

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Instituto de Ciências Exatas – Departamento de Química**  
**Programa de Pós-graduação em Química**

Thaiz Cristina Soares dos Santos

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS DE**  
**OURO(I) COM LIGANTES DITIOCARBAMATO**

Belo Horizonte

2024

UFMG/ICEx/DQ. 1.618

D. 879

Thaiz Cristina Soares dos Santos

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPOSTOS DE  
OURO(I) COM LIGANTES DITIOCARBAMATO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Química.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Heveline Silva

Coorientador: Prof Dr Eduardo Eliezer Alberto

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

Santos, Thaiz Cristina Soares dos.  
S237s Síntese e avaliação da atividade biológica de compostos de ouro(i) com ligantes  
2024 ditiocarbamato [manuscrito] / Thaiz Cristina Soares dos Santos. 2024.  
D 94 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Heveline Silva.  
Coorientador: Eduardo Eliezer Alberto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais –  
Departamento de Química.

Bibliografia: f. 78-81.  
Inclui apêndice e anexo.

1. Química inorgânica – Teses. 2. Ouro – Teses. 3. Agentes antineoplásicos –  
Teses. 4. Câncer – Tratamento – Teses. 5. Síntese – Teses. 6. Complexos metálicos  
– Teses. 7. Fármacos – Teses. I. Silva, Heveline, Orientadora. II. Alberto, Eduardo  
Eliezer, Coorientador. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**"Síntese e Avaliação da Atividade Biológica de Compostos de Ouro(I) com Ligantes Ditiocarbamato"****Thaiz Cristina Soares dos Santos**

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Heveline Silva - Orientadora  
UFMGProf. Eduardo Eliezer Alberto - Coorientador  
UFMGProfa. Dayse Carvalho da Silva Martins  
UFMGProf. Thiago Teixeira Tasso  
UFMG

Belo Horizonte, 19 de agosto de 2024.

Documento assinado eletronicamente por **Heveline Silva, Servidor(a)**, em 20/08/2024, às 09:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Thiago Teixeira Tasso, Professor do Magistério Superior**, em 20/08/2024, às 09:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Eliezer Alberto, Professor do Magistério Superior**, em 20/08/2024, às 09:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Dayse Carvalho da Silva Martins, Professora do Magistério Superior**, em 20/08/2024, às 10:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3470624** e o código CRC **C58113E0**.

Dedico esta dissertação a minha mãe Nair Antonia Soares (*in memoriam*) pelo incentivo e apoio para que eu pudesse ir atrás dos meus sonhos e principalmente por ter sido quem me ensinou que o conhecimento seria a fonte e um caminho para uma melhor qualidade de vida.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pelas oportunidades e desafios que ele colocou em minha vida, sem dúvidas, ele é o maior mestre que eu poderia conhecer. Serei para sempre e eternamente grata à minha orientadora, Heveline Silva, pelas oportunidades que ofereceu a mim. Obrigada professora, por abrir as portas do seu laboratório, confiar, acreditar em mim e me ensinar tanto, você sempre será motivo para grande inspiração. Agradeço também o meu coorientador professor Eduardo Alberto, pelos aprendizados e pelas oportunidades.

Agradeço a minha família por me apoiar, meu irmão por sempre torcer por mim, meu pai por sempre demonstrar sentir orgulho de mim e minha mãe que sempre me incentivou a estudar desde pequena, talvez sem esse incentivo chegar até aqui não seria possível. Obrigada, meu companheiro de vida e melhor amigo, Guilherme Almeida, por torcer por mim, se preocupar e por ser compreensível. Houve momentos que achei que não daria conta, mas você sempre esteve lá preocupado, incentivando, me aconselhando e sempre me fazendo lembrar da importância de se ter lazer. Sou grata pelo seu companheirismo e sua forma de cuidado.

Agradeço ao meu primeiro aluno de iniciação científica, Igor Martins, por me ajudar no desenvolvimento deste trabalho e confiar nos meus conhecimentos, não poderia ter tido aluno de iniciação científica melhor. Minhas amadas meninas do laboratório: Lara, Katherine, Patricia, Ana Luiza, Alice, Camila Condé, e Alexia. Vocês foram bênçãos de Deus na minha vida, muito obrigada por todo aprendizado, conhecimento compartilhado, risadas, choros e acolhimento, sou grata pela vida de cada uma de vocês. Obrigada professor Willian Xerxes, pela colaboração nesse trabalho, análise dos cristais, pela paciência comigo e por todo aprendizado nesta caminhada!

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade e pelas políticas públicas que possibilitaram que eu conseguisse ingressar no mestrado, realizar mais um sonho e desenvolver esse trabalho que tenho muito orgulho. A caminhada não foi fácil, mas reconheço o quanto cresci desde o ponto de partida. São os pequenos passos que me fizeram chegar até aqui e agradecer por tudo que já caminhei, hoje sei o quanto sou privilegiada por estudar e por ter feito parte de uma das melhores universidades do país e espero que algum dia, as pessoas olhem para o conhecimento e vejam o quanto ele é uma grande bênção, as grandes coisas que ele pode fazer e as realidades que ele pode mudar, assim como tem mudado a minha. Também agradeço as agências de fomento Capes, FAPEMIG, CNPq, LAREMAR e ao NEPS.

## RESUMO

Câncer é o termo geral usado para designar um conjunto de mais de 100 doenças, caracterizadas pelo crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. O câncer é um dos desafios mais urgentes da saúde pública global, sendo uma das principais causas de morte e, conseqüentemente, um obstáculo significativo para o aumento da expectativa de vida, pois é um dos maiores causadores de morte no mundo. Contudo, a sociedade científica está sempre em busca de novos fármacos com atividade antitumoral que apresentem maior eficácia e alta seletividade no tratamento de diversos tipos de câncer. Fármacos baseados em ouro(I) estão sendo amplamente estudados e testados na quimioterapia do câncer desde a descoberta das propriedades antitumorais da auranofina em estudos *in vitro* contra diversas linhagens celulares tumorais. No entanto, efeitos colaterais tóxicos e resistência celular intrínseca ou adquirida por alguns pacientes decorrentes da administração destes compostos de ouro comprometem a sua eficácia e estimulam a busca por análogos com um perfil de efeitos mais favoráveis. Este trabalho apresenta a síntese e caracterização estrutural de três novos complexos inéditos de ouro(I), de fórmula geral  $[\text{Au}(\text{DTC})\text{PPh}_3]$ , em que DTC são ligantes derivados do ditiocarbamato e  $\text{PPh}_3$  é a trifenilfosfina, visando a obtenção de potenciais agentes antitumorais. As caracterizações foram realizadas por meio de análise elementar, análise termogravimétrica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e do UV-VIS, espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$ , espectrometria de massas e difração de raios X por monocristal. Também foi avaliada a interação dos complexos sintetizados com o DNA e a BSA (albumina do soro bovino) por meio de ensaios espectrofotométricos e de fluorescência e por eletroforese em gel de agarose, os resultados obtidos nas constantes mostram que ocorre alguma interação dos compostos com esses alvos biológicos. A atividade antiproliferativa dos compostos foi avaliada frente às linhagens celulares tumorais de mama (MDA-MB-231 e 4T1) e a não tumoral de mama (MCF-10a) onde foi demonstrada a potencialização da ação citotóxica após complexação com ouro. Todos os três complexos apresentaram atividade promissora, com destaque para o complexo 4-Oxopiperidina-1-carboditioato de Ouro(I)-trifenilfosfina de que apresentou excelente atividade na linhagem 4T1 com  $\text{IC}_{50} = 0,89 \pm 0,01 \mu\text{M}$ ,  $\text{IS} = 2,7$ . Logo, os resultados apresentados oferecem contribuições significativas à literatura e podem ajudar no desenvolvimento de compostos de ouro como protótipos de metalo-fármacos.

**Palavras-chave:** Complexos; Antitumoral; Câncer; Trifenilfosfina; Ouro.

## ABSTRACT

Cancer is the general term used to describe a group of more than 100 diseases, characterized by the uncontrolled growth of cells that tend to invade neighboring tissues and organs. Cancer is one of the most urgent challenges in global public health, being one of the leading causes of death and, consequently, a significant obstacle to increasing life expectancy, as it is one of the top causes of mortality worldwide. However, the scientific community is constantly searching for new drugs with antitumor activity that demonstrate greater efficacy and high selectivity in treating various types of cancer. Gold(I)-based drugs have been extensively studied and tested in cancer chemotherapy since the discovery of the antitumor properties of auranofin in *in vitro* studies against various tumor cell lines. However, toxic side effects and intrinsic or acquired cellular resistance in some patients due to the administration of these gold compounds compromise their effectiveness and stimulate the search for analogs with a more favorable profile of effects. This work presents the synthesis and structural characterization of three novel gold(I) complexes with the general formula  $[\text{Au}(\text{DTC})\text{PPh}_3]$ , where DTC are ligands derived from dithiocarbamate and  $\text{PPh}_3$  is triphenylphosphine, aiming to obtain potential antitumor agents. The characterizations were performed using elemental analysis, thermogravimetric analysis, infrared and UV-VIS absorption spectroscopy,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy, mass spectrometry, and single-crystal X-ray diffraction. The interaction of the synthesized complexes with DNA and BSA (bovine serum albumin) was also evaluated through spectrophotometric and fluorimetric assays and agarose gel electrophoresis, with the results obtained showing some interaction of the compounds with these biological targets. The antiproliferative activity of the compounds was evaluated against breast cancer cell lines (MDA-MB-231 and 4T1) and a non-tumorigenic breast cell line (MCF-10a), demonstrating the enhancement of cytotoxic action after complexation with gold. All three complexes exhibited promising activity, particularly the 4-Oxopiperidine-1-carbodithioate Gold(I)-triphenylphosphine complex, which showed excellent activity against the 4T1 cell line with  $\text{IC}_{50} = 0.89 \pm 0.01 \mu\text{M}$ ,  $\text{IS} = 2.7$ . Therefore, the results presented provide significant contributions to the literature and may aid in the development of gold compounds as prototypes for metallodrugs.

**Keywords:** Complexes; Antitumor; Cancer; Triphenylphosphine; Gold.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Representação esquemática de como surge o câncer. Fonte INCA 2022.....	16
<b>Figura 2</b> – Diferenças entre tipos de tumores benigno e maligno. [1] .....	17
<b>Figura 3</b> – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados em 2023 por sexo, exceto pele não melanoma. Fonte: INCA, 2023. ....	18
<b>Figura 4</b> – Estrutura química da Auranofina. ....	20
<b>Figura 5</b> – Complexos de Au(III) com ligante ditiocarbamato e valores de IC <sub>50</sub> em células de câncer de mama triplo negativa. Adaptado de [12] .....	22
<b>Figura 6</b> – Estrutura química do complexo precursor cloro(trifenilfosfina)ouro(I). ....	22
<b>Figura 7</b> – Representação de alguns modos de coordenação comuns aos ligantes ditiocarbamatos.[20] .....	25
<b>Figura 8</b> – Representação da estrutura terciária da BSA.[8] Código PDB: 4F5S. ....	26
<b>Figura 9</b> – Hidrólise da cisplatina e formação das ligações entre a platina e as bases do DNA.[24] .....	27
<b>Figura 10</b> – Esquema de indução da apoptose pela TrxR na mitocôndria ocasionada por compostos de ouro(I). Adaptado de [25] .....	28
<b>Figura 11</b> – Esquema reação de síntese dos ligantes <b>L1</b> , <b>L2</b> e <b>L3</b> . Fonte: Autoria própria ....	36
<b>Figura 12</b> – Reação de síntese do precursor de ouro. Fonte: Autoria própria. ....	37
<b>Figura 13</b> – Esquema de síntese dos complexos Fonte: Autoria própria. ....	37
<b>Figura 14</b> – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante <b>L1</b> e complexo <b>CL1</b> . Fonte: Autoria própria. ....	43
<b>Figura 15</b> – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante <b>L2</b> e complexo <b>CL2</b> . Fonte: Autoria própria. ....	43
<b>Figura 16</b> – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante <b>L3</b> e complexo <b>CL3</b> . Fonte: Autoria própria. ....	44
<b>Figura 17</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do complexo <b>CL1</b> em solução de DMSO-d <sub>6</sub> (δ em ppm) em 400 MHz. ....	46
<b>Figura 18</b> – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do complexo <b>CL1</b> em solução de DMSO-d <sub>6</sub> (δ em ppm) em 100 MHz. ....	48
<b>Figura 19</b> – Espectro de RMN de <sup>31</sup> P do complexo <b>CL1</b> em solução de DMSO-d <sub>6</sub> (δ em ppm) em 162 MHz. ....	49

<b>Figura 20</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do complexo <b>CL2</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 400 MHz. ....	50
<b>Figura 21</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do complexo <b>CL2</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 100 MHz. ....	51
<b>Figura 22</b> – Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ do ligante <b>CL2</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 162 MHz. ....	52
<b>Figura 23</b> – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do complexo <b>CL3</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 400 MHz. ....	53
<b>Figura 24</b> – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do ligante <b>CL3</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 100 MHz. ....	54
<b>Figura 25</b> – Espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ do complexo <b>CL3</b> em solução de $\text{DMSO-d}_6$ ( $\delta$ em ppm) em 162 MHz. ....	55
<b>Figura 26</b> – Análise termogravimétrica do complexo <b>CL1</b> em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . ....	57
<b>Figura 27</b> – Análise termogravimétrica do complexo <b>CL2</b> em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de $20\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . ....	58
<b>Figura 28</b> – Análise termogravimétrica do complexo <b>CL3</b> em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . ....	59
<b>Figura 29</b> – Estrutura cristalina de <b>CL1'</b> com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas). Elementos de simetria: $i = 1-x, y, 3/2-z$ . ....	61
<b>Figura 30</b> – Estrutura cristalina de uma das duas unidades presentes na unidade assimétrica de <b>CL2</b> com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas). ....	62
<b>Figura 31</b> – Estrutura cristalina de uma das duas unidades presentes na unidade assimétrica de <b>CL3</b> com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas). ....	63
<b>Figura 32</b> – Reação de redução do MTT que ocorre na mitocôndria de células viáveis.....	64
<b>Figura 33</b> – $\text{IC}_{50}$ dos ligantes e complexos contra três linhagens de células diferentes. ....	65
<b>Figura 34</b> – Representação da estrutura cristalina do aduto formado entre a proteína BSA e um complexo de ouro(III) ditiocarbamato. [8] .....	68

<b>Figura 35</b> – Espectros de emissão em solução aquosa da interação dos complexos <b>CL1</b> , <b>CL2</b> e <b>CL3</b> com a BSA. Fonte: Autoria própria. ....	69
<b>Figura 36</b> – Representação esquemática do mecanismo intercalativo do BE, DNA e após adição de complexo. Fonte:[44].....	71
<b>Figura 37</b> – Espectros eletrônicos em solução aquosa do teste de competição do ctDNA com BE dos complexos <b>CL1</b> , <b>CL2</b> e <b>CL3</b> respectivamente. Fonte: Autoria própria...	72
<b>Figura 38</b> – Demonstração das ligações de hidrogênio e das interações de empilhamento das bases nitrogenadas do DNA.[21].....	73
<b>Figura 39</b> – Representação esquemática das três formas principais das moléculas de DNA plasmidial. Fonte [44].....	74
<b>Figura 40</b> – Estudo de interação de DNA Plasmidial por eletroforese em gel de agarose com concentrações de 100 e 10 $\mu$ M, após 24h de incubação a 37°C. Linha 1, controle DNA plasmidial; Linha 2, cis-Pt 100 $\mu$ M; Linhas 3-5, 6-8 e 9-11 correspondem a DNA plasmidial + ligantes ou complexos na concentração de 100 $\mu$ M e 10 $\mu$ M.	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Atribuição das principais bandas observadas nos espectros de absorção na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos ligantes e respectivos complexos .....	44
<b>Tabela 2</b> – Resultados da análise elementar de C, H e N (%) dos complexos e do ESI-MS. Exp = experimental, Calc. = calculado, F.M. = fórmula molecular, M = massa molar ....	56
<b>Tabela 3</b> – Principais dados cristalográficos para os complexos.....	60
<b>Tabela 4</b> – Atividades antiproliferativas (valores de $\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{M}$ ) dos ligantes e seus complexos nas linhagens celulares MDA-MB-231, 4T1 e MCF-10a após 72 h de incubação, avaliadas pelo ensaio do MTT.....	65
<b>Tabela 5</b> – Constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) obtidas para os complexos <b>CL1</b> , <b>CL2</b> e <b>CL3</b> calculadas com a equação de Stern-Volmer.....	69
<b>Tabela 6</b> – Valores das constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) e magnitude do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtidos para os complexos com ctDNA.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SUAS DEFINIÇÕES

- $\alpha$  – Ângulo entre os eixos cristalográficos b e c
- $\beta$  – Ângulo entre os eixos cristalográficos a e c
- $\gamma$  – Ângulo entre os eixos cristalográficos a e b
- $\delta'$  – Deformação angular
- $\delta$  – Deslocamento Químico de RMN em ppm
- $\varepsilon$  – Absortividade Molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )
- $\lambda$  – Comprimento de Onda (nm)
- $\mu$  – Micro ( $10^{-6}$ )
- $\nu$  – Número de Onda ( $cm^{-1}$ )
- 4T1 – Linhagem celular de carcinoma mamário murino
- Å – Angström ( $10^{-10}$  m)
- BE – Brometo de Etídio
- BSA – Albumina Bovina Sérica, *Bovine Serum Albumine*
- CHN – Experimento de dosagem de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio
- cm – centímetro ( $10^{-2}$  metro)
- Crti – Centro Regional para o Desenvolvimento e Tecnológico e Inovação
- ctDNA – Ácido Desoxirribonucleico de Timo de Bezerro, *calf-thymus* deoxyribonucleic acid
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico, *Deoxyribonucleic Acid*
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DQ-UFMG – Departamento de Química na Universidade Federal de Minas Gerais
- ESI<sup>+</sup>-MS – Ionização por Eletron Spray, *Electron Spray Ionization*
- FBS – Soro Fetal Bovino
- HSA – Albumina de Soro Humano
- IC<sub>50</sub> – Concentração Inibitória a 50%
- IV – Espectroscopia na região do Infravermelho
- $J$  – Constante de acoplamento (Hz)
- L – Litro
- $\mu$  – Micro ( $10^{-6}$ )
- MCF-10a – Linhagem celular de mama humana não tumoral

MDA-MB-231 - Linhagem celular de adenocarcinoma mamário triplo negativa humana

MM – Massa molar

MTT – Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-Il)2,5-Difeniltetrazólio

nm – nanômetro ( $10^{-9}$  metro)

PBS – Tampão Fosfato-Salino, *Phosphate buffered Saline*

PDB – Banco de Dados de Proteínas, *Protein Data Bank*

pH – Potencial Hidrogeniônico

$r^2$  – Coeficiente de Determinação Linear

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMN de  $^1\text{H}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN de  $^{13}\text{C}\{1\text{H}\}$  – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Desacoplado de Hidrogênio

RPMI 1640 – Meio de cultura do Instituto Memorial Roswell Park, *Roswell Park Memorial Institute*

TAE – Tampão Tris-Acetato-EDTA

TG/DTA – Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial

TMS – Tetrametilsilano

TRIS – Tampão Tris(hidroximetil)aminometano

u.a. – Unidades de Absorbância (Arbitrária)

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UFG – Universidade Federal de Goiás

UV-VIS – Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível

V – Volume da célula unitária

Z – Número de unidades assimétricas por célula unitária

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>29</b>
2.1	Objetivos específicos .....	29
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>30</b>
3.1	Materiais e métodos .....	30
3.1.1	Análise Elementar .....	30
3.1.2	Análise Termogravimétrica.....	30
3.1.3	Espectroscopia Vibracional na região do infravermelho (IV).....	30
3.1.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e $^{31}\text{P}$ .....	31
3.1.5	Difração de raios X por monocristal .....	31
3.1.6	Espectroscopia de Fluorescência.....	31
3.1.7	Espectrometria de Massas .....	32
3.1.8	Ensaio de estabilidade em DMSO .....	32
3.1.9	Ensaio de citotoxicidade.....	32
3.2	Estudos da interação com biomoléculas .....	33
3.2.1	Estudos de interação com BSA por medidas de Fluorescência.....	33
3.2.2	Estudos de competição do Brometo de Etídio e ctDNA por fluorescência.....	34
3.2.3	Eletroforese de DNA em gel de agarose .....	35
3.3	Síntese.....	35
3.3.1	Síntese dos Ligantes Ditiocarbamatos (DTC).....	35
3.3.2	Síntese do complexo precursor de ouro .....	36
3.3.3	Síntese dos complexos de ouro com ditiocarbamatos .....	37
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
4.1	Caracterização dos compostos.....	42

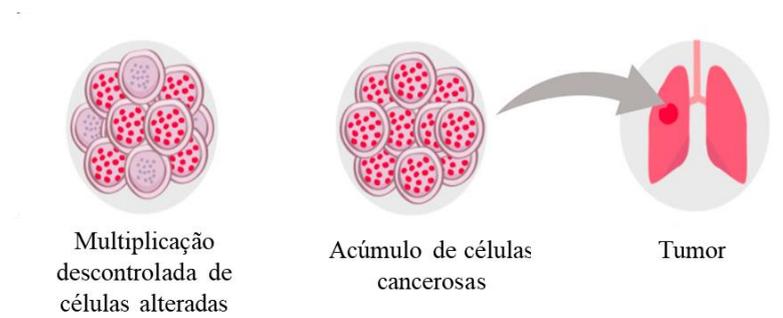
4.1.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) .....	42
4.1.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) .....	45
4.1.3	Análise elementar de C, H e N, TG/DTG e Massas.....	55
4.1.4	Análise cristalográfica por difração de raios X de monocristal .....	59
4.2	Investigação das propriedades biológicas.....	63
4.2.1	Ensaio de citotoxicidade .....	64
4.2.2	Interação com a BSA.....	67
4.2.3	Estudo de competição com brometo de etídio e DNA (BE-ctDNA) .....	70
4.2.4	Eletroforese de DNA plasmidial em gel de agarose.....	73
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES .....</b>	<b>76</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>
	<b>APÊNDICE .....</b>	<b>82</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>94</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## O CÂNCER

A palavra "câncer" vem do grego "*karkínos*", que significa caranguejo. A palavra câncer foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina, que viveu entre 460 e 377 a.C. O câncer não é uma doença nova. A detecção de tumores em múmias egípcias comprova que ele já afetava os humanos há mais de 3 mil anos antes de Cristo.[1]

Hoje em dia, câncer é o termo geral usado para designar um conjunto de mais de 100 doenças, caracterizadas pelo crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. O câncer é um dos desafios mais urgentes da saúde pública a nível mundial, sendo uma das principais causas de morte e, conseqüentemente, um obstáculo significativo para o aumento da expectativa de vida das pessoas.[2] O câncer caracteriza-se pela perda do controle da divisão celular originando assim o tumor que é um aglomerado de células tumorais que tem a capacidade de invadir outras estruturas orgânicas (**Figura 1**).[1]

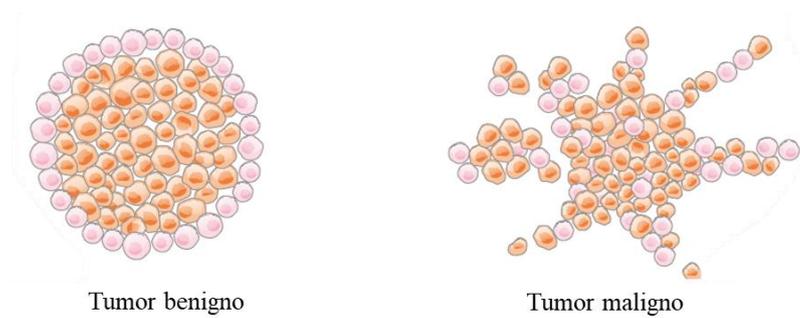


**Figura 1** – Representação esquemática de como surge o câncer. Fonte INCA 2022

A proliferação celular pode ser controlada ou não controlada. No crescimento controlado, há um aumento localizado e autolimitado do número de células dos tecidos normais que formam o organismo, causado por estímulos fisiológicos (alteração ocasionada pelo meio interno ou externo) ou patológicos (ocasionada por alguma doença). Nesse caso, as células são normais ou apresentam pequenas alterações em sua forma e função, podendo ser iguais ou diferentes do tecido em que se instalam. O efeito é reversível após o término dos estímulos que o provocaram.[1]

As neoplasias (câncer invasivo ou não invasivo) representam formas descontroladas de crescimento celular e são comumente chamadas de tumores. Essas neoplasias podem ser

benignas ou malignas (**Figura 2**). Os tumores benignos crescem de maneira organizada, geralmente de forma lenta e expansiva, com contornos claramente definidos. Embora não invadam tecidos adjacentes, podem exercer pressão sobre órgãos e tecidos próximos. Exemplos de tumores benignos incluem o lipoma, originado em tecido adiposo; o mioma, proveniente de tecido muscular liso; e o adenoma, que é um tumor benigno das glândulas. Por outro lado, as neoplasias malignas, ou tumores malignos, exibem um alto grau de autonomia, invadindo tecidos próximos e podendo formar metástases. Estes tumores são frequentemente resistentes ao tratamento e podem levar à morte do paciente.[1]



**Figura 2** – Diferenças entre tipos de tumores benigno e maligno. [1]

O impacto da incidência e da mortalidade por câncer está aumentando rapidamente no cenário mundial.[3] O envelhecimento, juntamente com alterações comportamentais e ambientais, como exposição a fatores de risco, como luz ultravioleta, cigarros, substâncias carcinogênicas, alimentação e a exposição a poluentes ambientais, favorecem o aumento da incidência e da mortalidade por câncer.[4]

No Brasil, os diferentes tipos de câncer que mais afetam os homens são: próstata (30%), cólon e reto (9,2%), traqueia brônquio e pulmão (7,5%). Já nas mulheres os tipos de câncer que mais as afetam são: mama (30,1%), cólon e reto (9,7%) e colo de útero (7%). [1] Para o Brasil, a estimativa para o triênio de 2023 a 2025 (**Figura 3**) aponta a ocorrência de 704 mil novos casos de câncer. Sendo o câncer de pele não melanoma o mais incidente, com 220 mil novos casos (31,3%), seguido pelos 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.[4]

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0%	Homens	Mulheres	Mama feminina	73.610	30,1%
Cólon e reto	21.970	9,2%			Cólon e reto	23.660	9,7%
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5%			Colo do útero	17.010	7,0%
Estômago	13.340	5,6%			Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0%
Cavidade oral	10.900	4,6%			Glândula tireoide	14.160	5,8%
Esôfago	8.200	3,4%			Estômago	8.140	3,3%
Bexiga	7.870	3,3%			Corpo do útero	7.840	3,2%
Laringe	6.570	2,7%			Ovário	7.310	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7%			Pâncreas	5.690	2,3%
Fígado	6.390	2,7%			Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3%

\*Números arredondados para múltiplos de 10.

**Figura 3** – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados em 2023 por sexo, exceto pele não melanoma. Fonte: INCA, 2023.

O câncer de mama é o tipo de câncer mais presente em mulheres em todo o mundo, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos. As taxas de incidência variam entre as diferentes regiões do planeta, com as maiores taxas nos países de baixo e médio desenvolvimento.[1] Em termos de mortalidade no Brasil, ocorreram, em 2020, 17.825 óbitos por câncer de mama em mulheres, o equivalente a um risco de 16,47 mortes por 100 mil mulheres. Esse aumento de casos está associado ao envelhecimento populacional, às mudanças no comportamento e no estilo de vida e ao aumento no número de diagnósticos associado à difusão do rastreamento mamográfico, recomendado no Brasil de 50 a 69 anos.[4] O número estimado de casos novos de câncer de mama no Brasil, para o triênio de 2023 a 2025, é de 73.610 casos, correspondendo a um risco estimado de 66,54 casos novos a cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama feminina é o mais incidente no país e em todas as regiões brasileiras.

O principal fator de risco para o aumento dos casos de câncer de mama feminino é a idade acima de 50 anos, outros fatores de risco incluem aspectos hormonais ou reprodutivos, como ausência de filhos, gravidez tardia e menor duração da amamentação; comportamentais, como obesidade, consumo de bebidas alcoólicas e falta de atividade física; ocupacionais, como trabalho noturno e exposição a radiações, por exemplo, raios X e raios gama; e condições genéticas e hereditárias, que representam de 5 a 10% dos casos.[3][4]

A prevenção primária do câncer de mama está relacionada ao controle dos fatores de risco conhecidos. Por meio da alimentação, nutrição, atividade física e gordura corporal adequados é possível reduzir o risco de a mulher desenvolver câncer de mama.[5] No Brasil, a

mamografia é o método recomendado para o rastreamento do câncer de mama, o que favorece o diagnóstico precoce e aumentam as chances de sucesso no tratamento.

