ser interpretados com base em evidências experimentais para a interação de Au-TrxR, em que o íon Au¹⁺ é coordenado por resíduos de enxofre e/ou selênio no sítio ativo (RS-Au-S/SeR). Três etapas de reação que poderiam fazer parte do mecanismo de ação do composto 1a foram propostas na Figura 8: (1) reação de troca de ligante: Cl⁻/RSe⁻ (1a) ou H₂O/RSe⁻ (1b), sendo que essa última acontece através de uma reação inicial de hidrólise (A-B); (2) redução com abertura do quelato (E^o=+0,15 V) e (3) reação de troca e liberação do ligante HC^{^N^C}H.

Figura 8 - Possíveis mecanismos de ação do complexo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ (1a) como inibidor da TrxR, de acordo com os resultados obtidos no trabalho de 2018.



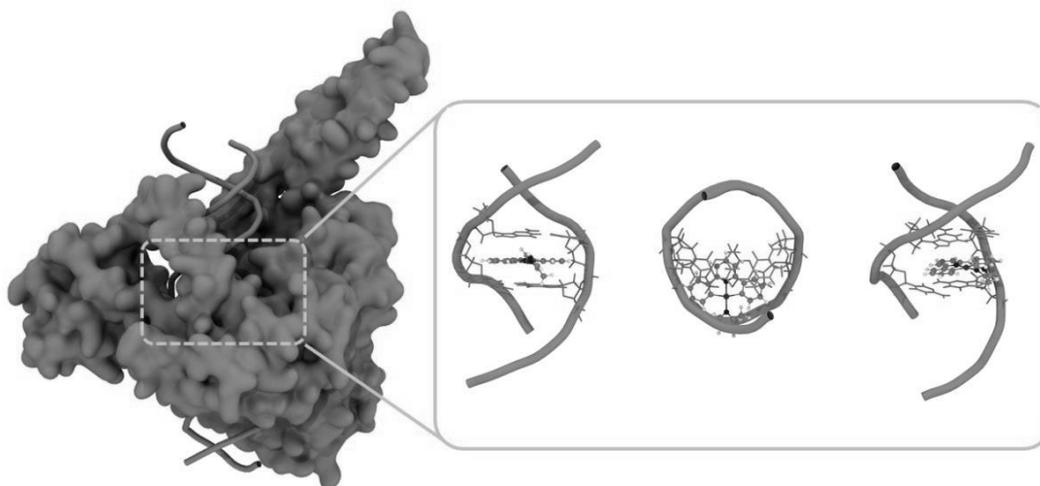
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018.

Sabe-se que os complexos metálicos d^8 quadráticos-planos possuem atividade antitumoral às devido a ligações covalentes cruzadas (*crosslink*) dos íons metálicos d^8 ao DNA, por intercalação dos complexos metálicos planos entre os pares de bases de DNA e/ou por inibição da atividade enzimática (YAN et al., 2010; AKERMAN et al., 2014; BERTRAND; CASINI, 2014; ZOU et al., 2015). Além de potentes inibidores de enzimas/proteínas contendo tióis e selenatos, complexos de ouro(III) também têm mostrado afinidade pelo DNA (CHE et al., 2003; LI et al., 2006; NAVARRO et al., 2007; YAN et al., 2010; AKERMAN et al., 2014; BERTRAND; CASINI, 2014). A busca de compostos mais estáveis levou a síntese de diversos complexos de ouro(III) contendo ligantes quelantes planos que lhe atribuíram características de metalintercaladores.

Complexos de ouro(III) estabilizados por ligantes macrocíclicos ($[\text{Au}(\text{bis}(\text{pirrolideimina}))]^+$) e compostos do tipo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{NHC}^{\text{R}})]^+$ foram identificados como inibidores específicos da topoisomerase 1 (TopoI), enquanto a inibição da TopoII se mostrou muito mais fraca. Foi revelado que o íon Au^{3+} desempenha um papel crucial na intercalação do DNA e na inibição da TopoI. Estudos teórico-experimentais mostraram que estes compostos ligam-se a uma sequência específica da TopoI através do sulco principal do DNA “major groove”, e tal ligação com o DNA possivelmente bloqueia o reconhecimento do substrato pela TopoI, contribuindo assim para o mecanismo de inibição (YAN et al., 2010; AKERMAN et al., 2014) (Figura 9). Leucemia, câncer no sistema nervoso central e câncer de

cólon foram os tipos de câncer mais sensíveis a este tipo de compostos. Desta maneira, é importante destacar que as proteínas/enzimas contendo tióis não são os únicos alvos dos complexos de ouro(III). A interação destes compostos com vários alvos celulares importantes para diferentes doenças, confere-lhes um modo de ação diferente ao mecanismo convencional dos complexos de platina(II). Esta última característica dos compostos de ouro tem despertado amplamente a atenção dos pesquisadores nas últimas décadas.

Figura 9 - Representação da TopoI-DNA interagindo com um complexo de ouro(III) em diferentes posições no sulco maior do DNA. Representação baseada no modelo TopoI-DNA de Yan et al. (YAN et al., 2010) a partir de docking molecular, usando a estrutura cristalográfica da TopoI, PDB 1K4T (STAKER et al., 2002).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Na primeira parte da presente tese foi realizado um amplo estudo referente a estabilidade de complexos de ouro(III) contendo diferentes ligantes multidentados, assim como ligantes auxiliares doadores σ de elétrons como halogênios e fosfinas PR_3 (etapas I e II). Um estudo detalhado sobre a redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ foi feito, onde os potenciais de redução estimados foram discutidos com base em parâmetros estruturais estéricos e eletrônicos. A análise de regressão múltipla (MRA) também foi usada para ajustar modelos de relação quantitativa estrutura-propriedade (QSPR), com o objetivo de prever o potencial de redução padrão (E^0) através de propriedades moleculares intrínsecas.

O ambiente enzimático, que poderia influenciar a reatividade de complexos estáveis de ouro(III), não foi considerado em nosso estudo anterior de 2018. Além disso, o produto $[Au^I(C^N^CH)(Nu)]^-$ poderia reagir posteriormente com o nucleófilo vizinho Cys497 deixando

o íon Au^{1+} preso por resíduos de enxofre no sítio ativo da enzima (RS-Au-SR), liberando o ligante tridentado $\text{HC}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH}$. Desta maneira, na segunda parte do presente trabalho (etapas III e IV) é descrita a modelagem da redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ seguida pela reação de troca de ligante ($\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}/\text{Scys497}$) na presença de modelos TrxR, considerando distintos arranjos do braço C-terminal durante o mecanismo de transferência de elétrons.

2 OBJETIVOS

Este projeto teve como objetivo geral estudar a estabilidade de complexos de ouro(III) contendo ligantes multidentados C,N e ligantes auxiliares como NHC-R, PR₃ e halogênios e, adicionalmente, estudar a influência do ambiente da enzima TrxR na reatividade destes mesmos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Calcular o potencial de redução ($\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$) para complexos de ouro(III) em relação ao eletrodo padrão de Hidrogênio (SHE). A meta foi entender qual é a tendência destes compostos de serem reduzidos, estimando o efeito na variação do ligante multidentado na estrutura (etapa I);
- b) Estudar a influência de ligantes volumosos do tipo PR₃ e/ou NHC-R na estabilidade de complexos de ouro(III) (etapa II);
- c) Modelar as interações dos complexos de ouro(III) com a enzima TrxR de mamíferos utilizando estruturas de partida disponíveis no banco de dados PDB, p.e. código 2J3N, visando identificar os sítios de reação para posterior estudo dos processos de redução em ambiente enzimático (etapa III);
- d) Avaliar a reatividade dos complexos de ouro(III) no ambiente enzimático, estudando os processos de redução para o sistema $\text{Au}^{3+/1+}$ -TrxR. A meta foi propor mecanismos de reação enzimática, incluindo processos de redução para os complexos de ouro(III) selecionados (etapa IV).

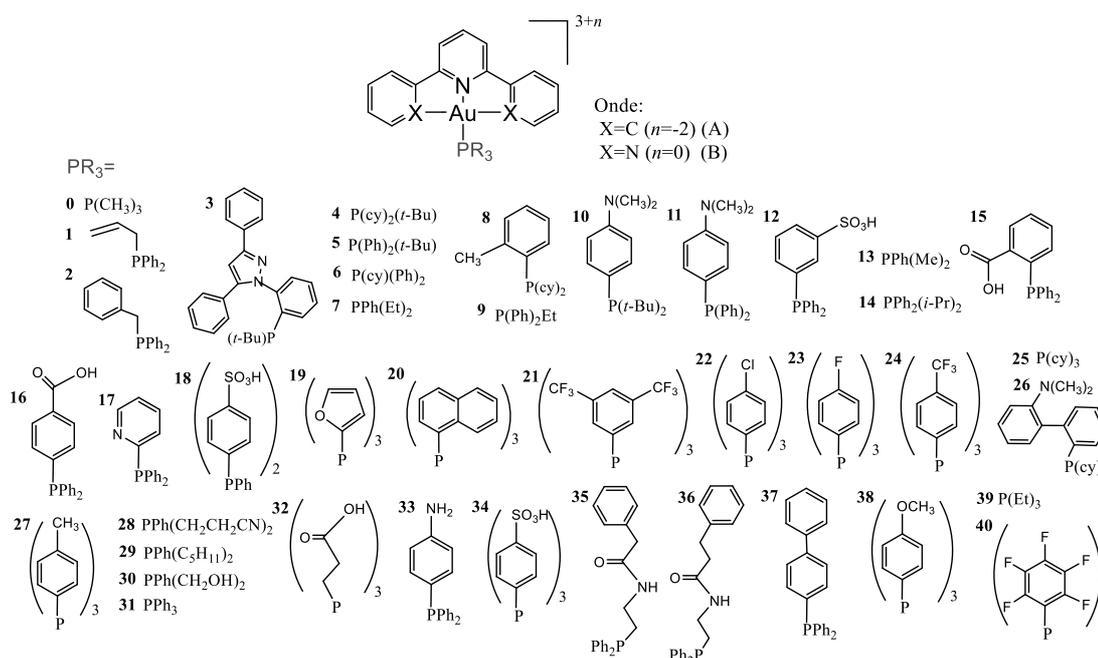
3 METODOLOGIA

A seguir, será apresentada a metodologia correspondente às etapas I e II e, posteriormente aquela correspondete às etapas III e IV.

3.1 MÉTODOS E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ETAPAS I E II

Além da importância da incorporação de ligantes multidentados para a estabilidade dos complexos de ouro(III), a escolha do ligante auxiliar também é de suma importância no ajuste de sua reatividade e ação biológica. Visando um melhor entendimento do papel das fosfinas como ligantes auxiliares, a estabilidade redox dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A) e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B) da Figura 10, onde $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ =2,6-difenilpiridina, $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$ =2,2':6',2''-terpiridina e R é o grupo substituinte fosfina com diferentes propriedades estéricas e eletrônicas, foi avaliada, inicialmente, tomando como referência o potencial de redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$. Nesta etapa, o ligante PR_3 foi representado por 41 fosfinas simétricas e assimétricas com substituintes equivalentes ($\text{R}_3=\text{RRR}$) e não equivalentes ($\text{R}_3=\text{R}_2\text{R}'$ e $\text{RR}'\text{R}''$) retiradas da referência (KARVER et al., 2009).

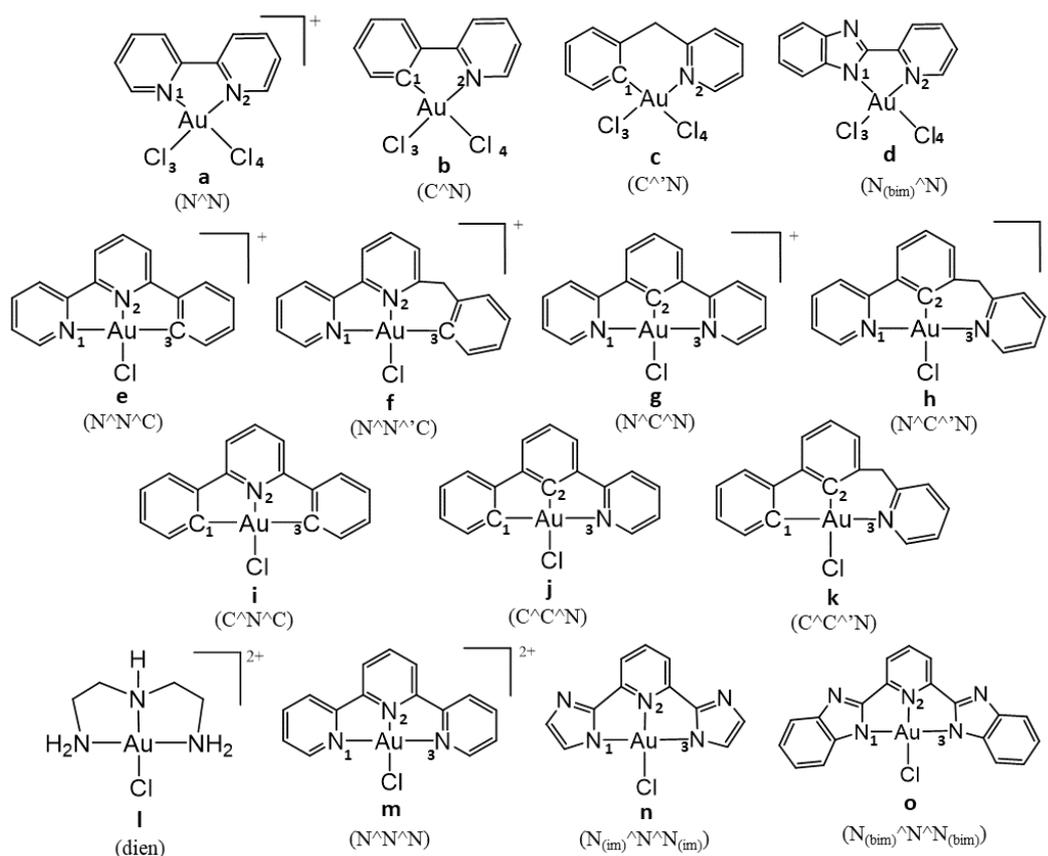
Figura 10 - Complexos de ouro(III) contendo fosfinas como ligantes auxiliares que foram selecionados. As fosfinas foram retiradas de Karver e colaboradores (KARVER et al., 2009).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

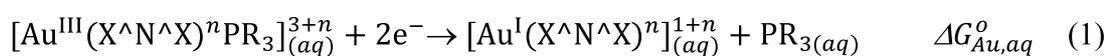
Uma variação mais ampla da esfera de coordenação para as estruturas dos complexos de ouro(III) foi abordada posteriormente, usando diferentes ligantes bidentados e tridentados, com anéis de cinco ou seis membros e mantendo fixo o cloreto como ligante auxiliar (Figura 11).

Figura 11 - Estruturas dos compostos de ouro selecionados contendo diferentes ligantes multidentados (C). Im=imidazol, bim=benzimidazol, dien=dietilenotriamina.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

O potencial de redução padrão (E^0) para os compostos da Figura 10 e 11 foram calculados em solução aquosa, com base nas semirreações da célula eletroquímica em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio (SHE).



A semirreação da equação (1) representa a redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ dos compostos (A) e (B) da Figura 10 (nos quais foi variado o ligante auxiliar de fosfina). Enquanto as semirreações das equações (2.1) a (2.2) são referentes aos compostos (C) contendo diferentes ligantes multidentados (Figura 11).

Na equação (1), $X=C$ ($n=-2$) e $X=N$ ($n=0$) para os compostos (A) e (B), respectivamente. No entanto, para os compostos (B), a fosfina não abandona a esfera de coordenação após a redução e a fórmula molecular do produto é representada como $[Au^I(N^{\wedge}N^{\wedge}N)PR_3]^+$ na equação (1). A reação da equação (2.1) representa a redução para os compostos **Ca-d** contendo ligantes bidentados (bident), com exceção do composto **Ca**, o qual, após a redução, o ligante bidentado $N^{\wedge}N$ é liberado e os dois cloretos se mantêm coordenados ao ouro formando o dicloreto de ouro(I). Neste caso, a fórmula molecular do produto é $[Au^ICl_2]_{(aq)}^- + N^{\wedge}N_{(aq)}$ na equação (2.1). Por outro lado, a equação (2.2) representa a semirreação para a redução dos compostos contendo ligantes tridentados (trident) (**Ce-o**, Figura 11), porém, após redução dos compostos **Ci-k**, o cloreto é liberado, e o produto é $[Au^I(trident)]_{(aq)}^{1+n} + Cl_{aq}^-$.

Tomando o eletrodo padrão de hidrogênio (SHE) como referência, o potencial da célula eletroquímica, E_{cel}° , corresponde ao potencial padrão do eletrodo de ouro.

$$E_{cel}^{\circ} = E^{\circ}(Au^{3+} \rightarrow Au^+) = -\frac{\Delta G_{Au,aq}^{\circ}}{2F} + \frac{\Delta G_{(SHE),aq}^{\circ}}{F} \quad (4)$$

$$E^{\circ}(Au^{3+} \rightarrow Au^+) = -\frac{\Delta G_{Au,aq}^{\circ}}{2} - E_{(SHE),aq}^{\circ} \quad (5)$$

De acordo com as equações (4) e (5), o potencial de redução padrão (E°) para o processo $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$ pode ser obtido a partir da energia livre de Gibbs calculada em solução aquosa para os processos representados nas equações (1), (2.1) e (2.2) e do valor de E° para o eletrodo usado como referência. Na equação (4), $\Delta G_{(SHE),aq}^{\circ} = -412,42 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $F = 96,485 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1}$, o qual leva a obter um valor de $E_{(SHE),aq}^{\circ} = 4,28 \text{ V}$ na equação (5). Estes últimos valores foram encontrados no trabalho de Isse e Genaro em 2010 (ISSE; GENNARO, 2010). Note-se que a energia livre de Gibbs, $\Delta G_{Au,aq}^{\circ}$, na equação (5) deve ser expressa em unidades de eV.

3.1.1 Predição da energia livre $\Delta G_{Au,aq}^o$ e definição do protocolo computacional

Nos últimos anos, vários trabalhos sobre cálculos teóricos do potencial de redução têm sido realizados; em geral, boas estimativas de potenciais de redução foram realizadas especialmente para moléculas orgânicas (ROKOB; SRNEC; RULÍŠEK, 2012; ISEGAWA; NEESE; PANTAZIS, 2016). No entanto, uma boa precisão para compostos de coordenação não é tão simples de alcançar.

É conhecido que a variação da energia livre de Gibbs (ΔG_{aq}) associada com o processo redox pode ser determinada teoricamente a partir de diferentes termos que contribuem individualmente para seu cálculo (SRNEC et al., 2008; ROKOB; SRNEC; RULÍŠEK, 2012). No presente trabalho, a energia livre de reação foi calculada usando o ciclo termodinâmico padrão, obtendo a energia eletrônica mais repulsão nuclear (ΔE_{ele}), correções térmicas para a energia livre ($\Delta G_T = \Delta H - T\Delta S$) e energia livre de solvatação ($\delta\Delta G_{solv}$) como mostra a equação (6). A correção do erro de sobreposição de base (BSSE), também foi incluída conforme representado na equação (6), sendo esta última aplicada apenas para os complexos (A).

$$\Delta G_{Au,aq}^o = \Delta E_{Au,g} + BSSE + \Delta H_{T,g}^o + \delta\Delta G_{solv} + T\Delta S \quad (6)$$

Apesar da simplicidade da equação (6), alguns trabalhos recentes têm discutido as dificuldades em calcular energias livre associadas com processos envolvendo complexos de coordenação (GUTTEN; BEŠŠEOVÁ; RULÍŠEK, 2011; GUTTEN; RULÍŠEK, 2013). A precisão no cálculo de processo redox depende da correta descrição das alterações na estrutura eletrônica que acompanham o evento redox, bem como, da interação das espécies reativas com o solvente (MARENICH et al., 2014; HO et al., 2016). O cálculo da energia livre da equação (6) foi estabelecido de acordo com os resultados resumidos no Apêndice – A para a predição do E^o do composto A31 (contendo a fosfina PPh_3). Para este composto A31, o valor experimental de E^o encontra-se disponível (LI et al., 2006). A inclusão da correção BSSE, mostrou-se relevante para a previsão da $\Delta G_{Au,aq}^o$ e consequente para o cálculo do E^o , com um erro absoluto médio (MUE) de apenas 30 mV. A correção para alterar o estado padrão das espécies reativas de um gás ideal a 1 atm para uma solução a 1 mol L⁻¹ ($RT\ln RT$, correspondente a 1,89 kcal mol⁻¹), assim como a correção de Wertz para a entropia na fase gasosa ($TS_{(w)}$), tendem a superestimar o E^o para os composto A31, exibindo valores MUE de 60 mV e 230 mV respectivamente (Apêndice – A).

Entre os métodos de cálculo mais empregados em química computacional encontram-se: a aproximação de Hartree-Fock (HF), a teoria do funcional da densidade DFT e métodos perturbativos, como a teoria de perturbação de Möller-Plesset (MPn), também conhecidos como métodos pós-HF. Basicamente, os métodos HF e MPn buscam resolver o problema eletrônico de um determinado sistema a partir de diferentes aproximações para resolver a equação de Schrödinger não relativística. No método de HF define-se uma função de onda para átomos de muitos elétrons, resolvendo o problema eletrônico a partir de uma aproximação chamada aproximação do campo auto-consistente de Hartree-Fock (HF-SCF). No entanto, é importante mencionar que a aproximação de HF considera que os elétrons se movimentam em uma forma independente e que estes interagem entre si apenas com a densidade de carga gerada pelos outros elétrons da molécula. Esta aproximação é incluída na energia total do sistema e contém os termos de Coulomb (V_{ee}) e de troca (E_x^{HF}). Desta maneira, o método HF desconsidera o movimento acoplado dos elétrons, ou, em outras palavras, este não considera a correlação eletrônica (E_c).

Por outro lado, a DFT é um procedimento variacional alternativo à solução da equação de Schrödinger, onde o funcional da energia é minimizado com respeito à densidade eletrônica em vez da função de onda (L. ALCACER, 2007). Diferente do método de HF, a DFT considera a E_c para a energia total do sistema, sendo obtida a partir “funcionais de troca e correlação”, que adicionalmente, também determinam a energia de troca (E_x).

$$E_v[\rho] = \hat{T}_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' + \int v(r)\rho(r) dr + E_{xc}[\rho] \quad (7)$$

Os três primeiros termos da equação (7) incluem as principais contribuições para a energia eletrônica do estado fundamental e podem ser calculados facilmente a partir de $[\rho]$, enquanto que para o funcional de troca e correlação (E_x) devem se feitas aproximações (LEVINE, 2012).

Os funcionais híbridos são uma classe de aproximações para o funcional de troca-correlação (E_{xc}) que incorpora uma parte da energia de troca HF com o resto da E_{xc} de outras fontes, como por exemplo dados empíricos. O desenvolvimento de funcionais permitiu tratar modelos com um número significativo de átomos de uma forma relativamente rápida e eficaz, diminuindo o custo computacional. A metodologia DFT tem sido usada para nossos sistemas redox desde nosso primeiro trabalho de 2017 (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017).

Geralmente, os funcionais DFT usam duas aproximações para o cálculo da E_{xc} conhecidas como Aproximação da Densidade Local (LSDA) e um aperfeiçoamento chamado de Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA). O funcional híbrido mais popular, é conhecido como B3LYP, o qual combina o funcional de troca proposto por Becke (onde 3 indica uma função de três parâmetros diferentemente definidos para o termo de troca) com o funcional de correlação desenvolvido por Lee, Yang e Parr.

$$E_{xc}^{B3LYP} = (0,80)E_x^{LSDA} + (0,20)E_x^{HF} + (0,72)\Delta E_{xc}^{B88} + (0,19)E_c^{VWN} + (0,81)E_c^{LYP} \quad (8)$$

Na equação (8), E_x^{HF} é a energia de troca de HF, este termo é usualmente denominado na literatura como energia exata E_x^{exat} . ΔE_{xc}^{B88} é a abreviação para a correção de gradiente B88 (funcional GGA desenvolvido por Becke em 1988) para E_x^{LSDA} ($\Delta E_x^{B88} = E_x^{B88} - E_x^{LSDA}$) (ABREU, 2004; LEVINE, 2012).

Como tentativa para melhorar a eficácia dos funcionais, Becke propôs funcionais baseados especificamente na aproximação do gradiente generalizado (GGA). O funcional PBE pertence à classe dos funcionais GGA para a energia de correlação e troca. Este funcional em particular alcança a inclusão de correção do gradiente sem a introdução de parâmetros ajustados experimentalmente e sem misturar a energia de troca HF e, por isso, é conhecido como um funcional “puro”. O funcional PBE0, é um funcional derivado do PBE, no entanto, mistura a energia de troca Perdew–Burke–Ernzerhof (PBE) e a energia de troca HF em uma proporção de 3:1, junto com a energia de correlação PBE completa:

$$E_{xc}^{PBE0} = (0,25)E_x^{HF} + (0,75)E_x^{PBE} + E_c^{PBE} \quad (9)$$

Apesar dos funcionais GGA se mostrarem mais eficazes do que os funcionais locais LSDA, um dos maiores problemas é a pobre representação das forças intermoleculares de dispersão entre átomos não ligados. Estas interações se fazem mais significativas à medida que se aumenta o tamanho da molécula de interesse e podem levar a grandes erros na predição de energias. Devido a isto, funcionais mais recentes contêm termos de correção empíricos para a dispersão (CHAI; HEAD-GORDON, 2008; LEVINE, 2012). Esta abordagem é conhecida como DFT-D, onde “D” denota a correção para a dispersão. Posteriormente, outros termos como correções de longo alcance (LC) foram incluídas em funcionais mais atuais. Dentre estes

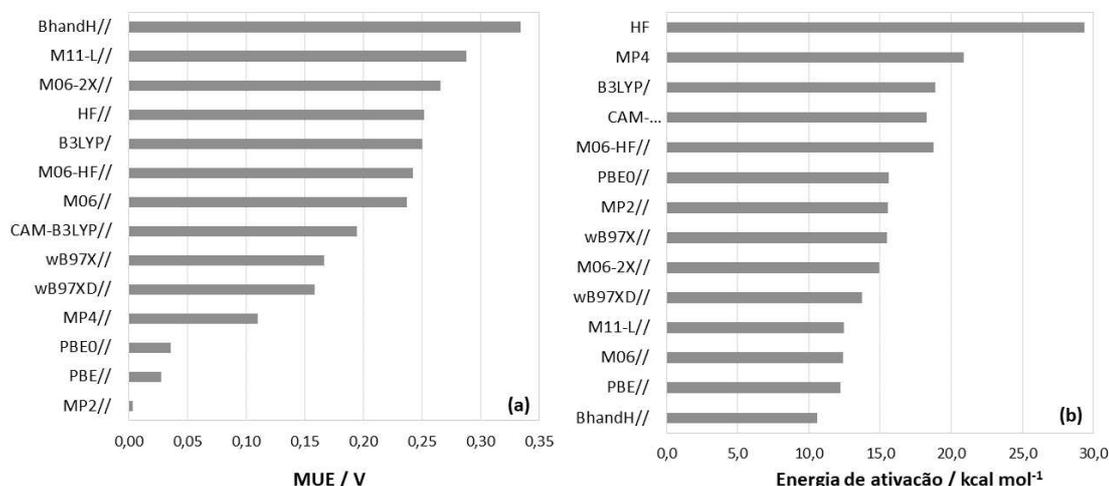
funcionais híbridos LC, encontram-se os funcionais CAM-B3LYP, os funcionais de Minnesota meta-GGA (Myz), sendo M06 o mais popular, e suas recentes versões Myz-L onde L significa "local" indicando que nenhum termo de troca exato está incluído. Outros funcionais híbridos LC importantes são o ω B97x e o ω B97xD, desenvolvidos por Chai e Head-Gordon (CHAI; HEAD-GORDON, 2008).

Tendo em vista o importante papel que os funcionais DFT desempenham e, da ampla variedade disponível, vamos relatar uma avaliação comparativa destes (*benchmarking*) com o objetivo de encontrar o funcional mais adequado para o estudo do nosso sistema redox.

A reação de redução do composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$, a qual está disponível o dado experimental, assim como a reação de troca de ligantes $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}] + \text{SHCH}_3 \rightarrow [\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+ + \text{Cl}^-$ foram abordadas no estudo de *benchmarking*. A otimização das geometrias foi realizada no nível B3LYP/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2df)(demais átomos) (ANDRAE et al., 1990; WEIGEND; AHLRICH, 2005). Cabe destacar que o conjunto de função de base de Pople 6-31+G(2df) já foi aplicado com sucesso para complexos de ouro(III), incluindo reações de troca de ligantes (DOS SANTOS; PASCHOAL; BURDA, 2012a, 2012b) e potencial de redução (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017). Da mesma forma, a base def2-TZVP também já foi usada nos nossos trabalhos anteriores e tem sido frequentemente usada para estudar processos de redução de compostos de Pt, Fe e Os, bem como em diferentes compostos orgânicos, fornecendo resultados satisfatórios (GUTTEN; RULÍŠEK, 2013; PAŠTEKA; RAJSKÝ; URBAN, 2013; BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016; ISEGAWA; NEESE; PANTAZIS, 2016; SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017). Posteriormente, cálculos de energia ("single-point") foram realizados usando 11 diferentes funcionais de densidade, assim como o método de HF e métodos MPn para termos comparativos. A Figura 12a apresenta os valores MUE estimados para o potencial de redução. Os funcionais PBE e PBE0 mostraram os menores valores MUE (28 mV e 36 mV respectivamente), sendo o melhor resultado com um desvio máximo de apenas a 2,2% em relação ao dado experimental. Os funcionais com correções de longo alcance ω B97x, ω B97xD e CAM-B3LYP também se mostraram relativamente eficazes para a predição do potencial de redução com MUE menores do que 200 mV; isto já tinha sido observado em trabalhos prévios (SÁNCHEZ DELGADO, 2017; SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017). No caso da reação de troca de ligante, a energia de ativação calculada com o funcional PBE0 foi de 15,6 kcal mol⁻¹, a mesma predita pelo método perturbativo MP2 (Figura 12b), o qual foi o método que melhor reproduziu

o potencial de redução (Figura 12a). Estes resultados confirmam que a DFT mostra resultados comparáveis aos resultados obtidos por métodos pós-HF, como MPn.

Figura 12 - (a) Erro absoluto médio (MUE) obtido do potencial de redução padrão calculado para a reação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]+2\text{e}^{-}\rightarrow[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^{-}+\text{Cl}^{-}$ no solvente DMF vs o eletrodo de ferroceno (Fc/Fc^{+}) e (b) energia livre de Gibbs de ativação calculada em solução aquosa para a reação de troca de ligantes $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{Cl})]+\text{SHCH}_3\rightarrow[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^{+}+\text{Cl}^{-}$. As barras duplas significam que é um cálculo “single point” usando a geometria e contribuições $\Delta G_{T,g}^{\circ}$ e $\delta\Delta G_{\text{solv}}$ (SMD) obtidas no nível B3LYP/def2-TZVP/6-31+G(2df).

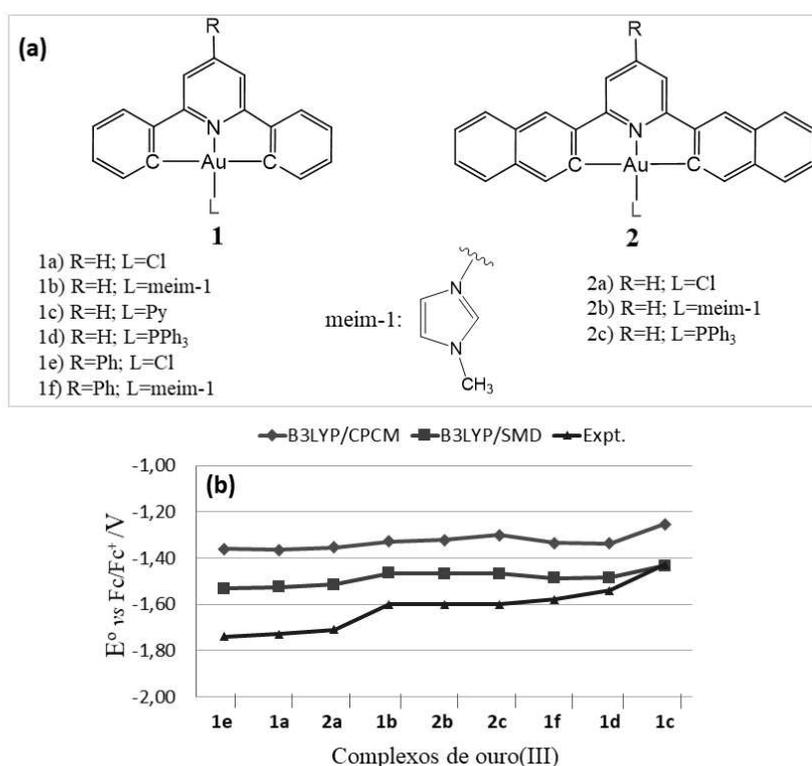


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018.

As geometrias de todas as espécies envolvidas nas semirreações representadas pela equações (1) e (2) foram otimizadas e caracterizadas como pontos de mínimo na superfície de energia potencial (PES) em fase gasosa através de cálculos de frequências harmônicas no nível DFT com o funcional de densidade PBE0 (escolhido no estudo de *benchmarking*) (ADAMO; BARONE, 1999). A função de base def2-TZVP (ANDRAE et al., 1990; WEIGEND; AHLRICHS, 2005) foi usada para o átomo de Au, a qual descreve os 60 elétrons internos do átomo de ouro por um potencial efetivo de caroço (ECP) e os 19 elétrons de valência pelo conjunto de base triple-zeta de valência. Para os átomos não-metálicos, foi usado o conjunto de funções de base de Pople 6-31+G(2d). Para esta etapa todos os cálculos também foram efetuados utilizando funções gaussianas puras ou esféricas 5D e 7F. Este mesmo nível de teoria foi aplicado para o cálculo das frequências vibracionais e previsão da energia livre de Gibbs a 1 atm e 298,15 K.

Finalmente, o efeito do solvente foi incluído através do formalismo IEF-PCM com raio otimizado por Truhlar e colaboradores, chamado SMD (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009). SMD é um modelo de solvatação contínuo baseado na densidade de carga ("D" denota "densidade") do soluto interagindo com uma descrição contínua do solvente. A densidade eletrônica do soluto é usada sem definir cargas atômicas parciais. SMD é um modelo de solvente universal o qual pode ser aplicado a qualquer soluto carregado ou não carregado já que foi extensamente parametrizado avaliando a ΔG_{sol} com diversos solutos neutros e iônicos em água e em solventes orgânicos. Adicionalmente, o modelo SMD inclui uma componente chamada de termo de cavidade-dispersão-estrutura do solvente e é a contribuição proveniente de interações de curto alcance entre o soluto e as moléculas de solvente na primeira esfera de solvatação (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009). O modelo SMD, mostrou-se mais adequado para a inclusão do solvente, comparado ao modelo C-PCM com o raio atômico otimizado para COSMO-RS (KLAMT et al., 1998). Tal conclusão foi baseada em uma comparação entre os dados experimentais de potencial de redução com os valores calculados para uma série de nove compostos de ouro, como mostrado na Figura 13.

Figura 13 - (a) Série de compostos de ouro do tipo $[Au^{III}(C^N^C^R)L]^{n+3}$, onde $L=Cl^-$, PR_3 , py (piridina) e meim-1 (1-metilimidazol) e (b) Comparação dos modelos de solvatação SMD e C-PCM para a predição do potencial de redução dos compostos $[Au^{III}(C^N^C^R)L]^{n+3}$.



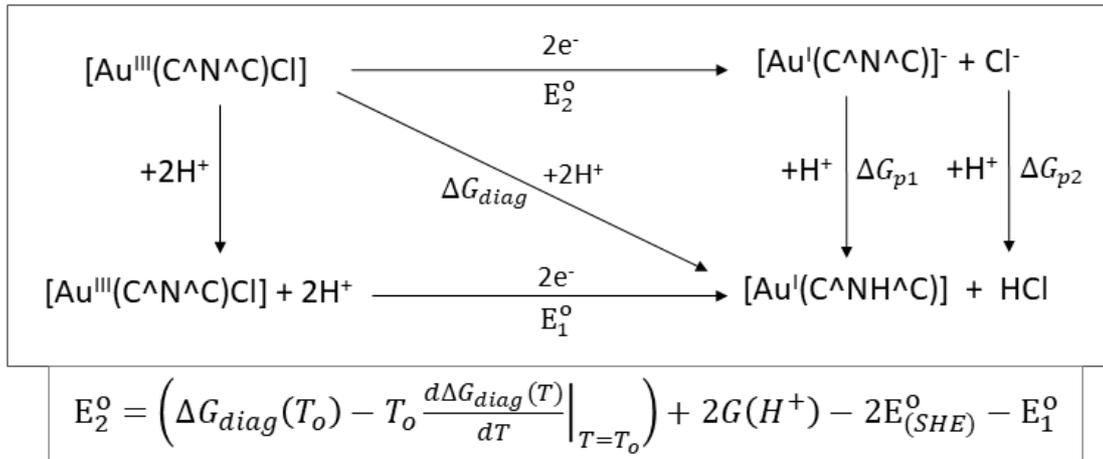
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017.

3.1.2 Metodologia VT-HAA

Embora a abordagem da energia livre representada pela equação (6) tenha demonstrado produzir bons resultados, a precisão do cálculo da energia livre pode ser afetada significativamente para sistemas com uma carga molecular alta ou na presença de um solvente polar (MARENICH et al., 2014; BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016; HO et al., 2016). Nossos estudos prévios (SÁNCHEZ DELGADO, 2017; SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017) mostraram que o desbalanço de carga entre os reagentes e produtos das semirreações, afeta significativamente a predição do potencial de redução para os complexos de ouro(III). A metodologia VT-HAA (*Variable-Temperature H-Atom Addition/Abstraction*), proposta por Bím et al., é uma abordagem teórica eficiente para o cálculo do potencial de redução de complexos metálicos cujo par redox não possui cargas equivalentes (BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016). Esta metodologia foi aplicada com sucesso para o composto neutro $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ (**1a**, **Cl**) (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017, 2018) através do ciclo termodinâmico representado na Figura 14. Desta maneira, este método VT-HAA foi retomado e aplicada para os compostos da Figura 11, cujos pares redox não possuem cargas equivalentes.

O ciclo termodinâmico representado na Figura 14 foi utilizado para obter o potencial de redução desejado (E_2^0) em função do potencial de redução do seu cognado neutralizado (E_1^0) e de ΔG_{diag} , que representa a diferença de energia livre “diagonal” para a reação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}] + 2e^- + 2\text{H}^+ \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{NH}^{\wedge}\text{C})] + \text{HCl}$ e sua derivada da temperatura. Analogamente, o mesmo ciclo foi usado para os compostos neutros tridentados **Ck**, **Cj**, **Cn** e **Co**, assim como para os compostos neutros bidentados **Cb-d**. Tomando o composto **Cc** como exemplo, a reação diagonal é representada como, $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}_2] + 2e^- + 2\text{H}^+ \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{NH})\text{Cl}] + \text{HCl}$. Por outro lado, os compostos **Ca**, **Ce-h** apresentam carga de igual magnitude nos seus correspondentes pares redox (+1/-1) e, portanto, o potencial de redução para estes compostos foi calculado desde a equação (5) sem a inclusão da correção VT-HAA.

Figura 14 - Ciclo termodinâmico utilizado para estimar o potencial de redução (E_2^0) do complexo Ci $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ usando a metodologia VT-HAA.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2017.

De acordo com o ciclo da Figura 14, a energia livre diagonal pode ser definida como:

$$\Delta G_{diag} = \Delta G_1 \quad (10)$$

Ou,

$$\Delta G_{diag} = \Delta G_2 + \Delta G_{p1} + \Delta G_{p2} \quad (11)$$

O potencial de redução calculado desde ΔG_{diag} , é definido como potencial de “hidrogenação” (E_H^0):

$$E_H^0 = \frac{-\Delta G_{diag}}{2} + G_{H^+} - E_{SHE}^0 \quad (12)$$

De acordo com o ciclo, E_H^0 também pode ser definido através das seguintes equações:

$$E_H^0 = E_1^0 \quad (13)$$

$$E_H^0 = E_2^0 - \frac{1}{2}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (14)$$

Igualando as equações (13) e (14) temos:

$$E_H^0 = E_1^0 = E_2^0 - \frac{1}{2}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (15)$$

Somando duas vezes E_H^o , temos:

$$2E_H^o = E_1^o + E_2^o - \frac{1}{2}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (16)$$

$$E_H^o = \frac{1}{2}(E_1^o + E_2^o) - \frac{1}{4}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (17)$$

Igualando as equações (12) e (17), e, isolando a energia livre diagonal obtemos:

$$-\Delta G_{diag} = E_1^o + E_2^o - 2G_{solv}(H^+) + 2E_{(SHE)}^o - \frac{1}{2}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (18)$$

Os termos do lado direito da equação (18) são chamados de:

$$2\varepsilon = E_1^o + E_2^o - 2G(H^+) + 2E_{(SHE)}^o \quad (19)$$

$$b = -\frac{1}{2}(\Delta G_{p1} + \Delta G_{p2}) \quad (20)$$

Considerando que ΔG_{diag} é dependente da temperatura e supondo que 2ε , definido pela equação (19), é independente da temperatura (válido para pequenas variações de temperatura), o termo $\frac{-\Delta G_{diag}}{T}$ é linearmente dependente com $1/T$. Desta forma, temos a seguinte equação linear:

$$\frac{-\Delta G_{diag}}{T} = \frac{2\varepsilon}{T} + b \quad (21)$$

Note-se que a constante b contém informações sobre os processos de protonação dos produtos reduzidos mostrados na Figura 14.

Derivando a equação (21) em função de T , encontramos que:

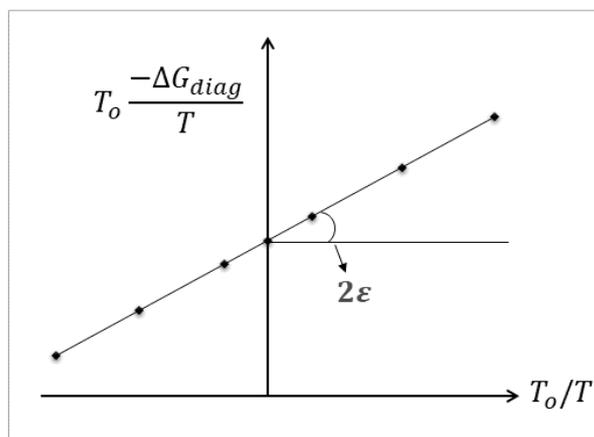
$$2\varepsilon = \Delta G_{diag}(T_o) - T_o \left. \frac{d\Delta G_{diag}(T)}{dT} \right|_{T=T_o} \quad (22)$$

Finalmente, substituindo 2ε da equação (22) na equação (19) e, isolando o potencial E_2^o , obtemos a mesma expressão representada abaixo do ciclo na Figura 14.

$$E_2^0 = \left(\Delta G_{diag}(T_o) - T_o \frac{d\Delta G_{diag}(T)}{dT} \Big|_{T=T_o} \right) + 2G(H^+) - 2E_{(SHE)}^0 - E_1^0 \quad (23)$$

Desta maneira, com a equação (23) obtemos o potencial E_2^0 desejado para o composto neutro C_i e analogamente para a série de compostos neutros representados na Figura 11. Os termos entre parênteses no lado direito da equação (23) são obtidos a partir da inclinação da reta do gráfico $-T_o\Delta G_{diag}/T \times T_o/T$, como representado abaixo na Figura 15. A energia livre de solvatação experimental do próton em solução aquosa $G(H^+) = -265.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ ou $-11,53 \text{ eV}$, foi usada na equação (23) (CAMAIONI; SCHWERDTFEGER, 2005).

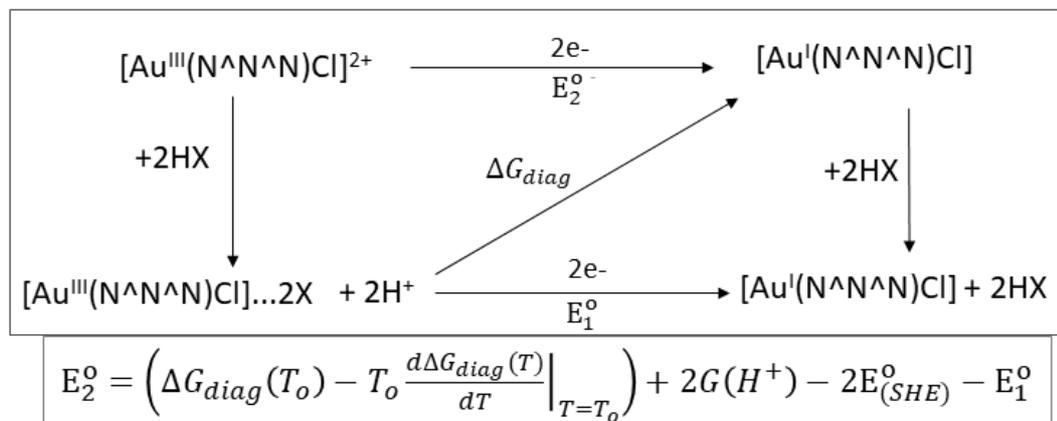
Figura 15 - Representação do gráfico $-T_o\Delta G_{diag}/T \times T_o/T$ para a obtenção do termo 2ε (entre parêntese) na equação (23).



Fonte: Adaptada de BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016.

Uma metodologia similar também foi utilizada para melhorar a predição do potencial de redução dos compostos catiônicos C_I e C_m (carga +2), a qual chamaremos de VT-HXAA. Neste caso, o par redox apresenta carga +2/0. O potencial de redução E_2^0 foi calculado de acordo com o ciclo proposto na Figura 16. Os contra-íons $X = F^-, Cl^-, Br^-, ClO_4^-$ e $F_3CSO_3^-$ foram usados para neutralizar as espécies carregadas, assim como para avaliar o efeito do tamanho do contra-íon na predição do potencial de redução.

Figura 16 - Ciclo termodinâmico utilizado para estimar o potencial de redução (E_2^0) dos complexos catiônicos CI e Cm usando a metodologia VT-HXAA (onde X= F⁻, Cl⁻, Br⁻, ClO₄⁻ e F₃CSO₃⁻).



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

3.1.3 Propriedades estéricas e eletrônicas dos ligantes

Uma vez calculados os potenciais de redução dos compostos de ouro (Figuras 10 e 11), estes foram correlacionados com parâmetros estruturais estéricos e eletrônicos que serão descritos a seguir.

