

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Camila Aparecida da Silva dos Reis Condé

Síntese e caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) contendo ligantes carbenos N-heterocíclicos, potenciais agentes anticâncer e o estudo de seus possíveis mecanismos de ação

Juiz de Fora

2023

Camila Aparecida da Silva dos Reis Condé

Síntese e caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) contendo ligantes carbenos N-heterocíclicos, potenciais agentes anticâncer e o estudo de seus possíveis mecanismos de ação

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química. Área de concentração: Química.

Orientadora: Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta

Juiz de Fora

2023

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

Condé, Camila Aparecida da Silva dos Reis.

Síntese e caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) contendo ligantes carbenos N-heterocíclicos, potenciais agentes anticâncer e estudo de seus possíveis mecanismos de ação / Camila Aparecida da Silva dos Reis Condé. -- 2023.

142 f. : il.

Orientadora: Maribel Coromoto Navarro Acosta

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2023.

1. Câncer. 2. Ligantes NHC. 3. Complexos de prata(I) e ouro(I)-NHC. 4. Albumina. 5. Glutathione. I. Acosta, Maribel Coromoto Navarro, orient. II. Título.

Camila Aparecida da Silva dos Reis Condé

Síntese e caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) contendo ligantes carbenos N-heterocíclicos, potenciais agentes anticâncer e o estudo de seus possíveis mecanismos de ação.

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

Aprovada em 24 de novembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta - Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Mauricio Lanznaster
Universidade Federal Fluminense

Profa. Dra. Flávia Cavalieri Machado
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Alexandre Cuin
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 13/11/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Maribel Coromoto Navarro Acosta, Professor(a)**, em 24/11/2023, às 16:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavia Cavalieri Machado, Professor(a)**, em 24/11/2023, às 16:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Mauricio Lanznaster, Usuário Externo**, em 25/11/2023, às 11:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Cuin, Professor(a)**, em 28/11/2023, às 07:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Maria da Costa Ferreira, Usuário Externo**, em 29/11/2023, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1574813** e o código CRC **61CD6847**.

Dedico este trabalho a menina sonhadora e curiosa que sempre fui e que um dia sonhou em chegar até aqui. Toda luta, esforço e renúncias valeram a pena! Nós conseguimos!

AGRADECIMENTOS

O doutorado não é fácil. Todo mundo sabe disso. Nós passamos por poucas e boas durante esse processo. São inúmeras frustrações, incertezas e inseguranças que vivenciamos no decorrer dessa jornada. Por isso, na minha opinião, as pessoas que cruzaram o nosso caminho e marcaram nossas vidas são o bem mais precioso que levamos de tudo o que vivemos, além de todo crescimento e conhecimento obtidos. Por isso, eu agradeço.

Agradeço aos meus pais, Dona Angela e Sr. José Vitor por sempre me apoiarem, acreditarem em mim e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos, mesmo quando a única coisa que eu queria era desistir. Se eu cheguei até aqui, foi por vocês. Obrigada por sempre estarem ao meu lado! Eu amo vocês!

Agradeço a minha irmã Carina, por todo o apoio e por sempre acreditar em mim, por se orgulhar das minhas conquistas e por sempre me lembrar do quanto eu sou capaz. O quanto eu te amo não dá para descrever!

Agradeço ao Mateus, por sempre me motivar, por sempre estar ao meu lado e me segurar quando eu achava que iria cair. Por ter ficado comigo tantas vezes no laboratório, quando ninguém mais podia ficar. Por ter me esperado nas inúmeras vezes em que eu dizia que iria sair em cinco minutos e você ficava lá por mais de meia hora. Por ter aguentado o que você aguentou e, apesar de tudo, não ter ido embora. Sem o seu apoio, eu não chegaria até aqui. Você foi e é o meu porto seguro!

Agradeço aos queridos amigos que fiz durante esta trajetória: Camila, José, Luísa e Rodrigo. Obrigada por compartilharem suas vidas comigo e por terem me deixado fazer parte delas. Por terem segurado a minha mão e por terem me deixado segurar a mão de vocês nos piores momentos. Por dividirem as risadas, as lágrimas, as conquistas e as perdas. Só nós sabemos o que passamos. Sou grata por tornarem o meu dia mais leve, por aguentarem o meu mal humor, por serem a minha calma dentro do caos. Quantas vezes saber que vocês estariam lá era o único motivo pelo qual eu entrava no laboratório. Vocês foram e são a melhor coisa que a UFJF me deu!

Agradeço a querida Giovana, pela força, carinho, incentivo e por me mostrar que quando o plano A dá errado, ainda temos o restante do alfabeto para tentar antes de desistir.

Agradeço a Sintia, minha amiga-irmã, por seu apoio e amizade, por toda a força, paciência e por sempre acreditar em mim.

Agradeço a querida Lívia por todo apoio, pelas risadas, pelos bons momentos compartilhados, por toda paciência e pelo companheirismo por todos esses anos.

Agradeço ao meu amigo Luciano que, mesmo de longe, sempre se fez presente com seus conselhos e suas palavras de incentivo.

Agradeço as queridas Ivanei e Mariane por sempre me motivarem e me apoiarem nessa jornada.

Agradeço a querida Jéssica, por ter segurado a minha mão e por me ensinar a nadar nesse mar turbulento que são os meus pensamentos e emoções. Sem você, eu teria desistido!

Agradeço aos queridos Cassiano, Jaqueline, Maria Eduarda, Isadora, Ana Carolina e Sofia, por toda presteza e por toda ajuda que me deram durante o doutorado.

Agradeço a Caroline, Luana, Rocio, Yuliana e Daniel pelos bons momentos e pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço a Profa. Dra. Maribel por todos os ensinamentos, pela infinita paciência e pelo grande carinho que sempre teve por mim. Pelos abraços, pelas histórias e risadas compartilhadas, por ser exemplo de força, garra e determinação. Por ter de lidar com o meu mau humor e com a minha rebeldia. Por ser tantas vezes mais que minha orientadora. Por ser minha conselheira, minha mãe emprestada e amiga. Por sempre acreditar e enxergar em mim tudo o que eu não era capaz de enxergar. A senhora sempre terá um lugarzinho especial no meu coração!

Agradeço a minha maravilhosa xará e querida IC, Camilla, por toda a dedicação, pela paciência e presteza que teve e tem com o nosso projeto. Se não fosse você, não teríamos nem metade do que aqui foi descrito. Tenho muito carinho e orgulho pela pessoa que você é e está se tornando. Você é maravilhosa e sou muito grata ao universo por ter tido a honra de te acompanhar e coorientar!

Agradeço a Profa. Dra. Heveline Silva, pois sem a sua ajuda, eu não teria conseguido os compostos de ouro. Obrigada por ter feito os testes biológicos, por ter me acolhido com tanto carinho em seu laboratório e me dedicado seu tempo e esforço, por todas as conversas que tivemos e por todas as suas palavras de incentivo.

Agradeço as queridas Katherine, Lara, Thaiz, Ana Luiza, Ruth, Alice, Beatriz e Isabela, pela amizade, por toda a presteza e paciência que tiveram comigo. Por todo o apoio, pelos conselhos, ensinamentos, pela gentileza e pelos bons momentos compartilhados. Obrigada por terem me acolhido e por serem tão carinhosas comigo quando eu mais precisei! Vocês foram o presente mais lindo que a UFMG me deu!

Agradeço a Josi, Ariel, Bruna e Maíra, por terem me acolhido em BH quando eu mais precisava, pelas risadas e pelas maravilhosas conversas.

Agradeço ao Prof. Dr. Arquímedes, o querido Doctor Karan, por toda a paciência, por todas as risadas e por todos os ensinamentos e conselhos que ajudaram tanto a mim quanto ao meu trabalho chegarem até aqui.

Agradeço ao Prof. Dr. Bruno Henrique Vilsinski por seu apoio e por fazer os dias mais leves no NUPEQ.

Agradeço aos amigos e colegas do NUPEQ e dos Laboratórios de Orgânica, pelas risadas, conselhos, ensinamentos e pela paciência e carinho dedicados a mim durante todo esse período. Vocês são pessoas muito especiais que levarei comigo para sempre!

Agradeço as queridas Gleusa e Regina, pelas risadas, pela força, pela preocupação e por todo o carinho com o qual me receberam e me recebem todos os dias na UFJF. Vocês são pessoas maravilhosas!

À Dra. Sandra Scapin, a mestra Olívia Brito de Oliveira Moreira, ao Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira e Profa. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira e sua equipe pelas análises de massas.

Ao Prof. Dr. Willian Xerxes Coelho Oliveira pelas medidas dos monocristais.

Ao Dr. Rodrigo Manoel da Silva Justo e a mestra Luana Vanessa Daniel pelas análises de CHN.

A mestra Ana Luiza de Andrade Querino pelos estudos de interação com a BSA.

Agradeço a CAPES, CNPq, FAPEMIG e UFJF, pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho e fizeram parte dessa conquista.

“Palavras são, na minha nada humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia. Capazes de causar grandes sofrimentos e também de remediá-los.”

(DUMBLEDORE, ALVO, 2007)

RESUMO

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública a nível mundial e por conta disso, há uma grande procura por medicamentos mais efetivos e menos tóxicos. Estratégias ou abordagens racionais são utilizadas para otimizar o desenho e a síntese de potenciais novos medicamentos. Sabendo-se da atividade anticâncer de agentes antifúngicos bem conhecidos, como o Clotrimazol (CTZ) e o Cetoconazol (KTZ), decidiu-se estudar se o tipo de coordenação influenciaria na atividade biológica de diferentes complexos metálicos contendo esses azóis e seus derivados carbenos N-heterocíclicos (NHC) como ligantes. Partindo-se dessa premissa, o presente trabalho teve como finalidade a síntese e a caracterização de dois sais imidazólicos **L1** [(CTZ-Me)I] e **L2** [(KTZ-Me)I], obtidos por meio de reações entre o azol de interesse com o iodometano e a síntese e caracterização de todos esses ligantes com a prata(I) Ag(**L1**)(I). H₂O (**1**), [Ag(**L1**)₂]I. 4CH₂Cl₂ (**2**), [Ag(CTZ)₂]NO₃ (**3**), [Ag(**L2**)(I)] (**4**), [Ag(**L2**)₂]I. 2CH₂Cl₂ (**5**) e [Ag(KTZ)₂]NO₃ (**6**) e o ouro(I) [Au(**L1**)(Cl)]. 2CH₂Cl₂ (**7**), [Au(CTZ)(Cl)] (**8**), [Au(**L2**)(Cl)] (**9**) e [Au(KTZ)(Cl)] (**10**). Todos os complexos metálicos e seus ligantes de origem foram caracterizados, quando possível, por meio das espectroscopias nas regiões do infravermelho (IV) e ultravioleta-visível (UV-Vis), espectrometria de massas (ESI-MS), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN). Suas estruturas foram propostas com base na análise de todos os dados e, no caso do complexo metálico **7**, por meio da elucidação da estrutura cristalográfica de seus cristais. Os estudos de citotoxicidade demonstraram o efeito desses compostos em diferentes células tumorais e não tumorais, e os resultados revelaram que o complexo de prata(I) derivado do ligante L1 (**1**), se mostrou dez vezes mais citotóxico que o seu ligante de origem frente as células de adenocarcinoma metastático de mama humana, uma linhagem bastante agressiva. Ele também se mostrou pelo menos quinze vezes mais ativo contra células de carcinoma mamário murino (4TI). Já o complexo de ouro(I) (**7**) se mostrou seis vezes mais citotóxico que o seu ligante de origem frente as células MDA-MB-231. Os complexos de prata(I) foram mais ativos que os ligantes livres, sendo os complexos **4** e **5** os mais seletivos para a linhagem celular de câncer B16-F1. Tais resultados são um forte indicativo de que a coordenação do ligante ao íon metálico pode ter influenciado na atividade biológica dos compostos, nas linhagens estudadas. Além disso, foi avaliada a interação dos complexos sintetizados com o DNA, a BSA de soro bovino (nesse caso, somente os complexos de Ag(I)) e a GSH (somente os complexos de Au(I)). Os estudos de interação com o DNA, utilizando técnicas como titulação espectrofotométrica, viscosidade e eletroforese (para compostos de prata(I)), indicaram que o DNA não é o alvo

desses compostos, sugerindo que a citotoxicidade pode estar relacionada a outro alvo biomolecular. Nas interações com a BSA, os complexos de Ag(I) demonstraram interação eletrostática, sugerindo possível interação, transporte ou retenção desses compostos pela proteína. Os experimentos com GSH e os complexos de ouro(I) (7-10) revelaram uma forte interação com a glutathione, indicando uma reação rápida desses complexos com essa biomolécula, potencialmente afetando sua estabilidade na célula. A notável interação com a glutathione sugere também uma elevada reatividade com outras enzimas, como a TrxR, que também possui cisteínas em sua estrutura.

Palavras-chave: clotrimazol; cetoconazol; ligantes NHC; complexos de prata(I)-NHC; complexos de ouro(I)-NHC; fármacos anticâncer; albumina; glutathione.

ABSTRACT

Cancer is one of the major public health challenges worldwide, leading to a significant demand for more effective and less toxic medications. Rational strategies and approaches are employed to optimize the design and synthesis of potential new drugs. Knowing the anticancer activity of well-known antifungal agents like Clotrimazole (CTZ) and Ketoconazole (KTZ), the study aimed to investigate whether the coordination type would influence the biological activity of different metal complexes containing these azoles and their N-heterocyclic carbene (NHC) derivatives as ligands. To address this, two imidazolic salts, **L1** [(CTZ-Me)I] and **L2** [(KTZ-Me)I], were synthesized and characterized by reactions between the azole of interest and iodomethane. Additionally, the synthesis and characterization of all ligands with silver(I) $\text{Ag}(\mathbf{L1})(\text{I})\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**1**), $[\text{Ag}(\mathbf{L1})_2]\cdot\text{I}\cdot 4\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (**2**), $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2]\text{NO}_3$ (**3**), $[\text{Ag}(\mathbf{L2})(\text{I})]$ (**4**), $[\text{Ag}(\mathbf{L2})_2]\cdot\text{I}\cdot 2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (**5**), and $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2]\text{NO}_3$ (**6**), as well as gold(I) $[\text{Au}(\mathbf{L1})(\text{Cl})]\cdot 2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (**7**), $[\text{Au}(\text{CTZ})(\text{Cl})]$ (**8**), $[\text{Au}(\mathbf{L2})(\text{Cl})]$ (**9**), and $[\text{Au}(\text{KTZ})(\text{Cl})]$ (**10**) complexes, were carried out. All metal complexes and their original ligands were characterized, when possible, using infrared (IR) and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopies, electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS), nuclear magnetic resonance (^1H and ^{13}C NMR), and elemental analysis of carbon, hydrogen, and nitrogen (CHN). Their structures were proposed based on the analysis of all data, and, in the case of metal complex **7**, through the elucidation of the crystallographic structure of its crystals. Cytotoxicity studies demonstrated the effects of these compounds on different tumor and non-tumor cells. Results revealed that the silver(I) complex derived from ligand **L1** (**1**) exhibited ten times greater cytotoxicity than its original ligand against human metastatic breast adenocarcinoma cells, a highly aggressive lineage. It was also at least fifteen times more active against murine breast carcinoma cells (4T1). The gold(I) complex (**7**) showed six times more cytotoxicity than its original ligand against MDA-MB-231 cells. Silver(I) complexes were more active than free ligands, with complexes **4** and **5** being the most selective for the B16-F1 cancer cell lineage. These results strongly suggest that the coordination of the ligand to the metal ion may have influenced the biological activity of the compounds in the studied lineages. Furthermore, the interaction of the synthesized metal complexes with DNA, bovine serum albumin (BSA) (only for silver(I) complexes), and glutathione (GSH) (only for gold(I) complexes) was evaluated. DNA interaction studies using techniques such as spectrophotometric titration, viscosity, and electrophoresis (for silver(I) compounds) indicated that DNA is not the target of these compounds, suggesting that cytotoxicity may be related to another biomolecular target. In interactions with BSA, silver(I) complexes demonstrated

electrostatic interaction, suggesting potential interaction, transport, or retention of these compounds by the protein. Experiments with GSH and gold(I) complexes (7-10) revealed strong interaction with glutathione, indicating a rapid reaction of these complexes with this biomolecule, potentially affecting its stability in the cell. The notable interaction with glutathione also suggests high reactivity with other enzymes, such as TrxR, which also contains cysteines in its structure.

Keywords: clotrimazole; ketoconazole; NHC binders; silver(I)-NHC complexes; gold(I)-NHC complexes; anticancer drugs; albumin; glutathione.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - O que é o câncer?.....	24
Figura 2 - Cisplatina e alguns de seus derivados.....	27
Figura 3 - Estrutura da casiopeína III-ia, auranofina, NAMI-A e KP1019.....	28
Figura 4 - Estruturas moleculares do nitrato de prata(I) e da sulfadiazina de prata(I).....	29
Figura 5 - Estrutura da auranofina.....	31
Figura 6 - Tipos de Carbenos.....	32
Figura 7 - Tipos de carbenos com base no tipo de ligação Metal-Carbono.....	32
Figura 8 - Exemplos de compostos NHC.....	34
Figura 9 - Exemplos de complexos metálicos com ligantes NHC.....	35
Figura 10 - Exemplos de azóis.....	36
Figura 11 - Estruturas do clotrimazol (CTZ) e do cetoconazol (KTZ).....	36
Figura 12 - Estrutura da biomacromolécula de DNA.....	37
Figura 13 - Representação esquemática dos tipos de interações complexos-DNA.....	38
Figura 14 - Monômero BSA.....	39
Figura 15 - Estrutura da glutationa.....	41
Figura 16 - Esquema da glutationa como tampão redox biológico.....	42
Figura 17 - Espectro de IV do ligante L1.....	60
Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 500 MHz) do ligante L1.....	61
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 125 MHz) do ligante L1.....	62
Figura 20 - Espectro de massas do ligante L1.....	62
Figura 21 - Espectro de IV do ligante L2.....	64
Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 500 MHz) do ligante L2.....	65
Figura 23 - Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 125 MHz) do ligante L2.....	66
Figura 24 - Espectro de massas do ligante L2.....	66
Figura 25 - Espectro de IV do complexo 1 em comparação com o ligante L1.....	70
Figura 26 - Espectro de IV do complexo 3 em comparação com o ligante CTZ.....	71
Figura 27 - Espectros de RMN de ^1H dos ligantes CTZ e L1 e do complexo 1.....	72
Figura 28 - Espectros de RMN de ^1H do ligante CTZ e do complexo 3.....	73
Figura 29 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante L1 e do complexo 1.....	74
Figura 30 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante CTZ e do complexo 3.....	75
Figura 31 - Espectro de massas do composto 2.....	76
Figura 32 - Espectro de massas do composto 3.....	76

Figura 33 - Espectro de IV do complexo 4 em comparação com o ligante L2.	80
Figura 34 - Espectro de IV do complexo 6 em comparação com o ligante KTZ.....	81
Figura 35 - Espectros de RMN de ¹ H dos ligantes KTZ e L2 e do complexo 4.	82
Figura 36 - Espectros de RMN de ¹ H do ligante KTZ e do complexo 6.....	83
Figura 37 - Espectros de RMN de ¹³ C do ligante L2 e do complexo 4.	84
Figura 38 - Espectros de RMN de ¹³ C do ligante KTZ e do complexo 6.....	85
Figura 39 - Espectro de massas do composto 6.....	86
Figura 40 - Estudo de estabilidade do composto 1 por RMN de ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆).....	87
Figura 41 - Espectros de IV dos complexos 7 e 8.	91
Figura 42 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo 7.....	92
Figura 43 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo 8.....	93
Figura 44 - Espectro de massas do composto 7.....	94
Figura 45 - Espectro de massas do composto 8.....	94
Figura 46 - Estrutura cristalina de uma das duas unidades assimétricas de [AuCl(C ₂₃ H ₁₉ N ₂ Cl)] presentes célula unitária com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (esferas cinzas) e hidrogênio (esferas brancas).	96
Figura 47 - Espectros de IV dos complexos 9 e 10.	97
Figura 48 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo 9.....	98
Figura 49 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo 10.....	99
Figura 50 - Espectro de massas do composto 9.....	100
Figura 51 - Espectro de massas do composto 10.....	100
Figura 52 - Espectros de absorção na região do UV-Visível para os complexos 1 e 9.....	107
Figura 53 - Representação das três formas predominantes da molécula de DNA plasmidial.	110
Figura 54 - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 24h e 37°C de incubação com CDDP e os derivados CTZ e KTZ a 25 μmol. L ⁻¹	111
Figura 55 - Espectros de emissão de BSA na concentração de 10 μM e comprimento de onda de excitação de 280 nm foram registrados na presença e ausência de ligantes L1 e L2, bem como seus complexos Ag(I) 1-6.....	112
Figura 56 - A) Espectros de fluorescência de BSA com diversas concentrações do complexo 2. λ exc = 280 nm. B) Gráfico logarítmico duplo para a interação BSA: 3 em pH = 7,4 e 298 K.	114
Figura 57 - Espectros de absorção na região do UV-Visível para os complexos 7-10.	115
Figura 58 - Espectro de IV do ligante CTZ.....	129

Figura 59 - Espectro de IV do ligante KTZ.....	129
Figura 60 - Espectro de IV do complexo 2 em comparação com o ligante L1.	130
Figura 61 - Espectro de IV do complexo 5 em comparação com o ligante L2.	130
Figura 62 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) dos ligantes CTZ e L1 e dos complexos 1 e 2.....	131
Figura 63 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) dos ligantes KTZ e L2 e dos complexos 4 e 5.....	132
Figura 64 - Comparação dos espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do ligante L1 e dos complexos 1 e 2.	133
Figura 65 - Comparação dos espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do ligante L2 e dos complexos 4 e 5.	134
Figura 66 - Espectro ESI-MS do composto 1 (calc.: 359,1310; $\Delta(m/z)= 0,0004$)......	135
Figura 67 - Espectro ESI-MS do composto 4 (calc.: 547,1879; $\Delta(m/z)= 0,0788$)......	135
Figura 68 - Espectro ESI-MS do composto 5 (calc.: 547,1879; $\Delta(m/z)= 0,0697$)......	136
Figura 69 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) do composto 2.....	137
Figura 70 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) do composto 3.....	137
Figura 71 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) do composto 4.....	138
Figura 72 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) do composto 5.....	138
Figura 73 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- <i>d</i> 6) do composto 6.....	139
Figura 74 - Experimentos de titulação dos compostos: CTZ, KTZ, L1, L2 e complexos metálicos (1-6) com 0-100 μL de DNA (A) e 0-100 μL de tampão (B).	140
Figura 75 - Experimentos de titulação dos complexos metálicos 7-10 com 0-200 μL de DNA.	141
Figura 76 - Artigo publicado durante o doutorado.....	142
Figura 77 - Review publicado durante o doutorado.....	142

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados analíticos dos ligantes L1 e CTZ.....	60
Tabela 2 - Dados analíticos dos ligantes L2 e KTZ.	63
Tabela 3 - Dados analíticos dos ligantes L1 e CTZ e dos complexos metálicos 1-3.	69
Tabela 4 - Dados analíticos dos ligantes L2 e KTZ e dos complexos metálicos 4-6.	79
Tabela 5 - Dados analíticos dos ligantes e dos complexos metálicos 7-10.	90
Tabela 6 - Principais dados cristalográficos para o complexo 7.	95
Tabela 7 - Condutividade molar média dos complexos de Au(I) em função do tempo.	101
Tabela 8 - CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu M \pm SD^*$).....	102
Tabela 9 - CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu M \pm SD^*$).....	104
Tabela 10 - Constante de extinção (K_{sv}), constante de ligação (K_b) e número de locais de ligação (n) para ligantes L1 e L2 e seus compostos derivados de Ag (I) interagindo com BSA.	113
Tabela 11 - Dados obtidos das titulações espectroscópicas dos compostos com a GSH.	116

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Síntese do ligante L1.	59
Esquema 2 - Síntese do ligante L2.	63
Esquema 3 - Síntese dos complexos metálicos de Ag(I) 1-3.	68
Esquema 4 - Síntese dos complexos metálicos de Ag(I) 4-6.	78
Esquema 5 - Síntese dos complexos metálicos de Au(I) 7-10.	89

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos derivados do CTZ.	109
Gráfico 2 - Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos derivados do KTZ.	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	Attenuated total reflectance
BSA	albumina sérica bovina
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CHN	carbono, hidrogênio e nitrogênio
CI ₅₀	concentração inibitória de 50% da viabilidade celular
CRTI - UFG	Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação
CTZ	clotrimazol
d	duplete
dd	duplo duplete
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	dimetilsulfóxido deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico
dt	duplete de tripleto
ESI-MS	espectrometria de massas com ionização por electrospray
GSH	glutathione
HSA	albumina sérica humana
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar da Silva
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
K _b	constante de interação
KTZ	cetoconazol
LabCri	Laboratório de Cristalografia
m	multipleto
NHC	carbenos N-heterocíclicos
RMN	ressonância magnética nuclear
s	simpleto
t	tripleto
TRxR	tiorredoxina redutase
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

UV-vis

Ultravioleta-Visível

δ

deslocamento químico

Δ

variação

Λ_M

Condutividade molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
1.1	O CÂNCER.....	24
1.2	COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO NO TRATAMENTO DO CÂNCER	26
1.2.1	Complexos de Ag(I)	29
1.2.2	Complexos de Au(I)	30
1.3	COMPOSTOS ORGANOMETÁLICOS	31
1.3.1	Carbenos	31
1.3.2	Carbenos N-heterocíclicos e seus complexos metálicos	33
1.4	COMPOSTOS IMIDAZÓLICOS E SUA APLICAÇÃO NA MEDICINA	35
1.5	PRINCIPAIS BIOMOLÉCULAS NO ESTUDO DE METALOFÁRMACOS	37
1.5.1	DNA: um importante alvo em células tumorais	37
1.5.2	Interações com a BSA	38
1.5.3	O papel da Glutathione no Câncer	40
2	OBJETIVOS	43
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
2	PARTE EXPERIMENTAL	44
3.1	ATMOSFERA INERTE	44
3.2	SOLVENTES E REAGENTES	44
3.3	INSTRUMENTAÇÃO.....	44
3.3.1	Análise Elementar	45
3.3.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	45
3.3.3	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)	45
3.3.4	Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (UV-vis.)	45
3.3.5	Espectroscopia de Fluorescência	46
3.3.6	Espectrometria de massas	46
3.3.7	Difração de raios X (DRX)	47
3.3.8	Condutimetria	47
3.4	SÍNTESES E CARACTERIZAÇÕES DOS COMPOSTOS	47
3.4.1	Ligantes	48
<i>3.4.1.1</i>	<i>Síntese do ligante iodeto de 1-[(2-Clorofenil)(difenil)metil]-3-metil-imidazol hidratado (LI)</i>	<i>48</i>

3.4.1.2 Síntese do ligante iodeto de 1-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(imidazol-1-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]etanona dihidratado (L2)	48
3.4.2 Complexos de Ag(I).....	49
3.4.2.1 [Ag(L1)(I)].H ₂ O (1).....	49
3.4.2.2 [Ag(L1) ₂].I.4CH ₂ Cl ₂ (2).....	49
3.4.2.3 [Ag(CTZ) ₂].NO ₃ (3).....	50
3.4.2.4 [Ag(L2)(I)] (4).....	50
3.4.2.5 [Ag(L2) ₂].I.2CH ₂ Cl ₂ (5).....	51
3.4.2.6 [Ag(KTZ) ₂].NO ₃ (6).....	52
3.4.3 Complexos de Au(I).....	52
3.4.3.1 [Au(L1)(Cl)].2CH ₂ Cl ₂ (7).....	52
3.4.3.2 [Au(CTZ)(Cl)] (8).....	53
3.4.3.3 [Au(L2)(Cl)] (9).....	53
3.4.3.4 [Au(KTZ)(Cl)] (10).....	54
3.5 ESTUDOS DE CITOTOXICIDADE.....	54
3.5.1 Estudos realizados com os ligantes e os complexos de Ag(I).....	54
3.5.2 Estudos realizados com os complexos de Au(I) e seus precursores.....	55
3.6 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS.....	56
3.6.1 Estudos de interação com o DNA através de titulação espectrofotométrica.....	56
3.6.2 Estudos de viscosidade com o DNA.....	57
3.6.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose.....	57
3.6.4 Estudos de interação com BSA por titulações espectrofotométricas.....	57
3.6.5 Estudos de interação com GSH por titulações espectrofotométricas.....	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1 LIGANTES.....	59
4.1.1 Iodeto de 1-[(2-Clorofenil)(difenil)metil]-3-metil-imidazol hidratado (L1).....	59
4.1.2 Iodeto de 1-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(imidazol-1-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]etanona dihidratado (L2).....	63
4.2 COMPLEXOS DE Ag(I).....	67
4.3 COMPLEXOS DE Au(I).....	88
4.4 ESTUDOS DE CITOTOXICIDADE.....	101
4.4.1 Estudos realizados com os ligantes e os complexos de Ag(I).....	101
4.4.2 Estudos realizados com os complexos de Au(I) e seus precursores.....	103
4.5 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS.....	105

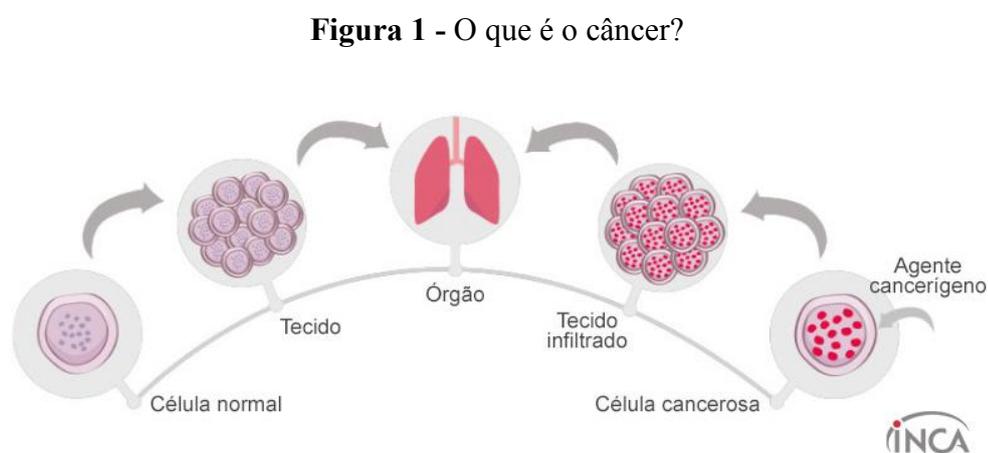
4.5.1	Titulações espectrofotométricas.....	106
4.5.2	Estudos de viscosidade.....	108
4.5.3	Eletroforese de DNA em gel de agarose	110
4.5.4	Estudos de interação com BSA por titulações espectrofotométricas.....	112
4.5.5	Estudos de interação com GSH por titulações espectrofotométricas	114
5	CONCLUSÕES	117
	REFERÊNCIAS	119
	APÊNDICE A - ESPECTROS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	129
	APÊNDICE B - ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H E ¹³ C.....	131
	APÊNDICE C - ESPECTROS DE MASSAS	135
	APÊNDICE D – ESTUDOS DE ESTABILIDADE.....	137
	APÊNDICE E – EXPERIMENTOS DE TITULAÇÃO COM O DNA	140
	APÊNDICE F – ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORAMENTO	142

1 INTRODUÇÃO

Ao longo desta seção serão descritos os temas câncer, compostos de coordenação no tratamento do câncer, compostos organometálicos, compostos imidazólicos e sua aplicação na medicina e principais biomoléculas no estudo de metalofármacos.

1.1 O CÂNCER

Atualmente, o câncer é considerado um dos principais problemas de saúde pública no mundo e um dos maiores responsáveis por mortes antes dos 70 anos de idade na maioria dos países (WILD, WEIDERPASS, STEWART; 2020). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer José Alencar da Silva (INCA) o termo câncer, originário da palavra grega *karkinos*, vem sendo utilizado para designar um conjunto de mais de 100 doenças, que têm como característica comum o crescimento desordenado de células, as quais tendem a invadir tecidos e órgãos adjacentes (**Figura 1**) (INCA, 2023).



Fonte: INCA (2023).

Nas células eucarióticas, os genes são considerados arquivos químicos que armazenam e fornecem informações para que as células se organizem e atuem no organismo. Essa informação genética é inscrita neles pelo ácido desoxirribonucleico (DNA). É através do DNA que os cromossomos passam as informações necessárias para o funcionamento celular. Uma vez que essas células normais sofrem alterações no DNA dos seus genes, estas passam a receber instruções erradas para o seu funcionamento. Tais alterações podem ocorrer em genes que são inativos em células normais (proto-oncogenes), porém estes podem ser ativados e

transformados em oncogenes (genes responsáveis por transformar células normais em cancerosas) (INCA, 2023).

Em seu último levantamento realizado em 2020, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) mostrou que no mundo todo ocorreram 19,3 milhões de novos casos de câncer (18,1 milhões excluindo câncer de pele não melanoma) e ainda segundo o mesmo relatório, somaram quase 10,0 milhões o número de óbitos causados pela doença (9,9 milhões excluindo câncer de pele não melanoma). Desse total, os mais incidentes foram os cânceres de mama, com cerca de 2,3 milhões de casos (11,7%), pulmão (11,4%), colorretal (10,0%), próstata (7,3%) e estômago (5,6%). Já em relação a mortalidade, observa-se que o câncer de pulmão continua sendo a principal causa de morte pela doença, com uma estimativa de 1,8 milhão de mortes (18%), seguido pelos cânceres colorretal (9,4%), fígado (8,3%), estômago (7,7%) e mama (6,9%) (SUNG *et al.*, 2021; WILD, WEIDERPASS, STEWART; 2020).

Para o Brasil, estima-se a ocorrência de 704 mil novos casos de câncer (483 mil se excluídos os casos de câncer de pele não melanoma) para do triênio 2023-2025. Com exceção do câncer de pele não melanoma (220 mil casos novos), os mais incidentes são os cânceres de mama, com 74 mil (10,5%); próstata, com 72 mil (10,2%); cólon e reto, com 46 mil (6,5%); pulmão, com 32 mil (4,6%); e estômago, com 21 mil (3,1%) novos casos (INCA, 2022).

Assim como em várias partes do mundo, no Brasil o tratamento de tal enfermidade é realizado por meio do uso de cirurgia, radioterapia e quimioterapia (inclui-se também manipulação hormonal e transplante de medula óssea). Em estágios mais precoces do câncer, cirurgia e radioterapia são apropriadas para o tratamento da doença localizada, podendo haver chance de cura. Em geral, tais modalidades são consideradas limitadas no que se diz respeito ao câncer em estágios avançados. Já a quimioterapia, que atualmente vem se tornando uma das principais alternativas no tratamento contra a doença, pode curar alguns tipos de câncer e se apresenta efetiva contra doenças disseminadas (leucemias, por exemplo), além de atenuar várias outras enfermidades (INCA, 2023).

Uma gama de quimioterápicos antineoplásicos mais ativos e menos tóxicos é utilizada na prática clínica, o que vem tornando possível a cura de diversos tipos de câncer e limitando de maneira considerável a utilização de outras formas de tratamento para tal doença (INCA, 2023).

1.2 COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO NO TRATAMENTO DO CÂNCER

O uso e a aplicação de complexos metálicos na medicina têm conquistado grande espaço em pesquisas de fronteira, principalmente no que se diz respeito ao possível uso destes como novos medicamentos (FARRELL, 2015). Tais compostos têm se mostrado bastante promissores no tratamento de variadas doenças, tais como artrite, doenças gastrointestinais, virais, parasitárias e, principalmente, o câncer (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; BARAN, 2014; NAVARRO *et al.*, 2010; MACEDO *et al.*, 2016; REDDY *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2017; TAPANELLI *et al.*, 2017; TUNES *et al.*, 2018, NAVARRO *et al.*, 2021; CONDÉ *et al.*, 2022).

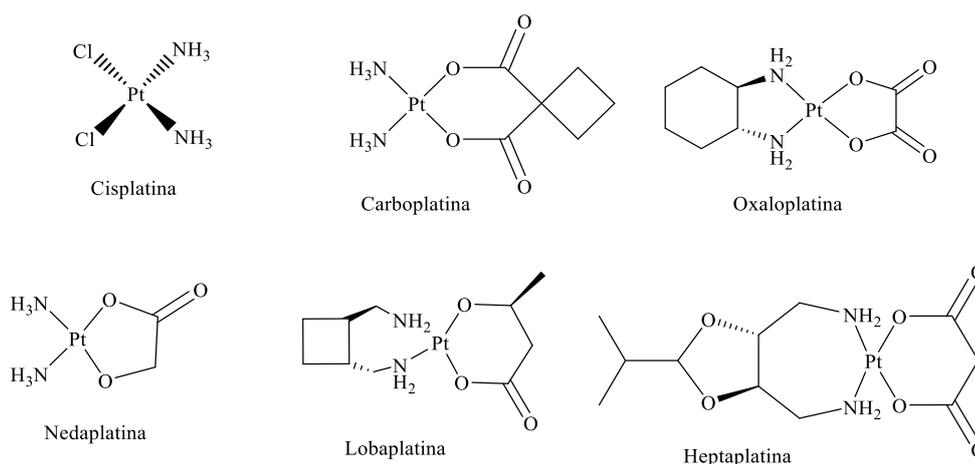
Nesse contexto, destaca-se a cisplatina (*cis*-diaminodicloroplatina(II)) (**Figura 2**), substância que teve sua atividade anticâncer descoberta ao acaso no final da década de 1960, por Barnet Rosenberg. Em seus estudos sobre os efeitos do campo elétrico em uma cultura de bactérias *Escherichia coli*, ele percebeu que a divisão celular era inibida e, como as células não podiam se dividir, elas cresciam por meio da formação de longos filamentos. A partir dessa constatação, teve-se início uma busca pelos possíveis causadores do fenômeno, o que culminou na descoberta de que a platina do eletrodo, quando dissolvida no meio de cultura, reagia com os sais de amônio contidos nele, formando complexos desse metal. Partindo-se então do pressuposto de que o sal $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$ era formado, este foi então sintetizado e avaliado frente as bactérias *Escherichia coli*. Observou-se que com as soluções recém preparadas, o fenômeno não se repetia, porém, após alguns dias e sendo expostas a luz, as soluções apresentavam o efeito visto inicialmente. Isso acontecia, como foi explicado mais tarde, uma vez que ocorria uma reação fotoquímica, a qual resultava na troca na esfera de coordenação do íon Cl^- pelo NH_3 . Por conta disso, os complexos *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$ e *trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_4]$ foram sintetizados e avaliados e notou-se que apenas o composto *cis* apresentou a mesma atividade observada anteriormente (ROSENBERG; VANCAMP, 1970; FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; FONTES; SILVA, 2017).

Levando em consideração tais resultados, diversos complexos de platina foram sintetizados e testados em camundongos portadores de um modelo de tumor usado em ensaios biológicos, no caso, o sarcoma-180. De todos os compostos testados, aquele que se mostrou mais ativo foi o *cis*diaminodicloroplatina(II), responsável pela regressão total do tumor em 36 dias, enquanto o isômero *trans* não demonstrou nenhuma atividade (ROSENBERG; VANCAMP, 1970; FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; FONTES; SILVA, 2017).

Dessa forma, em 1971, com base nos impressionantes resultados obtidos, a cisplatina foi então submetida a testes clínicos, sendo utilizada inicialmente em pacientes terminais e posteriormente para o tratamento de tumores localizados, principalmente os tumores de testículo e ovário. O carcinoma testicular, que era quase sempre letal, tornou-se curável em cerca de 80% dos casos com a utilização do complexo cisplatina. Mais tarde, o *cisdiaminodichloroplatina(II)* se mostraria efetivo em vários outros tipos de neoplasias, tais como câncer de pulmão, cabeça, esôfago, estômago, linfomas, melanoma, osteossarcoma, mama e cervix, em associação com outras drogas, em vários esquemas terapêuticos (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; FONTES; SILVA, 2017).

Frente a descoberta da atividade antitumoral da cisplatina, iniciou-se uma busca pela síntese de novos complexos metálicos, uma vez que a Química Medicinal se dedicava quase somente ao estudo das propriedades antitumorais de compostos orgânicos e produtos naturais. Dessa forma, diversos compostos derivados da platina(II) foram sintetizados e são atualmente utilizados na terapia anticâncer, dentre eles: a carboplatina, oxaloplatina, nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina (**Figura 2**). Assim como a cisplatina, essas substâncias mesmo apresentando-se bastante ativas nos mais variados tipos de câncer, se mostram bastante tóxicas ao paciente, apresentando diversos efeitos colaterais, tais como vômito, perda de cabelo, fraqueza, entre outros (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; FARRELL, 2015; INCA, 2023).

Figura 2 - Cisplatina e alguns de seus derivados.



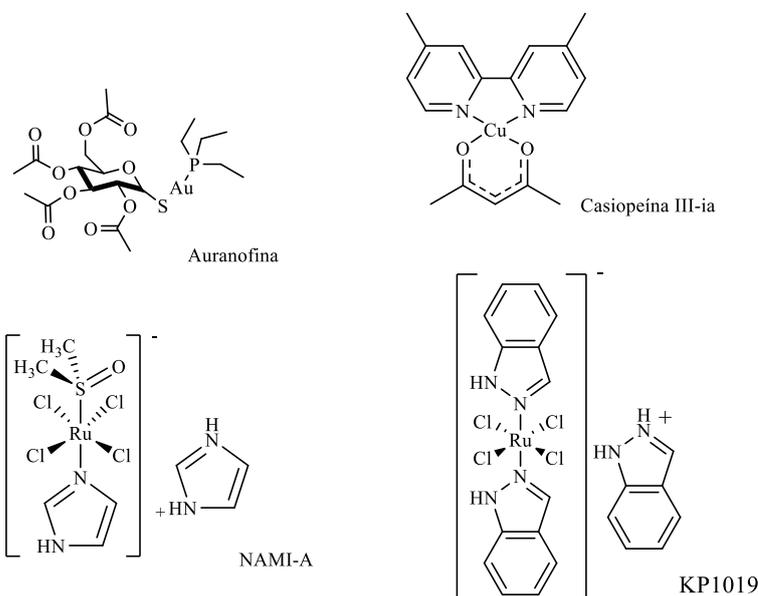
Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Além dos complexos metálicos derivados da *cis*-platina, destacam-se aqueles derivados do ouro(I), do rutênio(II) e de cobre(II). Diversos trabalhos na literatura discorrem sobre a

efetividade de tais compostos frente a células cancerígenas mostrando-se, assim, quimioterápicos promissores na busca de novas alternativas para o tratamento de tal doença (HARTINGER *et al.*, 2006; RUIZ-AZUARA; BRAVO-GOMEZ, 2010; NAVARRO *et al.*, 2013; LEIJEN *et al.*, 2014; GARCIA *et al.*, 2016; CHAVES *et al.*, 2017; DE ALMEIDA *et al.*, 2017; REDDY *et al.*, 2017; SVAHN *et al.*, 2018; DELGADO; CONDÉ; SANTOS; NAVARRO, 2020; QUERINO *et al.*, 2023).

Dentre os diversos compostos metálicos de cobre(II), ouro(I) e rutênio(II) que se mostraram efetivos frente a células cancerígenas, destacam-se as casiopeínas, a auranofina, o NAMI-A e o KP1019 (**Figura 3**). A Casiopeína III-ia está em ensaio clínico de fase I no México enquanto a auranofina, que já é utilizada há muito tempo para o tratamento da artrite reumatoide, teve suas propriedades anticancerígenas reportadas por Mirabelle e colaboradores pela primeira vez em 1985. Atualmente, tal composto já está em testes clínicos fase II (AGUILAR-JIMÉNEZ, *et al.* 2022; RODER; THOMSON, 2015; ALESSIO; MESSORI, 2019).

Figura 3 - Estrutura da casiopeína III-ia, auranofina, NAMI-A e KP1019.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já os complexos de rutênio (**Figura 3**) apresentaram potencial atividade antitumoral e entraram em fase de testes clínicos avançados. O composto NAMI-A entrou em testes clínicos fase II e mostrou-se eficaz contra tumores sólidos de metástase pulmonar, enquanto o KP1019 entrou em testes clínicos fase I e demonstrou promissora atividade frente a células de tumores

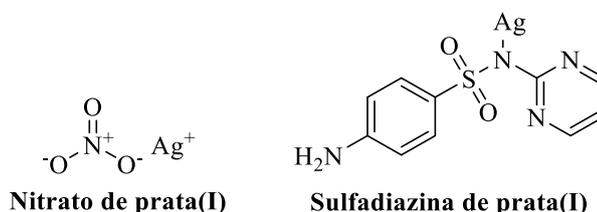
colorretais (HARTINGER *et al.*, 2006; NEVES; VARGAS, 2011; LEIJEN *et al.*, 2015; ALESSIO; MESSORI, 2019; LEE; KIM; NAM, 2020).

1.2.1 Complexos de Ag(I)

Encontrada em sua forma pura na natureza, a prata foi um dos primeiros metais a serem descobertos e manipulados pelos seres humanos. Acredita-se que esse metal tenha sido descoberto antes mesmo do ouro e do cobre e sua utilização remonta aos tempos antigos. Datam de 5000 a. C., na Índia, os objetos mais antigos de prata, porém nos túmulos de Ur, que remontam a 3500 a. C., peças desse metal também foram encontradas. Além disso, na própria Bíblia, no livro de Gênesis, há uma citação sobre um copo de prata que faz menção ao Antigo Império Egípcio, em 3000 a. C. (SOUZA, *et al.*, 2013).

A prata é utilizada há vários anos na medicina, sendo encontrada em cateteres, implantes cardíacos, em próteses ósseas, suturas e agulhas cirúrgicas, na odontologia e em tecidos cirúrgicos, dentre outros. Já em relação as suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas, os complexos de prata são conhecidos há séculos, uma vez que os primeiros manuscritos sobre a utilização desse metal e seus derivados descrevem seu emprego na medicina e na purificação da água. Tais propriedades se devem aos íons Ag^+ , já que estes íons desempenham ação bactericida imediata e ação bacteriostática residual, por provocarem a precipitação de proteínas e agirem diretamente na membrana citoplasmática desses organismos. Como exemplo da aplicabilidade destes compostos, podemos citar o uso do nitrato de prata(I) e da sulfadiazina de prata(I) para o tratamento de diversas infecções (**Figura 4**) (LANSDOWN, 2006; BANTI, HADJIKAKOU, 2013; SOUZA, *et al.*, 2013; NUNES *et al.*, 2023).

Figura 4 - Estruturas moleculares do nitrato de prata(I) e da sulfadiazina de prata(I).



