



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro de Tecnologia e Ciências  
Instituto de Química

Gisele dos Santos Silva Firmino

**Síntese e investigação do potencial citotóxico de compostos de ouro(III) com hidrazonas e *bis*(hidrazonas) derivadas de isoniazida**

Rio de Janeiro  
2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/Q

F525 Firmino, Gisele dos Santos Silva.

Síntese e investigação do potencial citotóxico de compostos de ouro(III) com hidrazonas e *bis*(hidrazonas) derivadas de isoniazida. – 2019.

172 f.

Orientadora: Josane Alves Lessa

Dissertação (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Instituto de Química.

1. Hidrazonas – Teses. 2. Isoniazida – Teses. I. Lessa, Josane Alves. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. IV. Título.

CDU 543.2

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Gisele dos Santos Silva Firmino

**Síntese e investigação do potencial citotóxico de compostos de ouro(III) com hidrazonas e *bis*(hidrazonas) derivadas de isoniazida**



Tese apresentada, como requisito para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Josane Alves Lessa

Rio de Janeiro

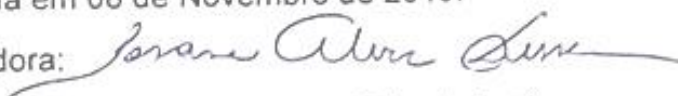
2019

Gisele dos Santos Silva Firmino

**Síntese e investigação do potencial citotóxico de compostos de ouro(III) com hidrazonas e bis(hidrazonas) derivadas de isoniazida**

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Química.

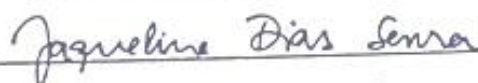
Aprovada em 08 de Novembro de 2019.

Orientadora: 

Prof.ª Dra. Josane Alves Lessa (Orientadora)

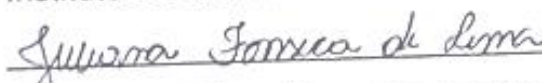
Instituto Federal Fluminense – IFF

Banca Examinadora:



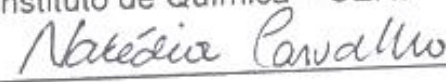
Prof.ª Dra. Jaqueline Dias Senra

Instituto de Química – UERJ



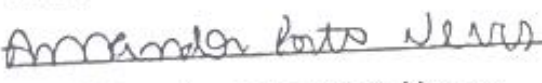
Prof.ª Dra. Juliana Fonseca de Lima

Instituto de Química – UERJ



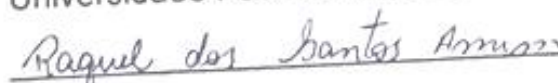
Prof.ª Dra. Nakédia Maysa Freitas Carvalho

Instituto de Química – UERJ



Prof.ª Dra. Amanda Porto Neves

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ



Dra. Raquel dos Santos Amim

NanoBusiness Informação e Inovação LTDA

Rio de Janeiro

2019

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor, incentivo e cuidado comigo.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, irmã e familiares, que sempre me apoiaram e não mediram esforços para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada por tudo!

Ao meu namorado Thiago e sua família, pelo companheirismo ao longo dessa etapa.

À professora Josane Alves Lessa pela orientação que tornou possível o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de Bioinorgânica e Compostos de Coordenação, em especial, Raquel, Natália, Samira e Jéssica pela amizade.

Aos alunos de iniciação científica Stephanie Cantisano e Wallace Andrade pela contribuição na execução do trabalho.

Aos amigos, especialmente, Eduarda, Dalvania, Thiago, Klícia, Pâmella, Guilherme, Marília e Cíntia que sempre me incentivaram.

Ao professor Marcus Vinicius Nora de Souza (Fiocruz), pela colaboração na realização dos experimentos de ressonância magnética nuclear, massas e infravermelho; e à professora Elaine Maria de Souza-Fagundes no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pela colaboração com os ensaios biológicos.

Aos professores Amanda Neves, Raquel Amim, Juliana Fonseca, Jaqueline Senra, Nakédia Carvalho, Annelise Casellato e Luiz Malta que prontamente aceitaram participar da banca de defesa deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química pela importante contribuição durante o curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro.

A química é uma arte científica  
através da qual se aprende a dissolver os  
corpos para deles retirar as diversas substâncias  
que os compõem e reuni-las, congregando-as,  
para criar corpos exaltados.

*Paracelsus*

## RESUMO

FIRMINO, G. S. S. *Síntese e investigação do potencial citotóxico de compostos de ouro(III) com hidrazonas e bis(hidrazonas) derivadas de isoniazida*. 2019. 172 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Estima-se uma incidência de 29,5 milhões novos de casos de câncer no mundo em 2040. Tal perspectiva impulsiona uma série de esforços para prevenção da doença e otimização dos tratamentos, tornando-os mais eficientes ao promoverem melhora na qualidade vida dos pacientes e aumento de suas chances de cura. Neste cenário, estudos em química inorgânica medicinal já puderam contribuir para obtenção de compostos de conhecida ação anticâncer sendo empregados na clínica – caso da cisplatina. A coordenação de íons metálicos com conhecida ação biológica às moléculas orgânicas com amplo espectro de atividade farmacológica, tem se mostrado como um dos caminhos à serem seguidos para obtenção de metalofármacos com interessante potencial citotóxico. Desta forma, no presente trabalho foram sintetizadas N-acil hidrazonas e bis(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida e seus complexos metálicos de ouro(III), com o objetivo de investigar seu potencial citotóxico frente às linhagens de células tumorais: HL-60 (leucemia humana promielocítica), MCF-7 e MDA-MB-231 (carcinoma de mama), HCT-116 (carcinoma colorretal) e PC-3 (próstata). As estruturas dos compostos sintetizados foram elucidadas com o auxílio: ponto de fusão; análise elementar; espectroscopia no IV, eletrônica e de RMN; condutivimetria e espectrometria de massas. A coordenação metal-ligante e esfera de coordenação confirmam-se com deslocamentos químicos dos sinais presentes nos espectros de RMN e das bandas de transição no espectro eletrônico. Foram obtidos 8 derivados de isoniazida: Hpcih (**L01**), Hapih (**L02**), Hbpilh (**L03**), Hpamih (**L04**), H<sub>2</sub>ginh (**L05**), H<sub>2</sub>pinh (**L06**) e H<sub>2</sub>pamih (**L07**) moléculas já descritas na literatura e H<sub>2</sub>bpinh (**L08**), que é inédita. Os seis compostos de ouro(III) obtidos são inéditos: [Au(H<sub>3</sub>pcih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C01**), [Au(H<sub>3</sub>bpilh)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C03**) e [Au(pamih)Cl<sub>2</sub>]·½CH<sub>3</sub>OH (**C04**), Au(H<sub>2</sub>ginh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C05**), [Au(Hpinh)OH]Cl (**C06**) e [Au(H<sub>2</sub>binh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C08**). **L02** foi a N-acil hidrazona mais ativa para as linhagens HL-60, MCF-7, PC-3 e HCT-116, reduzindo a viabilidade celular em mais de 50%, para as células HL-60. Mostrou-se mais ativa que os fármacos de referência. **C03** é altamente citotóxico para as células HL-60 e HCT-116, cujos valores IC<sub>50</sub> são 2,4 ± 2,17 e 2,4 ± 1,3 µmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Além disso, **C03** é mais potente do que HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O e o etoposídeo contra células MDA-MB-231, MCF-7 e HCT-116, respectivamente. Seu IC<sub>90</sub> promoveu fração de sobrevivência zero às células da linhagem HCT-116 no ensaio de clonogenicidade. Na investigação de mecanismo de ação de **C03**, há indícios de que o mesmo não induz a morte celular por apoptose. **C03** mostrou-se um composto com interessante ação citotóxica *in vitro* para realização de estudos mais avançados de seu potencial farmacológico.

Palavras-chave: Isoniazida. Hidrazona. Bis(hidrazona). Complexo de ouro(III).  
Atividade citotóxica.



## ABSTRACT

FIRMINO, G. S. S. *Synthesis and cytotoxic potential investigation of gold(III) compounds with hydrazones e bis(hydrazones) derived from isoniazid*. 2019. 172 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

About 29,5 million cancer new cases are expected in the worldwide in 2040. such perspective boosts a serie of efforts preventing disease and optimizing treatments, make it more efficient by promoting better life quality to patients and increased their cure chances. in this scenario, medicinal inorganic chemistry studies contributed to compounds obtention with clinical use because of anticancer action proved - cisplatin case. coordination of metal ions to organic molecules with a wide pharmacological spectra, proved to be one of the ways to follow to obtain metallopharmaceutical with interesting cytotoxic potential. Thus, in this present work we synthesized N-acyl hydrazones and bis(N-acyl hydrazones) derived from isoniazid and their gold(III) complexes in order to investigate their cytotoxic potential against the tumor cell lines: HL-60 (wild type human promyelocytic leukemia), MCF-7 and MDA-MB-293 (human breast carcinoma), HCT-116 (human colorectal carcinoma) and PC-3 (human prostate cancer). Chemical structures were elucidated by different techniques as melting point, elemental analysis; infrared (IR), electronic and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy; conductimetry and mass spectrometry. Eight isoniazid derivatives were obtained: Hpcih (**L01**), Hapih (**L02**), Hbpih (**L03**), Hpamih (**L04**), H<sub>2</sub>ginh (**L05**), H<sub>2</sub>pinh (**L06**) and H<sub>2</sub>pamih (**L07**) are described in literature and H<sub>2</sub>bpinh (**L08**), is new. Six gold(III) complexes with this ligands are inedited: [Au(H<sub>3</sub>pcih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C01**), [Au(H<sub>3</sub>bpih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C03**), [Au(pamih)Cl<sub>2</sub>]·½CH<sub>3</sub>OH (**C04**), Au(H<sub>2</sub>ginh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C05**), [Au(Hpinh)OH]Cl (**C06**) and [Au(H<sub>2</sub>bpinh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C08**). Hapih was the most active N-acyl hydrazone to HL-60, MCF-7, PC-3 and HCT-116 cell lines reducing cell viability more than 50 % to HL-60 and showed more activity than reference farms. **C03** is highly cytotoxic to HL-60 and HCT-116 cells, IC<sub>50</sub> values are 2.4 ± 2.17 and 2.4 ± 1.3 µmol L<sup>-1</sup>, respectively. Furthermore, **C03** is more potent than HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O and etoposide against MDA-MB-231, MCF-7 and HCT-116 cells, respectively. Its IC<sub>90</sub> promotes a zero survival fraction in HCT-116 cells in the clonogenicity assay. According to investigation of action mechanism for **C03**, the complex may not induce apoptosis cell death. **C03** proved to be a compound with interesting cytotoxic action *in vitro* for further study of its pharmacological potential.

Keywords: Isoniazid. hydrazone. Bis(hydrazone).Gold(III)complex. Cytotoxicity action.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 -	Taxas de incidência e mortalidade bruta estimadas em 2018 no mundo .....	27
Gráfico 2 -	Taxas de mortalidade brutas estimadas em 2018 no Brasil ..	28
Figura 1 -	Representação do processo de malignização celular .....	29
Esquema 1 -	Representação da ativação intracelular da cisplatina .....	33
Esquema 2 -	Representação da interação de metabólitos da cisplatina com o DNA .....	33
Figura 2 -	Compostos de ouro(I) utilizados no tratamento de artrite reumatoide .....	36
Figura 3 -	Estruturas dos complexos <b>5–9</b> .....	39
Figura 4 -	Estruturas dos complexos <b>10–12</b> .....	39
Figura 5 -	Estruturas dos complexos <b>13–20</b> .....	41
Figura 6 -	Estruturas dos complexos <b>21–24</b> .....	43
Figura 7 -	Estrutura geral dos complexos <b>25–29</b> .....	44
Figura 8 -	Estrutura química da nifuroxazida ( <b>30</b> ) .....	45
Figura 9 -	Estrutura química da isoniazida (INH, <b>31</b> ) .....	46
Figura 10 -	Estruturas da bis(N-acil hidrazona) ( <b>38</b> ) e de INH ( <b>31</b> ) .....	48
Figura 11 -	Estrutura geral dos complexos <b>40–45</b> .....	48
Figura 12 -	IC <sub>50</sub> de Hpamih e de seu complexo de cobre(II), [Cu(Hpamih)Cl <sub>2</sub> ]·H <sub>2</sub> O frente linhagem OVCAR-8 .....	49
Quadro 1 -	Tipo de eletrólito em soluções 1 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> (Λ <sub>M</sub> = ohm <sup>-1</sup> cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup> ) .....	53
Figura 13 -	Estruturas das moléculas orgânicas .....	55
Esquema 3 -	Representação do mecanismo de síntese de <b>L01–L03</b> .....	57
Esquema 4 -	Representação do mecanismo de síntese de <b>L05–L08</b> .....	57
Esquema 5 -	Representação do mecanismo de síntese de <b>L04</b> .....	58
Figura 14 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L01</b> .....	59
Figura 15 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L02</b> .....	59
Figura 16 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L03</b> .....	60
Figura 17 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L04</b> .....	61

Figura 18 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L05</b> .....	61
Figura 19 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L06</b> .....	62
Figura 20 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L07</b> .....	63
Figura 21 -	Representação da reação química para a síntese de <b>L08</b> .....	63
Esquema 6 -	Representação da reação química para a síntese de <b>C01-C08</b> .	64
Figura 22 -	Reação de MTT com a enzima mitocondrial reductase .....	66
Figura 23 -	Estrutura geral das N-acil hidrazonas sintetizadas .....	69
Figura 24 -	Estrutura geral dos complexos de ouro(III) <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> .....	73
Figura 25 -	Espectro no IV de <b>C01</b> obtido em pastilha de KBr .....	74
Figura 26 -	Espectro no IV de <b>C03</b> obtido em pastilha de KBr .....	75
Figura 27 -	Espectro no IV de <b>C04</b> obtido em pastilha de KBr .....	76
Figura 28 -	Espectro no IV de <b>C01</b> obtido em pastilha de CsI .....	77
Figura 29 -	Espectro no IV de <b>C03</b> obtido em pastilha de CsI .....	78
Figura 30 -	Espectro no IV de <b>C04</b> obtido em pastilha de CsI .....	78
Figura 31 -	Espectro de massas do complexo <b>C01</b> obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo .....	80
Figura 32 -	Espectro de massas do complexo <b>C03</b> obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo .....	81
Figura 33 -	Espectro de massas do complexo <b>C04</b> obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo .....	82
Figura 34 -	Estruturas numeradas dos possíveis isômeros de <b>L01 – L04</b> em solução .....	83
Figura 35 -	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>C01</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	85
Figura 36 -	Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do complexo <b>C01</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	86
Figura 37 -	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>C03</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	87
Figura 38 -	Espectros de RMN de <sup>13</sup> C de <b>C03</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	88
Figura 39 -	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H de <b>C04</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	90
Figura 40 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L01</b> em DMF .....	94
Figura 41 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L03</b> em DMF .....	95
Figura 42 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L04</b> em DMF .....	96
Figura 43 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L01</b> e de <b>C01</b> em DMF .....	98
Figura 44 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L03</b> e de <b>C03</b> em DMF .....	99
Figura 45 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L04</b> e de <b>C04</b> em DMF .....	100

Figura 46 -	Efeito de <b>L01</b> , <b>L02</b> , <b>L04</b> e <b>INH</b> na viabilidade das células tumorais .....	102
Figura 47 -	Efeito de <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> na viabilidade das células tumorais ..	103
Figura 48 -	Inibição da formação de colônias por <b>L02</b> , <b>C03</b> e $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ frente à linhagem de células HCT-116 .....	106
Figura 49 -	Conteúdo de DNA subdiploide determinado por citometria de fluxo .....	108
Figura 50 -	Estrutura geral das <i>bis</i> ( <i>N</i> -acil hidrazonas) sintetizadas .....	110
Figura 51 -	Espectro no IV de <b>L05</b> obtido por ATR .....	112
Figura 52 -	Espectro no IV de <b>L06</b> obtido por ATR .....	113
Figura 53 -	Espectro no IV de <b>L07</b> obtido por ATR .....	113
Figura 54 -	Espectro no IV de <b>L08</b> obtido por ATR .....	114
Figura 55 -	Espectro de massas de <b>L07</b> .....	115
Figura 56 -	Espectro de massas de <b>L08</b> .....	116
Figura 57 -	Estrutura genérica numerada de <b>L05–L08</b> .....	117
Figura 58 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>L05</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	118
Figura 59 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>L06</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	120
Figura 60 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>L06</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	120
Figura 61 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>L07</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	122
Figura 62 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>L07</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	124
Figura 63 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>L08</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	126
Figura 64 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>L08</b> em $\text{DMSO}-d_6$ .....	126
Figura 65 -	Estrutura geral dos complexos <b>C05–C08</b> .....	129
Figura 66 -	Espectros no IV de <b>C05</b> obtido por ATR .....	131
Figura 67 -	Espectros no IV de <b>C06</b> obtido por ATR .....	132
Figura 68 -	Espectros no IV de <b>C08</b> obtido por ATR .....	133
Figura 69 -	Espectros no IV de <b>C05</b> obtido em pastilha de CsI .....	135
Figura 70 -	Espectros no IV de <b>C06</b> obtido em pastilha de CsI .....	135
Figura 71 -	Espectros no IV de <b>C08</b> obtido em pastilha de CsI .....	136
Figura 72 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C05</b> obtido em $\text{DMSO}-d_6$ .....	137
Figura 73 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C08</b> obtido em $\text{DMSO}-d_6$ .....	137
Figura 74 -	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de <b>C06</b> obtido em $\text{DMSO}-d_6$ .....	138
Figura 75 -	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de <b>C06</b> obtido em $\text{DMSO}-d_6$ .....	139

Figura 76 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L05</b> e <b>C05</b> em DMF .....	143
Figura 77 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L06</b> e <b>C06</b> em DMF .....	144
Figura 78 -	Espectros eletrônicos no UV-vis de <b>L08</b> e <b>C08</b> em DMF .....	145

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Principais fármacos orgânicos com uso clínico para tratamento de câncer .....	30
Tabela 2 -	Exemplos de fármacos à base de metais utilizados na clínica ....	34
Tabela 3 -	IC <sub>50</sub> dos complexos <b>21–24</b> e da cisplatina .....	42
Tabela 4 -	Cor, rendimento (R, %), composição (C, H e N, em %), fórmula molecular (FM), massa molar (MM, g mol <sup>-1</sup> ), ponto de fusão (°C) e condutividade molar em metanol (1 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> , $\Lambda_M$ em $\Omega^{-1}$ cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup> ) dos complexos <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> .....	72
Tabela 5 -	Principais bandas nos espectros no IV (cm <sup>-1</sup> ) de <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> obtidos em pastilha de KBr na faixa de 4000–400 cm <sup>-1</sup> .....	76
Tabela 6 -	Principais bandas nos espectros no IV (cm <sup>-1</sup> ) de <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> obtidos em pastilhas de CsI na faixa de 400–170 cm <sup>-1</sup> .....	79
Tabela 7 -	Principais fragmentos detectados por ESI-MS para <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> em metanol/água (1:1) no modo positivo .....	79
Tabela 8 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) <sup>a</sup> , constantes de acoplamento <sup>b</sup> e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L01</b> , <b>L03</b> e <b>L04</b> e seus complexos <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	92
Tabela 9 -	Atribuições (A) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de <sup>13</sup> C para as hidrazonas livres <b>L01</b> e <b>L03</b> e seus complexos de <b>C01</b> e <b>C03</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	93
Tabela 10 -	Valores de comprimentos de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de bandas observadas nos espectros eletrônicos de <b>L01</b> , <b>L03</b> e <b>L04</b> e de seus complexos <b>C01</b> , <b>C03</b> e <b>C04</b> em DMF .....	101
Tabela 11 -	IC <sub>50</sub> e IS (Índice de Seletividade) dos compostos selecionados ..	104
Tabela 12 -	IC <sub>50</sub> e IC <sub>90</sub> de <b>L02</b> , <b>C03</b> e H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O frente à linhagem HCT-116 .....	105
Tabela 13 -	Cor, Rendimento (R, %), Composição (C, H e N, em %), Fórmula Molecular (FM), Massa Molar (MM, g mol L <sup>-1</sup> ), e Ponto	

	de fusão (P.F, °C) de <b>L05</b> , <b>L06</b> , <b>L07</b> e <b>L08</b> em comparação com a isoniazida (INH) .....	110
Tabela 14 -	Bandas nos espectros no IV (cm <sup>-1</sup> ) de INH e seus derivados <b>L05–L08</b> obtidos por ATR na faixa de 4000–600 cm <sup>-1</sup> .....	114
Tabela 15 -	Principais fragmentações caracterizadas por ESI-MS para <b>L07–L08</b> .....	117
Tabela 16 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L05</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	119
Tabela 17 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L06</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	121
Tabela 18 -	Atribuições (A), e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>13</sup> C (isômero majoritário) para <b>L06</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	121
Tabela 19 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L07</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	123
Tabela 20 -	Atribuições (A), e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>13</sup> C (isômero majoritário) para <b>L07</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	125
Tabela 21 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L08</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	127
Tabela 22 -	Atribuições (A), e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>13</sup> C (isômero majoritário) para <b>L08</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	127
Tabela 23 -	Cor, rendimento (R, %), composição (C, H e N, em %), fórmula molecular (FM), massa molar (MM, g mol <sup>-1</sup> ), ponto de fusão (°C) e condutividade molar em DMF (1 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> , Λ <sub>M</sub> em Ω <sup>-1</sup> cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup> ) dos compostos <b>C05</b> , <b>C06</b> e <b>C08</b> .....	129
Tabela 24 -	Principais bandas nos espectros de infravermelho (cm <sup>-1</sup> ) dos ligantes <b>L05</b> , <b>L06</b> e <b>L08</b> e seus respectivos complexos de	

	ouro(III) <b>C05</b> , <b>C06</b> e <b>C08</b> , obtidos por ATR na faixa de 4000–600 cm <sup>-1</sup> .....	130
Tabela 25 -	Principais bandas nos espectros de infravermelho (cm <sup>-1</sup> ) dos complexos de ouro(III) <b>C05</b> , <b>C06</b> e <b>C08</b> , obtidos em pastilhas de CsI na faixa de 700–170 cm <sup>-1</sup> .....	134
Tabela 26 -	Atribuições (A), número de hidrogênios (n <sup>o</sup> ), multiplicidade (M) <sup>a</sup> , constantes de acoplamento <sup>b</sup> e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>1</sup> H para <b>L05</b> , <b>L06</b> e <b>L08</b> e seus complexos de ouro(III) <b>C05</b> , <b>C06</b> e <b>C08</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	140
Tabela 27 -	Atribuições (A) e deslocamentos químicos (δ, em ppm) dos principais sinais de <sup>13</sup> C para <b>L06</b> e <b>C06</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> .....	141
Tabela 28 -	Valores de comprimentos de onda (λ <sub>máx</sub> ) e coeficientes de absorvidade molar (ε) de bandas observadas nos espectros eletrônicos de <b>L05</b> , <b>L06</b> e <b>L08</b> e seus complexos de ouro(III) em DMF .....	142



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2780	Câncer de ovário
A431	Câncer de pele
APT	Attached Proton Test
Caco-2	Adenocarcinoma coloretal
CC <sub>50</sub>	Concentração citotóxica para 50 % das células sadias
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
CIM <sub>90</sub>	Concentração inibitória mínima letal 90 % dos patógenos sensíveis
CIS	Cisplatina
COSY	Correlation Spectroscopy
CSN	Cérebro e sistema nervoso
d	Dubleto
DACH	Diaminociclohexano
dmbipy	dimetilbipiridina
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxorribonucleico
DP	Desvio padrão
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização electrospray
ETO	Etoposídeo
Fem-x	Melanoma humano
FM	Fórmula molecular
FS	Fração de sobrevivência
H <sub>2</sub> apinh	Acetilpropionil <i>bis</i> (isonicotinoil hidrazona)
H <sub>2</sub> bpinh	Bipropionil <i>bis</i> (isonicotinoil hidrazona)
H <sub>2</sub> ginh	Glioxal <i>bis</i> (isonicotinoil hidrazona)
H <sub>2</sub> pinh	Pirualdeído <i>bis</i> (isonicotinoil hidrazona)
H <sub>37</sub> Rv	Linhagem do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Hapih	2-acetilpiridina isonicotinoil hidrazona