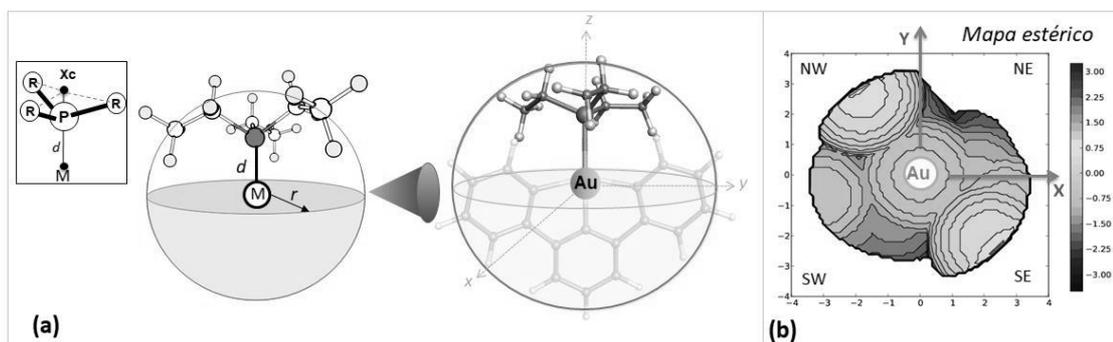
a) Parâmetros estéricos

O impacto estérico dos ligantes PR₃ foi medido através do percentual do “buried volume” (%V_{bur}) usando o programa SambVca 2.0 disponível online (<https://www.molnac.unisa.it/OMtools/sambvca2.0>) (POATER et al., 2009; FALIVENE et al., 2016). O %V_{bur} é a fração do volume de uma esfera centralizada no metal, ocupada por um determinado ligante. O volume dessa esfera representa o espaço ao redor do átomo de metal que deve ser compartilhado pelos diferentes ligantes após a coordenação (primeira esfera de coordenação) (POATER et al., 2009; FALIVENE et al., 2016; GÓMEZ-SUÁREZ; NELSON; NOLAN, 2017).

O cálculo da %V_{bur} requer a definição de um átomo central ao qual o ligante é coordenado. Se a estrutura a ser examinada é um composto de coordenação, as coordenadas do centro do metal são usadas. Caso apenas a estrutura do ligante esteja disponível, um centro de metal putativo (M) deve ser definido. Em relação às fosfinas, o átomo de fósforo está coordenado com o centro

M de ouro. Este centro M está localizado na linha que passa pelo ponto a ser coordenado (P) e ao centro de massa dos três átomos R ligados diretamente ao átomo de P nas fosfinas (X_C) (Figura 17a).

Figura 17 - Representação gráfica (a) da esfera usada para calcular o $\%V_{bur}$; e (b) dos mapas de contorno ou mapas estéricos. A partir dos mapas de contorno é possível obter o V_{bur} para cada quadrante ao redor do metal, onde NW=*North West*, NE=*North East*, SW=*South West* e SE=*South East*.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

Uma vez que a posição do centro M é definida, uma esfera de raio r (centrada em M) é construída. Esta esfera é seccionada por uma malha cúbica regular tridimensional de espaçamento (s), que define voxels cúbicos v_{xyz} de volume s^3 . A distância entre o centro de cada voxel com todos os átomos do ligante a avaliar, é testada para verificar se algum dos átomos está dentro da distância de van der Waals. Se nenhum átomo estiver a uma distância de van der Waals, o volume s^3 do voxel examinado é atribuído ao volume livre V_{free} . Inversamente, se um único átomo estiver a uma distância de van der Waals, o volume s^3 do voxel examinado é atribuído ao *volume buried* (V_{bur}). A partir dessa última descrição, o volume da esfera V_{Sphere} é definido pela equação (24). O $\%V_{bur}$, é simplesmente calculado pela fração do V_{bur} sobre o volume total da esfera (equação 25) (POATER et al., 2009).

$$V_{Sphere} = \sum V_{XYZ} = V_{free} + V_{bur} = \sum V_{XYZ}(free) + \sum V_{XYZ}(buried) \quad (24)$$

$$\%V_{bur} = \frac{V_{bur}}{V_{Sphere}} * 100 \quad (25)$$

O $\%V_{bur}$ foi calculado usando a distância (d) Au-P predita através do cálculo de otimização para cada composto $[Au^{III}(X^N^X)(PR_3)]^{3+n}$, um raio r de 3,5 Å, um espaçamento

de malha de 0,1 Å para a integração numérica e, finalmente, excluindo os átomos de hidrogênio dos ligantes de fosfina.

Mapas estéricos foram gerados após o cálculo do $\%V_{bur}$ usando o mesmo software SambVca 2.0. Os mapas estéricos relatam o valor ao longo do eixo z no qual o ligante começa a ocultar o espaço do centro do metal na esfera de coordenação. Deste modo, o volume estérico que se apresenta ao redor do metal é representado por meio de contornos coloridos. Adicionalmente, ao gerar estes mapas de contorno, é possível obter o V_{bur} para cada quadrante ao redor do metal (Figura 17b). Os mapas de contorno são usados para complementar a análise das propriedades estéricas dos ligantes de fosfina, especialmente para estudar como o impacto estérico do ligante é distribuído por todo o espaço (GÓMEZ-SUÁREZ; NELSON; NOLAN, 2017).

b) Parâmetros eletrônicos

As energias dos orbitais HOMO e LUMO para as fosfinas e os ligantes multidentados ($\epsilon(\text{HOMO})$ e $\epsilon(\text{LUMO})$), foram tomadas como principais parâmetros eletrônicos. No caso dos compostos (A) e (B) com variação de fosfina, a doação de carga $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})$ (δ_{PR_3}) e $\text{P} \rightarrow \text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})$ (δ_{P}), também foram selecionados como parâmetros eletrônicos. Já no caso dos compostos (C) com variação do ligante multidentado, a carga local do cloreto (q_{Cl^-}), a variação da carga do ouro através da redução (δq_{Au}), assim como a carga do ligante multidentado (lig) (q_{lig}) foram tomados como parâmetros eletrônicos. Estas propriedades foram quantificadas a partir de cálculos de orbitais moleculares (OM) e da análise NBO disponíveis no pacote computacional Gaussian 09 Rev. D.01 (FRISCH et al., 2009). Todos os cálculos foram realizados usando o mesmo protocolo computacional para a otimização das estruturas, PBE0/def2TZVP/6-31+G(2d)/SMD($\epsilon_r=78,3553$).

Os orbitais NBOs (*Natural bond orbitals*) fornecem uma descrição precisa da distribuição de elétrons sobre as ligações ou pares livres das estruturas moleculares, semelhante à estrutura de Lewis de pares de elétrons (ocupação máxima de 2 elétrons). No caso dos complexos metálicos, quando os orbitais híbridos (NHO, *natural hybrid orbital*) dos ligantes são sobrepostos aos orbitais híbridos dos íons metálicos, ocorre a deslocalização de elétrons (GLENDENING et al., 2001).

Neste caso podemos definir A como o ligante, e B como o íon metálico, onde h_A e h_B são seus correspondentes orbitais híbridos NHO e c_A e c_B seus correspondentes coeficientes de polarização.

$$\sigma_{AB} = c_A h_A + c_B h_B \quad (26)$$

A partir a análise NBO é possível obter uma energia de estabilização devido ao deslocamento eletrônico entre ligantes e o centro metálico. Essa energia de estabilização $E^{(2)}$ é calculada a partir da teoria de perturbação de segunda ordem. Para cada orbital doador NBO (i) e receptor NBO (j), a energia de estabilização $E^{(2)}$ associada à deslocalização é estimada como:

$$E^{(2)} = q_i \frac{\langle i|\hat{F}|j\rangle^2}{\epsilon_j - \epsilon_i} \quad (27)$$

Onde q_i é a ocupação do orbital doador, ϵ_i e ϵ_j são as energias dos orbitais e $F(i,j)$ é o elemento da matriz NBO Fock fora da diagonal. Quanto maior o valor de $E^{(2)}$, mais intensa é a interação entre os orbitais doadores e receptores (GLENDENING et al., 2001).

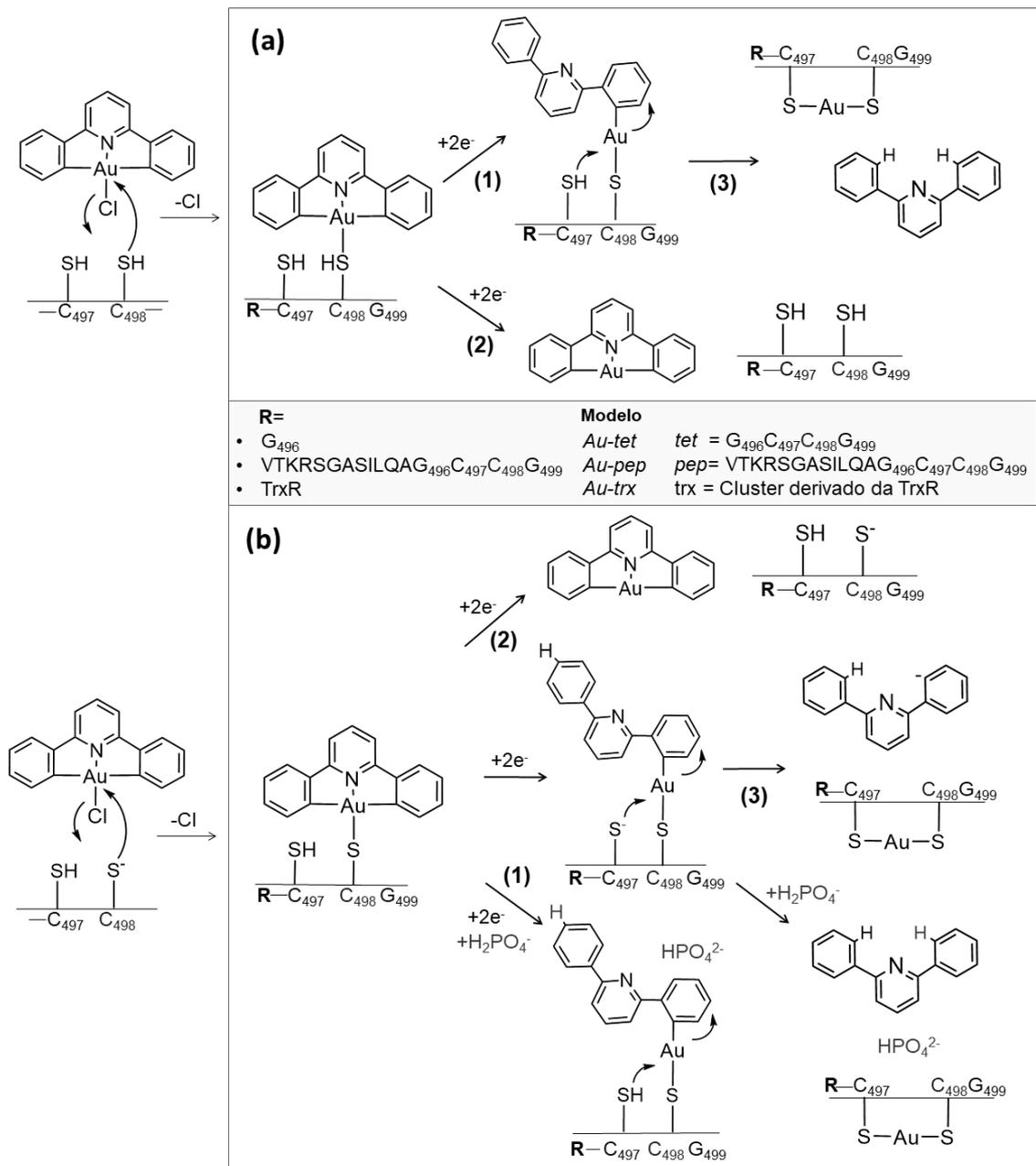
3.2 METODOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DAS ETAPAS III E IV

Nesta seção serão relatados os métodos usados para a identificação e criação de modelos de interação entre o complexo de ouro(III) **1a** e a TrxR, os quais serão tomados como modelos de partida para o estudo dos processos representados na Figura 18. O processo de redução (1) envolve a abertura do anel quelato C^N^C , e o processo (2) ocorre com a liberação da fração $[Au^I(C^N^C)]^-$. Os processos (1) e (2) foram inicialmente calculados e, em seguida, a reação final de troca (3), para a inibição total da enzima, foi modelada.

As reações de troca Cl^-/SH e Cl^-/S^- representadas fora da caixa da Figura 18, foram estudadas anteriormente (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018) usando metanotiol como modelo. A reação mostrou ser muito rápida ($k=2,98 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), com uma barreira de energia estimada em $8,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018). Desta maneira, as reações que envolvem o metabólito Au-TrxR, agora são estudados com modelos mais realísticos. Os processos de redução $Au^{3+} \rightarrow Au^{1+}$, representados por (1) e (2) na Figura 18, foram calculados para os três modelos Au-tet, Au-pep e Au-trx. A

única exceção é para o modelo maior Au-trx, para o qual, a reação com Cys498 na forma desprotonada (Figura 18b) não foi abordada devido ao alto custo computacional de cálculos quânticos para macromodelos. A reação final de troca de ligante (3) foi abordada apenas para o menor modelo Au-tet.

Figura 18 - Processos de reação estudados nas etapas III e IV com Cys498 na forma (a) protonada e (b) desprotonada.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

3.2.1 Modelos de interação de complexos de ouro(III) com a enzima TrxR

Três modelos distintos foram usados para simular o complexo de ouro(III) ligado à Cys498 da estrutura da enzima TrxR. No menor modelo Au-tet, os últimos 4 resíduos do braço C-terminal foram representados (tet= Gly496-Cys497-Cys498-Gly499 = G₄₉₆C₄₉₇C₄₉₈G₄₉₉). No modelo Au-pep, pep representa todo o braço C-terminal (pep=Val484-Thr485-Lys486-Arg487-Ser488-Gly489-Ala490-Ser491-Ile492-Leu493-Gln494-Ala495-Gly496-Cys497-Cys498-Gly499 = (VTKRSGASILQAGC₄₉₇C₄₉₈G) e, no maior modelo Au-trx, trx é um “cluster” derivado da estrutura da TrxR, o qual inclui o sítio ativo dos domínios N-terminal e C-terminal da enzima. Para os modelos maiores Au-pep e Au-trx, simulações de dinâmica molecular (DM) foram inicialmente conduzidas a fim de explorar o espaço conformacional e selecionar modelos mais representativos.

a) Construção do modelo Au-pep

Primeiramente, foi necessário preparar cada uma das espécies que compõem o modelo, i.e., o complexo de ouro(III) e o peptídeo do braço C-terminal para o subsequente tratamento clássico com as simulações por DM. A estrutura inicial do composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$ foi tomada do nosso trabalho prévio, a qual havia sido otimizada em fase gasosa no nível B3LYP/def2-TZVP/6-31+G(2df) (ANDRAE et al., 1990; BECKE, 1993; WEIGEND; AHLRICHS, 2005). O primeiro conjunto de funções de base (def2-TZVP) foi utilizado para o átomo de Au (ECP para os 60 elétrons internos e base triplo-zeta com um conjunto de funções de polarização-f para os 19 elétrons de valência) e o segundo (6-31+G(2df)) foi aplicado aos átomos do ligante. Por outro lado, a estrutura inicial para o braço C-terminal foi obtida da estrutura da enzima TrxR (PDB 2J3N) mantendo os resíduos Cys497 e Cys498 na forma reduzida/protonada. O grupo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ foi ligado ao átomo de enxofre da Cys498, como representado na Figura 18.

b) Construção do modelo Au-trx

No modelo Au-trx, a estrutura básica da TrxR na forma de homodímero foi usada para identificar os resíduos mais próximos ao composto de ouro. Neste modelo, o par ativo Cys59/Cys64 foi mantido no estado oxidado com a ligação dissulfeto formada, e o par catalítico Cys497/Cys498 do braço C-terminal na forma reduzida e protonado. Os cofatores NADPH e

FAD também foram incluídos. Como feito para o modelo Au-pep, o grupo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ foi ligado à estrutura básica da TrxR, a qual é encontrada na forma de um homodímero. O dímero utilizado consiste nas unidades C e D da estrutura cristalográfica de código 2J3N depositada no *Protein Data Bank* (PDB) [18].

O modelo menor Au-tet, foi tomado das estruturas selecionadas de Au-trx, após os cálculos de otimização de geometria. Além dos três modelos mencionados, o modelo mais simples contendo o ligante metanotiol, $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, foi considerado para fins de comparação. Este modelo foi chamado de model-0.

Como mencionado anteriormente, os modelos maiores Au-pep e Au-trx, foram submetidos a simulações de DM em solução aquosa. Posteriormente, diferentes pontos da trajetória de simulação (*snapshots*) foram selecionados e usados como estruturas iniciais para cálculos de mecânica quântica. Os detalhes da DM e dos cálculos quânticos abordados são apresentados a seguir.

c) Parametrização de Au-pep

A parametrização do campo de força clássico foi realizada para o composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$ e para o peptídeo que representa a porção C-terminal da enzima TrxR. Esta parametrização consiste em determinar as constantes de força para ligações e ângulos, valores de equilíbrio para os parâmetros estruturais e as cargas atômicas que satisfaçam a energia potencial total do sistema como mostrado na equação (28) (DAVID A. CASE et al., 2016).

$$\mathbf{E}_{\text{total}} = \sum_{\text{ligações}} \mathbf{k}_b (\mathbf{r} - \mathbf{r}_{\text{eq}})^2 + \sum_{\text{ângulos}} \mathbf{k}_\theta (\theta - \theta_{\text{eq}})^2 + \sum_{\text{diedros}} \frac{V_\psi}{2} [1 + \cos(\mathbf{n}\varphi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \right] \quad (28)$$

Os três primeiros termos da equação (28) descrevem a energia potencial através de contribuições de átomos ligados. O primeiro somatório é referente aos parâmetros que descrevem as ligações, sendo k_b , a constante de força de estiramento em $\text{kcal mol}^{-1} \text{\AA}^{-2}$ e r_{eq} o comprimento de ligação na posição de equilíbrio (\AA). O segundo somatório é referente aos parâmetros que descrevem os ângulos de ligações, onde k_θ é a constante de força de deformação angular em $\text{kcal mol}^{-1} \text{rad}^{-2}$ e θ_{eq} é o ângulo de equilíbrio (radianos). O terceiro somatório

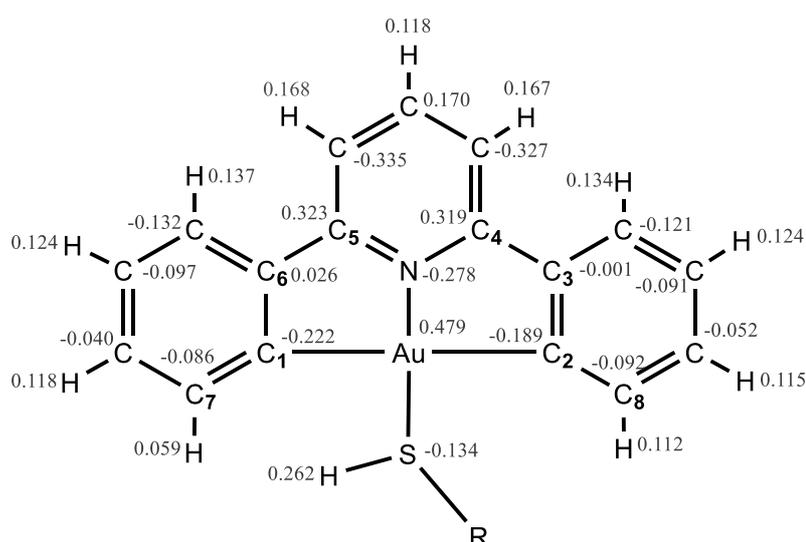
descreve o potencial devido à torção onde o termo $V\varphi$ se relaciona com a barreira de energia associada ao movimento de torção (kcal mol^{-1}), n é a periodicidade da rotação, isto é, o número de ciclos em 360° , φ é o ângulo de torção (radianos) e γ é o ângulo de fase (radianos) no qual o potencial atinge o seu valor mínimo. O último termo representa as interações entre pares de átomos não ligados covalentemente (i, j) representados pela soma do potencial de Lennard-Jones (LJ) e do potencial de Coulomb, onde, r_{ij} é a distância entre átomos, q_i é a carga do átomo i e as constantes A_{ij} e B_{ij} são definidas como: $A_{ij} = 4\epsilon\sigma_{ij}^{12}$, $B_{ij} = 4\epsilon\sigma_{ij}^6$, sendo ϵ a energia no fundo do poço de potencial e σ_{ij} a distância em que a energia potencial é zero, dada para cada par de átomos i e j (DAVID A. CASE et al., 2016). Estes dois últimos também são conhecidos como parâmetros de Lennard-Jones.

As cargas atômicas ChelpG (BRENEMAN; WIBERG, 1990) do complexo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, foram obtidas utilizando o método HF com o conjunto de funções de base 6-31G(d) para os átomos não metálicos e o pseudopotencial def2-TZVP para o Au (Figura 19). Os parâmetros para os átomos do peptídeo do braço C-terminal não contemplados na Figura 19 (indicados por -R), foram extraídos do campo de força ff14SB (MAIER et al., 2015). Devido ao alto custo computacional dos cálculos quânticos, o programa Amber, através do módulo Antechamber, utiliza um método semi-empírico chamado Austin Model1 (AM1) (JAKALIAN; JACK; BAYLY, 2002). O método AM1 inclui um termo de correção de carga chamado BCC (*bond charge correction*); este último termo tenta mimetizar a polarização gerada pelo método HF/6-31G(d), o qual superestima a polaridade das moléculas entre 10 e 15% aproximadamente (BRENEMAN; WIBERG, 1990; WIBERG; RABLEN, 1993). Desta maneira, é adequado usar o método HF para gerar as cargas dos átomos do complexo de ouro que será ligado ao braço C-terminal da enzima.

Os pacotes computacionais empregados em simulações por DM, como o AMBER® (DAVID A. CASE et al., 2016), já possuem em suas bibliotecas os parâmetros do campo de força de sistemas convencionais, como é o caso das moléculas orgânicas e algumas biomoléculas. Entretanto, para sistemas que contêm íons metálicos ligados covalentemente, como em complexos de ouro(III), estes parâmetros não se encontram disponíveis. Dessa forma, as constantes de força, k_b e k_θ , que envolvem o átomo de ouro no composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, foram obtidas através do software VFFDT, que utiliza os resultados de cálculos quânticos de frequências harmônicas (ZHENG et al., 2016) para obter esses parâmetros. Os valores obtidos para estes parâmetros são reportados na Tabela 1. Os parâmetros

não-ligados ϵ e σ , massa e polarizabilidade, usados para o ligante C^N^C , foram obtidos do campo de força GAFF (*General AMBER force field*), utilizado para moléculas orgânicas (WANG et al., 2004), disponível no *software* Amber16 (DAVID A. CASE et al., 2016). Os valores de diedro utilizados ($V\phi$, Tabela 1), foram definidos de modo a garantir a planaridade do complexo. Os parâmetros de Lennard-Jones ϵ e σ para o íon Au^{3+} incluídos na Tabela 1, foram tomados dos reportados para o íon isoeletrônico de Pt^{2+} obtidos por Yao e colaboradores (YAO; PLASTARAS; MARZILLI, 1994).

Figura 19 - Cargas atômicas ChelpG atribuídas aos átomos do complexo $[Au^{III}(C^N^C)(SH-R)]^+$ (b). SH- faz parte do resíduo Cys498 do braço terminal (R). As cargas dos átomos de R não foram modificadas em relação ao campo de força usado para o peptídeo.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Tabela 1 - Parâmetros inseridos no campo de força do metal. Constantes de força k_b dadas em $kcal\ mol^{-1}\ \text{Å}^{-2}$, k_θ em $kcal\ mol^{-1}\ rad^{-2}$ e V_ϕ em $kcal\ mol^{-1}$.

(continua)		
Átomos	k_b	Comprimento de ligação / Å
Au-N	157,47	2,008
Au-C ₁	117,77	2,107
Au-C ₂	117,18	2,105
Au-S	92,90	2,343
Átomos	k_θ	Ângulo/ $^\circ$
N-Au-C ₁	128,32	81,02
N-Au-C ₂	130,16	81,11
N-Au-S	115,44	177,22
C ₁ -Au-C ₂	170,65	162,12

Tabela 1 - Parâmetros inseridos no campo de força do metal. Constantes de força k_b dadas em kcal mol⁻¹Å⁻², k_θ em kcal mol⁻¹ rad⁻² e V_φ em kcal mol⁻¹.

Átomos	k_θ	Ângulo/°
C ₁ -Au-S	143,69	101,72
C ₂ -Au-S	145,67	96,15
Au-N-C ₅	130,12	117,37
Au-N -C ₄	129,24	117,21
Au-C ₁ -C ₆	171,56	110,26
Au-C ₁ -C ₇	184,33	131,36
Au-C ₂ -C ₃	169,92	110,26
Au-C ₂ -C ₈	185,47	131,03
Au-S-H ₁	61,65	102,53
Au-S-C ₉	159,60	105,12
Átomos	V_φ	Ângulo/°
Au-N-C ₅ -C ₆	10,0	0,0
Au-N-C ₄ -C ₃	10,0	0,0
C ₁ -Au-C ₂ -C ₃	10,0	0,0
C ₂ -Au-C ₁ -C ₆	10,0	0,0
Atomos	ϵ	σ
Au	2,44	0,40

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Finalmente, o complexo de ouro(III) foi ligado ao braço C-terminal através do enxofre do resíduo Cys498, o qual é o responsável pelo ataque à Trx oxidada (Cys32-Cys35) formando uma ponte dissulfeto entre a Cys498 da TrxR e Cys32 da Trx para a respectiva redução da Trx (CHENG et al., 2009).

Após o complexo de ouro(III) ser ligado ao braço C-terminal, uma pequena carga residual resultante (+0,124 u.a.) foi atribuída ao grupo CH₂ ligado ao S da Cys498 e ao átomo de Au como descrito na Tabela 2. A carga final do Au no composto obtido [Au^{III}(C^NC-pep)]³⁺ (pep=C-terminal), foi de 0,473 u.a. e a carga positiva do modelo Au-pep foi +3. Contra íons de Cl⁻ foram adicionados para neutralizar o sistema. Em seguida, foi gerada uma caixa de solvatação com a inserção de moléculas de água, em formato de um octaédrico truncado, com uma distância mínima das arestas da caixa de 15 Å. Essas moléculas de água explícitas inseridas na caixa octaédrica truncada foram tratadas pelo modelo TIP3P (JORGENSEN et al., 1983). O modelo TIP3P (*transferible intermolecular potential with 3 points*), possui três sítios correspondentes aos três átomos da molécula de água. Além disso, usa uma geometria rígida correspondente às moléculas de água em sua estrutura média, onde cada sítio (ou átomo) tem um ponto de carga definido. As interações eletrostáticas são modeladas a partir do potencial de

Lennard-Jones; no entanto, este potencial só é aplicado para o sítio correspondente ao átomo de oxigênio (JORGENSEN et al., 1983). Estes modelos de três sítios atingem uma alta eficiência computacional, sendo bastante usados em simulações de DM.

Tabela 2 - Distribuição de carga após a ligação da fração $[Au^{III}C^{\wedge}N^{\wedge}C]^+$ a Cys498 do peptídeo (R). Grupo $*CH_2$ ligado a S_{Cys498} .

Átomo (método)	Carga inicial /u.a.	Carga final /u.a.	Alteração da carga /u.a.
Au (HF)	+0,479	+0,473	-0,006
*C (AM1-BCC)	-0,123	-0,057	+0,066
*H (AM1-BCC)	+0,111	+0,143	+0,032
*H (AM1-BCC)	+0,111	+0,143	+0,032
<i>Carga residual</i>			+0,124

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

d) Parametrização de Au-trx

Similarmente, como descrito para o modelo Au-pep, a parametrização do campo de força do modelo Au-trx foi realizada para ambas as espécies envolvidas no sistema, $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)(SHCH_3)]^+$ e a estrutura da enzima TrxR (PDB=2J3N). De forma geral, a parametrização foi realizada da mesma forma do modelo Au-pep; no entanto, para o modelo Au-trx, a carga de Au foi de 0,505 u.a. e a carga líquida igual a -20, que foi neutralizada pela adição de contra-íons de Na^+ . Neste caso foi usada uma caixa de solvatação cúbica de 17 Å. As moléculas de água também foram representadas pelo modelo TIP3P (JORGENSEN et al., 1983).

e) Simulações de dinâmica molecular

Todas as simulações de DM apresentadas neste trabalho foram realizadas utilizando o software Amber16® (DAVID A. CASE et al., 2016). Para o modelo Au-pep, as simulações de DM foram realizadas mantendo a estrutura livre (Au-pep1), restringindo o primeiro resíduo do C-terminal, Val484 (Au-pep2), e, finalmente, restringindo os três primeiros aminoácidos na sequência Val484-Thr485-Lys486 (Au-pep3). As últimas duas simulações foram realizadas

tentando mimetizar a ligação do braço C-terminal com a α -hélice do domínio de interface da enzima, onde estes primeiros três resíduos ficam antiparalelos com a terminação da folha β no mesmo domínio da interface como mostrado na Figura 3a. A restrição dos átomos foi realizada aplicando-se um potencial harmônico com uma constante de força para restrição de 100 kcal mol⁻¹ Å⁻².

No caso do maior modelo Au-trx, foram realizadas duas simulações. A primeira simulação foi abordada com o braço C-terminal direcionado para o centro redox (Au-trx1) como representado na Figura 3b; enquanto que a segunda simulação foi abordada com o braço C-terminal deslocado em direção à superfície da enzima, como mostrado na Figura 3c (Au-trx2). Adicionalmente, uma simulação do TrxR livre também foi realizada para fins de comparação e controle.

As simulações de DM seguiram as seguintes etapas:

(i) Primeiramente, cada sistema foi submetido a uma única etapa de minimização. Esta etapa procura uma estrutura próxima de um ponto de mínimo de energia potencial, reduzindo o contato repulsivo entre os átomos. Esta etapa foi realizada mantendo todas as moléculas de soluto e solvente livres.

(ii) A próxima etapa na simulação envolveu a introdução artificial do sistema em um “banho térmico” com o objetivo de elevar a temperatura do sistema até um valor de interesse. Desta forma, cada sistema foi aquecido de 9 K a 109 K durante 25 ps em uma primeira etapa empregando o *ensamble* canônico NVT (número de partículas, volume e temperatura constantes) (*aquecimento 1*).

(iii) Em seguida, foi realizada uma etapa de equilíbrio utilizando o *ensemble* isotérmico-isobárico NPT, (número de partículas, pressão e temperatura constantes) a 109 K e pressão 1 bar por 30 ps (*equilíbrio 1*).

(iv) Posteriormente, uma segunda etapa de aquecimento foi realizada de 109 K a 309 K a NVT de 25 ps (*aquecimento 2*), também acompanhada de uma etapa de equilíbrio NPT a 309 K e 1 bar, realizando um tempo de simulação mais prolongado de 1 ns (*equilíbrio 2*).

De forma geral, essas etapas de equilíbrio após o aquecimento envolvem a estabilização das propriedades do sistema como a temperatura T, a pressão P, a energia E e a densidade (ρ) até atingir valores desejáveis. Como mencionado acima, a densidade foi equilibrada desde o *ensemble* isotérmico-isobárico NPT, a fim de se obter um valor de ρ próximo a 0,9934 g cm⁻³ a 309 K. O termostato de Langevin (UBERUAGA; ANGHEL; VOTER, 2004) foi utilizado em todas as etapas (aquecimento, equilíbrio e produção) com o valor de $\gamma = 1,0$ ps⁻¹ (número de

colisões por ps) e nas etapas de equilíbrio e produção foi empregado o barostato de Berendsen (BERENDSEN et al., 1984).

O procedimento de integração numérica usado para resolver as equações newtonianas de movimento foi o algoritmo *Leapfrog* (VAN GUNSTEREN; BERENDSEN, 1988). O algoritmo Leapfrog basicamente auxilia na integração numérica das equações do movimento definidas a partir da energia potencial total do sistema na equação (28). Assim, são obtidas as velocidades e posições dos átomos em um intervalo de tempo definido por dt , conhecido como fator de integração. Por fim, após vários intervalos dt , obtém-se a trajetória do sistema. O algoritmo SHAKE (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977) foi usado para restringir as oscilações das ligações que envolvem os átomos de hidrogênio, o que permitiu empregar o fator de integração $dt = 2$ fs. Por outro lado, as interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas usando o método *particle mesh Ewald* (PME) (DARDEN; YORK; PEDERSEN, 1993).

Para os modelos Au-pep1-3 foram realizados 50 ns de simulação na etapa de produção, resultando em uma trajetória de 5000 *frames* (1 *frame*=0,01 ns) a uma temperatura de 309 K. No caso dos modelos maiores Au-trx1, Au-trx2 e TrxR, foram realizadas simulações de 150 ns a 309 K. As trajetórias foram analisadas por meio do programa CPPTRAJ (ROE; CHEATHAM, 2013) enquanto que as imagens das simulações de DM foram produzidas utilizando o *software Visual Molecular Dynamics* (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996). O algoritmo Linear Combination of Pairwise Overlaps (LCPO) foi utilizado para calcular a superfície acessível ao solvente (SASA) (LEE; RICHARDS, 1971).

3.2.2 Cálculo do potencial padrão de redução: E^0

O cálculo de E^0 para os modelos Au-tet, Au-pep e Au-trx, assim como para os modelos mais simples $[Au^{III}(C^N^C)L]^{3+n}$ ($L = Cl^-, H_2O$ e SCH_3 , onde n é a carga dos ligantes), foi realizado em solução aquosa baseado nas semirreações de célula eletroquímica em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio (SHE).



Na equação (29.1) a redução envolve a abertura do anel quelato, enquanto na equação (29.2) a redução libera o ligante auxiliar (L) do braço C-terminal, onde L representa Cl⁻, H₂O ou, SHCH₃ nos modelos mais simples, o fragmento G₄₉₆C₄₉₇C₄₉₈G₄₉₉ em Au-tet, o braço C-terminal em Au-pep, e, TrxR no maior modelo Au-trx, o qual é um cluster derivado da estrutura da enzima TrxR. $\Delta G_{Au,aq}^o$ é o valor padrão em solução na concentração de 1 mol L⁻¹, 1 atm e 298,15 K. O valor de $\Delta G_{Au,aq}^o$, assim como o potencial de redução foram calculados da mesma forma descrita para os sistemas eletroquímicos mencionados anteriormente, utilizando as equações (5) e (6).

Para os modelos Au-tet, Au-pep e [Au^{III}(C[^]N[^]C)L]³⁺ⁿ, a otimização da geometria e os cálculos de frequência foram realizados no nível, PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S ou Cl), enquanto para as estruturas selecionadas a partir do modelo maior Au-trx, o nível de teoria PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(H,C,N,O)/6-31+G(d)(S) foi usado. Finalmente, a contribuição da energia eletrônica mais repulsão nuclear, $\Delta E_{Au,aq}$ (equação 6), foi recalculada usando o conjunto de base 6-31+G(2d) para todos os átomos (H, C, N, O, S), mantendo o funcional PBE0. O efeito do solvente foi incluído através do modelo SMD [35]. Resumindo, a notação PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H,C,N,O,S)// (Au-tet, Au-pep, [Au^{III}(C[^]N[^]C)L]³⁺ⁿ) será usada para referenciar a metodologia usada nos modelos Au-tet, Au-pep, [Au^{III}(C[^]N[^]C)L]³⁺ⁿ, enquanto que PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(d)(H,C,N,O,S)// será usada para o modelo Au-trx, onde a barra dupla (//) refere-se a um cálculo *single point* (ANDRAE et al., 1990; BECKE, 1993; WEIGEND; AHLRICHS, 2005; MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009). Todos os cálculos foram realizados no pacote Gaussian 09 Revisão D.01 (FRISCH et al., 2009).

3.2.3 Reação de troca C[^]N[^]C/Cys497

O processo (3) para a substituição do ligante C[^]N[^]C por Cys497, representado na Figura 18, foi calculado apenas para o modelo Au-tet, lembrando que tet representa o fragmento G₄₉₆C₄₉₇C₄₉₈G₄₉₉. Este processo representa a etapa final da transferência do Au para a enzima. O protocolo computacional utilizado para esta etapa final foi o mesmo usado para o cálculo do potencial de redução, PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H,C,N,O,S)// em solução aquosa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no desenvolvimento da tese estão apresentados seguindo a mesma ordem descrita na seção de metodologia, iniciando com as etapas I e II e finalizando com as etapas III e IV.

4.1 ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$

4.1.1 Análise estrutural

O íon Au^{3+} forma complexos quadrados-planos da mesma forma que o cátion isoeletrônico Pt^{2+} . A esfera de coordenação quadrada está ligeiramente distorcida devido à assimetria dos quatro ligantes. Os parâmetros estruturais calculados são resumidos na Tabela 3 e comparados com alguns dados experimentais disponíveis para $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PPh}_3)]^+$ (A31, Figura 10) na referência [11]. Na Tabela 3 são mostrados apenas os valores médios de todos os parâmetros; os dados individuais são fornecidos no Apêndice – B. A partir dos dados da Tabela 3, notamos que, apesar da ampla variação estrutural das fosfinas PR_3 na Figura 10, os parâmetros estruturais calculados para a série de compostos (A), espalham-se em uma pequena faixa em torno de 1% do valor médio. Além disso, os valores de referência estão dentro da faixa calculada, exceto para a ligação Au-P, a qual é prevista um pouco maior quando comparada ao estado sólido.

Tabela 3 - Parâmetros estruturais médios para os complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A) calculados no nível PBE0/def2-TZVP/6-31+G(2d) em fase gasosa.

	^a Valor médio	Faixa de valores	^b Valor expt.
Au-P/Å	$2,330 \pm 0,033$	2,303-2,395	2,297
Au-N/Å	$2,032 \pm 0,010$	2,017-2,052	2,04
Au-C/Å	$2,102 \pm 0,006$	2,092-2,134	2,092
$\angle\text{C-Au-C}/^\circ$	$159,8 \pm 1,78$	154,4 -169,2	161,2
$\angle\text{N-Au-P}/^\circ$	$172,9 \pm 3,66$	162,7-178,2	176,3

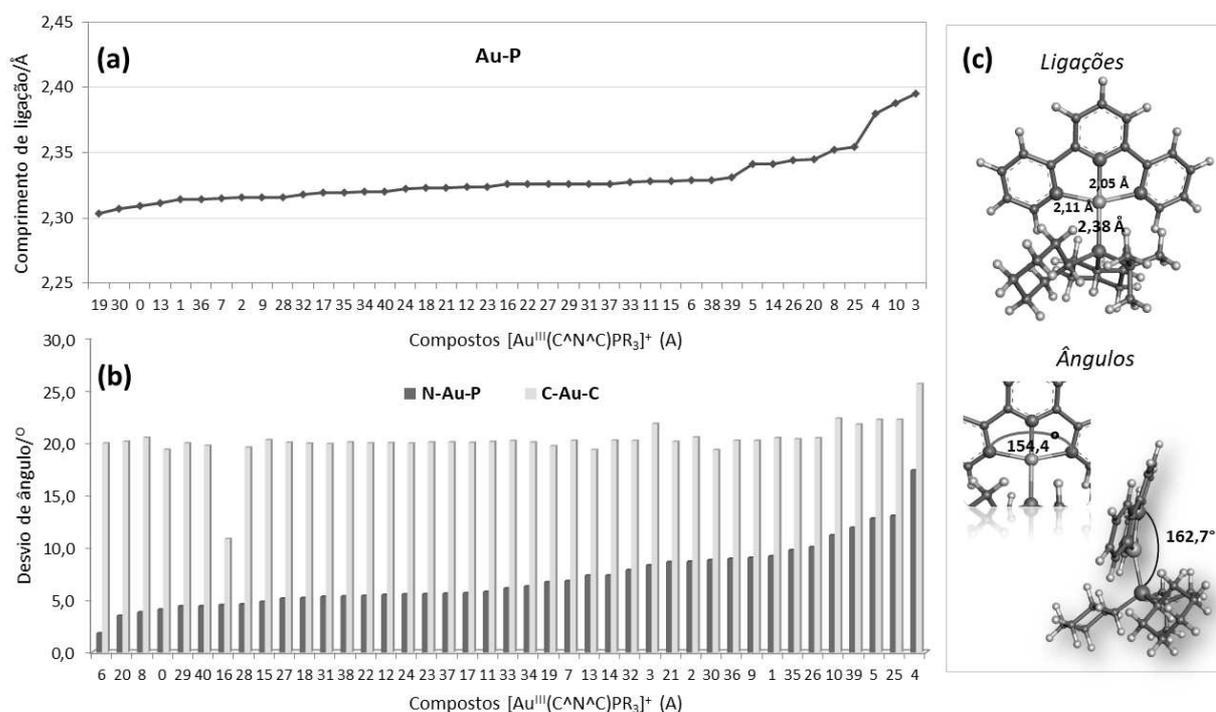
^aMédia sobre um conjunto de 41 estruturas. ^bEstrutura de raio X do composto A31, tomado da referência (LI et al., 2006).

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Analisando em uma forma mais específica, as faixas dos comprimentos de ligação calculados, 2,09-2,13 Å para Au-C e 2,01-2,05 Å para Au-N, estão próximos aos valores experimentais relatados para compostos semelhantes do tipo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$: 2,06-2,13 Å (Au-C) e 2,02-2,06 Å (Au-N). Os ângulos de ligação estimados $\angle\text{C-Au-C}$ e $\angle\text{N-Au-P}$ também foram concordantes com as estruturas experimentais, com desvio máximo de 0,9% [13,15].

A distância da ligação Au-P foi maior para os ligantes mais volumosos, especialmente para fosfinas contendo *t*-butil (*t*-Bu) e ciclohexil (Cy) como substituinte. Os complexos A3, A4, A8, A10, A20, A25 e A26 apresentaram a maior distância Au-P com valores entre 2,34 e 2,40 Å (Figura 20a). Os ângulos de ligação $\angle\text{C-Au-C}$ e $\angle\text{N-Au-P}$, mostram desvios da linearidade (Figura 20b), causando distorção da geometria quadrada plana (Figura 20c). A distorção é mais pronunciada na direção $\angle\text{C-Au-C}$ com um desvio na faixa de 10,8 a 25,6°, sendo também mais significativa para os complexos contendo ligantes PR_3 com grupos volumosos. O desvio do ângulo na vertical $\angle\text{N-Au-P}$ foi menor quando comparado a $\angle\text{C-Au-C}$; no entanto, este mostrou uma maior variação, sendo mais sensível à fosfina (ver Figura 20b).

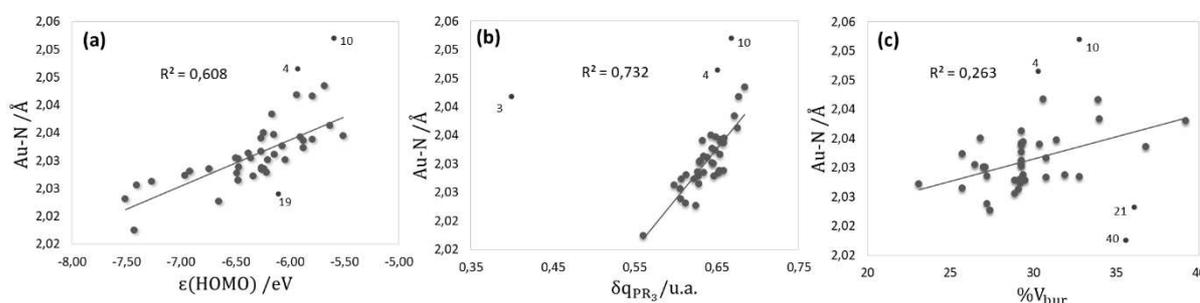
Figura 20 - (a) Variação da distância de ligação Au-P e (b) desvio dos ângulos $\angle\text{N-Au-P}$ e $\angle\text{C-Au-C}$ nos compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

As fosfinas são bem conhecidas como fortes ligantes *trans*-diretores. A influência *trans* estrutural pode ser medido pelo alongamento da ligação metal-ligante *trans* ao grupo PR₃, neste caso a ligação Au-N, o qual é atribuído principalmente ao efeito eletrônico doador. A Figura 21a representa o comprimento da ligação Au-N em função da energia do orbital HOMO ($\epsilon(\text{HOMO})$) das fosfinas livres. Observa-se claramente uma tendência a aumentar o comprimento da ligação Au-N com a capacidade de doação de elétrons $\epsilon(\text{HOMO})$ ($R^2 = 0,61$), ou seja, as fosfinas com alta energia HOMO são fortes ligantes doadores σ e induzem um efeito *trans* pronunciado. Os compostos contendo fosfinas fortes retiradoras de elétrons ($\epsilon(\text{LUMO})$ mais negativa), como é o caso dos compostos A40 e A21 com substituintes de flúor, mostraram uma ligação Au-N mais curta, de $\sim 2,02$ Å, enquanto, aqueles compostos contendo PR₃ forte doadoras de elétrons ($\epsilon(\text{HOMO})$ menos negativa) como A10, mostraram uma ligação Au-N ligeiramente maior, de $\sim 2,05$ Å.

Figura 21 - (a) Correlação entre o comprimento da ligação Au-N e a capacidade σ -doadora de PR₃ - $\epsilon(\text{HOMO})$, (b), doação total de carga PR₃→Au(C^{^N^C}) - δq e (c) %V_{bur}. Os compostos representados por pontos vermelhos não foram incluídos na linha de correlação.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

De forma geral, o efeito *trans* é representado satisfatoriamente pelo parâmetro $\epsilon(\text{HOMO})$; no entanto, são observados alguns valores discrepantes, por exemplo, A4 e A10, ambos contendo o grupo *t*-Bu que em parte é devido ao efeito estérico causado por fosfinas volumosas na estrutura do complexo de ouro(III). Portanto, é de se esperar que o efeito *trans* não seja totalmente representado por um parâmetro da fosfina isolada. Como tentativa de melhorar a representação do efeito *trans* por um único parâmetro eletrônico, foi definida a “doação total de carga” de PR₃ para a fração Au(C^{^N^C}), representada como δq_{PR_3} . A correlação entre a distância Au-N e δq_{PR_3} é mostrada na Figura 21b, sendo ligeiramente melhorada ($R^2 = 0,73$) em relação á correlação com $\epsilon(\text{HOMO})$ da fosfina isolada ($R^2 = 0,61$). O δq_{PR_3} foi calculado para a estrutura completa do complexo de ouro(III), de modo que os

efeitos eletrônicos e estéricos da fosfina são incluídos de alguma forma em um único descritor molecular. Na Figura 21b, notamos que, quanto mais carga é transferida do PR_3 para a fração $\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})$, mais pronunciado é o efeito *trans* na ligação Au-N. O efeito *trans* das fosfinas volumosas A3, A4 e A10 (pontos vermelhos na Figura 21b) não é representado por δq_{PR_3} e, os compostos correspondentes foram excluídos da linha de correlação. Por outro lado, a Figura 21c mostra claramente que o efeito estérico por si só, não representa o efeito *trans* para toda a série de fosfinas; embora, é possível observar que a ligação Au-N tende a aumentar para fosfinas volumosas.

