

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

Adriana Garcia

**“COMPLEXOS DE OURO(I) DERIVADOS DO ADAMANTANO:
SÍNTESE, ATIVIDADE CITOTÓXICA E POTENCIAL DE INIBIÇÃO DA
TIORREDOXINA REDUTASE”**

**Juiz de Fora
2015**

ADRIANA GARCIA

**“COMPLEXOS DE OURO(I) DERIVADOS DO ADAMANTANO:
SÍNTESE, ATIVIDADE CITOTÓXICA E POTENCIAL DE INIBIÇÃO DA
TIORREDOXINA REDUTASE”**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Heveline Silva
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida

Juiz de Fora
2015

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

Garcia, Adriana.

COMPLEXOS DE OURO(I) DERIVADOS DO ADAMANTANO : SÍNTESE, ATIVIDADE CITOTÓXICA E POTENCIAL DE INIBIÇÃO DA TIORREDOXINA REDUTASE / Adriana Garcia. -- 2015.

95 p. : il.

Orientadora: Heveline Silva

Coorientador: Mauro Vieira de Almeida

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2015.

1. Ouro. 2. Adamantano. 3. Tiorredoxina redutase. 4. Câncer. I. Silva, Heveline, orient. II. Almeida, Mauro Vieira de, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser meu alicerce e por me dar a certeza de que todo esforço para o bem é recompensado.

À minha orientadora, Professora Heveline Silva, pela confiança e compreensão durante a realização deste trabalho. Obrigada por acreditar em meu potencial e me incentivar a ser sempre melhor.

Ao meu co-orientador, Professor Mauro Vieira de Almeida, por todos os ensinamentos e pela grande paciência e atenção em responder todas as minhas dúvidas sobre a síntese dos ligantes.

À professora Charlane Cimini Corrêa e ao discente Thiago Martins Francisco, pelas realizações das medidas de difração de raios X por monocristal que ajudaram a confirmar a estrutura dos compostos.

Aos professores do Departamento de Química que contribuíram de forma direta ou indireta para meu aprendizado, em especial aos Professores Gustavo, Adilson, Ana Paula e Richard.

Aos funcionários do Departamento de Química, pela amizade, atenção e ajuda sempre que precisei.

À Joana, Angelina, Gisele e Bruno que me permitiram acompanhar sua rotina e seus trabalhos, algo essencial para meu aprendizado de síntese e purificação dos ligantes.

Aos meus amigos do Nupeq que tornaram as horas no laboratório mais divertidas e enriquecedoras.

À minha família por estar sempre presente em minha vida, me incentivando e apoiando mesmo nas horas mais difíceis.

Ao Kleverson, meu marido, amigo e companheiro, pelo amor, compreensão e por ter me dado o maior presente de todos, nossos filhos Rafael e Felipe, que são a razão da minha vida.

À todos que de algum modo, com seu carinho, compreensão e apoio colaboraram com esta conquista.

À UFJF, CAPES, FAPEMIG, CNPq e Rede Mineira de Química pelo apoio financeiro.

RESUMO

Este trabalho descreve a síntese, caracterização, atividade citotóxica e potencial de inibição da enzima *tiorredoxina redutase* (TrxR) de quatro novos complexos de ouro(I) derivados do adamantano com 1,3,4-oxadiazol ou 1,3-tiazolidina-2-tiona e alquil ou aril fosfinas. Os compostos foram avaliados quanto à citotoxicidade em três linhagens de células tumorais e uma linhagem normal, sendo determinada a concentração inibitória de cinquenta por cento da viabilidade celular (CI₅₀) e o índice de seletividade (IS). Uma das mais importantes aplicações de complexos metálicos na clínica médica é no tratamento do câncer como é o caso da Cisplatina [(*cis*-diamindicloroplatina(II))] e seus derivados. Entretanto, existem problemas associados ao seu uso, especialmente a resistência celular desenvolvida por alguns tipos de tumor e os graves efeitos colaterais, que geram uma demanda por compostos mais ativos contra o câncer e menos tóxicos para o paciente. Dentro deste contexto, a busca por complexos contendo diferentes metais que possibilitem novos alvos celulares surgiu como forma de contornar tais problemas. A ação de complexos com platina ocorre preferencialmente sobre o DNA enquanto a ação do ouro está relacionada à inibição da enzima TrxR que participa do balanço redox intracelular. Com o intuito de potencializar a ação dos complexos de ouro(I) selecionamos os ligantes derivados do adamantano com anel heterocíclico oxadiazol ou tiazolidina e fosfinas (alifáticas ou aromáticas) que estão presentes em substâncias bioativas. Os compostos sintetizados foram caracterizados por CHN, RMN ¹H e ¹³C, IV, Raman, TG além de difração de raios X por monocristal no caso dos ligantes e do complexo **1** {trifenilfosfino[5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiolato(κS)]ouro(I)}. Todos os complexos foram mais ativos sobre as células tumorais que os ligantes livres e foram mais eficientes e seletivos do que a Cisplatina para a linhagem de células de melanoma (B16-F10). O complexo **4** {Cloreto de trietilfosfino[(metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona(κS)]ouro(I)} apresentou valores de CI₅₀ próximos a Auranofina [2,3,4,6-tetra-*o*-acetil-1-tio- β -D-glicopiranosato-trietilfosfinouro(I)] e maior seletividade. Quanto a capacidade de inibição da enzima TrxR, os complexos com trietilfosfina foram mais eficientes, alcançando porcentagem de inibição próxima a da Auranofina. Notamos uma relação entre a capacidade de inibição da TrxR e a citotoxicidade, o que sugere o mecanismo de ação destes compostos de ouro via inativação da enzima. Dessa forma, o presente trabalho apresenta uma importante contribuição para a química de coordenação dos complexos de ouro(I).

Palavras-chave: Ouro. Adamantano. Tiorredoxina redutase. Câncer.

ABSTRACT

This work describes the synthesis, characterization, cytotoxic activity and potential inhibition of thioredoxin reductase (TrxR) of four new gold (I) complexes with novel ligands derived from adamantane, 1,3,4-oxadiazole or 1,3-thiazolidine-2-thionering and alkyl or aryl phosphines. The cytotoxicity of compounds was investigated in three tumor cell lines and one normal cell to determine the inhibitory concentration of fifty percent of cell viability (IC_{50}) and selectivity index (SI). One of the most important applications for metal complexes such as Cisplatin [*cis*-diamindichloroplatinum(II)] and derivatives is in cancer treatment. However, there are several problems associated with their use, especially cellular resistance, developed by some tumor cells, and serious side effects. Those problems create a demand for new compounds more active against cancer and less toxic to patient. In this context, the search for complexes with other metals that present different cellular targets appeared to circumvent such problems. The action of platinum complexes occurs preferentially on DNA while the gold action is related to the inhibition of the enzyme TrxR which participates in intracellular redox balance. To enhance biological activity of gold complexes we prepared ligands containing adamantane with heterocyclic ring oxadiazole or thiazolidine and phosphines (trimethyl or triphenyl) which are present in bioactive substances. The synthesized compounds were characterized by CHN, 1H and ^{13}C NMR, IR, Raman, TG and X-ray diffraction for ligands and complex **1** {triphenylphosphin[5-adamantyl-1,3,4-oxadiazole-2-thiolate(κS)]gold(I)}. All complexes were more active against tumor cells compared to the free ligands and more efficient and selective than cisplatin for melanoma cell line (B16-F10). The complex **4** {Triethylphosphine chloride[(metyl-1-adamantane)1,3-thiazolidine-2-thione(κS)]gold(I)} showed IC_{50} values near Auranofin [2,3,4,6-tetra-o-acetyl-1-thio- β -D-glycopyranosate-trietylphosphingold(I)] and higher selectivity. The ability to inhibit TrxR was most relevant for the complexes with ethyl phosphine reaching the inhibition promoted by Auranofin. We have observed a relationship among the capacity to inhibit TrxR, structure and cytotoxicity which contributes to confirm the mechanism of action for gold compounds. Thus, this study is an important contribution to the coordination chemistry of gold(I) complexes.

Keywords: Gold. Adamantane. Thioredoxin reductase. Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Classificação dos agentes antineoplásicos.....	14
Figura 2 Estrutura da cisplatina e carboplatina.....	15
Figura 3 Auranofina.....	16
Figura 4 Medicamentos adamantóides.....	17
Figura 5 Medicamentos contendo tiazolidina ou oxadiazol.....	18
Figura 6 Isômeros do oxadiazol.....	19
Figura 7 Estrutura da 1,3-tiazolidina.....	19
Figura 8 Estrutura da cloridotrietilfosfinouro(I) e da cloridotrifetilfosfinouro(I).....	20
Figura 9 Representação da TrxR humana	21
Figura 10 Sistema Tiorredoxina.....	22
Figura 11 Mecanismo de ação dos complexos de ouro sobre a TrxR.....	23
Figura 12 Esquema de síntese do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C	28
Figura 13 Esquema de síntese do (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona F	29
Figura 14 Síntese do precursor AuCl(PPh ₃).....	30
Figura 15 Esquema de síntese do complexo 1	31
Figura 16 Esquema de síntese do complexo 2	32
Figura 17 Esquema de síntese do complexo 3	33
Figura 18 Esquema de síntese do complexo 4	33
Figura 19 Conversão do DTNB a TNB na presença da enzima TrxR ativa.....	34
Figura 20 Representação dos espectros de RMN de ¹ H dos compostos A , B e C (CDCl ₃ , 300MHz).....	37
Figura 21 Espectro de RMN de ¹³ C do ligante C (CDCl ₃ , 75MHz).....	38
Figura 22 Representação dos espectros IV dos compostos A , B e C	39
Figura 23 Formas tautoméricas para o 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C	39
Figura 24 Diagrama ORTEP do ligante C	40
Figura 25 Representação dos espectros de RMN de ¹ H dos compostos D , E e F (CDCl ₃ , 300MHz).....	42
Figura 26 Espectro de RMN de ¹³ C do ligante F (CDCl ₃ , 75 MHz).....	43
Figura 27 Representação dos espectros IV dos compostos D , E e F	44
Figura 28 Diagrama ORTEP do ligante F	44

Figura 29 Representação dos espectros de RMN de ^1H do ligante C e do complexo 1 (CDCl_3 , 300 MHz).....	46
Figura 30 Espectro de RMN de ^{13}C do complexo 1 (CDCl_3 , 125 MHz).....	47
Figura 31 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo 1 (CDCl_3 , 125 MHz).....	47
Figura 32 Representação dos espectros IV do ligante C e do complexo 1	48
Figura 33 Representação dos espectros Raman do Ligante C e do Complexo 1	49
Figura 34 Diagrama ORTEP do Complexo 1	50
Figura 35 Curvas TG e DTA do Complexo 1	52
Figura 36 Representação dos espectros de RMN de ^1H do ligante C e do complexo 2 (CDCl_3 , 300MHz).....	53
Figura 37 Espectro de RMN de ^{13}C do complexo 2 (CDCl_3 , 125 MHz).....	54
Figura 38 Representação dos espectros IV do ligante C e do complexo 2	54
Figura 39 Curvas TG e DTA do Complexo 2	55
Figura 40 Representação dos espectros de RMN de ^1H do ligante F e do complexo 3 (CDCl_3 , 300MHz).....	56
Figura 41 Espectro de RMN de ^{13}C do complexo 3 (CDCl_3 , 125 MHz).....	57
Figura 42 Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo 1 (CDCl_3 , 125 MHz).....	57
Figura 43 Representação dos espectros IV do ligante F e do complexo 3	58
Figura 44 Representação dos espectros Raman do ligante F e do complexo 3	59
Figura 45 Curvas TG e DTA do Complexo 3	59
Figura 46 Representação dos espectros de RMN de ^1H do ligante F e do complexo 4 (CDCl_3 , 300MHz).....	60
Figura 47 Espectro de RMN de ^{13}C do complexo 4 (CDCl_3 , 125 MHz).....	61
Figura 48 Representação dos espectros IV do ligante F e do complexo 4	61
Figura 49 Representação dos espectros Raman do ligante F e do complexo 4	62
Figura 50 Percentual de inibição enzimática após exposição da enzima TrxR aos compostos testados.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Distâncias de ligação para o ligante C Oxa	40
Tabela 2 Ângulos de ligação para o ligante C Oxa	41
Tabela 3 Distâncias de ligação para o ligante F Tia	45
Tabela 4 Ângulos de ligação para o ligante F Tia	45
Tabela 5 Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante C e Complexo 1	48
Tabela 6 Distâncias de ligação para o Complexo 1	50
Tabela 7 Ângulos de ligação para o Complexo 1	51
Tabela 8 Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante C e Complexo 2	55
Tabela 9 Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante F e Complexo 3	58
Tabela 10 Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante F e Complexo 4	62
Tabela 11 CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% do Crescimento Celular ($\mu M \pm SD^*$).....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Artrite Reumatóide
B16F10	Células de Melanoma Murino
BHK21	Célula Normal de Rim de Hamster
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
CI ₅₀	Concentração Inibitória de 50% da Viabilidade Celular
CT26	Células de Carcinoma de Cólon de Murino
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTNB	Ácido Ditiobisnitrobenzóico
EDTA	Ácido Etileno diamino tetra-acético
EtOH	Etanol
FAD	Flavina Adenina Dinucleotídeo
FBS	Soro Fetal Bovino
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IS	Índice de Seletividade
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV	Infravermelho
MM	Massa Molar
MTT	Sal de tetrazolium(3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina)
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
P.A.	Para Análise
P.F.	Ponto de Fusão
pH	Potencial Hidrogeniônico
PEt ₃	Trietilfosfina
PPh ₃	Trifenilfosfina
ppm	Parte por Milhão
Prx	Peroxirredoxina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear

RNA	Ácido Ribonucléico
ROS	Espécies Oxigênio Reativas
RPMI-1640	Meio de cultura desenvolvido no Roswell Park Memorial Institute
t.a.	Temperatura ambiente
TG	Termogravimetria
TNB	5-tionitrobenzol
Trx	Tiorredoxina
TrxR	Tiorredoxina Redutase
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
WHO	World Health Organization
4T1	Células de Adenocarcinoma Metastásico de Mama de Camundongo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Câncer e quimioterapia	13
1.2	Compostos de coordenação na terapia do câncer	15
1.2.1	Escolha do metal	16
1.2.2	Escolha dos ligantes	17
1.3	A <i>tiorredoxina redutase</i> como alvo de drogas antitumorais	20
2	OBJETIVOS	24
3	PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1	Métodos instrumentais	25
3.1.1	Análise elementar de C, H, N.	25
3.1.2	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	25
3.1.3	Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)	25
3.1.4	Espectroscopia vibracional de espalhamento Raman	26
3.1.5	Difração de raios X por monocristal	26
3.1.6	Ponto de fusão	26
3.1.7	Análise térmica	26
3.1.8	Espectrometria de Massas	27
3.1.9	Espectroscopia eletrônica na região de UV/Vis.	27
3.2	Síntese dos ligantes	27
3.2.1	Síntese do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C (Oxa)	27
3.2.2	Síntese do ligante 3(metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona F (Tia)	29
3.3	Sínteses dos complexos	30
3.3.1	Síntese do precursor AuCl(PPh ₃)	30
3.3.2	Síntese dos complexos derivados do oxadiazol	31
3.3.3	Síntese dos complexos derivados da tiazolidina	32
3.4	Investigação do potencial de inibição da enzima <i>tiorredoxina redutase</i>	34
3.5	Investigação da atividade biológica através de estudos citotóxicos e determinação do CI₅₀	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
4.1	Síntese e caracterização dos ligantes	36
4.1.1	Síntese e caracterização do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C	36
4.1.2	Síntese e caracterização do ligante (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona F	41
4.2	Síntese e caracterização dos complexos	45
4.2.1	Síntese e caracterização dos complexos 1 e 2 derivados do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona	46
4.2.2	Síntese e caracterização dos complexos 3 e 4 derivados do ligante (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona	55

4.3	Investigação do potencial de inibição da enzima <i>tioredoxina redutase</i>	63
4.4	Teste de citotoxicidade	64
5	CONCLUSÕES	66
	REFERÊNCIAS	67
	APÊNDICE A – PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS	71
	APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN de ^1H e ^{13}C DOS COMPOSTOS	72
	APÊNDICE C – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DOS COMPOSTOS	88
	APÊNDICE D – ESPECTROS RAMAN DOS COMPOSTOS	93

1 INTRODUÇÃO

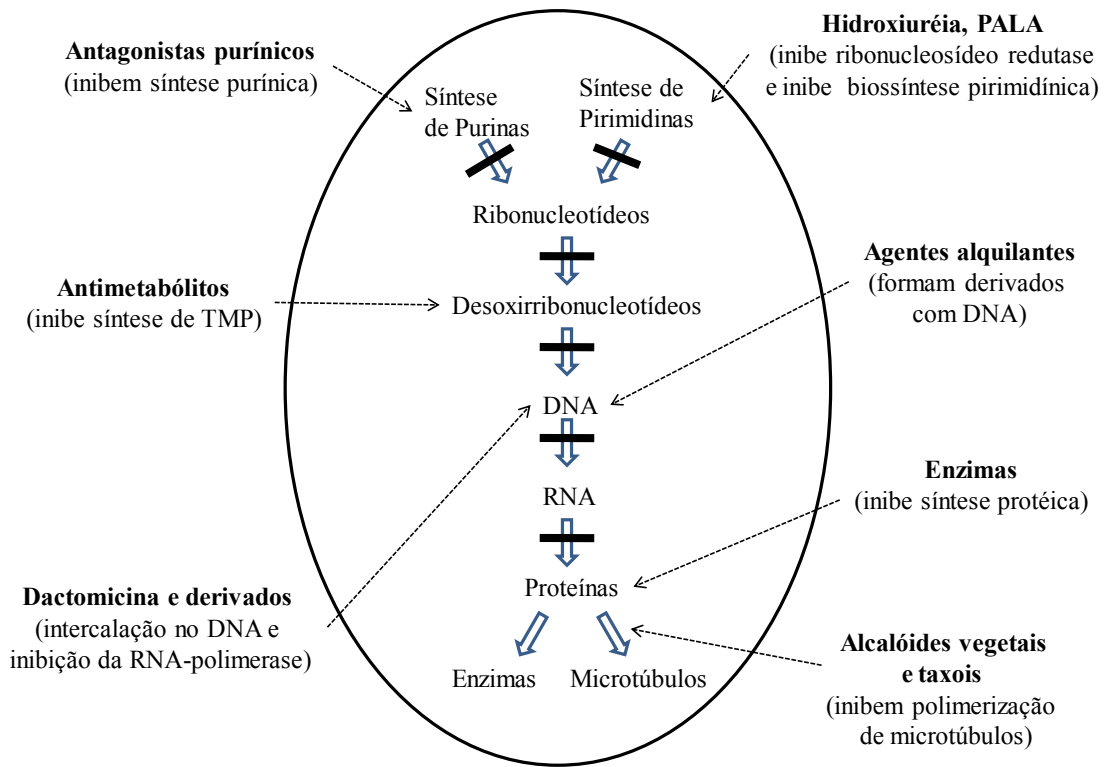
1.1 Câncer e quimioterapia

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de cem doenças que se caracterizam pela multiplicação e propagação descontroladas de formas anormais das próprias células corporais. Seu surgimento está associado a fatores genéticos (como a conversão de proto-oncogenes em oncogenes e a inativação dos genes de supressão tumoral) e epigenéticos (exposição à carcinógenos, ação hormonal, etc.). Dados da Organização Mundial de Saúde (WHO – Cancer mortality and morbidity, 2014) afirmam que o câncer é uma das principais causas de morte no mundo e foi responsável por 8,2 milhões de mortes no ano de 2012. Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o Brasil, no ano de 2014, seriam aproximadamente 576.000 novos casos da doença (INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2014, 2015).

O desenvolvimento da maioria dos cânceres requer múltiplas etapas que ocorrem ao longo de muitos anos. Assim, alguns tipos de câncer podem ser evitados pela eliminação da exposição aos fatores determinantes. Se o potencial de malignidade for detectado antes das células tornarem-se malignas, ou numa fase inicial da doença, tem-se uma condição mais favorável para seu tratamento e, conseqüentemente, para sua cura. Existem três tipos de terapias estabelecidas para o câncer: cirurgia, radioterapia e quimioterapia. O papel de cada uma delas irá depender do tipo de tumor e de seu estágio de desenvolvimento. Tumores mais localizados e sólidos geralmente são tratados com cirurgia e/ou radioterapia, já para os casos nos quais há necessidade de uma abordagem mais sistêmica, recorre-se a quimioterapia cujo objetivo é destruir células cancerosas, preservando as normais.

Os agentes quimioterápicos agem interferindo na mitose celular, danificando o DNA, o que desencadeia o processo de apoptose. Entretanto, devido à crescente variedade e número de compostos antitumorais desenvolvidos até o momento, tornou-se necessário o seu agrupamento em classes de acordo com o ponto de interferência nas etapas de síntese do DNA, transcrição e transdução (**Figura 1**). Essa classificação apresenta algumas falhas como o fato de não compreender todos os agentes antineoplásicos conhecidos, deixando de fora os agentes hormonais (ALMEIDA, LEITÃO e MONTANARI, 2005) e também os complexos com outros metais como o ouro, por exemplo, cuja ação está relacionada a outro alvo celular.

Figura 1 – Classificação dos agentes antineoplásicos



Fonte: Adaptado de ALMEIDA, LEITÃO e MONTANARI, 2005.

Atualmente, um dos maiores desafios no tratamento do câncer decorre do fato de que as células tumorais são muito similares às saudáveis. E a grande maioria dos quimioterápicos não consegue diferenciá-las, o que resulta em uma série de efeitos colaterais, além de limitar a quantidade de fármaco empregado no tratamento (SINHA *et al.*, 2006). Outro fator importante que limita o uso dos medicamentos antineoplásicos é a resistência apresentada pelas células tumorais que são capazes de modificar seus mecanismos de efluxo e reparo, por exemplo, tornando-se resistentes (GOTTESMAN, 2002). Dentre as formas de resistência, vale ressaltar: a diminuição dos níveis de fármaco intracelular, o aumento da inativação do fármaco, quantidade alterada da enzima ou receptor alvo, diminuição da afinidade fármaco-alvo, dentre outros.

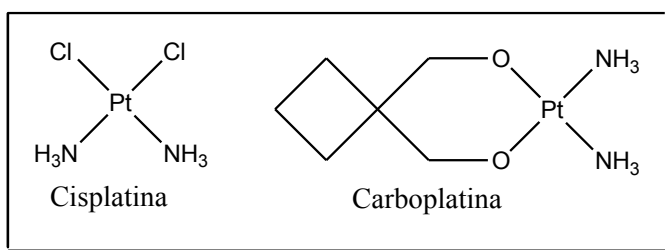
Diversos grupos de pesquisa vêm buscando formas de contornar os obstáculos encontrados no tratamento do câncer através do desenvolvimento de drogas mais ativas contra a doença e menos tóxicas para o paciente, além da procura por novos alvos terapêuticos (KELLAND, 2007). Esse é um processo complicado, pois as características de cada célula

tornam cada tipo de tumor único, sendo improvável encontrar um tratamento que seja adequado a todas as neoplasias (FLOREA e BUSSELBERG, 2011).

1.2 Compostos de coordenação na terapia do câncer

Atualmente a quimioterapia do câncer utiliza-se tanto de compostos orgânicos quanto de compostos inorgânicos dos quais se destacam a cisplatina [*cis*-diamindicloroplatina(II)] e a carboplatina [*cis*-diamin(ciclobutano-1,1-dicarboxilato-*O,O'*)platina(II)] (**Figura 2**). A multiplicidade de características inerentes aos centros metálicos (como seu estado de oxidação e número de coordenação) e aos próprios ligantes (como polaridade e reatividade), permitem projetar e sintetizar compostos com variações da carga, da geometria e das propriedades cinéticas e termodinâmicas (RONCONI e SADLER, 2007; FREZZA *et al.*, 2010).

Figura 2 – Estrutura da cisplatina e carboplatina



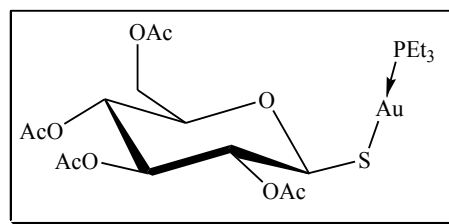
Fonte: A própria autora do trabalho.

Até final dos anos sessenta, o uso de complexos metálicos era muito limitado, somente após a demonstração da atividade anticancerígena de complexos contendo platina por Rosenberg e colaboradores que esse cenário se modificou. Graças ao sucesso na clínica da cisplatina e, posteriormente, da carboplatina é que houve redução da resistência inicial e renovação do interesse na química destes compostos e outros estreitamente relacionados (FONTES e ALMEIDA, 1997). Desde então, a procura por novos alvos e novas oportunidades de intervenção da química de coordenação na química medicinal não parou de crescer. Substâncias contendo outros metais como o ouro têm demonstrado um grande potencial no tratamento de diversas doenças (NAVARRO, 2009), inclusive do câncer (MCKEAGE, MAHARAJ e BERNERS-PRICE, 2002; PILLARSETTY *et al.*, 2003; BINDOLI *et al.*, 2009).

1.2.1 Escolha do metal

O ouro tem sido usado na medicina há séculos. Registros indicam que na China, sua utilização ocorreu desde 2500 a.C. (SUTTON, 1986). Em meados do século XX, compostos com ouro foram usados no tratamento da tuberculose, porém sua eficácia foi questionada e sua utilização abandonada. Nesta mesma época, notou-se que seu uso retardava a progressão da artrite reumatóide (AR), este fato, desencadeou o desenvolvimento dos atuais tratamentos a base de ouro. Outra evolução ocorreu em 1980 com o desenvolvimento da Auranofina [2,3,4,6-tetra-o-acetil-1-tio- β -D-glicopiranosato-trietilfosfinaouro(I)] (**Figura 3**), uma opção de tratamento oral para a AR, já que os outros compostos de ouro, até então, eram exclusivamente injetáveis. Entretanto, constatou-se que o tratamento a base de tiomalato e aurotioglicose em injeções intramusculares era mais eficiente. Ao mesmo tempo, foi observado que a Auranofina inibia várias vias inflamatórias distintas, podendo se tornar uma droga eficaz para o tratamento do câncer (MADEIRA *et al.*, 2012). Esta ação sobre ambas as doenças reside no fato de que a artrite reumatóide apresenta fisiopatologia celular relacionada a um mau funcionamento das vias metabólicas, o que também é um fator relevante para o desenvolvimento do câncer (RUBBIANI *et al.*, 2013).

Figura 3– Auranofina



Fonte: A própria autora do trabalho.

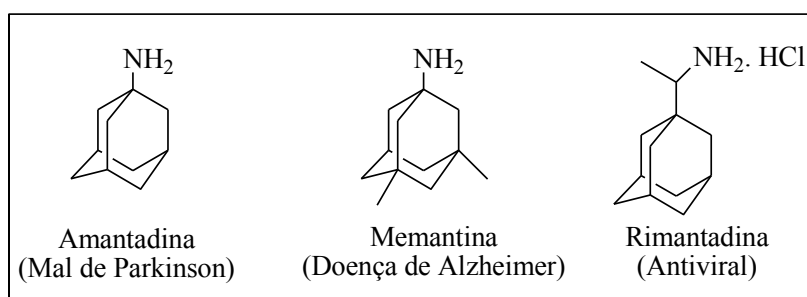
A resistência celular intrínseca ou desenvolvida ao longo do tratamento por alguns tipos de tumores a drogas como a cisplatina, fez com que o interesse por complexos com outros metais crescesse muito nos últimos anos. Devido a similaridade estrutural de complexos de ouro(III) e de platina(II) acreditava-se que o mecanismo de citotoxicidade para os compostos de ouro(III) seria a ligação com o DNA. Entretanto a ligação dos complexos de ouro(III) com o DNA se mostrou mais fraca do que o observado para a cisplatina. Estudos subsequentes indicaram que a ação do ouro seria sobre alvos proteicos como a inibição da

enzima *tiorredoxina redutase* ou da proteína “*zinc finger*” PARP-1, entre outros (SANGHVI *et al.*, 2013). Um exemplo é a indução de apoptose celular via inibição seletiva da enzima *tiorredoxina redutase* mitocondrial promovida pela Auranofina (HOWELL, 2009). Desde então, uma ampla variedade de compostos análogos a Auranofina e outros compostos de ouro(I) contendo ligantes sulfurados têm sido desenvolvidos e mostraram potente atividade citotóxica (ORTEGO *et al.*, 2014).

1.2.2 Escolha dos ligantes

Outra forma de potencializar a ação farmacológica consiste na síntese de complexos contendo moléculas orgânicas que já apresentem alguma atividade biológica, possibilidade que estimula o desenvolvimento de novos compostos mais ativos contra o câncer e menos tóxicos para o paciente. Com tal objetivo, selecionamos um derivado do ácido adamantano-1-carboxílico (MANJUNATHA *et al.*, 2010) e um do adamantano-1-metanol (DELAUNAY, TOUPET e LECORRE, 1995) como ligantes para formarem o complexo com ouro(I). Compostos adamantóides exibem atividade biológica contra alguns agentes infecciosos como bactérias e vírus, contra câncer e Mal de Parkinson e também podem ser úteis no tratamento de doenças cardíacas, circulatórias, hipertensão, dentre outras. Alguns exemplos de medicamentos com o adamantano podem ser vistos na **Figura 4**. Estudos indicam ação de derivados do adamantano sobre alvos mitocondriais o que possibilita uma ação sinérgica com o ouro(I) (MARCHETTI *et al.*, 1999; SUN *et al.*, 2000; HORVAT *et al.*, 2012).

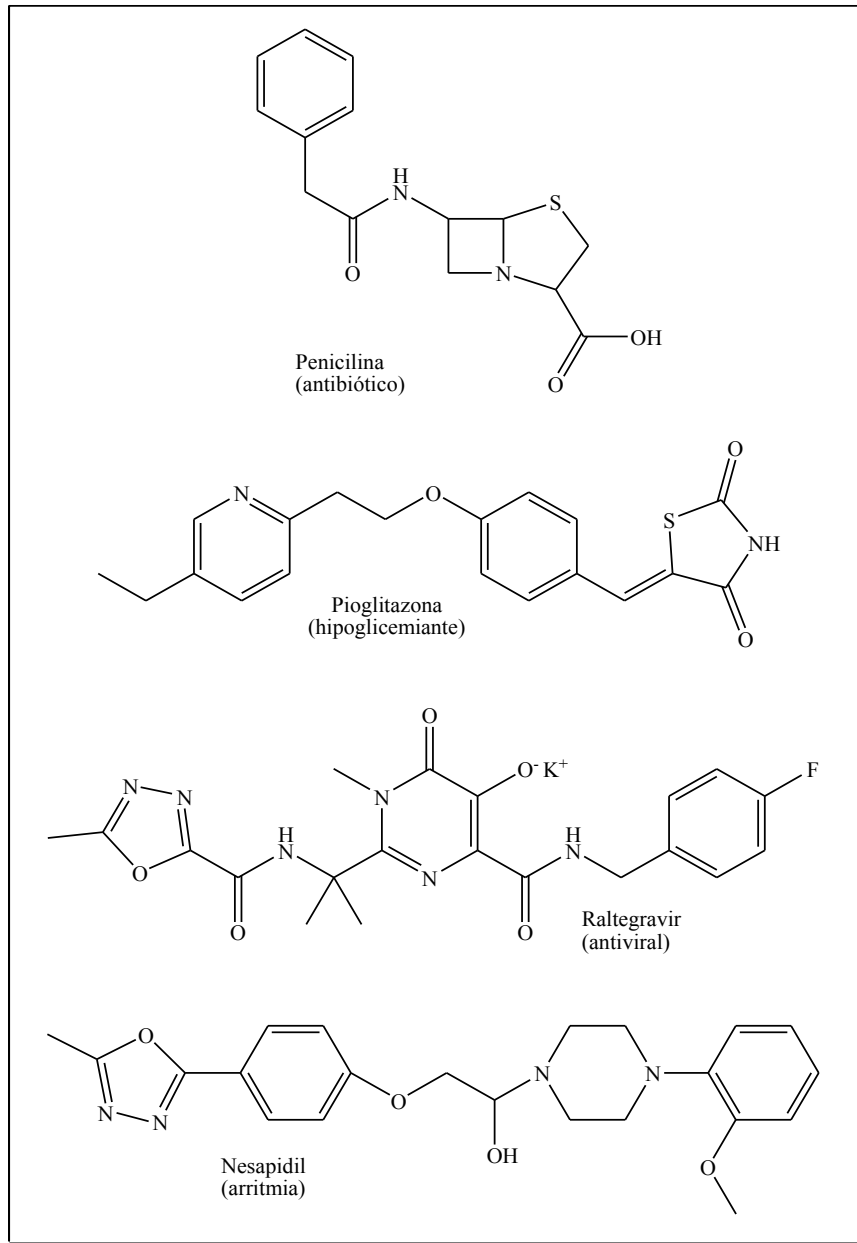
Figura 4 – Medicamentos adamantóides



Fonte: A própria autora do trabalho.

Além do adamantano, foi agregado ao ligante de interesse um núcleo heterocíclico com a finalidade de incluir um grupo tiol ativo aumentando a afinidade pelo íon metálico e gerando um possível sinergismo. Compostos heterocíclicos contendo os núcleos 1,3-tiazolidina ou 1,3,4-oxadiazol têm apresentado uma grande diversidade de atividade biológica, dentre elas podemos citar a atividade antimicrobiana, antifúngica e anti-helmíntica, estando estes núcleos presentes em diversos produtos naturais e fármacos (MISRA, DUBEY e BAHHEL, 1991; DELAUNAY, TOUPET e LECORRE, 1995; BEKTAS *et al.*, 2013). Alguns exemplos de medicamentos com estes anéis heterocíclicos estão representados na **Figura 5**.

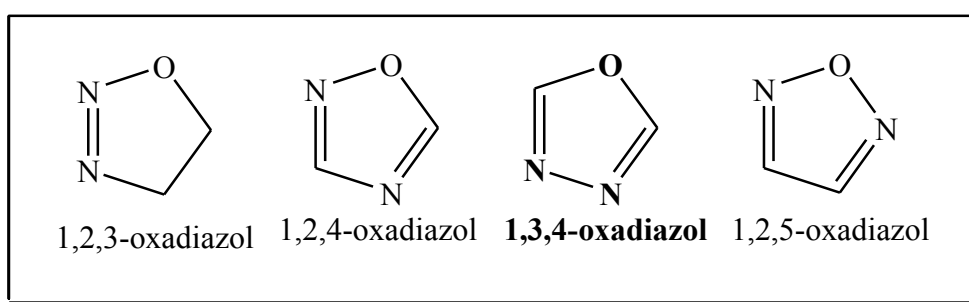
Figura 5 – Medicamentos contendo o anel heterocíclico tiazolidina ou oxadiazol



Fonte: A própria autora do trabalho.