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Atualmente, esse metal de transição é um dos mais utilizados na busca por novos metalofármacos, apresentando atividades biológicas bastante significativas (DOS SANTOS *et*

al., 2021; DE SOUZA *et al.*, 2023). Neste contexto, complexos de prata contendo ligantes carbenos N-heterocíclicos (NHC) têm sido amplamente estudados como agentes antitumorais (ASIF *et al.*, 2016; MEDICI *et al.*, 2016; LIANG *et al.*, 2018; MOHAMED *et al.*, 2020).

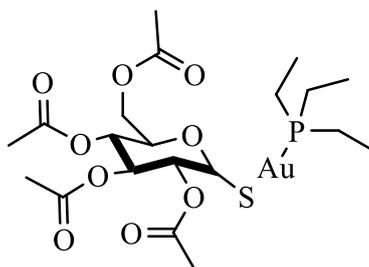
1.2.2 Complexos de Au(I)

Assim como a prata, o ouro é um dos metais de transição utilizados na síntese de complexos metálicos, os quais geralmente possuem promissora atividade biológica, principalmente contra o câncer.

Conhecido e apreciado pelos seres humanos há mais de 5000 anos, o ouro é utilizado na confecção de moedas, joias, ornamentos e obras de arte. Posteriormente, por conta de suas propriedades físicas - tais quais maleabilidade e ductibilidade -, e por não ser tóxico, esse metal foi utilizado na odontologia, mais precisamente, em processos de restauração dentária (WANG *et al.*, 2012).

Esse metal teve sua primeira aplicação terapêutica reportada na medicina oriental, por volta de 2500 a.C. Já o atual interesse nos compostos derivados do ouro surgiu em 1890, quando o médico alemão Robert Koch observou a inibição do bacilo da tuberculose pelo sal cianeto de ouro(I). Mais tarde, entre os anos de 1925-1935, foram utilizados derivados deste metal, principalmente os sais de ouro(I) contendo tiolatos, para o tratamento dessa doença, embora não houvesse evidências experimentais (tanto em 1890 quanto nessa década específica), de que eles fossem efetivos contra a tuberculose (DELGADO; CONDÉ; SANTOS; NAVARRO, 2020).

Em 1929, Jacques Foriester, um cientista francês, começou a investigar o efeito desses compostos no tratamento da artrite reumatoide, porém somente na década de 1960 que ensaios clínicos controlados comprovaram a sua eficácia. Já em 1985, a auranofina (**Figura 5**), um composto fosfínico de ouro(I), foi aprovado para o tratamento da artrite reumatoide substituindo, assim, o tratamento clínico com tiolatos injetáveis desse metal. Porém em 1985, Mirabelle e colaboradores reportaram a potente inibição no crescimento de células tumorais que esse composto demonstrou quando testado em *in vitro*, apresentando atividade antitumoral *in vivo* limitada em modelos tumorais de camundongos. Atualmente, esse composto já se encontra em testes clínicos fase II (RODER; THOMSON, 2015; DELGADO; CONDÉ; SANTOS; NAVARRO, 2020; ABDALBARI; TELLERIA, 2021; TIALIOU *et al.*, 2022).

Figura 5 - Estrutura da auranofina.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Dessa forma, nas últimas décadas, compostos de ouro(I) principalmente contendo ligantes NHC em sua composição se destacam no estudo de suas propriedades contra essa doença (GUARRA *et al.*, 2020; IACOPETTA *et al.*, 2021).

1.3 COMPOSTOS ORGANOMETÁLICOS

Dentro da Química Inorgânica Medicinal, os compostos organometálicos vêm ganhando destaque no que se diz respeito a busca de novos fármacos que apresentem promissora atividade biológica contra variadas doenças, tais como malária, carcinomas, linfomas, inflamações, diabetes e distúrbios neurológicos (ANILANMERT, 2012). Mediante uma vasta gama de compostos, destacam-se aqueles que possuem os chamados ligantes carbenos *N*-heterocíclicos.

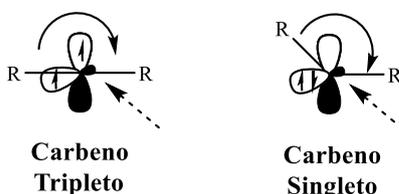
1.3.1 Carbenos

Por definição, carbenos, $:CH_2$, são espécies neutras que possuem apenas seis elétrons em torno de seu átomo de carbono divalente: dois pares de elétrons que se encontram cada um em uma ligação e os outros dois elétrons restantes são elétrons não-ligantes. Tais compostos existem, em geral, com geometria angular e o carbono carbênico adota uma hibridização que pode variar de sp^2 a sp , na qual o orbital p_y (comumente chamado orbital p_π) permanece inalterado, enquanto o orbital p_x (comumente chamado orbital σ) recebe uma grande estabilização ao adquirir um caráter *s* (PASTRE; CORREIA, 2008; SHRIVER; ATKINS, 2008).

Os carbenos, em geral, podem se apresentar em duas configurações eletrônicas: (I) com arranjo linear dos dois grupos ligados ao carbono e os dois elétrons restantes desemparelhados em dois orbitais *p* ou (II) com os dois grupos em posição angular e os dois elétrons restantes

emparelhados e com um orbital p vazio (**Figura 6**) (PASTRE; CORREIA, 2008; SHRIVER; ATKINS, 2008; NESTEROV *et al.*, 2018).

Figura 6 - Tipos de Carbenos.

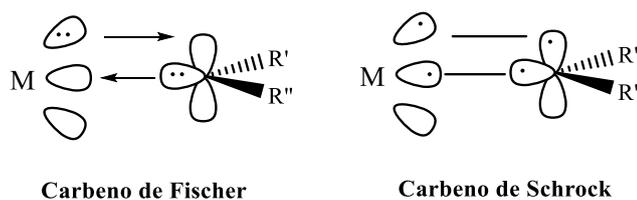


Fonte: Adaptado de PASTRE; CORREIA (2008).

Os carbenos triplete, como são chamados os carbenos que possuem um arranjo linear dos grupos, são favorecidos por efeito estérico quando ligantes muito volumosos estão ligados ao carbono carbênico. Eles recebem este nome uma vez que os dois elétrons estão desemparelhados, levando a $S=1$. Já os carbenos angulares são chamados de carbenos singlete e constituem a forma normal dos carbenos. Tais compostos recebem esse nome por conta do emparelhamento dos elétrons, fazendo com que $S=0$. Em um carbeno singlete, o par de elétrons no carbono carbênico está apto para se ligar ao átomo metálico, o que resulta numa ligação ligante-metal. O orbital p vazio no átomo de C pode receber densidade eletrônica do átomo metálico estabilizando, assim, o carbono deficiente de elétrons (PASTRE; CORREIA, 2008; SHRIVER; ATKINS, 2008).

Carbenos ligados a átomos metálicos dessa forma são historicamente conhecidos como **carbenos de Fischer** e são representados com uma ligação dupla metal-carbono ($M=C$). Como esses carbenos são deficientes em elétrons no átomo de C, eles são facilmente atacados por nucleófilos. Porém, quando a retrodoação para o átomo de C é muito forte, o carbeno pode vir a tornar-se rico em elétrons, o que faz com que ele tenda a ser atacado por eletrófilos. Carbenos desse tipo são chamados de **carbenos de Schrock** (**Figura 7**) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Figura 7 - Tipos de carbenos com base no tipo de ligação Metal-Carbono.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Tais compostos são geralmente obtidos por meio da perda de moléculas estáveis e pequenas, como N₂, por exemplo. Com base na estrutura de seus precursores e na sua utilização, os carbenos podem ser preparados por meio de uma α -eliminação mediada por bases, por decomposição de compostos diazocarbonílicos catalisada por metais (tais como cobre ou ródio), ou ainda por decomposição térmica ou fotolítica de diazocompostos (geralmente derivados de tosildrazonas). Além disso, por serem espécies bastante reativas, os carbenos podem participar de uma série de reações, dentre elas reações de migração-1,2, dimerização, adição a ligações múltiplas e, ainda, reações de inserção C-H, C-N (PASTRE; CORREIA, 2008).

1.3.2 Carbenos N-heterocíclicos e seus complexos metálicos

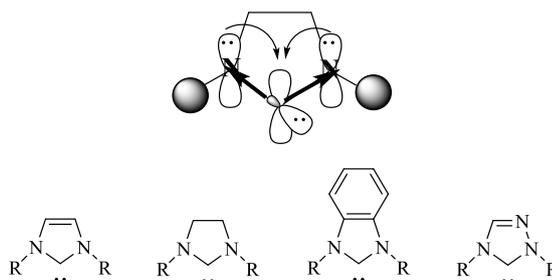
Atualmente, várias pesquisas estão sendo voltadas para uma classe específica de carbenos, os **carbenos N-heterocíclicos** (NHC - *N*-heterocyclic carbenes). Diversos trabalhos na literatura relatam a utilização desses ligantes na síntese de compostos organometálicos.

Os primeiros estudos reportados sobre os compostos NHC têm sua origem na década de 1960, quando o Prof. Wanzlick, em seus estudos com mercúrio (Hg²⁺), conseguiu isolar e identificar esses ligantes na estrutura dos complexos metálicos que havia sintetizado (WANZLICK; SCHONHERR, 1968). No mesmo ano, Olefe relatou em seu trabalho, de forma independente, a síntese de um complexo metálico de cromo(0) contendo um ligante NHC. Apesar de não conseguir isolar o carbeno, Wanzlick foi o primeiro a postular a teoria de que nesses compostos, o carbono carbênico poderia ser estabilizado por meio do efeito de doação de elétrons dos nitrogênios adjacentes a ele. Somente em 1991, Arduengo e colaboradores conseguiram isolar e caracterizar a primeira estrutura cristalina de um composto NHC, obtido por meio da desprotonação do cloreto de bis(1-adamantil)imidazol com hidreto de sódio (NaH) em tetraidrofurano (THF), na presença de uma quantidade catalítica de dimetilsulfóxido (DMSO), por meio de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e de ¹³C, espectrometria de massas, infravermelho, análise elementar e difração de raios-X. Desde então, diversos NHC têm sido sintetizados e a sua aplicação é vista em diversas áreas da Química, principalmente como ligantes em várias reações catalisadas por metais de transição (ARDUENGO; HARLOW; KLINE, 1991; PASTRE; CORREIA, 2008).

Nesse tipo de compostos, dois átomos de nitrogênio estão adjacentes ao átomo do carbono carbênico (**Figura 8**). Se levarmos em conta que o par de elétrons isolado do N se encontra em um orbital *p*, percebemos que há a estabilização do carbeno por meio de uma forte

interação π doadora partindo dos dois átomos de nitrogênio. Além disso, há também uma grande estabilização do carbeno por estarem tanto o C carbênico quanto os dois átomos de nitrogênio em um anel (geralmente, de cinco membros). Uma estabilização adicional pode ser dada pela presença de uma dupla ligação nesse anel de cinco membros, a qual fornece mais dois elétrons a ele, os quais podem ser considerados parte de uma estrutura aromática em ressonância de seis elétrons. Geralmente, a ligação oriunda de um ligante NHC com um metal é predominantemente considerada uma doação σ de dois elétrons do C, apresentando mínima retrodoação π do átomo metálico (SHRIVER; ATKINS, 2008). Ademais, a maioria desses ligantes possui propriedades que os assemelham quimicamente as fosfinas, podem ter sua estrutura facilmente modificada e são excelentes σ -doadores (ZOU *et al.*, 2018; PORCHIA *et al.*, 2018).

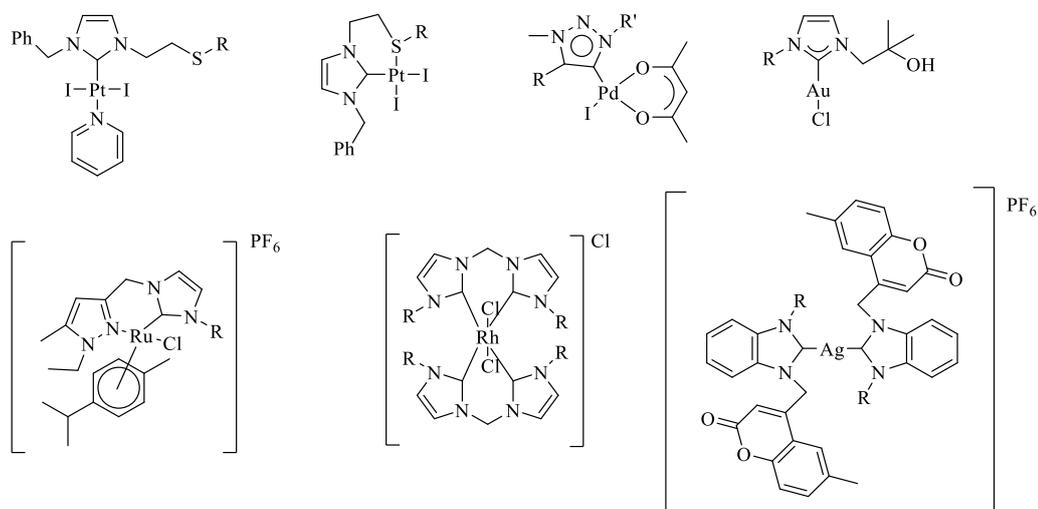
Figura 8 - Exemplos de compostos NHC.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Além de sua aplicação em catálise, estudos biológicos presentes na literatura destacam o uso dos NHC ligados a diversos metais de transição, como promissores agentes antineoplásicos (**Figura 9**), tais como platina(II e IV) (BOUCHÉ *et al.*, 2016; EGLY *et al.*, 2018; KARACA *et al.*, 2019; THAM *et al.*, 2020; WAN *et al.*, 2021), paládio(II) (CHOO *et al.*, 2018; HETTMANCZYK *et al.*, 2018; SCATTOLIN *et al.*, 2018; TENG *et al.* 2022), prata(I) (HACKENBERG *et al.*, 2013; ASIF *et al.*, 2016; ACHAR *et al.*, 2018; MOHAMED *et al.*, 2020), rutênio(II) (CHEN, *et al.*, 2017; SLIMANI *et al.*, 2020; NASR *et al.*, 2023), ródio(III) (QUEZADA, *et al.*, 2004; DAUBIT *et al.* 2021) e ouro(I) (KARACA *et al.*, 2017; ZANG *et al.*, 2018; GUARRA *et al.* 2020; IACOPETTA *et al.* 2021).

Figura 9 - Exemplos de complexos metálicos com ligantes NHC.

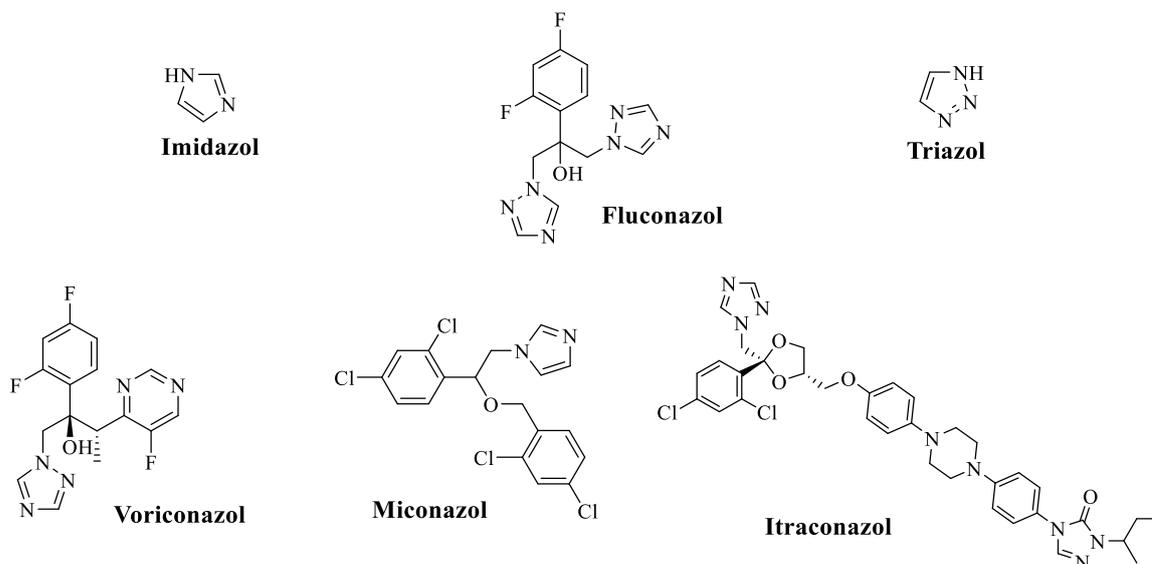


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Dentre todos os complexos oriundos dos metais de transição acima citados, destacam-se os compostos derivados de ouro(I). O grande interesse por essa classe de compostos se deu após a publicação dos trabalhos do grupo de pesquisa de Berners-Price, no ano de 2004, sobre a capacidade de complexos de ouro(I)-NHC lipofílicos, catiônicos e dinucleares induzirem a permeabilização da membrana mitocondrial, que está associada com a inibição seletiva da enzima tiorredoxina redutase (TRxR) em organelas isoladas de fígado de rato (BARNARD *et al.*, 2004). De acordo com Zang e colaboradores, somam 60 (sessenta) o número de artigos publicados desde 2012 sobre as atividades anticâncer *in vitro* de complexos de ouro(I) com ligantes NHC e este número só tende a crescer (ZANG *et al.*, 2018; TIALIOU *et al.*, 2022).

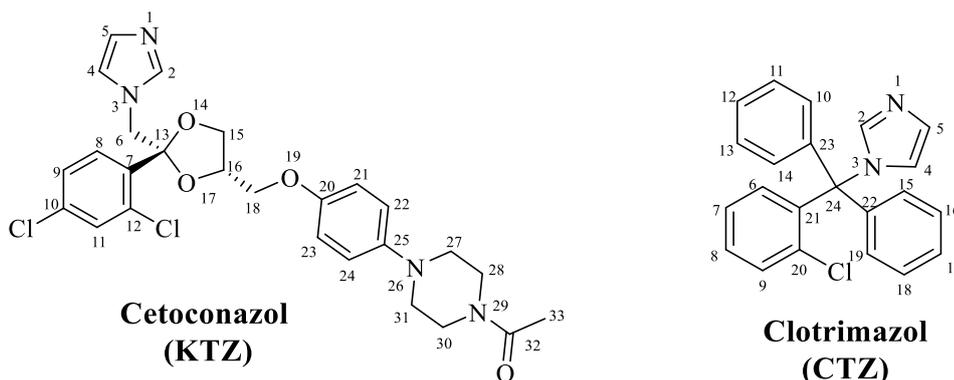
1.4 COMPOSTOS IMIDAZÓLICOS E SUA APLICAÇÃO NA MEDICINA

Descobertos no final dos anos 60 e conhecidos como a primeira geração de inibidores da biossíntese do ergosterol, os azóis são fármacos com amplo espectro de ação utilizados para o tratamento de várias infecções fúngicas. Tais compostos apresentam um anel imidazólico livre unido por meio de ligações C-N a outros anéis aromáticos, sendo que a natureza desses anéis pode modificar desde a toxicidade até o efeito terapêutico e as propriedades físico-químicas desses compostos. Os azóis podem ser divididos com base no número de nitrogênios que o anel imidazólico possui. Dessa forma, são classificados como imidazóis (miconazol) e triazóis (fluconazol, itraconazol, voriconazol) (**Figura 10**) (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Figura 10 - Exemplos de azóis.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Dentre os principais componentes dessa classe de fármacos, destacam-se o clotrimazol (CTZ) e o cetoconazol (KTZ) (**Figura 11**). O primeiro, além de possuir propriedades antimicóticas, mostra-se eficiente contra várias doenças, tais como a doença falciforme, a malária e alguns tipos de câncer (CROWLEY; GALLAGHER, 2014).

Figura 11 - Estruturas do clotrimazol (CTZ) e do cetoconazol (KTZ).

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Vários trabalhos encontrados na literatura também destacam a utilização destes compostos ligados a metais de transição, como platina(II), rutênio(II e III), ouro(I), cobre(II) e paládio(II) e sua atividade biológica frente a doenças parasitárias e alguns tipos de câncer (NAVARRO *et al.*, 2000; NAVARRO *et al.*, 2001; NAVARRO *et al.*, 2004; NAVARRO *et*

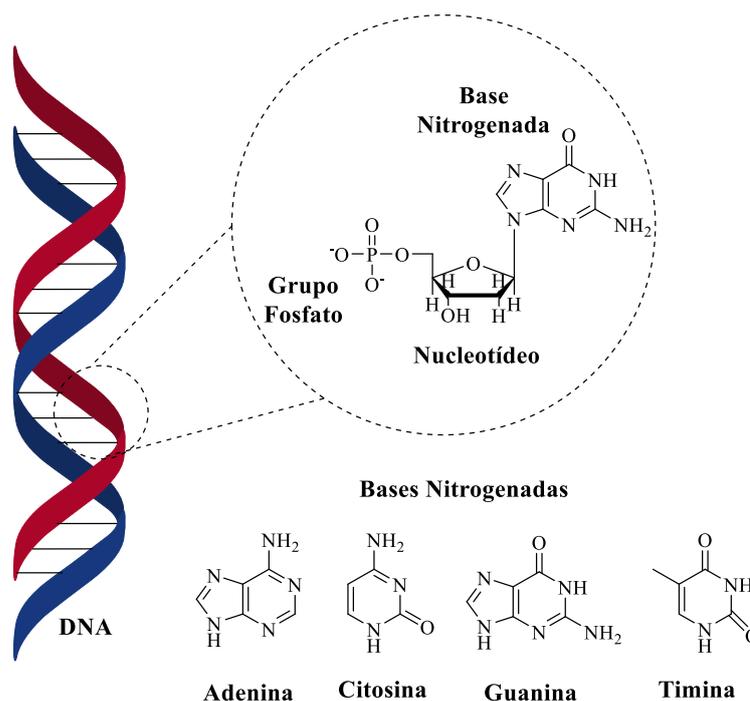
al., 2006; NAVARRO *et al.*, 2009; NAVARRO *et al.*, 2009; ROBLES-ESCAJEDA *et al.*, 2013; COLINA-VEGAS *et al.*, 2016; COLINA-VEGAS *et al.*, 2018; AZEVEDO-FRANÇA *et al.* 2021; AZEVEDO-FRANÇA *et al.* 2024).

1.5 PRINCIPAIS BIOMOLÉCULAS NO ESTUDO DE METALOFÁRMACOS

1.5.1 DNA: um importante alvo em células tumorais

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é uma macromolécula em forma de dupla hélice, composta por blocos repetitivos que são formados por uma base nitrogenada, um grupo fosfato e uma molécula de 2'-desoxi-D-ribose (**Figura 12**).

Figura 12 - Estrutura da biomacromolécula de DNA.

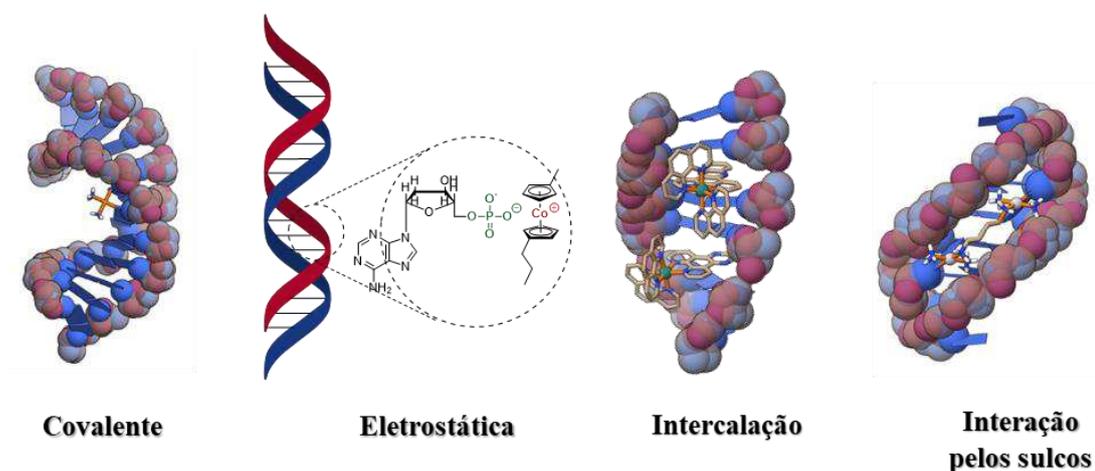


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Essa biomolécula é considerada um alvo farmacológico de grande interesse em diversos estudos clínicos, uma vez que sua estrutura apresenta grandes possibilidades de interações com diferentes tipos de substâncias, dentre elas, diversos complexos metálicos. Essas interações podem ser classificadas como reversíveis e irreversíveis. No primeiro caso, elas podem se dar de forma não-covalente, por meio de interações eletrostáticas entre o complexo e os grupos fosfato do DNA, pela intercalação do tipo π - π entre as bases nitrogenadas por moléculas

aromáticas planas, ligações de hidrogênio e por ligação nos sulcos maiores ou menores do DNA. Já no segundo caso, ocorrem através de interações hidrofóbicas de forma covalente, pela ligação do metal as bases nitrogenadas ou ao grupo fosfato, como no caso da cisplatina, que após perder seus cloretos durante hidrólise no meio intracelular, se liga diretamente ao DNA através do íon metálico de platina(II) (**Figura 13**). Tais adutos complexo-DNA formados por meio dessas interações podem desencadear apoptose e necrose celular uma vez que possuem a habilidade de distorcer significativamente a estrutura helicoidal dessa biomolécula, interferindo, assim, no reconhecimento do DNA por componentes celulares, resultando na inibição da replicação e transcrição. (BARRA; NETTO, 2015; KELLETT *et al.*, 2019).

Figura 13 - Representação esquemática dos tipos de interações complexos-DNA.



Fonte: Adaptado de TUIITE, LINCOLN, NORDÉN, 1997; HARRIS, *et al.*, 2005; VAIDYANATHAN, NAIR, 2005; QIU, GILROY, MANNERS, 2013.

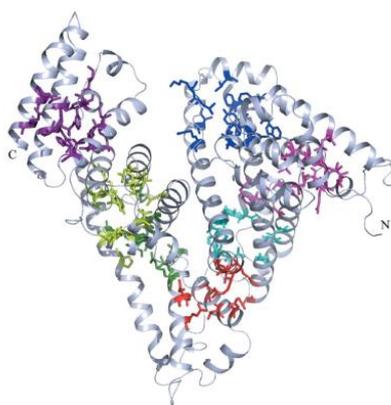
Buscando-se analisar qual o tipo de interações entre os complexos metálicos e o DNA são empregadas diversas técnicas espectroscópicas e analíticas, tais como titulações espectrofotométricas, como UV-vis e fluorescência, medidas de viscosidade e ensaios de mobilidade eletroforética com DNA (BARRA; NETTO, 2015).

1.5.2 Interações com a BSA

A albumina sérica é a proteína mais abundante encontrada no sistema circulatório de diversos organismos e apresenta um importante papel no que se diz respeito ao transporte e a deposição de diversas drogas (KANDAGAL *et al.*, 2006).

Sabe-se que as interações droga-proteína influenciam muito nas propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos medicamentos. Dessa forma, compreender as características das interações medicamentosas com essa proteína pode fornecer informações importantíssimas sobre o desenho de novas drogas. Neste contexto, a albumina sérica bovina (BSA) (**Figura 14**), que é estruturalmente homóloga a albumina sérica humana (HSA), é geralmente empregada como proteína modelo, por conta de sua disponibilidade e de seu baixo custo (WANG *et al.*, 2008).

Figura 14 - Monômero BSA.



Fonte: BUJACZ (2012).

As albuminas séricas são proteínas solúveis presentes no plasma em concentrações notáveis de 30 g/L a 50 g/L e são responsáveis por cerca de 60% do conteúdo total de proteínas plasmáticas. As albuminas atuam como meio de armazenamento, transporte, metabolismo e excreção de uma variedade de substâncias endógenas e exógenas no organismo, ligando-se reversivelmente a moléculas como hormônios ou medicamentos. A afinidade de ligação de qualquer molécula à albumina pode afetar significativamente as suas propriedades farmacocinéticas, isto é, absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco. Além disso, a afinidade de ligação também impacta a biodisponibilidade. Essas afinidades podem variar muito, de 10^2 a 10^7 M^{-1} , devido à existência de vários sítios de ligação dentro da biomolécula com diferentes especificidades, sendo os chamados sítios I e II os mais importantes (COLMENAREJO, ALVAEZ-PEDRAGLIO, LAVANDERA, 2001; DULFOR, DANGLES, 2005).

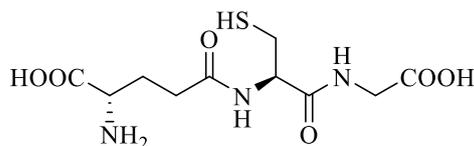
Estruturalmente, as albuminas séricas consistem em uma sequência bem conhecida de cadeia de aminoácidos com três domínios de hélice α homólogos (I-III) que são extensivamente reticulados por pontes dissulfeto. Entre as albuminas séricas, as versões humana (HSA) e

bovina (BSA) são extensivamente estudadas devido ao seu significado farmacológico. Elas compartilham 80% de homologia de sequência e um padrão repetitivo de ligações dissulfeto. BSA contém 582 aminoácidos, que incluem 35 cisteínas envolvidas em 17 ligações dissulfeto e dois triptofano (Trp). A fluorescência intrínseca das albuminas (em torno de 340 nm) quando excitadas em 280 nm é principalmente devida ao Trp aromático e com contribuições da tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe). A fluorescência desses locais é sensível até mesmo às menores variações em seus arredores, como em transições conformacionais, ligação biomolecular e mudanças na polaridade, o que torna a espectroscopia de fluorescência uma ferramenta eficaz no monitoramento de interações moleculares dentro dos locais de ligação à albumina (YU *et al.*, 2022).

Diversos experimentos podem revelar a ligação de medicamentos à albumina, principalmente os métodos espectrais, que são capazes de detectar essa proteína em baixas concentrações. Uma dessas técnicas é a extinção de fluorescência que, devido à sua alta sensibilidade, reprodutibilidade e uso relativamente fáceis, é frequentemente utilizada para monitorar as interações moleculares (WANG *et al.*, 2008).

1.5.3 O papel da Glutathiona no Câncer

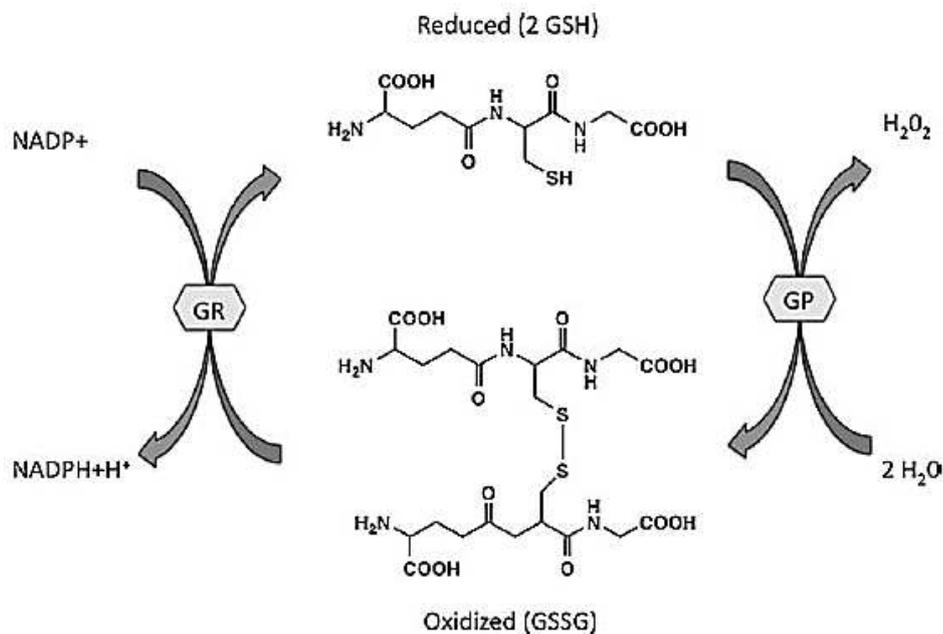
A glutathiona (L- γ -glutamil-L-cisteinilglicina) (**Figura 15**) é o principal e mais abundante tiol, de baixa massa molecular, não proteico no organismo de mamíferos. Sendo um importante antioxidante intracelular, essa biomolécula atua na regulação do estado redox celular, protegendo as células dos danos causados por peróxidos lipídicos, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e xenobióticos. Nas células, a glutathiona se encontra em sua forma livre reduzida (GSH), sendo sua concentração aproximada em 2 mM nos eritrócitos humanos e em mais de 10 mM nos hepatócitos. Podemos observar, nesse tripeptídeo, a ligação γ -peptídica, a presença da porção γ -glutamil e do grupo α -carboxilato livre, os quais são responsáveis por evitar a hidrólise do substrato GSH pelas proteases, que são enzimas responsáveis pela degradação dela em peptídeos menores (KENNEDY *et al.*, 2020; HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008).

Figura 15 - Estrutura da glutatona.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Estudos recentes destacaram a importância da GSH nas principais reações de transdução de sinal, como controlador da diferenciação, proliferação, apoptose, ferroptose e da função imunológica celular. Distúrbios na homeostase e alterações moleculares no sistema antioxidante da GSH têm sido implicados na iniciação, progressão e resposta ao tratamento do tumor. Embora nas células saudáveis esse tripeptídeo seja crucial para a remoção e desintoxicação de carcinógenos, níveis elevados de GSH nas células tumorais estão associados à progressão do tumor e ao aumento da resistência aos quimioterápicos. Como um tripeptídeo de ácido glutâmico, a GSH representa um dos tampoões tiol mais abundantes e importantes na célula. Tanto a GSH quanto seu dissulfeto, a glutatona oxidada (GSSG), contribuem para o potencial redox da célula e, assim, para a homeostase redox da célula. A proporção GSH/GSSG é mantida em equilíbrio por meio de reações de oxidação/redução envolvendo GSH peroxidase e GSH redutase. Alterações induzidas por espécies reativas de oxigênio e/ou espécies reativas de nitrogênio que diminuem o GSH levam à morte celular por apoptose ou necrose (**Figura 16**) (KREZEL, BAL, 1999; HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008; XIONG *et al.*, 2011; DELGADO; CONDÉ; SANTOS, H; NAVARRO, 2020; KENNEDY *et al.*, 2020).

Figura 16 - Esquema da glutatona como tampão redox biológico.



Fonte: XIONG *et al.* (2011).

Neste contexto, destacam-se os complexos de ouro uma vez que tais compostos apresentam uma elevada propensão às enzimas, especialmente aquelas que contêm cisteína ou grupos tióis, tais como a tioredoxina redutase (TrxR) e a glutatona reduzida (GSH). Essa característica é atribuída à forte afinidade de ligação dos íons de ouro com tióis, o que está em concordância com a teoria de ácidos e bases de Pearson. Várias novas terapias foram desenvolvidas para atingir o sistema antioxidante GSH em tumores como uma forma de aumentar a resposta e diminuir a resistência aos medicamentos (KREZEL, BAL, 1999; DELGADO; CONDÉ; SANTOS, H; NAVARRO, 2020; KENNEDY *et al.*, 2020).

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo a síntese e a caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) com ligantes NHCs derivados do clotrimazol (**CTZ**) e do cetoconazol (**KTZ**) e dos respectivos compostos de coordenação de Ag(I) e Au(I) derivados destes imidazóis, o estudo de suas interações com diferentes biomoléculas e a avaliação biológica destes como antineoplásicos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Sintetizar os ligantes NHCs derivados do clotrimazol (**CTZ**) e do cetoconazol (**KTZ**) e caracterizá-los por meio de espectroscopia na região do infravermelho (IV), condutimetria, análise elementar, ressonância magnética nuclear (RMN), análise elementar;
- b) Sintetizar complexos de Ag(I) e Au(I) utilizando como ligantes os derivados NHC, o **CTZ** e o **KTZ** e caracterizar os complexos obtidos utilizando espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia no UV-vis., condutimetria, análise elementar e ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massa;
- c) Avaliar a atividade antitumoral *in vitro* de todos os compostos obtidos em colaboração com pesquisadores da área e, por meio dos resultados obtidos, deduzir se o tipo de coordenação dos antifúngicos azólicos pode influenciar na atividade biológica deles.
- d) Investigar o mecanismo de ação dos compostos, explorando possíveis interações com o DNA, através dos experimentos de titulação espectrofotométrica, viscosidade e eletroforese (somente para os compostos de Ag(I));
- e) Investigar o mecanismo de ação dos complexos de Ag(I) com a BSA, por meio do experimento de titulação espectrofotométrica de extinção de fluorescência;
- f) Examinar a estabilidade dos complexos de Au(I) com a GHS, através do experimento de titulação espectrofotométrica, a fim de se observar se há algum tipo de interação entre eles e esse tripeptídeo.

2 PARTE EXPERIMENTAL

Nessa seção serão descritas as condições, os reagentes e os solventes utilizados nas sínteses dos ligantes e dos complexos metálicos, além de toda a instrumentação empregada na caracterização e nos estudos biológicos desses compostos.

3.1 ATMOSFERA INERTE

As sínteses dos complexos metálicos de prata e ouro(I) foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio, por meio de técnicas padrão da linha de Schlenk, enquanto os ligantes foram sintetizados em atmosfera normal.

3.2 SOLVENTES E REAGENTES

Somente os solventes utilizados na síntese dos compostos, no caso, diclorometano, acetonitrila e metanol, foram previamente purificados por destilação, utilizando os agentes dessecantes apropriados para cada caso (WILLIAMS; LAWTON, 2010). Já para os experimentos de RMN foram utilizados clorofórmio (CDCl_3) e dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$) deuterados.

Os reagentes clotrimazol, iodometano, óxido de prata(I) e nitrato de prata(I) utilizados são da marca Sigma-Aldrich, enquanto o cetoconazol foi fornecido pela Farmácia Calêndula. O sal de ouro (tetracloroaurato(III) de potássio) e o tetrahidrotiofeno utilizados na síntese do cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) são das marcas Aldrich e Alfa Aesar, respectivamente. Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia.

3.3 INSTRUMENTAÇÃO

Em alguns experimentos foram utilizados diferentes equipamentos para a realização das análises, uma vez que os aparelhos disponíveis na instituição se encontravam em manutenção ou então os métodos de análise utilizados não apresentavam resultados satisfatórios.

3.3.1 Análise Elementar

A determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) dos ligantes NHC e dos complexos de Ag(I) foi realizada por meio de um analisador CHNS-O modelo Flash 2000 da marca Thermoscientific, com fluxo de gases nitrogênio/oxigênio a 140 mL/min, temperatura do forno à 900°C e tempo de análise de doze minutos.

Já os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio nos complexos de Au(I) foram determinados no aparelho PE 2400 CHN Elemental Analyzer no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, sendo utilizado gás oxigênio para a combustão e gás nitrogênio para o arraste dos gases gerados na combustão das amostras.

3.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C dos ligantes e dos complexos de prata(I) foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III HD 500, sendo os compostos solubilizados em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*6), enquanto os espectros de ressonância magnética nuclear dos compostos de ouro(I) foram adquiridos no espectrômetro Bruker DRX400 com frequência de 400 MHz no Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química da UFMG, utilizando-se DMSO-*d*6 ou CDCl_3 como solventes.

3.3.3 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)

Para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho foi utilizado um espectrofotômetro Alpha Bruker FTIR através de um acessório de refletância total atenuada (ATR) Eco ATR com cristal de ZnSe, na região de 4000-400 cm^{-1} , resolução espectral de 4 cm^{-1} , com 128 varreduras.

3.3.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (UV-vis.)

Já para a obtenção dos espectros de absorção nas regiões do ultravioleta e visível, foram utilizados um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 com largura de banda espectral de 1 nm, cubetas de quartzo com caminho óptico de 1cm e região de varredura 1100-200 nm.

3.3.5 Espectroscopia de Fluorescência

Os espectros de emissão dos compostos foram obtidos em um espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse no Departamento de Química da UFMG. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico, $\lambda_{\text{excitação}} = 269 \text{ nm}$ e fendas de excitação e emissão de 10 nm.

3.3.6 Espectrometria de massas

Os espectros de massas de alta resolução dos ligantes NHC e dos complexos de prata(I) foram obtidos tanto pela Dra. Sandra Scapin no Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), onde trabalhou-se com o método de injeção direta no espectrômetro Synapt G1 (Waters, UK) e os espectros foram adquiridos na faixa de 50-2000 m/z , quanto pela mestra Olívia Brito de Oliveira Moreira, do Grupo de Química Analítica e Quimiometria, chefiado pelo Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira (UFJF). Cerca de 2,0 mg de cada amostra foram solubilizados em DMSO seguido de diluição em metanol HPLC/MS (1:5, v/v). Os experimentos foram realizados em um sistema 6530 Accurate-Mass Q-TOF equipado com fonte Dual AJS ESI e um instrumento de cromatografia líquida de alto desempenho 1260 Infinity II como sistema de injeção, ambos da Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EUA). 10,0 μL de cada amostra foram injetados diretamente através do sistema HPLC usando uma fase móvel composta por metanol e ácido fórmico (99,5:0,5% v/v) a uma vazão de 0,4 mL/min. Os dados foram coletados no modo ESI positivo operado em varredura completa de m/z 100 – 3200 a uma taxa de varredura de 1 espectro/seg. A voltagem capilar foi ajustada em 3,5 kV e a voltagem do fragmentador foi ajustada em 20 V. A pressão do nebulizador foi mantida em 35 psi, gás de secagem a 150°C com vazão de 7 L/min e gás de bainha a 125°C com taxa de fluxo 7 L/min.

Os espectros de massas de alta resolução dos complexos de ouro(I) foram adquiridos pela Profa. Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira e sua equipe, no Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (CRTI - UFG). As amostras foram preparadas na concentração de 1mg/mL em metanol e em seguida diluídas a uma concentração de 70 ppm em metanol. Os espectros de massas de alta resolução foram adquiridos por infusão direta das amostras, utilizando-se um espectrômetro de massas *Q-Exactive* (ThermoScientific), com fonte H-ESI, operando em modo positivo e negativo nas seguintes condições: *full scan* m/z 500 - 800 (variando dentro desta faixa conforme a m/z de interesse para cada amostra), resolução 140.000,

spray voltage 2,0 e 5,0 kV, fluxo de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$, gás de bainha 10, gás auxiliar 0, temperatura do capilar 300 °C, temperatura do gás auxiliar 37 °C, *s-lens* 50 e 80.

3.3.7 Difração de raios X (DRX)

Os monocristais foram difratados no Laboratório LabCri - Laboratório de Cristalografia da UFMG, pelo Prof. Dr. Willian Xerxes Coelho Oliveira. Foi utilizado um difratômetro Rigaku-Diffraction Synergy utilizando comprimento $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å). A amostra foi montada em suporte de poliamida que não apresenta padrão de difração. A integração dos dados, bem como a correção de absorção foram feitas pelo software CRYALIS. A integração dos dados, bem como a correção de absorção foram feitas pelo software CRYALIS. Os parâmetros de rede foram obtidos pelo melhor ajuste possível das reflexões. O grupo espacial foi encontrado utilizando o programa XPREP e as estruturas resolvidas pelo software SUPERFLIP. As posições de todos os átomos foram obtidas por análises de mapas de Diferença de Fourier, com refinamento feito através do programa SHELXL-2016 usando rotina de mínimos quadrados. Os átomos de hidrogênio foram incluídos de forma rígida com distâncias C-H = 0,97 Å e $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{C})$ para aromáticos e $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{C})$ para as metilas. A desordem dos anéis aromáticos foi tratada como uma desordem posicional/orientacional, em que um dos anéis possui duas posições possíveis com giro da ligação C(aromático)-C(sp³) ou duas posições devido à vibração desta mesma ligação.

3.3.8 Condutimetria

As medidas de condutividade de cada composto foram realizadas através do condutivímetro MS Tecnonon NI-CVM, utilizando dimetilsulfóxido como solvente. A concentração das amostras foi da ordem de $10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$.

3.4 SÍNTESES E CARACTERIZAÇÕES DOS COMPOSTOS

Ao longo deste tópico serão apresentados os procedimentos experimentais utilizados para a obtenção dos compostos e os dados referentes as diferentes técnicas de caracterização realizadas.

3.4.1 Ligantes

3.4.1.1 Síntese do ligante iodeto de 1-[(2-Clorofenil)(difenil)metil]-3-metil-imidazol hidratado (**L1**)

A síntese dos ligantes se deu de acordo com metodologia já descrita na literatura por Stroppa e colaboradores (2019) para compostos imidazólicos similares. A uma solução contendo clotrimazol (**CTZ**) (2,90 mmol; 1g) em 100 mL de acetonitrila destilada foram adicionados 360 μ L de iodometano (5,80 mmol). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente. Observou-se que, com aproximadamente 7h de reação, a solução tornou-se amarelada. Após 48h, o solvente da mistura reacional foi evaporado. Observou-se, durante a evaporação do solvente, a formação de um sólido amarelo nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido amarelo cristalino, 1,21g. Rendimento: 85%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 25,99$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClIN}_2\text{O}$: exp. (calc.) C 54,68 (54,77); H 3,96 (4,31); N 5,55 (5,90). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1572; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1443. RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 9,08 (s, 1H, H₂), 7,87 - 7,84 (t, 1H, H₅), 7,61 (dd, 1H, H₉, $J = 7,9, 1,5$ Hz), 7,57 (td, 1H, H₈, $J = 7,6, 1,5$ Hz), 7,51 - 7,43 (m, 8H, H_{4,7,10,12,14,15,17,19}), 7,16 - 7,10 (m, 4H, H_{11,13,16,18}), 7,08 (dd, 1H, H₆, $J = 8,0, 1,4$ Hz), 3,89 (s, CH₃). RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (atribuição): 138,37 (C₂), 137,30 (C₂₀), 134,25 - 128,65 (C_{5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,21,23}), 127,91 (C₄), 123,89 (C₆), 77,63 (C₂₄), 36,34 (CH₃). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{CTZ}(\text{CH}_3)]^+ = 359,1314$ (359,1310).