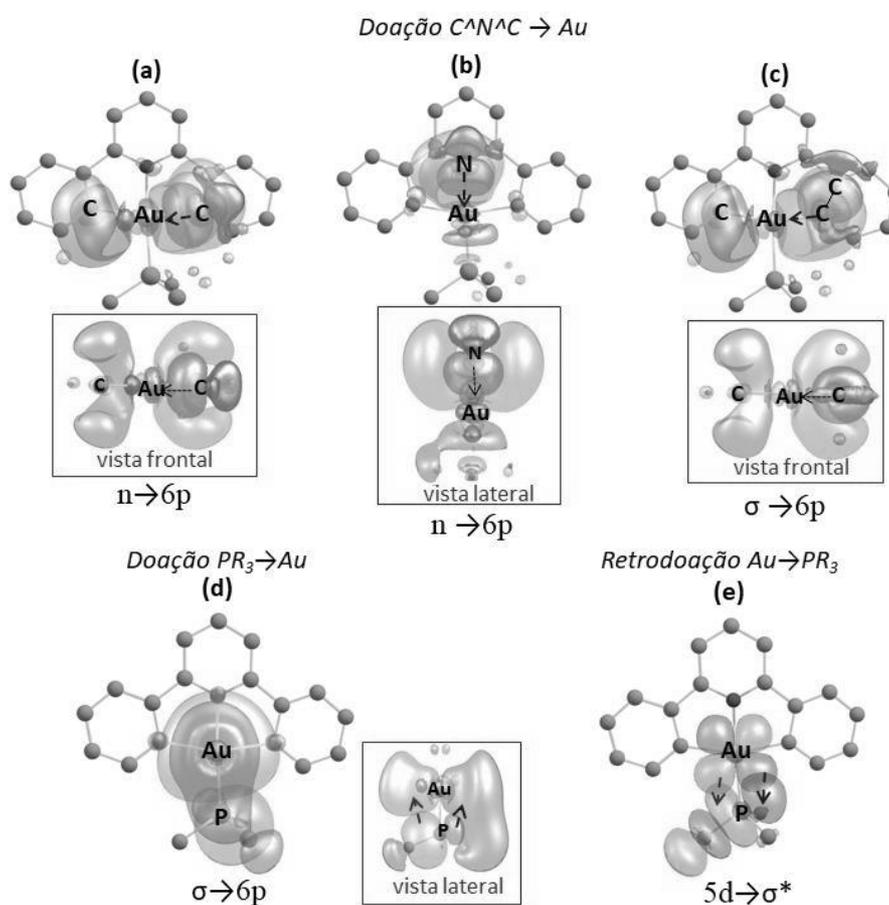
4.1.2 Análise NBO

Como mencionado na seção de metodologia, a análise NBO é uma técnica bastante útil para a identificação da deslocalização de elétrons em compostos metálicos. Neste caso, a análise NBO foi abordada para a série de compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{X}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{X})\text{PR}_3]^+$ da Figura 10. Os orbitais NBO para o composto mais simples A0 (contendo a trimetilfosfina) são representados na Figura 22. Nessa figura é representada a doação desde o ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ (Figura 22a-c) e a fosfina (Figura 22d) para o ouro, assim como a retrodoação desde a fosfina para o centro metálico (Figura 22e).

As energias $E^{(2)}$ correspondentes à doação total entre ligante-metal ($\Delta E_{\text{Lig} \rightarrow \text{Au}}$) e metal-ligante ($\Delta E_{\text{Au} \rightarrow \text{Lig}}$) (Lig = PR_3 e $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$) foram coletadas (Apêndice – C) e analisadas. De forma geral, para a maioria dos compostos (A), a maior estabilização é dada pela doação $[\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}] \rightarrow \text{Au}$, entre os orbitais “lone pair” (n) dos átomos de N e C e o orbital 6p do ouro, sendo assim uma doação do tipo $n \rightarrow 6p$, representada nas Figuras 22a e 22b respectivamente. Algumas exceções são observadas para os compostos A0, A3 e A32, nos quais a doação desde o orbital σ “2-center bond” (BD) da ligação C-C do grupo fenil para o orbital 6p ($\sigma \rightarrow 6p$, Figura 22c), é maior do que a doação $n \rightarrow 6p$. Os ligantes $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ são fortes doadores σ sendo usados para a síntese de complexos metálicos aumentando significativamente sua estabilidade. Por outro lado, ligantes auxiliares como as fosfinas terciárias têm sido usados para garantir a estabilidade do íon Au^{1+} , evitando a redução a Au^0 (SUN et al., 2013; ZOU et al., 2013, 2015). De acordo com os dados de $E^{(2)}$ coletados, as doações $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}$ ($\sigma \rightarrow 6p$, Figura 22d) são dominantes para a maioria dos compostos (A), com exceção dos compostos A1, A2, A5, A30 e A33, para os quais a retrodoação $\text{Au} \rightarrow \text{PR}_3$ ($5d \rightarrow \sigma^*$, Figura 22e) domina. No caso específico do composto A0, a principal contribuição para sua estabilização é dada pela doação de $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}$

($\sigma \rightarrow 6p$), representada na Figura 22d, com um valor de $E^{(2)}$ significativamente maior em relação às demais interações de orbitais estudadas (Apêndice – C).

Figura 22 - Orbitais NBO para a interação $\text{Au}^{\text{III}} \cdots [\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}]$ e $\text{Au}^{\text{III}} \cdots \text{P}(\text{CH}_3)_3$. Doação do tipo: (a) $\text{LP}(\text{C}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ (LP=lone pair) ($n \rightarrow 6p$), (b) $\text{LP}(\text{N}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ ($n \rightarrow 6p$), (c) $\text{BD}(\text{C}-\text{C}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ ($\sigma \rightarrow 6p$) (BD=2-center bond), (d) $\text{BD}(\text{P}-\text{C}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ ($\sigma \rightarrow 6p$) e (e) retrodoação do tipo $\text{LP}(\text{Au}) \rightarrow \text{BD}^*(\text{P}-\text{C})$ ($5d \rightarrow \sigma^*$). O orbital 6p é ligeiramente polarizado em 5,4% s, 1,6% d e 0,5% f em (a) e (c) e, ao redor de 3,6% s, 2,6% d e 0,8% f em (b). Para (d), 6p é ligeiramente polarizado em 0,2% d e 0,6% f.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

4.1.3 Redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ dos compostos (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$.

Os valores calculados dos potenciais (E°) para a redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ em relação ao eletrodo padrão de Hidrogênio SHE são apresentados na Tabela 4, em conjunto com as contribuições individuais para a energia livre de Gibbs em solução aquosa. Na Tabela 4 também são incluídos os valores de potencial de redução para os isômeros conformacionais dos

compostos A3 e A26. Todos os valores de E° foram negativos e abrangeram uma ampla faixa de 829 mV. Os compostos A0, A7, A13 e A29 apresentaram valores de E° menores que -1,0 V, sendo comparáveis ao valor de potencial experimental do composto análogo (**1a**) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ (-1,11 V). Os maiores valores de E° foram encontrados para os compostos contendo fosfinas com caráter receptor de elétrons (A40, A16 e A21) e fosfinas volumosas, como o composto A3-1. Dados experimentais para os compostos A31 e **1a** também estão disponíveis na referência (LI et al., 2006). De forma geral, os valores absolutos de E° são ligeiramente superestimados; no entanto, a concordância entre os valores calculados e experimentais é satisfatória, com um erro menor que 50 mV. O par redox do composto $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ possui cargas não equivalentes (0 para o reagente e -2 para produtos), de modo que o potencial de redução foi calculado utilizando a correção VT-HAA, a partir do ciclo termodinâmico da Figura 14. Desta forma, o valor de potencial de redução estimado (-1,07 V), é próximo ao valor experimental de -1,11 V.

Tabela 4 - Contribuições para a energia livre de Gibbs e valores do potencial de redução em solução aquosa para os compostos (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$, no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31 G(2d).

(continua)

Composto	$\Delta E_{\text{Au,g}}$ /eV	$\Delta H_{\text{T,g}}^\circ$ /eV	$T\Delta S_{\text{g}}$ /eV	$\delta\Delta G_{\text{solv}}$ /eV	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^\circ$ /eV	$E^\circ_{\text{calc vs SHE}}$ /V
A0	-5,44	-0,22	0,59	-0,10	-6,35	-1,11
A1	-5,42	-0,21	0,65	-0,43	-6,70	-0,93
A2	-5,41	-0,20	0,65	-0,47	-6,73	-0,92
A3-1	-6,45	-0,25	0,78	-0,53	-8,01	-0,28
A3-2	-5,96	-0,23	0,67	-0,46	-7,32	-0,62
A4	-5,91	-0,23	0,67	-0,33	-7,14	-0,71
A5	-5,59	-0,20	0,65	-0,41	-6,86	-0,85
A6	-5,43	-0,20	0,65	-0,38	-6,66	-0,95
A7	-5,35	-0,20	0,63	-0,28	-6,50	-1,05
A8	-5,67	-0,24	0,72	-0,38	-7,02	-0,77
A9	-5,38	-0,20	0,63	-0,40	-6,61	-0,98
A10	-5,69	-0,24	0,66	-0,50	-7,09	-0,74
A11	-5,23	-0,20	0,65	-0,62	-6,71	-0,93
A12	-5,68	-0,20	0,66	-0,36	-6,89	-0,84
A13	-5,39	-0,21	0,62	-0,22	-6,43	-1,06
A14	-5,68	-0,22	0,64	-0,36	-6,90	-0,83
A15	-5,59	-0,20	0,66	-0,46	-6,91	-0,83
A16	-5,59	-0,20	0,65	-0,41	-6,85	-0,86
A17	-5,48	-0,20	0,66	-0,50	-6,85	-0,85
A18	-5,94	-0,20	0,66	-0,23	-7,02	-0,77
A19	-5,70	-0,20	0,63	-0,43	-6,95	-0,80
A20	-5,81	-0,21	0,71	-0,55	-7,28	-0,64

Tabela 4 - Contribuições para a energia livre de Gibbs e valores do potencial de redução em solução aquosa para os compostos (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$, no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31 G(2d).

(conclusão)						
Composto	$\Delta E_{\text{Au,g}}$ /eV	$\Delta H_{\text{T,g}}^{\circ}$ /eV	$T\Delta S_{\text{g}}$ /eV	$\delta\Delta G_{\text{solv}}$ /eV	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$ /eV	$E^{\circ}_{\text{calc vs SHE}}$ /V
A21	-6,48	-0,22	0,63	-0,09	-7,42	-0,57
A22	-5,71	-0,20	0,65	-0,31	-6,86	-0,85
A23	-5,65	-0,20	0,66	-0,31	-6,82	-0,87
A24	-5,97	-0,23	0,58	-0,15	-6,92	-0,82
A25	-5,43	-0,22	0,65	-0,35	-6,65	-0,96
A26-1	-5,73	-0,23	0,71	-0,55	-7,23	-0,67
A26-2	-5,59	-0,22	0,69	-0,48	-6,98	-0,79
A27	-5,30	-0,15	0,78	-0,56	-6,80	-0,88
A28	-5,98	-0,20	0,63	-0,11	-6,70	-0,93
A29	-5,28	-0,21	0,60	-0,34	-6,43	-1,07
A30	-5,49	-0,20	0,65	-0,42	-6,76	-0,90
A31	-5,46	-0,20	0,65	-0,47	-6,79	-0,89[-0,92]
A32	-5,59	-0,21	0,68	-0,14	-6,62	-0,97
A33	-5,30	-0,20	0,66	-0,56	-6,73	-0,91
A34	-6,14	-0,18	0,65	-0,14	-7,12	-0,72
A35	-5,50	-0,20	0,65	-0,36	-6,70	-0,93
A36	-5,55	-0,20	0,65	-0,32	-6,72	-0,92
A37	-5,42	-0,20	0,68	-0,51	-6,81	-0,87
A38	-5,17	-0,21	0,67	-0,64	-6,69	-0,94
A39	-5,56	-0,22	0,63	-0,17	-6,59	-0,99
A40	-6,53	-0,20	0,71	-0,20	-7,64	-0,46
1a						-1,07*[-1,11]

A energia eletrônica $\Delta E_{\text{Au,g}}$ inclui a correção BSSE. Valores experimentais para os compostos A31 e 1a, $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ são dados em colchetes, tomados da referência (LI et al., 2006).

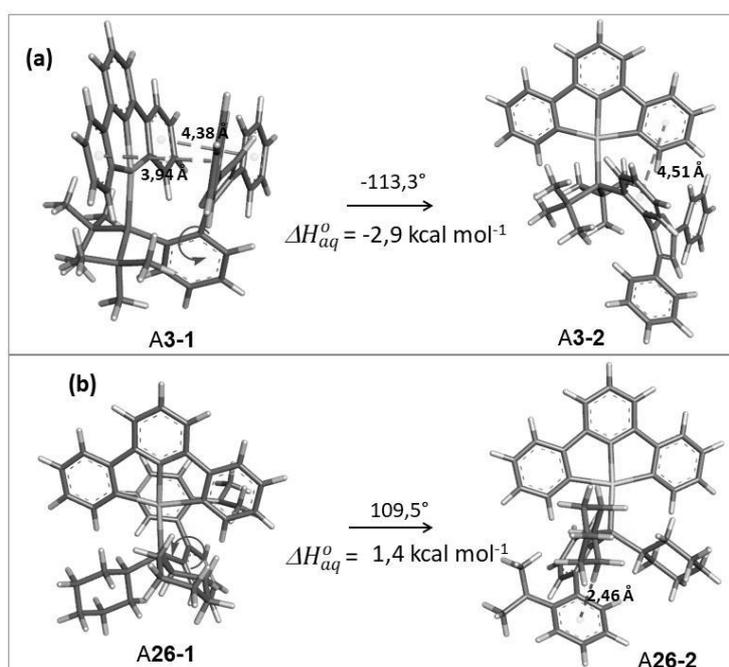
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Para o conjunto de moléculas estudadas, a principal contribuição provém da energia eletrônica ($\Delta E_{\text{Au,g}}$); no entanto, a energia de solvatação ($\delta\Delta G_{\text{solv}}$) se mostra bastante sensível a variação estrutural do ligante de fosfina, devido a inclusão de grupos substituintes eletronegativos que aumentam a polaridade dos compostos. Desta forma, a energia de solvatação é decisiva para o cálculo da energia livre e, conseqüentemente, para o potencial de redução.

4.1.4 Mudanças conformacionais e seu efeito na estabilidade do complexo

Mudanças conformacionais poderiam afetar os processos de redução dos compostos (A) contendo fosfinas volumosas. Este efeito foi avaliado para os compostos A3, A26, A29, A32, A35 e A36, os quais podem estabelecer distintas conformações. Os compostos A3 e A26 que contém as fosfinas mais volumosas podem estabelecer duas conformações distintas, como mostrado na Figura 23. O conformero A3-1 apresenta o substituinte de maior tamanho 1,3,5-trifenil-2-pirazolina (tpp) paralelo ao ligante C[^]N[^]C, sendo formadas duas interações intramoleculares do tipo π - π (Figura 23a). A rotação de $-113,3^\circ$ em torno da ligação P-C(tpp) leva à conformação A3-2, na qual o ligante tpp está na posição oposta ao grupo quelato C[^]N[^]C. Uma interação fraca π - π ainda é observada entre os anéis aromáticos. O conformero A3-2 se mostra mais estável do que A3-1 em $2,9 \text{ kcal mol}^{-1}$, principalmente devido à redução do impedimento estérico. No caso do composto A26, o impedimento estérico é dominante na forma A26-1, onde o substituinte mais volumoso 2-(fenil)-N,N-dimetilanilina (pda) está na direção oposta aos substituintes de ciclohexil, porém, este é ligeiramente mais estável do que A26-2 por $1,4 \text{ kcal mol}^{-1}$. A mudança conformacional afeta as propriedades estéricas dos compostos A3 e A26. As formas A3-1 e A26-1 apresentam o maior volume *buried* com valores de 41,6% e 39,2% respectivamente, enquanto as conformações A3-2 e A26-2 exibem valores de 33,9% e 32,5% respectivamente.

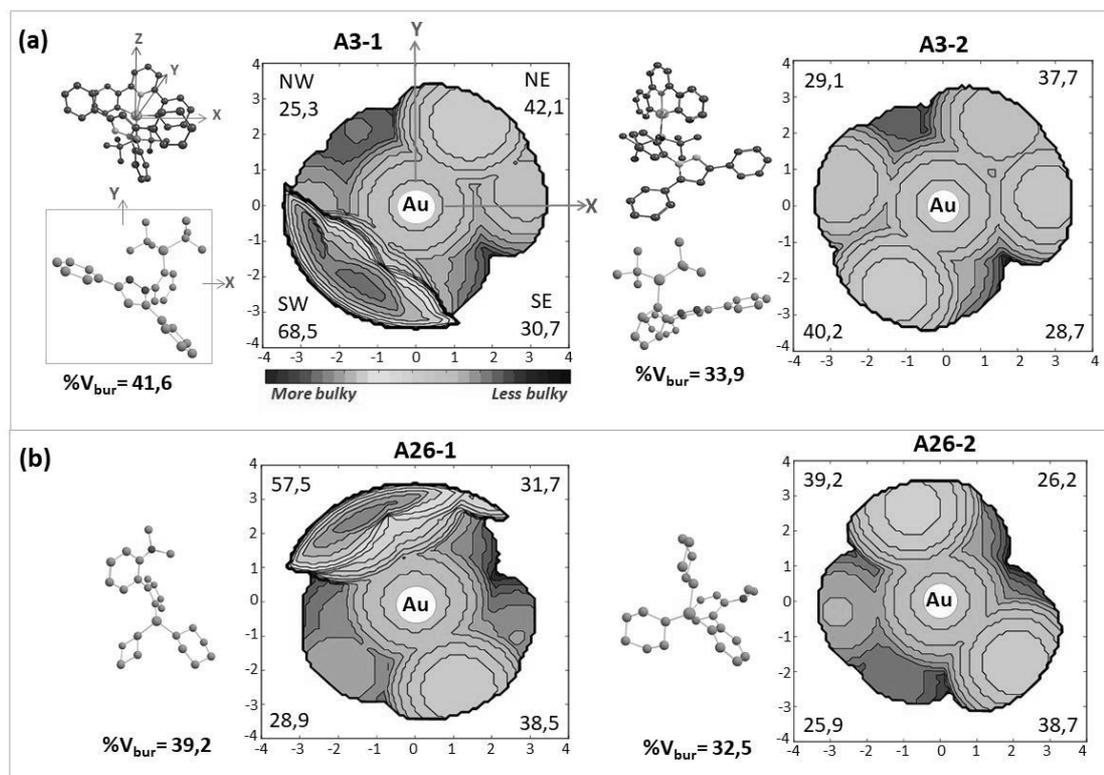
Figura 23 - Isômeros conformacionais dos compostos A3 (a) e A26 (b).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Na Figura 24 são representados os mapas de contorno para estes dois compostos. Ao calcular o volume *buried* para cada quadrante ao redor do metal notamos que o quadrante SW é significativamente impedido estericamente pelo ligante tpp, com um $\%V_{bur} = 68,5$ (Figura 24a), causando a blindagem do centro metálico. Já para o confômero A3-2, a blindagem diminui significativamente, mostrando uma distribuição mais simétrica do impacto estérico, com um V_{bur} no quadrante SW de 40,2%. Similarmente ocorre com os confômeros do composto A26; no entanto, a blindagem do ouro causada pelo ligante pda no composto A26-1 é menos pronunciada do que a encontrada em A3-1, conforme mostrado no quadrante NW, com $\%V_{bur} = 57,5$ (Figura 24b). Os valores de potencial de redução reportados na Tabela 4 mostram que A3-1 (forma menos estável) tem uma tendência maior a reduzir-se do que A3-2, com uma diferença no E° de 0,34 V. Para a estrutura A26, o potencial de redução é semelhante em ambas as conformações, diferindo em 0,12 V.

Figura 24 - Porcentagem de volume buried ($\%V_{bur}$) e mapas de contorno para as diferentes conformações dos compostos (a) A3 e (b) A26 (b). O cálculo da $\%V_{bur}$ foi realizado usando uma esfera de raio de 3,5 Å, um espaçamento de malha de 0,1 Å e excluindo os átomos de hidrogênio das estruturas.

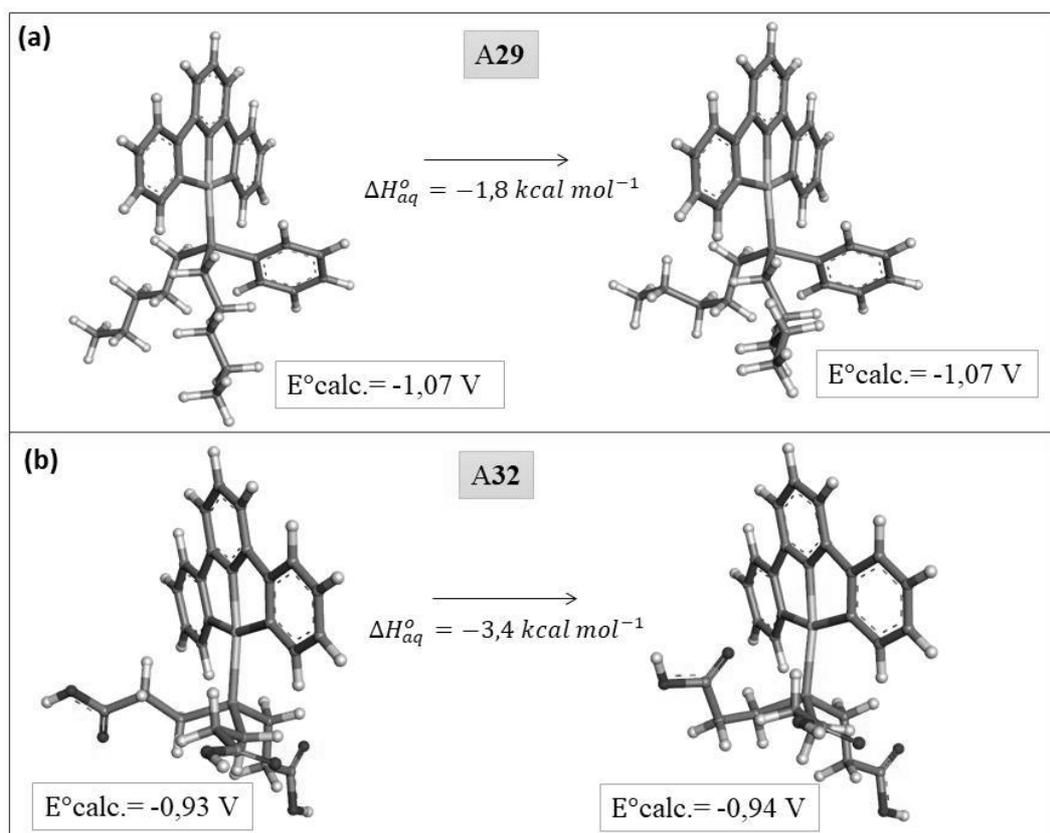


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

As geometrias otimizadas dos confôrmeros dos compostos A29, A32, A35 e A36 são mostradas nas Figuras 25 e 26. Neste caso notamos que apesar da diferença de energia entre as conformações propostas, o potencial de redução não muda significativamente. A maior variação no E° foi de 40 mV para a estrutura A36 (Figura 26b). Neste caso o volume *buried* não varia significativamente entre os confôrmeros estudados.

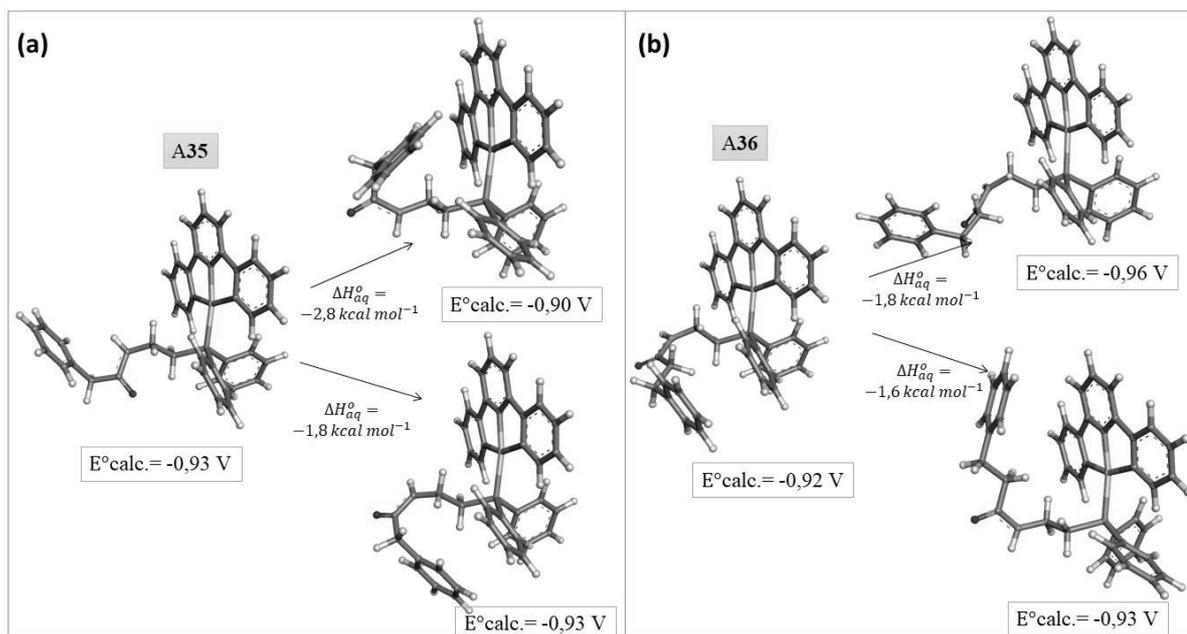
De forma geral, para moléculas isoladas, a mudança conformacional pode ter algum efeito na estabilidade redox, principalmente para os complexos contendo fosfinas volumosas. Além disso, as interações intermoleculares entre esses tipos de fosfinas volumosas e diferentes ambientes, como o sítio ativo de enzimas nas células, podem favorecer uma conformação específica e causar grandes variações no potencial de redução.

Figura 25 - Isômeros conformacionais e seu correspondente potencial de redução dos compostos A29 (a) e A32 (b).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Figura 26 - Isômeros conformacionais e seu correspondente potencial de redução dos compostos A35 (a) e A36 (b).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

4.1.5 Propriedades estéricas e eletrônicas

Propriedades estéricas e eletrônicas são relevantes para estudar a estabilidade de complexos metálicos. A capacidade de doação de elétrons está associada à energia do orbital HOMO. Quanto maior a energia do HOMO do ligante de fosfina (menos negativa), mais forte é sua capacidade de doação de elétrons. Por outro lado, a capacidade de receber elétrons do ligante, está associada à energia do seu orbital LUMO. Quanto menor a energia do LUMO (mais negativa), melhor sua capacidade para receber elétrons. Deste modo, as energias HOMO e LUMO das fosfinas livres e o $\%V_{\text{bur}}$ foram tomados inicialmente como descritores moleculares (ver Tabela 5) e, posteriormente, correlacionadas com o potencial de redução calculado para os compostos (A).

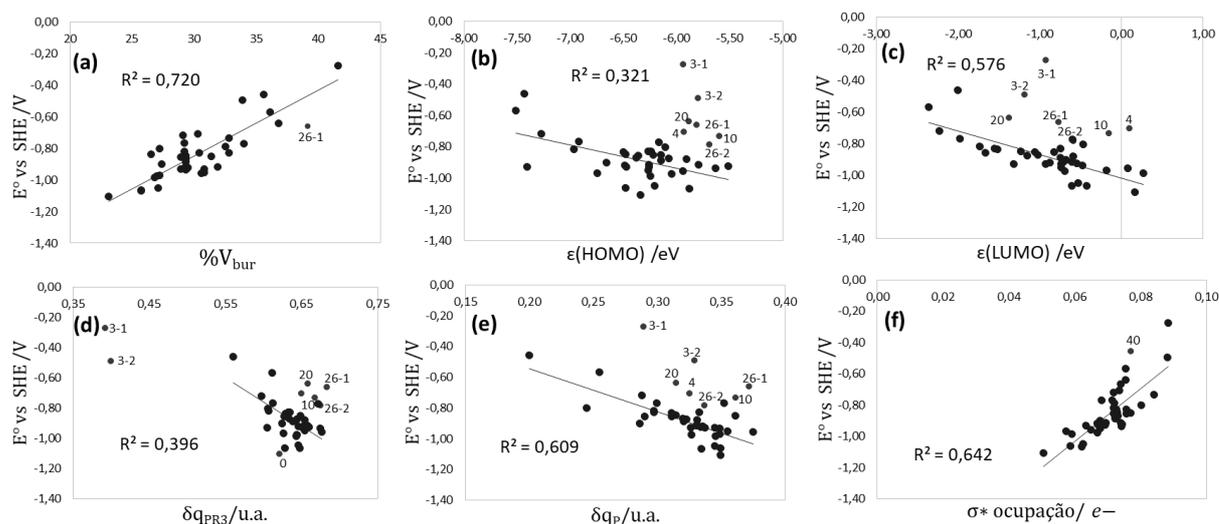
Tabela 5 - Parâmetros estéricos (%V_{bur}) e eletrônicos (energias HOMO e LUMO) calculados para os ligantes PR₃ dos compostos (A).

	%V _{bur}	ε(HOMO) /eV	ε(LUMO) /eV		%V _{bur}	ε(HOMO) /eV	ε(LUMO) /eV
A1	30,8	-6,26	-0,74	A21	36,1	-7,51	-2,36
A2	31,9	-6,26	-0,71	A22	29,3	-6,47	-1,23
A3-1	41,6	-5,93	-0,92	A23	29,3	-6,38	-1,03
A3-2	33,9	-5,79	-1,18	A24	29,2	-6,96	-1,74
A4	30,3	-5,92	0,10	A25	30,6	-5,94	0,08
A5	31,4	-6,15	-0,82	A26-1	39,2	-5,68	-0,58
A6	30,8	-6,27	-0,74	A26-2	32,5	-5,81	-0,76
A7	27,1	-6,20	-0,53	A27	29,3	-5,91	-0,59
A8	34,0	-6,17	-0,60	A28	28,9	-7,41	-1,32
A9	27,0	-6,04	-0,70	A29	25,7	-5,88	-0,42
A10	32,8	-5,59	-0,15	A30	27,4	-6,66	-0,68
A11	29,4	-5,51	-0,54	A31	29,3	-6,14	-0,75
A12	26,5	-6,50	-1,52	A32	27,2	-6,74	-0,18
A13	25,7	-6,48	-0,61	A33	29,3	-5,79	-0,61
A14	30,4	-6,27	-0,75	A34	29,1	-7,27	-2,23
A15	32,8	-6,24	-1,56	A35	29,4	-6,47	-0,93
A16	29,3	-6,36	-1,66	A36	29,5	-6,49	-0,88
A17	28,9	-6,22	-1,06	A37	29,3	-6,07	-1,16
A18	29,2	-6,92	-1,98	A38	29,3	-5,63	-0,48
A19	27,2	-6,11	-0,47	A39	26,8	-6,24	0,27
A20	36,8	-5,88	-1,37	A40	35,6	-7,43	-2,01

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Correlações lineares simples entre os descritores eletrônicos e estéricos e o potencial de redução foram inicialmente abordadas. Interessantemente, a correlação com %V_{bur} foi a mais significativa, com coeficiente de correlação, $R^2 = 0,72$ (Figura 27a), o que sugere um aumento do potencial de redução (compostos menos estáveis) com o aumento do volume *buried*. Alguns pontos atípicos (*outliers*) foram encontrados, os quais foram excluídos da regressão linear e são representados em vermelhos nos gráficos de dispersão da Figura 27. A tendência encontrada na correlação da Figura 27a, reflete o efeito estérico da fosfina no processo de transferência de carga, que requer um contato próximo entre ligante e metal, para que os orbitais da fronteira possam se sobrepor efetivamente. O efeito estérico é claramente visto nos compostos A3, A4, A10, A20 e A26, os quais possuem um alto %V_{bur} e baixa estabilidade redox (ver valores de E° na Tabela 4), apesar dos seus ligantes de fosfinas serem fortes doadores σ .

Figura 27 - Correlação entre o potencial de redução calculado (E° vs SHE) para os compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A) com: (a) $\%V_{\text{bur}}$, (b) energia do orbital HOMO - $\epsilon(\text{HOMO})$, (c) energia do orbital LUMO - $\epsilon(\text{LUMO})$, (d) doação de carga $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})$ (δq_{PR_3}), (e) doação de carga $\text{P} \rightarrow \text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})$ (δq_{P}), e (f) ocupação do orbital σ^* envolvido na retrodoação $5d \rightarrow \sigma^*$.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Na Figura 27b, é observada uma pobre correlação linear quando é usada a capacidade de doação de elétrons da fosfina ($\epsilon(\text{HOMO})$) como descritor molecular. O gráfico de dispersão da Figura 27b mostra que o descritor eletrônico puro não é suficiente para representar a estabilidade redox de complexos de ouro(III). No entanto, de alguma forma a tendência qualitativa mostra que os compostos mais estáveis, com E° mais negativo, contêm fosfinas com alta $\epsilon(\text{HOMO})$ (fortes doadores σ). Na Figura 27b é notável que a estabilidade dos compostos contendo fosfinas volumosas (A3, A4, A10, A20 e A26) não é representada por $\epsilon(\text{HOMO})$, que é um parâmetro obtido para a fosfina isolada. Por outro lado, a Figura 27c mostra uma correlação com $\epsilon(\text{LUMO})$ ligeiramente melhor em relação a $\epsilon(\text{HOMO})$ ($R^2=0,58$), e reflete uma maior estabilização do complexo de ouro(III) quando a capacidade de receber elétrons da fosfina é menor (alta $\epsilon(\text{LUMO})$). Novamente, a estabilidade do complexo de ouro(III) contendo fosfinas volumosas não é completamente representada por este descritor eletrônico, encontrando os mesmos *outliers* nos gráficos de dispersão das Figuras 27b e 27c. Como feito para representar o efeito *trans* na Figura 21b, parâmetros doadores de carga, calculados a partir da estrutura completa do complexo de ouro(III) foram usados nas correlações individuais (Figuras 27d,e). Para o potencial de redução, o efeito da doação de carga da fosfina é melhor

representado pela variação de carga local do átomo de fósforo (δq_P) ($R^2 = 0,61$; Figura 27e) do que pela carga total da fosfina (δq_{PR_3}) ($R^2 = 0,40$; Figura 27d).

Sempre que o grupo R da fosfina se torna mais eletronegativo, o orbital σ^* da ligação P–R se torna mais estável. Ao mesmo tempo, a contribuição do fósforo para o orbital σ^* aumenta e, portanto, o tamanho do lóbulo σ^* que aponta para o metal também aumenta. Ambos os fatores tornam o orbital σ^* vazio mais acessível para a retrodoação (ORPEN; CONNELLY, 1990). Desta forma, a ocupação do orbital σ^* da fosfina, envolvido na retrodoação $5d \rightarrow \sigma^*$ (Figura 22e) também foi correlacionada com o potencial de redução (Figura 27f). O gráfico de dispersão mostra que quanto mais ocupado o orbital σ^* no complexo de ouro(III), maior o potencial de redução e, portanto, maior a tendência à redução.

Recentemente, Casini e colaboradores realizaram um estudo sobre os mecanismos de inibição da aquaporina-3, um novo alvo para os complexos de ouro(III) [33]. Algumas correlações entre a resposta biológica e os parâmetros eletrônicos/estéricos calculados com método DFT para os complexos do tipo $[Au^{III}(1,10\text{-phen})Cl_2]$ (Auphen) foram abordadas. As correlações encontradas foram satisfatórias com a carga do ouro $q(Au)$, e, principalmente, com o volume molecular, destacando o papel do volume na atividade biológica dos complexos de ouro(III).

4.1.6 Modelos QSPR para os compostos (A)

Conforme mostrado nas correlações da Figura 27, os descritores moleculares estéricos e eletrônicos contribuem com pesos diferentes para a estabilidade redox dos complexos de ouro(III). A fim de incluir ambos os parâmetros em um modelo QSPR geral, a análise de regressão múltipla (MRA) foi usada para ajustar os dados das 43 estruturas, incluindo ambos os conformeros dos compostos A3 e A26. Os modelos têm como variável independente o $\%V_{bur}$, δq_P , δq_{PR_3} , $\epsilon(\text{HOMO})$ e $\epsilon(\text{LUMO})$, e como variável dependente, o E° vs SHE para os complexos (A) $[Au^{III}(C^N^C)(PR_3)]^+$ avaliados. Os modelos são apresentados na Tabela 6, incluindo os coeficientes das variáveis independentes com seus respectivos erros padrão. Estatísticas de regressão também estão incluídas para cada modelo, considerando um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 6 - Modelos QSPR para a o potencial de redução padrão (E°/V) dos complexos

	Modelos de regressão linear múltipla	R ²	^a SD (mV)	Valor ^b F
1	$E^\circ/V = -1,170(\pm 0,301) + 0,034(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} + 0,018(\pm 0,032)$ $\varepsilon(\text{HOMO})/\text{eV} - 0,008(\pm 0,027) \varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV} - 1,895(\pm 0,415) \delta q_{\text{p}}/\text{u.a.}$	0,84	69,3	49,9 (2,63)
2	$E^\circ/V = -1,122(\pm 0,271) + 0,030(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} + 0,000(\pm 0,028)$ $\varepsilon(\text{HOMO})/\text{eV} - 0,427(\pm 0,023) \varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV} - 1,063(\pm 0,187) \delta q_{\text{PR}_3}/\text{u.a.}$	0,87	63,4	61,5 (2,63)
3	$E^\circ/V = -1,310(\pm 0,166) + 0,035(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} + 0,000(\pm 0,023)$ $\varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV} - 1,844(\pm 0,402) \delta q_{\text{p}}/\text{u.a.}$	0,84	68,7	67,7 (2,83)
4	$E^\circ/V = -1,123(\pm 0,165) + 0,030(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} - 0,043(\pm 0,017)$ $\varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV} - 1,063(\pm 0,184) \delta q_{\text{PR}_3}/\text{u.a.}$	0,87	63,0	84,2 (2,83)
5	$E^\circ/V = -1,310(\pm 0,150) + 0,035(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} - 1,843(\pm 0,314) \delta q_{\text{p}}/\text{u.a.}$	0,84	67,0	108,0 (3,23)
6	$E^\circ/V = -1,073(\pm 0,175) + 0,032(\pm 0,003) \%V_{\text{bur}} - 1,164(\pm 0,191) \delta q_{\text{PR}_3}/\text{u.a.}$	0,84	68,0	104,2 (3,23)
7	$E^\circ/V = -2,404(\pm 0,216) + 0,039(\pm 0,004) \%V_{\text{bur}} - 0,061(\pm 0,0276)$ $\varepsilon(\text{HOMO})/\text{eV}.$	0,73	87,5	54,8 (3,23)
8	$E^\circ/V = -2,050(\pm 0,290) + 0,035(\pm 0,004) \%V_{\text{bur}} - 0,014(\pm 0,038)$ $\varepsilon(\text{HOMO})/\text{eV} - 0,055(\pm 0,031) \varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV}.$	0,75	85,1	39,5 (2,83)
9	$E^\circ/V = -1,950(\pm 0,111) + 0,035(\pm 0,004) \%V_{\text{bur}} - 0,064(\pm 0,022)$ $\varepsilon(\text{LUMO})/\text{eV}.$	0,74	84,2	60,6 (3,23)

^aSD: Desvio padrão. ^bValores F calculados; os valores F críticos são fornecidos entre parênteses.

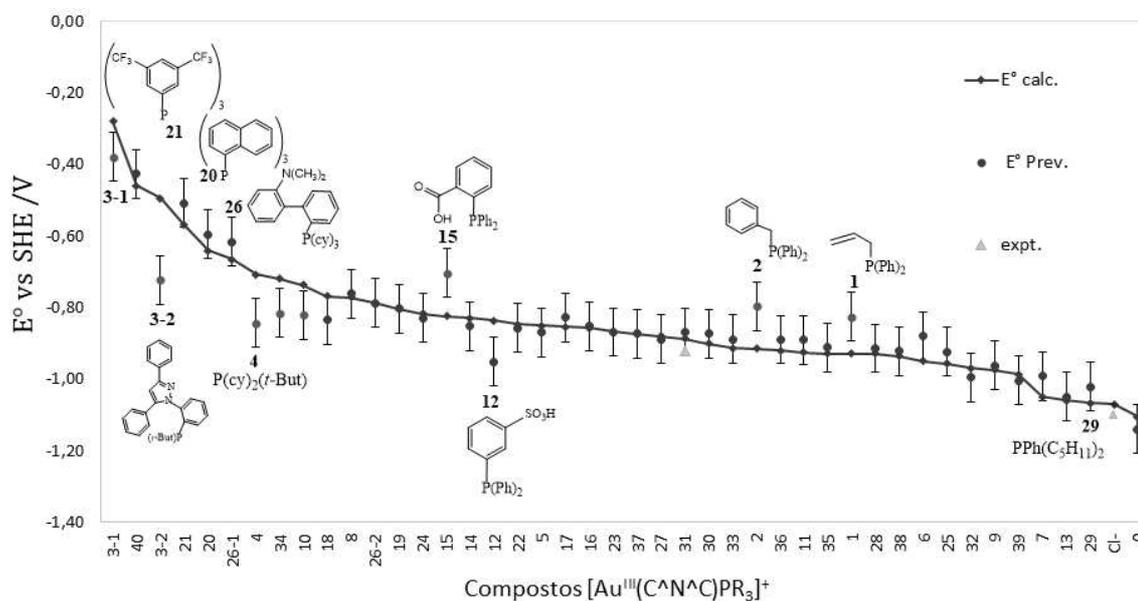
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Considerando os erros padrão dos coeficientes de regressão, é notável que o descritor estérico $\%V_{\text{bur}}$ possui o maior peso entre as variáveis incluídas. Dentre os descritores moleculares eletrônicos, a doação de carga δq_{p} é a mais relevante. Quando esses dois importantes descritores são incluídos no mesmo modelo (Modelo 5; Tabela 6), o resultado é satisfatório, levando a um erro (*Root-mean-square deviation, RMSD*) inferior a 70 mV para os valores de potencial de redução estimados. No geral, todos os valores F calculados indicam que as regressões são significativas, uma vez que os valores críticos de F são consideravelmente menores do que os valores F calculados (ver valores entre parênteses, Tabela 6). De forma geral, um modelo de regressão múltipla é considerado como significativo para a estimativa da variável dependente, quando o valor de F calculado é ao menos dez vezes maior do que o valor crítico de F (LOMAX, 2007). Além disso, o erro máximo entre os modelos propostos é de 88 mV, correspondendo a um erro global de 10,4%, o qual é aceitável para previsões de potencial de

redução (MARENICH et al., 2014; HO et al., 2016). Apesar do Modelo 5 se mostrar como o melhor modelo, é possível realizar previsões do potencial de redução com erros menores aos 90 mV através dos Modelos 7-9, os quais usam parâmetros eletrônicos e estéricos ($\epsilon(\text{HOMO})$, $\epsilon(\text{LUMO})$ e $\%V_{\text{bur}}$) que podem ser calculados mais rapidamente para as fosfinas correspondentes. Estes últimos modelos poderiam ser mais úteis para experimentalistas, poupando esforços na síntese de complexos de ouro(III).

Na Figura 28 são representados os potenciais de redução calculados e os valores previstos pelo Modelo 5, com seus respectivos intervalos de erro. Os compostos A1, A2, A3, A4, A10, A12, A15 e A34 ficam por fora do intervalo de confiança sendo destacados na cor verde.

Figura 28 - Tendência à redução dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A). O potencial de redução calculado (PBE0) é representado na linha vermelha e o estimado pelo Modelo 5 é representado em azul. Os valores fora do intervalo de confiança são destacados em verde. O valor experimental para o composto A31 e o análogo de cloro são representados na cor laranja.

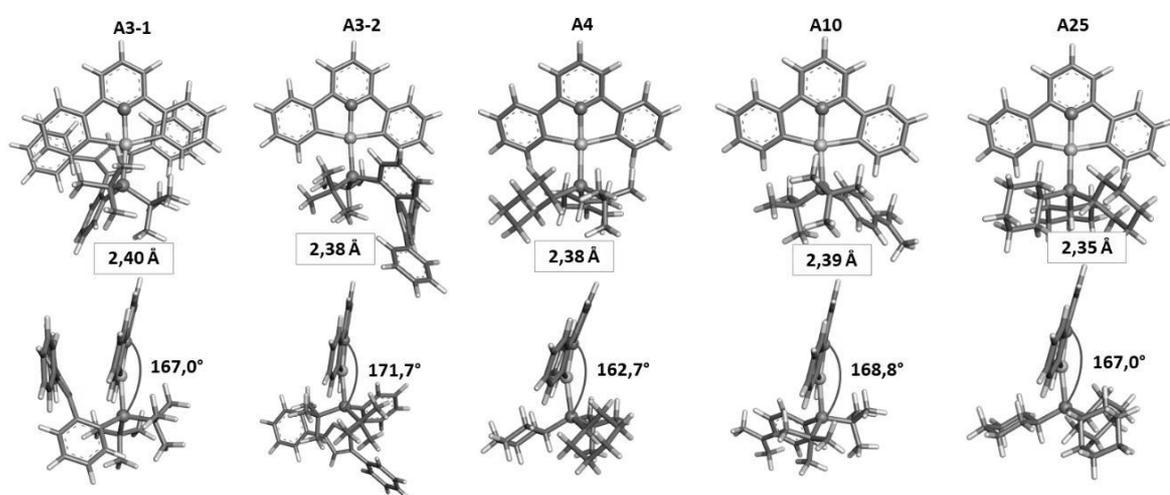


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Nos casos em que os compostos contêm fosfinas fortes doadoras de elétrons, mas possuem um grande $\%V_{\text{bur}}$ e, contrariamente, aqueles que contêm fosfinas fortes receptoras de elétrons com pequeno $\%V_{\text{bur}}$, nossos modelos não são tão precisos. As fosfinas correspondente aos compostos que ficam por fora do intervalo de confiança apresentam algumas características intrínsecas: no caso dos composto A1, A2, A3, A4, e A10, as fosfinas correspondentes são

fortes doadores σ ; no entanto, possuem um alto $\%V_{bur}$, o que causa um aumento drástico do E° , devido à prevalência dos efeitos estéricos. Os compostos A3, A4 e A10 contêm substituintes *t*-Bu e Cy, que além de aumentar o volume *buried*, causam o aumento da ligação Au-P e uma maior torção do ângulo $\angle N-Au-P$, favorecendo a liberação da fosfina (Figura 29).