Os oxadiazóis são compostos heterocíclicos aromáticos constituídos por anéis de cinco membros, sendo dois átomos de nitrogênio, um oxigênio e dois carbonos que podem existir em diferentes formas isoméricas de acordo com a posição do nitrogênio (**Figura 6**). Dados da literatura revelam que, em particular, os derivados do 1,3,4-oxadiazol exibem ampla gama de atividade biológica, dentre as quais podemos destacar a presença deste heterociclo em compostos com ação antiinflamatória, antitumoral, antibacteriana e anti-HIV (SOMANI e SHIRODKAR, 2009).

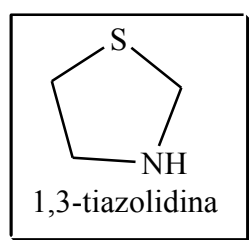
Figura 6 – Isômeros do oxadiazol



Fonte: A própria autora do trabalho.

As tiazolidinas são compostos orgânicos, heterocíclicos com anel saturado de cinco membros com um grupo tio-éter e um grupo amina nas posições 1 e 3, respectivamente. (**Figura 7**). O anel tiazolidínico está presente em medicamentos como na penicilina (antibiótico) e na pioglitazona (hipoglicemiante).

Figura 7 – Estrutura da 1,3-tiazolidina

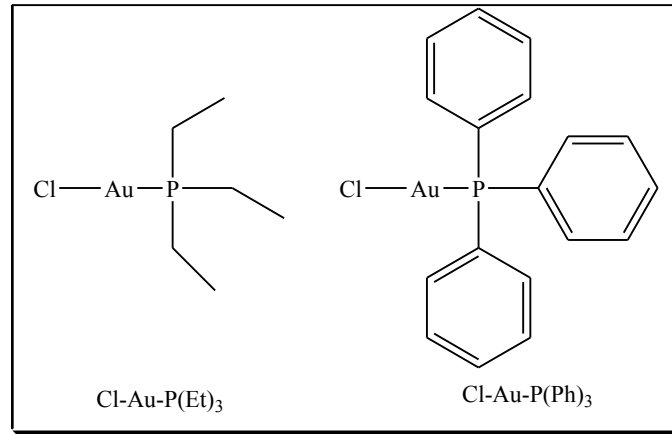


Fonte: A própria autora do trabalho.

Para a formação dos complexos utilizamos, além dos ligantes já mencionados, os complexos de ouro(I) com fosfinas alquiladas ou aromáticas como precursores (**Figura 8**). Estes compostos apresentam atividades farmacológicas como a inibição da enzima *tiorredoxina reductase* ou o desencadeamento de efeitos antimitocondriais. A inserção das

fosfinas torna o complexo mais lipofílico podendo ter uma significativa influência sobre as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas, potencializando a ação do composto (SCHEFFLER, YOU e OTT, 2010).

Figura 8 – Estrutura dos complexos cloridotrietilfosfinouro(I) e cloridotrifenílfosfinouro(I)



Fonte: A própria autora do trabalho.

1.3 A *tiorredoxina redutase* como alvo de drogas antitumorais

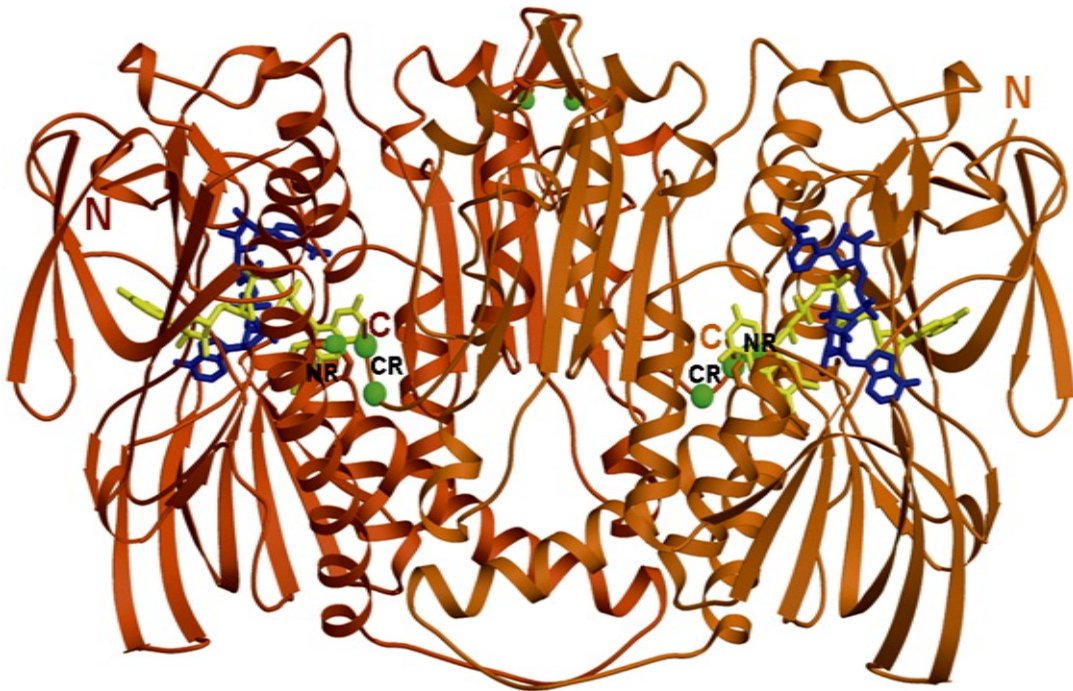
Os complexos metálicos possuem, em geral, um centro metálico carregado positivamente, o que permite que eles se liguem a biomoléculas carregadas negativamente, o que faz com que proteínas e ácidos nucleicos sejam excelentes alvos (TUREL e KLJUN, 2011). O DNA (ácido desoxirribonucleico) é apontado como o principal local de ação dos compostos antineoplásicos como a cisplatina e a carboplatina. Entretanto, muitos tumores são resistentes a este tratamento, devido à alta capacidade de reparo do DNA, o que gera um crescente interesse no desenvolvimento de drogas com diferentes mecanismos de ação.

Dentro deste contexto, uma opção é a busca por alvos intracelulares alternativos. Um grande grupo de complexos de variados metais (Ir, Rh, Ru, Sn, Cu, Au, Ga) vêm sendo estudado quanto ao seu mecanismo de ação e a maioria deles parece apresentar alvos celulares diferentes da cisplatina (FRICKER, 2007). Um bom exemplo seria a inibição da *tiorredoxina redutase* por complexos de ouro.

A *tiorredoxina redutase* (TrxR) está presente em praticamente todos os seres vivos. Em bactérias, fungos e plantas ela é uma flavoproteína dimérica com peso aproximado de 70

kDa com sítio ativo dissulfeto/ditiol. Já a TrxR de grandes eucariontes apresenta peso de aproximadamente 130 kDa possuindo no carbono terminal a sequência Gly-Cys-Sec-Gly onde Cys refere-se a cisteína e Sec à selenocisteína que formam o sítio redox ativo selenil-sulfeto/selenol-tiol (ARNER e HOLMGREN, 2000). A **Figura 9** representa a estrutura da TrxR evidenciando seus dois monômeros A (laranja claro) e A' (laranja escuro), seus sítios de ligação com o NADP⁺ (azul), FAD (amarelo), N-terminal, C-terminal além dos centros redox terminais NR e CR. Após a ligação do NADPH os elétrons são transportados do NADPH via FAD para o sítio ativo dissulfeto presente no N-terminal e de lá para o sítio redox no C-terminal da outra subunidade onde finalmente reduz o substrato (FRITZ-WOLF, URIG e BECKER, 2007).

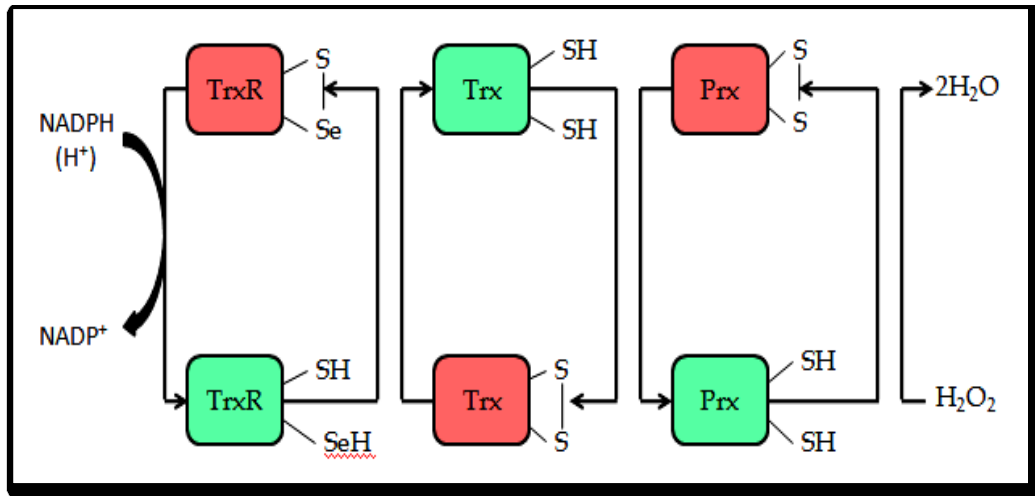
Figura 9 – Representação da TrxR humana



Fonte: Adaptado de FRITZ-WOLF, URIG e BECKER, 2007.

Em mamíferos a TrxR é considerada uma selenoproteína que atua como enzima antioxidante presente nas células e participa do Sistema Tiorredoxina que é composto pela tiorredoxina (Trx), *tiorredoxina redutase* (TrxR) e peroxirredoxina (Prx) (**Figura 10**).

Figura 10 – Sistema Tiorredoxina



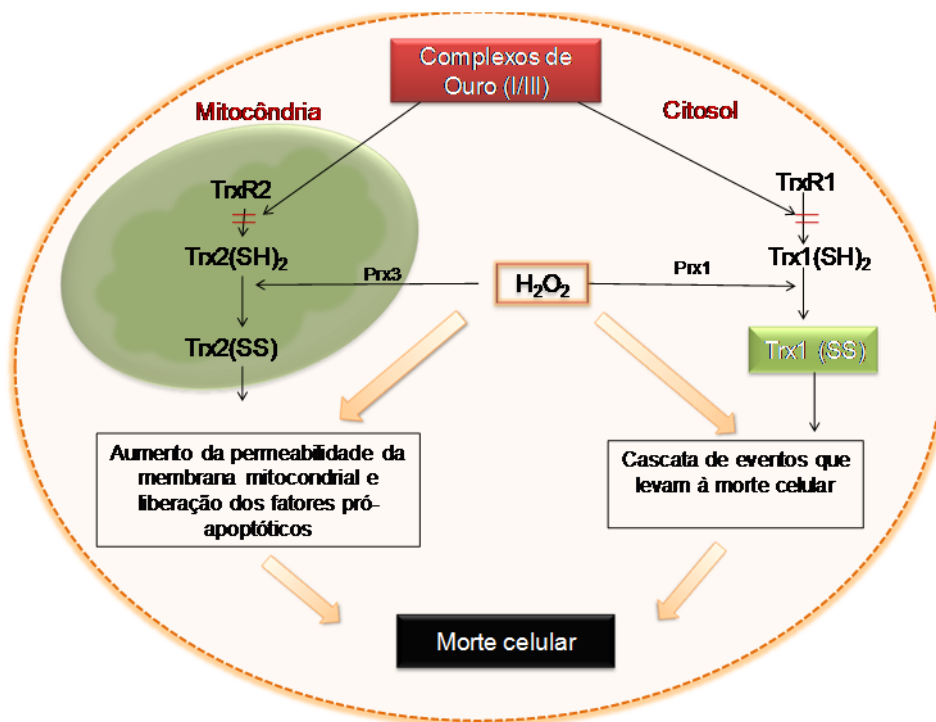
Fonte: Adaptado de BINDOLI *et al.*, 2009.

Na **Figura 10** vemos a representação esquemática das reações redox que ocorrem dentro da célula. Os quadrados verdes indicam que as proteínas estão no estado reduzido (-SH) e os vermelhos no estado oxidado (S-S). A peroxirredoxina (Prx) doa seus hidrogênios tióis (Prx-SH) reduzindo o peróxido de hidrogênio a água, passando para o estado oxidado no qual apresenta ligação dissulfeto (Prx-S-S). Em seguida a Prx (Prx-S-S) é reduzida pela proteína tiorredoxina (Trx), passando novamente a apresentar os hidrogênios tióis (Prx-SH). A Trx oxidada (Trx-S-S) apresenta agora ligação dissulfeto que por sua vez é reduzida pela *tiorredoxina redutase* (TrxR) voltando ao seu estado Trx-SH. A enzima TrxR, que apresenta um selênio no lugar de um enxofre, em seu estado oxidado (TrxR-Se-S) capta os hidrogênios do NADPH voltando ao seu estado reduzido (TrxR-SeH/SH).

A TrxR é superexpressa em muitas células de câncer e tem sido identificada como um potencial alvo de drogas antitumorais (BINDOLI *et al.*, 2009). Ela apresenta duas isoformas, uma citoplasmática, chamada de TrxR1 e outra mitocondrial, chamada TrxR2. Ambas são selenoproteínas antioxidantes e desempenham um importante papel no balanço redox intracelular (BARNARD e BERNERS-PRICE, 2007). Ajudam a remover as espécies de oxigênio reativas (ROS), exibem ação protetora contra vários tipos de estresse celular, incluindo a inibição do crescimento e a morte celular induzida por peróxido de hidrogênio, fator necrosante tumoral e agentes quimioterápicos. Também fazem parte de várias vias de sinalização celular e atuam como doadora de elétrons para enzimas como a ribonucleotídeo redutase, metionina sulfóxido redutase entre outras (HICKEY *et al.*, 2008). A inibição das TrxR 1 e 2 pode afetar o balanço redox intracelular, alterando a permeabilidade da membrana

mitocondrial e, conseqüentemente, liberando os fatores de segregação proapoptóticos, resultando na morte celular (LIU *et al.*, 2013). A **Figura 11** é uma representação esquemática do modo de ação dos complexos de ouro(I) e (III) sobre a TrxR.

Figura 11 – Mecanismo de ação dos complexos de ouro sobre a TrxR.



Fonte: Adaptado de BINDOLI *et al.*, 2009.

Por fim, compreender como os complexos de ouro agem sobre a TrxR e, baseado nisso, desenvolver compostos mais ativos contra o câncer e menos tóxicos para o paciente (além da possibilidade de contornar a resistência adquirida pelas células tumorais aos compostos usados hoje em dia) despertou grande interesse, sendo um viés de fundamental importância dentro da pesquisa da química de compostos de coordenação.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

Sintetizar e caracterizar novos complexos de ouro(I) e avaliar a atividade citotóxica e o potencial de inibição da TrxR.

Objetivos específicos:

- ✓ Sintetizar os ligantes sulfurados do adamantano e os respectivos complexos de ouro com fosfinas.
- ✓ Caracterizar os ligantes e os complexos pelos métodos usuais de análise.
- ✓ Avaliar a atividade dos compostos sintetizados quanto ao potencial de inibição da enzima *tiorredoxina reductase* (TrxR).
- ✓ Avaliar a atividade biológica dos compostos sintetizados através dos estudos de citotoxicidade em células tumorais e não tumorais na determinação da Concentração Inibitória de 50% do crescimento (CI₅₀) e viabilidade celular.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Métodos instrumentais

Todas as análises, exceto análise elementar de C, H, N e difração de raios X, foram realizadas na Universidade Federal de Juiz de Fora.

3.1.1 Análise elementar de C, H, N.

As análises elementares de C, H e N dos compostos foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo – USP.

3.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram obtidos em CDCl_3 a 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, em um espectrômetro BRUKER AVANCE DRX/300 e/ou a 500 MHz e 125 MHz em um espectrômetro Avancer III HD BRUKER 500 MHz. O RMN ^{31}P foi obtido no Avancer III HD BRUKER 500 MHz, a 202.35 MHz utilizando acetona como solvente. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm).

3.1.3 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BRUKER ALPHA FT-IR Spectrometer, na região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , resolução espectral de 4 cm^{-1} , com uma média e 64 varreduras, utilizando como suporte pastilhas de KBr.

3.1.4 Espectroscopia vibracional de espalhamento Raman

Os espectros Raman foram obtidos usando um espectrômetro BRUKER RFS 100 FT-Raman instrumento equipado com detector de germânio refrigerado com nitrogênio líquido, com excitação de 1064 nm a partir de um laser Nd: YAG, no intervalo entre 4000 e 50 cm^{-1} e resolução espectral de 4 cm^{-1} , com uma média de 500 scans, com potência entre 10 e 20 mW em fase sólida.

3.1.5 Difração de raios X por monocristal

Dados de difração foram coletados por meio de um Oxford GEMINI, um difratômetro Ultra com Mo K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e temperatura de 298 K. Coleta de dados, redução e refinamento de célula foram realizados por CrysAlis RED, Oxford difração Ltda. – Versão 1.171.32.38 software. As estruturas foram resolvidas e refinadas usando SHELXL-97. O experimento foi feito em colaboração com a Prof.^a Dr.^a Charlane Cimini Corrêa no LabCri/UFMG.

3.1.6 Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital de ponto de fusão modelo MQAPF/Microquímica e confirmados através da curva de análise térmica diferencial (DTA) obtida no equipamento DTG-60 Simultaneous DTA-TG apparatus SHIMADZU, em atmosfera de N_2 , em um fluxo de 50 mLmin^{-1} , cadinho de alumina, razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

3.1.7 Análise térmica

As curvas de análise termogravimétrica (TG) foram obtidas a partir do equipamento DTG-60 Simultaneous DTA-TG apparatus SHIMADZU, em atmosfera de N₂, em um fluxo de 50 mLmin⁻¹, cadinho de alumina, razão de aquecimento de 10°C min⁻¹.

3.1.8 Espectrometria de Massas

O espectro de massas foi obtido no equipamento AXIMA MALDI-TOF-TOF Shimadzu Biotech utilizando laser de nitrogênio ($\lambda_{\text{max}} = 337 \text{ nm}$) para excitação em uma matrix α cyano com acumulação de 200 scans e 20 repetições.

3.1.9 Espectroscopia eletrônica na região de UV/Vis.

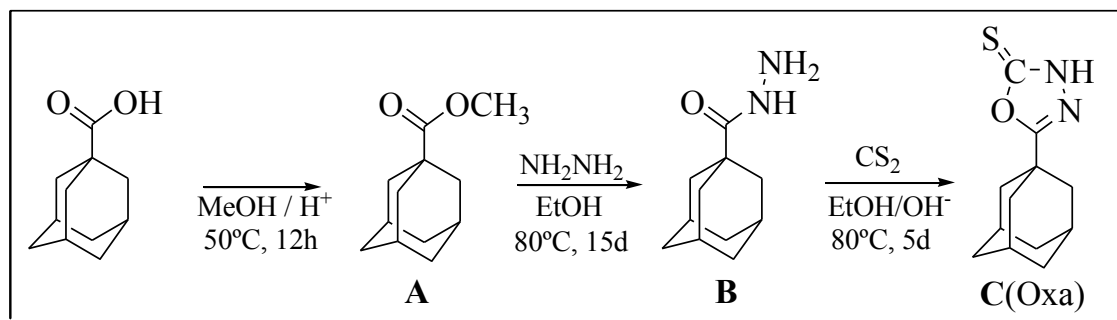
Os espectros eletrônicos de absorção na região UV/Vis foram obtidos no UV-1800 SPECTROPHOTOMETER SHIMADZU utilizando cubeta de quartzo com capacidade para 1 mL.

3.2 Síntese dos ligantes

3.2.1 Síntese do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C(Oxa)

A síntese do ligante Oxa foi realizada em três etapas como apresentado na **Figura 12** (MANJUNATHA *et al.*, 2010).

Figura 12 – Esquema de síntese do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C (Oxa)



Fonte: A própria autora do trabalho.

A primeira reação consiste na esterificação do ácido adamantano-1-carboxílico (obtido da Sigma Aldrich) com metanol em meio ácido. A uma mistura de 30 mL de metanol e 0,2 mL ácido sulfúrico P.A. foi adicionado 1 g do ácido adamantano-1-carboxílico (5,55 mmol), formando uma solução incolor. A reação foi mantida em refluxo, agitação e aquecimento por 24h e acompanhada por cromatografia de camada delgada (CCD) (**Eluente:** acetato/hexano 2/8. **Revelador:** iodo e ácido sulfúrico) até o consumo total do reagente minoritário. O produto formado foi separado através de uma extração líquido/líquido utilizando acetato de etila e água. À fase orgânica foi adicionado sulfato de sódio para retirada de qualquer resíduo de água e em seguida foi feita uma filtração simples. O solvente evaporou lentamente e o produto **A** foi obtido na forma cristalina, com rendimento de 90%.

Em seguida, foi realizada a reação do éster **A** com hidrazina para formação da hidrazida **B**. Para tanto foi adicionado lentamente e com auxílio de um funil de adição uma solução de 0,8g do éster **A** (4,12 mmol) em 5mL de etanol sobre uma solução contendo 0,9 mL de hidrazina (12,3 mmol) em 5 mL de etanol. A reação foi mantida a 80°C por 15 dias sob agitação, acompanhada por CCD (**Eluente:** acetato/hexano 1/9. **Revelador:** iodo), até conversão total do composto **A** no composto **B**. Foi feita uma extração com diclorometano/água e recristalização com hexano (60° C) e o produto obtido **B** teve rendimento de 60%.

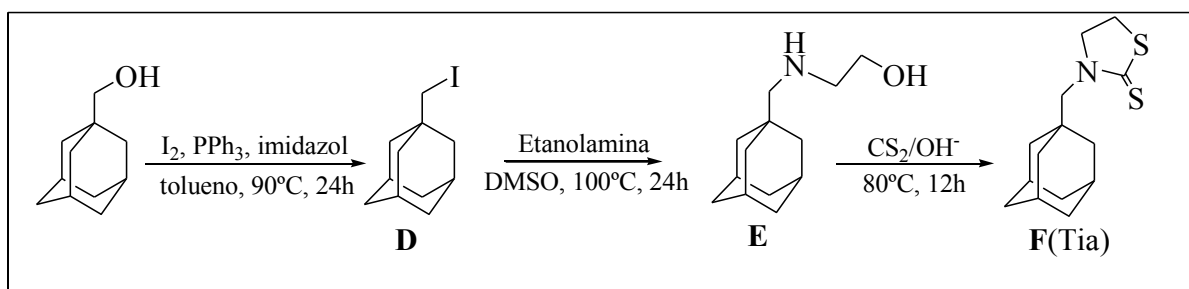
A última etapa para obtenção do ligante almejado foi a reação de ciclização da hidrazida **B** com dissulfeto de carbono em meio básico para formação do ligante oxadiazólico **C**. A uma mistura de 20 mL de etanol e 0,112 g KOH (2 mmol) foi adicionado 1 mmol da hidrazida **B** (0,194 g) e em seguida 0,9 mL (15 mmol) do dissulfeto de carbono. A reação foi levada a agitação e aquecimento por 5 dias e acompanhada por CCD (**Eluente:** diclorometano/metanol 9,5/0,5. **Revelador:** iodo) até o consumo total de **B**. O solvente

presente no sobrenadante foi removido por evaporação com posterior adição de água e ácido clorídrico até $\text{pH} \approx 6,0$. A solução foi levada a geladeira (5°C) e o produto sólido obtido foi recristalizado em metanol obtendo pequenos cristais beges. O produto obtido **C** teve rendimento de 80%.

3.2.2 Síntese do ligante 3(metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona **F** (Tia)

A síntese do ligante Tia foi realizada em três etapas como apresentado na **Figura 13** (DELAUNAY, TOUPET e LECORRE, 1995).

Figura 13 – Esquema de síntese do ligante (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona **F** (Tia)



Fonte: A própria autora do trabalho.

A primeira etapa da reação consiste de substituição da hidroxila por um iodeto, para tanto, foi adicionado 3g do adamantano-1-metanol (18 mmol), 7,1g de trifetilfosfina (27 mmol), 1,87g de imidazol (27 mmol) e 6,87g de iodo (27 mmol) em 50 mL de tolueno. A reação foi levada a aquecimento (90°C) e refluxo por 24h e acompanhada por CCD (**Eluente**: Hexano/diclorometano 9,5/0,5. **Revelador**: iodo) até o consumo total do reagente minoritário. O produto formado foi separado por extração com água e tolueno. O produto **D** obtido foi purificado por coluna cromatográfica em sílicagel 60 (0,063 – 0,200 mm / 70 – 230 mesh) utilizando como fase móvel hexano. O produto obtido **D** teve rendimento de 95%.

A etapa seguinte foi a substituição do iodo por um aminoálcool. Em aproximadamente 20 mL de DMSO foi adicionado 0,5g do iodeto de adamantila **D** (2 mmol) e 1,2 mL de etanolamina (20 mmol). A reação foi levada a aquecimento (100°C) e refluxo por 24h e acompanhada por CCD (**Eluente**: hexano/diclorometano 9,5/0,5. **Revelador**: iodo) até

conversão total do composto **D** no composto **E**. O produto **E** foi separado por extração com diclorometano/água. A purificação foi feita em coluna cromatográfica usando como eluente diclorometano e metanol em proporções variáveis. O produto **E** teve rendimento de 75%.

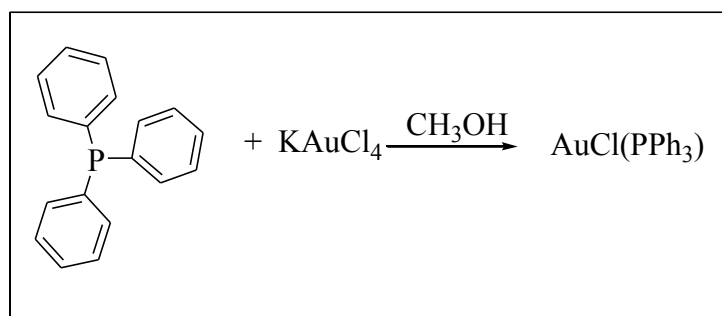
A última etapa para obtenção do ligante **F** almejado foi a reação de ciclização do aminoálcool **E** com dissulfeto de carbono em meio básico. Em 15 mL de uma solução de hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} foi adicionado 2 mmol do aminoálcool **E** (0,42 g). Em seguida foram acrescentados 0,7 mL de CS_2 (10 mmol) e a reação foi levada a aquecimento (100°C) por 12h e foi acompanhada por CCD (**Eluente**: diclorometano/metanol 9/1. **Revelador**: iodo) até o consumo total de **E**. Então foi adicionada água gelada para forçar a precipitação e a mistura foi levada à geladeira (5°C) por 6 dias. O produto **F** foi filtrado e recristalizado em etanol. O produto **F** foi obtido com rendimento: 97%.

3.3 Sínteses dos complexos

3.3.1 Síntese do precursor $\text{AuCl}(\text{PPh}_3)$

A síntese do cloridotrifenílfosfinouro(I) foi realizada conforme representado na **Figura 14**.

Figura 14 – Síntese do precursor $\text{AuCl}(\text{PPh}_3)$



Fonte: A própria autora do trabalho.

A uma solução de 1 mmol de trifenílfosfina (0,2622 g) em etanol (15 mL) foi adicionado lentamente 1 mmol do sal tetracloridoaurato(III) de potássio (0,377 g) previamente solubilizado em 15 mL de etanol (coloração amarela intensa). A reação foi

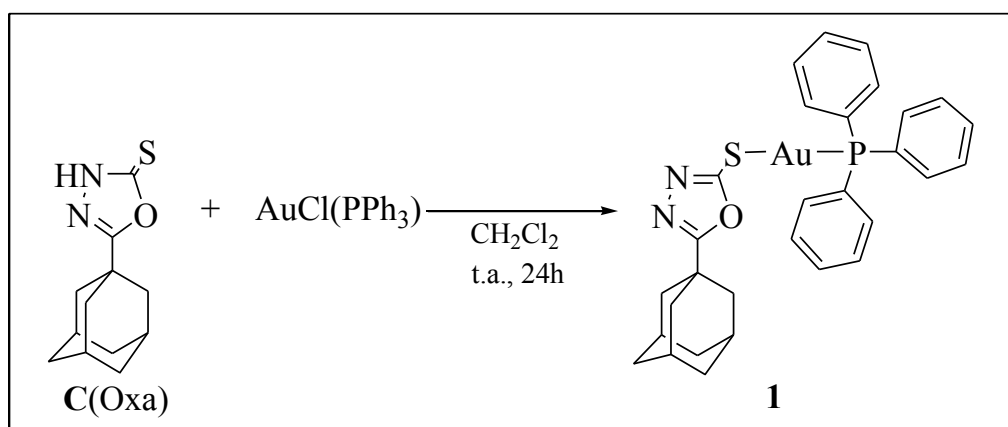
mantida sob agitação e temperatura ambiente por 2h e acompanhada por CCD (**Eluente:** acetato de etila/hexano 6/4. **Revelador:** iodo). Obteve-se o complexo de interesse na forma de um precipitado branco que foi filtrado e lavado com etanol.

3.3.2 Síntese dos complexos derivados do oxadiazol

- AuOPh **1**

A síntese do complexo **1** foi realizada a partir da reação de 0,4 mmol (0,0945 g) do ligante **C** (Oxa) com 0,4 mmol (0,198 g) do precursor AuCl(PPh₃), solubilizados previamente em diclorometano (**Figura 15**). A reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente e foi acompanhada por CCD (**Eluente:** diclorometano + 1 gota de metanol. **Revelador:** UV, iodo, aquecimento). A fim de neutralizar o pH, foi adicionado 0,2 mmol (0,0277 g) de carbonato de potássio mantendo-se sob agitação por 12 horas em pH neutro. Foi feita uma extração com diclorometano/água e a fase orgânica teve o solvente removido por rotaevaporador. O produto obtido (sólido beje claro) foi purificado por recristalização utilizando hexano (40° C) e algumas gotas de diclorometano e resfriado a 5°C. O produto **1** teve rendimento de 88% e parte foi novamente recristalizada em DMSO/Diclorometano a temperatura ambiente para obtenção de monocristais que foram posteriormente analisados por difração de raios X .

Figura 15 – Esquema de síntese do complexo **1**

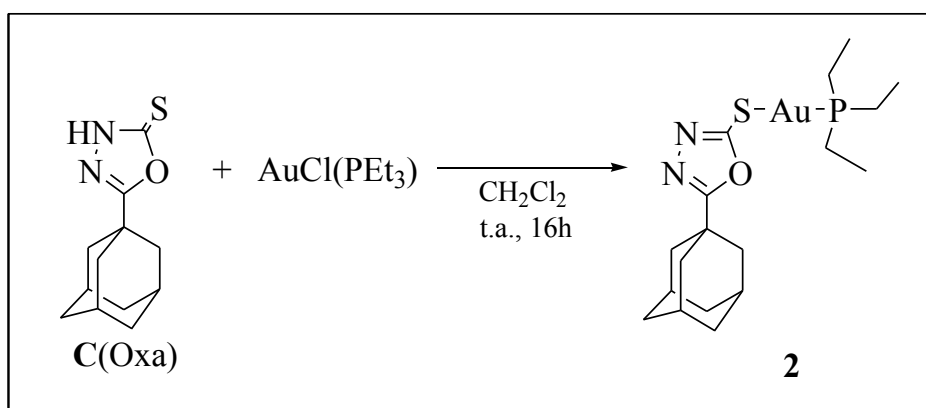


Fonte: A própria autora do trabalho.

- AuOEt **2**

A síntese do complexo **2** (**Figura 16**) foi feita como descrito para o complexo anterior, e as quantidades dos reagentes foram: 0,4 mmol (0,0945 g) do ligante Oxa e 0,4 mmol (0,140 g) do precursor AuCl(PEt₃) comercial. A fim de neutralizar o pH, foi adicionado 0,2 mmol (0,0277 g) de carbonato de potássio mantendo-se sob agitação por 12 horas em pH neutro. Foi feita uma extração com diclorometano/água e a fase orgânica teve o solvente removido por rotaevaporador. O produto **2** obtido apresentou rendimento de 91%

Figura 16 – Esquema de síntese do complexo **2**



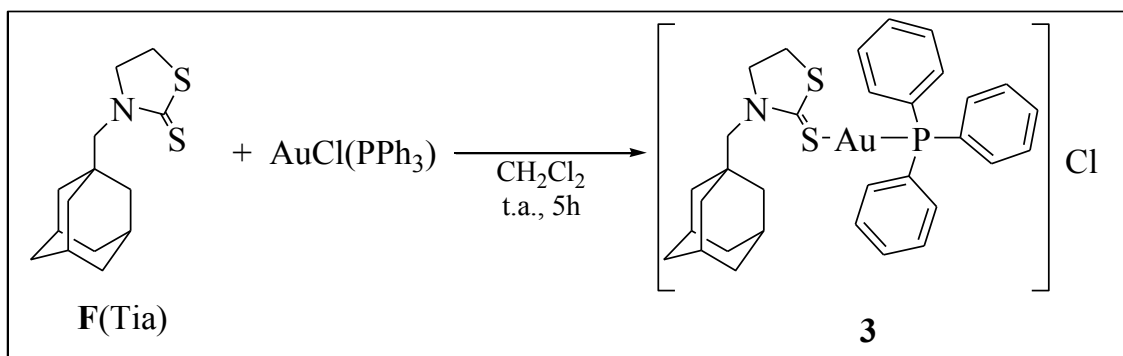
Fonte: A própria autora do trabalho.

3.3.3 Síntese dos complexos derivados da tiazolidina

- AuTPh **3**

O complexo **3** foi obtido pela reação de 0,4 mmol do ligante **F Tia** (0,107 g) com 0,4 mmol do precursor AuCl(PPh₃) (0,198 g) previamente solubilizados em diclorometano (**Figura 17**). A mistura foi mantida em agitação a temperatura ambiente e acompanhada por CCD (**Eluente**: diclorometano/hexano 6/4. **Revelador**: luz UV, iodo e aquecimento) por 5 horas. O produto **3** é um sólido amarelo claro e teve rendimento 82%.

