

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA
CAMPUS DE ARARAQUARA – SP

RONALDO PERIZIARIO

**COMPLEXOS CARBENOS N-HETEROCÍCLICOS DE OURO (I): UMA BREVE
REVISÃO SOBRE SEUS EFEITOS ANTIPROLIFERATIVOS CONTRA CÉLULAS
TUMORAIS E MECANISMOS DE AÇÃO**

ARARAQUARA

2022

RONALDO PERIZIARIO

**COMPLEXOS CARBENOS N-HETEROCÍCLICOS DE OURO (I): UMA BREVE
REVISÃO SOBRE SEUS EFEITOS ANTIPROLIFERATIVOS CONTRA CÉLULAS
TUMORAIS E MECANISMOS DE AÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” como parte dos requisitos para
obtenção do título de Bacharelado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy
Netto

ARARAQUARA

2022

RONALDO PERIZIARIO

COMPLEXOS CARBENOS N-HETEROCÍCLICOS DE OURO (I): UMA BREVE
REVISÃO SOBRE SEUS EFEITOS ANTIPROLIFERATIVOS CONTRA
CÉLULASTUMORAIS E MECANISMOS DE AÇÃO.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” como parte dos requisitos para
obtenção do título de Bacharelado em Química.


Araraquara, 13 de janeiro de 2023

BANCA EXAMINADORA




Assinado de forma digital por
Adelino Vieira de Godoy
Netto: 19560697803
Dados: 2023.01.13 15:51:08
-03'00'

Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto Instituto
de Química – UNESP - Araraquara

Documento assinado digitalmente
 MARCO AURELIO CEBIM
Data: 16/01/2023 10:41:37-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim
Instituto de Química – UNESP - Araraquara

Documento assinado digitalmente
 THALES REGGIANI DE MOURA
Data: 16/01/2023 10:59:42-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dr. Thales Reggiani de Moura
Instituto de Química – UNESP – Araraquara

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, em especial meu falecido pai, Claudinei Perizario, minha mãe, Roseli C. Perizario e aos meus dois irmãos, Aduino Perizario e Willian Perizario, por sempre estarem me incentivando e apoiando em todas as etapas da vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, por toda paciência, competência, bom humor, orientação e disposição em me direcionar durante o desenvolvimento e produção deste trabalho. através de suas aulas e orientações enquanto graduando pude ter um contato maior com a Química Inorgânica Medicinal, a qual possibilitou uma evolução acadêmica e pessoal.

Aos meus amigos que tenho muita consideração pelos trabalhos feitos, risadas, conselhos e, principalmente, pelos momentos compartilhados.

E, por fim, aos professores do corpo docente do curso de química bacharel da universidade estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Química, por todos os ensinamentos e conversas, aos funcionários da biblioteca, bem como aos funcionários que permitiram o funcionamento dessa excelente instituição.

RESUMO

Os complexos de ouro (I) e (III) têm sido foco de diversos e importantes estudos ao longo dos últimos anos, principalmente, depois da descoberta da auranofina como antitumoral. Devido ao seu possível potencial biológico para o tratamento de artrite reumatoide, antiparasitários, antimicrobiais, anti-VIH entre outras doenças. Dentre as aplicações medicinais, pode-se destacar a busca pelo desenvolvimento de compostos antitumorais. Com base nisso, o objetivo do presente estudo foi revisar a atividade anticâncer de complexos Carbenos N-Heterocíclicos de ouro que interagem principalmente com a enzima tiorredoxina redutase que se encontra em elevadas concentrações dentro de células tumorais. Selecionou-se 10 artigos originais do tipo *in vivo* e *in vitro* no banco de dados eletrônicos, Pubsacs e Scopus, e que foram publicados a partir de 2010, em inglês e português. A seleção dos artigos mostrou que o tema é atual e recente, uma vez que 60% dos trabalhos foram publicados nos últimos 7 anos. Os complexos foram sintetizados, principalmente, a partir de imidazóis. O efeito citotóxico foi observado em todos os trabalhos, sendo a linhagem das células neoplásicas mais estudada foi adenocarcinoma ovário humano em 40% dos artigos, utilizando de células sensíveis e resistentes a cisplatina, tendo como resultado maior citotoxicidade para células resistentes a cisplatina, indicando que o mecanismo de atuação é diferente de interações com ADN. Em 70% dos artigos, o valor da concentração inibitória média (IC_{50}) dos complexos foi maior para células saudáveis do que cancerígenas, mostrando que são seletivos. Foi observada a citotoxicidade pela presença de células apoptóticas, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) e inibição da tiorredoxina redutase (TrxR). Pode-se concluir que os complexos carbenos N-heterocíclicos de ouro são uma possibilidade futura de compostos quimioterápicos.

Palavras-chave: Tiorredoxina; Complexo Au (I); Anticâncer; Carbenos N-Heterocíclicos

ABSTRACT

The gold complexes (I) and (III) have been the focus of several important studies over the last few years, mainly after the discovery of auranofin as an antitumor. Due to its possible biological potential for the treatment of rheumatoid arthritis, antiparasitics, antimicrobials, anti-HIV, among other diseases. Among the medicinal applications, one can highlight the search for the development of antitumor compounds. Based on this, the aim of the present study was to review the anticancer activity of N-Heterocyclic Gold Carbenes complexes that interact mainly with the thioredoxin reductase enzyme that is found in high concentrations inside tumor cells. We selected 10 original in vivo and in vitro articles from the electronic database, Pubsacs and Scopus, which were published from 2010 onwards, in English and Portuguese. The selection of articles showed that the theme is current and recent, since 60% of the works were published in the last 7 years, the complexes were synthesized mainly from imidazoles. The cytotoxic effect was observed in all works, being the most studied neoplastic cell lineage was human ovarian adenocarcinoma in 40% of the articles, using cisplatin-sensitive and resistant cells, resulting in greater cytotoxicity for cisplatin-resistant cells, indicating that the mechanism of action is different from the effect with DNA, in In 70% of the articles, the mean inhibitory concentration (IC₅₀) of the complexes was higher for healthy cells than for cancer cells, showing that they are selective. Cytotoxicity was observed due to the presence of apoptotic cells, increased reactive oxygen species (ROS) and projected thioredoxin reductase (TrxR). It can be concluded that N-heterocyclic gold carbene complexes are a future possibility of chemotherapeutic compounds.

Keywords: Thioredoxin; Complex Au (I); Anticancer; N-Heterocyclic carbene

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Relação do número de mortes por diferentes tipos de câncer no ano de 2020.....	11
Figura 2 - Os 3 principais estágios da carcinogênese.....	11
Figura 3 - Etapas da Angiogênese e metástase.....	12
Figura 4 - Principais Compostos de platina antitumorais baseados Cisplatina.....	16
Figura 5 - Hidrólise da cisplatina Fonte: PAULA; TEIXEIRA; BERALDO (2005).....	16
Figura 6 - Comportamento da cisplatina <i>in vivo</i> . Reação em meio aquoso seguido da ligação entre o centro metálico e o nitrogênio 7 da guanina.....	17
Figura 7 - Os dois principais adutos formados por meio da interação entre o DNA e a Cisplatina. 1,2-Intrafitas e 1,3-Interfitas.....	18
Figura 8 - Estrutura Auranofina utilizada no tratamento de artrite reumatoide.....	21
Figura 9 - Compostos utilizados no tratamento de artrite reumatóide.....	22
Figura 10 - Números de artigos publicados em função dos últimos 20 anos utilizando as palavras chaves “ anticancer, Complex Gold(I), Complex Gold(III)”.....	23
Figura 11 - Mecanismo de redução de dissulfetos em proteína pelo sistema tiorredoxina.....	24
Figura 12 – Ilustração do mecanismo proposto para redução de dissulfetos catalisados pela tiorredoxina.....	26
Figura 13 - Mecanismo de reação entre o sítio ativo da TrxR e complexos de Au(I).....	27
Figura 14 – Mecanismos desenvolvidos do processo apoptótico por meio de complexos de ouro (I/III).....	28
Figura 15 - Estrutura de mono e bifosfinas.....	30
Figura 16 - Representação das interações Metal-Ligante: 1= ligação σ ; 2 = retrodoação π ...	31
Figura 17 - Estrutura do complexo $[Au(dppe)_2]Cl$	33
Figura 18 - Carbenos N-Heterocíclicos : (a) imidazolin-2-ilideno; (b) saturado imidazolidin-2-ilideno; (c) benzimidazolin-2-ilideno e (d) 1,2,4-triazolin-5-ilideno.....	35
Figura 19 - Híbridos de Ressonância de um NHC.....	35
Figura 20 - Primeiro NHC isolado e caracterizado.....	36

Tabela

Tabela 1 - Avaliação biológica de complexos de ouro.....	32
Tabela 2 - Relação de busca e seleção dos artigos	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A2780 S/R Adenocarcinoma ovariano humano

A549 Câncer de pulmão humano

ADN Ácido desoxirribonucleico

Caki-1 Carcinoma de pele

CHC Carcinoma hepatocelular

CSCs Células estaminais cancerígenas

CT2 Carcinoma de cólon de camundongo

HCT116 Câncer de cólon humano

HeLa Células de câncer cervical

Hep3B Carcinoma hepatocelular

HepG2 Carcinoma hepatocelular

IC₅₀ Concentração inibitória média

INCA Instituto Nacional do Câncer

MCF-7 Adenocarcinoma de mama humano

OV -2008 Carcinoma seroso ovariano

PC-3 Linhagem celular de câncer de próstata

SKOV3 Célula de ovário

SMMC-7721 Carcinoma hepatocelular

T24 Carcinoma de bexiga humano

Trx Tiorredoxina

TrxR Tiorredoxina Redutase

WHO World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Informações sobre o Câncer	10
1.2 Etapas de desenvolvimento	11
1.3 A Química Bioinorgânica.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.2 Complexos de Ouro	19
2.2 Tiorredoxinas.....	23
2.3 Mecanismo de catálise.....	25
2.4 Tiorredoxina redutase	26
2.4 Inibidores de Tiorredoxinas Redutases	26
2.5 Complexos contendo fosfinas terciárias	29
2.6 Carbenos N-Heterocíclicos.....	34
3. METODOLOGIA.....	37
3.1 Busca e seleção dos artigos	37
4. RESULTADOS	38
5. DISCUSSÃO	41
6. CONCLUSÃO.....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

1.1 Informações sobre o Câncer

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA) (2020, 30 de novembro)

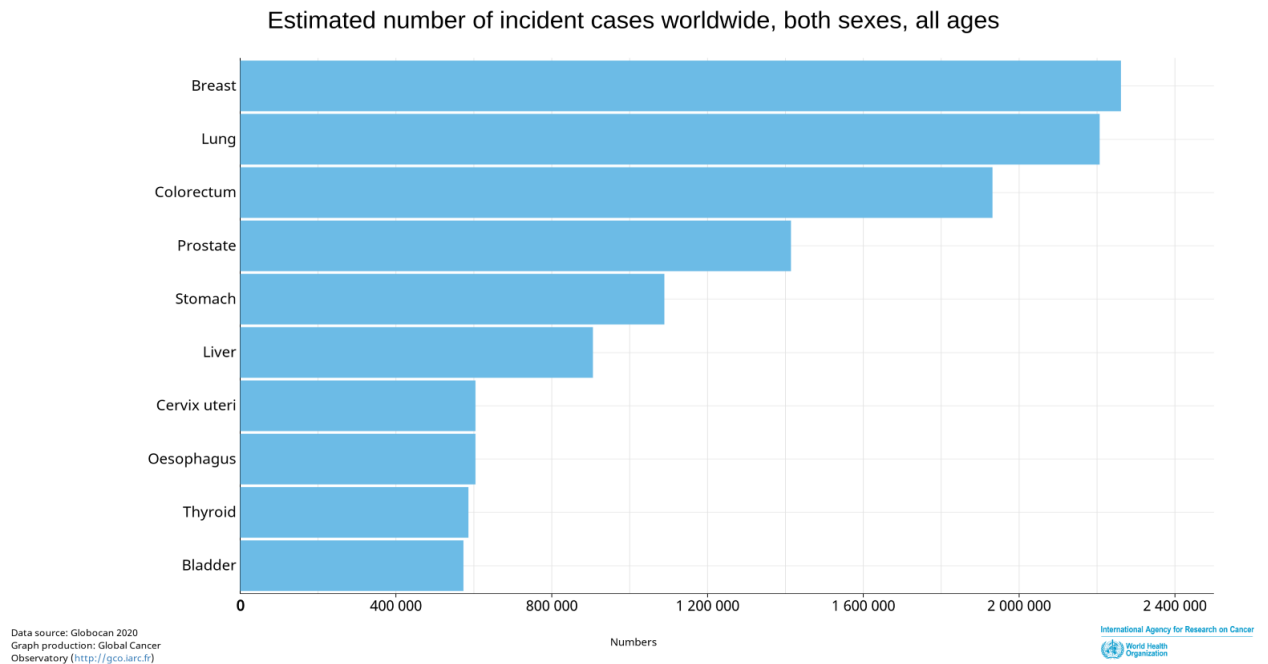
denomina-se câncer um conjunto que abrange mais de 100 tipos diferentes de doenças malignas que possuem em comum o crescimento rápido e desordenado de células que apresentam como principal característica a invasão de órgãos e tecidos adjacentes através de um processo conhecido como metástase, onde ocorre a proliferação acelerada e invasão de tecidos saudáveis.

Essa proliferação celular anormal recebe o nome de neoplasia podendo ser diferenciada em dois tipos: benigna quando a massa localizada apresenta células funcionais muito semelhantes ao tecido normal, multiplicam-se lentamente, e dificilmente constitui um risco de vida. Por outro lado, a neoplasia maligna reconhecida como câncer ou tumor maligno possui um crescimento celular rápido, afuncional e invasão dos tecidos adjacentes causando efeitos agressivos ao indivíduo (HAUSMAN, 2019, p.778-784).

De acordo com a World Health Organization (WHO) (2021) foram relatadas quase 10 milhões de mortes causadas pelo câncer no ano de 2020, sendo as principais ocorrências os cânceres de pulmão, mama, colorretal, fígado, estômago e próstata (Figura 1). O câncer é responsável por uma das principais causas de morte no mundo e estima-se que os casos anuais aumentarão de 19,3 milhões no ano de 2020 para 28,4 milhões até o ano de 2040 (Sung et al., 2021, 4 de fevereiro). Diversos fatores de risco estão relacionados ao aumento do número de casos e de morte pelo câncer. Estes riscos incluem tabagismo, sedentarismo, consumo de álcool, obesidade, dieta não saudável e poluição do ar. Ademais, existe uma maior chance para o desenvolvimento do câncer nos casos de envelhecimento natural devido às mudanças nas células e exposição aos fatores de riscos por mais tempo e em menor proporção por fatores hereditários (INCA, 2022).

Os diferentes tipos de câncer correspondem a diversas linhagens de células presentes no organismo. Deste modo, são classificados carcinomas (tecidos epiteliais e glandulares), sarcomas (tecidos moles), leucemias (medula óssea), linfomas (sistema linfático), mielomas (medula óssea) e tumores do sistema nervoso central (células gliais) (NIH, 2022).