Figura 29 - Geometrias otimizadas no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31 G(2d) para os compostos (A) selecionados (A3, A4, A10 e A25). Duas visualizações diferentes são mostradas. Os valores dados no quadro correspondem à distância Au-P. Observe o desvio do ângulo $\angle N-Au-P$ de 180° quando fosfinas volumosas estão presentes.

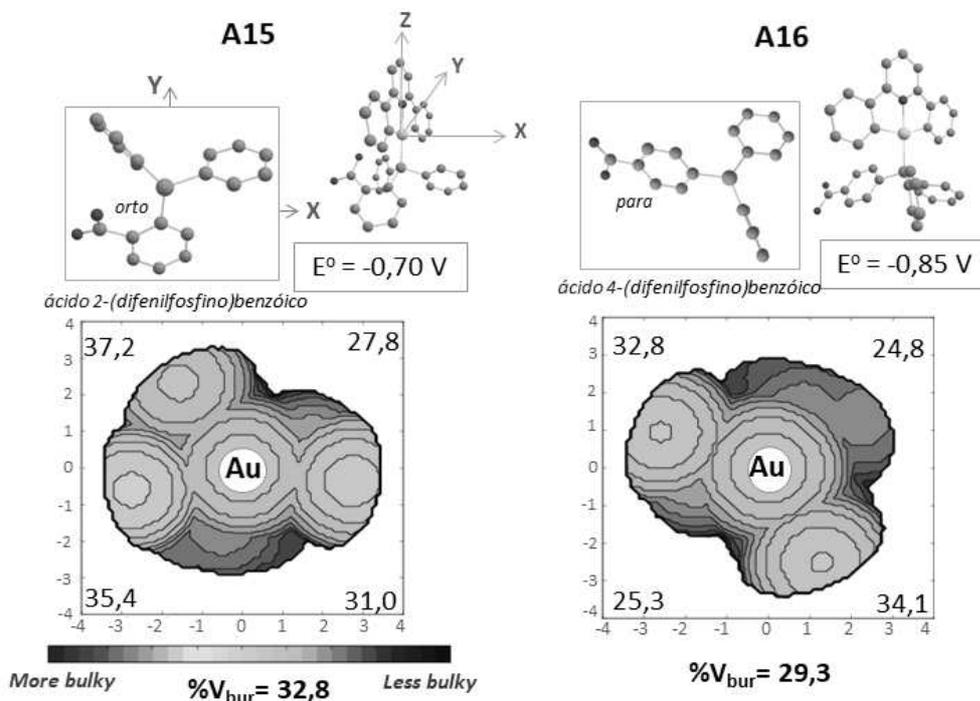


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Os compostos A15 e A16 são isômeros de posição, com um substituinte de ácido benzoico na fosfina, onde o grupo carboxila encontra-se nas posições *orto* e *para* em relação ao fósforo (Figura 30). A posição *orto*, aumenta o $\%V_{bur}$ do composto A15 comparado ao composto A16 como mostra a Figura 30, o que acarreta uma diferença de 150 mV no potencial de redução estimado com o Modelo 5.

Como já mencionado, os efeitos estéricos desempenham um papel importante para o potencial de redução, onde geralmente pequenos $\%V_{bur}$ favorecem a estabilidade do complexo de ouro. No caso dos compostos A12 e A34, as fosfinas correspondentes são fortes receptoras de elétrons mas exibem um V_{bur} relativamente pequeno, menor que 29%, o que tende a diminuir o E° dos compostos nos nossos modelos QSPR.

Figura 30 - Comparação do $\%V_{bur}$ e dos mapas de contorno para os isômeros A15 e A16. O cálculo do $\%V_{bur}$ foi realizado usando uma esfera de raio de 3,5 Å, um espaçamento de malha de 0,1 Å e excluindo os átomos de hidrogênio das estruturas.

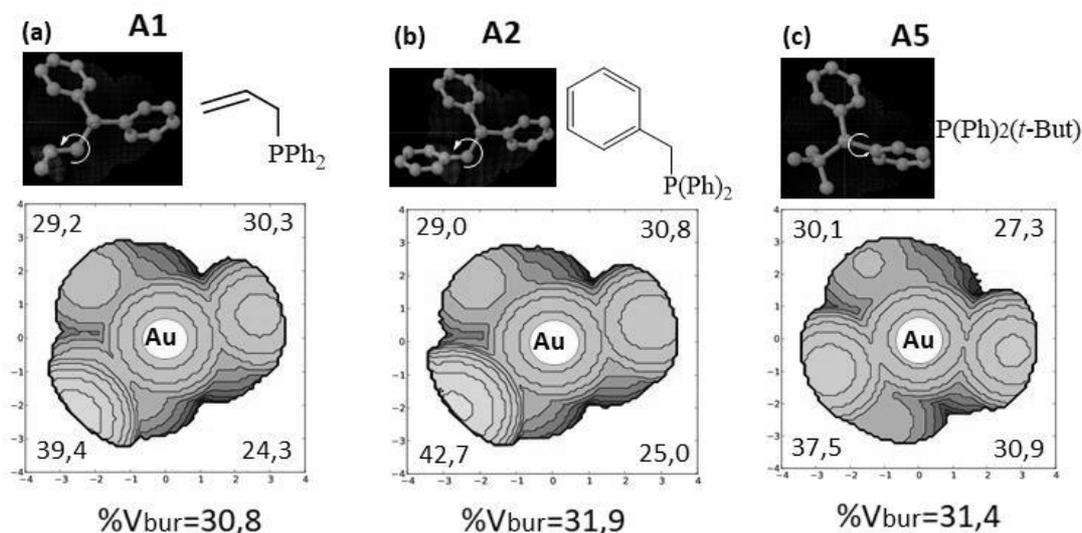


Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

Na Figura 28 é evidente que a maior inconsistência entre o potencial calculado e aquele estimado desde o Modelo 5 é observada na faixa de valores acima dos -0,80 V. Nesta faixa, os valores estimados apresentam um maior desvio e tendem a ficar fora do intervalo de confiança, ou ao menos, muito próximo do seu limite. De forma geral, os complexos de ouro(III) correspondentes a essa faixa de potencial contêm fosfinas volumosas com $\%V_{bur}$ entre 32 e 42% aproximadamente. A análise anterior sugere a aplicação do Modelo 5 para uma faixa de $\%V_{bur}$ entre 23 a 32%. Adicionalmente, a flexibilidade dos substituintes nos ligantes é uma das limitações do cálculo do volume *buried*. De fato, a análise é mais precisa para ligantes mais simétricos e com substituinte menos flexíveis (GÓMEZ-SUÁREZ; NELSON; NOLAN, 2017). No caso específico, algumas fosfinas contendo grupos flexíveis podem adotar conformações que aumentam significativamente o $\%V_{bur}$ e, conseqüentemente, desestabilizam o complexo de ouro(III). Como exemplo, temos o grupo substituinte propenil no composto A1 e o grupo benzil no composto A2, os quais são grupos flexíveis com maior liberdade rotacional sobre o eixo da ligação Au-P (Figura 31a,b) quando combinados com substituintes fenil. A posição adotada por estes grupos intensifica o efeito estérico, onde o V_{bur} do quadrante SW (correspondente a estes substituintes), aumenta significativamente e, conseqüentemente, o V_{bur} total também aumenta

(Figura 31a,b). Por outro lado, em alguns casos a inclusão de um grupo substituinte volumoso proporciona maior liberdade aos anéis de fenil para rotacionar em torno do eixo Au-P. Como consequência do anterior, o anel de fenil pode ficar na posição contra o plano como mostrado para o composto A5 na Figura 31c, o qual contribui ao crescimento do volume *buried* total. Fatores deste tipo, causam limitações aos nossos modelos QSPR para prever o potencial de redução dos complexos de ouro(III), quando o descriptor V_{bur} é usado para quantificar o efeito estérico.

Figura 31 - $\%V_{bur}$ e representação dos mapas estéricos de alguns compostos (A) contendo ligantes de fosfinas com substituintes flexíveis.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

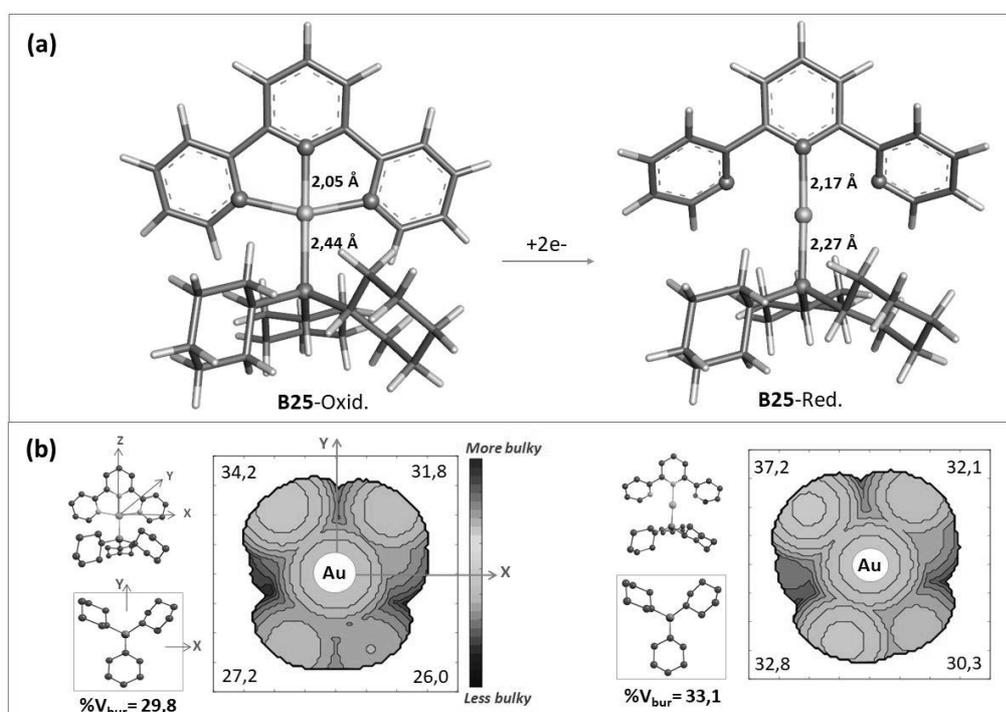
4.2 ESTRUTURA E ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (B)



Com o objetivo de avaliar o efeito do ligante multidentado na estabilidade redox dos complexos de ouro(III) contendo fosfinas, os potenciais de redução foram calculados e discutidos para os compostos (B) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ ($\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$ =terpiridina). Algumas estruturas da Figura 10 foram selecionadas: B0, B3, B7, B9, B10-B14, B16, B19, B20-B21, B24 -B26-2, B27, B29, B31, B32, B34, B38-B40. Os parâmetros estruturais para as formas oxidada e reduzida de cada um dos compostos (B) selecionados, são reportados no Apêndice – D. Diferente dos compostos (A) onde após redução a fosfina abandona a esfera de coordenação do metal, para os compostos (B), duas ligações Au-N são quebradas, mantendo a fosfina ligada

ao ouro. A piridina central e o ligante fosfina mantêm-se coordenados ao ouro em um arranjo linear, como mostrado na Figura 32a. Mudanças estruturais semelhantes foram evidenciadas durante a redução intracelular $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{R}^{\text{-}}\text{NHC})][\text{CF}_3\text{SO}_3^-]$ ($\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N} = 2,6\text{-bis(imidazol-2-il)piridina}$), os quais são sensíveis aos tióis celulares. Além disso, uma rápida liberação do ligante $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$ foi observada após a reação de troca de ligante $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}/\text{GSH}$ levando à formação da espécie $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{R}^{\text{-}}\text{NHC})(\text{GS})]$. A modulação de substituintes R no ligante NHC causou uma variação significativa na capacidade de inibir a TrxR e na citotoxicidade contra células HeLa (ZOU et al., 2013).

Figura 32 - Estrutura otimizada do composto B25 nas formas oxidada e reduzida (a). $\%V_{\text{bur}}$ e representação do mapa estérico do composto B25 (b).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

O impacto estérico da fosfina foi medido pelo $\%V_{\text{bur}}$, calculado para as fosfinas nas formas oxidada e reduzida dos compostos (B). Uma vez que os ligantes $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ e $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$ são semelhantes em volume, os valores de $\%V_{\text{bur}}$ das fosfinas nas estruturas de ouro(III) dos compostos (B), não mudam significativamente em relação aos compostos (A). No entanto, o volume *buried* varia para as estruturas de ouro(I). Os complexos dicoordinados de ouro(I) permitem que o ligante PR_3 adote uma conformação mais flexível de menor impacto estérico. Conseqüentemente, os valores de $\%V_{\text{bur}}$ tendem a aumentar após a redução (Tabela 7),

conforme representado para o composto B25 na Figura 32. De acordo com os dados da Tabela 7, o volume *buried* aumenta para todos os compostos (B) selecionados na forma reduzida, especialmente para os compostos de fosfinas volumosas contendo substituintes de *t*-Bu e Cy como B3, B10, B25 e B26.

Tabela 7 - %V_{bur} calculado para os compostos (B) nas formas oxidada e reduzida (em parêntese).

	%V _{bur}		%V _{bur}		%V _{bur}
B0	22,2 (23,7)	B14	29,4 (32,3)	B27	29,1 (30,3)
B3-2	33,5 (37,9)	B16	29,2 (30,4)	B29	24,1 (25,6)
B7	26,3 (28,3)	B19	26,7 (27,8)	B31	29,0 (30,4)
B9	26,4 (27,7)	B20	37,3 (38,4)	B32	31,3 (32,2)
B10	31,6 (36,5)	B21	36,9 (37,2)	B34	29,1 (30,6)
B11	28,6 (30,4)	B24	29,1 (30,4)	B38	28,9 (30,3)
B12	28,9 (30,3)	B25	29,8 (33,1)	B39	25,7 (29,1)
B13	24,2 (26,5)	B26-2	32,3 (35,9)	B40	35,8 (37,2)

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Como esperado, os compostos (B) são instáveis, com potenciais de redução positivos (Tabela 8) devido à labilidade do ligante N[^]N[^]N. A tendência à redução dos complexos (A) e (B) são de alguma forma distintas. O potencial de redução abrange uma faixa de 507 mV para os compostos (B), enquanto para os compostos (A) a faixa de potencial é significativamente mais ampla de 829 mV. Entre a série avaliada de compostos (B), o menor valor de potencial de redução é encontrado para o composto contendo cloreto (**1b**), [Au^{III}(N[^]N[^]N)Cl]²⁺ (E^o = +0,57 V). No entanto, entre os selecionados contendo fosfinas, o composto B29 se mostra como o mais estável, com potencial de redução de +0,65 V. A fosfina do complexo B29 contém dois substituintes pentil (C₅H₁₁). Estes grupos são fortes doadores de elétrons e não proporcionam um impacto estérico pronunciado, já que são suficientemente flexíveis para evitar o centro metálico, exibindo um V_{bur} de 25,7% para o composto A29 e 24,1% para o composto B29. De fato, nos compostos (A), A29 mostrou-se como o segundo mais estável da série (E^o = -1,07 V) depois do composto A0.

Tabela 8 - Potenciais de redução padrão para os complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B) em solução aquosa.

Composto (B)	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$ (eV)	E° vs SHE (V)	Composto (B)	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$ (eV)	E° vs SHE (V)
B40	-10,87	+1,16	B39	-10,16	+0,80
B21	-10,75	+1,09	B19	-10,15	+0,79
B24	-10,66	+1,05	B31	-10,11	+0,77
B26-2	-10,60	+1,02	B38	-10,10	+0,77
B3-2	-10,60	+1,02	B0	-10,04	+0,76
B34	-10,51	+0,98	B27	-10,06	+0,75
B32	-10,50	+0,97	B11	-10,02	+0,73
B12	-10,48	+0,96	B9	-9,97	+0,71
B10	-10,45	+0,94	B7	-9,97	+0,71
B20	-10,4	+0,92	B13	-9,96	+0,70
B14	-10,32	+0,88	B29	-9,86	+0,65
B25	-10,21	+0,83	1b		+0,57 ^a [+0,62]
B16	-10,19	+0,82			

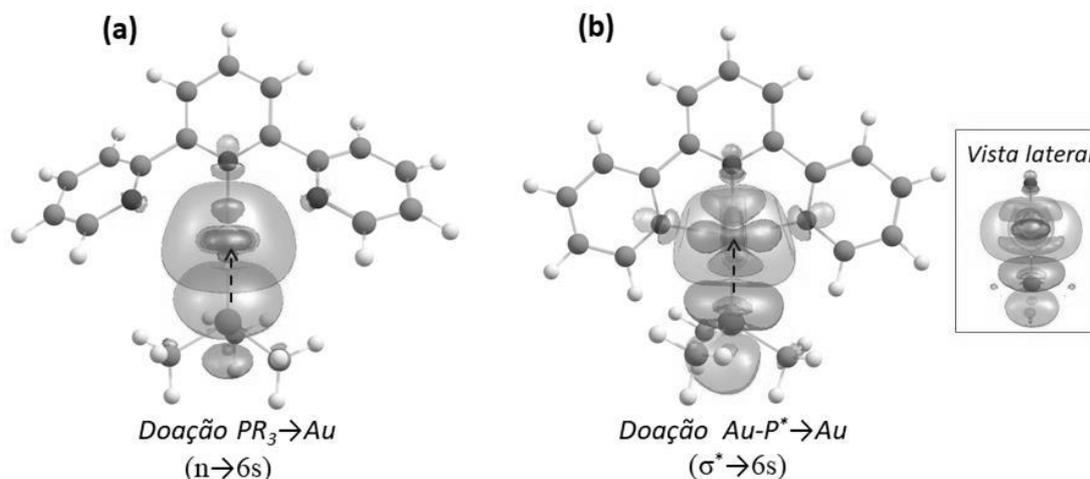
^aValores experimentais são dados entre colchetes para o composto **1b** $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]^{2+}$ (MESSORI et al., 2000).

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

4.2.1 Análise NBO

A análise de NBO mostra que os complexos de ouro(I) são altamente estabilizados por doação σ , através do orbital de par solitário de elétrons do fósforo (LP(P)) para o orbital 6s do metal (Figura 33a). O orbital LP(P) do complexo reduzido B21 exibe a energia mais baixa (-31,23 eV) em comparação com os demais compostos onde foi encontrada esta doação, os quais apresentam uma energia de aproximadamente -12,7 eV (Tabela 9). Este mesmo composto B21 apresentou o segundo maior valor de potencial de redução entre a série avaliada ($E^{\circ} = +1,09$ V). A Tabela 9 também relata as energias de estabilização para a doação do orbital LP(P) para o metal ($n \rightarrow 6s$). A energia $E^{(2)}$ estimada para esta interação é significativamente maior para o composto B21 (-47,8 eV), quando comparada às interações dos demais compostos que apresentam uma $E^{(2)}$ entre -12 e -16 eV. Este tipo de interação entre o orbital de par solitário do ligante para o orbital ns do metal, já tem sido observada em complexos de ouro(I), sendo em grande parte responsável pela estabilização dos mesmos (PAŠTEKA; RAJSKÝ; URBAN, 2013).

Figura 33 - Orbitais NBO representando a doação $\text{P}(\text{CH}_3)_3 \cdots \text{Au}$. (a) Doação $\text{LP}(\text{P}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ ($n \rightarrow 6s$) no composto reduzido B0 e (b) $\text{BD}^*(\text{Au-P}) \rightarrow \text{LP}^*(\text{Au})$ ($\sigma^* \rightarrow 6s$) no composto oxidado B0.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Tabela 9 - Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock em NBO dos compostos $[\text{Au}^{\text{I}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{PR}_3]^+$ (B).

	Energia do orbital LP(P) (eV)	Ocupação (e ⁻)	Doador(i)→aceitor(j)/ tipo de interação	E ⁽²⁾ (eV)
B0	-13,09	1,51	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-12,90
B3-2	-12,32	1,50	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-13,51
B14	-12,39	1,52	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-13,61
B19	-12,93	1,55	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-12,01
B20	-12,28	1,52	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-16,01
B21	-37,23	1,57	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-47,81
B24	-12,93	1,53	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-12,72
B39	-12,98	1,51	LP(P)→LP*(Au) / $n \rightarrow n^*$	-13,13

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Devido à baixa polarizabilidade do íon Au^{3+} (ácido duro) em comparação com o íon Au^{1+} (ácido mole), a ligação $\text{Au}^{\text{III}}\text{-P}$ é mais fraca do que a ligação $\text{Au}^{\text{I}}\text{-P}$. De fato, o orbital de par solitário LP(P) está ausente nos complexos de ouro(III), de acordo com a análise NBO. Outro aspecto importante que influencia a redução dos complexos (B) contendo o ligante $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$, é que a maioria destes apresentam interações mais fortes para a retrodoação $\text{Au} \rightarrow \text{PR}_3$ ($5d \rightarrow \sigma^*$) do que para a doação $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}$ ($\sigma \rightarrow 6p$), com algumas exceções para os compostos

B0, B3-2, B20, B21 e B38, onde a doação domina (Apêndice – E). Ao comparar os parâmetros geométricos (Apêndices – B e D), notamos que o comprimento da ligação Au–P é consideravelmente menor para os compostos (A) do que para os compostos (B). Além disso, a doação do orbital antiligante Au–P (BD^*) para o orbital 6s do ouro (Figura 33b) corresponde a uma das principais deslocalizações nos compostos (B). O anterior também é observado para os compostos (A), mas em menor extensão.

A partir da análise NBO, também observamos a doação desde o orbital LP do nitrogênio no ligante N^N^N para o orbital antiligante Au–P (BD^*). Esta doação mostra energias de estabilização consideravelmente maiores em relação à doação do orbital LP de carbono do ligante C^N^C para o orbital Au–P nos compostos (A). No entanto, a doação do LP do carbono para o orbital antiligante Au–C (BD^*), fornece uma alta estabilização aos compostos (A). No caso dos compostos (B), o orbital análogo Au–N (BD^*) não é formado. Todos estes aspectos mencionados ajudam a explicar a maior estabilidade dos compostos (A) em relação aos compostos (B).

4.2.2 Modelos QSPR nos compostos (B)

Apesar do pequeno número de compostos (B) avaliados (24), uma regressão múltipla também foi aplicada para esta série de compostos, incluindo como variáveis independentes o $\%V_{bur}$ para ambas as espécies oxidadas e reduzidas e, as energias $\epsilon(HOMO)$ e $\epsilon(LUMO)$ correspondentes às fosfinas livres. Sete modelos foram propostos para a predição do potencial de redução dos compostos (B) reportados na Tabela 10. Os coeficientes de determinação mostram que o potencial de redução dos compostos (B) é estimado em mais de 70% com um erro padrão máximo de apenas 81 mV. Os valores F calculados, indicam que os modelos são significativos, especialmente os Modelos 1 e 3. O $\%V_{bur}$ para as espécies reduzidas é o principal parâmetro que influencia o potencial de redução dos complexos (B). As propriedades estéricas desempenham o papel principal na estabilidade redox dos compostos (A) e (B); no entanto, a capacidade de doação das fosfinas também tem um papel importante, principalmente para a estabilidade dos derivados de ouro(I) (B), sendo este parâmetro eletrônico determinante para sua estabilidade redox.

Tabela 20 - Modelos QSPR para a previsão do potencial de redução padrão (E°/V) dos compostos $[Au^{III}(N^N^N)(PR_3)]^{3+}$ (B).

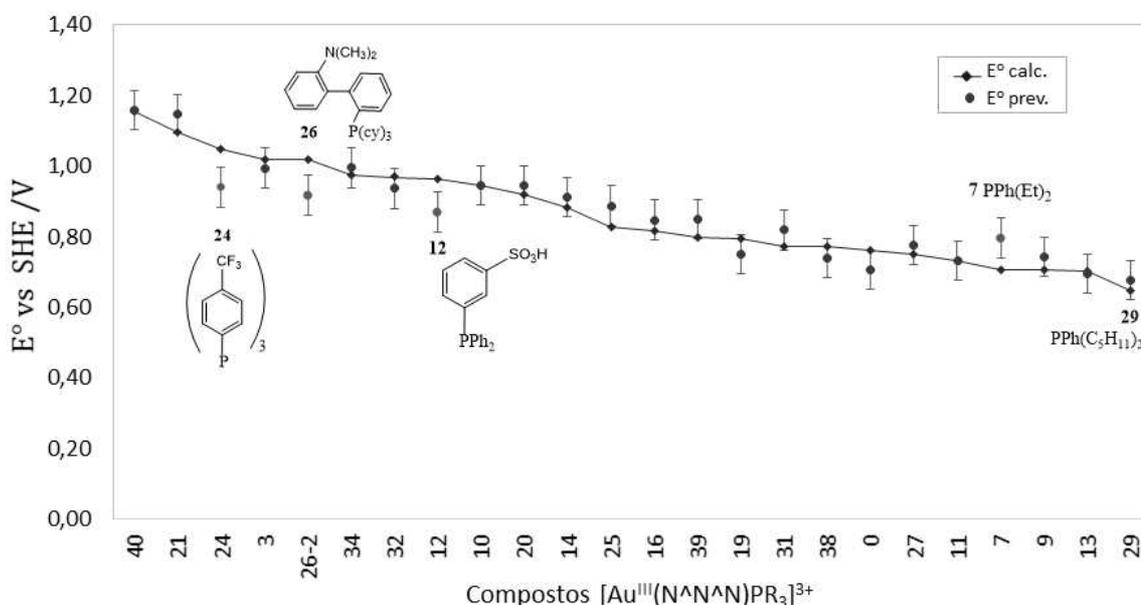
	Modelos de regressão linear múltipla	R^2	^a SD (mV)	^b Valor F
1	$E^\circ/V = -0,790(\pm 0,159) - 0,022(\pm 0,010) \%V_{bur(Au^{III})} + 0,044(\pm 0,009) \%V_{bur(Au^I)} - 0,150(\pm 0,024) \varepsilon(HOMO)/eV$.	0,86	56,0	41,5 (3,10)
2	$E^\circ/V = -0,714(\pm 0,224) - 0,024(\pm 0,011) \%V_{bur(Au^{III})} + 0,044(\pm 0,009) \%V_{bur(Au^I)} - 0,142(\pm 0,030) \varepsilon(HOMO)/eV - 0,013(\pm 0,025) \varepsilon(LUMO)/eV$.	0,86	57,3	30,0 (2,89)
3	$E^\circ/V = -0,695(\pm 0,163) + 0,025(\pm 0,003) \%V_{bur(Au^I)} - 0,123(\pm 0,023) \varepsilon(HOMO)/eV$.	0,83	61,2	50,3 (3,47)
4	$E^\circ/V = 0,581(\pm 0,235) - 0,261(\pm 0,166) \delta q_{PR_3-Au^{III}/u.a.} - 0,950(\pm 0,475) \delta q_{PR_3-Au^I/u.a.} - 0,013(\pm 0,014) \%V_{bur(Au^{III})} + 0,042(\pm 0,013) \%V_{bur(Au^I)}$.	0,74	79,6	13,2 (2,89)
5	$E^\circ/V = 0,662(\pm 0,261) - 1,319(\pm 0,643) \delta q_{P-Au^{III}/u.a.} - 0,157(\pm 0,590) \delta q_{P-Au^I/u.a.} + 0,002(\pm 0,015) \%V_{bur(Au^{III})} + 0,021(\pm 0,013) \%V_{bur(Au^I)}$.	0,73	80,9	12,6 (2,89)
6	$E^\circ/V = 0,459(\pm 0,203) - 1,099(\pm 0,395) \delta q_{PR_3-Au^{III}/u.a.} + 0,027(\pm 0,004) \%V_{bur(Au^I)}$.	0,70	81,3	24,0 (3,47)
7	$E^\circ/V = 0,694(\pm 0,238) - 1,456(\pm 0,445) \delta q_{P-Au^{III}/u.a.} + 0,022(\pm 0,004) \%V_{bur(Au^I)}$.	0,72	77,3	27,6 (3,47)

Os modelos usaram 24 estruturas. ^aSD: Desvio padrão. ^bValores F calculados; os valores F críticos são fornecidos entre parênteses.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Os valores de E° calculados a partir do protocolo padrão e do Modelo 1 são representados na Figura 34. A tendência à redução observada para o Modelo 1 é bastante similar à exibida pelo protocolo padrão PBE0 ($R^2=0,86$). Como encontrado nos modelos QSPR dos compostos (A), observam-se algumas inconsistências entre os valores de E° na faixa de potencial mais positiva, devidas principalmente às limitações descritas anteriormente para as fosfinas de alto $\%V_{bur}$ e ao uso descritores eletrônicos das fosfinas isoladas.

Figura 34 - Tendência à redução dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^+$ (B). O potencial de redução calculado (PBE0) é representado na linha vermelha e o potencial de redução estimado pelo Modelo 1 é representado em azul. Os valores fora do intervalo de confiança são destacados em verde.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2019.

Vários estudos de complexos de ouro(III) têm procurado relações entre as propriedades eletroquímicas e os efeitos biológicos (MESSORI et al., 2000; DE ALMEIDA et al., 2017; ABBEHAUSEN et al., 2018; BEATON; FARRELL, 2019). Geralmente, correlações diretas entre a citotoxicidade e os potenciais de redução nem sempre são encontradas (MESSORI et al., 2000; DE ALMEIDA et al., 2017). Entretanto, quando uma série de complexos de ouro(III) são avaliados contra alvos específicos, como por exemplo enzimas/proteínas contendo tióis, a modulação da estabilidade redox é bastante relevante para esta interação (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018; BEATON; FARRELL, 2019; MORA; GIMENO; VISBAL, 2019). Esta foi uma das principais conclusões do trabalho de Farrell e colaboradores (BEATON; FARRELL, 2019). Os resultados mostraram que uma característica essencial dos complexos do tipo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{L}]^{3+}$ ($\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}$ = (dien= 2,2'-dietilenotriamina), L= R-Cyt (análogo da citosina), DMAP (4-dimetilaminopiridina) e 9-EtGua (9-etilguanina)), para interagir com a proteína do nucleocapsídeo do vírus HIV (*NCp7*) é sua estabilidade redox em relação ao precursor $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$. A interação *NCp7-RNA* (ácido ribonucléico) no vírus é interrompida na presença deste tipo de compostos de ouro; portanto, a proteína *NCp7* é um alvo importante para o tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida, AIDS (BEATON; FARRELL, 2019). Desta forma, o estudo realizado aqui e os modelos QSPR

propostos podem ser úteis para ajustar a estabilidade redox de complexos de ouro(III), alterando o ligante auxiliar. Apesar do foco nas fosfinas, as conclusões sobre as características estéricas e eletrônicas podem ser extrapoladas para outros ligantes, como os NHCs.

4.3 ESTABILIDADE REDOX DOS COMPOSTOS (C) CONTENDO DIFERENTES LIGANTES MULTIDENTADOS.

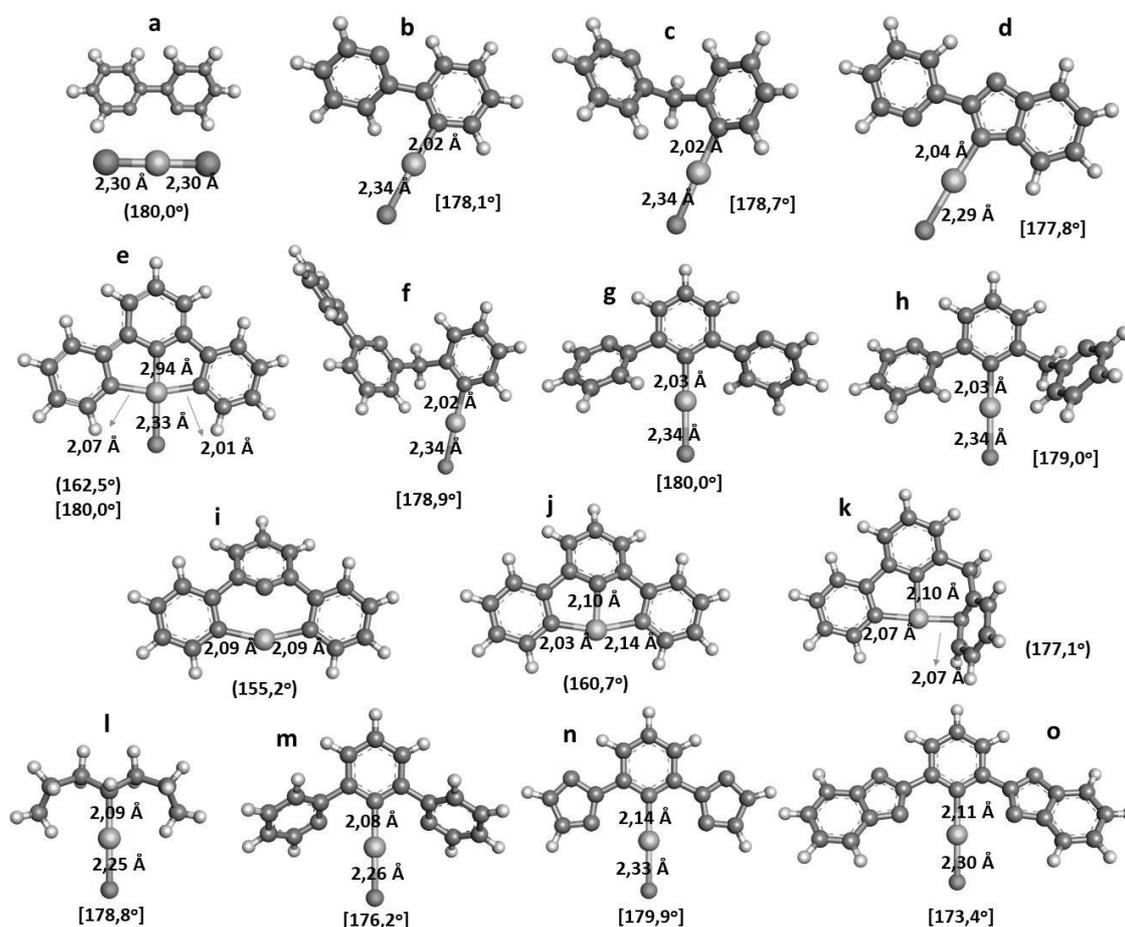
4.3.1 Análise estrutural

Como já mencionado na seção de Métodos, as onze estruturas da Figura 11 foram otimizadas em fase gasosa no nível PBE0. Distâncias e ângulos de ligação para os compostos **Ca-k** são reportados no Apêndice – F. De forma geral, os comprimentos de ligação da esfera de coordenação (Au-N, Au-C e Au-Cl) apresentam um desvio médio de 0,018 Å, com um desvio máximo de 0,053 Å, em relação às estruturas de raios X disponíveis (CINELLU et al., 1996; MESSORI et al., 2000; LI et al., 2006; GABBIANI et al., 2008; ALESSO et al., 2010; AU et al., 2011; ZOU et al., 2013; KUMAR; LINDEN; NEVADO, 2015, 2016; AIKMAN et al., 2018; CARBONI et al., 2018). Os ângulos de ligação calculados, \angle C-Au-C, \angle N-Au-C, \angle N-Au-N, \angle N-Au-Cl e \angle C-Au-Cl, também são concordantes com os dados experimentais, com desvio máximo de 1,72%. Desta maneira, o método computacional utilizado previu as estruturas dos complexos de ouro com uma precisão de ~97%. Isto é satisfatório considerando que os valores previstos foram calculados para as moléculas isoladas, estando dentro da margem de erro para qualquer método DFT relativo aos dados experimentais no estado sólido.

Devido à ampla variedade estrutural dos compostos selecionados na Figura 11, as estruturas reduzidas não seguem um padrão determinado para esta série de compostos. De forma geral, a redução causa a quebra das ligações contendo os átomos mais lábeis, Au-Cl e Au-N(py), as quais são influenciadas pelo efeito *trans* diretor do grupo fenil (Ph) em alguns compostos. A redução do composto **Ca** levou à formação do íon dicloroaurato(I) e à liberação do ligante bipy (N[^]N), como representado na Figura 35. Os complexos organometálicos como o **Cb** e **Cc** formaram uma estrutura linear C-Au-Cl, com um ângulo próximo de 180° após a redução, como previsto no trabalho experimental de Casini em 2017 (DE ALMEIDA et al., 2017). Similarmente ocorre com o composto **Cd**, formando uma estrutura linear N_(bim)-Au-Cl (Figura 35).

No caso dos compostos contendo dois grupos py (Ce-h), as ligações Au-N são quebradas e o anel de fenil lateral e o cloreto se mantêm coordenados ao ouro em um arranjo linear. O ângulo formado $\angle C-Au-Cl$, fica mais próximo dos 180° quando o anel de Ph é situado no centro da estrutura. A exceção é para o composto Ce. Interessantemente, este composto não mostrou uma significativa mudança estrutural após redução. A redução só causou um leve aumento da ligação Au-Cl de $0,29 \text{ \AA}$ e, uma leve diminuição das ligações Au-N, especialmente da ligação central Au-N₂ ($\sim 0,05 \text{ \AA}$). Enquanto nos compostos contendo duas ligações Au-C, só quando o anel de py é situado no centro do ligante tridentado (C^NC, composto Ci), a ligação Au-N é quebrada após redução. A inclusão de dos dois anéis de Ph consecutivos (C^C), não permite a quebra da ligação Au-N, sendo formada uma estrutura tricoordenada como é caso dos compostos Ck e Cj (ver Figura 35).

Figura 35 - Estruturas otimizadas no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d) na forma reduzida. Os ângulos na horizontal como por exemplo, $\angle N-Au-C$ no composto Ce, são dados em parêntese, enquanto que, os ângulos na vertical, exemplo: $\angle N-Au-Cl$, composto Ce, são dados em colchetes.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

Finalmente, a inclusão de ligantes tridentados do tipo $N^{\wedge}N^{\wedge}N$, dien, $N_{(im)}^{\wedge}N^{\wedge}N_{(im)}$ e $N_{(bim)}^{\wedge}N^{\wedge}N_{(bim)}$ levam à formação de uma estrutura linear N-Au-Cl, mantendo o anel de py central coordenado ao ouro, independentemente do grupo N-doador localizado nas laterais. O ângulo $\angle N-Au-Cl$ exibe maior desvio ($6,6^{\circ}$) quando o grupo benzimidazol (bim) é coordenado nas posições laterais. No caso particular do composto **Ce**, o ligante multidentado não permite definir o estado de oxidação do átomo central de ouro. O ligante bipy ($N^{\wedge}N$) se comporta como um ligante redox não inocente e, portanto, grande parte do processo de redução ocorre nos ligantes, e não no metal (KAIM; SCHWEDERSKI, 2010; BERBEN; BRUIN; HEYDUK, 2015). Mais sobre este caso particular será discutido posteriormente.

4.3.2 Predição do potencial de redução para os compostos (C)

Como mencionado na seção de Métodos, os potenciais de redução para todos os compostos (C) foram calculados usando as equações (5) e (6) (protocolo padrão). No entanto, os compostos da série com cargas não equivalentes no par redox também foram calculados através da metodologia VT-HAA (**Cb-d**, **Ci-k**, **Cn** e **Co**) ou VT-HXAA (**Cl** e **Cm**), como uma tentativa de melhorar a descrição do potencial de redução. Os potenciais de redução calculados são apresentados na Tabela 11 abaixo. A segunda coluna da tabela reporta os valores E° calculados usando o protocolo padrão, enquanto que a terceira coluna reporta os valores obtidos ao aplicar a metodologia VT-HAA ou VT-HXAA. O erro MUE da última coluna é calculado em relação ao potencial mais próximo do valor experimental.

Tabela 11 - Potenciais de redução calculados em solução aquosa (vs SHE) para os compostos (C) com diferentes ligantes multidentados no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d).

Composto	E°/V	(continua)		
		E_2°/V VT-HAA/HXAA	$E_{expt.}^{\circ}/V$	MUE/V
Ca	+0,75			
Cb	-0,01	-0,75	-	-
Cc	+0,08	-0,31	-0,37	0,06
Cd	+0,48	+0,17	+0,32	0,15
Ce	-1,20			
Cf	+0,03			

Tabela 11 - Potenciais de redução calculados em solução aquosa (*vs* SHE) para os compostos (C) com diferentes ligantes multidentados no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d).

Composto	E ^o /V	(conclusão)		
		E ₂ ^o /V VT-HAA/HXAA	E _{expt.} ^o /V	MUE/V
Cg	-0,12			
Ch	-0,25			
Ci	-0,88	-1,07	-1,10	0,03
Cj	-1,66	-1,85	-	-
Ck	-1,57	-1,65	-	-
Cl	+0,26	-0,21	+0,19	0,07
Cm	+0,57	+0,60	+0,62	0,02
Cn	-0,32	+0,59	-	-
Co	-0,10	+0,59	-	-

Os compostos **Cm** e **Cl** foram calculados através do método VT-HXAA, X=F⁻.

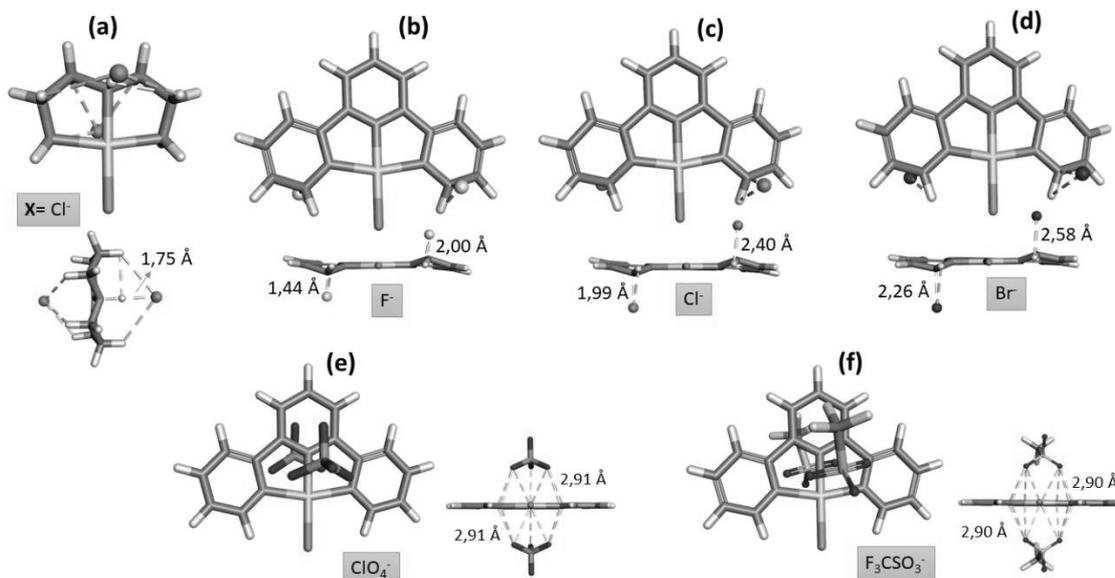
Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

No caso dos compostos neutros derivados do imidazol (**Cn** e **Co**), a metodologia VT-HAA corrige o potencial tornando-o positivo. A reação de neutralização do derivado de ouro(I), dada pela adição de dois prótons nos átomos de N dos anéis de imidazol ($[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}_{(\text{im})}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N}_{(\text{im})})\text{Cl}] + 2\text{H}^+ \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{N}_{(\text{im})}\text{H}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{HN}_{(\text{im})})\text{Cl}]$), exibe uma alta energia de solvatação $\delta\Delta G_{\text{solv}} = -142,4 \text{ kcal mol}^{-1}$. Este derivado de ouro(I) está envolvido tanto na reação diagonal, como na reação auxiliar do ciclo (Figura 15) e, portanto, a predição do potencial E₂^o é significativamente superestimada. Quando parte da densidade eletrônica distribui-se pelo ligante multidentado, a aplicação da metodologia VT-HAA tende a gerar erros na predição do potencial de redução, isto também foi observado por Bím et al (BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016), que propuseram esta metodologia. Neste caso os valores de potenciais calculados através do protocolo padrão (Tabela 11) estão mais de acordo com a capacidade de doação de elétrons ($\epsilon(\text{HOMO})$) dos ligantes de imidazol.

A predição direta do potencial de redução (protocolo padrão) dos compostos catiônicos **Cm** e **Cl** foi satisfatória, com erros menores que 100 mV (Tabela 11). De fato, a predição do potencial de redução envolvendo espécies catiônicas parece levar a erros menores quando comparado a espécies aniônicas (GUTTEN; RULÍŠEK, 2013; BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016). No entanto, a metodologia VT-HXAA correspondente ao ciclo termodinâmico da Figura

16 foi aplicada para estes dois compostos. As estruturas otimizadas para os compostos neutralizados $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]\text{2X}$ usados no ciclo VT-HXAA, são representadas na Figura 36. Algumas estruturas cristalográficas para estes compostos de coordenação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]\cdots\text{2X}$ ($\text{X}=\text{Cl}^-$ e F_3CSO_3^- e ClO_4^-) encontram-se disponíveis na literatura (HOLLIS; LIPPARD, 1983; ELDER; WATKINS II, 1986; PITTERI et al., 1999; ZOU et al., 2013; CZERWIŃSKA et al., 2017), as quais foram tomadas como estruturas de partida para a otimização da geometria. No caso do composto catiônico **Cl**, contendo o ligante dien, a metodologia VT-HXAA falha, independente do contra-íon utilizado (Tabela 11). Isto ocorre devido às alterações estruturais causadas pelo contra-íon uma vez coordenado à estrutura oxidada. Neste caso, a alteração estrutural é maior quando comparada à estrutura plana do composto de terpy **Cm**. Por exemplo, o Cl^- interage fortemente com os hidrogênios dos grupos amina da estrutura do composto contendo o dien (**Cl**), principalmente com a amina central, como representado na Figura 36a. De acordo com o ciclo da Figura 16, a estrutura $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{dien})\text{Cl}]\cdots\text{2Cl}$ está envolvida na reação diagonal e na reação auxiliar, e o erro na predição das correspondentes energias livres causa a falha do método. No estudo de Bím et al. de 2016 (BÍM; RULÍŠEK; SRNEC, 2016), foi notado que a metodologia VT-HAA pode não ser útil para sistemas nos quais a protonação/desprotonação altera significativamente as estruturas geométricas e eletrônicas dos centros redox-ativos. Isto foi observado principalmente em compostos metálicos catiônicos, onde foram usados contra-íons de cloreto.