3.4.1.2 Síntese do ligante iodeto de 1-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(imidazol-1-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]etanona dihidratado (**L2**)

A uma solução contendo cetoconazol (**KTZ**) (1,88 mmol; 1g) em 100 mL de acetonitrila destilada foram adicionados 234 μ L de iodometano (3,77 mmol). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente. Observou-se que, com aproximadamente 24h de reação, a solução tornou-se levemente bege. Após 48h, o solvente da mistura reacional foi evaporado. Observou-se, durante a evaporação do solvente, a formação de um sólido bege nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido bege cristalino, 1,13 g. Rendimento: 89,5%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 19,42$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{Cl}_2\text{IN}_4\text{O}_6$: exp. (calc.) C 45,71 (45,68); H 4,97 (3,85); N 7,90 (8,30). IR (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$

1621; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1508. RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 9,13 (s, 1H, H₂), 7,75 (dd, 1H, $J = 5,2, 2,1$ Hz, H₁₁), 7,69 (s, 1H, H₈), 7,68 - 7,63 (m, 2H, H_{5,9}), 7,56 (dt, 1H, $J = 8,5, 2,8$ Hz, H₄), 6,86 (dd, 4H, $J = 74,6, 9,1$ Hz, H_{21,22,23,24}), 4,84 - 4,75 (m, 1H, H₆), 4,40 - 4,36 (m, 1H, H₁₆), 3,93 - 3,76 (m, 2H, H_{15,18}), 3,71 (s, 3H, CH₃), 3,58 - 3,50 (m, 4H, H_{15,18,27,31}), 2,99 (dt, $J = 33,8, 5,0$ Hz, 2H, H_{28,30}), 2,05 (d, $J = 15,3$ Hz, 3H, H₃₃). RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (atribuição): 168,78 (C₂), 168,20 (C₃₂), 158,56 (C₄), 152,01 (C₂₀), 145,62 (C₂₅), 138,11 - 122,77 (C_{5,7,8,9,10,11,12}), 117,90 - 115,10 (C_{21,22,23,24}), 106,51 (C₁₃), 74,56 - 66,23 (C_{15,16,18}), 51,94 - 45,36 (C_{6,28,29,30,31}), 35,66 (CH₃), 21,02 (C₃₃). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): [KTZ(CH₃)]⁺ = 545,1726 (545,1693).

3.4.2 Complexos de Ag(I)

3.4.2.1 [Ag(L1)(I)].H₂O (1)

Em um balão de três bocas contendo L1 (1,03 mmol; 0,5 g) e Ag₂O (1,03 mmol; 0,24 g) foram adicionados 25 mL de diclorometano destilado. O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi evaporado e observou-se a formação de um sólido bege nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido bege: 0,41g. Rendimento: 66,5%. Condutividade molar (DMSO, Scm²mol⁻¹): $\Lambda_M = 8,45$. Análise Elementar (%) para C₂₃H₂₁AgClIN₂O: exp. (calc.) C 45,16 (45,38); H 3,46 (2,81); N 4,58 (4,29). IV (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1568; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1444. RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,53 (s, 1H, H₅), 7,38 - 6,92 (m, 16H, H_{aromáticos}), 3,34 (s, 3H, CH₃). RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (atribuição): 140,58 (C₂), 139,58 (C₂₀), 134,74 - 127,97 (C_{5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,21,23}), 123,48 (C₄), 121,13 (C₆), 76,57 (C₂₄), 54,91 (CH₃). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): [CTZ(CH₃)]⁺ = 359,1315 (359,1310).

3.4.2.2 [Ag(L1)₂].4CH₂Cl₂ (2)

Em um balão de três bocas contendo L1 (0,46 mmol; 0,22 g) e Ag₂O (0,23 mmol; 0,05 g) foram adicionados 25 mL de diclorometano destilado. O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente

esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi evaporada e observou-se a formação de um sólido bege nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido bege: 0,11g. Rendimento: 49%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 14,60$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{50}\text{H}_{46}\text{AgCl}_{10}\text{IN}_4$: exp. (calc.) C 46,47 (46,86); H 3,59 (3,11); N 4,33 (4,61). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1444. RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,53 (s, 1H, H_5), 7,47 - 6,91 (m, 16H, $\text{H}_{\text{aromáticos}}$), 3,30 (s, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm (atribuição): 140,59 (C_2), 139,59 (C_{20}), 134,75 - 127,30 ($\text{C}_{5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,21,23}$), 127,97 (C_4), 121,12 (C_6), 76,57 (C_{24}), 54,91 (CH_3). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}-\text{I}]^+ = 825,1513$ (825,1681), $[\text{CTZ}(\text{CH}_3)]^+ = 359,1312$ (359,1310).

3.4.2.3 $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2]\text{NO}_3$ (3)

A uma solução contendo **CTZ** (0,36 mmol; 0,13 g) em 10 mL de metanol foram adicionados 10 mL de uma solução etanólica de AgNO_3 (0,18 mmol; 0,03 g). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após 24h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi evaporado e o sólido obtido foi lavado com éter dietílico e seco a vácuo. Sólido branco: 0, 11g. Rendimento: 71,5%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 32,51$. Análise elementar (%) para $\text{C}_{44}\text{H}_{34}\text{AgCl}_2\text{N}_5\text{O}_3$: exp. (calc.) C 62,12 (61,48); H 3,77 (3,99); N 8,13 (8,15). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1444, $\nu(\text{NO}_3)$ 1334. RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,88 (s, 1H, H_2), 7,59 - 7,44 (m, 9H, $\text{H}_{7,8,9,10,12,14,15,17,19}$), 7,20 (s, 1H, H_5), 7,09 (d, $J = 7,9$ Hz, 4H, $\text{H}_{11,13,16,18}$), 6,96 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,6}$). RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 140,58 (C_2), 139,80 - 134,53 ($\text{C}_{20,21,22,23}$), 134,53 - 128,38 ($\text{C}_{5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19}$), 127,70 (C_4), 122,21 (C_6), 75,31 (C_{24}). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}-\text{NO}_3]^+ = 797,0739$ (797,1208), $[\text{CTZ}-\text{imidazol}]^+ = 277,0536$ (277,24).

3.4.2.4 $[\text{Ag}(\text{L2})(\text{I})]$ (4)

Em um balão de três bocas contendo **L2** (0,74 mmol; 0,5 g) e Ag_2O (0,74 mmol; 0,17 g) foram adicionados 25 mL de diclorometano destilado. O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi

evaporado e observou-se a formação de um sólido bege nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido bege: 0,36 g. Rendimento: 63%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 10,22$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{AgCl}_2\text{IN}_4\text{O}_4$: exp. (calc.) C 41,56 (41,84); H 3,87 (3,92); N 7,18 (7,65). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1621; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1508. RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,57 - 7,34 (m, 5H, $\text{H}_{4,5,8,9,11}$), 6,91 - 6,75 (dd, 4H, $J = 72,9, 8,8$ Hz, $\text{H}_{21,22,23,24}$), 4,66 (s, 1H, H_6), 4,37 (s, 1H, H_{16}), 3,84 - 3,64 (m, 2H, $\text{H}_{15,18}$), 3,62 (s, 3H, CH_3), 3,55 - 3,45 (m, 4H, $\text{H}_{15,18,27,31}$), 2,99 (dt, $J = 33,8, 5,0$ Hz, 2H, $\text{H}_{28,30}$), 2,03 (s, 3H, H_{33}). RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (atribuição): 168,21 (C_{32}), 152,10 (C_{20}), 145,51 (C_{25}), 134,97 - 122,14 ($\text{C}_{2,4,5,7,8,9,10,11,12}$), 117,92 - 114,86 ($\text{C}_{21,22,23,24}$), 107,60 (C_{13}), 74,60 - 66,46 ($\text{C}_{15,16,18}$), 54,40 - 45,62 ($\text{C}_{6,28,29,30,31}$), 37,86 (CH_3), 21,22 (C_{33}). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{KTZ}(\text{CH}_3)+2\text{H}]^+ = 547,1091$ (547,1879).

3.4.2.5 $[\text{Ag}(\text{L2})_2] \cdot 2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5)

Em um balão de três bocas contendo **L2** (0,44 mmol; 0,3 g) e Ag_2O (0,22 mmol; 0,052 mg) foram adicionados 25 mL de diclorometano destilado e o sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi evaporado e observou-se a formação de um sólido bege nas paredes do balão, o qual foi seco a vácuo. Sólido bege: 0,15g. Rendimento: 53%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 27,99$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{56}\text{H}_{64}\text{AgCl}_8\text{IN}_8\text{O}_8$: exp. (calc.) C 44,97 (44,32); H 4,31 (4,29); N 7,49 (8,14). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1624; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1508. RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,74 - 7,53 (m, 5H, $\text{H}_{4,5,8,9,11}$), 6,93 - 6,74 (dd, 4H, $J = 15,7, 9,0$ Hz, $\text{H}_{21,22,23,24}$), 4,78 (m, 1H, H_6), 4,38 (s, 1H, H_{16}), 3,89 - 3,67 (m, 2H, $\text{H}_{15,18}$), 3,64 (s, 3H, CH_3), 3,57 - 3,45 (m, 4H, $\text{H}_{15,18,27,31}$), 2,96 (m, 2H, $\text{H}_{28,30}$), 2,03 (s, 3H, H_{33}). RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ ppm (atribuição): 168,20 (C_{32}), 152,10 (C_{20}), 145,50 (C_{25}), 138,10 - 122,13 ($\text{C}_{2,4,5,7,8,9,10,11,12}$), 117,96 - 114,82 ($\text{C}_{21,22,23,24}$), 107,59 (C_{13}), 74,64 - 66,46 ($\text{C}_{15,16,18}$), 54,50 - 45,65 ($\text{C}_{6,28,29,30,31}$), 37,90 (CH_3), 21,21 (C_{33}). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{KTZ}(\text{CH}_3)+2\text{H}]^+ = 547,1182$ (547,1879).

3.4.2.6 [Ag(KTZ)₂]NO₃ (6)

A uma solução contendo **KTZ** (0,2 mmol; 0,1 g) em 20 mL de metanol foram adicionados 10 mL de uma solução etanólica de AgNO₃ (0,1 mmol; 0,016 g). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após 24h, a mistura reacional foi filtrada com celite. O sobrenadante foi evaporado e o sólido obtido foi lavado com água destilada e éter dietílico e seco a vácuo. Sólido branco: 0, 11g. Rendimento: 71,5%. Condutividade molar (DMSO, Scm²mol⁻¹): $\Lambda_M = 31,80$. Análise Elementar (%) para C₅₂H₅₆AgCl₄N₉O₁₁: exp. (calc.) C 50,56 (50,66); H 5,09 (4,58); N 10,05 (10,23). IV (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1634; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1584; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1510, $\nu(\text{NO}_3)$ 1337. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,89 (s, 1H, H₂), 7,71 (d, 1H, *J* = 2,1 Hz, H₁₁), 7,61 (d, 1H, *J* = 8,5 Hz, H₈), 7,49 (dd, 1H, *J* = 8,5, 2,1 Hz, H₉), 7,27 (s, 1H, H₅), 7,01 (s, 1H, H₄), 6,84 (m, 4H, H_{21,22,23,24}), 4,67 (m, 1H, H₆), 4,36 (m, 1H, H₁₆), 3,89 (m, 2H, H₁₈), 3,60 (m, 4H, H_{15,18,27,31}), 2,93 (dt, 2H, *J* = 36,2, 5,0 Hz, H_{28,30}), 2,02 (s, 3H, H₃₃). RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm (atribuição): 168,20 (C₃₂), 152,02 (C₄), 145,52 (C₂₀), 140,49 (C₂₅), 134,82 (C₂), 134,71 - 122,07 (C_{5,7,8,9,10,11,12}), 117,85 - 115,13 (C_{21,22,23,24}), 107,39 (C₁₃), 74,61 - 66,54 (C_{15,16,18}), 50,95 - 45,56 (C_{6,28,29,30,31}), 21,20 (C₃₃). ESI-MS (*m/z*) exp. (calc.): [M+H-NO₃]⁺ = 1171,1921 (1170,2075), [KTZ+H]⁺ = 531,1160 (531,1566).

3.4.3 Complexos de Au(I)

Para a síntese dos complexos de ouro(I), foi sintetizado o precursor cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) (AuClTHT), de acordo com metodologia já reportada na literatura (USON, *et al.*, 1989). Este composto foi caracterizado por espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C e foram confirmadas sua obtenção e pureza.

3.4.3.1 [Au(L1)(Cl)].2CH₂Cl₂ (7)

Em um balão de três bocas contendo **L1** (0,42 mmol; 0,203 g) e Ag₂O (0,19 mmol; 0,097 g) foram adicionados 10 mL de diclorometano destilado. O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite e o sobrenadante foi adicionado a uma solução de diclorometano contendo AuClTHT (0,42 mmol; 0,134 g) e

observou-se a formação imediata de um sólido na solução. Após 1h e meia, a mistura reacional foi filtrada com celite, o sobrenadante foi reduzido, a ele foi acrescentado éter etílico e observou-se a formação de um precipitado. O sólido foi lavado com éter etílico e seco a vácuo. Sólido branco: 0,062 g. Rendimento: 25,56%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 2,23$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{AuCl}_6\text{N}_2$: exp. (calc.) C 39,73 (39,45); H 2,72 (3,04); N 3,60 (3,68). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1566; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1444. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,45 (s, 1H, H_5), 7,43 - 6,94 (m, 16H, $\text{H}_{\text{aromáticos}}$), 3,86 (s, 3H, CH_3). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 591,04895$ (591,0696).

3.4.3.2 $[\text{Au}(\text{CTZ})(\text{Cl})]$ (8)

A uma solução contendo **CTZ** (0,19 mmol; 0,066 g) em 10 mL de diclorometano foram adicionados 5 mL de uma solução de mesmo solvente de AuClTHT (0,19 mmol; 0,061 g). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após 24h, o sobrenadante foi reduzido e a ele foi acrescentado éter etílico e observou-se a formação de um precipitado. O sólido foi lavado com éter etílico e seco a vácuo. Sólido branco: 0,070g. Rendimento: 64,1%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 4,74$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{AuCl}_2\text{N}_2$: exp. (calc.) C 45,40 (45,85); H 3,09 (2,97); N 4,63 (4,86). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1597; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1493. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,76 (s, 1H, H_2), 7,43 - 7,37 (m, 9H, $\text{H}_{7,8,9,10,12,14,15,17,19}$), 7,32 (s, 1H, H_5), 7,14 (d, $J = 7,4$ Hz, 4H, $\text{H}_{11,13,16,18}$), 7,04 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, $\text{H}_{4,6}$). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}]^+ = 576,07$ (576,0434).

3.4.3.3 $[\text{Au}(\text{L2})(\text{Cl})]$ (9)

Em um balão de três bocas contendo **L2** (0,34 mmol; 0,229 g) e Ag_2O (0,34 mmol; 0,0797 g) foram adicionados 25 mL de diclorometano destilado. O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após alguns minutos de reação, observou-se que a formação de um sólido cinza escuro nas paredes do balão e o sobrenadante tornou-se levemente esbranquiçado. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite e o sobrenadante foi adicionado a uma solução de diclorometano contendo AuClTHT (0,34 mmol; 0,109 g) e observou-se a formação imediata de um sólido na solução. Após 4h, a mistura reacional foi filtrada com celite, o sobrenadante foi reduzido, a ele foi acrescentado éter etílico e observou-se a formação de um precipitado. O sólido foi lavado com éter etílico e seco a vácuo. Sólido

branco: 0,035 g. Rendimento: 13,35%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 3,1$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{AuCl}_3\text{N}_4\text{O}_4$: exp. (calc.) C 41,07 (41,69); H 3,61 (3,89); N 6,82 (7,20). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1633; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1585; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1510. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 7,54 - 7,46 (m, 5H, $\text{H}_{4,5,8,9,11}$), 7,24 - 7,22 (dd, 4H, $J = 8,4, 2,1$ Hz, $\text{H}_{21,22,23,24}$), 6,88 (s, 1H, H_6), 6,81 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, H_{16}), 4,82 - 4,64 (m, 2H, $\text{H}_{15,18}$), 3,91 (s, 3H, CH_3), 3,83 - 3,74 (m, 4H, $\text{H}_{15,18,27,31}$), 3,69 (s, 2H, $\text{H}_{28,30}$), 2,15 (s, 3H, H_{33}). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}-\text{H}]^+ = 777,10919$ (777,1076).

3.4.3.4 $[\text{Au}(\text{KTZ})(\text{Cl})]$ (10)

A uma solução contendo **KTZ** (0,29 mmol; 0,154 g) em 20 mL de diclorometano foram adicionados 10 mL de uma solução de mesmo solvente de AuClTHT (0,29 mmol; 0,093 g). O sistema foi deixado sob agitação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após 24h, o sobrenadante foi reduzido e a ele foi acrescentado éter etílico e observou-se a formação de um precipitado. O sólido foi lavado com éter etílico e seco a vácuo. Sólido branco: 0,056g. Rendimento: 25,19%. Condutividade molar (DMSO, $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$): $\Lambda_M = 5,72$. Análise Elementar (%) para $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{AuCl}_3\text{N}_4\text{O}_4$: exp. (calc.) C 41,28 (40,88); H 2,75 (3,69); N 7,34 (7,33). IV (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1633; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1585; $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1510, $\nu(\text{Au}-\text{N})$ 507. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm (multiplicidade, integral, atribuição): 8,36 (s, 1H, H_2), 7,75 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H_{11}), 7,61 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_8), 7,49 (dd, 1H, $J = 8,5, 2,1$ Hz, H_9), 7,22 (s, 1H, H_5), 6,96 (s, 1H, H_4), 6,72 (m, 4H, $\text{H}_{21,22,23,24}$), 4,53 (m, 1H, H_6), 4,35 (m, 1H, H_{16}), 3,86 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, H_{18}), 3,55 (m, 4H, $\text{H}_{15,18,27,31}$), 2,99 (d, 2H, $J = 27,2$ Hz, $\text{H}_{28,30}$), 2,03 (s, 3H, H_{33}). ESI-MS (m/z) exp. (calc.): $[\text{M}]^+ = 763,09210$ (763,092).

3.5 ESTUDOS DE CITOTOXICIDADE

Os testes biológicos foram realizados em parceria com a Profa. Dra. Heveline Silva, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.5.1 Estudos realizados com os ligantes e os complexos de $\text{Ag}(\text{I})$

Para a determinação da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (CI_{50}), foram utilizadas as linhagens B16-F1, melanoma murino; CT26-WT, carcinoma colorretal de camundongo e BHK-21, célula normal de rim de hamster. As células foram distribuídas em

meio de cultura RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10% v/v, utilizando 1×10^3 células/poço/100 μL em placas de 96 poços e foram devidamente incubadas a 37 °C em atmosfera umedecida a 5% de CO_2 por 24 horas para ideal aderência.

Os ligantes e complexos foram avaliados em concentrações decrescentes (100 a 0,1 μM) em quadruplicatas e em dois experimentos independentes. Para controle negativo foi utilizado meio de cultura suplementado com 10% de FBS. Após a exposição das células por 72h aos compostos estudados, elas foram incubadas com MTT (5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{poço}$) durante 4 horas. Após este período, todo o líquido sobrenadante foi removido por aspiração e foram adicionados 100 μL de DMSO/poço, sendo a viabilidade celular (proporcional à concentração dos sais de formazan - produto da redução mitocondrial do MTT nas células viáveis) determinada pela medida de absorbância a 570 nm num espectrofotômetro de microplacas (MOSMANN, 1983).

Os dados obtidos através dos ensaios de citotoxicidade foram normalizados considerando-se a viabilidade celular do controle negativo como 100%. Os valores de CI_{50} foram calculados usando regressão não linear sobre os valores de concentração em escala logarítmica *versus* a porcentagem de viabilidade celular em cada concentração utilizando o software GraphPadPrism 8.

3.5.2 Estudos realizados com os complexos de Au(I) e seus precursores

Para determinação da viabilidade celular foram utilizadas as linhagens: MDA-MB-231, adenocarcinoma metastático de mama humana; 4T1 células de carcinoma mamário murino; MCF-10 células normais de glândulas mamárias. As células foram distribuídas em meio de cultura RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10% v/v, sendo $1,5 \times 10^3$ células/poço/100 μL em placas com 96 poços que foram devidamente incubadas a 37 °C em atmosfera umedecida a 5% de CO_2 por 24 horas para total aderência.

Nos poços da placa contendo as células já aderidas, foram distribuídos 100 μL de concentrações decrescentes (100, 50, 25, 12,5 e 6,25 mg/L) da substância a ser testada, em quadruplicatas. As soluções estoque dos compostos foram preparadas em DMSO e diluídas em meio de cultura com no máximo 1% v/v de DMSO. Para controle negativo foi utilizado 100 μL de meio de cultura suplementado com 10% de FBS. Como padrão foi utilizado cisplatina.

Após a exposição aos compostos de investigação por 72h, as células foram incubadas com MTT (5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}/\text{poço}$) durante 4 horas. A seguir, todo o líquido sobrenadante foi removido por aspiração e foram adicionados 100 μL de DMSO/poço, sendo a viabilidade celular (proporcional à concentração dos sais de formazan – produto da redução mitocondrial

do MTT nas células viáveis) determinada pela medida de absorvância a 570 nm em espectrofotômetro de microplacas (MOSMANN, 1983). Os dados obtidos através dos ensaios citotóxicos foram normalizados considerando-se a viabilidade celular do controle negativo como 100% utilizando o software GraphPad Prism 8.0.

3.6 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS

Os estudos de interação com o DNA por eletroforese em gel de agarose e os estudos de interação com BSA por titulações espectrofotométricas foram realizados em parceria com a mestra Ana Luiza de Andrade Querino, do Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas (SIBLab), chefiado pela Profa. Dra. Heveline Silva, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

3.6.1 Estudos de interação com o DNA através de titulação espectrofotométrica

Os experimentos de titulação por absorção foram realizados por meio de adições consecutivas da solução de DNA *Calf thymus* (ct-DNA) (1,38 mM, em Tris·HCl 5 mM, pH 7,54 e tampão NaCl 50 mM) à uma cubeta contendo a solução do composto de interesse (80µM) em DMSO, registrando-se os espectros UV/vis. após cada adição. A absorção de DNA foi subtraída adicionando-se as mesmas quantidades de ct-DNA à cubeta do branco. As constantes de interação (K_b) foram calculadas a partir dos dados espectrofotométricos obtidos, utilizando-se a equação de Benesi-Hildebrand (**Equação 1**) (PEREIRA *et al.*, 2020),

$$\frac{[DNA]}{\varepsilon_a - \varepsilon_f} = \frac{[DNA]}{\varepsilon_0 - \varepsilon_f} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_0 - \varepsilon_f)} \quad \text{(Equação 1)}$$

onde [DNA] é a concentração de DNA em pares de bases, ε_a é o coeficiente de extinção da banda de absorção observada na concentração dada de DNA (correspondente a $Abs/[composto]$), ε_f é o coeficiente de extinção do composto livre em solução e ε_b é o coeficiente de extinção do composto quando totalmente ligado ao DNA. Um gráfico de $[DNA]/[\varepsilon_a - \varepsilon_f]$ versus [DNA] foi obtido com o coeficiente angular igual a $1/[\varepsilon_a - \varepsilon_f]$ e o coeficiente linear igual a $1/K_b[\varepsilon_b - \varepsilon_f]$. K_b é a razão entre coeficiente angular e o coeficiente linear. Além disso, calcularam-se os valores das porcentagens de hipocromismo/hipercromismo ($(Abs_{Sinic} - Abs_{final})/(Abs_{Sinic}) \times 100$).

3.6.2 Estudos de viscosidade com o DNA

As medidas de viscosidade foram realizadas utilizando-se um viscosímetro Ostwald imerso em banho-maria, mantido a 25°C. A concentração de DNA no tampão Tris·HCl foi mantida constante em todas as amostras, porém a concentração dos compostos foi incrementada de 2 para 20 µM. O tempo de fluxo foi medido triplicata com um cronômetro digital e a média desses valores foi utilizada. Os dados foram apresentados como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ versus a razão [complexo]/[DNA], onde η e η_0 são a viscosidade específica do DNA na presença e na ausência do composto de interesse, respectivamente. Os valores de viscosidade específicos foram calculados utilizando-se $(t - t_b)/t_b$, onde t é o tempo de fluxo observado e t_b é o tempo de fluxo do tampão (NAVARRO *et al.*, 2009).

3.6.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose

Ensaio de mobilidade eletroforética foram realizados para investigar o efeito dos complexos de prata(I) na estrutura do DNA plasmidial. Resumidamente, após incubação de DNA plasmídico (100 ng) com os compostos testados durante 24 horas a 37°C, adicionou-se tampão de carga (0,01% azul de bromofenol, 50% glicerol) à mistura para extinguir a reação. As amostras foram carregadas em gel de agarose a 0,7% e submetidas à eletroforese em tampão TAE 1X a uma voltagem constante de 70 mV por 2h. Posteriormente, os géis foram corados em solução de brometo de etídio (2,5 µg mL⁻¹) por 15 min e registrados sob luz ultravioleta.

3.6.4 Estudos de interação com BSA por titulações espectrofotométricas

A solução de BSA foi preparada em tampão Tris-HCl 5 mM ajustando o pH para 7,4 e uma concentração final de 10 µM. Os compostos testados foram dissolvidos em DMSO e usados imediatamente, adicionando alíquotas das soluções estoque a BSA onde razão $r = [\text{complexo}]/[\text{BSA}] = 0 - 2$. A concentração de DMSO nunca excedeu 1% para garantir a integridade estrutural da proteína. A intensidade de fluorescência foi registrada após cada adição sucessiva da solução do composto e equilíbrio de 2 minutos.

A extinção de fluorescência pode ser analisada usando a equação de Stern-Volmer, onde I_0 e I são as intensidades de emissão em estado estacionário de BSA na ausência e na presença de quantidades crescentes do supressor (Q), respectivamente. K_{sv} é a constante de extinção de Stern-Volmer (**Equação 2**) (LEHRER, 1971).

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (\text{Equação 2})$$

Para determinar a extensão da interação entre a albumina e os ligantes de ligação, usamos a equação

$$\log \frac{I_0 - I}{I} = \log K_b + n \log [Q] \quad (\text{Equação 3})$$

que é a equação de Stern-Volmer modificada (**Equação 3**), onde K_b é a constante de ligação a um sítio n é o número de sítios de ligação.

3.6.5 Estudos de interação com GSH por titulações espectrofotométricas

Os experimentos de titulação por absorção foram realizados por meio de adições consecutivas da solução de glutatona reduzida (GSH) (10 mM) à uma cubeta contendo a solução dos compostos de Au(I) de interesse (80 μ M) em DMSO, registrando-se os espectros UV/vis. antes e após cada adição. A absorção da GSH foi subtraída adicionando-se as mesmas quantidades de GSH à cubeta do branco (Adaptado de BUTLER; HOEY, 1992). As constantes de interação (K_b) foram calculadas a partir dos dados espectrofotométricos obtidos, utilizando-se a equação de Benesi-Hildebrand (**Equação 1**) (PEREIRA *et al.*, 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

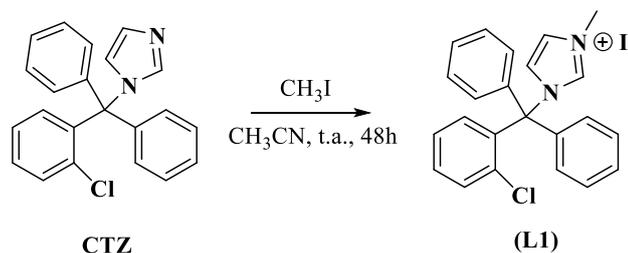
4.1 LIGANTES

Foram sintetizados dois sais imidazólicos derivados do CTZ (**L1**) e do KTZ (**L2**) e, a partir deles, foram obtidos os complexos metálicos de prata(I) e ouro(I), que serão discutidos ao longo deste trabalho.

4.1.1 Iodeto de 1-[(2-Clorofenil)(difenil)metil]-3-metil-imidazol hidratado (**L1**)

O ligante **L1**, um sólido amarelo e estável à temperatura ambiente, foi obtido a partir da reação com o CTZ e o iodeto de metila, em acetonitrila a temperatura ambiente, com rendimento de 85% (**Esquema 1**).

Esquema 1 - Síntese do ligante **L1**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Sobre os dados obtidos por meio da análise elementar dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) desse composto, observa-se que eles estão em concordância com aqueles que foram calculados (**Tabela 1**) para a fórmula molecular proposta. Em relação a condutimetria, os valores de condutividade molar encontrados foram comparados com dados da literatura no que se refere a proporção dos eletrólitos, em solventes diferentes (VELHO, 2006). Tais resultados, que se encontram na **Tabela 1**, corroboram a estrutura sugerida, confirmando a proposta de uma estrutura catiônica para o sal imidazólico.

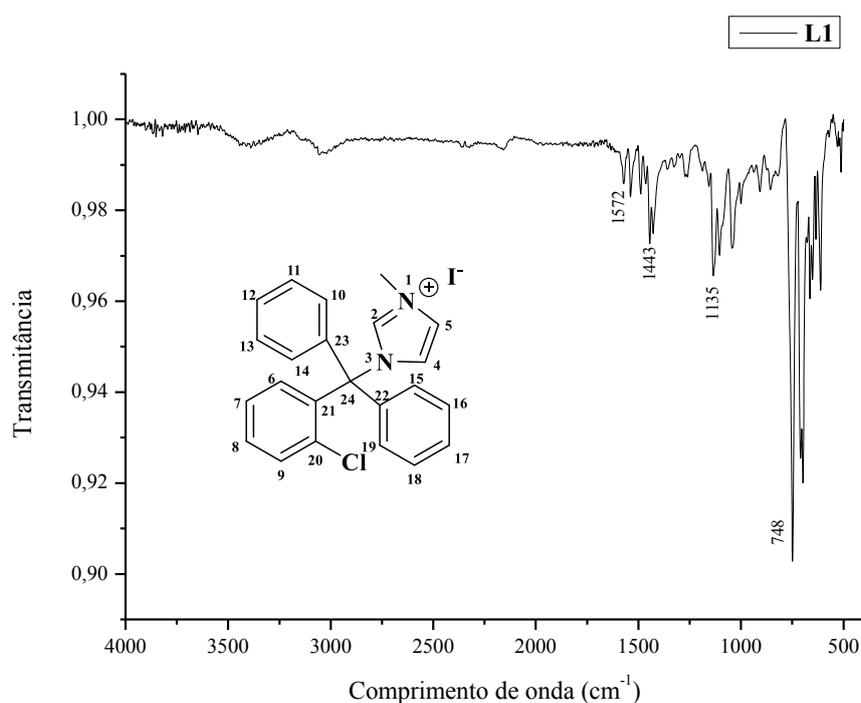
Tabela 1 - Dados analíticos dos ligantes L1 e CTZ.

Composto	Análise Elementar (%)			Condutividade molar
	%C (%C*)	%H (%H*)	%N (%N*)	Δ_M^{**}
CTZ	-	-	-	0,69
L1	54,68 (54,77)	3,96 (4,31)	5,55 (5,90)	25,99

*%experimental (%calculado) para a fórmula mínima $C_{23}H_{22}ClIN_2O$; ** $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

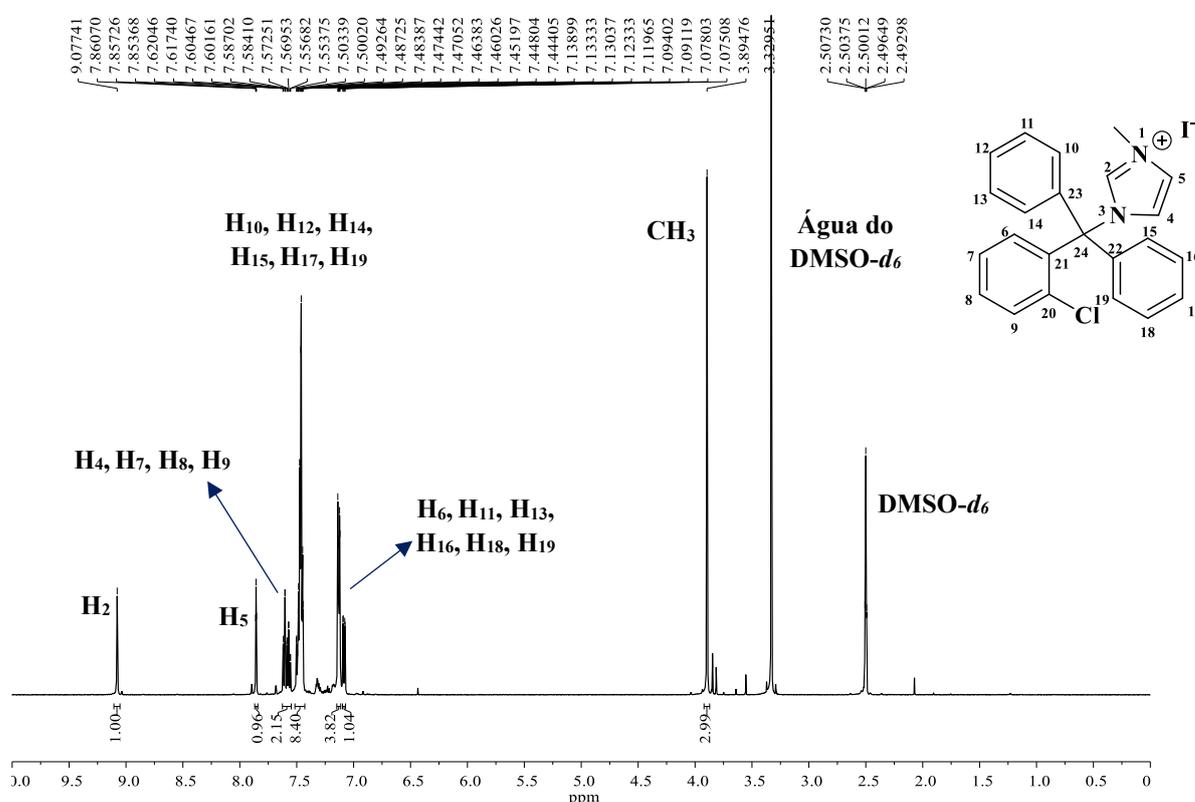
Em relação ao espectro de infravermelho do ligante (**Figura 17**) podemos observar a presença das bandas inerentes ao ligante de origem, no caso, uma banda de baixa intensidade em 1572 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação C=N e outra banda mais intensa em 1443 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação C=C, ambos presentes no anel imidazólico do composto. Tais atribuições foram baseadas em dados anteriormente descritos na literatura (NAVARRO *et al.*, 2000; AZEVEDO-FRANÇA *et al.*, 2021). Além disso, é possível observar uma banda intensa em 748 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C-Cl presente em um dos anéis aromáticos presentes na molécula (PAVIA *et al.* 2015).

Figura 17 - Espectro de IV do ligante L1.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já no espectro de RMN de ^1H obtido em $\text{DMSO-}d_6$ do ligante **L1**, podemos observar os sinais característicos do ligante de origem, o **CTZ** (ver **Apêndice A**), bem como algumas diferenças bastante significativas, tais como a presença de um simpleto em δ 3,89 ppm, correspondente aos hidrogênios do grupo metil ligado ao átomo de nitrogênio N_1 do anel imidazólico (**Figura 18**), juntamente com uma significativa variação (1,71 ppm) no deslocamento químico do hidrogênio H_2 do fármaco correspondente (MOHAMED *et al.*, 2020), possivelmente devido ao efeito no ambiente químico desse hidrogênio, provocado pela coordenação do átomo do grupo metil ao átomo de N do anel imidazólico, evidenciando-se a formação do produto desejado.

Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H ($\text{DMSO-}d_6$; 500 MHz) do ligante L1.

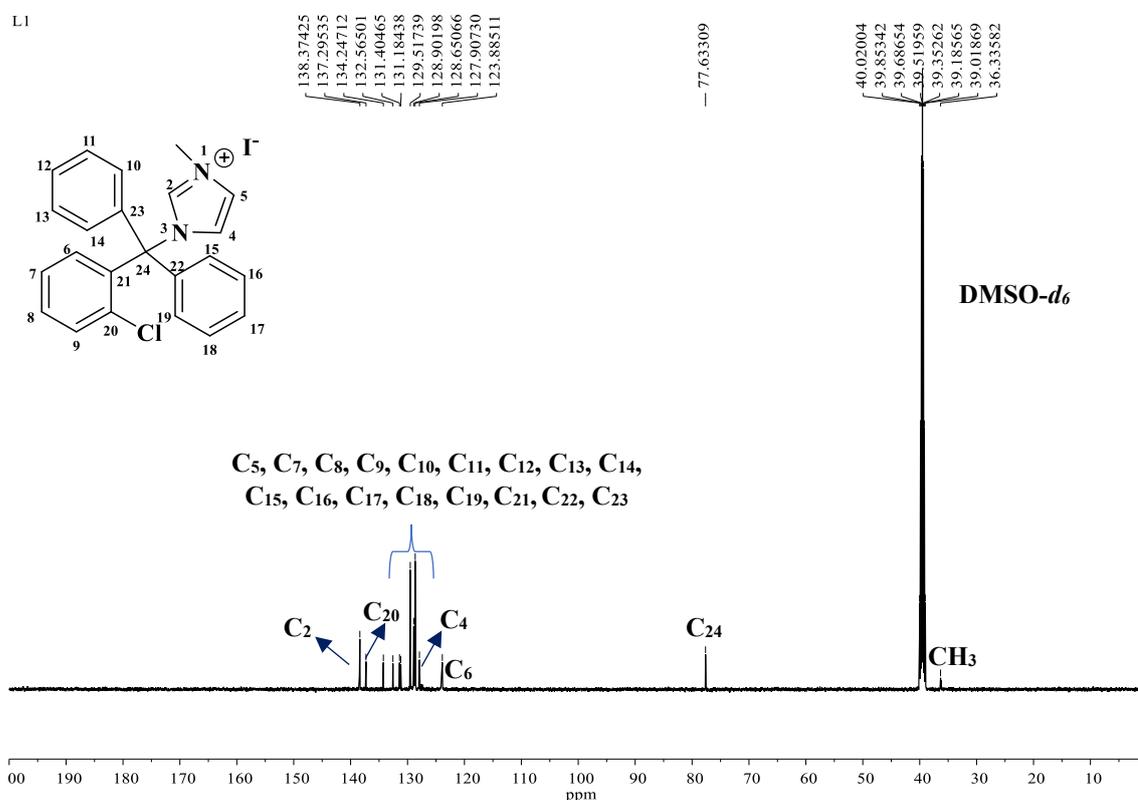


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Quanto ao espectro de RMN de ^{13}C do ligante **L1** (**Figura 19**) atribuíram-se os mesmos sinais de ressonância encontrados no espectro do **CTZ** (ver **Apêndice B**), porém, é possível observar a presença do sinal do carbono correspondente ao grupo metil em δ 36,34 ppm, bem como a variação do deslocamento químico do carbono C_2 igual a 0,1 ppm em relação ao composto de partida, possivelmente devido ao efeito causado no ambiente químico desse carbono, provocado pela coordenação do átomo do grupo metil ao átomo de N do anel

imidazólico (MOHAMED *et al.*, 2020). Já os outros carbonos da molécula tiveram variação de deslocamento mínimo $\leq 0,009$ ppm em relação ao ligante de origem.

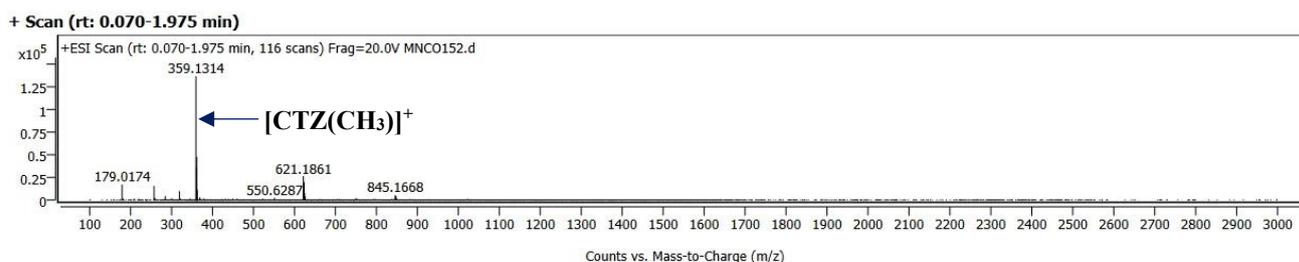
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 ; 125 MHz) do ligante **L1**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Foi também obtido o espectro de massas para o ligante **L1** (**Figura 20**), onde foi possível observar a presença do pico do íon molecular $[\text{M}-\text{I}]^+$ identificado em m/z 359,1314 (calc.: 359,1310; $\Delta(m/z) = 0,0004$) que corresponde ao fragmento $[\text{CTZ}(\text{CH}_3)]^+$, mais um indício de que houve a formação do composto de interesse.

Figura 20 - Espectro de massas do ligante **L1**.



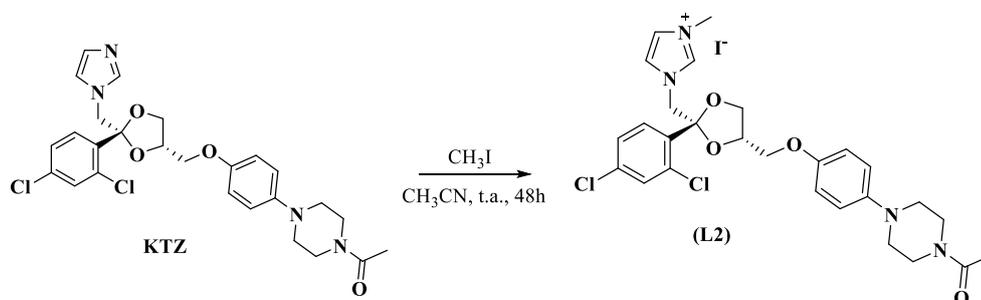
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Tendo devidamente caracterizado o ligante **L1**, procedeu-se às sínteses para a obtenção dos complexos de prata(I) e ouro(I) contendo ligantes NHC.

4.1.2 Iodeto de 1-[4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(imidazol-1-metil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazin-1-il]etanona dihidratado (**L2**)

A síntese do ligante **L2**, um sólido bege à temperatura ambiente, se deu a partir da reação entre o **KTZ** e o iodeto de metila, em acetonitrila a temperatura ambiente, com rendimento de 89,5% (**Esquema 2**).

Esquema 2 - Síntese do ligante L2.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Em relação aos dados obtidos por meio da análise elementar dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) desse composto, observa-se que eles estão em concordância com aqueles que foram calculados para a fórmula molecular proposta. Sobre a condutimetria, os valores de condutividade molar encontrados e comparados com dados da literatura, que se encontram na **Tabela 2**, corroboram a estrutura sugerida, confirmando para o sal imidazólico a proposta de uma estrutura catiônica (VELHO, 2006).

Tabela 2 - Dados analíticos dos ligantes L2 e KTZ.

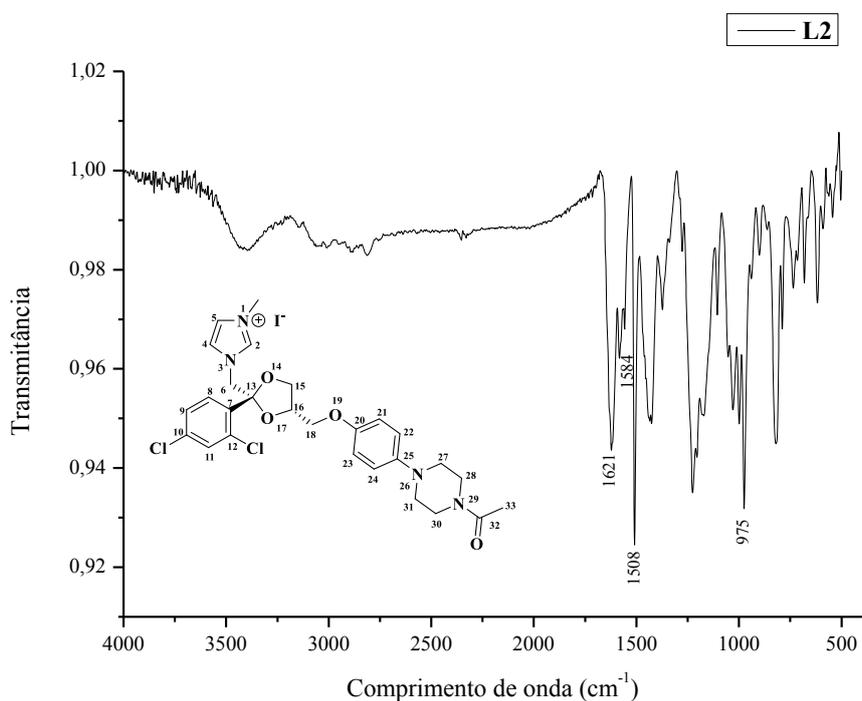
Composto	Análise Elementar (%)			Condutividade molar
	%C (%C*)	%H (%H*)	%N (%N*)	ΔM^{**}
KTZ	-	-	-	1,10
L2	45,71 (45,68)	4,97 (3,85)	7,90 (8,30)	19,42

*%experimental (%calculado); ** $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ para a fórmula mínima $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{Cl}_2\text{IN}_4\text{O}_6$.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

No espectro de infravermelho do ligante (**Figura 21**) podemos observar a presença das bandas inerentes ao ligante de origem, tais como, uma banda de absorção de média intensidade, referente ao estiramento da ligação C=O na região de 1621 cm^{-1} , além de bandas de média e alta intensidade, nas regiões de 1584 e 1508 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos das ligações C=N e C=C, respectivamente. Tais atribuições foram baseadas em dados anteriormente descritos na literatura (NAVARRO *et al.*, 2000; AZEVEDO-FRANÇA *et al.*, 2021).