Figura 1- Relação do número de mortes por diferentes tipos de câncer no ano de 2020

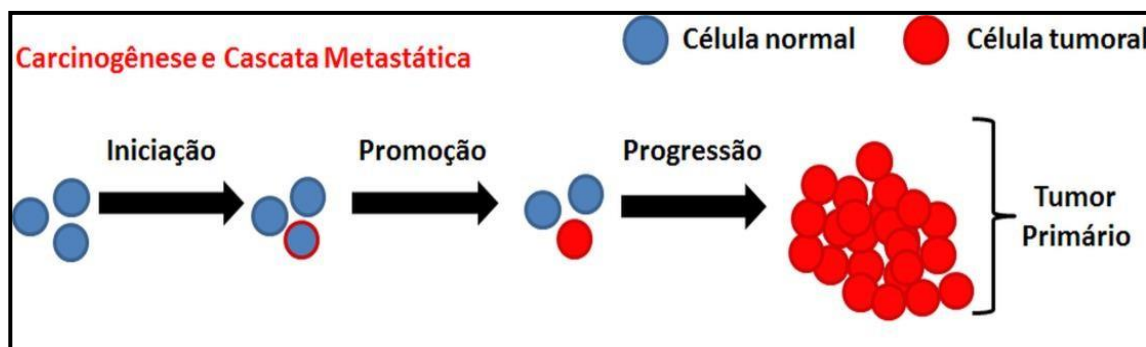


Fonte: Agency Internacional for Research on Cancer - WHO, 2021

1.2 Etapas de desenvolvimento

O processo de formação do câncer se denomina carcinogênese e pode ser analisado em três etapas centrais: iniciação, promoção e progressão (Fig. 2).

Figura 2 - Os 3 principais estágios da carcinogênese



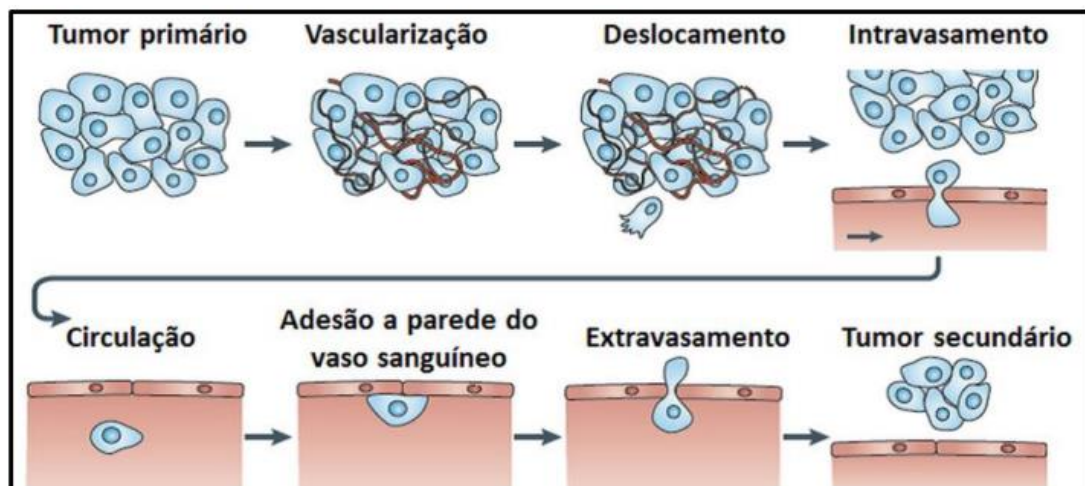
Fonte: Farias, 2020

No primeiro estágio (iniciação), em função da exposição dos genes aos agentes carcinogênicos, o conteúdo genético de algumas células é modificado. No segundo estágio (promoção), as células iniciadas são transformadas em malignas na presença do agente cancerígeno promotor. Por fim, o terceiro estágio (progressão) se caracteriza pela multiplicação

descontrolada e irreversível das células alteradas que resulta na formação da neoplasia maligna (INCA, 2022).

Como o ambiente em torno de tumores sólidos possui baixas concentrações de oxigênio e ácido, para suprir a demanda por nutrientes e oxigênio, a vascularização é estimulada favorecendo o crescimento tumoral. Esse processo é denominado angiogênese e está relacionado com quadros clínicos de cânceres invasivos. Tumores sólidos com superexpressão de proteases facilmente comprometem a membrana basal, garantindo-lhes acesso a corrente sanguínea e, por consequência, se redistribuir para outras partes do corpo. Este processo é denominado metástase (Fig. 3) e se configura como uma das maiores dificuldades para o tratamento da doença (LIRA, 2020).

Figura 3 - Etapas da Angiogênese e metástase



Fonte: LIRA, 2020

Deste modo, é importante ressaltar que as mortes ocasionadas pelos mais variados tipos de câncer podem ser reduzidas por meio de intervenções, tal como detecção precoce seguida de tratamento adequado ou mesmo a prevenção. O tratamento pode ser feito por meio de cirurgia, radioterapia, quimioterapia, transplante de medula óssea, hormonioterapia ou imunoterapia (ABRALE, 2021). Entretanto, na maioria dos casos combina-se mais de uma modalidade de tratamento com o objetivo de curar ou prolongar consideravelmente a vida do paciente, enquanto para os casos terminais prioriza o tratamento paliativo, que tem como foco o alívio, ao invés da cura (WHO, 2021).

Entre as formas de tratamentos citadas acima, a quimioterapia é extensivamente utilizada. Todavia, os quimioterápicos utilizados de forma geral possuem baixo índice de

seletividade, atingindo não apenas células doentes como saudáveis, mas também causando efeitos colaterais durante e pós-tratamento como: náuseas, vômitos, lesões gastrointestinais, perda de cabelo, perda de apetite, ototoxicidade, toxicidade ocular e maior vulnerabilidade às infecções. Ademais, as células tumorais desenvolvem resistência aos medicamentos de maneira intrínseca ou por exposição continuada (KARTALOU; ESSIGMANN, 2001).

Existem diversos mecanismos que estão envolvidos no processo de evolução de uma célula normal para uma célula cancerígena, todavia a maior parte deles interferem na etapa de divisão celular. De fato, muitos antitumorais utilizados clinicamente são substâncias que apresentam mecanismo de ação ciclo-celular não específico e relacionado ao ADN (como produtos naturais, complexos de platina, agentes alquilantes e agentes intercalantes e alquilantes). Contudo, mesmo classificando os compostos neoplásticos em relação ao ponto de interferência no mecanismo de ação das diferentes etapas da síntese do ADN, é possível fazer uma subclassificação dos antitumorais em relação ao mecanismo de ação do ADN de acordo com Almeida *et al.*, 2005):

Inibição da síntese de nucleotídeos: através do uso dos análogos das bases nitrogenadas;
 Efeito direto no ADN: são os agentes alquilantes como as mostardas nitrogenadas, nitrossurêias, complexos tipo cisplatina e outros. A bleomicina forma radicais livres que destroem o ADN, pois fragmenta as hélices, mecanismo diferente dos outros fármacos mostrados;
 Ligantes que interagem na fenda menor do ADN: berenil, pentamidina e análogos;
 Alterando as propriedades de pareamento das bases: intercalantes como a proflavina, acridina, amsacrina;
 inibindo a ADN-girase: doxorrubicina.

Conforme Netto (2018, pg. 18), “dos 78 regimes de tratamento, a cisplatina é empregada em 32 deles, em combinação com diversos fármacos”, como por exemplo, inibidores de topoisomerase II (bleomicina, doxorrubicina, epirrubicina, etoposídeo e mitomicina), mostardas (ciclofosfamida, melfalano e ifosfamida), antimetabólitos (gemcitabina, 5-fluororacila e metotrexato), alcalóides de vinca (vimblastina e vinorelbina) e taxóis (paclitaxel). Atualmente, a cisplatina é utilizada no tratamento de câncer de bexiga, de testículo, de ovário, melanoma, de pulmão (células pequenas e não-pequenas), linfomas e mielomas (NETTO, 2018).

Como descrito acima, um dos principais alvos no desenvolvimento de antitumorais é o ADN, até meados da década de 60 os principais estudos eram voltados para compostos

orgânicos e naturais. Todavia, isso mudou completamente após os estudos realizados pelo físico Barnett Rosenberg em cultura de bactéria bacilar *Escherichia coli* com corrente elétrica onde verificou que uma substância sintetizada durante o experimento induzia efeito citostático na cultura bacteriana. Com base em investigações posteriores, descobriu-se que o complexo cis-diaminodichloroplatina(II), $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, promovia o efeito citostático em culturas de *Escherichia coli*. Os estudos da cisplatina em culturas celulares tumorais consolidaram o sucesso da Química Inorgânica Medicinal, visto que a partir dos usos clínicos do complexo, em 1978, diminuiu-se o número de mortes de homens por tumor de testículo próximo de 80% (BERALDO, 2005). Em face do exposto, a área da Química Inorgânica Medicinal tem atraído um grande interesse da comunidade científica, objetivando descobrir potenciais medicamentos inorgânicos que será abordada mais adiante.

1.3 A Química Bioinorgânica

A Química Inorgânica apesar do nome representa não apenas os seres inanimados, mas está envolvida em etapas essenciais da vida. Em distintos sistemas biológicos os metais possuem papéis no funcionamento desses organismos. Por exemplo, os metais alcalinos e alcalino terrosos trabalham na regularização osmótica e balanço de cargas. O íon $\text{Cu}(\text{II})$ (grupo 11) participa da composição de diversas enzimas como citocromo-c oxidase. Ademais, o par redox $\text{Fe}^{\text{II/III}}$ (grupo 8) atuam como transportadores de elétrons e são essenciais para a respiração celular (FARRER, SADLER, 2011).

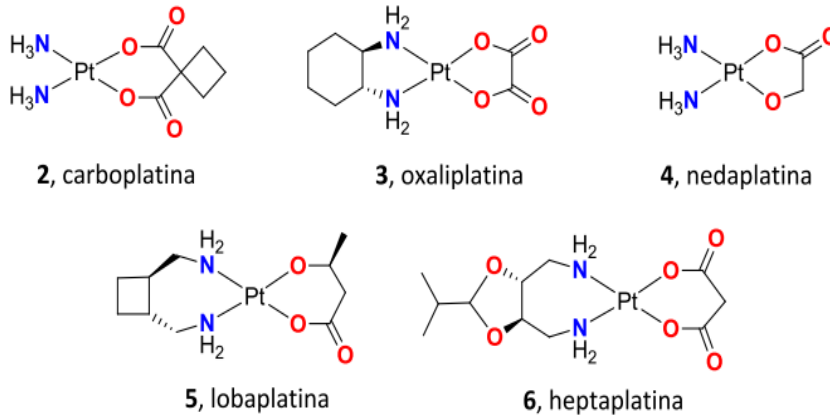
Tendo em vista o uso extensivo de íons metálicos em sistemas biológicos ao longo da evolução, surgiu-se a área do conhecimento denominada Química Inorgânica Medicinal, que aborda as aplicações da química inorgânica no diagnóstico e/ou tratamento de doenças. Essa área de conhecimento aborda principalmente duas condições: acúmulo acidental ou intencional de um íon metálico no sistema biológico (NETTO, 2018). No caso de acúmulo acidental, procuram-se estratégias para retirá-lo do organismo por meio de quelação com a objetivo de evitar um excesso de metal essencial ou um envenenamento por um metal tóxico. Já na situação de introdução intencional de um metal ou complexo metálico num sistema biológico tem como finalidade a terapia e/ ou diagnóstico como, por exemplo, os metalofármacos e os agentes contraste (NETTO, 2018).

O uso de metais para manutenção da saúde é milenar. Povos egípcios, árabes e chineses a 2500 a.C. já utilizavam cobre e ouro em elixires (SADLER, 1994). Contudo, somente entre

os anos de 1909 a 1930, quando Paul Ehrlich e uma equipe multidisciplinar realizaram criteriosas observações em torno das relações estrutura-atividade para uma série de 2000 complexos de arsênio (PARASCANDOLA, 1981). Este trabalho representa o marco da introdução da rigorosidade científica ao uso medicinal de compostos metálicos, determinando o conceito do índice terapêutico ($IT = LD_{50}/ED_{50}$), ou seja, a razão entre a dose necessária para matar 50 % dos animais testados (LD_{50}) e a dose necessária que resulta numa resposta terapêutica efetiva em 50 % dos animais testados (ED_{50}) (VERNON, 2019). Os organoarsênicos de Ehrlich aprovados foram amplamente utilizados na Europa até o período próximo de 1950, quando foram substituídos pela penicilina.

O químico Michele Peyrone realizou a primeira síntese da cisplatina, em 1844, já sendo conhecida século (XIX), por químicos mesmo antes do trabalho de caracterização geométrica feito por Alfred Werner. Todavia, somente no século seguinte, a atividade antitumoral da cisplatina foi identificada pela comunidade científica. Com base nas contribuições geradas pelo químico Alfred Werner e pelo médico Paul Ehrlich para o desenvolvimento de estudos dos complexos metálicos no início do século XX, permitiu-se que o então físico Barnett Rosenberg realizasse uma descoberta nas propriedades antitumorais do complexo cisplatina quando estudava a influência do campo elétrico no crescimento da *Escherichia coli*, célula bacteriana, em solução. Rosenberg observou que o complexo formado causava inibição da divisão celular mesmo na ausência de corrente elétrica. De início, não se sabia quais dos compostos formados possuía atividade citotóxica, foram testados uma série de compostos formados e então foi verificada a atividade da cisplatina. Então ele postulou que este complexo, cisplatina, poderia ser um candidato à agente antitumoral (BERALDO, 2005). Consequentemente, em 1972, a cisplatina foi testada clinicamente pela primeira vez em pacientes humanos em estágio terminal, sendo aprovada no ano de 1978 pela U.S Food and Drug Administration para o tratamento antitumoral. Desde então a busca por terapêuticos obtidos a partir de complexos metálicos foi impulsionada, sendo um período de grandes contribuições para Química Inorgânica Medicinal (FARRELL, 2002, p. 2-4). Foram desenvolvidos diversos complexos a partir da cisplatina, entre os principais, a carboplatina, oxaliplatina, nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina (Fig. 4).

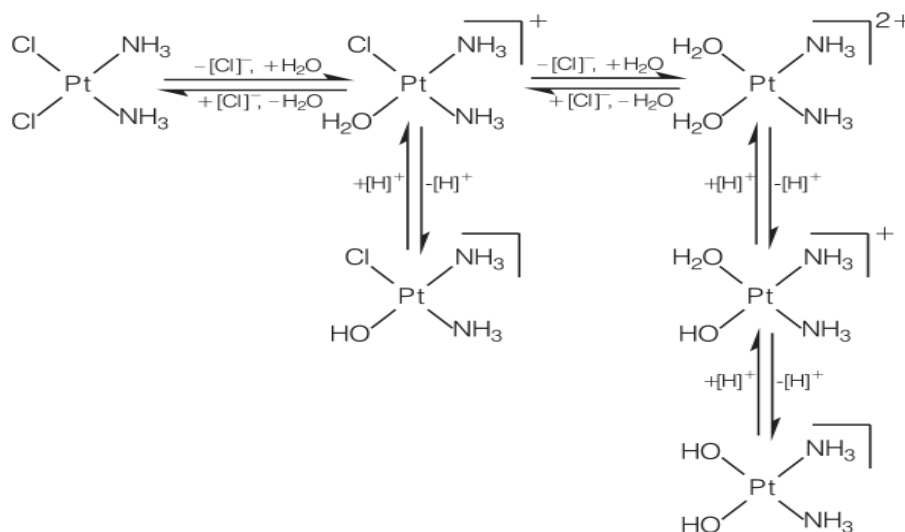
Figura 4 - Principais Compostos de platina antitumorais baseados Cisplatina



Fonte: Complexos de platina (II) na terapia do câncer NEVES; VARGAS (2011, p. 196)

Existe um consenso entre a maioria dos cientistas na qual a captação da cisplatina ocorre através de difusão passiva devido à neutralidade da molécula. Contudo, a captação celular pode ocorrer por meio de transporte ativo mediada pelo transportador de cobre. No plasma, em pH 7,3, a concentração de cloreto está em torno de 100 mmol/L, o que impede a hidrólise dos ligantes da cisplatina, mantendo-a neutra. Após a entrada na célula, o ambiente citoplasmático é ácido, hidrofílico e possui baixas concentrações de cloreto $[Cl^-]$ 4~20 mmol/L. Nesse meio, espécies hidrolisadas de cisplatina predominam (Fig. 5), visto que o Cl^- é um bom grupo abandonador (PAULA; TEIXEIRA; BERALDO (2005, p. 14-16).