Figura 36 - Estruturas otimizadas dos compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{dien})\text{Cl}]^{2+}$, **Cl** (a) e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]^{2+}$, **Cm** (b-f) neutralizados, através da coordenação de diferentes contra-íons.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

Como mencionado acima, a estrutura plana do composto catiônico **Cm** contendo o ligante terpy é menos afetada pela coordenação dos contra-íons (Figura 38b-f). Na Tabela 12 são reportados os potenciais da reação auxiliar (E_1^0) do ciclo proposto (Figura 16), e o potencial de redução de VT-HXAA (E_2^0) em solução aquosa (vs SHE) e em DMF (vs Fc/Fc⁺). Neste caso, a aplicação do método VT-HXAA é mais eficaz através do uso de contra-íons de menor tamanho. Os contra-íons de maior tamanho como F₃CSO₃⁻ e ClO₄⁻ interagem fortemente com o centro metálico e o ligante multidentado (Figura 36e,f), causando um grande erro na predição do potencial E_2^0 . No caso dos contra-íons de halogênio, a interação é mais afastada do centro redox (Figura 36b-d) e os erros médios absolutos (MUE) são de menor magnitude. O método VT-HXAA através do íon fluoreto consegue corrigir levemente o potencial calculado a partir do protocolo padrão. O potencial de redução aumenta de +0,57 V para +0,60 V, ficando com um erro médio absoluto de apenas 20 mV, inferior ao encontrado com o protocolo padrão (50 mV).

Tabela 12 - Potencial de redução VT-HXAA (E_2^0) calculado para o composto **Cm** [Au^{III}(N[^]N[^]N)Cl]²⁺ no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31+G(2d). Os potenciais são calculados frente ao eletrodo SHE e em relação ao par redox ferroceno/ferrocênio (Fc/Fc⁺).

Contra-íon	E_1^0/V vs SHE	E_2^0/V vs SHE	MUE /V	E_1^0/V vs *Fc/Fc ⁺	E_2^0/V vs Fc/Fc ⁺	MUE /V
F ⁻	+1,69	+0,60 ^a [+0,62]	0,02	+1,26	+0,15	0,42
Cl ⁻	+1,43	+0,44	0,18	+1,01	+0,03	0,30
Br ⁻	+1,13	+0,09	0,53	+0,70	-0,34 ^b [-0,27]	0,07
F ₃ CSO ₃ ⁻	+0,29	-0,84	1,46	-0,09	-1,22	0,95
ClO ₄ ⁻	+0,27	-0,92	1,54	-0,03	-1,23	0,96

Os valores de E_1^0 e E_2^0 são obtidos de acordo ao ciclo da Figura 16.

Os valores experimentais em ^asolução aquosa e em ^bDMF são dados entre colchete, tomado de MESSORI et al., 2000.

*O valor de referência usado para o par redox Fc/Fc⁺ foi de 4,97 V.

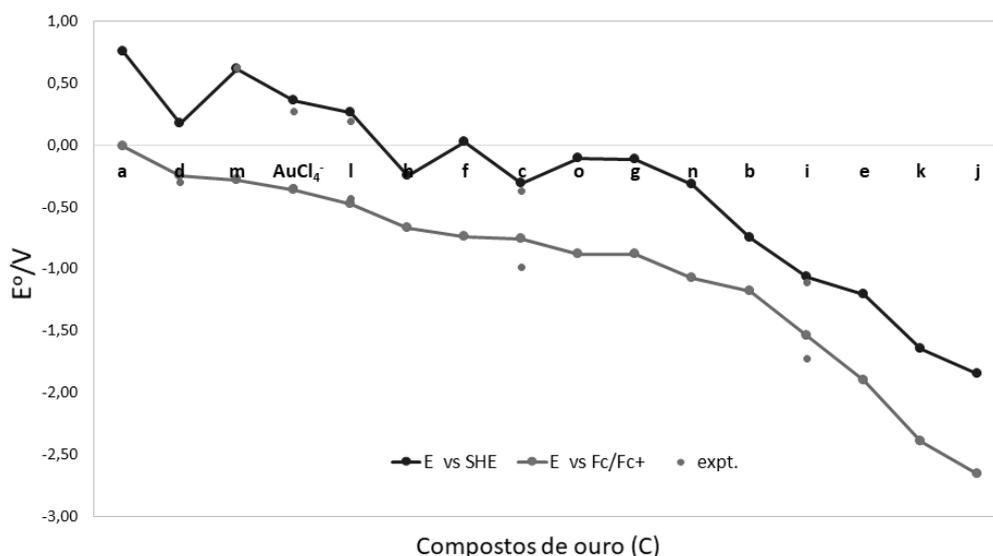
Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

A tendência à redução dos onze complexos de ouro(III) (C) é representada na Figura 37, onde são incluídos os potenciais de redução calculados em solução aquosa, tomando como referência o eletrodo SHE (em azul), e em dimetilformamida (DMF) vs o eletrodo de ferroceno (em verde). Os valores de E^0 calculados cobrem uma ampla faixa de potencial de 2,60 V. Uma

variação de potencial muito maior daquela encontrada a partir da variação do ligante auxiliar, discutido nas seções 4.1 e 4.2. Como esperado, os potenciais são deslocados para uma faixa mais negativa com o crescente caráter doador de elétrons. Os valores experimentais disponíveis para alguns compostos da série são representados na Figura 37 na cor laranja. O erro MUE para os compostos Cd, Cm, Cl e Ci em solução aquosa é menor que 90 mV, porém, a predição em DMF para os compostos Cc e Ci exibe erros de 230 e 190 mV, respectivamente.

O E° do ácido cloroáurico (AuCl_4^-), também é incluído na Figura 37 para termos comparativos. Tomando como referência o valor de potencial do AuCl_4^- , $E^\circ = +0,36 \text{ V vs SHE}$ e $-0,36 \text{ V vs Fc/Fc}^+$, a substituição do cloreto por ligantes N-doadores aumenta os potenciais de redução, levando a uma faixa de valores mais positivos. Isto acontece principalmente para os ligantes bipy e terpy, onde a substituição de dois ligantes cloreto pelo ligante bipy (composto Ca) levou a um deslocamento do potencial de redução de aproximadamente $+0,37 \text{ V}$. Esta variação do potencial é similar à encontrada por de Almeida et al. ($+0,33 \text{ V}$), após substituição dos dois cloretos pelo ligante de fenantrolina (phen) para estudar a redução $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ por voltametria cíclica (DE ALMEIDA et al., 2017). A inclusão do ligante 2-(2-piridil)benzimidazol ($\text{N}_{(\text{bim})}^{\wedge}\text{N}$, composto Cd), também causa um aumento no potencial, porém, a variação é mais discreta ($+0,10 \text{ V}$ em DMF).

Figura 37 - Tendência à redução dos compostos (C) contendo diferentes ligantes multidentados.



O valor de referência usado para o par redox Fc/Fc^+ foi de 4,97 V.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

No caso dos compostos com ligantes tridentados como terpy e dien (N[^]N[^]N), o aumento no potencial não é proporcional ao número de nitrogênios na estrutura. Por exemplo, após substituição dos três cloretos por três ligantes de py (terpy) deveria se esperar um valor de $E^{\circ} \sim -0,82$ V, porém, o valor estimado para o composto **Cm** ($[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{Cl}]^{2+}$) é de $+0,60$ V. Após redução, o ligante multidentado dos compostos **Cl-o** mantêm-se coordenado ao ouro(I) através do ligante N central (Figuras 35). A entropia da reação ($T\Delta S^{\circ}$) para estes compostos é $\sim 0,20$ eV, aproximadamente duas vezes menor da observada para os compostos **Ca** e **Cd** ($T\Delta S^{\circ} = 0,48$ eV). Como denotado na metodologia, o potencial eletroquímico é calculado a partir da energia livre de Gibbs e, portanto, a entropia tem um papel importante para o cálculo do potencial de redução. Por outro lado, os compostos mais estáveis da série são aqueles contendo duas ligações Au-C consecutivas na estrutura (**Cj** e **Ck**), exibindo valores de $E^{\circ} = -1,85$ V e $-1,65$ V, respectivamente.

4.3.3 Potencial de redução e propriedades eletrônicas

Vários trabalhos experimentais têm estudado a estabilidade dos complexos quadráticos planos de ouro(III) contendo cloreto como ligante auxiliar e diferentes ligantes multidentados (MESSORI et al., 2000; DE ALMEIDA et al., 2017; BEATON; FARRELL, 2019). Respostas eletroquímicas típicas envolvem a redução de $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$ com valores de potenciais que são fortemente influenciados pela intensidade do campo do ligante de coordenação. Como esperado, os potenciais são deslocados para valores mais negativos com o aumento do caráter doador de elétrons do ligante quelante ($\epsilon(\text{HOMO})$). Parâmetros eletrônicos dos ligantes multidentados usados nos compostos (**C**) são relatados na Tabela 13, incluindo as energias HOMO e LUMO, a carga local do cloreto na estrutura oxidada, e a carga do centro metálico e do ligante multidentado nas estruturas oxidadas e reduzidas.

Tabela 13 - Parâmetros eletrônicos dos ligantes e potencial de redução calculado para os compostos (C).

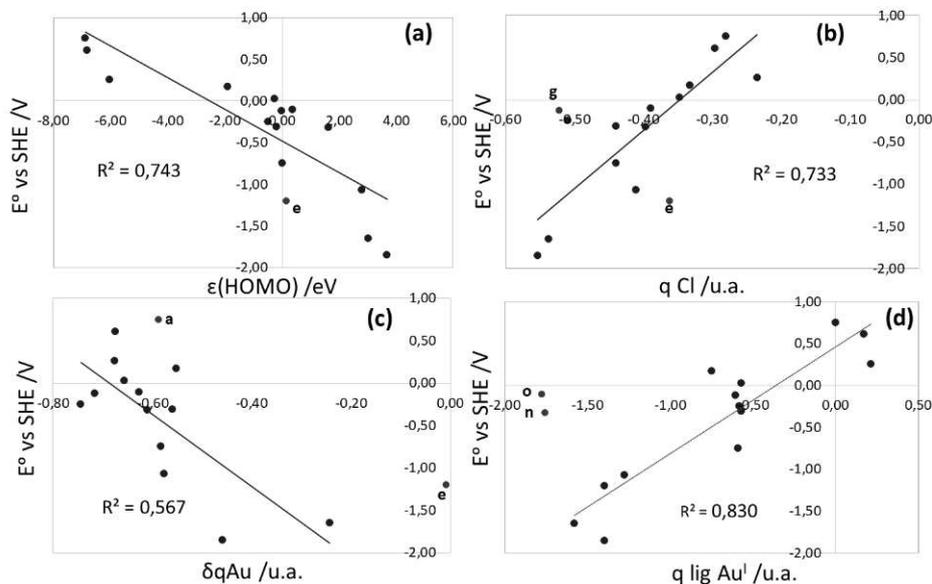
Composto	$\epsilon(\text{HOMO})$ /eV	$\epsilon(\text{LUMO})$ /eV	qCl ⁻ /u.a	qAu ^{III} /u.a	q Au ^I /u.a.	*q lig. Au ^{III} /u.a.	*q lig. Au ^I /u.a.
Ca. [Au(N [^] N)Cl ₂] ⁺	-6,88	-1,53	-0,28	0,91	0,32	0,65	0,00
Cb. [Au(C [^] N)Cl ₂]	0,00	2,72	-0,44	0,84	0,26	0,04	-0,59
Cc. [Au(C [^] 'N)Cl ₂]	-0,19	2,54	-0,44	0,80	0,24	0,08	-0,57
Cd. [Au(N _(bim) [^] N)Cl ₂]	-1,91	2,28	-0,33	0,93	0,38	-0,60	-0,75
Ce. [Au(N [^] N [^] C)Cl] ⁺	0,15	1,44	-0,36	0,93	0,92	0,02	-1,40
Cf. [Au(N [^] N [^] 'C)Cl] ⁺	-0,26	1,19	-0,35	0,90	0,24	0,45	-0,57
Cg. [Au(N [^] C [^] N)Cl] ⁺	-0,02	2,22	-0,52	0,95	0,24	0,54	-0,60
Ch. [Au(N [^] C [^] 'N)Cl] ⁺	-0,49	0,09	-0,51	1,00	0,26	0,56	-0,58
Ci. [Au(C [^] N [^] C)Cl]	2,79	4,99	-0,41	0,86	0,28	-0,79	-1,28
Cj. [Au(C [^] C [^] N)Cl]	3,68	4,46	-0,55	0,86	0,40	-0,26	-1,40
Ck. [Au(C [^] C [^] 'N)Cl]	3,03	4,32	-0,54	0,82	0,58	-0,25	-1,58
Cl. [Au(dien)Cl] ²⁺	-6,04	0,37	-0,24	0,99	0,32	1,24	0,22
Cm. [Au(N [^] N [^] N)Cl] ²⁺	-6,82	-1,30	-0,30	1,07	0,39	1,24	0,17
Cn. [Au(N _(im) [^] N [^] N _(im))Cl]	1,63	5,51	-0,40	1,06	0,45	-0,66	-1,76
Co. [Au(N _(bim) [^] N [^] N _(bim))Cl]	0,37	4,68	-0,39	1,05	0,43	-0,66	-1,78

*q lig. Au^{III/I} = carga do ligante multidentado na estrutura oxidada e reduzida.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

A correlação linear entre $\epsilon(\text{HOMO})$ dos ligantes multidentados e os valores do potencial de redução mostra um coeficiente de determinação (R^2) de 0,74 (Figura 38a). Contrário ao observado para os ligantes de fosfina (Figura 27d,e), a correlação com a carga local do cloreto, qCl⁻, no composto (C) ($R^2=0,73$; Figura 38b), mostra uma queda no potencial quando o cloreto exibe carga mais negativa, indicando que o papel do cloreto na estabilização dos compostos (C) é cada vez menor com a inclusão de ligantes quelantes fortes doadores de elétrons. Isto acontece, principalmente, nos compostos tridentados quando o carbono do grupo fenil está na posição *trans* ao cloreto (**Ch**, **Cg**, **Cj** e **Ck**). De fato, estes compostos apresentam os maiores comprimentos de ligação Au-Cl, com uma distância maior que 3,35 Å (ver Apêndice – F).

Figura 38 - Correlações entre o potencial de redução (E° vs SHE) dos compostos (C) com: (a) $\epsilon(\text{HOMO})$, (b) carga local do cloreto, $q\text{Cl}^-$, (c) variação da carga do ouro através da redução ($\delta q\text{Au}$) e (d) carga do ligante multidentado (lig) na estrutura reduzida ($q \text{ lig Au}^{\text{I}}$).



Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

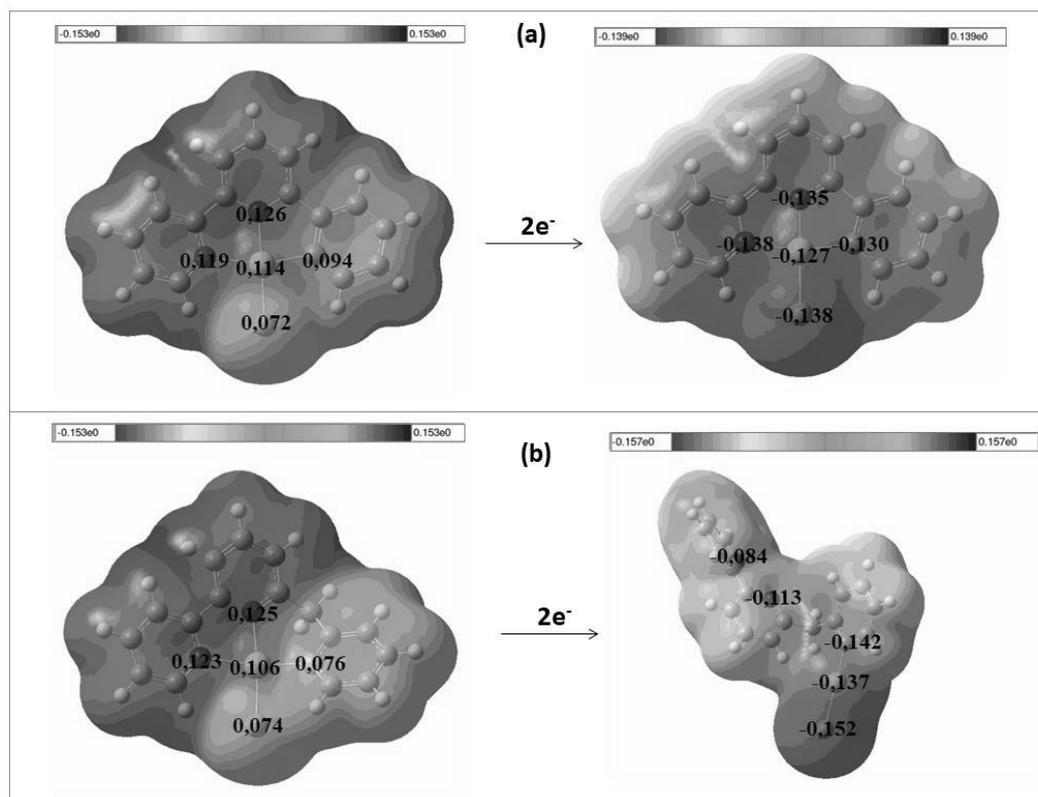
Ao analisar a carga do ouro nas estruturas oxidada e reduzida (Tabela 13), observa-se que a transferência de carga para o metal tende a diminuir com a estabilidade dos compostos (C) (menor E°) durante a redução. De fato, este efeito é mais pronunciado para os compostos mais estáveis da série, o composto Ce contendo ($\text{N}^{\wedge}\text{N}$, bipy) e os compostos Ck e Cj com dois carbonos consecutivos ($\text{C}^{\wedge}\text{C}$). Embora, E° vs $\delta q\text{Au}$ apresente uma pobre correlação linear ($R^2=0,57$), a tendência geral reflete este efeito (Figura 38c). Outra forma de ver este efeito é analisando a variação de carga do ligante multidentado durante o processo de redução. A carga do ligante multidentado aumenta na estrutura reduzida após a transferência de elétrons, principalmente para os compostos mais estáveis, com E° mais negativo. A correlação entre a E° e a carga local do ouro na estrutura reduzida ($q\text{Au}^{\text{I}}$) (Figura 38d) é significativamente melhorada ($R^2=0,83$) em relação à correlação com $\delta q\text{Au}$. A tendência é similar à observada para E° vs $q\text{Cl}^-$, sugerindo que quanto mais estável o complexo de ouro(III) (menor E°), maior é a carga dos ligantes. Assim, pode-se observar que estes tipos de ligantes multidentados selecionados tendem a ser mais ativos e participar do processo redox, com o aumento da sua capacidade doadora de elétrons, ou, em outras palavras, tendem a se comportar como ligantes redox não inocentes.

4.3.4 Efeito do grupo bipy na estabilidade dos compostos (C)

Nos gráficos de dispersão da Figura 38a-c, o composto Ce, $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]^+$, é encontrado como um ponto discrepante (em vermelho) e, portanto, não foi considerado na correlação linear. O potencial de redução para Ce é estimado mais negativo do que o esperado (-1,20 V, vs SHE), de acordo com a capacidade doadora do ligante $\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$. Na Tabela 13, observa-se que a variação da carga local do ouro não muda significativamente após a redução (0,93 u.a., estrutura oxidada e 0,92 u.a., estrutura reduzida). Na Tabela 13 também se observa a alta carga do ligante multidentado na estrutura reduzida (q lig. Au^{I}) em relação à oxidada (q lig. Au^{III}). Este composto apresenta a maior variação de carga deste ligante após a redução, confirmando a participação ativa do ligante multidentado na redução.

A inclusão de um grupo metileno entre os anéis de Ph e py (composto Cf, $[\text{Au}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]^+$) causa um leve aumento no comprimento das ligações Au-N₂ (0,065 Å) e Au-C₃ (0,016 Å) em relação ao composto Ce (Apêndice – F). É interessante observar que a inclusão deste grupo metileno favorece a redução, aumentando o potencial em aproximadamente 1,23 V em solução aquosa, sendo causada uma variação estrutural após redução, onde as ligações Au-N₁ e Au-N₂ são quebradas (Figura 35). A distribuição da densidade eletrônica após redução foi observada através das superfícies de potencial electrostático molecular (MEP). Na Figura 39, são representadas as superfícies MEP para as estruturas análogas Ce e Cf. Após redução do composto Ce, os elétrons são distribuídos sobre o ligante multidentado (especialmente no ligante bipy) e no cloreto, onde observa-se o mínimo potencial eletrostático (vermelho). No caso do composto Cf, a densidade eletrônica é concentrada principalmente sobre a ligação Cl-Au-C (Figura 39b).

Figura 39 - Potencial eletrostático molecular (MEP) calculado para os complexos (a) Ce e (b) Cf. A isodensidade foi definida como 0,0004 e/bohr.

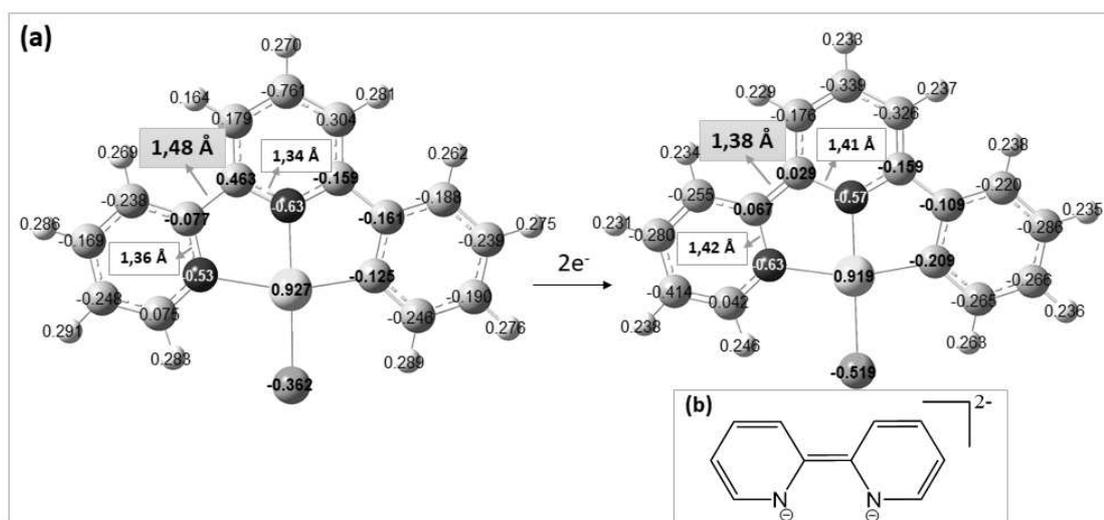


Fonte: Elaborada pelo próprio autor (2021).

A Figura 40a mostra a distribuição de carga sobre o anel bipy do composto Ce. A Figura 40a destaca a deslocalização de carga entre a ligação C-C que conecta os anéis de piridina. Os trabalhos de 2011 de Wieghardt e colaboradores demonstraram que os ligantes bipy são ligantes redox ativos e podem existir em três distintos estados de oxidação: o ligante neutro (bipy^0), o radical π monoaniônico ($\text{bipy}^{\cdot-}$) e o diânion diamagnético (bipy^{2-}) (SCARBOROUGH et al., 2011; IRWIN et al., 2012; M. WANG et al., 2013a, 2013b). Desta forma, a redução dos ligantes bipy leva a uma diminuição da ligação C-C (Figura 40a). A distância C-C na estrutura reduzida é de 1,38 Å, concordante com aquela determinada em bipy^{2-} através da difração de raios X em diversos trabalhos (entre 1,36 Å e 1,40 Å) (CHISHOLM; HUFFMAN; ROTHWELL, 1981; H. BOCK et al., 1999; E. GORE-RANDALL et al., 2009; ZELL et al., 2014). Adicionalmente, as ligações N-C destacadas na Figura 40a também mostram mudanças significativas após a redução. O comprimento de ligação N-C aumenta de 1,36 a 1,42 Å (Figura 40a), evidenciando a perda da aromaticidade do ligante bipy neutro e a formação de uma estrutura com ligação dupla localizada. De acordo com a distribuição de elétrons observada com as superfícies MEP (Figura 39a) e com as mudanças estruturais para o ligante bipy no composto Ce, pode-se inferir

a formação do diânion bipy²⁻ na estrutura reduzida deste composto (Figura 40b). A redução do ligante bipy em diferentes compostos metálicos também tem sido evidenciada em alguns trabalhos experimentais (SCARBOROUGH et al., 2011; M. WANG et al., 2013a; ZELL et al., 2014).

Figura 40 - (a) Distribuição de carga NBO para a redução do composto Ce. (b) Ligante bipy (N[^]N) na forma diânion.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

A posição em *trans* das piridinas, N[^]C[^]N e N[^]C[^]N, nos compostos **Cg** e **Ch**, também favorece a redução e o potencial cai para -0,12 V e -0,25 V vs SHE, respectivamente. Esta posição em *trans* leva a quebra das ligações Au-N após a redução (Figura 35). Esta forma de coordenação ao ouro (N[^]C[^]N), realizada por Alesso em 2010 (ALESSO et al., 2010), é outra alternativa à inclusão do metileno entre anéis, para evitar que o processo de redução ocorra ativamente nos ligantes quelantes e o potencial se desloque para uma faixa muito negativa.

De forma geral, os ligantes imidazol e benzimidazol são melhores doadores de elétrons em relação à py, exibindo uma energia do orbital HOMO significativamente maior (Tabela 13). De fato, os potenciais de redução dos compostos **Cn** e **Co** são estimados na faixa negativa, sem a presença de ligações Au-C na sua estrutura. A análise NBO sobre a doação N_(im/bim)→Au, mostra que a interação (LP(N)→LP*(Au)/n→n*), correspondente aos N dos grupos imidazol, causa maior estabilização a estes compostos, em relação à interação análoga N_(py)→Au (Apêndice – G).

4.3.5 Efeito do grupo Ph na estabilidade dos compostos (C)

Como esperado, a presença da ligação Au-C na estrutura do complexo de ouro, decresce significativamente o valor do potencial para a faixa negativa (compostos **Cb**, **Cc**, **Ce**, **Cf**, **Cg**, **Ch**, **Ci**, **Cj** e **Ck**). A inclusão do ligante C[^]N (composto **Cb**), decresce o potencial em 0,67 V em relação a AuCl₄⁻, o dobro do observado para o ligante bipy (N[^]N). No caso dos compostos com ligantes tridentados, a inclusão da ligação Au-C na posição central sem a presença do grupo metileno entre anéis, favorece a sobreposição de orbitais, incrementando a capacidade de doação de elétrons do grupo fenil. O comprimento de ligação central Au-C₂ nos compostos **Cg** (1,950 Å) e **Cj** (1,964 Å) é o menor entre a série de compostos organometálicos da Figura 11 (Apêndice – F). A análise NBO mostra um favorecimento significativo para a doação central Ph→Au (C-C₂→ Au/6p) nestes dois últimos compostos (Tabela 14). O orbital de ligação (BD) C-C₂, mostra-se altamente estável e de baixa ocupação (~1,64 e⁻), nestes dois compostos **Cg** e **Cj**, quando comparado aos demais da série (ver Tabela 14). Estas doações C-C₂→ Au/6p causam uma alta estabilização do complexo de ouro(III), especialmente ao composto **Cj**, que exibe o maior valor de energia E⁽²⁾ (Tabela 14) e ao mesmo tempo o potencial de redução mais negativo (-1,85 V vs SHE) da série. De acordo com a análise NBO e os valores de potencial de redução, a localização da ligação Au-C na posição lateral é menos eficiente para a estabilização do composto.

Tabela 14 - Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock desde NBO para a doação Ph→Au nos compostos (C).

Composto	Energia do Orbital BD(C-C) (eV)	Ocupação (e ⁻)	Donor(i)→acceptor(j) (σ→π*)	E ⁽²⁾ (eV)
Cb	-20,09 (C-C ₁)	1,966	BD(C-C ₁) → LP*(Au)6p	-0,26
Cc	-19,97 (C-C ₁)	1,975	BD(C-C ₁) → LP*(Au)6p	-0,22
Ce	-22,73 (C-C ₃)	1,966	BD(C-C ₃) → LP*(Au)6p	-0,34
Cf	-23,02 (C-C ₃)	1,969	BD(C-C ₃) → LP*(Au)6p	-0,26
Cg	-48,35 (C-C ₂)	1,636	BD(C-C ₂) → LP*(Au)6p	-51,15
Ch	-23,30 (C-C ₂)	1,964	BD(C-C ₂) → LP*(Au)6p	-0,42
Ci	-6,88 (C-C ₁)	1,600	BD(C-C ₁) → LP*(Au)6p	-0,30
	-6,92 (C-C ₃)	1,600	BD(C-C ₃) → LP*(Au)6p	-0,92
Cj	-156,72 (C-C ₁)	1,969	BD(C-C ₁) → LP*(Au)6p	-1,05
	-357,95 (C-C ₂)	1,638	BD(C-C ₂) → LP*(Au)6p	-1250
Ck	-11,92 (C-C ₁)	1,662	BD(C-C ₁) → LP*(Au)6p	- 9,08
	-20,72 (C-C ₂)	1,971	BD(C-C ₂) → LP*(Au)6p	-1,77

O orbital BD(C-C) no anel de fenil, envolve a ligação entre o C-aniônico ligado diretamente ao Au e ao C consecutivo do fenil que conecta os anéis aromáticos.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor (2021).

Como já discutido, a adição de ligações Au-C na estrutura tende a aumentar a participação do ligante multidentado na redução. A exceção do composto **Ce**, já discutido, este efeito é mais pronunciado para os compostos mais estáveis da série, **Cj** e **Ck**, com duas ligações consecutivas Au-C (C[^]C[^]N). Estes dois compostos apresentam a menor variação de carga do ouro ($\delta q_{Au} = 0,24$ (**Ck**); $0,46$ (**Cj**)) durante a redução e, contrariamente, uma alta variação de carga do ligante multidentado ($\delta q_{lig.} = 1,33$ (**Ck**); $1,13$ (**Cj**)) dentre a série de compostos estudados (Tabela 13). Estes compostos foram sintetizados em 2015 por Kumar e colaboradores (KUMAR; LINDEN; NEVADO, 2015). Os autores esperavam que dois centros C-aniônicos consecutivos no ligante poderiam doar suficiente densidade eletrônica para estabilizar o centro de Au³⁺, altamente eletrofílico. Além disso, foi previsto que o anel Ph na posição central exerceria um forte efeito *trans* que facilitasse a troca do ligante auxiliar cloreto. Como já mencionado, estes dois compostos apresentam a maior distância de ligação Au-Cl. De acordo com a discussão anterior e com os achados sobre os mecanismos de ação do composto [Au(C[^]N[^]C)Cl] (**1a**; **Ci**) do nosso trabalho de 2018 (SÁNCHEZ DELGADO; PASCHOAL; DOS SANTOS, 2018), é de se esperar que as reações de troca de ligante com bionucleófilos como água e Cys sejam ainda mais favorecidas para os compostos **Cj** e **Ck**, porém, a subsequente redução a ouro(I) e a sequência de reações para a liberação do ligante (N[^]C[^]C) poderiam ser menos favorecidas em relação ao composto **Ci**, alterando a atividade anticâncer deste tipo de complexos de ouro(III). Outra questão interessante que surge é como seria afetada a atividade anticâncer dos complexos de ouro(III) contendo ligantes multidentados que participam ativamente dos processos redox e não sofrem mudanças estruturais? como é o caso do composto **Ce**.

4.4 O PAPEL DO AMBIENTE ENZIMÁTICO NA REATIVIDADE DOS COMPLEXOS ANTICÂNCER DE OURO(III)

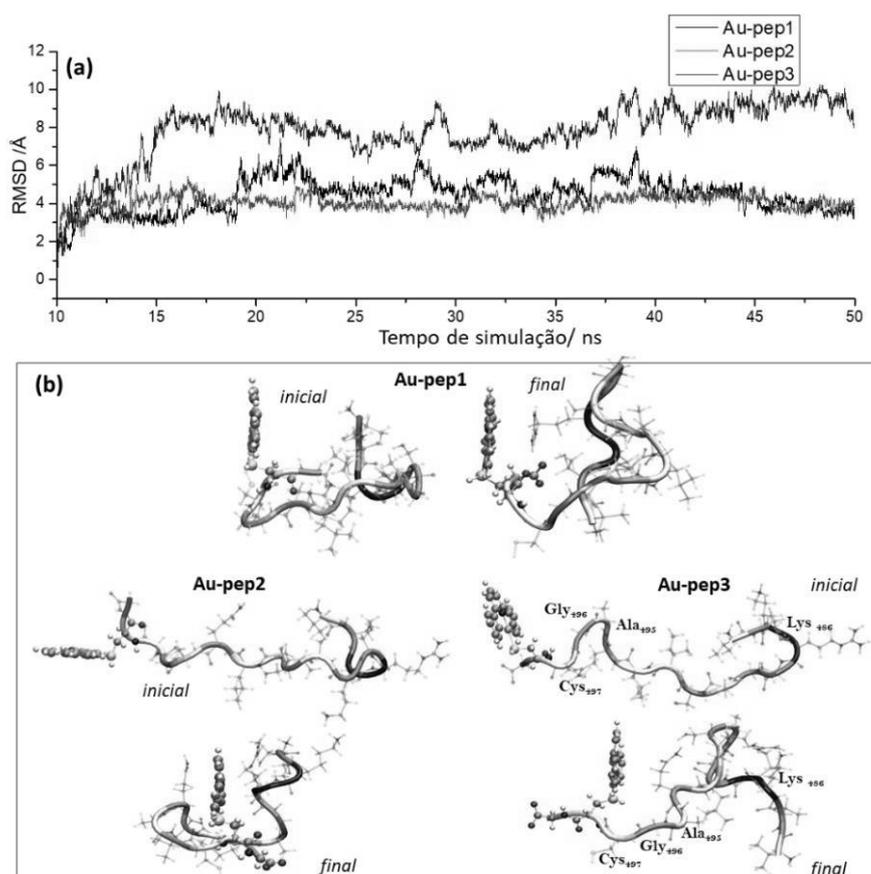
Nesta seção serão apresentados os resultados das etapas III e IV, relacionadas com a modelagem da interação dos compostos de ouro com a enzima TrxR e a avaliação da estabilidade e reatividade dos complexos do tipo Au^{III}-C[^]N[^]C neste ambiente enzimático.

Os processos de redução (1) e (2), para o complexo de ouro(III) ligado aos modelos TrxR foram calculados no nível de teoria DFT. Os resultados para os modelos maiores, Au-pep e Au-trx são discutidos inicialmente e, a análise do modelo menor Au-tet é discutida no final desta seção, juntamente com o processo (3) de troca de ligantes.

4.4.1 Modelos Au-pep

Após a simulação de DM de 50 ns de cada modelo Au-pep, foi realizada uma análise de desvio quadrático médio RMSD (*root mean squared deviation*) em função do tempo. A análise do RMSD durante a trajetória de simulação avalia a oscilação do sistema durante o tempo decorrido de uma determinada dinâmica em relação a uma estrutura de referência. Os gráficos de RMSD obtidos para os modelos Au-pep1-3 são mostrados na Figura 41 com as respectivas estruturas iniciais e finais da etapa de produção.

Figura 41 - (a) RMSD para modelos Au-pep e (b) estruturas iniciais e finais dos modelos Au-pep. A estrutura de referência é aquela para os 10 ns da etapa de produção. Os primeiros 10 ns de simulação foram desconsiderados da análise de RMSD, por corresponderem a parte da sua etapa de estabilização.



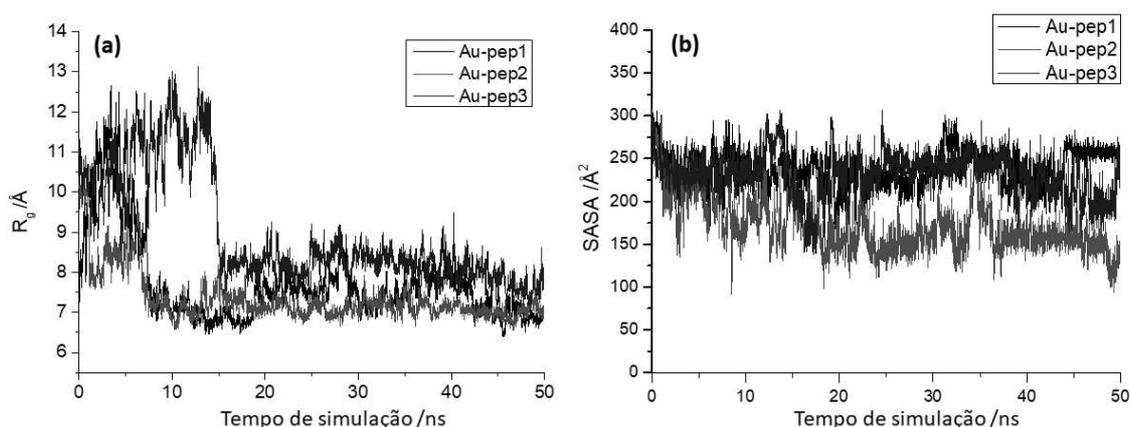
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

A análise do RMSD (Figura 41a) mostra que a estrutura Au-pep2 converge rapidamente, com um RMSD médio de 4,0 Å. A estrutura do modelo Au-pep1 mostra grande oscilação, mas atinge um valor de RMSD em torno dos 4,2 Å no final da simulação. Para o modelo Au-pep3,

o RMSD aumenta significativamente em comparação com Au-pep1 e Au-pep2 com um valor médio de 7,8 Å. Este aumento é devido principalmente à rápida troca entre a estrutura do peptídeo em uma posição mais estendida ou alongada e o peptídeo enovelado como representado na Figura 41b. A restrição dos resíduos na região C-terminal (Val₄₈₄-Thr₄₈₅-Lys₄₈₆) dificulta a compactação e a flutuação perdura até que se atinja uma estrutura mais estável.

O raio de giro (R_g) e a área de superfície acessível ao solvente (SASA) foram calculados para determinar o grau enovelamento dos modelos Au-pep e a acessibilidade ao solvente do fragmento $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$. O R_g é um indicador da mudança na compactação da estrutura da proteína/enzima durante uma simulação. A Figura 42a ilustra o R_g dos modelos Au-pep ao longo dos 50 ns de simulação. De acordo com os valores de R_g , a estrutura do modelo Au-pep2 apresenta a maior compactação da cadeia peptídica, com um valor médio de 7,1 Å enquanto que, a estrutura Au-pep3 apresenta o menor grau de compactação (8,5 Å). Adicionalmente, a análise SASA para o fragmento $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ (Figura 42b), também indica que o modelo Au-pep2 é o mais compactado, ficando menos acessível ao solvente com o menor valor SASA entre os modelos. Os modelos Au-pep1 e Au-pep3 mostraram alguma semelhança na variação dos valores SASA (170 - 301 Å² e 137 - 306 Å², respectivamente), enquanto que o modelo Au-pep2 se estende por um intervalo maior, entre 92 e 301 Å².

Figura 42 - Radio de giro (R_g) (a) e área acessível ao solvente (SASA) do fragmento $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ (b) nos modelos Au-pep.

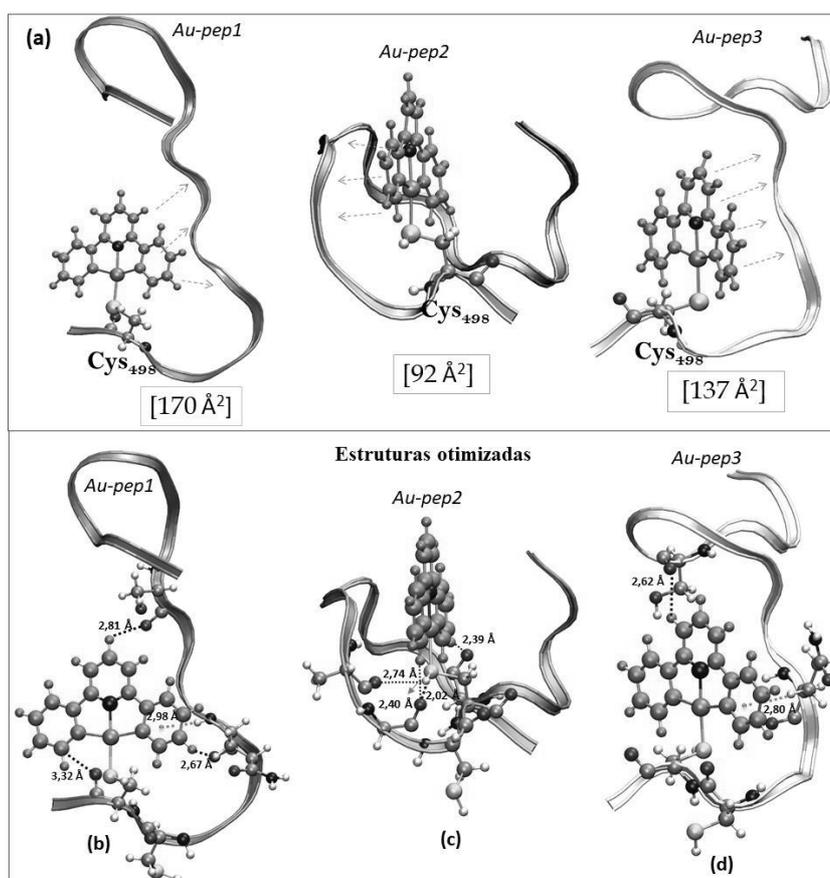


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

a) Estruturas

Durante a trajetória de simulação, foi observado que o complexo de ouro(III) realiza uma ampla flutuação do ângulo diedro $C_{\text{cys498}}-C_{\text{cys498}}-S_{\text{cys498}}-\text{Au}^{\text{III}}$, mudando significativamente o contato do fragmento $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ com o peptídeo. Uma vez que o objetivo é estudar a influência do meio enzimático na redução do complexo, tomamos modelos onde o complexo encontrava-se em maior contato com os resíduos do braço C-terminal. Para esta seleção, calculamos o valor de SASA do composto de ouro durante a trajetória em cada modelo. Desta forma, foram selecionadas as estruturas correspondentes ao valor mínimo de SASA para cada modelo. Essas estruturas selecionadas são mostradas na Figura 43a, as quais foram otimizadas de acordo com o protocolo mencionado na seção de Métodos (Figura 43b) e tiveram seu potencial de redução padrão calculado.

Figura 43 - (a) Estruturas correspondentes ao SASA mínimo para os três modelos Au-pep e estruturas PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H, C, N, O)/6-31+G(2d)(S) otimizadas do modelo (b) Au-pep1, (c) Au-pep2 e (d) Au-pep3 na sua forma oxidada. Os valores SASA são relatados entre colchetes.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Uma vez selecionadas as estruturas a partir das simulações e seus valores SASA, estas foram otimizadas de acordo com o protocolo mencionado na metodologia. Distâncias e ângulos

de ligação para o complexo de ouro(III) ligado ao braço C-terminal são resumidos na Tabela 15. Os parâmetros geométricos para o modelo mais simples $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, chamado de modelo-0, também foram incluídos na Tabela 15. De forma geral, a esfera de coordenação do fragmento $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ não muda significativamente após a interação com o peptídeo. O ângulo $\angle\text{C-Au-C}$ aumentou em torno de $1,4^\circ$ em comparação com o modelo-0, devido às fracas interações intermoleculares entre o ligante multidentado $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ e o peptídeo, especialmente com grupos carboxila dos aminoácidos (Figura 43b-d). Para a estrutura do modelo Au-pep-2, a geometria sofre uma leve distorção em direção ao ângulo vertical $\angle\text{N-Au}^{\text{III}}\text{-S}$ devido a duas interações tipo grampo entre os grupos carbonila dos resíduos Ala495 e Gly496 e o tiol da Cys498 ligado ao complexo de ouro(III) ($\text{O}\cdots\text{HS}$) com respectivas distâncias de 2,74 e 2,02 Å (Figura 43c). Nesta mesma estrutura também são observadas interações do tipo $\text{CH}\cdots\text{O}$ ($\sim 2,40$ Å) entre os anéis laterais do $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ e os resíduos de Gly496 e Ser488 como destacado na Figura 43c. Como mencionado anteriormente, esta estrutura do modelo Au-pep2 apresenta o maior enovelamento do complexo por parte do peptídeo. Para as estruturas Au-pep1 e Au-pep3, são observadas interações tipo π - σ entre o anel fenil do complexo de ouro e o grupo $(\text{HC/N})\text{H}$ da Gln494 (Figura 43b,d).

Tabela 35 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H, C, N, O)/6-31+G(2d)(S) para as estruturas dos modelos Au-pep na forma oxidada.