O prognóstico do câncer de mama é influenciado pelo estágio da doença e pelas características específicas do tumor. O tratamento pode ser mais eficaz e potencialmente curativo quando a doença é detectada precocemente. Em casos com metástases (doença espalhada para outras áreas), os objetivos principais do tratamento são prolongar a sobrevivência e melhorar a qualidade de vida do paciente. As opções de tratamento para o câncer de mama são categorizadas em: tratamento local (inclui cirurgia e radioterapia, que podem ser complementadas com reconstrução mamária) e o tratamento sistêmico (engloba quimioterapia, hormonioterapia e terapia biológica).[6]

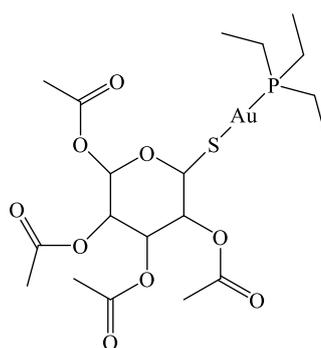
Infelizmente, a média de sobrevivência para mulheres com tumores triplo negativos metastáticos é de menos de um ano, mesmo com tratamentos quimioterápicos intensivos e caros. Os tumores triplo negativos também são conhecidos como TNBC (sigla do inglês *triple-negative breast cancer*) constituem aproximadamente 15 a 20% de todos os casos de câncer de mama [7] exibem um perfil altamente agressivo e se caracterizam pela ausência dos receptores de progesterona e estrogênio, além de não apresentar amplificação do fator de crescimento (ER) (receptor de estrogênio), (PR) receptor de progesterona e (HER-2) receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano. Logo a resposta à terapia endócrina e à terapia direcionada ao anti-HER-2 é fraca e as opções terapêuticas são limitadas e muitas vezes ineficientes em comparação com outros subtipos de câncer de mama.[7]

Portanto, à busca por novos fármacos quimioterápicos mais eficazes e seletivos para o tratamento de tumores é crucial, tanto neste contexto quanto no contexto geral do câncer. Agentes quimioterápicos anticâncer são predominantemente compostos por pequenas moléculas orgânicas e biologicamente ativas, porém o uso de fármacos baseados em metais de transição tem se mostrado altamente eficaz.[8]

### COMPLEXOS DE OURO E A QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER:

O ouro é um metal de transição do bloco d localizado no período 6 e grupo 11 da tabela periódica. Compostos de ouro (0), (I) e (III) têm demonstrado potencial para o desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos.

O uso do ouro com fins medicinais é descrito desde 2500 a.C. na medicina Chinesa e Árabe, associado às propriedades de cura.[8] Complexos de ouro com ligantes fosfina são amplamente presentes na química do ouro e continuam a ser objeto de grande interesse devido às suas variadas propriedades anticancerígenas.[9] Em meados dos anos 80, a Auranofina (tetraacetil-β-D-tioglicosetrietilfosfinaouro(I)) (**Figura 4**) (primeiro medicamento de ouro com fosfina clinicamente aprovado para o tratamento da artrite reumatoide) demonstrou ser um potente inibidor do crescimento de células tumorais *in vitro*, apresentando também atividade antitumoral *in vivo*, embora de forma limitada em camundongos com leucemia.[10]



**Figura 4** – Estrutura química da Auranofina.

Estudos de relação estrutura-atividade sobre a auranofina indicaram que o ligante fosfina é muito mais importante para a atividade biológica.[10] Atualmente, a auranofina é raramente utilizada na prática clínica, apesar de sua eficácia no tratamento da artrite reumatoide, devido à disponibilidade de medicamentos antirreumáticos mais novos e eficazes.[11]

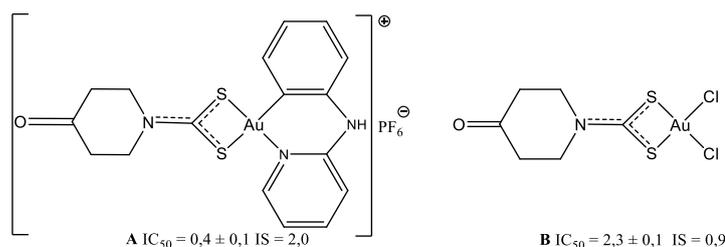
Nos últimos 20 anos, houve um aumento significativo no número de publicações sobre complexos de Au(I) e Au(III) como agentes anticâncer. Nota-se que na última década, esse tema tem atraído ainda mais atenção dos cientistas. Os complexos de Au(I) tiveram aproximadamente o dobro do número de publicações em comparação com os complexos de Au(III), o que pode ser atribuído ao grande número de compostos derivados da Auranofina que foram testados como agentes quimioterápicos nesta última década.[10]

Complexos de Au(III) têm despertado interesse na química medicinal, especialmente na quimioterapia do câncer, devido à capacidade dos centros de Au(III) em formar complexos com geometria quadrática-plana e propriedades isoeletrônicas (com orbital de valência  $d^8$ ) e isoestruturais aos compostos de Pt(II), como a *cis*-diamindicloretoplatina(II) (cisplatina,

primeiro fármaco, utilizado como agente quimioterápico, contendo um metal em sua estrutura) o que pode resultar em mecanismos de ação semelhantes. O centro de Au(III) é considerado um ácido de Lewis duro, preferencialmente ligando-se aos pares de elétrons livres de heteroátomos, como N, O, S, entre outros.[12]

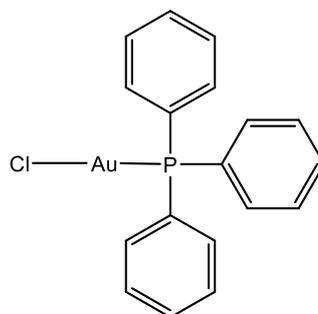
Uma das principais razões para a falta de aprovação dos compostos de Au(I) e Au(III) para o tratamento do câncer é a sua limitada solubilidade e estabilidade química no meio fisiológico. A redução do Au(III) para Au(I) ocorre espontaneamente em condições fisiológicas, e o derivado Au(I) reage com bionucleófilos por meio de reações de troca de ligantes. Em geral, os complexos de Au(III) podem ser reduzidos por agentes redutores celulares, como o tiol intracelular mais abundante nas células cancerígenas, a glutatona (GSH). Nesse contexto, a oxidação do tiol leva à formação de ligações dissulfeto fornecendo elétrons para a redução do Au(III). Outros agentes, como o ácido ascórbico, também podem causar a redução dos complexos de Au(III). Estudos sobre os mecanismos de reação dos complexos de ouro(III) no ambiente celular indicam que a estabilidade desses complexos é um fator crucial para melhorar seu comportamento sob condições fisiológicas e, ao mesmo tempo, determinar seus efeitos biológicos.[13] Essa redução do Au(III) para ouro (I) ou Au(0) não só reduz a atividade citotóxica desses compostos, mas também pode resultar no acúmulo indesejável do metal em órgãos vitais.

Embora, em alguns casos, a especiação de Au(I)/Au(III) seja responsável pela alta citotoxicidade *in vitro*, na maioria dos casos, esse fenômeno resulta em uma rápida troca de ligantes com nucleófilos biológicos, como no caso da auranofina.[8] Além disso, a redução do centro de Au(III) para Au(I) ou Au(0) sob condições fisiológicas, devido ao alto potencial redox, pode resultar na perda de atividade e possíveis efeitos adversos, devido à liberação dos ligantes ou do metal livre no meio fisiológico. Entretanto, um trabalho recente publicado pelo nosso grupo de pesquisa, (**Figura 5**) mostra compostos inéditos de ouro(III) A e B com ligantes ditiocarbamato, que apresentam atividade biológica promissora (IC<sub>50</sub>) em células de câncer de mama triplo negativa MDA-MB-231 e que também foram testados contra protozoários da leishmania apresentando ação antiparasitária significativa. [12]



**Figura 5** – Complexos de Au(III) com ligante ditiocarbamato e valores de  $IC_{50}$  em células de câncer de mama triplo negativa. Adaptado de [12]

Complexos de Au(I)- $PR_3$  estão sendo estudados por mais de três décadas como agentes anticancerígenos, apresentando os complexos de ouro(I) do tipo  $[AuX(PR_3)]$  (X = halogênio, tiolato; R = alquil, arila) como potenciais inibidores do crescimento de células tumorais *in vitro*. [9] Pesquisas recentes são encontradas sobre as propriedades anticancerígenas do cloro(trifenilfosfina)ouro(I),  $[AuCl(PPh_3)]$ , (**Figura 6**) e sua capacidade de induzir a autofagia, um processo catabólico, caracterizado pela digestão intracelular de organelas e estruturas da própria célula. [9]



**Figura 6** – Estrutura química do complexo precursor cloro(trifenilfosfina)ouro(I).

Existem muitas evidências recentes que mostram que as mitocôndrias desempenham um papel crítico na regulação da apoptose (morte celular programada). Sabe-se que as mitocôndrias são os principais produtores de energia das células, responsáveis por mais de 80% da produção de ATP nas células normais; no entanto, pesquisas mais recentes mostraram que essas organelas também desempenham um papel importante no controle da apoptose. A apoptose é uma forma de morte celular, que se distingue pela ativação de caspases, que são proteínas específicas da cisteína aspartil, que tem a função de decompor outras proteínas. Por isso, o controle da ativação das caspases é de grande importância para saber se a célula vai continuar viva ou se irá ocorrer a morte por apoptose. [14]

Foi demonstrado que o medicamento antiartrítico Au(I) contendo fosfina, auranofina, induz a apoptose por meio da inibição seletiva da tioredoxina redutase mitocondrial, enzima que tem sido alvo constante de medicamentos para o tratamento de câncer e que desempenham um papel importante na regulação de espécies reativas de oxigênio no meio intracelular.[14]

Complexos de Au(I) com fosfina parecem se acumular seletivamente nas mitocôndrias, que são o local mais provável para a sua ação biológica por meio da inibição de enzimas que decompõem outras proteínas. Esses compostos também podem interagir com a glutatona (tripeptídeo fundamental na desintoxicação celular e que dá suporte ao sistema imune) ou por outras proteínas como a albumina e as metalotioneínas (cuja função biológica está relacionada à regulação de metais essenciais e a detoxificação de metais tóxicos). É provável que diferentes mecanismos estejam envolvidos em relação aos compostos de ouro com fosfina e a mitocôndria, uma vez que estes podem estar relacionados à capacidade do composto realizar reações de troca de ligantes com ligantes biológicos. [14],[15], [16]

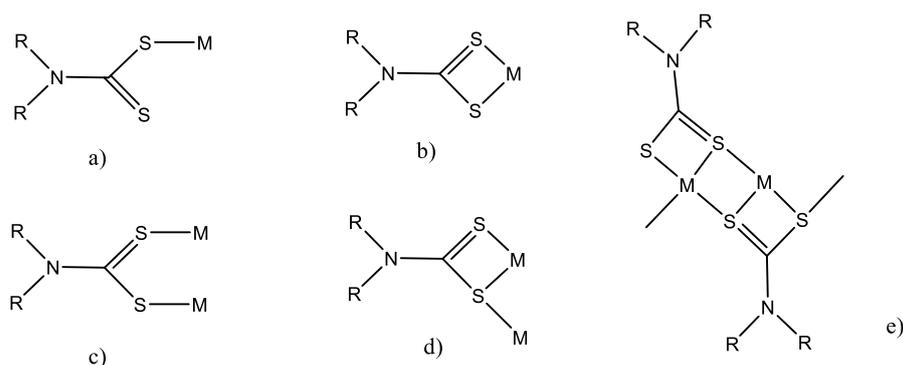
Para desenvolver medicamentos de ouro com fosfina é importante considerar a lipofilicidade do composto, (capacidade dele interagir com a parte hidrofóbica da célula/biomolécula) já que isso influencia significativamente a captação celular, (entrada do composto na célula) a biodistribuição intracelular (comportamento do fármaco a nível intracelular, onde é absorvido/metabolizado) e as propriedades farmacocinéticas do possível fármaco a ser sintetizado, ou seja, a compreensão da atuação de um fármaco no organismo desde a sua administração, absorção, distribuição e excreção.[17]

Foi demonstrado que complexos de ouro(I) com fosfina altamente lipofílicos exibem propriedades anticancerígenas notáveis, mas também apresentam toxicidade severa para tecidos normais saudáveis. Atualmente, o uso do ligante hidrofóbico trifenilfosfina resulta em complexos com boa citotoxicidade, sendo sua introdução considerada uma abordagem eficaz para melhorar a absorção dos complexos[18]. Uma maneira de aumentar a biodistribuição e a seletividade para o tecido tumoral é aumentando a proporção anfifílica do complexo, o que pode ser alcançado por meio de um design cuidadoso do ligante.[9]

## ESTRATÉGIAS PARA SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS DE OURO(I)

A busca por novos compostos metálicos na quimioterapia do câncer é constante, visando melhorar a eficácia e reduzir os efeitos colaterais adversos dos tratamentos. Nesse contexto, no desenvolvimento de metalofármacos, estão sempre em desenvolvimento novos ligantes que se ligam a centros metálicos para formar complexos com propriedades citotóxicas desejadas. Os ligantes desempenham um papel crucial no ajuste das propriedades citotóxicas dos complexos metálicos, influenciando na lipofilicidade, estabilidade e reatividade do complexo. A natureza dos ligantes pode conferir propriedades diferentes aos complexos, como seletividade por determinados tipos de células cancerosas, capacidade de atravessar membranas celulares ou interagir com alvos específicos no interior das células.[19]

Os ditiocarbamatos (DTCs) são compostos organossulfurados obtidos pela reação entre uma amina secundária e dissulfeto de carbono, geralmente em meio básico (como NaOH e KOH). Esses compostos são caracterizados pela presença do grupo funcional  $-NCSS^-$  e têm sido amplamente estudados devido às suas atividades biológicas comprovadas, que incluem propriedades anticancerígenas, antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes. Como ligantes, os DTCs são extremamente versáteis, apresentando vários modos de complexação. Eles se ligam aos íons metálicos principalmente através dos átomos de enxofre e são conhecidos por sua capacidade de atuarem como ligantes bidentados e monodentados.[19] Quando atuam como ligantes bidentados, os DTCs utilizam ambos os átomos de enxofre como centros doadores de elétrons, formando um anel quelato de quatro membros, como ilustrado na **Figura 7b**. Nesse tipo de ligação, os átomos de enxofre do ligante coordenam-se aos átomos de metal em posições adjacentes na esfera de coordenação, proporcionando uma alta estabilidade ao complexo. Por outro lado, os DTCs também podem se ligar de forma monodentada, utilizando apenas um átomo de enxofre como centro doador (**Figura 7a**). Nesse caso, o ligante está ligado ao metal por meio de um único átomo de enxofre, permitindo que outros ligantes ou grupos ocupem os sítios de coordenação restantes. Ainda existem exemplos na literatura de complexos de DTCs nos quais esses ligantes coordenam-se a mais de um centro metálico, atuando como pontes entre os cátions metálicos (**Figura 7c-e**). Nesses casos, um único ligante DTC pode ligar dois ou mais íons metálicos adjacentes, formando uma ponte entre eles.[20]



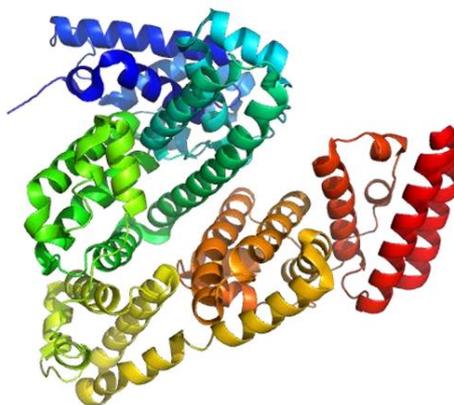
**Figura 7** – Representação de alguns modos de coordenação comuns aos ligantes ditiocarbamatos.[20]

Essas diferentes maneiras de complexação conferem aos DTCs um vasto potencial de aplicação na química de coordenação. Eles podem estabilizar cátions metálicos em diferentes estados de oxidação, facilitando a síntese de complexos com variadas propriedades físico-químicas e biológicas. Estudos recentes desenvolvidos no nosso grupo de pesquisa mostram que complexos de ouro(III) com ligantes DTC são promissores nos ensaios de citotoxicidade em células de câncer de mama triplo negativa MDA-MB-231 assim como em protozoários causadores da leishmaniose.[12] Alguns destes ligantes são usados neste trabalho porém com o intuito de obter complexos de ouro(I) incluindo o grupo fosfina afim de verificar a relação da modificação estrutural nessas atividades.

### PRINCIPAIS ALVOS BIOLÓGICOS DOS COMPOSTOS DE OURO

O mecanismo de ação de compostos à base de ouro tem sido amplamente estudado, embora ainda não esteja completamente elucidado. O estudo das reações dos compostos de ouro(I) com as albuminas de soro humano (HSA) ou bovino (BSA) (**Figura 8**) que são as proteínas mais abundantes do plasma sanguíneo tem recebido muita atenção. A albumina desempenha um papel crucial no transporte de vários compostos. Entre os resíduos de cisteína presentes na albumina sérica, a cisteína-34 (Cys-34) se destaca devido ao seu baixo pKa, o que significa que ela é predominantemente desprotonada no pH fisiológico (cerca de 7,4). Isso torna a Cys-34 altamente reativa e um provável sítio de ligação para compostos à base de ouro no sangue. A interação entre os compostos de ouro(I) e a Cys-34 pode ser essencial para o

transporte desses compostos no organismo, modificando sua biodisponibilidade e eficácia terapêutica.[15]



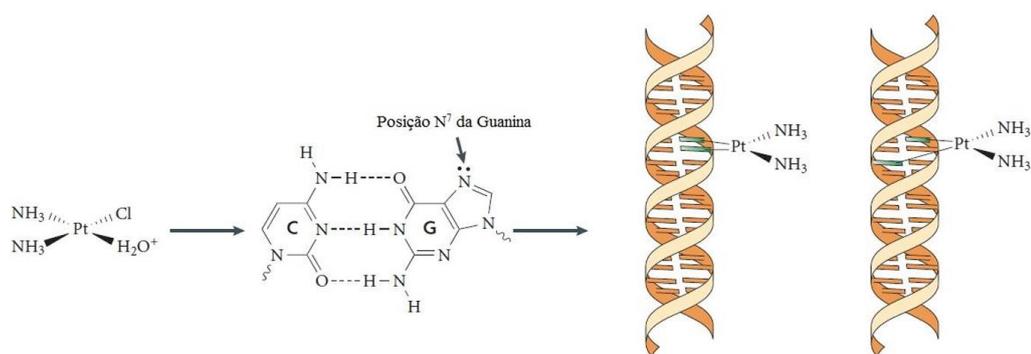
**Figura 8** – Representação da estrutura terciária da BSA.[8] Código PDB: 4F5S.

A apoptose é um mecanismo natural de morte programada em células de mamíferos e representa uma abordagem promissora para a terapia anticâncer. Diversos estímulos podem ativar a via apoptótica, incluindo danos ao DNA.[12], [21] A molécula de DNA (ácido desoxirribonucleico) pode interagir com diversas moléculas dentro dos seres vivos de diversas maneiras, incluindo interações covalentes e não covalentes. Algumas das principais interações incluem intercalação e interação eletrostática.[21]

Como o DNA está no núcleo da célula e se replica para propagar a informação genética nele contida, buscar soluções para impedir a replicação do DNA de células que sofreram mutação pode ser uma alternativa de inibir processos neoplásicos.

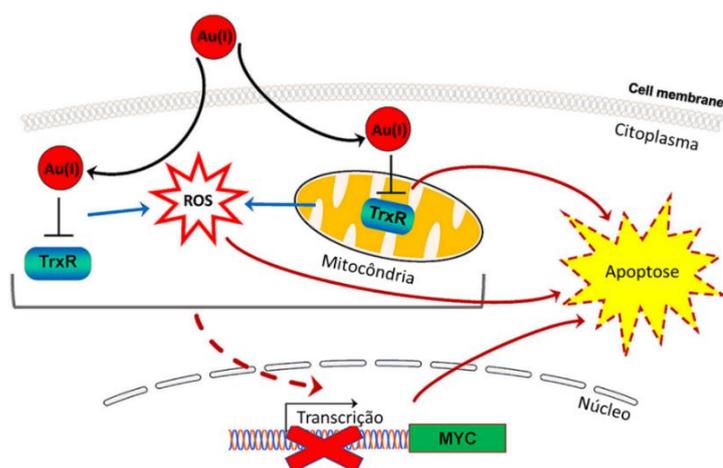
Os compostos de coordenação que se ligam ao DNA têm sido alvo de pesquisas desde a descoberta da cisplatina e dos medicamentos à base de platina. A cisplatina, um fármaco utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$  sofre hidrólise ao entrar na célula para formar as espécies  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^+$  e  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ . [22] [23]

A baixa concentração celular de íons cloreto facilita este processo de hidrólise, sendo estas duas últimas as formas mais ativas no ataque aos alvos celulares.[21] O átomo de platina forma ligações covalentes com as posições N7 de purinas (**Figura 9**) para proporcionar principalmente ligações 1,2- intracadeia ou 1,3-intercadeia envolvendo a guanina e a adenina, porém formando em pequenas quantidades outras formas de ligação covalente.



**Figura 9** – Hidrólise da cisplatina e formação das ligações entre a platina e as bases do DNA.[24]

Estudos anteriores mostram que a inibição da TrxR (tiorredoxina redutase) pode ser uma estratégia para o desenvolvimento de fármacos contra o câncer uma vez que essa enzima desempenha um papel fundamental na regeneração da Trx ativa (tiorredoxina), permitindo que ela continue a desempenhar suas funções de redução de proteínas e controle do estresse oxidativo o que reduz o dano oxidativo e a sobrevivência das células tumorais. [25] (**Figura 10**). A inibição da TrxR por meio de complexos de ouro surgiu como uma estratégia promissora no tratamento do câncer, uma vez que quantidades significativas da TrxR tem sido observada em vários tipos de tumores agressivos e está associada ao desenvolvimento de resistência a medicamentos.[9] O mecanismo é por meio do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio que conseqüentemente levam à indução de apoptose (morte celular programada) e redução significativa da proliferação celular. Isso é evidenciado pelo acúmulo de células, fragmentação do DNA e ativação de caspase-3 (enzimas que decompõem proteínas).[9][26] Esse sistema é composto por três componentes principais: a tiorredoxina (Trx), a tiorredoxina redutase (TrxR) e o cofator NADPH.[11]



**Figura 10** – Esquema de indução da apoptose pela TrxR na mitocôndria ocasionada por compostos de ouro(I). Adaptado de [25]

Portanto, a inibição seletiva da TrxR pode representar uma abordagem terapêutica eficaz para combater o câncer, uma vez que interfere na capacidade das células cancerosas de neutralizar o estresse oxidativo e pode aumentar sua sensibilidade aos tratamentos convencionais. Trabalhos na literatura envolvendo compostos a base de ouro(I) [27] [28] [29] relatam a atuação desses compostos na enzima ao qual exibem propriedades antiproliferativas através de forte inibição de TrxR. [30] A compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na regulação da TrxR por complexos de ouro(I) relatados na literatura e sua relação com a progressão do câncer é de grande interesse e têm o potencial de levar a novas terapias mais eficazes contra o câncer.

Com base no que foi mencionado, a avaliação da atividade antiproliferativa de novos compostos de ouro(I) contendo fosfina com ligantes ditiocarbamato, pode contribuir de forma valiosa para a expansão da classe de potenciais metalo-fármacos. Além disso, pode ajudar a compreender os benefícios dos compostos de coordenação como agentes antitumorais, permitindo que eles possam ser utilizados clinicamente no tratamento do câncer.

## 2 OBJETIVO GERAL

Obtenção de novos complexos de ouro(I) com ligantes ditiocarbamatos e fosfina contribuindo para o desenvolvimento de fármacos antitumorais.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e a caracterizar os complexos de ouro(I) com ligantes ditiocarbamatos;
- Caracterizar os complexos por diversas técnicas tais como: espectroscopias na região do infravermelho, análise elementar de C, H e N, espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$ , e difração de raios X por monocristal;
- Realizar a investigação da atividade citotóxica dos complexos e ligantes, frente às linhagens de células tumorais de mama, MDA-MB-231 e 4T1;
- comparativo entre as células tumorais e as linhagens de células normais MCF-10a;
- Avaliar as interações dos compostos com biomoléculas como DNA e BSA.

### **3 PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

Todos os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram obtidos de fontes comerciais com padrão de pureza analítico e usados como recebidos. Os complexos foram caracterizados por análise termogravimétrica (TG), análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV), RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$  e espectrometria de massas. Cristais inéditos dos complexos foram obtidos e tiveram suas estruturas determinadas por difração de raios X por monocristal.

##### **3.1.1 Análise Elementar**

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio nos compostos foram determinados utilizando analisador CHNS/O 2400 Series II Perkin Elmer no Departamento de Química da UFMG, sendo utilizado gás oxigênio para a combustão e gás hélio para o arraste dos gases gerados na combustão das amostras.

##### **3.1.2 Análise Termogravimétrica**

As análises termogravimétricas foram realizadas no Departamento de Química da UFMG utilizando uma termobalança Shimadzu DTG60H e fluxo de nitrogênio ( $50\text{ mL min}^{-1}$ ), em uma razão de aquecimento de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  em cadinho de alumina.

##### **3.1.3 Espectroscopia Vibracional na região do infravermelho (IV)**

Os espectros de infravermelho dos ligantes e complexos sintetizados foram obtidos em um equipamento Perkin Elmer modelo Frontier no modo ATR na região de  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  (resolução espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$ ) em 64 scans.

### 3.1.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e $^{31}\text{P}$

Os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$  foram realizados utilizando-se  $\text{DMSO-}d_6$  e espectros adquiridos no espectrômetro Bruker Avance III nanobay para experimentos com frequência de 400 MHz para o  $^1\text{H}$ , 101 MHz para  $^{13}\text{C}$  e 162 MHz para  $^{31}\text{P}$  no Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química da UFMG.

### 3.1.5 Difração de raios X por monocristal

Os monocristais foram difratados no Laboratório de Cristalografia (LabCri) do Departamento de Física da UFMG, pelo Prof. Dr. Willian Xerxes. Utilizou-se um difratômetro Rigaku-Diffraction Synergy e comprimento  $K\alpha$  do cobre (1,5418 Å). As amostras foram montadas em suporte de poliamida que não apresenta padrão de difração. A integração dos dados, bem como a correção de absorção foram feitas pelo software CRYSTALIS. Os parâmetros de rede foram obtidos pelo melhor ajuste possível das reflexões. O grupo de espaço 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-2018 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 metilenos nos compostos **CL2** e **CL3** e distâncias C–H = 0,97 Å e  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,5 U_{\text{eq}}(\text{C})$  para grupos metil no composto obtido a partir do **CL1**. As figuras foram obtidas nos programas Mercury [31].

### 3.1.6 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 centímetro de caminho óptico,  $\lambda$  excitação = 280 nm e  $\lambda$  emissão

de 285 a 550 nm (interação com BSA),  $\lambda$  excitação = 530 nm e  $\lambda$  emissão de 535 a 750 nm (competição com BE), fendas de excitação e emissão de 5 nm.

### 3.1.7 Espectrometria de Massas

As amostras foram preparadas na concentração de 50 ppm em metanol no Centro Regional para o Desenvolvimento e Tecnológico e Inovação (Crti) da Universidade Federal de Goiás. 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  $m/z$  600 – 700, resolução 70.000, spray voltage 4,0 kV, fluxo de 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ , gás de bainha 12, gás auxiliar 0, temperatura do capilar 320 °C, temperatura do gás auxiliar 37 °C, s-lens 55.

### 3.1.8 Ensaios de estabilidade em DMSO

O ensaio de estabilidade em DMSO foi realizado utilizando RMN de  $^1\text{H}$  e para isso foram separados cerca de 10 mg dos complexos completamente dissolvidos em 600  $\mu\text{L}$  de DMSO- $d_6$  e o espectro de  $^1\text{H}$  foi coletado ao longo de 7 dias. O *software* MestreNova foi usado para analisar os espectros.

### 3.1.9 Ensaio de citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade *in vitro* dos compostos foi realizado no Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas - SibLab, no Departamento de Química da UFMG. Foram utilizadas linhagens de células tumorais de carcinoma mamário murino (4T1) e adenocarcinoma de mama humana (MDA-MB-231). Estas linhagens possuem fenótipo triplo-negativo altamente metastático. Para avaliar a seletividade dos compostos também foi utilizada uma linhagem celular de mama humana não tumoral (MCF-10a). As células foram cultivadas a 37 °C em garrafas de 25  $\text{cm}^2$  em meio de cultura RPMI 1640 suplementadas com 10% (v/v) de (FBS) soro fetal bovino em pH 7,4 e atmosfera úmida a 5% de  $\text{CO}_2$ . As células foram distribuídas em placas de 96 poços, com densidades que variaram de 0,8 a  $1,5 \times 10^3$

células/poço, por um período de incubação de 24 horas para adesão na placa. Soluções estoque dos compostos foram preparadas ( $10^{-2}$  molL<sup>-1</sup> em DMSO) e diluídas em meio de cultura em diferentes concentrações (10, 5, 1, 0,5 e 0,1  $\mu$ M), onde a porcentagem de DMSO máxima foi de 1%. Depois de 72 horas de exposição aos compostos, as células foram incubadas por 4h com MTT, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (5 $\mu$ g/10 $\mu$ L/poço) ao abrigo da luz. Após a incubação com o MTT, o meio de cultura foi removido e o produto de metabolização do MTT pelas células viáveis (Formazan) foi solubilizado em DMSO (100 $\mu$ L/poço) e medido por leitura espectrofotométrica (absorbância em 570 nm). Os valores de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória de 50% da viabilidade celular) foram calculados considerando o grupo controle negativo (100%). Os dados foram tratados utilizando o software GraphPad Prism 9. A cisplatina foi utilizada como composto de referência.