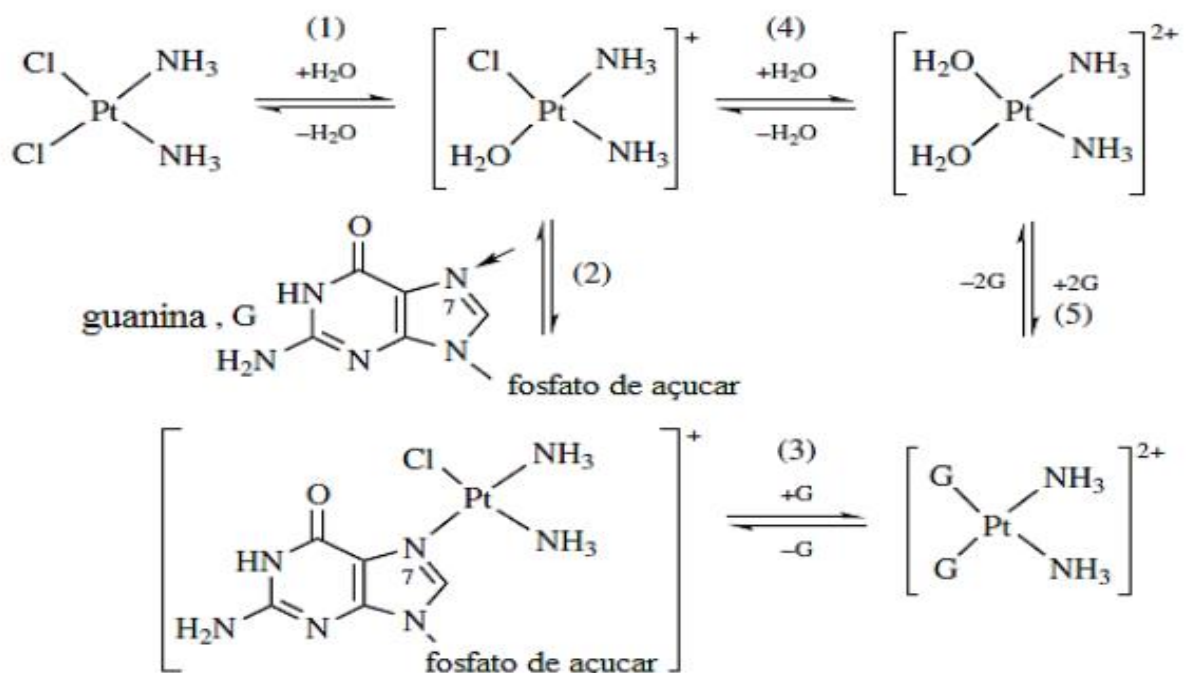
Figura 5 - Hidrólise da cisplatina



Fonte: PAULA; TEIXEIRA; BERALDO (2005)

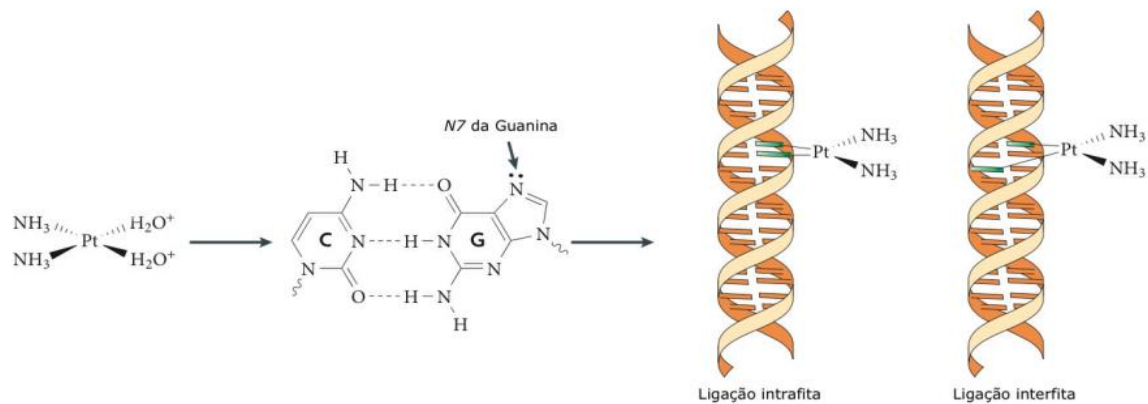
A ativação intracelular da cisplatina favorece interações da molécula com outros nucleófilos, como ADN, RNA, fosfolipídios de membrana e moléculas contendo o grupo tiol (SH). Um pequeno percentual (1%) deste fármaco reage com o ADN nuclear. Os ligantes aqua são substituídos pelas bases nitrogenadas que formam ligações mais estáveis (GONZALEZ *et al.*, 2001). De acordo com a (Fig. 6), o aduto é formado majoritariamente pela ligação do nitrogênio 7 da guanina com o centro metálico da cisplatina e também há formação de ligação com o nitrogênio da adenina, formando tipos diferentes de adutos entre os principais tem-se: os adutos monofuncionais e os bifuncionais (intrafita, interfita e intermolecular). O aduto com ligação cruzada 1,2-intrafita é encontrado em maior quantidade (~96%) e o aduto com ligação cruzada 1,3-interfita em menor (~1%). Essas lesões são responsáveis pela citotoxicidade, capacidade nociva que uma substância apresenta em relação à célula (APARECIDO, 2016, p.19) (Fig. 7). A ligação cruzada entre as bases do ADN e do composto provoca uma distorção significativa na estrutural helicoidal do ADN, tendo como resultado a inibição tanto da replicação como transição, seguida da sinalização de apoptose induzindo a morte celular e necrose (FUERTES, CASTILLA, PÉREZ, 2003).

Figura 6 - Comportamento da cisplatina *in vivo*. Reação em meio aquoso seguido da ligação entre o centro metálico e o nitrogênio 7 da guanina.



Fonte: KAISER (2015, p. 6)

Figura 7 - Os dois principais adutos formados por meio da interação entre o ADN e a Cisplatina. 1,2-Intrafita e 1,3-Interfitas.



Fonte: KELLAND (2007)

Todavia, o desenvolvimento de resistência adquirida após longos períodos de administração do composto cisplatina representa uma limitação ao uso. Diversos fatores foram atribuídos à resistência adquirida da cisplatina. As biomoléculas presentes no plasma como cisteína, glutatona e albumina são capazes de se ligar a até 90% da cisplatina por meio de grupos tióis e moléculas que contém enxofre, ocasionando sua desativação. Nos casos das células tumorais, o aumento da concentração intracelular de GSH (glutatona) inativa a cisplatina pela formação de conjugados que são excretados para fora do meio. Outro mecanismo de resistência à ação citotóxica da cisplatina ocorre no núcleo celular e consiste no sistema de excisão de nucleotídeo. A priori, o dano causado ao ADN pela platina provoca o desenovelamento da dupla-hélice. As enzimas reparadoras reconhecem esse ADN modificado, ligando-se a este quebrando a fita dupla. Os nucleotídeos contendo platina coordenada são removidos e substituídos por outra fita que não possui o aduto platina- ADN. Nesse sentido, a resistência à platina assim como os efeitos colaterais associados ao tratamento, encorajam a busca por complexos derivados da cisplatina e por novos compostos de coordenação com diferentes centros metálicos e ligantes, com capacidade de atuarem seletivamente no sistema biológico e com menos efeitos colaterais (JAMIESON, LIPPARD, 1990).

Particularmente, tem se buscado complexos metálicos que interajam com outros alvos diferentes do ADN. Dentre os alvos conhecidos, as enzimas são alvos que suscitam muito interesse dada sua importância em diversas funções celulares. A inibição do funcionamento de proteínas/enzimas cuja atividade é aberrante em células tumorais, é uma estratégia muito promissora no desenvolvimento de novos metalofármacos. Dentre os complexos metálicos, os derivados de ouro vêm recebendo muita atenção...

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2 Complexos de Ouro

O uso de complexos de Au(I) para estudos da atividade antitumoral são atraentes por apresentarem características químicas e biológicas que favorecem seu estudo, como será visto adiante.

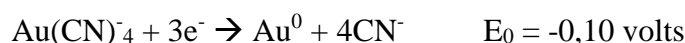
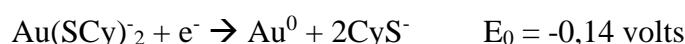
O ouro apresenta estados de oxidação variando de -I para +V. O ouro (I) e ouro (III) são as duas formas oxidadas mais utilizadas nas pesquisas biológicas. Ambos são estáveis em solução aquosa, tornando-os adequados para finalidade medicinal. Outros estados de oxidação são conhecidos como -I, +II, +IV e +V que apresentam interesse químico, mas não são importantes para o interesse medicinal (MOHR, 2022).

O ouro(I) possui uma configuração eletrônica da camada de valência $5d^{10}$. Os complexos formados são análogos aos de Ag(I), Cu(I) e Hg(II) com números de coordenação (N.C) 2,3 e 4. O comprimento da ligação ouro-ligante varia dependendo do átomo doador. Todavia, para um determinado ligante, a distância da ligação aumenta conforme o número de ligantes aumenta. Os complexos de Au(I) de número de coordenação 2 são os mais encontrados em estudos biológicos. Os ligantes são preparados para se coordenar a um metal macio, ou seja, um metal com raio iônico grande, polarizável e baixo estado de oxidação (MOHR, 2022). Conforme o conceito de ácidos e bases de Pearson, os átomos doadores “macios” ou moles, são volumosos, altamente polarizáveis e de eletronegatividade intermediária, podendo doar elétrons para o metal através de interações σ e receber densidade eletrônica por meio dos orbitais π^* da base. Esses ligantes interagem preferencialmente com ácidos macios (ex: Au(I), Hg(I)) e formam complexos mais estáveis e ligações de caráter covalente (Shriver, Atkins, 2003). Os complexos formados podem ser neutros, positivos ou negativos, dependendo dos ligantes e do ângulo de ligação. De forma geral, os complexos de Au(I) possuem geometria linear e, entre os ligantes de maior interesse biológico, encontra-se tiolatos, tioéteres, fosfinas, cianeto e grupos alquil, bem como ligantes doadores de nitrogênio, como aminas e heterociclos como os carbenos N-heterocíclicos. Os complexos com N.C = 3 e 4 são mais raros, em função de impedimento estérico provenientes dos dos átomos doadores volumosos ou da geometria de coordenação. O ouro (III) apresenta camada de valência $5d^8$. É isoeletrônico com íons Pt(II) e Rh(II), forma majoritariamente complexos tetra coordenados com geometria quadrática planar. Uma grande variedade de ligantes formam complexos estáveis com Au(III) com carga total do

complexo variando consideravelmente e podem exibir um ampla variação nas propriedades físicas e químicas. Em função da variação de carga do complexo com Au(III) devido à troca de ligantes *in vivo* pode influenciar tanto lipofilicidade como hidrofiliicidade do complexo e, como consequência, a estabilidade e biodistribuição no meio fisiológico. Ambos Au(I) e Au(III) são facilmente reduzidos para ouro (MOHR, 2022).



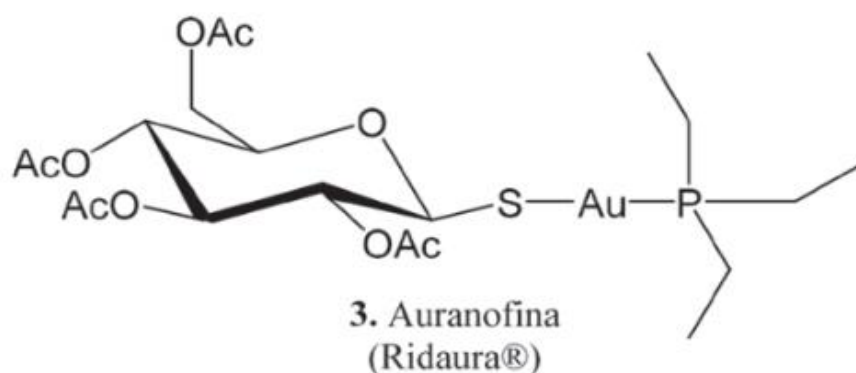
Devido ao elevado potencial de redução do ouro, tanto Au(I) e Au(III) podem ser reduzidos por agentes redutores leves. Em meio fisiológico, o Au(III) sofre redução para Au(I) por redutores naturais como tióis e dissulfetos, portanto, a modulação do estado de oxidação do ouro pode ser estabilizada de acordo com o ligante utilizado, onde CyS^{-} é cisteinato.



A facilidade na troca de ligantes em espécies de ouro(I) de N.C = 2 pode ser explicada em termos dos estados de transição de três coordenadas e intermediários. Existem orbitais p_x e p_y vazios. A disponibilidade desses orbitais facilita a re-hibridização para uma geometria trigonal necessária para acomodar o ligante que entra. Consequentemente, muitos complexos estáveis de ouro(I) de N.C = 3 foram isolados. A estabilidade desses complexos demonstra que complexo trigonal formado, durante a troca de ligantes entre estruturas de N.C =2, é um intermediário de reação estável viável. Existe uma relação linear entre as energias livres de ativação e as energias livres da reação global para complexos de Au(III) indicando que sua labilidade é elevada. Contudo depende da natureza do nucleófilo que irá entrar na esfera de coordenação. Isso é consistente com a formação de intermediários de N.C = 5, embora poucas espécies estáveis de Au(III) pentacoordenadas tenham sido realmente caracterizadas. Isso sugere que as reações envolvem estados de transição lábeis em vez de intermediários (MOHR, 2022).

O interesse moderno da aplicação do ouro na medicina origina-se no trabalho pioneiro do médico e microbiologista Robert Koch (Prêmio Nobel de Medicina, 1905), que no ano de 1890 relatou a inibição do bacilo da tuberculose a partir do sal de cianeto de ouro(I). A descoberta de Robert levou a uma busca por novos compostos para o tratamento da doença. Em 1929, um médico francês, Jacques Forestier, relatou a atividade antiartrítica dos complexos de ouro, apesar das terapias serem de baixa eficácia. Em 1960, surgiram estudos controlados que comprovaram a eficácia terapêutica do ouro, mas somente em 1985 o complexo de Au(I), Auranofin (Fig. 8), foi aprovado para o tratamento da artrite reumatoide (Zou, Taotao, *et al.*, 2015). O tratamento de artrite reumatóide por complexos de ouros é denominado crisoterapia.