	Comprimento de ligação/Å			Ângulo de ligação/ $^\circ$		
	Au ^{III} -N	Au ^{III} -C(Ph)*	Au ^{III} -SH	$\angle\text{C-Au}^{\text{III}}\text{-C}$	$\angle\text{N-Au}^{\text{III}}\text{-S}$	$\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-S}$
modelo-0	1,995	2,083	2,313	161,12	177,22	179,39
Au-pep1	1,993	2,081	2,322	162,63	177,56	175,97
Au-pep2	1,998	2,084	2,319	162,27	175,47	178,72
Au-pep3	1,993	2,079	2,321	162,71	177,69	174,18

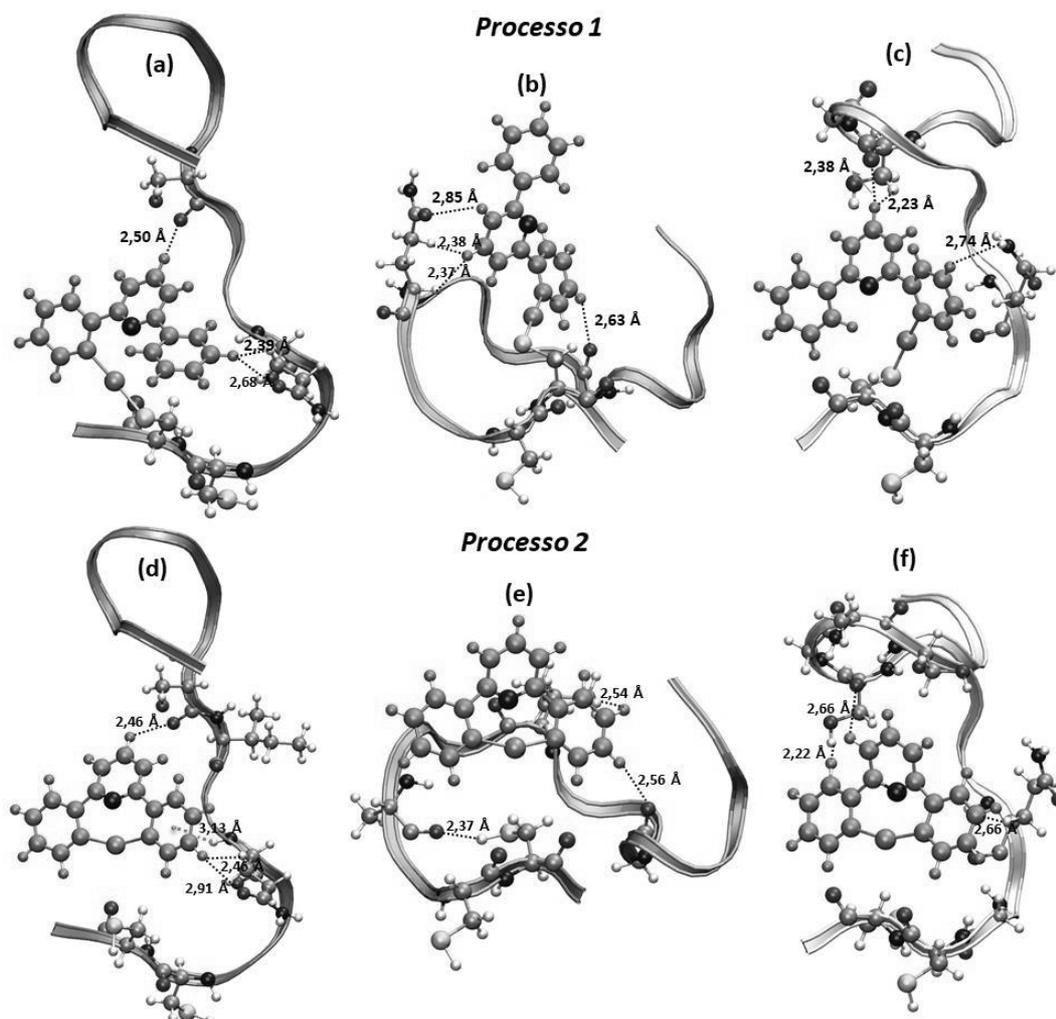
*Valor médio entre as duas ligações Au^{III}-C(ph) da estrutura.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Após redução pela abertura do anel quelato (processo 1), as ligações Au-N e Au-C são quebradas e uma estrutura linear é formada (Figura 44a-c), esta mudança estrutural também foi sugerida em trabalhos experimentais, para a redução de um composto ciclometálico semelhante (DE ALMEIDA et al., 2017). Os ângulos $\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-S}$ entre S_{cys498} , o centro de ouro e o anel fenil, são estimados entre $174,2^\circ$ e $179,4^\circ$ (ver Tabela 16). Esses ângulos de ligação calculados são

próximos aos ângulos $\angle C-Au^I-N$ ($177,5^\circ$) e $\angle P-Au^I-S$ ($178,6^\circ$) reportados para as estruturas cristalinas dos adutos entre as proteínas taumatina e glutatona redutase humana (hGR) e complexos de ouro(I), respectivamente. As distâncias previstas Au^I-S (2,34-2,35 Å) e Au^I-C (2,05 Å), também são bastante próximas com aquelas ligações correspondentes reveladas nas estruturas cristalinas dos adutos hGR-ouro(I) (2,35 Å) e taumatina-ouro(I) (1,95 Å) (URIG et al., 2006; FERRARO; GABBIANI; MERLINO, 2016).

Figura 44 - Estruturas PBE0 otimizadas dos modelos Au-pep nas formas reduzidas. (a) Au-pep1, (b) Au-pep2 e (c) Au-pep3 para a redução pela abertura do anel quelato (processo 1), e (d) Au-pep1, (e) Au-pep2 e (f) Au-pep3 para a redução por liberação de ligante (processo 2).



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Interações do tipo $(ph)H \cdots O=C-$ são observadas entre o anel central de piridina e Ser491 na estrutura Au-pep1 e Ser488 em Au-pep3. Essas interações causam um pequeno desvio do

ângulo de ligação $\angle C-Au^I-S$ na estrutura do complexo de ouro (Figura 44a-c). Com relação à estrutura Au-pep2, a configuração mais estável é dada após a rotação do ângulo diedro entre os anéis de piridina e fenil, $C_{ph}-C_{ph}-C_{py}-C_{py} \sim 160^\circ$. Essa rotação causa um aumento do ângulo $\angle C-Au^I-S$, ficando mais próximo dos 180° ($178,7^\circ$, Tabela 16). Esta conformação aumenta a interação entre o ligante C^N^C com o peptídeo, especialmente com o resíduo Gln494 (Figura 44b).

Tabela 46 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S) para as estruturas reduzidas através do processo 1 de abertura no anel quelato e o processo (2) de liberação do ligante nos modelos Au-pep.

	Processo (1)				
	Comprimento de ligação/Å			Ângulo de ligação/°	
	Au ^I -N	Au ^I -C(Ph)*	Au ^I -SH	$\angle C-Au^I-S$	
modelo-0	3,232	2,044	2,339	179,39	
Au-pep1	3,157	2,046	2,347	175,97	
Au-pep2	4,610	2,047	2,343	178,72	
Au-pep3	3,228	2,047	2,352	174,18	
	Processo (2)				
	Comprimento de ligação /Å			Ângulo de ligação/°	
	Au ^I -N	Au ^I -C(Ph)*	Au ^I -SH	$\angle Au^I-N-C(py)$	$\angle C-Au^I-C$
modelo-0	2,358	2,096	-	140,83	154,97
Au-pep1	2,340	2,096	4,216	142,06	155,37
Au-pep2	2,352	2,094	4,140	141,02	154,99
Au-pep3	2,345	2,097	4,027	144,12	154,97

*Valor médio entre as duas ligações Au^{III}/C(ph) da estrutura.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

b) Redução dos modelos Au-pep

Os potenciais de redução (E°) para o sistema eletroquímico Au^{III}/Au^I foram calculados a partir da equação (5) (protocolo padrão). Ambos os caminhos de redução representados na Figura 18 (processos 1 e 2) foram considerados nesta etapa. Os resultados para estas duas reações são apresentados na Tabela 17, os quais incluem contribuições individuais para a energia livre de Gibbs em solução aquosa. De acordo com os dados da Tabela 17, o processo (1) de redução é favorável em relação ao eletrodo SHE, com valores de potencial positivos para

todos os modelos Au-pep. A redução para os modelos Au-pep1 e Au-pep2 foi ligeiramente mais favorável que a redução para modelo-0 (o qual não possui influência enzimática), com um aumento no E° de 160 mV. Por outro lado, Au-pep3 mostrou a menor influência pelo ambiente do peptídeo, com um valor de $E^\circ = +0,22$ V, bastante próximo ao do modelo-0.

Tabela 17 - Contribuições para a energia livre de Gibbs em solução aquosa e potenciais de redução calculados para o complexo de ouro(III) nos modelos Au-pep no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H, C, N, O, S)//. Todos os termos de energia são expressos em eV e o E° em V.

Processo (1) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SH-R})]^{3+n} + 2e^- \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{S-R})]^{1+n}$						
	$\Delta E_{\text{Au,aq}}$	$\Delta G_{\text{T,aq}}^{\circ}$	$\Delta H_{\text{aq}}^{\circ}$	$T\Delta S_{\text{aq}}^{\circ}$	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$	E_{calc}°
modelo-0	-8,86	-0,200	-8,86	0,204	-9,06	+0,25
Au-pep1	-9,19	-0,194	-9,20	0,183	-9,38	+0,41 (-0,42)
Au-pep2	-8,98	-0,398	-8,75	0,624	-9,38	+0,41
Au-pep3	-9,05	0,052	-9,00	-0,001	-9,00	+0,22
Processo (2) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{HS-R})]^{3+n} + 2e^- \rightarrow \{[\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})] + \text{HS-R}\}^{1+n}$						
	$\Delta E_{\text{Au,aq}}$	$\Delta G_{\text{T,aq}}^{\circ}$	$\Delta H_{\text{aq}}^{\circ}$	$T\Delta S_{\text{aq}}^{\circ}$	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$	E_{calc}°
modelo-0	-6,79	-0,328	-6,93	0,191	-7,12	-0,72
Au-pep1	-6,89	-0,506	-7,00	0,401	-7,40	-0,58 (-1,41)
Au-pep2	-6,68	-0,413	-6,54	0,560	-7,10	-0,73
Au-pep3	-6,62	-0,202	-6,79	0,028	-6,82	-0,87

R = CH₃, n = -2 para o modelo-0 e, R = pep, n = 0 para os modelos Au-pep. Os valores entre parênteses representam E° para as reações com o tiol desprotonado em Cys498: $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{S}_{\text{Cys498}}\text{-SH}_{\text{Cys497-pep}})]^{2+} + 2e^- \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{S}_{\text{Cys498}}\text{-S}_{\text{Cys497-pep}})]$ e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{S}_{\text{Cys498}}\text{-SH}_{\text{Cys497-pep}})]^{2+} + 2e^- \rightarrow \{[\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})] + \text{S}_{\text{Cys498}}\text{-SH}_{\text{Cys497-pep}}\}$.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

O menor grau de enovelamento da estrutura Au-pep1 favorece a estabilização da estrutura reduzida em relação à oxidada ($\Delta E_{\text{Au,aq}} = -9,19$ eV), e o valor do potencial de redução é positivo ($E^\circ = +0,41$ V) para o processo (1) de redução. No entanto, as interações intramoleculares entre o complexo de ouro(III) e os resíduos do peptídeo (Gly489, Ala495 e Gly496) causam um efeito na entropia da estrutura Au-pep2 (Figura 44b), que é a estrutura mais compacta. Como resultado, a contribuição vibracional para a entropia é significativamente maior para a estrutura reduzida de Au-pep2, e a variação da entropia aumenta para este modelo (Tabela 17). Assim, a reação de redução é favorecida e, o valor de E° previsto para Au-pep2 (+0,41 V) é o mesmo encontrado para o modelo Au-pep1. Por outro lado, os dados da Tabela

17 mostram que a variação da entropia ($T\Delta S_{aq}^{\circ}$) para o modelo Au-pep3 é próxima de zero em ambos os processos de redução, causando uma diminuição do valor de E° em relação aos outros modelos. Nesse caso, não há variações ou mudanças estruturais importantes nas interações intramoleculares nas estruturas oxidadas e reduzidas; conseqüentemente, não há uma variação significativa na contribuição vibracional da entropia.

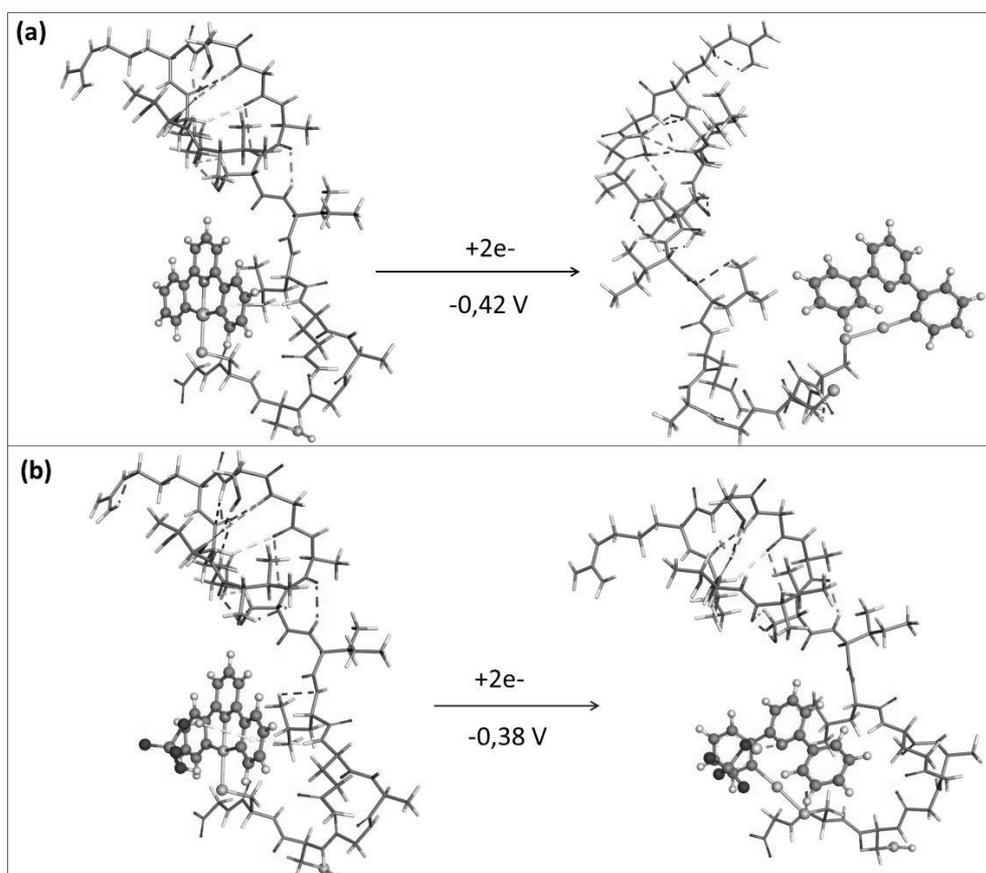
O processo (2) de redução foi mais sensível ao ambiente do peptídeo comparado com o processo (1). As estruturas reduzidas são representadas na Figura 44d-f e os parâmetros geométricos são incluídos na Tabela 16. Conforme encontrado para o processo (1), os parâmetros estruturais dos complexos reduzidos não mudam significativamente em comparação à estrutura reduzida do modelo-0. No entanto, um pequeno desvio para o ângulo de ligação $\angle Au^I-N-C(py)$ é observado para as estruturas Au-pep1 e Au-pep3, devido principalmente às ligações de hidrogênio entre os anéis fenil e piridina do ligante $C^{\wedge}N^{\wedge}C$ com Ser488 e Ser491 (Figura 44d,e). Por outro lado, a estrutura Au-pep2 exibe uma estrutura mais próxima do modelo-0, devido ao menor número de interações entre o complexo de ouro e os resíduos de peptídeo (Figura 44e).

Para o processo (2), o menor grau de compactação do peptídeo de Au-pep1, parece favorecer a redução em relação ao Au-pep2. A conformação adotada pelo peptídeo em Au-pep1 (Figura 43b) favorece a liberação do complexo, estabilizando a estrutura reduzida em relação à oxidada. A redução do modelo Au-pep1 apresentou $E^{\circ} = -0,58$ V, em comparação com $-0,73$ V para Au-pep2 (Tabela 17). Essa diferença se deve principalmente à maior estabilidade observada para a estrutura compactada na forma oxidada do modelo Au-pep2 em comparação a Au-pep1 ($10,4$ kcal mol⁻¹); enquanto a estrutura reduzida do Au-pep2 é mais estável do que Au-pep1 por apenas $2,2$ kcal mol⁻¹.

Uma vez que o pKa para o grupo tiol na cisteína é em torno de $7,4-8,4$ (WESSJOHANN et al., 2007; ZHANG et al., 2015), uma fração da forma desprotonada livre (RS^{-}) é encontrada em equilíbrio em pH 7,2. Os processos de redução na Tabela 17 foram abordados considerando a Cys498 na forma desprotonada (RS^{-}) para o modelo Au-pep1, que apresentou o maior potencial de redução. Os valores estão incluídos entre parênteses na Tabela 17. Neste caso, a neutralização do carbânion após a abertura do anel quelato ($C^{\wedge}N^{\wedge}C$) foi modelada pela transferência do próton do grupo tiol da Cys497. A transferência de prótons requer a aproximação do átomo de enxofre desde a Cys497 à fração $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)]^{+}$ (Figura 45a). A estrutura oxidada é mais estável contendo a Cys498 na forma desprotonada, desfavorecendo o processo de redução, portanto, o E° para os processos (1) e (2) foi negativo, com valores de -

0,42 V e -1,41 V, respectivamente. Neste estado de protonação, a redução dependeria da aproximação entre os dois resíduos de cisteína ou da disponibilidade de prótons no meio para neutralizar o carbânion. A neutralização do carbânion pode ser auxiliada por componentes do meio, como moléculas de água ou íons de fosfato. Em um estudo recente sobre o mecanismo da reação de substituição do ligante NHC por Cys/Sec, Tolbatov et al. concluíram que a reação requer uma transferência explícita de prótons para o carbeno liberado desde o componente ácido do tampão (H_2PO_4^-) (TOLBATOV et al., 2020). Um processo semelhante foi considerado aqui para o processo (1), $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{SH}_{\text{Cys497}}\text{-pep})]^{2+} + \text{H}_2\text{PO}_4^- + 2\text{e}^- \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{SH}_{\text{Cys497}}\text{-pep})]^+ + \text{HPO}_4^{2-}$ (Figura 45b). O potencial de redução foi de -0,38 V, apresentando um leve aumento de 40 mV em relação à reação com a transferência de próton auxiliada por Cys497 (Figura 45a).

Figura 45 - Geometrias otimizadas das espécies reativas que participam do processo (1) de redução para o modelo Au-pep1. A transferência de prótons é auxiliada pela (a) Cys497 ou (b) pelo íon dihidrogenofosfato H_2PO_4^- .



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Os resultados para os modelos Au-pep mostram que diferentes ambientes ao redor da fração $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^{2+}$ têm um efeito sutil na estabilidade redox do complexo de ouro(III). A

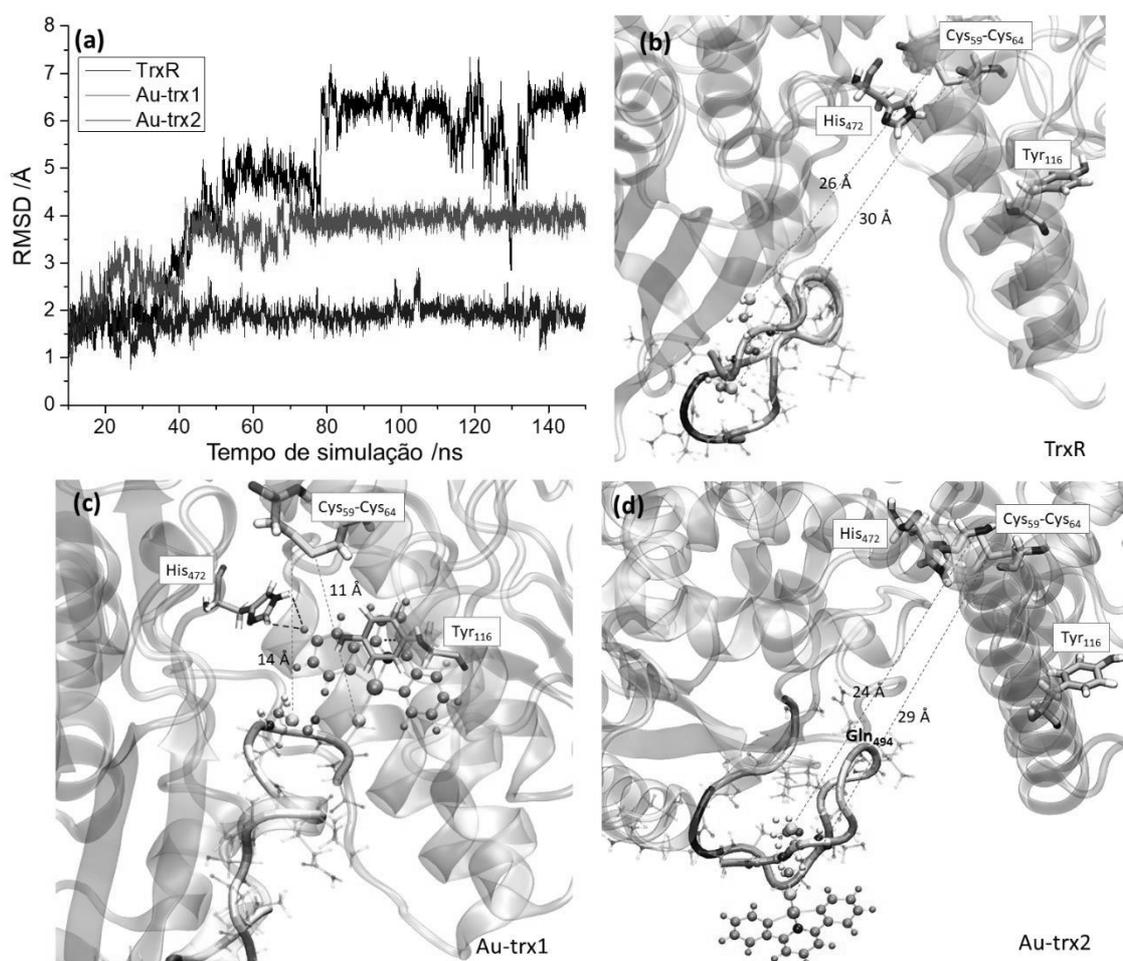
redução pela abertura do anel do quelato (processo 1) é mais favorável para o modelo Au-pep1 e Au-pep2, enquanto a redução pela liberação do ligante (processo 2) é menos favorável para o modelo Au-pep3. Usando o Au-pep1 como exemplo, o potencial de redução aumenta de +0,25 V para +0,41 V (processo 1) e de -0,72 V para -0,58 V (processo 2). Como discutido acima, as estruturas oxidadas mais compactas Au-pep2 e Au-pep3 são mais estáveis do que a estrutura estendida Au-pep1 por 10,4 kcal mol⁻¹ e 9,7 kcal mol⁻¹, respectivamente. De forma geral, um menor grau de compactação do peptídeo favorece a redução do complexo de ouro(III). Não obstante, a redução nas estruturas mais compactadas (Au-pep2 e Au-pep3) depende da conformação adotada pela estrutura reduzida e das interações intramoleculares formadas com o peptídeo, que favorecem sua estabilidade e podem influenciar nas correções térmicas. Em relação às estruturas reduzidas, observa-se uma tendência semelhante; no entanto, a estrutura reduzida de Au-pep3 é ligeiramente mais estável do que o Au-pep2 em 3,4 e 1,6 kcal mol⁻¹ para os processos (1) e (2), respectivamente. De fato, a variação da energia eletrônica ($\Delta E_{Au,aq}$) para esses modelos é semelhante (ver Tabela 17); entretanto, a conformação adotada pela estrutura reduzida Au-pep2 aumenta significativamente a contribuição da entropia, favorecendo a redução em relação ao modelo Au-pep3.

4.4.2 Modelo Au-trx

Inicialmente, foi realizada uma análise de RMSD das trajetórias obtidas de DM para os modelos Au-trx e a enzima TrxR livre. O RMSD para o braço C-terminal dos dois modelos Au-trx e da enzima TrxR é mostrado na Figura 46a, onde pode-se observar que uma vez que o complexo de ouro(III) se liga ao braço C-terminal, seu movimento diminui significativamente, independentemente da posição inicial do braço C-terminal. Os valores de RMSD convergem para 4,0 e 2,0 Å para os modelos Au-trx1 (braço C-terminal dirigido para o centro redox) e Au-trx2 (braço C-terminal deslocado em direção à superfície da enzima), respectivamente. A queda da flutuação é mais pronunciada para o modelo Au-trx1 (a partir dos ~70 ns), devido às interações observadas entre o complexo de ouro e os resíduos enzimáticos na cavidade do centro redox. Por outro lado, a estrutura final para a enzima livre mostra o deslocamento do braço C-terminal em direção ao domínio de interface, conforme representado na Figura 46b. Esse movimento começa aproximadamente em 34 ns e continua até se compactar em 78,4 ns. A partir desse ponto, o peptídeo C-terminal se compacta, permanecendo próximo ao domínio da interface até o final da simulação. A distância entre os centros redox N-terminal (Cys59/Cys64) e C-terminal (Cys497/Cys498) varia entre 11 e 30 Å ao longo da trajetória para TrxR livre. Um

comportamento semelhante foi evidenciado em estudos anteriores de DM para o mesmo estado redox e de protonação dos sítios ativos no dímero da TrxR (TEIXEIRA; CAPACHO; MACHUQUEIRO, 2016).

Figura 46 - (a) RMSD para o braço C-terminal na enzima TrxR livre e nos modelos Au-trx. Estruturas finais das simulações de DM para os modelos: (b) TrxR, (c) Au-trx1 e (d) Au-trx2.

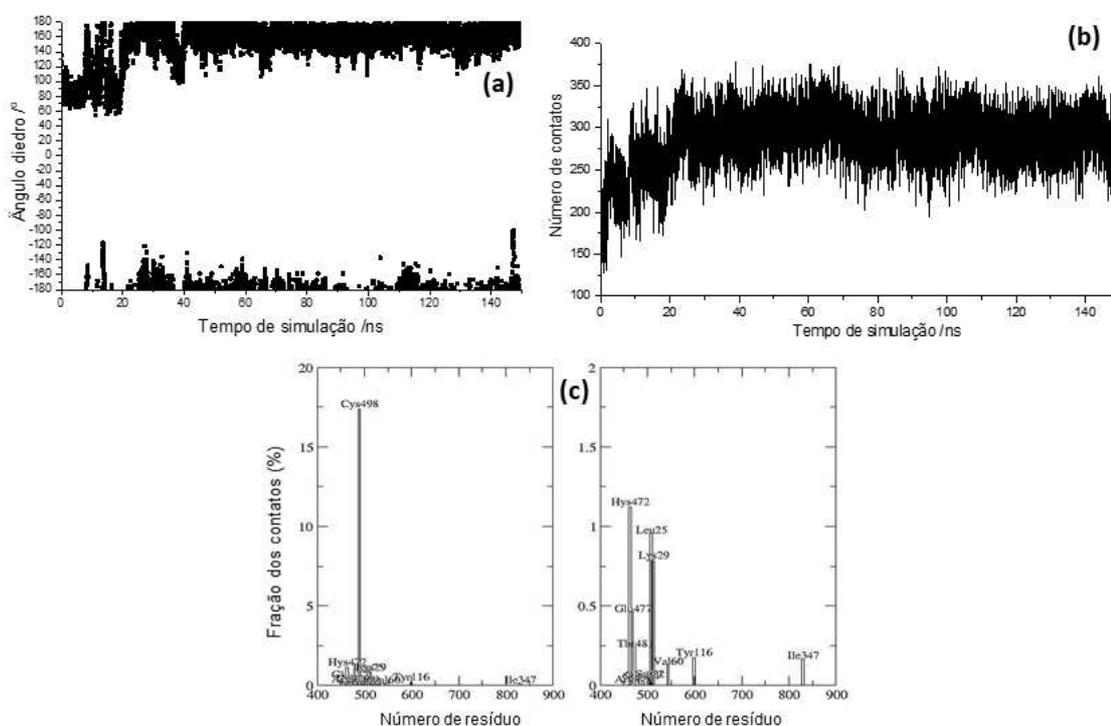


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Em relação ao modelo Au-trx1, a distância máxima entre os centros redox N-terminal e C-terminal foi de ~ 15 Å. Durante a simulação, o complexo de ouro(III) se aproxima do N-terminal atingindo uma distância mínima de ~ 11 Å em 53 ns. A partir deste ponto, a estrutura atinge a estabilidade até o final da simulação (Figura 46c). O mapeamento de contato para o complexo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ a uma distância máxima de 4,0 Å, mostra contatos frequentes com os resíduos do braço C-terminal, Gln494 e Gly499. Os contatos esperados com os resíduos do C-terminal diminuem e estão associados à variação do ângulo diedro C-C_{cys498}-S_{cys498}-Au^{III}. A

partir de ~20 ns, o ângulo diedro começa a aumentar como pode ser observado na Figura 47a, e a fração $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ do modelo Au-trx1 movimenta-se em direção ao centro redox, conforme mostrado na Figura 46c. A partir desse ponto (~20 ns), os contatos com resíduos do centro redox aumentam, assim como o número de contato totais (Figura 47b), principalmente com His472, Leu22, Leu25 e Tyr116 (Figuras 46c e 47c).

Figura 47 - (a) Variação do ângulo diedro C-C_{cys498}-S_{cys498}-Au^{III}, (b) número total de contatos entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ e TrxR e (c) Histograma dos contatos nativos entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ e TrxR, com uma distância máxima de 4 Å no modelo Au-trx1.

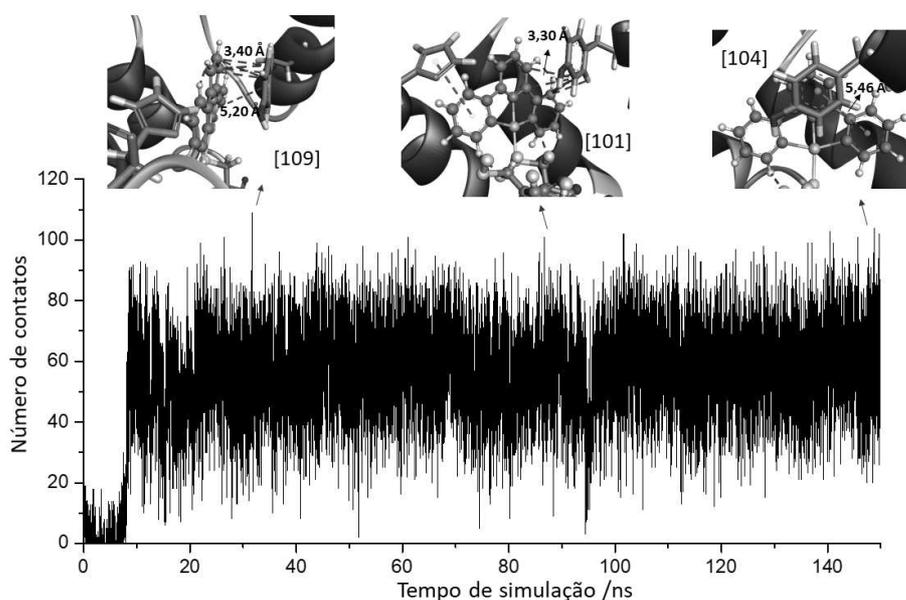


Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Durante a trajetória de DM, a distância média entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{His472}$ e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{Tyr116}$ é de 3,15 e 3,95 Å, respectivamente. Apesar disso, o mapeamento entre esses dois resíduos com o complexo de ouro(III) mostra um maior número de contatos entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{Tyr116}$ do que para $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{His472}$ (ver Figuras 48 e 49). Os contatos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{Tyr116}$ aumentam em ~8 ns e, a partir deste ponto, estabilizam-se até o final da simulação. As estruturas de maior contato exibem interações do tipo π -stacking e $\text{CH}\cdots\pi$, principalmente com o anel central da piridina e Tyr116 (Figura 48). Com relação a interação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+\cdots\text{His472}$, observa-se uma maior variação do número de contatos durante a trajetória (Figura 49). As estruturas de maior número de contatos exibem interações

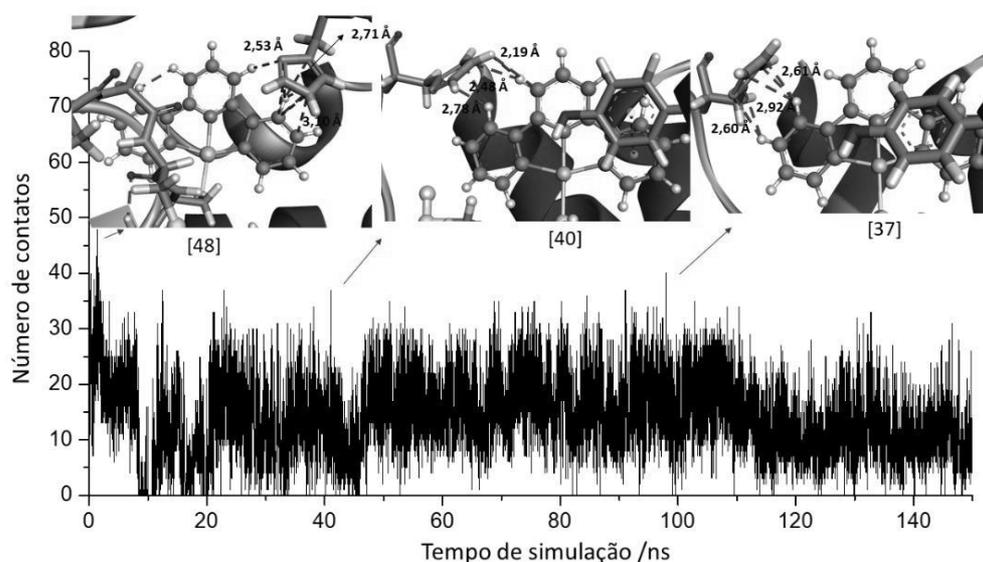
π -stacking, N-H $\cdots\pi$ e C-H $\cdots\pi$. Essas estruturas evidenciam a alta movimentação da His472, que está em frequente contato com os dois anéis de fenil laterais e com o anel de piridina central do complexo de ouro(III) (Figura 49). Essas interações destacadas na Figura 49, causam um pequeno desvio da planaridade do ligante C[^]N[^]C. Ambos resíduos de Tyr116 e His472 desempenham um papel importante na atividade da enzima, enfraquecendo a ligação S-S formada no braço C-terminal e facilitando a redução (CHENG et al., 2009).

Figura 48 - Número de contato entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e Tyr116 no modelo Au-trx1.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

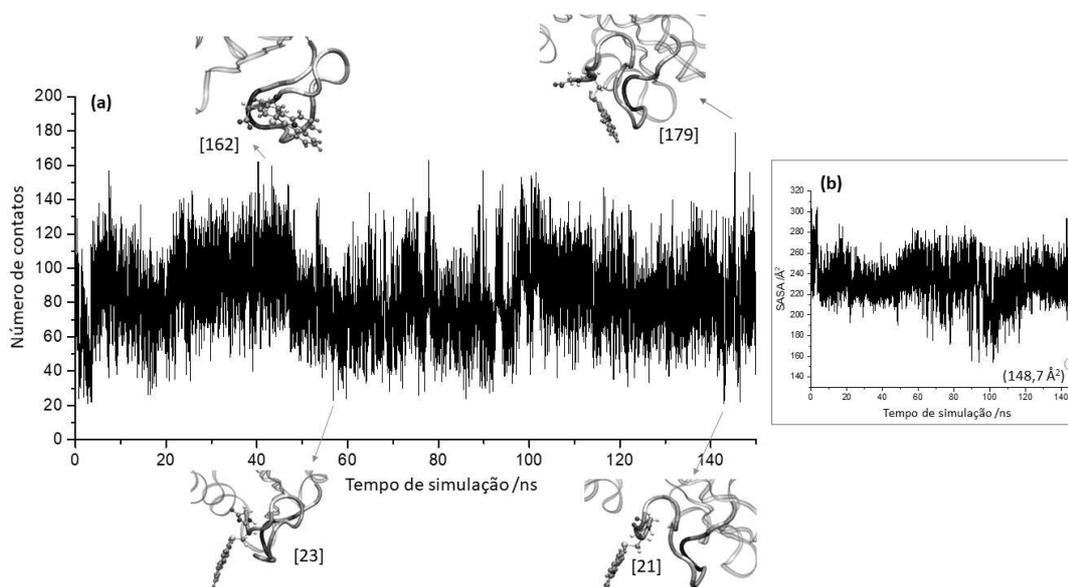
Figura 49 - Número de contato entre [Au^{III}(C[^]N[^]C)]⁺ e His472 no modelo Au-trx1.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Em relação ao modelo Au-trx2, o braço C-terminal permaneceu deslocado em direção ao solvente e compactado durante a trajetória (Figura 46d). As distâncias mínimas e máximas entre os centros redox N-terminal e C-terminal foram de 19 e 32 Å, respectivamente. Durante a simulação, contatos frequentes foram observados entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ e o resíduo próximo de Gly499 e os resíduos Gly489, Lys486, Arg487 e Ser491. Estes últimos contatos são devidos à curva formada no braço C-terminal a partir do resíduo Gln494 (Figura 46d). De fato, o ponto de maior contato (179 contatos, Figura 50a) coincide com a estrutura de menor SASA (Figura 50b). Por outro lado, no ponto de menor contato (21 contatos), o complexo de ouro(III) é direcionado para o solvente, conforme representado na Figura 50a. Esta diminuição do movimento do braço C-terminal observada para os modelos Au-trx1 e Au-trx2 pode afetar a função catalítica da enzima uma vez que o domínio C-terminal deve-se mover em direção ao domínio N-terminal durante o processo redox.

Figura 50 - (a) Número de contatos entre $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ e TrxR com uma distância máxima de 4 Å Au-trx2. O número de contatos é dado entre colchetes para as estruturas de maior e menor contato. (b) SASA do complexo de ouro(III) no modelo Au-trx2. O valor SASA mais baixo é dado entre parênteses.



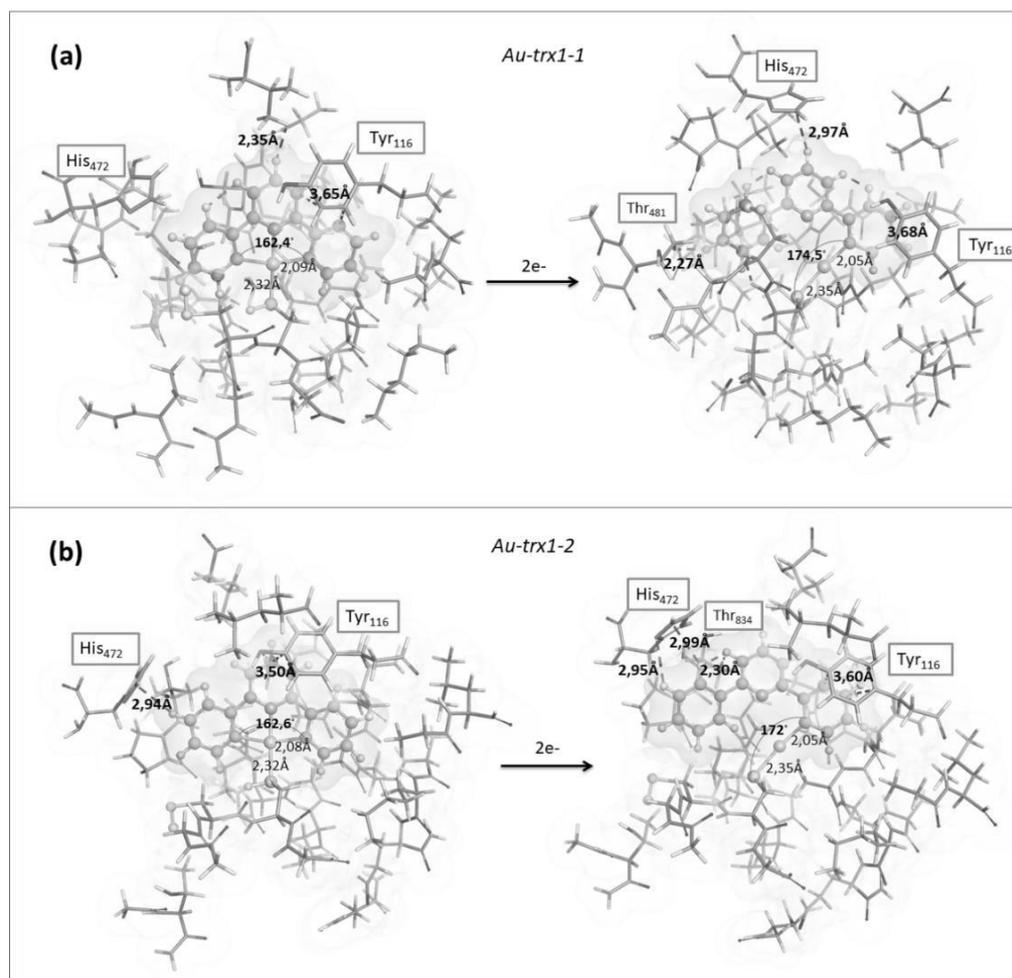
Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

a) Estruturas Au-trx

As interações entre os aminoácidos da TrxR e o complexo de ouro podem afetar o potencial de redução do processo $\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$. No entanto, essas interações não são inteiramente

consideradas no modelo Au-pep. Tal efeito foi avaliado para o modelo Au-trx1, que contém o complexo de ouro(III) ligado ao braço C-terminal orientado para o centro redox N-terminal (parte interna da proteína). Duas estruturas com diferentes SASA foram selecionadas da trajetória de DM para Au-trx1. Na sequência, os resíduos dentro de uma esfera de 10 Å do S_{Cys498} foram selecionados para obter as estruturas Au-trx1-1 de menor valor SASA (18,2 Å²), e Au-trx1-2 de maior valor SASA (96,0 Å²). Essas duas estruturas foram otimizadas no nível mencionado na seção de Metodologia e o potencial de redução para os processos (1) e (2) foi calculado. As estruturas otimizadas para o processo de redução (1) são apresentadas na Figura 51.

Figura 51 - Estruturas otimizadas de (a) Au-trx1-1 e (b) Au-trx1-2 para o processo (1) de redução.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Os parâmetros geométricos das estruturas Au-trx para ambos os processos de redução são resumidos na Tabela 18. De forma geral, a estrutura do complexo de ouro(III) nos modelos

Au-trx1-1 e Au-trx1-2 não sofre alterações significativas em relação ao modelo-0. No entanto, a estrutura Au-trx1-1 apresenta um ligeiro aumento no ângulo $\angle\text{N-Au}^{\text{III}}\text{-S}$ ($\sim 1,4^\circ$), em relação à estrutura Au-trx1-2 e ao modelo mais simples (ver Tabela 18). Para a estrutura Au-trx1-2 observam-se interações fracas entre o anel aromático do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ com o resíduo de His472 (Figura 51b), causando uma leve diminuição do ângulo $\angle\text{N-Au}^{\text{III}}\text{-S}$ ($177,68^\circ$). Por outro lado, as estruturas reduzidas para o processo (1) apresentam um maior desvio do arranjo linear para o ângulo $\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-S}$, em particular, para a estrutura Au-trx1-2 de maior SASA ($7,4^\circ$). O grupo fenol da Tyr116 interage com o anel aromático do complexo de ouro através de interações π -stacking (Figura 51b).

Tabela 18 - Parâmetros geométricos calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP/6-31G(H,C,N,O)/6-31+G(d)(S) para $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+$ nos modelos Au-trx.

	Comprimento de ligação /Å			Ângulo de ligação/°	
	Au ^{III} -N	Au ^{III} -C(Ph)*	Au ^{III} -SH	$\angle\text{C-Au}^{\text{III}}\text{-C}$	$\angle\text{N-Au}^{\text{III}}\text{-S}$
Modelo-0	1,994	2,085	2,315	162,60	177,45
Au-trx1-1	1,994	2,089	2,316	162,40	178,92
Au-trx1-2	1,993	2,086	2,315	162,64	177,68
Processo (1)					
	Au ^I -N	Au ^I -C(ph)	Au ^I -SH	$\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-S}$	
Modelo-0	3,232	2,044	2,339	179,39	
Au-trx1-1	3,203	2,051	2,351	174,46	
Au-trx1-2	3,187	2,050	2,353	171,98	
Processo (2)					
	Au ^I -N	Au ^I -C(Ph)*	Au ^I -SH	$\angle\text{Au}^{\text{I}}\text{-N-C(py)}$	$\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-C}$
Modelo-0	2,329	2,100	-	144,82	155,39
Au-trx1-1	2,173	2,092	3,475	159,26	158,33
Au-trx1-2	2,347	2,096	4,137	139,40	155,67

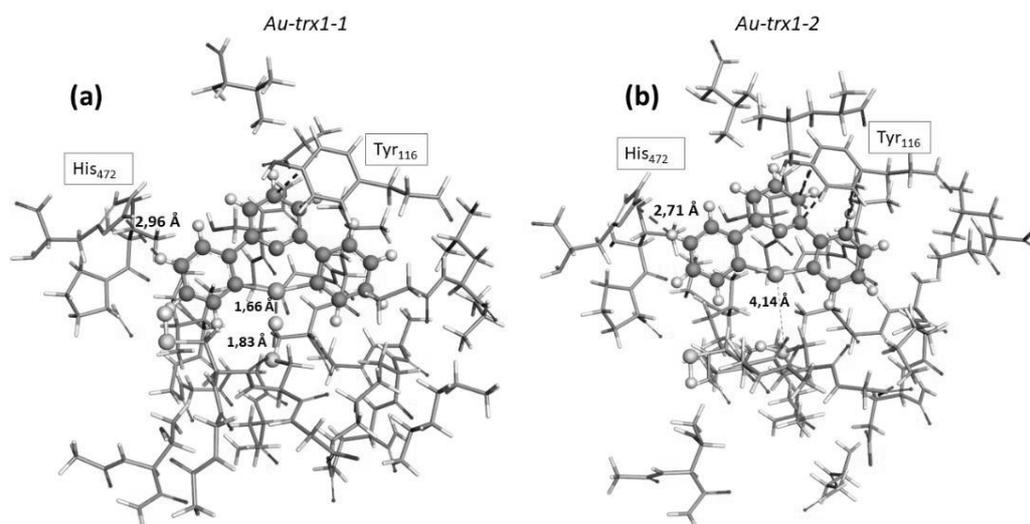
*Valor médio entre as duas ligações Au^{III/I}-C(ph) das estruturas.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Os parâmetros geométricos para as estruturas reduzidas no processo (2) também estão incluídos na Tabela 18. Em particular, a estrutura Au-trx1-1 exibe maiores ângulos de ligação $\angle\text{Au}^{\text{I}}\text{-N-C(py)}$ ($159,3^\circ$) e $\angle\text{C-Au}^{\text{I}}\text{-C}$ ($158,3^\circ$), devido à interação $\text{Au}^{\text{I}}\cdot\text{H}\cdot\text{S}_{\text{Cys}}$ que deixa a estrutura mais próxima da geometria quadrática-plana em relação ao modelo-0 e Au-trx1-2 como representado na Figura 52a. Assim, a distância Au^I-SH é maior para o modelo Au-trx1-2 ($4,14 \text{ \AA}$), sendo próxima da distância prevista para os modelos Au-pep. O contato entre o

complexo de ouro com os resíduos His472 e Tyr116 é favorecido quando a interação $\text{Au}^{\text{I}}\cdot\text{H}\cdot\text{S}_{\text{Cys}}$ não é formada, como é o caso da estrutura Au-trx1-2 (Figura 52b).

Figura 52 - Estruturas otimizadas de (a) Au- trx1-1 e (b) Au-trx1-2 (b) na forma reduzida através do processo (2) de liberação de ligante.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

b) Redução dos modelos Au-trx

Os potenciais para ambos os processos de redução são reportados na Tabela 19. De acordo com o potencial de redução calculado para o complexo de ouro no modelo Au-trx1-1, o processo de abertura do anel quelato (1) foi ligeiramente afetado (30 mV) quando comparado ao modelo-0. Já para o modelo Au-trx1-2, o potencial de redução para o processo (1) foi 90 mV maior do que para o modelo-0. Usando os dados para o modelo-0, é interessante notar a pequena diferença de 30 mV obtida entre os distintos conjuntos de funções de base usados para os modelos Au-pep e Au-trx. Basicamente, eles diferem por um conjunto de funções de polarização d incluídas para os átomos não metálicos no modelo menor Au-pep. Conforme observado no modelo Au-pep para o processo (2), o modelo Au-trx1-1, de SASA inferior, apresentou um potencial de redução de -0,65 V, próximo ao do modelo-0 de referência (-0,68 V), enquanto o modelo de maior SASA, Au-trx1-2, apresentou a maior tendência à redução, com aumento de E° de 150 e 180 mV em relação a Au-trx1-1 e ao modelo-0, respectivamente.