Hbpih	2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona
HCT-116	Carcinoma de colon humano
HEK-293	Células não tumorais embrionárias de rim humano
HeLa	Câncer cervical
HL-60	Leucemia mielóide promielocítica humana
Hpamih	2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona
Hpcih	2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HT-29	Câncer de cólon
IARC	International Agency for Research on Cancer
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória em 50 %
IC <sub>90</sub>	Concentração inibitória em 90 %
INCA	Instituto Nacional do Câncer
INH	Isoniazida
IS	Índice de seletividade
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
K562	Leucemia mielóide humano
M	Multiplicidade
m	Multiplete
m/z	Relação massa/carga
MAP	Proteína-quinases ativadas por mitógenos
MCF-7	Adenocarcinoma mamário
MDA-MB-231	Adenocarcinoma mamário
MeOH	Metanol
MM	Massa molecular
MRC-5	Células sadias fibroblásticas de pulmão embrionário humano
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2-5-difenil-2H-tetrazólio
ND	Não detectado
OVCAR-8	Câncer de ovário humano
PC-3	Câncer de próstata humano
PE	Eficiência de plaqueamento
PF	Ponto de fusão

Prx	Peroxirredoxina
py	Piridina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
s	Singleto
SF-295	Glioblastoma humano
SFB	Soro fetal bovino
SGC-7901	Carcinoma gástrico
SK-N-MC	Neuroepitelioma
sl	Sinal largo
t	Tripleto
T47D	Câncer ductal do peito
Trx	Tiorredoxina
TrxR	Tiorredoxina reductase
UV-vis	Ultravioleta visível
Vero	Células não cancerígenas isoladas de rim de macaco

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	22
1	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	26
1.1	<b>O câncer: incidência, mortalidade e breve histórico dos tratamentos</b> .....	26
1.2	<b>Compostos inorgânicos e a quimioterapia do câncer</b> .....	32
1.2.1	<u>Química Medicinal Inorgânica</u> .....	32
1.2.2	<u>Complexos de ouro(III): estudos citotóxicos e usos clínicos</u> .....	35
1.2.3	<u>Compostos orgânicos com atividade biológica e potencial quelante</u> ..	45
1.2.3.1	Hidrazonas e bis(hidrazonas) derivadas de isoniazida .....	45
2	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	49
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	51
3.1	<b>Objetivo geral</b> .....	51
3.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	51
4	<b>METODOLOGIA</b> .....	52
4.1	<b>Materiais e equipamentos</b> .....	52
4.2	<b>Síntese e caracterização das moléculas orgânicas</b> .....	55
4.2.1	<u>Síntese das <i>N</i>-acil hidrazonas e <i>bis</i>(<i>N</i>-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida</u> .....	56
4.2.1.1	Síntese de 2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona, Hpcih (L01) .....	58
4.2.1.2	Síntese de 2-acetilpiridina isonicotinoil hidrazona, Hapih (L02) .....	59
4.2.1.3	Síntese de 2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona, Hbpilh (L03) .....	60
4.2.1.4	Síntese de 2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona, HpamIH (L04) .....	60
4.2.1.5	Síntese de glicoxal bis(isonicotinoil hidrazona), H <sub>2</sub> ginh (L05) .....	61
4.2.1.6	Síntese de piruvaldeído bis(isonicotinoil hidrazona), H <sub>2</sub> pinh (L06) .....	62
4.2.1.7	Síntese de acetilpropionil bis(isonicotinoil hidrazona), H <sub>2</sub> apinh (L07) ...	62
4.2.1.8	Síntese de bipropionil bis(isonicotinoil hidrazona), H <sub>2</sub> bpinh (L08) .....	63
4.3	<b>Obtenção dos complexos de ouro(III)</b> .....	64
4.4	<b>Ensaio biológico</b> .....	64
4.4.1	<u>Linhagens de células tumorais</u> .....	65
4.4.2	<u>Avaliação da atividade citotóxica de substâncias sintéticas em células leucêmicas (mielóide), tumor mamário e colorretal</u> .....	65

4.4.3	<u>Avaliação de viabilidade e proliferação celular pelo ensaio de MTT</u> .....	66
4.4.4	<u>Ensaio de clonogenicidade</u> .....	67
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	68
5.1	<b><i>N</i>-acil hidrazonas derivadas de isoniazida e seus complexos de ouro(III)</b> .....	68
5.1.1	<u>Caracterização das hidrazonas <b>L01–L04</b></u> .....	68
5.1.2	<u>Caracterização dos complexos de ouro(III) com hidrazonas derivadas de isoniazida: <b>C01, C03 e C04</b></u> .....	70
5.1.2.1	Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas .....	71
5.1.2.2	Espectroscopia no infravermelho (IV) .....	73
5.1.2.3	Espectrometria de massas .....	79
5.1.2.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	82
5.1.2.5	Espectroscopia eletrônica (UV-visível) .....	93
5.1.3	<u>Estudos biológicos</u> .....	101
5.1.3.1	Avaliação da atividade citotóxica de substâncias sintéticas em células leucêmicas (mielóide), tumor mamário e colorretal .....	101
5.1.3.2	Ensaio de clonogenicidade .....	104
5.1.3.3	Análise do ciclo celular .....	107
5.2	<b><i>Bis</i>(<i>N</i>-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida (<b>L05–L08</b>) e seus complexos de ouro(III)</b> .....	109
5.2.1	<u>Caracterização das <i>bis</i>(<i>N</i>-acil hidrazonas) <b>L05–L08</b></u> .....	109
5.2.1.1	Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas .....	109
5.2.1.2	Espectroscopia no Infravermelho (IV) .....	111
5.2.1.3	Espectrometria de massas .....	114
5.2.1.4	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) .....	117
5.2.2	<u>Caracterização dos complexos de ouro(III) <b>C05, C06 e C08</b> com <i>bis</i>(<i>N</i>-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida</u> .....	128
5.2.2.1	Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas .....	128
5.2.2.2	Espectroscopia no infravermelho (IV) .....	130
5.2.2.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	136

5.2.2.4	Espectroscopia eletrônica (UV-visível) .....	141
5.2.3	<u>Ensaio biológico</u> .....	146
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	147
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	149
	<b>APÊNDICE A – N-acil hidrazona L01</b> .....	159
	<b>APÊNDICE B – N-acil hidrazona L02</b> .....	162
	<b>APÊNDICE C – N-acil hidrazona L03</b> .....	164
	<b>APÊNDICE D – N-acil hidrazona L04</b> .....	167
	<b>APÊNDICE E – Complexo C03</b> .....	169
	<b>APÊNDICE F - Bis(N-acil hidrazona) L06</b> .....	170
	<b>ANEXO 1 – Artigos publicados e submetidos</b> .....	171

## INTRODUÇÃO

O uso terapêutico de compostos à base de metais remonta à antiguidade (NDAGI; MHLONGO; E SOLIMAN, 2017; NORN; PERMIN; KRUSE; KRUSE, 2008). No período em que os assírios, egípcios e chineses sabiam da importância da utilização de tais compostos para tratamento de doenças, podemos citar como exemplos: o cinábrio (sulfeto de mercúrio), recomendado para “imortalidade” (COSTA; BERTOLDO; DAMAS, 2014); as preparações de arsênio (conhecidas como “*Unguentum Aegypticum*”), utilizadas topicamente até o século XVI (WOLFF, 1989) e o trióxido de arsênio, usado para o tratamento de reumatismo, sífilis e psoríase pela medicina tradicional chinesa (AGNEW, 2010) e, que durante os séculos XVII e XIX estava entre os primeiros compostos sugeridos para uso no tratamento da leucemia (posteriormente foi substituído pela radiação e quimioterapia citotóxica no início do século XX). Apenas em 1865 Lissauer faz uso de outro composto de arsênio (arseniato de potássio) para tratamento de leucemia mielóide crônica, fato que é considerado por muitos como sendo o primeiro exemplo de quimioterapia eficaz voltada para o tratamento de uma doença maligna (PAPAC, 2001).

No início dos anos 1900, o químico alemão Paul Ehrlich ao investigar o desenvolvimento de drogas (corantes de anilina e agentes alquilantes) para tratar doenças infecciosas e cânceres, cunhou o termo “quimioterapia” e também documentou pela primeira vez, a eficácia dos modelos animais para rastrear uma série de produtos químicos pela sua potencial atividade contra doenças (DEVITA, CHU, 2008). Contudo, a radioterapia e a cirurgia dominaram o tratamento antitumoral para quase toda a primeira metade do século XX (KAPLAN, 1979).

Nas últimas décadas do século XX, foram sendo desenvolvidos novos métodos para o tratamento do câncer, combinando cirurgia com quimioterapia e/ou radiação. Posteriormente, com a descoberta de que mostardas nitrogenadas podiam matar rapidamente células cancerígenas do linfoma, houve uma verdadeira sensação de excitação pelo fato de talvez essas drogas pudessem curar pacientes com câncer (KARNOFSKY, et al., 1947 apud MOULTON, 1947; GILMAN, 1963). Entretanto, as remissões revelaram-se breves e incompletas, provocando certa descrença em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de drogas capazes de

curar cânceres avançados. Mais tarde, ao investigar o uso da quimioterapia como adjuvante da cirurgia ou radioterapia para tratamento de câncer de mama avançado, é que começam a surgir alguns resultados satisfatórios (GREENSPAN, E. M. et al., 1963; NDAGI; MHLONGO; E SOLIMAN, 2017).

Os compostos à base de metais para tratamento de câncer entram nesse cenário após a descoberta da atividade biológica do composto de platina (cisplatina) por Barnett Rosenberg na década de 1960. Tal feito é considerado como sendo o início da era moderna do medicamento anticâncer (JUNGWIRTH, et al., 2011).

O uso dos compostos de base metálica tinha o desafio provocado pela falta de distinção entre o que seriam as doses terapêuticas ou tóxicas. Apenas com o advento da biologia molecular e da química combinatória, abre-se um novo caminho para o design racional de compostos químicos a fim de atingir moléculas específicas. Avanços nessas áreas possibilitaram o uso clínico de diversos metalofármacos, tanto para tratamento de câncer, quanto para outras doenças (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007). No entanto, a manifestação de efeitos colaterais indesejados, hidrólise e pouca estabilidade apresentada por alguns desses compostos, estimulam até hoje a busca por novas opções de substâncias que também sejam ativas, mas que minimizem e/ou não apresentem esses problemas (MAIA; DEFLON; ABRAM, 2014).

Atualmente, diversas abordagens são estudadas para reduzir os comprovados efeitos colaterais da quimioterapia (LOVE et al., 1989; BENTZEN, 2006; TAO; VISVANATHAN; WOLFF, 2015; OKUMUS et al., 2017; POSSANZINI; GRECO, 2018) incluindo o uso de: (a) novas combinações de drogas, (b) terapia direcionada especificamente para as células cancerígenas, (c) quimioprotetor para reduzir os efeitos colaterais da quimioterapia, (d) transplante de células-tronco e (e) agentes que superam resistência a múltiplas drogas (DEVITA; CHU, 2008).

As tentativas de elucidação dos mecanismos de ação, como no caso da cisplatina, e até mesmo de seus derivados (carboplatina, oxaloplatina e auranofina (MARKOWSKA et al., 2015)) impulsionaram uma busca inicial pela coordenação dos compostos orgânicos a íons metálicos que apresentassem semelhança química com a platina(II) (configuração  $d^8$ ), tendo como finalidade produzir compostos anticâncer que tivessem o DNA como principal alvo. Posteriormente, estudos apontaram que a ação dos compostos não dependia exclusivamente da interação que apresentaria com o DNA, mas que a interferência nos mecanismos de outros processos que



ocorrem dentro da célula também tem importante papel na inibição da doença (MARTÍN-SANTOS et al., 2015).

O outro foco nos estudos de obtenção de metalofármacos é a escolha do ligante. Isto porque já foi comprovado por diferentes estudos de que a coordenação de íons metálicos a moléculas com conhecida ação citotóxica potencializava a atividade apresentada pela mesma isoladamente, ao promover modificação de suas propriedades físicas e químicas, como reatividade e lipofilicidade, e estabilização de determinados estados de oxidação. Desta forma, o planejamento racional de ligantes pode levar a formação de compostos de coordenação mais ativos e/ou menos tóxicos. Especificamente para compostos coordenados com ouro(III), é recorrente em diversos trabalhos sua coordenação com porfirinas (DANDASH et al., 2017; FAKAYODE et al., 2018; SUN et al., 2010), tiocarbamatos (CASELLATO et al., 1990), aminas (CASADO-SÁNCHEZ et al., 2017; RODRÍGUEZ-FANJUL et al., 2018; SHI et al., 2013), bases de Schiff (PAVIC et al., 2017; RADULOVIĆ et al., 2018; RETTONDIN et al., 2016) entre outros (NOBILI et al., 2012). Sendo as hidrazonas bases de Schiff, é interessante estudá-las como uma das alternativas de ligantes para coordenação ao íon ouro(III), não sendo encontrados relatos na literatura da coordenação do ouro(III) a hidrazonas.

De um modo geral, hidrazonas apresentam um amplo perfil farmacológico, como antibactericida, antituberculose, anti-inflamatório, antitumoral (ALAM et al., 2014; THOTA et al., 2018). Alguns estudos mostram que a coordenação de hidrazonas a íons metálicos, como cobre(II), ouro(III), ródio(II), irídio(II), níquel(II) e zinco(II) (ARADHYULA et al., 2018; BAKALE et al., 2018; CAO et al., 2018; EL-SHERIF et al., 2018; LIU et al., 2017) resultam não apenas em compostos de coordenação com atividade biológica comprovada, mas também em aumento do potencial farmacológico de novos compostos de coordenação quando comparado à molécula livre (ABABEI et al., 2012; FIRMINO et al., 2016).

As mais diversas tentativas para obtenção de novos potenciais candidatos a metalofármacos para tratamento de câncer partem do problema de ordem mundial que tem sido a incidência e principalmente a alta taxa mortalidade causada pela doença. Levando-se em consideração que as projeções futuras só apontam para o aumento desses números, há uma mobilização geral no que se refere a prevenção, tratamento e melhora na qualidade de vida de indivíduos com câncer (WALDRON,

W. K.; JOHNSON, I. T.; FENWICK, G. R. 1993; KUMPULAINEN, J. T.; SALONEN, J. T. 1996; FORMAN et al., 2018).

Sendo assim, temos na Química Medicinal Inorgânica uma alternativa já comprovada de contribuição efetiva para elaboração e aplicação eficaz de compostos de coordenação para tratamento de câncer. Neste trabalho foram obtidos e caracterizados sete complexos metálicos de ouro(III) com N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida. Junto a isto, esses compostos tiveram sua ação citotóxica investigada frente às seguintes linhagens de células tumorais humanas: HL-60 (leucemia mielóide promielocítica), MCF-7 (adenocarcinoma mamário), MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário), PC3 (câncer de próstata) e HCT-116 (carcinoma de cólon).

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Câncer: incidência, mortalidade e breve histórico dos tratamentos

A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (International Agency for Research on Cancer – IARC) estima que a incidência de câncer em 2018 foi de 18,1 milhões de casos, ocasionando 9,5 milhões de mortes (IARC, 2019). Atualmente, o câncer (neoplasia)<sup>1</sup> é uma das principais causas de morte tanto em países economicamente desenvolvidos como em países em desenvolvimento. São cerca de 200 tipos diferentes de câncer já identificados, cada um com suas especificidades; isto é, apresentam diferentes formas de progressão. As projeções futuras preveem uma incidência global da doença próxima dos 29.5 milhões de casos em 2040 (IARC, 2019). O quadro crescente da doença está também associado ao crescimento e envelhecimento da população, particularmente nos países menos desenvolvidos, nos quais residem cerca de 82% da população mundial (TORRE et al., 2015).

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase<sup>2</sup>) para outras regiões do corpo [...] as causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas (INCA, 2018).

A definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia, especificamente para tumores malignos, como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células que sofreram algum tipo de transformação (INCA, 2018). Dentre os dez tipos mais recorrentes no mundo em 2018 segundo o comunicado recente emitido pela Organização Mundial da Saúde (IARC, 2019) destacam-se o câncer de mama, o câncer de próstata e o colorretal (Gráfico 1).

Como potenciais fatores de risco, são destacados principalmente os relacionados ao meio ambiente e os hereditários. Estudos sinalizam que os fatores

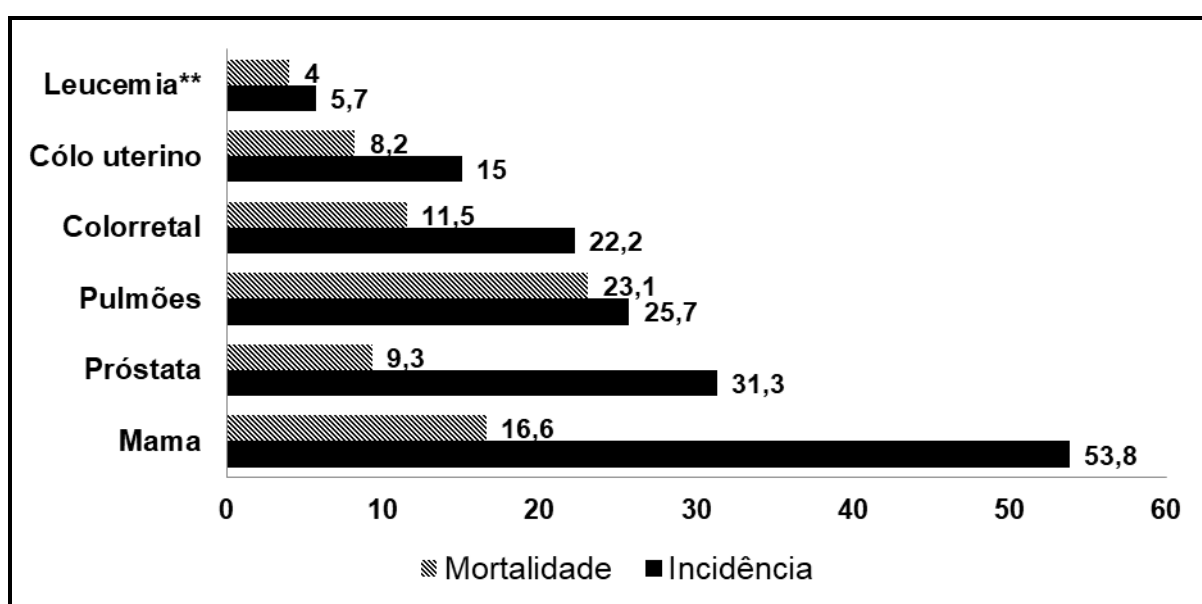
---

<sup>1</sup> A palavra câncer tem origem latina (*cancer*) e significa “caranguejo”. Inicialmente foi empregada em analogia ao modo de crescimento semelhante às pernas de um crustáceo que as introduz na areia ou lama para se fixar e dificultar sua remoção (como uma infiltração) (INCA, 2018).

<sup>2</sup> Metástase ocorre quando existe tumor em outra localização diferente do local do tumor primário (MARION, et al., 2019).

de ordem ambiental<sup>3</sup> são os maiores responsáveis pela maioria dos casos (cerca de 80%) e que na prática, é onde encontra-se quantidade consideravelmente grande de fatores de risco (ALMEIDA et al., 2005). A questão ambiental é bastante influente, porém, em uma escala geográfica de grandes dimensões (caso do Brasil), tem-se uma variação muito grande da incidência e dos tipos de câncer. Sendo assim, organizações ligadas ao Ministério da Saúde encontram dificuldades em determinar a regionalidade de qualquer tipo de câncer.

Gráfico 1 – Taxas de incidência e mortalidade bruta estimadas em 2018 no mundo



Legenda: Dados de incidência e mortalidade estimadas para ambos os sexos, em todas as idades dos cinco tipos de câncer mais recorrentes. \*\* Leucemia não é o 6º tipo de câncer mais comum, foi inserida no gráfico porque uma das linhagens utilizadas neste estudo é a HL-60 (leucemia mielóide promielocítica).

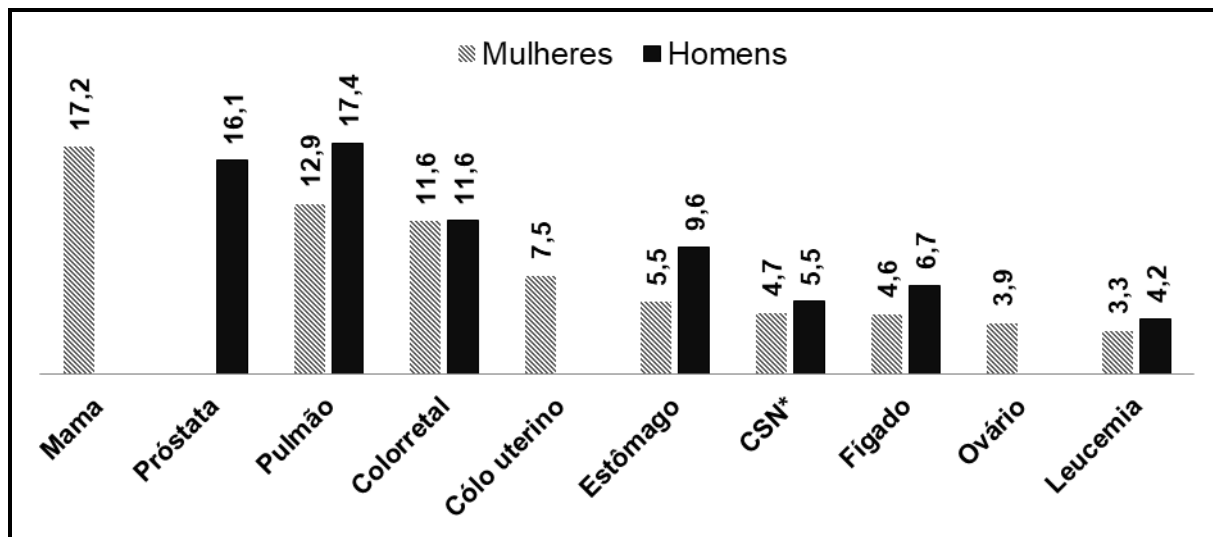
Fonte: IARC, 2019 (Adaptado).

Mesmo com campanhas de conscientização quanto a procura por prevenção ou acompanhamento médico para a realização de um diagnóstico em estágios iniciais da doença, é interessante observar que a quantidade de mortes por câncer no Brasil em 2018 (Gráfico 2) apresenta números expressivos, principalmente para câncer de próstata (homens) e câncer de mama (mulheres) (IARC, 2019). Segundo

<sup>3</sup> Entende-se por ambiente, o meio em geral (água, terra e ar), o ambiente ocupacional (quando insalubre), o ambiente social e cultural (estilo e hábitos de vida) e o ambiente de consumo (alimentos, medicamentos). As mudanças provocadas no meio ambiente pelo próprio homem, os hábitos e estilos de vida adotados pelas pessoas podem determinar os diferentes tipos de câncer (ALMEIDA, 2014)

o INCA (Instituto Nacional de Câncer), o esperado para 2016 foram cerca de 596 mil casos da doença (INCA, 2018).

Gráfico 2 – Taxas de mortalidade brutas estimadas em 2018 no Brasil



Legenda: Dados de mortalidade estimada no Brasil em 2018 em ambos os sexos, em todas as idades. \*Cérebro e sistema nervoso.

Fonte: IARC, 2019 (Adaptado).

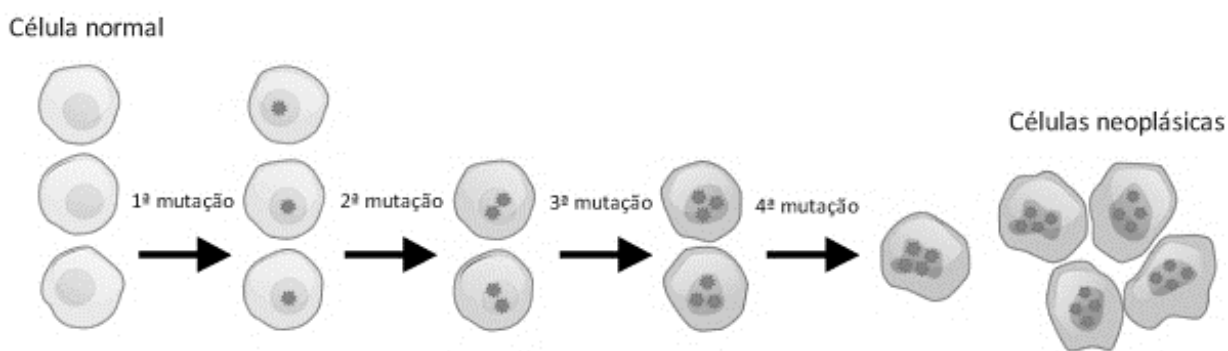
A mutação de células normais para que se tornem células cancerosas passa por alterações em genes denominados proto-oncogenes, genes que a princípio são inativos em células normais. Porém, uma vez ativados, transformam-se em oncogenes. Estes novos genes por sua vez são os responsáveis pela transformação das células normais em células tumorais (ELMORE; HOLT, 2001). Na Figura 1 temos a representação da evolução de uma célula normal após sucessivas mutações até tornar-se uma célula tumoral (célula neoplásica).