Figura 17 – Esquema de síntese do complexo **3**

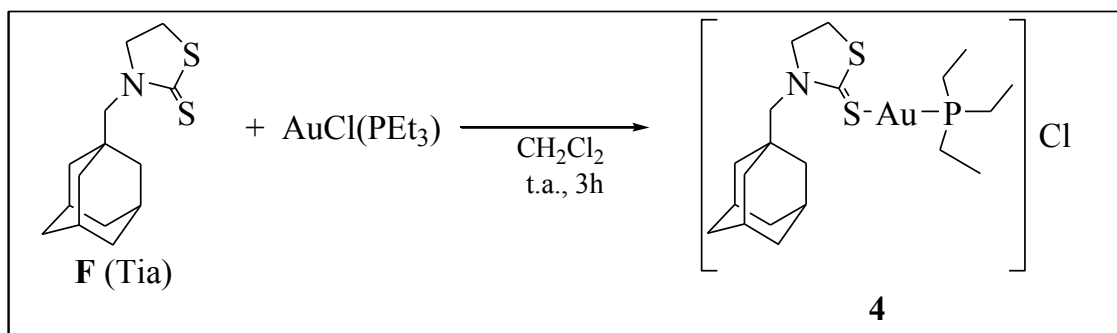


Fonte: A própria autora do trabalho.

- AuTEt **4**

O complexo **4** foi sintetizado conforme representado na **Figura 18** através da reação de 0,4 mmol do ligante **F Tia** (0,107 g) com 0,4 mmol do precursor $\text{AuCl(PEt}_3\text{)}$ (0,140 g) solubilizados em diclorometano e acompanhada por CCD (**Eluente**: diclorometano/hexano 6/4. **Revelador**: UV, iodo e aquecimento). A reação foi mantida em agitação por 3 horas e o produto **4** foi obtido na forma de um sólido amarelo claro. Rendimento: 90%.

Figura 18 – Esquema de síntese do complexo **4**



Fonte: A própria autora do trabalho.

3.4 Investigação do potencial de inibição da enzima *tiorredoxina redutase*

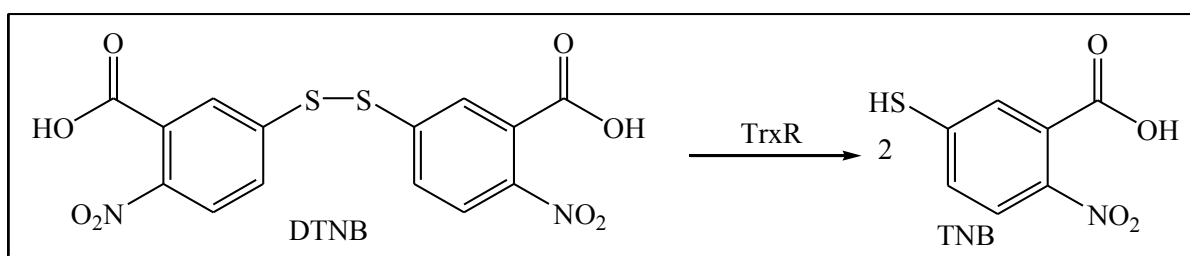
Preparou-se uma solução do composto a $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão $\text{K}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$ 1 mol L^{-1} (pH = 7,0). Em seguida, retirou-se uma alíquota de 20 μL desta solução, 15 μL de água e 5 μL da enzima e incubou-se a 37°C por uma hora. Como controle positivo utilizou-se 20 μL de tampão, 15 μL de água e 5 μL da enzima. O branco da enzima foi uma mistura de 20 μL de tampão e 20 μL de água. O branco da amostra consistiu em uma alíquota de 20 μL da solução da amostra e 20 μL de água (a fim de eliminar a leitura decorrente de qualquer interferente que não seja a atividade enzimática).

O experimento foi feito de acordo com as instruções do fornecedor (Sigma T9698) e para a realização do ensaio foi necessário preparar uma mistura reativa contendo o substrato, da qual cada 10 mL consistiu em: 200 μL de solução de EDTA pH 7,5 (500 mmol L^{-1}); 800 μL de ácido ditiobisnitrobenzólico (DTNB) em etanol (63 mmol L^{-1}), 50 μL de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) em água (48 mmol L^{-1}), 100 μL da solução de albumina bovina em água (20 mg mL^{-1}), 1 mL de tampão fosfato de potássio ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e 8,05 mL de água.

Após o tempo de incubação, adicionou-se 600 μL da mistura reativa no branco e no controle positivo e procedeu-se a leitura em um espectrofotômetro UV-Vis selecionando o comprimento de onda 412 nm, em cubeta de quartzo, registrando as absorvâncias a cada dois minutos por 10 minutos, e depois em 15, 20, 25 e 30 minutos (leitura final). O mesmo procedimento foi repetido para as amostras contendo os complexos (possíveis inibidores enzimáticos).

Após a adição da solução reativa, se não houver ocorrido inibição enzimática, forma-se o TNB (5-tionitrobenzol) que apresenta coloração amarela e cuja concentração pode ser medida em 412 nm (**Figura 19**).

Figura 19 – Conversão do DTNB a TNB na presença da enzima TrxR ativa.



Fonte: A própria autora do trabalho.

A atividade enzimática das amostras foi calculada em porcentagem, utilizando a absorvância do controle positivo como 100% de atividade. As medidas foram realizadas em triplicata.

3.5 Investigação da atividade biológica através de estudos citotóxicos e determinação do CI_{50} .

Para determinação da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (CI_{50}), foram utilizadas as linhagens B16-F10, melanoma murino; CT26, carcinoma de cólon murino; 4T1, adenocarcinoma metastático de mama de camundongo; BHK-21, célula normal de rim de hamster. As células foram distribuídas em meio de cultura RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10% v/v, em densidades que variaram conforme a linhagem celular entre $0,5 \times 10^3$ e 2×10^3 células/poço/100 μ L numa placa com 96 poços e foram devidamente incubadas a 37 °C em atmosfera umedecida a 5% de CO_2 por 24 horas para ideal aderência.

Nos poços da placa contendo as células já aderidas, foram distribuídos 100 μ L de concentrações decrescentes (100 a 0,1 μ M) da substância a ser testada, em quadruplicatas. Para controle negativo foi utilizado 100 μ L de meio de cultura suplementado com 10% de FBS.

Após a exposição das células por 72h aos compostos de investigação, as células foram incubadas com MTT (5 μ g/10 μ L/poço) durante 4 horas. A seguir, todo o líquido sobrenadante foi removido por aspiração e foram adicionados 100 μ L de DMSO/poço, sendo a viabilidade celular (proporcional à concentração dos sais de formazan - produto da redução mitocondrial do MTT nas células viáveis) determinada pela medida de absorvância a 492 nm num espectrofotômetro de microplacas.

Os dados obtidos através dos ensaios citotóxicos foram normalizados considerando-se a viabilidade celular do controle negativo como 100%. As CI_{50} foram calculadas usando regressão não linear sobre os valores de concentração em escala logarítmica *versus* a porcentagem de viabilidade celular em cada concentração. Para tal foi utilizado o programa GraphPadPrism.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados dois ligantes derivados do adamantano e, a partir destes, quatro complexos inéditos de ouro(I). Todas as reações foram acompanhadas por CCD. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna, por extração líquido-líquido e/ou recristalização. Para caracterização da composição e fórmula estrutural das substâncias sintetizadas foram utilizadas as seguintes técnicas: Raman, IV, TG, ponto de fusão, análise elementar de C, H e N, difração de raios X por monocristal e RMN de ^1H , ^{13}C e ^{31}P e espectrometria de massas. Todos os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma Aldrich e nenhum tratamento de purificação prévio foi feito.

4.1 Síntese e caracterização dos ligantes

4.1.1 Síntese e caracterização do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona **C**

O ácido adamantano-1-carboxílico foi esterificado com metanol em meio ácido. O éster **A** reagiu com hidrazina, em etanol, a temperatura ambiente e a hidrazida **B** formada foi tratada com dissulfeto de carbono em meio básico e etanol, com posterior acidificação com $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ (6 mol L^{-1}) até pH 6, obtendo-se o ligante **C**.

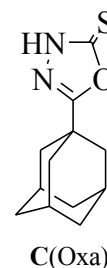
Oxa **C**

Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OS}$

Massa molar: 236 g mol^{-1}

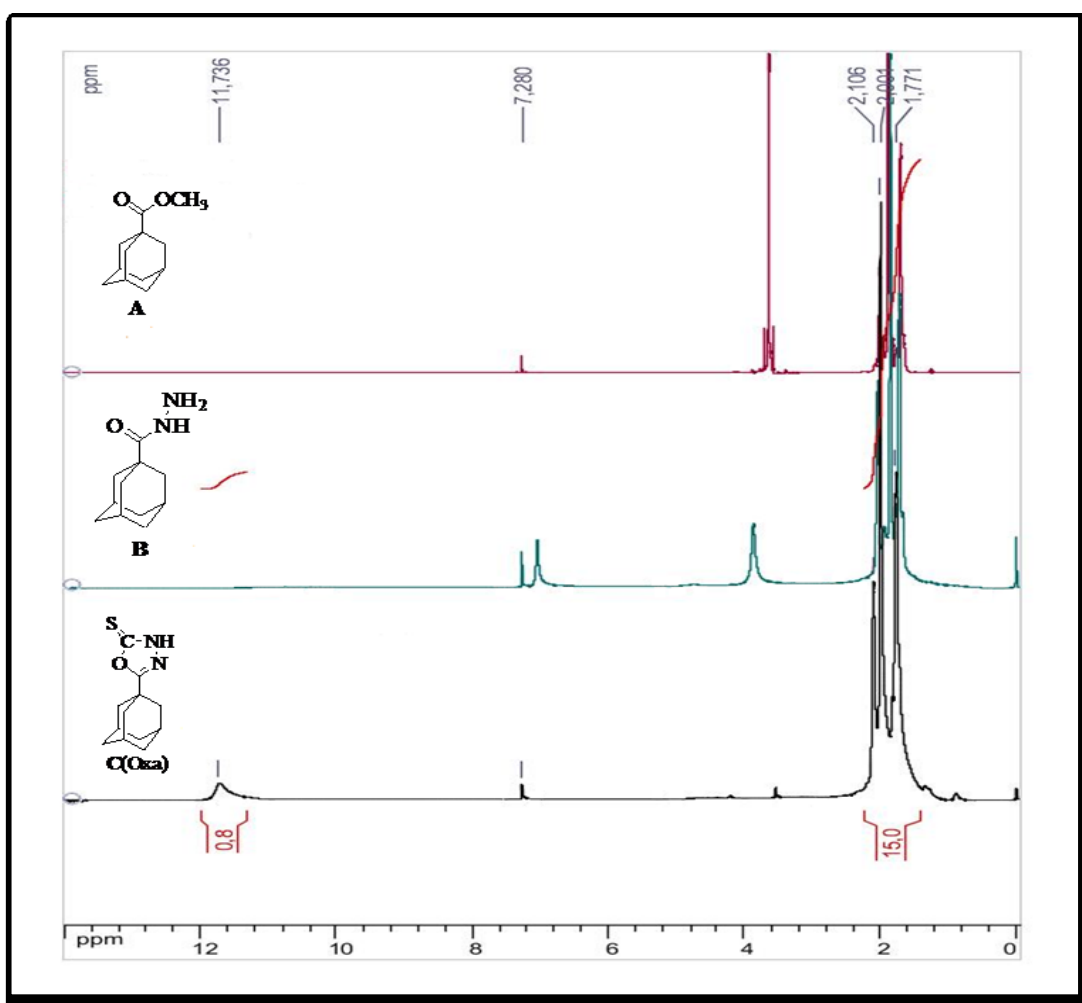
Características físicas: sólido bege claro

P.F.: $190 - 191^\circ \text{C}$



Os espectros de RMN foram obtidos utilizando CDCl_3 como solvente. Os espectros de ^1H dos intermediários **A**, **B** e do ligante **C** (Oxa) estão representados na **Figura 20**.

Figura 20 – Representação dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **A**, **B** e **C** (CDCl_3 , 300MHz).



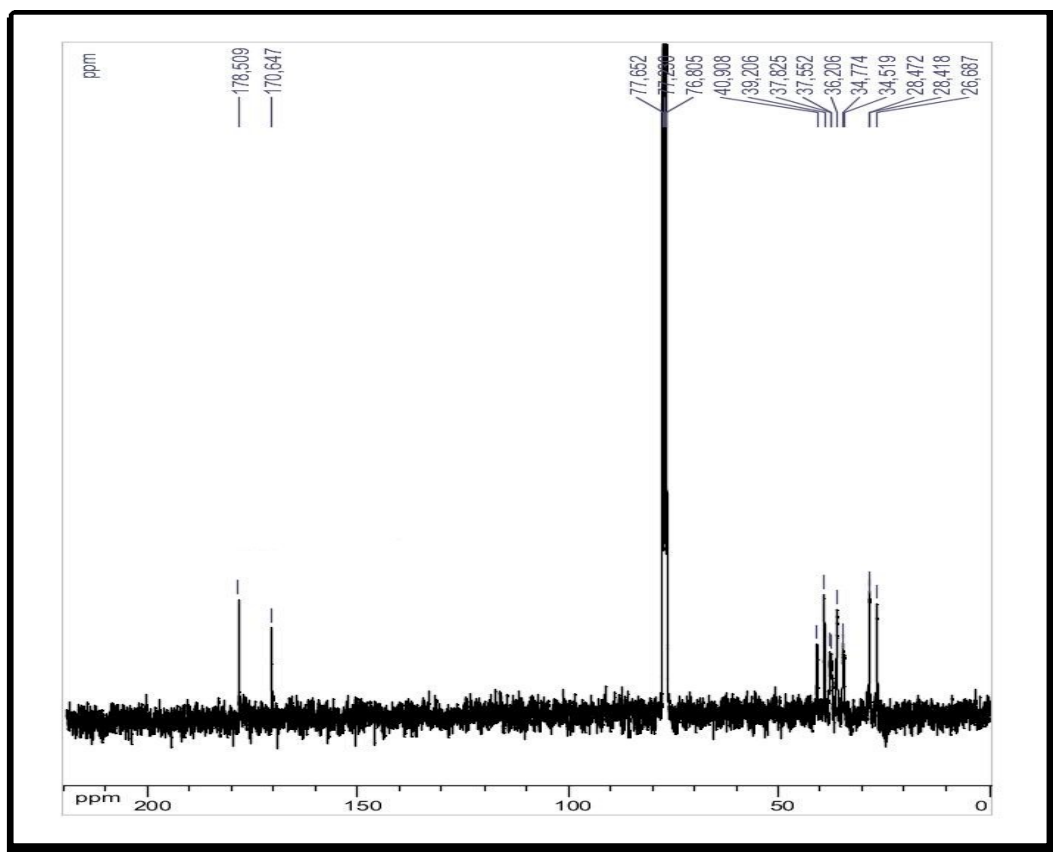
Fonte: A própria autora do trabalho.

No espectro de **A** observam-se dois sinais, um multipletto de 1,7 a 2,0 ppm correspondente aos 15 hidrogênios do adamantano e um singletto em 3,6 referente aos hidrogênios do CH_3 (éster). No espectro de **B** observa-se que o multipletto referente aos hidrogênios CH e CH_2 do adamantano permanecem entre 1,7 a 2,0 ppm e observa-se mais dois sinais em 3,8 e 7,0 ppm devidos aos hidrogênios do NH_2 e NH respectivamente. Já no espectro do ligante **C** (Oxa) verifica-se que o multipletto devido aos hidrogênios do adamantano estão entre 1,7 a 2,1 ppm e em 11,7 ppm há um singletto atribuído ao hidrogênio do NH .

A **Figura 21** mostra o espectro de RMN de ^{13}C do ligante **C**(Oxa) onde se observam os sinais referentes aos dez carbonos do adamantano entre 26,7 e 40,9 ppm e em 170,6 e

178,5 ppm os sinais dos carbonos do anel oxadiazol (C ligado ao N e O e C=S, respectivamente).

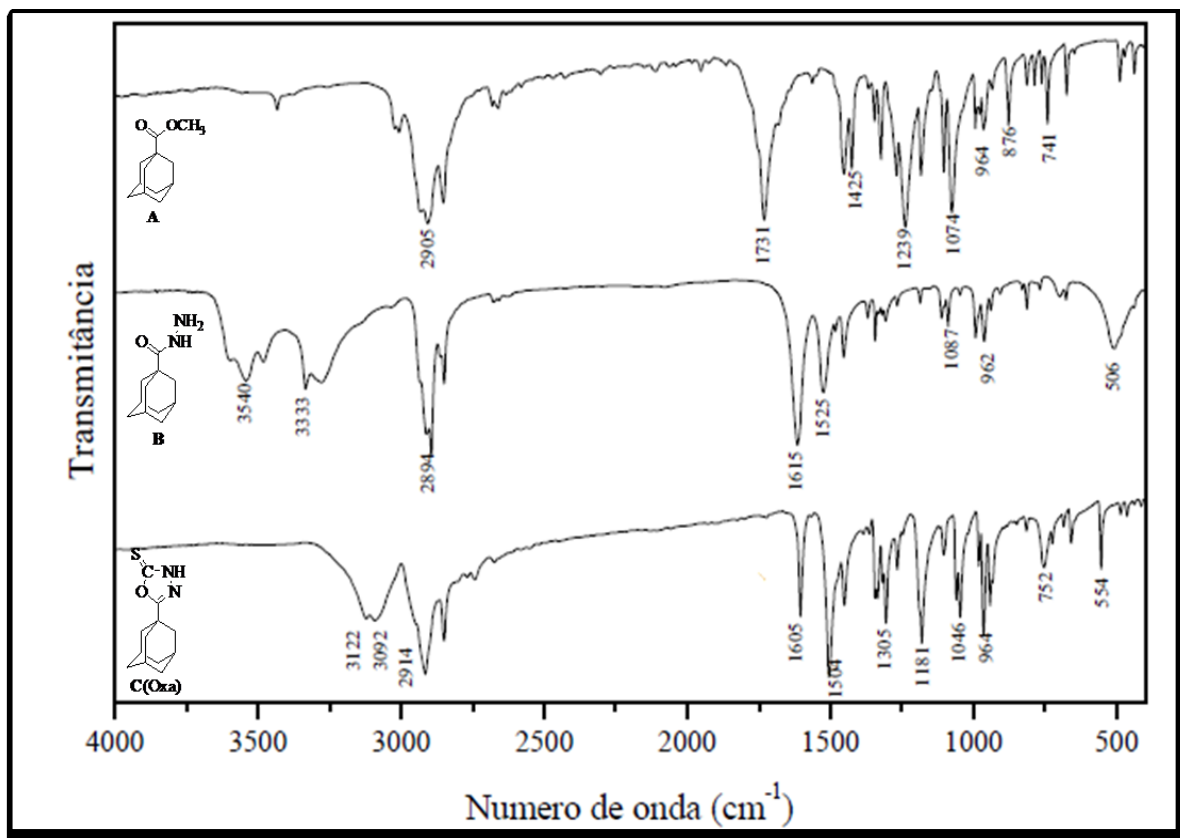
Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C do ligante C (CDCl_3 , 75MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 22** representa os espectros no IV dos intermediários **A** e **B** e ligante **C** cujas principais frequências vibracionais foram atribuídas com base em dados disponíveis na literatura para compostos semelhantes. No espectro de **A** (éster) destacam-se as bandas $\nu\text{C}=\text{O}$ (1731 cm^{-1}), $\nu\text{C}-\text{O}$ (1239 e 1074 cm^{-1}), devido à deformação axial. Já no espectro de **B** (hidrazida) observamos as bandas de deformação axial $\nu\text{N}-\text{H}_2$ (3540 cm^{-1}), $\nu\text{N}-\text{H}$ (3333 cm^{-1}) e $\nu\text{C}=\text{O}$ de amidas (1615 cm^{-1}) e $\delta\text{N}-\text{H}$ (1525 cm^{-1}) deformação angular. No último espectro (ligante **C** Oxa) ficam evidenciadas as bandas $\nu\text{N}-\text{H}$ (3122 e 3092 cm^{-1}) (deformação axial de NH associado a amidas), $\delta\text{N}-\text{H}$ (1504 cm^{-1}) e as bandas tioamidas $\nu\text{C}-\text{N}/\delta\text{N}-\text{H}$ (1605 e 1181 cm^{-1}) e $\nu\text{C}=\text{S}$ (1305 cm^{-1}) e $\delta\text{C}-\text{H}$ (752 cm^{-1}).

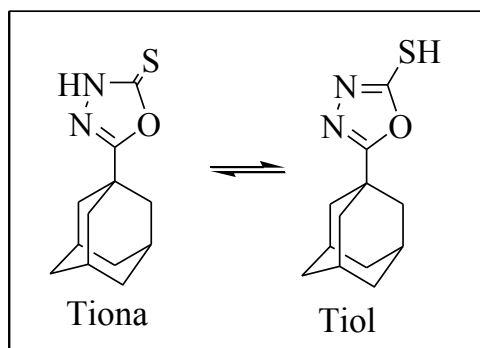
Figura 22 – Representação dos espectros IV dos compostos A, B e C.



Fonte: A própria autora do trabalho.

O ligante C pode existir em duas formas tautoméricas, tiol e tiona, como mostrado na Figura 23, possuindo três sítios de coordenação, dois átomos de nitrogênio do ciclo oxadiazólico e o átomo de enxofre da tiona/tiol.

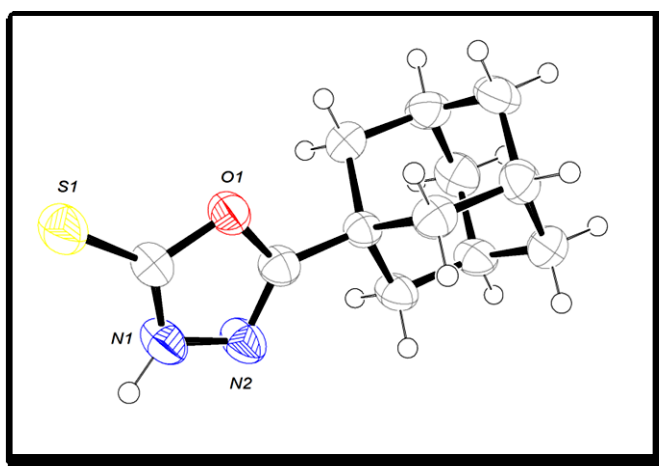
Figura 23 – Formas tautoméricas para o ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona C



Fonte: A própria autora do trabalho.

Entretanto, como visto pelos espectros anteriores, o ligante se encontra na forma tiona, estrutura confirmada pela difração de raios X conforme diagrama ORTEP representado na **Figura 24**. A difração de raios X por monocristal revelou que o ligante **C** cristalizou-se no sistema monoclínico, grupo espacial: P2(1)/c e cela unitária a=10.5545 Å; b=11.0918 Å; c=10.2864 Å, $\alpha = 90.000^\circ$, $\beta = 100.330^\circ$ e $\gamma = 90.000^\circ$.

Figura 24– Diagrama ORTEP do ligante C



Fonte: A própria autora do trabalho.

As distâncias e ângulos de ligação podem ser vistos nas **Tabelas 1 e 2**. Verificamos que o comprimento da ligação C=S encontrado foi de 1,653 Å, que é condizente com o comprimento observado em ligações do tipo “dupla” entre os átomos de carbono e enxofre (1,600Å) (CHAVES *et al.*, 2014).

Tabela 1 – Distâncias de ligação para o ligante C Oxa

Ligação	Distância (Å)	Ligação	Distância (Å)
S1-C1	1,653(3)	C7-C6	1,528 (4)
O1-C1	1,365 (3)	C7-C9	1,533 (4)
O1-C2	1,378 (3)	C10-C9	1,525 (4)
C1-N1	1,322 (3)	C3-C4	1,547 (4)
N1-N2	1,380 (3)	C5-C6	1,529 (4)
N2-C2	1,271 (3)	C3-C8	1,543 (3)
C3-C2	1,488 (4)	C12-C5	1,524 (4)
C11-C10	1,544 (4)	C3-C11	1,542 (3)
C8-C7	1,533 (4)	C10-C12	1,526 (4)
C4-C5	1,532 (4)		

Fonte: A própria autora do trabalho.

Tabela 2 – Ângulos de ligação para o ligante **C** Oxa

Ligação	Ângulo (°)	Ligação	Ângulo (°)
C1-O1-C2	106,22 (19)	C3-C11-C10	109,4 (2)
N1-C1-O1	104,8 (2)	C7-C8-C3	109,89 (19)
N1-C1-S1	131,3 (2)	C5-C4-C3	109,6 (2)
O1-C1-S1	123,88 (19)	C6-C7-C8	109,5 (2)
C1-N1-N2	112,6 (2)	C6-C7-C9	109,6 (2)
C2-N2-N1	103,9 (2)	C8-C7-C9	109,3 (2)
C2-C3-C11	109,8 (2)	C9-C10-C12	110,3 (3)
C2-C3-C8	109,19 (19)	C9-C10-C11	109,6 (2)
C11-C3-C8	109,1 (2)	C12-C10-C11	108,4 (2)
C2-C3-C4	110,8 (2)	C5-C12-C10	110,2 (2)
C11-C3-C4	109,19 (19)	C12-C5-C6	110,0 (2)
C8-C3-C4	108,7 (2)	C12-C5-C4	108,9 (2)
N2-C2-O1	112,4 (2)	C6-C5-C4	109,5 (2)
N2-C2-C3	129,4 (2)	C7-C6-C5	109,7 (2)
O1-C2-C3	118,2 (2)	C10-C9-C7	109,6 (2)

Fonte: A própria autora do trabalho.

4.1.2 Síntese e caracterização do ligante (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona **F**

O álcool adamantano-1-metanol foi inicialmente tratado com trifetilfosfina, imidazol e iodo em tolueno e a reação foi levada a aquecimento (80°C), por 24 horas. O produto **D** (iodeto de adamantila) foi purificado por coluna cromatográfica. Seguiu-se a substituição do iodo por um aminoálcool (etanolamina) em DMSO. O produto **E** foi purificado por coluna cromatográfica. A etapa final consistiu da ciclização do aminoálcool com dissulfeto de carbono em meio básico. O produto final **F** foi purificado por recristalização e os cristais obtidos foram analisados por difração de raios X.

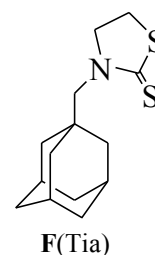
Tia **F**

Fórmula molecular: C₁₄H₂₁NS₂

Massa molar: 267 g/mol

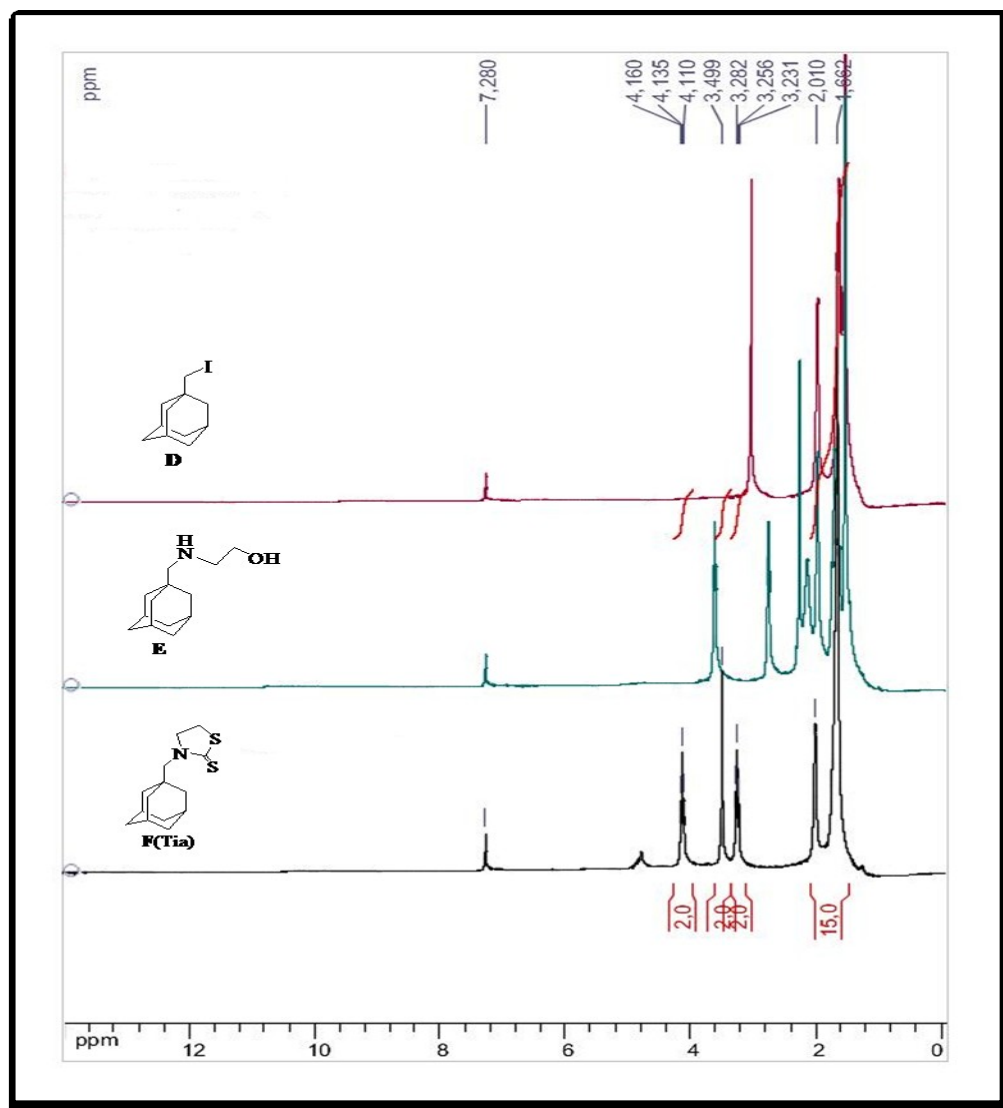
Características físicas: sólido branco

P.F.: 168 – 169° C



Os espectros de RMN foram obtidos usando CDCl_3 como solvente. Os espectros de ^1H dos intermediários **D**, **E** e do ligante **F** estão representados na **Figura 25**.

Figura 25 – Representação dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **D**, **E** e **F** (Tia) (CDCl_3 , 300MHz).



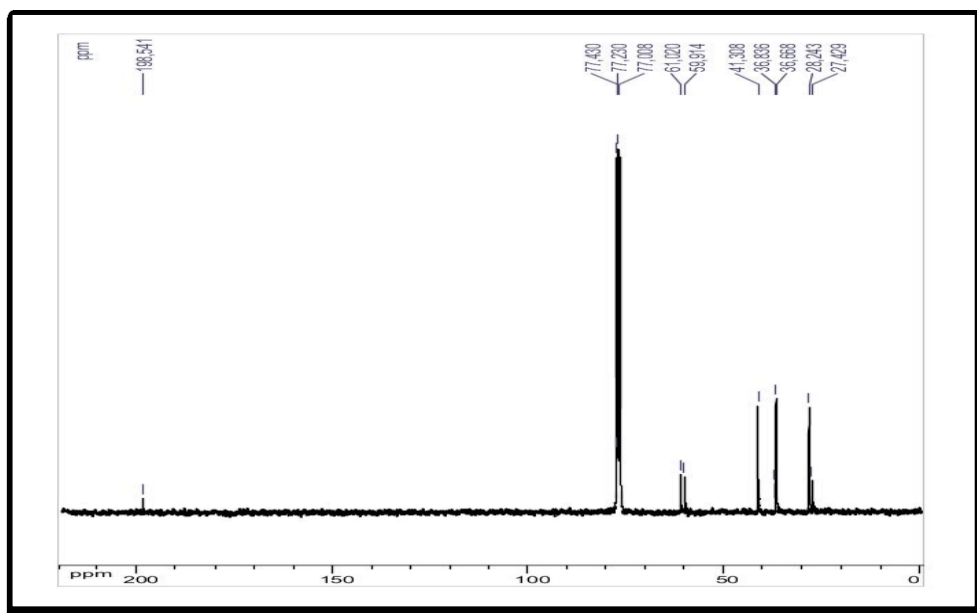
Fonte: A própria autora do trabalho.

Observa-se no espectro de **D** dois sinais, um multipletto de 1,5 a 1,9 ppm correspondente aos 15 hidrogênios do anel adamantano e um singletto em 3,0 ppm referente aos hidrogênios do CH_2 (ligado ao iodo). No espectro de **E** o multipletto referente aos quinze hidrogênios CH e CH_2 do adamantano permanecem entre 1,5 a 1,9 ppm, observa-se mais quatro sinais em: 2,1 (1H, NH) e 2,2 ppm (2H, CH_2 ligado ao anel do adamantano) e dois

tripletos em 2,7 e 3,6 ppm correspondentes aos hidrogênios do CH₂ ligados ao nitrogênio e oxigênio, respectivamente. Já no espectro do ligante **F** verifica-se o multipletto devido aos hidrogênios do adamantano de 1,6 a 2,0 e em 3,4 ppm, um simpleto atribuído ao hidrogênio do CH₂ ligado ao anel adamantano e dois tripletos em 3,2 a 4,1 ppm atribuídos aos CH₂ do anel heterocíclico.

A **Figura 26** mostra o espectro de RMN de ¹³C do ligante **F** onde se observam os sinais referentes aos carbonos do adamantano entre 27,4 e 41,3 ppm e em 59,9 e 61,0 ppm os sinais dos carbonos CH₂ ligados ao N e em 198,5 ppm C=S, respectivamente.