## 3.2 ESTUDOS DA INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS

### 3.2.1 Estudos de interação com BSA por medidas de Fluorescência

Preparou-se uma solução de BSA (albumina do soro bovino, Sigma Aldrich) em tampão Fosfato-Salino *Phosphate -Buffered - Saline* pH 7,4 (1,4 mM de cloreto de Sódio (NaCl), 8 mM de Fosfato de Sódio dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e 2 mM de Fosfato de Sódio monobásico dihidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O)). A concentração da solução foi determinada por espectroscopia na região do UV-VIS, sabendo-se que a absorvidade molar ( $\epsilon$ ) da BSA em 280 nm é 44.300 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> L e utilizando-se a lei de Beer – Lambert ( $A = \epsilon bc$ ), onde A é absorvância, b o caminho óptico (cm) e c a concentração (molL<sup>-1</sup>). Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados em um intervalo de 285 a 550 nm, com  $\lambda_{exc}$  280 nm. Foi feita a leitura do tampão com BSA, após foi feita a análise da interação da amostra com o BSA, para isso na cubeta, foram adicionados 2.925  $\mu$ L do tampão pH 7,4, e 75  $\mu$ L de solução-estoque de BSA ( $1,39 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>). Resultando em uma concentração de inicial de BSA na cubeta igual a  $3,48 \times 10^{-6}$  molL<sup>-1</sup>. Em seguida, foram realizadas sucessivas adições de solução dos compostos em DMSO até que se atinja uma proporção 1:5 (BSA: complexo). Os espectros obtidos a cada adição foram utilizados no modelo de Stern-Volmer (**Equação 1**) para determinação da constante K<sub>SV</sub> (constante de Stern-Volmer), onde F<sub>0</sub> e F são as intensidades relativas de fluorescência da

proteína livre na ausência e na presença do complexo, respectivamente,  $K_q$  é a constante de velocidade biomolecular da supressão,  $\tau_0$  é o tempo de vida de fluorescência média do fluoróforo excitado ( $\tau_0 = 1 \times 10^8$  s)[32][33] e  $[Q]$  é a concentração do complexo supressor de emissão.  $K_{SV}$  é considerada a constante de ligação entre o aduto BSA-composto titulante é obtida pela regressão linear de  $\frac{F}{F_0}$  vs  $[Q]$ .

$$\frac{F}{F_0} 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV}[S] \text{ (Equação 1)[33]}$$

### 3.2.2 Estudos de competição do Brometo de Etídio e ctDNA por fluorescência

Foram utilizadas soluções de ctDNA (DNA de timo de bezerro, Sigma Aldrich) cuja concentração da solução foi determinada por espectroscopia na região do UV-VIS, sabendo-se que a absorvidade molar ( $\epsilon$ ) do ctDNA em 260 nm é  $6.600 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$  e utilizando-se a lei de Beer – Lambert ( $A = \epsilon bc$ ). O experimento foi realizado pela titulação de uma solução de ctDNA ( $1,11 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ) em tampão fosfato (PBS, pH = 7,4) contendo  $8,43 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  de BE com uma solução de complexo ( $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ) em alíquotas de  $5\mu\text{L}$  até a proporção de 1:3 (DNA:Complexo). Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados em um intervalo de 530 a 750 nm, com  $\lambda_{exc}$  520 nm. [31],[33],[34]

Os espectros obtidos a cada adição foram utilizados no modelo de Stern-Volmer (**Equação 1**) para determinação da constante  $K_{SV}$  (constante de Stern-Volmer), onde  $F_0$  e  $F$  são as intensidades relativas de fluorescência do aduto BE-ctDNA na ausência e na presença do complexo, respectivamente,  $K_q$  é a constante de velocidade biomolecular da supressão,  $\tau_0$  é o tempo de vida de fluorescência média do aduto BE-ctDNA excitado ( $23,0 \times 10^{-9}$  s)[33],  $[Q]$  é a concentração do complexo e  $K_{SV}$  é a constante de constante de Stern-Volmer. Esta constante é considerada a constante de interação entre o ctDNA-composto titulante é obtida pela regressão linear de  $\frac{F}{F_0}$  vs  $[Q]$ .

$$\frac{F}{F_0} 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV}[S] \text{ (Equação 1)[33]}$$

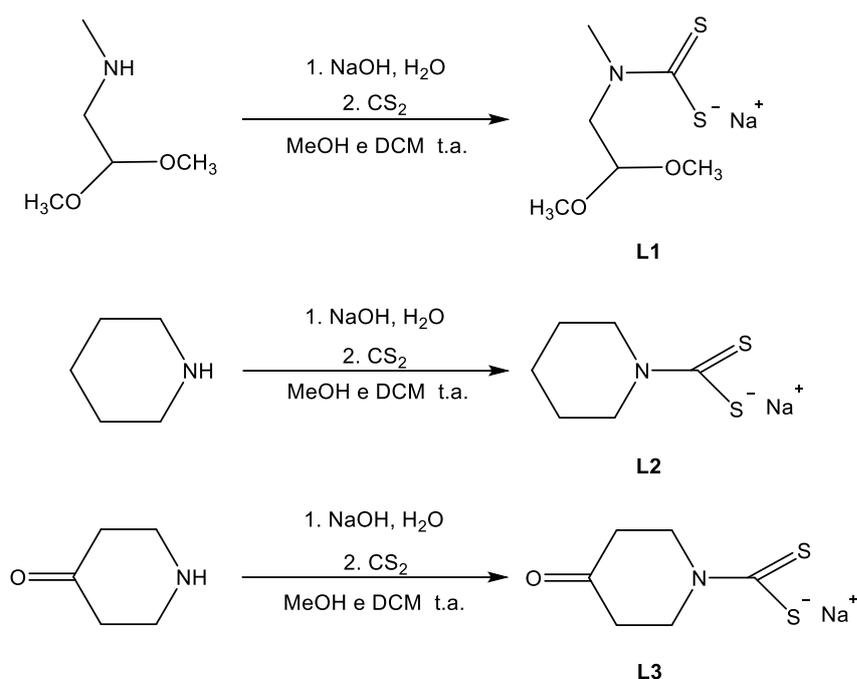
### 3.2.3 Eletroforese de DNA em gel de agarose

A habilidade dos complexos de se ligar ao DNA plasmidial foi avaliada por eletroforese em gel de agarose. Foi utilizado o plasmídeo PSP72 assim, 10  $\mu\text{L}$  do plasmídeo (100 ng) em tampão Tris-HCl (trihidroximetilaminometano, pH = 7,2) foram incubados com 10  $\mu\text{L}$  dos ligantes a 200  $\mu\text{M}$  em DMSO (concentração final de 100  $\mu\text{M}$ ) e dos complexos em concentração de 200 e 20  $\mu\text{M}$  em DMSO (concentração final de 100  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$ ) por 24h a 37°C, 5% v/v DMSO. A razão resultante é de 20 e 2 mmol Au/g DNA. Após incubação, as reações foram interrompidas pela adição de 5  $\mu\text{L}$  de tampão de carregamento (5 mmolL<sup>-1</sup> Tris-HCl, 0,01% v/v de azul de bromofenol, 50% v/v de glicerol) às reações. As misturas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose (0,7% m/v), em tampão TAE 1X (40 mM de Tris-acetato, 0,5 molL<sup>-1</sup> EDTA pH 8,0) a 70 V, por 60 minutos. O gel foi visualizado e fotografado sob iluminação UV em câmara reveladora após incubação em solução de BE (2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) por 24 horas.

## 3.3 SÍNTESE

### 3.3.1 Síntese dos Ligantes Ditiocarbamatos (DTC)

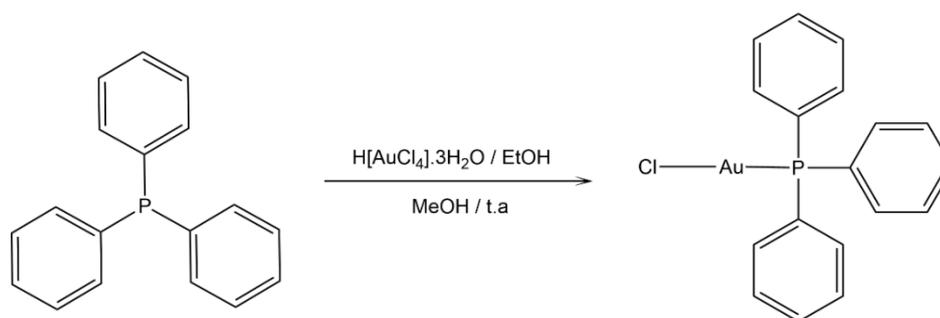
A síntese dos ligantes **L1**, **L2** e **L3** (**Figura 11**) foi realizada como descrito na literatura e suas caracterizações estão de acordo com esses dados [12]. Os ligantes foram preparados partindo da respectiva amina (3,0 mmol) solubilizada em 10 mL de etanol seguida da adição 1 mL de solução aquosa de NaOH (3,0 mmol). Após agitação por 15 min adicionou-se dissulfeto de carbono CS<sub>2</sub> (3,0 mmol) gota a gota. A reação foi acompanhada por placa cromatográfica usando como eluente diclorometano/metanol 9:1 e iodo como revelador. Para **L1** e **L3** a reação foi realizada em banho de gelo. Foi adicionado 30 mL de éter etílico ao balão e em seguida o solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida e o sólido bege obtido foi filtrado e lavado com 15 mL de éter etílico. Obteve-se cerca de 75% de rendimento para **L1**, 79% de rendimento para **L2** e 82% de rendimento para **L3**.



**Figura 11** – Esquema reação de síntese dos ligantes **L1**, **L2** e **L3**. Fonte: Autoria própria

### 3.3.2 Síntese do complexo precursor de ouro

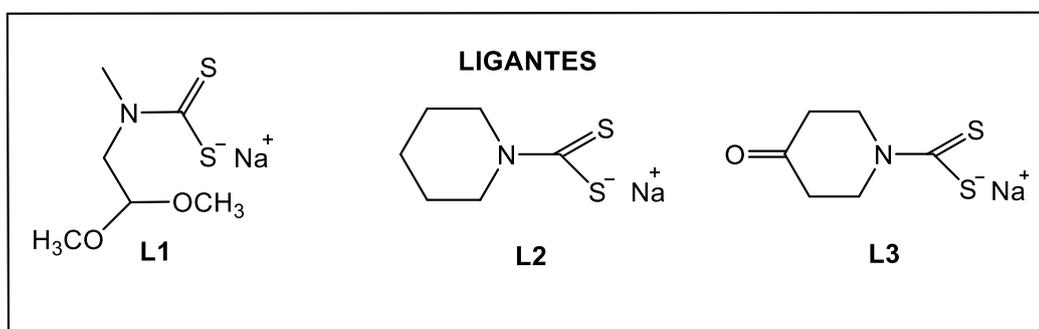
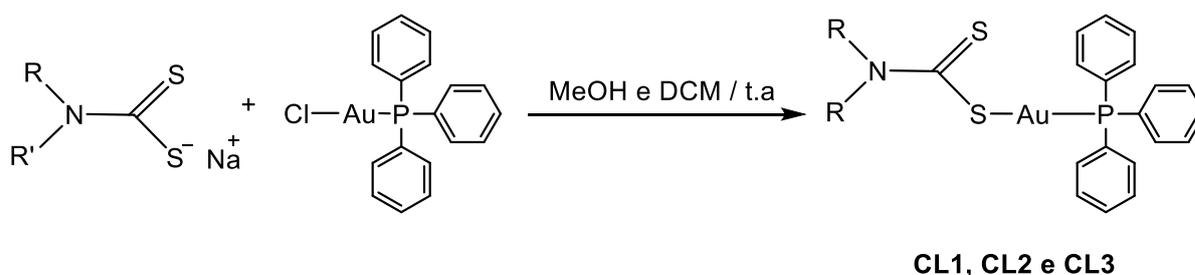
Para a obtenção dos compostos de interesse, primeiramente foi realizada a síntese de um complexo precursor, cloro(trifenilfosfina)ouro(I) [Au(PPh<sub>3</sub>)Cl] (**Figura 12**) como descrito na literatura [34]. A trifenilfosfina (PPh<sub>3</sub>) (1,5 mmol) foi previamente solubilizada em 10 mL de metanol sob aquecimento. Seguida da adição gota a gota de 3 mL de solução etanólica de tetracloroaurato(III) de hidrogênio trihidratado [H(AuCl<sub>4</sub>).3H<sub>2</sub>O] (1,5 mmol). A reação foi deixada sob agitação magnética por 5 dias. O andamento da reação foi acompanhado por placa cromatográfica utilizando como eluente hexano/acetato de etila 3:2. O produto obtido foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com etanol, água e éter etílico. Rendimento 46%.



**Figura 12** – Reação de síntese do precursor de ouro. Fonte: Autoria própria.

### 3.3.3 Síntese dos complexos de ouro com ditiocarbamatos

A **Figura 13** mostra o esquema de síntese dos três complexos inéditos: **CL1**, **CL2** e **CL3**. Onde, **L1**, **L2** e **L3** se refere aos diferentes tipos de ligantes utilizados e **C** representa o complexo formado com aquele determinado ligante. Abaixo são descritas as condições necessárias para a formação de cada complexo assim como seus respectivos rendimentos.

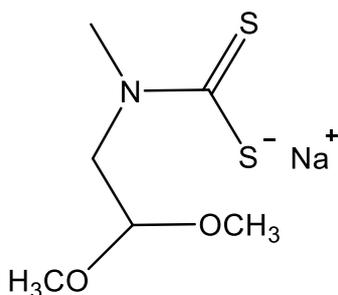


**Figura 13** – Esquema de síntese dos complexos Fonte: Autoria própria.

Os complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** foram preparados na proporção 1:1 de ligante e precursor de ouro (AuPPh<sub>3</sub>Cl). Na síntese desses complexos, adicionou-se a um balão de fundo redondo o ligante (0,2 mmol) solubilizado em 3 mL de MeOH. Em seguida, adicionou-se gota a gota o precursor de ouro (0,2 mmol) solubilizado em 2 mL de diclorometano (DCM). A reação foi deixada sob agitação magnética por 48h. Os complexos **CL1** e **CL3** foram submetidos a evaporação do solvente por pressão reduzida. Já o complexo **CL2** foi filtrado, pois obteve-se um sólido amarelo no balão. Rendimento de 75% para **CL1**, de 63% para **CL2** e 28% para o **CL3**.

Os complexos de ouro(I) formados a partir destes ligantes apresentam coloração amarela e se mostraram estáveis em solução de DMSO quando estocados. A fim de compará-los, os ligantes foram caracterizados nas mesmas condições que os respectivos complexos, sempre que possível. Os dados dos ligantes utilizados (**L1**, **L2** e **L3**) e complexos sintetizados (**CL1**, **CL2**, **CL3**) neste trabalho estão listados a seguir.

### L1



Nome IUPAC: 2,2-dimetoxietil metil carbamoditioato de sódio(I)

Fórmula molecular: C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NNaO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>

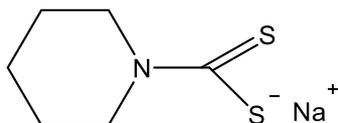
Massa molar: 217,28 g mol<sup>-1</sup>

Característica física: sólido bege

IV (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2941, 1629, 1470, 1269, 1062, 964.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 3,2 s, 6H (OCH<sub>3</sub> e OCH<sub>3</sub>), 3,3 s, 3H (N-CH<sub>3</sub>), 4,0 d, *J* = 5,4 Hz, 2H N-CH<sub>2</sub>), 4,7 t, *J* = 5,3 Hz, 1H (HC-OCH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 43,4 (N-CH<sub>3</sub>), 53,9 (O-CH<sub>3</sub>), 56,4 (N-CH<sub>2</sub>), 103,0 (O<sub>2</sub>-CH), 214,7 (N-C=S<sub>2</sub>).

**L2**

Nome IUPAC: Piperidina-1-carboditioato de sódio(I)

Fórmula molecular:  $C_6H_{10}NNaS_2$

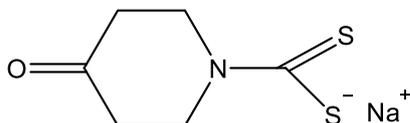
Massa molar:  $183,26 \text{ g mol}^{-1}$

Característica física: sólido branco

IV ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3356, 2929, 1623, 1502, 1464, 1214, 964.

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1,4 dt,  $J' = 11,3$   $J'' = 5,8$  Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N), 1,5 (dd,  $J' = 11,5$   $J'' = 6,0$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N), 4,2 – 4,2 m, 4H, 2CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N).

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 24,4 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>2</sub>), 50,3 (CH<sub>2</sub>), 212,5 (N-C=S<sub>2</sub>).

**L3**

Nome IUPAC: 4-Oxopiperidina-1-carboditioato de sodio(I)

Fórmula molecular:  $C_6H_8NONaS_2$

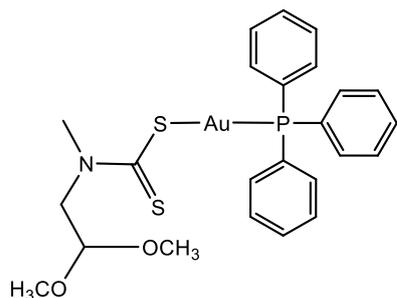
Massa molar:  $197,25 \text{ g mol}^{-1}$

Característica física: sólido bege

IV ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3282, 2929, 1709, 1626, 1201, 929.

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 2,3 t,  $J = 6,1$  Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub> (O=C-CH<sub>2</sub>), 4,5 t,  $J = 6,1$  Hz, 4H, 2CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-N).

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 40,5 (CH<sub>2</sub>), 47,9 (CH<sub>2</sub>), 208,8 (N-C=S<sub>2</sub>), 214,9 (O=C).

**CL1**

Fórmula molecular:  $C_{24}H_{27}NAuPO_2S_2$

Massa molar:  $653,55 \text{ g mol}^{-1}$

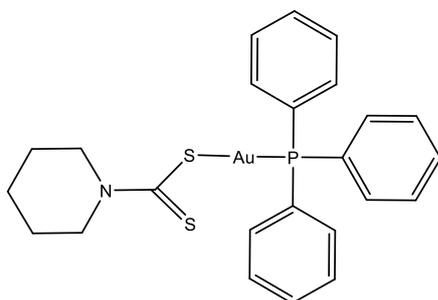
Característica física: óleo bem viscoso amarelo

IV ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2935, 1257, 1092, 976, 753, 689

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 3,3 s, 6H (OCH<sub>3</sub> e OCH<sub>3</sub>), 3,3 s, 3H (N-CH<sub>3</sub>), 3,9 d,  $J = 7,2 \text{ Hz}$ , 2H (N-CH), 4,7 t,  $J = 5,4 \text{ Hz}$ , 1H (HC-OCH<sub>3</sub>), 7,6 – 7,5 m, 15H (PPh<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39,6 (NCH<sub>3</sub>), 44,5 (O-CH<sub>3</sub>), 54,2 (O-CH<sub>3</sub>), 57,7 (N-CH<sub>2</sub>), 101,8 (CH<sub>2</sub>-C-H<sub>3</sub>), 129,5 (C-PPh<sub>3</sub>), 131,9 (C-PPh<sub>3</sub>), 133,6 (C-PPh<sub>3</sub>),  $\delta$  207 (N-C=S<sub>2</sub>).

RMN  $^{31}\text{P}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38,6 (P-Ph<sub>3</sub>).

**CL2**

Fórmula molecular:  $C_{24}H_{25}NAuPS_2$

Massa molar:  $619,53 \text{ g mol}^{-1}$

Característica física: sólido cristalino amarelo claro

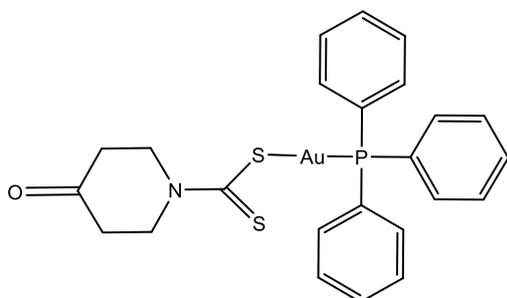
IV ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2929, 1470, 1226, 1092, 976, 738, 683

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1,6-1,5 m, 6H, 3CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N), 4,0-3,9 m, 4H, 2CH<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N), 7,67 m, 15H, (PPh<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 23,3 (**CH**<sub>2</sub>), 25,6 (**CH**<sub>2</sub>), 52 (**N-CH**<sub>2</sub>), 129,4 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 130,1 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 131,8 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 133,6 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 203,9 (**N-C=S**<sub>2</sub>).

RMN  $^{31}\text{P}$ (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38,6 (**P-Ph**<sub>3</sub>).

### CL3



Fórmula molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{AuNOPS}_2$

Massa molar: 633,51 g mol<sup>-1</sup>

Característica física: sólido cristalino amarelo

IV (cm<sup>-1</sup>): 2956, 1720, 1438, 920, 797, 685

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 2,5 t,  $J = 6,3$  Hz 4H, 2CH<sub>2</sub> (O=C-**CH**<sub>2</sub>) 4,31 t,  $J = 6,3$  Hz 4H, 2CH<sub>2</sub> (**CH**<sub>2</sub>-N), 7,6-7,4 m, 15H, (**PPh**<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ) $\delta$ : 39,3 (s, **CH**<sub>2</sub>), 48,8 (s, **N-CH**<sub>2</sub>), 129,4 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 131,9 (s, **C-PPh**<sub>3</sub>), 133,6 (**C-PPh**<sub>3</sub>), 205,8 (s, **N-C=S**<sub>2</sub>), 206,7 (s, **C=O**).

RMN  $^{31}\text{P}$ (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38,7 (**P-Ph**<sub>3</sub>).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

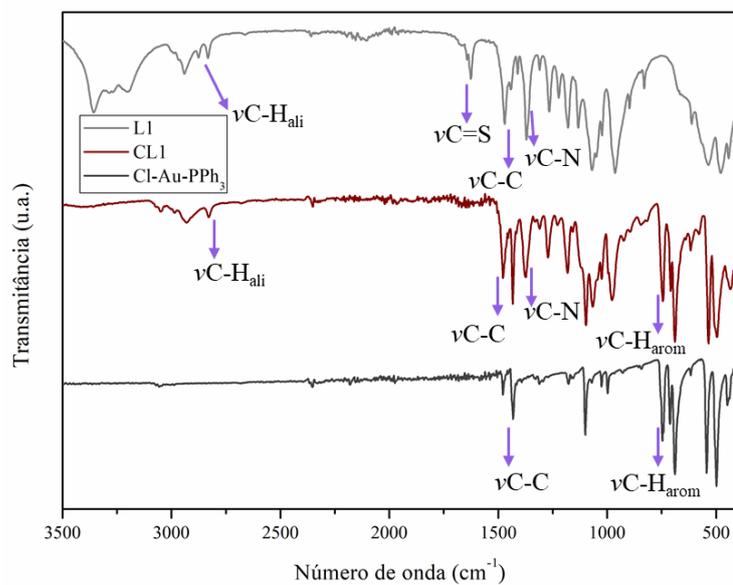
### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Os ligantes ditiocarbamatos (DTC) utilizados neste trabalho (**L1**, **L2** e **L3**) foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e Dept em  $\text{DMSO-}d_6$  e estão em concordância com os dados da literatura [12]. Eles se mostraram estáveis em solução de DMSO quando estocados. As análises espectrais confirmam a obtenção dos ligantes DTC, de coloração branca ou levemente bege, solúveis em solventes como DMSO,  $\text{H}_2\text{O}$  e MeOH. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  dos ligantes apresentam sinais de átomos de hidrogênio e carbono característicos dos compostos obtidos. As atribuições destes ligantes estão descritas no apêndice (**Figura A1 – A6**).

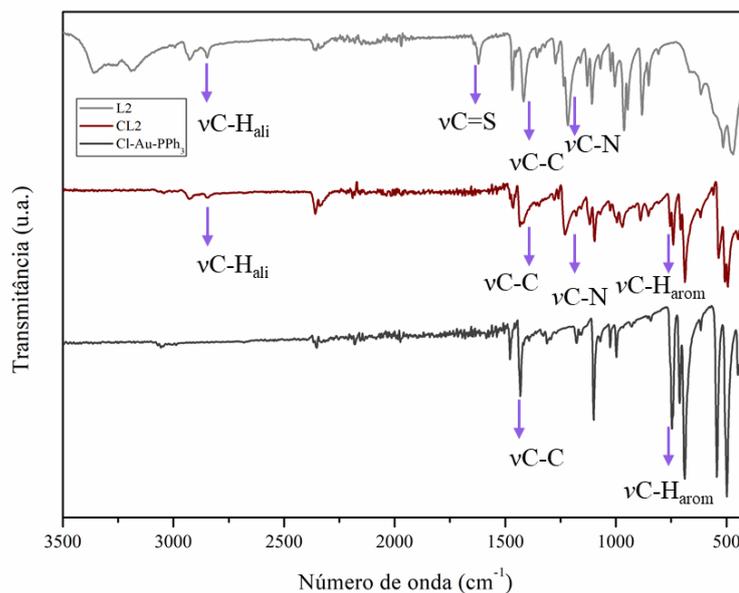
Os respectivos complexos de ouro(I) (**CL1**, **CL2** e **CL3**) foram caracterizados por RMN e IV sempre em comparação ao precursor e aos ligantes e é discutido a seguir. Os complexos também foram caracterizados por termogravimetria, análise elementar de C, H e N, massas e difração de raios X por monocristais e serão discutidos adiante.

#### 4.1.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

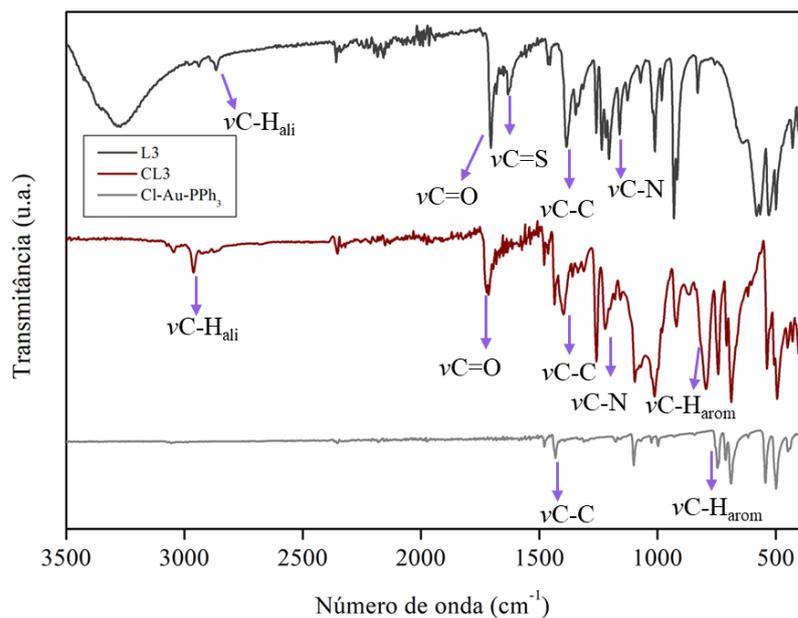
A análise dos resultados obtidos por espectroscopia vibracional na região do infravermelho dos compostos permitiu obter informações relevantes acerca da coordenação dos ligantes ao ouro e da estrutura dos complexos. As **Figuras 14 – 16** apresentam os espectros de absorção dos ligantes, e precursor em comparação com seus respectivos complexos na região de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ . Na **Tabela 1** estão apresentadas as atribuições de algumas frequências observadas, em  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes às bandas características dos ligantes livres e dos complexos metálicos.[37], [38]



**Figura 14** – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante **L1** e complexo **CL1**. Fonte: Autoria própria.



**Figura 15** – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante **L2** e complexo **CL2**. Fonte: Autoria própria.



**Figura 16** – Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor, ligante **L3** e complexo **CL3**. Fonte: Autoria própria.

**Tabela 1** – Atribuição das principais bandas observadas nos espectros de absorção na região do infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos ligantes e respectivos complexos

Cl-Au-PPh <sub>3</sub>	L1	CL1	L2	CL2	L3	CL3	Atribuição
<b>3050</b>	-	3051	-	3051	-	3055	$\nu(\text{C-H}_{\text{arom}})$
-	2941	2935	2929	2929	2867	2956	$\nu(\text{C-H}_{\text{alif}})$
-	1629	-	1623	-	1626	-	$\nu\text{N-C=S}$
-	-	-	-	-	1709	1705	$\nu\text{C=O}$
<b>1431</b>	1470	-	-	1464	-	1491	$\nu\text{C-C}$
<b>1106</b>	-	-	-	-	-	-	dobra C-H
-	1269	1257	1214	1226	1201	1223	$\nu\text{C-N}$
-	1062	1092	-	-	-	-	$\nu\text{C-O}$
<b>745</b>	750	753	744	738	-	738	$\delta'\text{CH}$
-	-	689	-	683	-	685	$\nu\text{C-S}$

Nota:  $\nu$  = estiramento;  $\delta'$  = deformação angular.