Após a redução pela abertura do anel quelato (processo 1), a área de vdW do complexo de ouro aumenta em ambos os modelos, de 242,0 para 257,5 Å^2 no modelo Au-trx1-1 e, mais amplamente, de 245,4 para 280,7 Å^2 para o modelo Au-trx1-2. Este aumento da área de vdW

favorece a interação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})]^+ \cdots \text{His472}$ na estrutura reduzida principalmente para o modelo Au-trx1-2 (Figura 51b). A aproximação da His472 ao complexo de ouro tem influência na redução. Essa interação $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})] \cdots \text{His472}$ confere estabilidade extra à estrutura reduzida, principalmente à estrutura Au-trx1-2, desfavorecendo a redução em relação ao modelo Au-trx1-1 (Tabela 19). Adicionalmente, o movimento da Cys497, His472 e Tyr116 após a redução (Figura 51a) e a variação no contato entre estes resíduos e o derivado de ouro(I), causam uma diminuição na contribuição vibracional da entropia na estrutura reduzida Au-trx1-1 em relação à oxidada, o que também desfavorece ligeiramente sua redução em relação ao modelo Au-trx1-2.

Tabela 19 - Contribuições para a energia livre de Gibbs em solução aquosa e potenciais de redução calculados para o modelo Au-trx1 no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(d)(H,C,N,O,S)//. Todos os termos de energia são expressos em eV e o potencial de redução em V.

	Processo (1) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SH-R})]^{3+n} + 2e^- \rightarrow [\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{S-R})]^{1+n}$					
	$\Delta E_{\text{Au, aq}}$	$\Delta G_{\text{T, aq}}^{\circ}$	$\Delta H_{\text{aq}}^{\circ}$	$T\Delta S_{\text{aq}}^{\circ}$	$\Delta G_{\text{Au, aq}}^{\circ}$	E_{calc}°
Modelo-0	-8,86	-0,20	-8,86	0,20	-9,06	+0,22
Au-trx1-1	-8,76	-0,29	-9,40	-0,34	-9,06	+0,25
Au-trx1-2	-8,94	-0,24	-8,74	0,45	-9,19	+0,31
	Processo (2) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{HS-R})]^{3+n} + 2e^- \rightarrow \{[\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})] + \text{HS-R}\}^{1+n}$					
	$\Delta E_{\text{Au, aq}}$	$\Delta G_{\text{T, aq}}^{\circ}$	$\Delta H_{\text{aq}}^{\circ}$	$T\Delta S_{\text{aq}}^{\circ}$	$\Delta G_{\text{Au, aq}}^{\circ}$	E_{calc}°
Modelo-0	-6,88	-0,32	-7,09	0,11	-7,20	-0,68
Au-trx1-1	-7,02	-0,25	-7,16	0,11	-7,27	-0,65
Au-trx1-2	-6,90	-0,65	-6,78	0,77	-7,55	-0,50

R=CH₃, n= -2 para o modelo-0 e R=TrxR, n= -2 para os modelos Au-trx1.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

A fonte de elétrons para a redução de selenenil/sulfeto-sulfeto do braço C-terminal da enzima TrxR é a coenzima FADH₂ por meio da transferência de dois elétrons. No entanto, o mecanismo desse processo ainda não está totalmente compreendido. Cheng et al. propuseram que a Tyr116 está envolvida no transporte de elétrons para a catálise da TrxR, interagindo com o selenenil/sulfeto-sulfeto oxidado do braço C-terminal. Também foi proposto que a His472 está envolvida na transferência de prótons para os resíduos de Cys59 e Cys497 (SANDALOVA et al., 2001; CHENG et al., 2009). Desta forma, os grupos imidazol e tirosil de His472 e Tyr116,

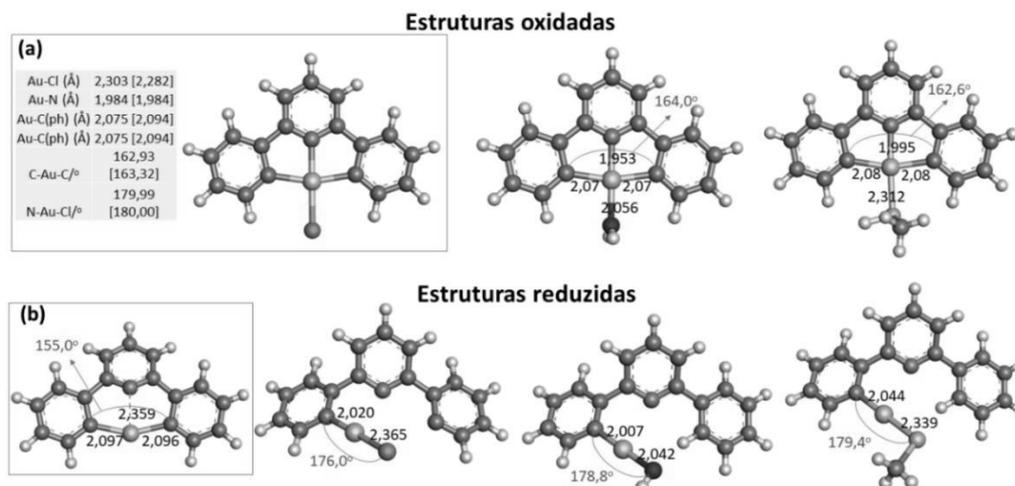
respectivamente, também poderiam participar da transferência de prótons/transporte de elétrons para a redução do complexo de ouro(III) após ligado ao braço C-terminal.

4.4.3 Modelo Au-tet

O tetrâmero $G_{496}C_{497}C_{498}G_{499}$ foi tomado como modelo para estudar todos os processos de redução, incluindo o processo de troca de ligante (3), que representa a etapa final para a transferência completa do Au para a enzima.

Além do modelo Au-tet e do modelo-0, ambos os caminhos de redução representados na Figura 18 também foram considerados para os compostos do tipo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)L]^{3+n}$ ($L = Cl^{-}, H_2O$) para termos de comparação. As estruturas otimizadas para esses últimos compostos são representadas na Figura 53 com seus parâmetros geométricos correspondentes. Os parâmetros estruturais da estrutura cristalográfica do composto $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ estão disponíveis (LI et al., 2006). De forma geral, os parâmetros geométricos previstos no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S ou Cl) em solução aquosa, são concordantes com os reportados para a estrutura no estado sólido. Os comprimentos de ligação e ângulos da esfera de coordenação são superestimados em apenas 0,042 Å e 0,12° em média, respectivamente.

Figura 53 - Estruturas PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S ou Cl) dos compostos $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)L]^{3+n}$ ($L = Cl^{-}, H_2O, SHCH_3$) em suas respectivas formas oxidada e reduzida. (a) Os parâmetros geométricos calculados e experimentais (entre parênteses) são dados para o complexo com L=cloreto (b) estrutura reduzida otimizada formada pela liberação de ligante para a redução do processo 2.



Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Os potenciais de redução calculados são resumidos na Tabela 20. O processo de redução (1) para o modelo Au-tet é favorável em relação ao SHE com um valor de potencial de redução de +0,31 V. O potencial foi ligeiramente positivo em relação ao modelo-0 e derivado hidrolisado por 60 e 110 mV, respectivamente. Quando a Cys498 está na forma desprotonada e a transferência de prótons provém da Cys497, o potencial calculado para Au-tet (-0,44 V) foi próximo do previsto para o modelo Au-pep (-0,42 V, Figura 45), sugerindo novamente que este processo é desfavorável.

Tabela 50 - Potenciais de redução calculados no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31+G(2d)(H,C,N,O,S)// para os processos (1) e (2) de redução.

	E° /V	E° /V
	Processo (1)	Processo (2)
[Au ^{III} (C [^] N [^] C)Cl]	-1,20 (-0,12) ^a	-1,12 [-1,07]
[Au ^{III} (C [^] N [^] C)(H ₂ O)] ⁺	+0,20	-0,33
[Au ^{III} (C [^] N [^] C)(SHCH ₃)] ⁺	+0,25	-0,72
Au-tet	+0,31	-0,84
	-0,44 ^b (-0,34) ^c	-1,65 ^b

^aTransferência de próton desde H₂PO₄⁻.

^bRedução com Cys498 na forma desprotonada e transferência de próton desde Cys497.

^cRedução com Cys498 na forma desprotonada e transferência de próton desde H₂PO₄⁻.

O dado experimental em colchetes de $\varepsilon_{\text{expt.}}^{\circ}$ é tomado da ref (LI et al., 2006) e, convertido para a referência SHE usando a constante de conversão de 624 mV (PAVLISHCHUK; ADDISON, 2000)

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Em relação ao complexo [Au^{III}(C[^]N[^]C)Cl] (1a), a transferência de prótons não ocorre através do seu ligante auxiliar cloreto e o potencial de redução é negativo (-1,20 V). Como considerado para o modelo Au-pep com a Cys498 desprotonada, o potencial de redução foi calculado assumindo que a neutralização do carbânion provém do íon H₂PO₄⁻ (estruturas otimizadas no Apêndice – H). Nesse caso, o potencial aumenta significativamente para -0,12 V, sendo este potencial maior que o estimado para a redução análoga nos modelos Au-pep (-0,38 V) e Au-tet (-0,34 V).

Ao comparar os dados da Tabela 20 com os das Tabelas 17 e 19, observa-se que a estabilidade redox dos complexos Au^{III}-(C[^]N[^]C) é influenciada principalmente pelo ligante auxiliar (L). Para o composto [Au^{III}(C[^]N[^]C)Cl] a redução pela abertura do anel de quelato (processo 1) e liberação de ligante (processo 2) não foi favorável, sendo E° = -1,20 V e -1,12

V, respectivamente. No entanto, o potencial aumenta para +0,25 V no processo (1) e -0,72 V no processo (2) para o modelo-0 $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, mostrando a importância do ligante auxiliar na estabilidade redox para este tipo de complexos de ouro(III). Curiosamente, quando o maior modelo é considerado para a estrutura da enzima, Au-trx, o processo (1) mostra um valor de potencial de +0,25 V, o mesmo encontrado para o modelo-0. Similarmente para o processo (2), o potencial de redução aumenta de -1,12 a -0,72 V, quando o Cl^- é trocado por CH_3SH , sendo -0,65 V para o modelo Au-trx1-1, o que sugere que a estrutura da enzima tem um efeito sutil na estabilidade redox destes complexos de ouro(III). Após a substituição do ligante L pela Cys498 da TrxR, sua redução é levemente afetada pelo ambiente enzimático. Tomando o modelo-0 como referência, a diferença máxima de potencial para o processo (1) foi 160 mV (Au-pep) e 90 mV (Au-trx), enquanto para o processo (2), 150 mV (Au-pep) e 180 mV (Au-trx). Apesar disso, conforme discutido anteriormente, a participação de resíduos como His472 e Tyr116 poderia afetar a redução de uma forma mais significativa.

4.4.4 Reação de troca do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ por Cys497 (processo 3)

A fração $\text{G}_{496}\text{C}_{497}\text{C}_{498}\text{G}_{499}$ da estrutura Au-pep1 foi tomada como modelo para estudar o processo (3), que representa a etapa final na transferência do ouro para a enzima. Cálculos DFT foram realizados para a reação final de troca de ligante envolvendo a liberação de $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ com e sem transferência de próton para neutralização de carbânion. Em primeiro lugar, foi abordada a substituição do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ pelo tiol ($\text{SH}_{\text{Cys497}}$), envolvendo a transferência de próton durante o curso da reação (i) e, posteriormente, a substituição do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ pelo grupo aniônico tiolato ($\text{S}^-_{\text{Cys497}}$) (ii). As energias livres de reação e ativação calculadas, assim como as constantes de velocidade correspondentes, são relatadas na Tabela 21.

Tabela 6 - Propriedades cinéticas e termodinâmicas calculadas para o processo de troca de ligante (3) em solução aquosa a 298,15 K.

$[\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{R})]^- \rightarrow [\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{Au}^{\text{I}}-\text{S}_{\text{Cys497}}-\text{R}]^- + \text{HC}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH}$		
ΔG_{aq}^{\ddagger} kcal mol ⁻¹	k_i M ⁻¹ s ⁻¹	ΔG_{aq}^o kcal mol ⁻¹
38,9	$1,76 \times 10^{-16}$	-28,3
$[\text{Au}^{\text{I}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}\text{S}_{\text{Cys497}})]^{-2} \rightarrow \{[\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{Au}^{\text{I}}-\text{S}_{\text{Cys497}}-\text{R}]^- + \text{HC}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}^-\}$		
ΔG_{aq}^{\ddagger} kcal mol ⁻¹	k_i M ⁻¹ s ⁻¹	ΔG_{aq}^o kcal mol ⁻¹
19,7	$2,32 \times 10^{-2}$	17,5
^a 20,2	^a $8,98 \times 10^{-3}$	-

^aA energia livre de ativação dependente do pH e a constante de velocidade são calculadas a 298,15 K em pH=7,2, através da equação $\langle k \rangle = (k'[\text{H}^+] + k''K_a) / ([\text{H}^+] + K_a)$ onde, k' e k'' são as constantes de velocidade para as reações de troca de ligante com os nucleófilos SH_{Cys497}-R e S⁻_{Cys497}-R, respectivamente. O valor de pK_a para Cys foi de 8,4, tomado do trabalho de Wessjohann *et al.* de 2007 (WESSJOHANN *et al.*, 2007).

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO *et al.*, 2021.

Com respeito à reação (i) que envolve a transferência de prótons, esta mostra uma alta energia de ativação de 38,9 kcal mol⁻¹ ($k_1 = 1,76 \times 10^{-16} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) e foi prevista como exergônica, com uma energia livre reação de -28,3 kcal mol⁻¹ (Tabela 21). A estrutura do estado de transição (TS) para esta reação (i) apresenta uma geometria trigonal plana distorcida, com um ângulo reativo estreito (C[^]N[^]C-Au¹-SH) de 60,1° como mostrado na Figura 54a, formado pelo ligante de saída C[^]N[^]C e o ligante de entrada SH_{Cys497}. No estado de transição a Cys497 se aproxima do centro metálico com uma distância Au-SH de 2,34 Å, enquanto o ligante C[^]N[^]C se afasta com uma distância Au-C (C[^]N[^]C) de 3,87 Å (Tabela 22). Estas variações estruturais podem ser utilizadas para atribuir o mecanismo global de acordo com a importância da quebra e formação da ligação na troca de ligantes (ROTZINGER, 2005). Usando a expressão $\Delta\Sigma = \{d(\text{Au-C})_{\text{TS}} - d(\text{Au-C})_{\text{R}}\} - \{d(\text{Au-S})_{\text{TS}} - d(\text{Au-S})_{\text{P}}\}$, o mecanismo é classificado como "concertado" se $\Delta\Sigma = 0$, de "intercâmbio associativo" para $\Delta\Sigma < 0$, onde a formação de ligação é mais pronunciada do que a quebra de ligação e, de "intercâmbio dissociativo" para $\Delta\Sigma > 0$, onde a quebra de ligação domina. O processo correspondente a reação de troca (i) com transferência de próton, foi designado como de "intercâmbio dissociativo" (Tabela 22), no qual a ligação que sofre a quebra, Au-C(C[^]N[^]C), desempenha o papel principal neste processo (3) de troca de ligante.

Tabela 22 - Parâmetros estruturais calculados em solução aquosa no nível PBE0-SMD/def2-TZVP(Au)/6-31G(d)(H,C,N,O)/6-31+G(2d)(S) para as espécies reativas que participam do processo de ativação da reação de substituição do ligante C[^]N[^]C por Cys497.

$[\text{Au}^1(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{R})]^- \rightarrow [\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{Au}^1-\text{S}_{\text{Cys497}}-\text{R}]^- + \text{HC}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH}$			
Step1	R	TS	P
Au-S/ Å	2,34	2,34	2,33
Au-C/ Å	2,05	3,87	4,09
$\angle \text{S}-\text{Au}-\text{C}/^\circ$	-	60,1 ^a (1,8)	-
$[\text{Au}^1(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{CH})(\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}\text{S}^-\text{Cys497})]^{-2} \rightarrow \{[\text{R}-\text{S}_{\text{Cys498}}-\text{Au}^1-\text{S}_{\text{Cys497}}-\text{R}]^- + \text{HC}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}^-\}$			
	R	TS	P
Au-S/ Å	2,35	2,36	2,33
Au-C/ Å	2,05	2,99	3,57
$\angle \text{S}-\text{Au}-\text{C}/^\circ$	-	92,8 ^a (0,91)	-

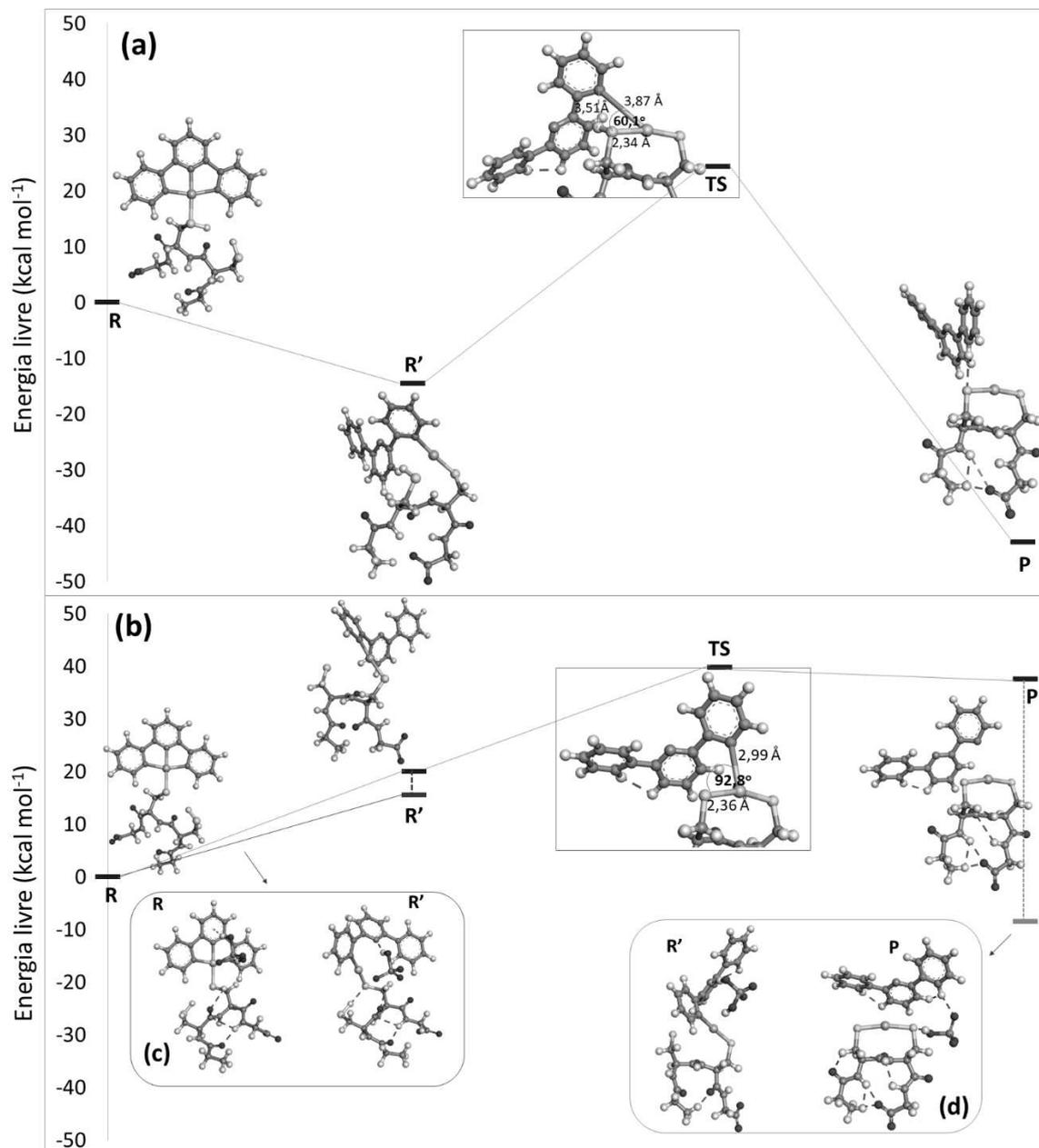
^aVariação da ligação metal-ligante durante o processo de ativação. $\Delta\Sigma = \{d(\text{Au-C})_{\text{TS}} - d(\text{Au-C})_{\text{R}^{\cdot}}\} - \{d(\text{Au-S})_{\text{TS}} - d(\text{Au-S})_{\text{P}}\}$.

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

Ao abordar a reação de substituição (ii) com a Cys497 desprotonada, o correspondente TS também exibe uma geometria trigonal plana distorcida com um ângulo reativo maior (S-Au^I-C) de 92,8° (Figura 54b e Tabela 22). Como esperado, a reatividade do ânion tiolato afeta a energia livre de ativação, a qual diminui aproximadamente pela metade (19,7 kcal mol⁻¹), conforme representado nos perfis de energia da Figura 54. Neste caso, a reação não é espontânea, exibindo uma energia livre de 17,5 kcal mol⁻¹, devido à instabilidade do carbânion C^{^N^C} formado (P, Figura 54b). Algumas estruturas cristalinas revelam uma coordenação S_{cys}-Au^I-S_{cys} quase linear no sítio ativo da enzima (URIG et al., 2006; WEIDAUER et al., 2007; ANGELUCCI et al., 2009). As distâncias de ligação Au^I-S previstas (2,33 Å) nos produtos finais P (i e ii), estão dentro do intervalo relatado nessas estruturas cristalográficas de adutos proteína-ouro(I) (2,28-2,34 Å). Os ângulos de ligação calculados ∠S-Au^I-S exibiram valores de 169,8° (i) e 166,7° (ii), os quais também encontram-se dentro da faixa relatada para este ângulo nos adutos (161,0-173,1°) (URIG et al., 2006; WEIDAUER et al., 2007; ANGELUCCI et al., 2009).

A longa distância de ligação Au-C_(C^{^N^C}) (3,87 Å) encontrada no TS da reação de substituição (i) com transferência de prótons, em comparação com a observada para a reação com a Cys497 desprotonada (2,99 Å) (ii), sugere que a substituição C^{^N^C}/Cys497 com transferência de próton simultânea induz a um estado de transição tardio. Um resultado semelhante foi encontrado por Tolbatov et al., para a substituição do ligante NHC por Cys com transferência de próton em complexos de ouro(I) do tipo (bis-NHC)-Au^I (TOLBATOV et al., 2020).

Figura 54 - Curvas de energia potencial para a redução (processo 1, $R \rightarrow R'$) e reação de substituição do ligante C^N^C por Cys497 (processo 3, $R' \rightarrow P$) do modelo Au-tet. Reações abordadas com a Cys498 na forma (a) protonada e (b) desprotonada. A redução (c) e a reação de substituição assistida por $H_2PO_4^-$ (d) são representadas em vermelho e laranja, respectivamente.



$R \rightarrow R'$ representam os valores de ΔG_{cell}^0 vs de $\Delta G_{SHE}^0 = -412,42 \text{ kJ mol}^{-1}$ tomado de (ISSE; GENNARO, 2010).

Fonte: Adaptada de SÁNCHEZ DELGADO et al., 2021.

A transferência de próton de qualquer espécie em solução, como o íon H_2PO_4^- , favorece ligeiramente a redução de Au-tet na forma $-\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{S}_{\text{Cys498}}-$, diminuindo a energia livre de redução de 20,0 para 15,5 kcal mol^{-1} ($\text{R} \rightarrow \text{R}'$), como representado na Figura 54c. Conforme estudado para esta redução (1) pela abertura do anel quelato nos modelos Au-pep e Au-tet, a transferência de prótons para o carbânion de $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ formado pode ser auxiliada por componentes do meio reacional, como moléculas de água ou íons de fosfato no curso da reação de substituição (processo 3). Esta neutralização pode ocorrer simultaneamente com a troca de ligante. Apesar de várias tentativas, não foi possível localizar nenhum estado de transição para este processo de substituição envolvendo uma transferência combinada de prótons de tais espécies do meio. No entanto, a reação $\text{R}' \rightarrow \text{P}$ da Figura 54d, assistida pelo íon H_2PO_4^- mostrou-se favorável com um valor de energia livre de -28,5 kcal mol^{-1} , praticamente o mesmo valor encontrado para a reação de substituição (i) na forma $-\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{S}_{\text{Cys498}}-$, com transferência de próton simultânea (-28,3 kcal mol^{-1} , Figura 54a). Tal resultado evidencia que esta assistência de espécies do meio tem um efeito mais significativo nesta reação final (processo 3) do que na reação de redução por abertura do anel quelato (processo 1). No entanto, esta reação final (processo 3) depende da redução anterior (processo 1). A forma de protonação da Cys497 após a redução pode alterar o caminho desta reação final, conforme representado pelos perfis de energia na Figura 54.

A disponibilidade do próton na Cys498 favorece a redução do complexo de ouro, enquanto o próton disponível na Cys497 na espécie de Au^{I} formada (R') pode auxiliar a neutralização do ligante de saída $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$. Porém, a reação de substituição (i) exibe uma alta barreira de energia (Figura 54a). Por outro lado, sem a disponibilidade de próton na Cys498, a redução do complexo de ouro é desfavorável, mesmo quando a Cys497 auxilia na neutralização do carbânion ($\text{R} \rightarrow \text{R}'$, Figura 54b). No obstante, a reação de substituição do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ com Cys na forma totalmente desprotonada, $-\text{S}^-_{\text{Cys497}}-\text{S}^-_{\text{Cys498}}-$ (ii) (Figura 54b), exibe uma energia de ativação inferior em relação à forma $-\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{S}^-_{\text{Cys498}}-$ (i) (Figura 54a).

Conforme discutido anteriormente, uma pequena parte de $-\text{SH}_{\text{Cys497}}$ (~6%) é encontrada na forma desprotonada em pH 7,2 e seu efeito na energia de ativação do processo (3) é significativo. A constante de velocidade e a barreira de energia geral foram calculadas em pH 7,2 através da equação (31) onde k^{SH} e k^{S^-} são as constantes de velocidade da reação com os nucleófilos $\text{SH}_{\text{Cys497}}-\text{R}$ e $\text{S}^-_{\text{Cys497}}-\text{R}$, respectivamente ($\text{pK}_a=8,4$) (WESSJOHANN et al., 2007). Os valores finais foram $k=8,98 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ and $\Delta G^\ddagger=20,2 \text{ kcal mol}^{-1}$ (ver Tabela 21).

$$k = \frac{k^{SH}[H^+] + k^{S^-}K_a}{[H^+] + K_a} \quad (31)$$

Infelizmente, os dados experimentais para esta reação de substituição específica não estão disponíveis para comparação. No entanto, a segunda reação de substituição do ligante NHC por Cys nos complexos (bis-^RNHC)-Au^I, exibe valores de ΔG^\ddagger experimentais entre 21 e 22 kcal mol⁻¹ (HICKEY et al., 2008), próximos aos valores obtidos aqui para a barreira geral de energia (20,2 kcal mol⁻¹).

Com base em evidências experimentais para complexos de ouro(I) após a interação com TrxR e, nos resultados anteriores, complexos estáveis de ouro(III) também poderiam causar inibição enzimática total, gerando o produto RS-Au^I-SR no sítio ativo (URIG et al., 2006; ANGELUCCI et al., 2009; ILARI et al., 2012). Desse modo, complexos estáveis de ouro(III) podem gerar inibição enzimática atuando como pró-fármacos por meio de reações redox.

5 PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O DOUTORADO

Artigos científicos:

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; PASCHOAL, D.; DOS SANTOS, H. F. Reactivity of the $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ complex in the presence of H_2O and N-, S- and Se-containing nucleophiles: a DFT study. **Journal of Biological Inorganic Chemistry (JBIC)**, v. 23, p. 1283-1293, 2018.

Este artigo foi publicado no primeiro ano do doutorado, sendo a continuação do trabalho de mestrado.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; PASCHOAL, D.; DE OLIVEIRA, M.A.L.; DOS SANTOS, H. F. Structure and redox stability of $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{X}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{X})\text{PR}_3]$ complexes ($\text{X}=\text{C}$ or N) in aqueous solution: The role of phosphine auxiliary ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry (JIB)**, v. 200, p. 110804, 2019.

Este artigo faz parte das etapas I e II do projeto de doutorado.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; CONDÉ, C. A. S. R.; DOS SANTOS, H. F.; NAVARRO, M. Compostos quimioterápicos de ouro: uma visão geral dos complexos anticâncer de Au(I/III) em relação à estrutura do ligante. **Química Nova (Quim. Nova)**, v. 43 n. 8, 1104-1124, 2020.

Este artigo surge de uma compilação de artigos e do relatório final da disciplina Bioinorgânica, ministrada pela Profa. Dra. Maribel Navarro no segundo período de 2018. Adicionalmente, este trabalho de revisão também apresenta uma ampla busca na literatura sobre compostos de ouro com atividade anticâncer, que realizei para escrever os projetos de mestrado e doutorado, para ficar por dentro do tema da minha pesquisa. O artigo foi indicado como Editor's Choice de dezembro de 2020 da Química Nova, destacando-se como o trabalho mais significativo dentre os 3 últimos números da revista.

NAVARRO, M.; JUSTO, R. M.S.; G. Y. SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; VISBAL, G. Metallodrugs for the treatment of Trypanosomatid diseases: recent advances and new insights. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, p. 000-000 2021.

Este artigo também surge de uma compilação de artigos estudados durante a disciplina Bioinorgânica.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; ARVELLOS, J. F. A.; PASCHOAL, D.; DOS SANTOS, H. F. Role of the enzymatic environment in the reactivity of the $\text{Au}^{\text{III}}\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ anticancer complexes. **Inorganic Chemistry (Inorg. Chem.)**, v. 60 n. 5, p. 3181-3195, 2021.

Este artigo foi publicado recentemente e faz parte da sequência de resultados obtidos das etapas III e IV do doutorado.

Influence of the multidentate ligand variation on their redox stability and activity of anticancer gold(III) complexes.

Este trabalho também faz parte dos resultados obtidos nas etapas I e II do projeto de doutorado e atualmente se encontra em preparação.

6 CONCLUSÕES

A presente tese relatou os resultados obtidos para as quatro etapas propostas no projeto de doutorado, as quais tinham como objetivo estudar a estabilidade e reatividade de complexos de ouro(III) em diferentes ambientes, usando métodos da química computacional.

Primeiramente foi relatada uma ampla discussão sobre a estabilidade redox de complexos de ouro(III) em relação à variação de ligantes auxiliares de fosfina e ligantes quelantes multidentados, o qual faz parte das etapas I e II propostas. Posteriormente foram relatados os resultados das etapas III e IV, tendo como foco o estudo da reatividade de complexos ciclometálicos de ouro(III) após interação com a enzima TrxR e a influência do ambiente enzimático nos processos abordados.

A estabilidade redox dos compostos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$ (A) e $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B) foi investigada para um conjunto de 41 fosfinas, utilizando como referência o potencial de redução calculado ($\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^{1+}$). Para os compostos (A), os valores de potencial de redução compreenderam uma faixa de 829 mV com todos os valores negativos, enquanto para os compostos (B) os potenciais de redução exibiram valores positivos e cobriram uma faixa mais estreita de 507 mV. As fosfinas com alto $\%V_{\text{bur}}$ ($\geq 32\%$) diminuem a estabilidade redox do composto apesar de serem fortes doadoras σ . Adicionalmente, os ligantes PR_3 contendo substituintes de *t*-butil e ciclohexil, além de aumentarem o V_{bur} , causam o aumento da ligação Au-P e um maior desvio do ângulo $\angle\text{N-Au-P}$, que também contribui para facilitar a redução dos complexos de ouro(III).

Propriedades estéricas e eletrônicas foram usadas como descritores moleculares e também para a construção de modelos QSPR. Nos modelos QSPR, o potencial de redução foi usado como variável dependente e descritores estéricos e eletrônicos dos ligantes PR_3 como variáveis independentes. Para os complexos (A) a maior parte do potencial de redução é representada pelo parâmetro estérico ($\%V_{\text{bur}}$) com menor contribuição da carga doadora de fosfina. Entre os modelos QSPR estudados, o Modelo 5 foi selecionado como o mais adequado para a predição da estabilidade dos compostos (A), com $\%V_{\text{bur}}$ na faixa de 23-32%, representando a maioria das fosfinas comumente usadas como ligantes auxiliares. Ao usar o Modelo 5 para prever o potencial de redução dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$, espera-se um erro menor que 70 mV. No caso dos compostos (B) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$, a variação da PR_3 afetou a estabilidade destes compostos de uma maneira diferente, conforme observado para os complexos (A). Para esta série de compostos (B) a fosfina afeta as formas oxidada e reduzida,

o impacto estérico é mais pronunciado nas espécies reduzidas de Au^I e, a capacidade de doação de elétrons de PR₃ tem um maior peso para a estabilidade do que a encontrada para os compostos (A). Neste caso, o Modelo 1 que envolve os descritores de V_{bur} na espécie oxidada e reduzida e a energia HOMO das fosfinas, foi estatisticamente mais relevante, com um erro de apenas 56 mV no potencial de redução previsto. Entre a série de fosfinas avaliadas, a fosfina PPh(C₅H₁₁)₂ (A29 e B29) exibiu uma excelente capacidade para estabilizar aos compostos (A) e (B), semelhante à encontrada para o ligante Cl⁻, que frequentemente é considerado como ligante auxiliar de referência para este tipo de complexos de ouro(III). Estes substituintes de cadeia alquíla longa conferem um baixo impedimento estérico e ao mesmo tempo são fortes doadores σ de elétrons, ambas características contribuem para estabilizar o complexo de ouro(III). Além disso, a longa cadeia alquíla também confere ao composto um caráter mais lipofílico, sendo importante para sua atividade no meio celular. Este estudo mostrou que através da seleção de ligantes auxiliares, é possível desenvolver complexos de ouro(III) com potencial atividade biológica onde as interações com alvos como a TrxR podem ser significativamente melhoradas através do ajuste da estabilidade redox.

Como esperado, os potenciais de redução dos compostos (C) contendo diferentes ligantes multidentados são deslocados para uma faixa mais negativa com o crescente caráter doador de elétrons do ligante. Os valores de potencial de redução calculados abrangeram uma ampla faixa de potencial de 2,60 V. Uma variação de potencial muito maior da observada a partir da variação do ligante auxiliar de fosfina. Os compostos mais estáveis da série foram aqueles contendo duas ligações Au-C na estrutura, os compostos do tipo [Au^{III}(C[^]C[^]N)Cl] (Ck e Cj) com potenciais de redução de ~ -1,60 V em solução aquosa. Os resultados sugerem que o papel do cloreto (ligante auxiliar) na estabilização dos compostos (C) é cada vez menor com a inclusão de ligantes quelantes fortes doadores de elétrons. De acordo com a análise NBO e os valores de potencial de redução, o arranjo da ligação Au-C na posição lateral é menos eficiente do que na posição central para a estabilização do composto. O anel de Ph na posição central exerce um forte efeito *trans* que facilita a troca do ligante auxiliar cloreto. Desta forma é de se esperar que as reações de troca de ligante com bionucleófilos como água e Cys sejam ainda mais favorecidas para os compostos altamente estáveis contendo ligantes C[^]C[^]N em relação a aqueles contendo C[^]N[^]C. No entanto, a subsequente redução a ouro(I) e a sequência de reações para a liberação dos ligantes do tipo N[^]C[^]C poderiam ser menos favorecidas em relação a ligantes C[^]N[^]C, alterando a atividade anticâncer deste tipo de complexos de ouro(III).

Outro aspecto importante observado para os compostos (C) é a coordenação do ligante bipy ($N^{\wedge}N$), a qual desfavorece a redução dos complexos de ouro(III). O composto $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}N)Cl]$ (Ce) exibiu um valor de potencial de redução de -1,20 V em solução aquosa. Neste caso, o ligante bipy se comporta como um ligante redox não inocente e portanto, o processo de redução ocorre nos ligantes, e não no metal. O composto Ce não mostrou uma significativa mudança estrutural após redução, observando-se a formação do diânion $bipy^{-2}$. A forma como a atividade anticâncer dos complexos de ouro(III) seria afetada ao usar este tipo de ligantes redox ativos, é uma questão interessante para ser abordada em estudos futuros.

No caso dos compostos (C) com cargas não equivalente no seu correspondente par redox, a metodologia VT-HAA não é ideal para compostos que contém ligantes que participam ativamente dos processos de redução (ligantes redox não inocentes), mostrando grandes erros na predição do potencial de redução. Esta metodologia foi aplicada a compostos catiônicos como o composto $[Au^{III}(N^{\wedge}N^{\wedge}N)Cl]^{+2}$ (Cm), tomando contra-íons de diferentes tamanhos, usados comumente na síntese de compostos de coordenação (chamada de metodologia VT-HXAA.) As interações formadas entre os contra-íons de maior tamanho com a esfera de coordenação do complexo de ouro, causou grandes erros na predição das correspondentes energias livres e, portanto, a metodologia VT-HXAA falha quando são usados íons de maior tamanho como $F_3CSO_3^-$ e ClO_4^- . Não obstante, a predição do potencial a partir desta metodologia é mais eficaz através do uso de contra-íons de menor tamanho como F^- e Cl^- , os quais não interagem fortemente com o centro redox ativo do complexo de ouro(III).

A influência da estrutura da enzima no potencial de redução dos complexos de $Au^{III}-C^{\wedge}N^{\wedge}C$ foi investigada através de métodos quânticos e dinâmica molecular (etapas III e IV). Três modelos distintos foram usados para simular a estrutura da enzima considerando os resíduos finais do braço C-terminal (quatro resíduos - Au-tet), o braço C-terminal completo (16 resíduos - Au-pep) e um cluster derivado da estrutura da enzima TrxR (205 resíduos - Au-trx). Para os maiores modelos Au-pep e Au-trx, simulações de DM foram realizadas a fim de equilibrar o sistema e identificar os pontos onde o complexo de ouro se encontrava em maior contato com a enzima.

Os resultados mostraram que a tendência à redução do complexo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ aumenta após a reação de troca do ligante auxiliar cloreto pelo grupo tiol da Cys498 de TrxR. A redução pela abertura do anel quelato (processo 1) e através da liberação do ligante (processo 2) não foi favorável para o complexo $[Au^{III}(C^{\wedge}N^{\wedge}C)Cl]$ ($E^{\circ} = -1,20$ V e $-1,12$ V, respectivamente). Não obstante, o potencial aumenta para $\sim +0,30$ V (processo 1) e $\sim -0,71$ V

(processo 2) para todos os modelos estudados, mostrando o papel primário do ligante auxiliar na estabilidade redox deste tipo de complexos de ouro(III). Curiosamente, quando o maior modelo foi considerado para a estrutura da enzima (Au-trx1-1), o processo (1) exibiu um potencial de +0,25 V, o mesmo observado para o modelo mais simples $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{SHCH}_3)]^+$, o que sugere um efeito sutil da estrutura da enzima na estabilidade redox para este tipo de complexos de ouro(III). De fato, os valores de potenciais de redução calculados para as estruturas Au-pep e Au-trx mostraram uma diferença máxima de potencial de 180 mV em relação ao modelo mais simples (modelo-0). Este pequeno efeito da macroestrutura da enzima é interessante e apóia o uso de modelos químicos para prever a estabilidade redox de complexos de ouro(III).

Em relação ao processo (1), onde é formado o carbânion, a forma como este último é neutralizado define a espontaneidade do processo de redução. Se ambos os resíduos de Cys497 e Cys498 estão protonadas, o carbânion pode ser neutralizado pelo próton transferido do resíduo Cys498 e o potencial de redução é positivo, +0,41 V (Au-pep). No entanto, considerando a Cys498 desprotonada para o modelo Au-pep, o potencial diminui para -0,42 V, mesmo quando a neutralização do carbânion é dada pelo próton da Cys497 e, para -0,38 V quando esta é assistida por espécies do meio como o íon H_2PO_4^- . A análise da trajetória de DM para o aduto Au-TrxR mostrou contatos frequentes entre o complexo de ouro e a His472, que também pode ser considerada uma fonte de prótons para neutralizar o carbânion $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ formado. É importante notar que este último processo é limitado à cavidade do centro redox. Este processo de transferência de prótons é de grande importância quando o resíduo Sec498 está presente no lugar da Cys498, o qual possui $\text{pK}_a \sim 5$ e, portanto, está totalmente desprotonado no pH fisiológico.

Finalmente, os resultados para a reação de substituição do ligante $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ (processo 3), abordada para o modelo Au-tet, sugerem que esta reação final que leva a formação da espécie $\text{RS-Au}^{\text{I}}\text{-SR}$, depende da protonação da Cys497 após redução com a abertura do anel quelato. A substituição com transferência de prótons simultânea (i) é exergônica ($-28,3 \text{ kcal mol}^{-1}$) e induz a um estado de transição tardio, com uma alta barreira de energia ($38,9 \text{ kcal mol}^{-1}$). No entanto, quando a reação é abordada com o grupo tiol da Cys497 desprotonado, esta se mostra mais rápida com uma energia de ativação de $19,7 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por outro lado, quando a transferência de prótons é assistida pelo íon H_2PO_4^- , a reação é tão espontânea quanto a reação com transferência de prótons simultânea (i). Isto mostra que esta assistência de espécies do meio tem um papel mais relevante para a reação de troca de ligante final (processo 3) do que na redução por abertura de anel quelato (processo 1). A transferência completa do íon $\text{Au}^{\text{I}+}$ para o sítio

ativo da enzima levaria à perda total de suas atividades, gerando dano oxidativo e, conseqüentemente, desencadeando a morte das células cancerígenas.

Estes últimos resultados (etapas III e IV) relatam informações relevantes sobre o mecanismo redox de complexos ciclometalados de ouro(III) estáveis como pró-drogas anticâncer. Estratégias computacionais semelhantes, acompanhadas de testes experimentais, poderiam ser adotadas para estudar possíveis caminhos de redução por tióis celulares, para aquela fração do composto de ouro(III) que não atinge o sítio ativo da TrxR. As espécies formadas de Au^I têm alta tendência a interagir com tiol-proteínas/enzimas, causando efeitos inibitórios. A competição pelo sítio ativo das tiol-enzimas entre os derivados Au^{III} e Au^I é um tema interessante para ser abordado futuramente.

REFERÊNCIAS

- ABBEHAUSEN, C. et al. X-ray Absorption Spectroscopy Combined with Time-Dependent Density Functional Theory Elucidates Differential Substitution Pathways of Au(I) and Au(III) with Zinc Fingers. **Inorganic Chemistry**, v. 57, p. 218–230, 2018.
- ABREU, H. A. **Estudo de sistemas químicos aplicando-se a teoria do funcional de densidade**. 2004. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.
- ADAMO, C.; BARONE, V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. **Journal of Chemical Physics**, v. 110, n. 13, p. 6158–6170, 1999.
- AIKMAN, B. et al. Gold(III) Pyridine-Benzimidazole Complexes as Aquaglyceroporin Inhibitors and Antiproliferative Agents. **Inorganics**, v. 6, p. 123, 2018.
- AKERMAN, K. J. et al. Gold(III) macrocycles: Nucleotide-specific unconventional catalytic inhibitors of human topoisomerase α . **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 15, p. 5670–5682, 2014.
- ALESSO, G. et al. Gold(III) six-membered NCN pincer complexes: Synthesis, structure, reactivity and theoretical calculations. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 42, p. 10293–10304, 2010.
- ANDRAE, D. et al. Energy-adjusted ab initio pseudopotentials for the second and third row transition elements. **Theoretica Chimica Acta**, v. 77, n. 2, p. 123–141, 1990.
- ANGELUCCI, F. et al. Inhibition of schistosoma mansoni thioredoxin-glutathione reductase by Auranofin. Structural and kinetic aspects. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 42, p. 28977–28985, 2009.
- AU, V. K. M. et al. Luminescent cyclometalated dialkynylgold(III) complexes of 2-phenylpyridine-type derivatives with readily tunable emission properties. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 1, p. 130–142, 2011.
- Auranofin and Sirolimus in Treating Participants With Ovarian Cancer - Mayo Clinic**. Disponível em: <https://www.mayo.edu/research/clinical-trials/cls-20410688>. Acesso em: 5 mar. 2021.
- BARNARD, P. J.; BERNERS-PRICE, S. J. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, p. 1889–1902, 2007.
- BEATON, J.; FARRELL, N. Investigation of 1-Methylcytosine as a Ligand in Gold(III) Complexes: Synthesis and Protein Interactions. **Inorganics**, v. 7, p. 1, 2019.
- 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.

BENEDEK, T. G. The history of gold therapy for tuberculosis. **Journal of the History of Medicine and Allied Sciences**, v. 59, n. 1, p. 50–89, 2004.

BERBEN, L. A.; BRUIN, B. De; HEYDUK, A. F. Non-inocent ligands. **Chemical Communications**, v. 51, p. 1553–1554, 2015.

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.

BERNARDES, V. H. F. et al. Interaction of the HIV NCp7 Protein with Platinum(II) and Gold(III) Complexes Containing Tridentate Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 11396–11407, 2016.

BERNERS-PRICE, S. J. et al. In Vivo Antitumor Activity and in Vitro Cytotoxic Properties of Bis[1,2-bis(diphenylphosphino)ethane]gold(I) Chloride. **Cancer Research**, v. 46, n. 11, p. 5486–5493, 1986.

BERNERS-PRICE, S. J.; FILIPOVSKA, A. Gold compounds as therapeutic agents for human diseases. **Metallomics**, v. 3, n. 9, p. 863–873, 2011.

BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. Phosphines and metal phosphine complexes: Relationship of chemistry to anticancer and other biological activity. In: DOI, K. et al. **Bioinorganic Chemistry. Structure and Bonding**. 1. ed. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p. 28–52.

BERTRAND, B.; CASINI, A. A golden future in medicinal inorganic chemistry: The promise of anticancer gold organometallic compounds. **Dalton Trans**, v. 43, n. 11, p. 4209–4219, 2014.

BÍM, D.; RULÍŠEK, L.; SRNEC, M. Accurate Prediction of One-Electron Reduction Potentials in Aqueous Solution by Variable-temperature H-Atom Addition/Abstraction Methodology. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 7, n. 1, p. 7–13, 2016.

BINDOLI, A. et al. Thioredoxin reductase: A target for gold compounds acting as potential anticancer drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 11–12, p. 1692–1707, 2009.

BRENEMAN, C. M.; WIBERG, K. B. Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 361–373, 1990.

CAMAIONI, D. M.; SCHWERDTFEGGER, C. A. Comment on “Accurate Experimental Values for the Free Energies of Hydration of H^+ , OH^- , and H_3O^{++} ”. **J. Phys. Chem. A**, v. 109, p. 10795–10797, 2005.