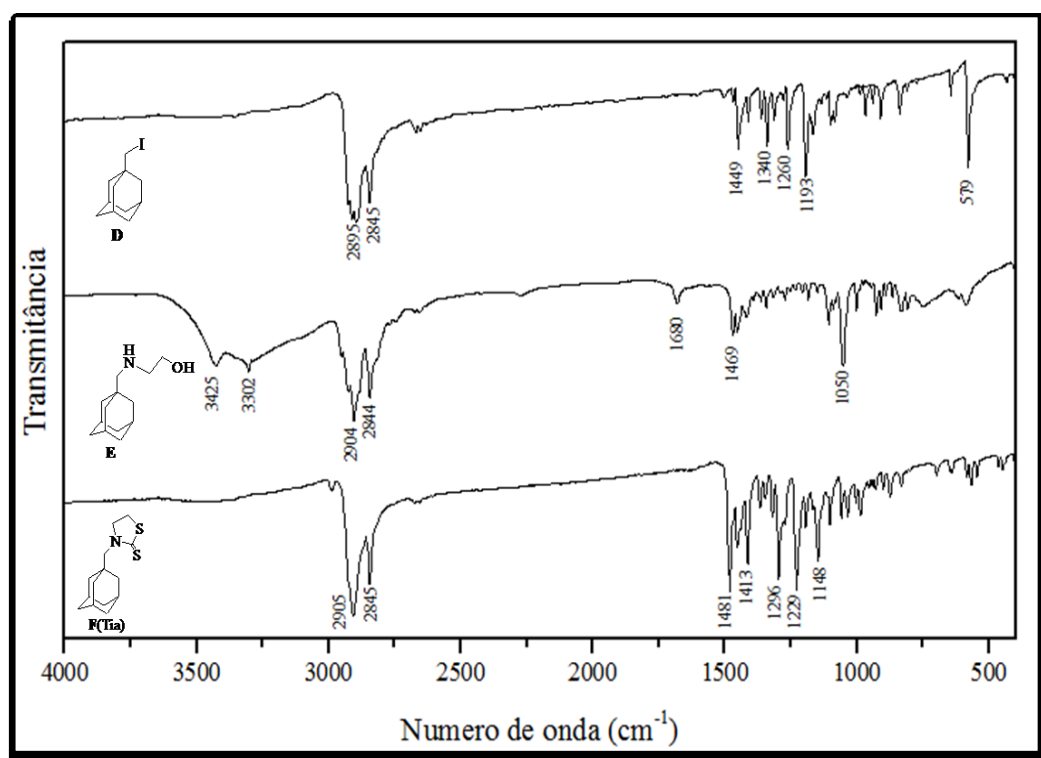
Figura 26 – Espectro de RMN de ¹³C do ligante **F** (CDCl₃, 75 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 27** representa os espectros no IV dos intermediários **D**, **E** e ligante **F** cujas principais frequências vibracionais foram atribuídas com base em dados disponíveis na literatura para compostos semelhantes. No espectro de **D** (iodeto de adamantila) destacam-se as bandas ν CH₂ (2895 cm⁻¹), ν CH (2845 cm⁻¹), ν CI (579 cm⁻¹) devidas à deformação axial. Já no espectro de **E** (aminoálcool) observamos as bandas de deformação axial ν OH (3425 cm⁻¹), ν NH (3302 cm⁻¹) e um pequeno deslocamento na banda de ν CH₂ (2904 cm⁻¹), além do aparecimento das bandas δ NH (1680 cm⁻¹), δ OH (1050 cm⁻¹). No último espectro (ligante **F** Tia) percebem-se as bandas δ CH₂ (1481 e 1413 cm⁻¹), ν C=S e ν CN (1296 e 1229 cm⁻¹) e o desaparecimento das bandas referentes a ν NH (3425 cm⁻¹) e ν OH (3302 cm⁻¹) evidenciando a ciclização.

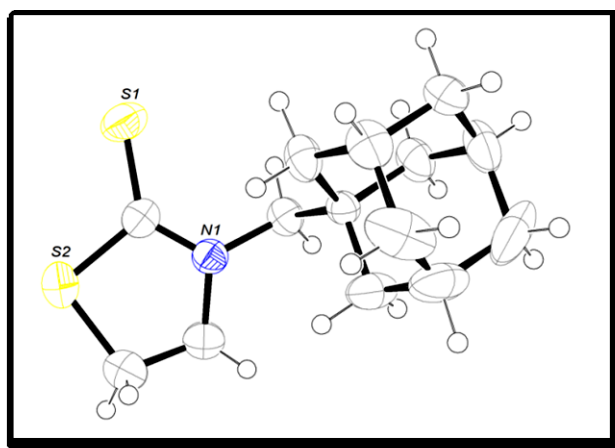
Figura 27 – Representação dos espectros IV dos intermediários **D**, **E** e ligante **F**.



Fonte: A própria autora do trabalho.

O diagrama ORTEP do ligante **F** está representado na **Figura 28**. A difração de raios X por monocristal revelou que o ligante **F** cristalizou-seno sistema monoclinico, grupo espacial $C2/c$ e cela unitária $a = 25.225(2) \text{ \AA}$, $b = 9.982(6) \text{ \AA}$, $c = 10.889(8) \text{ \AA}$ e $\alpha = 90.000^\circ$, $\beta = 98.063(7)^\circ$ e $\gamma = 90.000^\circ$.

Figura 28 – Diagrama ORTEP do ligante **F**



Fonte: A própria autora do trabalho.

As principais distâncias e ângulos de ligação para o ligante **F** podem ser vistos nas **Tabelas 3 e 4**. A distância de ligação C=S encontrada foi de 1,657 Å, condizente com o comprimento esperado para uma ligação dupla (1,600 Å).

Tabela 3 – Distâncias de ligação para o ligante **F** Tia

Ligação	Distância (Å)	Ligação	Distância (Å)
S1-C12	1,657 (3)	C3-C4	1,528 (4)
S2-C12	1,751 (3)	C9-C8	1,517 (4)
S2-C13	1,804 (3)	C10-C8	1,533 (4)
N1-C12	1,334 (3)	C4-C5	1,535 (6)
N1-C14	1,462 (3)	C14-C13	1,484 (4)
N1-C11	1,470 (3)	C6-C7	1,513 (6)
C11-C2	1,532 (3)	C2-C1	1,522 (3)
C9-C4	1,518 (4)	C6-C5	1,516 (6)
C8-C7	1,502 (5)	C2-C10	1,533 (3)
C1-C6	1,522 (4)	C2-C3	1,533 (3)

Fonte: A própria autora do trabalho.

Tabela 4 – Ângulos de ligação para o ligante **F** Tia

Ligação	Ângulo (°)	Ligação	Ângulo (°)
C12-S2-C13	93,12 (12)	C8-C10-C2	110,1 (2)
C12-N1-C14	115,2 (2)	C7-C8-C9	109,7 (3)
C12-N1-C11	123,1 (2)	C7-C8-C10	109,7 (3)
C14-N1-C11	119,5 (2)	C9-C8-C10	109,3 (2)
N1-C11-C2	115,47 (18)	C2-C1-C6	110,4 (2)
C1-C2-C11	111,6 (2)	C9-C4-C3	109,7 (3)
C1-C2-C3	109,7 (2)	C9-C4-C5	109,1 (3)
C11-C2-C3	107,87 (19)	C3-C4-C5	108,9 (3)
C1-C2-C10	108,4 (2)	N1-C14-C13	108,6 (2)
C11-C2-C10	111,44 (19)	C7-C6-C5	109,3 (3)
C3-C2-C10	107,7 (2)	C7-C6-C1	109,5 (3)
N1-C12-S1	128,9 (2)	C5-C6-C1	109,4 (3)
N1-C12-S2	110,94 (18)	C14-C13-S2	105,4 (2)
S1-C12-S2	120,19 (15)	C8-C7-C6	110,0 (3)
C4-C3-C2	110,2 (2)	C6-C5-C4	109,7 (3)
C8-C9-C4	109,4 (2)		

Fonte: A própria autora do trabalho.

4.2 Síntese e caracterização dos complexos

4.2.1 Síntese e caracterização dos complexos **1** e **2** derivados do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona

O complexo **1** foi sintetizado pela reação do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**C**) com o precursor cloridotrifetilfosfinouro(I) em diclorometano e, após 36h, o produto obtido foi purificado por recristalização com hexano.

AuOPh **1**

Fórmula molecular: $C_{30}H_{30}N_2OPS_2Au$

Massa molar: $694,6 \text{ g mol}^{-1}$

Características físicas: sólido bege claro

Ponto de decomposição: 218°C

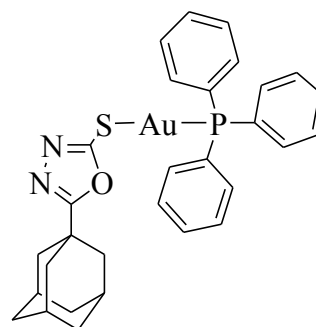
Análise elementar (%):

Calculado C = 51,88; H = 4,35; N = 4,03

Encontrado C = 51,49; H = 4,35; N = 3,98

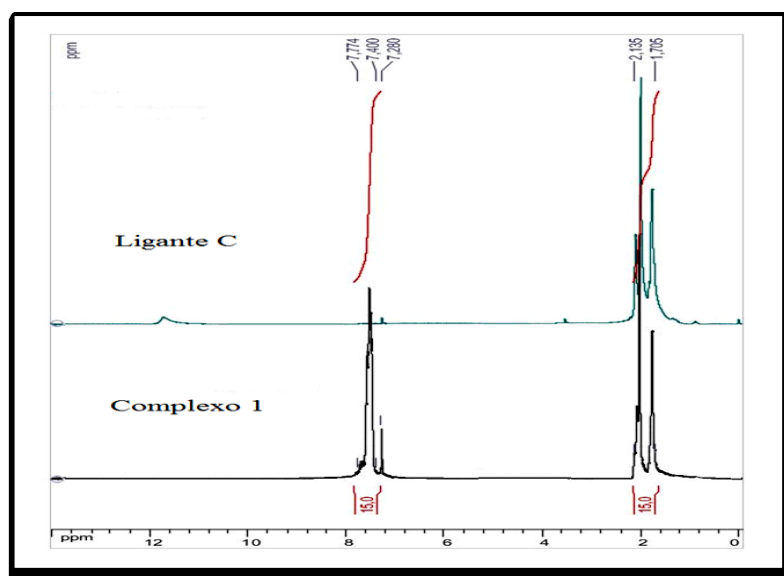
MS (MALDI): $m/z [C_{30}H_{30}N_2OPSAu]$

$[M + H]^+$ Calculado: 695,6; Encontrado: 695,5.



A **Figura 29** representa os espectros de RMN de ^1H do ligante **C** (Oxa) e do complexo **1** ambos em CDCl_3 . Nela é possível ver os sinais dos 15 hidrogênios do adamantano entre 1,7 e 2,1 ppm. E também os sinais dos 15 hidrogênios da trifetilfosfina entre 7,2 e 7,7 ppm, além do desaparecimento do sinal em 11,7 ppm referente ao hidrogênio do NH.

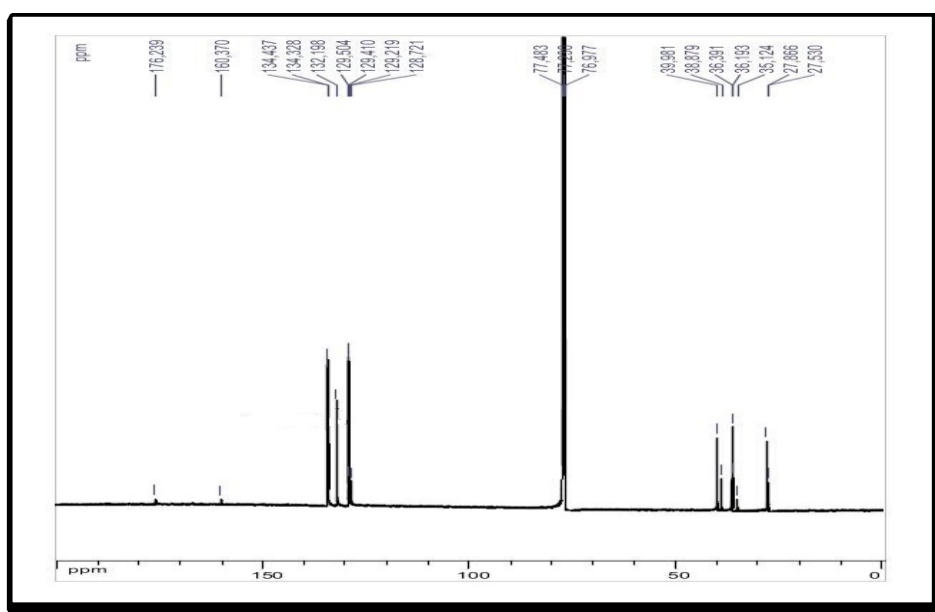
Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H do ligante **C** e do complexo **1** (CDCl_3 , 300 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

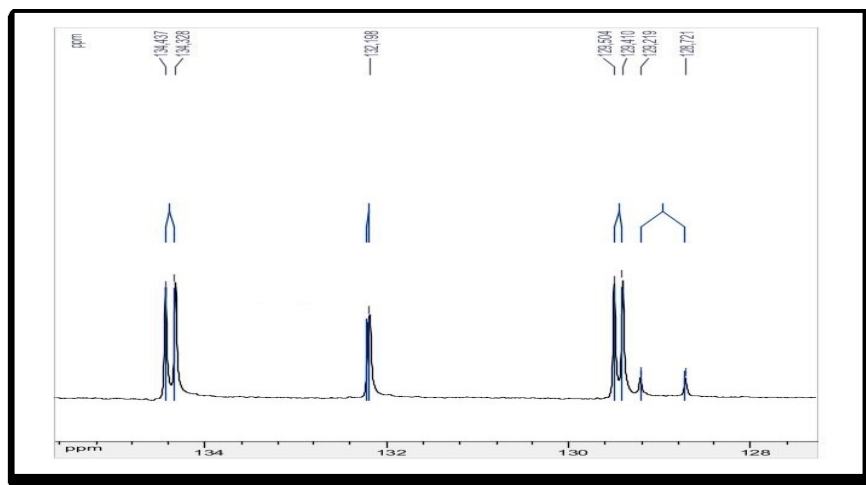
No espectro de RMN de ^{13}C do complexo **1**, **Figura 30**, é possível verificar os sinais referentes aos carbonos do adamantano entre 27,5 e 39,9 ppm e os sinais da trifenilfosfina que se encontram desdobrados em dupletos devido ao acoplamento com o fósforo: 128,9 (d, $^1J(\text{C,P}) = 62,4$ *ipso-C* da PPh_3); 129,5 (d, $^3J(\text{C,P}) = 12,0$ *meta-C* da PPh_3); 132,2 (d, $^4J(\text{C,P}) = 2,7$ *para-C* da PPh_3); 134,4 (d, $^2J(\text{C,P}) = 13,8$ *orto-C* da PPh_3) **Figura 31**. Além dos sinais dos carbonos do anel oxadiazol em 160,3 ppm (C ligado ao N e O) e 176,2 ppm para o carbono ligado ao enxofre. No RMN de ^{31}P verificamos um sinal em 25,22 ppm.

Figura 30 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **1** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

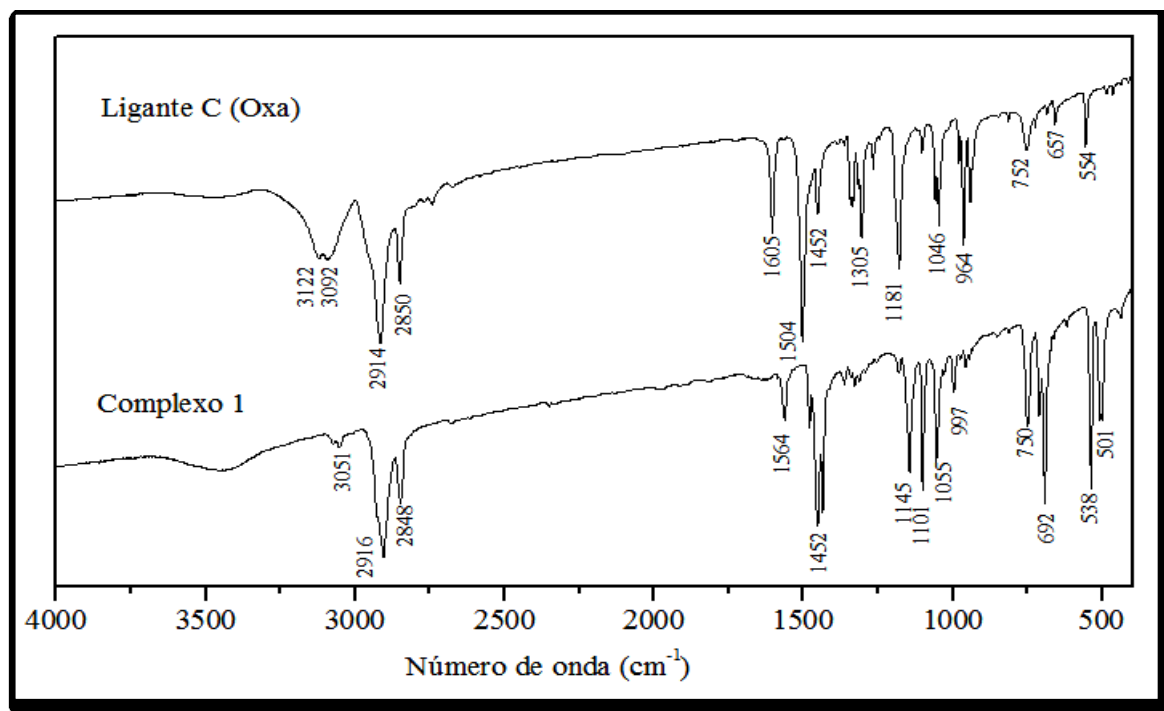
Figura 31 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo **1** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 32** representa os espectros de infravermelho do ligante **C** (Oxa) e do complexo **1**. As principais atribuições podem ser vistas na **Tabela 5**.

Figura 32 – Representação dos espectros IV do ligante **C** e do complexo **1**



Fonte: A própria autora do trabalho.

Tabela 5 – Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante **C** e Complexo **1**.

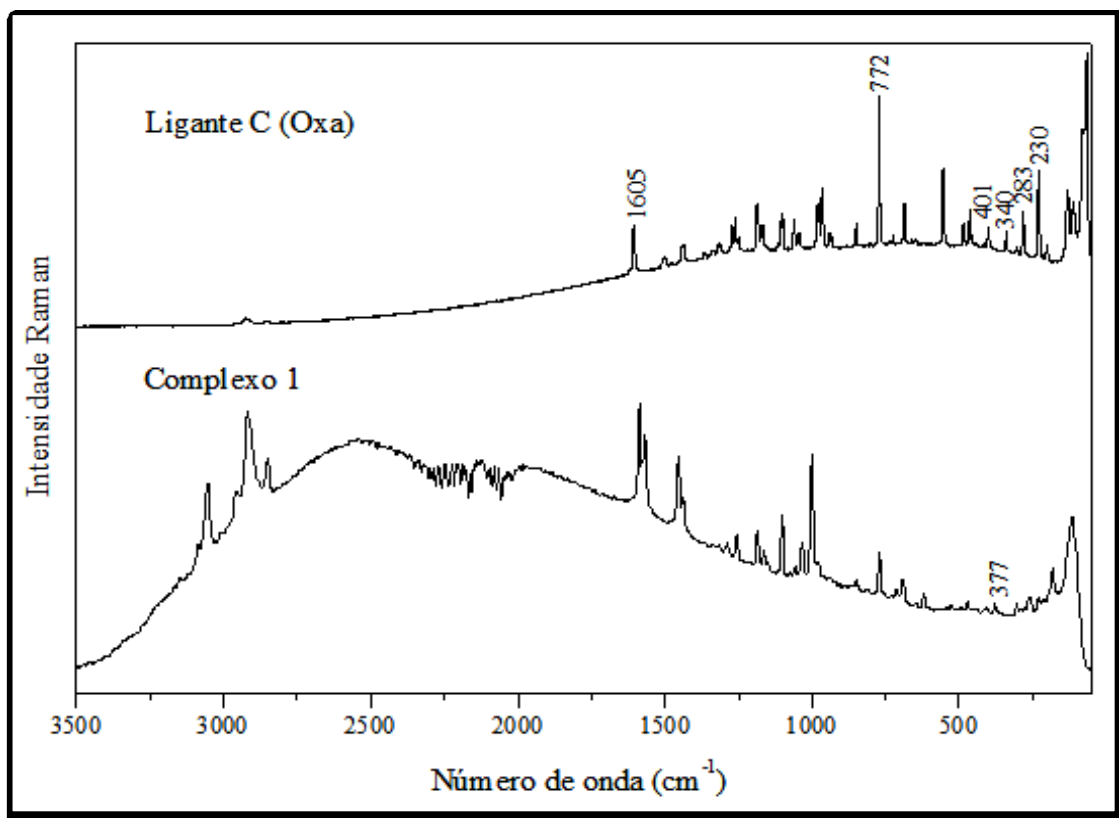
Número de onda (cm^{-1})		Atribuição
Ligante C (Oxa)	Complexo 1	
3122, 3092, 1504	-	ν N-H
-	3051, 1145, 1101, 748, 692, 540, 501	C=C e C-H (vibrações de núcleo aromático PPh ₃)
2914	2916	ν CH ₂
2850	2848	ν C-H
1605, 1181	-	bandas tioamidas ν C-N/ δ N-H
1452	1452	ν C=N
1305	-	ν C=S

Fonte: A própria autora do trabalho.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em uma faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} . A visualização da banda Au-S que deve aparecer entre 380 – 300 cm^{-1} foi identificada por análise dos espectros Raman, entretanto o ligante **C** e os complexos obtidos a

partir deste ligante não permitiram um bom espalhamento inelástico da luz, o que acabou gerando uma intensidade de fundo que se sobrepôs parcialmente aos sinais conforme visto na **Figura 33**. Os resultados encontrados estão de acordo com dados da literatura (BARAN, TOBON-ZAPATA e ETCHEVERRY, 1999; CHAVES *et al.*, 2014).

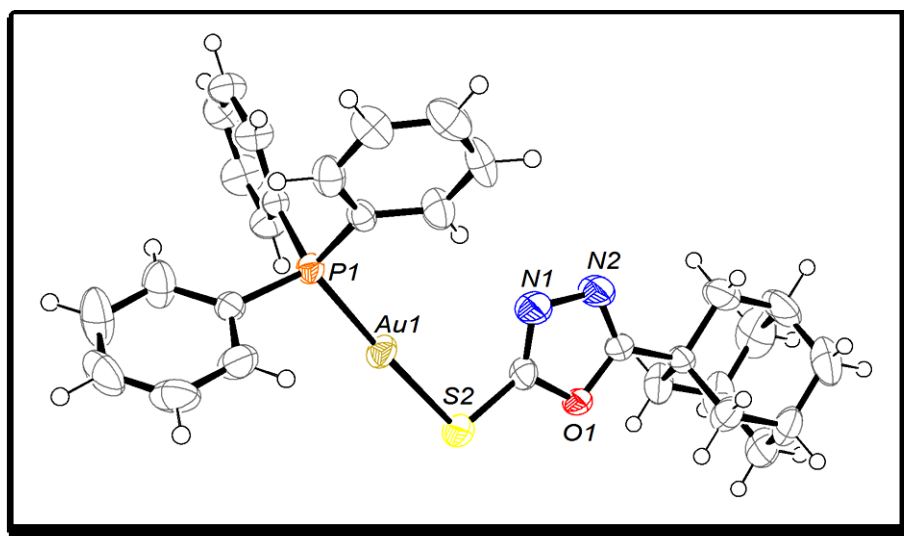
Figura 33 – Representação dos espectros Raman do Ligante C e do Complexo 1



Fonte: A própria autora do trabalho.

A estrutura do complexo **1** foi confirmada por difração de raios X conforme diagrama ORTEP representado na **Figura 34**. As distâncias e ângulos de ligação para o complexo **1** podem ser vistos nas **Tabelas 6 e 7**. O ligante Oxa se encontrava na forma tautomérica tiona e após a complexação há predominância da forma tiol, fato evidenciado pela ausência do hidrogênio ligado ao nitrogênio (que era observado no ligante livre) e pelo comprimento da ligação C-S (1,715 Å) que é intermediário entre os comprimentos de ligação simples (1,820 Å) e dupla (1,600 Å) (CHAVES *et al.*, 2014). O ouro está coordenado ao enxofre do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona **C** e a uma fosfina terciária (PPh₃) em uma geometria linear com ângulo de ligação P1-Au1-S2 = 176,05 (4).

Figura 34 – Diagrama ORTEP do Complexo 1.



Fonte: A própria autora do trabalho.

Tabela 6 – Distâncias de ligação para o Complexo 1

Ligação	Distância (Å)	Ligação	Distância (Å)
Au1-P1	2,2584 (9)	C7-C8	1,381 (5)
Au1-S2	2,3122 (10)	C9-C10	1,369 (6)
P1-C1	1,811 (4)	C9-C8	1,379 (5)
P1-C7	1,815 (4)	C10-C21	1,359 (6)
P1-C11	1,816 (4)	C1-C2	1,398 (5)
S2-C16	1,715 (4)	C4-C3	1,370 (6)
C11-C13	1,389 (5)	C15-C14	1,351 (7)
N2-C17	1,277 (5)	C15-C22	1,365 (7)
N2-N1	1,421 (5)	C2-C20	1,386 (6)
C17-C18	1,503 (5)	C31-C29	1,529 (6)
N1-C16	1,283 (5)	C28-C26	1,511 (6)
C18-C23	1,524 (5)	C25-C24	1,527 (7)
C18-C30	1,529 (5)	C29-C25	1,509 (7)
C18-C31	1,540 (5)	C29-C27	1,510 (6)
C12-C22	1,389 (6)	C28-C30	1,525 (5)
O1-C17	1,366 (4)	C26-C24	1,504 (7)
C3-C20	1,375 (6)	C5-C4	1,383 (5)
C13-C14	1,381 (6)	C5-C1	1,387 (5)
O1-C16	1,388 (4)	C6-C21	1,377 (6)
C11-C12	1,366 (5)	C23-C24	1,532 (6)
C28-C27	1,515 (6)	C6-C7	1,376 (5)

Fonte: A própria autora do trabalho.

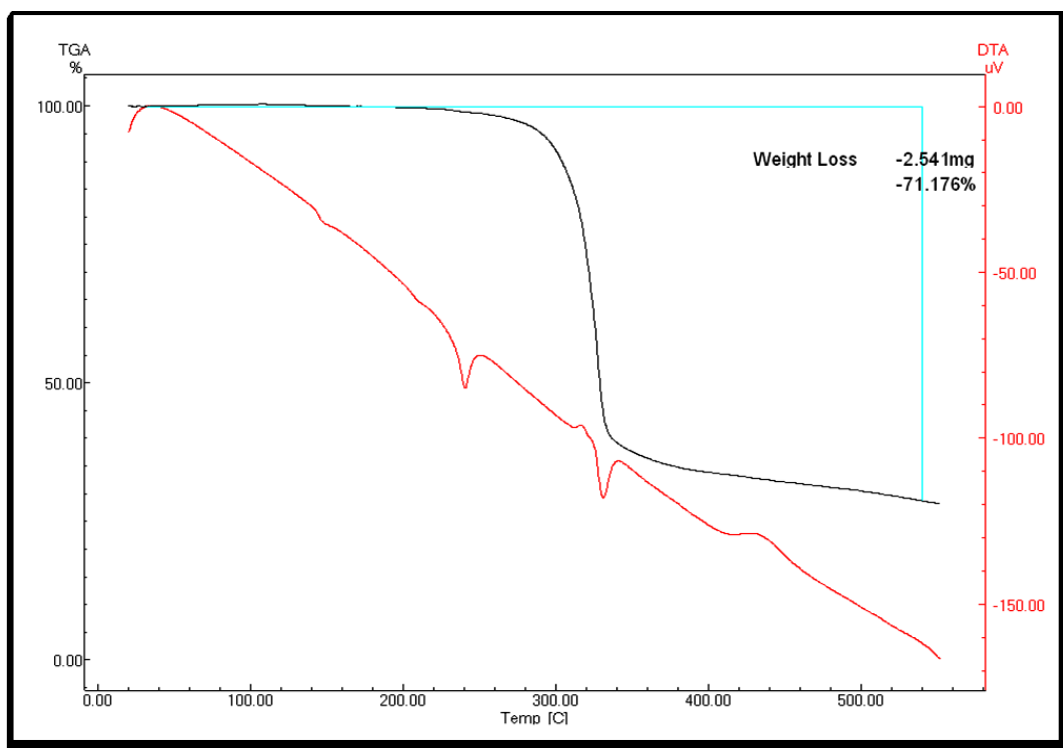
Tabela 7 – Ângulos de ligação para o Complexo 1

Ligação	Ângulo (°)	Ligação	Ângulo (°)
P1-Au1-S2	176,05 (4)	C5-C1-C2	118,3 (4)
C1-P1-C7	105,14 (17)	C5-C1-P1	123,4 (3)
C1-P1-C11	106,88 (17)	C2-C1-P1	118,2 (3)
C7-P1-C11	105,51 (17)	C3-C4-C5	120,7 (4)
C1-P1-Au1	110,08 (12)	C11-C12-C22	121,5 (4)
C7-P1-Au1	114,30 (12)	N1-C16-O1	110,6 (3)
C11-P1-Au1	114,26 (13)	N1-C16-S2	133,5 (3)
C16-S2-Au1	98,87 (13)	O1-C16-S2	115,9 (3)
C17-O1-C16	103,7 (3)	C4-C3-C20	119,5 (4)
C12-C11-C13	117,9 (4)	C14-C13-C11	120,2 (5)
C12-C11-P1	119,5 (3)	C14-C15-C22	119,8 (4)
C13-C11-P1	122,6 (3)	C15-C14-C13	121,1 (5)
C17-N2-N1	106,7 (3)	C20-C2-C1	120,1 (4)
N2-C17-O1	111,9 (3)	C3-C20-C2	120,7 (4)
N2-C17-C18	130 1 (4)	C29-C31-C18	109,0 (3)
O1-C17-C18	117,9 (3)	C26-C28-C27	108,8 (4)
C16-N1-N2	107,1 (3)	C26-C28-C30	109,2 (4)
C4-C5-C1	120,7 (4)	C27-C28-C30	110,2 (4)
C17-C18-C23	110,0 (3)	C24-C26-C28	110,3 (4)
C17-C18-C30	110,3 (3)	C25-C29-C27	109,6 (4)
C23-C18-C30	108,6 (3)	C25-C29-C31	109,1 (4)
C17-C18-C31	108,7 (3)	C27-C29-C31	109,9 (4)
C23-C18-C31	110,0 (4)	C29-C27-C28	109,8 (4)
C30-C18-C31	109,3 (3)	C18-C23-C24	109,2 (4)
C7-C6-C21	120, 0 (4)	C10-C21-C6	121,5 (4)
C6-C7-C8	118,3 (4)	C29-C25-C24	109,9 (4)
C6-C7-P1	119,4 (3)	C15-C22-C12	119,5 (5)
C8-C7-P1	122,2 (3)	C26-C24-C25	109,2 (5)
C10-C9-C8	119,9 (4)	C26-C24-C23	109,5 (4)
C21-C10-C9	119,2 (4)	C25-C24-C23	109,2 (4)
C9-C8-C7	121,1 (4)	C28-C30-C18	109,4 (3)

Fonte: A própria autora do trabalho.

A curva termogravimétrica (TG) do complexo **1** pode ser vista na **Figura 35**, onde observamos a perda de massa de 71,17% referente a saída dos ligantes e resíduo encontrado de 28,83% condizente com a porcentagem de ouro presente na amostra, cujo resíduo calculado é de 28,36%. A curva de análise térmica diferencial (DTA) confirma o ponto de fusão em 218°.

Figura 35 – Curvas TG e DTA do Complexo 1



Fonte: A própria autora do trabalho.

O complexo **2** foi sintetizado pela reação do ligante 5-adamantil-1,3,4-oxadiazol-2-tiona **C** com o precursor clorotrietilfosfinouro(I) em diclorometano por 12h.

AuOEt **2**

Fórmula molecular: $C_{18}H_{30}N_2OPS_2Au$

Massa molar: $550,4 \text{ g mol}^{-1}$

Características físicas: sólido bege

P.F.: $144-145^\circ \text{ C}$

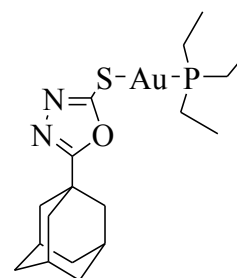
Análise elementar (%):

Calculado C = 39,28; H = 5,49; N = 5,09

Encontrado C = 39,29; H = 5,42; N = 4,91

MS (MALDI): $m/z[C_{18}H_{30}N_2OPSAu]$

$[M + H]^+$ Calculado: 551,4; Encontrado: 551,3.

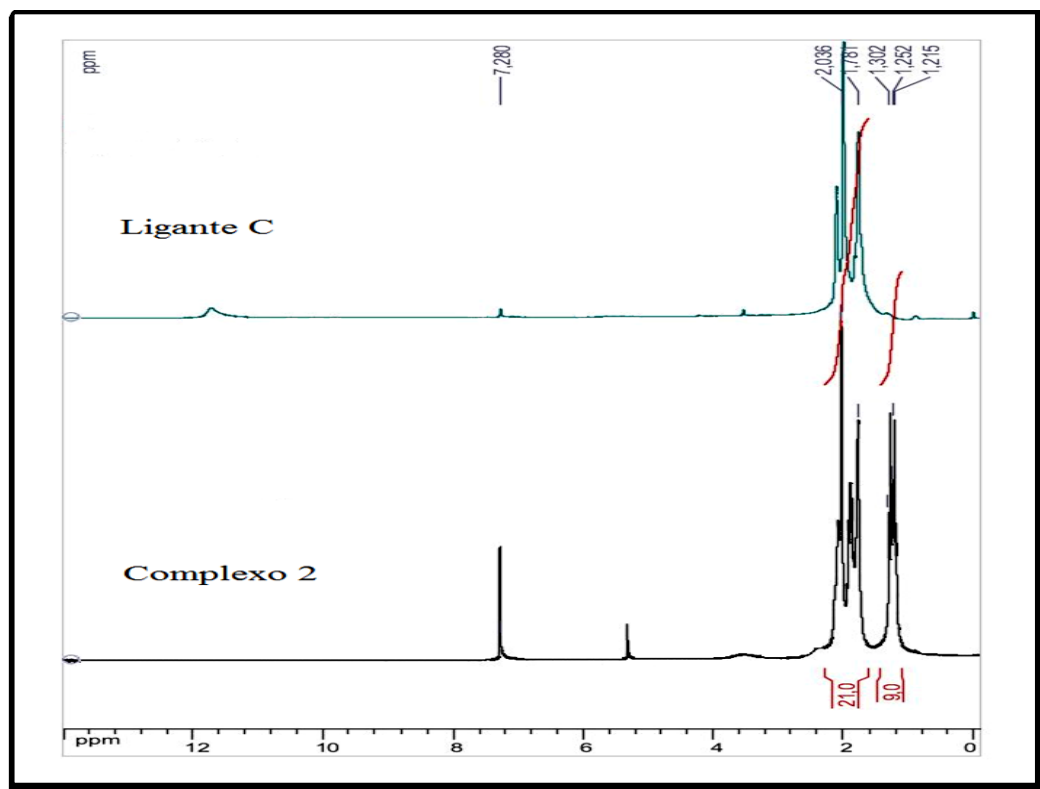


2

A **Figura 36** representa os espectros de RMN de ^1H do ligante **C** (Oxa) e do complexo **2** ambos em CDCl_3 . No espectro do complexo é possível identificar os sinais dos 9

hidrogênios CH₃ da trietilfosfina entre 1,2 e 1,3 ppm e também os sinais dos 21 hidrogênios CH e CH₂ (adamantano e trietilfosfina) entre 1,7 e 2,0 ppm, além do desaparecimento do sinal em 11,7 ppm referente ao hidrogênio do NH do ligante **C**. Observa-se também sinal em 5,3 ppm referente a contaminação com resíduo de diclorometano (GOTTLIEB, KOTLYAR e NUDELMAN, 1997).