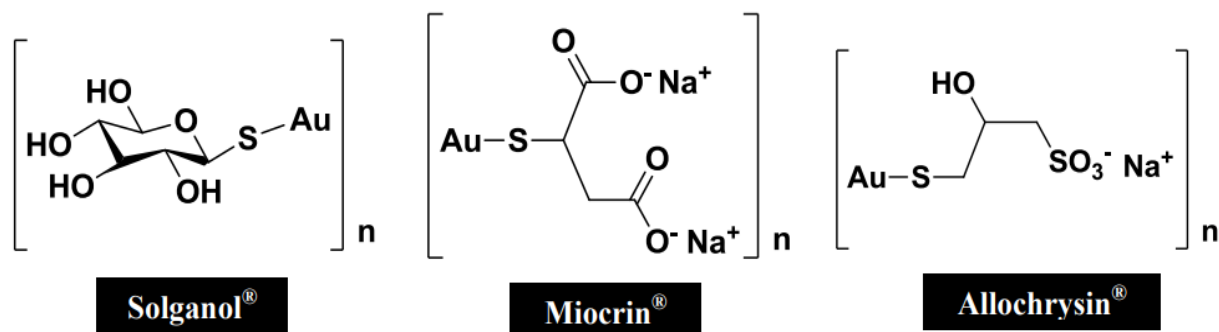
Figura 8 - Estrutura Auranofina utilizada no tratamento de artrite reumatoide



Fonte: DELGADO *et al.*, (2020)

De acordo com a Sociedade Brasileira de Reumatologia (2020), a artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória crônica autoimune em que o sistema imunológico produz anticorpos que atacam as células saudáveis. Atualmente, a doença é tratada com outros compostos à base de ouro como Solganol (aurotioglicose), Miocrin (aurotiomalato de sódio) e Allochrysin (aurotiopropanol sulfonato de sódio) (Fig. 9). A principal diferença entre a auranofina e os outros complexos citados é a forma de administração, onde a primeira é por via intraperitoneal, enquanto os dois últimos são por via intravenosa, a razão disso se deve a inatividade da AF por via oral. A confirmação dos resultados clínicos do ouro no tratamento da AR, impulsionou uma série de estudos de compostos de ouro na medicina e biomedicina, expandindo para o desenvolvimento de agentes antiparasitários, antimicrobianos, antitumorais, anti-VIH, entre outros (LEIBFARTH, PERSELLIN, 1981).

Figura 9 - Compostos utilizados no tratamento de artrite reumatóide



Fonte: KAISER, 2015

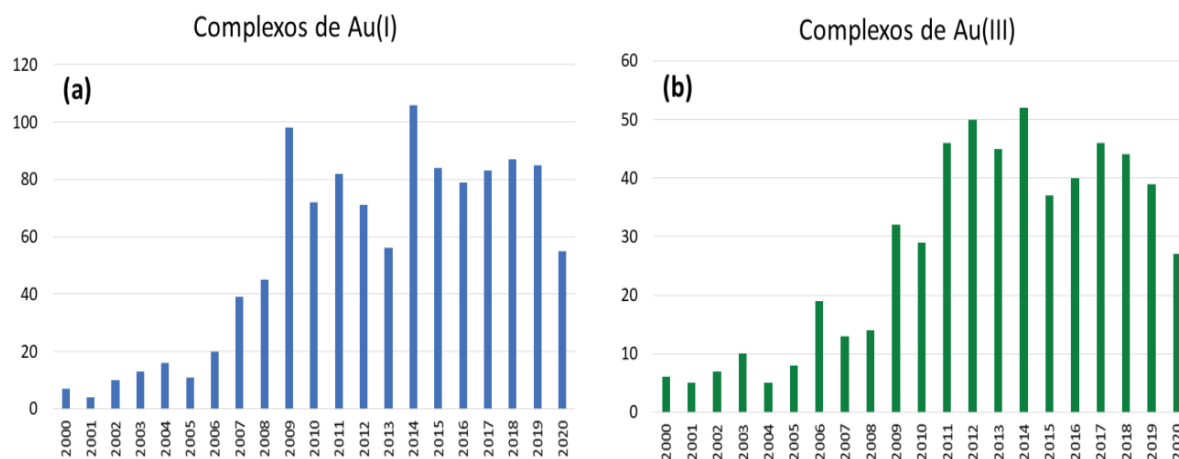
Em meados de 1980, a auranofina (AF) se mostrou um potente inibidor de proliferação de células tumorais em diferentes linhagens *in vitro*, como por exemplo HeLa (Carcinoma Cervical Humano) e demonstrou ser ativa contra células P388 (leucemia) *in vivo* para modelos experimentais. (GIELEN, TIEKINK, 2005). Todavia, estudos posteriores sobre o mecanismo de reação da AF revelaram que ela reage rapidamente com a cys34, cisteína da albumina sérica que é a proteína mais abundante presente no soro sanguíneo (concentração de 3,5 a 5,0 g 100 mL⁻¹). Descobriu-se que a albumina contida no sangue transportava em torno de 90% de toda a AF presente na corrente sanguínea. O resíduo de cys34 da albumina contém um grupo tiol com caráter ácido que, em condições fisiológicas, é desprotonado oferecendo um potencial sítio de ligação para Au⁺. Embora as tióis-proteínas da membrana possam captar os íons de ouro, a internalização celular é lenta resultando em valores baixos de citotoxicidade (ZOU, Taotao *et al.*, 2015). Apesar das interações Au-Cys estejam relacionadas com sua baixa eficácia em modelos tumorais *in vivo*, atualmente a auranofina encontra-se em fase II de ensaios clínicos com pacientes com câncer de ovário e pulmão na clínica Mayo associada com Instituto Nacional do Câncer (NCI) nos Estados Unidos (Mayo Clinic, 2020).

Posteriormente, foram desenvolvidos complexos de Au(I) contendo fosfinas terciárias e tioácúcares, demonstrando ser atividade contra P388, *in vivo*, e B16 (melanona). De forma, geral os complexos estudados mostraram ser mais tóxicos em relação aos seus análogos à base de tiolato (MIRABELLI, JHONSON, HILL, 1986, pg. 218-233).

Com base nos dados obtidos do scifinder durante o período 2000 e 2020 (Fig. 10), nota-se um aumento no número de publicações sobre complexos de Au(I) e Au(III) como potenciais agentes anticâncer. Na última década observa-se que o número de publicações referentes ao

Au(I) é praticamente o dobro de Au(III), isso deve-se em parte aos testes de derivados da AF como quimioterápicos.

Figura 10 - Números de artigos publicados em função dos últimos 20 anos utilizando as palavras chaves “ anticancer, Complex Gold(I), Complex Gold(III)”



Fonte: DELGADO *et al.*, 2020

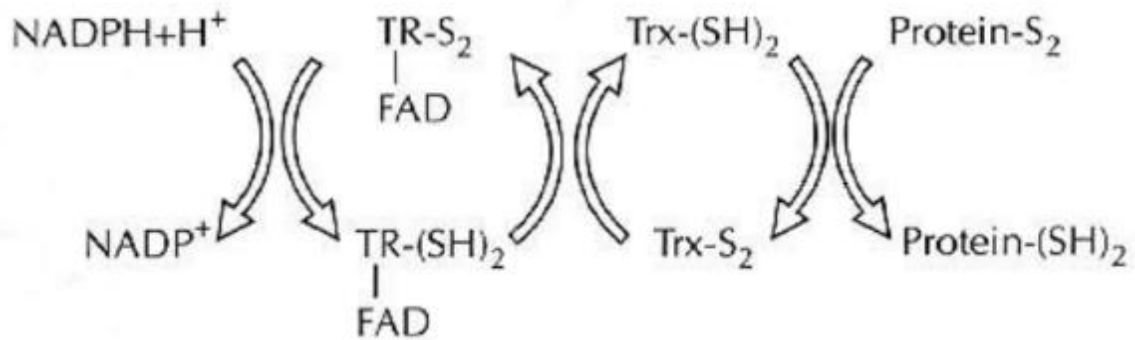
Com base nas propriedades físicas e químicas do ouro foram estudados diferentes mecanismos de ação biológica assim como foi explorado sua interação com distintos ligantes, serão abordados abaixo uma classe específica de ligantes assim como um mecanismo biológico.

2.2 Tiorredoxinas

As tiorredoxinas (Trx) são uma classe de pequenas proteínas com massa molecular em torno de 12 kDa que se encontram presentes em inúmeros organismos, desde o domínio Archea até o Eukarya (PINHEIRO, 2007). No sítio ativo altamente conservado dessas proteínas são encontrados dois resíduos de cisteína e são formados pelo seguinte sequenciamento de aminoácidos: Trp-Cis-Gli-Cis-. A proteína Trx existe em ambas as formas reduzida/oxidada, na forma reduzida (Trx-(SH₂)) possui um ditiol e na sua forma oxidada (Trx-S₂), quando há formação de uma ponte dissulfeto intramolecular entre os dois resíduos de cisteínas. A Trx participa de reações de oxirredução por meio da oxidação reversível do seu sítio ativo. Esta proteína sofre redução pelo NADPH e flavoproteína tiorredoxina redutase (TrxR). Associadas, estas proteínas formam o sistema tiorredoxina (Fig. 11) (PINHEIRO, 2007).

A tiorredoxina redutase (TrxR) catalisa a redução da Trx-S₂ por NADPH utilizando FAD e o seu dissulfeto redox ativo. A Trx-(SH)₂ então reduz o dissulfeto de uma proteína substrato.

Figura 11 - Mecanismo de redução de dissulfetos em proteína pelo sistema tiorredoxina



Fonte: (PINHEIRO, 2007)

As funções fisiológicas da tiorredoxina evoluíram de uma reação fundamental para uma diversidade de reações especializadas, com base nisso será destaque algumas funções principais.

Duas funções essenciais estão relacionadas diretamente com a atividade redox das tiorredoxinas: primeira, como uma carreadora de elétrons necessária para catálise de enzimas biossintéticas, tais como: ribonucleotídeo redutase, que é responsável por fornecer desoribonucleotídeos para síntese de ADN (HOLMGREN, 1989), e redutases de metionina sultato e sulfóxido (HOLMGREN, 1989); e segundo, protegendo as proteínas intracelulares contra agregação ou inativação por meio da formação de pontes dissulfetos inter- ou intramoleculares.

Outra função da tiorredoxina é a de atuar como componente estrutural para outra enzima. A Trx é uma subunidade essencial da ADN polimerase do fago T7. A T7 ADN polimerase é um complexo não covalente formado na proporção 1: 1 entre Trx e produto protéico do gene 5 do fago. A ligação entre a tiorredoxina reduzida e a proteína 5 aumenta em torno de 100 vezes a atividade da enzima ADN polimerase (TABOR, HUBER, RICHARDSON. 1987).

Foram estudados diversos fatores de transcrição e os resultados indicam que a Trx é responsável pela regulação deles através de um mecanismo redox. A redução dos fatores de transcrição catalisada pelo tiorredoxina pode levar inibição ou ativação da expressão de um dado gene, dependendo de qual fator de transcrição e do próprio mecanismo de ação. A Trx possui a capacidade de estimular seletivamente a ligação a determinados fatores de transcrição ao ADN, tais como o NF-kB (nuclear fator – kB) e AP-1 (ativador protein-1) (MEYER,

SCHRECK, BAEUERLE, 1993), envolvidos na resposta da célula ao estresse oxidativo, processo de apoptose e proliferação celular.

Outra função associada a Trx é a defesa contra espécies oxidativas por meio da doação de elétrons para tiorredoxinas peroxidases ou peroxirredoxinas, que catalisam as reações com espécies reativas de oxigênio (ROS), como H_2O_2 . Foi demonstrado que a peroxirredoxinas por reduzirem os níveis de peróxido de hidrogênio inibem a indução de apoptose.

A TrxR é capaz de inibir a cinase sinalizadora de apoptose ligando-se a ela, (ASK-1 apoptosis signal-regulated kinase-1). O excesso de ROS na célula provoca a dissociação da tiorredoxina da ASK-1, levando a ativação da cinase e, conseqüentemente, aumento na taxa de apoptose. Isto preconiza um mecanismo geral de regulação redox de sinalizadores apoptóticos, onde os sinalizadores permanecem inibidos quando a espécie preponderante é a tiorredoxina reduzida (PINHEIRO, 2007).

2.3 Mecanismo de catálise

De acordo com Pinheiro (2007),

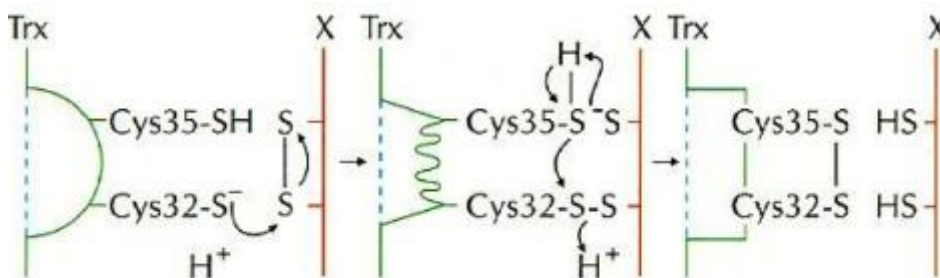
O mecanismo proposto para a ação redutora da tiorredoxina envolve a ligação de um substrato oxidado $X-S_2$ à uma superfície hidrofóbica da proteína. Neste ambiente hidrofóbico do complexo, o tiolato do resíduo de cisteína amino-terminal (Cis-32 na tiorredoxina de *E. coli*) age como um nucleófilo, ligando-se covalentemente ao substrato através de um dissulfeto misto $-Cis32-S-S-X$. A forma desprotonada da cisteína carboxi- 8 terminal (Cis-35 na tiorredoxina de *E. coli*) então ataca este dissulfeto, liberando o substrato reduzido $X-SH$ e a tiorredoxina oxidada $-Cis32-Cis35-$, que pode ser novamente reduzida pela tiorredoxina redutase. (PINHEIRO, 2007, pg. 7)

Durante a formação do intermediário dissulfeto misto, o valor de pKa da Cis-32 varia de 6,7 para 9,2 (JENG e cols., 1994). Até o presente momento, não é possível precisar qual o fator estrutural responsável por este baixo valor de pKa exibido pela Cis-32. Várias hipóteses foram formuladas para explicar o comportamento desta cisteína em tiorredoxinas. Uma delas sugere que o tiolato da Cis-32, que está semi-desprotonado a pH neutro, seja estabilizado pela proximidade com o grupo tiol da Cis-35. Isto foi proposto a partir da observação de que a substituição da Cis-35 por alanina é suficiente para levar o pKa da Cis-32 para valores próximos ao esperado para um grupamento tiol exposto ao solvente (PINHEIRO, 2007, pg. 8).

A (Fig. 12) ilustra o mecanismo proposto da ação redutora da tiorredoxina. Inicialmente a Trx reduzida se liga à proteína alvo por meio da superfície hidrofóbica. O ataque nucleofílico do tiolato do resíduo Cys-32 resulta na formação de um dissulfeto misto. Este dissulfeto misto

formado sofre um segundo ataque da forma desprotonado do Cys-35, gerando a proteína reduzida e a Trx oxidada.