Tendo em vista o quadro atual e as previsões para os casos de câncer no mundo nos próximos anos, a demanda por prevenção e principalmente tratamento, é crescente. Durante a primeira metade do século XX o tratamento de câncer era realizado majoritariamente através de cirurgia e radioterapia. A quimioterapia surge no início da década de 1940, tendo como marco inicial da chamada “era moderna de quimioterapia do câncer”, o sucesso da remissão tumoral de um paciente portador de linfoma<sup>4</sup>. Esse acontecimento só foi possível através do uso de um agente

<sup>4</sup> Linfomas: originam-se de células conhecidas como linfócitos, encontradas em todo o organismo, particularmente em glândulas linfáticas e sangue. Os linfomas são divididos em Hodgkin e não-Hodgkin (ALMEIDA et al., 2005)

alquilante (antineoplásicos pioneiros) do tipo mostarda nitrogenada, a mecloretamina (2-cloro-*N*-(2-cloroetil)-*N*-metil-etanamida) (ANTONINI et al., 2001). Para Almeida (2005), “os agentes alquilantes formam ligações cruzadas com os filamentos de DNA impedindo sua replicação e com isso destroem as células em repouso ou em processo de divisão ativa, e por consequência há a formação de citotoxicidade pela reação cruzada com a outra fita de DNA”. Desde então tem-se uma mudança de paradigma no que se refere ao tratamento de câncer (DEVITA; CHU, 2008) e a busca por novos fármacos para tratamento de câncer é impulsionada.

Figura 1 – Representação do processo de malignização celular

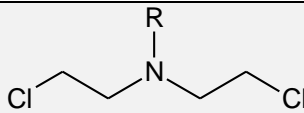
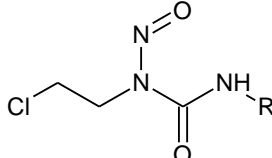
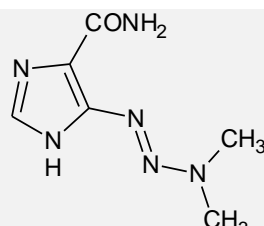
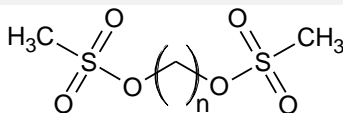
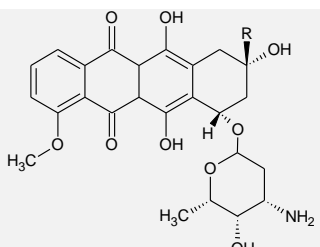


Legenda: Células normais podem sofrer mutações genéticas (alterações no DNA). Se tais alterações ocorrerem em genes denominados proto-oncogenes (a princípio, inativos em células normais) ativando-os, irão transformar-se em oncogenes (genes responsáveis pela malignização das células normais). Seguidas mutações formam as células neoplásicas.

Fonte: Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer, 2012 (adaptada).

Diversas classes de compostos orgânicos, além das mostardas nitrogenadas, foram e ainda são empregadas no tratamento de câncer, como por exemplo: nitrosuréias, triazeno, alquilsulfonatos, antibióticos naturais como as *antraciclinas*, entre outros (NUSSBAUMER, et al., 2011; MONTEIRO, et al., 2013; BOHNERT, et al., 2014; KUMAR, et al., 2017; ZHANG, et al., 2018; KHAN, et al., 2018). Na Tabela 1 são apresentados alguns dos fármacos orgânicos utilizados na clínica, com suas classes destacadas, estruturas e a(s) doenças em que são comumente empregados.

Tabela 1 – Principais fármacos orgânicos com uso clínico para tratamento de câncer

Compostos orgânicos	Estruturas	Exemplo	Tratamento
Mostardas nitrogenadas		Mecloretamina (Mustargen®) R = CH <sub>3</sub>	Linfoma Hodgkin <sup>5</sup> Linfoma Não Hodgkin
		Clorambucil (Leukeran®) R = C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> COOH	
Nitrossuréis		Carmustina (BCNU) R = C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> Cl	Tumores cerebrais <sup>6</sup>
		Lomustina (LCNU) R = C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	
Triazeno		Dacarbazina (DTIC)	Melanomas <sup>7</sup>
Alquilsulfonatos		Bussulfan (Myleran®) n = 4; R = CH <sub>3</sub>	Leucemia mielóide <sup>8</sup>
Antibióticos naturais <i>Antraciclinas</i>		Daunorrubicina R = CH <sub>3</sub> CO	Leucemia e outras neoplasias <sup>9</sup>
		Doxorrubicina R = HOCH <sub>2</sub> CO	

Fonte: Nacional Center for Biotechnology Information, 2019<sup>5-9</sup>.

Os tratamentos iniciais de indivíduos submetidos a radioterapia ou quimioterapia esbarram, no entanto, na conseqüente diversidade de efeitos colaterais, como os relatados por Soares (1999) e Barros (2000):

[...] a radioterapia também pode causar dor à deglutição, desde leve a intensa, podendo comprometer o estado geral do paciente por diminuição da ingestão de alimentos. A rouquidão pode, em situações mais graves,

<sup>5</sup> Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008466>>. Acesso em: 11/10/2019.

<sup>6</sup> Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68002330>>. Acesso em: 11/10/2019.

<sup>7</sup> Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003606>>. Acesso em: 11/10/2019.

<sup>8</sup> Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68002066>>. Acesso em: 11/10/2019.

<sup>9</sup> Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003630>>. Acesso em: 11/10/2019.

causar dispnéia ou sangramento, se as cordas vocais estiverem no campo de irradiação e a otite de branda à grave, pode chegar até a surdez se o ouvido estiver sendo irradiado (SOARES, 1999).

[...] A quimioterapia também pode provocar efeitos colaterais, dentre eles, os efeitos neurológicos, como cefaléia, sonolência, confusão mental, paralisia motora, dor nos membros inferiores, rigidez na nuca, convulsão e, em casos raros, produzir um estado de depressão e coma (BARROS et al., 2000).

Embora a quimioterapia tenha como principal objetivo destruir as células neoplásicas, preservando as células normais, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica, lesando tanto células malignas quanto normais, em particular células de rápido crescimento (como exemplo: as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico). Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia (ALMEIDA, 2005). É evidente também que o corpo tem capacidade de recuperar-se destes inconvenientes após o tratamento. Sendo assim, o uso clínico desses fármacos exige que os benefícios sejam confrontados com a toxicidade, na procura de um índice terapêutico favorável (MACHADO, 2000).

Dentro da necessidade de atingir um índice terapêutico favorável está o fato de que os metais “são componentes essenciais das células escolhidos pela natureza” (FREZZA, et al., 2016). Eles fazem parte das estruturas e estão envolvidos em múltiplos processos, como a troca de elétrons e catálise (BRUIJNINCX; SADLER, 2008). Para este fim, é necessário equilíbrio entre a necessidade celular e quantidade disponível no corpo para promover o estado fisiológico mais adequado. Enquanto metais como o níquel, cádmio, cromo e arsênico, podem induzir carcinogênese (MOURINO; CATTALINI; BOCCACCINI, 2012), outros complexos metálicos contendo íons como zinco(II), ouro(I/III) e cobre(I/II) têm recebido considerável interesse como agentes anticâncer devido ao seu potencial carcinogênico (NDAGI; MHLONGO; E SOLIMAN, 2017). Desta forma, é interessante voltar nossa atenção para as consolidadas e futuras contribuições da Química Medicinal Inorgânica para o tratamento do câncer.



## 1.2 Compostos inorgânicos e a quimioterapia do câncer

### 1.2.1 Química Medicinal Inorgânica

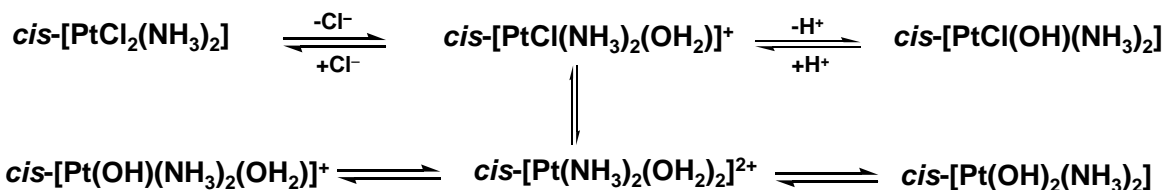
A contribuição da Química Medicinal Inorgânica especificamente para o tratamento de câncer tem início em 1965, quando Barnett Rosenberg e Loretta Van Camp que ao estudarem o efeito da corrente elétrica em *Escherichia coli*, puderam observar a ocorrência de inibição da divisão celular, a qual não era promovida pela corrente, mas sim pela substância produzida nos eletrodos de platina, ou seja, a cisplatina (*cis*-[diaminodicloroplatina(II)] – *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]) (ROSENBERG; VAN CAMP; KRIGAS, 1965; MJOS; ORVIG, 2014). Em 1970 a cisplatina teve sua ação antitumoral confirmada em testes em sarcomas<sup>10</sup> implantados em ratos e sua toxicidade testada em animais (cães e macacos). Apenas em 1978 essa substância foi liberada para uso clínico (BARAN, 2005).

A cisplatina é injetada no paciente por meio de solução salina com alta concentração de cloreto. Essa medida visa evitar que a cisplatina sofra hidrólise antes de atingir o interior da célula, onde a concentração de cloreto (3 mmol L<sup>-1</sup>) é inferior à do meio extracelular (145 mmol L<sup>-1</sup>) (COHEN; LIPPARD, 2001). Dentro da célula, o principal mecanismo de ação da cisplatina se dá via um mecanismo que sugere a ocorrência de uma lenta substituição dos ligantes cloro por água (Esquema 1), formando um aqua-complexo no interior da célula que é então capaz de agir diretamente no DNA (ácido desoxirribonucleico), promovendo o bloqueio da célula afetada (AIROLDI, 1994; SCHWIETERT; MCCUE, 1999; STEWART, 2007; WU; LU; CHAO, 2010).

---

<sup>10</sup> Sarcomas: Originam-se de tecidos de suporte em vez dos de revestimento, tais como ossos, tecido gorduroso, músculo e tecido fibroso de reforço, encontrados na maior parte do corpo (ALMEIDA, 2005).

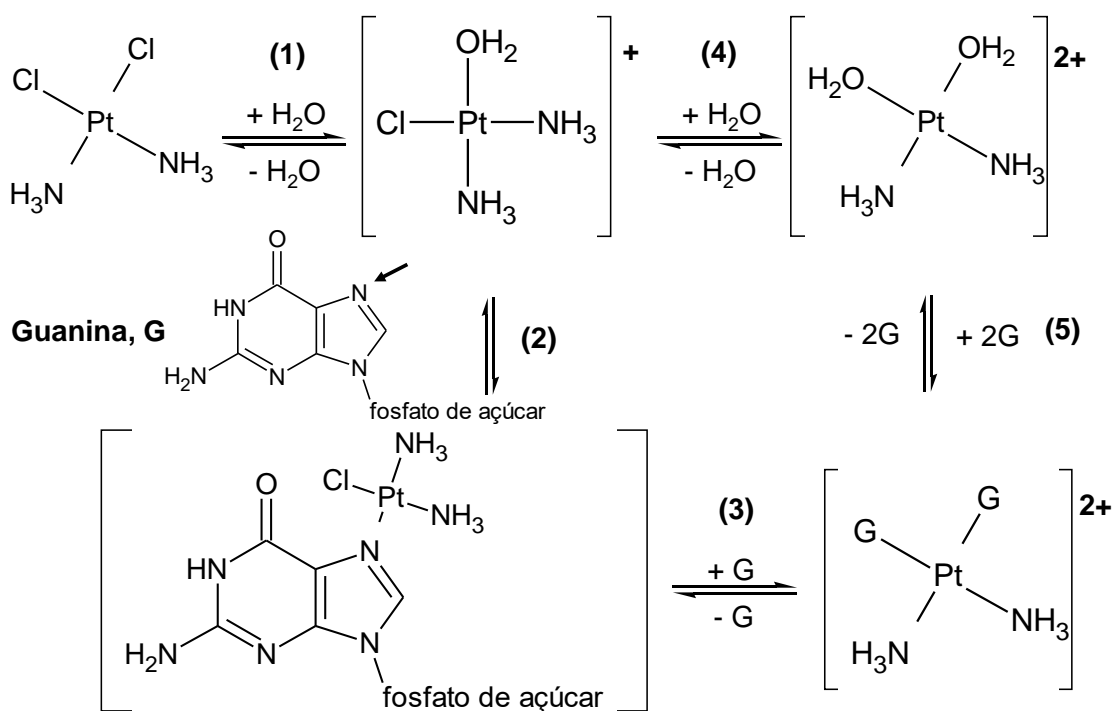
Esquema 1 – Representação da ativação intracelular da cisplatina



Legenda: Possíveis metabólitos da cisplatina após hidrólise em meio intracelular.  
 Fonte: KAISER, 2015 (adaptado).

O principal modo de coordenação da platina ao DNA acontece preferencialmente nos átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas guanina e adenina, sendo considerada mais estável a interação com a guanina (N7) por promover a formação do aduto cisplatina-DNA (Esquema 2), que permite: (1) não ocorrência de replicação, (2) inibição de transcrição, (3) aprisionamento de ciclo celular, (4) impedimento de reparo do DNA e por fim, a (5) apoptose (um tipo de morte celular) (SHERMAN; LIPPARD, 1987; HALABE; WONG; SUTTON, 1991; BERNERS-PRICE; APPLETON, 2001).

Esquema 2 – Representação da interação de metabólitos da cisplatina com o DNA



Legenda: Em (1) temos a substituição do ligante cloro pela molécula de água que será liberada em (2) para que a platina se ligue ao N da guanina (G). Em (3) ocorre mais uma ligação Platina-N e na etapa (4) as guaninas são substituídas por água. Em seguida, há novamente a substituição dos ligantes aqua pelos ligantes cloro.

Fonte: ROAT-MALONE, 2002 (adaptado).

Desde a descoberta da atividade antiproliferativa da cisplatina por Rosenberg em 1965 e sua subsequente aprovação como agente quimioterápico (1978) para ser usada isoladamente ou em combinação com outras drogas; a cisplatina comprovou a alta eficácia contra vários tipos de cânceres, como ovário, cabeça e pescoço, bexiga, testículo e pulmão (LAINÉ; PASSIRANI, 2012). Independentemente das grandes realizações da cisplatina, o seu uso clínico sofre de algumas desvantagens importantes, tais como efeitos secundários tóxicos graves, incluindo neurotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (JUNG; LIPPARD, 2007; PABLA; DONG, 2008) e fenômeno de resistência a drogas levando ao tratamento sem sucesso (DEMPKE; et al., 2000). No entanto, a alta potência da cisplatina na oncologia aumentou o interesse em drogas baseadas em metais pelo potencial quimioterápico. Estes fatores resultaram no surgimento da segunda geração de fármacos com platina (oxaliplatina, carboplatina, nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina) (ALMEIDA et al., 2014). Esses novos compostos são produzidos partindo da ideia de fazer uso de moléculas orgânicas como ligantes e tendo como finalidade minimizar efeitos colaterais e produzir compostos com maior potencial citotóxico (RONCONI; SADLER, 2008). Devido ao perfil farmacológico muito favorável apresentado pela cisplatina e seus derivados, é sugestivo pensar que outros compostos à base de diferentes metais poderiam manifestar importantes e variadas atividades biológicas com possibilidade de menor toxicidade sistêmica (CASINI et al., 2008a). Partindo desse princípio, diversos metalofármacos foram e são sintetizados e utilizados na clínica médica. Na Tabela 2 são apresentados alguns dos fármacos de outros metais já utilizados na clínica no tratamento de uma diversidade de doenças.

Tabela 2 – Exemplos de fármacos à base de metais utilizados na clínica

<b>Composto</b>	<b>Utilização</b>
<b>Cisplatina®</b>	Tratamento de tumores sólidos
<b>Auranofina®</b>	Tratamento de artrite
<b>Citrato de bismuto(III)</b>	Tratamento de infecções causadas por <i>Helicobacter pylori</i>
<b>Nitroprussiato de sódio</b>	Emergências hipertensivas (agente vasodilatador)
<b>LiCO<sub>3</sub></b>	Antipsicótico e antidepressivo
<b>Gluconato de antimônio(V)</b>	Tratamento de leishmaniose

---

**dissódico****Nitrato de gálio**Hipercalcemia relacionada a tumores

---

Fonte: (BERNERS-PRICE; APPLETON, 2001; MARKOWSKA et al., 2015; STORR; THOMPSON; ORVIG, 2006; ZHANG; LIPPARD, 2003).

A busca por novos metalofármacos com ação anticâncer torna-se viável e interessante, uma vez que diversos trabalhos apresentam resultados satisfatórios no que se refere à obtenção dos mesmos (ALMEIDA et al., 2014; OMER et al., 2015).

A atividade do complexo será resultado também da contribuição do íon metálico, considerando-se: a ampla faixa de números de coordenação e de geometrias; os diversos estados redox possíveis; os efeitos termodinâmicos e cinéticos (BRUIJNINCX; SADLER, 2008). Em alguns casos, os metalofármacos sintetizados são na verdade "pró-fármacos" por permitirem a substituição do ligante, promovendo reações redox antes de alcançar o alvo (KOSTOVA, 2006). Dentre os metais mais empregados na clínica, temos: platina, gálio, lítio, antimônio, cobre e ouro (que será abordado mais detalhadamente no tópico a seguir) (NADGI; MHLONGO; SOLIMAN, 2017).

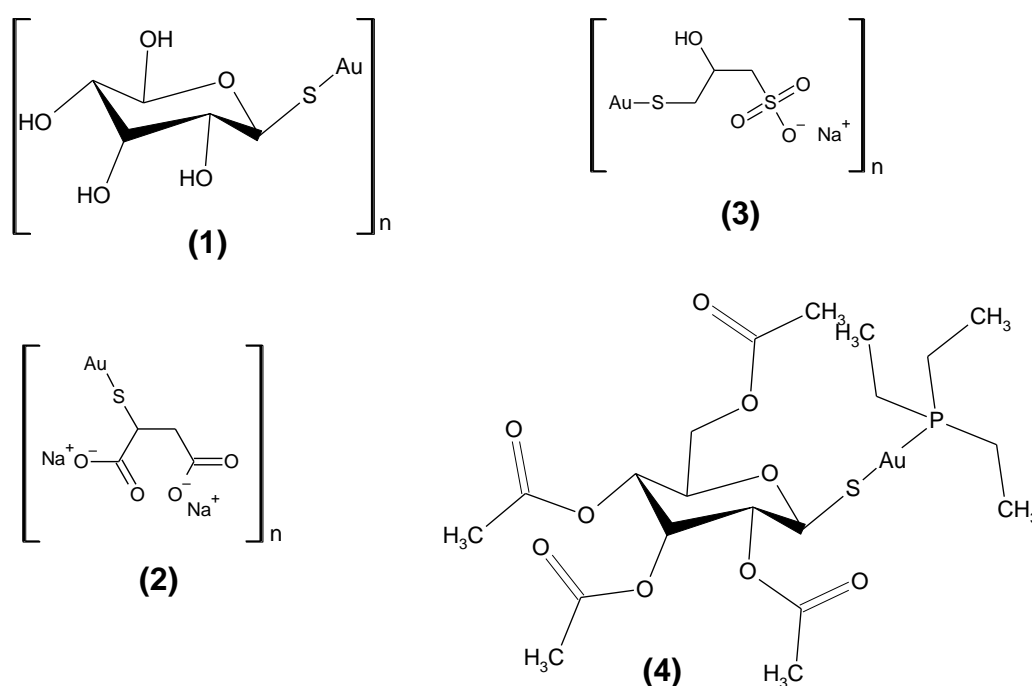
### 1.2.2 Complexos de ouro(III): estudos citotóxicos e usos clínicos

Evidências históricas comprovam o uso medicinal do ouro por diversas civilizações (medicina chinesa e árabe – 3000 a.C., por exemplo) e em diferentes momentos da história da humanidade (pré-história, Idade Média, período Renascentista entre outros) (CASINI et al., 2008a; MARTÍN-SANTOS et al., 2015; NOBILI et al., 2012). Quando a utilização do metal não era realizada diretamente no preparo de poções, encontrava-se presente em amuletos, cuja finalidade era afastar as doenças e os espíritos maus (HIGBY, 1982). A utilização terapêutica do ouro estava longe de ter como base sua ação no tratamento de doenças, era considerado apenas a preciosidade do metal, e acreditava-se que seu alto valor seria capaz de conferir longevidade a quem o usava (CORNELIS; BORGUET; DEKIMPE, 1993). No final do século XIX, o livro "Matéria Médica e Terapêutica" recomendava a preparação de "ouro solúvel" para dispepsia, cirrose, esclerose, paralisia geral

progressiva, sífilis, tuberculose, depressão, hipocondria, histeria e impotência (HUAIZHI; YUANTAO, 2001).

O estudo do potencial uso de compostos de ouro na terapia se deu de forma científica somente no início do século XX, quando o bacteriologista Robert Koch descobriu a atividade citotóxica do sal dicianoaurato(I) de potássio ( $K[Au(CN)_2]$ ) frente a *Mycobacterium tuberculosis*, bactéria causadora da tuberculose (MAIA; DEFLON; ABRAM, 2014). Embora o uso terapêutico inicial tenha sido para tuberculose pulmonar, posteriormente este sal foi empregado também para o tratamento de artrite reumatoide (Jacques Forestier em 1930). Diversos estudos com compostos de ouro ocorreram durante a "Década do Ouro" (1925–1935) (BERNERS-PRICE, 2011). Principalmente ouro(I) com cianeto e tiosulfatos passaram a ser utilizados para o tratamento da tuberculose pulmonar. Muitos dos tiosulfatos de ouro que ainda estão em uso clínico hoje foram introduzidos em terapia da artrite reumatoide durante o início do século XX, como: Aurotioglucose (Solganol<sup>®</sup>, **1**), Aurotiomalato de dissódio (Miocrin<sup>®</sup>, **2**), Aurotiopropanol sulfonato de sódio (Allochrysin<sup>®</sup>, **3**) e Auranofina<sup>®</sup> (**4**) (Figura 2) (GUNATILLEKE; BARRIOS, 2008).

Figura 2 – Compostos de ouro(I) utilizados no tratamento de artrite reumatoide



Legenda: Solganol<sup>®</sup> (**1**), Miocrin<sup>®</sup> (**2**), Allochrysin<sup>®</sup> (**3**) e Auranofina (**4**).  
 Fonte: NOBILI et al., 2012 (adaptada).

A química de coordenação do ouro voltada para obtenção de compostos com possível uso medicinal apresenta uma série de estudos, principalmente tendo como foco compostos de ouro(I) com usos farmacêuticos, os seus mecanismos de ação e atividade *in vivo*. Na elucidação de tais mecanismos, em muitos casos ocorre a formação de ouro(III) formadas pela oxidação *in vivo* de compostos de ouro(I) e que desempenham papel importante nos padrões de distribuição biológica e atividade dos compostos de ouro (BERNERS-PRICE; FILIPOVSKA, 2011; JONES; THORNBACK, 2008).

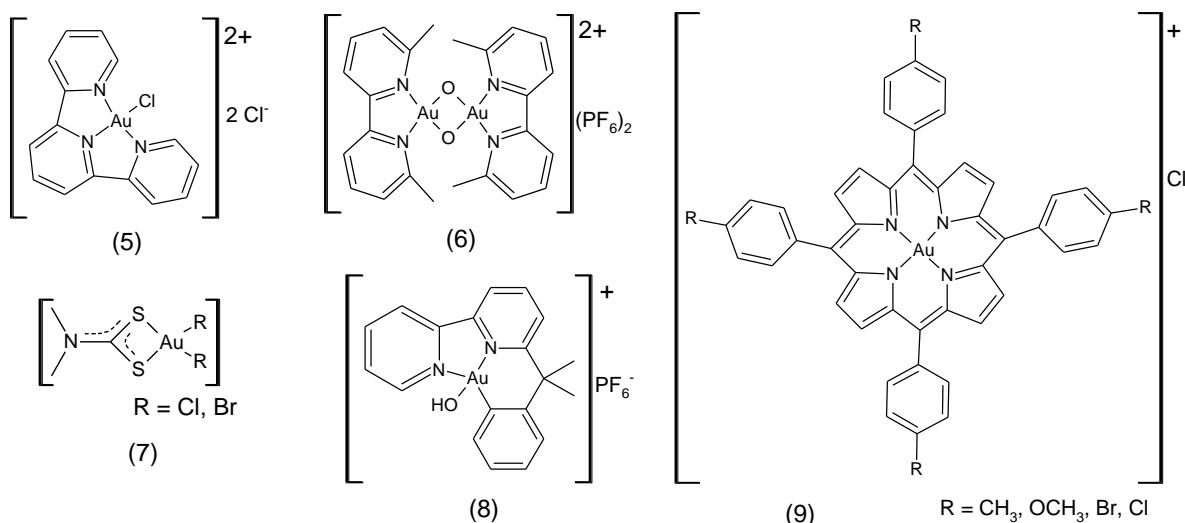
O íon ouro(III) é um ácido de Lewis "mais duro" que ouro(I) e de um modo geral é considerado como um íon no limite entre o duro e o macio. Este perfil permite a acomodação de ambos os tipos de bases de Pearson, isto é, tanto as bases duras, quanto as bases moles. A possibilidade de coordenação com uma maior variedade de bases abre um vasto espectro de complexos de ouro(III) com diferentes sistemas quelantes. Destacam-se dentre as possibilidades de coordenação ao íon ouro(III) ligantes como: (1) doadores de azoto (aminas, piridinas, fenantrolinas, bases de Schiff, porfirinas e iminofosforanos) (CASINI et al., 2008b; CINELLU et al., 2010; OTT, 2009; WEIN et al., 2011); (2) doadores de enxofre (ditiocarbamatos e tiossemicarbazonas) (DILWORTH; HUETING, 2012; RONCONI et al., 2010; SANTOS; HAGENBACH; ABRAM, 2004; ZHAO; ZHOU, 2012) além de (3) complexos organometálicos de ouro(III) (BERTRAND; CASINI, 2014; CUTILLAS et al., 2013; OEHNINGER; RUBBIANI; OTT, 2013; SHAIK et al., 2009).