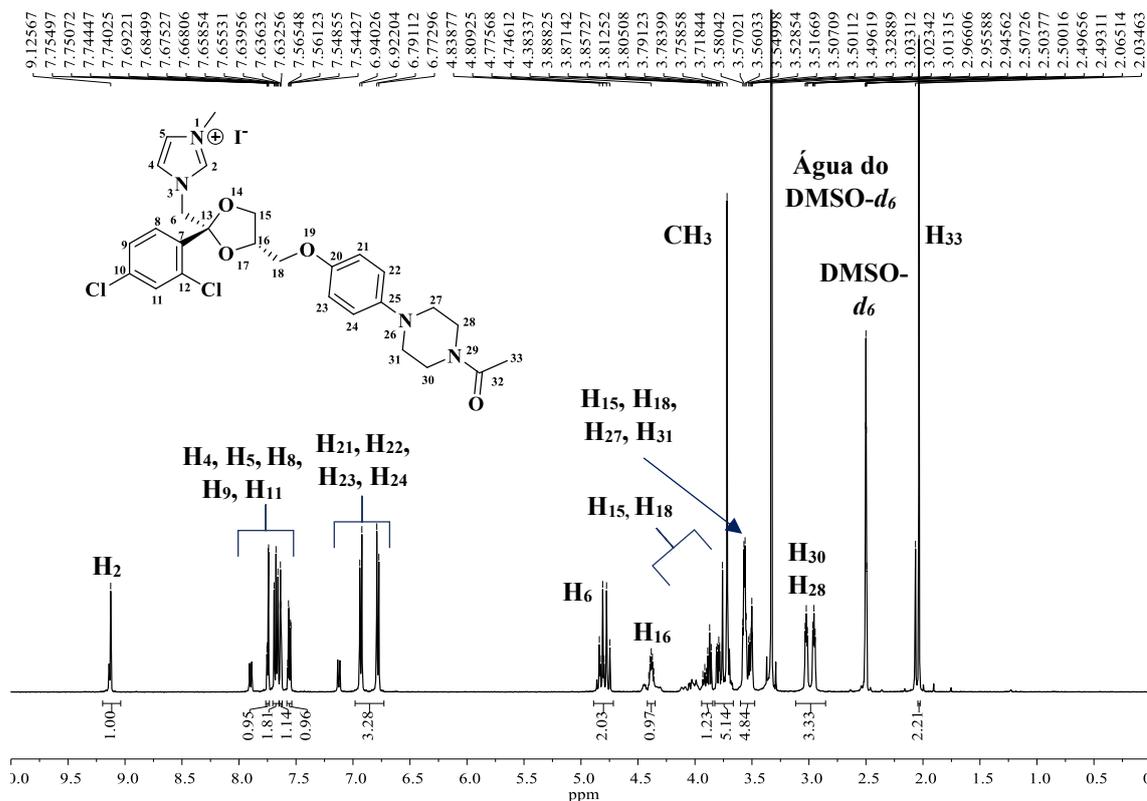
Figura 21 - Espectro de IV do ligante **L2**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já no espectro de RMN de ^1H obtido em $\text{DMSO-}d_6$ do ligante **L2**, podemos observar os sinais característicos do ligante de origem, o **KTZ** (ver **Apêndice B**), bem como algumas diferenças bastante significativas, tais como a presença de um simpleto em δ 3,72 ppm correspondente aos hidrogênios do grupo metil ligado ao átomo de nitrogênio N_1 do anel imidazólico (**Figura 22**). Além disso, pode observar um deslocamento químico ($\Delta\delta$) significativo de 1,55 ppm do hidrogênio H_2 do fármaco imidazólico correspondente, possivelmente devido ao efeito no ambiente químico desse hidrogênio, também provocado pela coordenação do átomo do grupo metil ao átomo de N do anel imidazólico, evidenciando-se a formação do produto desejado.

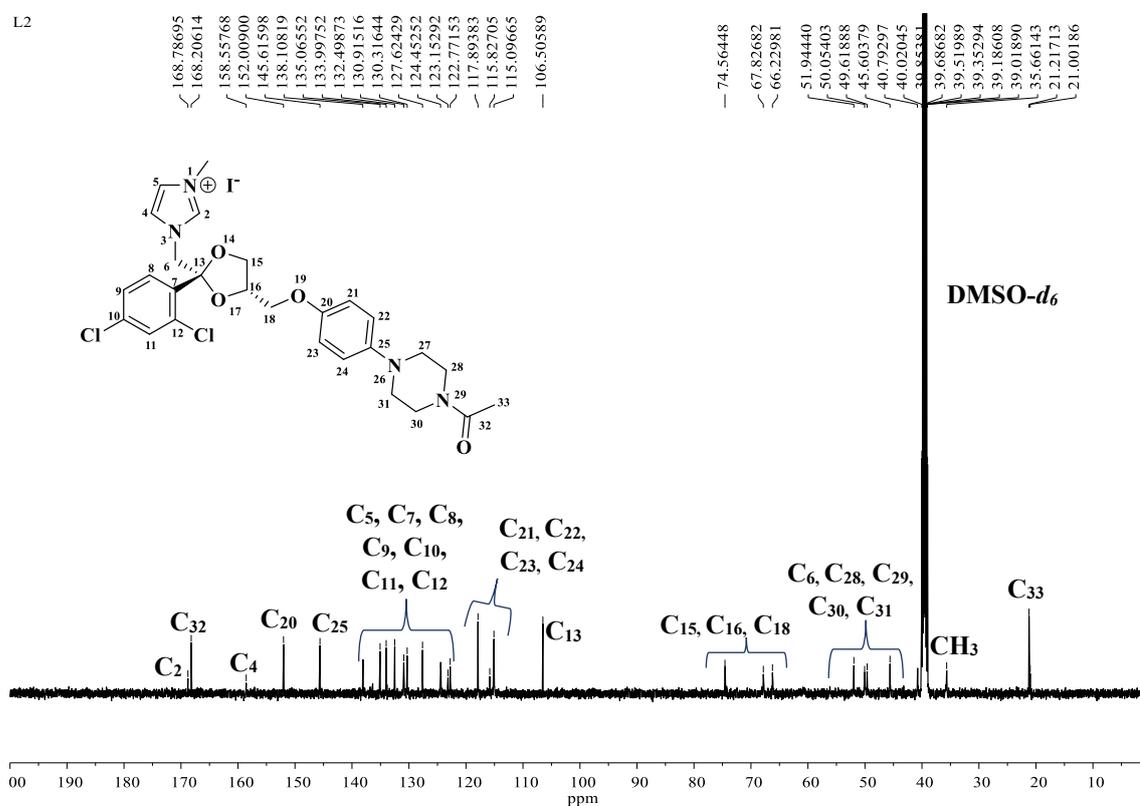
Figura 22 - Espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 ; 500 MHz) do ligante **L2**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Quanto ao espectro de RMN de ^{13}C do ligante **L2** (**Figura 23**) atribuíram-se os mesmos sinais de ressonância encontrados no espectro do **KTZ**, porém é possível observar a presença do sinal do carbono correspondente ao grupo metil em δ 35,66 ppm, bem como a variação do deslocamento químico do carbono C₂, de 0,4 ppm em relação ao composto de partida (**KTZ**), possivelmente devido ao efeito causado no ambiente químico desse carbono, também provocado pela coordenação do átomo do grupo metil ao átomo de N do anel imidazólico. Já os outros carbonos da molécula tiveram variação de deslocamento mínimo $\leq 0,009$ ppm em relação ao logante de origem.

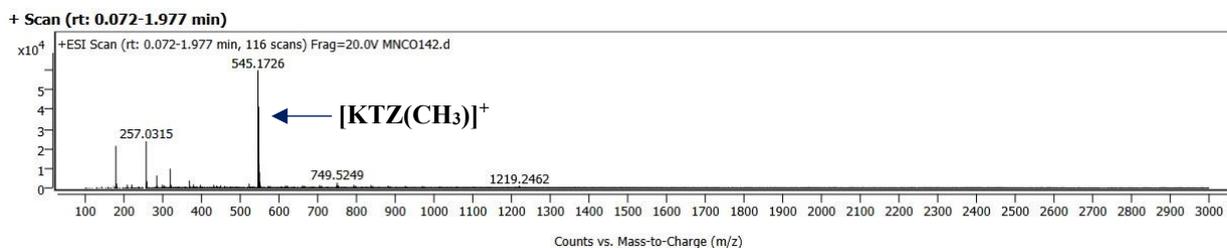
Figura 23 - Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 ; 125 MHz) do ligante **L2**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O espectro de massas do ligante **L2** (**Figura 24**) também foi obtido e foi possível observar nele a presença do pico do íon molecular $[\text{M-I}]^+$ identificado em m/z 545,1726 (calc.: 545,1693; $\Delta(m/z) = 0,0033$) que corresponde ao fragmento $[\text{KTZ}(\text{CH}_3)]^+$, mais um indício de que houve a formação do composto de interesse.

Figura 24 - Espectro de massas do ligante **L2**.



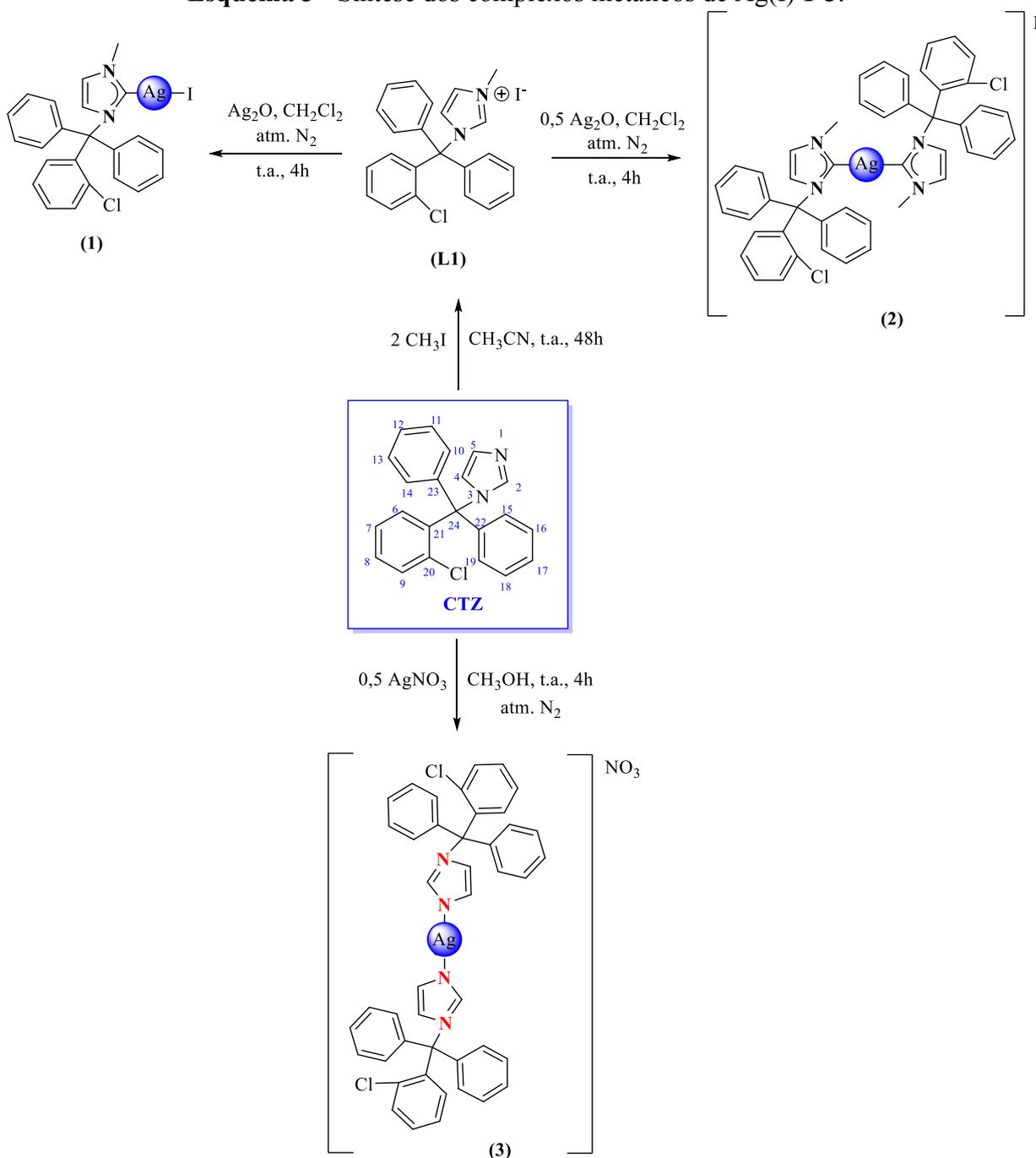
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Tendo o sal imidazólico **L2** previamente caracterizado, foram realizadas as sínteses para a obtenção dos complexos de prata(I) e ouro(I) com o ligante de interesse.

4.2 COMPLEXOS DE Ag(I)

Os compostos **1** e **2** foram obtidos por meio da reação entre o ligante **L1** e o óxido de prata(I), utilizando-se proporções estequiométricas diferentes para a obtenção do produto monossustituído (**1**) e do produto dissustituído (**2**). Já o composto **3** foi preparado através da reação de um excesso do ligante **CTZ** com o nitrato de prata(I) (**Esquema 3**). Todas as reações foram realizadas em atmosfera de nitrogênio, protegidas da luz e a temperatura ambiente. Os compostos foram então purificados e caracterizados. Foram obtidos sólidos beges, estáveis a temperatura ambiente, com rendimentos que variaram entre 49 e 71,5 %.

Esquema 3 - Síntese dos complexos metálicos de Ag(I) 1-3.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os resultados da análise elementar desses compostos mostram uma diferença $\leq 0,90\%$ entre os valores calculados e os encontrados, corroborando a fórmula molecular mínima sugerida (**Tabela 3**). Com base nesses dados, propôs-se que a estrutura molecular do composto **1** apresenta uma molécula do ligante NHC (**L1**) coordenada ao íon metálico, enquanto o complexo **2** apresenta duas moléculas desse ligante coordenadas ao íon Ag(I) . Além disso,

propõe-se que o composto **3** apresenta duas moléculas de **CTZ** coordenadas ao íon metálico. Em relação aos valores de condutividade molar, tais dados, quando comparados com a literatura, corroboram as estruturas sugeridas, confirmando que o composto **1** é neutro, com um ligante iodeto completando esfera de coordenação. Já para os complexos **2** e **3**, os resultados obtidos estão de acordo com os eletrólitos 1:1, indicando que o composto **2** possui duas moléculas do ligante **L1** formando uma estrutura linear, com o íon iodeto atuando como contra íon, enquanto o composto **3** apresenta duas moléculas de **CTZ** coordenadas ao centro metálico, apresentando como contra íon o íon nitrato (VELHO, 2006). Sugere-se, para todas as estruturas propostas, geometria linear.

Tabela 3 - Dados analíticos dos ligantes **L1** e **CTZ** e dos complexos metálicos **1-3**.

Composto	Análise Elementar (%)			Condutividade molar
	%C (%C*)	%H (%H*)	%N (%N*)	Λ_M^{**}
CTZ	-	-	-	0,69
L1	54,68 (54,77)	3,96 (4,31)	5,55 (5,90)	25,99
1	45,16 (45,38)	3,46 (2,81)	4,58 (4,29)	8,45
2	46,47 (46,86)	3,59 (3,11)	4,33 (4,61)	14,60
3	62,12 (61,48)	3,77 (3,99)	8,13 (8,15)	32,51

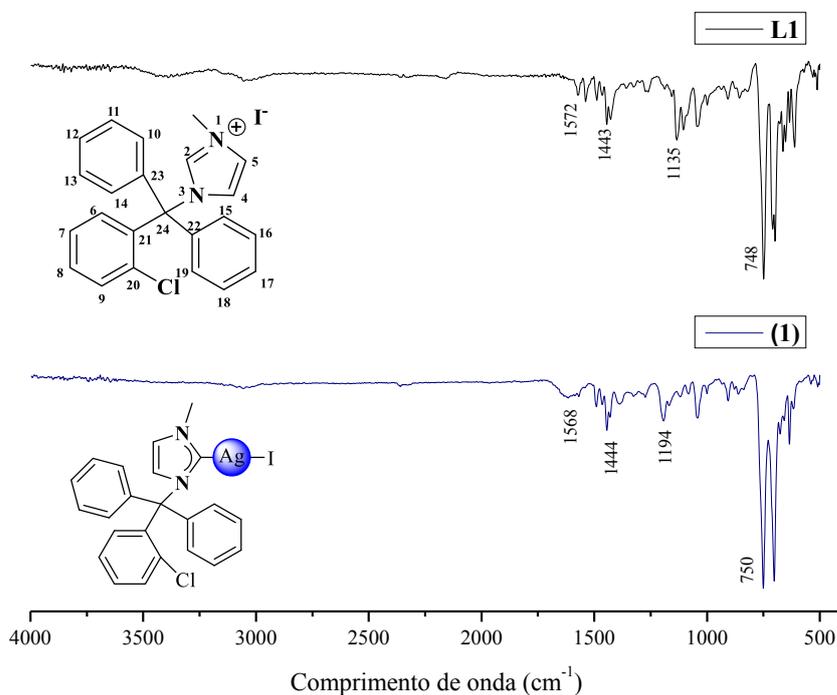
*%experimental (%calculado) para as fórmulas mínimas $C_{23}H_{21}AgClIN_2O$ (**1**), $C_{50}H_{46}AgCl_{10}IN_4$ (**2**), $C_{44}H_{34}AgCl_2N_5O_3$ (**3**); ** $ohm^{-1} cm^2 mol^{-1}$.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Todos os complexos de prata foram analisados por espectroscopia no infravermelho, utilizando o modo ATR para a realização de tais medidas.

Na **Figura 25**, encontra-se o espectro de infravermelho feito do complexo metálico **1** comparado com o seu ligante de origem (**L1**). Pela análise dos referidos espectros, observa-se a presença das bandas inerentes aos ligantes e também se nota um pequeno deslocamento daquelas que correspondem aos modos vibracionais de estiramento das ligações C=C e C=N, possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Ag(I), o que corrobora a formação deste complexo metálico.

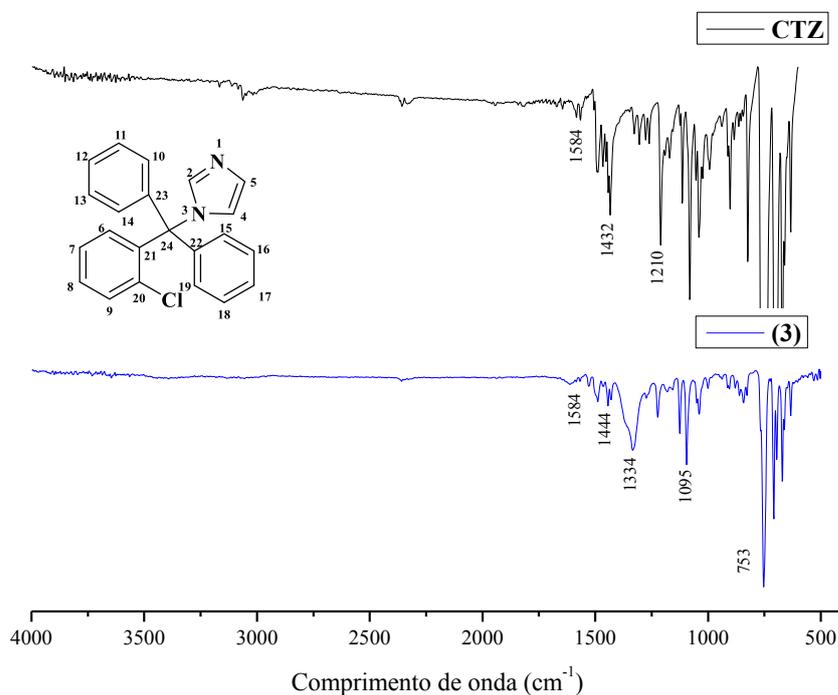
Figura 25 - Espectro de IV do complexo **1** em comparação com o ligante **L1**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Quanto ao espectro do composto **3** (**Figura 26**), derivado do sal nitrato de prata(I), além das bandas inerentes ao ligante, verifica-se uma banda de baixa intensidade na região de 1334 cm^{-1} referente ao íon nitrato (NO_3^-) evidenciando, assim, sua presença como contra íon no composto (NAKAMOTO, 2009). A mesma análise pode ser feita para o espectro obtido para o composto **2**, que se encontra no **Apêndice A**.

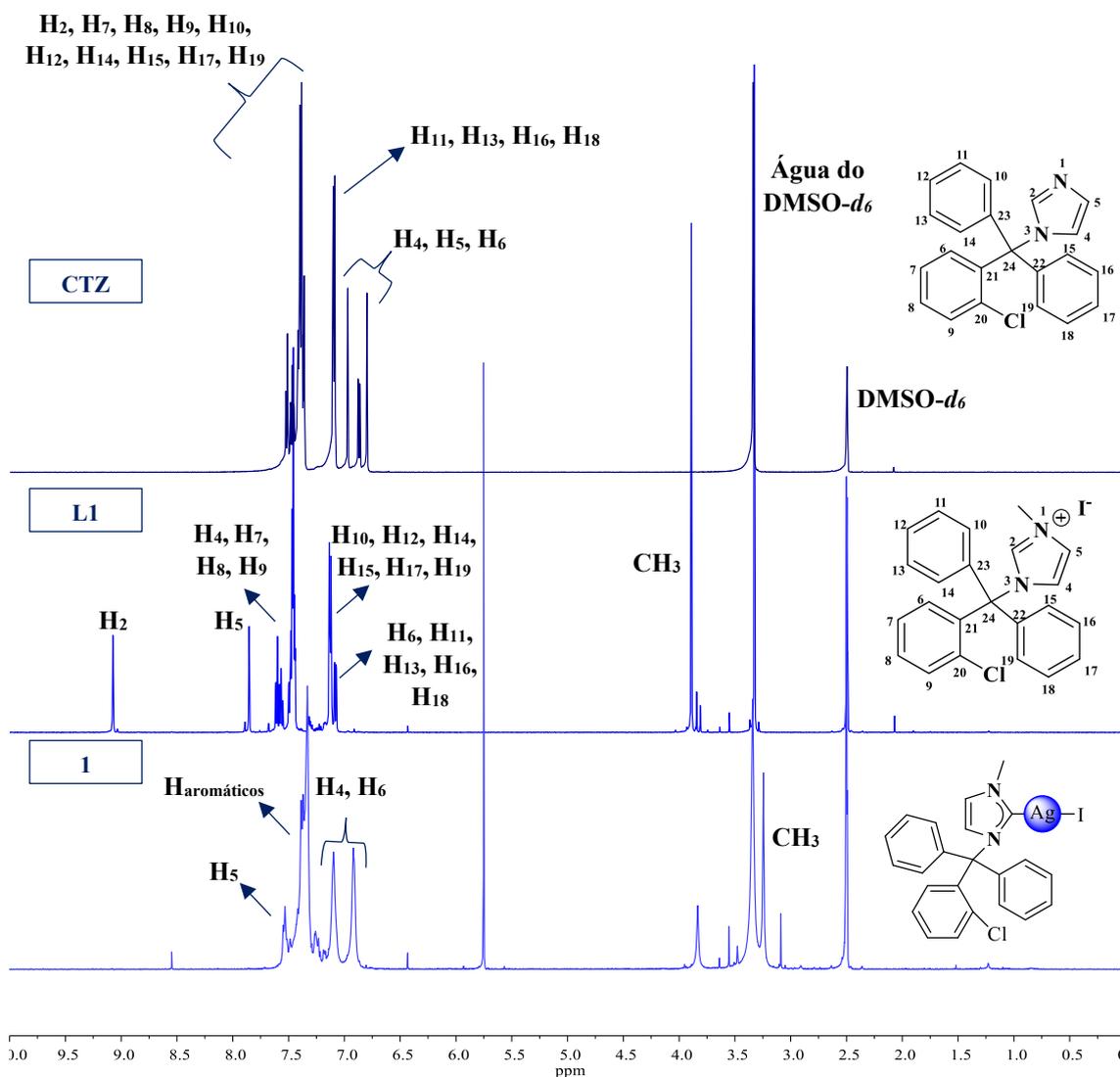
Figura 26 - Espectro de IV do complexo **3** em comparação com o ligante **CTZ**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Os espectros de RMN de ^1H dos complexos de prata(I) **1** e **2** foram obtidos em $\text{DMSO-}d_6$. Em ambos os espectros pode-se notar a presença dos sinais característicos do sal imidazólico e a ausência do hidrogênio H_2 proveniente do ligante (**L1**), devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon de Ag(I) (MOHAMED *et al.*, 2020). O desaparecimento desse sinal, de acordo com dados reportados na literatura, é uma importante evidência para a formação de compostos organometálicos com ligantes NHC (WAN *et al.*, 2021; TENG *et al.* 2022; NASR *et al.*, 2023). Podemos observar na **Figura 27** uma comparação dos espectros de RMN de ^1H do **CTZ**, do ligante **L1** e do complexo metálico **1**. Tal comparação também pode ser feita para o espectro de RMN de ^1H do complexo **2**, que se encontra no **Apêndice B**.

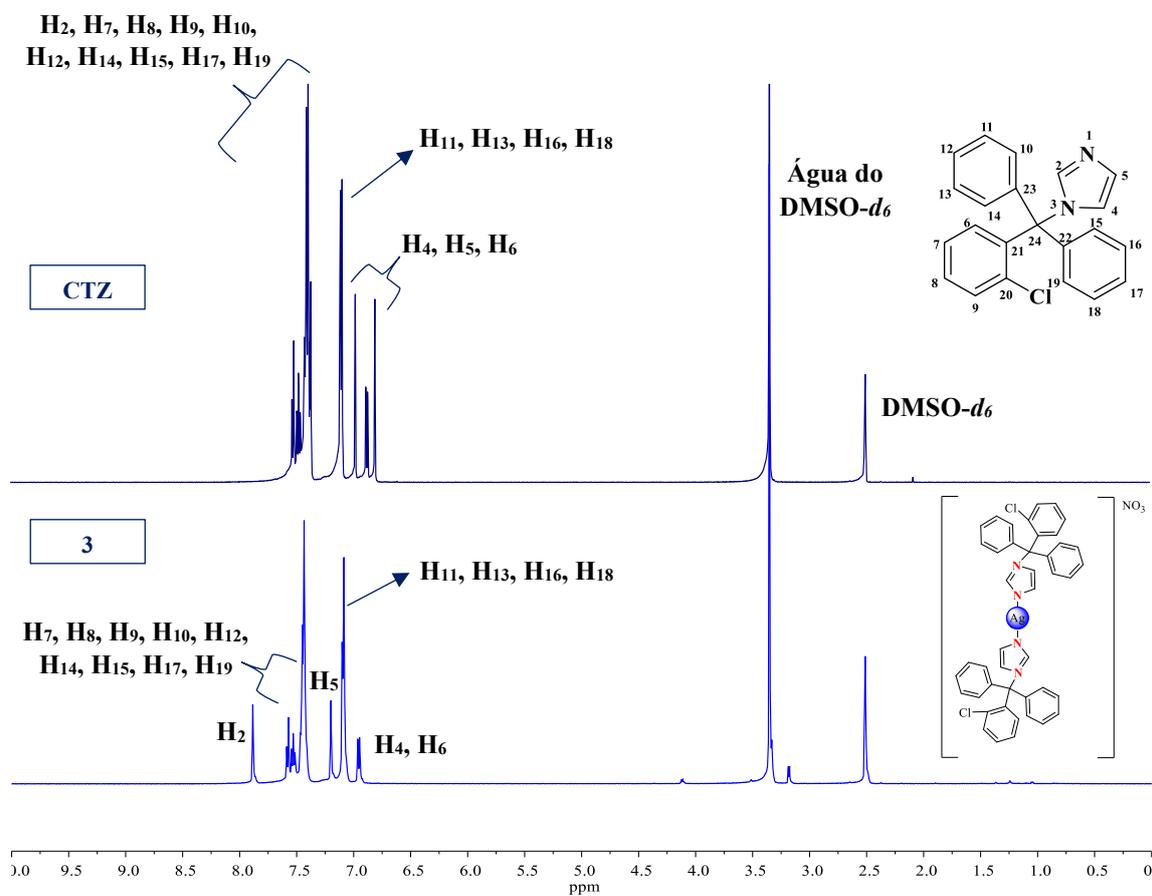
Figura 27 - Espectros de RMN de ^1H dos ligantes CTZ e L1 e do complexo 1.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já para o composto 3 (Figura 28), além de observarmos a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verificam-se significativos deslocamentos químicos dos prótons imidazólicos para uma região mais desblindada do espectro em relação ao ligante livre, possivelmente devido à coordenação do átomo de N-imidazólico ao íon Ag(I) , sendo essa variação de 0,52 ppm para o H₂, 0,30 ppm para H₄ e 0,47 ppm para H₅. Tais constatações indicam, com base nos dados apresentados, que o CTZ se coordena ao íon prata através do átomo de nitrogênio não substituído (N₁).

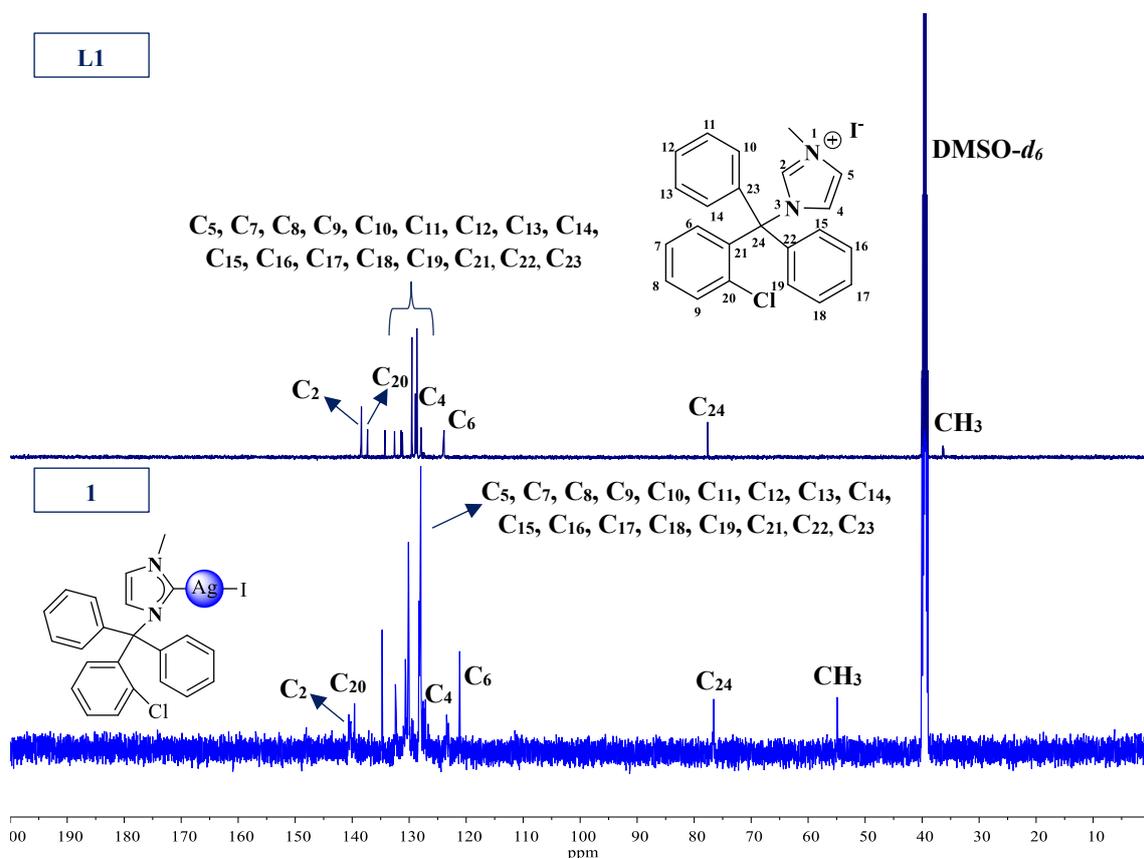
Figura 28 - Espectros de RMN de ^1H do ligante CTZ e do complexo 3.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Quanto ao espectro de RMN de ^{13}C , percebem-se os mesmos sinais inerentes ao ligante de origem. Além disso, observa-se, no caso do complexo 1 (Figura 29), o deslocamento químico bastante significativo do sinal correspondente ao grupo metil ligado ao átomo de nitrogênio N₁ do anel imidazólico de 18 ppm, juntamente com um pequeno deslocamento do carbono C₂, possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Ag(I). A mesma análise pode ser feita para o espectro de RMN de ^{13}C do complexo 2, que se encontra no Apêndice B.

Figura 29 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante **L1** e do complexo **1**.

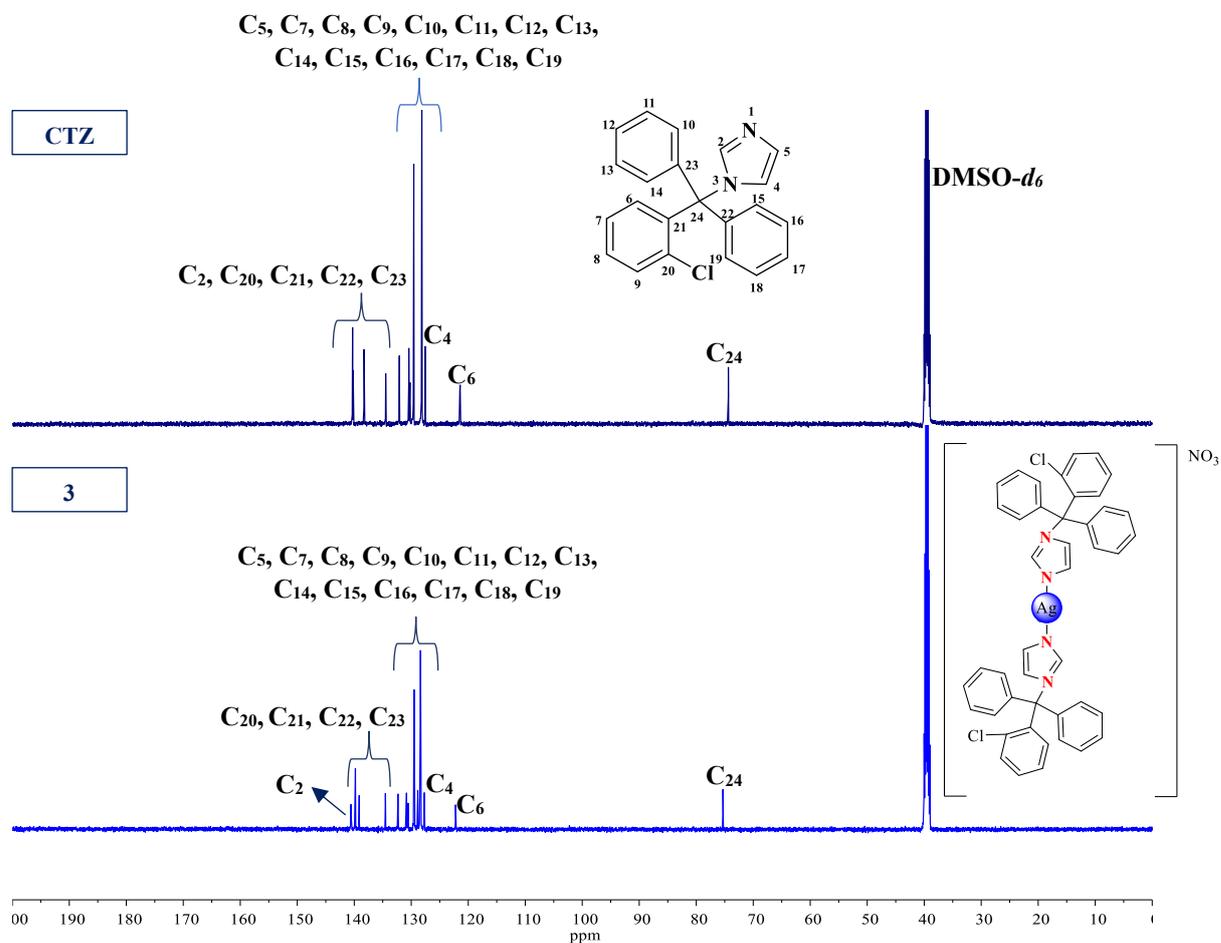


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já em relação ao composto **3** (**Figura 30**), além de observarmos a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verifica-se um significativo deslocamento químico dos carbonos imidazólicos C₂ e C₄ em relação ao ligante livre, sendo essa variação de 0,28 ppm para o C₂ e 0,16 ppm para C₄.

De acordo com os dados analíticos e espectroscópicos encontrados, pode-se inferir que tanto o ligante **L1** quanto os complexos metálicos **1-3** foram obtidos, confirmando as estruturas previamente sugeridas no **Esquema 3**.

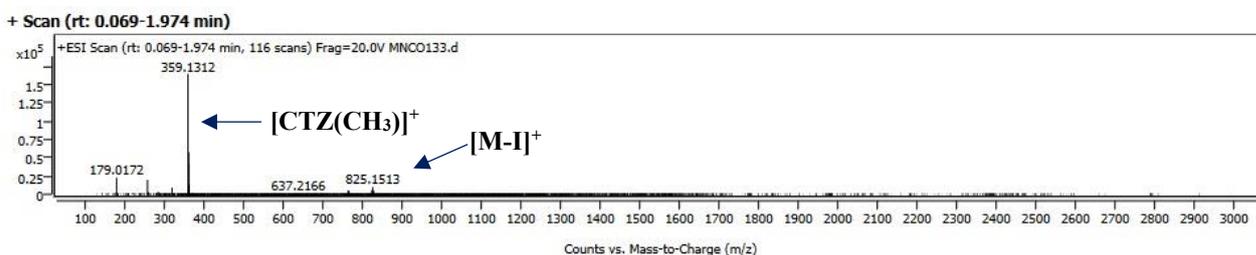
Figura 30 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante CTZ e do complexo **3**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Foram também obtidos os espectros de massa dos compostos de prata(I) derivados dos ligantes **L1** e **CTZ**. No espectro do complexo **2** (**Figura 31**) foi observado o pico do íon molecular $[\text{M-I}]^+$ em $m/z = 825,1513$ (calc.: 825,1681; $\Delta(m/z) = 0,0168$) e o fragmento do ligante carbeno $[\text{CTZ}(\text{CH}_3)]^+$ em 359,1312 (calc.: 359,1310; $\Delta(m/z) = 0,0004$). Já para o composto **1** (**Apêndice C**) não foi observada a presença do pico do íon molecular, mas sim do fragmento correspondente ao ligante **L1**, que também pode ser observado no espectro do composto **2**.

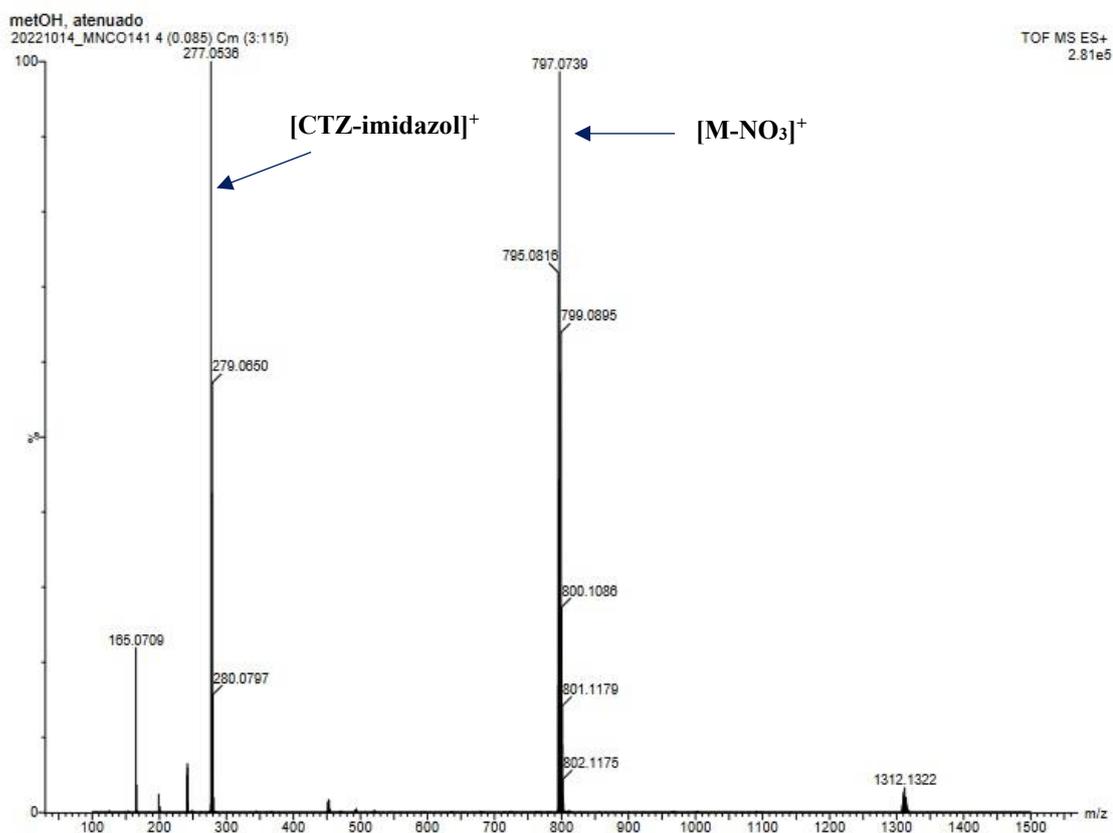
Figura 31 - Espectro de massas do composto 2.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Para o complexo **3** (**Figura 32**), foi observado um pico em 797,0739 (calc.: 797,1208; $\Delta(m/z) = 0,0469$) referente ao íon molecular para $[M-NO_3]^+$, além do fragmento $[CTZ-imidazol]^+$ em 277,0536 (calc.: 277,24; $\Delta(m/z) = 0,0188$), sugerindo a formação dos compostos almejados.

Figura 32 - Espectro de massas do composto 3.

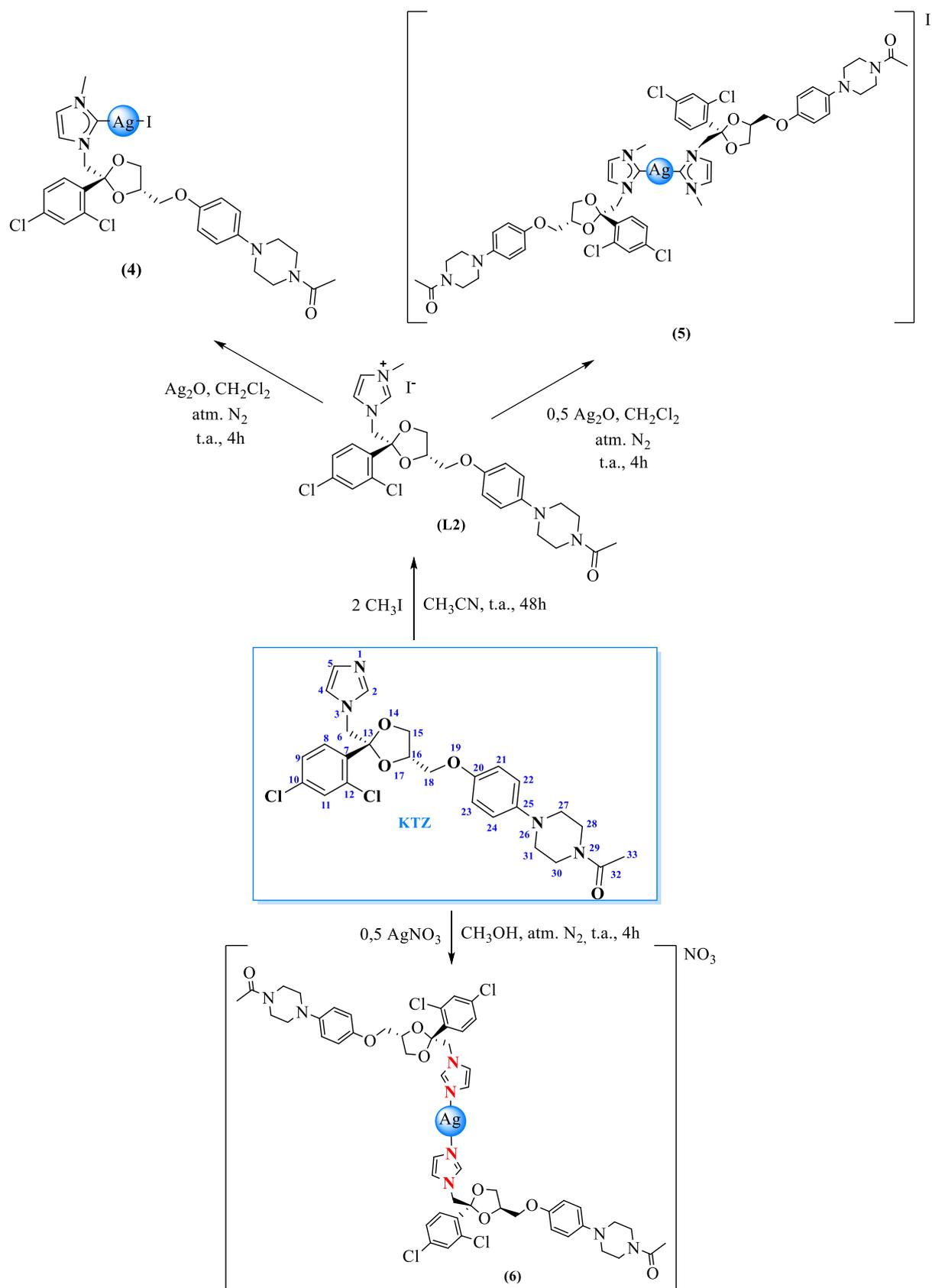


Fonte: Elaborada pela autora (2023).

De acordo com os dados encontrados por meio da utilização das diversas técnicas de caracterização, pode-se inferir que os complexos metálicos **1-3** foram obtidos, confirmando as estruturas previamente sugeridas.

Já a obtenção dos compostos **4** e **5** se deu através da reação entre o ligante **L2** e o óxido de prata(I), utilizando-se proporções estequiométricas diferentes para a obtenção do produto monossustituído (**4**) e do produto dissustituído (**5**). A síntese do composto **6** se deu por meio da reação de um excesso do ligante **KTZ** com o nitrato de prata(I) (**Esquema 4**). Todas as reações foram realizadas em atmosfera de nitrogênio, protegidas da luz e a temperatura ambiente e os compostos foram então purificados e caracterizados. Foram obtidos sólidos beges, estáveis a temperatura ambiente, com rendimentos que variaram entre 53 e 71,5 %.

Esquema 4 - Síntese dos complexos metálicos de Ag(I) 4-6.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Partindo-se dos dados obtidos através da análise elementar (CHN) desses compostos, a qual apresenta uma diferença $\leq 1,50\%$ entre os valores calculados e os encontrados, observou-se que eles se encontram em concordância com os valores calculados para a fórmula molecular sugerida (**Tabela 4**). Assim, foram propostas as estruturas moleculares desses compostos sendo, para o complexo **4**, uma estrutura na qual teríamos somente uma molécula do ligante **L2** coordenado ao íon Ag(I) e para os complexos **5** e **6**, uma estrutura que apresentaria duas moléculas do ligante de interesse coordenadas ao centro metálico. Já em relação aos valores obtidos por meio da condutividade molar dos compostos, eles também corroboram as estruturas sugeridas, confirmando a proposta de uma estrutura neutra para o composto **4** com um ligante iodeto completando a estrutura. Em relação aos complexos **5** e **6**, os resultados obtidos estão de acordo com os eletrólitos 1:1, indicando que o composto **5** possui duas moléculas do ligante **L2** com o íon iodeto atuando como contra íon, enquanto o composto **6** apresenta duas moléculas do ligante **KTZ** coordenadas ao centro metálico, apresentando como contra íon o íon nitrato (VELHO, 2006). Para todas as estruturas propostas, sugere-se uma geometria linear.