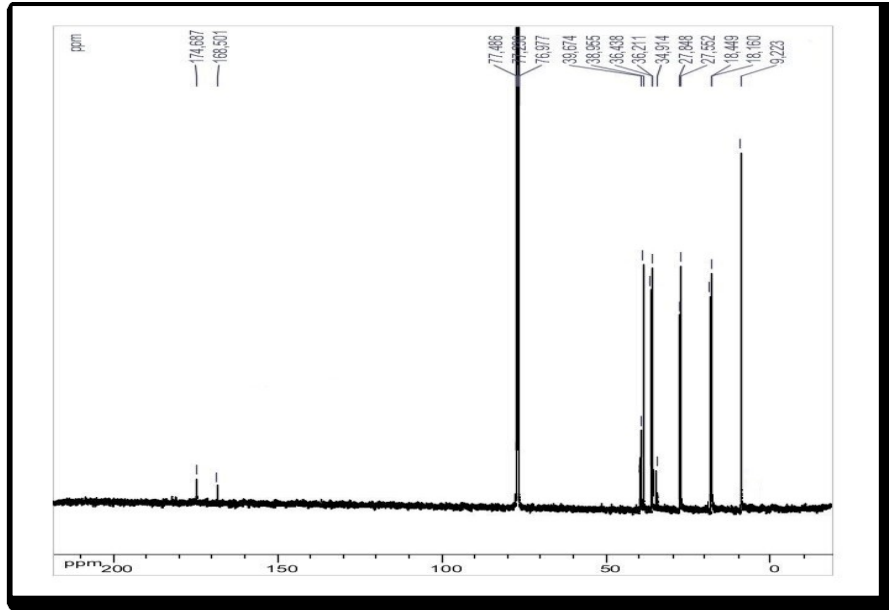
Figura 36– Espectro de RMN de ¹H do ligante **C** e do complexo **2** (CDCl₃, 300MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

O RMN de ¹³C do complexo **2** pode ser visto na **Figura 37**, onde verificamos os sinais referentes aos carbonos CH₃ da etilfosfina em 9,2 ppm e os sinais dos carbonos CH₂ da etilfosfina em 18,1 (d, J (C-P) = 35 Hz, da PEt₃). Já os sinais dos carbonos do adamantano permanecem na mesma região entre 27,5 e 39,6 ppm. Além dos sinais dos carbonos do anel oxadiazol em 168,5 ppm (C ligado ao N e O) e 174,6 ppm para o carbono ligado ao enxofre. No RMN de ³¹P verificamos um sinal em 38,90 ppm.

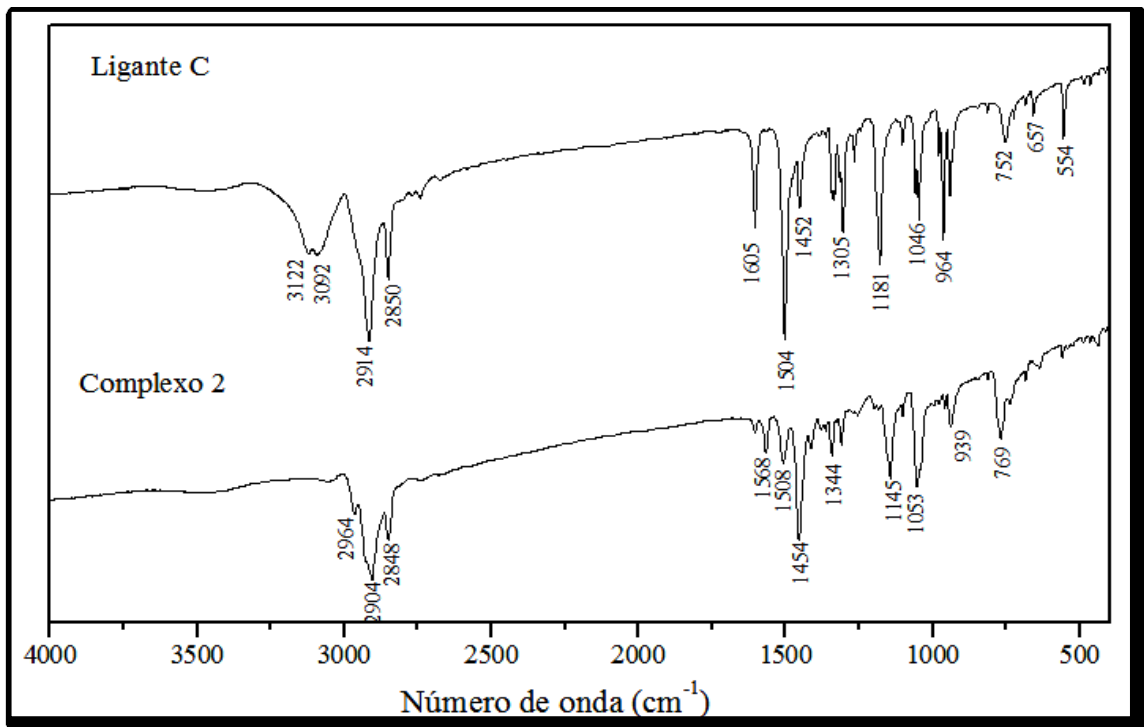
Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **2** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 38** representa os espectros de infravermelho do ligante **C** (Oxa) e do complexo **2**. As principais atribuições podem ser vistas na **Tabela 8**.

Figura 38 – Representação dos espectros IV do ligante **C** e do complexo **2**



Fonte: A própria autora do trabalho.

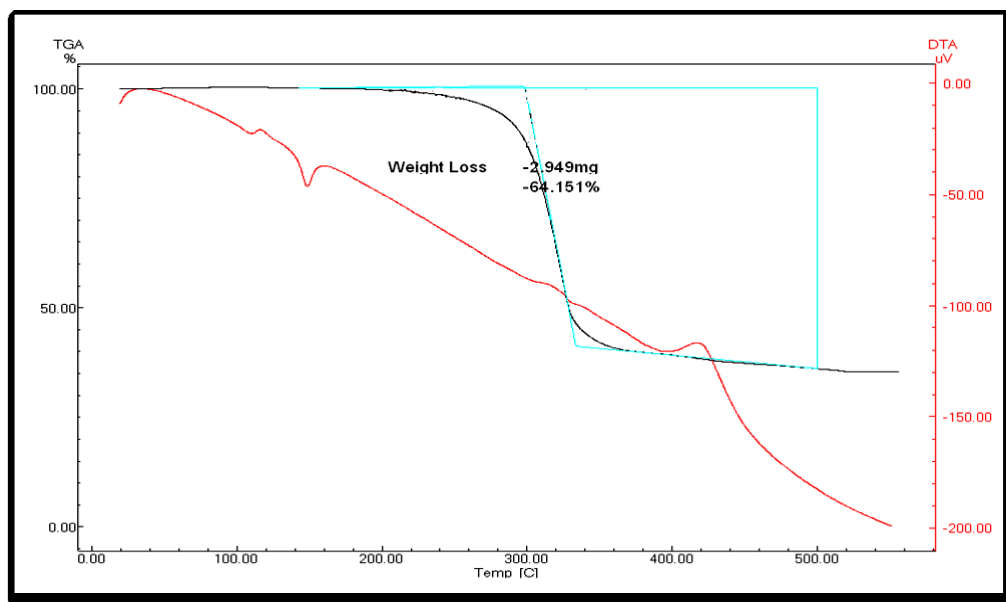
Tabela 8 – Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante **C** e Complexo **2**.

Número de onda (cm ⁻¹)		Atribuição
Ligante C (Oxa)	Complexo 2	
3122, 3092, 1504	-	v N-H
-	2964, 1145	v C-H(trietilfosfina)
2914	2904	v CH ₂ (adamantano)
2850	2848	v C-H (adamantano)
1605, 1181	-	bandas tioamidas v C-N/δ N-H
1452	1454	v C=N
1305	-	v C=S
-	769	Grupo etila (def. ang. “rocking”)

Fonte: A própria autora do trabalho.

A curva (TG) do complexo **2** pode ser vista na **Figura 39**, onde observamos a perda de massa de 64,15% referente a saída dos ligantes e resíduo encontrado de 35,85%, condizente com a porcentagem de ouro presente na amostra, cujo resíduo calculado é de 35,78%. A curva de análise térmica diferencial (DTA) (em vermelho) confirma o ponto de fusão em 144° C.

Figura 39 – Curvas TG e DTA do complexo **2**



Fonte: A própria autora do trabalho.

4.2.2 Síntese e caracterização dos complexos **3** e **4** derivados do ligante (metil-1-adamantano)1,3-tiazolidina-2-tiona.

O complexo **3** foi sintetizado através da reação do ligante Tia **F** com o precursor cloridotrifenílfosfinouro(I), previamente solubilizados em diclorometano por 5 horas.

AuTPh **3**

Fórmula molecular: $[C_{32}H_{36}NPS_2Au]Cl$

Massa molar: $761,1 \text{ g mol}^{-1}$

Características físicas: sólido amarelo pálido

P.F.: $162 - 163^\circ \text{ C}$

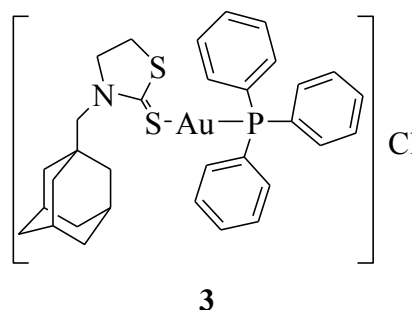
Análise elementar (%):

Calculado C = 50,43; H = 4,76; N = 1,84

Encontrado C = 50,71; H = 4,85; N = 1,91

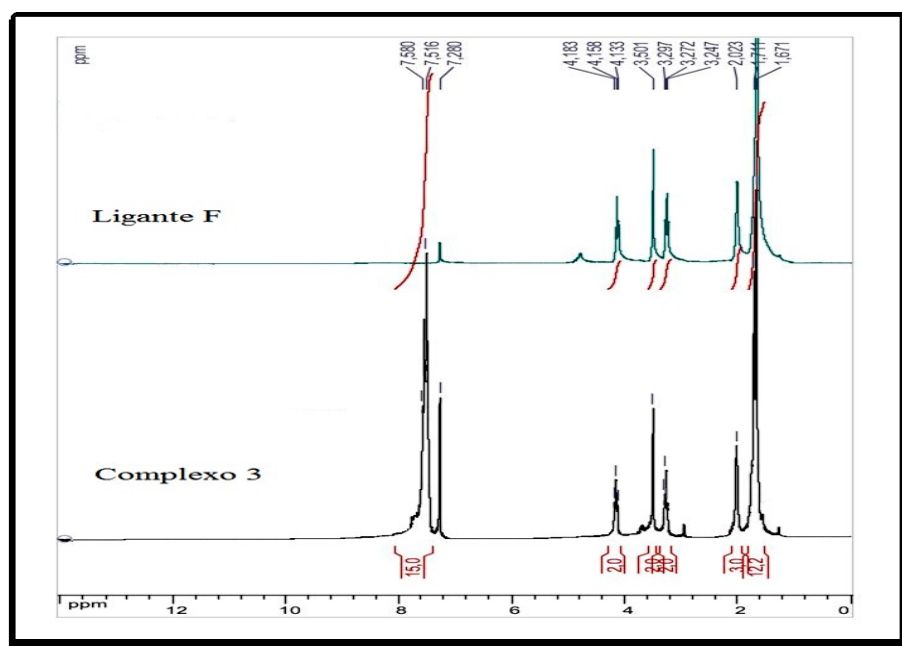
MS (MALDI): $m/z[C_{32}H_{36}NPS_2Au]^+$

$[M]^+$ Calculado: 726,7; Encontrado: 726,5.



A **Figura 40** representa os espectros de RMN de 1H do ligante **F** (Tia) e do complexo **3** ambos em $CDCl_3$. Onde é possível ver os sinais dos 15 hidrogênios do adamantano entre 1,6 e 2,0 ppm, e também os sinais dos 15 hidrogênios da trifenílfosfina entre 7,5 e 7,6 ppm. Observam-se também mais três sinais: 3,4 ppm (2H, CH_2 ligado ao anel do adamantano) e dois tripletos em 3,2 e 4,1 ppm atribuídos aos hidrogênios do CH_2 ligados ao nitrogênio e oxigênio respectivamente.

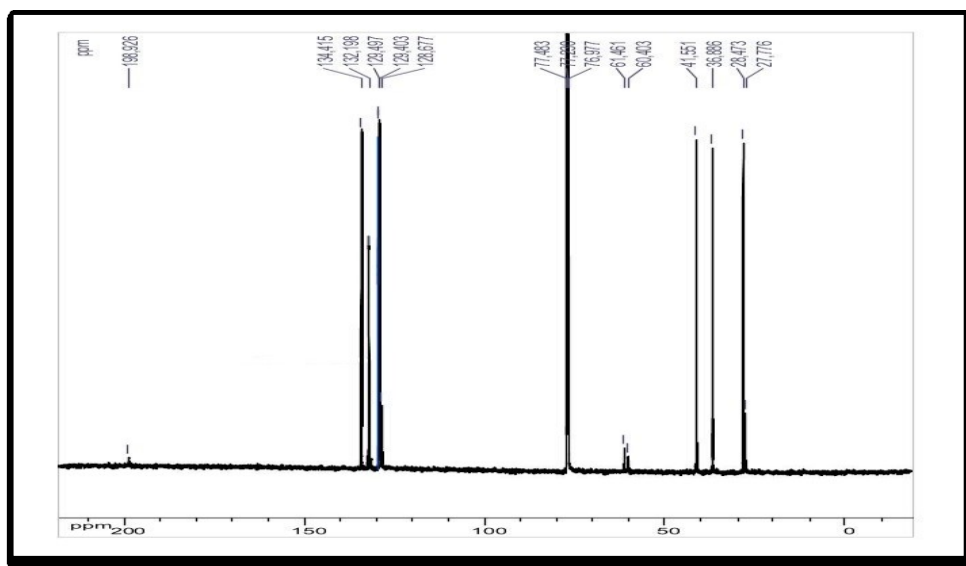
Figura 40– Espectro de RMN de 1H do ligante **F** e do complexo **3** ($CDCl_3$, 300MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

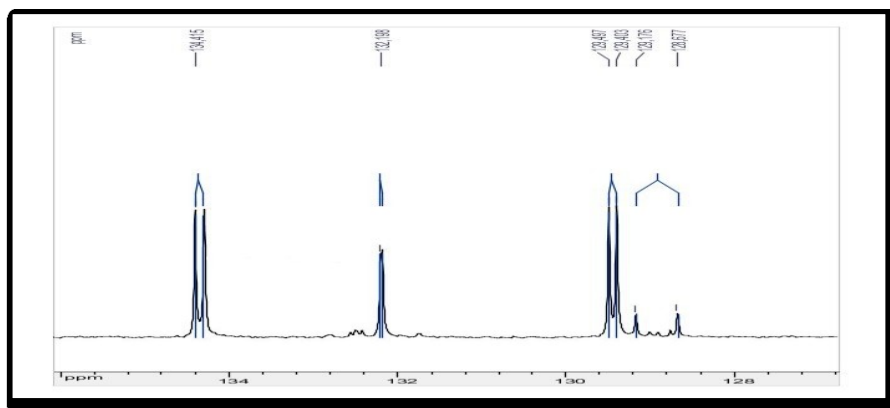
O RMN de ^{13}C do complexo **3** pode ser visto na **Figura 41** onde observamos os sinais dos carbonos do adamantano entre 27,7 e 41,5 ppm e em 60,4 e 61,4 ppm os sinais dos carbonos do heterociclo. Os sinais referentes aos carbonos da trifetilfosfina se encontram entre 128,7 e 134,4 ppm e se encontram desdobrados em dupletos devido ao acoplamento com o fósforo: 128,7 (d, $^1J(\text{C,P}) = 62,5$ *ipso-C* da PPh_3); 129,4 (d, $^3J(\text{C,P}) = 11,9$ *meta-C* da PPh_3); 132,2 (d, $^4J(\text{C,P}) = 2,3$ *para-C* da PPh_3); 134,4 (d, $^2J(\text{C,P}) = 13,7$ *orto-C* da PPh_3) **Figura 42**. Já o sinal do carbono ligado ao enxofre aparece em 198,9 ppm. No RMN de ^{31}P verificamos um sinal em 33,19 ppm.

Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **3** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

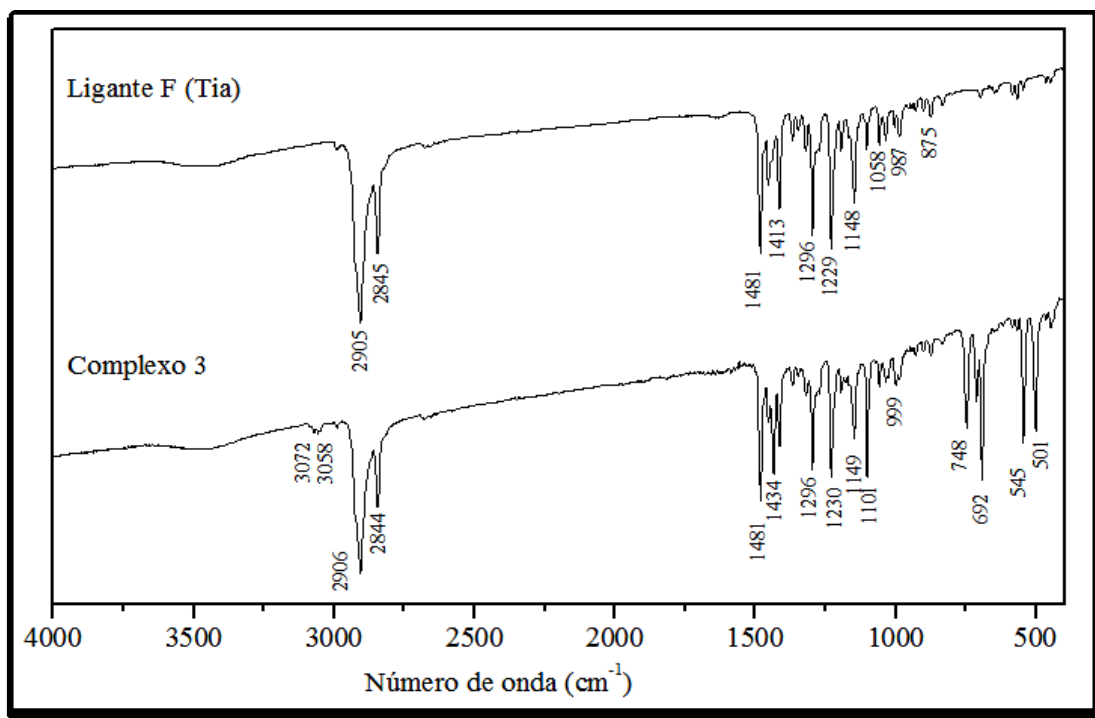
Figura 42 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do complexo **3** (CDCl_3 , 125 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 43** é a representação dos espectros de IV do ligante **F** (Tia) e do complexo **3**. As principais atribuições podem ser vistas na **Tabela 9**.

Figura 43 – Representação dos espectros IV do ligante **F** e do complexo **3**.



Fonte: A própria autora do trabalho.

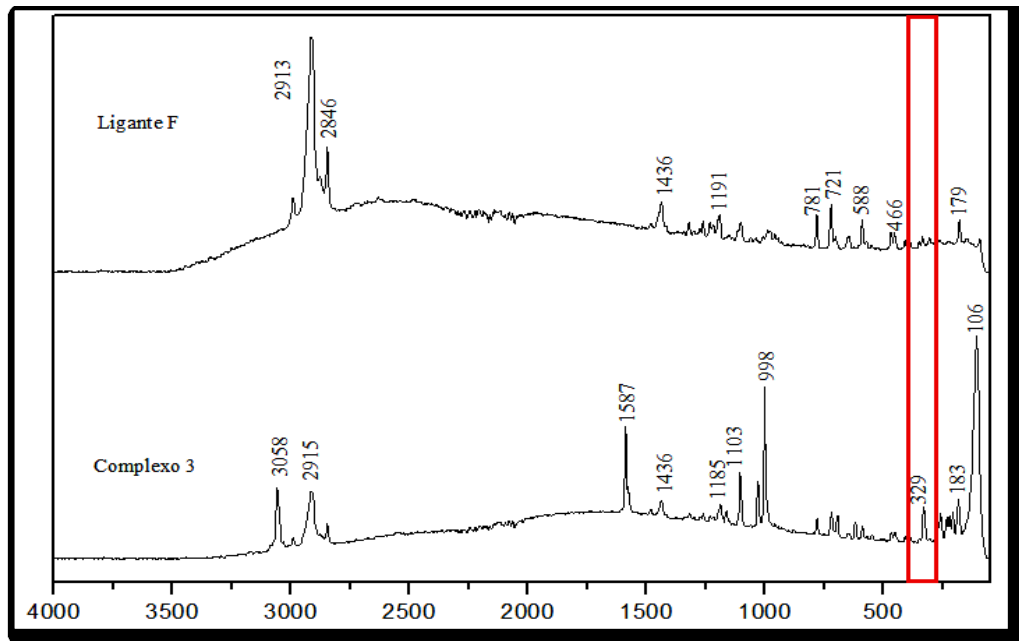
Tabela 9 – Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante **F** e Complexo **3**.

Número de onda (cm^{-1})		Atribuição
Ligante F (Tia)	Complexo 3	
-	3058, 1149, 1101, 748, 692, 545, 501	C=C e C-H (vibrações de núcleo aromático PPh_3)
2905	2906	ν CH_2 (do anel adamantano)
2845	2844	ν C-H (do anel adamantano)
1481, 1413	1481, 1413	δCH_2
1296, 1229	1296, 1230	ν C=S, νCN

Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 44** é a representação dos espectros Raman do ligante **F** e do complexo **3**. Onde é possível ver na figura o surgimento da banda em 329 cm^{-1} atribuída à ligação Au-S confirmando a complexação neste sítio de ligação. Os dados obtidos estão de acordo com o observado na literatura (BARAN, TOBON-ZAPATA e ETCHEVERRY, 1999; BRUNO *et al.*, 2009).

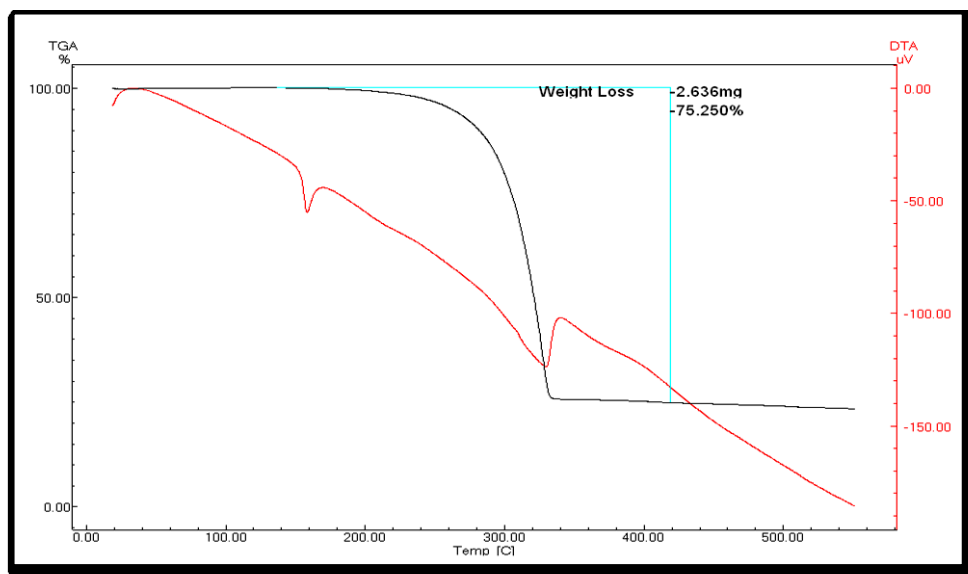
Figura 44 – Representação dos espectros Raman do ligante **F** e do complexo **3**.



Fonte: A própria autora do trabalho.

A curva (TG) do complexo **3** pode ser vista na **Figura 45** onde observamos a perda de massa de 75,25% referente a saída dos ligantes e resíduo encontrado de 24,75% condizente com a porcentagem de ouro presente na amostra, cujo resíduo calculado é de 25,84%. A curva de análise térmica diferencial (DTA) (em vermelho) confirma o ponto de fusão em 162° C.

Figura 45 – Curvas TG e DTA do complexo **3**



Fonte: A própria autora do trabalho.

O complexo **4** foi sintetizado através da reação do ligante Tia **F** com o precursor cloridotrietilfosfinouro(I) previamente solubilizados em diclorometano por 6 horas.

AuTet **4**

Fórmula molecular: $[C_{20}H_{36}NPS_2Au]Cl$

Massa molar: $617,1 \text{ g mol}^{-1}$

Características físicas: sólido amarelo claro

P.F.: $112 - 113^\circ \text{ C}$

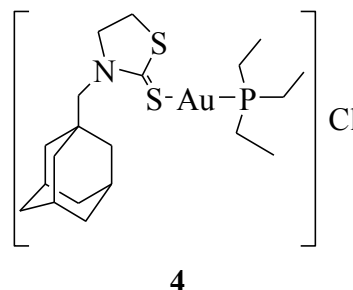
Análise elementar (%):

Calculado C = 38,87; H = 5,87; N = 2,27

Encontrado C = 38,92; H = 5,41; N = 2,09

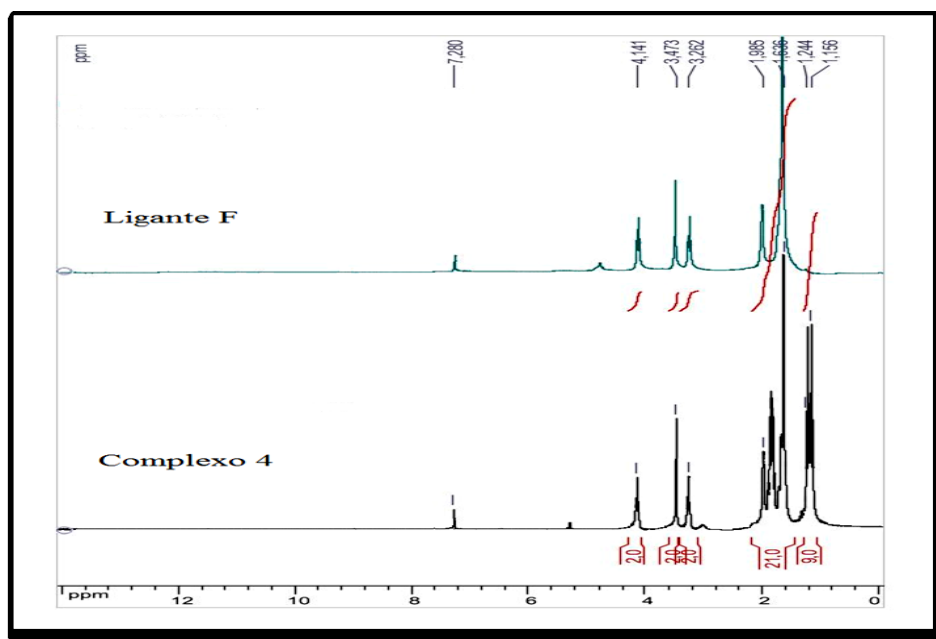
MS (MALDI): $m/z [C_{20}H_{36}NPS_2Au]^+$

$[M]^+$ Calculado: 582,6; Encontrado: 582,4.



A **Figura 46** representa os espectros de RMN de 1H do ligante **F** (Tia) e do complexo **4** ambos em $CDCl_3$. Onde é possível ver os sinais dos 9 hidrogênios CH_3 da trietilfosfina entre 1,1 e 1,2 ppm e também os sinais dos 21 hidrogênios CH_2 e CH entre 1,6 e 1,9 ppm. Observam-se também mais três sinais: 3,4 ppm (2H do CH_2 ligado ao anel do adamantano) e dois tripletos em 3,2 e 4,1 ppm (2H, CH_2 ligados ao nitrogênio e oxigênio respectivamente).

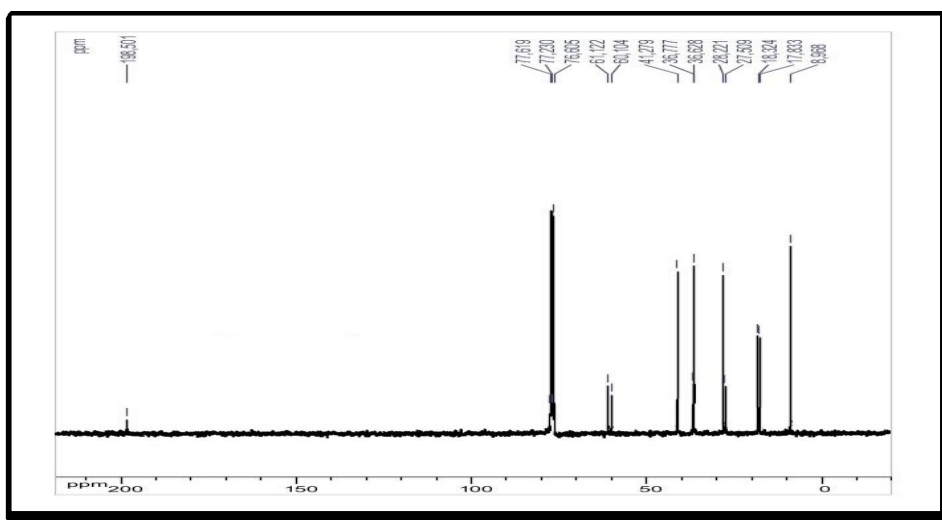
Figura 46 – Espectro de RMN de 1H do ligante **F** e do complexo **4** ($CDCl_3$, 300MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

O RMN de ^{13}C do complexo **4** pode ser visto na **Figura 47** onde observamos os sinais referentes aos carbonos da etilfosfina em 8,9 ppm (CH_3); 18,2 (d, $J(\text{C-P}) = 37$ Hz, CH_2 da PEt_3) e os sinais dos carbonos do adamantano que se encontram na região entre 27,5 e 41,2 ppm. Além dos sinais dos carbonos do anel tiazolidínico em 60,1 e 61,2 ppm, o sinal do carbono ligado ao enxofre aparece em 198,5. No RMN de ^{31}P verificamos um sinal em 33,43 ppm.

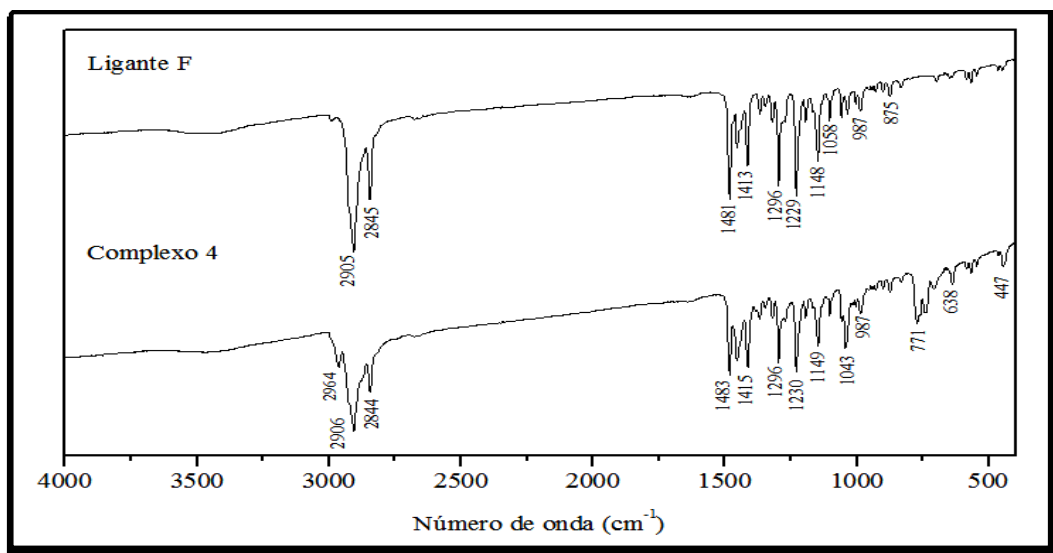
Figura 47 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **4** (CDCl_3 , 75 MHz).



Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 48** é a representação dos espectros de IV do ligante **F** (Tia) e do complexo **4**. As principais atribuições podem ser vistas na **Tabela 10**.

Figura 48 – Representação dos espectros IV do ligante **F** e do complexo **4**.



Fonte: A própria autora do trabalho.

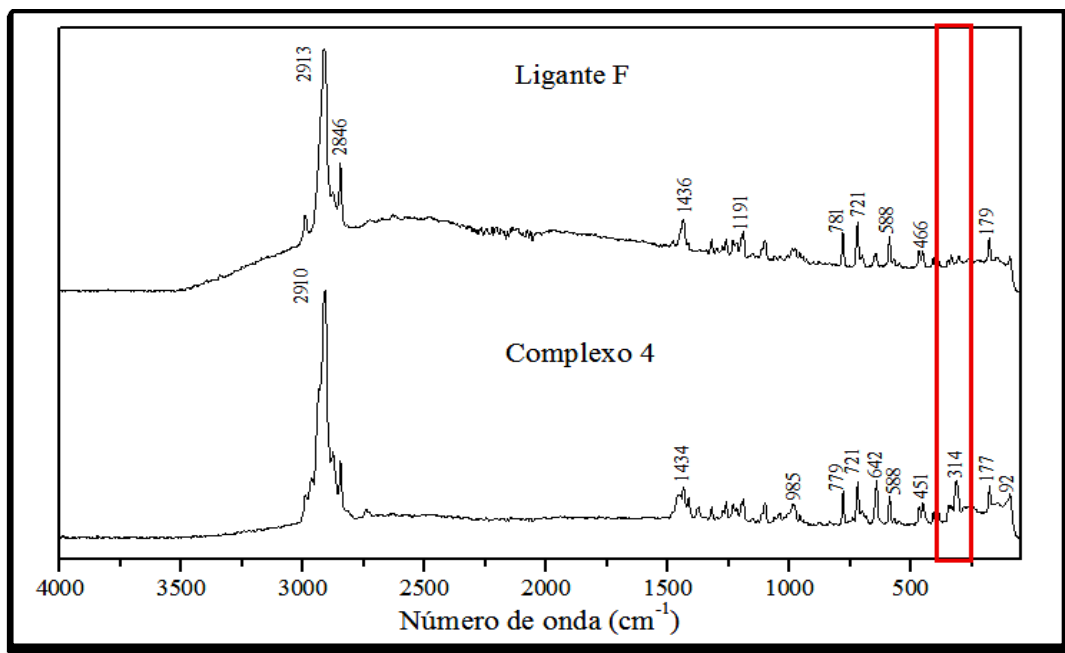
Tabela 10 – Atribuição das principais bandas do espectro de infravermelho do Ligante F e Complexo 4.