Figura 12 – Ilustração do mecanismo proposto para redução de dissulfetos catalisados pela tiorredoxina



Fonte: Adaptado de HOLMEGREN, 1995

2.4 Tiorredoxina redutase

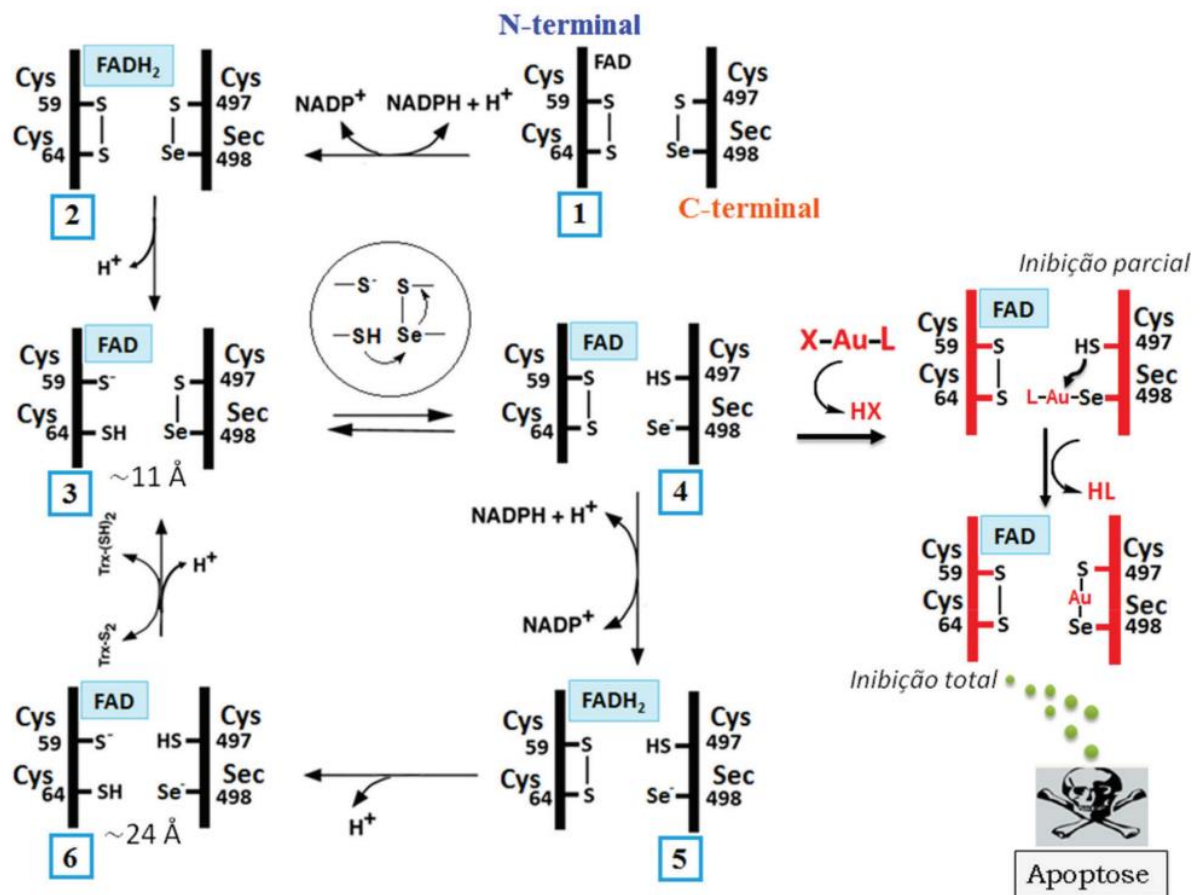
A tiorredoxina redutase é uma flavoenzima homodimérica cujo papel biológico é a transferência de equivalentes redutores da nicotinamida adenina nucleotídeo fosfato (NADPH) para o substrato tiorredoxina (Trx) (SACCOCCIA *et al.*, 2014) que é responsável pela redução de cisteínas oxidadas e peroxidases dependentes de tiol para remoção de espécies reativas de oxigênio. Além das funções antioxidantes envolvidas no reparo de ADN e proteínas, a Trx atua como um regulador redox para síntese de ADN, transcrição, crescimento celular e resistência a fármacos, portanto, mudanças no nível redox provocam mudanças em toda a célula (NAKAMURA, NAKAMURA, YODOI, 1997). São conhecidas 3 enzimas TrxR no organismo humano, TrxR1 como citosólica, TrxR2 como mitocondrial e TrxR3 como regulador específico de testículo. Desse modo, a TrxR se torna um alvo terapêutico em função do seu papel biológico.

2.4 Inibidores de Tiorredoxinas Redutases

A (Fig. 13) apresenta um dos mecanismos propostos para interação dos complexos de Au(I) com o sítio ativo da enzima tiorredoxina redutase reduzida. A figura X indica um ligante de caráter lábil como cloreto (Cl^-) e L um ligante doador forte como fosfinas terciárias (PR_3) ou carbenos N-heterocíclicos (NHC). Na etapa inicial (1), a enzima se encontra na forma oxidada, onde o cofator FAD é reduzido pelo NADPH na etapa (2). Na etapa (3) a região C-

terminal (Cys497 e Sec498) direciona-se para o centro redox N-terminal (Cys59 e Cys64) para sofrer redução. Após sofrerem a redução etapa (4 e 5), a região C-terminal move-se para superfície da enzima se afastando da região N-terminal conforme a etapa (6). Nesta etapa 6, tem relevante importância no transporte de elétrons da região do sítio ativo para superfície da enzima, visto que nesse momento a TrxR está pronta para reduzir a Trx, logo é interessante ter a região C-terminal próxima da superfície expondo o resíduo Sec498. As **interações covalentes** entre o **ouro** e a **região C-terminal** durante as etapas de redução (4 e 5) pode provocar a inibição parcial ou até mesmo total da atividade enzimática da TrxR levando, conseqüentemente, a liberação de sinalizadores de apoptose celular.

Figura 13 - Mecanismo de reação entre o sítio ativo da TrxR e complexos de Au(I)

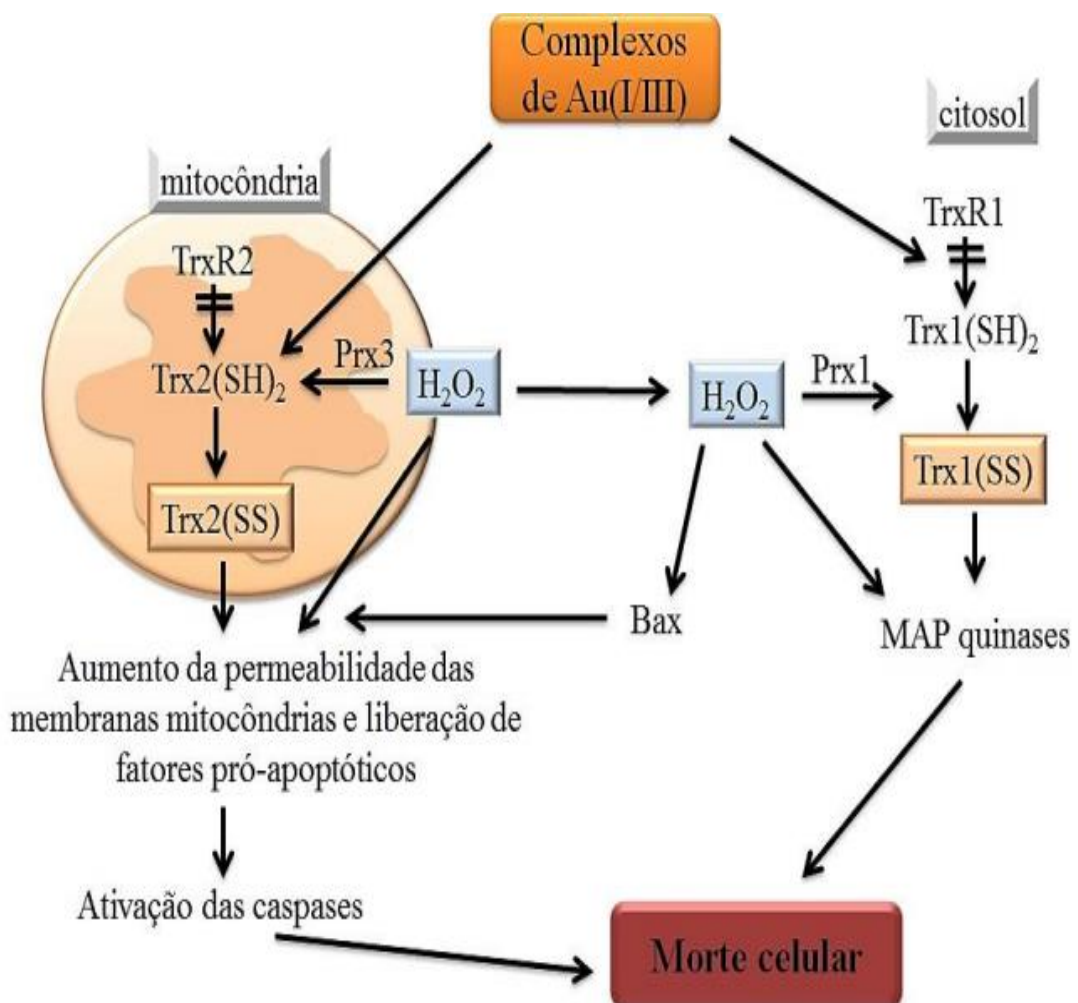


Fonte: DELGADO *et al.*, (2020)

Complementar ao mecanismo (Fig. 13), os complexos de Au(I/(III)) estão diretamente relacionados com a inibição da TrxR, ocasionando um aumento de espécies reativas de oxigênio, como por exemplo, o (H₂O₂) (ALBERTO, Bindoli *et al.*, 2009). Este acúmulo gera mudanças no estado de oxidação dos tióis presentes na Trx2. E entende-se que a inibição da

tiorredoxina associada a presença de quantidades elevadas de H_2O_2 leva a formação de peroxirredoxinas que são mediadas pela reação de oxidação da Trx2. A Trx2 oxidada e H_2O_2 se acumulam em um mesmo meio e atuam sobre alvos intramitocondriais diferentes, forçando à abertura do poro de permeabilidade de transição mitocondrial ou aumento da permeabilidade da membrana externa. Dessa forma, o peróxido de hidrogênio é liberado o citosol, onde provoca a oxidação da enzima tiorredoxina citosólica (Trx1), atuando de forma análoga a tiorredoxina mitocondrial (Trx2) e impedindo o processo de oxidação novamente, em função da inibição causada pela interação dos complexos de ouro com Trx (Fig. 14). A tiorredoxina oxidada estimula os sinalizadores de morte celular como as vias MAP quinases, que conduzem à morte via apoptose. Ainda no citosol, o acúmulo de peróxido ativa diversas vias de sinalização que estimulam ainda mais a morte celular (ALBERTO, Bindoli *et al.*, 2009).

Figura 14 – Mecanismos desenvolvidos do processo apoptótico por meio de complexos de ouro (I/III)



2.5 Complexos contendo fosfinas terciárias

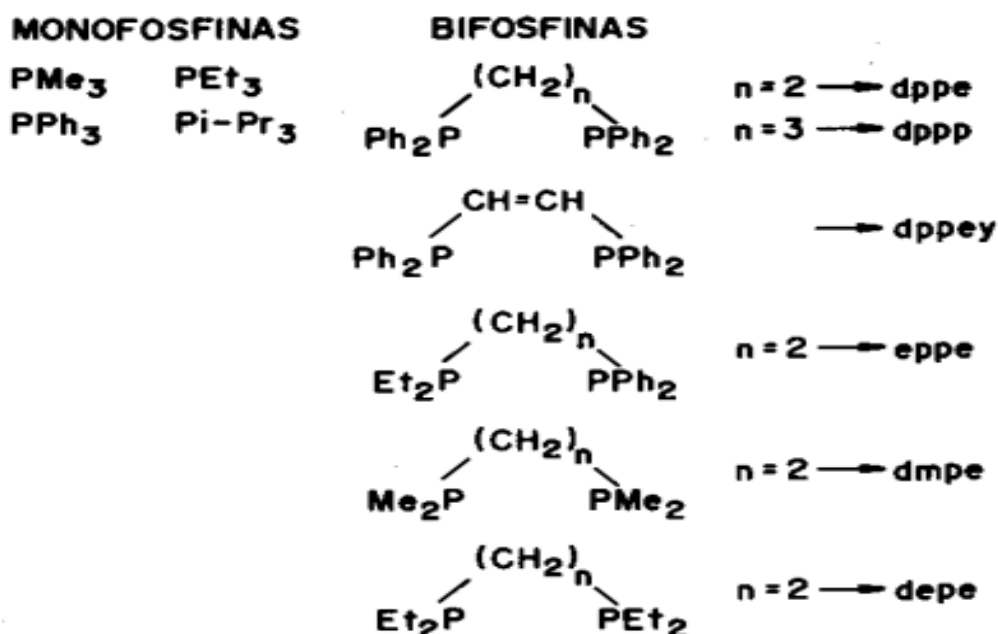
Nas últimas décadas, os complexos fosfínicos de metais de transição têm gerado grande interesse, notadamente, em função de que muitos deles atuam como catalisadores homogêneos em processos de forma seletiva e eficiente, como por exemplo, em hidrogenação, hidroformilação e polimerização de compostos orgânicos. Por esse motivo a química das fosfinas e dos respectivos complexos de metais de transição tem sido amplamente estudada, a quantidade de compostos que utilizam fosfinas como ligante é expressiva.

Embora algumas fosfinas e alguns de seus metais de transição funcionarem como agentes antitumorais, na área biológica esta classe de compostos apresenta menor receptividade quando comparado com objetivo catalítico. A explicação para isso se deve, supostamente, à razão de que as propriedades de compostos inorgânicos em meio biológico são diversas e, como consequência, tornam o controle e monitoramento difíceis de serem realizados, além da toxicidade de certas fosfinas. De certo que a quimioterapia usa a toxicidade como peça fundamental nos agentes antitumorais, inclusive realizar ações drásticas, irreversíveis e que provocam a morte de células cancerígenas. Todavia, o processo de toxicidade precisa ser o mais seletivo possível, o que não ocorre para algumas fosfinas, que são letais de forma indistinta.

As fosfinas receberam um impulso sobre os estudos de suas propriedades e aplicações na quimioterapia, essencialmente, a partir da descoberta da atividade antiartrítica exibida pelo complexo auranofina (nome comercial, “Ridaura”), [(2,3,4,-tetra-O-acetil-1-tio- β -D-glucopiranosato)(trietilfosfina)ouro(I)], aprovado para uso clínico em 1985. Por essa razão os estudos utilizando complexos a base de fosfina em aplicações quimioterápicas tem aumentado notadamente nos últimos anos.

As fosfinas terciárias do tipo PR_3 e as bifosfinas $R_2P(CH_2)_nPR_2$ e $R_2PCH=CHPR_2$ onde R = alquila ou arila e n =2,3 (Fig. 15), possuem algumas características químicas que as tornam excelentes para interagir com metais de transição.

Figura 15 - Estrutura de mono e bifosfinas



Fonte: QUEIROZ, BATISTA, (1996, pg. 651-659).

As fosfinas apresentam elevada versatilidade no que diz respeito a estabilização de metais em diferentes estados de oxidação por retrodoação. Notadamente, a trifenilfosfina, estabiliza complexos metálicos mesmo estando em altos ou baixos estados de oxidação. Essa característica deve-se a alta força de campo ligante das fosfinas, podendo formar tanto ligações σ quanto π com o centro metálico.

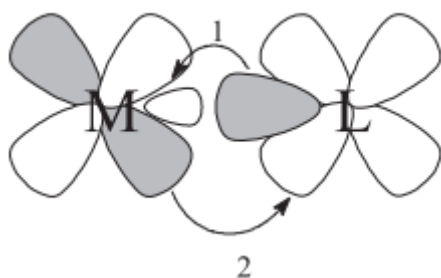
Possuem efeito trans acentuado, que associado a efeitos estéricos, normalmente levam à formação de complexos que se dissociam facilmente, gerando um sítio disponível na coordenação que pode ser utilizado para interagir com alvos biológicos importantes.