As bandas referentes ao ligante trifenilfosfina ocorrem em 3050, 1431, 1106, 745, 683, 544, 503  $\text{cm}^{-1}$  e foram claramente identificadas a partir do espectro do precursor de ouro e estão presentes nos três complexos obtidos [35]. Em todos os espectros dos ligante e complexos são observadas bandas entre 1200-1300  $\text{cm}^{-1}$ , correspondendo aos estiramentos da ligação C-N do ligante ditiocarbamato de acordo com a literatura[35].

Outra importante atribuição característica é o estiramento da tioamida ( $\nu\text{C}=\text{S}$ ) que é identificada em todos os ligantes, mas está ausente nos complexos. Isso evidencia a complexação, uma vez que no complexo, a ligação Au-S está em ressonância, não sendo possível identificar o estiramento tioamida devido a essa ressonância[35]. Em contrapartida é possível observar nos complexos, a banda de estiramento ( $\nu\text{C}-\text{S}$ ) na região entre 680-710  $\text{cm}^{-1}$  [36].

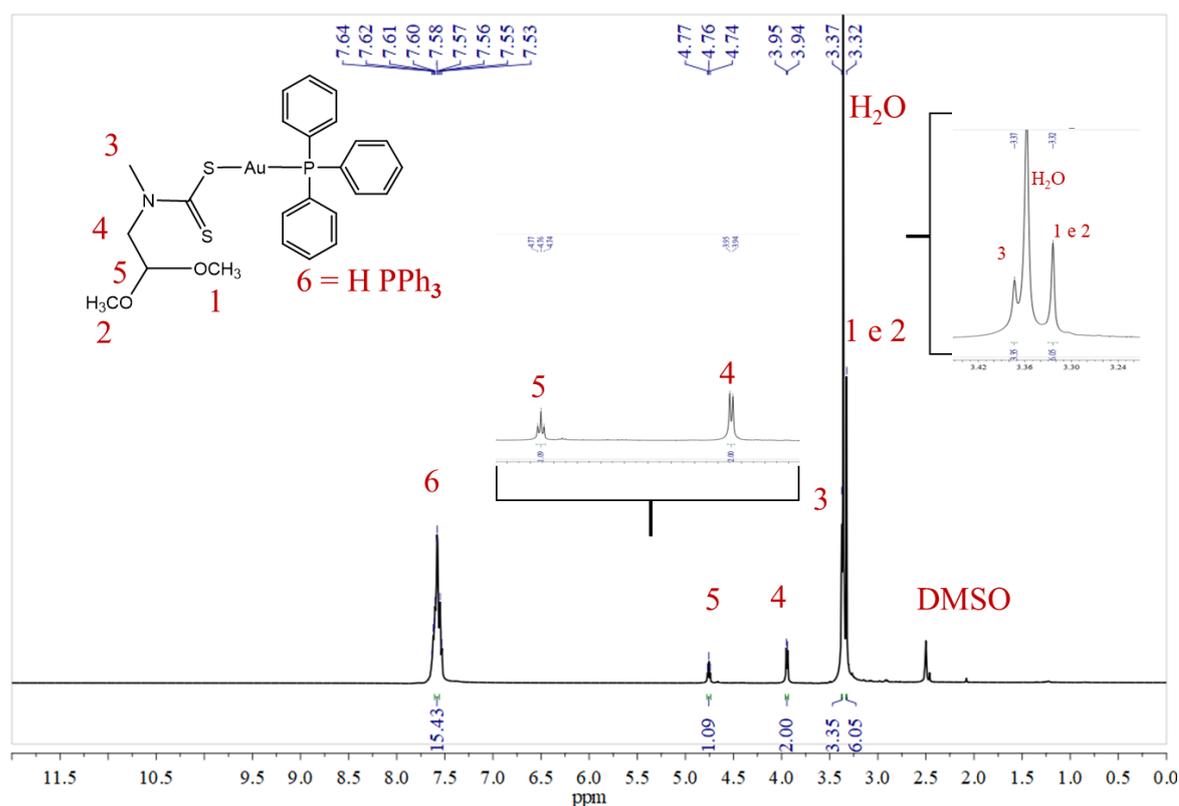
As deformações angulares C-H aromáticas ocorrem próximas a 750  $\text{cm}^{-1}$  para todos os complexos e ligantes, assim como os estiramentos ( $\nu\text{C}-\text{H}$ ) alifático que caem na região de 2900  $\text{cm}^{-1}$ [37], [38],[39]. Os estiramentos atribuídos a carbonila ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ) ocorrem entre 1705-1725  $\text{cm}^{-1}$  e foram identificados apenas para **L3** e **CL3** como esperado. De acordo com a literatura o estiramento  $\nu(\text{Au}-\text{P})$  é atribuído na faixa de 420-541  $\text{cm}^{-1}$  e os picos relacionados a ligação Au-S encontram-se em energias ainda mais baixas, o que não é possível identificar nesta análise.

#### 4.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A caracterização por RMN dos compostos foi realizada com o objetivo de se verificar o sucesso reacional de todas as etapas, desde a obtenção dos ligantes e precursor até a obtenção dos complexos biologicamente relevantes. Foi possível confirmar a coordenação das frações DTC ao centro do ouro(I) por variações nos deslocamentos químicos de sinais característicos dos núcleos de hidrogênio, carbono e fósforo. São discutidos a seguir os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e  $^{31}\text{P}$  obtidos para os complexos **CL1**, **CL2**, e **CL3** bem como suas atribuições.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **CL1** (**Figura 17**) apresenta os sinais referentes aos átomos de hidrogênio do complexo de ouro(I), em concordância com a estrutura proposta. O simpleto que tem o deslocamento em 3,32 ppm com integração de 6 H corresponde aos

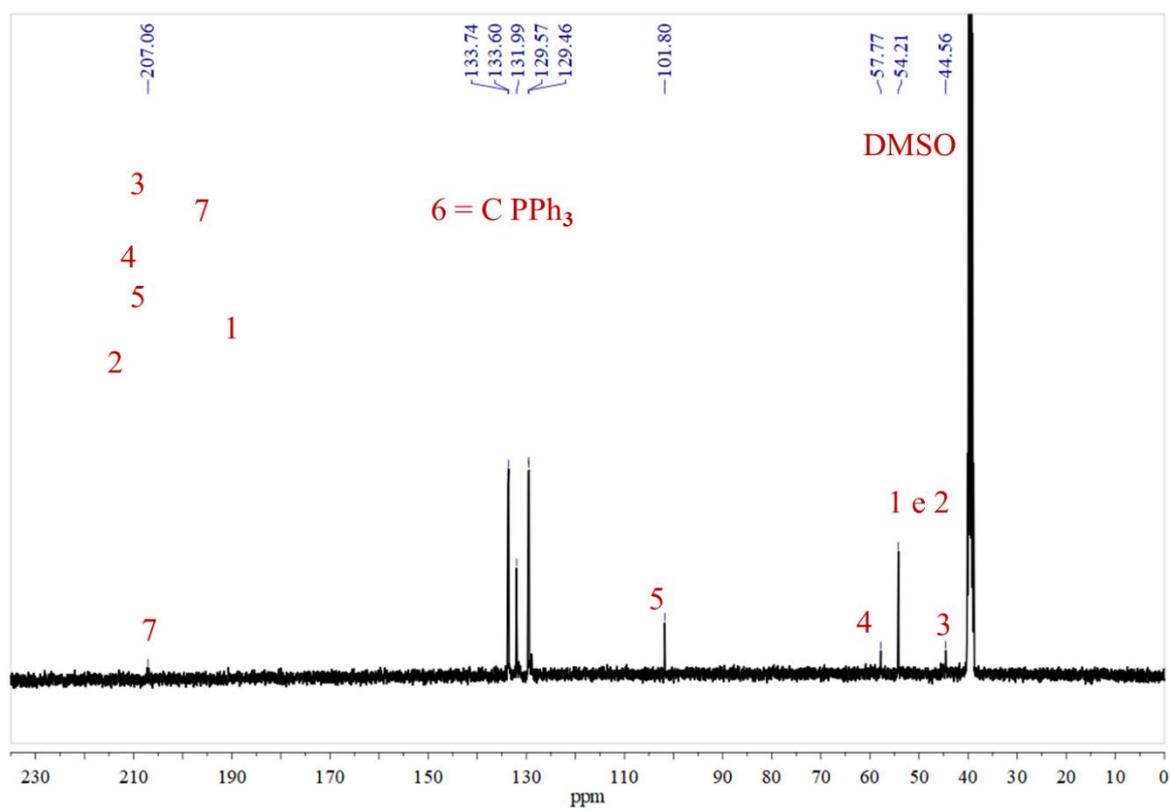
átomos de hidrogênio das metoxilas (1 e 2) enquanto o sinal em 3,37 ppm com integração de 3H corresponde ao átomos de hidrogênio da metila que está ligada ao átomo de nitrogênio (3), já o duplete que tem deslocamento de 3,93 ppm se refere aos átomos de hidrogênios CH<sub>2</sub> (4), e o tripleto em 4,76 ppm ao (5). Por fim, o multiplete compreendido entre 7,64-7,56 ppm com integração de 15 H corresponde ao grupo trifenilfosfina (6). Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada pois ao compararmos os espectros do RMN de <sup>1</sup>H do ligante **L1**, mostrada no apêndice (**Figura A1**) e do precursor de ouro (**Figura A7**) os sinais apresentam deslocamentos significativo, como por exemplo o sinal dos 2 H do duplete (4) que no ligante tem deslocamento em 4,08 ppm e pós a complexação esse deslocamento é em 3,94 ppm. Além dos átomos de hidrogênio da fosfina (6) que aparecem no espectro do complexo.



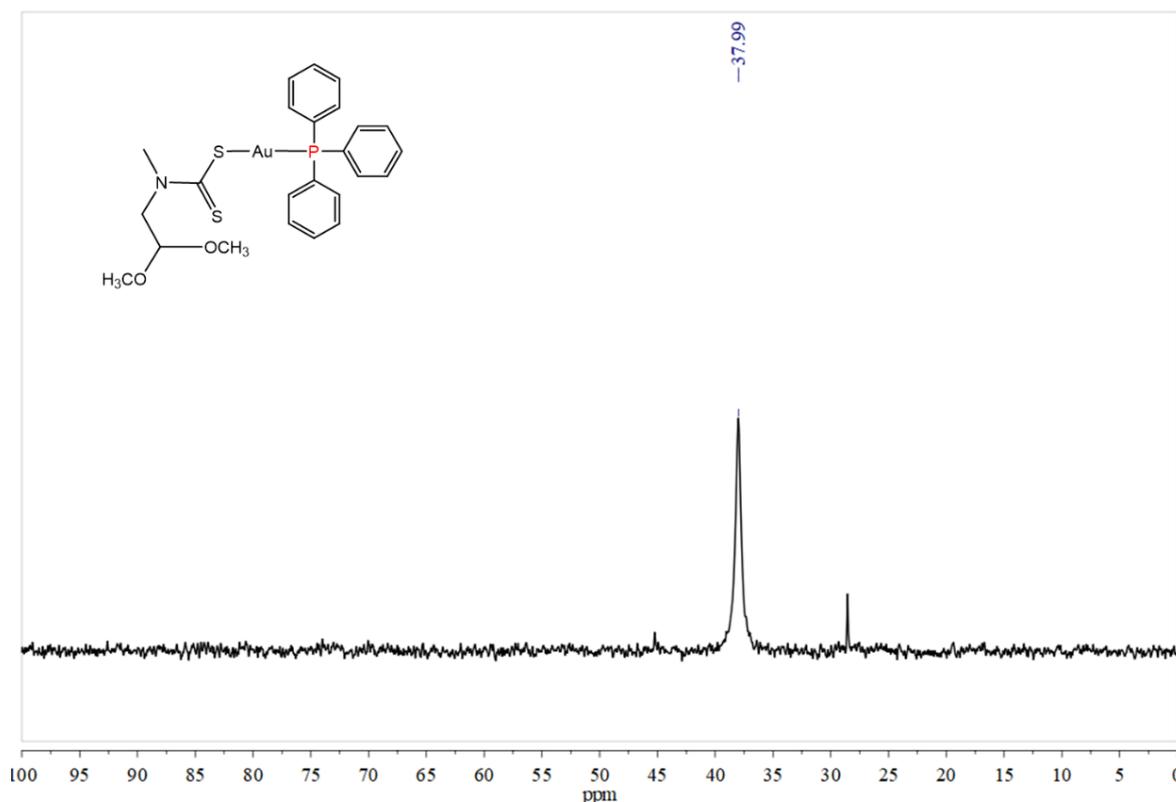
**Figura 17** – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **CL1** em solução de DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ em ppm) em 400 MHz.

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C do complexo **CL1** (**Figura 18**) apresenta os sinais dos átomos de carbono referentes ao complexo de ouro, em concordância com a estrutura proposta. O sinal com deslocamento de 44,56 ppm corresponde ao átomo de carbono do metileno (3) que

está ligado ao N, o sinal com deslocamento em 54,21 ppm correspondem aos átomos de carbonos (1 e 2) das metoxilas  $\text{OCH}_3$  do ditiocarbamato e o sinal em 57,77 ppm corresponde ao átomo de carbono  $\text{CH}_2$  que está ligado ao N (4) e o sinal do átomo de carbono em 101,80 ppm corresponde ao átomo de carbono (5). Os átomos de carbono do grupo fosfina são os que estão localizados na região de aromático de 129,46 ppm a 133,74 ppm (6) e por último o átomo de carbono não hidrogenado que está ligado aos átomos de S e átomo de N possui deslocamento igual a 207,06 ppm (7). Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada, pois ao compararmos os espectros do RMN de  $^{13}\text{C}$  ligante **L1** (**Figura A2**) e do precursor de ouro (**Figura A8**) os sinais apresentam deslocamentos significativos, principalmente o deslocamento do átomo de carbono não hidrogenado (7), que no ligante antes da complexação tinha deslocamento em 214,79 e após a formação do complexo esse deslocamento passou a ser igual a 207,06 ppm. Também é possível identificar os átomos de carbono referentes ao grupo trifenilfosfina. A (**Figura 19**) mostra o espectro de  $^{31}\text{P}$  ao qual é possível observar o simpleto do átomo de P da trifenilfosfina no deslocamento igual a 37,90 ppm. Assim como reportado em [37] que apresentou sinal em 37,99 para um composto de ouro(I) contendo trifenilfosfina.



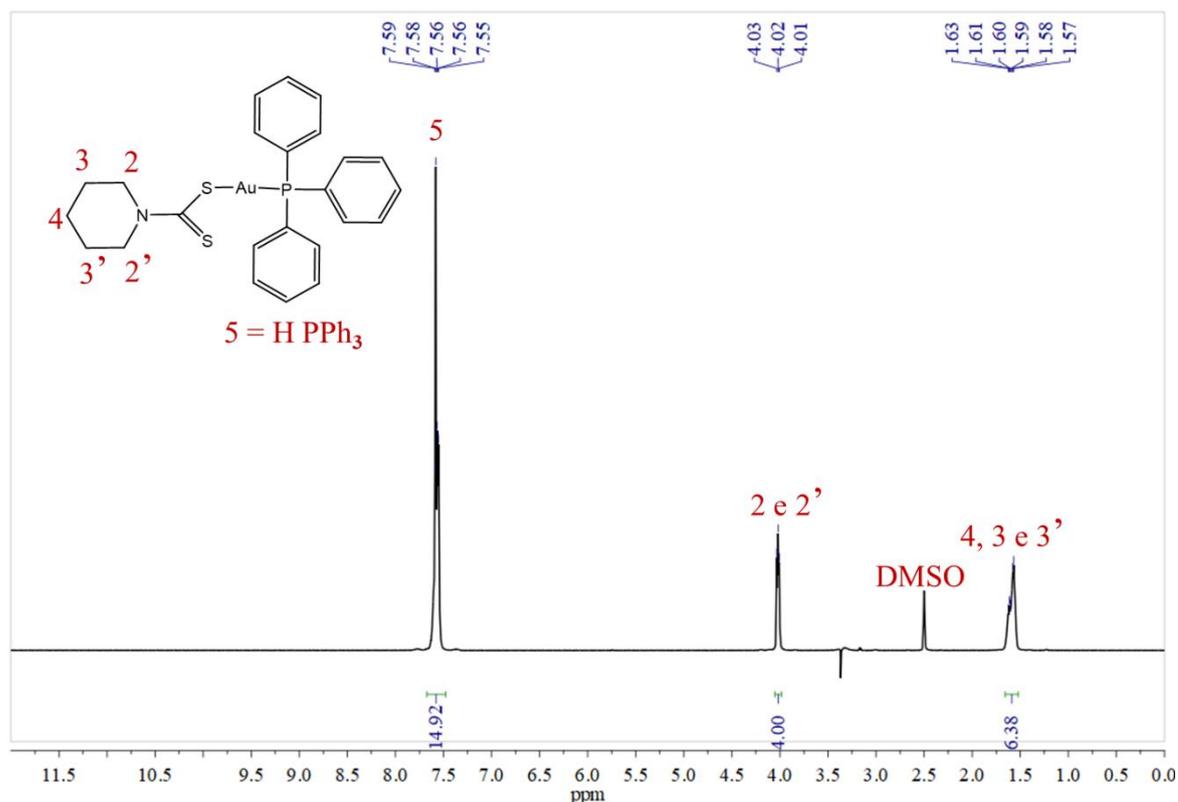
**Figura 18** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo **CL1** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



**Figura 19** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  do complexo **CL1** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 162 MHz.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **CL2** (**Figura 20**) apresenta os sinais referentes aos átomos de hidrogênio do complexo de ouro(I), em concordância com a estrutura proposta. O multiplete que tem o deslocamento em 1,57-1,63 ppm com integração de 6 H corresponde aos átomos de hidrogênio (4, 3 e 3') do  $\text{CH}_2$  da piperidina, já o tripleto (2 e 2') que tem deslocamento em 4,02 com integração de 4 H corresponde aos átomos de hidrogênio que estão ligados ao átomo de carbono próximo ao N da piperidina e os sinais compreendidos em 7,55-7,59 com integração de 15 H correspondem aos átomos de hidrogênio do grupo trifenilfosfina (5).

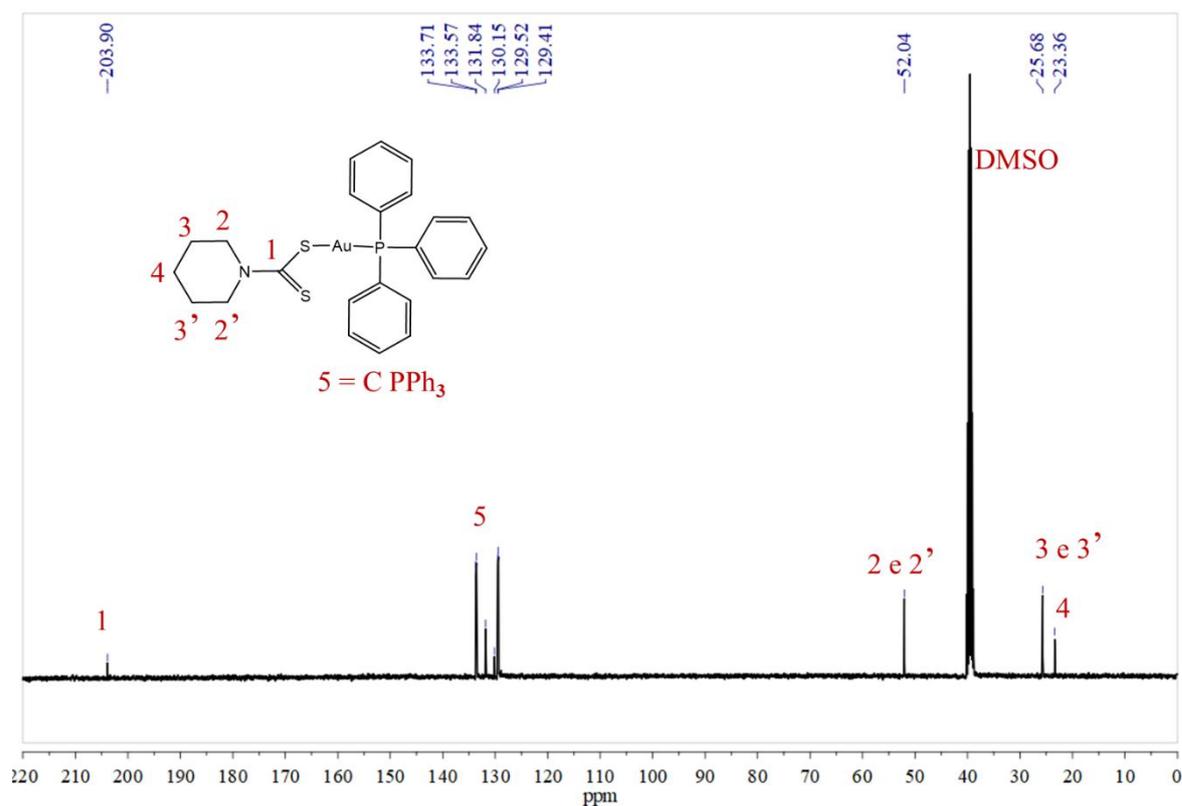
Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada ao compararmos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante **L2** (**Figura A3**) e do precursor de ouro (**Figura A7**), os sinais apresentam deslocamentos significativos um indício que evidencia a complexação, como por exemplo, o sinal do tripleto (2 e 2') que no ligante correspondia a um deslocamento igual a 3,85 ppm e a pós a complexação o mesmo se encontra em um valor igual a 4,02 ppm.



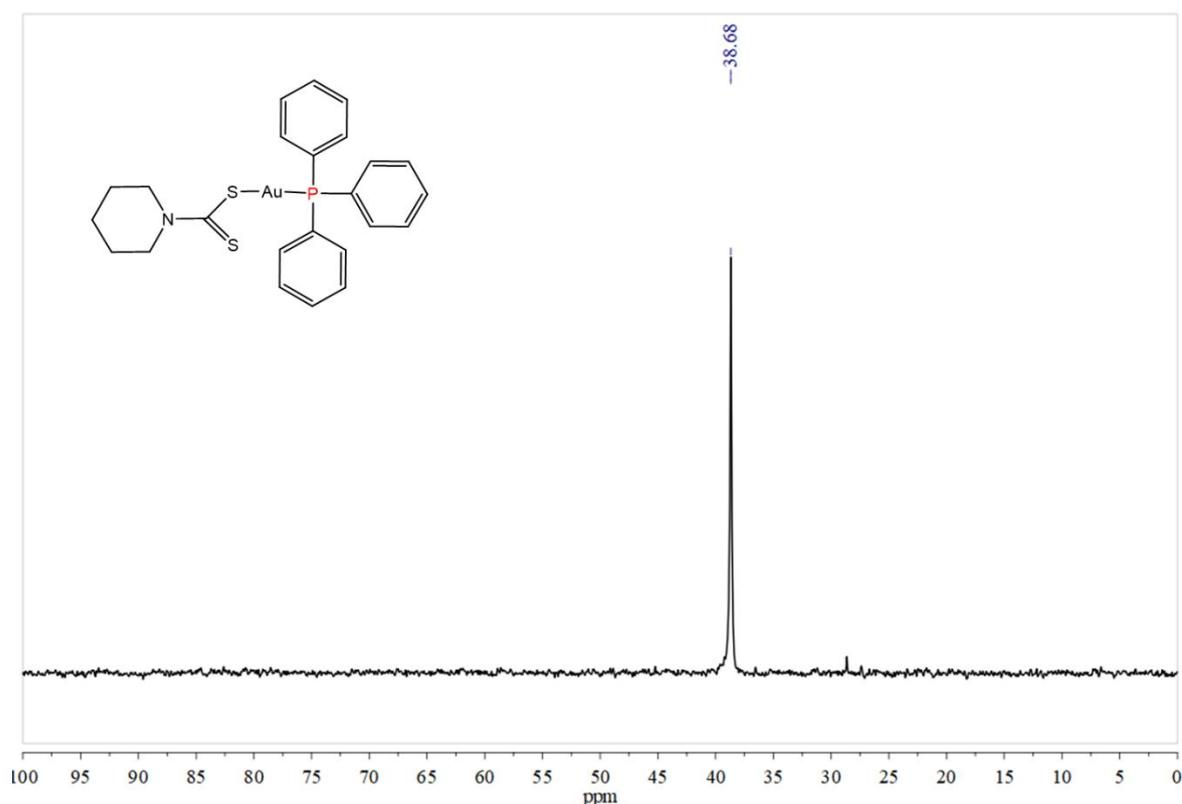
**Figura 20** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo CL2 em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 400 MHz.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo CL2 (**Figura 21**) apresenta os sinais dos átomos de carbono referentes ao ligante L2 e ao precursor de ouro, em concordância com a estrutura proposta. O simpleto que tem o deslocamento 23,36 ppm corresponde ao átomo de carbono (4) do  $\text{CH}_2$  da piperidina. Os simpletos que tem deslocamento em 25,68 ppm corresponde aos C dos  $\text{CH}_2$  (3 e 3') da piperidina. Já o simpleto que tem deslocamento igual a 52,04 ppm corresponde aos átomos de carbono do  $\text{CH}_2$  que está ligado ao átomo de N da piperidina (2 e 2'). Os carbonos do grupo fosfina são os que estão localizados na região de aromático, de 129,41 ppm a 133,71 ppm (5) e por último o átomo de carbono não hidrogenado que está ligado aos átomos de S do dissulfeto e ao átomo de N da piperidina possui deslocamento igual a 203,90 ppm (1). Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada, pois ao compararmos os espectros do RMN de  $^{13}\text{C}$  ligante L2 (**Figura A4**) e do precursor de ouro (**Figura A8**) os sinais apresentam deslocamentos significativos principalmente o deslocamento do átomo de carbono não hidrogenado, que está ligado aos dois enxofres, que no

ligante tem deslocamento em 212,56 ppm e após a formação do complexo esse deslocamento passou a ser igual a 203,09 ppm. A (**Figura 22**) mostra o espectro de  $^{31}\text{P}$  ao qual é possível observar o simpleto do átomo de P da trifenilfosfina no deslocamento igual a 38,68 ppm, valor próximo ao reportado na literatura de 37,90 ppm. [37]

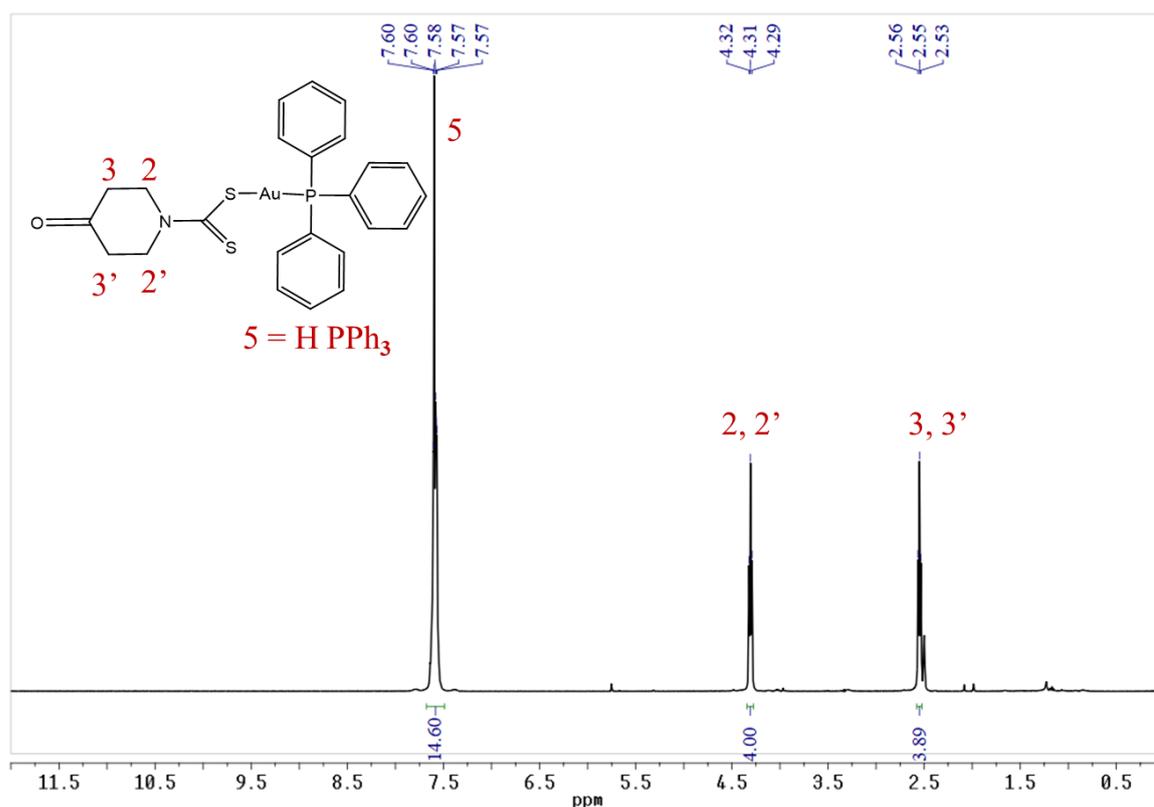


**Figura 21** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo **CL2** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



**Figura 22** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  do ligante **CL2** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 162 MHz.