Número de onda (cm ⁻¹)		Atribuição
Ligante F (Tia)	Complexo 4	
-	2964,1149	v C-H(trietilfosfina)
2905	2906	v CH ₂ (do anel adamantano)
2845	2844	v C-H (do anel adamantano)
1481,1413	1483, 1415	δCH ₂
1296, 1229	1296, 1230	v C=S, vCN
-	771	Grupo etila (deformação angular “rocking”)

Fonte: A própria autora do trabalho.

A **Figura 49** é a representação dos espectros Raman do ligante F e do complexo 4. É possível ver na figura o surgimento da banda em 314 cm⁻¹ atribuída a ligação Au-S confirmando a complexação neste sítio de ligação.

Figura 49 – Representação dos espectros Raman do ligante F e do complexo 4.



Fonte: A própria autora do trabalho.

As diversas técnicas físico-químicas apresentadas corroboram para a caracterização dos compostos sintetizados. Para os intermediários e os ligantes, todos os métodos utilizados

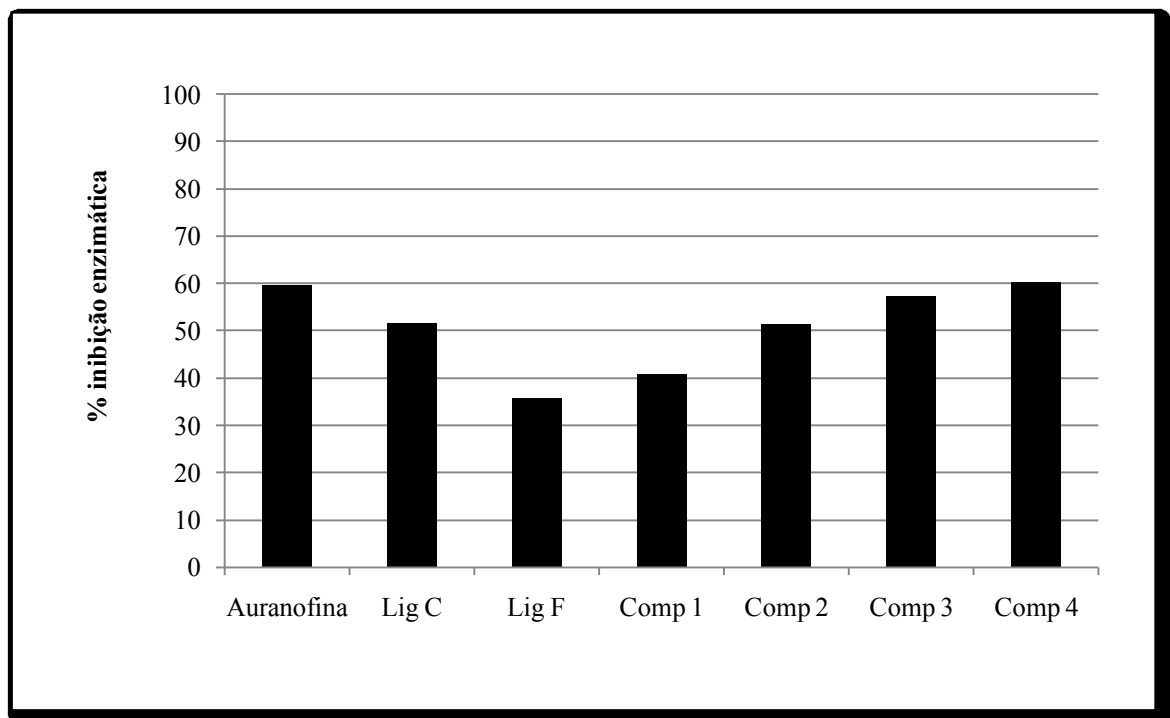
obtiveram resultados satisfatórios, sendo possível visualizar significativas mudanças nos espectros à medida que as etapas da síntese ocorriam. Para os complexos **1** e **2** derivados do oxadiazol, a mudança na forma tautomérica do ligante **C** de tiona para tiol após a complexação evidencia a coordenação ao átomo de ouro. A espectrometria de massas confirmou a estrutura proposta, na qual estes complexos são neutros, observando o pico do íon molecular m/z $[C_{30}H_{30}N_2OPSAu][M + H]^+$ (calculado: 695,6; encontrado: 695,5) para o complexo **1** e m/z $[C_{18}H_{30}N_2OPSAu][M + H]^+$ para o complexo **2** (calculado: 551,4; encontrado: 551,3). Enquanto que para os complexos **3** e **4**, derivados da tiazolidina, não ocorreram mudanças nos espectros em relação ao ligante e a espectrometria de massas foi fundamental para confirmar a estrutura iônica destes complexos, onde observamos a presença do pico do íon molecular m/z $[C_{32}H_{36}NPS_2Au]^+[M]^+$ (calculado: 726,7; encontrado: 726,5) para o complexo **3** e m/z $[C_{20}H_{36}NPS_2Au]^+[M]^+$ (calculado: 582,6; encontrado: 582,4) para o complexo **4**, comprovando a estrutura proposta, na qual os complexos com tiazolidina são carregados positivamente e teriam um cloro como contra-íon. A presença do cloro também foi confirmada pela análise elementar, onde as porcentagens de C, N e H encontradas correspondem a porcentagem calculada para as fórmulas moleculares $[C_{32}H_{36}NPS_2Au]Cl$ massa molar: 761,1 g mol⁻¹ para o complexo **3** e $[C_{20}H_{36}NPS_2Au]Cl$ massa molar: 617,1 g mol⁻¹ para o complexo **4**.

4.3 Investigação do potencial de inibição da enzima *tiorredoxina reductase*

O teste de inibição da enzima TrxR indicou que todos os compostos apresentam capacidade de inibir parcialmente a atividade enzimática, na concentração testada (5×10^{-6} mol L⁻¹). A **Figura 50** representa o gráfico do percentual de inibição da atividade enzimática após exposição da enzima TrxR aos compostos testados (leitura em 4 minutos). No gráfico é possível observar que os complexos com trietilfosfina (**2** e **4**) inibiram de maneira mais efetiva a enzima que os seus respectivos complexos com trifetilfosfina (**1** e **3**). O ligante **C** inibiu aproximadamente 50% da atividade enzimática, o ligante **F** inibiu 35%. Após complexação, os complexos **1** (40%) e **2** (51%) derivados do ligante **C** foram menos ativos que os complexos **3** (57%) e **4** (60%) que são derivados do ligante **F**. Foi utilizada como referencia a Auranofina, cuja capacidade de inibição da enzima na concentração testada foi de, aproximadamente, 60%. As porcentagens de inibição dos complexos **3** e **4** indicam que os

mesmos são tão eficientes em inibir a TrxR quanto a Auranofina, sugerindo que ambos apresentem mecanismos de ação semelhantes ou que envolvam alvos em comum segundo a metodologia empregada.

Figura 50 – Percentual de inibição enzimática após exposição da TrxR aos compostos testados.



Fonte: A própria autora do trabalho.

4.4 Teste de citotoxicidade

A atividade citotóxica dos compostos foi avaliada em comparação com a Cisplatina e a Auranofina em três linhagens de células tumorais diferentes (B16-F10, CT26, 4T1) e em uma linhagem de célula normal (BHK-21, rim de hamster) que foi utilizada para avaliar o índice de seletividade (IS). Os valores de CI_{50} foram calculados a partir das curvas de dose x resposta, obtidas após 72 horas de exposição aos compostos, através do teste MTT. A **Tabela 11** apresenta estes resultados.

Tabela 11 – CI_{50} - Concentração Inibitória de 50% do Crescimento Celular ($\mu\text{M} \pm \text{SD}^*$).

	Células tumorais						Célula normal
	B16-F10	IS**	CT26-WT	IS**	4T1	IS**	BHK21
Ligante C	>100	na	55,0 ± 17	na	>100	na	>100
Complexo 1	5,7 ± 0,5	3,2	5,7 ± 0,9	3,2	6,6 ± 0,5	2,8	18,5 ± 2,9
Complexo 2	1,2 ± 0,2	4,5	1,8 ± 0,8	3,0	1,6 ± 0,5	3,4	5,5 ± 0,1
Ligante F	9,0 ± 0,6	1,9	34,2 ± 0,9	0,5	30,9 ± 3,2	0,5	17,2 ± 6,7
Complexo 3	1,8 ± 0,5	3,8	1,8 ± 0,3	3,8	3,0 ± 1,8	2,3	6,9 ± 0,8
Complexo 4	1,0 ± 0,1	5,8	0,9 ± 0,1	6,4	1,1 ± 0,2	5,3	5,8 ± 0,1
AuCIPPh₃	6,6 ± 0,1	3,4	12,1 ± 2,8	1,9	10,3 ± 2,3	2,2	23,0 ± 0,3
AuCIPEt₃	2,3 ± 0,5	9,7	9,0 ± 0,7	2,5	9,5 ± 1,1	2,4	22,5 ± 0,2
Auranofina	0,5 ± 0,4	3,2	0,5 ± 0,4	3,2	0,6 ± 0,2	2,7	1,6 ± 0,5
Cisplatina	33,5 ± 5,5	0,5	5,0 ± 1,7	3,6	6,2 ± 2,5	2,9	18,1 ± 10,9

*Resultados baseados em quadruplicatas de 2 experimentos independentes.

**IS: índice de seletividade.

Fonte: A própria autora do trabalho.

Todos os complexos de ouro foram mais ativos e seletivos que seus respectivos ligantes nas linhagens celulares testadas. Em geral, complexos derivados do oxadiazol foram até 80 vezes mais ativos do que o ligante ao passo que os complexos de tiazolidina mostraram-se até 38 vezes mais ativo do que o ligante livre. Os complexos de tiazolidina também foram mais ativos do que os complexos com oxadiazol. Estes resultados podem ser explicados pela atividade já apresentada pelo ligante livre. Comparando os diferentes ligantes fosfínicos, os complexos (2) e (4) com trietilfosfina foram mais ativos do que os seus análogos(1) e (3), com trifetilfosfina. Todos os complexos foram mais eficientes e seletivos do que a cisplatina para a linhagem de células de melanoma metastático (B16-F10). Para CT26-WT (carcinoma de cólon), os complexos de (3) e (4) foram mais ativos ($CI_{50} = 1,8 \pm 0,3 \mu\text{M}$ e $CI_{50} = 0,9 \pm 0,1 \mu\text{M}$, respectivamente) do que a cisplatina ($CI_{50} = 5,0 \pm 1,7 \mu\text{M}$). Para adenocarcinoma metastático de mama (4T1) os complexos com trietilfosfina (2) ($CI_{50} = 1,6 \pm 0,5 \mu\text{M}$) e (4) ($CI_{50} = 1,1 \pm 0,2 \mu\text{M}$) mostraram melhores resultados que a cisplatina ($CI_{50} = 6,2 \pm 2,5 \mu\text{M}$), até mesmo para a seletividade. O complexo (4) que é uma combinação dos ligantes alquil-fosfina e tiazolidina apresentou valores de CI_{50} próximos a Auranofina, no entanto teve maior seletividade para as linhagens de células utilizadas mostrando-se o mais promissor entre os compostos sintetizados.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram sintetizados 2 ligantes derivados do adamantano e quatro novos complexos de ouro(I) a partir destes ligantes. As estruturas dos compostos foram propostas com base em dados de análise elementar, espectrometria de massas, espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman, ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , além da difração de raios X por monocristal para os ligantes e para o complexo **1**.

Todos os compostos foram avaliados frente a três linhagens tumorais B16-F10, CT26-WT e 4T1 e a linhagem não tumoral BHK21. Os compostos foram mais citotóxicos que seus ligantes livres, o que indica que a complexação com ouro(I) favoreceu a ação sobre as células tumorais. Observou-se que os complexos foram mais seletivos que a cisplatina utilizada como droga de referência e o complexo **4** apresentou resultados de seletividade superior aos da Auranofina para as linhagens utilizadas.

O estudo do potencial de inibição da enzima *tiorredoxina redutase* revelou que complexos com trietilfosfina são mais ativos contra a TrxR que seus análogos com trifetilfosfina. Os complexos **3** e **4** que contem o anel tiazolidínico, foram mais ativos que os complexos **1** e **2** com oxadiazol. E o complexo **4** alcançou porcentagem de inibição enzimática semelhante a da Auranofina.

Por fim, este trabalho permitiu o desenvolvimento de novos compostos com potencial atividade biológica, abrindo novas perspectivas na área da química dos complexos de ouro(I) contendo ligantes derivados do adamantano com heterociclos e fosfinas terciárias. Contribuindo também para a confirmação do mecanismo de ação desta classe de compostos uma vez que podemos notar uma relação entre a maior capacidade de inibição da enzima TrxR e a citotoxicidade, fato exemplificado claramente pelo complexo **4** que foi o mais ativo sobre as células tumorais testadas e também sobre a enzima *tiorredoxina redutase*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; MONTANARI, C. A. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v.28, n.1, p.118-129, 2005.

ARNER, E. S. J.; HOLMGREN, A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxinreductase. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 20, p. 6102-6109, 2000.

BARAN, E. J.; TOBON-ZAPATA, G. E.; ETCHEVERRY, S. B. Infrared and electronic spectra of Auranofin. **SpectrochimicaActa Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 55, n. 7-8, p. 1569-1573, 1999.

BARNARD, P. J.; BERNERS-PRICE, S. J. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, n. 13-14, p. 1889-1902, 2007.

BEKTAS, H. et al. Antimicrobial and antiurease activities of newly synthesized morpholine derivatives containing an azole nucleus. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 8, p. 3629-3639, 2013.

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

BRUNO, G. et al. Peculiar electronic and vibrational properties of metal-dithiolenes (Ni, Au) based on 1,2,5-thiadiazole-3,4-dithiolato. **Dalton Transactions**, n. 3, p. 495-503, 2009.

CHAVES, J. D. S. et al. Synthesis and cytotoxic activity of gold(I) complexes containing phosphines and 3-benzyl-1,3-thiazolidine-2-thione or 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione as ligands. **InorganicaChimicaActa**, v. 414, p. 85-90, 2014.

DELAUNAY, D.; TOUPET, L.; LECORRE, M. Reactivity of beta-amino alcohols with carbon-disulfide – Study on the synthesis of 2-oxazolidinethiones and 2-thiazolidinethiones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 20, p. 6604-6607, 1995.

FLOREA, A.-M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. **Cancers**, v. 3, n. 1, p. 1351-1371, 2011.

FONTES, A. P. S.; ALMEIDA, S. G. D. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, v. 20 (4), p. 398-406, 1997.

FREZZA, M. et al. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 16, p. 1813-1825, 2010.

FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Transactions**, n. 43, p. 4903-4917, 2007.

FRITZ-WOLF, K.; URIG, S.; BECKER, K. The structure of human thioredoxin reductase 1 provides insights into C-terminal rearrangements during catalysis. **Journal of Molecular Biology**, v. 370, n. 1, p. 116-127, 2007.

GOTTESMAN, M. M. Mechanisms of cancer drug resistance. **Annual Review of Medicine**, v. 53, p. 615-627, 2002.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. **Journal of Organic Chemistry**, v. 62, n. 21, p. 7512-7515, 1997.

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

HORVAT, M. et al. Evaluation of Antiproliferative Effect of N-(alkyladamantyl)phthalimides In vitro. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 79, n. 4, p. 497-506, 2012.

HOWELL, J. A. S. DFT investigation of the interaction between gold(I) complexes and the active site of thioredoxin reductase. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, n. 6, p. 868-873, 2009.

INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2014. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>>. Acessado em: 10/01/2015.

KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 8, p. 573-584, 2007.

LIU, C. et al. Enhancement of Auranofin-Induced Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cells by Selenocystine, a Synergistic Inhibitor of Thioredoxin Reductase. **Plos One**, v. 8, n. 1, 2013.

MADEIRA, J. M. et al. The biological activity of auranofin: implications for novel treatment of diseases. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 297-306, 2012.

MANJUNATHA, K. et al. Synthesis and biological evaluation of some 1,3,4-oxadiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 5225-5233, 2010.

MARCHETTI, P. et al. The novel retinoid 6-3-(1-adamantyl)-4-hydroxyphenyl -2-naphthalene carboxylic acid can trigger apoptosis through a mitochondrial pathway independent of the nucleus. **Cancer Research**, v. 59, n. 24, p. 6257-6266, 1999.

MCKEAGE, M. J.; MAHARAJ, L.; BERNERS-PRICE, S. J. Mechanisms of cytotoxicity and antitumor activity of gold(I) phosphine complexes: the possible role of mitochondria. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1-2, p. 127-135, 2002.

MISRA, S.; DUBEY, B. L.; BAHTEL, S. C. Preparation, characterization and fungitoxicity of the Fe(III) complexes with mercapto azoles. **Revue Roumaine De Chimie**, v. 36, n. 9-10, p. 1161-1168, 1991.

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

ORTEGO, L. et al. Strong inhibition of thioredoxin reductase by highly cytotoxic gold(I) complexes. DNA binding studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 130, p. 32-37, 2014.

PILLARSETTY, N. et al. In vitro and in vivo antitumor properties of tetrakis((trishydroxymethyl)phosphine)gold(I) chloride. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 1130-1132, 2003.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. Using coordination chemistry to design new medicines. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, n. 13-14, p. 1633-1648, 2007.

RUBBIANI, R. et al. TrxR inhibition and antiproliferative activities of structurally diverse gold N-heterocyclic carbene complexes. **Medchemcomm**, v. 4, n. 6, p. 942-948, 2013.

SANGHVI, C. D. et al. Antitumor properties of five-coordinate gold(III) complexes bearing substituted polypyridyl ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 128, p. 68-76, 2013.

SCHEFFLER, H.; YOU, Y.; OTT, I. Comparative studies on the cytotoxicity, cellular and nuclear uptake of a series of chlorogold(I) phosphine complexes. **Polyhedron**, v. 29, n. 1, p. 66-69, 2010.

SINHA, R. et al. Nanotechnology in cancer therapeutics: bioconjugated nanoparticles for drug delivery. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 5, n. 8, p. 1909-1917, 2006.

SOMANI, R. R.; SHIRODKAR, P. Y. Oxadiazole: A biologically important heterocycle. **Der Pharma Chemica**, v. v.1, p. 130-140, 2009.

SUN, S. Y. et al. Augmentation of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by the synthetic retinoid 6-3-(1-adamantyl)-4-hydroxyphenyl-2-naphthalene carboxylic acid (CD437) through up-regulation of TRAIL receptors in human lung cancer cells. **Cancer Research**, v. 60, n. 24, p. 7149-7155, 2000.

SUTTON, B. M. Gold Compounds for Rheumatoid Arthritis. **Gold Bull**, v. 19, p. 15-16, 1986.

TUREL, I.; KLJUN, J. Interactions of Metal Ions with DNA, Its Constituents and Derivatives, which may be Relevant for Anticancer Research. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 21, p. 2661-2687, 2011.

WHO | Cancer mortality and morbidity. **WHO**, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/cancer/en/>. Acessado em: 10/01/2015.

APÊNDICE A – PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS.

Evento: **XVII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry (BMIC)**, agosto/2014.

Título do trabalho: **“NOVEL GOLD(I) COMPLEX WITH ADAMANTANE”**

Autores: “Adriana Garcia, Charlane Cimini Corrêa, Mauro Vieira de Almeida, Heveline Silva”.

Evento: **XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, novembro/2014.

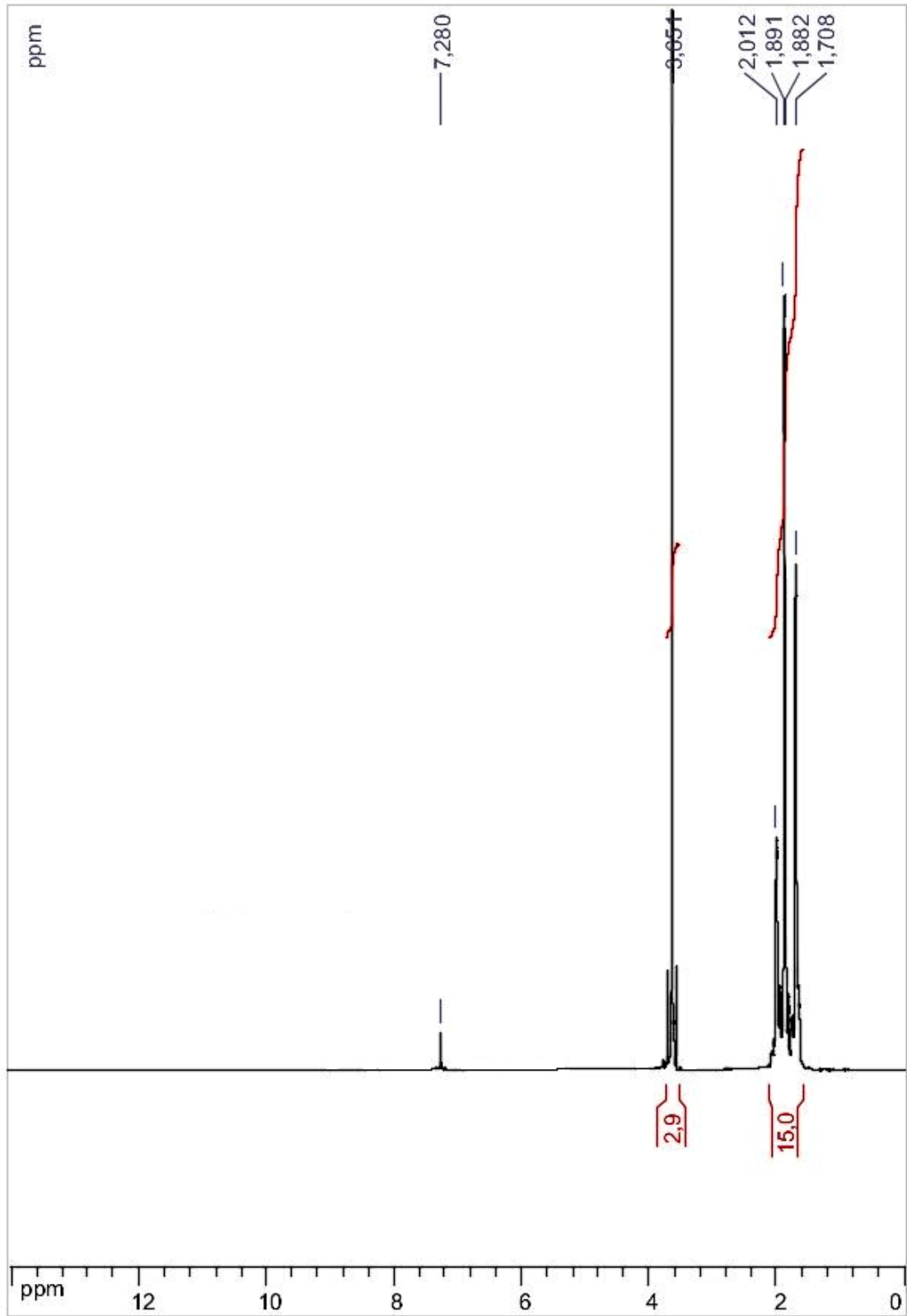
Título do trabalho: **Novo Complexo de Ouro(I) com Adamantano: síntese, estrutura cristalográfica e estudo de inibição enzimática.**

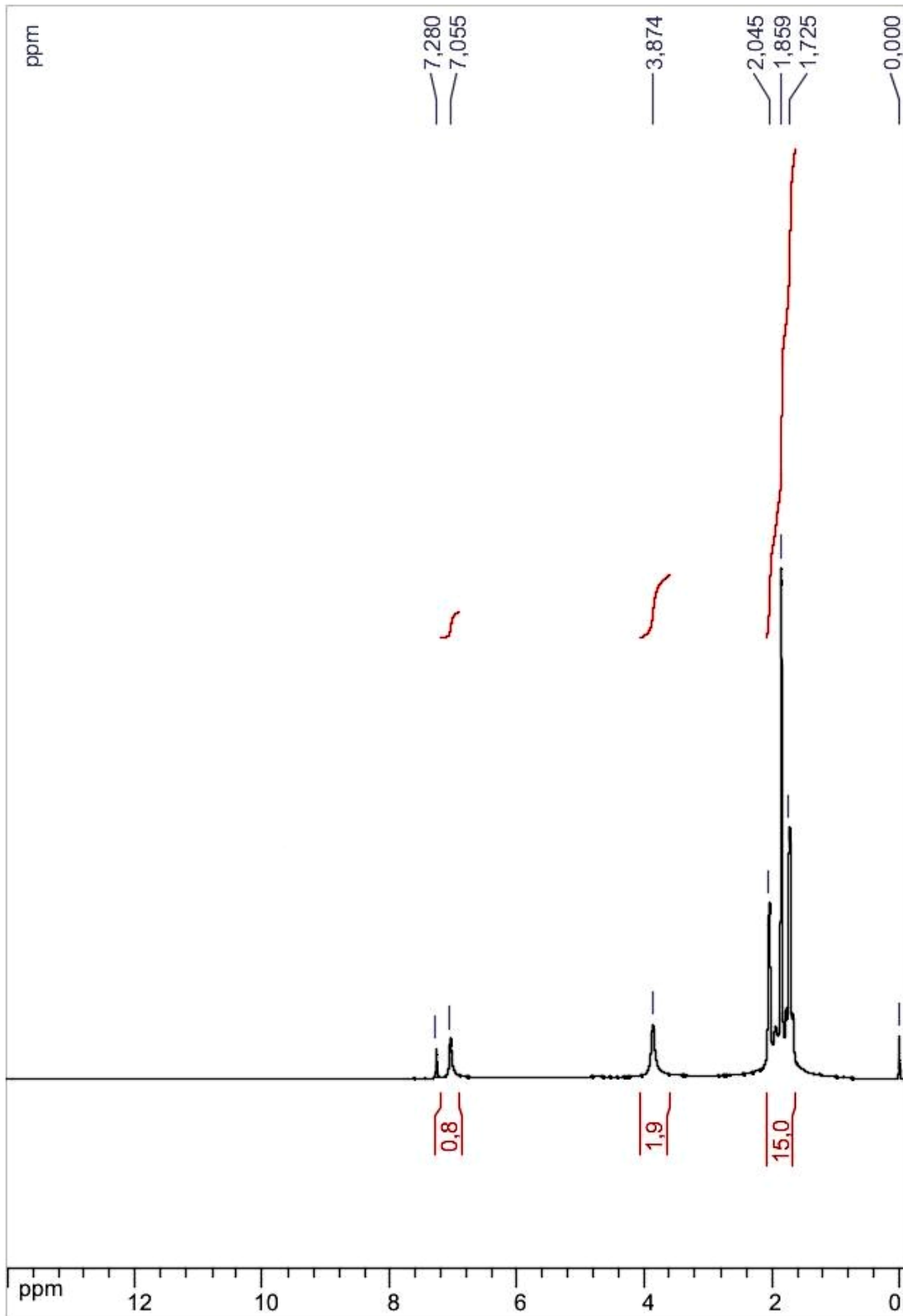
Autores: “Adriana Garcia, Charlane Cimini Corrêa, Mauro Vieira de Almeida, Heveline Silva”.

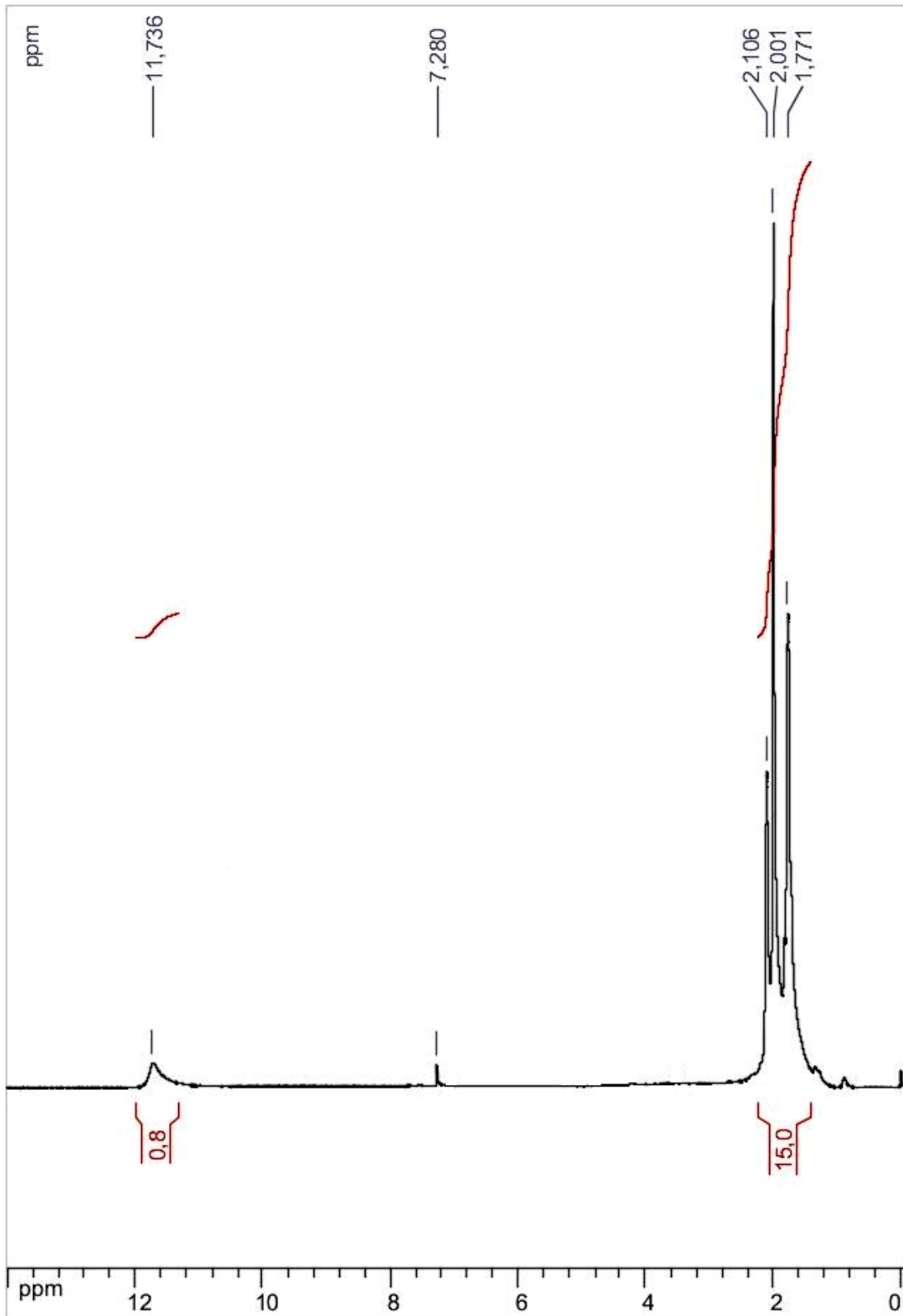
Evento: **38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, maio/2015.