Todos os compostos de coordenação do íon ouro(III) são diamagnéticos com configuração [Xe] 4f<sup>14</sup>5d<sup>8</sup> (baixo spin) e a grande maioria tem geometria plano-quadrática (VITTAL; PUDDEPHATT, 2006). Também é interessante ressaltar que o ouro(III) é capaz de dar origem a complexos metálicos que são isoeletrônicos e isoestruturais da platina(II) (NARDON; BOSCUCCI; FREGONA, 2014). Os comprimentos de ligação são mais curtos do que os correspondentes comprimentos de ligação de ouro(I), embora as diferenças não sejam muito grandes. Menos comuns, os complexos penta e hexacoordenados exibem tipicamente comprimentos de ligação axial alongados perpendiculares ao plano quadrado e envolvem frequentemente estruturas de ligantes que limitam os eixos axiais (CHOW et al., 2010).

Devido à similaridade eletrônica e estrutural entre íons ouro(III) e platina(II), compostos de coordenação de ouro poderiam ter propriedades promissoras na inibição de células tumorais, assim como são os diversos compostos de platina. Inicialmente esperava-se que o mecanismo de ação biológica do ouro(III) seguiriam as propostas de mecanismos para os complexos de platina(II), ou seja, também seria pela interação do íon metálico com DNA. Entretanto, alguns estudos reportam que dentro do organismo e da célula ocorrem interações dos complexos de ouro(III) antes mesmo da interação com DNA (MAIA; DEFLON; ABRAM, 2014). Nobili e colaboradores (2010), sugerem que o DNA “não é o alvo primário dos compostos de ouro(III), uma vez que consideram as ligações de complexos de ouro(III) com DNA fracas, reversíveis e principalmente de natureza eletrostática”.

Um dos possíveis alvos biológicos dos complexos de ouro(III) seriam as mitocôndrias, incluindo através da inibição da enzima tiorredoxina redutase (TrxR). A TrxR trata-se de uma flavoproteína homodimérica pertencente à família das oxirredutases. O sítio ativo da TrxR de mamíferos contém resíduo de selenocisteína; sendo assim, esta enzima catalisa a redução do dissulfeto do substrato tiorredoxina (Trx) a ditiol pelo NADPH (FARRER; SADLER, 2011). O ditiol é um importante redutor celular e está envolvido em reações de síntese enzimática de desoxirribonucleotídeos e atua na defesa contra estresse oxidativo (ZHONG; ARNER; HOLMGREN, 2000). A inibição da TrxR é observada tanto por compostos de ouro(I) quanto os de ouro(III) e impede a redução da tiorredoxina (Trx) oxidada, acumulando  $H_2O_2$  na mitocôndria. A inibição da TrxR juntamente com a grande quantidade de  $H_2O_2$  leva a formação da peroxirredoxina (Prx) mediada pela oxidação da Trx. A Trx oxidada se acumula junto com  $H_2O_2$  e ambos atuam sobre vários alvos intramitocondriais diferentes, levando à abertura do poro de permeabilidade de transição mitocondrial e/ou ao aumento de permeabilidade da membrana. A Trx oxidada estimula as vias de MAP quinases levando à morte celular. Atrelado a isto, o  $H_2O_2$  ativa vias de sinalização intracelular que estimulam ainda mais a morte celular (BINDOLI et al., 2009). Na Figura 3 são apresentadas as estruturas de alguns dos complexos de ouro(III) (5–9) com comprovada ação *in vitro* e *in vivo* contra o câncer e por este motivo, a TrxR é um alvo bastante estudado para tratamento do câncer (LESSA, et al., 2011; TAVARES; et al., 2017; PAVIC; et al., 2017; JURGENS; et al., 2017; RODRÍGUEZ-FANJUL; et al., 2018).

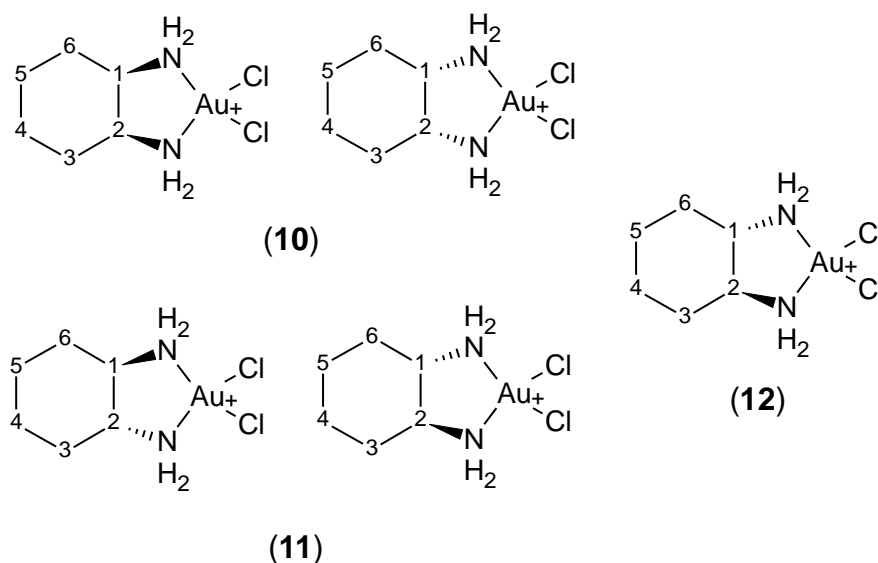
Figura 3 – Estruturas dos complexos 5–9



Legenda: [Au(terpy)Cl]Cl<sub>2</sub> (**5**), meso-tetraarilporfirinas (**6**), N,N-dimetilditiocarbamato (**7**), [Au(bipy-H)(OH)][PF<sub>6</sub>] (**8**) e Au(py<sup>dmb</sup>-H)(AcO)<sub>2</sub> (**9**) (onde, py<sup>dmb</sup> = 2-(1,1-dimetilbenzenil)-piridina).  
 Fonte: BINDOLI et al., 2009 (adaptada).

Em 2013, Al-Jaroudi e colegas publicaram um estudo sobre o potencial anticancer de três complexos de ouro(III) (**10–12**) com os ligantes *cis*-(±)-1,2-diaminocicloexano (DACH), *trans*-(±)-1,2-diaminocicloexano e o isômero ótico (S,S)-(+)-1,2-diaminociclohexano, respectivamente (Figura 4).

Figura 4 – Estrutura dos complexos 10–12



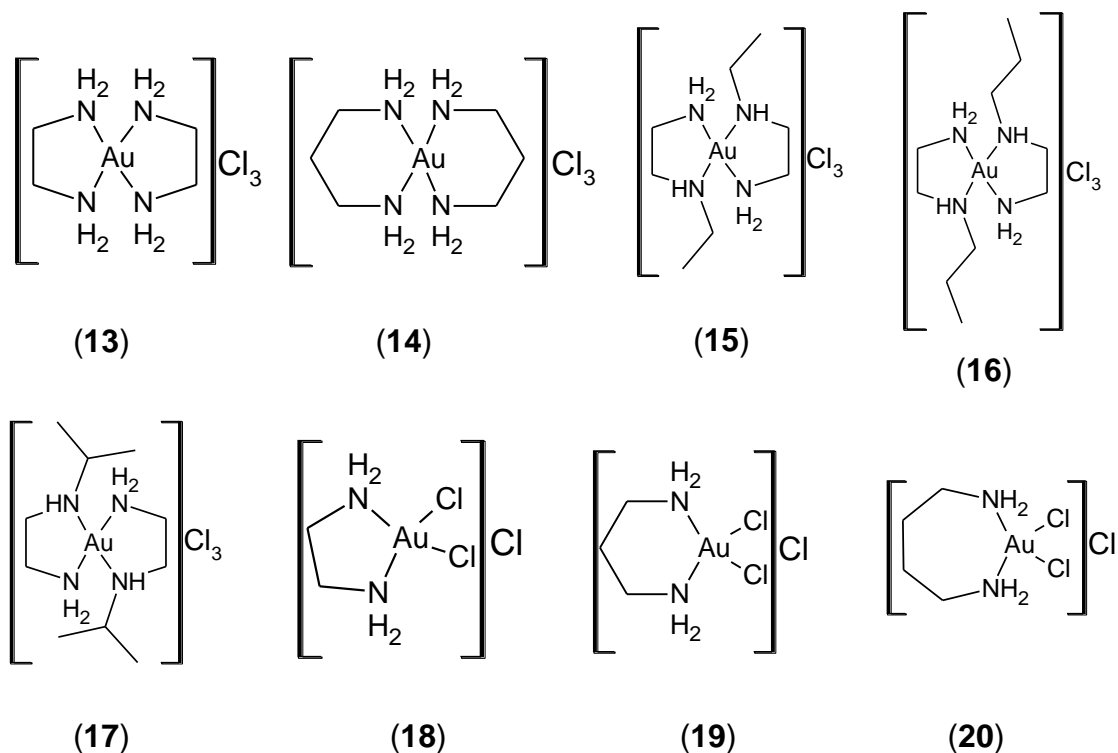
Legenda: Fórmula dos complexos sintetizados por Al-Jaroudi e colegas: (**10**), *cis*-(±)-1,2-(DACH)AuCl<sub>3</sub>, (**11**) *trans*-(±)-1,2-(DACH)AuCl<sub>3</sub> e (**12**) (S,S)-(+)-1,2-(DACH)AuCl<sub>3</sub>.  
 Fonte: AL-JAROUDI et al., 2013 (adaptada).



Os bioensaios foram realizados com linhagens de carcinoma gástrico (SGC-7901) e de câncer de próstata (PC-3). A proliferação celular e o efeito inibitório dos compostos sobre tais células foram determinados por análise de exclusão do corante azul de Tripán e pelo ensaio de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2-5-difenil-2H-tetrazólio). Dentre as caracterizações realizadas com estes compostos, destaca-se a cristalografia de raios X, que permitiu elucidar as estruturas dos mesmos. Sendo assim, nos três complexos, o ligante (anel cicloexil) adota conformação cadeira e íon metálico de ouro(III) adota esfera de coordenação característica de uma geometria plano quadrada distorcida. De acordo com os ensaios biológicos realizados, o complexo **1** ( $[(\text{cis-DACH})\text{AuCl}_2]\text{Cl}$ , onde DACH = diaminociclohexano) com configuração *cis* se mostrou um promissor agente anticâncer mais interessante que os isômeros *trans* (**2** e **3**) por seu comprovado efeito inibitório rápido durante a proliferação das células (divisão celular). Embora os autores não tenham elucidado o mecanismo, atribuem esse comportamento “à indução de bloqueio do ciclo celular, interrupção do ciclo mitótico celular, morte celular programada (apoptose) ou morte celular prematura (necrose)”.

Uma série de oito compostos (**13–20**, Figura 5) de fórmulas gerais  $[\text{LAuCl}_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Au}(\text{L}_2)]\text{Cl}_3$ , resultantes da coordenação de ouro(III) com ligantes diamina (L = etilenodiamina – *en*; propilenodiamina – *pn*; butiletenodiamina – *bn* e etilenodiamina *N*-alquil substituída – *N-R-en*) foram sintetizados, caracterizados e testados *in vitro* frente células de câncer gástrico (SGC 7901), câncer de próstata (PC3) e câncer de ovário (A2780/A2780) (MONIM-UL-MEHBOOB et al., 2013). De modo geral, os responsáveis pelo estudo puderam concluir que os complexos do tipo  $[\text{Au}(\text{diamino})_2]^{3+}$  foram os mais ativos frente as cepas de PC3 (complexo **13** com  $\text{IC}_{50} = 1,0 \pm 0,1 \mu\text{M}$ ); enquanto que complexos do tipo  $[\text{Au}(\text{diamino})\text{Cl}_2]^+$  foram mais eficazes em cepas de SGC7901 (compostos **14–17**) e A2780/A2780 (composto **18**). Além disso, o complexo  $[\text{Au}(\text{en})_2]\text{Cl}_3$  teve ação citotóxica maior que a cisplatina ( $1,1 \pm 0,1 \mu\text{M}$ ) frente a células PC3.

Figura 5 – Estruturas dos complexos 13–20



Fonte: MONIM-UL-MEHBOOB, M. et. al., 2013 (Adaptada).

Diversos trabalhos evidenciam que a coordenação de íon metálico (neste caso específico, o íon ouro(III)) a determinadas moléculas contribui positivamente na busca por novos compostos com potencial para uma aplicação farmacológica. Compostos conhecidos na literatura são testados frente a outras linhagens de células tumorais, por exemplo; para uma melhor investigação de seletividade e alta/baixa toxicidade. Neste caso é interessante ressaltar o trabalho de Amani e colegas (2014), que realizaram síntese, caracterização de quatro complexos de ouro(III) do tipo  $[Au(4,4'\text{-dmbipy})X_2]^+Y^-$  (21–24) onde 4,4'-dimetilbipiridina,  $X = Cl, Br$  e  $Y = [AuCl_4]^-, [AuCl_2]^-, [ClO_4]^-$  e  $[AuBr_4]^-$  (Figura 6). A investigação da ação citotóxica desses complexos teve por finalidade identificar a influência dos diferentes contra-íons na atividade de cada um deles. Sendo assim, foram testados os quatro complexos e dois fármacos já utilizados na clínica, a cisplatina e a carboplatina (pela baixa atividade citotóxica frente às linhagens de células tumorais testadas; os autores optaram por apresentar apenas os resultados da cisplatina). O teste de MTT foi realizado em células Vero (células não cancerígenas isoladas de rim de macaco) e em três linhagens de células tumorais humanas: A431 (câncer de pele), HeLa (câncer cervical) e HT-29 (câncer de cólon).

Na Tabela 2 estão destacados os valores de IC<sub>50</sub> dos compostos **21–24**, os quais foram mais efetivos que a cisplatina frente às três linhagens testadas. Destacam-se os resultados dos quatro compostos frente à linhagem de HeLa, onde os compostos foram 10–145 vezes mais potentes que a cisplatina (5,86±0,17 µM). O composto **21** com o ânion [AuCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, já havia sido testado em outro trabalho com as linhagens Caco-2 (adenocarcinoma coloretal) e T47D (câncer ductal do peito) e reportado como sendo pouco tóxico (NOTASH et al., 2013). Além disso, dos quatro compostos testados, o **21** foi o de menor toxicidade frente a células Vero (IC<sub>50</sub> > 25 µmol L<sup>-1</sup>, pelo menos três vezes menos tóxico que a cisplatina). Este comportamento do composto **21** aponta para uma possível especificidade do mesmo, o que o torna um interessante candidato a novo fármaco para tratamento de câncer cervical. Na Tabela 3 estão os valores de IC<sub>50</sub> (µmol L<sup>-1</sup>) para os compostos **21–24**.

Tabela 3 – IC<sub>50</sub> dos complexos **21–24** e da cisplatina

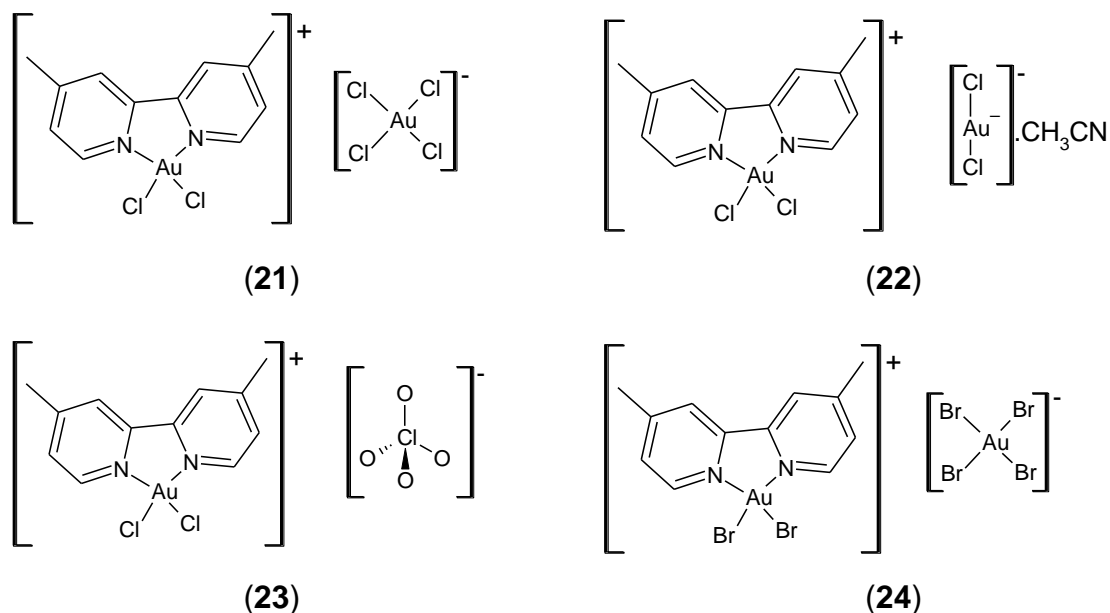
Linhagens	IC <sub>50</sub> (µmol L <sup>-1</sup> )				
	Cisplatina	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>
<b>Vero</b>	8,61±1,30	25,03±0,98	9,07±0,52	8,86±0,96	0,67±0,005
<b>A431</b>	6,83±1,31	*	*	0,63±0,007	*
<b>HeLa</b>	5,86±0,17	0,58±0,03	0,05±0,003	0,09±0,002	0,04±0,001
<b>HT-29</b>	10,50±0,48	0,84±0,006	*	*	0,28±0,005

Legenda: Linhagens - A431 (câncer de pele), HeLa (câncer cervical) e HT-29 (câncer de cólon).

\*Foram omitidos os valores de IC<sub>50</sub> maiores que os encontrados para cisplatina.

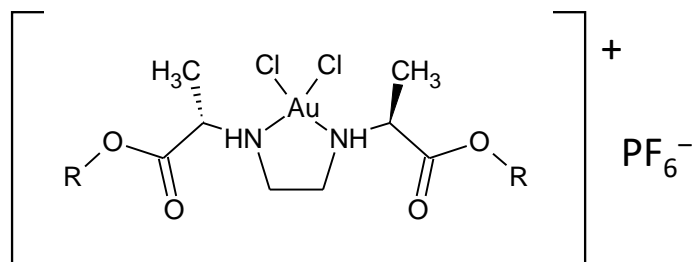
Fonte: AMANI et al., 2014 (adaptada).

Figura 6 – Estruturas dos complexos 21–24



Fonte: AMANI et al., 2014 (adaptada).

Em 2015, Pantelić e colegas publicaram trabalho sobre a atividade anticâncer *in vitro* de cinco complexos de ouro(III) (**25–29**) coordenados a ésteres de ácido (*S,S*)-etilenodiamino-*N,N'*-di-2-propanoico (Figura 7). O ensaio de MTT para determinação do  $IC_{50}$  foi realizado em cepas de HeLa (câncer cervical), K562 (leucemia mielóide humano), Fem-x (melanoma humano) e MRC-5 (células não cancerígenas fibroblásticas de pulmão embrionário humano). O resultado mais expressivo foi encontrado para o complexo **28**, o qual possui a maior atividade frente a linhagem Fem-x ( $IC_{50} = 1,3 \pm 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e ao maior índice de seletividade  $IC_{50}(\text{MCR-5})/IC_{50}(\text{Fem-x}) = 72,5 \pm 12,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  quando comparado aos demais compostos; mas, principalmente com a cisplatina. Sendo constatado, por sua vez, que o composto **28** é quatro vezes mais ativo que a cisplatina ( $IC_{50}(\text{cisplatina}) = 5,51 \pm 0,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e também, vinte e oito vezes mais seletivo (Índice de seletividade da cisplatina =  $2,58 \pm 0,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).

Figura 7 – Estrutura geral dos complexos **25–29**

Legenda: Radicais substituintes – **(25)** R = *n*-Butil, **(26)** R = *n*-Pentil, **(27)** R = isobutil, **(28)** R = isoamil e **(29)** R = ciclopentil. Testados frente às linhagens de HeLa (câncer cervical), K562 (leucemia mielóide humano), e Fem-x (melanoma humano).

Fonte: PANTELIC et al., 2015 (adaptada).

O uso de ligantes que promovam uma maior estabilização do estado de oxidação do complexo é importante para que problemas como a hidrólise e a ligação a proteínas com troca de ligantes (MAIA; DEFLON; ABRAM, 2014) sejam minimizados, ou até mesmo eliminados quando estes compostos estiverem presentes no meio biológico. Temos então nas hidrazonas e nas *bis*(hidrazonas) uma classe de compostos orgânicos com conhecida atividade biológica e ligantes com estrutura potencialmente interessante para coordenação ao ouro(III) e assim para a obtenção de novos compostos candidatos a metalofármacos no tratamento de câncer.

Estudos recentes sobre a ação citotóxica das hidrazonas e de seus complexos com zinco, vanádio, níquel, cobre, irídio, ródio são cada vez mais em evidência (HE; et al., 2018; ARADHYULA; ET AL., 2018; FEKRI; et al., 2018; MANDEWALE; et al., 2018); entretanto complexos de ouro(III) com hidrazonas e a investigação do potencial citotóxico não são relatados até o momento. Tendo esta classe de compostos orgânicos apresentando resultados promissores quando coordenadas a outros íons metálicos, é interessante a tentativa de obtenção de compostos de coordenação de hidrazonas com ouro(III) afim de investigar uma possível atividade citotóxica.

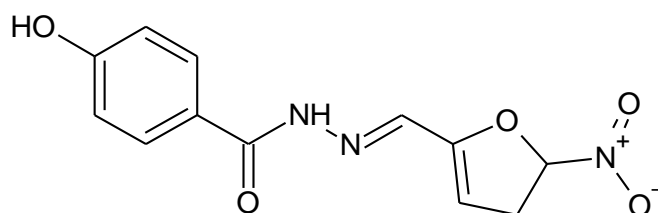
### 1.2.3 Compostos orgânicos com atividade biológica e potencial quelante

#### 1.2.3.1 Hidrazonas e bis(hidrazonas) derivadas de isoniazida

Hidrazonas são classificadas como bases de Schiff com reconhecida atividade tanto *in vitro*, quanto *in vivo*. As ações antimicrobiana (ROLLAS; GULERMAN; ERDENIZ, 2002; KÜÇÜKGÜZEL; ROLLAS, 2002; SRIRAM; YOGEE SWARI; MADHU, 2005; VERMA, 2013; BALDISSEROTTO et al., 2018; DEHESTANI et al., 2018), anti-inflamatória (TODESCHINI et al., 1998; LIMA et al., 2000), antinociceptiva (VIEIRA, et al., 2012), anticonvulsivante (RAGAVENDRAN et al., 2007; YOGEE SWARI et al., 2011; ULLOORA et al., 2013), vasodilatadora (SILVA et al., 2005), antitumoral (TERZIOĞLU; GÜR SOY, 2003; MANDEWALE et al., 2017; LI et al., 2018), entre outras (ROLLAS; KÜÇÜKGÜZEL, 2007) já foram relatadas em diversos trabalhos.

A nifuroxazida (4-hidroxi-N'-[5-nitrofura-2-il]metileno]benzoidrazida, **30**), trata-se de uma hidrazona utilizada como antisséptico intestinal (Figura 8) indicado para intoxicações alimentares, colites inflamatórias e infecciosas (ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, Ş. G., 2007).

Figura 8 – Estrutura química da nifuroxazida (**30**).



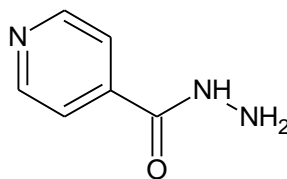
Fonte: ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, Ş. G., 2007 (adaptada).

Hidrazonas apresentam um esqueleto C=N-N, o que permite que as mesmas adquiram configurações interessantes para serem utilizadas como ligantes em compostos de coordenação. As hidrazonas contendo grupos acil ou aroil (C=O como sítio doador), em especial tem um aumento em seu potencial quelante. A soma de tais fatores permite que a estrutura das hidrazonas tenha flexibilidade para assumir

diferentes conformações e com possibilidade de isomerismo. Uma das possibilidades de obtenção de hidrazonas com carbonila na estrutura é usando como precursor a isoniazida.