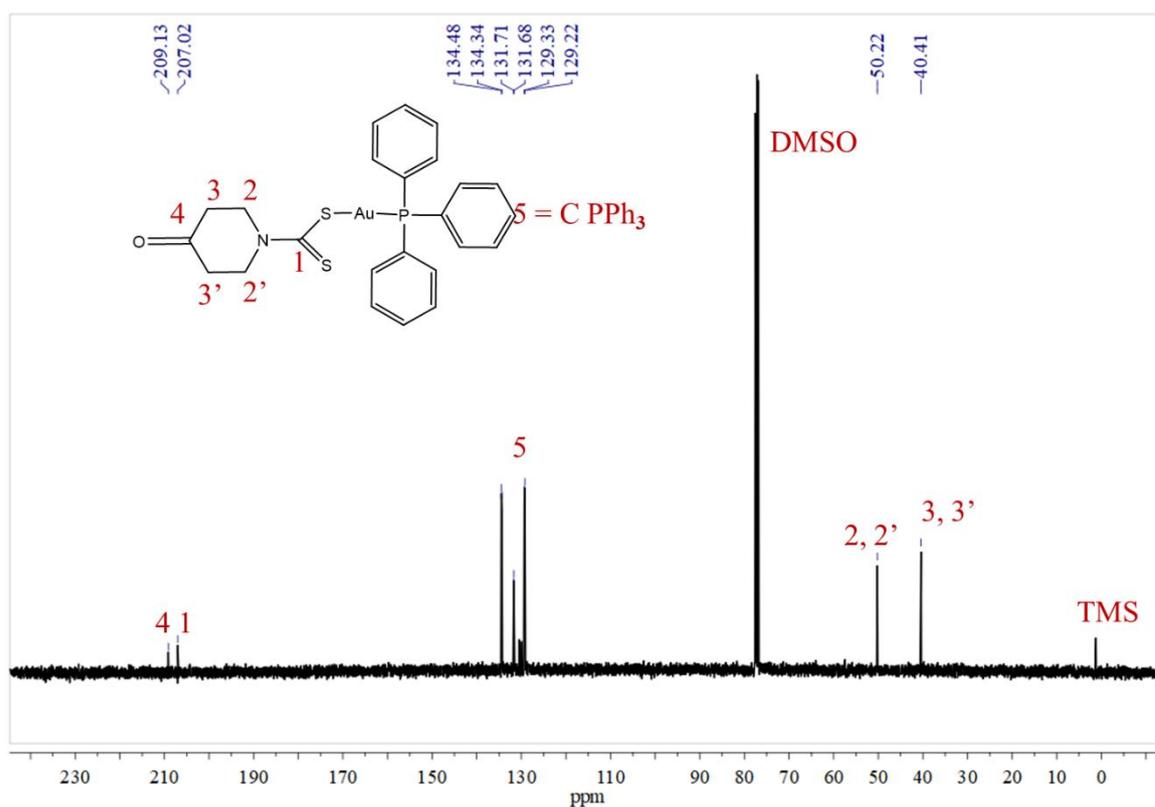
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **CL3** (**Figura 23**) apresenta os sinais referentes aos átomos de hidrogênio do complexo de ouro(I), em concordância com a estrutura proposta. O tripleto que tem o deslocamento em 2,55 ppm com integração de 4 H corresponde aos átomos de hidrogênio (3, 3') do  $\text{CH}_2$  da piperidina, mais desblindado. Já o tripleto que tem como deslocamento em 4,31 ppm com integração de 4 H (2 e 2') corresponde aos átomos de hidrogênio que estão ligados ao átomo de carbono próximo ao átomo de N da piperidona e os sinais compreendidos em 7,57-7,60 ppm com integração de 15 H correspondem aos átomos de hidrogênios do grupo trifenilfosfina. Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada pois ao compararmos os espectros do RMN de  $^1\text{H}$  do ligante **L3** (**Figura A5**) e do precursor de ouro (**Figura A7**) os sinais apresentam deslocamentos significativos um indício que evidencia a complexação, como por exemplo, o sinal do tripleto (2 e 2') que no ligante corresponde a um deslocamento igual a 4,53 ppm e a pós a complexação o sinal se encontra em um valor igual a 4,31 ppm.



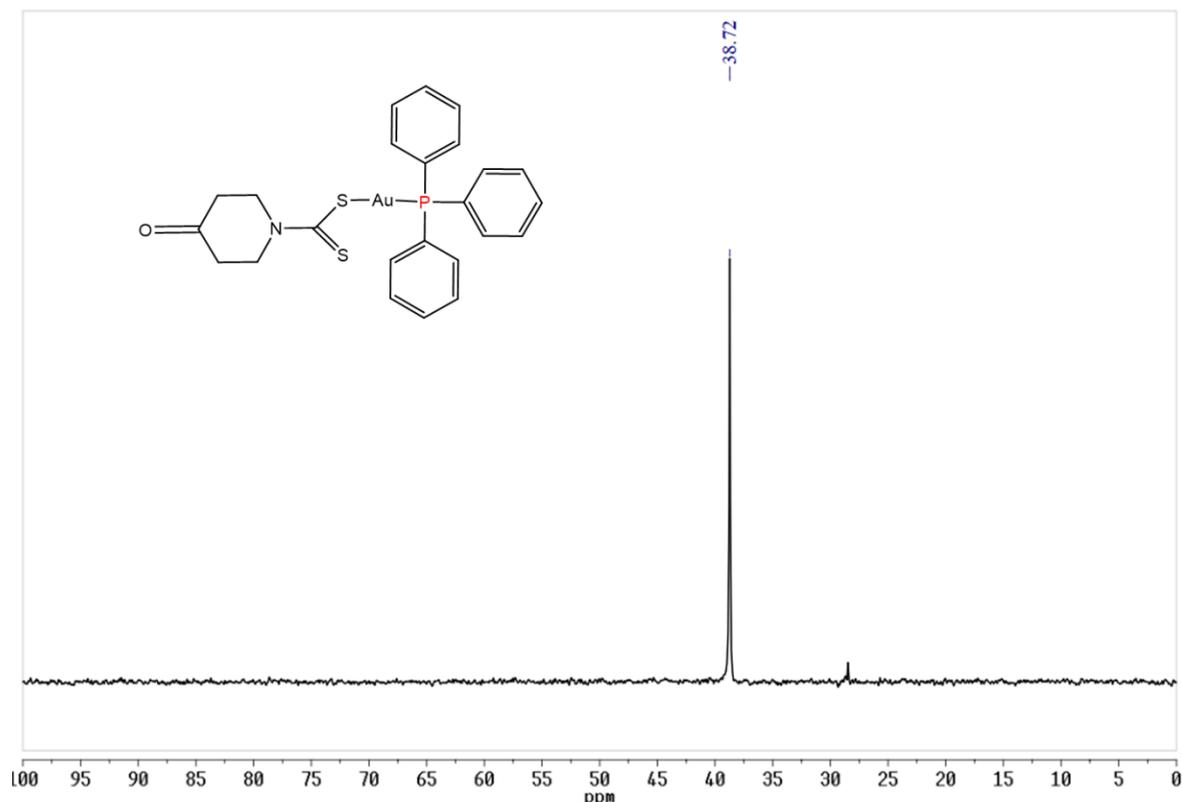
**Figura 23** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **CL3** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 400 MHz.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo **CL3** (**Figura 24**) apresenta os sinais dos átomos de carbono referente ao complexo de ouro(I), em concordância com a estrutura proposta. O simpleto que tem o deslocamento 40,41 ppm corresponde ao átomo de carbono (3 e 3') dos dois  $\text{CH}_2$  da piperidona menos blindados. Os simpletos que tem como deslocamento em 50,22 ppm corresponde aos C dos  $\text{CH}_2$  (2 e 2') que estão ligados ao N da piperidona. Os átomos de carbono do grupo fosfina são os que estão localizados na região de aromático 129,22 ppm a 134,48 ppm (5). O átomo de carbono não hidrogenado que está ligado aos átomos de S ao átomo de N possui deslocamento igual a 207,06 ppm (4) e o átomo de carbono da carbonila da cetona (1) presente no ligante ditiocarbamato possui deslocamento igual a 209,13 ppm. Percebe-se que a formação do complexo é evidenciada, pois ao compararmos os espectros do RMN de  $^{13}\text{C}$  ligante **L3** (**Figura A6**) e do precursor de ouro (**Figura A8**) os sinais apresentam deslocamentos significativos, principalmente o deslocamento do átomo de carbono não hidrogenado, que está ligado aos dois enxofres, que no ligante tem deslocamento em 208,89

ppm (1) e após a formação do complexo esse deslocamento passou a ser igual a 207,02 ppm e o átomo de carbono não hidrogenado da carbonila cetônica, tem deslocamento no ligante igual a 214,95 ppm (4) e após a complexação o deslocamento é em 209,13 ppm. A (Figura 25) mostra o espectro de  $^{31}\text{P}$  ao qual é possível observar o simpleto do átomo de P da trifenilfosfina no deslocamento igual a 38,72 ppm próximo ao valor encontrado na literatura de 37,90 ppm. [37]



**Figura 24** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante **CL3** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



**Figura 25** – Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  do complexo **CL3** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 162 MHz.

O estudo de estabilidade dos complexos foi avaliado no RMN de  $^1\text{H}$  em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  no intervalo de tempo de 0h a 168 h (7 dias) e os espectros obtidos (**Figuras A9 – A11**). Todos os complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** mostraram-se estáveis, não ocorrendo assim deslocamento nem alteração nos sinais nos espectros de RMN.

#### 4.1.3 Análise elementar de C, H e N, TG/DTG e Massas

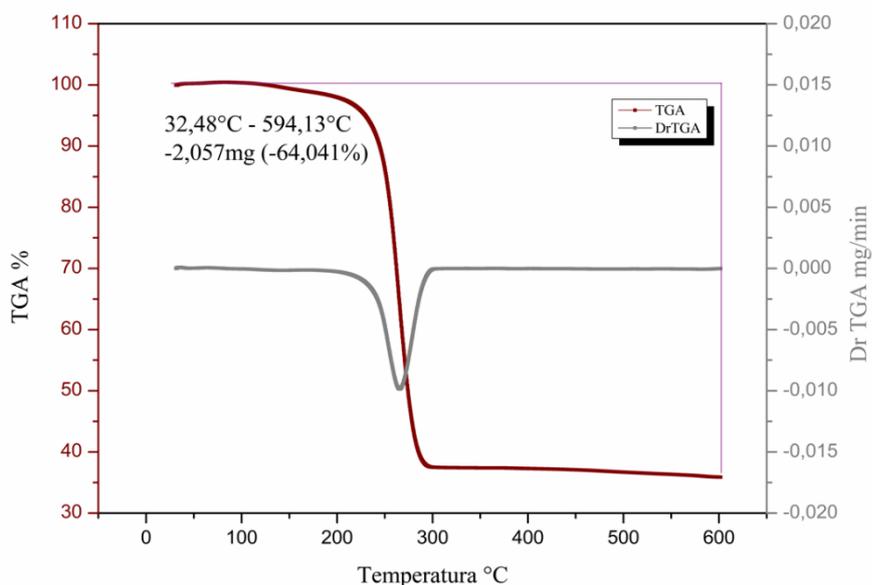
Os resultados experimentais da composição elementar para carbono, hidrogênio e nitrogênio (%) confirmam as fórmulas mínimas propostas para as estruturas dos complexos, assim como adequados graus de pureza, como mostrado na **Tabela 2**. Os complexos **CL1** e **CL2** foram ainda caracterizados para determinação do íon molecular por espectrometria de massas com ionização por elétrons-spray em modo positivo ( $\text{ESI}^+\text{MS}$ ), e os espectros obtidos

na análise quanto na simulação pelo programa SIS Web estão disponíveis no apêndice (**Figuras A12 e A13**). O pico do íon molecular para os complexos foram observados em  $m/z$  654,09 e 620,09 para **CL1** e **CL2** respectivamente, correspondendo aos fragmentos  $[M+H]^+$ .

**Tabela 2** – Resultados da análise elementar de C, H e N (%) dos complexos e do ESI-MS. Exp = experimental, Calc. = calculado, F.M. = fórmula molecular, M = massa molar

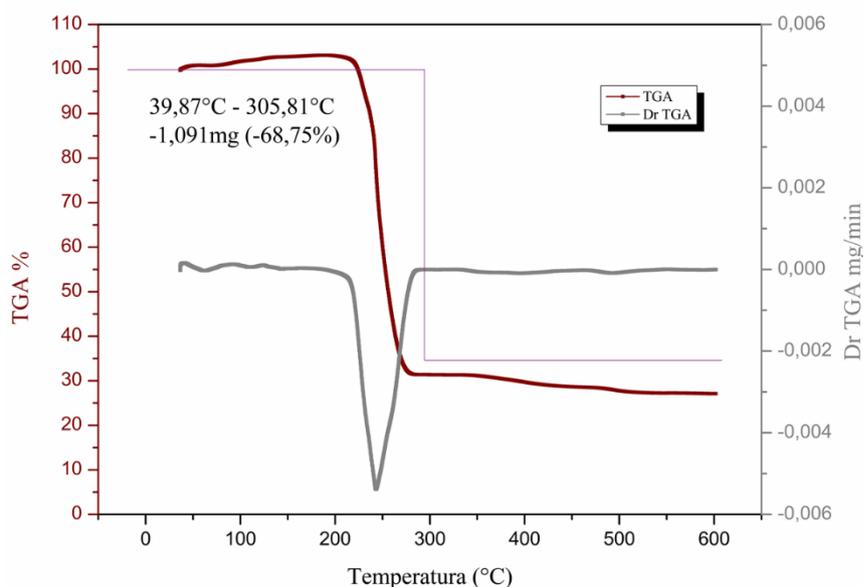
Complexo	F.M.	%C	%H	%N	ESI-MS	MM
		<i>Exp.</i> ( <i>Calc.</i> )	<i>Exp.</i> ( <i>Calc.</i> )	<i>Exp.</i> ( <i>Calc.</i> )	<i>Exp.</i> $[M + H]^+$ ( <i>Calc.</i> ) (m/z)	(g mol <sup>-1</sup> )
<b>CL1</b>	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> NAuPO <sub>2</sub> S <sub>2</sub>				654,09 (654,55)	653,55
	C <sub>24</sub> H <sub>27</sub> NAuPO <sub>2</sub> S <sub>2</sub> .CHCl <sub>3</sub>	41,78 (38,85)	2,78 (3,65)	1,83 (1,81)		772,92
<b>CL2</b>	C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> NAuPS <sub>2</sub>	45,06 (46,53)	3,90 (4,07)	2,13 (2,26)	620,09 (620,53)	619,53
<b>CL3</b>	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> AuNOPS <sub>2</sub>	43,98 (45,50)	3,45 (3,66)	2,24 (2,21)		633,51

As curvas TG estão disponíveis nas **Figuras 26-28**. A partir da curva TG/DTA de **CL1** (**Figura 28**) percebe-se que o complexo é termicamente estável até 200 °C, iniciando-se, então, sua decomposição térmica. As perdas do ligante **L1** e da trifenilfosfina, ocorrem entre 200 - 290°C, quando é observada uma perda de massa que equivale a 64,041% experimental (calculado = 69,86%). Acima de 300 °C nota-se um resíduo termicamente estável até as condições de temperatura aplicadas. Esse resíduo final de 35,95% de massa está com valor próximo a porcentagem de ouro metálico esperada para **CL1** (30,13%). Uma sugestão de excesso de massa seria fósforo que corresponde a 4,74% da massa. Entretanto vale ressaltar que a análise térmica não é uma técnica tão sensível e o erro obtido de 5% se encontra dentro do esperado.



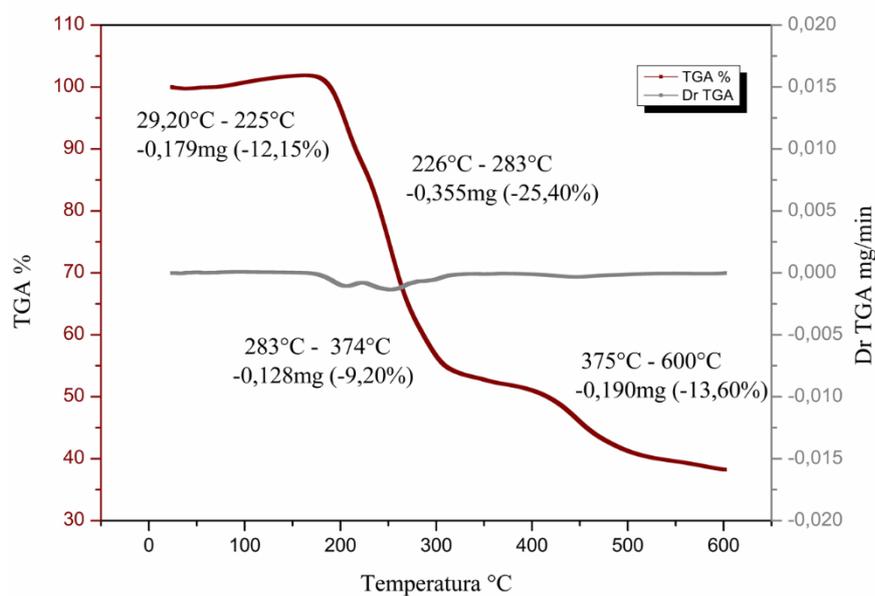
**Figura 26** – Análise termogravimétrica do complexo **CL1** em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

A curva TG/DTA para **CL2** (**Figura 27**) é similar àquela obtida para **CL1**, sendo a perda de massa correspondente ao ligante **L2** e a trifenilfosfina, com porcentagens de perda de 68,75% (calculado = 69,86%) em faixa de temperatura semelhante. Verificou-se a sobra de um resíduo correspondente a 31,25% de massa a  $600^{\circ}\text{C}$ . sendo que a porcentagem de ouro metálico esperada para **CL2** deveria ser de 31,14% calculado.



**Figura 27** – Análise termogravimétrica do complexo **CL2** em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de  $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

A curva TG/DTA da amostra **CL3** (**Figura 28**) mostra um perfil de curva diferente dos outros compostos, sendo possível observar quatro perdas sucessivas que iniciam em  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  com porcentagem total de 60,35% que tende a ser correspondente ao ligante **L3** e a parte aromática do grupo fosfina presente na estrutura que tem uma porcentagem de massa juntos igual a 64,02% (calculado). O resíduo a  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  corresponde a 39,65% enquanto o esperado para Au-P está calculado para 35,98%.



**Figura 28** – Análise termogravimétrica do complexo **CL3** em atmosfera inerte e taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

#### 4.1.4 Análise cristalográfica por difração de raios X de monocristal

Complexo **CL1**:

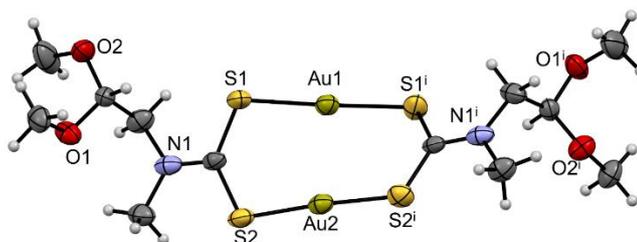
O composto **CL1** foi submetido a experimentos de difração de raios X por monocristal e o resumo da coleta de dados e resultados de refinamento são mostradas na **Tabela 3**. Este composto foi medido a partir de um cristal geminado. Para o refinamento dos dados foram consideradas duas células unitárias não-meroédricas.

Tabela 3 – Principais dados cristalográficos para os complexos.

Composto	CL1	CL2	CL3
<b>Fórmula</b>	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S <sub>4</sub> Au <sub>2</sub>	C <sub>24</sub> H <sub>25</sub> NPS <sub>2</sub> Au	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> NPS <sub>2</sub> Au
<b>Massa molar/gmol<sup>-1</sup></b>	782.50	619.51	633.49
<b>T / K</b>	200 (2)	293 (2)	293 (2)
<b>λ / Å</b>	1,5418	1,5418	1,5418
<b>Sistema Cristalino</b>	Monoclínico	Triclínico	Triclínico
<b>Grupo de Espaço</b>	<i>C</i> 2/ <i>c</i>	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> $\bar{1}$
<b>a / Å</b>	20.6730(7)	8.6957(3)	8.7777(2)
<b>b / Å</b>	6.3821(2)	9.8069(3)	9.8419(2)
<b>c / Å</b>	15.6800(5)	14.2554(5)	14.0700(3)
<b>α / °</b>	90	73.150(3)	74.781(2)
<b>β / °</b>	98.792(3)	84.246(3)	85.493(2)
<b>γ / °</b>	90	88.248(2)	87.660(2)
<b>V / Å<sup>3</sup></b>	2044.47(12)	1157.61(7)	1168.98(4)
<b>Z<sup>a</sup></b>	4	2	2
<b>Z<sup>b</sup></b>	4	2	2
<b>ρ / Mg m<sup>-3</sup></b>	2.542	1.777	1.800
<b>μ / mm<sup>-1</sup></b>	30.587	14.351	14.264
<b>F(000)</b>	1456	604	616
<b>Tamanho / mm<sup>3</sup></b>	0,150×0,040×0,010	0,270×0,100×0,013	0,841×0,408×0,073
<b>Reflexões coletadas</b>	3508	12995	13570
<b>R<sub>int</sub></b>	0.1178	0.0521	0.0939
<b>Reflexões independentes</b>	3508	4232	4276
<b>Reflexões com I &gt; 2σ(I)</b>	3200	3845	3946
<b>R<sup>c</sup>, wR<sup>d</sup> [I &gt; 2σ(I)]</b>	0,0741; 0,2054	0,0332; 0,0847	0,0555; 0,1447
<b>R<sup>c</sup>, wR<sup>d</sup> (todas reflexões)</b>	0,0770; 0,2110	0,0364; 0,0868	0,0577; 0,1469
<b>S<sup>e</sup></b>	1,063	1,020	1,020
<b>Máximo e mínimo residual / e Å<sup>-3</sup></b>	2,168 -1,700	1.280 -0.597	2.862 -1.528

<sup>a</sup>Z definido como número de unidades assimétricas por célula unitária. <sup>b</sup>Z<sup>2</sup> definido como número de unidades de interesse. <sup>c</sup>R =  $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$ . <sup>d</sup>wR =  $[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / \sum w|F_o|^2]^{1/2}$ . <sup>e</sup>S =  $[\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / (n_o - n_p)]^{1/2}$ , onde  $w \propto 1/\sigma$ ,  $n_o$ =número de observáveis e  $n_p$ =número de parâmetros refinados

Na tentativa de obter a estrutura cristalina do complexo **CL1**, foi obtida outra estrutura cristalina de um novo complexo denominado então de **CL1'** (**Figura 29**), que apresenta uma estrutura diferente do complexo **CL1**. O complexo **CL1'** cristaliza no grupo de espaço monoclinico, é um complexo neutro onde há dois átomos de ouro(I) e dois ligantes ditiocarbamato. Cada ligante está ligado a dois átomos de ouro, em coordenação do tipo  $\kappa S\kappa'S$ . Os átomos de ouro possuem número de coordenação 2, em geometria linear. Os comprimentos de ligação metal-ligante são iguais a 2,281 Å para Au1-S1, 2,288 Å para Au2-S2, com ângulo S1-Au1-S1<sup>i</sup> igual a 177,73°, enquanto para S2-Au1-S2<sup>i</sup> é igual a 176,00° [i = 1-x, y, 3/2-z]. Estes comprimentos de ligação e ângulo observados são condizentes com um átomo de ouro(I). Neste complexo o ligante ditiocarbamato está torcido em relação ao outro. O ângulo entre os planos formados pelos planos médios dos grupos ditiocarbamato de cada ligante (plano médio formado pelas posições de S1, S2, N1 e C1) é igual a 34,98°, o que causa as ligações com o átomo de ouro não serem paralelas. O ângulo formado pelas esferas de coordenação dos átomos de ouro é de 24,32°. Esses dados são condizentes com complexos contendo ouro ligado a trifenilfosfina e ao enxofre.[37]



**Figura 29** – Estrutura cristalina de **CL1'** com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas). Elementos de simetria:  $i = 1-x,$   
 $y, 3/2-z.$

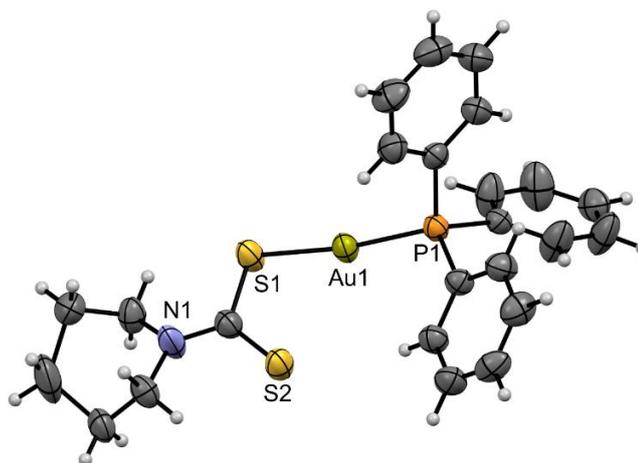
Percebe-se que a estrutura não apresenta ter a trifenilfosfina ligada ao ouro como era esperado no complexo **CL1**, no entanto vale ressaltar que a cristalização deste complexo ocorreu no tubo de RMN com o complexo solubilizado anteriormente em clorofórmio  $CDCl_3$  deuterado e por evaporação lenta do solvente ocorreu o processo de cristalização. O RMN realizado nesta amostra mostrava os sinais da trifenilfosfina entretanto, no processo de cristalização a trifenilfosfina saiu do sítio de ligação com o ouro e o mesmo se ligou a outro

ligante ditiocarbamato isso pode ocorrer devido às propriedades semelhantes do enxofre e fosforo explicada pela teoria de ácidos e bases duros e moles de Pearson.[38]

### Complexo **CL2**:

O composto **CL2** foi submetido a experimentos de difração de raios X por monocristal, e apresenta uma desordem posicional no anel do ligante ditiocarbamato, onde os carbonos metilênicos possuem duas posições possíveis. O resumo da coleta de dados e resultados de refinamento são mostrados na **Tabela 3**.

A estrutura cristalina do **CL2**, que cristaliza no grupo de espaço triclinico, é um complexo neutro contendo um ligante ditiocarbamato, um átomo de ouro e uma trifenilfosfina. A estrutura cristalina de uma das unidades é mostrada na **Figura 30**. O ligante ditiocarbamato está ligado a um átomo de ouro, em coordenação do tipo  $\kappa S$ . O átomo de ouro possui número de coordenação 2, em geometria linear. O átomo de ouro Au1 é coordenado ao ditiocarbamato e uma trifenilfosfina. Os comprimentos de ligação metal-ligante são iguais a 2,336 Å para Au1-S1, 2,246 para Au1-P1, com ângulo P1-Au1-S1 igual a 178,86°. Estes comprimentos de ligação e ângulo observados são condizentes com um átomo de ouro(I). Esses dados são condizentes com complexos contendo ouro ligado a trifenilfosfina e ao enxofre. [37]

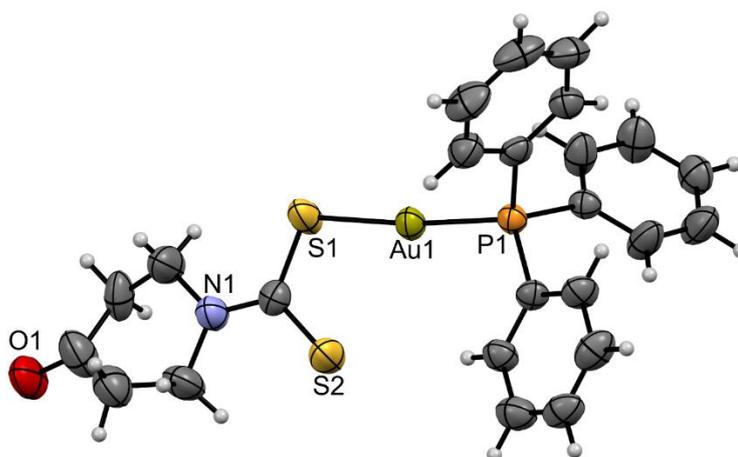


**Figura 30** – Estrutura cristalina de uma das duas unidades presentes na unidade assimétrica de **CL2** com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas).

### Complexo **CL3**:

O composto **CL3** foi submetido a experimentos de difração de raios X por monocristal. Este composto apresenta uma desordem posicional no anel do ditiocarbamato, onde os carbonos metilênicos possuem duas posições possíveis. O resumo da coleta de dados e resultados de refinamento são mostradas na **Tabela 3**.