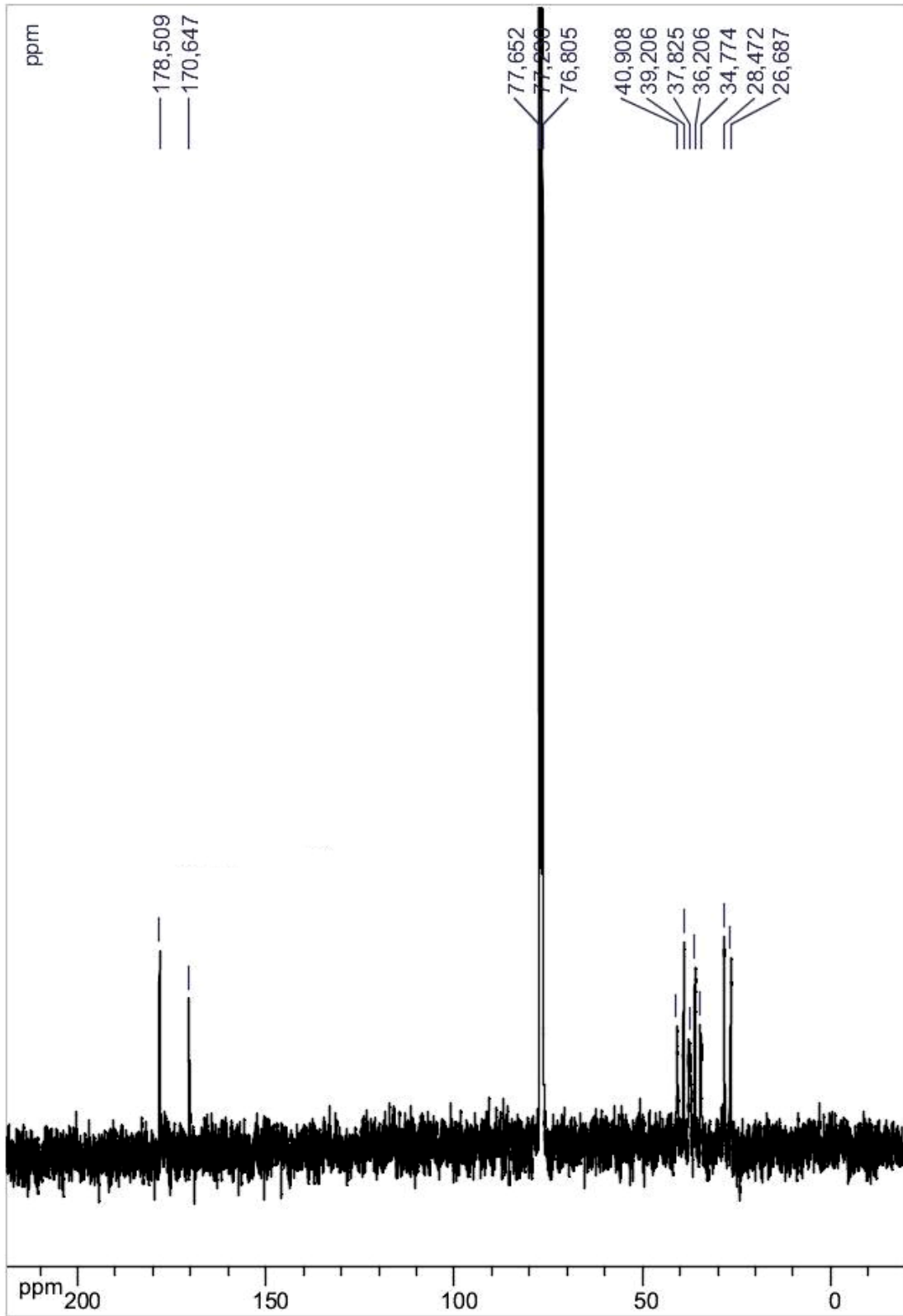
Título do trabalho: **"Novos complexos de ouro(I) com adamantano: citotoxicidade e inibição enzimática da TrxR"**

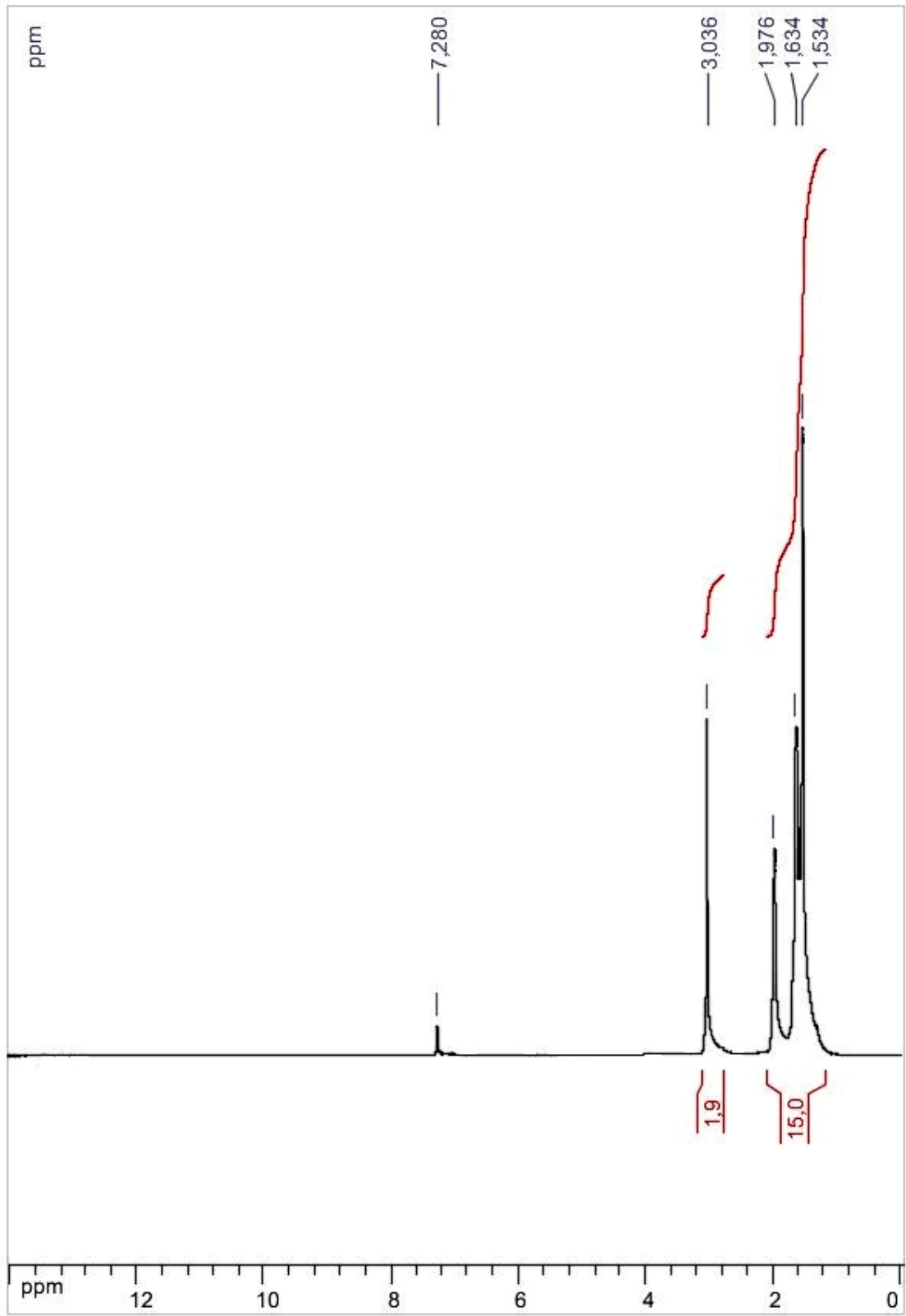
Autores: Garcia, A.; Corrêa, C. C.; Almeida, M. V.; Silva, H.

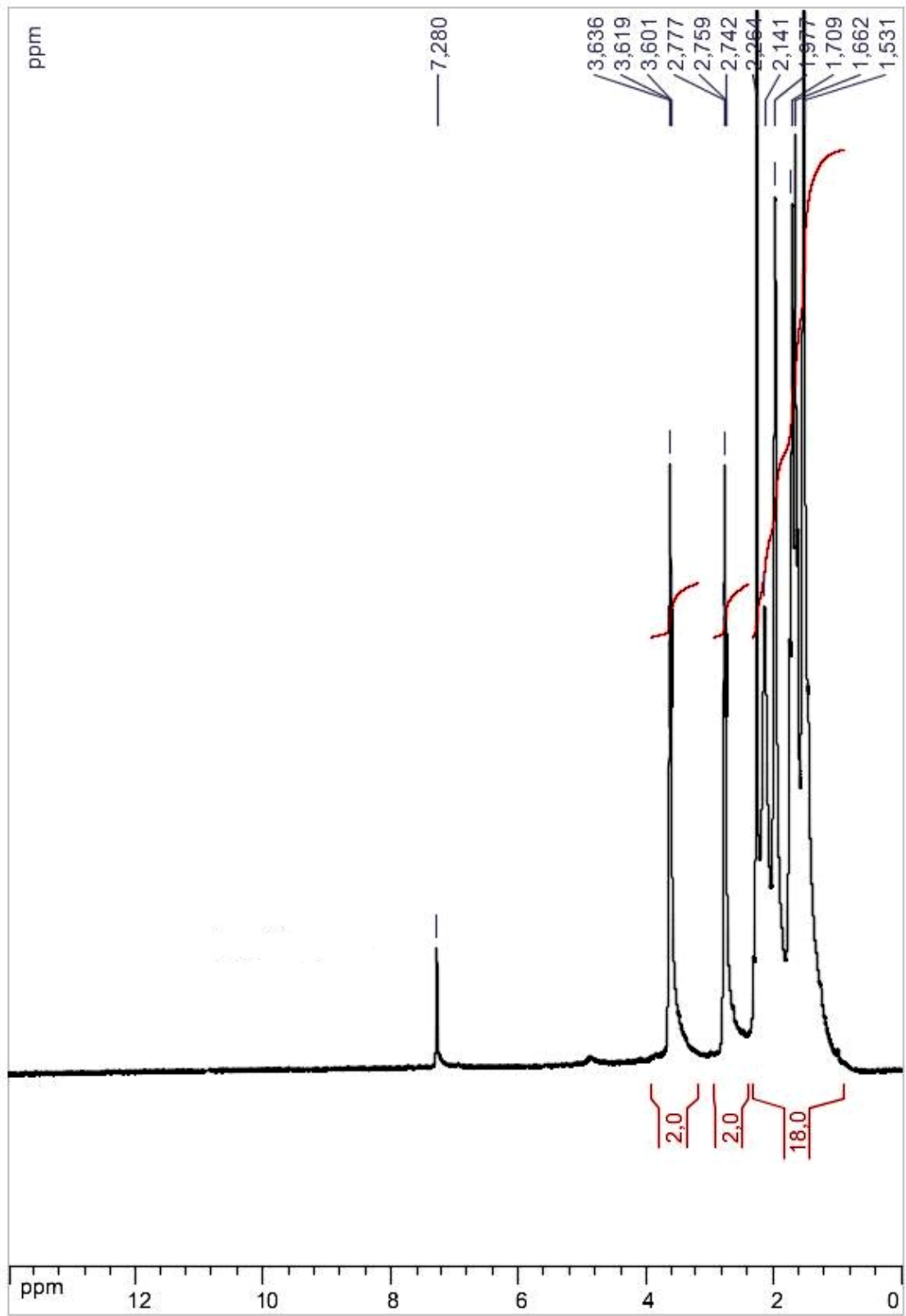
APÊNDICE B – ESPECTROS DE RMN de ^1H e ^{13}C DOS COMPOSTOSRMN ^1H Intermediário A (CDCl_3 , 300 MHz)

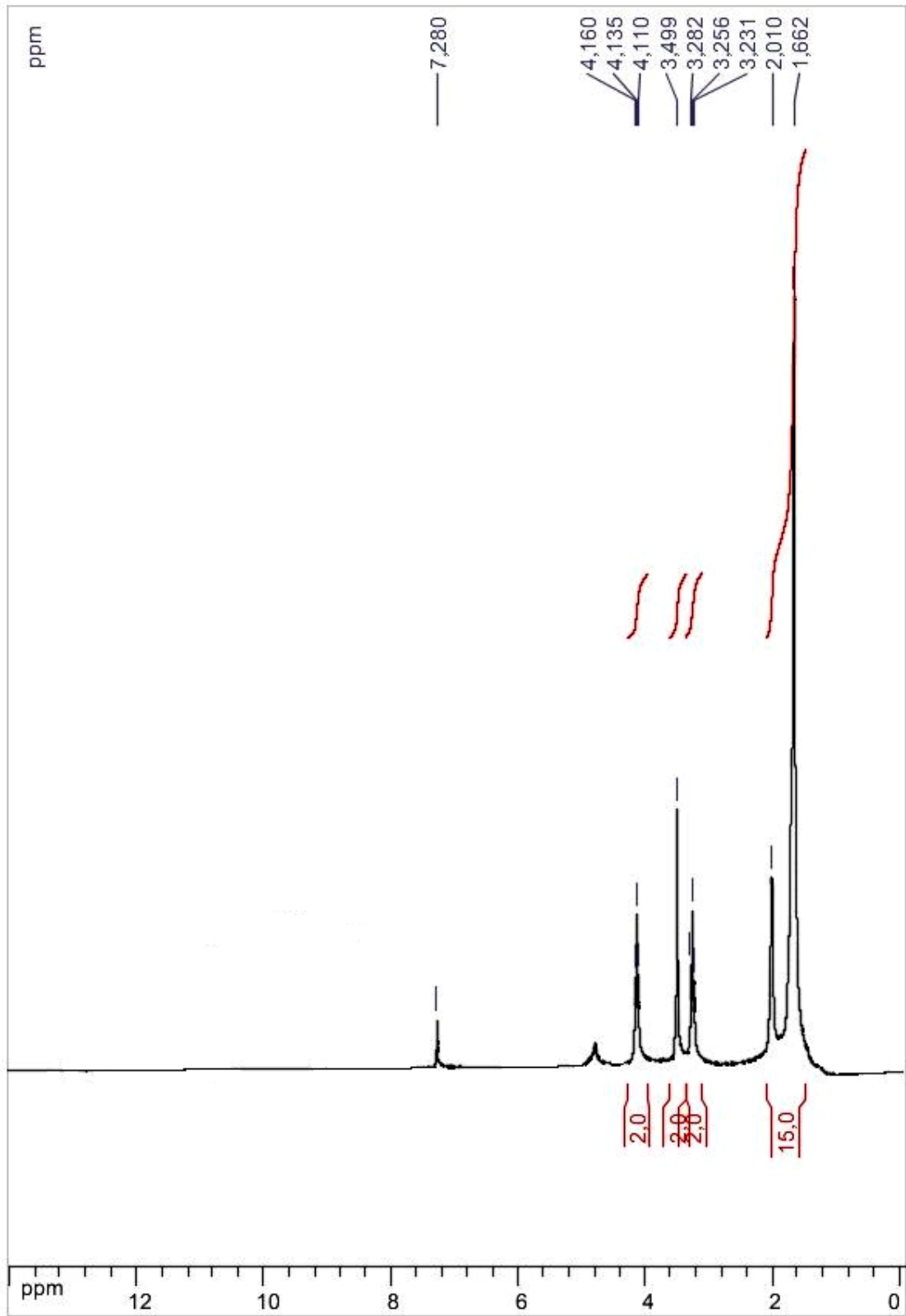
RMN ^1H Intermediário B (CDCl_3 , 300 MHz)

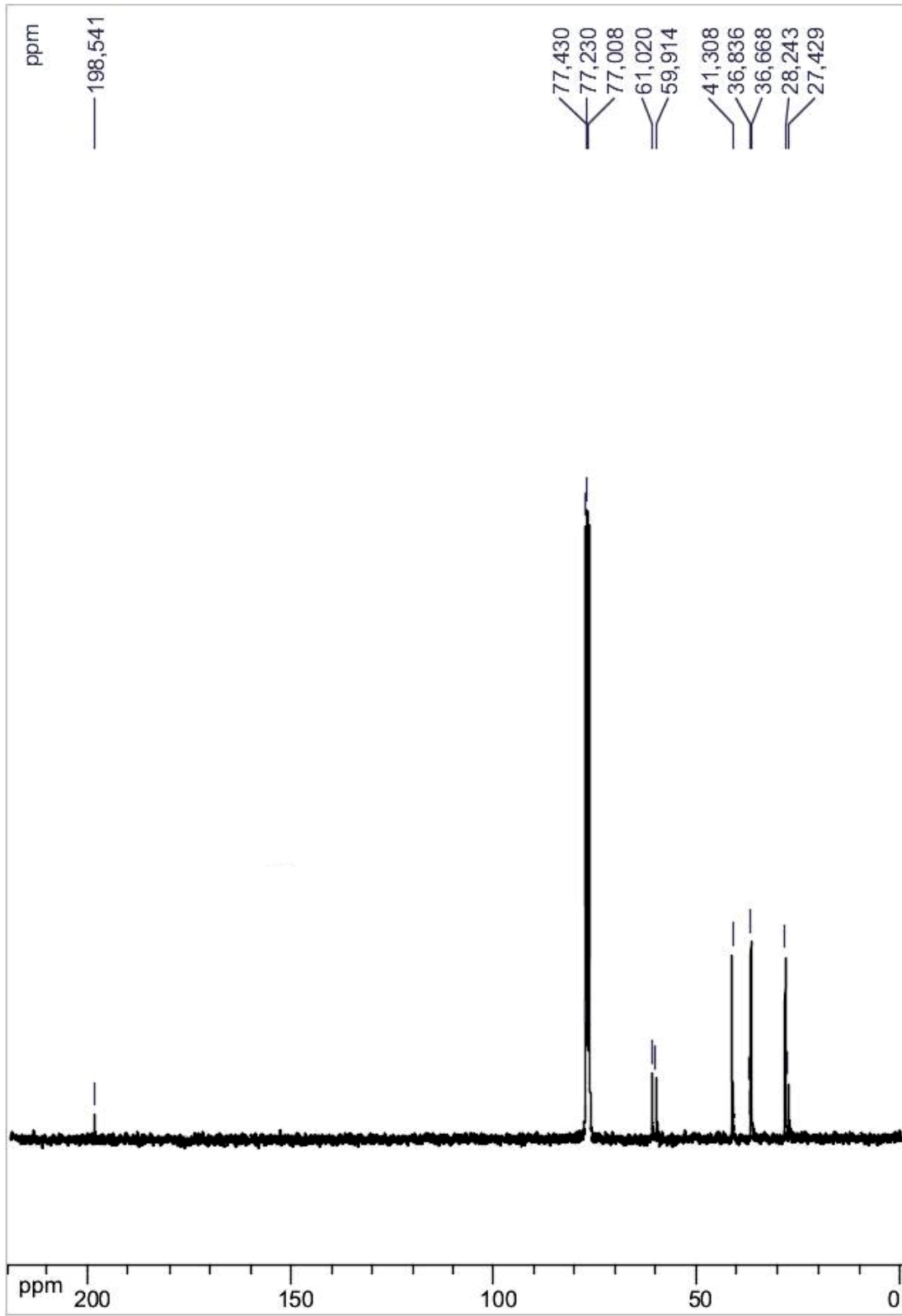
RMN ^1H Ligante C (CDCl_3 , 300 MHz)

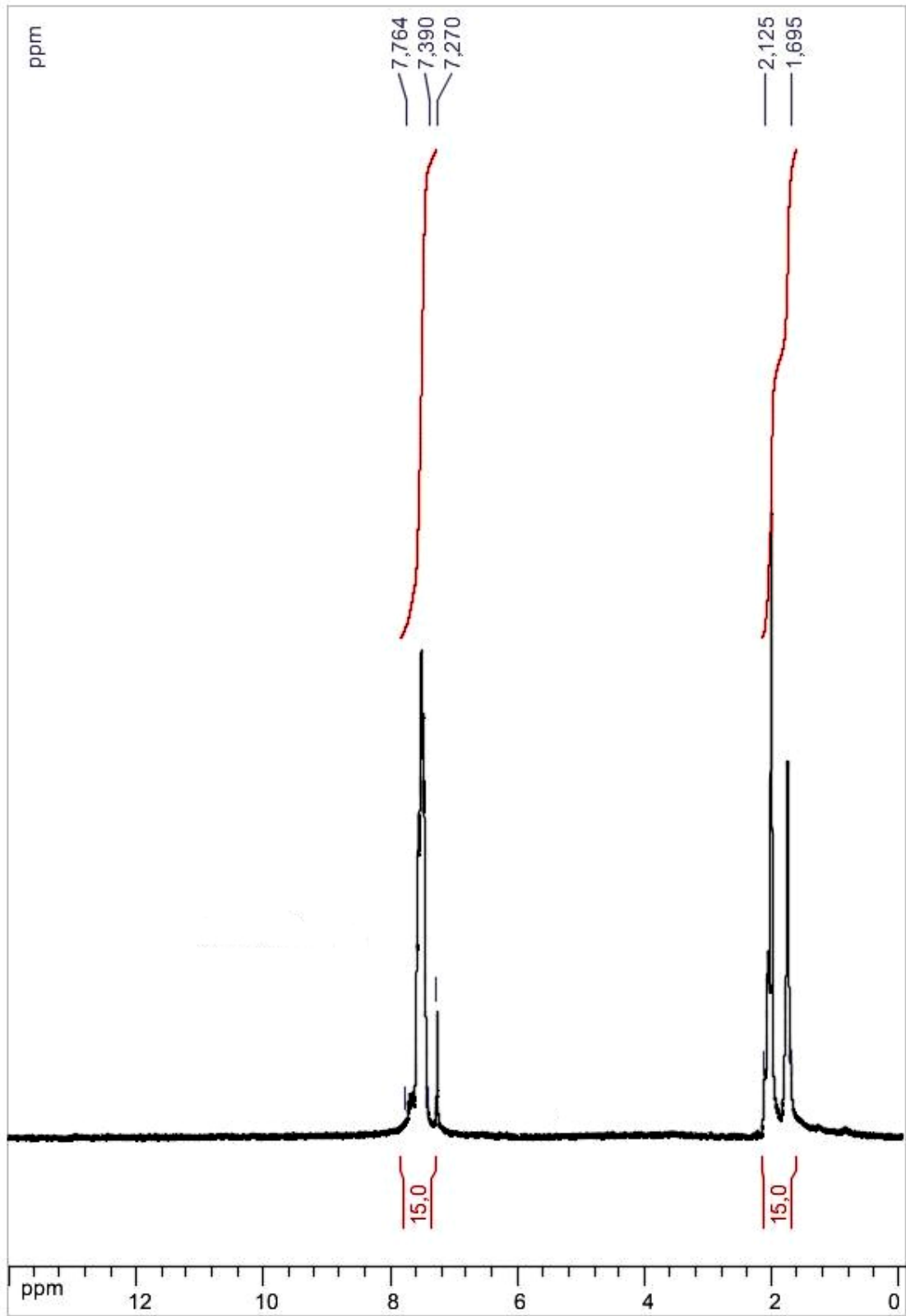
RMN ^{13}C Ligante C (CDCl_3 , 75 MHz)

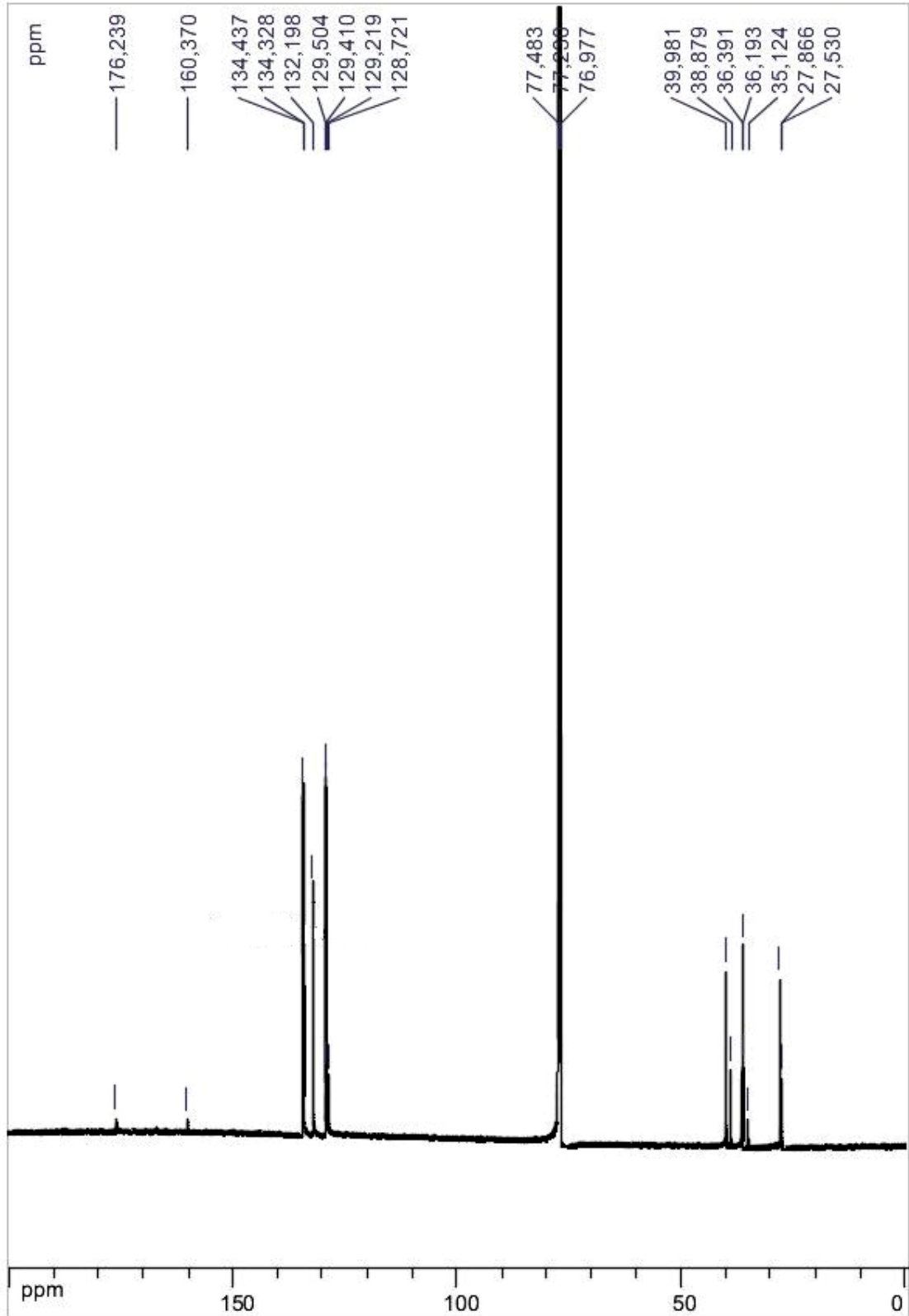
RMN ^1H Intermediário D (CDCl_3 , 300 MHz)

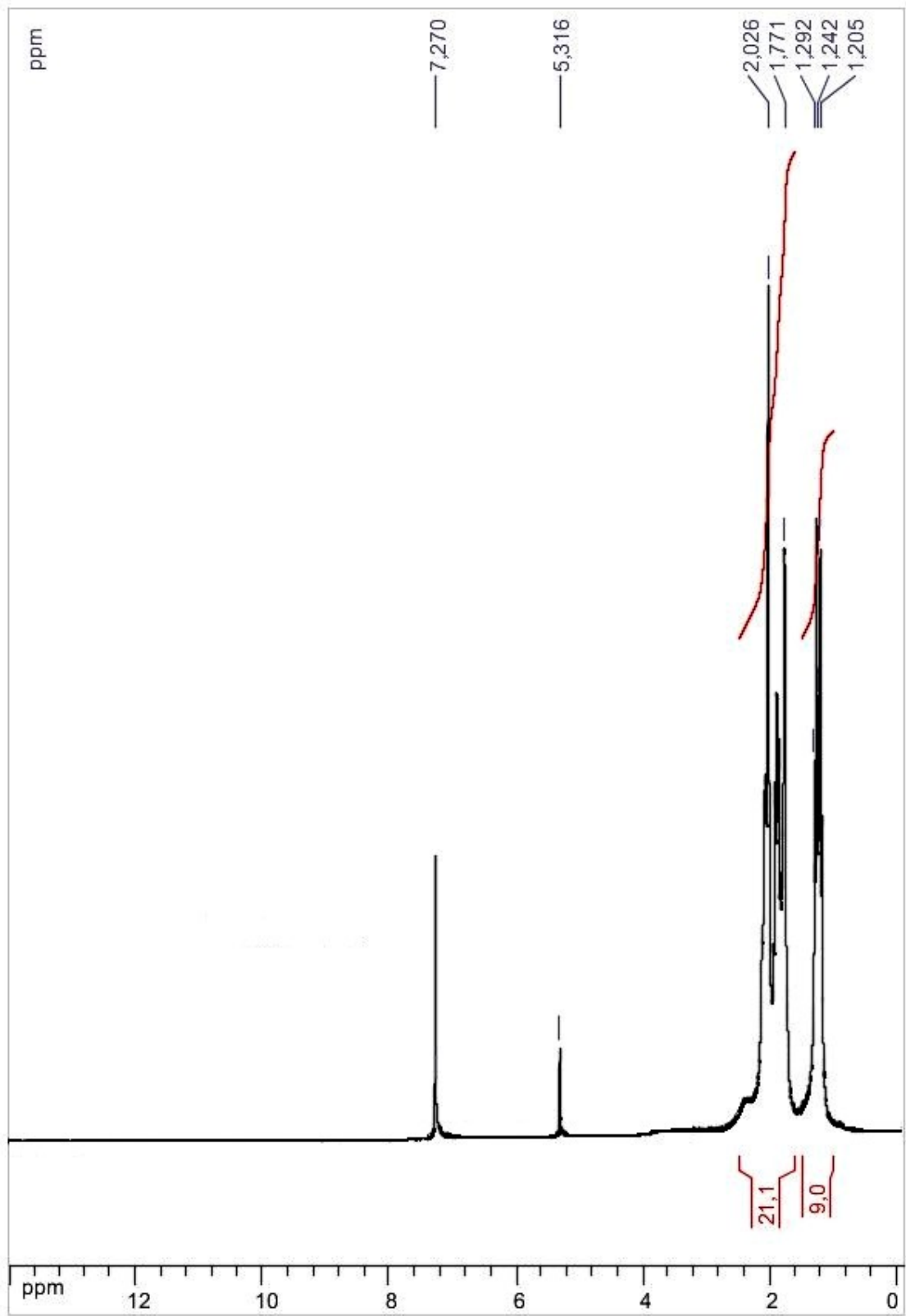
RMN ^1H Intermediário E (CDCl_3 , 300 MHz)

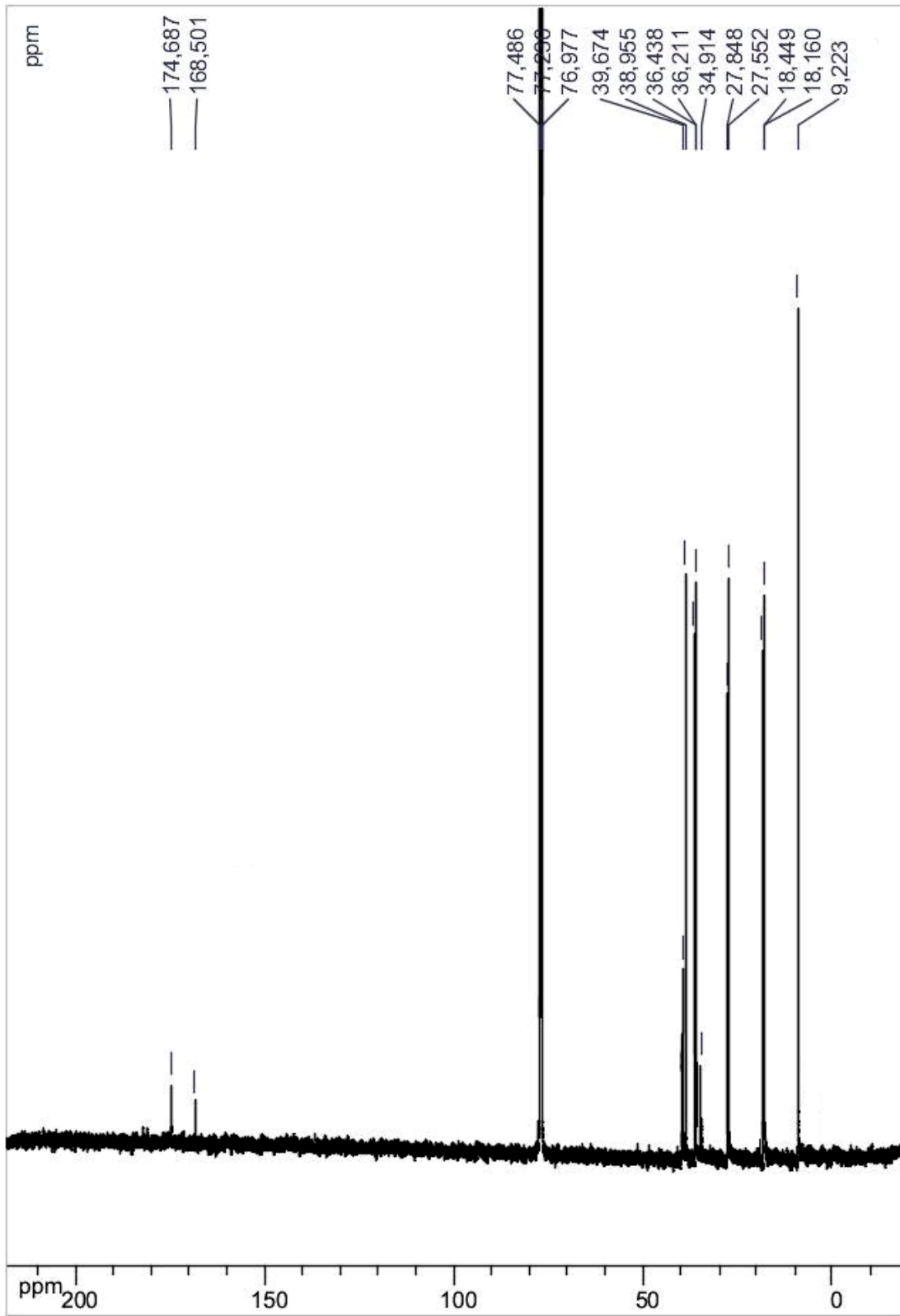
RMN ^1H Ligante F (CDCl_3 , 300 MHz)

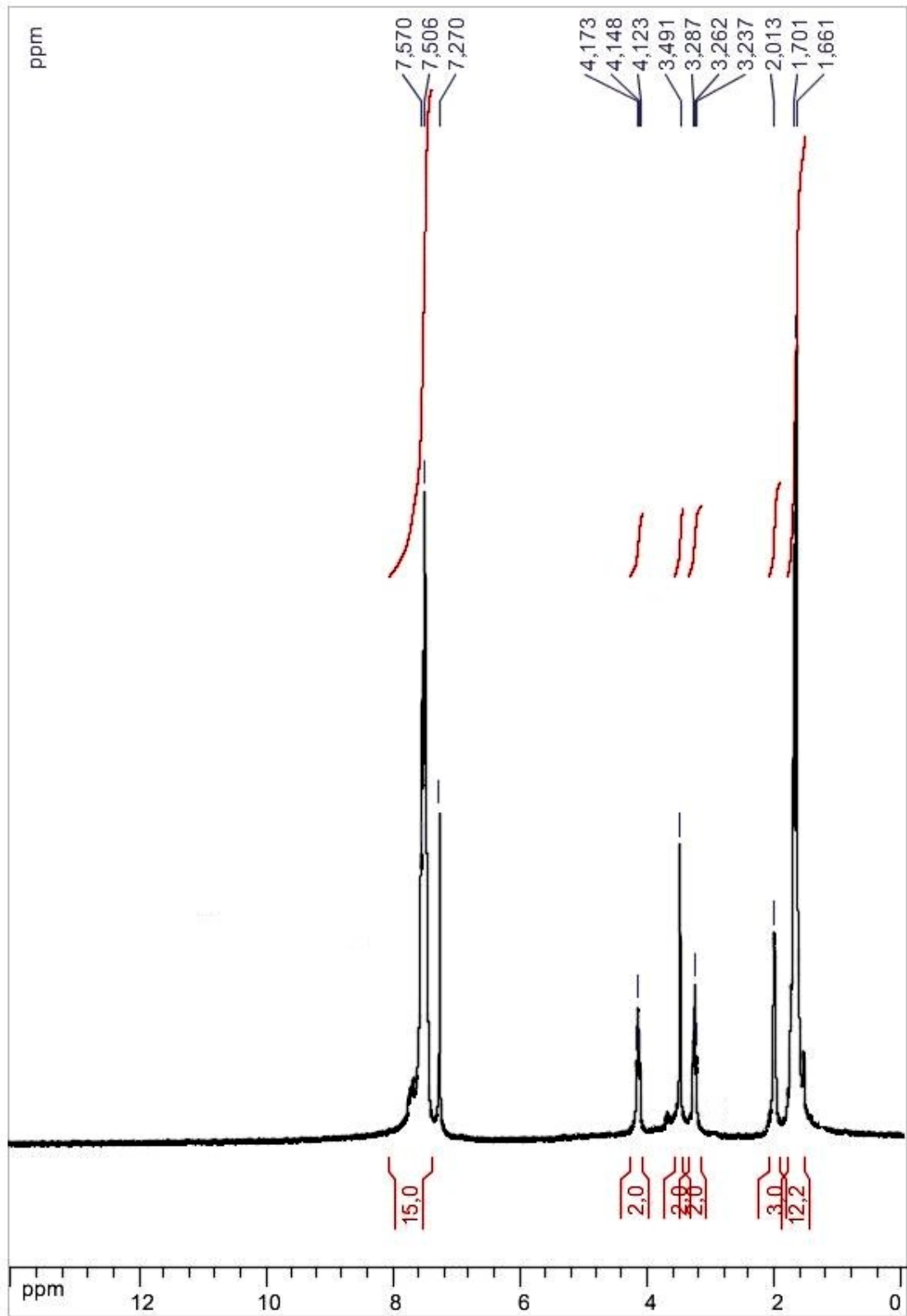
RMN ^{13}C Ligante F (CDCl_3 , 75 MHz)