A isoniazida (hidrazida ácido 4-piridinocarboxílico – INH, **31**) é o fármaco de primeira escolha no tratamento de tuberculose até hoje (Figura 9). Atua como agente bactericida ativo contra organismos do gênero *Mycobacterium*, especificamente para *M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. kansasii*. Considera-se a isoniazida altamente específica, pois a ação bactericida se dá nos microrganismos em rápida divisão, enquanto que frente aos bacilos “em repouso”, a isoniazida é bacteriostática. Junto a isto, tem-se a seletividade para micobactérias e baixa toxicidade (apenas concentrações acima de 500 µg/mL são capazes de inibir o crescimento de outros microrganismos) (VILCHÉZE, C.; JACOBS, W. R. Jr., 2007; GOODMAN & GILMAN, 2005).

Figura 9 – Estrutura química da isoniazida (INH, **31**)



Fonte: A Autora, 2019.

A obtenção de hidrazonas resultantes da alteração estrutural da isoniazida tem se mostrado uma interessante rota sintética para obter moléculas com diversas atividades biológicas. Pode-se destacar o trabalho de Benhardt e colaboradores (2008), em que foi testada a atividade antiproliferativa de hidrazonas, dentre elas 2-acetilpiridina isonicotinoil hidrazona (Hapih, **32**) e 2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona (Hbpih, **33**), frente à linhagem de células tumorais SK-N-MC (neuroepitelioma), por meio do método MTT. Tais moléculas apresentaram  $IC_{50} = 1,26 \pm 0,24$  e  $>80 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente, demonstrando que as substituições do grupo R afetam diretamente a atividade apresentada pela hidrazona. No mesmo estudo as hidrazonas obtidas foram avaliadas quanto ao poder quelante em relação ao íon ferro(II/III).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa (AMIM, et al. 2016) testou a atividade citotóxica das N-acil hidrazonas derivadas de isoniazida Hapih (2-

acetilpiridina isonicotinoil hidrazona, **32**), Hbpih (2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona, **33**), Hpcih (2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona, **34**), Hpamih (2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona, **35**) e Hpzamih (2-pirazinoformamida isonicotinoil hidrazona, **36**) contra as linhagens de células tumorais SF-295, OVCAR-8 e HCT-116. **33** e **32** apresentaram ação citotóxica frente a estas linhagens maior que a própria isoniazida ( $IC_{50} = 0,42-1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente). Resultados como estes demonstram que a modificação estrutural da isoniazida é uma estratégia para obter moléculas com importante ação citotóxica.

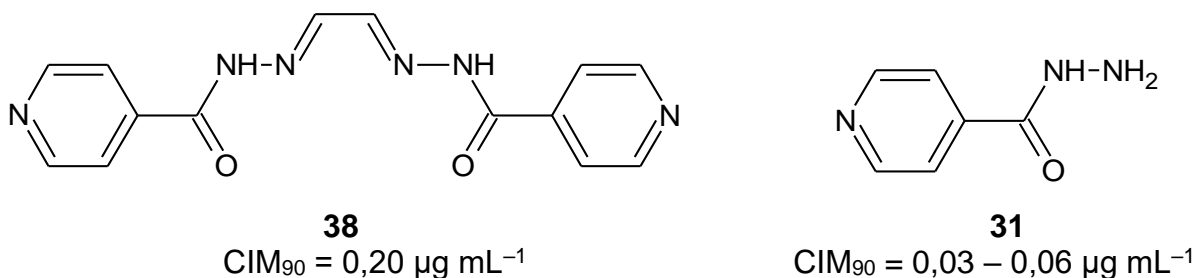
Posteriormente, complexos metálicos de cobre(II) com as hidrazonas **32-35** também tiveram ação citotóxica investigada frente às linhagens SF-295, OVCAR-8 e HCT-116. A quelação com o íon metálico levou a um aumento da atividade das hidrazonas frente as linhagens de células testadas, onde destacam-se os valores de  $IC_{50}$  para o complexo  $[\text{Cu}(\text{Hpamih})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$  (**37**) que frente a OVCAR-8 ( $IC_{50} = 0,48\pm 0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi mais ativo que a hidrazona livre (Hpamih (**35**),  $IC_{50} = 0,39\pm 0,86 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e também mais tóxico que a doxorubicina, fármaco antitumoral usado como referência ( $IC_{50} = 0,23\pm 0,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) (FIRMINO, G. S. S., 2016).

Na literatura temos poucas publicações de síntese e caracterização para as *bis*(N-acil hidrazonas): glioxial *bis*(isonicotinoil hidrazona) (**38**) e para metilglioxal *bis*(isonicotinoil hidrazona) (**39**) (SOMOGYI; CZUGLER; SOHÁR, 1992; HEARN, et al., 2009; KRIZA, et al., 2009). Não existem até o momento estudos citotóxicos para investigação de atividade antitumoral dessas moléculas. Para **38** e seus complexos foram encontrados artigos reportando apenas a síntese, caracterização e investigação da atividade antimicrobiana (HEARN, et al., 2009; KRIZA, et al., 2009).

Hearn e colaboradores (2009) relataram a preparação e investigação da atividade *in vivo* e *in vitro* de uma série de bases de Schiff derivadas de INH contra a linhagem H<sub>37</sub>Rv do *Mycobacterium tuberculosis*. Na Figura 10 temos as estruturas de **38** e da INH (**31**) e os seus respectivos valores de concentrações inibitórias mínimas (concentração inibitória mínima de um composto, capaz de matar, pelo menos, 90% dos patógenos sensíveis – CIM<sub>90</sub>, em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) determinadas preliminarmente no ensaio *in vitro*. O CIM<sub>90</sub> da *bis*(N-acil hidrazona) **38** foi cerca de 4,5 vezes maior que o da INH e por este motivo, tal composto não seguiu para etapas seguintes.



Figura 10 – Estruturas da *bis*(N-acil hidrazona) (**38**) e de INH (**31**)

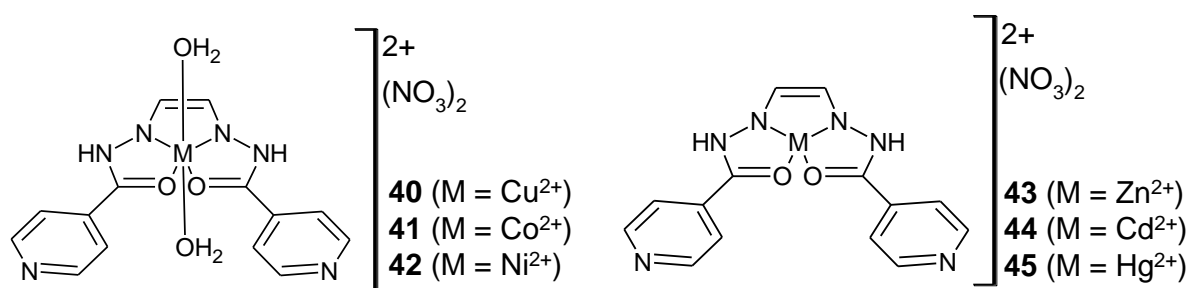


Legenda: Estruturas de 38 e 31 e seus respectivos CIM<sub>90</sub> frente a linhagem H<sub>37</sub>Rv (*Mycobacterium tuberculosis*).

Fonte: HEARN, 2009 (adaptada).

Em 2009 Kriza e colegas publicaram um estudo com a síntese, caracterização e investigação da atividade antimicrobiana de complexos da *bis*(N-acil hidrazona) **38** com cobre(II), cobalto(II), níquel(II), zinco(II), cádmio(II) e mercúrio(II) contra uma série de bactérias Gram positivas, são elas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Os complexos obtidos foram de dois tipos:  $[M(H_2L)(H_2O)_2](NO_3)_2 \cdot xH_2O$  (M = Cu(II) (**40**), Co(II) (**41**) e Ni(II) (**42**)) e  $[M(H_2L)](NO_3)_2$  (M = Zn(II) (**43**), Cd(II) (**44**) e Hg(II) (**45**)) (Figura 11). Foram testados **38**, os seis complexos (**40–45**) e o fármaco de referência foi a gentamicina. O fármaco de referência foi ativo contra todas as séries testadas. A *bis*(hidrazona) **38** foi inativa contra todas as séries, mas a coordenação ao Cd(II) e ao Hg(II) formou os complexos **44** e **45** que foram os mais ativos. O complexo **45** foi ativo contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Entretanto, os autores ressaltam o resultado do complexo **44**, que mostrou-se seletivo ao inibir apenas o crescimento da *Staphylococcus epidermidis*. Os demais compostos (**40–43** e **38**) foram inativos contra todos os tipos de bactérias testadas.

Figura 11 – Estrutura geral dos complexos **40–45**



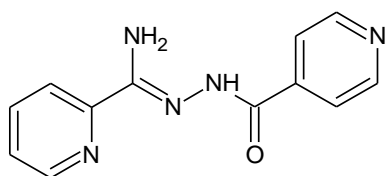
Fonte: KRIZA et al. 2009 (adaptada).

## 2 JUSTIFICATIVA

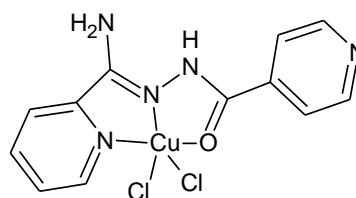
Na literatura são encontrados diversos estudos com compostos de aminas, piridinas, fenantrolinas, bases de Schiff, porfirinas, iminofosforanos, ditiocarbamatos e tiossemicarbazonas coordenadas ao ouro(III). Dentre este universo de compostos com atividade citotóxica *in vitro* ou *in vivo* já comprovada, temos interesse em obter e investigar a citotoxicidade de complexos de ouro(III) com N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida. A escolha por essa classe de moléculas se dá pela conhecida e ampla ação farmacológica e também por apresentar em seu esqueleto pela estrutura (C=N–N) que permite certa torção na estrutura favorecendo a coordenação ao íon metálico.

Nosso grupo já obteve e investigou a ação antitumoral (frente as linhagens de células tumorais: OVCAR-8 (câncer de ovário - humano), HCT-116 (câncer de cólon - humano) e SF-295 (glioblastoma – humano)) e antitubercular (contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis*) das N-acil hidrazonas derivadas de isoniazida: Hpcih, Hapih, Hbpih e Hampih (AMIM, 2016) e de seus complexos metálicos de cobre(II) (FIRMINO, 2016). Na Figura 12, temos os melhores resultados de IC<sub>50</sub> para Hpamih e para seu respectivo complexo de cobre(II), [Cu(Hpamih)Cl<sub>2</sub>].H<sub>2</sub>O frente a linhagem OVCAR-8. Ficou evidente que a coordenação ao íon cobre(II) potencializou a atividade apresentada pelo ligante livre.

Figura 12 – IC<sub>50</sub> de Hpamih e de seu complexo de cobre(II), [Cu(Hpamih)Cl<sub>2</sub>].H<sub>2</sub>O frente linhagem OVCAR-8



Hpamih, IC<sub>50</sub> = 0,7800 μmol L<sup>-1</sup>



IC<sub>50</sub> = 0,4348 μmol L<sup>-1</sup>

Fonte: FIRMINO, et al., 2016 (adaptada).

Os resultados satisfatórios encontrados tanto para a substituição de grupos R nas N-acil hidrazonas, quanto da coordenação das mesmas a metais, juntamente

com diversos trabalhos sobre ouro(III) mostram que a obtenção desses compostos pode ser uma estratégia viável na obtenção de potenciais candidatos a metalofármacos no tratamento de câncer.

A possibilidade de obter novos compostos para tratamento de câncer que sejam menos agressivos, mais seletivos e específicos para interação com os sítios de interesse na inibição da doença é de grande importância. A utilização futura desses novos fármacos irá contribuir para uma melhor qualidade de vida para os pacientes, minimizando/extinguindo diversas dificuldades enfrentadas na quimioterapia.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Desenvolver N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida e seus complexos de ouro(III) que possam constituir modelos na busca de protótipos de fármacos e metalofármacos antitumorais e citotóxicos e identificar possíveis mecanismos de ação de tais moléculas.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar e caracterizar N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida não substituídas e substituídas no carbono imínico por piridina, metil, etil e/ou fenil;
- Sintetizar e caracterizar complexos metálicos de ouro(III) com as N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) de interesse;
- Investigar a ação dos compostos contra células tumorais das linhagens: HL-60 (leucemia mieloide promielocítica - humano), MCF-7 (adenocarcinoma mamário – humano), MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário – humano), PC3 (câncer de próstata – humano) e/ou HCT-116 (carcinoma de cólon – humano);
- Avaliar o efeito da coordenação do ouro(III) sobre a atividade farmacológica das moléculas orgânicas;
- Correlacionar a atividade farmacológica com a estrutura e propriedades dos compostos.
- Investigar a interação de moléculas orgânicas e complexos mais ativos com o DNA;
- Investigar o poder inibidor de moléculas orgânicas e compostos de coordenação mais ativos frente a enzima tioredoxina redutase (TrxR);

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais e técnicas de caracterização

#### *Pesagens*

As pesagens foram realizadas em uma balança analítica Shimadzu, modelo AY220, com precisão de 0,0001 g.

#### *Solubilidade*

A solubilidade das moléculas orgânicas foi determinada em três solventes: dimetilsulfóxido (DMSO) (Merck), metanol (CRQ Cromato Produtos Químicos) e clorofórmio (Merck). A massa de molécula orgânica utilizada para cada teste foi de aproximadamente 5,0 mg.

#### *Ponto de fusão*

Os pontos de fusão foram determinados utilizando-se o equipamento PF 1500 Farma Gehaka® da temperatura ambiente até temperatura máxima de 350 °C. Como referência, foi utilizada a isoniazida (Fluka).

#### *Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)*

Os espectros no infravermelho de amostras sólidas foram obtidos em pastilha de KBr na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e em pastilhas de CsI na região de 400 a 170  $\text{cm}^{-1}$  no espectrofotômetro com transformada de Fourier (FTIR), Thermo scientific®. Para alguns compostos, os espectros no infravermelho de amostras sólidas foram obtidos por reflectância total atenuada (Attenuated Total Reflectance, ATR) na região de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , em espectrômetro com transformada de Fourier Varian FT-IR 660.

### Análise elementar

As análises para determinar a composição (em %) dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP, utilizando-se o equipamento Perkin-Elmer CHN 2400 (precisão 0,01 %).

### Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos no equipamento Bruker® (500 MHz). Foram utilizados como solvente: dimetilsulfóxido- $d_6$  (DMSO- $d_6$ ) ou metanol- $d_4$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Sempre que possível, foram realizados também os experimentos de APT ou DEPT-135, COSY e HSQC, conforme solubilidade e estabilidade dos compostos nos solventes utilizados.

### Condutivimetria

As medidas de condutividade molar dos complexos foram feitas a partir de uma solução de concentração  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  dos compostos em dimetilformamida (DMF) ou metanol (MeOH). Para tal foi utilizado um condutímetro CG 1800 Gehaka, com célula condutimétrica de constante  $1 \text{ cm}^{-1}$ . A condutividade molar ( $\Lambda_M$ ,  $\Omega^{-1} \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$ ) foi calculada pela Equação (1):

$$\Lambda_M = \frac{\kappa}{M} \quad (1)$$

sendo,  $\kappa$  = condutividade específica ( $\Omega^{-1} \text{ m}^{-1}$ );  $M$  = concentração molar ( $10^3 \text{ mol m}^{-3}$ ).

A classificação do tipo de eletrólito foi feita por meio da comparação com os dados de soluções  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de eletrólitos conhecidos em DMF e metanol (Quadro 1).

Quadro 1 – Tipo de eletrólito em soluções  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  ( $\Lambda_M = \text{ohm}^{-1} \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$ )

Solvente	1:1	2:1	3:1
<b>DMF</b>	65 – 90	130 – 170	200 – 240
<b>Metanol</b>	80 – 115	160 – 220	290 – 350

Fonte: GEARY, 1971.

### *Espectroscopia eletrônica (UV-vis)*

Os espectros eletrônicos foram registrados utilizando-se cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e soluções dos compostos diluídos à partir de solução estoque ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em DMF. Foi utilizado o espectrofotômetro Thermo Fisher scientific® multiskan go rastaie 2 FL-01620. Além disso, foram feitas curvas de diferentes concentrações para obtenção dos gráficos de “Absorbância x Concentração” para cálculo do coeficiente de absorvidade molar,  $\epsilon$ .

A absorvidade molar ( $\epsilon$ ,  $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) dos compostos foi calculada com base na lei de Lambert-Beer pela Equação 2:

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l \quad \therefore \quad \epsilon = \frac{A}{c \cdot l} \quad (2)$$

Sendo:  $\epsilon$  = coeficiente de absorvidade molar ( $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ );  $A$  = absorvância;  $c$  = concentração da amostra ( $\text{mol dm}^{-3}$ ) e  $l$  = caminho óptico da cubeta (cm).

### *Espectrometria de massas*

Os espectros de massas foram obtidos no espectrômetro de massas Micromass ZQ 4000 Waters Electrospray. Os solventes utilizados foram: metanol ou metanol/água (1:1) com adição de ácido fórmico (0,1%).

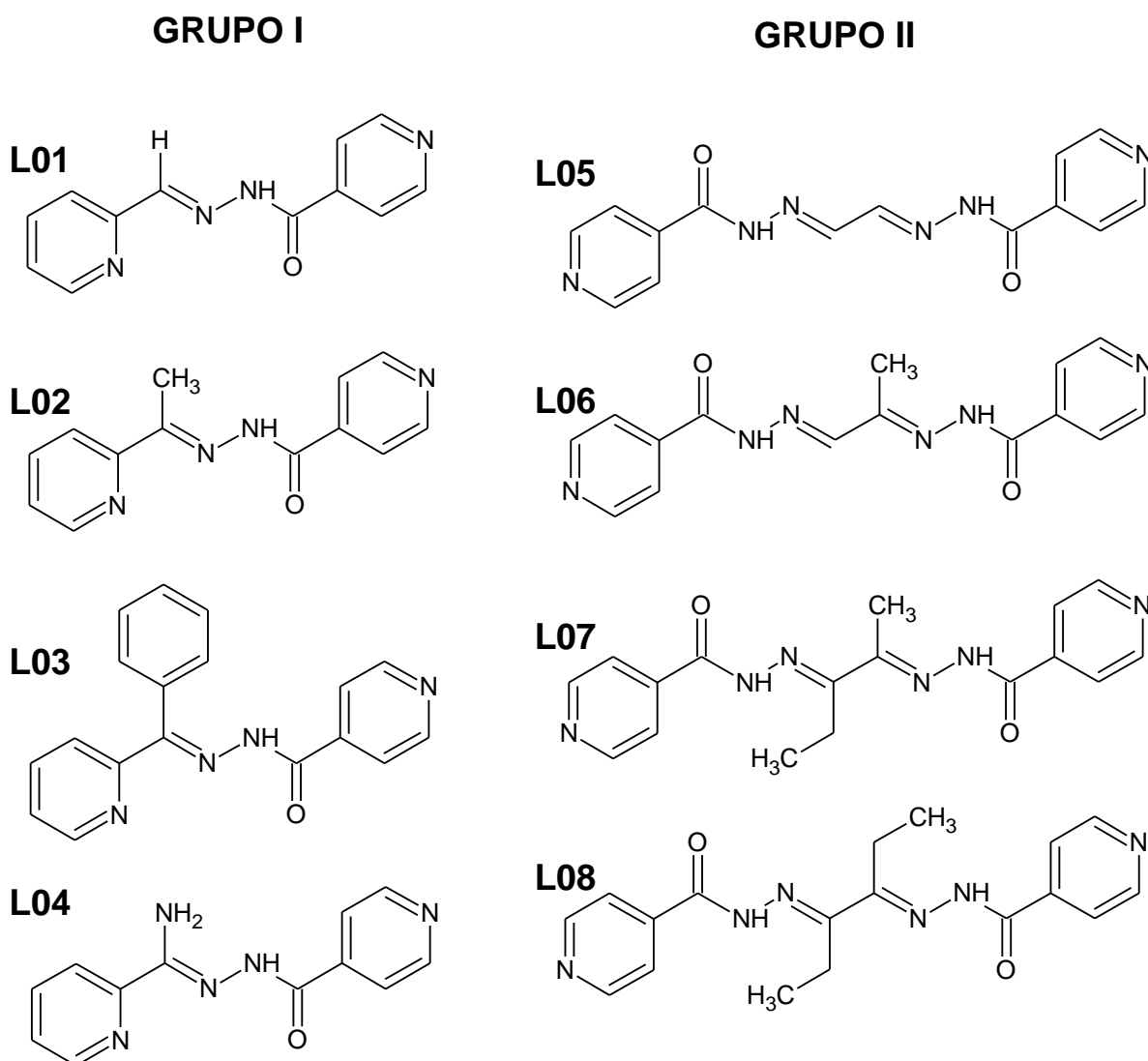
### *Reagentes*

Foram utilizados os seguintes reagentes: isoniazida (Fluka, pureza  $\geq 99 \%$ ), 2-piridinocarboxaldeído (Aldrich, pureza 99 %), 2-acetilpiridina (Sigma-Aldrich, pureza  $\geq 99 \%$ ), 2-benzoilpiridina (Aldrich, pureza  $\geq 99 \%$ ), 2-piridinocarbonitrila (Aldrich, pureza 99 %), sódio metálico, solução de glicoxal (Sigma-aldrich, solução aquosa 40 %), solução de piruvaldeído (Sigma-aldrich, 40 % solução aquosa), 2,3-pentanodiona (Aldrich, pureza 97 %), 3,4-hexanodiona (Aldrich, pureza 95 %) e cloreto de ouro(III) tri-hidratado (Sigma-aldrich, pureza 99 %). Os solventes utilizados foram: etanol (CRQ), metanol (CRQ), éter etílico (Proquímios), acetona (CRQ).

## 4.2 Síntese e caracterização das moléculas orgânicas

Foram sintetizados dois grupos de moléculas orgânicas (Figura 13).

Figura 13 – Estruturas das moléculas orgânicas



Legenda: Grupo I (N-acil hidrazonas) e do Grupo II (*bis*(N-acil hidrazonas))

Fonte: A Autora, 2019.

- Grupo I: quatro N-acil hidrazonas derivadas de isoniazida e contendo piridina (py), juntamente com hidrogênio, metil ou fenil ligados ao carbono imínico: Hpcih (2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona, **L01**), Hapih (2-acetilpiridina



isonicotinoil hidrazona, **L02**), Hbpih (2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona, **L03**) e Hpamih (2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona, **L04**).

- Grupo II: quatro *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida e contendo os grupos glioxal, piruvaldeído, 2,3-pentanodiona e 3,4-hexanodiona: H<sub>2</sub>ginh (glioxal *bis*(isonicotinoil hidrazona), **L05**), H<sub>2</sub>pinh (piruvaldeído *bis*(isonicotinoil hidrazona), **L06**), H<sub>2</sub>apinh (acetilpropionil *bis*(isonicotinoil hidrazona), **L07**) e H<sub>2</sub>bpinh (bipropionil *bis*(isonicotinoil hidrazona), **L08**).

Todos os compostos foram caracterizados por ponto de fusão (PF); análise elementar (composição de carbono, hidrogênio e nitrogênio); espectroscopias vibracional na região do IV, RMN (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, APT, COSY e HSQC) e eletrônica (UV-visível) e espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-MS).