A estrutura cristalina de **CL3**, cristaliza no grupo de espaço triclínico, é um complexo neutro contendo um ligante ditiocarbamato, um átomo de ouro e uma trifenilfosfina. A estrutura cristalina de um destes complexos é mostrada na **Figura 31**. O ligante ditiocarbamato está ligado a um átomo de ouro, em coordenação do tipo  $\kappa S$ . Os átomos de ouro possuem número de coordenação 2, em geometria linear. O átomo de ouro Au1 é coordenado ao ditiocarbamato e uma trifenilfosfina. Os comprimentos de ligação metal-ligante são iguais a 2,331 Å para Au1-S1, 2,245 para Au1-P1, com ângulo P1-Au1-S1 igual a 174,18°. Estes comprimentos de ligação e ângulo observados são condizentes com um átomo de ouro(I). Esses dados são condizentes com complexos contendo ouro ligado a trifenilfosfina e ao enxofre. [37]

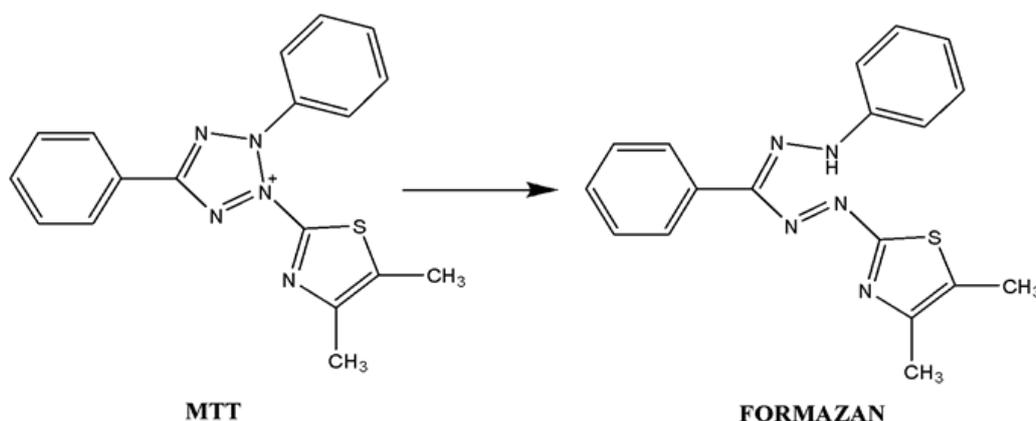


**Figura 31** – Estrutura cristalina de uma das duas unidades presentes na unidade assimétrica de **CL3** com numeração de todos os átomos, exceto para átomos de carbono (em cinza) e hidrogênio (esferas brancas).

## 4.2 INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

#### 4.2.1 Ensaios de citotoxicidade

O método do MTT é um ensaio colorimétrico baseado na redução metabólica, do mesmo e é amplamente utilizado para a medição de proliferação celular. Após a incubação com o MTT, o produto de metabolização do MTT pelas células viáveis (Formazan, **Figura 32**) pode ser solubilizado em DMSO e quantificado por espectrofotometria (absorbância em 570 nm). [12]



**Figura 32** – Reação de redução do MTT que ocorre na mitocôndria de células viáveis.

A viabilidade celular após exposição das células aos compostos por 72h pode ser calculada pela medida de absorbância da solução resultante da dissolução dos sais de formazan [41] e está relacionada ao número de células vivas, segundo a **Equação 2**:

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{Abs}{Abs\ controle} \times 100\% \quad (\text{Equação 2})$$

O IC<sub>50</sub> (concentração inibitória de 50% da viabilidade celular) de cada composto em cada linhagem foi determinado e estão apresentados na **Tabela 4**. Quanto menor o valor do IC<sub>50</sub>, mais eficaz é o composto caso ele apresente um alto índice de seletividade, indicando que o uso de uma menor dose é necessário para inibir 50% do crescimento celular. Os valores de IC<sub>50</sub> nas linhagens de células utilizadas (MDA-MB-231, 4T1 e MCF-10a) foram calculados considerando o grupo controle negativo (100%). A célula não-tumoral de mama, MCF-10a, foi empregada para avaliar a seletividade dos compostos em relação às células tumorais (MDA-MB-231 e 4T1) nas mesmas condições sendo possível o calculado do índice de seletividade (IS). Os valores são representados como a média  $\pm$  SD (desvio padrão) da quadruplicata de dois

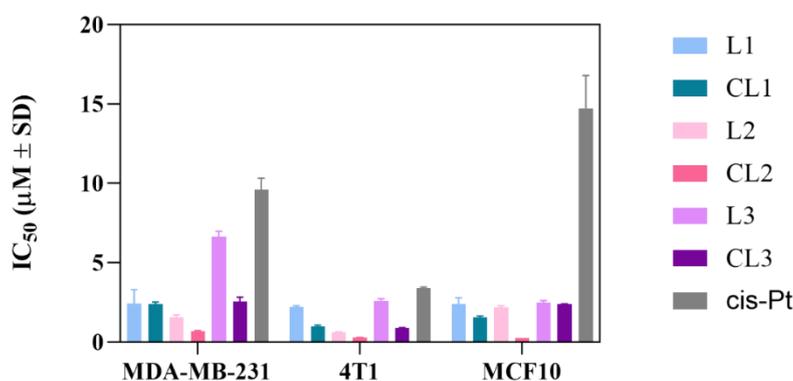
experimentos independentes. A fim de facilitar a comparação dos valores, estes também estão apresentados na forma de gráfico de barras na **Figura 33**.

**Tabela 4** – Atividades antiproliferativas (valores de  $IC_{50}$ ,  $\mu M$ ) dos ligantes e seus complexos nas linhagens celulares MDA-MB-231, 4T1 e MCF-10a após 72 h de incubação, avaliadas pelo ensaio do MTT.

Composto	Células tumorais				Célula normal
	$IC_{50}$ ( $\mu M \pm SD$ )				$IC_{50}$ ( $\mu M \pm SD$ )
	MDA-MB-231	IS*	4T1	IS	MCF-10a
<b>L1</b>	2,43 $\pm$ 0,88	1,0	2,22 $\pm$ 0,07	1,1	2,39 $\pm$ 0,40
<b>CL1</b>	2,37 $\pm$ 0,15	0,7	0,98 $\pm$ 0,07	1,6	1,54 $\pm$ 0,15
<b>L2</b>	1,56 $\pm$ 0,15	1,4	0,63 $\pm$ 0,01	3,5	2,19 $\pm$ 0,07
<b>CL2</b>	0,69 $\pm$ 0,01	0,4	0,28 $\pm$ 0,01	0,9	0,26 $\pm$ 0,03
<b>L3</b>	6,63 $\pm$ 0,34	0,4	2,59 $\pm$ 0,13	1,0	2,49 $\pm$ 0,11
<b>CL3</b>	2,53 $\pm$ 0,27	0,9	0,89 $\pm$ 0,01	2,7	2,38 $\pm$ 0,02
<b>Cisplatina</b>	9,59 $\pm$ 0,73	1,5	3,37 $\pm$ 0,09	4,4	14,72 $\pm$ 2,07

\*O índice de seletividade (IS) é calculado pela equação:  $IC_{50}$  (célula saudável,  $\mu M$ ) /  $IC_{50}$  (célula tumoral,  $\mu M$ ).

Pela análise dos resultados apresentados na **Tabela 4** e na **Figura 33**, percebe-se que tanto para a linhagem MDA-MB-231 quanto para a 4T1 todos os ligantes possuem boa atividade citotóxica frente às linhagens estudadas.



**Figura 33** –  $IC_{50}$  dos ligantes e complexos contra três linhagens de células diferentes.

A atividade citotóxica observada em **L1**, **L2** e **L3** é cerca de 2 a 6 vezes melhor que a cisplatina que foi utilizada como controle positivo.

Os complexos aqui estudados possuem atividade antiproliferativa significativa, ao compararmos a citotoxicidade nas células MDA-MB-231, percebemos que os complexos **CL2** e **CL3** foram mais ativos que seus respectivos ligantes. A complexação fez com que o complexo se tornasse cerca de 2,2 vezes mais ativo no **CL2** e 2,6 vezes mais ativo para **CL3**, quando comparamos os valores de citotoxicidade dos complexos com seus respectivos ligantes.

A citotoxicidade dos complexos também apresenta ser de 4 a 14 vezes melhor que a da cisplatina. Em relação ao composto **CL1**, a complexação não teve um resultado melhor na célula MDA-MB-231 mas teve um melhor índice de seletividade ( $IS = 1,6$ ) na linhagem 4T1 em relação aos demais complexos. Em contrapartida quando comparamos o efeito da citotoxicidade na célula 4T1 percebemos que a complexação favoreceu o aumento da citotoxicidade dos complexos na linhagem tumoral, inclusive do **CL1**, que se tornou cerca de 2,2 vezes mais ativo nessa linhagem, quando comparamos seu respectivo ligante. Um resultado surpreendente também vemos em **CL3** que se tornou cerca de 3 vezes mais ativo na linhagem celular 4T1 após realizar a complexação e **CL2** foi cerca de 2,2 vezes mais ativa na linhagem 4T1.

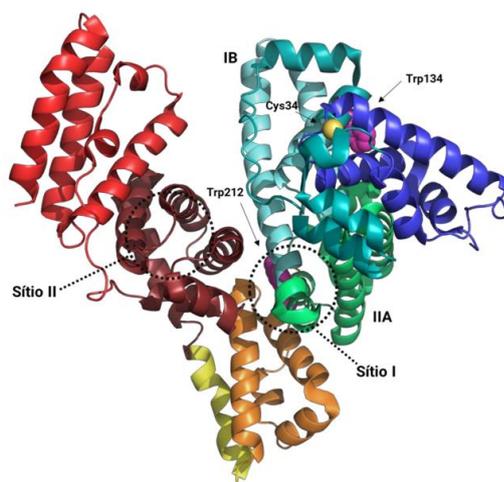
Dos três ligantes utilizados, **L1**, **L2** e **L3** o ligante **L2** e seu respectivo complexo **CL2** apresentaram uma maior atividade em MDA-MB-231 e em 4T1 sendo essa atividade bem mais significativa nos complexos **CL1** e **CL3**. Em relação a seletividade, o complexo **CL3** apresenta certa seletividade ( $IS = 2,7$ ) na linhagem celular 4T1 em relação aos demais complexos. Podemos inferir que a complexação dos ligantes ao ouro favorece a atividade citotóxica. Trabalhos já realizados em nosso grupo com esses ligantes ditiocarbamatos, envolvendo outros precursores de ouro, mostram atividade citotóxica significativa em células de mama. A atividade antiproliferativa dos ligantes **L1**, **L2** e **L3** é relatada na literatura, assim como seus respectivos complexos de ouro (III).[12] Dos resultados apresentados na literatura citada, contendo o ligante DTC **L2** e **L3** os compostos com o ligante **L2** aqui presentes possuem citotoxicidade semelhante na linhagem MDA-MB-231 ( $IC_{50} 0,6 \pm 0,2$  complexo de ouro(III) com ligante **L2**), no entanto o composto de ouro(III) contendo o ligante **L3** ( $IC_{50} 0,4 \pm 0,1$  complexo de ouro(III) com ligante **L3**) é cerca de 6 vezes mais ativos que o composto com o

mesmo ligante relatado neste trabalho isso quando analisamos os resultados de citotoxicidade na linhagem celular MDA-MB-231. Entretanto, os compostos aqui apresentados apresentam ser mais seletivos do que os relatados na literatura. Também existe na literatura complexos de ouro com diferentes ligantes e fosfina que apresentam atividade citotóxica em diferentes linhagens de células. [39],[40]

#### 4.2.2 Interação com a BSA

Os complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** foram testados quanto à sua capacidade de se ligar à albumina, investigando sua capacidade em inibir a fluorescência intrínseca da proteína. A HSA Albumina de soro humano (HSA) é uma proteína abundante no plasma sanguíneo e é responsável pelo transporte de substâncias tal como fármacos. A albumina do soro bovino (BSA) é amplamente utilizada como modelo biomimético devido à sua disponibilidade, baixo custo e alta semelhança estrutural quando comparada com a HSA. A BSA possui cerca de 80% de homologia estrutural e 76% de similaridade na estrutura terciária em comparação com a proteína humana, a BSA possui 582 resíduos de aminoácidos e 35 resíduos de cisteína (formando 17 pontes dissulfeto), conferindo-lhe uma forte estabilidade. Sua estrutura secundária consiste em 67% de  $\alpha$ -hélice, e seu ponto isoelétrico (PI) varia de 4,70 a 5,60, o que sugere que em condições fisiológicas a proteína possui uma carga líquida negativa. Essa característica pode atrair pequenas moléculas carregadas positivamente, favorecendo a formação de um aduto estável [41].

A estrutura das albuminas é composta por três grandes domínios estruturalmente semelhantes, denominados I, II e III, cada um com dois subdomínios, A e B. As regiões principais responsáveis pela ligação de moléculas endógenas ou exógenas estão localizadas nas cavidades hidrofóbicas dos subdomínios IIA e IIIA, conhecidos como sítios I e II de Sudlow. A afinidade de ligação no sítio I é favorecida principalmente por interações hidrofóbicas, enquanto no sítio II observa-se uma combinação de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio. Na estrutura da BSA, os subdomínios IIA e IB contêm, cada um, um resíduo de triptofano (Trp212 e Trp134, respectivamente), sendo que o segundo está próximo à região onde se encontra o único resíduo de cisteína livre (Cys34). **Figura 34** [8]



**Figura 34** – Representação da estrutura cristalina do aduto formado entre a proteína BSA e um complexo de ouro(III) ditiocarbamato. [8]

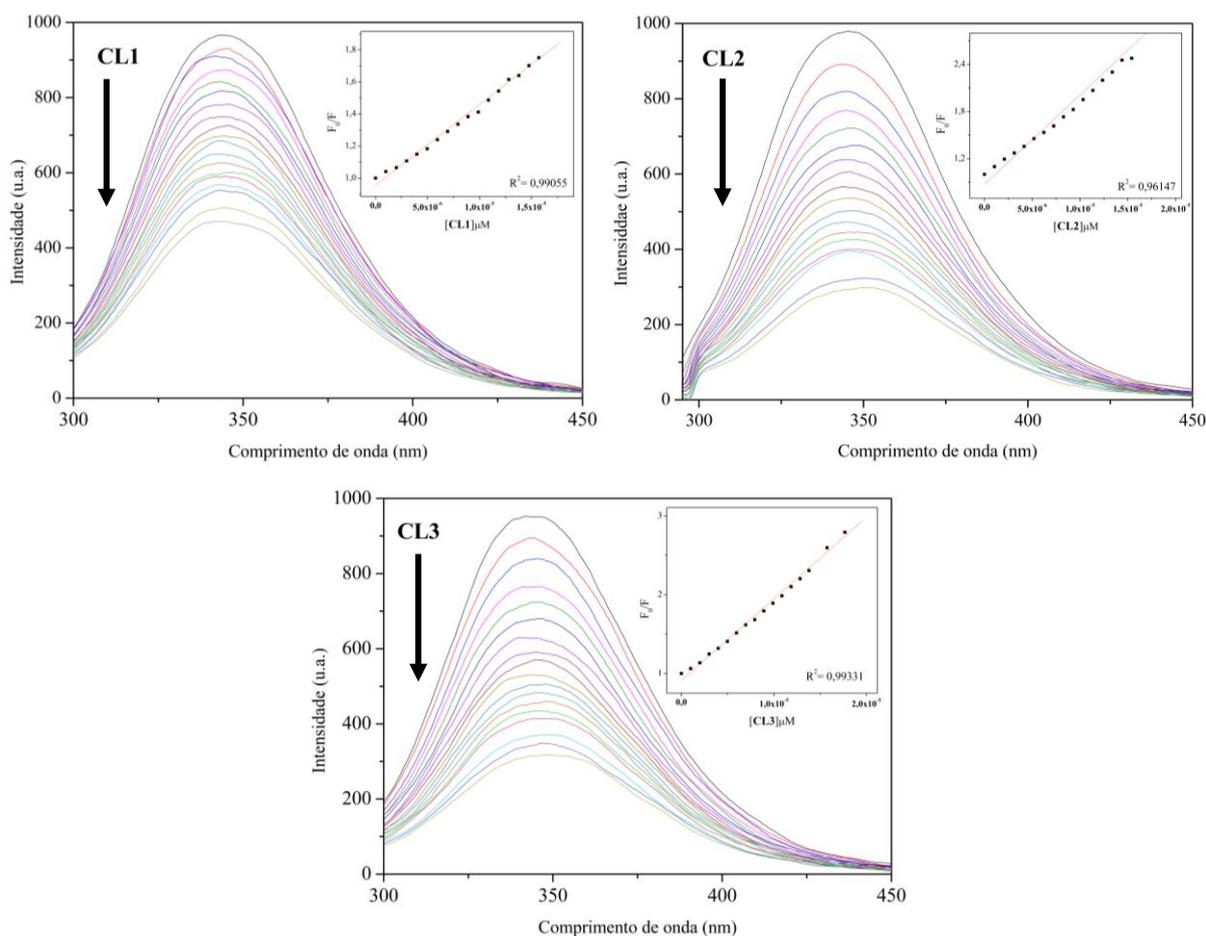
Como frequentemente discutido na literatura, muitos compostos terapêuticos, incluindo complexos de ouro (I/III), interagem com a albumina por meio do Cys34 exposto na superfície, o único resíduo de cisteína na estrutura proteica que não está envolvido em ligações dissulfeto.[42]

Quando excitadas em 280 nm, as albuminas exibem fluorescência intrínseca com um máximo de emissão na região de 350 nm, atribuída à combinação da fluorescência dos resíduos de L-aminoácidos aromáticos triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe) presentes nas cadeias proteicas. Na estrutura da BSA, a emissão dos resíduos de triptofano (Trp134 e Trp212) é a mais significativa, devido à natureza química do ambiente ao redor desses grupos. [8].

Dos resultados obtidos para os complexos, o complexo **CL1** apresentou diferentes capacidades de supressão da fluorescência com valores de constante de Stern Volmer ( $K_{sv}$ ) diferentes dos obtidos para os complexos **CL2** e **CL3** (**Tabela 5** e **Figura 35**) sendo que estes dois últimos apresentaram resultados semelhantes. Sabe-se que valores de constantes de Stern-Volmer com ordem de magnitude de  $10^5 \text{ M}^{-1}$  é considerado indicativo de uma interação relativamente forte entre BSA e complexos metálicos.[43]

**Tabela 5** – Constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) obtidas para os complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** calculadas com a equação de Stern-Volmer.

Composto	$K_{sv}$ ( $10^5 \text{ LMol}^{-1}$ )	$R^2$
<b>CL1</b>	0,5	0,99055
<b>CL2</b>	1,1	0,96147
<b>CL3</b>	1,0	0,99331



**Figura 35** – Espectros de emissão em solução aquosa da interação dos complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** com a BSA. Fonte: Autoria própria.

Logo a partir do cálculo da fluorescência no ponto máximo em relação ao ponto mínimo foi possível calcular a porcentagem de supressão da fluorescência da proteína a medida que foi se adicionando o composto. **CL1** foi capaz de suprimir cerca de 52% da fluorescência da proteína, enquanto o complexo **CL2** e **CL3** induziu a supressão de 70% e 67% respectivamente.

Portanto, os resultados sugerem que **CL2** e **CL3** possuem uma interação maior com a albumina, quando comparado a **CL1**. Essas observações podem ser traduzidas quanto às constantes de Stern-Volmer ( $K_{SV}$ ) calculadas com a Equação 1 a partir dessas constantes é possível relacionar se o composto possui algum tipo de interação ou não com a albumina. Constantes na ordem de  $10^4$  significam que o composto possui certo grau de interação com a proteína [43].

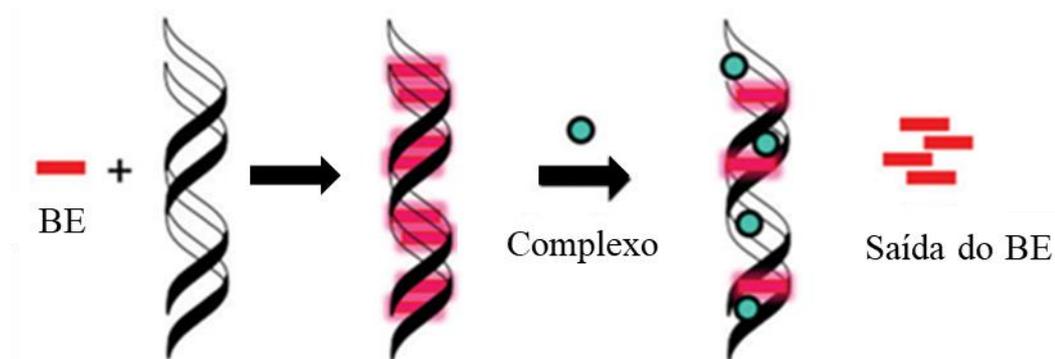
Complexos de ouro (III) catiônicos com os mesmos ligantes ditiocarbamatos, apresentaram ter interação com a BSA, sendo capazes de reduzir de 45 a 70% a fluorescência. [12] Esses resultados são semelhantes aos encontrados nos complexos aqui estudados, sendo possível relacionar que a supressão da proteína pode ter ocorrido devido a interações eletrostáticas uma vez que a albumina apresenta em pH fisiológico, uma resultante de cargas negativas e do ponto isoelétrico.

Essa característica pode favorecer a formação de adutos estabilizados por interações eletrostáticas, pode-se supor que o complexo **CL2** por ter características mais hidrofílicas estruturalmente, quando comparado aos complexos **CL3** e **CL1**, este complexo pode ter maior afinidade de ligação no sítio I da BSA e o complexo **CL3** por apresentar uma pequena diferença estrutural, a presença do oxigênio no ditiocarbamato, este pode interagir melhor no sítio II ao qual observa-se uma combinação de interações eletrostáticas, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio assim como **CL1** que apresenta características mais hidrofóbicas devido a presença de vários oxigênios do ligante.

#### **4.2.3 Estudo de competição com brometo de etídio e DNA (BE-ctDNA)**

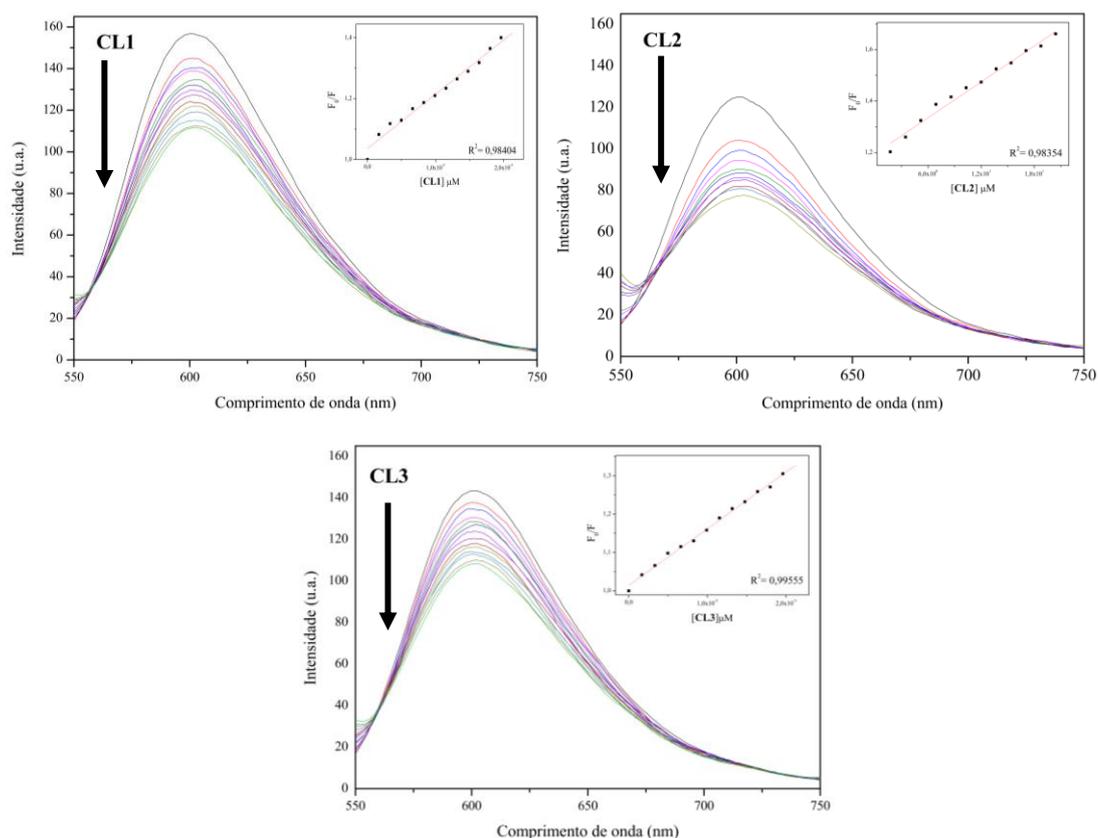
Os compostos orgânicos fluorogênicos são compostos que fazem com que a fluorescência seja induzida ou aumentada pela adição de outra entidade molecular. São moléculas com alta afinidade e seletividade de ligação aos ácidos nucleicos e são particularmente úteis para realizar a análise indireta da ligação ao DNA. Um exemplo de fluoróforo intercalador de DNA para o qual é possível analisar a afinidade de ligação, é o brometo de etídio (brometo de 3,8-diamino-5-etil-6-fenilfenantridíneo). Como essa molécula tem baixa fluorescência em solução e torna-se altamente fluorescente quando ligada ao DNA, suas propriedades fotofísicas podem ser usadas para determinar a capacidade dos

metalofármacos de se ligarem ao DNA através da redução de intensidade de fluorescência.[44] A interação entre o DNA e compostos antitumorais pode ocorrer por um mecanismo intercalativo. O deslocamento do brometo de etídio (BE) é um experimento realizado com o intuito de verificar se os compostos analisados são bons intercaladores de DNA através de interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  stacking (**Figura 36**).



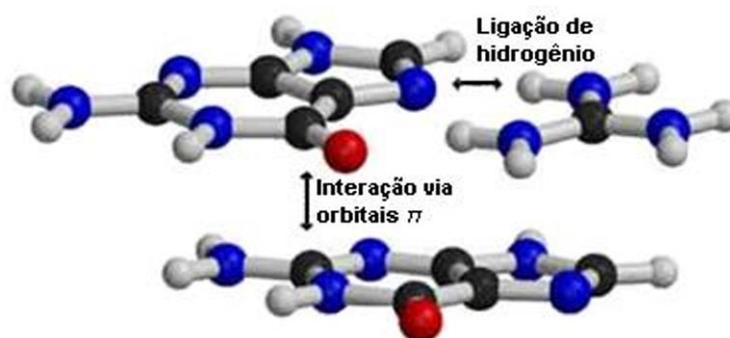
**Figura 36** – Representação esquemática do mecanismo intercalativo do BE, DNA e após a saída do complexo. Fonte:[44]

A **Figura 37** mostra os espectros de emissão de fluorescência obtidos no estudo de competição entre o BE-ctDNA e os complexos **CL1**, **CL2** e **CL3**. Os valores das constantes de ligação DNA-composto constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) obtidas a partir das curvas de supressão de fluorescência estão mostrados na **Tabela 6**.



**Figura 37** – Espectros eletrônicos em solução aquosa do teste de competição do ctDNA com BE dos complexos **CL1**, **CL2** e **CL3** respectivamente. Fonte: Autoria própria

Observa-se que os complexos **CL1** e **CL3** exibem valores de  $K_{SV}$  semelhantes, na ordem de  $10^4 \text{ L mol}^{-1}$ , e, portanto, interagem reversivelmente com o DNA com uma força moderada. Complexos que têm uma interação mais forte com o DNA mostram constantes de interação na ordem de  $10^5 \text{ L mol}^{-1}$ , com o brometo de etídio, considerado um intercalador de DNA. A intensidade das bandas de emissão do BE-ctDNA diminui após a adição de alíquotas sucessivas dos compostos, resultando em hipocromismo (diminuição na intensidade da banda), indicando que os compostos deslocam parte do BE para interagir com o DNA através de interações do tipo  $\pi \rightarrow \pi$  stacking. (O processo ocorre pela inserção de sistemas aromáticos planos, ou com certo grau de planaridade, entre os pares de bases nitrogenadas do DNA) (**Figura 38**).[45]



**Figura 38** – Demonstração das ligações de hidrogênio e das interações de empilhamento das bases nitrogenadas do DNA.[21]

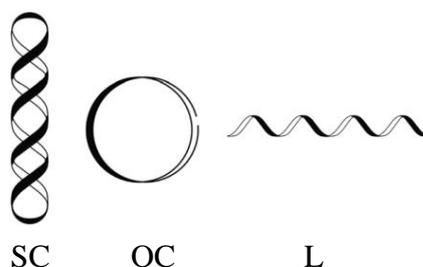
Dos resultados obtidos, o composto que menos interage é o **CL2**, pois sua constante  $K_{sv}$  (constantes de Stern-Volmer) foi a menor em relação a **CL1** e **CL3** Tabela 6. A partir dessa constante é possível relacionar se o composto possui algum tipo de interação ou não com o DNA. Constantes na ordem de  $10^4$  possui certo grau de intercalação moderada com o DNA, uma vez que provoca deslocamento do agente intercalador utilizado (brometo de etídio) [43]. No entanto apenas com este experimento não é possível concluir que o DNA é alvo desses compostos outras análises para verificar outros tipos de interação são necessárias.