Tabela 4 - Dados analíticos dos ligantes **L2** e **KTZ** e dos complexos metálicos **4-6**.

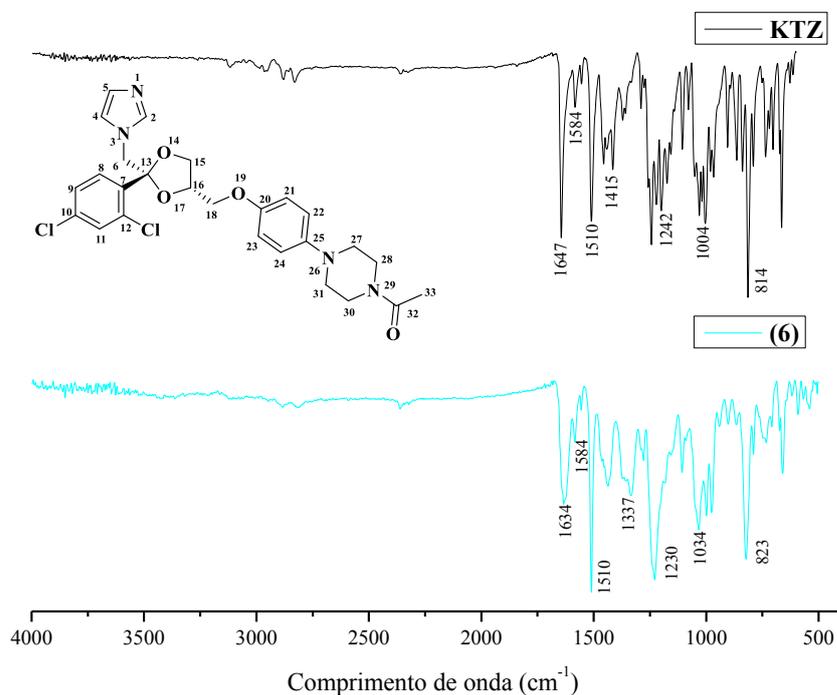
Composto	Análise Elementar (%)			Condutividade molar
	%C (%C*)	%H (%H*)	%N (%N*)	Δ_M^{**}
KTZ	-	-	-	1,10
L2	45,71 (45,68)	4,97 (3,85)	7,90 (8,30)	19,42
4	41,56 (41,84)	3,87 (3,92)	7,18 (7,65)	10,22
5	44,97 (44,32)	4,31 (4,29)	7,49 (8,14)	27,99
6	50,56 (50,66)	5,09 (4,58)	10,05 (10,23)	31,80

*%experimental (%calculado) para as fórmulas mínimas $C_{27}H_{30}AgCl_2IN_4O_4$ (**4**), $C_{56}H_{64}AgCl_8IN_8O_8$ (**5**), $C_{52}H_{56}AgCl_4N_9O_{11}$ (**6**); ** $ohm^{-1} cm^2 mol^{-1}$.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na **Figura 33**, podemos observar o espectro de infravermelho obtido do composto **4**, comparado com o seu ligante de origem (**L2**).

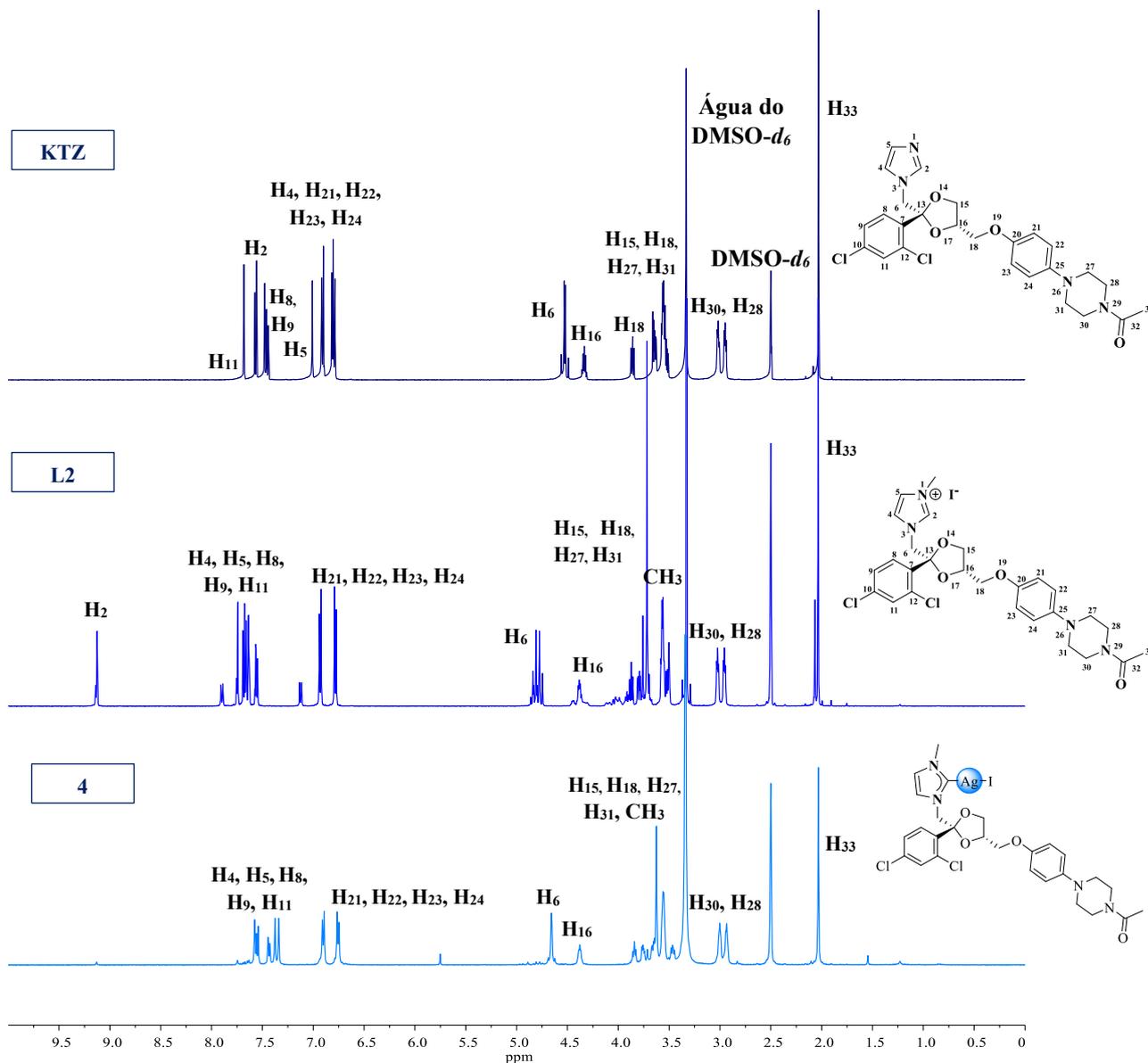
Analisando tais espectros, observa-se a presença das bandas inerentes ao ligante e também se nota um pequeno deslocamento daquelas que correspondem aos modos vibracionais de estiramento das ligações C=O, C=C e C=N, o que corrobora a formação deste complexo

Figura 34 - Espectro de IV do complexo **6** em comparação com o ligante **KTZ**.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Os espectros de RMN de ¹H dos complexos de prata(I) **4** e **5** também foram obtidos em DMSO-*d*₆. Pode-se observar, em ambos os espectros, a presença dos sinais característicos do ligante de origem e a ausência do hidrogênio H₂ proveniente do sal imidazólico (**L2**), possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Ag(I), evidenciando, então, a formação do composto organometálico. Podemos observar na **Figura 35** uma comparação dos espectros de RMN de ¹H do **KTZ**, do ligante **L2** e do complexo metálico **4**. Tal comparação também pode ser feita para o espectro de RMN de ¹H para o composto **5**, que pode ser visto no **Apêndice B**.

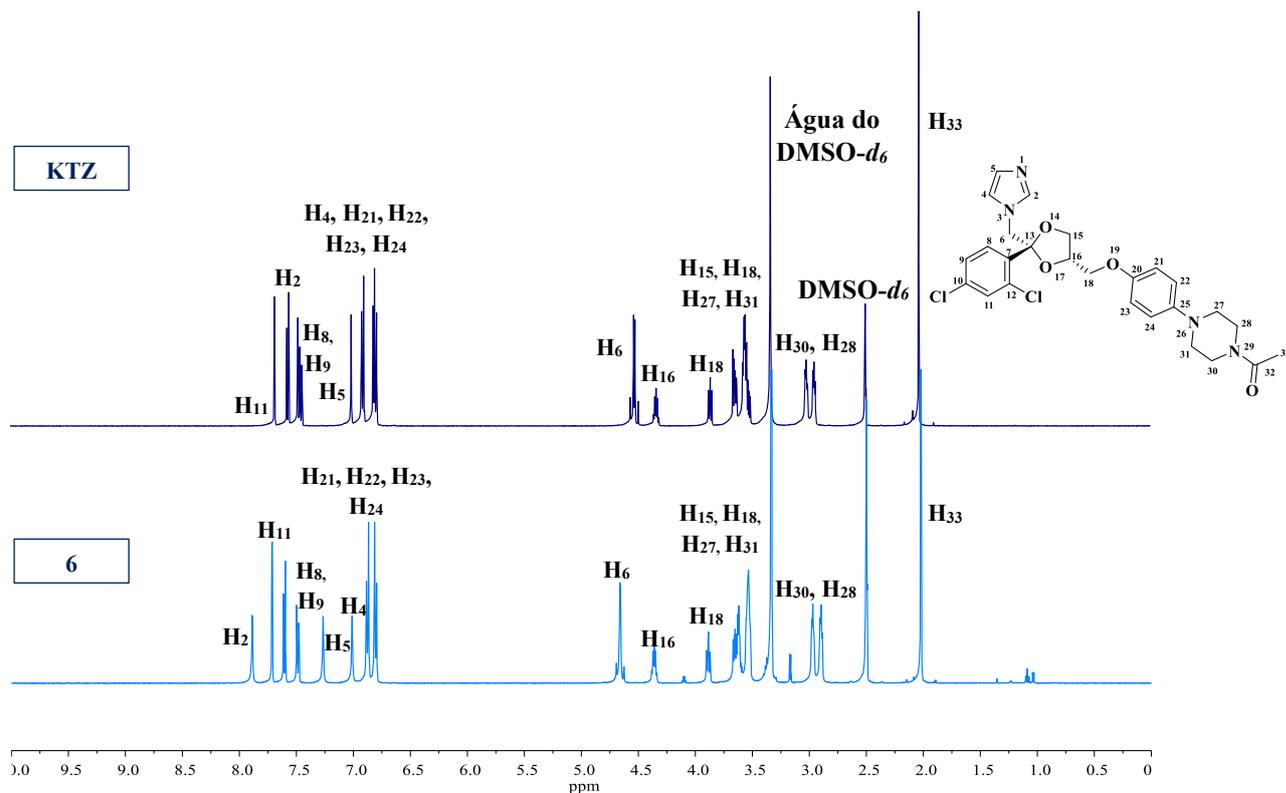
Figura 35 - Espectros de RMN de ^1H dos ligantes **KTZ** e **L2** e do complexo **4**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Em relação ao espectro de RMN de ^1H do composto **6** (**Figura 36**), além de observarmos a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verificam-se significativos deslocamentos químicos dos prótons imidazólicos para uma região mais desblindada do espectro em relação ao ligante livre, sendo essa variação de 0,31 ppm para o H₂, 0,01 ppm para H₄ e 0,27 ppm para H₅. Tais constatações indicam, com base nos dados apresentados, que o **KTZ** se coordena ao íon prata através do átomo de nitrogênio, N₁, não substituído.

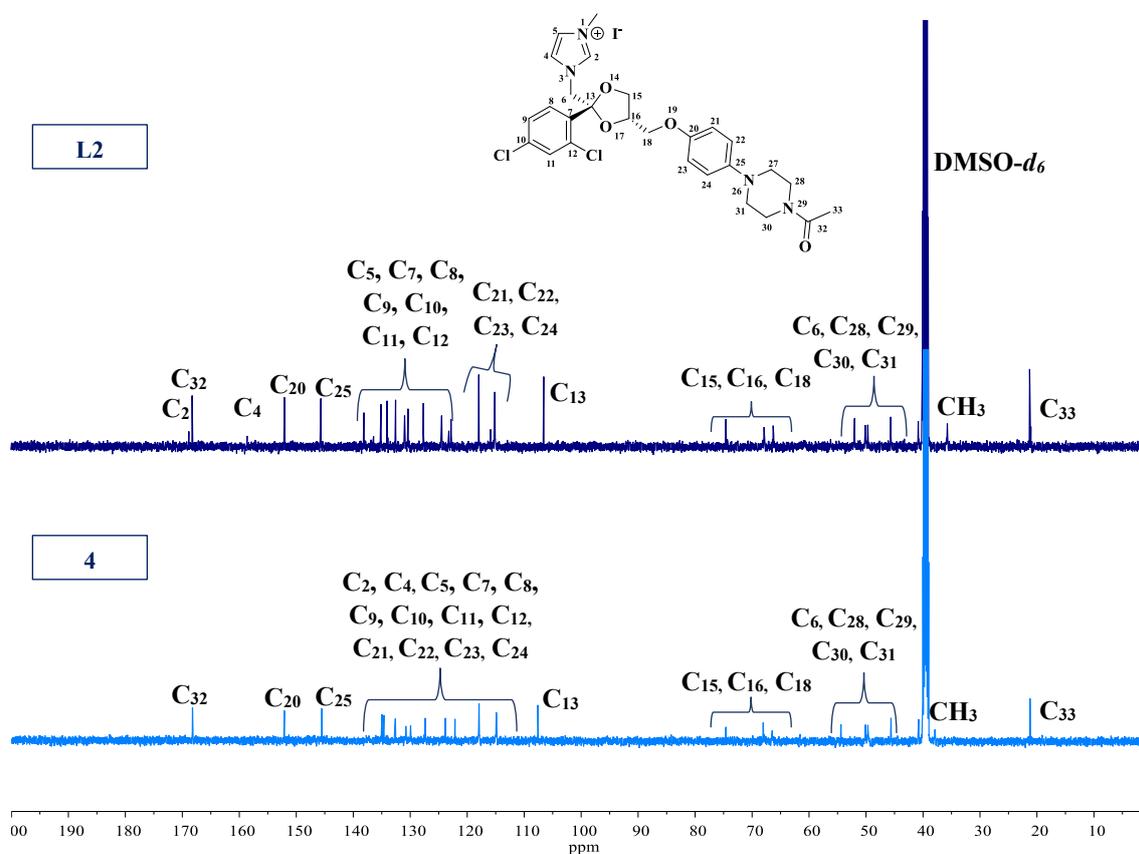
Figura 36 - Espectros de RMN de ^1H do ligante **KTZ** e do complexo **6**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Já em relação ao espectro de RMN de ^{13}C , percebem-se os mesmos sinais inerentes ao ligante de origem. Além disso, observa-se, no caso do complexo **4** (**Figura 37**), o deslocamento químico significativo do sinal correspondente ao grupo metil, ligado ao átomo de nitrogênio N₁ do anel imidazólico de 2,2 ppm, juntamente com um significativo deslocamento do carbono C₂, possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Ag(I). Tal análise pode também ser realizada para o espectro de RMN de ^{13}C do complexo **5** se encontra no **Apêndice B**.

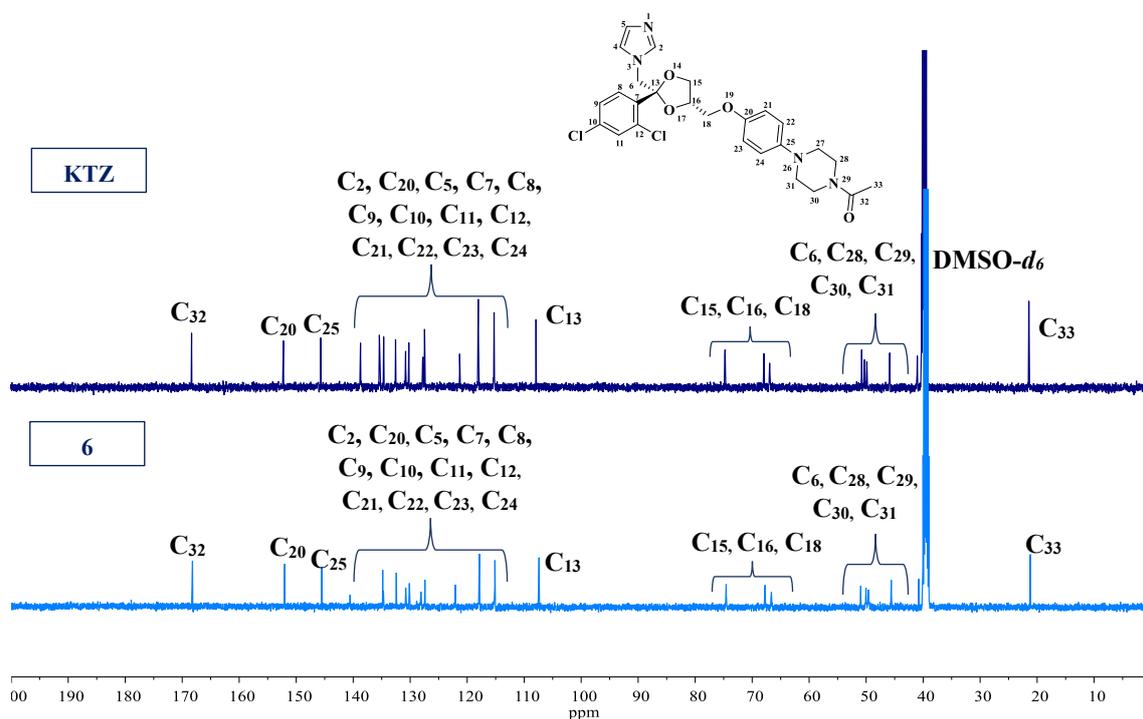
Figura 37 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante L2 e do complexo 4.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

No que se diz respeito ao composto **6** (Figura 38), além de observarmos também a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verifica-se uma variação de deslocamento mínimo $\leq 0,009$ ppm em relação ao ligante de origem para os carbonos imidazólicos C₂, C₄ e C₅, devido a coordenação ao íon prata pelo nitrogênio N₁ do anel imidazólico.

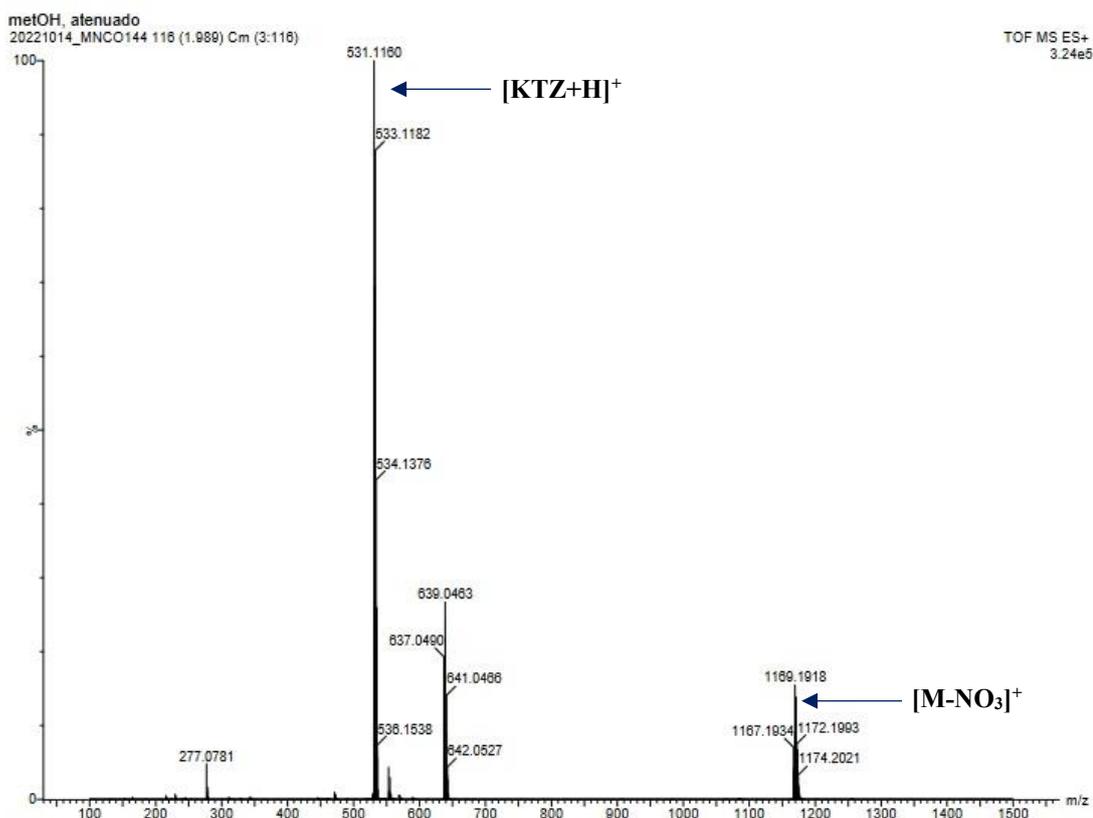
Figura 38 - Espectros de RMN de ^{13}C do ligante **KTZ** e do complexo **6**.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Foram também obtidos os espectros de massa dos compostos de prata(I) derivados dos ligantes **L2** e **KTZ**. Apenas para o composto **6** (**Figura 39**) foi observada a presença de um pico em 1171,1921 (calc.: 1170,2075; $\Delta(m/z)=0,9846$) referente ao íon molecular $[\text{M}-\text{NO}_3]^+$, além do fragmento $[\text{KTZ}-\text{imidazol}]^+$ em 531,1160 (calc.: 531,1566; $\Delta(m/z)=0,0406$). Já para os espectros dos compostos **4** e **5** (**Apêndice C**) não foi observada a presença do pico do íon molecular, mas sim a do fragmento correspondente ao ligante **L2**, o que sugere a formação dos compostos de interesse.

Figura 39 - Espectro de massas do composto **6**.

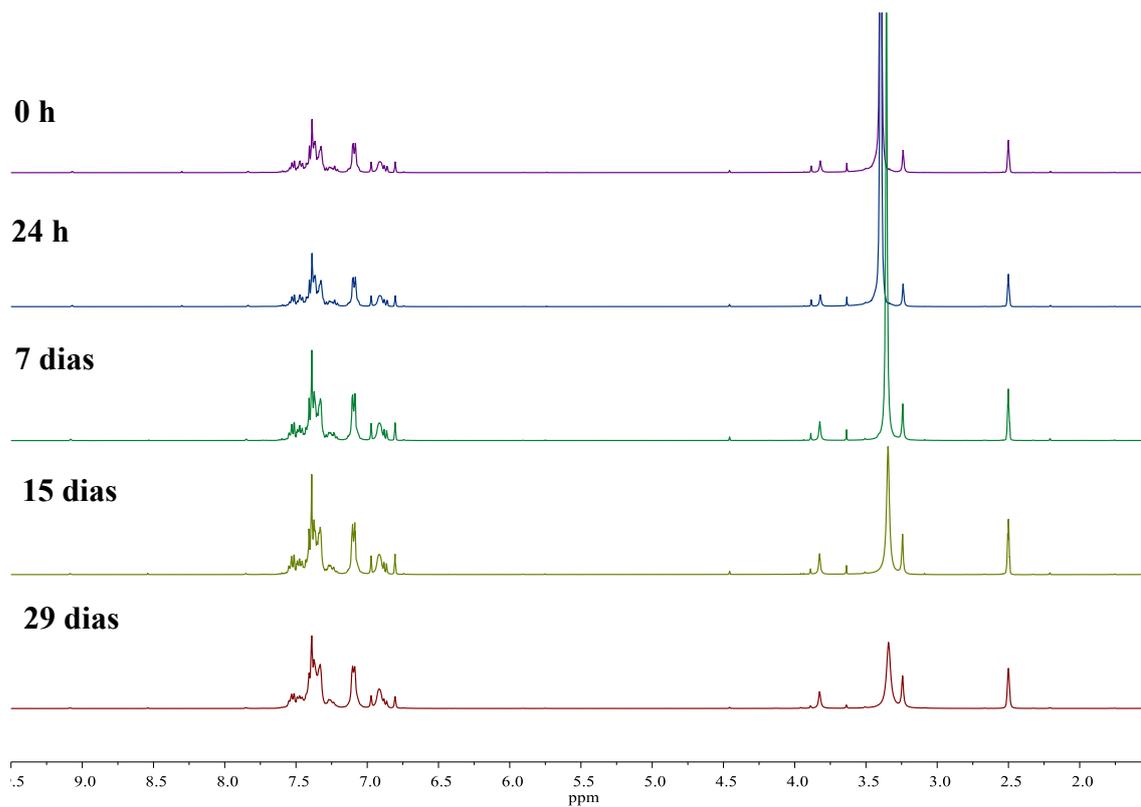


Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Com base nos dados encontrados através das inúmeras técnicas de caracterização utilizadas, pode-se inferir que os complexos metálicos **4-6** foram obtidos, confirmando as estruturas previamente sugeridas no **Esquema 4**.

Foi também analisada a estabilidade dos complexos de prata(I) **1-6** em solução de DMSO, solvente este utilizado nos testes *in vitro*, por RMN de ¹H ao longo de 0 h, 24 h, 7 e 29 dias e todos os compostos mostraram-se estáveis. A título de exemplificação, podemos observar na **Figura 40** os espectros obtidos para o composto **1**, onde pode-se inferir que o composto é estável nesse solvente no intervalo de tempo avaliado, uma vez que não foram observados novos sinais e nenhum deslocamento significativo dos sinais já existentes. Todos os espectros de RMN adquiridos para os demais complexos podem ser encontrados no **Apêndice D**.

Figura 40 - Estudo de estabilidade do composto **1** por RMN de ^1H (DMSO-*d*₆).



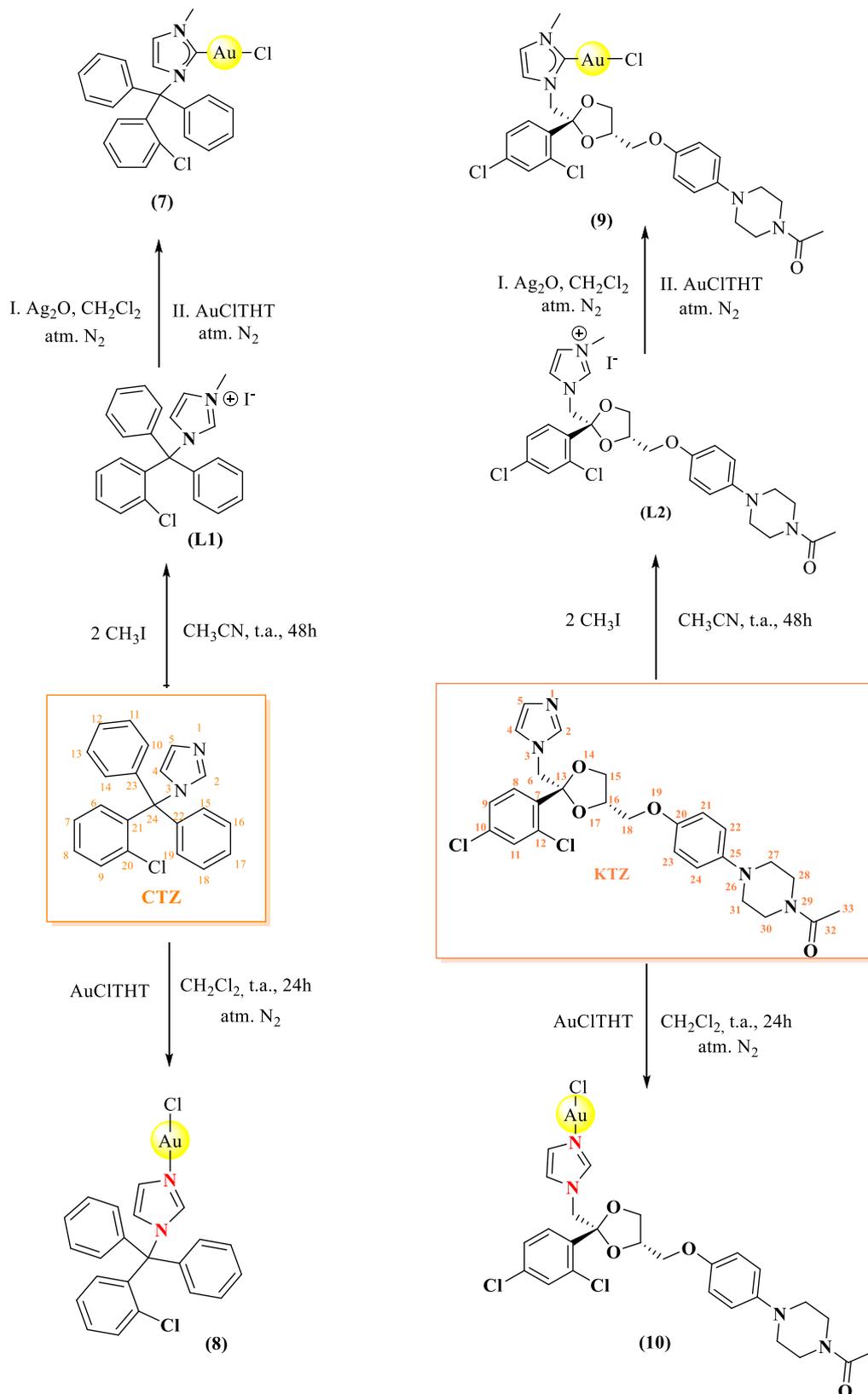
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Após a obtenção dos complexos de prata(I), foram sintetizados os compostos de ouro(I).

4.3 COMPLEXOS DE Au(I)

Os compostos **7** e **9** foram obtidos, respectivamente, por meio das reações de transmetalção entre os precursores de prata(I), os complexos **1** e **4** (provenientes das reações entre os ligantes **L1** e **L2** e o óxido de prata(I)) com o cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) (AuCITHT). Já os compostos **8** e **10** foram preparados, respectivamente, através da reação de um excesso dos ligantes **CTZ** e **KTZ** com o cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) (**Esquema 5**). Todas as reações foram realizadas em atmosfera de nitrogênio e a temperatura ambiente. Os compostos foram então purificados e caracterizados. Foram obtidos sólidos brancos, estáveis a temperatura ambiente, com rendimentos que variaram entre 13 e 64%.

Esquema 5 - Síntese dos complexos metálicos de Au(I) 7-10.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os valores obtidos através da análise elementar (CHN) desses compostos, observa-se uma diferença $\leq 1,50\%$ entre os valores calculados e os encontrados, os quais corroboram os valores calculados para a fórmula molecular sugerida (**Tabela 5**). Com base nesses dados, propôs-se que as estruturas dos compostos **7** e **9** apresentam uma molécula do ligante NHC de interesse (**L1** ou **L2**) coordenada ao íon metálico, enquanto os complexos **8** e **10** apresentam uma molécula do ligante imidazólico **CTZ** (**8**) e **KTZ** (**10**) coordenada ao íon metálico. Em relação aos valores de condutividade molar, tais dados, quando comparados com a literatura, corroboram as estruturas sugeridas, confirmando a proposta de uma estrutura neutra para todos os complexos metálicos, com um ligante cloreto completando a esfera de coordenação (VELHO, 2006). Sugere-se, para todas as estruturas propostas, geometria linear.

Tabela 5 - Dados analíticos dos ligantes e dos complexos metálicos **7-10**.

Composto	Análise Elementar (%)			Condutividade molar
	%C (%C*)	%H (%H*)	%N (%N*)	Λ_M^{**}
CTZ	-	-	-	0,69
KTZ	-	-	-	1,10
L1	54,68 (54,77)	3,96 (4,31)	5,55 (5,90)	25,99
L2	45,71 (45,68)	4,97 (3,85)	7,90 (8,30)	19,42
7	39,73 (39,45)	2,72 (3,04)	3,60 (3,68)	2,23
8	45,40 (45,85)	3,09 (2,97)	4,63 (4,86)	4,74
9	41,07 (41,69)	3,61 (3,89)	6,82 (7,20)	3,10
10	41,28 (40,88)	2,75 (3,69)	7,34 (7,33)	5,72

*%experimental (%calculado) para as fórmulas mínimas $C_{25}H_{23}AuCl_6N_2$ (**7**), $C_{22}H_{17}AuCl_2N_2$ (**8**), $C_{27}H_{30}AuCl_3N_4O_4$ (**9**), $C_{26}H_{28}AuCl_3N_4O_4$ (**10**); ** $ohm^{-1} cm^2 mol^{-1}$.

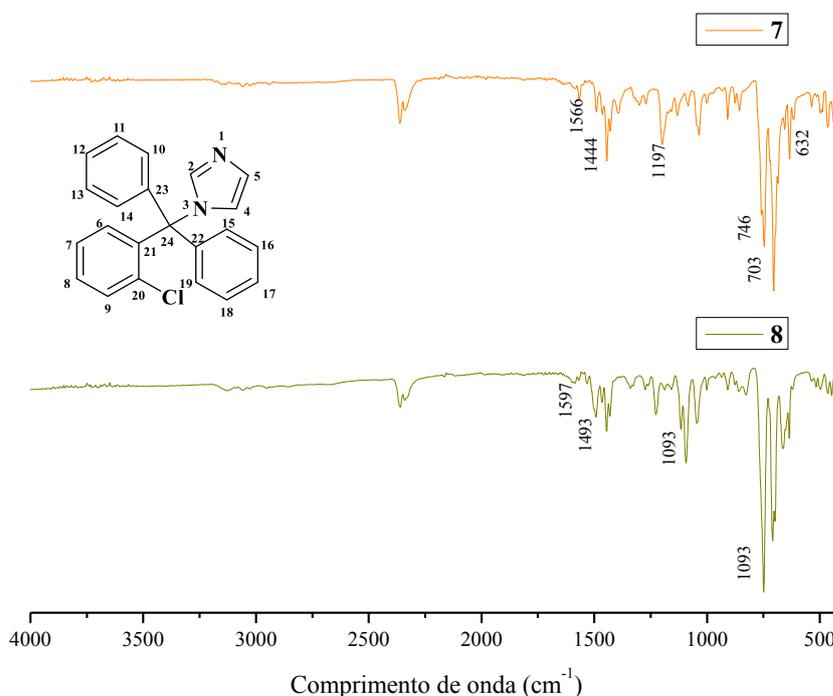
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Todos os complexos de ouro(I) derivados dos ligantes **L1** e **CTZ** foram analisados por espectroscopia no infravermelho, utilizando o modo ATR para a realização de tais medidas.

Na **Figura 41**, encontram-se os espectros de infravermelho dos complexos metálicos **7** e **8**. Pela análise dos referidos espectros, observa-se a presença das bandas inerentes aos seus ligantes de origem: bandas de baixa intensidade em $1566 cm^{-1}$ (**7**) e $1597 cm^{-1}$ (**8**) referentes ao estiramento da ligação C=N e outras bandas menos intensas em $1444 cm^{-1}$ no composto

organometálico e em 1493 cm^{-1} no composto de coordenação correspondentes ao estiramento da ligação C=C, ambos presentes nos anéis imidazólicos dos compostos.

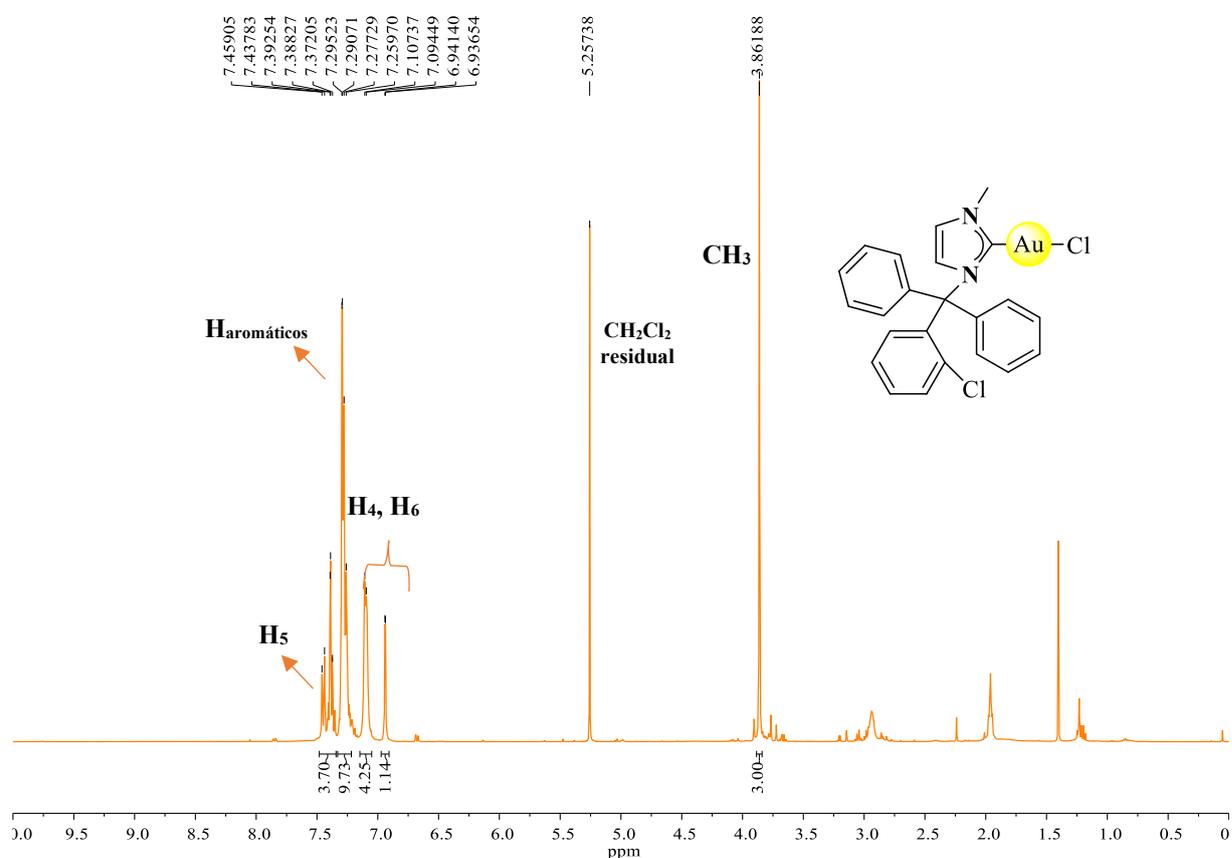
Figura 41 - Espectros de IV dos complexos **7** e **8**.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os espectros de RMN de ^1H dos complexos de ouro(I) **7** e **8** foram obtidos em CDCl_3 . No espectro do composto organometálico (**Figura 42**) pode-se notar a presença dos sinais característicos do sal imidazólico e a ausência do hidrogênio H_2 proveniente do ligante (**L1**), possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Au(I) . O desaparecimento desse sinal, de acordo com dados reportados na literatura, é uma importante evidência para a formação de compostos organometálicos de ouro(I) com ligantes NHC (GUARRA *et al.* 2020; IACOPETTA *et al.* 2021).

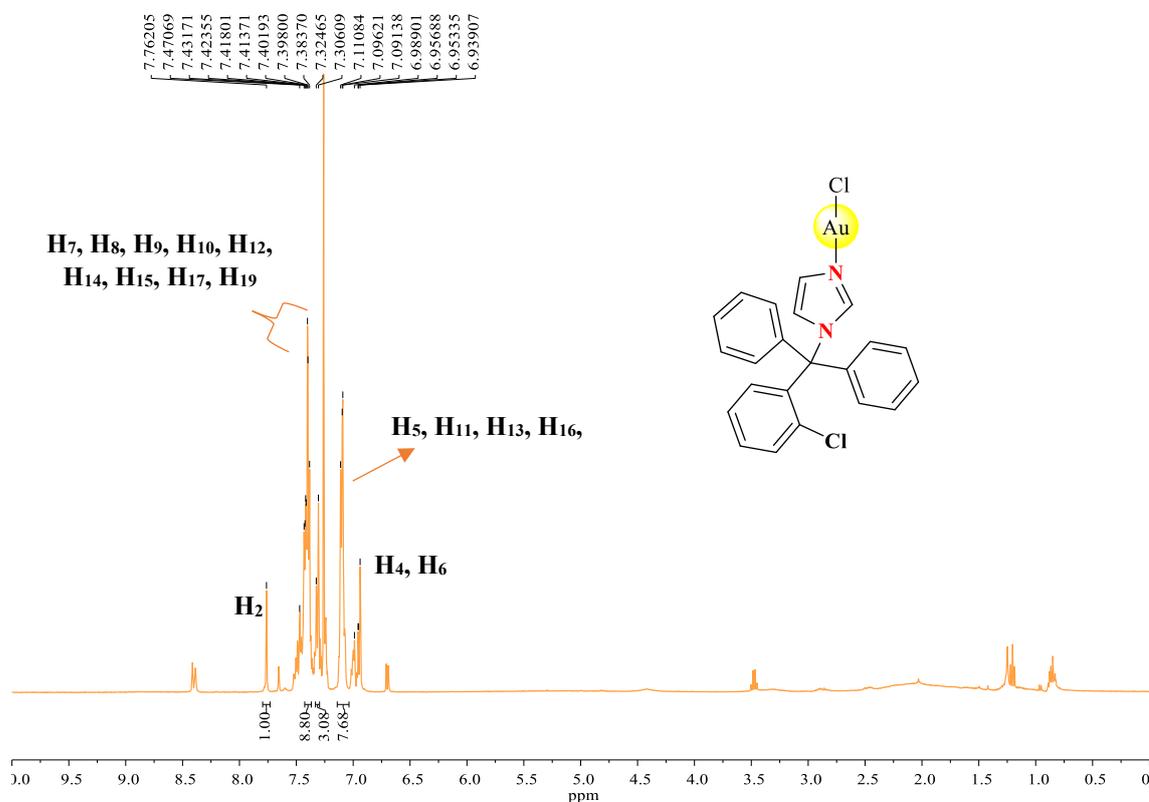
Figura 42 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **7**.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

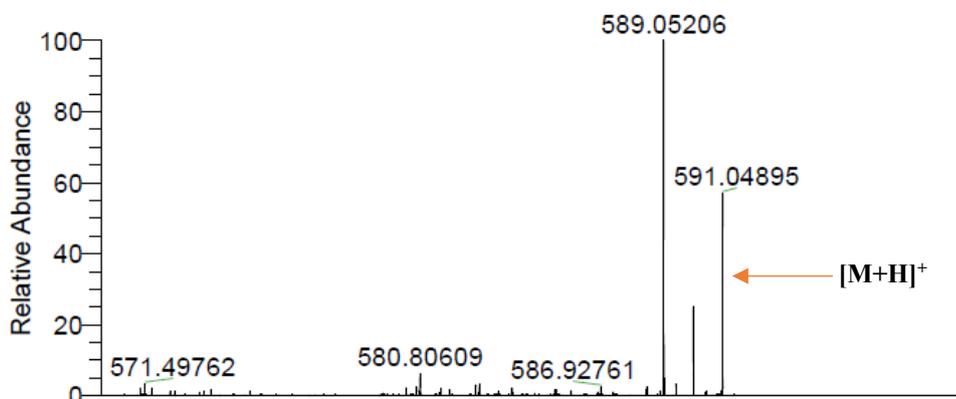
Já para o composto **8** (Figura 43), além de observarmos a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verificam-se significativos deslocamentos químicos dos prótons imidazólicos para uma região mais desblindada do espectro em relação ao ligante livre. Tais constatações indicam, com base nos dados apresentados, que o **CTZ** se coordena ao íon ouro através do átomo de nitrogênio não substituído (N_1).

Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **8**.

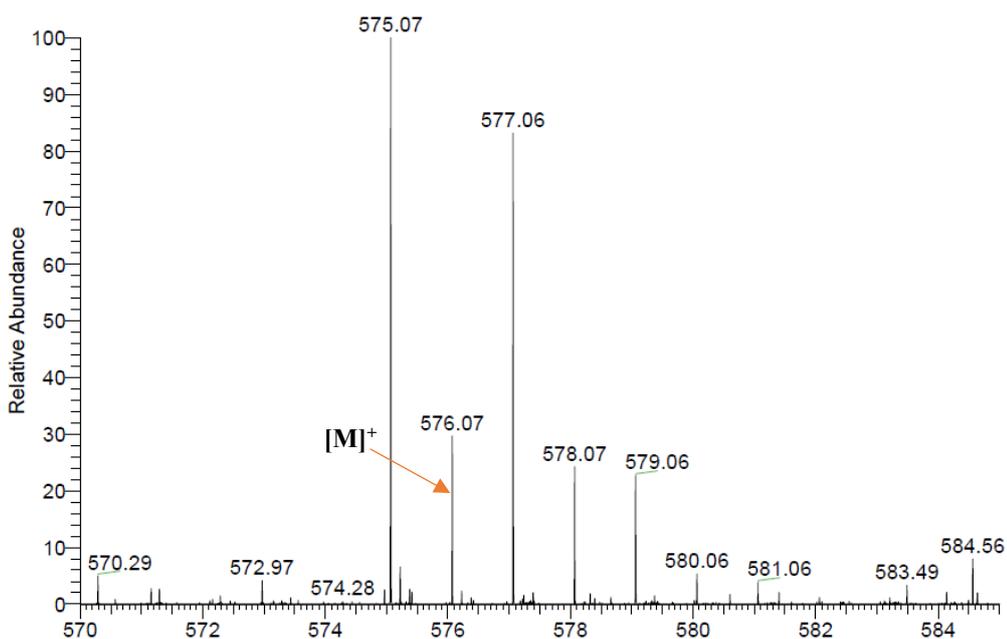


Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Foram também obtidos os espectros de massa dos compostos de ouro(I) derivados dos ligantes **L1** e **CTZ**. No espectro do complexo **7** (**Figura 44**) foi observado o pico do íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ em $m/z = 591,04895$ (calc.: 591,0696; $\Delta(m/z) = 0,02065$). Já para o complexo **8** (**Figura 45**), foi observado um pico em 576,07 (calc.: 576,0434; $\Delta(m/z) = 0,0266$) referente ao íon molecular para $[\text{M}]^+$, sugerindo a formação dos compostos almeçados.

Figura 44 - Espectro de massas do composto **7**.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Figura 45 - Espectro de massas do composto **8**.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Foram obtidos cristais do complexo **7** apropriados para o experimento de difração de raios X por monocristal, após recristalização em metanol e evaporação lenta do solvente em temperatura ambiente após uma semana. Na **Tabela 6** podemos observar os dados cristalográficos para o complexo de Au(I) e a estrutura resolvida está apresentada na **Figura 46**.