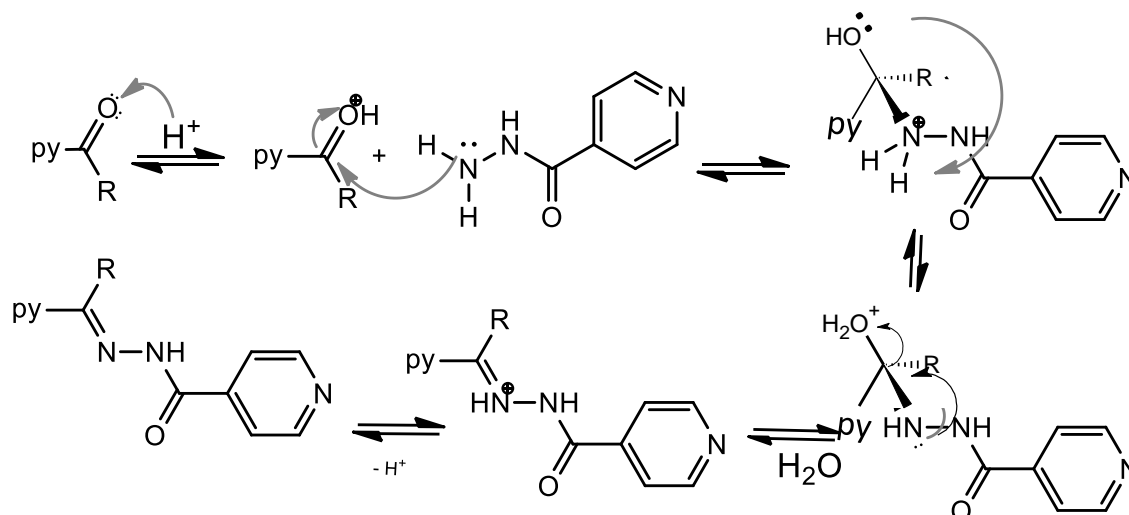
#### 4.2.1 Síntese das N-acil hidrazonas e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida

Todos os derivados de isoniazida foram obtidos através da reação de aldeídos, cetonas ou nitrilas com aminas desejadas. A obtenção das N-acil hidrazonas **L01–L04** encontra-se descrita na literatura seja pelo nosso (FIRMINO, 2015; AMIM et al., 2016) ou por outros grupos de pesquisa (ARMSTRONG et al., 2003; GLUSHKOV et al., 2005; KALINOWSKI et al., 2008). As *bis*(N-acil hidrazonas) **L05**, **L06** e **L07** também encontram-se relatadas na literatura (SOMOGYI; CZUGLER; SOHÁR, 1992; YALE; HOLSING; BERNSTEIN, 1953). **L08** é inédita.

Os compostos **L01–L03** e **L05–L08** foram sintetizados por rotas semelhantes (LESSA, et al. 2010). Para fins de clareza, são apresentados os mecanismos de **L01–L03** no Esquema 3 e de **L05–L08** no Esquema 4. Em ambas as rotas sintéticas, temos a protonação do oxigênio da carbonila dos aldeídos ou cetonas. Foi utilizado ácido acético glacial como catalisador. A protonação do oxigênio carbonílico induz a migração do par de elétrons da ligação dupla da carbonila para o oxigênio (elemento mais eletronegativo da ligação C=O) o que faz com que o carbono carbonílico apresente maior carga parcial positiva ( $\delta^+$ ). Dessa forma, o par de elétrons no nitrogênio do grupo NH<sub>2</sub> da isoniazida ataca o carbono do aldeído/cetona. Em seguida ocorre a migração de hidrogênio do grupamento –NH<sub>2</sub><sup>+</sup> para a hidroxila formando –OH<sub>2</sub><sup>+</sup> que é liberado quando o elétron do nitrogênio imínico formar a nova ligação C=NH<sup>+</sup>. Finalmente, ocorre a formação do produto

desejado e a liberação de  $H^+$  no meio novamente. Todas as reações ocorreram em etanol ou metanol, com agitação magnética de 24 horas e refluxo nas 6 horas iniciais.

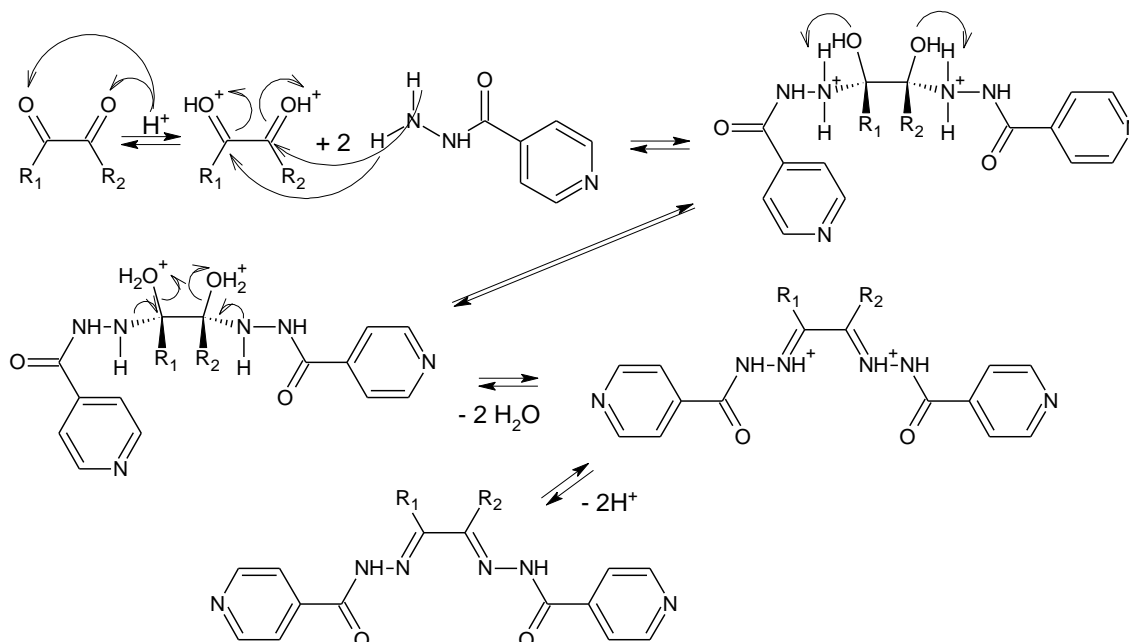
Esquema 3 – Representação do mecanismo de síntese de **L01–L03**



Legenda: Grupos R – **L01**, R = H; **L02**, R = CH<sub>3</sub> e **L03** = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Fonte: A Autora, 2019.

Esquema 4 – Representação do mecanismo de síntese de **L05–L08**

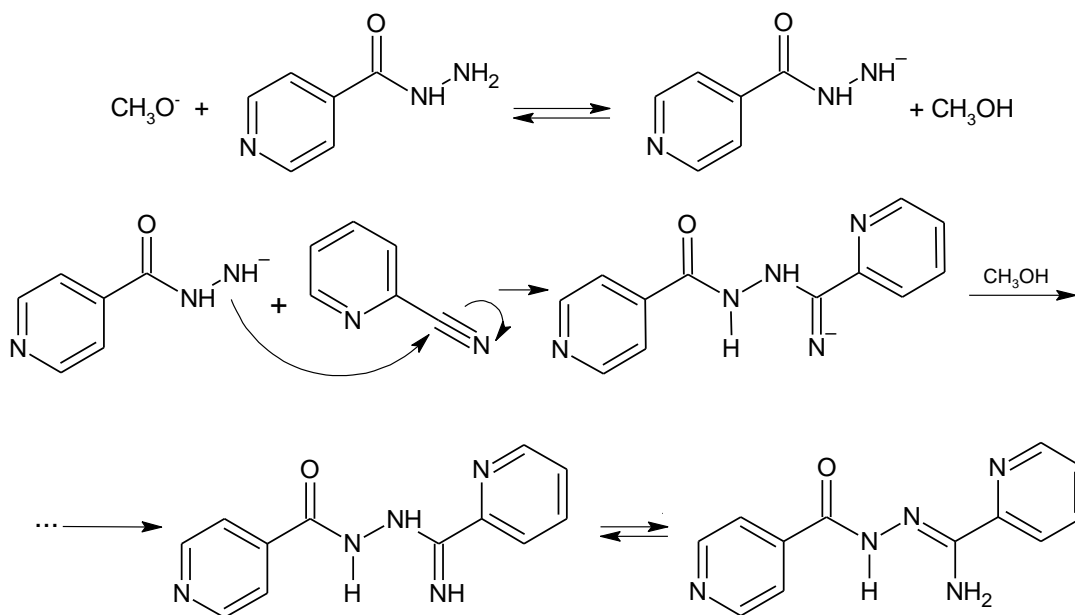


Legenda: **L01**, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H; **L06**, R<sub>1</sub> = H e R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>; **L07**, R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> e R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>; **L08**, R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Fonte: A Autora, 2019.

A hidrazona 2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona (**L04**) foi obtida como apresentado no Esquema 5. Diferente das demais, esta síntese apresenta duas etapas. Na Etapa 1 o sódio metálico tem a função de desprotonar o metanol seco formando metóxido ( $\text{H}_3\text{CO}^-$ ) que desprotona a isoniazida, para logo em seguida ocorrer o ataque nucleofílico ao carbono da carbonitrila.

Esquema 5 – Representação do mecanismo de síntese de **L04**



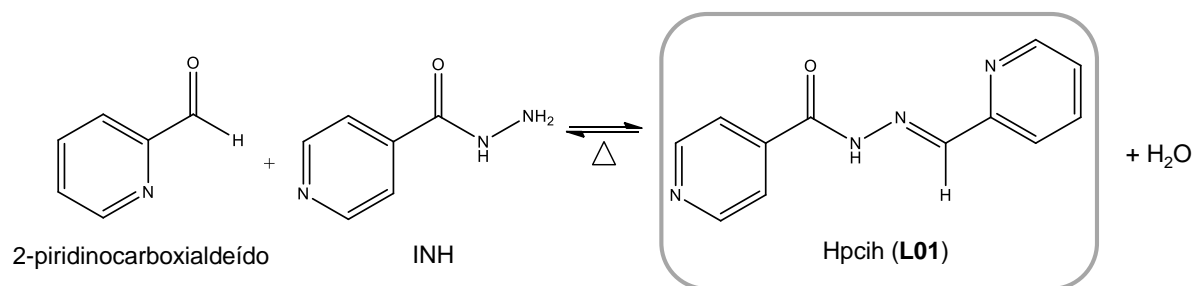
Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.1 Síntese de 2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona, Hpcih (**L01**)

Em um balão de fundo redondo contendo 1,6450 g de isoniazida (INH, 12 mmol) foram adicionados cerca de 20 mL de etanol e observou-se que não houve a completa solubilização. Em seguida o balão foi posto em uma manta de aquecimento, sob agitação constante, sendo então adicionada gota a gota quantidade equimolar de 2-piridinocarboxialdeído (1,140 mL;  $d = 1,126 \text{ g mL}^{-1}$ ). Conforme 2-piridinocarboxialdeído era adicionado, o meio reacional adquiria coloração amarela, ao mesmo tempo em que ocorria solubilização da isoniazida. Após a dissolução completa do reagente, foram adicionadas 3 gotas de ácido acético glacial e imediatamente a mistura foi submetida a refluxo por 6 h, sendo a agitação mantida até completar 24 h. Durante o refluxo não houve a formação de

precipitado, porém quando cessado o mesmo, observou-se a formação de um precipitado branco levemente amarelado. Ao fim da agitação, o produto obtido foi mantido na geladeira por cerca de 1h30min. Resfriada a mistura reacional, o produto foi filtrado a vácuo, lavado com metanol e éter etílico e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da N-acil hidrazona Hpcih (**L01**) encontra-se representada na Figura 14.

Figura 14 – Representação da reação química para a síntese de **L01**

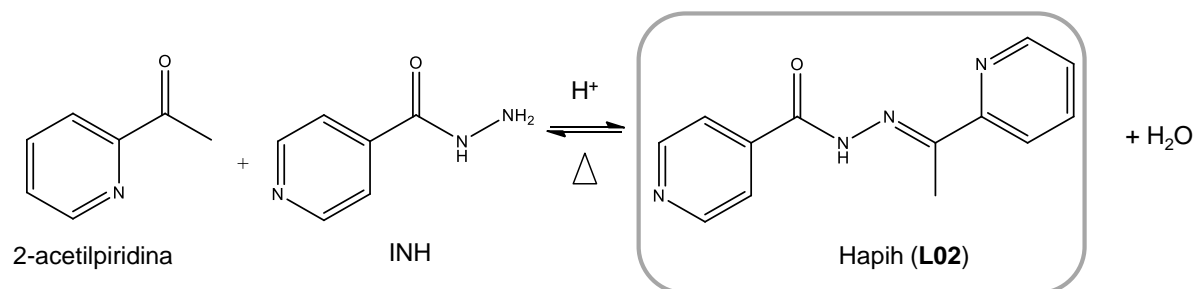


Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.2 Síntese de 2-acetilpiridina isonicotinoil hidrazona, Hapih (**L02**)

Em um balão de fundo redondo contendo 1,6450 g de isoniazida (12 mmol) solubilizada a quente em metanol sob constante agitação, foi adicionada quantidade equimolar de 2-acetilpiridina (1,35 mL,  $d = 1,08 \text{ g mL}^{-1}$ ). Após a mistura dos reagentes, foram adicionadas 3 gotas de ácido acético glacial e imediatamente a mistura foi submetida a refluxo por 6 h, enquanto que a agitação foi mantida por 24 h. Terminada a agitação, o produto foi filtrado a vácuo, lavado com metanol e éter etílico e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da N-acil hidrazona Hapih (**L02**) encontra-se representada na Figura 15.

Figura 15 – Representação da reação química para a síntese de **L02**

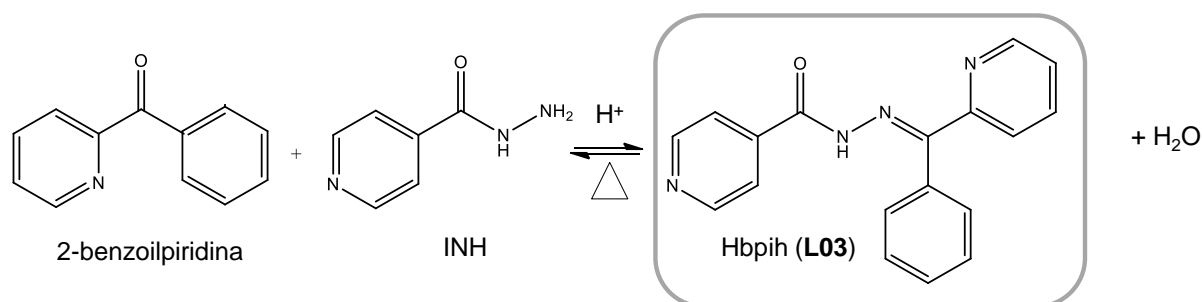


Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.3 Síntese de 2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona, Hbpih (**L03**)

Em um balão de fundo redondo foi feita a solubilização de 1,6450 g de isoniazida (12 mmol) à quente em metanol (15 mL) sob agitação. Em seguida, foi adicionada lentamente quantidade equimolar de 2-benzoilpiridina (2,198 g) previamente solubilizada em 10 mL de metanol. Posteriormente foram adicionadas 3 gotas de ácido acético glacial e imediatamente a mistura foi submetida a refluxo por 6 h, enquanto que a agitação foi mantida por 24 h. Terminada a agitação, o produto foi filtrado a vácuo, lavado com metanol e éter etílico e seco em estufa a 60°C por 24 h. A estrutura da N-acil hidrazona Hbpih (**L03**) encontra-se representada na Figura 16.

Figura 16 – Representação da reação química para a síntese de **L03**



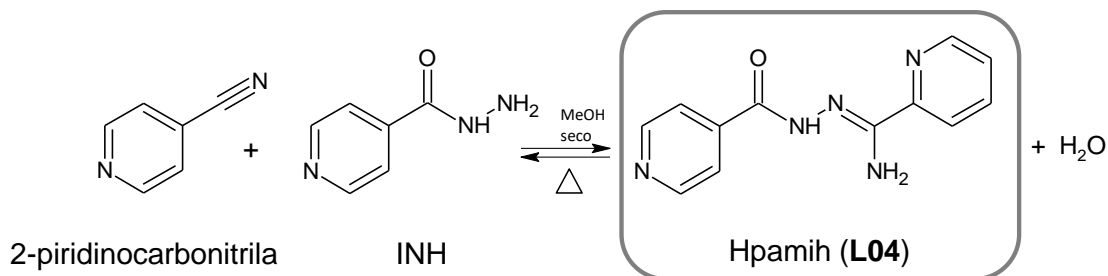
Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.4 Síntese de 2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona, HpamiH (**L04**)

Em balão de fundo redondo contendo de 15 mL de metanol seco sob agitação, adicionou-se 0,0493 g de sódio metálico (2,14 mmol). Após a dissolução completa do sódio, adicionou-se 1,2677 g de 2-piridinocarbonitrila (12 mmol; 104,11 g mol<sup>-1</sup>), mantendo-se a mistura sob agitação durante 30 min após a adição. Logo em seguida foi adicionada, gradativamente, quantidade equimolar de isoniazida (1,6450 g) por 30 min. Durante a adição de isoniazida observou-se que o meio reacional apresentava coloração amarela e que houve grande formação de precipitado, dificultando a agitação. Logo, acrescentaram-se 25 mL de metanol seco a fim de solubilizar melhor a mistura, a qual foi submetida a refluxo por 4 h e a

agitação mantida por 24 h. O produto foi filtrado a vácuo, lavado com metanol seco e éter etílico e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da N-acil hidrazona Hpamih (**L04**) encontra-se representada na Figura 17.

Figura 17 – Representação da reação química para a síntese de **L04**

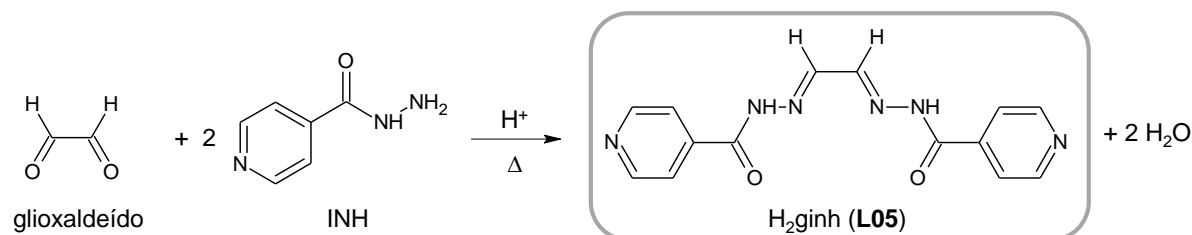


Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.5 Síntese de glioxal *bis*(isonicotinoil hidrazona), H<sub>2</sub>ginh (**L05**)

Em um balão de fundo redondo contendo 5 mL de etanol foi diluído 0,183 mL de etano-1,2-diona (glioxaldeído, 4 mmol; d = 1,265 g mL<sup>-1</sup>). Posteriormente foi adicionado 1,10 g de isoniazida (8 mmol) sob agitação constante e aquecimento brando. Após solubilização da isoniazida, duas gotas de ácido acético glacial foram adicionadas. O volume de etanol foi completado até 10 mL e em seguida a mistura foi submetida a 6 h de refluxo e mantida sob agitação por mais 18h. Durante o refluxo observou-se a formação de precipitado branco. O produto foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da *bis*(N-acil hidrazona) H<sub>2</sub>ginh (**L05**) encontra-se representada na Figura 18.

Figura 18 – Representação da reação química para a síntese de **L05**

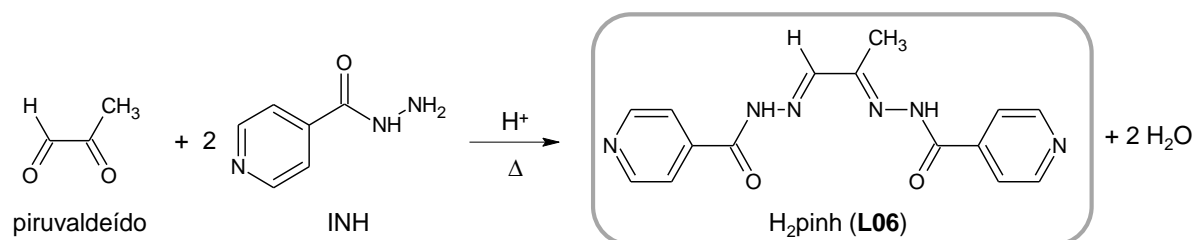


Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.6 Síntese de piruvaldeído *bis*(isonicotinoil hidrazona), H<sub>2</sub>pinh (**L06**)

Em um balão de fundo redondo contendo 5 mL de etanol foi diluído 0,428 mL de metilglioxaldeído (piruvaldeído, 7 mmol;  $d = 1,1780 \text{ g mL}^{-1}$ ), sendo em seguida adicionado 1,920 g de isoniazida (14 mmol) sob agitação constante e aquecimento brando. Após a solubilização da isoniazida com a mistura, foram adicionadas duas gotas de ácido acético glacial. O volume de etanol foi completado até 10 mL. A mistura foi submetida a 6 h de refluxo e mantida sob agitação por mais 18 h. Durante o refluxo observou-se a formação de precipitado branco. O produto foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da *bis*(N-acil hidrazona) H<sub>2</sub>pinh (**L06**) encontra-se representada na Figura 19.

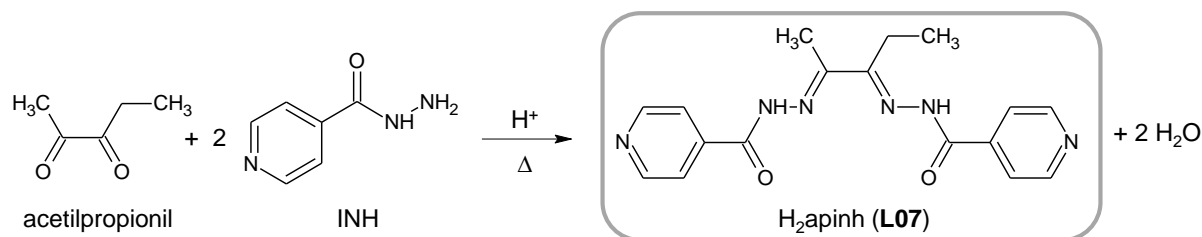
Figura 19 – Representação da reação química para a síntese de **L06**



Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.7 Síntese de acetilpropionil *bis*(isonicotinoil hidrazona), H<sub>2</sub>apinh (**L07**)

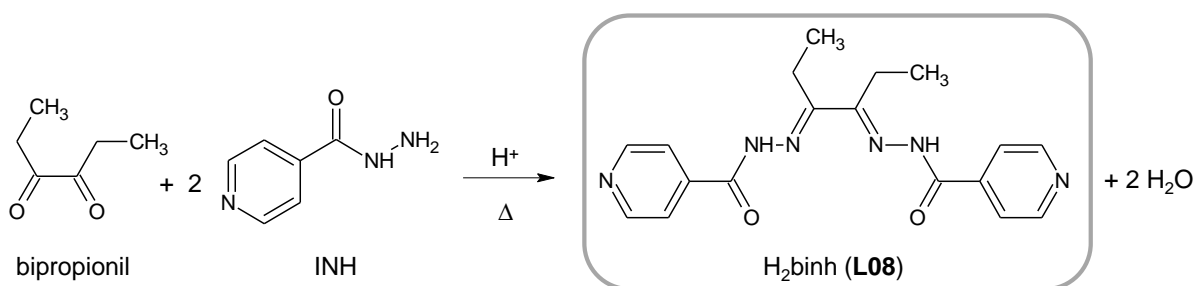
Em um balão contendo 5 mL de etanol foi diluído cerca de 0,732 mL de penta-2,3-diona (acetilpropionil, 7 mmol;  $d = 0,957 \text{ g mL}^{-1}$ ), sendo em seguida adicionado 1,92 g de isoniazida (14 mmol) realizada sob agitação constante e aquecimento brando. Após a solubilização da isoniazida, foram adicionadas duas gotas de ácido acético glacial. O volume de etanol foi completado até 10 mL. A mistura foi submetida a 6 h de refluxo e mantida sob agitação por mais 18 h. Durante o refluxo observou-se a formação de precipitado branco. O produto foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da *bis*(N-acil hidrazona) H<sub>2</sub>apinh (**L07**) (encontra-se representada na Figura 20.

Figura 20 – Representação da reação química para a síntese de **L07**

Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.2.1.8 Síntese de bipropionil *bis*(isonicotinoil hidrazona), H<sub>2</sub>bpinh (**L08**)

Em um balão de fundo redondo contendo 6 mL de etanol foi diluído 0,850 mL de hexan-3,4-diona (bipropionil, 7 mmol;  $d = 0,939 \text{ g mL}^{-1}$ ) e em seguida adicionado 1,92 g de isoniazida (14 mmol) sob agitação constante e aquecimento brando. Após solubilização da isoniazida, foram adicionadas duas gotas de ácido acético glacial. O volume de etanol foi completado até 12 mL. A mistura foi submetida a 6 h de refluxo e mantida sob agitação por mais 18 h. Durante o refluxo observou-se a formação de precipitado branco. O produto foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e éter etílico gelado e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A estrutura da *bis*(N-acil hidrazona) H<sub>2</sub>bpinh (**L08**) encontra-se representada na Figura 21.

Figura 21 – Representação da reação química para a síntese de **L08**

Fonte: A Autora, 2019.