Ademais, permitem alterações nos grupos substituintes R, modificando as propriedades da fosfina em influenciar, seletividade, estabilidade e atividade do complexo. Já que a natureza das ligações σ e π são dependentes da natureza de R. Dessa forma, para PH_3 e PR_3 quando R = alquila, as capacidades π aceitadoras são baixas, aumentando conforme o substituinte R se torna mais eletronegativo, para R muito eletronegativo o caráter σ doador do fosforo diminui e a transferência de elétrons $\text{P} \rightarrow \text{M}$ será reduzida, enquanto a transferência $\text{Md} \pi \rightarrow \text{Pd} \pi$ será aumentada. Isso pode ser explicado pelo orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital), quanto maior a energia HOMO do ligante e menos eletronegativo for o substituinte, maior será a capacidade de doação de elétrons do P para o centro metálico. Enquanto no LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), ocorre o inverso sendo maior aceitador de elétrons quanto menor for a energia do orbital e mais eletronegativo for o substituinte

R. Além disso, modificações nos substituintes R podem ocasionar mudanças nos ângulos de ligação R-P-R, aumentar a distância M-P e M-L, favorecer estados de oxidação específicos do metal e podem gerar mudanças nas propriedades do complexo como maior ou menor solubilidade no meio de interesse. Além de aumentar estabilidade dos complexos devido à proteção e impedimento de intermediários de mecanismos associativos de troca de ligantes.

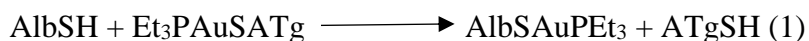
As fosfinas se coordenam ao centro metálico por meio de dois mecanismos principais: possuem um par de elétrons livre e disponível capaz de formar ligações estáveis σ e orbitais 3d e σ^* vazios, sendo adequados à retrodoação. De outra maneira, as fosfinas combinam suas propriedades de ligação forte doadora σ com as ligações π aceitadoras. Quando ocorre esse tipo de ligação química, há formação de ligações estáveis entre o centro metálico e o ligante devido à densidade eletrônica ser sinergicamente compartilhada (Fig. 16).

Figura 16 - Representação das interações Metal-Ligante: 1= ligação σ ; 2 = retrodoação π

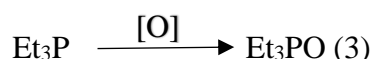


Fonte: (VALLE et al., 2008, pg. 807)

Tendo em mente os mecanismos de reação das fosfinas, foi estudado o mecanismo de ação de compostos de ouro, a maior dificuldade encontra-se no fato de que o metabolismo de complexos metálicos é distinto da modificação enzimática, degradação e excreção de drogas orgânicas. Os complexos podem sofrer troca de ligantes em meio biológico, podendo até mesmo sofrer reações de oxirredução no centro metálico, como por exemplo, a redução de Au(III) para Au(I) em meio fisiológico na presença de espécies redutoras como glutatona. Uma vez que os complexos de Au(I) são lábeis, os destinos metabólicos do centro metálico e dos ligantes podem ser diferentes. De fato, estudos utilizando o metabolismo da auranofina, mostraram que por meio de reações de troca de ligantes ocorre a perda dos ligantes trietilfosfina e tioglicose. A auranofina ($\text{Et}_3\text{PAuSATg}$) reage rapidamente com a albumina sérica (AlbSH) presente no soro sanguíneo para formar AlbSAuPEt_3 , com o ouro ligando-se à cisteína-34 (equação 1) (LINHARES, AZEVEDO, 1996):



Depois da liberação do ATgSH a fosfina sofre deslocamento pela acetiltioglucose e depois é oxidada, respectivamente, equações 2 e 3.



A partir da análise dos dados no espectro de RMN ^{31}P no sistema biológico, foi possível descrever o ciclo metabólico da auranofina. O ligante trietilfosfina possibilita a absorção oral da droga e, posteriormente, sofre oxidação e é excretado como Et_3PO , um metabolito não tóxico e solúvel em água.

Foram realizados diversos estudos referentes as propriedades citotóxicas das fosfinas e concluíram que, de forma geral, os complexos de Au(I) contendo fosfinas apresentaram citotoxicidade maior quando comparados com seus análogos não fosfínicos, e o motivo para isso é devido ao aumento da lipofilicidade que os ligantes fosfinas causam, na medida que confere aos complexos propriedades necessárias para penetração na membrana celular que apresenta natureza lipofílica (Tabela 1) (LINHARES, AZEVEDO, 1996).

Tabela 1 - Avaliação biológica de complexos de ouro

n ^o	complexos ^a	B16 ^b , IC50, μM	MTD ^c , $\mu\text{mol/Kg}$	P388 ^d , ILS _{max} , %
1	$\text{Et}_3\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	1,5	18	70
2	$\text{AuSGlu}(\text{Ac})_4$	150	110	14
3	Et_3PAuCl	1	14	36
4	Me_3PAuCl	6	16	34
5	Ph_3PAuCl	12	20	36
6	AuSGlu	166	> 300	15
7	$\text{AuSCH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$	60	350	24
8	$\text{Et}_2\text{-i-ProPAuSGlu}(\text{Ac})_4$	2	17	90
9	$\text{Et}_2\text{EtOPAuSGlu}(\text{Ac})_4$	1	14	70
10	$(\text{Me}_2\text{N})_3\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	2	8	60
11	$\text{Et}_2\text{HOBuPAuSGlu}(\text{Ac})_4$	8	17	58
12	$\text{Et}_2\text{PhPAuSGlu}(\text{Ac})_4$	2	13	55
13	$\text{i-Pr}_3\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	4	14	46
14	$\text{Me}_3\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	2	9	45
15	$\text{Ph}_3\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	4	7	36
16	$\text{EtPh}_2\text{PAuSGlu}(\text{Ac})_4$	4	6	32

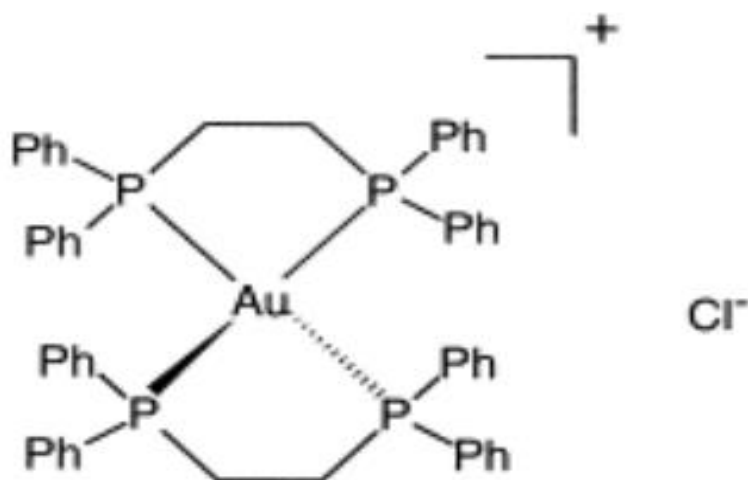
^a Abreviações usadas: Et, etil; Me, metil; Glu, glucose; Ac, acetato; i-Pr, isopropil; Bu, butil; Ph, fenil. ^b A potência citotóxica *in vitro* foi determinada em ensaio clonogênico com células de melanoma B16. IC₅₀ é a concentração requerida para reduzir o número de colônias formadas de 50% após exposição de 2 horas ao composto; ^c Dose máxima tolerada em ratos com leucemia ip P388.

^d A atividade foi expressa como um aumento na vida média (ILS) relativo aos ratos de controle. Um valor de ILS $\geq 40\%$ representa suficiente células mortas para resultar em uma redução líquida nas células cancerosas no final da terapia.

Fonte: (LINHARES, AZEVEDO, 1996)

Com base na interação da albumina sérica com o centro metálico do ouro procurou-se novas formas de melhorar a atividade anticancerígena das fosfinas, desse modo foram desenvolvidos diversos complexos fosfínicos quelados de Au(I) tetracoordenados, tinham a expectativa de que seriam mais estáveis a troca de ligantes, visto que precisavam reagir por meio de um mecanismo de abertura de anel e naquele momento não se tinha conhecimento de complexos de Au(I) pentacoordenados. Em específico, o complexo $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ (dppe = bis-(1,2-difenilfosfina)etano) (Fig. 17) sintetizado a partir do complexo binuclear $[\text{ClAu}(\text{dppe})\text{AuCl}]$ e da adição da bifosfina dppe. O $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ inibiu *in vitro* o crescimento de células B16 (melanoma) e P388 (leucemia) e apresentou atividade antitumoral *in vivo* contra diversos tumores transplantáveis como leucemias P388 e L1210, sarcoma de células reticulares M5076, B16 e B16C (adenocarcinoma mamário), apresentando, portanto, um perfil farmacológico melhor quando comparado com a auranofina. Baseando-se em observações de dados obtidos de RMN ^{31}P pode-se constatar que o complexo era mais estável na presença de tióis, dissulfetos e soro proteínas, tendo sua citotoxicidade menos afetada no soro sanguíneo. Ademais, foi sugerido que a atividade citotóxica do complexo é causada pela liberação da fosfina dppe no alvo biológico, sendo uma propriedade significativa já que a estabilidade do complexo em solução possibilita que o ligante atinja o alvo biológico sem antes sofrer oxidação, reduzindo sua atividade antitumoral.

Figura 17 - Estrutura do complexo $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$



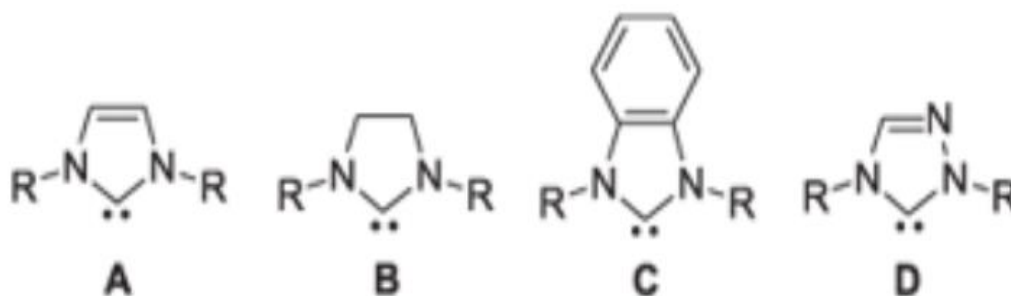
Fonte: Berners-Price et al. (1999)

Testes clínicos não tem sido realizados com estes complexos tetraédricos em função do $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ ser um potente desacoplador da fosforilação oxidativa e aumentar a permeabilidade da membrana mitocondrial externa para entrada de cátions metálicos. As reações geradas a partir disso geram efeitos colaterais como cardiotoxicidade. Com base nisto, a descoberta de novos ligantes com diferentes propriedades foi de extrema importância para novas formas de interações com sítios biologicamente ativos e atualmente uma classe importante de ligantes são os Carbenos N-Heterocíclicos (LINHARES, AZEVEDO, 1996).

2.6 Carbenos N-Heterocíclicos

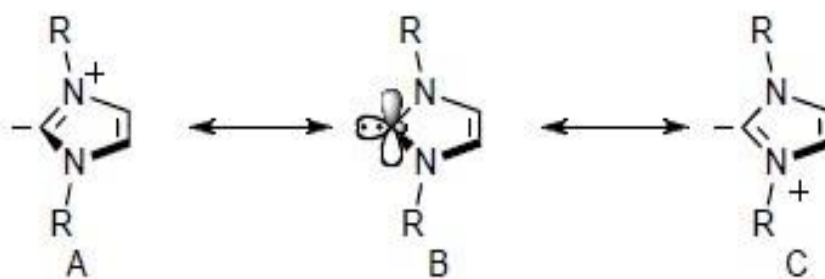
Os Carbenos N-heterocíclicos (NHCs) (Fig.18) constituem uma importante classe de compostos organometálicos e atualmente não há dúvidas de que eles têm causado um impacto significativo na ciência e na química em geral devido ao grande número de reações químicas que podem ser catalisadas pelo seu uso como ligante. Os NHC são relativamente não tóxicos, apresentam propriedades doadoras de elétrons eceptoras de elétrons semelhantes as fosfinas e suas variações estruturais são essencialmente ilimitadas, permitindo-se ajustar sua lipofilicidade e reatividade. Os ligantes são de forma geral caracterizados por 2 parâmetros: eletrônico e estérico. O primeiro refere-se as contribuições π ou σ doadores como também π aceitadores, estando diretamente ligada com os orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital), quando maior a energia HOMO do ligante, maior será a capacidade de doação de elétrons. Enquanto no LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), ocorre inversamente sendo maior aceitador quanto menor for a energia do orbital. O segundo parâmetro é o volume estérico que o ligante impõe ao centro do metal, podendo anular interações favoráveis e impedir a sobreposição dos orbitais (VINH, 2018, p. 9457-9492). Esses fatores estereoeletrônicos nos carbenos n-heterocíclicos permitem modificar os grupos substituintes R (Fig. 18). Sua principal característica como ligante está na capacidade de ser um forte doador sigma como pode ser observado a partir dos híbridos de ressonância de um NHC ilustrativo (Fig. 19).

Figura 18 - Carbenos N-Heterocíclicos : (a) imidazolin-2-ilideno; (b) saturado imidazolidin-2-ilideno; (c) benzimidazolin-2-ilideno e (d) 1,2,4-triazolin-5-ilideno



Fonte: CESAR, ROQUE, 2008

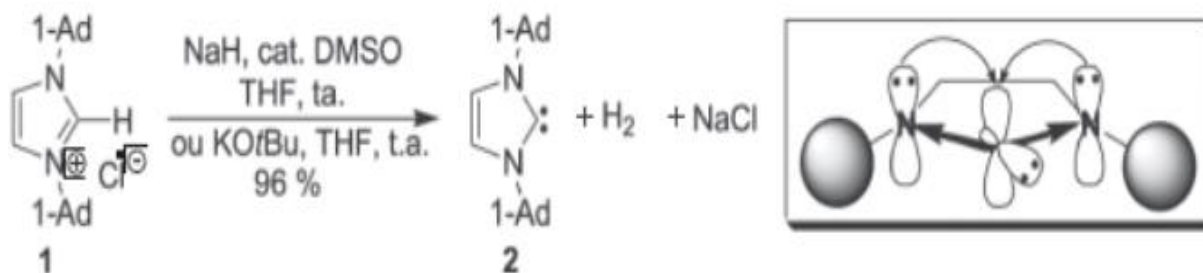
Figura 19 - Híbridos de Ressonância de um NHC



Fonte: BARAN LAB (2017)

De acordo com Pastre e Correia (2008) “em termos históricos, os estudos iniciais na química dos NHC foram realizados pelo Prof. Wanzlick na década de 60 que, a partir de seus trabalhos com mercúrio Hg^{2+} , conseguiu isolar e identificar complexos contendo estes ligantes”. Apesar de não ter conseguido isolar nenhum carbeno, Wanzlick foi o primeiro a postular que o carbono da posição 2 destes sistemas poderia ser estabilizado pelo efeito de doação de elétrons dos nitrogênios adjacentes (WANZLICK; SCHONHERR, 1968, p.7).

Apesar de todos os esforços que foram direcionados na tentativa de isolamento e identificação dos NHC's, foi somente em 1991 que Arduengo e colaboradores conseguiram isolar e caracterizar o primeiro NHC (Fig. 20) cristalino pela desprotonação do cloreto de bis(1-adamantil) imidazol com NaH em tetraidrofurano, na presença de uma quantidade catalítica de dimetilsulfóxido (PASTRE; CORREIA, 2008).