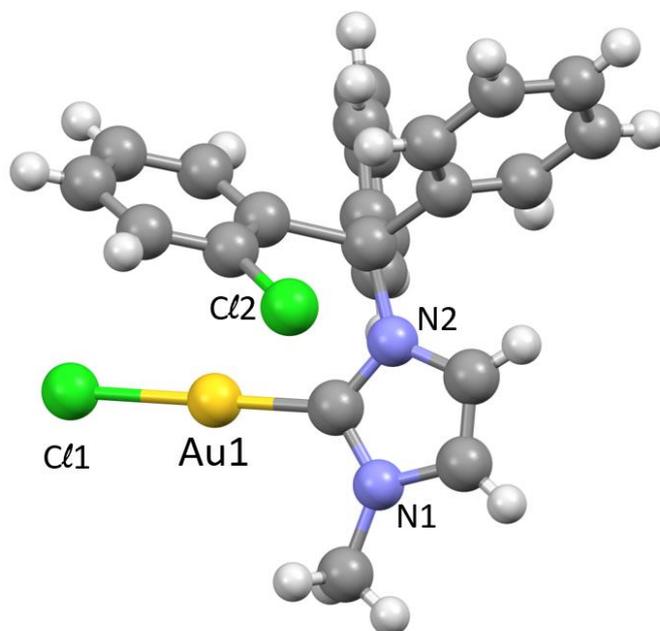
Tabela 6 - Principais dados cristalográficos para o complexo 7.

Composto	7
Fórmula	C ₄₆ H ₃₈ N ₄ Cl ₄ Au ₂
Massa molar / g mol ⁻¹	1182,53
T /K	301(2)
λ /Å	1,5418
Sistema Cristalino	Triclínico
Grupo de Espaço	<i>P</i> $\bar{1}$
<i>a</i> /Å	10,6604(4)
<i>b</i> /Å	12,6311(4)
<i>c</i> /Å	17,2554(5)
α /°	111,299(3)
β /°	95,196(3)
γ /°	94,963(3)
V/ Å ³	2137,96(13)
Z ^a	2
Z ^b	4
ρ / Mg m ⁻³	1.837
μ /mm ⁻¹	15,305
F(000)	1136
Tamanho / mm ³	0,31×0,21×0,11
Reflexões coletadas	8704
Reflexões com I >2 σ (I)	7237
R _{int}	0,0546
R ^c , wR ^d [I >2 σ (I)]	0,0662; 0,2011
R ^c , wR ^d (todas reflexões)	0,0760; 0,2135
S ^e	1,044
Máximo e mínimo residual / e Å ⁻³	2,697, -2,219

^aZ definido como número de unidades assimétricas por célula unitária, neste caso dois complexos por unidade assim. ^bZ' definido como número de unidades de interesse, neste caso um complexo. ^cR = $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$. ^dwR = $[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / \sum w|F_o|^2]^{1/2}$. ^eS = $[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / (n_o - n_p)]^{1/2}$, onde $w \propto 1/\sigma$, n_o =número de observáveis e n_p =número de parâmetros refinados.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Figura 46 - Estrutura cristalina de uma das duas unidades assimétricas de $[\text{AuCl}(\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{Cl})]$ presentes célula unitária com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (esferas cinzas) e hidrogênio (esferas brancas).



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Na estrutura cristalina do composto **7**, que se cristaliza no grupo de espaço triclinico, há dois complexos por unidade assimétrica, que variam levemente nos ângulos e comprimentos de ligação, mas quimicamente são equivalentes. Neste complexo (**Figura 45**) é possível perceber o ouro com número de coordenação igual a dois, sendo coordenado por um cloreto e um ligante **L1** através do carbono central do grupo imidazólico. Os comprimentos de ligação metal-ligante são iguais a 2,312 Å [Au1-Cl1; 2,333 Å para Au2-Cl2] e 1,980 Å [Au1-C1; 1,969 Å para Au2-C24], com ângulo Cl-Au-C igual a 176,99 [Cl1-Au1-C1; 179,12 para Cl2-Au2-C24]. Estes comprimentos de ligação e ângulo observados são condizentes com um íon de ouro(I).

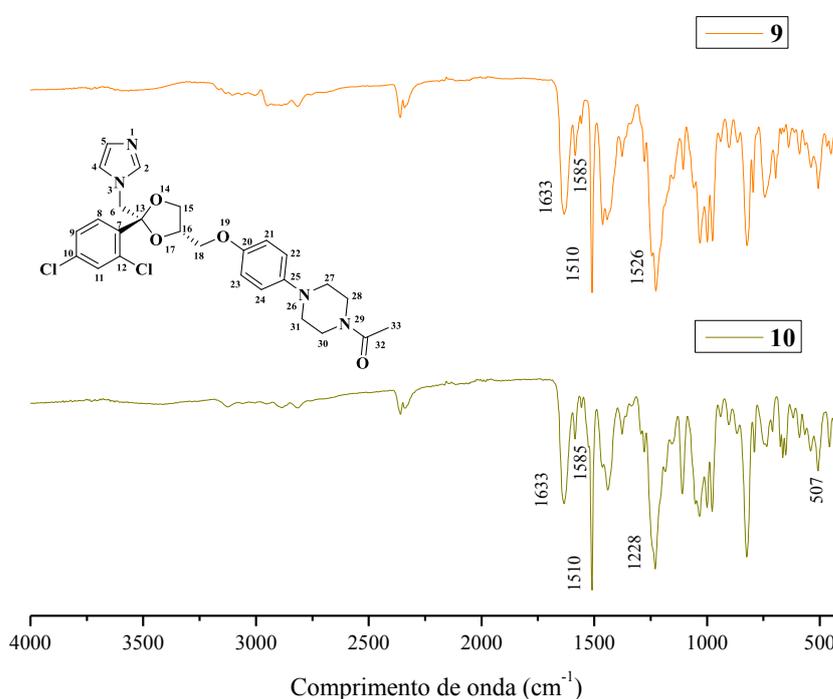
Dessa forma, de acordo com os dados encontrados por meio da utilização das diversas técnicas de caracterização, pode-se inferir que os complexos metálicos **7** e **8** foram obtidos, confirmando as estruturas previamente sugeridas.

Assim como os compostos anteriores, os complexos de ouro(I) oriundos dos ligantes **L2** e **KTZ** também foram caracterizados.

Quanto aos espectros de infravermelho dos compostos **9** e **10** (**Figura 47**), podemos observar a presença das bandas inerentes ao ligante de origem, tais como, uma banda de

absorção de média intensidade, referente ao estiramento da ligação C=O na região de 1633 cm^{-1} para ambos os compostos, além de bandas de média e alta intensidade, respectivamente, nas regiões de 1585 e 1510 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos das ligações C=N e C=C, respectivamente. Além disso, a presença de uma banda em 507 cm^{-1} atribuída ao estiramento Au-N no composto de coordenação também foi observada, indicando a coordenação do íon metálico pelo átomo de N do anel imidazólico (CHAVES *et al.*, 2015).

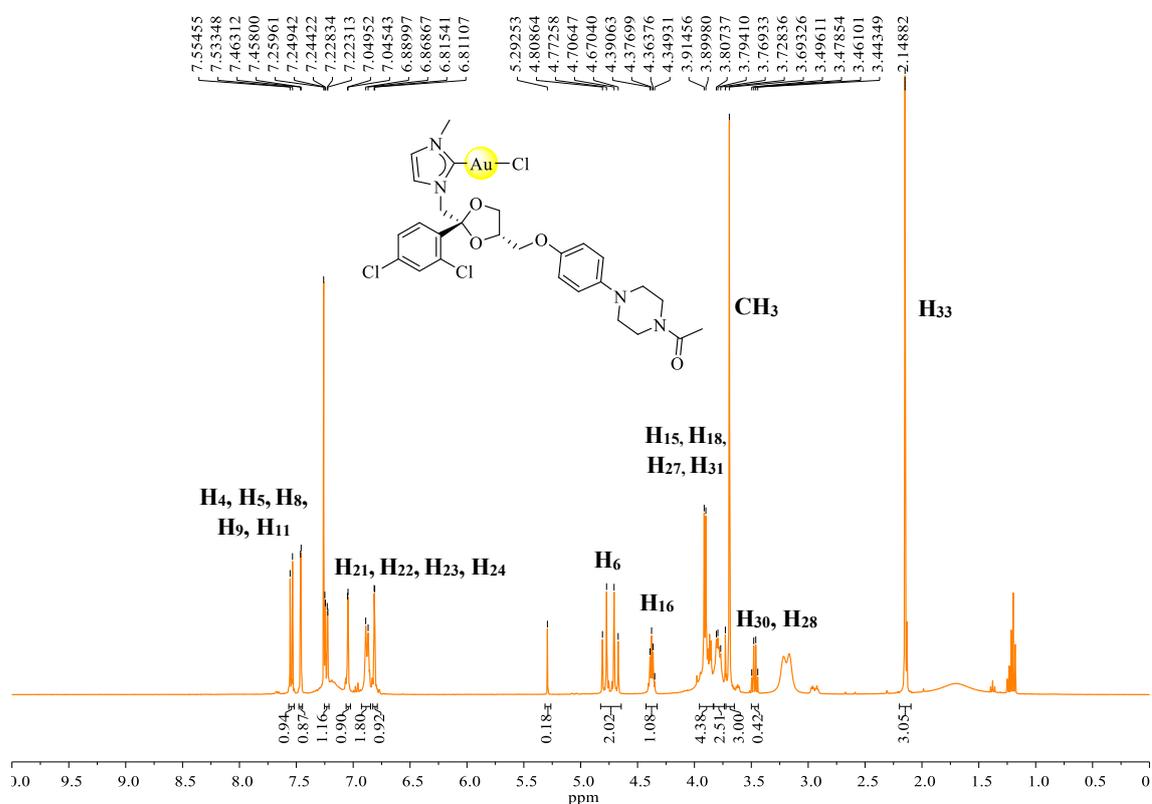
Figura 47 - Espectros de IV dos complexos **9** e **10**.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os espectros de RMN de ^1H dos complexos de ouro(I) **9** e **10** foram obtidos em CDCl_3 e em $\text{DMSO-}d_6$, respectivamente. Pode-se observar a presença dos sinais característicos do ligante de origem e a ausência do hidrogênio H_2 proveniente do sal imidazólico (**L2**), possivelmente devido à coordenação do átomo de C-imidazólico ao íon Au(I) , evidenciando, então, a formação do composto organometálico. Podemos observar na **Figura 48** o espectro de RMN de ^1H do complexo metálico **9**.

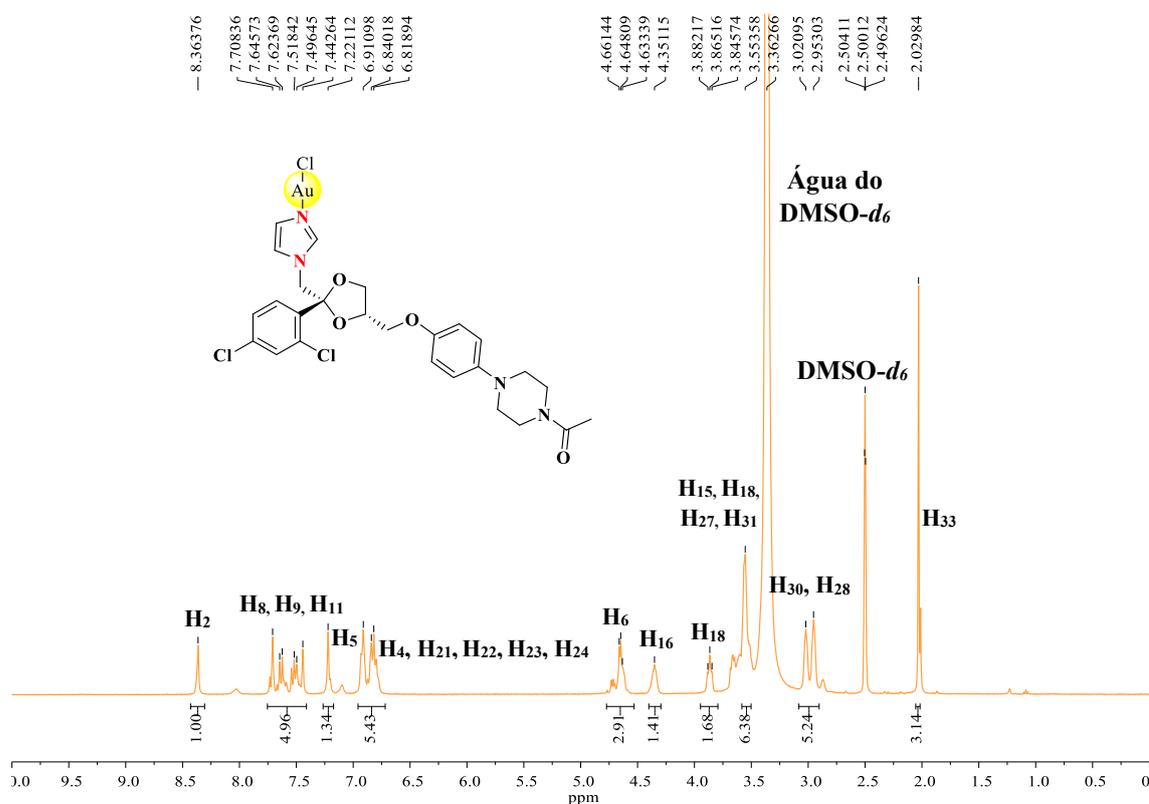
Figura 48 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **9**.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

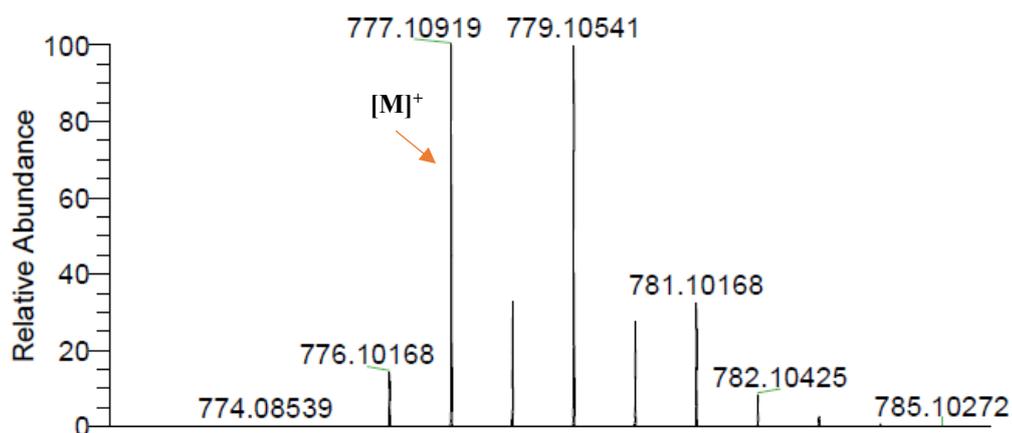
Em relação ao espectro de RMN de ^1H do composto **10** (**Figura 49**), além de observarmos a presença dos sinais característicos do ligante de origem, verificam-se significativos deslocamentos químicos dos prótons imidazólicos para uma região mais desblindada do espectro em relação ao ligante livre. Tais constatações indicam, com base nos dados apresentados, que o **KTZ** se coordena ao íon ouro através do átomo de nitrogênio, N_1 , não substituído.

Figura 49 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **10**.

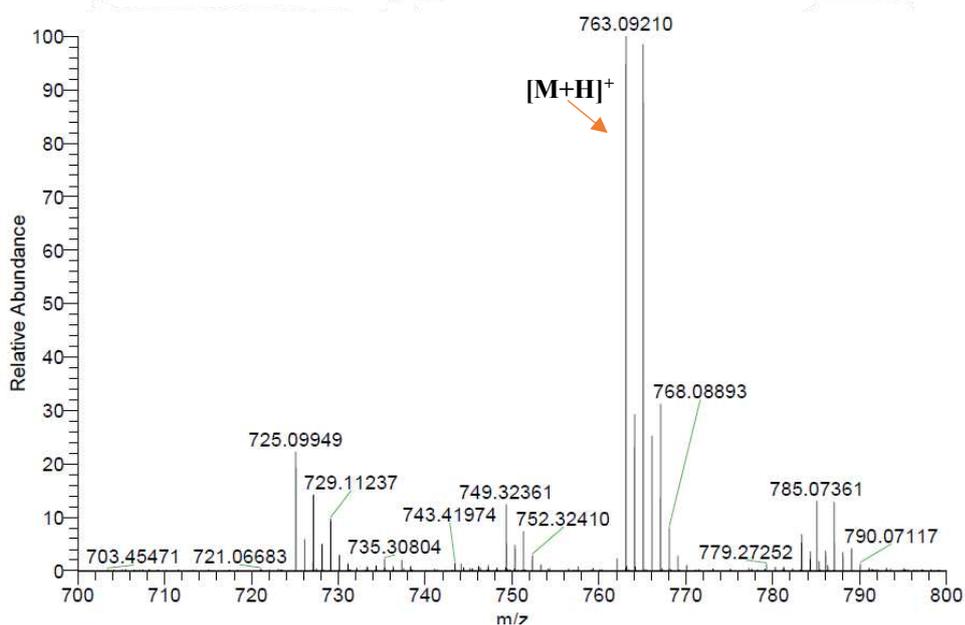


Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Foram também obtidos os espectros de massa dos compostos de ouro(I) derivados dos ligantes **L2** e **KTZ**. Para o composto **9** (Figura 50) foi observada a presença de um pico em 777,10919 (calc.: 777,1076; $\Delta(m/z) = 0,00159$) referente ao íon molecular $[\text{M}]^+$. Já para o complexo **10** (Figura 51), foi observado um pico em 763,09210 (calc.: 763,092; $\Delta(m/z) = 0,0001$) referente ao íon molecular para $[\text{M}]^+$, sugerindo a formação dos compostos almejados.

Figura 50 - Espectro de massas do composto **9**.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Figura 51 - Espectro de massas do composto **10**.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Com base nos dados encontrados através das inúmeras técnicas de caracterização utilizadas, pode-se inferir que os complexos metálicos **9** e **10** foram obtidos, confirmando as estruturas moleculares previamente sugeridas.

Foi também analisada a estabilidade dos complexos de ouro(I) **7-10** em solução de DMSO, solvente este utilizado nos testes *in vitro*. Foram preparadas soluções dos complexos metálicos da ordem de 10^{-3} mol. L⁻¹ e medidas de condutividade foram realizadas no período de três dias consecutivos, tempo no qual são realizados os experimentos de citotoxicidade. Foram realizadas cinco medidas por dia e foi feito o cálculo médio desses valores. Os dados desse estudo são apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7 - Condutividade molar média dos complexos de Au(I) em função do tempo.

Condutividade molar (Λ_M ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹) em DMSO				
Composto	0h	24h	48h	72h
7	2,236	3,084	3,878	3,794
8	4,738	4,776	5,672	5,482
9	3,1	3,804	3,644	3,666
10	5,722	9,702	12,64	12,906

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Com base nos dados apresentados, podemos inferir que os compostos não apresentaram mudanças significativas quanto a condutividade molar, uma vez que todos os valores se mantiveram na faixa de 0-20 o que indica que, em DMSO, tais compostos continuaram neutros (VELHO, 2006), sugerindo que eles são estáveis nesse solvente no intervalo de tempo avaliado.

4.4 ESTUDOS DE CITOTOXICIDADE

Os estudos de citotoxicidade foram realizados pela Profa. Dra. Heveline Silva e seu grupo de pesquisa, no Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas – SIBLab, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

4.4.1 Estudos realizados com os ligantes e os complexos de Ag(I)

Estudos de citotoxicidade foram realizados contra três linhagens celulares diferentes, duas linhagens tumorais (B16-F1-melanoma cutâneo, CT26-WT-cólon) e uma linhagem não tumoral (BHK-21-rim de hamster). Os resultados expressos como valores de CI₅₀ (concentração

de inibição de 50% da viabilidade celular) estão resumidos na **Tabela 8** juntamente com o IS (índice de seletividade) para comparação da resposta de citotoxicidade.

Tabela 8 - CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu\text{M} \pm \text{SD}^*$).

Compostos	Células Tumorais				Célula normal
	B16-F1		CT26-WT		BHK-21
	CI_{50}	IS [#]	CI_{50}	IS [#]	CI_{50}
CTZ	5,2 ± 0,8	2,6	7,3 ± 0,1	1,9	13,7 ± 2,8
L1	48 ± 0,8	1,0	46,2 ± 1,3	1,0	45,7 ± 0,7
1	19,3 ± 0,5	1,2	12,2 ± 2,7	1,9	23,0 ± 0,7
2	6,9 ± 0,1	2,7	7,3 ± 0,6	2,6	18,8 ± 0,6
3	4,2 ± 1,6	2,6	3,9 ± 0,6	2,8	10,9 ± 0,7
KTZ	17,1 ± 3,3	1,6	21,9 ± 1,0	1,2	27,2 ± 0,2
L2	4,3 ± 1,7	10,4	45,4 ± 6,2	1,0	44,9 ± 6,6
4	2,8 ± 0,1	9,3	16,1 ± 5,3	1,6	26,3 ± 0,4
5	2,2 ± 0,6	10,9	15,7 ± 1,5	1,5	24,2 ± 0,6
6	12,8 ± 0,3	1,4	16,3 ± 2,6	1,1	18,4 ± 0,4
Cisplatina	5,4 ± 0,5	3,4	6,0 ± 0,8	3,1	18,4 ± 1,9

*SD: Desvio padrão; Quadruplicata de dois experimentos independentes.

#IS: Índice de seletividade; calculado pela razão entre os CI_{50} da célula normal e da tumoral.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os resultados de **CTZ** e seus derivados (**L1**, **1**, **2** e **3**) mostraram comportamento regular de citotoxicidade contra todas as três linhagens celulares e baixa seletividade. Os valores CI_{50} do **CTZ** variaram de 3,9 a 13 μM , semelhantes aos da cisplatina. É importante notar que a conversão de **CTZ** em CTZ-NHC (**L1**) diminuiu sua citotoxicidade em 10 vezes (valores de CI_{50} de 45 a 48 μM). A inclusão do íon de prata nos complexos **1** e **2** foi capaz de recuperar alguma atividade (CI_{50} na faixa de 12 a 23 μM e 7 a 18 μM , respectivamente), porém esse aumento foi mais significativo quando ela foi coordenada ao **CTZ** no complexo **3** (4 a 10 μM). Isto significa que a coordenação do **CTZ** com o íon de prata é uma boa estratégia para se aumentar a atividade biológica. Além disso, complexos de prata(I)-NHC e derivados do clotrimazol já foram avaliados contra linhagens celulares de adenocarcinoma pancreático e carcinoma colorretal e alguns deles demonstraram ser seletivos e mais eficazes que a cisplatina

(ASIF *et al.*, 2016; MOHAMED *et al.*, 2020, PATIL *et al.*, 2020). Foi também relatada a atividade anticâncer do clotrimazol e seus compostos de coordenação à base de platina(II) (NAVARRO *et al.*, 2009), paládio(II) (NAVARRO *et al.*, 2006) e rutênio(II) (COLINA-VEGAS, L. *et al.*, 2016).

KTZ e seus derivados (**L2**, **4**, **5** e **6**) mostraram o mesmo comportamento descrito acima contra carcinoma de cólon (Ct26-WT) e células renais não tumorais (BHK-21, porém não para células de melanoma de pele (B16- F1). No entanto, **KTZ-NHC** foi três vezes mais ativo que **KTZ**, **L2** (CI₅₀ 4 µM quando comparado ao **KTZ** 17 µM) contra células de melanoma cutâneo (B16-F1) e ainda melhor quando coordenado à prata (2,8 e 2,2 µM, para os complexos **4** e **5**, respectivamente) (destacados na **Tabela 8**). Porém, **KTZ**, **L2** e o composto **6** apresentaram menor atividade para carcinoma de cólon. Além disso, os compostos NHC (**L2**, **4** e **5**) foram 10 vezes mais seletivos para células de melanoma cutâneo do que para células renais normais. Vale a pena ressaltar que diversos trabalhos na literatura relatam que os complexos de rutênio(II)-**KTZ** também demonstraram atividade relevante contra melanoma humano (STRASBERG *et al.*, 2004), carcinoma de cólon, carcinoma de mama, carcinoma de próstata, fibroblastos e osteoblastos (NAVARRO *et al.*, 2009; MARTÍNEZ *et al.*, 2012; INIGUEZ *et al.*, 2013).

4.4.2 Estudos realizados com os complexos de Au(I) e seus precursores

A atividade citotóxica das frações isoladas foi avaliada em duas linhagens de células tumorais diferentes (MDA-MB-231 e 4T1) e em uma linhagem de célula normal (MCF-10) que foi utilizada para avaliar a seletividade. As células foram expostas aos compostos por 72 horas e a viabilidade determinada pelo método espectrofotométrico MTT. Os resultados estão apresentados na **Tabela 9**.

Tabela 9 - CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% da viabilidade celular para os compostos avaliados em células tumorais e normais. ($\mu\text{M} \pm \text{SD}^*$).

Compostos	Células Tumorais				Célula normal
	MDA-MB-231		4T1		MCF-10
	CI_{50}	IS [#]	CI_{50}	IS [#]	CI_{50}
CTZ	$21,3 \pm 1,7$	1,0	$7,1 \pm 0,5$	3,0	$21,6 \pm 3,4$
L1	$20,6 \pm 0,8$	1,2	>100	-	$25,6 \pm 1,7$
1	$2,4 \pm 0,4$	2,5	$6,4 \pm 0,3$	0,9	$6,1 \pm 0,2$
7	$3,3 \pm 0,8$	2,4	$8,3 \pm 0,3$	1,0	$7,9 \pm 0,2$
KTZ	$39,6 \pm 4,6$	-	$15,2 \pm 0,9$	-	>100
L2	>100	-	$23,6 \pm 2,7$	-	>100
4	$22,1 \pm 0,5$	2,1	$18,4 \pm 2,1$	2,5	$45,4 \pm 6,4$
9	$24,4 \pm 1,1$	2,9	$68,1 \pm 1,0$	1,0	$70,4 \pm 0,8$
Cisplatina	$2,9 \pm 0,1$	4,8	$6,0 \pm 0,4$	2,3	$13,9 \pm 1,4$

*SD: Desvio padrão; Quadruplicata de dois experimentos independentes.

[#] IS: Índice de seletividade; calculado pela razão entre os CI_{50} da célula normal e da tumoral.

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Em relação aos resultados do **CTZ** e seus derivados (**L1**, **1** e **7**), os compostos não metalados (**CTZ** e **L1**) apresentaram comportamento regular de citotoxicidade contra todas as três linhagens celulares com baixa seletividade. Os valores de CI_{50} para o ligante **L1** demonstraram que a conversão do **CTZ** nesse ligante manteve a sua citotoxicidade ou a diminuiu, aumentando o valor do CI_{50} (CI_{50} variaram de 20 a mais de 100 μM , para **L1**). Já o complexo de prata(I) (**1**), se mostrou dez vezes mais ativo (CI_{50} 2,4 μM) que **CTZ** (CI_{50} 21 μM) e **L1** (CI_{50} 20 μM) frente as células de adenocarcinoma metastático de mama humana (MDA-MB-231). Este mesmo composto (**1**) foi pelo menos quinze vezes mais ativo contra células de carcinoma mamário murino (4T1) com CI_{50} 6,4 μM quando comparado ao **L1** com CI_{50} >100 μM . Enquanto isso, o complexo de ouro(I) (**7**) se mostrou seis vezes mais ativo que o seu ligante de origem frente as células MDA-MB-231, apresentando atividade comparável a seu precursor de prata(I) para todas as linhagens de células tumorais. Além disso, ambos os complexos metálicos apresentaram valores de CI_{50} comparáveis com as da cisplatina. Diversos trabalhos na literatura relatam que complexos de ouro(I)-NHC já foram avaliados contra linhagens celulares de adenocarcinoma de pulmão, adenocarcinoma de mama e carcinoma colorretal e

alguns deles demonstraram ser seletivos e mais eficazes que a cisplatina (CURRAN *et al.*, 2020; CERAMELLA *et al.*, 2022; EKINCI *et al.*, 2022; GULZAR *et al.*, 2023).

Já os derivados do **KTZ** (**L2**, **4** e **9**) mostraram comportamento regular de citotoxicidade contra todas as três linhagens celulares utilizadas, porém com baixa seletividade. É importante notar que a conversão de **KTZ** em **KTZ-NHC** (**L2**) teve pouca influência na citotoxicidade com uma piora expressiva apenas contra a MDA-MB-231. A inclusão do íon de prata no complexo **4** foi capaz de recuperar alguma atividade (CI_{50} na faixa de 2,4 a 6,4 μM), porém esse aumento na citotoxicidade não foi significativo quando o mesmo ligante foi coordenado ao ouro no complexo **9** (24 a 70 μM).

De forma geral, todos os complexos organometálicos se mostraram mais ativos na linhagem celular MDA-MB-231, com seletividade interessante. Essa linhagem compreende células de câncer de mama triplo negativo (TNBC). Esse tipo de câncer é constituído por tumores com características heterogêneas, maior incidência de metástases, menor sobrevida dos pacientes e opções de tratamento limitadas. Essas células cancerígenas não têm receptores de estrogênio ou progesterona e não produzem a proteína HER2, de modo que as terapias hormonais e direcionadas ao receptor HER2 não se mostram promissoras, tornando este um tipo de câncer bastante agressivo (HERO *et al.*, 2019). Diante do exposto os compostos tiveram melhor desempenho e seletividade em células tumorais de grande interesse farmacológico tendo em vista suas peculiaridades e grande desafio em termos de tratamento.

Além disso, quando comparada a atividade dos complexos de Ag(I) **1** e **4** frente as linhagens testadas anteriormente, podemos observar que o composto **1**, derivado monossubstituído do ligante **L1**, mostrou-se significativamente mais ativo na linhagem celular MDA-MB-231 do que nas outras células testadas (B16-F1-melanoma cutâneo, CT26-WT-cólon e célula não tumoral de rim de hamster-BHK-21), enquanto o derivado monossubstituído do ligante **L2**, apresentou comportamento regular de citotoxicidade contra todas as linhagens celulares, com baixa seletividade.

Buscando-se avaliar os possíveis mecanismos de ação antitumoral e compreender qual o mecanismo de ação dos ligantes **CTZ**, **KTZ**, seus sais imidazólicos (**L1** e **L2**) e seus derivados metálicos (**1-10**), foram investigadas suas interações com DNA, BSA e GSH.

4.5 ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS

Nesta seção, são apresentados os dados referentes aos estudos de interação com o DNA, a BSA e a glutathiona realizados com os compostos que foram sintetizados.

Vale ressaltar que tanto a eletroforese em gel de agarose quanto os estudos de interação com BSA foram realizados em parceria pela Ma. Ana Luiza de Andrade Querino, do Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas – SIBLab, chefiado pela Profª. Dra. Heveline Silva, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

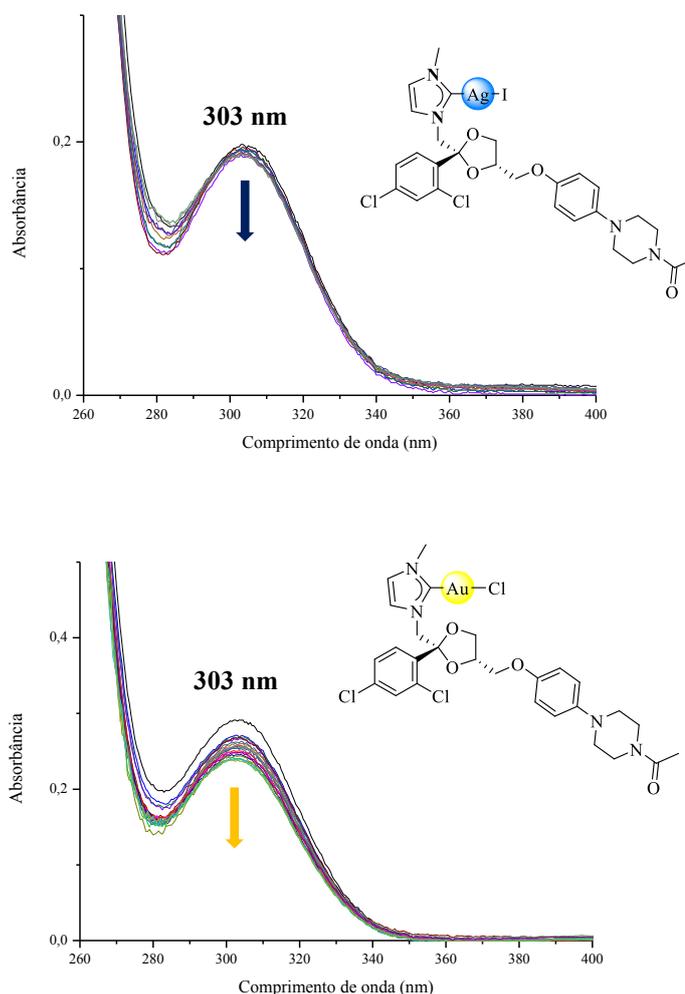
4.5.1 Titulações espectrofotométricas

Sabe-se que a interação entre um complexo metálico e a molécula de DNA resulta em perturbações eletrônicas nessa biomolécula, as quais podem ser detectadas através de estudos espectroscópicos. Dessa forma, a titulação espectrofotométrica é um método bastante empregado para se evidenciar a presença (ou ausência) de interações reversíveis entre ambos, através de possíveis alterações nos espectros do complexo metálico à medida que alíquotas sucessivas de DNA são adicionadas a ele (VILLARREAL *et al.*, 2017).

Por meio de tal experimento é possível obter as constantes de interação entre os complexos metálicos e o DNA, permitindo-se, assim, avaliar a intensidade desse tipo de interação: quanto maior a constante, maior a interação entre esses compostos e o nucleotídeo. Para o cálculo dessas constantes, é utilizada a equação de Benesi-Hildebrand.

Partindo-se dessas informações foi avaliada a interação do DNA com os ligantes (**CTZ**, **KTZ**, **L1** e **L2**) e os complexos metálicos **1-10**, realizada por meio da adição de sucessivas alíquotas de 10 µL de uma solução tampão trisma HCl (pH 7,4) contendo DNA-*Calf timus* à cubeta do branco e a cubeta de quartzo contendo uma solução de concentração 10^{-3} mol. L⁻¹ do composto de interesse em dimetilsulfóxido, já que ambos os compostos se mostraram insolúveis em tampão. Um volume total de 200 µL de DNA foi adicionado em ambas as cubetas. A título de exemplificação, os espectros de absorvância *versus* comprimento de onda dos complexos **4** e **9** estão na **Figura 52**. Os espectros dos demais compostos se encontram no **Apêndice E**.

Figura 52 - Espectros de absorção na região do UV-Visível para os complexos **1** e **9**.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os resultados dos experimentos de titulação UV-Vis com **KTZ**, **L2** e seus complexos (**4**, **5**, **6**, **9** e **10**) mostraram ligeira diminuição na intensidade de absorbância (hipocromismo) da banda de absorção máxima selecionada de cada composto após a adição de sucessivas alíquotas de ct-DNA. O mesmo padrão foi observado para os complexos de Ag(I) quando a solução foi titulada apenas com tampão. Isto sugeriu que o hipocromismo observado era devido a um efeito de diluição, o que indica que tais compostos não apresentam interações reversíveis entre eles e o DNA. Estudos de titulação UV-Vis com os derivados do **CTZ** também foram realizados, porém com exceção do composto **8**, não foi possível obter uma banda de absorção clara para os demais compostos. Tal composto apresentou comportamento idêntico ao observado para os compostos derivados do **KTZ**.

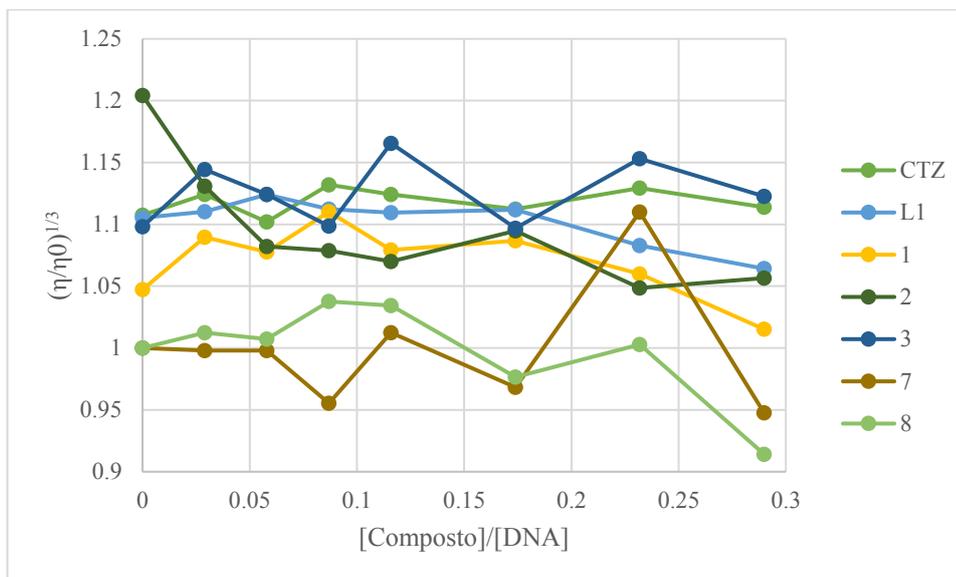
Dessa forma, os resultados obtidos por meio dos experimentos de titulação espectrofotométrica sugerem que os compostos analisados não interagem de forma reversível com a molécula de DNA.

4.5.2 Estudos de viscosidade

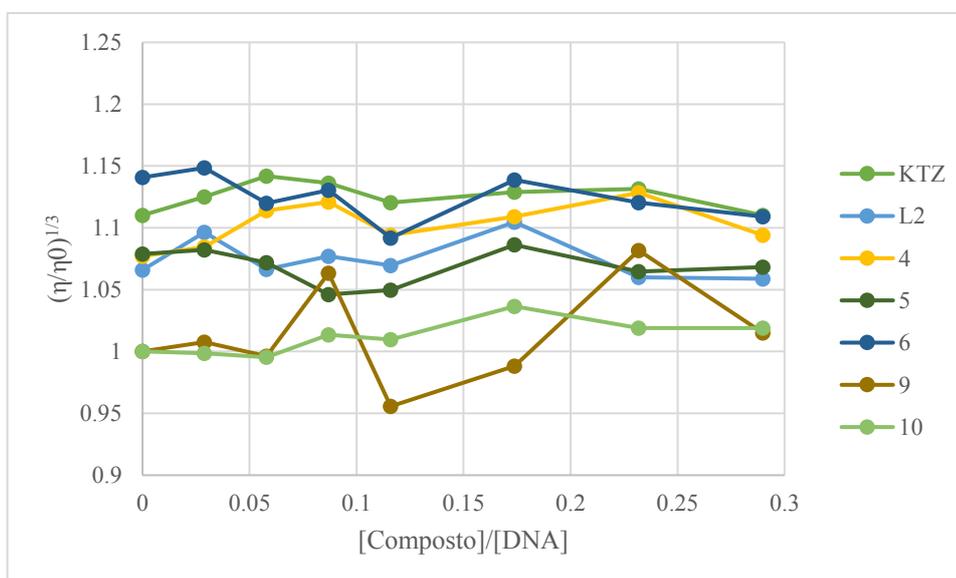
Considerada uma técnica bastante sensível quanto a mudanças no comprimento da cadeia do DNA, a viscosidade vem sendo bastante empregada em estudos de interação entre diversos compostos com essa biomolécula. Tal método possibilita a distinção entre os possíveis tipos de interação entre o composto e o DNA, já que interações covalentes e não covalentes apresentam características hidrodinâmicas diferentes, causando possíveis torções, alongamento, abertura da dupla hélice e enrijecimento dessa biomolécula (NAVARRO *et al.*, 2004; BIEBRICHER *et al.*, 2015, KELLETT *et al.*, 2019).

Partindo-se dessa premissa, os estudos de viscosidade foram realizados em um viscosímetro de Ostwald, utilizando-se solução tampão Tris-HCl 5 mM (pH 7.4), 50 mM NaCl contendo DNA *Calf thymus* (ct-DNA), a qual possibilitaria observar de forma mais sensível mudanças físico-químicas que poderiam ocorrer na solução de DNA (COLINA-VEGAS, VILLAREAL, NAVARRO, 2019). Já em relação aos compostos, foram preparadas soluções estoque de concentração da ordem de 10^{-2} M em dimetilsulfóxido, sendo que a cada medida, a concentração deles era incrementada, ao contrário da concentração e do volume de DNA, que eram mantidos constantes. Para haver uma padronização nas medidas e para que possíveis mudanças viessem a ser observadas unicamente por meio do incremento da concentração do composto em estudo, o volume de DMSO foi mantido constante.

Dessa forma, o experimento foi realizado três vezes, em duplicata e avaliou-se o tempo de escoamento dessas soluções, no caso, o tempo que elas levavam para passar entre os dois meniscos do viscosímetro. Tendo posse desses valores, construiu-se o gráfico de viscosidade relativa pela razão das concentrações dos ligantes e dos complexos metálicos **1-10 (Gráficos 1 e 2)**.

Gráfico 1 - Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos derivados do CTZ.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Gráfico 2 - Avaliação da viscosidade relativa do DNA para os compostos derivados do KTZ.

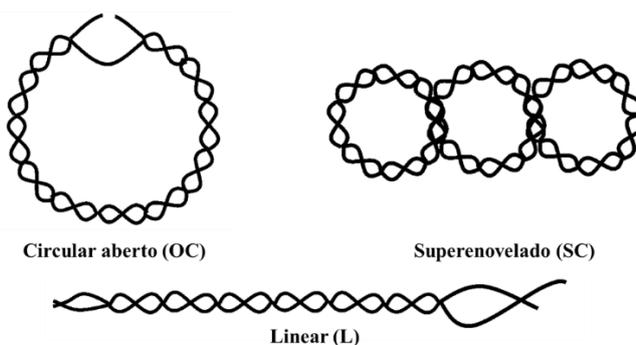
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

De acordo com os dados obtidos, observou-se que o acréscimo da concentração de ambos os compostos não interferiu na viscosidade do ct-DNA, o que indica que os compostos analisados não interagem por intercalação com esta biomolécula.

4.5.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose

Em razão da influência do tamanho e da configuração da molécula de interesse, a investigação da migração do DNA durante a análise pode ser abordada devido à diversidade de conformações que essa biomolécula pode adotar. Um exemplo desse fenômeno é observado no DNA plasmidial, que é uma molécula circular capaz de existir em três isômeros conformacionais: superenrolado ou superenovelado (SC), círculo relaxado ou circular aberto (OC) e linear (L), conforme ilustrado na **Figura 53** (KELLETT *et al.*, 2019).

Figura 53 - Representação das três formas predominantes da molécula de DNA plasmidial.



Fonte: adaptada de KELLETT (2019).

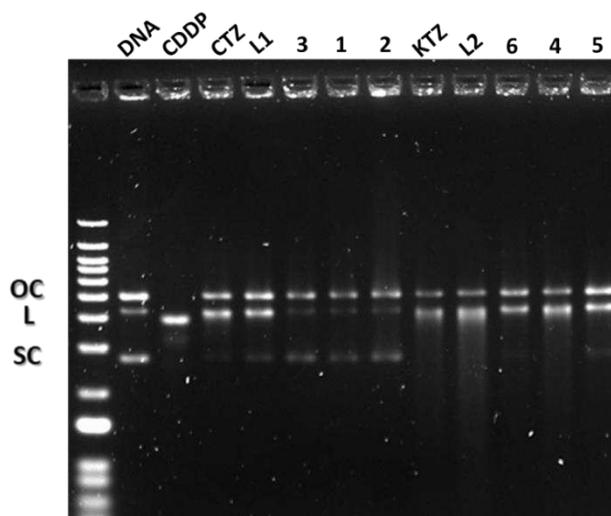
Em termos de mobilidade relativa através da matriz do gel, a forma OC tende a ser a mais lenta, uma vez que seu formato não é compacto como o SC, seguida pela forma L, que apresenta baixa mobilidade devido ao seu comprimento, resultando em certa retenção. Geralmente, a ordem de mobilidade é: $SC > L > OC$. No entanto, essa relação é constante apenas sob determinadas circunstâncias, sendo influenciada por fatores como o tamanho do poro, a corrente, o peso molecular, o pH e o tampão utilizados. Além disso, em situações em que o gel é corrido na presença de agentes de intercalação (BE), a Forma SC pode ser induzida a assumir a Forma OC devido à intercalação do corante nas bases nitrogenadas, o que reduz a mobilidade eletroforética da molécula (KELLETT *et al.*, 2019).

Dessa forma, a análise do gel de eletroforese no DNA plasmidial foi realizada para encontrar um possível alvo biológico, a fim de racionalizar as excelentes atividades citotóxicas e os índices de seletividade apresentados pelos compostos de Ag(I) em ensaios antiproliferativos. Portanto, todos os derivados de CTZ e KTZ foram incubados a $25 \mu \text{mol. L}^{-1}$ com DNA plasmídico circular pBR322 (100 ng) por 24h a 37°C e sua mobilidade eletroforética do gel foi monitorada em uma corrida a 70 mV por 2h seguida de imagem. A

cisplatina (CDDP), que é um conhecido ligante de DNA e um importante metalofármaco contra doenças cancerígenas, foi utilizada como controle positivo.

Conforme mostrado na **Figura 54**, observou-se que o DNA não parece ter sua mobilidade eletroforética alterada pela presença de derivados de CTZ, comparado com a amostra de DNA controle, sendo possível supor que estes compostos são improváveis clivadores do DNA do pBR322 – ao contrário do CDDP – já que nenhum deles interagiu significativamente com moléculas de DNA. No entanto, os derivados **KTZ** poderiam induzir uma presença moderada das formas círculo aberto (OC) e linear (L) do DNA, enquanto suprimiam a forma superenrolada (SC), o que poderia ser hipotetizado a partir de derivados **KTZ** contendo grupos mais polares, proporcionando interações notáveis com estruturas de DNA, porém não suficientemente fortes para clivar a biomolécula ou alterar sua mudança de mobilidade do gel.