### 4.3 Obtenção dos complexos de ouro(III)

Foram sintetizados sete complexos de ouro(III) com os ligantes derivados de isoniazida:  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C01**),  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C02**),  $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C04**),  $[\text{Au}(\text{H}_2\text{ginh})\text{Cl}_2]\text{Cl} \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C05**),  $[\text{Au}(\text{Hpinh})\text{OH}]\text{Cl}$  (**C06**) e  $[\text{Au}(\text{H}_2\text{binh})\text{Cl}_2]\text{Cl} \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C08**) através da reação entre uma N-acil hidrazona ou *bis*(N-acil hidrazona) e tetracloroaurato de hidrogênio triidratado ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) na proporção 1:1 seguindo a metodologia descrita por Lessa e colaboradores (2011). Em um balão de fundo redondo (25 mL) envolvido com papel laminado, foi dissolvido 1 mmol de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  em 4,0 mL da mistura metanol/acetona (1:1) e em seguida, adicionou-se lentamente quantidade equimolar (1 mmol) da N-acil hidrazona ou *bis*(N-acil hidrazona) sólida desejada. A mistura ficou sob agitação por 2 h. Com o fim da agitação, o produto foi filtrado a vácuo, lavado com etanol e em seguida com acetona. O sólido foi seco em estufa por 24 h em temperatura próxima a 50 °C. No Esquema 6 temos a representação geral da reação de obtenção dos complexos de ouro(III).

Foram realizadas três tentativas de obtenção de **C03** e **C07**, os resultados das análises indicavam a possível redução do ouro(III) a ouro metálico. Mesmo após as variações nas sínteses e recristalizações.

Esquema 6 – Representação da reação química para a síntese de **C01–C08**



Legenda: *m* = quantidade de átomos de hidrogênio protonando o ligante; *n* = quantidade de ligantes cloro; *p* = quantidade de ligantes hidroxos; *x* = quantidade contra-íons cloreto; *y* = quantidade de moléculas de água de hidratação, *q* = quantidade de moléculas de metanol e *z* = quantidade de moléculas de água liberadas na reação.

Fonte: A Autora, 2019.

### 4.4 Ensaio biológicos

Todos os ensaios biológicos foram realizados em colaboração com a professora Dra. Elaine Maria de Souza-Fagundes no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

#### 4.4.1 Linhagens de células tumorais

As células HL-60 (leucemia humana promielocítica) foram doadas pelo Dr. Gustavo Amarante-Mendes (Universidade de São Paulo, USP). Células MCF-7 e MDA-MB-231 (carcinoma de mama), HCT-116 (carcinoma colorretal), PC-3 (próstata), HEK-293 (células não tumorais embrionárias de rim humano) foram doadas pelo Dr. Marcel Leist (Universidade de Konstanz, Alemanha).

As células foram mantidas em fase logarítmica em meio DMEM (Dulbecco Modification of Minimum Essential Media) com 5% de SFB (soro fetal bovino) (para as células MCF-7, HCT-116, MDA-MB-231, PC-3 e HEK-293) ou RPMI (Roswell Park Memorial Institute Medium) com 10% de SFB (para HL-60) suplementados com 100 U mL<sup>-1</sup> penicilina e 100 mg mL<sup>-1</sup> estreptomicina (GIBCO BRL, Grand Island, NY), adicionalmente, o meio RPMI foi enriquecido com 2 mM de L-glutamina. As culturas foram mantidas até a 20<sup>a</sup> passagem em incubadora umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C e examinadas diariamente.

#### 4.4.2 Avaliação da atividade citotóxica de substâncias sintéticas em células leucêmicas (mielóide), tumor mamário e colorretal

As suspensões de células HL-60 foram utilizadas na concentração de 50.000 células/poço (placas de 96 poços), enquanto que para as linhagens HCT-116, MCF-7, MDA-MB-231, PC-3 e HEK-293 utilizou-se a concentração de 10.000 células/poço. Todas as linhagens foram incubadas por 24 h a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> para estabilização. Após a mesma, as células foram incubadas com as substâncias de interesse por 48 h em atmosfera de 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se como controle positivo a cisplatina e/ou etoposídeo, compostos já utilizados na terapia anti-câncer. Foi realizado um controle do solvente (DMSO) na mesma concentração das amostras testes (0,5% v/v). A proliferação e viabilidade celular foram avaliadas pelo ensaio de MTT, descrito a seguir.

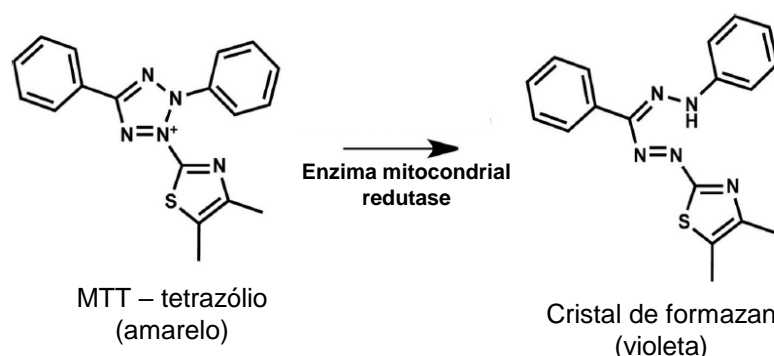
#### 4.4.3 Avaliação de viabilidade e proliferação celular pelo ensaio de MTT

O ensaio para avaliação de viabilidade e proliferação celular é baseado na redução metabólica do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium (MTT) a formazan (4,5-dimetil-2{(E)-[(Z)-fenil(2-fenilhidrazinidina)metil]diazenil}-1,3-tiazol) e permite avaliar tanto a proliferação quanto a viabilidade celular (Figura 22). A metodologia utilizada foi descrita por Monks et al. (1991), com modificações. Resumidamente, faltando 4 h para o final do período de incubação das culturas, foram adicionados a cada poço (contendo 200  $\mu\text{L}$  finais), 20  $\mu\text{L}$  de uma solução de MTT (2,5  $\text{mg mL}^{-1}$ ). Após as 4 h de incubação e formação dos cristais de formazan, o sobrenadante foi cuidadosamente retirado à vácuo. A cada poço foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  de uma solução de HCl 0,04M em isopropanol. Após solubilização dos cristais de formazan formados pela metabolização do MTT pelas células viáveis, as placas foram lidas em leitor de ELISA a um comprimento de onda de 595 nm.

O índice de seletividade (IS) foi calculado em relação às células sadias (HEK-293) por meio da Equação 3:

$$IS = \frac{IC_{50} (HEK - 293)}{IC_{50} (Células tumorais)} \quad (3)$$

Figura 22 – Reação de MTT com a enzima mitocondrial reductase



Legenda: a viabilidade é quantificada pela redução do mtt (sal de cor amarela), pela atividade celular ao formazan (sal de cor violeta) utilizando o método é colorimétrico; isto é, quanto menor o número de células vivas após o tratamento com as nossos compostos, menos formazan é produzido e, portanto, menos violeta ficará o meio. a absorbância então reflete quantitativamente a porcentagem de células vivas em relação ao controle (meio com DMSO 0,5%, sem os compostos testados).

Fonte: A Autora, 2019.

#### 4.4.4 Ensaio de clonogenicidade

O ensaio clonogênico foi avaliado com modificações como descrito previamente por (MORDANT et al., 2010). Células HCT-116 foram plaqueadas na densidade de 400 células por poço em 2 mL de meio DMEM suplementado em placas de 6 poços. Após 4 h de incubação em estufa úmida contendo 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C, as células foram tratadas com DMSO 0,5% v/v ou com as substâncias selecionadas para o ensaio, durante 24 h. Após esse período, o meio contendo o veículo controle (DMSO, 0,5% v/v) ou as substâncias foi substituído com meio sem tratamento. Após 14 dias, o meio de cultura foi cuidadosamente removido e as colônias foram, então, fixadas adicionando-se a cada poço 2 mL de solução contendo 70% (v/v) de álcool etílico e coradas 30% (p/v) de cristal violeta em 70% (v/v) de álcool etílico. As placas foram incubadas por 30 min a temperatura ambiente e, após este período, a solução fixadora foi removida, as placas foram lavadas cuidadosamente com água corrente e mantidas a temperatura ambiente até secagem completa. Neste ensaio, as colônias são classificadas como aquelas colônias com mais de 50 células que foram contadas com auxílio de microscópio invertido.

O número de colônias formadas a partir das culturas controle foi usado o cálculo de eficiência de plaqueamento (PE) de acordo com a Equação 4:

$$PE = \frac{\text{número de colônias formadas}}{\text{número de células plaqueadas}} \times 100 \quad (4)$$

O valor de PE e o número de colônias formadas a partir das culturas tratadas com veículo com a substância foram usados para o cálculo da fração de sobrevivência (FS) de acordo com a Equação 5:

$$FS = \frac{\text{número de colônias formadas após o tratamento}}{\text{número de células plaqueadas} \times PE} \quad (5)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

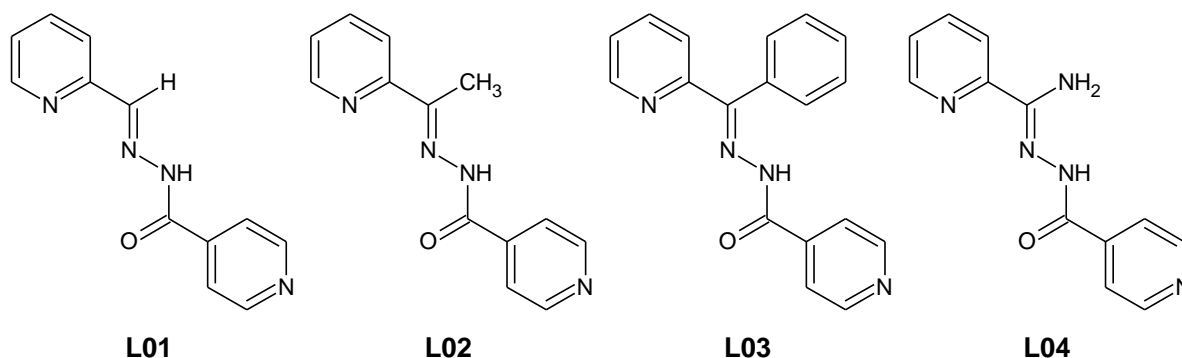
### 5.1 N-acil hidrazonas derivadas de isoniazida e seus complexos de ouro(III)

#### 5.1.1 Caracterização das hidrazonas L01–L04

A síntese e caracterização das hidrazonas Hpcih (**L01**), Hapih (**L02**), Hbpih (**L03**) e Hpamih (**L04**) são descritas na literatura (DINDA, R.; et al., 2002; BERNHARDT, P. V.; et al., 2008; ABABEI, L. V.; et al., 2012; GLUSHKOV, R. G.; et al, 2004; FIRMINO, G. S. S., 2015; AMIM; et al., 2016). Tais compostos já foram sintetizados, caracterizados e discutidos por mim durante o mestrado (FIRMINO, G. S. S., 2015). Neste trabalho as quatro N-acil hidrazonas foram novamente sintetizadas e caracterizadas por ponto de fusão, análise elementar, espectrometria de massas, espectroscopia vibracional no IV e RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , APT, COSY) que confirmaram sua obtenção e pureza.

São apresentadas as estruturas (Figura 23) e os dados espectroscópicos de **L01–L04** nos parágrafos a seguir. Sendo os resultados obtidos nas novas sínteses convergentes com os resultados encontrados nas caracterizações dos mesmos compostos discutidos na dissertação de mestrado intitulada “Síntese, caracterização e estudo da ação antituberculose e citotóxica de hidrazonas derivadas de isoniazida e de seus complexos de cobre(II) e gálio(III)” (FIRMINO, G. S. S., 2015); consideramos desnecessária a discussão dos mesmos nesta tese. Apresento nos Apêndices de A–D os espectros obtidos nas caracterizações das novas sínteses desses compostos.

Figura 23 – Estrutura geral das *N*-acil hidrazonas sintetizadas



Fonte: A Autora, 2019.

**2-piridinocarboxialdeído isonicotinoil hidrazona, *Hcpih* (L01):** rendimento 70 %; sólido amarelo claro. P.f.: 166,9–167,0 °C. Composição calculada para C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O (MM = 226,23 g mol<sup>-1</sup>): C, 63,17; H, 4,46; N, 24,76 %; experimental: C, 63,40; H, 4,24; N, 24,35 %. UV-Vis (DMF) λ/nm 303, 369. IV (KBr) ν/cm<sup>-1</sup> 3176, 1682, 1566, 849, 795, 742. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7,43 (t, 1H, *J* 6,41, H5), 7,84 (d, 2H, *J* 4,8, H10), 7,89 (t, 1H, *J* 7,6, H4), 7,99 (d, 1H, *J* 7,7, H3), 8,49 (s, 1H, H7), 8,63 (d, 1H, *J* 4,1, H6), 8,80 (d, 2H, *J* 4,8, H11), 12,25 (s, 1H, OH). <sup>13</sup>C RMN (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 120,08, 121,55, 124,64, 136,93, 140,23, 149,20, 149,58, 150,37, 152,95, 161,88. HRMS (ESI-TOF-MS) *m/z*, observado: 246,1286; C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> calculado: 246,1111.

**2-acetilpiridina isonicotinoil hidrazona, *Hapih* (L02):** rendimento 76 %; sólido branco. P.f.: 164,3–165,4 °C. Composição calculada para C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O (MM = 240,26 g mol<sup>-1</sup>): C, 64,99; H, 5,03; N, 23,32 %; experimental: C, 64,92; H, 4,92; N, 23,27 %. IV (KBr) ν/cm<sup>-1</sup> 3188, 1670, 1581, 839, 791, 750, 725. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 2,51 (s, 1H, H12), 7,46 (t, 1H, *J* ND, H5), 7,84 (d(sl), 2H, *J* ND, H10), 7,90 (t, 1H, *J* ND, H4), 8,15 (d, 1H, *J* 7,4, H3), 8,65 (d(sl), 1H, *J* ND, H6), 8,80 (d(sl), 2H, *J* ND, H11), 11,18 (s, 1H, OH). <sup>13</sup>C RMN (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12,93, 120,56, 121,98, 124,42, 136,68, 140,99, 148,69, 150,11, 154,88, 156,25, 162,83. HRMS (ESI-TOF-MS) *m/z*, observado: 263,0860; C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>NaO<sup>+</sup> calculado: 263,0909.

**2-benzoilpiridina isonicotinoil hidrazona, *Hbpih* (L03):** rendimento 48 %; sólido branco. P.f.: 193,7 – 195,2 °C. Composição calculada para C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O (MM = 302,33

g mol<sup>-1</sup>): C, 71,51; H, 4,67; N, 18,53 %; experimental: C, 70,05; H, 4,46; N, 19,14 %. UV-Vis (DMF)  $\lambda$ /nm 273, 324, 401. IV (KBr)  $\nu$ /cm<sup>-1</sup> 3062, 1689, 1545, 849, 806, 742. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7,41 (d, 1H, *J* 7,8, H3), 7,52 – 7,55 (m, 5H, *J* ND, H13/14/15), 7,65 (t(sl), 1H, *J* ND, H5), 7,78 (d, 2H, *J* 4,4/ND, H10), 8,05 (t, 1H, *J* 7,1, H4), 8,72 (d, 2H, *J* 4,4/ND, H13), 8,98 (d(sl), 1H, *J* ND, H6), 10,09 (s, 1H, OH). <sup>13</sup>C RMN (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  121,10, 125,13, 128,47, 138,45, 141,55, 148,89, 150,43, 150,76, 161,68. HRMS (ESI-TOF-MS) *m/z*, observado: 224,1404; C<sub>36</sub>H<sub>31</sub>N<sub>8</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>3+</sup> calculado: 224,0844.

**2-piridinoformamida isonicotinoil hidrazona, *Hpamih* (L04)**: rendimento 37 %; sólido branco. P.f.: 264,3–266,4 °C. Composição calculada para C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O (MM = 241,25 g mol<sup>-1</sup>): C, 59,74; H, 4,60; N, 29,03 %; experimental: C, 59,10; H, 4,42; N, 28,21%. UV-Vis (DMF)  $\lambda$ /nm 322, 400. IV (KBr)  $\nu$ /cm<sup>-1</sup> 3394, 3134, 3046, 1622, 1547, 843, 804, 750. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7,03 (s, 2H, N(5)H), 7,51 (t(sl), 1H, *J* ND, H5), 7,82 (s(sl), 2H, H10), 7,92 (t(sl), 1H, *J* 7,3, H4), 8,18 (d, 1H, *J* 7,8/ND, H3), 8,62 (d, 1H, *J* ND/4,8, H6), 8,72 (s(sl), 2H, H11), 10,41 (s, 2H, OH). <sup>13</sup>C RMN (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  120,83, 121,69, 124,97, 137,01, 141,53, 148,15, 149,33, 149,96, 150,36, 161,35. HRMS (ESI-TOF-MS) *m/z*, observado: 264,0847; C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>NaO<sup>+</sup> calculado: 264,0841.

### 5.1.2 Caracterização dos complexos de ouro(III) com N-acil hidrazonas derivadas de INH: **C01**, **C03** e **C04**

Foram sintetizados três complexos de ouro(III) com as N-acil hidrazonas **L01**, **L03** e **L04** usando o tetracloroaurato de hidrogênio tri-hidratado (HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O) como sal de partida (Seção 4.3): [Au(H<sub>3</sub>pcih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C01**), [Au(H<sub>3</sub>bpib)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C03**) e [Au(pamih)Cl<sub>2</sub>]·½CH<sub>3</sub>OH (**C04**). Os três complexos são inéditos e foram caracterizados por ponto de fusão, análise elementar, espectrometria de massas, espectroscopia no infravermelho, condutivimetria e espectroscopia eletrônica (UV-visível). **L02** não formou complexo de ouro(II).

### 5.1.2.1 Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas

Os dados de cor, rendimento, análise elementar (carbono, hidrogênio e nitrogênio), massa molar e condutividade molar dos complexos de ouro(III) **C01**, **C03** e **C04** estão na Tabela 4. As condutividades molares indicam que os complexos **C01** e **C03** são eletrólitos do tipo 2:1 e o **C04** é não-eletrólito (GEARY, 1971). Os três compostos tiveram suas condutividades específicas medidas em soluções de concentração  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em metanol nos tempos  $t = 0 \text{ min}$  (imediatamente após o preparo da solução) e  $t = 60 \text{ min}$ .

A classificação quanto ao tipo de eletrólito foi feita segundo os valores encontrados no Quadro 2. Inicialmente é possível observar que para os compostos **C01**, **C03** e **C04** os valores de  $\Lambda_M$  encontrados no tempo  $t = 0\text{h}$  e  $t = 1\text{h}$  são semelhantes, o que sugere que ambos os compostos se mantêm estáveis em metanol durante o período de tempo analisado.

Para o composto **C03**, inicialmente temos  $\Lambda_M = 205 \text{ } \Omega^{-1}\text{m}^2 \text{ mol}^{-1}$  ( $t = 0\text{h}$ ;  $27,2 \text{ } ^\circ\text{C}$ ) sugerindo tratar-se de um eletrólito do tipo 2:1 em solução de metanol. Entretanto, na leitura realizada após 1 hora, a condutividade molar é de  $\Lambda_M = 300 \text{ } \Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  ( $t = 1\text{h}$ ;  $27,3 \text{ } ^\circ\text{C}$ ), sugerindo que **C03** encontra-se como eletrólito do tipo 3:1. Tal mudança pode ser resultado do efeito solvente produzido devido a uma possível troca do ligante cloro (cuja labilidade é uma característica conhecida) por moléculas do próprio solvente. Na Figura 24 são apresentadas as propostas estruturais dos complexos de ouro(III) com as hidrazonas tendo como base as microanálises e o infravermelho.



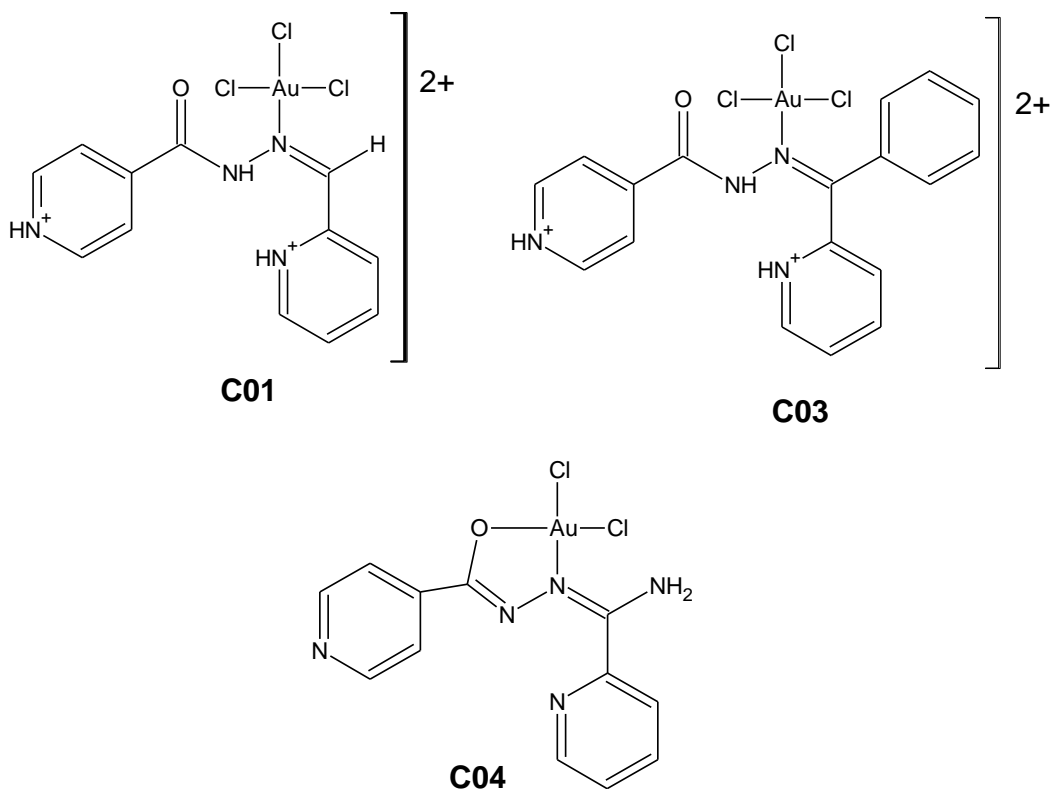
Tabela 4 – Cor, rendimento (R, %), composição (C, H e N, em %), fórmula molecular (FM), massa molar (MM, g mol<sup>-1</sup>), ponto de fusão (P.F., °C) e condutividade molar em metanol (1 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>,  $\Lambda_M$  em  $\Omega^{-1}$  cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>) dos complexos **C01**, **C03** e **C04**

	<b>C01</b>	<b>C03</b>	<b>C04</b>
<b>Cor</b>	Amarelo	Amarelo	Verde escuro
<b>R</b>	41	71	61
<b>P.F.</b>	177,9–178,6 (166,9–167,0) <sup>a</sup>	226,7–227,3 (193, 7–195,2)	203,1–203,7 (264,3–267,4)
<b>% C</b>	22,56 (22,57) <sup>b</sup>	30,45 (30,25)	28,59 (28,64)
<b>% H</b>	2,23 (2,53)	2,43 (2,82)	2,46 (2,31)
<b>% N</b>	8,64 (8,77)	7,94 (7,84)	13,55 (13,36)
<b>FM</b>	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> AuCl <sub>5</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> [Au(H <sub>3</sub> pcih)Cl <sub>3</sub> ]Cl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> AuCl <sub>5</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> [Au(H <sub>3</sub> bpih)Cl <sub>3</sub> ]Cl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	C <sub>12,5</sub> H <sub>12</sub> Au <sub>1</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub> O <sub>1,5</sub> [Au(pamih)Cl <sub>2</sub> ]·½CH <sub>3</sub> OH
<b>MM</b>	638,51	714,60	524,13
<b><math>\Lambda_M</math></b>	222,0 (25,7 °C) 214,0 (27,3 °C)	205,0 (27,2 °C) 300,0 (27,3 °C)	10,7 (25,2 °C) 9,8 (25,1 °C)

Legenda: [Au(H<sub>3</sub>pcih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C01**), [Au(H<sub>3</sub>bpih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C03**) e [Au(pamih)Cl<sub>2</sub>]·½CH<sub>3</sub>OH (**C04**). <sup>a</sup>Valores de P.F. das hidrazonas livres (°C); <sup>b</sup>Valores teóricos.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 24 – Estrutura geral dos complexos de ouro(III) **C01**, **C03** e **C04**



Legenda:  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C01**),  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpil})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C03**) e  $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C04**). As moléculas de água e metanol foram omitidos para fins de clareza.

Fonte: A Autora, 2019.