CARBONI, S. et al. New Variations on the Theme of Gold(III) C^NN Cyclometalated Complexes as Anticancer Agents: Synthesis and Biological Characterization. **Inorganic Chemistry**, v. 57, n. 23, p. 14852–14865, 2018.

CHAI, J. Da; HEAD-GORDON, M. Long-range corrected hybrid density functionals with

damped atom-atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 10, n. 44, p. 6615–6620, 2008.

CHE, C. M. et al. Gold(III) porphyrins as a new class of anticancer drugs: Cytotoxicity, DNA binding and induction of apoptosis in human cervix epitheloid cancer cells. **Chemical Communications**, v. 9, n. 14, p. 1718–1719, 2003.

CHENG, Q. et al. Crystal structure and catalysis of the selenoprotein thioredoxin reductase 1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 6, p. 3998–4008, 2009.

CHISHOLM, M. H.; HUFFMAN, J. C.; ROTHWELL, I. P. Bis(2,2'-bipyridyl)diisopropoxymolybdenum(II). Structural and spectroscopic evidence for Molybdenum-to-bipyridyl π^* bonding. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 103, n. 16, p. 4945–4947, 1981.

CINELLU, M. A. et al. Synthesis and characterization of gold(III) adducts and cyclometallated derivatives with 6-benzyl- and 6-alkyl-2,2'-bipyridine. **Dalton Trans.**, p. 4217–4225, 1996.

CZERWIŃSKA, K. et al. Cytotoxic gold(III) complexes incorporating a 2,2':6',2''-terpyridine ligand framework-the impact of the substituent in the 4'-position of a terpy ring. **Dalton Transactions**, v. 46, n. 10, p. 3381–3392, 2017.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993.

DAVID A. CASE et al. **AMBER 2016 Reference Manual**. University of California, San Francisco, 2016.

DE ALMEIDA, A. et al. The mechanism of aquaporin inhibition by gold compounds elucidated by biophysical and computational methods. **Chemical Communications**, v. 53, n. 27, p. 3830–3833, 2017.

DE PAIVA, R. E. F. et al. Probing the HIV-1 NCp7 Nucleocapsid Protein with Site-Specific Gold(I)-Phosphine Complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 12308–12318, 2017.

DOS SANTOS, H. F. Reactivity of auranofin with S-, Se- and N-containing amino acids. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1048, p. 95–101, 2014.

DOS SANTOS, H. F.; PASCHOAL, D.; BURDA, J. V. Exploring the potential energy surface for interaction of a trichloro(diethylenetriamine)gold(III) complex with strong nucleophiles. **Chemical Physics Letters**, v. 548, p. 64–70, 2012a.

DOS SANTOS, H. F.; PASCHOAL, D.; BURDA, J. V. Exploring the potential energy surface for the interaction of sterically hindered trichloro(diethylenetriamine)gold(III) complexes with water. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 116, n. 45, p. 11015–11024, 2012b.

DUROVIĆ, M. D. et al. Substitution versus redox reactions of gold(III) complexes with 1-

cysteine, l-methionine and glutathione. **Dalton Transactions**, v. 43, n. 10, p. 3911–3921, 2014.

E. GORE-RANDALL et al. Synthesis and Characterization of Alkali-Metal Salts of 2,2'- and 2,4'-Bipyridyl Radicals and Dianions. **Inorganic Chemistry**, v. 48, p. 8304–8316, 2009.

ELDER, R. C.; WATKINS II, J. W. Structure of Trichloro(diethylenetriamine)gold(III), Au(dien)Cl₃, Determined by Single-Crystal X-ray Diffraction, Raman, and EXAFS Spectroscopies: An EXAFS Caveat. **Inorganic Chemistry**, v. 25, p. 223–226, 1986.

FALIVENE, L. et al. SambVca 2.0 article-2016.pdf. **Organometallics**, v. 35, p. 2286–2293, 2016.

FERRARO, G.; GABBIANI, C.; MERLINO, A. First Crystal Structure for a Gold Carbene-Protein Adduct. **Bioconjugate Chemistry**, v. 27, n. 7, p. 1584–1587, 2016.

FRISCH, Ae. et al. **Gaussian 09, Revision D.01**; Gaussian, Inc Wallingford, CT, 2009.

FRITZ-WOLF, K.; URIG, S.; BECKER, K. The Structure of Human Thioredoxin Reductase 1 Provides Insights into C-terminal Rearrangements During Catalysis. **Journal of Molecular Biology**, v. 370, n. 1, p. 116–127, 2007.

GABBIANI, C. et al. Structural characterization, solution studies, and DFT calculations on a series of binuclear gold(III) oxo complexes: Relationships to biological properties. **Inorganic Chemistry**, v. 47, n. 7, p. 2368–2379, 2008.

GABBIANI, C. et al. Protein metalation by metal-based drugs: Reactions of cytotoxic gold compounds with cytochrome c and lysozyme. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 17, n. 8, p. 1293–1302, 2012.

GIORGIO, A.; MERLINO, A. Gold metalation of proteins: Structural studies. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 407, p. 213175, 2020.

GLENDENING, E. D. et al. **NBO 5.0** Madison, WI. Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, , 2001.

GLIŠIĆ, B.; DJURAN, M. I. Gold complexes as antimicrobial agents: An overview of different biological activities in relation to the oxidation state of the gold ion and the ligand structure. **Journal of the Chemical Society. Dalton Transactions**, v. 43, n. 16, p. 5950–5969, 2014.

GLIŠIĆ, B.; RYCHLEWSKA, U.; DJURAN, M. I. Reactions and structural characterization of gold(III) complexes with amino acids, peptides and proteins. **Dalton Trans.** v. 41, n. 23, p. 6887–6901, 2012.

GÓMEZ-SUÁREZ, A.; NELSON, D. J.; NOLAN, S. P. Quantifying and understanding the steric properties of N-heterocyclic carbenes. **Chemical Communications**, v. 53, n. 18, p. 2650–2660, 2017.

GUARRA, F. et al. ¹²⁴I Radiolabeling of a Au^{III}-NHC Complex for In Vivo Biodistribution Studies. **Angewandte Chem. International Edition**, p. 2–9, 2020.

GUTTEN, O.; BEŠŠEOVÁ, I.; RULÍŠEK, L. Interaction of metal ions with biomolecular ligands: How accurate are calculated free energies associated with metal ion complexation? **Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, n. 41, p. 11394–11402, 2011.

GUTTEN, O.; RULÍŠEK, L. Predicting the stability constants of metal-ion complexes from first principles. **Inorganic Chemistry**, v. 52, n. 18, p. 10347–10355, 2013.

H. BOCK et al. Natrium-Salze des Bipyridin-Dianions: Polymer $[(bpy)^{2-}\{Na^+(dme)\}_2]_{\infty}$, Cluster $[(Na_8O)^{6+}Na^+_6(bpy)^{2-}_6(tmeda)_6]$ und Monomer. **Angewandte Chem.**, v. 111, p. 7, 1999.

HICKEY, J. L. et al. Mitochondria-targeted chemotherapeutics: The rational design of gold(I) N-heterocyclic carbene complexes that are selectively toxic to cancer cells and target protein selenols in preference to thiols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 38, p. 12570–12571, 2008.

HO, J. et al. Theoretical Calculation of Reduction Potentials. In: CRC PRESS (Ed.). **Organic Electrochemistry**. [s.l: s.n.]p. 229–259.

HOLLIS, L. S.; LIPPARD, S. J. Aqueous Chemistry of (2,2',2''-Terpyridine)gold(III). Preparation and Structures of $[Au(terpy)Cl]Cl_2 \cdot 3H_2O$ and the Mixed-Valence Au(I)-Au(III) Salt $[Au(terpy)Cl]_2[AuCl_2]_3[AuCl_4]$. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, n. 13, p. 4293–4299, 1983.

HOLMGREN, A.; LU, J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: Current research with special reference to human disease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 396, n. 1, p. 120–124, 2010.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual Molecular Dynamics. **Journal of molecular graphics**, v. 14, p. 33–38, 1996.

HUMPHREYS, A. S. et al. Gold(I) chloride adducts of 1,3-bis(di-2-pyridylphosphino)propane: Synthesis, structural studies and antitumour activity. **Dalton Transactions**, n. 43, p. 4943–4950, 2007.

HUYNH, H. V. Electronic Properties of N-Heterocyclic Carbenes and Their Experimental Determination. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 19, p. 9457–9492, 2018.

ILARI, A. et al. A gold-containing drug against parasitic polyamine metabolism: The X-ray structure of trypanothione reductase from *Leishmania infantum* in complex with auranofin reveals a dual mechanism of enzyme inhibition. **Amino Acids**, v. 42, n. 2–3, p. 803–811, 2012.

IRWIN, M. et al. A Homologous Series of First-Row Transition-Metal Complexes of 2,2'-Bipyridine and their Ligand Radical Derivatives: Trends in Structure, Magnetism, and Bonding. **Inorganic Chemistry**, v. 51, p. 12301–12312, 2012.

ISEGAWA, M.; NEESE, F.; PANTAZIS, D. A. Ionization Energies and Aqueous Redox Potentials of Organic Molecules: Comparison of DFT, Correlated ab Initio Theory and Pair Natural Orbital Approaches. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 12, n. 5, p. 2272–2284, 2016.

- ISSE, A. A.; GENNARO, A. Absolute Potential of the Standard Hydrogen Electrode and the Problem of Interconversion of Potentials in Different Solvents. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 23, p. 7894–7899, 2010.
- JAKALIAN, A.; JACK, D. B.; BAYLY, C. I. Fast, efficient generation of high-quality atomic charges. AM1-BCC model: II. Parameterization and validation. **Journal of Computational Chemistry**, v. 23, n. 16, p. 1623–1641, 2002.
- 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.
- KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. Non-innocent ligands in bioinorganic chemistry-An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, n. 13–14, p. 1580–1588, 2010.
- KAMAL, J. K. A.; ZHAO, L.; ZEWAİL, A. H. Ultrafast hydration dynamics in protein unfolding: Human serum albumin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 37, p. 13411–13416, 2004.
- KARVER, M. R. et al. Identifying potent, selective protein tyrosine phosphatase inhibitors from a library of Au(I) complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6912–6918, 2009.
- KLAMT, A. et al. Refinement and parametrization of COSMO-RS. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 102, n. 26, p. 5074–5085, 1998.
- KRISHNA P. BHABAK, BHASKAR J. BHUYAN, G. M. Bioinorganic and medicinal chemistry: aspects of gold(I)-protein complexes. *Dalton Trans.* v. 40, n. 10, p. 2099, 2011.
- KUMAR, R.; LINDEN, A.; NEVADO, C. Luminescent (N[^]C[^]C) Gold(III) Complexes: Stabilized Gold(III) Fluorides. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 48, p. 14287–14290, 2015.
- KUMAR, R.; LINDEN, A.; NEVADO, C. Evidence for Direct Transmetalation of Au^{III}-F with Boronic Acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 42, p. 13790–13793, 2016.
- L. ALCACER. **Introdução à química quântica computacional**. Lisboa: IST Press, 2007.
- LEE, B.; RICHARDS, F. M. The interpretation of protein structures: Estimation of static accessibility. **Journal of Molecular Biology**, v. 55, p. 379–400, 1971.
- LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. 7. ed. New York: Pearson, 2012.
- LI, C. K. L. et al. Anticancer cyclometalated [Au^{III}_m(C[^]N[^]C)_mL]ⁿ⁺ compounds: Synthesis and cytotoxic properties. **Chemistry - A European Journal**, v. 12, n. 20, p. 5253–5266, 2006.
- LOMAX, R. G. **Statistical Concepts: A second course**. Second ed. London: Mahwah, N.J. : Lawrence Erlbaum Associates Publishers, 2007.
- M. WANG et al. New Complexes of Chromium(III) Containing Organic π -Radical Ligands: An Experimental and Density Functional Theory Study. **Inorganic Chemistry**, v. 52, p.

4472–4487, 2013a.

M. WANG et al. Molecular and Electronic Structures of Six-Coordinate “Low-Valent” $[M(\text{Me}^t\text{bpy})_3]^0$ ($M = \text{Ti, V, Cr, Mo}$) and $[M(\text{tpy})_2]^0$ ($M = \text{Ti, V, Cr}$), and Seven-Coordinate $[\text{MoF}(\text{Me}^t\text{bpy})_3]\text{PF}_6$ and $[\text{MX}(\text{tpy})_2]\text{PF}_6$ ($M = \text{Mo, X} = \text{Cl}$). **Inorganic Chemistry**, n. 52, p. 12763–12776, 2013b.

MAIA, P. I. da S.; DEFLON, U. Medicinal Chemistry. **Future Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 13, p. 1515–1536, 2014.

MAIER, J. A. et al. ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 11, n. 8, p. 3696–3713, 2015.

MARENICH, A. V. et al. Computational electrochemistry: Prediction of liquid-phase reduction potentials. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 29, p. 15068–15106, 2014.

MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 18, p. 6378–6396, 2009.

MEIER, S. M. et al. Mass Spectrometry Uncovers Molecular Reactivities of Coordination and Organometallic Gold(III) Drug Candidates in Competitive Experiments That Correlate with Their Biological Effects. **Inorganic Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 4248–4259, 2016.

MESSORI, L. et al. Gold(III) complexes as potential antitumor agents: Solution chemistry and cytotoxic properties of some selected gold(III) compounds. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 19, p. 3541–3548, 2000.

MIRABELLI, C. K. et al. Evaluation of the in Vivo Antitumor Activity and in Vitro Cytotoxic Properties of Auranofin, a Coordinated Gold Compound, in Murine Tumor Models. **Cancer Research**, v. 45, n. 1, p. 32–39, 1985.

MIRZADEH, N.; REDDY, T. S.; BHARGAVA, S. K. Advances in diphosphine ligand-containing gold complexes as anticancer agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 388, p. 343–359, 2019.

MORA, M.; GIMENO, M. C.; VISBAL, R. Recent advances in gold-NHC complexes with biological properties. **Chemical Society Reviews**, v. 48, n. 2, p. 447–462, 2019.

NAVARRO, M. et al. Synthesis and characterization of $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$. DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) mexicana*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, n. 1, p. 111–116, 2007.

NAVARRO, M. Gold complexes as potential anti-parasitic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 11–12, p. 1619–1626, 2009.

NAVARRO, M. et al. The mechanism of antimalarial action of $[\text{Au}(\text{CQ})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$: Structural effects and increased drug lipophilicity enhance heme aggregation inhibition at

lipid/water interfaces. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 105, n. 2, p. 276–282, 2011.

NAVARRO, M. et al. Metallodrugs for the treatment of Trypanosomatid diseases: recent advances and new insights. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, 2020.

ONG, Y. C. et al. Metal Compounds against Neglected Tropical Diseases. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 2, p. 730–796, 2019.

ORPEN, A. G.; CONNELLY, N. G. Structural Systematics: Role of P-A σ^* Orbitals in Metal-Phosphorus π -Bonding in Redox-Related Pairs of M-PA₃ Complexes (A = R, AR, or; R = alkyl). **Organometallics**, v. 9, n. 4, p. 1206–1210, 1990.

OTT, I. On the medicinal chemistry of gold complexes as anticancer drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 11–12, p. 1670–1681, 2009.

PAŠTEKA, L. F.; RAJSKÝ, T.; URBAN, M. Toward understanding the bonding character in complexes of coinage metals with lone-pair ligands. CCSD(T) and DFT computations. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 117, n. 21, p. 4472–4485, 2013.

PAVLISHCHUK, V. V.; ADDISON, A. W. Conversion constants for redox potentials measured versus different reference electrodes in acetonitrile solutions at 25°C. **Inorganica Chimica Acta**, v. 298, n. 1, p. 97–102, 2000.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1963.

PITTERI, B. et al. Equilibrium and Kinetics studies of (2,2':6',2''-terpyridine)gold(III) complexes. Preparation and Structures of [Au(terpy)OH][ClO₄]₂. n. 2, p. 2–7, 1999.

POATER, A. et al. SambVca: A web application for the calculation of the buried volume of N-heterocyclic carbene ligands. **European Journal of Inorganic Chemistry**, n. 13 SPEC. ISS., p. 1759–1766, 2009.

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.

ROKOB, T. A.; SRNEC, M.; RULÍŠEK, L. Theoretical calculations of physico-chemical and spectroscopic properties of bioinorganic systems: Current limits and perspectives. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 19, p. 5754–5768, 2012.

ROTZINGER, F. P. Treatment of Substitution and Rearrangement Mechanisms of Transition Metal Complexes with Quantum Chemical Methods. **Chemical Reviews**, v. 105, p. 2003–2037, 2005.

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.

SADLER, P. J.; SUE, R. E. The Chemistry of gold drugs. **Met-Based Drugs**, v. 1, p. 107–144, 1994.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y. **Estrutura e reatividade de complexos organometálicos de**

Au(III). 2017. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y. et al. Structure and redox stability of $[\text{Au(III)}(\text{X}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{X})\text{PR}_3]$ complexes (X = C or N) in aqueous solution: The role of phosphine auxiliary ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 200, p. 110804, 2019.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y. et al. Compostos quimioterápicos de ouro: uma visão geral dos complexos anticâncer de Au(I/III) em relação à estrutura do ligante. **Química Nova**, v. 43, n. 8, p. 1104–1124, 2020.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y. et al. Role of the Enzymatic Environment in the Reactivity of the $\text{Au}^{\text{III}}\text{-C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ Anticancer Complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 60, p. 3181–3195, 2021.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; PASCHOAL, D.; DOS SANTOS, H. F. Predicting standard reduction potential for anticancer Au(III)-complexes: A DFT study. **Computational and Theoretical Chemistry**, v. 1108, p. 86–92, 2017.

SÁNCHEZ DELGADO, G. Y.; PASCHOAL, D.; DOS SANTOS, H. F. Reactivity of the $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$ complex in the presence of H_2O and N-, S- and Se-containing nucleophiles: a DFT study. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 1283–1293, 2018.

SANDALOVA, T. et al. Three-dimensional structure of a mammalian thioredoxin reductase: Implications for mechanism and evolution of a selenocysteine-dependent enzyme. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 98, n. 17, p. 9533–9538, 2001.

SCALCON, V.; BINDOLI, A.; RIGOBELLO, M. P. Significance of the mitochondrial thioredoxin reductase in cancer cells: An update on role, targets and inhibitors. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 127, p. 62–79, 2018.

SCARBOROUGH, C. C. et al. Electronic and Molecular Structures of the Members of the Electron Transfer Series $[\text{Cr}(\text{tbpy})_3]_n$ (n = 3+, 2+, 1+, 0): An X-ray Absorption Spectroscopic and Density Functional Theoretical Study. **Inorganic Chemistry**, v. 50, p. 12446–12462, 2011.

SENGUPTA, S. et al. Albumin Thiolate Anion Is an Intermediate in the Formation of Albumin-S-S-Homocysteine. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 32, p. 30111–30117, 2001.

SMITH, A. D. et al. Aurothioglucose Inhibits Murine Thioredoxin Reductase Activity In Vivo. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 1, p. 194–198, 1999.

SRNEC, M. et al. Effect of Spin-Orbit Coupling on Reduction Potentials of Octahedral Ruthenium(II/III) and Osmium(II/III) Complexes. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 130, p. 10947–10954, 2008.

STAKER, B. L. et al. The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 24, p. 15387–15392, 2002.

- SUN, R. W. Y. et al. A dinuclear cyclometalated gold(III)-phosphine complex targeting thioredoxin reductase inhibits hepatocellular carcinoma in vivo. **Chemical Science**, v. 4, n. 5, p. 1979–1988, 2013.
- TEIXEIRA, V. H.; CAPACHO, A. S. C.; MACHUQUEIRO, M. The role of electrostatics in TrxR electron transfer mechanism: A computational approach. **Proteins: Structure, Function and Bioinformatics**, v. 84, n. 12, p. 1836–1843, 2016.
- TOLBATOV, I. et al. Insight into the Substitution Mechanism of Antitumor Au(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes by Cysteine and Selenocysteine. **Inorganic Chemistry**, v. 59, n. 5, p. 3312–3320, 2020.
- 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.
- URIG, S. et al. Undressing of phosphine gold(I) complexes as irreversible inhibitors of human disulfide reductases. **Angewandte Chem. International Edition**, v. 45, n. 12, p. 1881–1886, 2006.
- VAN GUNSTEREN, W. F.; BERENDSEN, H. J. C. A Leap-Frog Algorithm for Stochastic Dynamics. **Mol Simul.**, v. 1, n. 3, p. 173–185, 1988.
- WANG, J. et al. Development and testing of a general Amber force field. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 1157–1174, 2004.
- WATTENBERG, L. W. Chemoprevention of cancer. **Cancer Research**, v. 45, p. 1–8, 1985.
- WEIDAUER, E. et al. Effects of disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) on the activities of rheumatoid arthritis-associated cathepsins K and S. **Biological Chemistry**, v. 388, n. 3, p. 331–336, 2007.
- WEIGEND, F.; AHLRICHS, R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 7, p. 3297–3305, 2005.
- WESSJOHANN, L. A. et al. Selenium in chemistry and biochemistry in comparison to sulfur. **Biological Chemistry**, v. 388, n. 10, p. 997–1006, 2007.
- WIBERG, K. B.; RABLEN, P. R. Comparison of atomic charges derived via different procedures. **Journal of Computational Chemistry**, v. 14, n. 12, p. 1504–1518, 1993.
- YAN, J. J. et al. Cyclometalated gold(III) complexes with N-heterocyclic ligands as topoisomerase I poisons. **Chemical Communications**, v. 46, p. 3893–3895, 2010.
- 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.
- ZELL, T. et al. Iron Dicarbonyl Complexes Featuring Bipyridine-Based PNN Pincer Ligands with Short Interpyridine C-C Bond Lengths: Innocent or Non-Innocent Ligand? **Chemistry -**

A European Journal, v. 20, p. 4403–4413, 2014.

ZHANG, B. et al. Selective selenol fluorescent probes: Design, synthesis, structural determinants, and biological applications. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 2, p. 757–769, 2015.

ZHANG, J. et al. Targeting the Thioredoxin System for Cancer Therapy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 9, p. 794–808, 2017.

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.

ZOU, J. et al. First crystal structure of a medically relevant gold protein complex: Unexpected binding of $[\text{Au}(\text{PEt}_3)]^+$ to Histidine. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 39, n. 16, p. 2931–2934, 2000.

ZOU, T. et al. Gold(III) complexes containing N-heterocyclic carbene ligands: Thiol “switch-on” fluorescent probes and anti-cancer agents. **Angewandte Chem. International Edition**, v. 52, n. 10, p. 2930–2933, 2013.

ZOU, T. et al. Chemical biology of anticancer gold(III) and gold(I) complexes. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 24, p. 8786–8801, 2015.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Contribuições para a energia livre de Gibbs e potencial de redução calculado para o complexo $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PPh}_3)]$.

Correção	$\Delta E_{\text{Au,g}}$	$\Delta H_{\text{T,g}}^{\circ}$	$T\Delta S_{\text{g}}$	$\delta\Delta G_{\text{solv}}$ (aquoso)	$\Delta G_{\text{Au,aq}}^{\circ}$	$E_{\text{calc.}}^{\circ}$
Sem correção	-5,359	-0,203	0,654	-0,470	-6,686	-0,95
RTlnRT	-5,278	-0,203	0,654	-0,470	-6,605	-0,98
BSSE	-5,458	-0,203	0,654	-0,470	-6,785	-0,89
$T\Delta S_{(w)}$	-5,359	-0,203	0,233	-0,470	-6,265	-1,15
Expt.	-	-	-	-	-	-0,92

O nível de teoria usado foi PBE0-SMD/Def2-TZVP/6-31+G(2d).

Todos os termos de energia são expressos em eV e o potencial de redução em V.

O potencial de redução padrão ($E_{\text{calc.}}^{\circ}$) é calculado em relação ao eletrodo SHE.

O valor experimental é tomado de LI et al., 2006.

As correções BSSE e RTlnRT (1,89 kcal mol⁻¹) são incluídas na energia eletrônica ($\Delta E_{\text{Au,g}}$).

Na correção de Wertz ($T\Delta S_{(w)}$), as contribuições de entropia translacional e rotacional são dimensionadas a fim de corrigir a mudança de entropia quando o soluto é transferido da fase gás para solução aquosa. A expressão $TS_{(w)} = TS_{(\text{vib})} + T [(S_{(\text{trans})} + S_{(\text{rot})} - 14,3) \times 0,54 + 8,0]$ foi aplicado a cada espécie reativa.

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE B – Parâmetros estruturais para os complexos [Au^{III}(C[^]N[^]C)(PR₃)⁺ (A).

Composto	Comprimento da ligação /Å			P-R ₃	Ângulos de ligação /°		
	Au-P	Au-N	Au-C		∠N-Au-P	∠C-Au-C	∠Au-P-R ₃
A0	2,309	2,027	2,101	1,816	175,9	160,7	113,8
A1	2,314	2,028	2,092	1,821	170,8	159,6	112,3
A2	2,316	2,029	2,094	1,822	171,3	159,5	112,3
A3	2,395	2,042	2,114	1,906	171,7	158,2	108,8
A4	2,380	2,046	2,107	1,891	162,7	154,4	113,9
A5	2,341	2,035	2,100	1,847	167,2	157,8	111,5
A6	2,329	2,032	2,106	1,826	178,2	160,1	112,6
A7	2,315	2,030	2,097	1,824	173,2	159,8	112,3
A8	2,352	2,038	2,108	1,857	176,2	159,6	114,8
A9	2,316	2,030	2,094	1,818	171,0	159,8	111,4
A10	2,388	2,052	2,134	1,868	168,8	157,7	110,6
A11	2,328	2,034	2,100	1,810	174,2	159,9	112,2
A12	2,324	2,030	2,100	1,815	174,5	160,1	112,6
A13	2,311	2,026	2,098	1,814	172,7	160,7	112,4
A14	2,341	2,034	2,110	1,831	172,7	159,8	113,1
A15	2,328	2,028	2,100	1,824	175,2	159,8	113,2
A16	2,326	2,030	2,101	1,816	175,5	169,2	112,5
A17	2,319	2,028	2,098	1,819	174,3	160,0	112,7
A18	2,323	2,028	2,101	1,817	174,8	160,1	112,8
A19	2,303	2,024	2,094	1,784	173,3	160,4	113,9
A20	2,345	2,034	2,106	1,831	176,5	159,9	113,5
A21	2,323	2,023	2,103	1,831	171,4	159,9	113,9
A22	2,326	2,030	2,101	1,813	174,6	160,1	112,6
A23	2,324	2,031	2,101	1,812	174,4	160,0	112,5
A24	2,322	2,027	2,101	1,817	174,5	160,1	112,8
A25	2,354	2,042	2,104	1,861	167,0	157,8	112,4
A26	2,379	2,043	2,108	1,858	165,3	158,1	110,4
A27	2,326	2,034	2,101	1,811	174,9	160,0	112,3
A28	2,316	2,026	2,104	1,825	175,4	160,5	113,7
A29	2,326	2,032	2,101	1,827	175,6	160,1	111,1
A30	2,307	2,023	2,095	1,831	171,2	160,7	113,8
A31	2,326[2,297]	2,031[2,040]	2,101[2,096]	1,815	174,7[176,33]	160,1[161,2]	112,5
A32	2,318	2,029	2,100	1,828	172,2	159,8	113,2
A33	2,327	2,034	2,101	1,811	173,9	159,8	112,3
A34	2,320	2,026	2,100	1,818	173,7	160,0	112,1
A35	2,319	2,029	2,093	1,817	170,3	159,7	112,0
A36	2,314	2,028	2,092	1,819	171,1	159,8	112,7
A37	2,326	2,033	2,101	1,813	174,4	160,0	112,4
A38	2,329	2,036	2,100	1,806	174,7	160,0	112,2
A39	2,331	2,035	2,103	1,834	168,1	158,3	114,5
A40	2,320	2,017	2,101	1,820	175,6	160,3	112,7

Parâmetros calculados em fase gasosa no nível PBE0/def2-TZVP/6-31+G(2d).

Os dados de raios X (LI et al., 2006) são dados entre colchetes.

O valor reportado para a ligação Au-C é o valor médio entre as duas ligações Au-C presentes na estrutura do complexo de ouro(III). O ângulo ∠Au-P-R₃ também é um valor médio para os três substituintes da fosfina.

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE C – Resultados da análise da teoria de perturbação de segunda ordem da Matriz Fock em NBO para os compostos (A) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})(\text{PR}_3)]^+$.

Composto	Energia total de estabilização $E^{(2)}$ (kcal mol ⁻¹)				
	Doação	Retrodoação	Doação	Doação	Retrodoação
	$\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C} \rightarrow \text{Au}$	$\text{Au} \rightarrow \text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$	$\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C} \rightarrow \text{Au}$	$\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}$	$\text{Au} \rightarrow \text{PR}_3$
	$\sigma \rightarrow 6p$	$5d \rightarrow \sigma^*$	$n \rightarrow 6p$	$\sigma \rightarrow 6p$	$5d \rightarrow \sigma^*$
A0	-265,8	-144,86	-116,05	-959,63	-106,42
A1	-98,5	-20,01	-116,32	-39,82	-433,09
A2	-83,68	-103,21	-118,11	-38,10	-122,92
A3	-778,15	-2139,43	-307,8	-1435,4	-1481,1
A4	-80,09	-14,87	-112,53	-27,53	-29,06
A5	-104,35	-25,12	-121,19	-31,33	-140,19
A6	-81,67	-15,18	-112,5	-32,75	-53,30
A7	-77,83	-18,57	-113,12	-20,65	-6,83
A8	-90,1	-24,77	-119,03	-45,32	-10,22
A9	-78,84	-22,38	-116,72	-20,83	-71,49
A10	-84,21	-13,56	-112,90	-35,75	-17,76
A11	-79,93	-10,18	-114,83	-25,00	-4,50
A12	-80,24	-15,10	-116,15	-24,76	-6,27
A13	-104,35	-25,12	-119,34	-19,03	-10,69
A14	-82,01	-8,70	-111,52	-59,93	-6,76
A15	-104,35	-25,12	-115,42	-51,29	-16,84
A16	-50,78	-26,41	-116,11	-24,89	-3,27
A17	-83,31	-12,23	-115,03	-40,76	-17,26
A18	-79,23	-14,41	-116,35	-23,78	-6,06
A19	-56,34	-38,65	-124,39	-21,39	-42,58
A20	-92,33	-12,72	-123,99	-44,77	-5,81
A21	-93,11	-12,61	-116,01	-34,33	-4,33
A22	-80,89	-15,24	-116,54	-24,87	-6,34
A23	-80,69	-14,79	-116,21	24,98	-6,33
A24	-78,45	-11,69	-119,59	25,04	-6,12
A25	-80,17	-15,61	-111,59	34,93	-44,47
A26	-88,71	-12,16	-122,77	-64,68	-83,95
A27	-53,78	-15,68	-115,3	-25,34	-6,71
A28	-45,22	-12,76	-115,68	-22,60	-19,78
A29	-67,26	-20,44	-109,59	-19,40	-42,57
A30	-77,71	-68,62	-118,57	-36,67	-169,52
A31	-78,19	-19,03	-116,18	-24,88	-12,49
A32	-174,0	-14,01	-113,97	-20,62	-6,70
A33	-72,24	-93,93	-114,66	-25,03	-148,15
A34	-80,81	-27,93	-116,28	-23,27	-9,59
A35	-81,24	-6,76	-118,72	-37,23	-4,56
A36	-79,58	-17,80	-119,60	-27,04	-8,13
A37	-80,44	-23,08	-115,24	-24,87	-6,29
A38	-77,11	-14,64	-117,09	-25,53	-13,28
A39	-72,57	-15,31	-113,54	-17,74	-24,01
A40	-53,44	-7,94	-118,54	-32,64	-7,26

Na doação $\text{PR}_3 \rightarrow \text{Au}$, PR_3 inclui deslocalizações desde os orbitais BD (P-C, C-R, onde R=C, H, Cl, F, O, S ou N). Em $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C} \rightarrow \text{Au}$, $\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C}$ inclui deslocalizações desde os orbitais BD (C-C, C-H e C-N) e desde os orbitais LP(C) e LP(N).

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE D – Parâmetros estruturais dos complexos $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})(\text{PR}_3)]^{3+}$ (B).

Composto	Comprimento de ligação /Å				Ângulo de ligação /°		
	Au-P	Au-N (central)	Au-N	Au-N	P-R ₃	∠N-Au-N	∠N-Au-P
B0	2,406 (2,253)	2,021 (2,172)	2,075 (2,741)	2,081 (2,780)	1,812 (1,820)	158,71	176,65 (170,94)
B3-2	2,465 (2,303)	2,095 (2,165)	2,166 (2,783)	2,139 (2,982)	1,898 (1,879)	153,24	174,09 (170,10)
B7	2,411 (2,262)	2,041 (2,177)	2,081 (2,711)	2,082 (2,798)	1,815 (1,829)	157,30	171,69 (172,92)
B9	2,405 (2,259)	2,049 (2,186)	2,082 (2,702)	2,087 (2,747)	1,804 (1,825)	157,04	170,54 (169,55)
B10	2,475 (2,292)	2,120 (2,169)	2,181 (2,824)	2,177 (2,955)	1,863 (1,863)	151,32	167,36 (170,19)
B11	2,413 (2,263)	2,097 (2,189)	2,135 (2,686)	2,135 (2,757)	1,787 (1,814)	154,06	173,38 (172,039)
B12	2,422 (2,259)	2,060 (2,191)	2,095 (2,632)	2,099 (2,767)	1,793 (1,819)	156,97	171,86 (170,88)
B13	2,405 (2,258)	2,033 (2,172)	2,078 (2,741)	2,076 (2,760)	1,802 (1,820)	157,92	170,00 (171,48)
B16	2,414 (2,260)	2,048 (2,187)	2,089 (2,723)	2,090 (2,686)	1,796 (1,818)	157,68	176,94 (171,91)
B19	2,395 (2,241)	2,051 (2,212)	2,090 (2,572)	2,088 (2,710)	1,760 (1,792)	156,47	170,22 (166,33)
B20	2,426 (2,276)	2,067 (2,176)	2,104 (2,764)	2,109 (2,768)	2,710 (1,827)	156,42	175,84 (172,90)
B21	2,416 (2,250)	2,030 (2,208)	2,083 (2,758)	2,081 (2,526)	1,813 (1,832)	157,77	171,28 (162,85)
B24	2,412 (2,256)	2,042 (2,186)	2,086 (2,651)	2,087 (2,725)	1,798 (1,820)	157,89	176,70 (170,97)
B25	2,437 (2,273)	2,047 (2,173)	2,085 (2,811)	2,062 (2,829)	1,858 (1,858)	155,69	166,31 (172,70)
B26	2,444 (2,284)	2,109 (2,167)	2,173 (2,815)	2,175 (2,896)	1,853 (1,853)	150,07	165,66 (170,54)
B27	2,412 (2,262)	2,063 (2,189)	2,099 (2,682)	2,099 (2,753)	1,789 (1,815)	156,82	176,06 (171,56)
B29	2,414 (2,262)	2,052 (2,182)	2,088 (2,683)	2,093 (2,825)	1,813 (1,830)	157,02	173,13 (172,70)
B31	2,413 (2,265)	2,050 (2,180)	2,089 (2,271)	2,091 (2,804)	1,795 (1,818)	157,49	176,23 (168,807)
B32	2,395 (2,254)	2,019 (2,178)	2,074 (2,670)	2,081 (2,781)	1,835 (1,836)	157,03	171,61 (174,92)
B34	2,415 (2,256)	2,042 (2,185)	2,087 (2,641)	2,087 (2,733)	1,799 (1,821)	157,88	176,48 (171,26)
B38	2,415 (2,264)	2,088 (2,188)	2,118 (2,684)	2,120 (2,761)	1,780 (1,812)	155,20	175,51 (172,92)
B39	2,422 (2,262)	2,030 (2,173)	2,072 (2,777)	2,070 (2,785)	1,830 (1,832)	156,54	166,67 (171,40)
B40	2,409 (2,242)	2,026 (2,258)	2,084 (2,891)	2,082 (2,384)	1,799 (1,827)	157,70	175,56 (158,67)

Parâmetros calculados em fase gasosa no nível de teoria PBE0/def2-TZVP/6-31+G(2d).

As distâncias P-R₃ são dadas como valores médios. Os valores entre parênteses correspondem aos parâmetros estruturais dos compostos (B) na forma reduzida reduzidos ($[\text{Au}^{\text{I}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{PR}_3]^+$). FONTE: Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE E - Resultados da análise da teoria de perturbação de segunda ordem da Matriz Fock em NBO para os compostos (B) $[\text{Au}^{\text{III}}(\text{N}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{N})\text{PR}_3]^{3+}$.

	Energia total de estabilização $E^{(2)}$ (kcal mol ⁻¹)				
	Doação PR ₃ →Au (σ→6p)	Retrodoação Au→PR ₃ (5d→σ*)	Doação NNN→Au (σ→6p)	Retrodoação Au→NNN (5d→σ*)	Doação NNN →Au (n→6p)
B0	-12,6	-3,9	-60,0	-8,8	-362,3
B3-2	-7256,6	-36,3	-7198,6	-29,6	-620,1
B7	-24,1	-269,6	-249,9	-12,0	-354,3
B9	-25,9	-404,5	-258,4	-10,9	-332,1
B10	-190,4	-1788,1	-54,1	-10,3	-266,8
B11	-30,8	-541,2	-109,9	-12,0	-386,4
B12	-312,7	-4838,2	-476,4	-11,5	-303,3
B13	-18,5	-586,6	-222,7	-12,7	-352,1
B14	-29,8	-423,0	-243,3	-12,4	-211,0
B16	-68,0	-3495,9	-227,5	-7,3	-342,9
B19	-24,4	-927,8	-196,9	-11,8	-299,6
B20	-129055,5	-37625,2	-332228,3	-283,6	-2113,2
B21	-203898,7	-147834,8	-433117,3	-43645,2	-134,4
B24	-56,6	-1137,8	-288,6	-11,2	-348,5
B25	-60,3	-598,5	-259,8	-11,3	-373,7
B26-2	-42,6	-702,7	-125,7	-9,9	-340,7
B27	-54,6	-121,4	-204,7	-11,0	-331,6
B29	-60,8	-372,1	-263,2	-11,5	-326,1
B31	-173,9	-229,4	-376,2	-10,7	-377,2
B32	-52,9	-342,3	-304,8	-8,5	-376,0
B34	-77,4	-122,1	-296,6	-11,5	-70,7
B38	-254,6	-83,8	-297,0	-21,9	-276,8
B39	-49,7	-395,7	-399,3	-11,4	-360,5
B40	-72,5	-1373,2	-240,2	-11,0	-346,4

Na doação PR₃→Au, PR₃ inclui doações desde or orbitais “2-center bond” BD: P-C, C-R onde R= C, H, Cl, F, O, S ou N. Para a doação N[∧]N[∧]N→Au, N[∧]N[∧]N inclui doações desde os orbitais BD: C-C, C-H e C-N e desde o orbital de par solitário do Nitrogênio LP(N).

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE F – Parâmetros geométricos dos complexos (C) contendo diferentes ligantes multidentados.

(continua)

Composto	Comprimento de ligação/Å		Ângulos de ligação/°		Ref.
Ca	Au-N ₁	2,058 [2,015]	N ₁ -Au-Cl ₄ N ₂ -Au-Cl ₃ N ₁ -Au-N ₂	175,57	(GABBIA NI et al., 2008)
	Au-N ₂	2,058 [2,015]		175,57	
	Au-Cl ₃	2,255		80,04 [80,8]	
	Au-Cl ₄	2,255			
Cb	Au-C ₁	2,022 *[2,020]	C ₁ -Au-N ₂ N ₂ -Au-Cl C ₁ -Au-Cl	81,09 *[81,2]	*(AU et al., 2011) (KUMAR; LINDEN; NEVADO, 2016)
	Au-N ₂	2,058 *[2,078]		175,14	
	Au-Cl ₃	2,269		175,10	
	Au-Cl ₄	2,360			
Cc	Au-C ₁	2,030	C ₁ -Au-N ₂ N ₂ -Au-Cl C ₁ -Au-Cl	87,94	
	Au-N ₂	2,070		177,981	
	Au-Cl ₃	2,267		177,121	
	Au-Cl ₄	2,373			
Cd	Au-N ₁	2,010 [2,006]	N ₁ -Au-Cl ₄ N ₂ -Au-Cl ₃	174,26 [174,70]	(AIKMAN et al., 2018)
	Au-N ₂	2,070 [2,033]		177,16 [177,64]	
	Au-Cl ₃	2,265 [2,253]			
	Au-Cl ₄	2,287 [2,252]			
Ce	Au-N ₁	2,152	N ₁ -Au-C ₃ N ₂ -Au-Cl	161,446	
	Au-N ₂	1,986		178,837	
	Au-C ₃	2,007			
	Au-Cl	2,262			
Cf	Au-N ₁	2,154 [2,121]	N ₁ -Au-C ₃ N ₂ -Au-Cl	166,63 [165,7]	(CINELL U et al., 1996) *(CARBO NI et al., 2018)
	Au-N ₂	2,051 [2,049]		172,42 *[174,9]	
	Au-C ₃	2,023 [2,032]			
	Au-Cl	2,263 *[2,263]			
Cg	Au-N ₁	2,044 [2,019]	N ₁ -Au-N ₃ C ₂ -Au-Cl	161,27 [161,2]	(ALESSO et al., 2010)
	Au-C ₂	1,950 [1,950]		179,99 [179,7]	
	Au-N ₃	2,045 [2,032]			
	Au-Cl	2,345 [2,360]			
Ch	Au-N ₁	2,041	N ₁ -Au-N ₃ C ₂ -Au-Cl	168,34	(ALESSO et al., 2010)
	Au-C ₂	2,000 [2,014]		173,93	
	Au-N ₃	2,060 [2,029]			
	Au-Cl	2,362			
Ci	Au-C ₁	2,067 [2,094]	C ₁ -Au-C ₃ N ₂ -Au-Cl	162,91 [163,32]	(LI et al., 2006)
	Au-N ₂	1,986 [1,984]		180,00 [180,00]	
	Au-C ₃	2,067 [2,094]			
	Au-Cl	2,279 [2,282]			
Cj	Au-C ₁	2,019 [2,024]	C ₁ -Au-N ₃ C ₂ -Au-Cl	160,44 [160,60]	(KUMAR; LINDEN; NEVADO, 2015)
	Au-C ₂	1,964 [1,978]		176,63 [178,51]	
	Au-N ₃	2,162 [2,136]			
	Au-Cl	2,360 [2,365]			

APÊNDICE F – Parâmetros geométricos dos complexos (C) contendo diferentes ligantes multidentados.

(conclusão)

Composto	Comprimento de ligação/Å	Ângulos de ligação/°	Ref.
Ck	Au-C ₁	2,019	
	Au-C ₂	2,010	C ₁ -Au-N ₃ 167,37
	Au-N ₃	2,188	C ₂ -Au-Cl 176,83
	Au-Cl	2,374	
Cl	Au-N ₁	2,049 [2,048]	
	Au-N ₂	2,063 [2,010]	N ₁ -Au-N ₃ 169,14 [166,72]
	Au-N ₃	2,049 [2,052]	N ₂ -Au-Cl 178,23 [177,74]
	Au-Cl	2,249 [2,279]	(MESSORI et al., 2000)
Cm	Au-N ₁	2,031 [2,029]	
	Au-N ₂	1,965 [1,932]	N ₁ -Au-N ₃ 162,69 [162,73]
	Au-N ₃	2,031 [2,018]	N ₂ -Au-Cl 179,99 [176,95]
	Au-Cl	2,257 [2,268]	(MESSORI et al., 2000)
Cn	Au-N ₁	1,998 [1,983]	
	Au-N ₂	1,989 [2,042]	N ₁ -Au-N ₃ 161,05 [160,64]
	Au-N ₃	1,999 [2,006]	N ₂ -Au-Cl 179,98
	Au-Cl	2,276	(ZOU et al., 2013)
Co	Au-N ₁	2,009	
	Au-N ₂	1,990	N ₁ -Au-N ₃ 160,895
	Au-N ₃	2,009	N ₂ -Au-Cl 180,00
	Au-Cl	2,277	

Parâmetros calculados no nível PBE0/Def2-TZVPP/6-31+G(2d) em fase gasosa.

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

APÊNDICE G – Análise da teoria de perturbação de segunda ordem da matriz Fock desde NBO para a doação N→Au.

Composto	Energia do orbital LP(N) (eV)	Ocupação (e ⁻)	Donor(i)→acceptor(j) (n→n*)	E ⁽²⁾ (eV)
Ca	-16,45	1,625	LP(N ₁)→LP*(Au)	-1,87
	-16,45	1,625	LP(N ₂)→LP*(Au)	-1,87
Cb	-12,47	1,626	LP(N ₂)→LP*(Au)	-1,59
Cc	-12,48	1,638	LP(N ₂)→LP*(Au)	-1,62
Cd	-13,00	1,551	LP(N ₁)→LP*(Au)	-3,03
	-12,94	1,613	LP(N ₂)→LP*(Au)	-1,69
Ce	-19,91	1,728	LP(N ₁)→LP*(Au)	-1,24
	-13,38	1,587	LP(N ₂)→LP*(Au)	-3,27
Cf	-15,43	1,734	LP(N ₁)→LP*(Au)	-0,87
	-15,79	1,631	LP(N ₂)→LP*(Au)	-1,94
Cg	-30,33	1,591	LP(N ₁)→LP*(Au)	-44,75
	-19,03	1,591	LP(N ₃)→LP*(Au)	-50,28
Ch	-15,88	1,580	LP(N ₁)→LP*(Au)	-6,18
	-15,91	1,580	LP(N ₃)→LP*(Au)	-6,00
Ci	-8,98	1,572	LP(N ₂)→LP*(Au)	-3,35
Cj	-44,97	1,728	LP(N)→LP*(Au)	-92,17
Ck	-60,73	1,736	LP(N)→LP*(Au)	-6,21
Cl	-20,11	1,571	LP(N ₁)→LP*(Au)	- 1,10
	-19,67	1,595	LP(N ₃)→LP*(Au)	-1,55
Cm	-19,94	1,566	LP(N ₁)→LP*(Au)	-8,36
	-19,63	1,559	LP(N ₂)→LP*(Au)	-3,58
	-19,91	1,566	LP(N ₃)→LP*(Au)	-8,45
Cn	-13,21	1,556	LP(N ₁)→LP*(Au)	-7,79
	-12,49	1,537	LP(N ₂)→LP*(Au)	-3,82
	-13,21	1,556	LP(N ₃)→LP*(Au)	-7,94
Co	-13,16	1,552	LP(N ₁)→LP*(Au)	- 5,82
	-12,79	1,549	LP(N ₂)→LP*(Au)	- 2,25
	-13,35	1,552	LP(N ₃)→LP*(Au)	- 2,73

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