Figura 20 - Primeiro NHC isolado e caracterizado

Fonte: ARDUENGO, HARLOW, KLINE, 1991

Após o carbeno ser caracterizado por RMN de ^1H e de ^{13}C , EM, IV, AE e difração de raio-X, foi utilizado dos efeitos estereoeletrônicos para explicar sua grande estabilidade. A doação de elétrons pelos átomos de nitrogênio representa o fator principal na estabilização dos NHC's. A deslocalização de 6 elétrons p pelo anel tem sido considerada apenas uma estabilização adicional. O efeito estérico dos substituintes do nitrogênio exerce um papel de proteção complementar e em certos casos acaba compensando uma menor estabilização eletrônica do sistema (PASTRE; CORREIA, 2008). Ainda, a maior eletronegatividade dos nitrogênios é um fator importante, pois modera a reatividade do centro carbênico diminuindo o seu caráter nucleofílico.

Recentemente, foi demonstrado que os complexos de NHC podem ser usados para desenvolver fármacos altamente eficientes com possíveis aplicações no tratamento de câncer ou doenças infecciosas. Em particular, os complexos de ouro com ligantes de carbeno N-heterocíclico (NHC) são uma classe promissora de metalodroga anticâncer exibindo atividades *in vitro* e *in vivo* potentes. Atualmente, os mecanismos que envolvem a citotoxicidade dos carbenos não foram suficientemente elucidados. Em princípio, acredita-se que eles poderiam desencadear mecanismos de apoptose celular por dano direto ao ADN, incluindo inibição da tiorredoxina redutase (TrxR) e consequente dano mitocondrial, inibição do proteassoma, modulação de quinases específicas e outros processos celulares. Dentre eles, a inibição da enzima TrxR parece ter papel central na farmacologia dos complexos de ouro, uma vez que o ouro apresenta alta afinidade pelos grupos tiol e selenol (DELGADO *et al.*, 2020).

3. METODOLOGIA

3.1 Busca e seleção dos artigos

Foi realizada uma busca integrativa da literatura para obtenção de trabalhos científicos, na qual foram selecionados apenas artigos originais de pesquisa encontrados nas bases de dados: Scopus®, Publications American Chemistry Society (Pubsacs®). Para isso, foram utilizados artigos publicados no idioma português/inglês, utilizando de descritores booleano “AND” para obter o cruzamento das palavras chaves escolhidas com a finalidade de filtrar a busca dos estudos. Os critérios da seleção de inclusão foram baseados em estudos *in vivo/ in vitro*, citotoxicidade, viabilidade celular, mecanismo de interação, linhagem celular cancerígena, complexos desenvolvidos a partir de carbenos N-heterocíclicos de Au(I) e que foram publicados durante o período de 2010 a 2021 para Scopus e 2010 a 2022 para Pubsacs®, considerando como palavras chaves “Thioredoxin, complex Au(I), Anticâncer, N-Heterocyclic carbene”. Como critérios de exclusão, foram desconsiderados artigos que não resultaram em testes *in vivo/ in vitro*, com finalidade biológica distinta do tratamento anticâncer, artigos em duplicata, artigos de revisão, teses, dissertações e monografias. Diante disso, o processo de organização e seleção dos artigos originais foi dividido em 4 etapas de seleção: aplicação dos critérios de inclusão; seleção dos artigos; elegibilidade e, por último a inclusão no trabalho.

4. RESULTADOS

A seleção dos artigos precisava seguir os critérios de inclusão e exclusão. O levantamento bibliográfico localizou 42 resultados na Pubsacs e Scopus. Após a busca nas bases de dados eletrônicas, na fase de inclusão, foram filtradas 21 obras. Desse modo, durante a etapa de seleção os artigos tiveram seus títulos e resumos, sendo 13 obras elegíveis, as quais foram lidas e avaliadas na íntegra e, por fim, após a análise detalhada foram incluídos 10 artigos para compor o corpus dessa análise de revisão (Tabela 2).

Tabela 2- Relação de busca e seleção dos artigos

Busca				
Base de dados	Inclusão	Seleção	Elegibilidade	Inclusão
Pubsacs[®]	35	14	8	5
Scopus[®]	12	7	5	5
total	42	21	13	10

Fonte: Elaboração própria, 2022

Os artigos foram avaliados e comparados utilizando diferentes critérios como citotoxicidade, viabilidade celular, mecanismo de reação, células cancerígenas estudadas, testes *in vitro/ in vivo* e ano de publicação. Todos os artigos foram associados a complexos de ouro (I) com ligantes carbenos N-heterocíclicos na determinação e estudos antineoplásicos com intuito de avaliar potenciais complexos quimioterápicos (Tabela 3). Tendo em vista essas informações existe a necessidade de compreender cada critério utilizado. A citotoxicidade no âmbito de ensaios clínicos é definida como a toxicidade causada pela ação de agentes quimioterápicos sobre células vivas, sendo que ela é mensurada pelos testes de viabilidade celular onde se avalia o IC₅₀, a concentração inibitória média. O IC₅₀ é o valor da concentração de um inibidor para reduzir a atividade enzimática pela metade, quanto menor o valor de IC₅₀ mais efetivo será o inibidor. Em relação ao mecanismo, foi avaliado a forma como complexo estudado interage com regiões biologicamente importantes e as implicações dessas interações. Foi avaliada a motivação na escolha dos tipos celulares cancerígenos e se os estudos procederam *in vivo* ou *in vitro* e, por fim, a data em que os artigos foram publicados com intuito de averiguar a atualidade do tema.

Tabela 2 - Síntese dos artigos das propriedades de Carbenos N-heterocíclicos no tratamento de câncer

Artigos	Viabilidade Celular (IC50)	Citotoxicidade	Mecanismo	Título do artigo	Autores e Ano	Base de dados	Células tumorais	Testes <i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>
1	Superior a cisplatina	Principal células cancerígenas	Inibição TrxR1/TrxR2	Gold(I) Carbene Complexes Causing Thioredoxin 1 and Thioredoxin 2 Oxidation as Potential Anticancer Agents	SCHUH, Ester <i>et al.</i> , 2012.	Pubsacs, Scopus	A2780S/R	<i>in vitro</i>
2	Superior a cisplatina/Auranofina	reduzida na presença de BSA	Inibição TrxR	A Binuclear Gold(I) Complex with Mixed Bridging Diphosphine and Bis(N-Heterocyclic Carbene) Ligands Shows Favorable Thiol Reactivity and Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis In Vivo	ZOU, Taotao <i>et al.</i> , 2014	Scopus	HeLa/CSCs	<i>in vivo</i>
3	Inferior a cisplatina	Principal células cancerígenas	Inibição da TrxR	New Gold(I) Organometallic Compounds with Biological Activity in Cancer Cells	BERTRAND, Bernoit <i>et al.</i> , 2014	Scopus	A2780, MCF-7 e A549	<i>in vitro</i>
4	sem informação	Principal células cancerígenas	Inibição da TrxR	Synthesis and anticancer activity of novel NHC-gold(I)-sugar complexes	DADA, Oyinlola <i>et al.</i> , 2018	Scopus	MCF7, Caki-1	<i>in vitro</i>
5	Superior a auranofina	Células cancerígenas com alto grau de seletividade	Inibição da TrxR	Pharmacomodulation on Gold-NHC complexes for anticancer applications – is lipophilicity the key point?	ZHANG, Chen <i>et al.</i> , 2018	Scopus	PC-3 e T24	<i>in vitro</i>

6	Inferior a auranofina	Principal células cancerígenas	Inibição TrxR1/TrxR2	Characterization of Hydrophilic Gold(I) N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes as Potent TrxR Inhibitors Using Biochemical and Mass Spectrometric Approaches	KARACA, Ozden <i>et al.</i> , 2017	Pubsacs	2008	<i>in vitro</i>
7	Superior a Cisplatina e Auranofina	Células cancerígenas	Inibição da TrxR	Complexos Halo e Pseudohalo Gold(I)-NHC derivados de 4,5-diarilimidazóis com excelentes atividades anticancerígenas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> contra CHC	BIAN, Mianli <i>et al.</i> , 2020	Pubsacs	CHC, HepG2, SMMC-7721 e Hep3B	<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>
8	Superior a cisplatina	Células cancerígenas	reação com atrox-1	Chemistry and Biology of Two Novel Gold(I) Carbene Complexes as Prospective Anticancer Agents	MESSORI, Luigi <i>et al.</i> , 2014	Pubsacs	A2780S/R	<i>in vitro</i>
9	Superior a Cisplatina e Auranofina	Células cancerígenas	Indução de vias apoptóticas,	Design, Synthesis, and Preclinical Activity in Ovarian Cancer Models of New Phosphanegold(I)-N-heterocyclic Carbene Complexes	SULAIMAN, Adan <i>et al.</i> , 2022	Pubsacs	A2780S/R e SKOV3 <i>in vitro</i> / SKOV3 <i>in vivo</i>	<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>
10	Superior a auranofina	Células cancerígenas	Morte celular imunogênica tipo 2	Rationally Designed Redox-Active Au(I) N-Heterocyclic Carbene: An Immunogenic Cell Death Inducer	SEM, Sajal <i>et al.</i> , 2020	Pubsacs	A549, CT26 e HCT116	<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>

Fonte: Elaboração própria, 2022

5. DISCUSSÃO

A partir da seleção dos artigos, percebe-se que os estudos de carbenos N-heterocíclicos na terapia abordando câncer é um tema atual e recente, haja vista que dos 10 artigos selecionados nesta pesquisa, 6 foram publicados nos últimos 7 anos. A maioria dos estudos ainda se encontram em fases preliminares, porém 4 obras realizaram análises *in vivo* utilizando camundongos com xenoenxerto. (ZOU, Taotao *et al.*, 2014; BIAN, Mianli *et al.*, 2020; SULAIMAN, Adan *et al.*, 2022 e SEM, Sajal *et al.*, 2020). Sendo que o único que não apresentou dados positivos em relação a redução do volume do câncer foi o artigo 10 (SEM, Sajal *et al.*, 2020). Enquanto as outras 6 publicações apresentaram resultados em estágios iniciais do estudo com células *in vitro*.

Os resultados dessa pesquisa mostram que os complexos de carbenos N-heterocíclicos de Au(I) em sua maioria são obtidos a partir de derivados imidazólicos e utilizam um ligante halogenado preferencialmente de maior impedimento estérico como iodo para aumentar sua lipofilicidade dessa forma melhorando a interação do complexo com a membrana celular, facilitando sua entrada. Estudos indicam que em certos complexos o aumento da lipofilicidade está diretamente associado com valores maiores de citotoxicidade, em contrapartida ocorre redução da seletividade (ZHANG, Chen *et al.*, 2018).

Em função da dificuldade apresentada por complexos de auranofina de interagir com células cancerígenas, haja vista que ela interage com a albumina sérica presente no soro sanguíneo e estudos realizados por (ZOU, Taotao *et al.*, 2014) desenvolveram um complexo que, na ausência de albumina sérica apresentou ($IC_{50}=13,5 \mu M$) e em meio a albumina sérica sua citotoxicidade foi reduzida ($IC_{50}= 46,1 \mu M$) para células do tipo HeLa quando comparado com a referência auranofina ($IC_{50}= 1,1 \mu M$ na ausência de albumina e $IC_{50}= 49,3 \mu M$ na presença), indicando que dependendo das características físico-químicas do complexo desenvolvido pode ser menos suprimido pelos tióis e cisteínas presentes no soro sanguíneo, sendo encontrado com maior biodisponibilidade no interior da célula.

Os trabalhos que analisaram a toxicidade frente a células saudáveis tiveram 70% dos resultados indicando valores de IC_{50} maiores para células não cancerígenas, isto é, necessitam de maiores concentrações para que sejam tóxicos para essas células quando comparadas com as células cancerígenas. As principais formas de análise foram testes de inibição da enzima tiorredoxina redutase (via redução dependente de NADPH de ditiobisnitrobenzoato à temperatura ambiente) e IC_{50} (por meio do ensaio MTT) (SCHUH, Ester *et al.*, 2012). Os estudos

indicam que, devido às células cancerígenas apresentarem valores elevados de TrxR quando realizam o teste de viabilidade celular, os complexos carbenos N-heterocíclicos são mais seletivos para células neoplásicas e apresentam maior toxicidade nas células com maior concentração de TrxR.

Com relação às células tumorais, a principal linhagem celular estudada foi a de adenocarcinoma ovário humano (A2780 R/S) (SCHUH, Ester et al, 2012; BERTRAND, Bernoit et al., 2014; MESSORI, Luigi *et al.*, 2014 SULAIMAN, Adan *et al.*, 2022). Investigou-se a viabilidade celular para células do tipo A2780S sensível a cisplatina e A2780R resistente a cisplatina *in vitro* e os resultados demonstram que os complexos de Au(I) são seletivamente mais citotóxicos para o tipo A2780R, indicando que o mecanismo pelo qual o complexo atua é diferente da interação com as bases nitrogenadas do ADN. Os estudos de viabilidade celular indicaram valores de $IC_{50}=1,68 \mu M$ para o complexo de ouro enquanto a cisplatina apresentou um $IC_{50}=1,84 \mu M$ para células A2780S, e para A2780R valores de $IC_{50}=0,68 \mu M$ para o ouro e $IC_{50}=23,24 \mu M$ para cisplatina (SULAIMAN, Adan et al., 2022). Em segundo, adenocarcinoma pulmonar e de mama humano (SEM, Sajal *et al.*, 2020; DADA, Oyinlola *et al.*, 2018; BERTRAND, Bernoit *et al.*, 2014). Para células do tipo MCF-7, (adenocarcinoma mamário humano), o complexo com ligante derivado de cumarina se mostrou mais citotóxico e seletivo que o padrão de referência auranofina quando comparados HEK-293T (células renais embrionárias) (BERTRAND, Bernoit *et al.*, 2014).

Em relação ao mecanismo de inibição, 7 dos 10 artigos utilizados apresentaram inibição da atividade da tiorredoxina redutase, induzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). O acúmulo de ROS provoca disfunção mitocondrial, que desempenha um papel fundamental na apoptose, provocando apoptose. Foram realizados ensaios de indução para um dos complexos sintetizados (complexo 6) e foi confirmado o aumento de expressões de proteínas pró-apoptose (Bax, AIF, citocromo c e PARP/PARP clivado) e redução da expressão da proteína anti-apoptose Bcl-2 (BIAN, Mianli *et al.*, 2020), sugerindo ativação da apoptose celular via indução de ROS.

Foi avaliada a atividade antitumoral para este mesmo complexo, utilizando xenoenxerto subcutâneo de células HepG2 em camundongos. Após o tumor atingir 200 mm, os camundongos foram divididos em 3 grupos: grupo modelo, tratados com cisplatina (5mg/kg) e tratados com complexo 6 (5mg/kg). Após 15 dias de administração interperitoneal do complexo 6 observou-se uma redução acentuada do tumor quando comparado com o grupo controle e cisplatina. O grupo tratado não apresentou perda de peso ou danos a morfologia hepatocelular

quando comparado com o controle positivo cisplatina. Ademais, o complexo 6 apresentou inibição do crescimento tumoral de até 75,7% muito superior a cisplatina 44,4%.