**Tabela 6** – Valores das constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) e magnitude do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtidos para os complexos com ctDNA.

Composto	$K_{sv}$ ( $10^4 \text{ L Mol}^{-1}$ )	$R^2$
<b>CL1</b>	1,80	0,98404
<b>CL2</b>	0,02	0,98354
<b>CL3</b>	1,50	0,98555

#### 4.2.4 Eletroforese de DNA plasmidial em gel de agarose

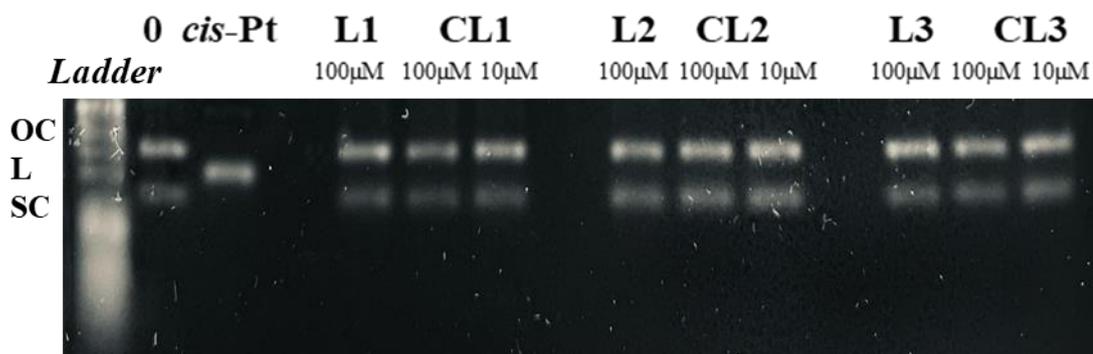
Devido à dependência do tamanho e formato das moléculas de interesse, a migração do DNA desempenha um papel fundamental na análise, devido à diversidade de conformações que a molécula pode adotar. Um exemplo notável é o DNA plasmidial, uma molécula circular que pode manifestar-se em três isômeros conformacionais: "supercoiled" (SC), "open circular" (OC) e linear (L), conforme ilustrado na **Figura 39**.



**Figura 39** – Representação esquemática das três formas principais das moléculas de DNA plasmidial. Fonte [44]

Em termos de mobilidade relativa através da matriz do gel, espera-se que a forma OC seja a mais lenta, uma vez que sua estrutura não é tão compacta quanto a forma SC, seguida pela forma L, que exibe baixa mobilidade devido ao seu maior comprimento, resultando certa retenção. Tipicamente, a ordem de mobilidade é:  $SC > L > OC$ .

Entretanto, essa relação pode variar em diferentes circunstâncias, sendo influenciada por fatores como o tamanho dos poros, a corrente elétrica, o peso molecular, o pH e o tipo de tampão empregado. Este tipo de experimento nos dá informações não apenas da interação do tipo intercalação como também de interação covalente e lise do DNA. A **Figura 40** mostra o resultado obtido na corrida eletroforética do DNA após 24h de incubação com os compostos em estudo.



**Figura 40** – Estudo de interação de DNA Plasmidial por eletroforese em gel de agarose com concentrações de 100 e 10 µM, após 24h de incubação a 37°C. Linha 1, controle DNA plasmidial; Linha 2, *cis*-Pt 100 µM; Linhas 3-5, 6-8 e 9-11 correspondem a DNA plasmidial + ligantes ou complexos na concentração de 100 µM e 10 µM.

No experimento realizado utilizou-se o marcador de massa molecular (ladder). O ladder é uma mistura de diversos fragmentos de DNA de tamanhos e concentrações conhecidas. Utilizou-se o controle (0), em que apenas o DNA livre estava presente onde foram observadas as duas formas do DNA (OC e SC), com a forma OC sendo a mais predominante devido a intensidade de sua mancha no gel.

Ao comparar os ligantes e os complexos nas concentrações de 100 e 10 $\mu$ M pode-se afirmar que não houve uma alteração na quantidade relativa das formas do DNA em comparação com o experimento controle, portanto esses compostos não foram capazes de clivar o DNA, sendo possível concluir que o DNA não é o principal alvo destes compostos.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Foram sintetizados e caracterizados neste trabalho, três novos complexos inéditos de ouro(I) a base de trifenilfosfina e ditiocarbamato propostos como potenciais agentes antitumorais para quimioterapia do câncer. As estruturas cristalográficas destes compostos foram obtidas por difração de raios X por monocristal. Na síntese, o precursor  $[\text{AuClPPh}_3]$ , foi utilizado em uma reação em que os ligantes DTC se coordenaram de forma monodentada.

Todos os compostos obtidos neste trabalho foram avaliados quanto às suas atividades citotóxicas em linhagens celulares humanas de mama tumorais e não tumoral (MDA-MB-231, 4T1 e MCF-10a). Os complexos ditiocarbamato(trifenilfosfina)ouro(I) apresentaram atividades citotóxicas significativas. Todos os compostos inibiram a viabilidade das células tumorais de maneira concentração-dependente, podendo-se obter o  $\text{IC}_{50}$  a partir das curvas concentração-resposta.

O composto **CL2** foi destaque contra a linhagem MDA-MB-231 por sua atividade antiproliferativa na faixa submicromolar ( $\text{IC}_{50} = 0,69 \pm 0,01 \mu\text{M}$ ,  $\text{IS} = 0,9$ ). De modo geral, os estudos evidenciaram que os complexos aqui relatados podem ser vantajosos como candidatos a agentes antitumorais em linhagens de câncer de mama, especialmente por sua estabilidade e atividade antiproliferativa.

Foram feitos estudos de estabilidade em solução de DMSO por RMN  $^1\text{H}$  e os complexos mostraram-se estáveis quimicamente pelo período avaliado, sem reações de troca de ligante que pudesse descaracterizá-los ou possíveis reações de oxirredução e precipitação.

Foram realizados estudos com interação em biomoléculas como DNA e BSA por fluorescência e eletroforese em gel de agarose. Pela análise do teste de competição BE-ctDNA dos complexos como agente intercalador, pode-se considerar que os complexos apresentaram moderada interação de intercalação entretanto pelo teste usando eletroforese em gel percebe-se que esses compostos não possuem ação direta no DNA, uma vez que não foi possível identificar nenhum tipo de interação concluindo assim que o DNA não é o principal alvo desses compostos.

Contudo, com relação aos resultados da interação dos compostos com a albumina, (BSA) uma proteína importante e abundante no plasma sanguíneo e responsável pelo transporte de fármacos pela corrente sanguínea, pode-se afirmar que os compostos possuem moderada

interação com a mesmo sendo esse resultado relevante para dizer que possivelmente os compostos possuem uma biodistribuição ideal para que chegue ao seu possível alvo.

Estudos mais detalhados sobre os mecanismos de ação dos complexos de ouro(I) contendo ditiocarbamato e trifenilfosfina devem ser realizadas na presença de alvos biológicos que desempenham um papel crucial na progressão do câncer, como a enzima tiorredoxina-reductase. Vale ressaltar que os resultados apresentados oferecem contribuições significativas à literatura sobre as vantagens dos complexos de ouro e podem ajudar no desenvolvimento de outros protótipos de metalo-fármacos.

## REFERÊNCIAS

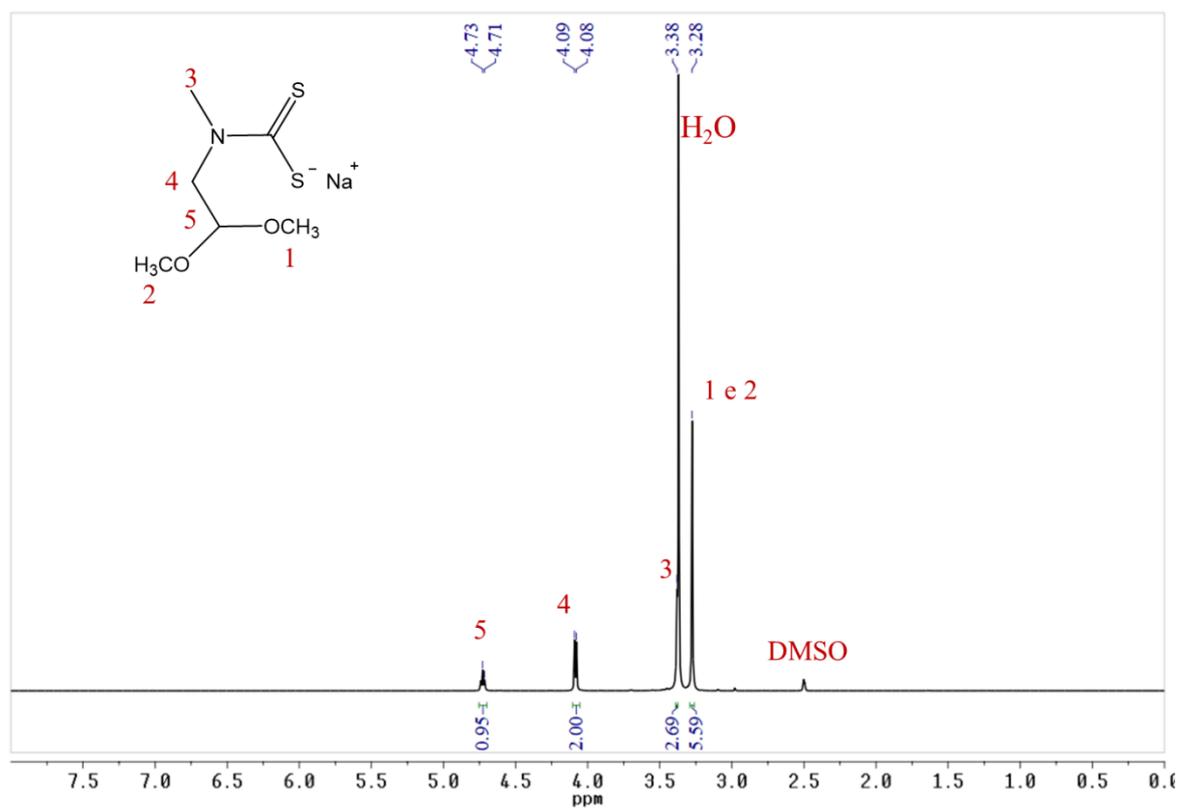
- [1] Ministério da saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) 6<sup>a</sup> edição 2011. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-6-edicao-2020.pdf>. Acesso em: 17.Maio.2024.
- [2] R. L. Siegel,; K. D. Miller.; H. E. Fuchs.; A. Jemal Cancer Statistics, 2021, *CA Cancer J Clin*, v. 71, p 7–33, 2021. doi: 10.3322/caac.21654.
- [3] H. Sung *et al.*, “Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries,” *CA Cancer J Clin*, v. 71, p. 209–249, 2021. doi: 10.3322/caac.21660.
- [4] Ministério da saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/introducao>. Acesso em: 17.Maio.2024.
- [5] Ministério da saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA) “Prevenção ao câncer de mama, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/acoes/prevencao>. Acesso em: 18.Maio.2024.
- [6] Ministério da saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA) Tratamento câncer de mama, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlado-cancer-de-mama/acoes/tratamento>. Acesso em: 20.Maio.2024.
- [7] M. Liao *et al.*, “Small-Molecule Drug Discovery in Triple Negative Breast Cancer: Current Situation and Future Directions,” *J Med Chem*, v. 64, p. 2382–2418, 2021. doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c01180.
- [8] A. L. de Andrade Querino. “Ouro na terapia anticâncer: compostos organometálicos com ligantes ditiocarbamato e nanopartículas solúveis estabilizadas por carbeno N-heterocíclico”. 2023. Tese (doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2023.
- [9] T. Srinivasa Reddy *et al.*, “Gold(I) and gold(III) phosphine complexes: synthesis, anticancer activities towards 2D and 3D cancer models, and apoptosis inducing properties,” *Dalton Trans*, v. 47, n. 43, p. 15312–15323, 2018. doi: 10.1039/C8DT01724G.
- [10] G. Y. Sánchez Delgado.; C. A. S. R. Condé.; H. F. Dos Santos.; M. Navarro. “Gold chemotherapeutic compounds: an overview of anticancer au(i/iii)-complexes in relation to the structure of the ligand,” *Quim Nova*, v. 43, n. 8 p. 1104-1124, 2020. doi: 10.21577/0100-4042.20170566.

- [11] T. Onodera.; I. Momose.; M. Kawada, "Potential Anticancer Activity of Auranofin," *Chem Pharm. Bull.*, v. 67, n. 3, p. 186-191, 2019. doi: 10.1248/cpb.c18-00767.
- [12] A. L. de Andrade Querino *et al.*, "Organogold(III)-dithiocarbamate compounds and their coordination analogues as anti-tumor and anti-leishmanial metallodrugs," *J Inorg Biochem*, v. 247, 2023. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2023.112346.
- [13] G. Y. Sánchez Delgado *et al.*, "The role of tridentate ligands on the redox stability of anticancer gold(III) complexes," *J Inorg Biochem*, v. 236, 2022. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111970.
- [14] P. J. Barnard.; S. J. Berners-Price. "Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds," *Coord Chem Rev*, v. 251, p. 1889–1902, 2007. doi: 10.1016/j.ccr.2007.04.006.
- [15] S. Nobili. *et al.*, "Gold compounds as anticancer agents: Chemistry, cellular pharmacology, and preclinical studies," *Med Res Rev*, v. 30, p. 550–580, 2010. doi: 10.1002/med.20168.
- [16] O. Rackham. *et al.*, "A gold(I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: Implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria," *Biochem Pharmacol*, v. 74, p. 992–1002, 2007. doi: 10.1016/j.bcp.2007.07.022
- [17] A. e Almeida. *et al.*, "Emerging protein targets for metal-based pharmaceutical agents: An update," *Coord Chem Revi*, v. 257, p. 2689–2704, 2013. doi: 10.1016/j.ccr.2013.01.031.
- [18] S. Li *et al.*, "Influence of the introduction of a triphenylphosphine group on the anticancer activity of a copper complex," *J Inorg Biochem*, v. 210, 2020. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2020.111102.
- [19] C. K. Adokoh. "Therapeutic potential of dithiocarbamate supported gold compounds," *RSC Advances*, v. 10, p. 2975–2988, 2020. doi: 10.1039/c9ra09682e.
- [20] D. C. Menezes.; G. M. De Lima. "General aspects of the chemistry of dithiocarbamates, their metallic complexes and their interactions with important enzymes," *Quim Nova*. v. 44, p.1012–1019, 2021. doi: 10.21577/0100-4042.20170755.
- [21] P. S. Tessaro. "Complexos bioinspirados de zinco contendo grupamentos indólicos como potenciais sondas fluorescentes de ácidos nucleicos". 2018. (Dissertação de Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Santa Catarina, 2018.
- [22] J. Carlos García-Ramos, *et al.*; "Metal-Based Drug-DNA Interactions," *J. Mex. Chem. Soc.* **2013**, 57(3), 245-259, doi: 10.29356/jmcs.v5I3.213.
- [23] E. R. Jamieson.; S. J. Lippard. "Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts," *Chem Rev*, v. 99, p. 2467–2498, 1999. doi: 10.1021/cr980421n.

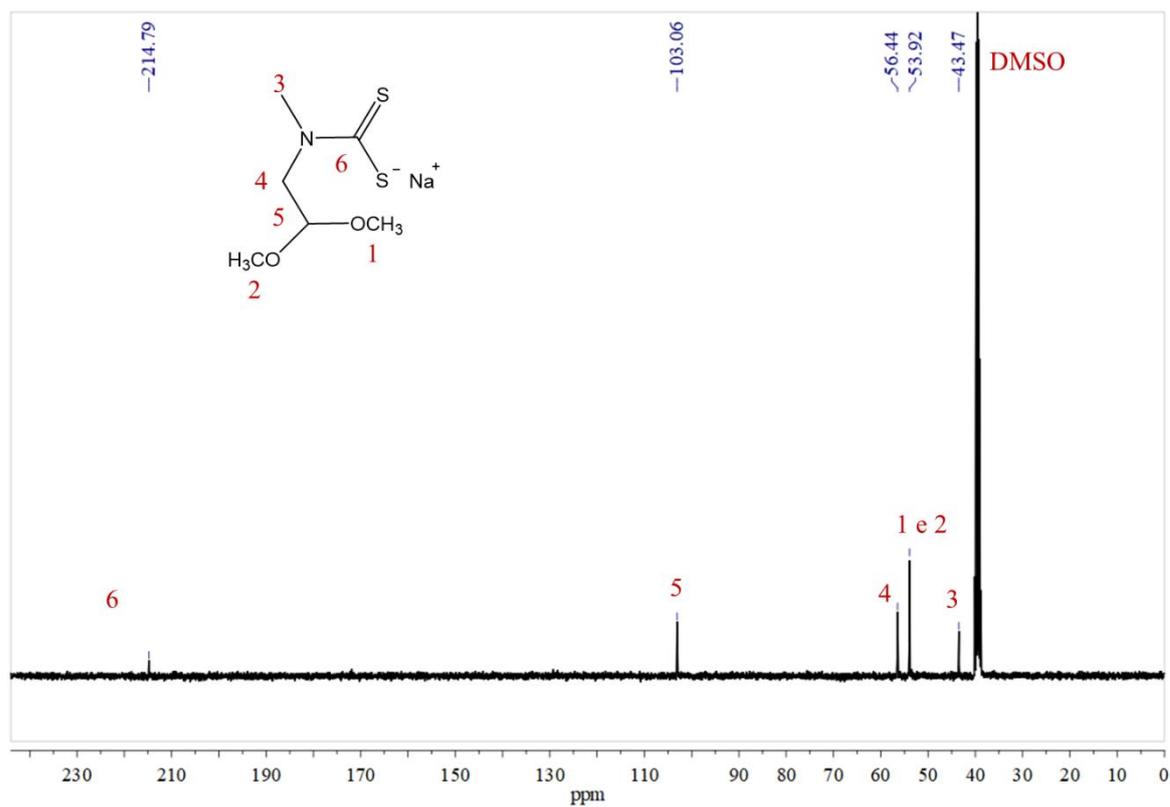
- [24] L. Kelland. "The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy," *Nat Rev Cancer*, v. 7, p. 573–584, 2007. doi: 10.1038/nrc2167.
- [25] J. H. Sze *et al.*, "Anticancer activity of a Gold(I) phosphine thioredoxin reductase inhibitor in multiple myeloma," *Redox Biol*, v. 28, 2020. doi: 10.1016/j.redox.2019.101310.
- [26] S. Nagata. "Apoptotic DNA fragmentation," *Exp Cell Res*, v. 256, p. 12–18, 2000. doi: 10.1006/excr.2000.4834.
- [27] A. Casini and L. Messori. "Molecular Mechanisms and Proposed Targets for Selected Anticancer Gold Compounds," *Curr Top Med Chem*, v. 11, p. 2647-2660, 2011. doi: 10.2174/156802611798040732.
- [28] T. T. Tavares *et al.*, "Gold(I) complexes with aryl-thiosemicarbazones: Molecular modeling, synthesis, cytotoxicity and TrxR inhibition," *Polyhedron*, p. 132, 95–104, 2017. doi: 10.1016/j.poly.2017.05.004.
- [29] Ö. Karaca *et al.*, "Characterization of Hydrophilic Gold(I) N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes as Potent TrxR Inhibitors Using Biochemical and Mass Spectrometric Approaches," *Inorg Chem*, v. 56, p.14237–14250, 2017. doi: 10.1021/acs.inorgchem.7b02345.
- [30] G. L. Parrilha *et al.*, "Metal complexes with 2-acetylpyridine-N(4)-ortho-chlorophenylthiosemicarbazone: Cytotoxicity and effect on the enzymatic activity of thioredoxin reductase and glutathione reductase," *Eur J Med Chem*, v. 84, p. 537–544, 2014. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.055.
- [31] C. F. Macrae *et al.*, "Mercury: Visualization and analysis of crystal structures," *J. Appli Crystallogr*, v. 39, p. 453–457, 2006. doi: 10.1107/S002188980600731X.
- [32] S. Lehrer. "Solute perturbation of protein fluorescence. Quenching of the tryptophyl fluorescence of model compounds and of lysozyme by iodide ion," *Biochemistry*, v. 10, p. 3254–3263, 1971. doi: 10.1021/bi00793a015.
- [33] Y. Q. Wang.; H. M. Zhang.; G. C. Zhang.; W. H. Tao.; S. H. Tang. "Interaction of the flavonoid hesperidin with bovine serum albumin: A fluorescence quenching study," *J Lumin*, v. 126, p. 211–218, 2007. doi: 10.1016/j.jlumin.2006.06.013.
- [34] N. C. Baenziger.; W. E. Bennett.; D. M. Soborofe. "Chloro(triphenylphosphine)gold(I)," *Acta Crystallogr B*, v. 32, p. 962–963, 1976. doi: 10.1107/S0567740876004330.
- [35] A. Garcia *et al.*, "Novel antitumor adamantane-azole gold(I) complexes as potential inhibitors of thioredoxin reductase," *J. Biol Inorg Chem*, v. 21, p 275–292, 2016. doi: 10.1007/s00775-016-1338-y.
- [36] Pavia D.; L. M. G.; Kriz S. G.; Vyvyan R. J. "Introdução a espectroscopia". 4ª ed., vol. 4. 2010.

- [37] J. H. Bormio Nunes. *et al.*, “Synthesis, characterization, crystal structure and in vitro antiproliferative assays of the 2-thiouracilato(triphenylphosphine)gold(I) complex,” *J Mol Struct*, v. 1178, p. 169–178, 2019. doi: 10.1016/j.molstruc.2018.10.026.
- [38] W. D. CALLISTER. JR.; Rethwisch David G. *Ciência e Engenharia de Materiais uma introdução*, 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2016.
- [39] G. Y. Sánchez Delgado.; C. A. S. R. Condé.; H. F. Dos Santos.; M. Navarro. “Gold chemotherapeutic compounds: an overview of anticancer au(I/III)-complexes in relation to the structure of the ligand,” *Quim Nova*, v. 43, n. 8, p. 1104-1124, 2020. doi: 10.21577/0100-4042.20170566.
- [40] J. D. S. Chaves *et al.*, “Novel gold(I) complexes with 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione and phosphine as potential anticancer and antileishmanial agents,” *Eur J Med Chem*, v. 127, p. 727–739, 2017, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.10.052.
- [41] S. Naveenraj.; S. Anandan. “Binding of serum albumins with bioactive substances - Nanoparticles to drugs,” *J. Photoch and Photobiol C: Photochem Revi*, v. 14, p. 53–71, 2013. doi: 10.1016/j.jphotochemrev.2012.09.001.
- [42] A. Pratesi *et al.*, “Structural Characterization of a Gold/Serum Albumin Complex,” *Inorg Chem*, v. 58, p. 10616–10619, 2019. doi: 10.1021/acs.inorgchem.9b01900.
- [43] T. Topală.; A. Bodoki.; L. Oprean.; R. Oprean. “Bovine serum albumin interactions with metal complexes,” *Clujul Medical*, v. 87, p. 5, 2014. doi: 10.15386/cjmed-357.
- [44] A. Kellett.; Z. Molphy.; C. Slator.; V. McKee.; N. P. Farrell. “Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug-DNA interactions,” *Chem Soc Rev*, v. 48, p. 971–988, 2019. doi: 10.1039/c8cs00157j.
- [45] D. L. Nelson.; M. Cox. *Princípios de bioquímica de Lehninger*, 5ª ed. Porto Alegre, 2010.

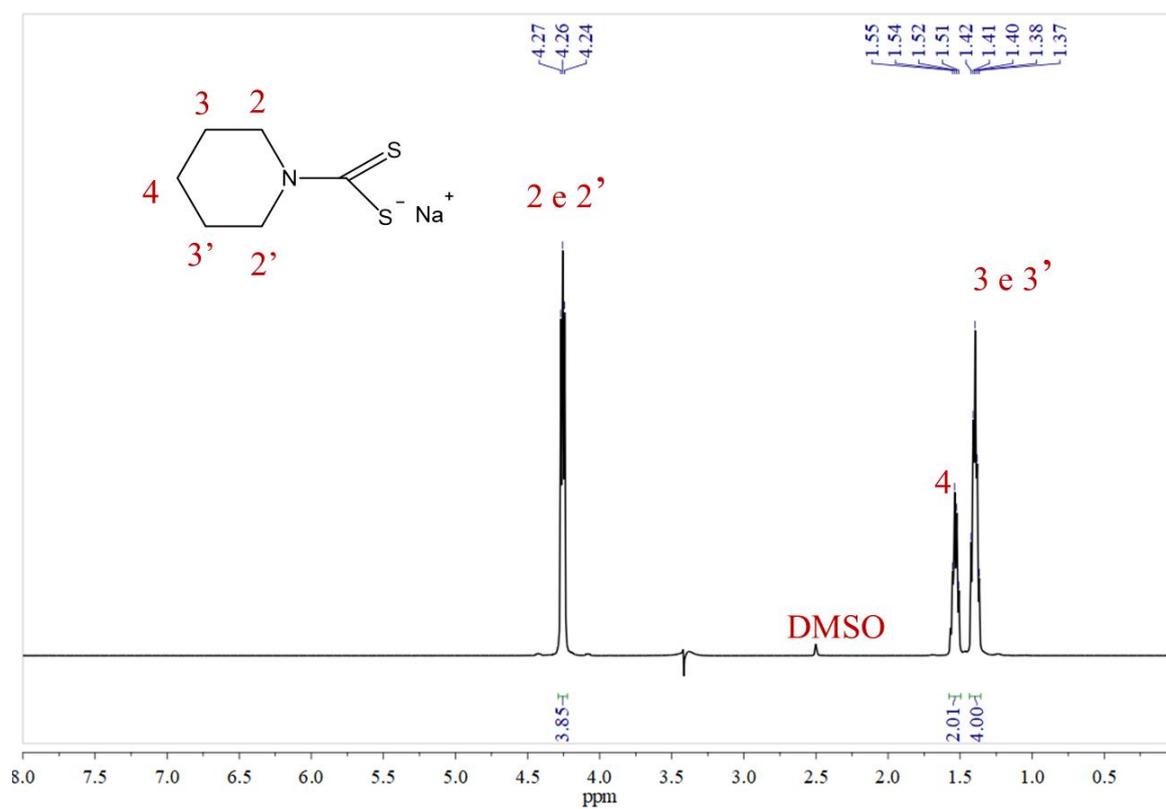
## APÊNDICE



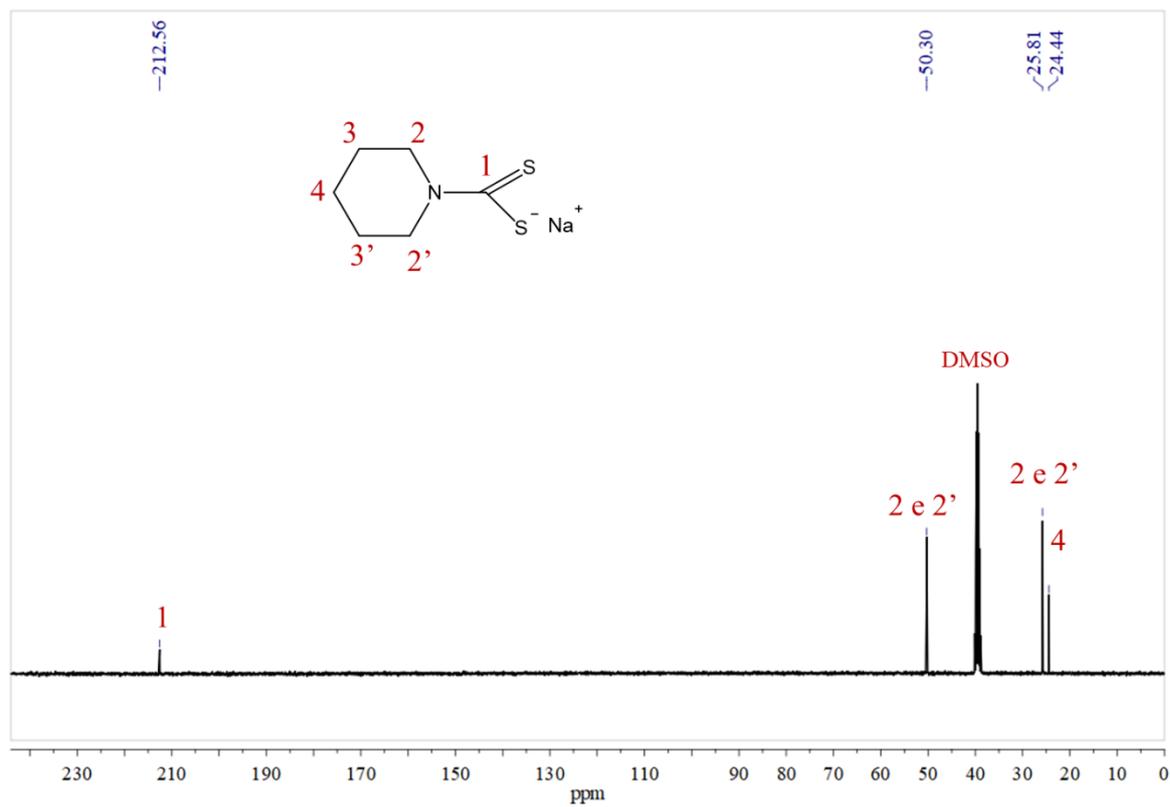
**Figura A1** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do Ligante L1 em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 400 MHz.