Figura 54 - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 24h e 37°C de incubação com CDDP e os derivados CTZ e KTZ a 25 $\mu\text{mol. L}^{-1}$.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

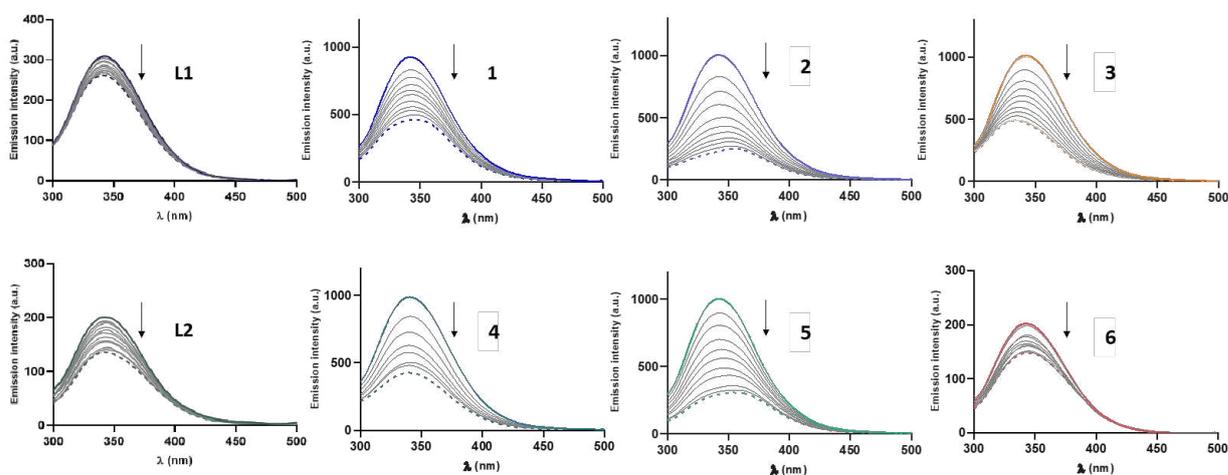
Em resumo, estes resultados indicam que as atividades anticancerígenas de CTZ e KTZ e seus derivados (**L1**, **L2** e complexos **1-6**) são mediadas por um mecanismo de ação distinto de outros complexos metálicos que têm como alvo o DNA.

4.5.4 Estudos de interação com BSA por titulações espectrofotométricas

Os íons de prata podem formar complexos fortes com uma variedade de biomoléculas contendo grupos tiol, como proteínas contendo cisteína ou metalotioneína. Portanto, as interações com o Cys-34 da albumina livre e exposto ao solvente podem fornecer informações valiosas sobre a absorção, biodisponibilidade e potenciais efeitos colaterais dos compostos de coordenação de prata (I) como agentes anticancerígenos (SHEN *et al.*, 2003).

Dessa forma, a titulação de BSA com os compostos investigados pareceu diminuir a banda de fluorescência de emissão a 340 nm, pelo menos em pequena extensão, como mostrado na **Figura 55**. Notam-se diferenças entre seus aspectos estruturais e suas interações com esta biomolécula.

Figura 55 - Espectros de emissão de BSA na concentração de 10 μM e comprimento de onda de excitação de 280 nm foram registrados na presença e ausência de ligantes **L1** e **L2**, bem como seus complexos **Ag(I) 1-6**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os resultados da fluorescência de emissão mostraram que os complexos de prata (I) são supressores mais eficazes do que os ligantes livres derivados do NHC, e isso também é traduzido nas baixas constantes de ligação obtidas a partir das equações de Stern-Volmer (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Constante de extinção (K_{sv}), constante de ligação (K_b) e número de locais de ligação (n) para ligantes **L1** e **L2** e seus compostos derivados de Ag (I) interagindo com BSA.

Composto	K_{sv} ($\cdot 10^5 M^{-1}$)	K_b ($\cdot 10^6 M^{-1}$)	n
L1	0,13	0,056	0,7
L2	4,0	0,014	0,9
1	0,6	0,01	0,9
2	2,1	3,0	0,8
3	0,7	0,03	0,9
4	0,8	1,7	0,8
5	2,1	3,0	0,8
6	0,3	0,4	0,9

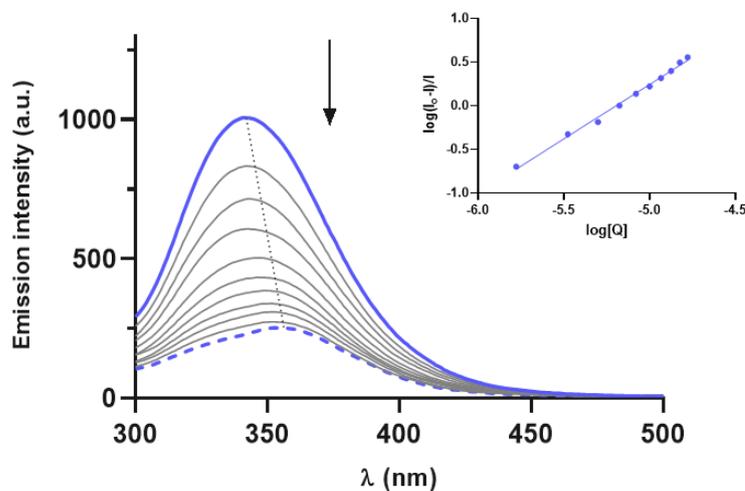
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O efeito do complexo **2** na intensidade de emissão de fluorescência BSA é mostrado na **Figura 56**. Os compostos Ag(I)-NHC carregados positivamente tiveram um efeito maior na diminuição da intensidade de emissão da proteína - cerca de 78% e 70% de extinção de emissão para **2** e **5**, respectivamente, enquanto os análogos não carregados (complexos **1** e **4**) extinguem apenas 50% da fluorescência nas mesmas condições. Isto é importante porque a estrutura da albumina tem um ponto isoelétrico em torno de 4,7 - 5,6, sugerindo que em condições fisiológicas a proteína tem carga negativa. Esta característica poderia levar a um aumento da atração de pequenas moléculas catiônicas com efeitos nas interações eletrostáticas e na afinidade de ligação (NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013).

Uma mudança na posição máxima da banda de emissão pode ocorrer por mudanças na hidrofobicidade e polaridade em torno da molécula cromófora. Tais resultados mostraram uma mudança batocrômica. Isto resultou das interações entre os complexos Ag(I) carregados positivamente e BSA, por exemplo, como mostrado na **Figura 56** para o complexo **2**, enquanto o pico máximo mudou de 340 nm para 356 nm. Segundo a literatura, isso pode indicar a presença de interações de curto alcance com Trp ou Tyr. BSA contém dois Trp, um está localizado no subdomínio IA (Trp-134) e outro na bolsa hidrofóbica do subdomínio IIB (Trp-212). O Cys-34 livre também está localizado nas proximidades do antigo (SURYAWANSHI *et al.*, 2016).

O ligeiro desvio para o azul observado com o complexo **3** de 340 nm para 334 nm pode estar relacionado a uma diminuição na polaridade ou a um aumento na hidrofobicidade em torno do resíduo Trp-212 localizado no local I (**Figura 56**) (NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013).

Figura 56 - A) Espectros de fluorescência de BSA com diversas concentrações do complexo **2**. $\lambda_{exc} = 280$ nm. B) Gráfico logarítmico duplo para a interação BSA: **3** em pH = 7,4 e 298 K.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

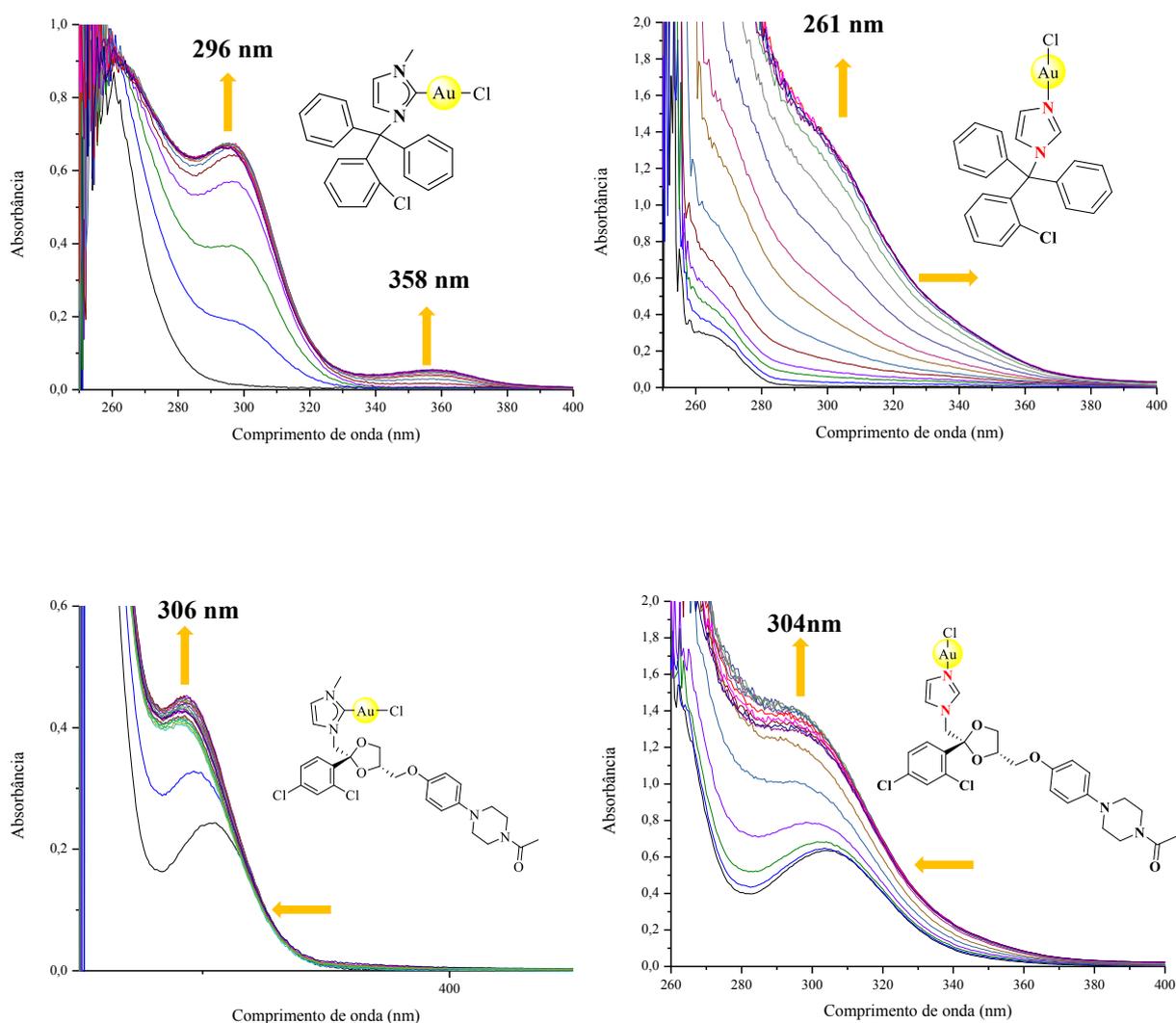
Esses resultados sugerem que a interação eletrostática (ver valores de K_b dos compostos carregados **2** e **5**, **Tabela 10**) desempenha um papel mais relevante na interação do complexo - BSA do que o resíduo de aminoácido Cys34. Isto confirma que estes complexos de prata são muito estáveis nestas condições. Algumas interações com aminoácidos isolados como moléculas como a N-acetil-L-cisteína podem confirmar esta hipótese em trabalhos futuros. É uma estratégia usada, por exemplo, para inferir sobre o alvo dos complexos de ouro (THOMAS *et al.*, 2020).

4.5.5 Estudos de interação com GSH por titulações espectrofotométricas

Sabe-se que a glutatona (GSH) é um alvo bem estabelecido no que se diz respeito a obtenção e ao estudo de substâncias antitumorais. Diversas substâncias que podem se ligar a essa biomolécula podem ter sua atividade antitumoral diminuída. Dessa forma, a fim de se avaliar o efeito dessas biomoléculas no potencial biológico dos compostos de ouro(I), foi avaliada a interação da GSH com os complexos metálicos **7-10**, realizada por meio da adição de sucessivas alíquotas de 10 μ L de uma solução aquosa contendo glutatona reduzida à cubeta do branco e a cubeta de quartzo contendo uma solução de concentração 10^{-3} mol. L^{-1} do composto de interesse em dimetilsulfóxido, já que ambos os compostos se mostraram pouco solúveis em água destilada. Um volume total de 150 μ L de GSH foi adicionado em ambas as

cubetas. Os espectros de absorbância *versus* comprimento de onda dos complexos **7-10** estão na **Figura 57**.

Figura 57 - Espectros de absorção na região do UV-Visível para os complexos **7-10**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Nesses espectros, podemos observar que todos os complexos apresentaram hiper Cromismo nos sinais de absorbância, ou seja, com o acréscimo das alíquotas de GSH houve um aumento no coeficiente de absorção, tal como indicado pelas setas presentes em ambos os espectros. Além disso, os complexos derivados do KTZ (**9** e **10**) apresentaram efeito hipsocrômico, enquanto o composto de coordenação derivado do CTZ (**8**) apresentou efeito

batocrômico. Já no espectro do complexo organometálico **7**, com a adição da GSH, podemos observar o surgimento de uma nova banda, na região do ultravioleta, em 358 nm.

Também foram calculadas as constantes de interação (K_b) para os complexos de Au(I) (**Tabela 11**). Os compostos apresentaram valores de K_b na faixa de $10^3 - 10^5$ o que indica que há uma forte interação entre a glutatona e os compostos de ouro estudados.

Tabela 11 - Dados obtidos das titulações espectroscópicas dos compostos com a GSH.

Composto	K_b (mol. L ⁻¹) ⁻¹	λ (nm)
7	4,29x10 ⁴	296
8	1,67 x10 ³	261
9	5,50x10 ⁴	306
10	1,00x10 ⁵	306

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tais resultados sugerem que os complexos metálicos de Au(I) reagem rapidamente com a glutatona, provavelmente formando complexos estáveis com este tripeptídeo devido a saída de um dos ligantes e a coordenação do íon metálico ao enxofre do tiol. Tais mudanças estruturais poderiam vir a afetar a estabilidade dos compostos na célula ou indicar uma forte reatividade deles frente a diversas outras enzimas, tais como a TrxR que também contém cisteínas em sua estrutura (KREZEL, BAL, 1999).

Vale ressaltar que esse estudo fornece apenas informações preliminares sobre a atividade dos compostos com esse tripeptídeo. Experimentos mais detalhados para uma avaliação mais ampla da interação entre os compostos e a glutatona são necessários.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados dois sais imidazólicos, os ligantes **L1** e **L2**, derivados das reações entre os azóis CTZ e KTZ com o iodometano. Foram também obtidos os complexos organometálicos de prata(I) por meio da complexação desses derivados com o óxido de prata(I) $[Ag(L1)(I)] \cdot H_2O$ (**1**), $[Ag(L1)_2]I \cdot 4CH_2Cl_2$ (**2**), $[Ag(L2)(I)]$ (**4**) e $[Ag(L2)_2]I \cdot 2CH_2Cl_2$ (**5**) e os complexos de prata(I) oriundos das reações entre os azóis e o nitrato de prata(I), os compostos $[Ag(CTZ)_2]NO_3$ (**3**) e $[Ag(KTZ)_2]NO_3$ (**6**), com bons rendimentos.

Foram também sintetizados os compostos organometálicos de ouro(I) $[Au(L1)(Cl)] \cdot 2CH_2Cl_2$ (**7**) e $[Au(L2)(Cl)]$ (**9**) obtidos por meio de reações de transmetalção entre os precursores de Ag(I) (**1** e **4**) com o cloro(tetrahidrotiofeno)ouro(I) e os complexos $[Au(CTZ)(Cl)]$ (**8**) e $[Au(KTZ)(Cl)]$ (**10**) oriundos das reações entre os azóis e o mesmo sal de ouro(I), com rendimentos moderados.

Por meio da utilização de todas as técnicas de caracterização disponíveis, tais como espectroscopia na região do UV-Vis., infravermelho, massas, RMN de 1H e ^{13}C , análise elementar e difração por raios X (complexo **7**), tais compostos puderam ser caracterizados e tiveram sua estrutura elucidada.

Os estudos de citotoxicidade investigaram o efeito desses compostos em diferentes células tumorais e não tumorais, e os resultados revelaram que o complexo de prata(I) derivado do ligante L1 (**1**), se mostrou dez vezes mais ativo que o seu ligante de origem frente as células de adenocarcinoma metastático de mama humana, uma linhagem bastante agressiva. Este mesmo composto também foi pelo menos quinze vezes mais ativo contra células de carcinoma mamário murino (4TI). Já o complexo de ouro(I) (**7**) se mostrou seis vezes mais ativo que o seu ligante de origem frente as células MDA-MB-231. Enquanto isso, **L2** e seus complexos de Ag(I) **4** e **5** exibiram atividade citotóxica significativa. Além disso, estes compostos demonstraram excelente seletividade para células de melanoma da pele (B16-F1), com até 10 vezes mais atividade que as células normais. Tais resultados nos levam a constatar que o tipo de coordenação ao íon metálico é um fator importante no que se diz respeito a atividade biológica dos compostos, nas linhagens estudadas.

Os estudos de interação dos ligantes e complexos metálicos com o DNA foram realizados utilizando-se as técnicas: titulação espectrofotométricas, viscosidade e eletroforese (somente para os compostos de prata(I)). Por meio desses ensaios foi possível observar que o

DNA não é o alvo desses compostos e que, dessa forma, a citotoxicidade dessas moléculas pode estar relacionada a outro alvo biomolecular.

Os estudos de interação com BSA, conduzidos por meio de titulações espectrofotométricas, revelaram que os complexos de Ag(I) apresentam interação eletrostática com essa proteína. Isso sugere a possibilidade de interação, transporte ou retenção desses compostos pela BSA. Já os experimentos de titulação espectrofotométrica realizados com GSH e os complexos de ouro(I) (7-10) indicam uma forte interação entre esses compostos e a glutathione. Essa observação sugere uma reação rápida dos complexos metálicos de Au(I) com essa biomolécula, impactando potencialmente a estabilidade desses compostos na célula. Além disso, a interação pronunciada com a glutathione sugere uma elevada reatividade em relação a outras enzimas, tais como a TrxR, que também contém cisteínas em sua estrutura.

Como frutos desse trabalho, além de gigantesco enriquecimento profissional e pessoal, foram publicados um review e um artigo científico (**Apêndice F**), enquanto outro se encontra em produção.

REFERÊNCIAS

- ABDALBARI, F. H., TELLERIA, C. M. The gold complex auranofin: new perspectives for cancer therapy, **Discover Oncology**, v. 12, 2021.
- ACHAR, G. *et al.* Sterically modulated silver(I) complexes of coumarin substituted benzimidazol-2-ylidenes: Synthesis, crystal structures and evaluation of their antimicrobial and antitumor cancer potentials. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 183, p. 43–57, 2018.
- AGUILAR-JIMÉNEZ, Z. *et al.* Development and In Vitro and In Vivo Evaluation of an Antineoplastic Copper(II) Compound (Casiopeina III-ia) Loaded in Nonionic Vesicles Using Quality by Design, **Int. J. Mol. Sci.** v. 23, p., 12756, 2022.
- ALESSIO, E.; MESSORI, L. NAMI-A and KP1019/1339, Two Iconic Ruthenium Anticancer Drug Candidates Face-to-Face: A Case Story in Medicinal Inorganic Chemistry. **Molecules**, v. 24, 2019.
- ANILANMERT, B., 2012, Therapeutic Organometallic Compounds', in L. Gallelli (ed.), **Pharmacology**, IntechOpen, London. 10.5772/33858.
- ARDUENGO, A. J.; HARLOW, R. L.; KLINE, M. A stable crystalline carbene. **J. Am. Chem. Soc.** v. 113, p. 361-363, 1991.
- ASIF, M. *et al.* Human colon cancer targeted pro-apoptotic, anti-metastatic and cytostatic effects of binuclear Silver(I)-N-Heterocyclic carbene (NHC) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 177-187, 2016.
- AZEVEDO-FRANÇA, J. A. *et al.* Antifungal promising agents of zinc(II) and copper(II) derivatives based on azole drug. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 219, p. 111401, 2021.
- AZEVEDO-FRANÇA, J. A. *et al.* Synthesis, characterization, and biological evaluation of hybrid copper(II) complexes containing azole drugs and planar ligands against neglected diseases. **New J. Chem.**, 2024, v. 219, p. 111401, 2024.
- BANTI, C. N.; HADJIKAKOU, S. K. Anti-proliferative and anti-tumor activity of silver(I) compounds. **Metallomics**. v. 6, p. 569, 2013.
- BARAN, E. Metalofármacos: Una nueva perspectiva para la farmacología y la medicina. **Anales Acad. Nac. de Cs. Ex., Fís. y Nat**, v. 66, p. 5–21, 2014.
- BARNARD, P. J. *et al.* Mitochondrial permeability transition induced by dinuclear gold(I) carbene complexes: potential new antimitochondrial antitumor agents. **Journal of Inorganic Chemistry**, v. 98, p. 1642–1647, 2004.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**. v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.

BIEBRICHER, A. S. *et al.* The impact of DNA intercalators on DNA and DNA-processing enzymes elucidated through force-dependent binding kinetics. **Nature Communications**. v. 6. p. 1-12, 2015.

BOUCHÉ, M. *et al.* Platinum(IV) N-heterocyclic carbene complexes: their synthesis, characterisation and cytotoxic activity. **Dalton Trans**, v. 45, p. 11362–11368, 2016.

BUJACZ, A. Structures of bovine, equine and leporine serum albumin. **Acta Cryst. D68**, p. 1278–1289, 2012.

BUTLER, J.; HOEY, B. M.; Reactions of glutathione and glutathione radicals with benzoquinones. **Biology and Medicine of Free Radicals**, v. 12, p. 337-345, 1992.

CATALÁN, M.; MONTEJO, J. C. Antifúngicos sistémicos. Farmacodinamia y farmacocinética. **Rev Iberoam Micol**. v. 23, p. 39-49, 2006.

CERAMELLA, J. *et al.* Novel Au Carbene Complexes as Promising Multi-Target Agents in Breast Cancer Treatment, **Pharmaceuticals (Basel)**. v. 15, p. 507, 2022.

CHAVES, J. D. S. *et al.* Synthesis, characterization, cytotoxic and antitubercular activities of new gold(I) and gold(III) complexes containing ligands derived from carbohydrates. **Biometals**. v. 28, p. 845-860, 2015.

CHAVES, J. D. S. *et al.* Novel gold(I) complexes with 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione and phosphine as potential anticancer and antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 127, p. 727-739, 2017.

CHEN, C. *et al.* Synthesis, Structure, Biological Evaluation, and Catalysis of Two Pyrazole-Functionalized NHC–Ru^{II} Complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2017, p. 616-622, 2017.

CHOO, K, B. *et al.* Palladium complexes of bidentate pyridine N-heterocyclic carbenes: Optical resolution, antimicrobial and cytotoxicity studies. **Appl Organometal Chem**, v. 32, p. 1-13, 2018.

COLINA-VEGAS, L. *et al.* Ru(II)/clotrimazole/diphenylphosphine/bipyridine complexes: Interaction with DNA, BSA and biological potential against tumor cell lines and *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 162, p. 135–145, 2016.

COLINA-VEGAS, L. *et al.* Anti-proliferative and anti-migration activity of arene-ruthenium(II) complexes withazole therapeutic agents. **Inorganics**, v. 6, p. 132, 2018.

COLINA-VEGAS, L.; VILLARREAL, W.; NAVARRO, M. Chapter 5 - Copper(I)–phosphine complexes: a promising approach in the search for antitumor agents. **Copper(I) Chemistry of Phosphines, Functionalized Phosphines and Phosphorus Heterocycles**. p. 109-143, 2019.

COLMENAREJO, G. ALVAEZ-PEDRAGLIO, A.; LAVANDERA, J. L. Cheminformatic Models to Predict Binding Affinities to Human Serum Albumin. **J. Med. Chem.** v. 44, p. 4370 – 4378, 2001.

- CONDÉ, C. A. S. R. *et al.* Synthesis, characterization and antileishmanial activity of copper(II) and zinc(II) complexes with diamine ligands. **Transition Metal Chemistry**, v. 47, p. 147–156, 2022.
- CROWLEY, P. D., GALLAGHER, H. C. Clotrimazole as a pharmaceutical: Past, present and future. **J. Appl. Microbiol.**, v. 117, n. 3, p. 611-7, 2014.
- CURRAN, D. *et al.* Novel Anticancer NHC*-Gold(I) Complexes Inspired by Lepidiline A, **Molecules**, v. 25, p. 3474, 2020.
- DAUBIT, I. M. *et al.* Unveiling Luminescent Ir^I and Rh^I N-Heterocyclic Carbene Complexes: Structure, Photophysical Specifics, and Cellular Localization in the Endoplasmic Reticulum. **Chem. Eur. J.**, v. 27, p. 6783-6794, 2021.
- DE ALMEIDA, A. M. *et al.* Lipophilic gold(I) complexes with 1,3,4-oxadiazol-2-thione or 1,3-thiazolidine-2-thione moieties: synthesis and their cytotoxic and antimicrobial activities. **Biometals**, v. 30, p. 841-857, 2017.
- DE SOUZA, C. C. *et al.* Silver and copper-benzimidazole derivatives as potential antiparasitic metallodrugs: Synthesis, characterization, and biological evaluation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 239, p. 112047, 2023.
- DELGADO, G.; CONDÉ, C.; SANTOS, H.; NAVARRO, M. Compostos quimioterápicos de ouro: uma visão geral dos complexos anticâncer de Au(I/III) em relação à estrutura do ligante. **Química Nova**, v. 43, p. 1104-1124, 2020.
- DOS SANTOS, P. V. P. *et al.* Promising Ag(I) complexes with N-acylhydrazones from aromatic aldehydes and isoniazid against multidrug resistance in tuberculosis. **Journal of Molecular Structure**, v. 1234, p. 130193, 2021.
- DULFOUR, C.; DANGLES, O. Flavonoid–serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy, **BBA - General Subjects** v. 1721, p. 164-173, 2005.
- EGLY, J. *et al.* Synthesis, Structural Characterization and Anti-Proliferative Activity of (κ^1 -C)- and (κ^2 -C,S)-Pt^{II} Complexes Bearing Thioether- Functionalized N-Heterocyclic Carbenes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 159-166, 2018.
- EKINCI, O. *et al.* Synthesis and biological evaluation of Au-NHC complexes, **Appl Organomet Chem**. v. 36, p. 1-19, 2022.
- FARRELL, N. P. Multi-platinum anti-cancer agents. Substitution-inert compounds for tumor selectivity and new targets. **Chemical Society Reviews**, n. 44, p. 8773–8785, 2015.
- FONTES, A. P.; CÉSAR, E.T.; BERALDO, H. A Química inorgânica na terapia do câncer. **Química Nova na Escola**, v. 6, p. 2–7, 2005.
- FONTES, A. P., SILVA, H. Compostos de platina em quimioterapia do câncer: histórico, mecanismo de ação, resistência, incorporação em lipossomas e atualidades. In: FONTES, A.

P. S., COSTA, L. A. S., HYARIC, M. L., DINIZ, R. **Química de substâncias Bioativas: obtenção, planejamento e análise**. 1 ed. Juiz de Fora: Editora UFJF, 2017, p. 164-187.

GARCIA, A. *et al.* Novel antitumor adamantane–azole gold(I) complexes as potential inhibitors of thioredoxin reductase. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 21, p. 275-292, 2016.

GUARRA, F. *et al.* Cytotoxic Ag(I) and Au(I) NHC-carbenes bind DNA and show TrxR inhibition. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 205, p. 110998, 2020.

GULZAR, S. *et al.* Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity of Au(I) carbene complexes, **Inorganic Chemistry Communications**, v. 148, p. 110351, 2023.

HACKENBERG, F. *et al.* Synthesis and biological evaluation of N-heterocyclic carbene–silver(I) acetate complexes derived from 4,5-ditolyl-imidazole. **Inorganica Chimica Acta**, v. 395, p. 135–144, 2013.

HARTINGER, C. G. *et al.* From bench to bedside – preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 891–904, 2006.

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

HERO, T. *et al.* The Triple-negative Breast Cancer Cell Line MDA-MB 231 Is Specifically Inhibited by the Ionophore Salinomycin, **Anticancer Research**, v. 39, p. 2821-2827, 2019.

HETTMANCZYK, L.; Schmid, B.; Hohloch, S. SARKAR, B. Palladium(II)-Acetylacetonato Complexes with Mesoionic Carbenes: Synthesis, Structures and Their Application in the Suzuki-Miyaura Cross Coupling Reaction. **Molecules**, v. 21, n.11, p.1-13, 2016.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA; A. Glutathiona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, v. 31, n. 5, p.1170-1179, 2008.

IACOPETTA, D. *et al.* N-Heterocyclic Carbene-Gold(I) Complexes Targeting Actin Polymerization. **Appl. Sci.**, v. 11, p. 5626, 2021.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Câncer**. Disponível em: < <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer> >. Acesso em: 12 jul 2023.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: **INCA**, 2022. Disponível em: < <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf> >. Acesso em: 12 jun 2023.

- INIGUEZ, E. *et al.* Metal–drug synergy: new ruthenium(II) complexes of ketoconazole are highly active against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and nontoxic to human or murine normal cells. **J. Biol. Inorg. Chem.** v. 18, p. 779-790, 2013.
- KANDAGAL, P. B. *et al.* Study of the interaction of an anticancer drug with human and bovine serum albumin: Spectroscopic approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 393–399, 2006.
- KARACA, E. O. *et al.* Platinum (II) N-heterocyclic carbene complexes: Synthesis, characterization and cytotoxic properties. **Appl Organometal Chem**, v. 33, P. 1-11, 2019.
- KARACA, O. *et al.* Characterization of Hydrophilic Gold(I) N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes as Potent TrxR Inhibitors Using Biochemical and Mass Spectrometric Approaches. **Inorganic Chemistry**, v. 56, p. 14237-14250, 2017.
- KELLETT, A. *et al.* Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions. **Chem. Soc. Rev.**, v. 48, p. 971, 2019.
- KENNEDY, L. *et al.*, Role of Glutathione in Cancer: From Mechanisms to Therapies. **Biomolecules**, v. 10, p. 1429, 2020.
- KREZEL, A.; BAL, W. Coordination chemistry of glutathione. **Acta Biochimica Polonica**, v. 46, p. 567-580, 1999.
- LANSDOWN, A. B. G. Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use. **Curr Probl Dermatol.**, v. 33, p. 17-34, 2006.
- LEE, S. Y., KIM, C. Y., NAM, T. G. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives. **Drug Des Devel Ther.** v. 14, p. 5375-5392, 2020.
- LEHRER, S. S. Solute perturbation of protein fluorescence. The quenching of the tryptophyl fluorescence of model compounds and of lysozyme by iodide ion. **Biochemistry**, v. 10, p. 3254-3263, 1971.
- LEIJEN, S. *et al.* Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy. **Invest New Drugs**, v. 33, n. 1, p. 201-14, 2015.
- LIANG, X. *et al.* Recent advances in the medical use of silver complex. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 62-80, 2018.
- MACEDO, T. S. *et al.* Chloroquine-containing organoruthenium complexes are fast-acting multistage antimalarial agents. **Parasitology**, v. 143, n. 12, p. 1543–1556, 2016.
- MARTÍNEZ, A. *et al.* Searching for new chemotherapies for tropical diseases: ruthenium-clotrimazole complexes display high in vitro activity against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and low toxicity toward normal mammalian cells. **J. Med. Chem.** v. 55, p. 3867-3877, 2012.

MEDICI, S. *et al.* Silver coordination compounds: A new horizon in medicine. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 327-328, p. 349–359, 2016.

MOHAMED, H. A. *et al.* Silver(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes Derived from Clotrimazole: Antiproliferative Activity and Interaction with an Artificial Membrane-Based Biosensor. **Organometallics**, v. 39, p. 1318–1331, 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, n. 65, p. 55-63, 1983.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds** Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry. 2v. In: NAKAMOTO, K. Applications in Coordination Chemistry. 6. ed. New Jersey: Wiley, 2009. p. 1-274.

NASR, I. S. A. *et al.* Evaluation of Ruthenium(II) N-Heterocyclic Carbene Complexes as Enzymatic Inhibitory Agents with Antioxidant, Antimicrobial, Antiparasitica and Antiproliferative Activity. **Molecules**, v. 28, p. 1359, 2023.

NAVARRO, M. *et al.* Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases.: Part 5. Synthesis and characterization of new Ru(II) and Ru(III) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*. **Polyhedron**, v. 19, n. 22–23, p. 2319-2325, 2000.

NAVARRO, M. *et al.* Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 6. Synthesis and Characterization of New Copper(II) and Gold(I) Clotrimazole and Ketoconazole Complexes and Evaluation of Their Activity against *Trypanosoma cruzi*. **Inorg. Chem.**, v. 40, n. 27, p. 6879–6884, 2001.

NAVARRO, M. *et al.* In vitro Activities of Transition Metal Derivatives of Ketoconazole and Clotrimazole against a Wild Type Strain of *Saccharomyces cerevisiae* in Absence or Presence of Human Neutrophils. **Arzneimittel-Forschung**, v. 54, p. 752-756, 2004.

NAVARRO M. *et al.* Synthesis and characterization of new palladium-clotrimazole and palladium-chloroquine complexes showing cytotoxicity for tumor cell lines in vitro. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 152-157, 2006.

NAVARRO M. *et al.* Evaluación in vitro de algunas actividades biológicas del complejo clotrimazol-oro(I)-trifenilfosfina en leucocitos humanos: una comparación con auranofina, **Salus**, v. 12, p. 216-232, 2009.

NAVARRO, M. *et al.* Synthesis, characterization, DNA interaction studies and anticancer activity of platinum–clotrimazole complexes. **Transit. Met. Chem.**, v. 34, p. 869–875, 2009.

NAVARRO, M. *et al.* Metal-based drugs for malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis: recent achievements and perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23–24, p. 1070–1078, 2010.

NAVARRO, M. *et al.* Synthesis and anticancer activity of gold(I)-chloroquine complexes. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, p. 220-229, 2013.

NAVARRO, M.; JUSTO, R. M. S.; DELGADO, G. Y. S.; VISBAL, G. Metallodrugs for the Treatment of Trypanosomatid Diseases: Recent Advances and New Insights. **Current pharmaceutical design**, v. 27, p. 1763-1789, 2021.

NAVEENRAJ, S. ANANDAN, S. Binding of serum albumins with bioactive substances - Nanoparticles to drugs, **J. Photochem. Photobiol: Photochemistry Reviews**. n. 14, p. 53-71, 2013.

NESTEROV, V. *et al.* NHCs in Main Group Chemistry, **Chem. Rev.** v. 118, p. 9678–9842, 2018.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer. **Rev. Virtual Quim**, v. 3, n. 3, p. 196-209, 2011.

NUNES, J. H. B. *et al.* Beyond silver sulfadiazine: a dive into more than 50 years of research and development on metal complexes of sulfonamides in medicinal inorganic chemistry, **Coord. Chem. Rev.** v. 490, 2023.

PASTRE, J. C.; CORREIA, C. R. D. Catalisadores contendo carbenos *N*-heterocíclicos como ligantes: propriedades, sínteses, aplicações e comparação com outros ligantes. **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, 872-884, 2008.

PATIL, S.A. *et al.* *N*-heterocyclic carbene-metal complexes as bio-organometallic antimicrobial and anticancer drugs, an update (2015–2020), **Future Med. Chem.** v.12, p. 2239-2275, 2020.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 2. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA, C. S. *et al.* A Novel Hybrid of Chloroquine and Primaquine Linked by Gold(I): Multitarget and Multiphase Antiplasmodial Agent. **Chem Med Chem**. v. 15, p. 1–18, 2020.

PORCHIA, M. *et al.* New insights in Au-NHCs complexes as anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 146, p. 709-746, 2018.

QIU, H., GILROY, J. B., MANNERS, I. DNA-induced chirality in water-soluble poly(cobaltoceniumethylene). **Chemical Communications**, v. 49, p. 42-44, 2013.

QUERINO, A. L. A. *et al.* Organogold(III)-dithiocarbamate compounds and their coordination analogues as anti-tumor and anti-leishmanial metallodrugs. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 247, p. 112346, 2023.

QUEZADA, C. A. *et al.* The Potential Use of Rhodium *N*-Heterocyclic Carbene Complexes as Radiopharmaceuticals: The Transfer of a Carbene from Ag(I) to RhCl₃.3H₂O. **Organometallics**, v. 23, p. 4846-4848, 2004.

REDDY, A. *et al.* Glycosylated metal chelators as anti-parasitic agents with tunable selectivity. **Dalton Trans**, v. 46, n. 16, p. 5297–5307, 2017.

ROBLES-ESCAJEDA, E. *et al.* Analysis of the cytotoxic effects of ruthenium–ketoconazole and ruthenium–clotrimazole complexes on cancer cells, **Cell Biol. Toxicol.**, v. 29, p. 431-443, 2013.

RODER, C.; THOMSON, M. J. Auranofin: Repurposing an Old Drug for a Golden New Age. **Drugs R D**, v. 15, p. 13-20, 2015.

ROSENBERG, B., VANCAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer Res**, v. 30, p.1799-1802, 1970.

RUIZ-AZUARA, L., BRAVO-GOMEZ, M. E. Copper compounds in cancer chemotherapy, **Curr. Med. Chem**, v. 17, p. 3606–3615, 2010.

SCATTOLIN, T. *et al.* Synthesis of new allyl palladium complexes bearing purine-based NHC ligands with antiproliferative and proapoptotic activities on human ovarian cancer cell lines. **Dalton Trans**, v. 47, p. 13616–13630, 2018.

SHEN, X. C. *et al.* Studies on the interaction between Ag⁺ and human serum albumin, **J. Inorg. Biochem.** v. 95, p. 124-130, 2003.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

SINGH, M. K. *et al.* Copper salisylaldoxime (CuSAL) imparts protective efficacy against visceral leishmaniasis by targeting Leishmania donovani topoisomerase IB. **Experimental Parasitology**, v. 175, p. 8–20, 2017.

SLIMANI, I. *et al.* Synthesis, characterization, biological determination and catalytic evaluation of ruthenium(II) complexes bearing benzimidazole-based NHC ligands in transfer hydrogenation catalysis. **New J. Chem.**, v. 44, p. 5309-5323, 2020.

SOUZA, G. D. *et al.* Prata: Breve histórico, propriedades e aplicações. **Educación química**, v. 24. p. 14-16, 2013.

STRASBERG, R.M. *et al.* Tumor apoptosis induced by ruthenium(II)-ketoconazole is enhanced in nonsusceptible carcinoma by monoclonal antibody to EGF receptor, **Int. J. Cancer**, v. 112, p. 376-384, 2004.

STROPPIA, P. H. F. *et al.* High efficient Light-Emitting Electrochemical Cells based on ionic liquids 1,2,3-triazolium. **Organic Electronics**, v. 73, p. 172–181, 2019.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. **Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries**. CA: A Cancer Journal for Clinicians v. 71, p. 209-249, 2021.

SURYAWANSHI, V. D. *et al.* Spectroscopic analysis on the binding interaction of biologically active pyrimidine derivative with bovine serum albumin, **J. Pharm. Anal.** v. 6, p. 56-63, 2016.

SVAHN, N. *et al.* The Important Role of the Nuclearity, Rigidity, and Solubility of Phosphane Ligands in the Biological Activity of Gold(I) Complexes. **Chemistry A European Journal**, v. 24, p. 14654-14667, 2018.

TAPANELLI, S. *et al.* Novel metalloantimalarials: Transmission blocking effects of water-soluble Cu(I), Ag(I) and Au(I) phosphane complexes on the murine malaria parasite *Plasmodium berghei*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 166, p. 1–4, 2017.

TENG, Q. *et al.* Synthesis, Characterization, and Catalytic Study of Caffeine-Derived N-heterocyclic Carbene Palladium Complexes. **Organometallics**, v. 41, n. 2, p. 161–168, 2022.

THAM, M. J. R., BABAK, M. V., ANG, W. H. PlatinER: A Highly Potent Anticancer Platinum(II) Complex that Induces Endoplasmic Reticulum Stress Driven Immunogenic Cell Death. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 59, p. 19070-19078, 2020.

THOMAS, S. R. *et al.* Exploring the Chemoselectivity towards Cysteine Arylation by Cyclometallated Au(III) Compounds: New Mechanistic Insights, **ChemBioChem**. v. 21, p. 3071-3076, 2020.

TIALIOU, A. *et al.* Current Developments of N-Heterocyclic Carbene Au(I)/Au(III) Complexes toward Cancer Treatment. **Biomedicines**, v. 10, p. 1417, 2022.

TUITE, E., LINCOLN, P., NORDÉN, B. Photophysical evidence that $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ intercalate DNA from the minor groove. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, p. 239-240, 1997.

TUNES, L. *et al.* GoldLeish: novel phosphine-derived gold(I) complexes against antimony resistant and -sensitive *Leishmania* parasites as drug candidates for leishmaniasis treatment. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 73, p. 145, 2018.

USON, R. *et al.* "(Tetrahydrothiophene)Gold(I) or Gold(III) Complexes". **Inorganic Syntheses**. v. 26, p. 85–91, 1989.

VAIDYANATHAN, V. G., NAIR, B. U. Synthesis, characterization and electrochemical studies of mixed ligand complexes of ruthenium(II) with DNA. **Dalton Transactions**, v. 120, p. 2842-2848, 2005.

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

VILLARREAL, W. *et al.* Copper(I)–Phosphine Polypyridyl Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/HSA Binding Study, and Antiproliferative Activity. **Inorganic Chemistry**. v.56, p. 3781-3793, 2017.

XIONG, Y. *et al.* S-Glutathionylation: From Molecular Mechanisms to Health Outcomes. **Antioxidants & Redox Signaling**, v.15, 2011.

WAN, P. K. *et al.* Platinum(II) N-heterocyclic carbene complexes arrest metastatic tumor growth. **PNAS**, v118, p. 1-19, 2021.

WANG, H. H. *et al.* Application of Gold in Biomedicine: Past, Present and Future. **International Journal of Gerontology**, v. 6, p. 1-4, 2012.

WANG, N. *et al.* Spectroscopic studies on the interaction of efonidipine with bovine serum albumin. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.41, p. 589-595, 2008.

WANZLICK, H. W.; SCHONHERR, H. J. Direct Synthesis of a Mercury Salt-Carbene Complex. **Angew. Chem., Int. Ed.**, 7, 141, 1968.

WILD, C. P., WEIDERPASS, E., STEWART, B. W., editors (2020). **World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://publications.iarc.fr/586>. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO.

WILLIAMS, D. B. G., LAWTON, M. Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants, **J. Org. Chem.** v. 75, p. 8351–8354, 2010.

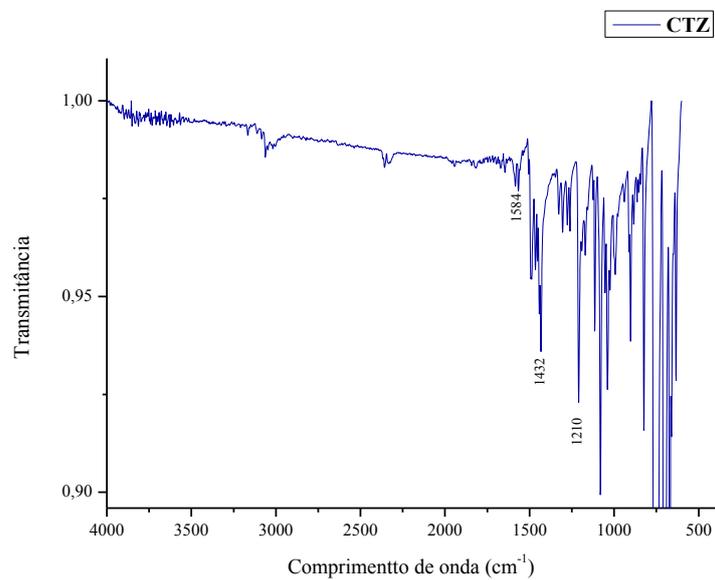
YU, L. *et al.* Systematic interaction of plasma albumin with the efficacy of chemotherapeutic drugs, **BBA – Rev. Cancer** v. 1877, p. 188655, 2022.

ZANG, C. *et al.* Pharmacomodulation on Gold-NHC complexes for anticancer applications – is lipophilicity the key point? **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 320-332, 2018.

ZOU, T. *et al.* Anticancer metal-N-heterocyclic carbene complexes of gold, platinum and palladium. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 43, p. 30–36, 2018.

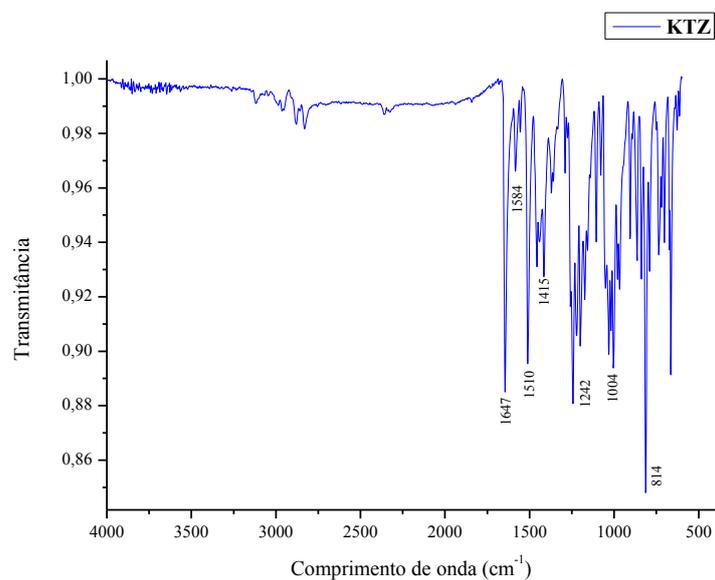
APÊNDICE A - ESPECTROS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Figura 58 - Espectro de IV do ligante CTZ.



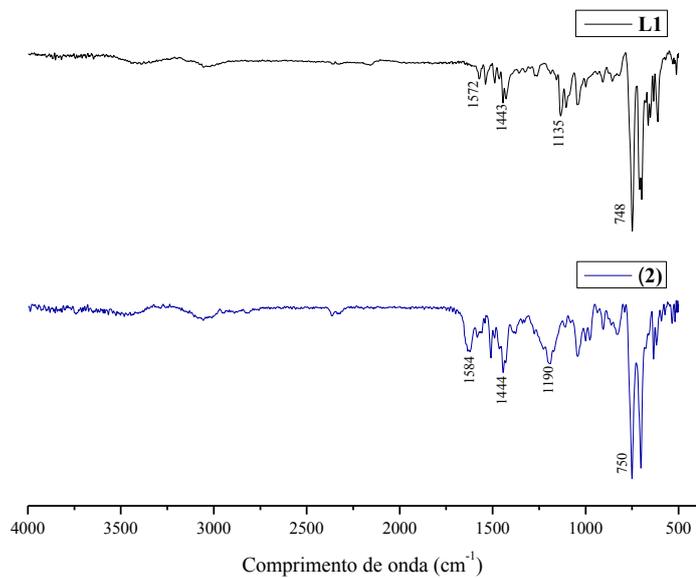
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 59 - Espectro de IV do ligante KTZ.