Além disso, foram medidos os níveis de TrxR por ensaios de kit TrxR em tecidos tumorais e os obtiveram resultados que indicaram uma drástica redução da atividade comparado à cisplatina. Os testes indicaram que o complexo 6 inibe a expressão da TrxR e aumenta a expressão de marcadores de apoptose como AIF e, por fim, estudos utilizando CCl₄ demonstraram reversão de lesões no tecido hepático após administração do complexo 6 e maior seletividade para células tumorais (BIAN, Mianli *et al.*, 2020).

6. CONCLUSÃO

O uso medicinal do ouro e seus complexos possuem uma longa tradição e atualmente alguns complexos de ouro(I) são utilizados como agentes anti-reumáticos. O potencial anticancerígeno de complexos já é conhecido a algumas décadas e tem ocorrido uma busca intensa para o desenvolvimento de fármacos tumorais à base de ouro(I) e (III). Em relação aos complexos de Au(I), os ligantes do tipo fosfina e carbenos-N-heterocíclicos têm sido os mais explorados. A capacidade de modular e otimizar a estrutura dos ligantes coordenados para um alvo biológico em específico tem demonstrado maior seletividade e citotoxicidade, assim como menor interação com albumina sérica que é responsável por reagir quase que totalmente com todo o ouro presente no soro sanguíneo.

Diante dos trabalhos, foi averiguado que o principal mecanismo de efeitos antiproliferativos foi interação com a mitocôndria, responsável por um papel crítico na regulação da morte celular, e o sistema tiorredoxina/tiorredoxina redutase, que é responsável principalmente pela regulação redox de espécies no meio celular, levando ao acúmulo de espécie de oxigênio reativa e a liberação de sinalizadores apoptóticos. Pode ser observado também que complexos a base de ouro podem ser uma alternativa para combater células tumorais resistentes a cisplatina, visto que o mecanismo de atuação do ouro é distinto da cisplatina.

Alguns dos complexos demonstraram maior eficácia *in vivo* e *in vitro* quando comparados com as referências cisplatina e auranofina demonstrando que associados a mais estudos frente a toxicidade, maior compreensão dos mecanismos em meio biológico, esses compostos e outros podem vir a ser uma alternativa para o desenvolvimento de quimioterápicos nos próximos anos. Embora haja a necessidade de realizar mais testes *in vivo* para averiguar a toxicidade, os compostos de ouro se apresentam como uma alternativa promissora aos complexos atuais utilizados nos regimes quimioterápicos e os mecanismos pelos quais atuam.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLE, Eliana Maira Agostini *et al.* SOBRE UMA DEGENERESCÊNCIA ACIDENTAL NOS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN DE $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ EM COMPLEXOS DIFOSFÍNICOS DE RUTÊNIO. *Quim. Nova*, [s. l], v. 31, n. 4, p. 807-812, 2008. Bimestral.

ALMEIDA, Vera Lúcia de *et al.*. CÂNCER E AGENTES ANTINEOPLÁSICOS CICLO-CELULAR ESPECÍFICOS E CICLO-CELULAR NÃO ESPECÍFICOS QUE INTERAGEM COM O DNA: UMA INTRODUÇÃO. *Química Nova*, [s. l], v. 28, p. 121-122, 2005.

APARECIDO, RONE. G. Avaliação toxicogenética e atividade antitumoral in vitro de complexos heterolépticos de Rutênio (II): Atividades citotóxicas, genotóxicas e interação com biomoléculas. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologias aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 91. 2016.

Arduengo, A. J.; Harlow, R. L.; Kline, M.; *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 361.

S. Urig, K. Becker. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy *Semin. Cancer Biol.*, 16 (2006), pp. 452-465.

Associação BRASILEIRA DE LINFOMA E LEUCEMIA. Como é feita a quimioterapia. São Paulo, 2021.

Atkins; Shriver. *Inorganic Chemistry*, 4th, Freeman Publishing house, W. H. Freeman and Co Publisher, New York, NY, 2003.

BAKER, MURRAY V. *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. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 30, 12570-12571.

BAKER, MURRAY V.; BARNARD, P. J.; BERNERS-PRICE S. J.; BRAYSHAW, S. K.; HICKEY, J. L.; SKELETON, B. W.; WHITE, A. H. *Dalton Trans.* 2006, 3708.

BERALDO, H. A *Química Inorgânica na Terapia do Câncer*, *Química Nova*, n.6, p. 14-17, 2005.

Bertrand, B., de Almeida, A., van der Burgt, E.P.M., Picquet, M., Citta, A., Folda, A., Rigobello, M.P., Le Gendre, P., Bodio, E. and Casini, A. (2014), NEW GOLD(I) ORGANOMETALLIC COMPOUNDS WITH BIOLOGICAL ACTIVITY IN CANCER CELLS. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2014: 4532-4536.

BERTRAND, B.; CASINI, A.; *Dalton Trans.* 2014, 43, 4209
 BINDOLI, A.; RIGOBELLO, M. P.; SCUTARI, G.; GABBIANI, C.; CASINI, A.; MESSORI, L. THIOREDOXIN REDUCTASE: A TARGET FOR GOLD COMPOUNDS ACTING AS POTENCIAL ANTICÂNCER DRUGS. *COORDINATION CHEMISTRY REVIEWS*, v. 253, p. 1692-1707, 2009.

BINDOLI, A.; RIGOBELLO, M. P.; SCUTARI, G.; GABBIANI, C.; CASINI, A.; MESSORI, L. THIOREDOXIN REDUCTASE: A TARGET FOR GOLD COMPOUNDS ACTING AS POTENTIALLY ANTICANCER DRUGS. COORDINATION CHEMISTRY REVIEWS, 2009, v. 253, p.1672-1707.

C.K. Mirabelli, R.K. Johnson, D.T. Hill et al., *J. Med. Chem.*, 26, 218–223 (1986).
 CEZAR, P. JÚLIO; ROQUE, CARLOS D. C. CATALYSTS CONTAINING N-HETEROCYCLIC CARBENES AS LIGANDS: PROPERTIES, SYNTHESIS, APPLICATIONS AND COMPARISON WITH OTHER CATALYSTS. *Quim, Nova*, 2008, v. 31, ed. 4.

Chen Zhang, Marie-Lise Maddelein, Raymond Wai-Yin Sun, Heinz Gornitzka, Olivier Cuvillier, Catherine Hemmert. PHARMACOMODULATION ON GOLD-NHC COMPLEXES FOR ANTICANCER APPLICATIONS – IS LIPOPHILICITY THE KEY POINT?. *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 157, 2018, 320-332.

DELGADO, Giset Yuliana Sánchez *et al.* COMPOSTOS QUIMIOTERÁPICOS DE OURO: UMA VISÃO GERAL DOS COMPLEXOS ANTICÂNCER DE Au(I/III) EM RELAÇÃO À ESTRUTURA DO LIGANTE. *Quim. Nova*, [s. l], v. 43, n. 8, p. 1104-1124, 2020. Bimestral.

Esther Schuh, Carolin Pflüger, Anna Citta, Alessandra Folda, Maria Pia Rigobello, Alberto Bindoli, Angela Casini, and Fabian Mohr. *Journal of Medicinal Chemistry* 2012 55 (11), 5518-5528.

FARIAS, Renan Lira de. COMPOSTOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO TIOSSEMICARBAZONAS: compostos de paládio(ii) contendo tiossemicarbazonas. 2020. 187 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2020.

FARRELL, N. BIOMEDICAL USES AND APPLICATIONS OF INORGANIC CHEMISTRY. An overview. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 232, p. 1-4, 2002.

Gielen M, Tiekink (eds) METALLOTHERAPEUTIC DRUGS AND METAL-BASED DIAGNOSTIC AGENTS. THE USE OF METALS IN MEDICINE. Wiley, Chichester

GIELEN, Marcel; TIEKINK, Edward R. T. (ed.). METALLOTHERAPEUTIC DRUGS AND METAL-BASED DIAGNOSTIC AGENTS: the use of metals in medicine. England: John Wiley And Sons, Ltd, 2005. 642 p.

GONZALEZ, V. M.; FUERTES, M. A.; ALONSO, C.; PEREZ, J. M. Is cisplatin induced cell death ways produced by apoptosis. *Molecular Pharmacology*. V. 59, n. 4. p.657-663, 2001.
 H. F. DOS SANTOS, M. A. VIEIRA, G. Y. SÁNCHEZ DELGADO; D. PASCHOAL. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2016, v.120, ed. 14, p. 2250-2259.

HAUSMAN, DANIEL M. (2019). What Is Cancer? *Perspectives in Biology and Medicine* 62 (4):778-784.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). O que é o câncer. 2020. Disponível em:< <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 3 nov. 2021.

J. Folkman, ROLE OF ANGIOGENESIS IN TUMOR GROWTH AND METASTASIS, *Seminars in Oncology*, 29 (2002) 15-18.

J. Parascandola, The Theoretical Basis of Paul Ehrlich's Chemotherapy, *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, XXXVI (1981) 19-43.

Jamieson, E. R.; Lippard, S. J. *Chem Rev.* 1999, 99, 2467; [CrossRef] [PubMed] b) Jung, Y.; Lippard, S. J. *Chem. Rev.* 2007, 107, 1387.

JONES, Chris; THORNBAC, John. *Medicinal Applications of Coordination Chemistry*. Cambridge: The Royal Society Of Chemistry, 2007. 353 p.

KAISER, AMANDA. S. Complexos Heteroléticos de Ouro (III) como Potenciais Antitumorais e Anti-Trypanosoma cruzi. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, p. 87. 2015.

KARTALOU M, ESSIGMANN JM. Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutat Res.* 2001 Jul 1;478(1-2):23-43.

KELLAND. L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2007, ed.8, p. 573-84.

Luigi Messori, Lorella Marchetti, Lara Massai, Federica Scaletti, Annalisa Guerri, Ida Landini, Stefania Nobili, Gabriele Perrone, Enrico Mini, Piero Leoni, Marco Pasquali e Chiara Gabbiani *Química Inorgânica* 2014 53 (5), 2396-2403.

M, A. STRONG; J. CASTILLA; C. ALONSO; J.M. PÉREZ. Mecanismo de ação bioquímica da cisplatina: da citotoxicidade à indução de morte celular por meio de interconexões entre apoptótica e necrótica. *Chemical Chemistry*, 2003, ed. 10, p. 257-266.

MEYER, M., SCHRECK, R., BAEUERLE, P. A. (1993) H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF-κB and AP-1 in intact cells: AP-1 as a secondary antioxidant-responsive factor. *EMBO J.* 12: 2005-2015.

Mianli Bian, Rong Fan, Guizhi Jiang, Yingxiang Wang, Yunlong Lu e Wukun Liu *Journal of Medicinal Chemistry* 2020 63 (17), 9197-9211.

MOHR, Fabian. *Gold Chemistry: applications and future directions in the life sciences*. Wuppertal: Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. Kga, 2009. 423 p.

N.J. Farrer, P.J. Sadler, *Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art, New Trends, and a Vision of the Future*, *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, (2011) 1-47.

N.J. Farrer, P.J. Sadler, *Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art, New Trends, and a Vision of the Future*, *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, (2011) 1-47.

Nakamura H, Nakamura K, Yodoi J (1997-01-01). "Redox regulation of cellular activation". *Annual Review of Immunology.* 15 (1): 351-69.

NETTO, Adelino Vieira de Godoy. INTRODUÇÃO À QUÍMICA INORGÂNICA MEDICINAL: o papel dos metais e ligantes no planejamento de fármacos. 2018. 149 f. Tese (Livre Docência) - Curso de Química, Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2018.

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

Oyinlola Dada, Goar Sánchez-Sanz, Matthias Tacke, Xiangming Zhu. Synthesis and anticancer activity of novel NHC-gold(I)-sugar complexes, Volume 59, n. 30, 2018, 2904-2908.

Özden Karaca, Valeria Scalcon, Samuel M. Meier-Menches, Riccardo Bonsignore, Jurriaan MJL Brouwer, Federica Tonolo, Alessandra Folda, Maria Pia Rigobello, Fritz E. Kühn e Angela Casini *Química Inorgânica* 2017 56 (22), 14237-14250.

PARISH, R. V.; HOWE, B. P.; WRIGHT J. P.; MACK, J.; PRRITCHARD, R. G.; BUCKELY, R. G.; ELSOME A. M.; FRICKER, S. P.; *Inorg. Chem.* 1996, 35, 1659.

PASTRE, Julio Cezar; CORREIA, Carlos Roque Duarte. Catalisadores contendo carbenos n-heterocíclicos como ligantes: propriedades, sínteses, aplicações e comparação com outros ligantes. *Química Nova*, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 872-884, 2008. FapUNIFESP (SciELO).

Peter J. Sadler, Rodney E. Sue. *Metal Based Drugs*. 1994; 1(2-3): 107–144.

PINHEIRO, Anderson de Sá. Aspectos estruturais e dinâmicos das tioredoxinas citoplasmáticas de levedura e da sua interação com a tioredoxina redutase. 2007. 220 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química Biológica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

Queiroz, S. L.; Batista, A. A. Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina. *Química Nova*. São Paulo: Soc Brasileira Química, v. 19, n. 6, p. 651-659, 1996.

Saccoccia F, Angelucci F, Boumis G, Carotti D, Desiato G, Miele AE, Bellelli A. Thioredoxin reductase and its inhibitors. *Curr Protein Pept Sci*. 2014;15(6):621-46.

Sadler, P. J.; Sue, R. E.; *Met.-Based Drugs* 1994, 1, 107.

SCHUL, E.; PFLUGER, C.; CITTA, A.; FOLDA, A.; RIGOBELLO, M. P.; BINDOLI, A.; CASINI, A.; MOHR, F.; *J. Med. Chem.* 2012, v. 55, p. 5518.

SOARES, ANA S.P; CÉSAR, ELOL T; Beraldo, H. A Química Inorgânica na Terapia do Câncer, *Química Nova*, n.6, p.14-16, 2005.

Susan J. Berners-Price, Richard J. Bowen, Peter Galettis, Peter C. Healy, Mark J. McKeage, Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents, *Coordination Chemistry Reviews*, Volumes 185–186, 1999, pg. 823-836.

Susan J. Berners-Price, Richard J. Bowen, Peter Galettis, Peter C. Healy, Mark J. McKeage. Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents, *Coordination Chemistry Reviews*, Volumes 185–186, 1999, Pages 823-836.

TABOR, S., HUBER, H. E., RICHARDSON, C. C. (1987) *Escherichia coli* thioredoxin confers processivity on the DNA polymerase activity of the gene 5 protein of bacteriophage T7. *J. Biol. Chem.* 262: 16212-16223.

VINH, H. HAN. Electronic Properties of N-Heterocyclic Carbenes and Their Experimental Determination. *Chem. Ver.* 2018, n.118, v. 19, p. 9988-10031.

WANZLICK, H. W.; SCHONHERR, H. J.; *Angew. Chem., Int. Ed.* 1968, 7, 141.
World Health Organization (WHO). Estimated Number of Incidents Worldwide, both Sexes, all Ages. International Agency for Research on Cancer WHO; 2020. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/home>>. Acesso em: 15 nov. 2021.

World Health Organization (WHO). Cancer. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 12 nov. 2021.

Zou, T., Lum, C. T., Lok, C. N., To, W. P., Low, K. H. e Che, C. M. (2014), Um Complexo Binuclear de Ouro(I) com Difosfina em Ponte Mista e Ligantes de Bis(N-Heterocíclico Carbeno) Mostra Reatividade de Tiol Favorável e Inibe o Crescimento de Tumores e Angiogênese In Vivo. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 53: 5810-5814.

Zou, T.; Lum, C. T.; Lok, C. N.; Zhang, J. J.; Che, C. M.; *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 8786