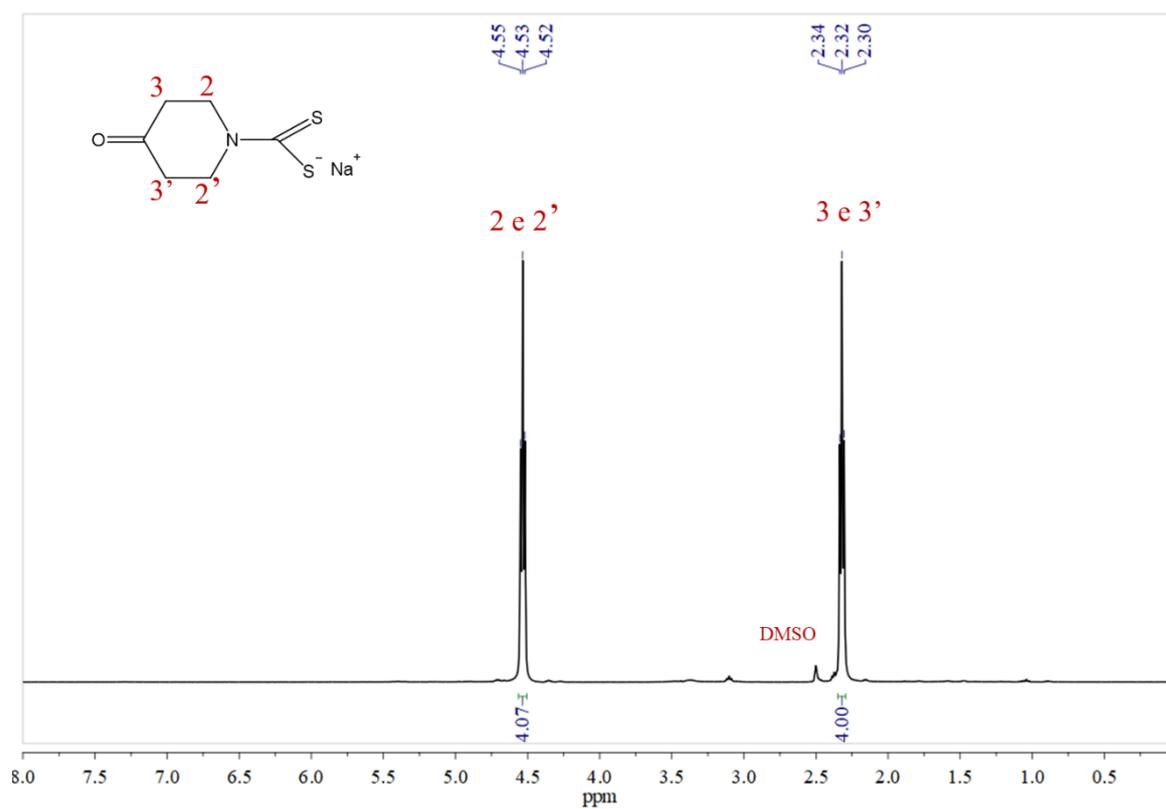
**Figura A2** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante **L1** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



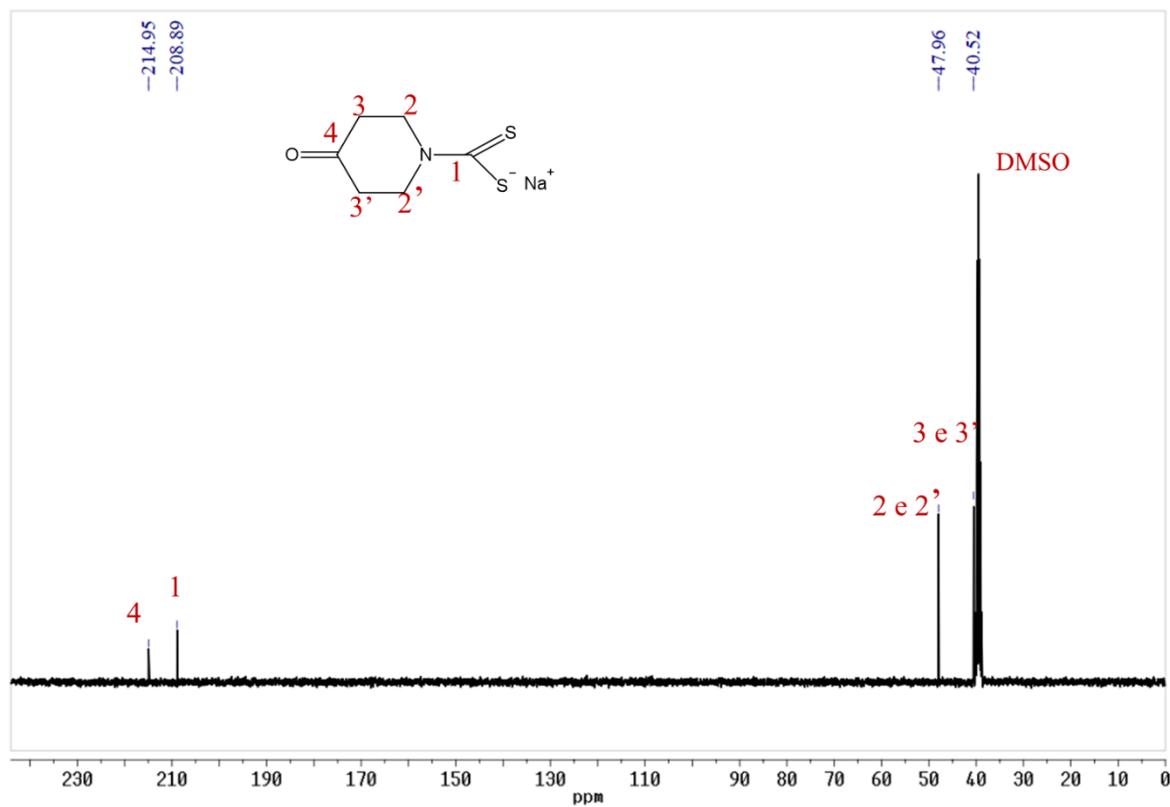
**Figura A3** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do Ligante **L2** em solução de DMSO- $d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 400 MHz



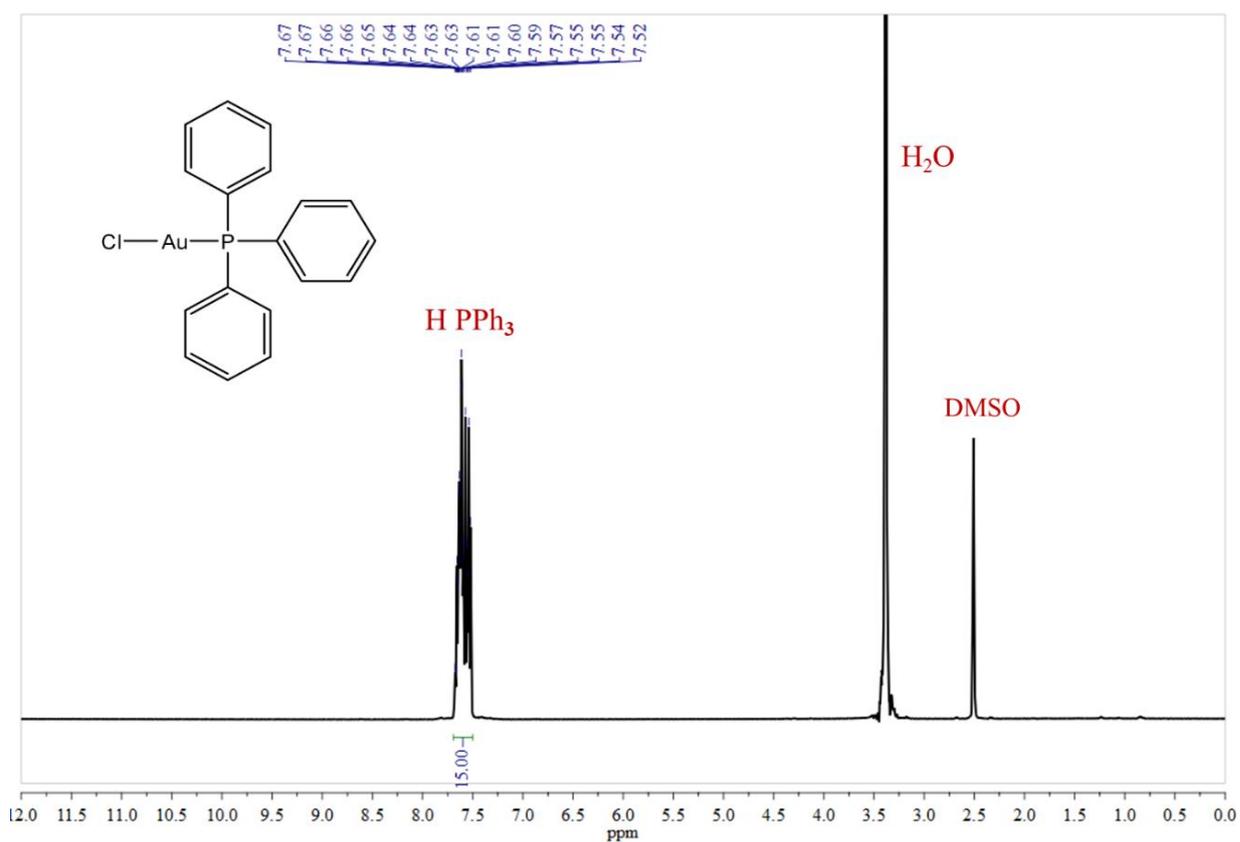
**Figura A4** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante L2 em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



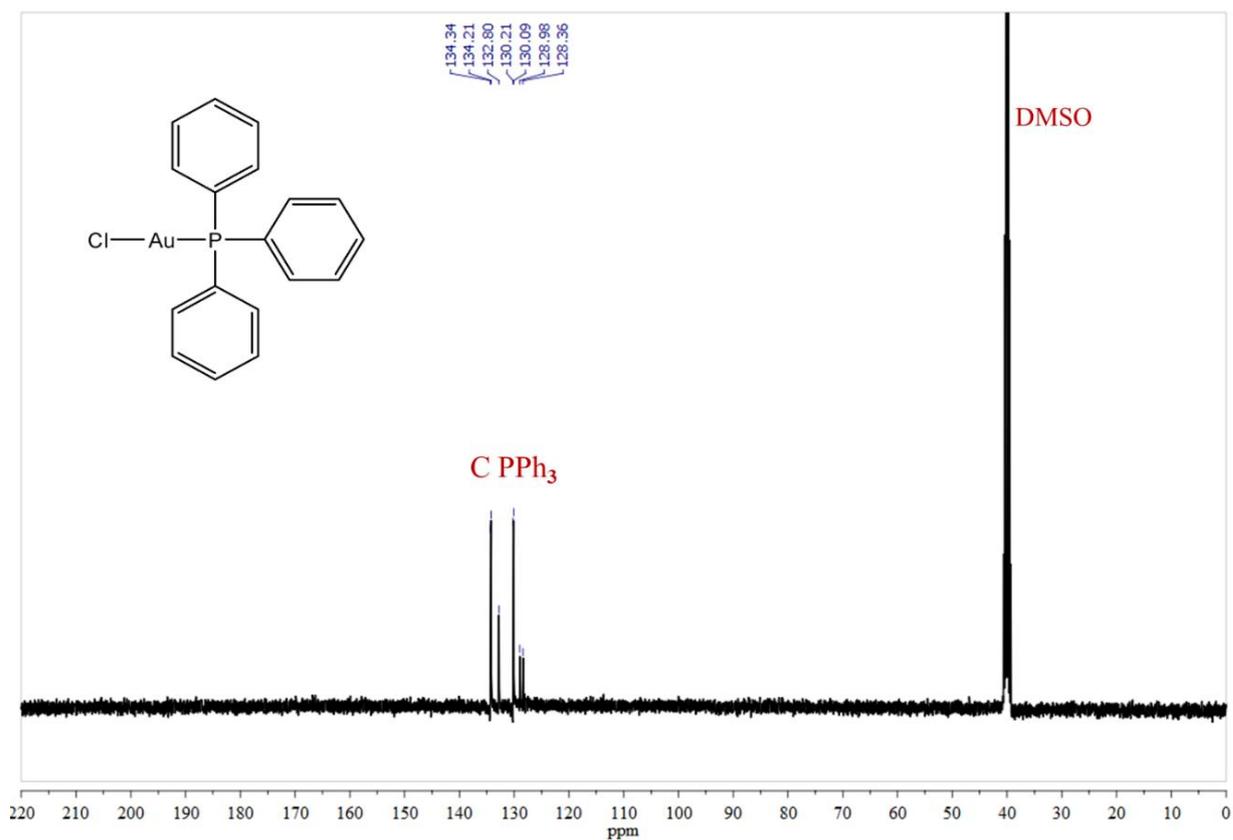
**Figura A5** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do Ligante **L3** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 400 MHz.



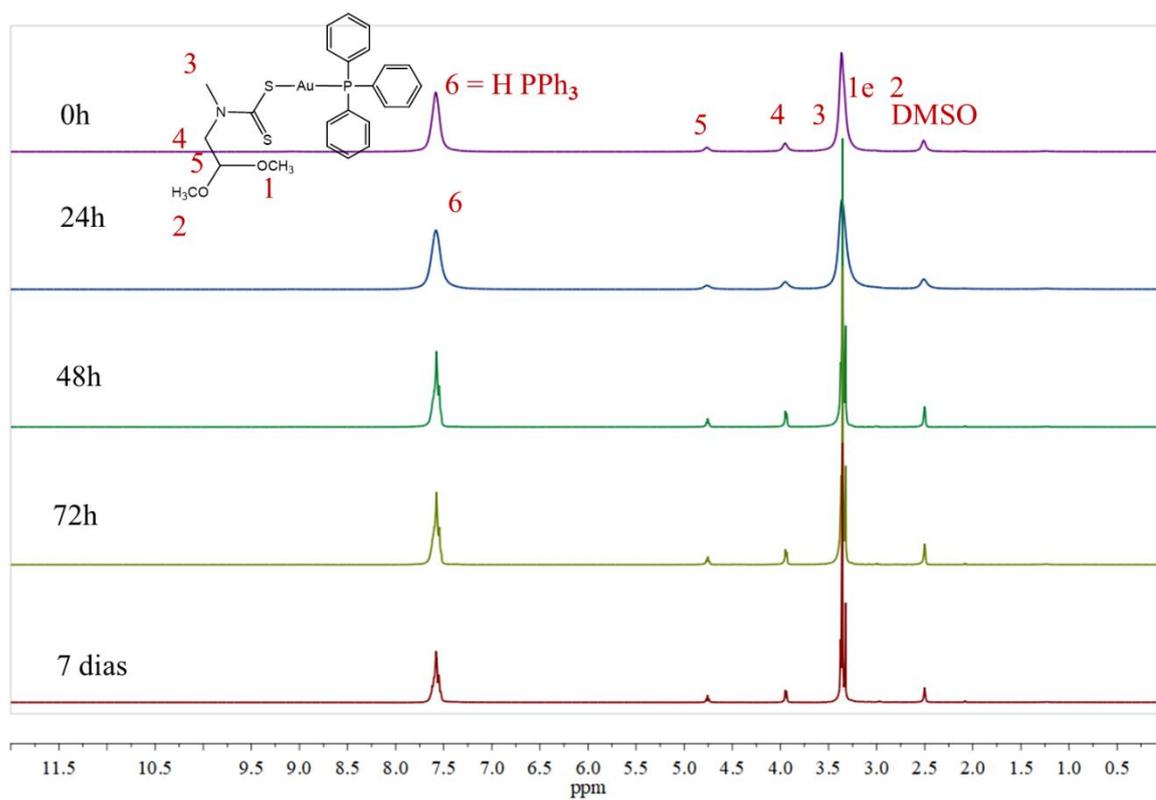
**Figura A6** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante **L3** em solução de  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



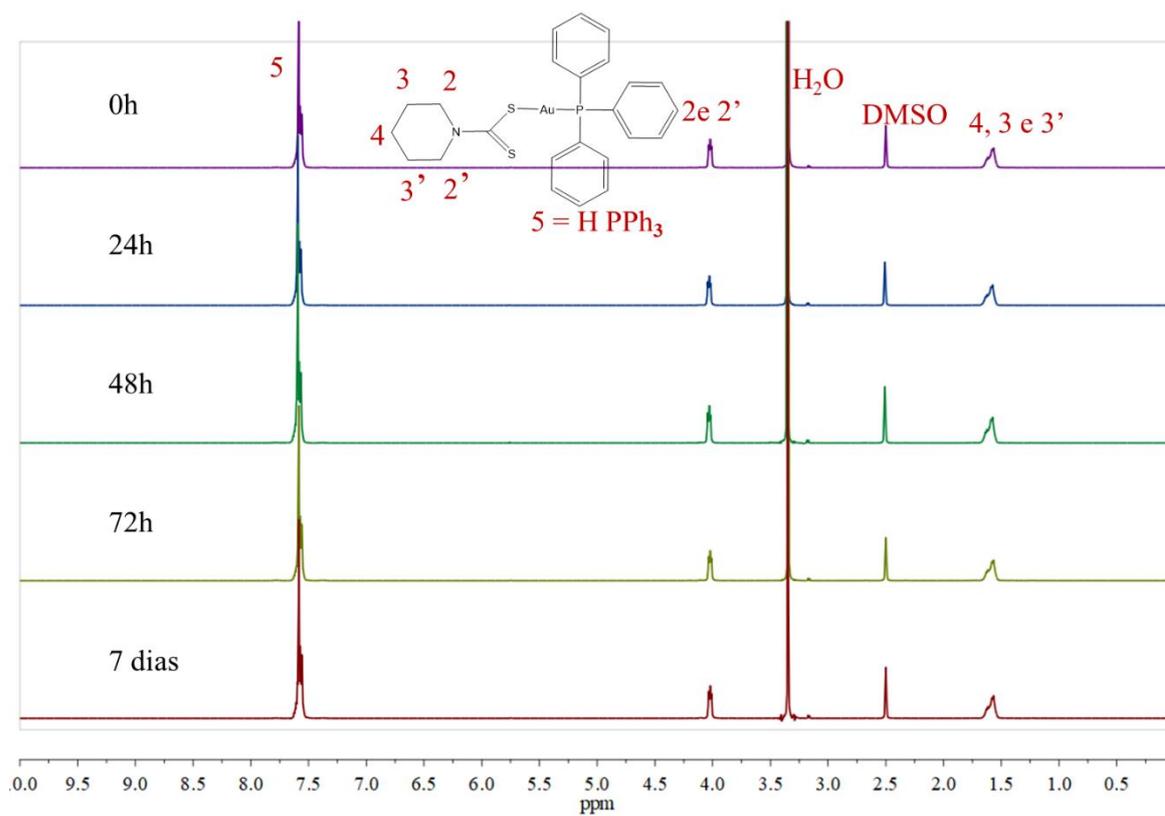
**Figura A7** – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do ourocloro(trifenilfosfina)ouro(I), em solução de DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ em ppm) em 400 MHz.



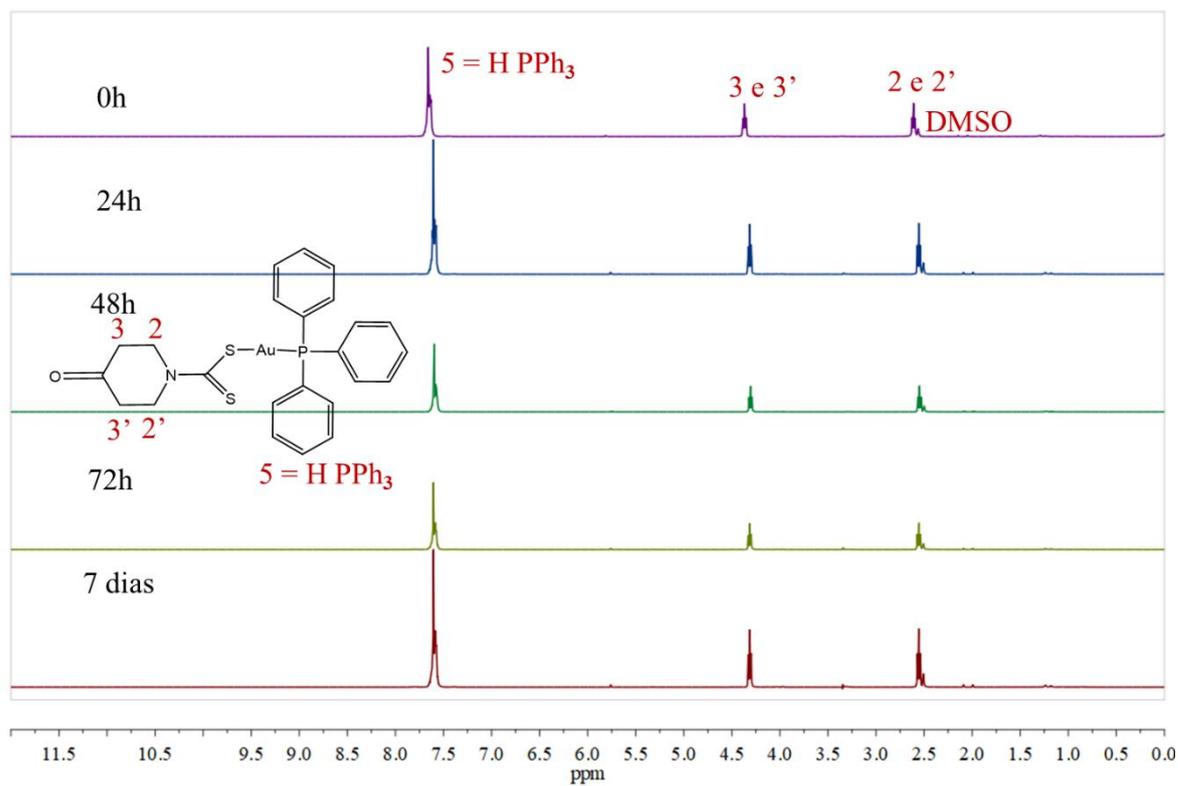
**Figura A8** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ourocloro(trifenilfosfina)ouro(I), em solução de  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\delta$  em ppm) em 100 MHz.



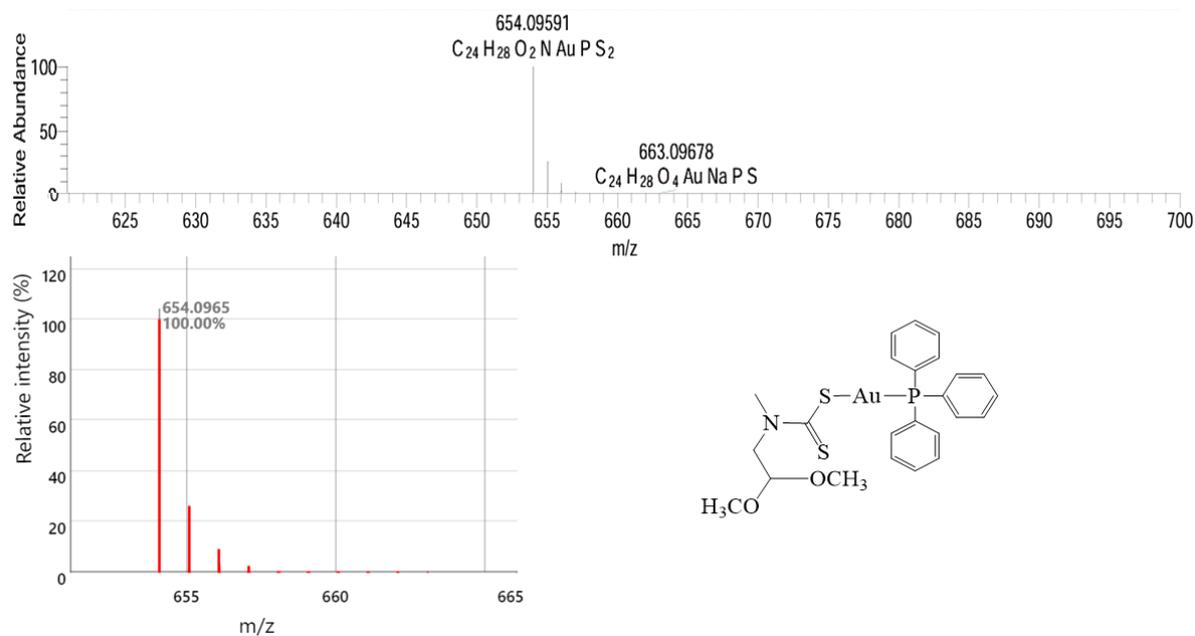
**Figura A9** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em 400 MHz da estabilidade em  $\text{DMSO-}d_6$  do complexo **CL1**. Fonte: autoria própria.



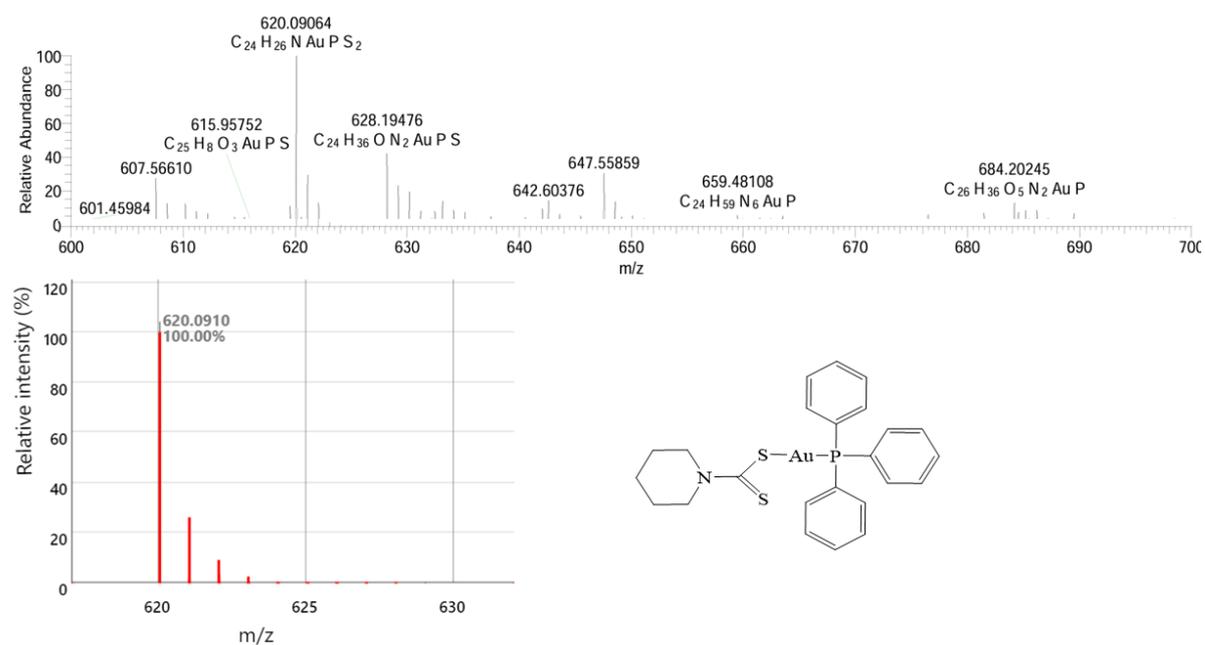
**Figura A10** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em 400 MHz da estabilidade em  $\text{DMSO-}d_6$  do complexo CL2. Fonte: autoria própria.



**Figura A11** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em 400 MHz da estabilidade em  $\text{DMSO-}d_6$  do complexo **CL3**. Fonte: autoria própria.



**Figura A12** – Espectros de massas por ESI<sup>+</sup>-MS e simulação pelo SIS Web do complexo **CL1**.



**Figura A13** – Espectros de massas por ESI<sup>+</sup>-MS e simulação pelo SIS Web do complexo **CL2**.

## ANEXOS

### Trabalhos apresentados em congressos.

1. Santos, T. C. S.; Querino, A. L. A.; Evangelista, I. M.F.; Silva, H. Synthesis and evaluation of the biological activity of Gold(I) compounds with dithiocarbamate ligands. XXI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry (XXI BMIC), 2024, Belo Horizonte, MG.
2. Santos, T. C. S.; Angel, A Y. B. Angel.; Alberto, E. E.; Silva, H. NHC-functionalized compound with Selenium: Synthesis, characterization and anticarcinogenic properties. 46° Reunião Anual da SBQ. 2023, Águas de Lindóia, SP.
3. Neto, A. H. R.; Santos, T. C. S.; Querino, A. L. A.; Silva, H. Gold complex with dithiocarbamate ligands as a potential anticarcinogenic agent. 46° Reunião Anual da SBQ. 2023, Águas de Lindóia, SP.