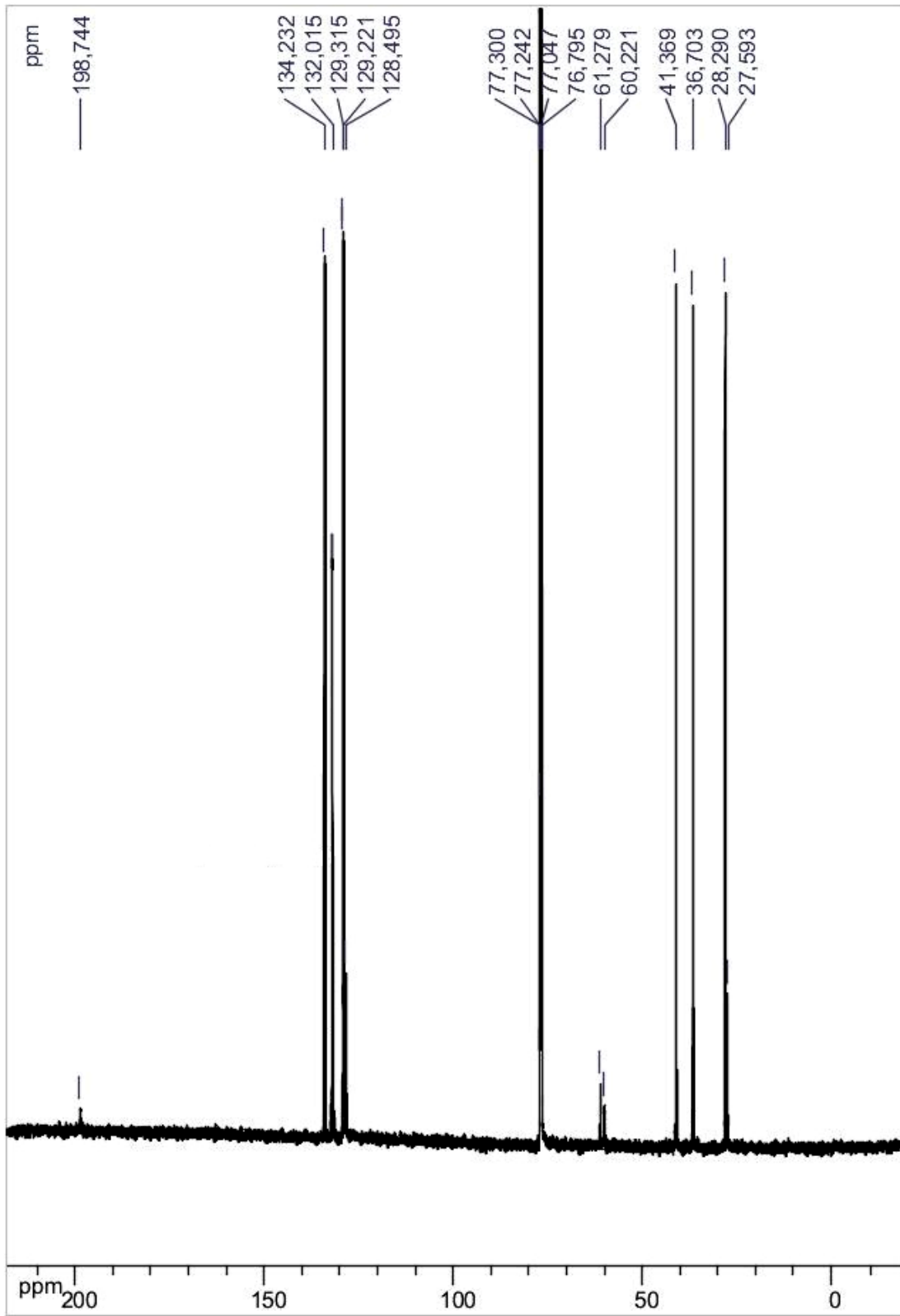
RMN ^1H Complexo 1 (CDCl_3 , 300 MHz)

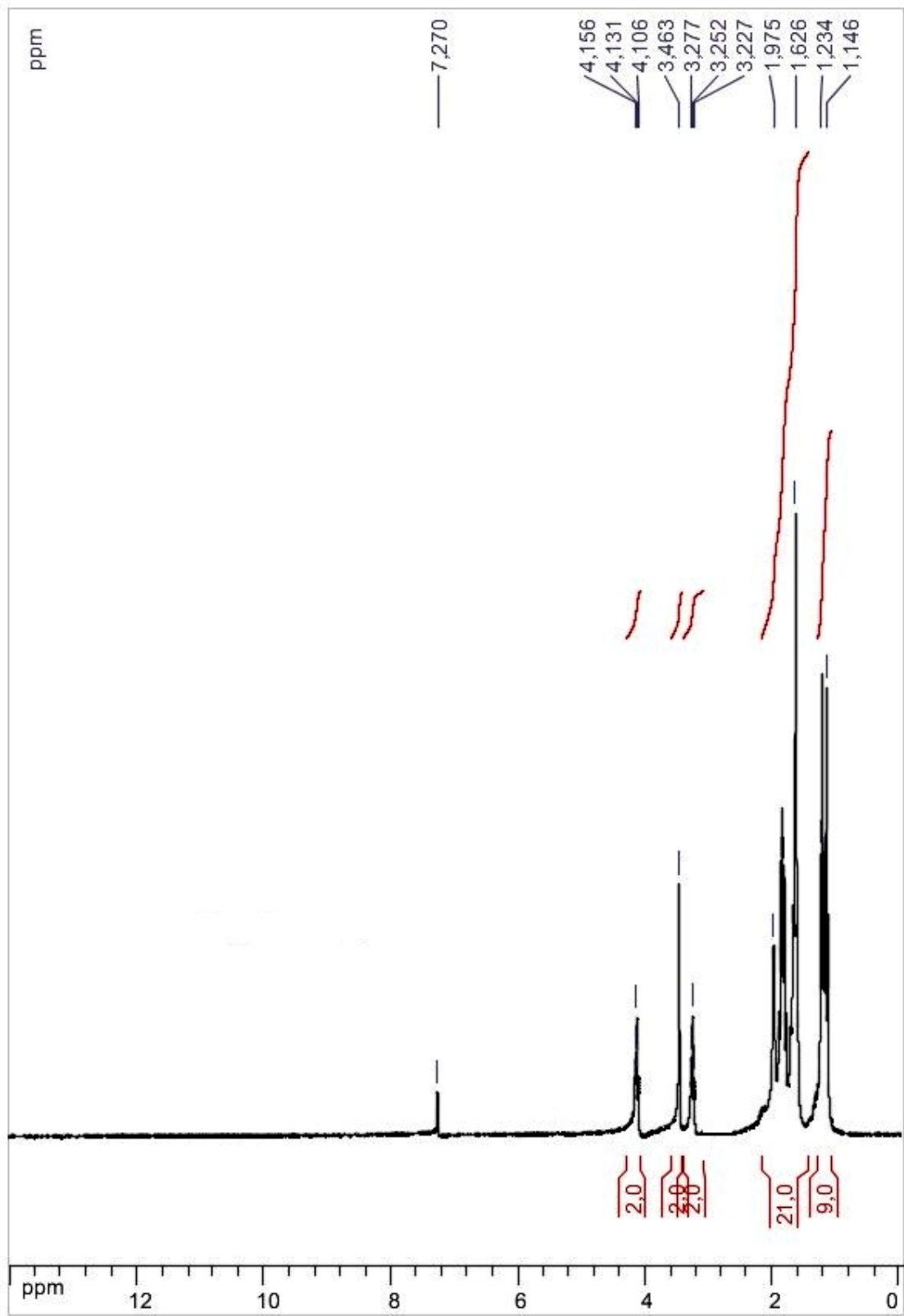
RMN ^{13}C Complexo 1 (CDCl_3 , 125 MHz)

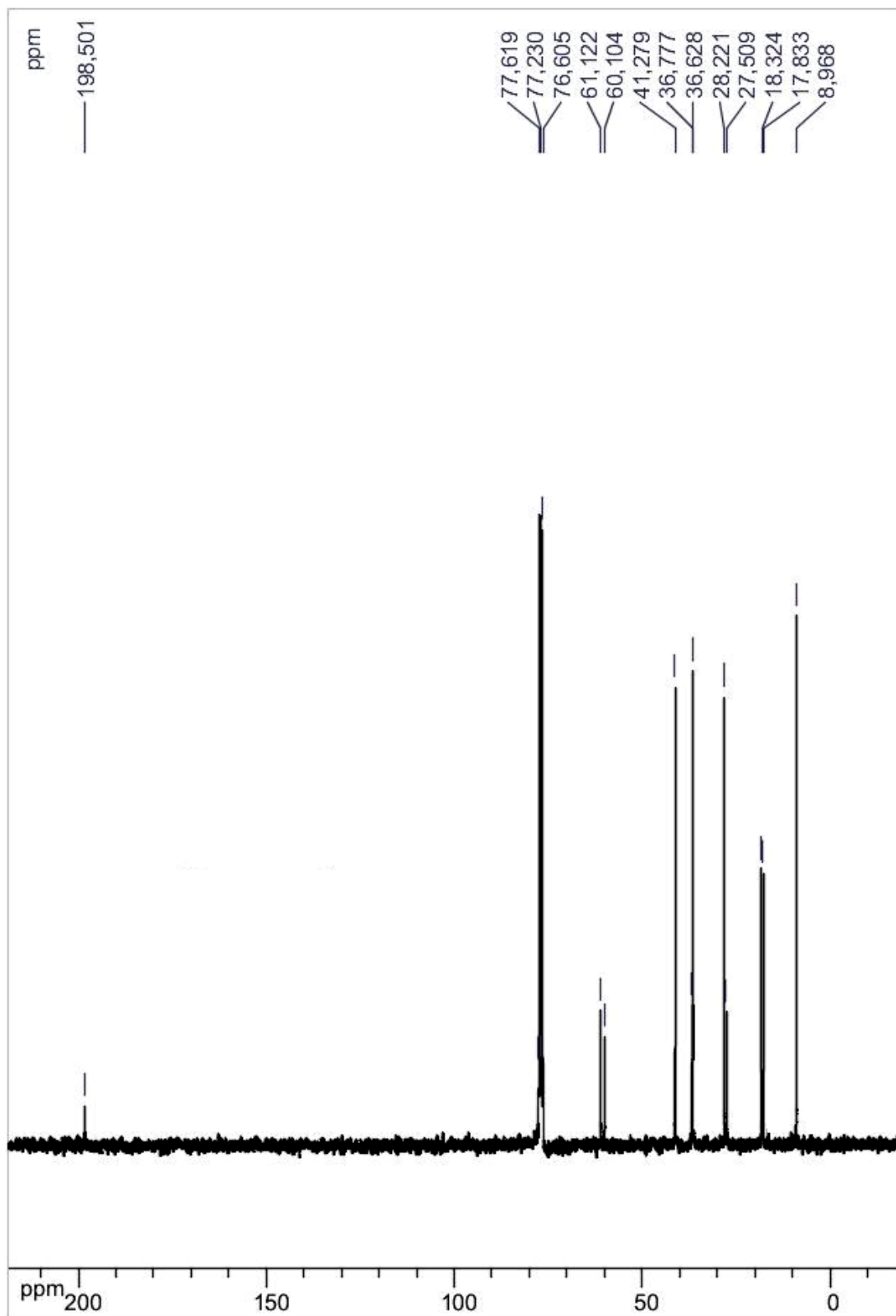
RMN ^1H Complexo 2 (CDCl_3 , 300 MHz)

RMN ^{13}C Complexo 2 (CDCl_3 , 125 MHz)

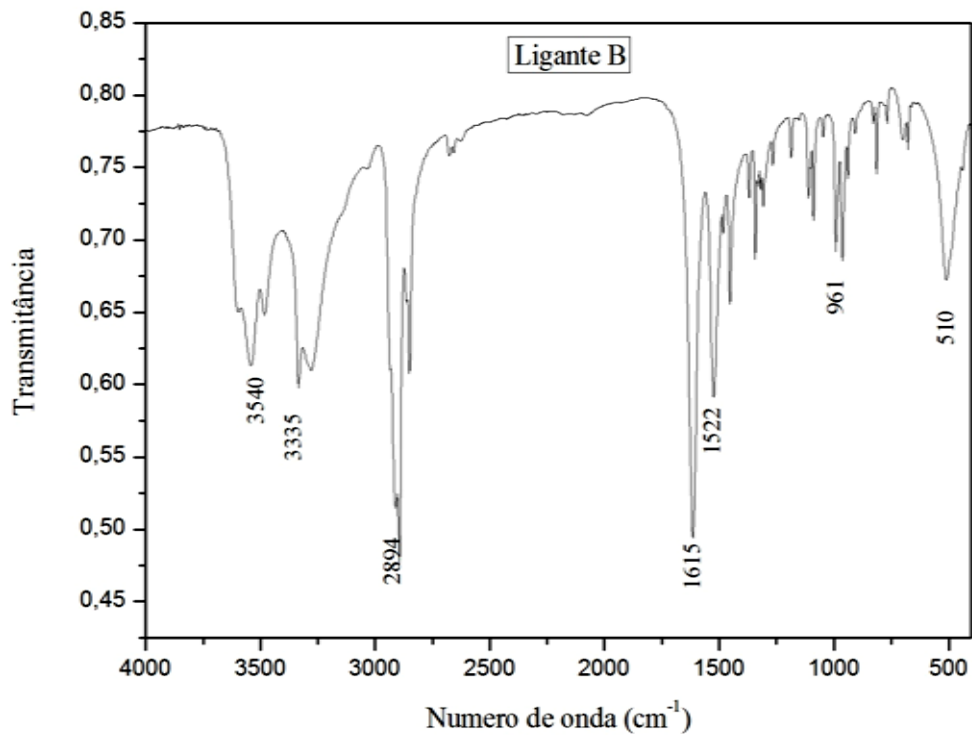
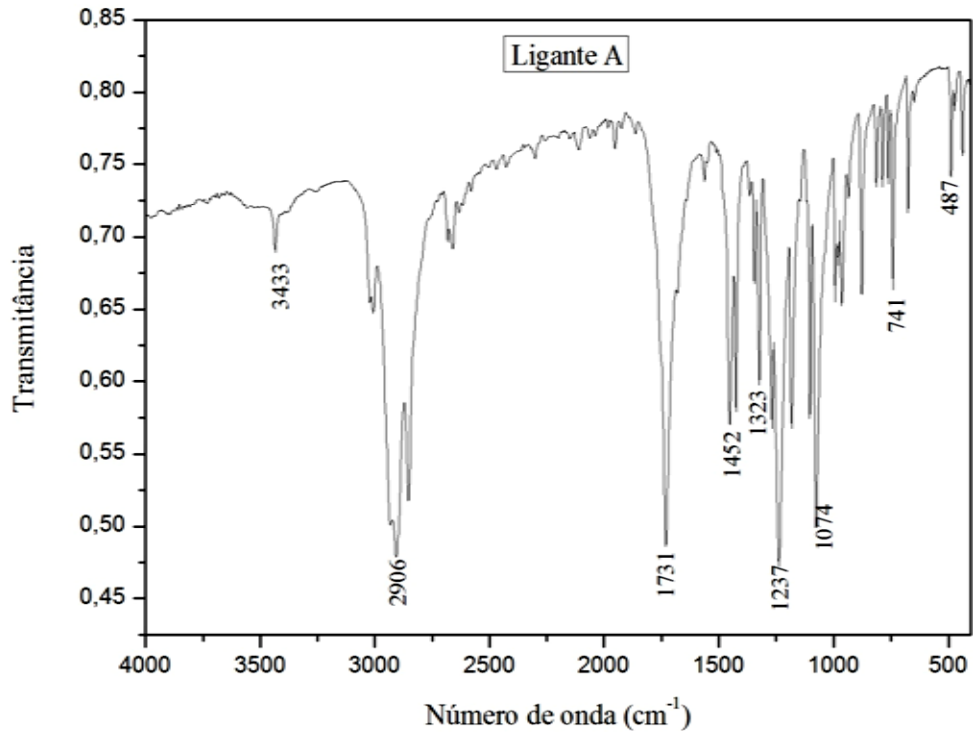
RMN ^1H Complexo 3 (CDCl_3 , 300 MHz)

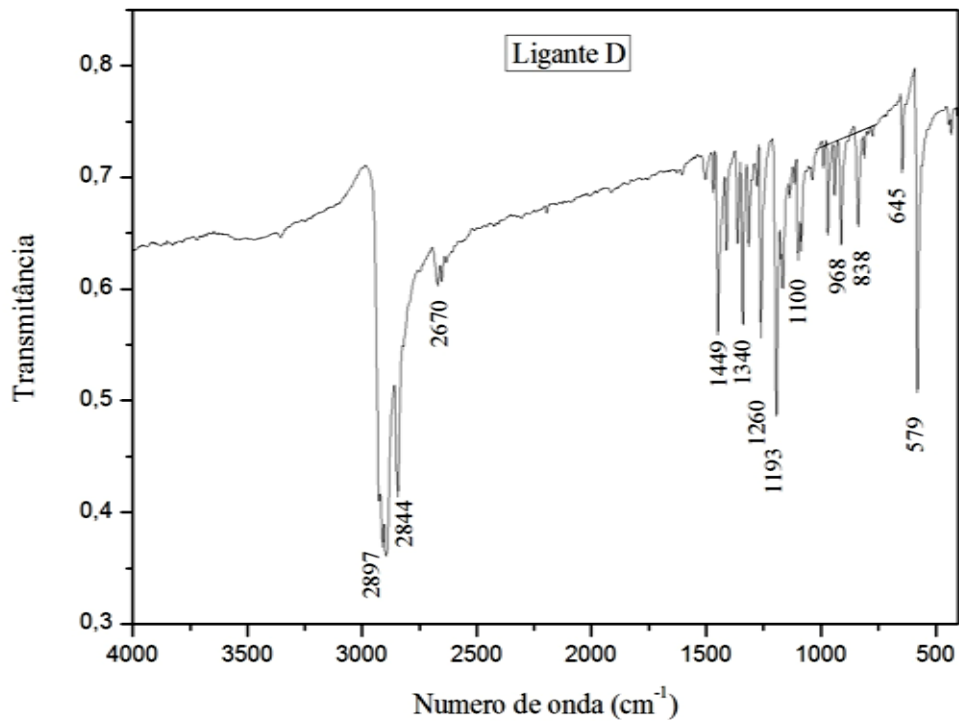
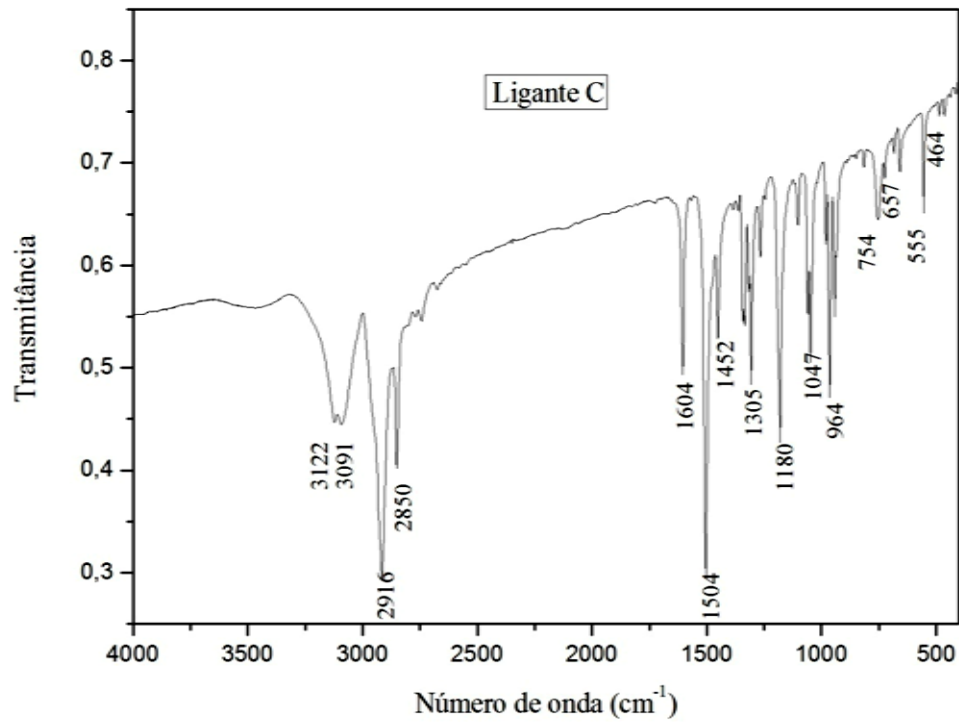
RMN ^{13}C Complexo 3 (CDCl_3 , 125 MHz)

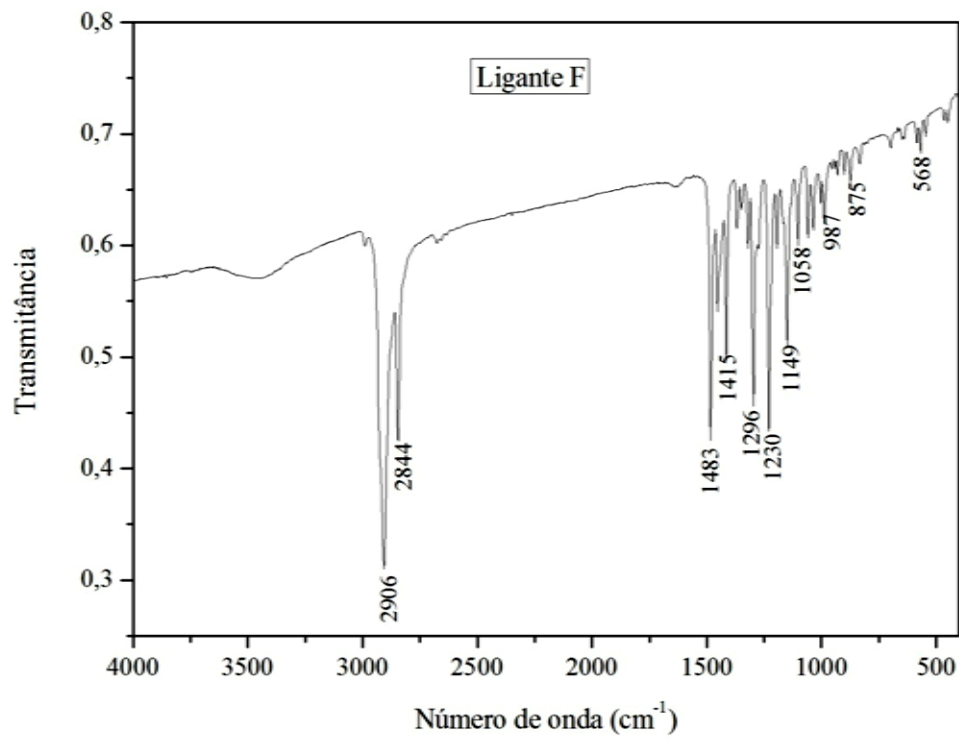
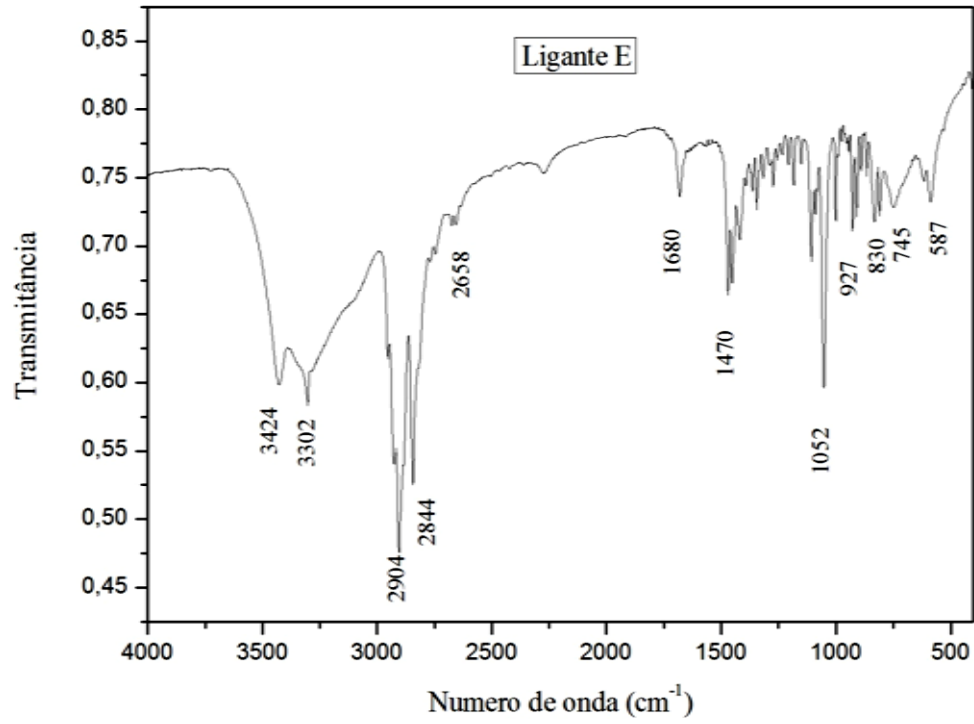
RMN ^1H Complexo 4 (CDCl_3 , 300 MHz)

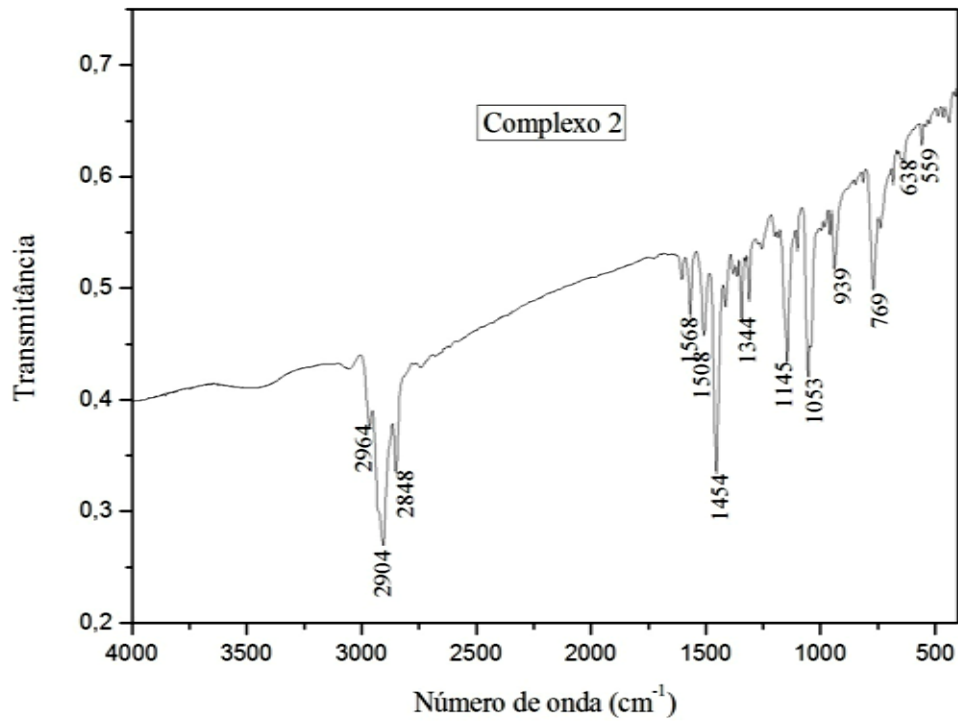
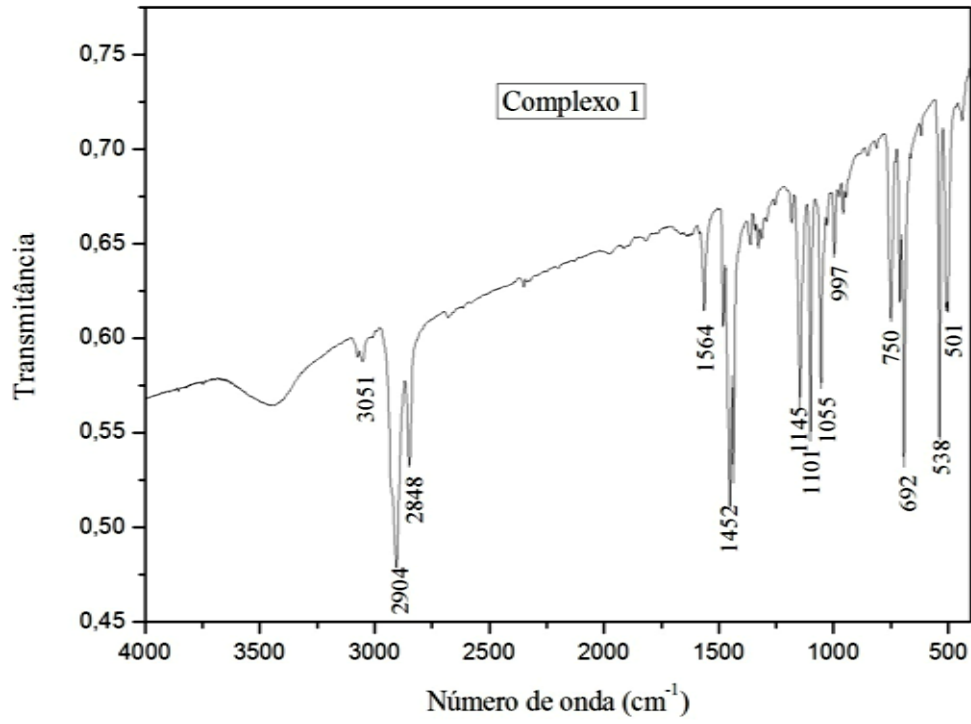
RMN ^{13}C Complexo 4 (CDCl_3 , 75 MHz)

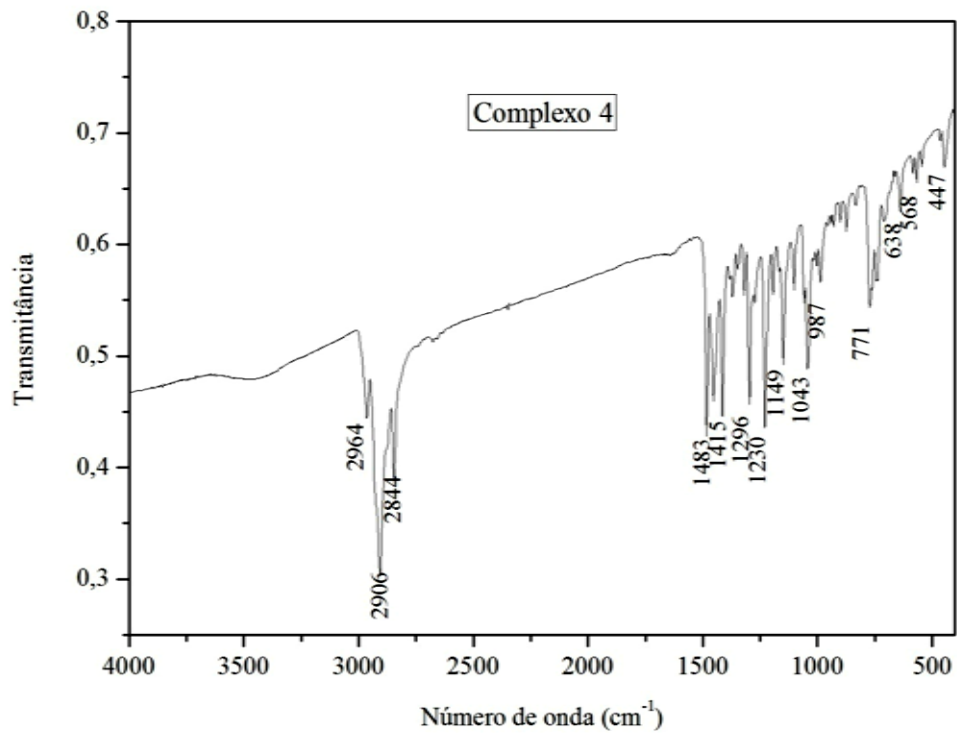
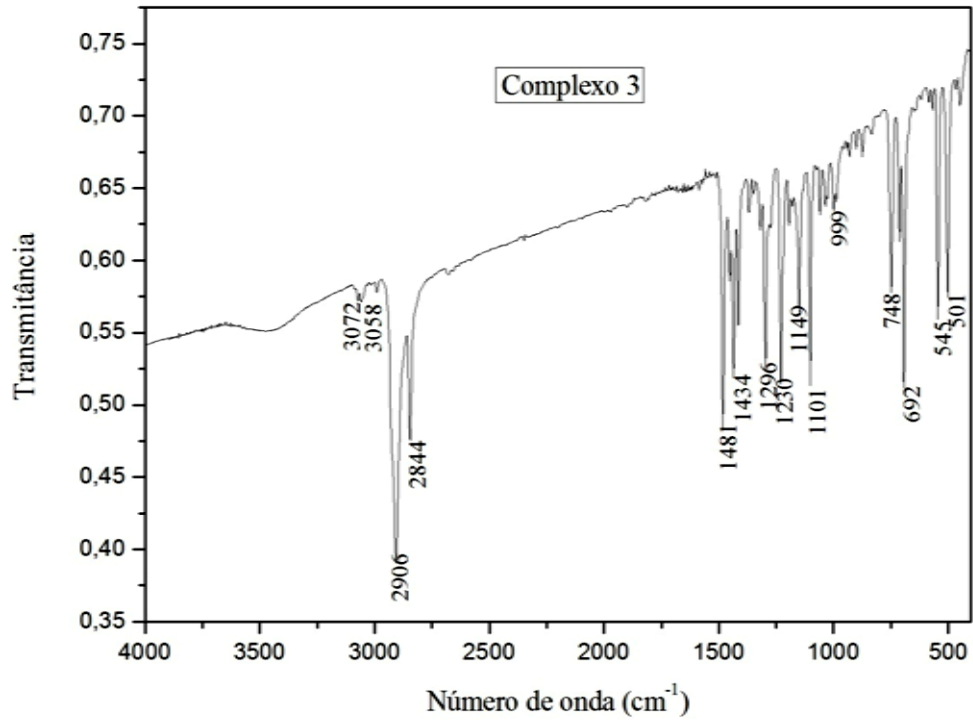
APÊNDICE C – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DOS COMPOSTOS











APÊNDICE D – ESPECTROS RAMAN DOS COMPOSTOS