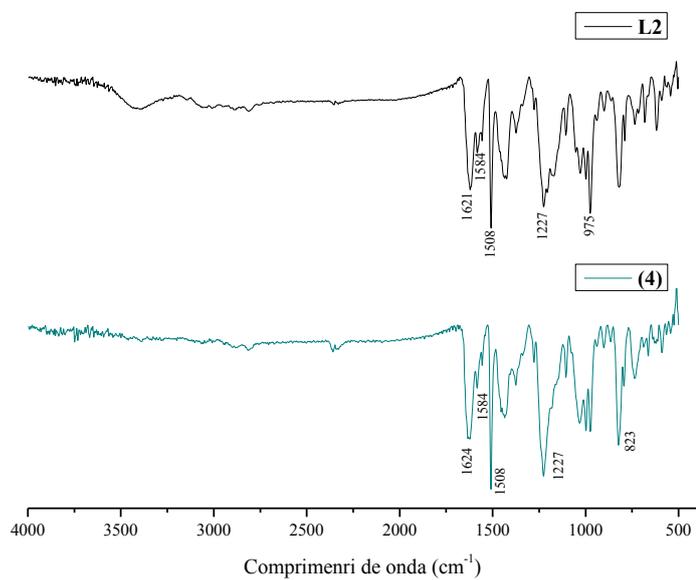
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 60 - Espectro de IV do complexo **2** em comparação com o ligante **L1**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

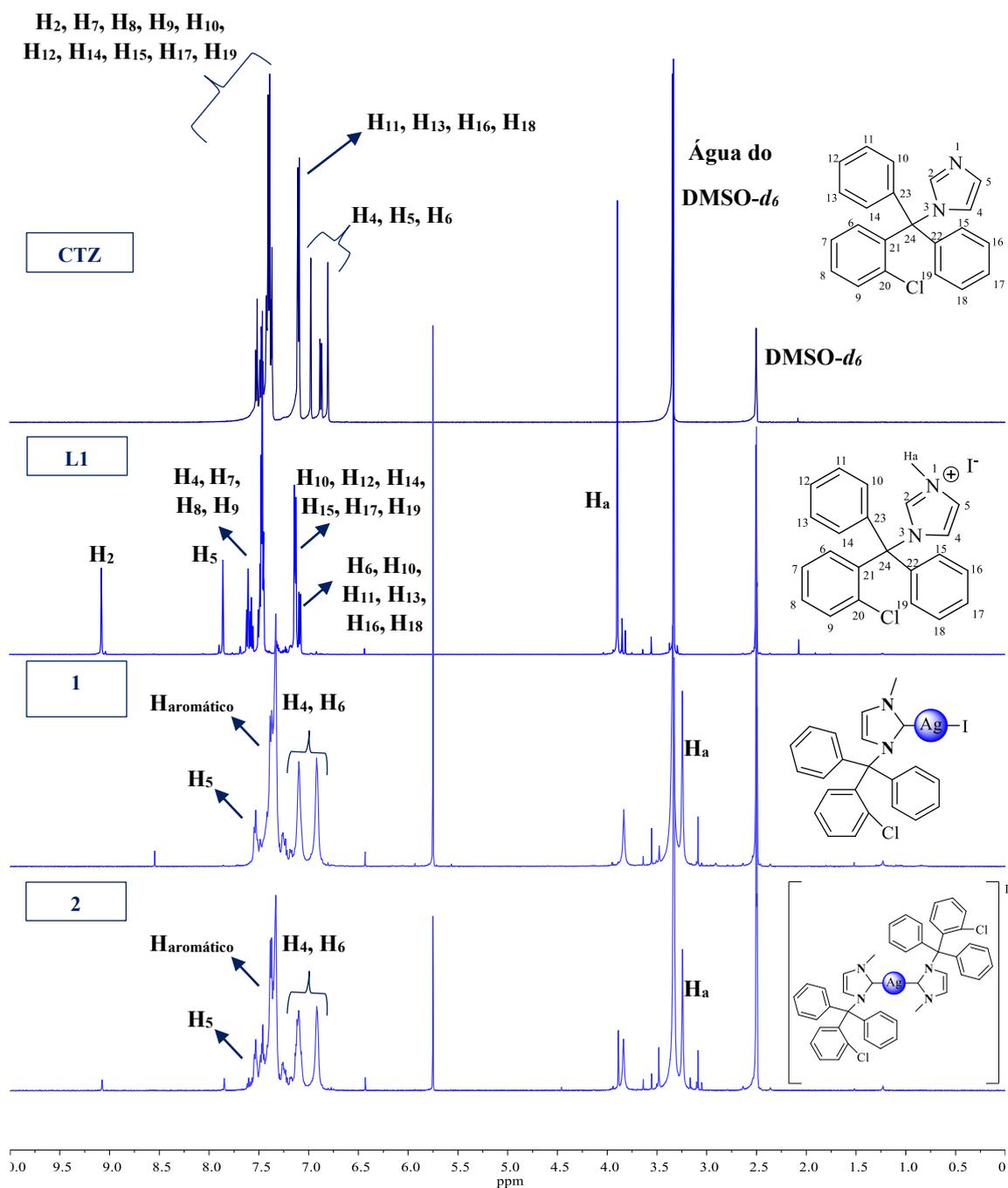
Figura 61 - Espectro de IV do complexo **5** em comparação com o ligante **L2**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

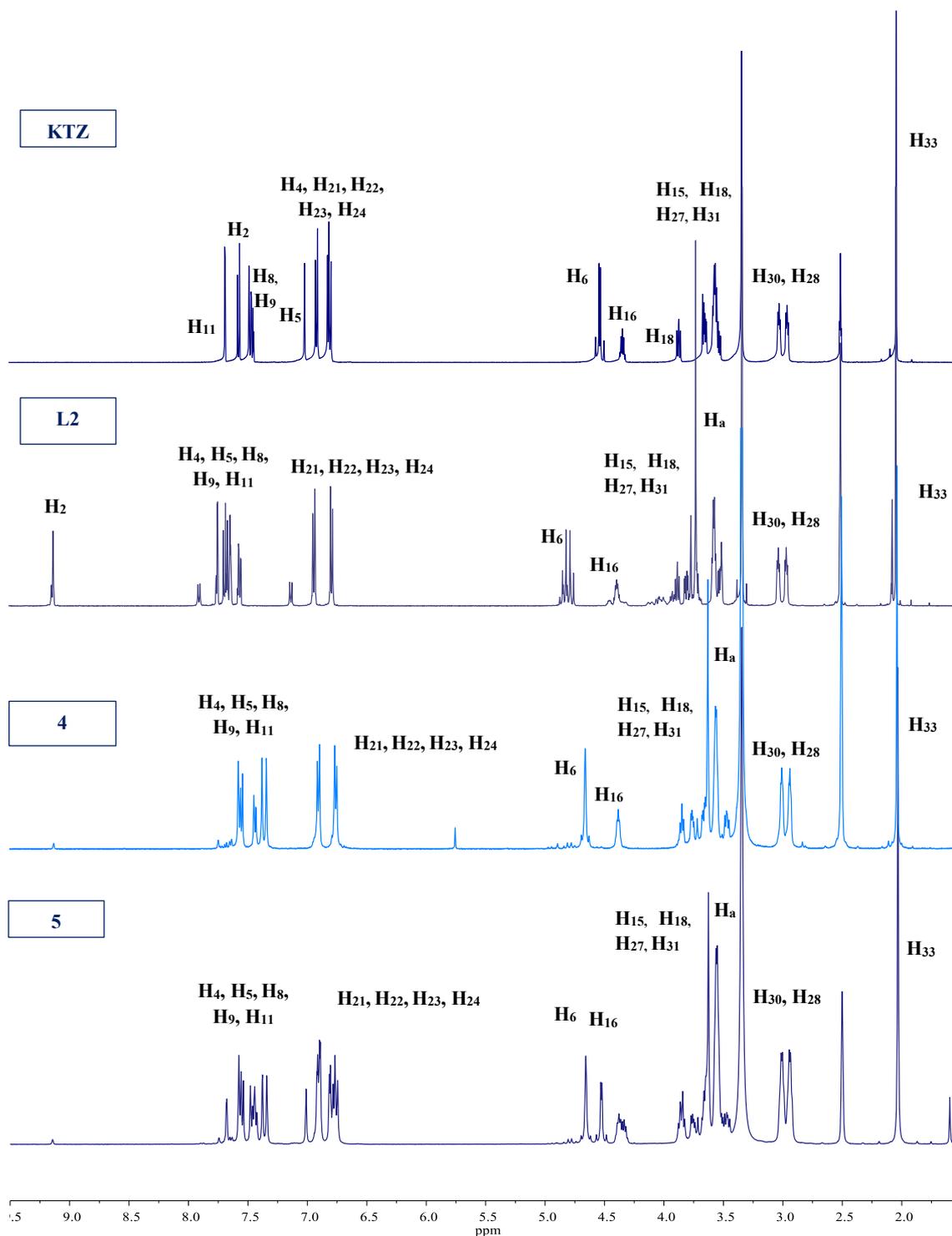
APÊNDICE B - ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Figura 62 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) dos ligantes CTZ e L1 e dos complexos 1 e 2.



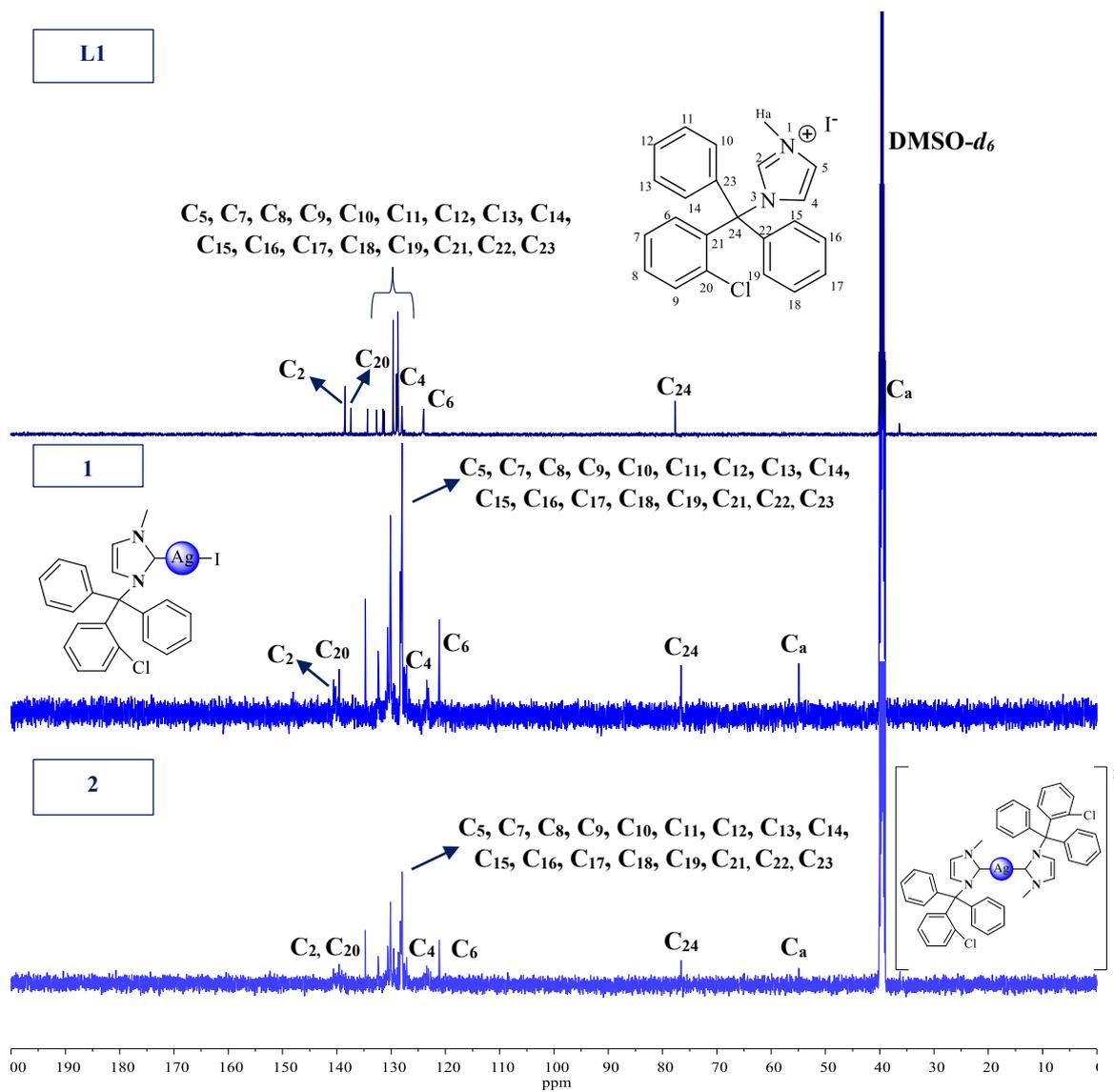
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 63 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) dos ligantes **KTZ** e **L2** e dos complexos **4** e **5**.



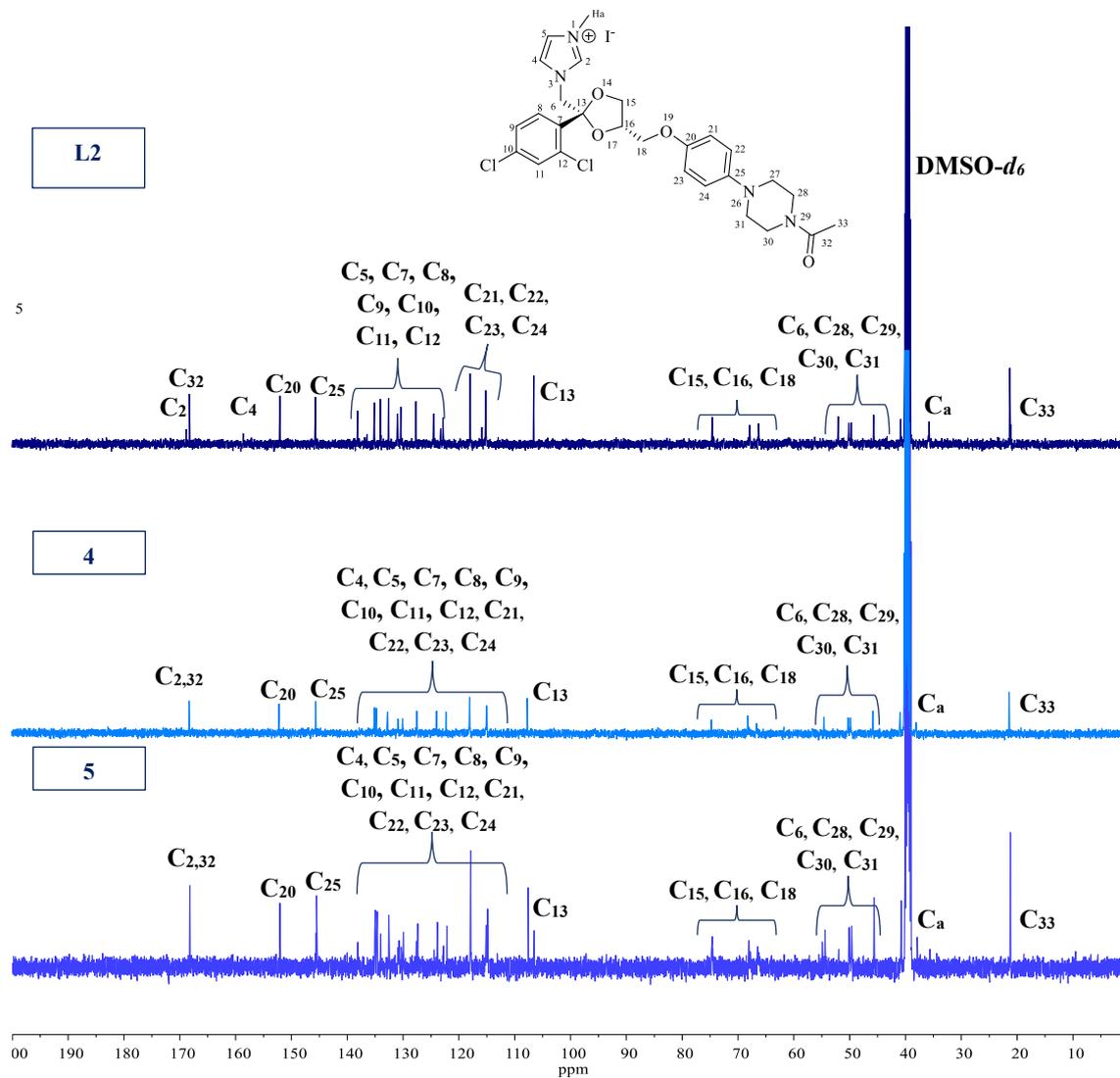
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 64 - Comparação dos espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ligante **L1** e dos complexos **1** e **2**.



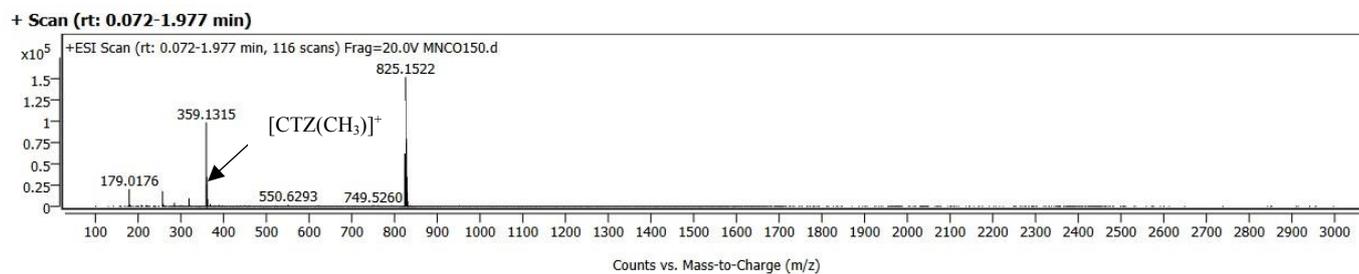
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 65 - Comparação dos espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do ligante **L2** e dos complexos **4** e **5**.

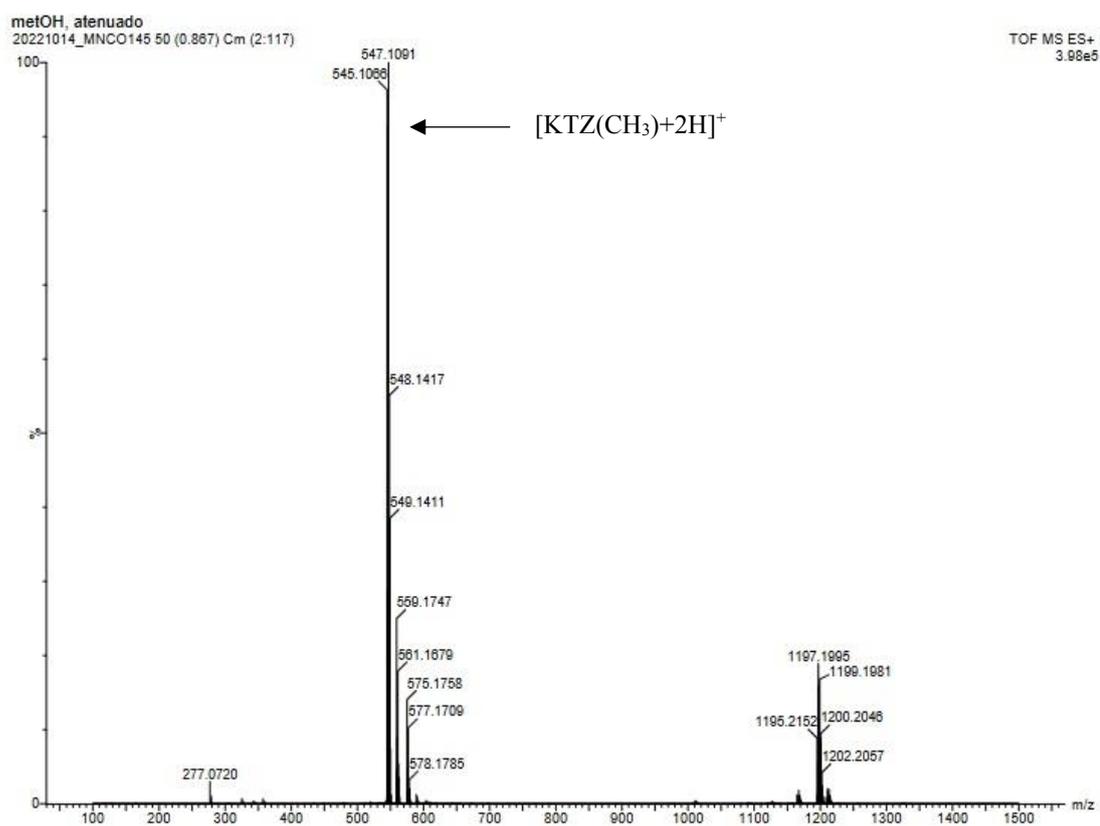


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

APÊNDICE C - ESPECTROS DE MASSAS

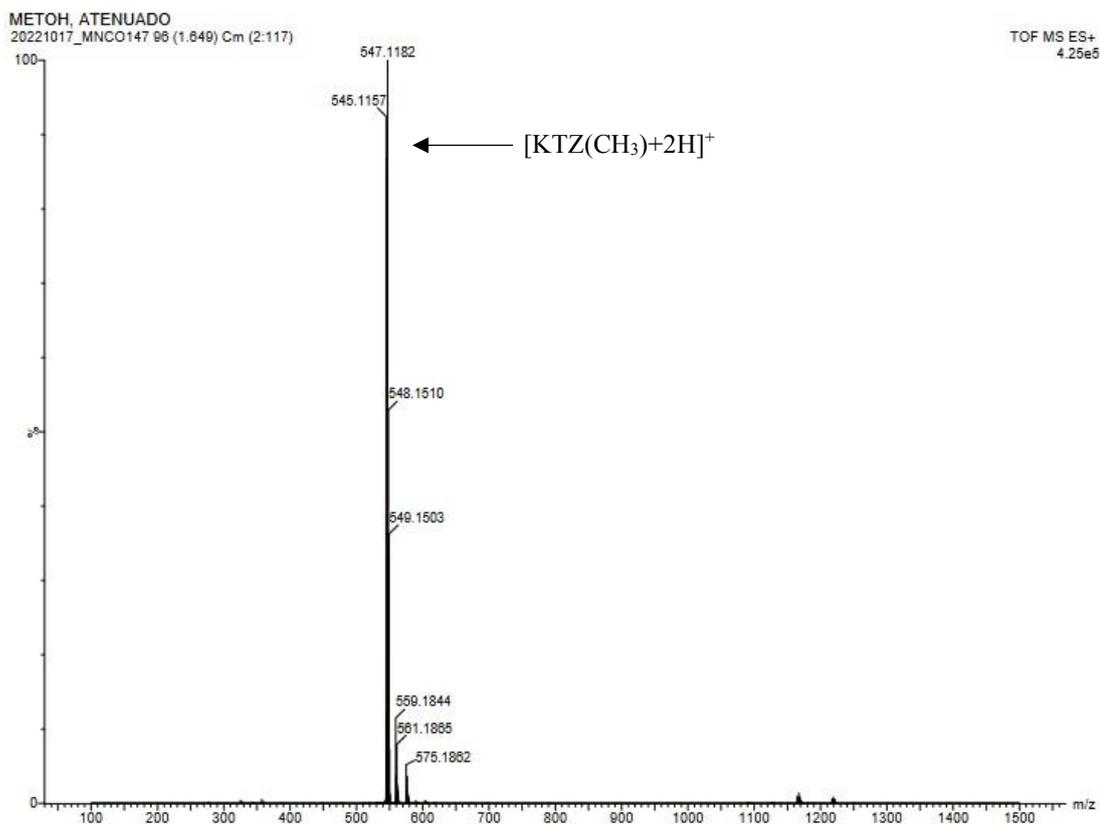
Figura 66 - Espectro ESI-MS do composto 1 (calc.: 359,1310; $\Delta(m/z)=0,0004$).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 67 - Espectro ESI-MS do composto 4 (calc.: 547,1879; $\Delta(m/z)=0,0788$).

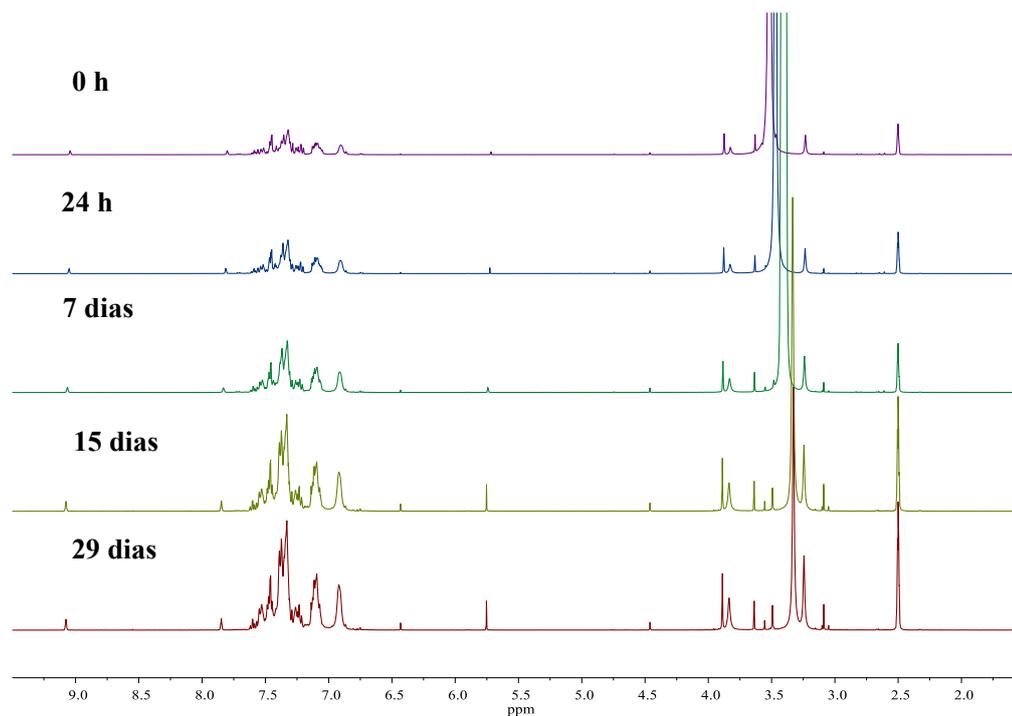
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 68 - Espectro ESI-MS do composto **5** (calc.: 547,1879; $\Delta(m/z) = 0,0697$).

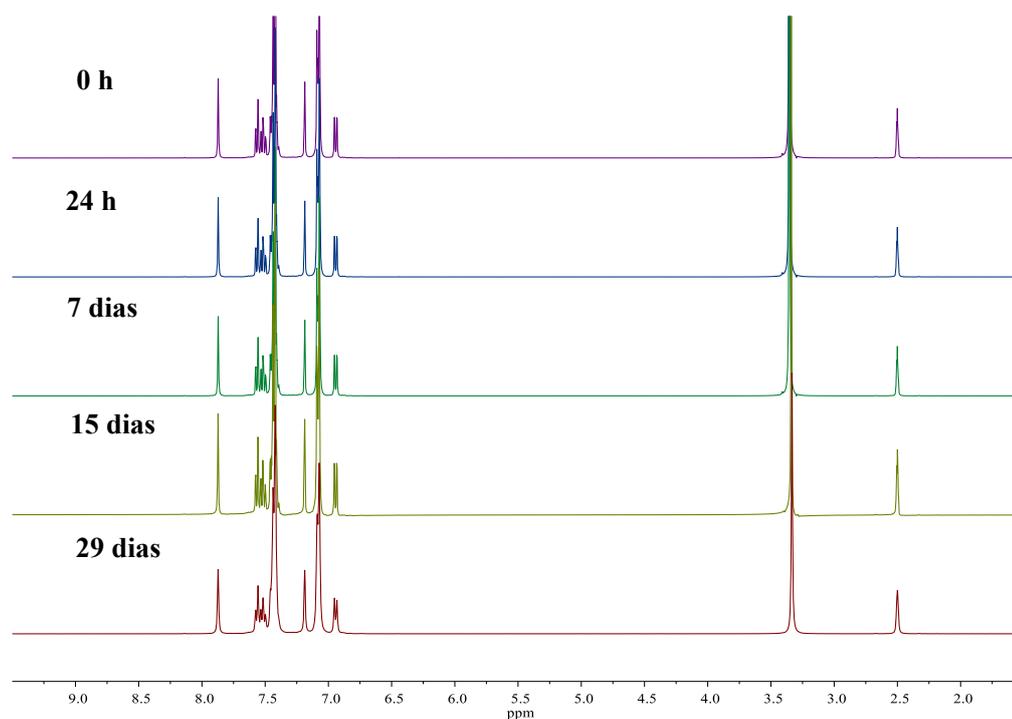


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

APÊNDICE D – ESTUDOS DE ESTABILIDADE

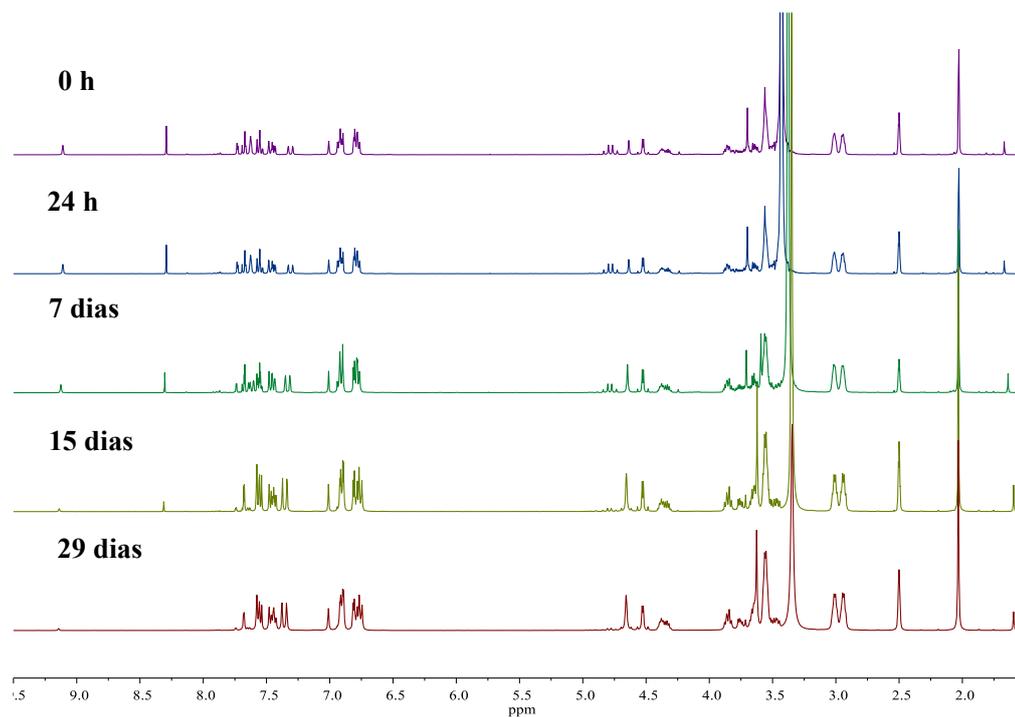
Figura 69 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO-*d*₆) do composto 2.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 70 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO-*d*₆) do composto 3.

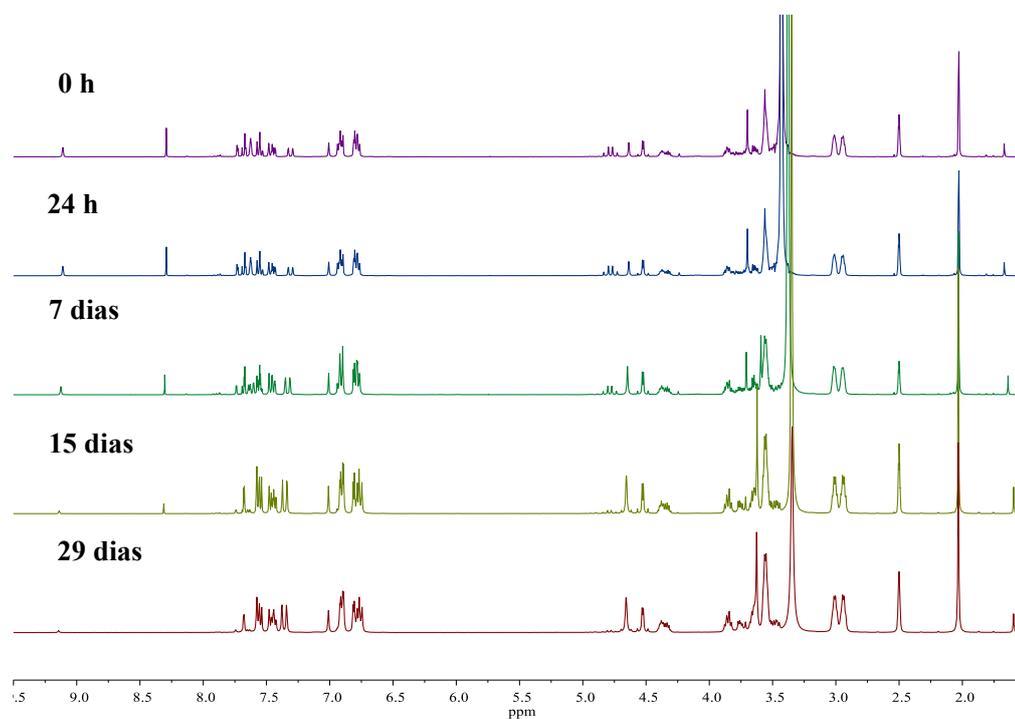
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 71 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- d_6) do composto **4**.



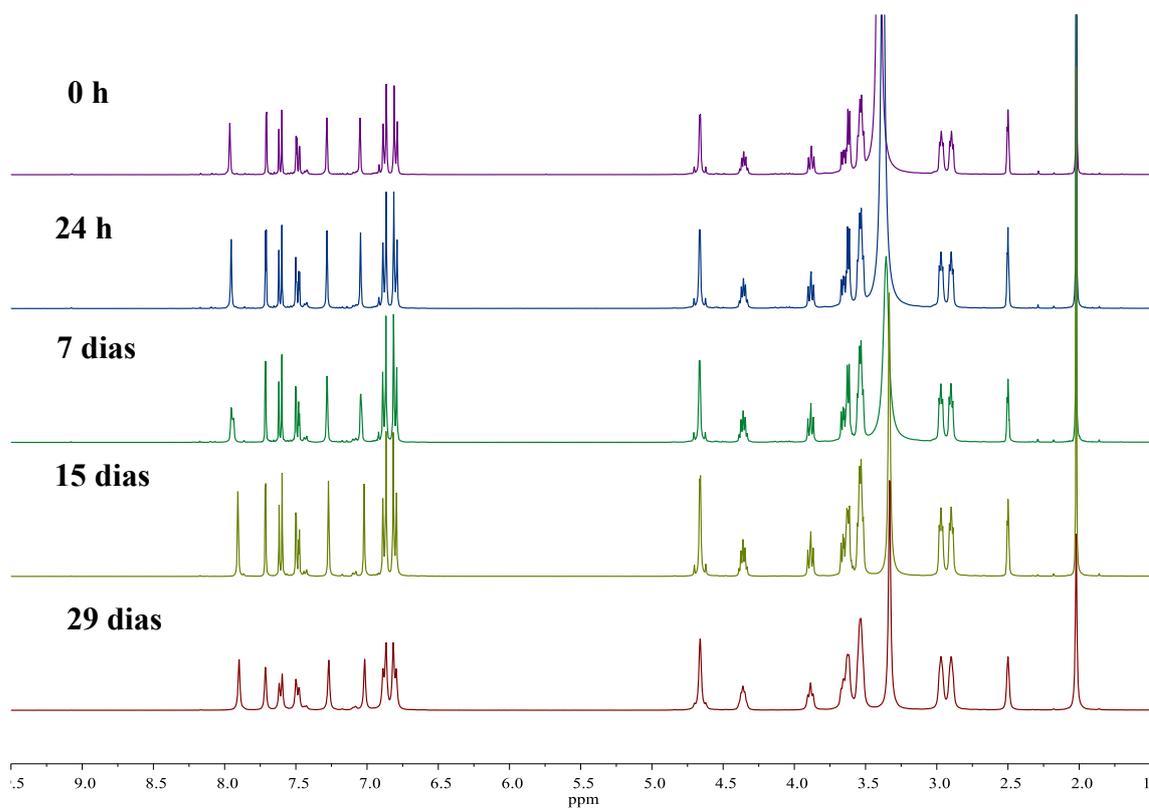
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 72 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO- d_6) do composto **5**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

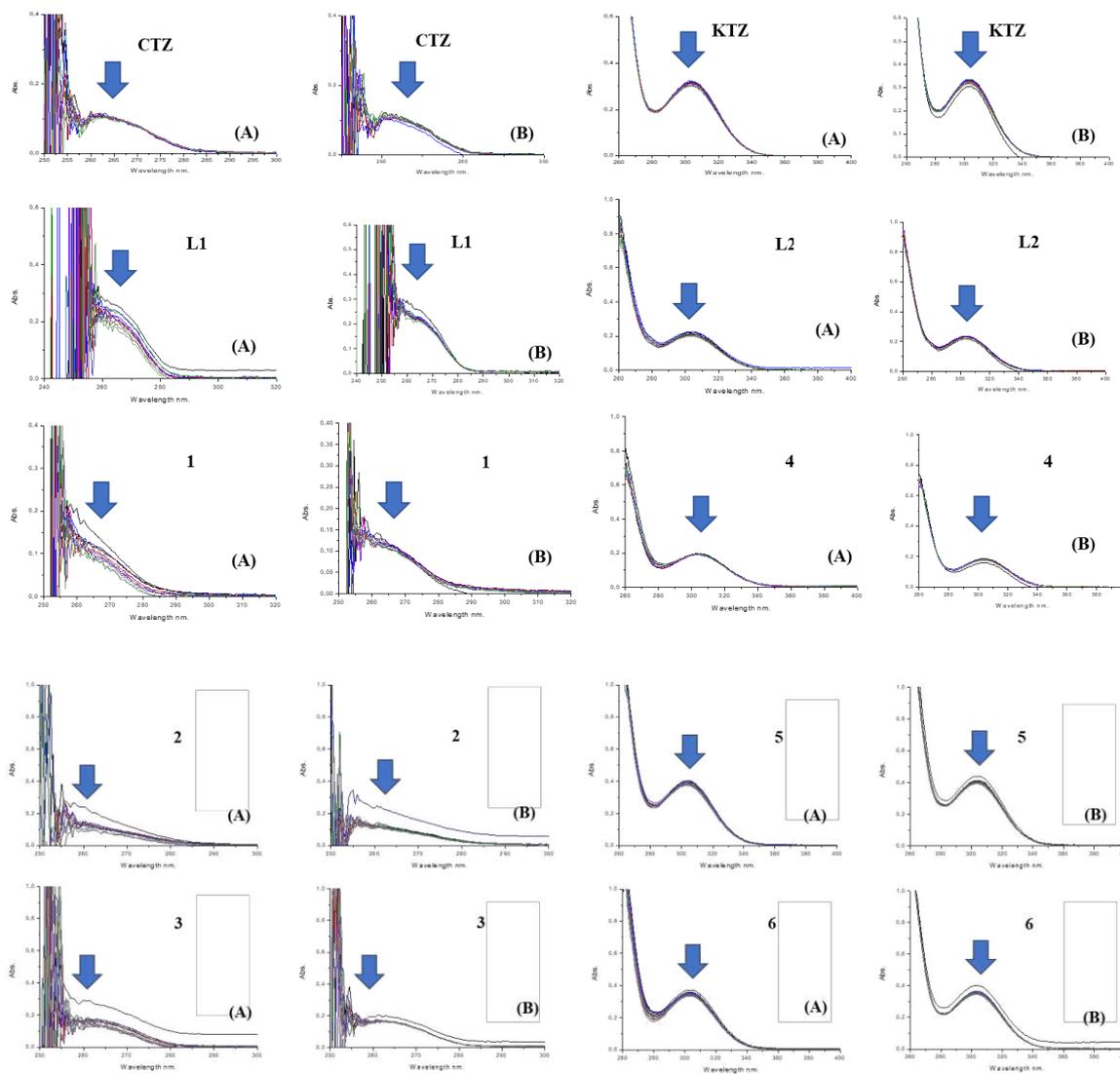
Figura 73 - Estudo da estabilidade por RMN de ^1H (DMSO-*d*₆) do composto **6**.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

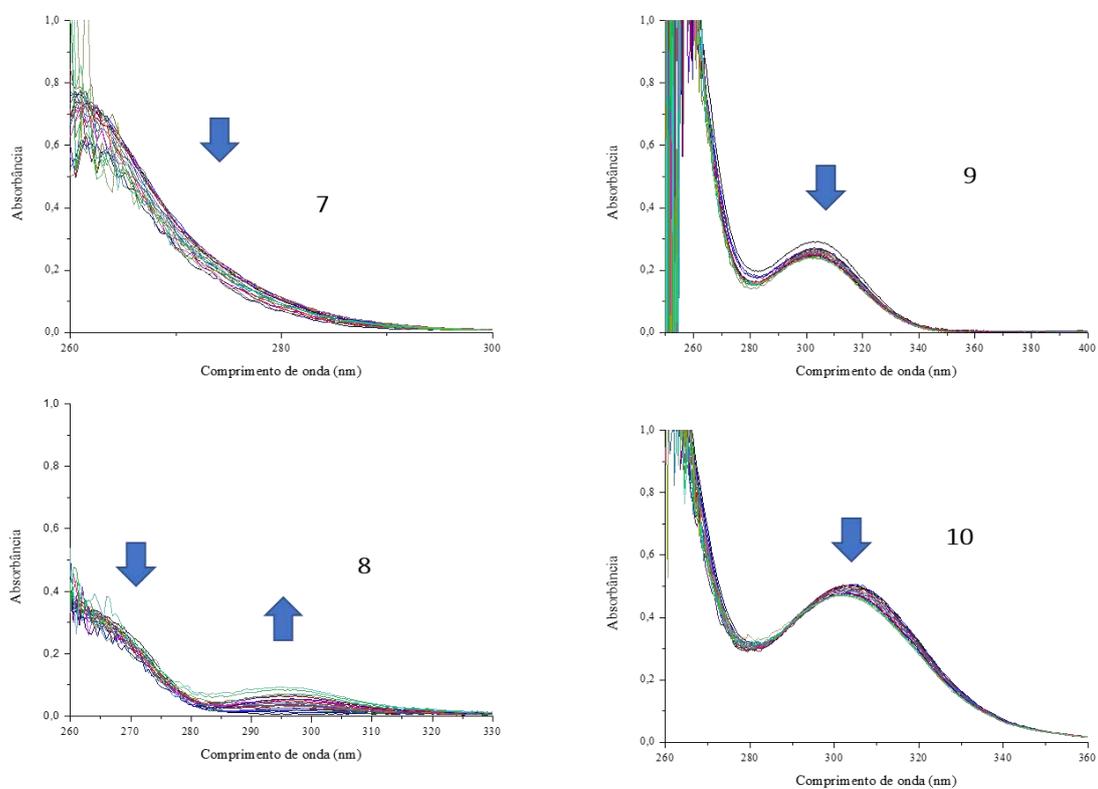
APÊNDICE E – EXPERIMENTOS DE TITULAÇÃO COM O DNA

Figura 74 - Experimentos de titulação dos compostos: CTZ, KTZ, L1, L2 e complexos metálicos (1-6) com 0-100 μL de DNA (A) e 0-100 μL de tampão (B).



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 75 - Experimentos de titulação dos complexos metálicos **7-10** com 0-200 μL de DNA.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

APÊNDICE F – ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORAMENTO

Figura 76 - Artigo publicado durante o doutorado.

Journal of Inorganic Biochemistry 246 (2023) 112303

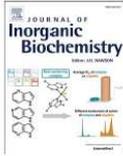


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinorgbio



Silver(I) complexes containing N-heterocyclic carbene azole drugs: Synthesis, characterization, cytotoxic activity, and their BSA interactions

Camila Aparecida da Silva dos Reis Condé^a, Ana Luiza de Andrade Querino^b, Heveline Silva^b, Maribel Navarro^{a,*}

^a Laboratório de Química Bioinorgânica e Catalises (LaQBIC), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil
^b Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas (SibLab), Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil



Fonte: Condé *et al.*, 2023.

Figura 77 - Review publicado durante o doutorado.

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170566>

Quim. Nova, Vol. 43, No. 8, 1104-1124, 2020

COMPOSTOS QUIMIOTERÁPICOS DE OURO: UMA VISÃO GERAL DOS COMPLEXOS ANTICÂNCER DE Au(I/III) EM RELAÇÃO À ESTRUTURA DO LIGANTE

Giset Y. Sánchez Delgado^{a,*}, Camila A. S. R. Condé^a, Hélio F. Dos Santos^a e Maribel Navarro^{a,†}

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, 36036-900 Juiz de Fora – MG, Brasil

Recebido em 21/02/2020; aceito em 23/04/2020; publicado na web em 10/06/2020

GOLD CHEMOTHERAPEUTIC COMPOUNDS: AN OVERVIEW OF ANTICANCER Au(I/III)-COMPLEXES IN RELATION TO THE STRUCTURE OF THE LIGAND. Gold compounds engage an important place in the field of medicinal chemistry due to their therapeutic properties. Since the last four decades, Au(I) and Au(III) complexes have attracted the attention of researchers due to their anti-tumor properties and the different mechanisms of action they display in comparison to conventional anticancer platinum compounds. Au(I/III) complexes can inhibit the activity of enzymes containing thiols including thioredoxin reductase; nevertheless, the affinity for several therapeutic targets has been confirmed in recent years. The properties conferred by auxiliary ligands such as phosphines (PR₃) and N-heterocyclic carbenes (NHCs) to gold complexes have been key to the development of more promising anticancer compounds. In the same way, it has happened with the inclusion of some multidentate ligands in Au(III) complexes, increasing their stability and selectivity for tumor cells. In this review, we discuss the anticancer effects of Au(I) complexes containing PR₃ and NHCs ligands as well as Au(III) complexes containing multidentate ligands especially those that have high cytotoxicity and information on the mechanism of action, as well as attempts to target identification and validation.

Keywords: Au(I) complexes; Au(III) complexes; anticancer activity; phosphines; N-heterocyclic carbenes.

Fonte: Delgado *et al.*, 2020.