#### 5.1.2.2 Espectroscopia no infravermelho (IV)

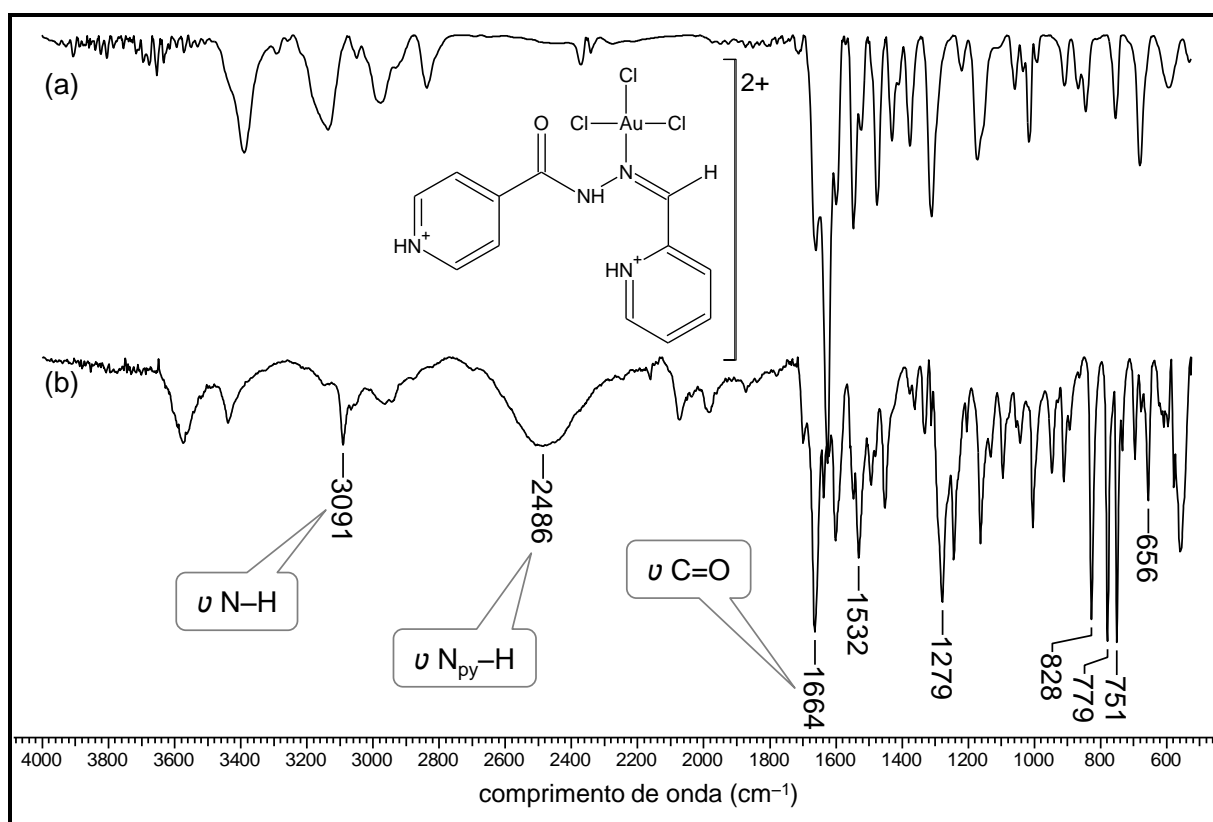
Os espectros no infravermelho dos complexos de ouro(III) e dos ligantes foram obtidos em pastilha de KBr. Na Tabela 5 encontram-se as atribuições das principais bandas encontradas nos espectros no infravermelho de **L01**, **L03** e **L04** e de seus respectivos complexos **C01**, **C03** e **C04**, obtidos na região entre 4.000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ . Bandas de absorção características de  $\nu(\text{N}_{\text{py}}-\text{H})$  estão presentes nos complexos **C01** e **C03** na faixa de 2486–2599  $\text{cm}^{-1}$  sugerindo que pelo menos um dos nitrogênios piridínicos foi protonado (DESPAIGNE et al., 2009; 2012).

Os estiramentos  $\nu(\text{N}-\text{H})$  presentes nos espectros dos ligantes **L01** e **L03** em 3176 e 3062  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, encontram-se deslocadas para 3091 e 3066  $\text{cm}^{-1}$  em **C01** e **C03**, sugerindo que ambos os complexos os ligantes não foram desprotonados em N3 (nitrogênio imínico) (AMIM et al., 2016). Os espectros dos dois complexos ainda apresentam as bandas de absorção referentes ao estiramento

$\nu(\text{C}=\text{O})$  deslocadas para 1664 e 1665  $\text{cm}^{-1}$  sugerindo que as hidrazonas não estão coordenadas ao ouro(III) pela carbonila (FIRMINO et al., 2016) (Figuras 25 e 26).

Sendo o ouro(III) um íon metálico de configuração  $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^8$ , todos os três complexos deverão apresentar-se tetracoordenados com geometria quadrática plana, que é a geometria mais abundante para complexos  $d^8$  de elementos pertencentes aos metais da série 4d e 5d, como ródio(I), irídio(I), paládio(II), platina(II) e neste caso, ouro(III) (SHIVER, et al., 2008).

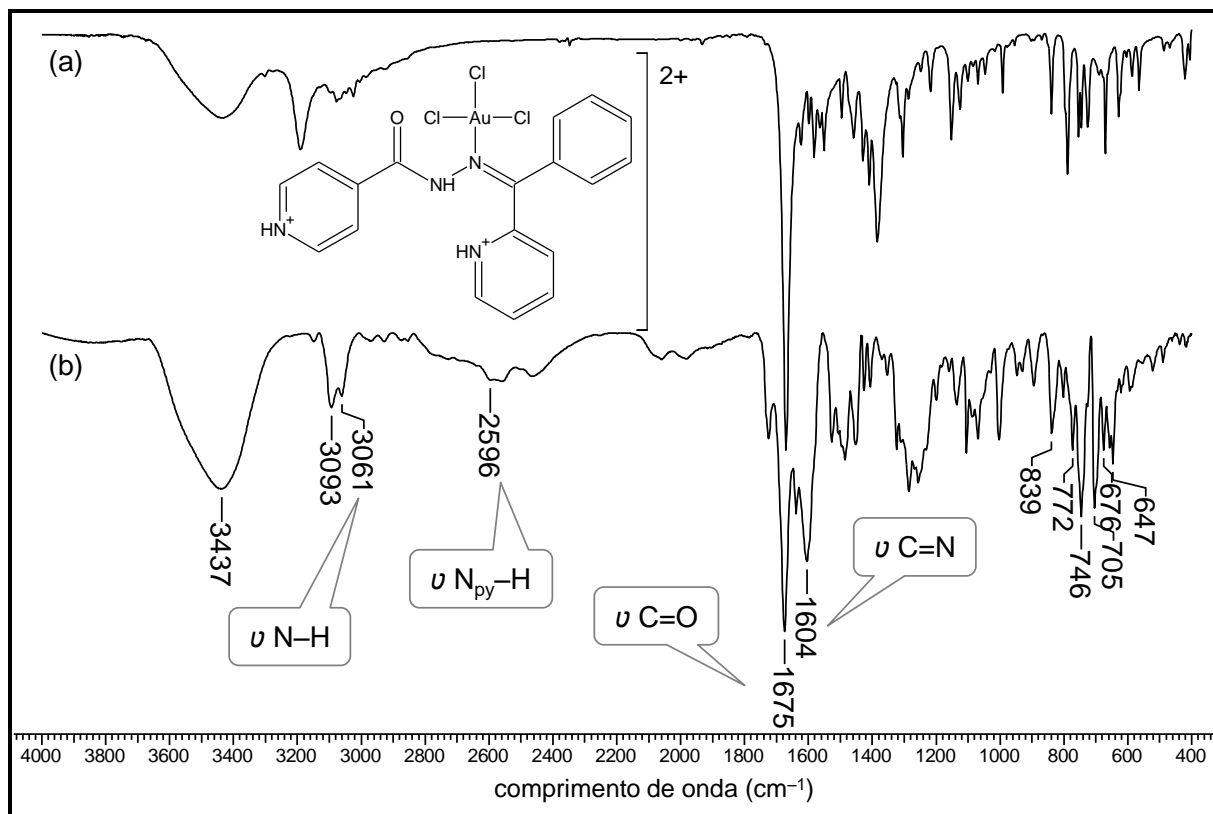
Figura 25 – Espectros no IV de **C01** obtido em pastilha de KBr



Legenda: Faixa de 4000–525  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L01** e (b) complexo **C01** ( $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Contra-íons e moléculas de água foram omitidos.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 26 – Espectros no IV de **C03** obtido em pastilha de KBr

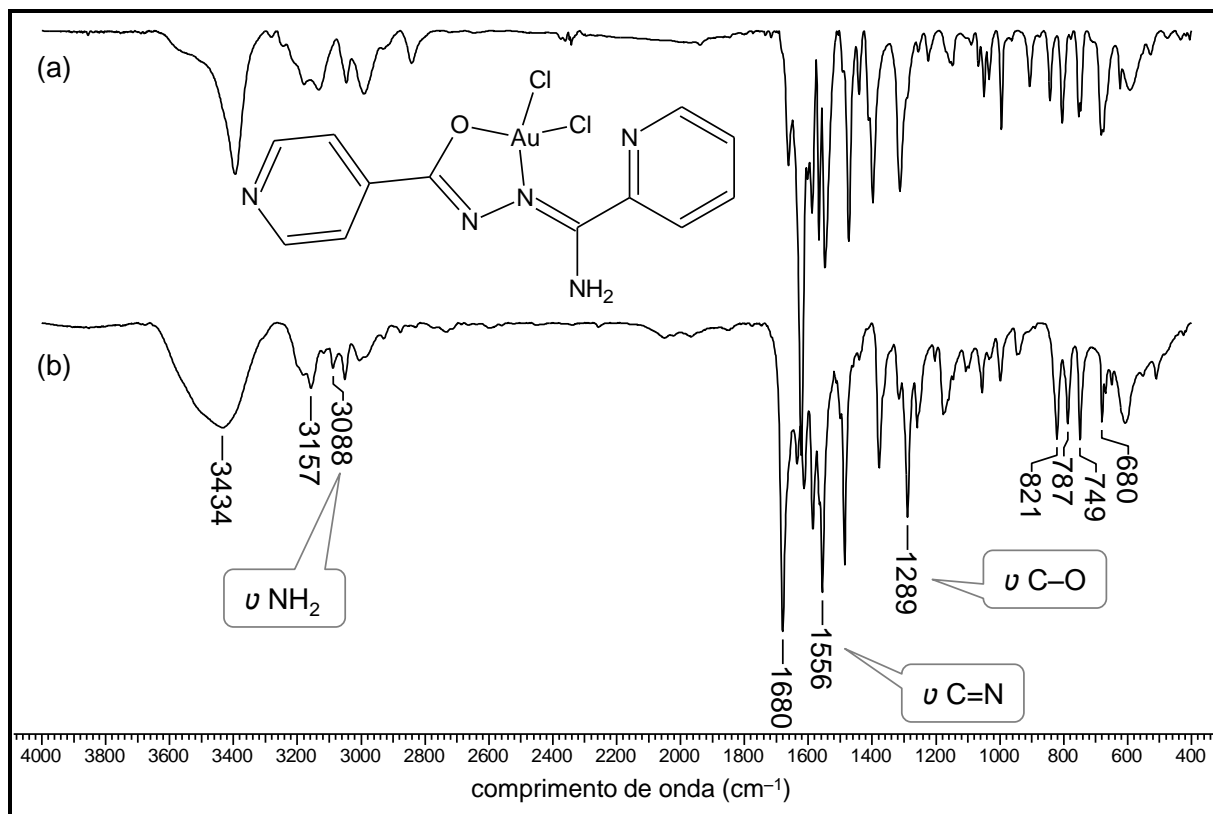


Legenda: Faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L03** e (b) complexo **C03** ( $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Contra-íons e moléculas de água foram omitidos.

Fonte: A Autora, 2019.

Para **C04**, ocorre o desaparecimento da banda de absorção  $\nu(\text{C}=\text{O})$  da respectiva hidrazona **L04** livre em  $1622 \text{ cm}^{-1}$  e o surgimento de uma banda intensa em  $1289 \text{ cm}^{-1}$  sugerindo que ao coordenar-se ao ouro(III) o ligante **L04** está na forma de enolato (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005) (Figura 27).

A absorção encontrada entre  $1545\text{--}1552 \text{ cm}^{-1}$ , atribuída à  $\nu(\text{C}=\text{N})$  nos espectros dos ligantes livres, deslocam-se para  $1532\text{--}1604 \text{ cm}^{-1}$  nos complexos, sugerindo que em todos compostos a coordenação ocorreu pelo nitrogênio azometínico (N2) (ARMSTRONG et al., 2003; KANTHECHA et al., 2018; YOUSIF et al., 2017; ZOU et al., 2015).

Figura 27 – Espectros no IV de **C04** obtido em pastilha de KBr

Legenda: Faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L04** e (b) complexo **C04** ( $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$ ). Os contra-íons e moléculas de metanol foram omitidas.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 5 – Principais bandas nos espectros no IV ( $\text{cm}^{-1}$ ) de **C01**, **C03** e **C04** obtidos em pastilha de KBr na faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$

Composto	$\nu \text{NH}_2$	$\nu \text{N}_{\text{py}}\text{-H}$	$\nu \text{N-H}$	$\nu \text{C=O}$	$\nu \text{C=N}$	$\nu \text{C-O}$	$\gamma(\text{py})$	$\beta(\text{py})$	$\rho(\text{py})$
<b>L01</b>	-	-	3134	1660	1547	-	845	754	621
<b>C01</b>	-	2486	3091	1664	1532	-	828	779; 751	656
<b>L03</b>	-	-	3062	1670	1551	-	839; 788	754; 745	656
<b>C03</b>	-	2596	3066	1665	1604	-	839; 772	746; 705	647
<b>L04</b>	3392 ( $\nu_a$ ), 3132 ( $\nu_s$ )	-	3047	1621	1548	-	843; 805	753	679
<b>C04</b>	3158 ( $\nu_a$ ), 3088 ( $\nu_s$ )	-	-	-	1555	1289	821; 787	749; 680	667

Legenda: N-acil hidrazonas **L01**, **L03** e **L04** e seus respectivos complexos de ouro(III)  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – **C01**,  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpil})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – **C03** e  $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  – **C04**.

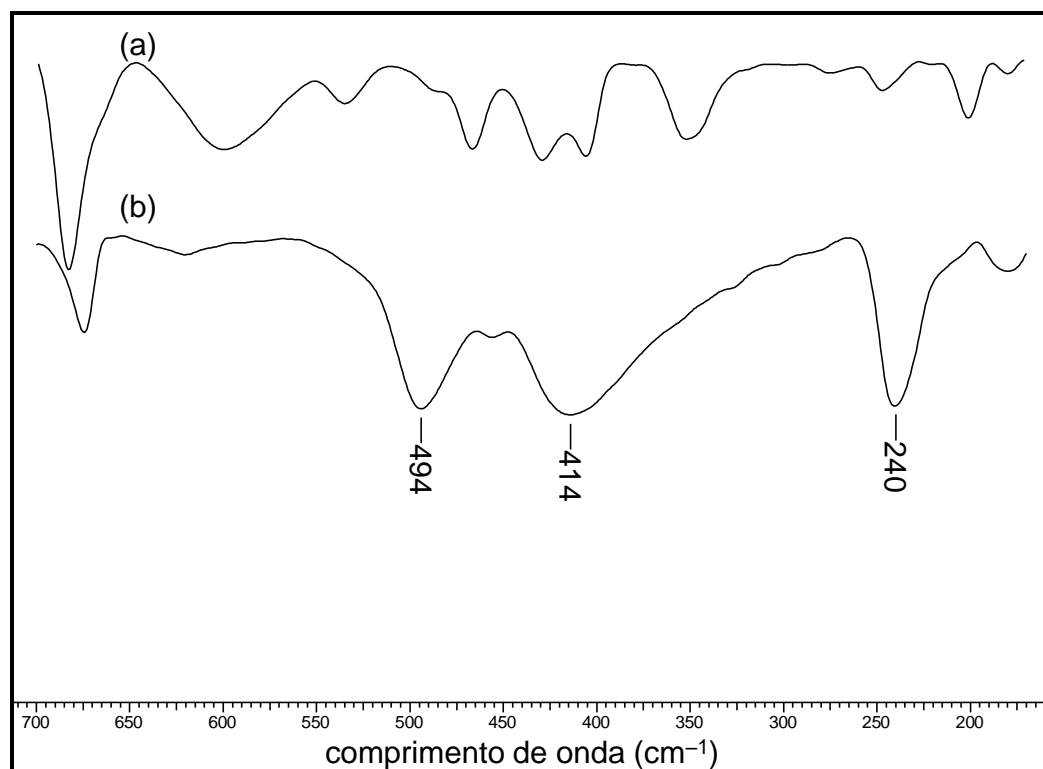
Fonte: A Autora, 2019.

Na Tabela 6 estão as atribuições às principais bandas encontradas nos espectros de IV dos complexos de ouro(III) na região do IV distante na faixa de 400–170  $\text{cm}^{-1}$ .

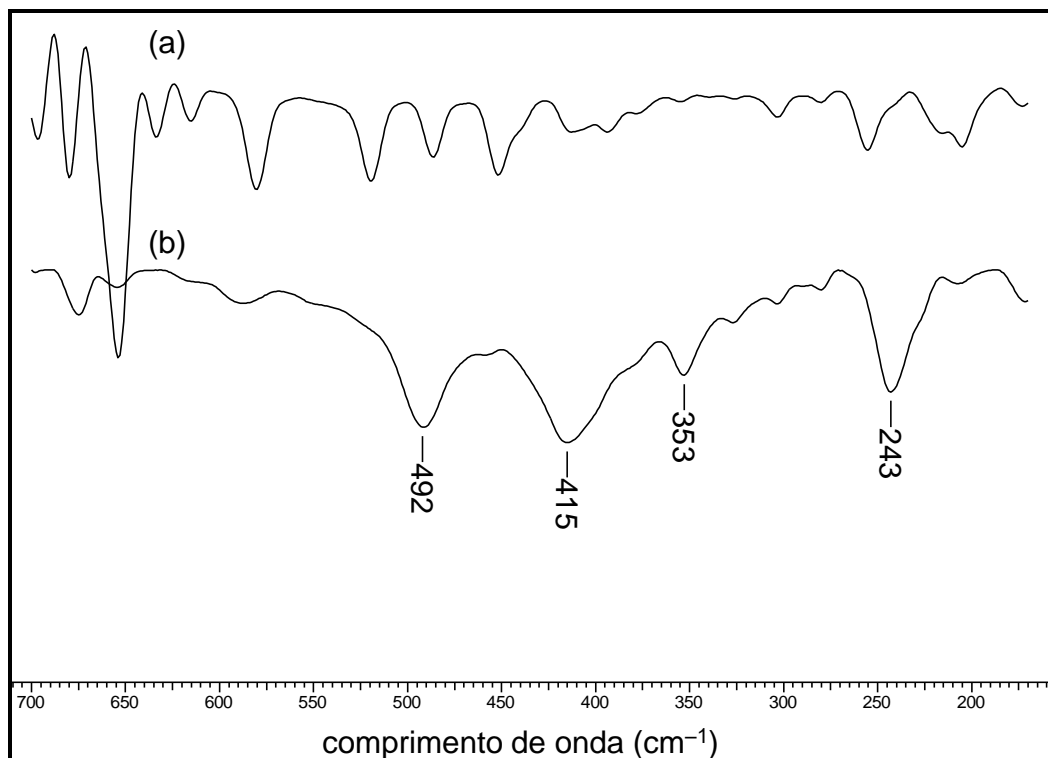
Absorções observadas na região de 240–285  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas a vibração característica de ligação  $\nu(\text{Au-N})$  (CASAS; CASTELLANO; TABOADA, 2006; LESSA et al., 2011). Todos os espectros apresentaram uma banda forte em 492–511  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, caracterizam vibrações do tipo  $\nu(\text{Au-Cl})$  *trans* ao nitrogênio (N2) do grupamento azo (GARZA-ORTIZ et al., 2007; VICENTE; CHICOTE, 1982). As bandas referentes às demais ligações Au-Cl são intensas e encontram-se na faixa de 414–474  $\text{cm}^{-1}$  (VICENTE; CHICOTE, 1982). Uma banda adicional é encontrada em 197  $\text{cm}^{-1}$  no espectro do composto **C04** e caracteriza vibração da ligação Au-O (GARZA-ORTIZ et al., 2007). Tais resultados corroboram com as propostas estruturais de coordenação do ouro(III) às hidrazonas pelo N(2) nos complexos **C01** e **C03**, além da coordenação pelo átomo de oxigênio em **C04**.

Nas Figuras 28 – 30 estão os espectros de IV na região de 400–170  $\text{cm}^{-1}$  dos complexos de ouro(III) com as hidrazonas **L01**, **L03** e **L04**, respectivamente.

Figura 28 – Espectros no IV de **C01** obtido em pastilha de CsI

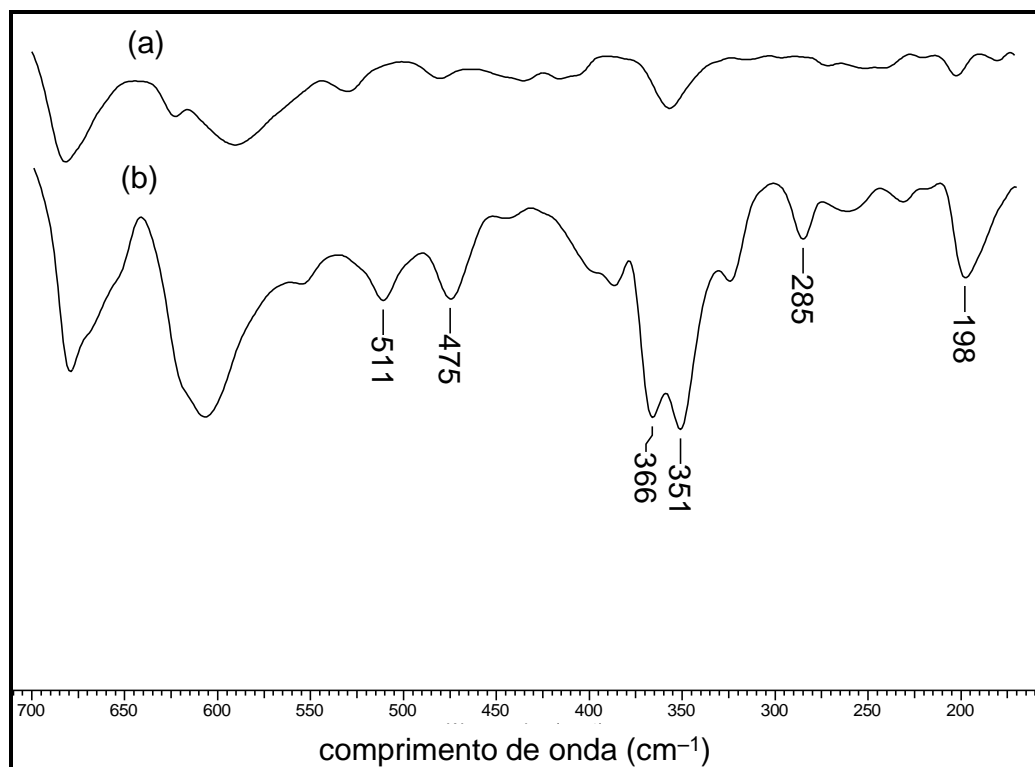


Legenda: Faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L01** e (b) do complexo **C01**.  
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 29 – Espectros no IV de **C03** obtido em pastilha de CsI

Legenda: Faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L03** e (b) do complexo **C03**.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 30 – Espectros no IV de **C04** obtido em pastilha de CsI

Legenda: Faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ . (a) **L04** e (b) de seu complexo **C04**.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 6 – Principais bandas nos espectros no IV ( $\text{cm}^{-1}$ ) de **C01**, **C03** e **C04**, obtidos em pastilhas de CsI na faixa de  $400\text{--}170\text{ cm}^{-1}$

Compostos	$\nu(\text{Au-O})$	$\nu(\text{Au-N})$	$\nu(\text{Au-Cl})$	$\nu(\text{Au-Cl})_{\text{trans}}$
<b>C01</b>		240	414	494
<b>C03</b>		243	415	492
<b>C04</b>	197	285	474	511

Legenda:  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – **C01**,  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – **C03** e  $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  – **C04**.

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.1.2.3 Espectrometria de massas

Os complexos **C01**, **C03** e **C04** foram caracterizados por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-MS) em metanol/água (1:1) nos modos positivos e negativo. Foram identificados picos com relação massa/carga ( $m/z$ ) e perfil isotópico referente ao ouro(III) coordenado à N-acil hidrazonas para **C01** e **C04**. Tal resultado é um forte indicativo de que em solução metanol/água ocorre a perda dos ligantes cloro e se mantém a coordenação do ouro(III) às N-acil hidrazonas.

Para **C03**, foram identificados fragmentos com baixa intensidade relativa (IR, %) e perfil isotópico característico da presença de um ligante cloro e um ligante **L03** coordenados ao ouro(I); isso sugere que ocorreu redução do ouro(III). Os principais fragmentos encontram-se na Tabela 7, nela temos  $m/z$  teórico calculado a partir do programa Mmass 5.5.0 e o resultado experimental, a intensidade relativa de cada pico e suas atribuições. Nas Figuras 31–33 estão os espectros de massas de **C01**, **C03** e **C04**, respectivamente.

Tabela 7 – Principais fragmentos detectados por ESI-MS para **C01**, **C03** e **C04**

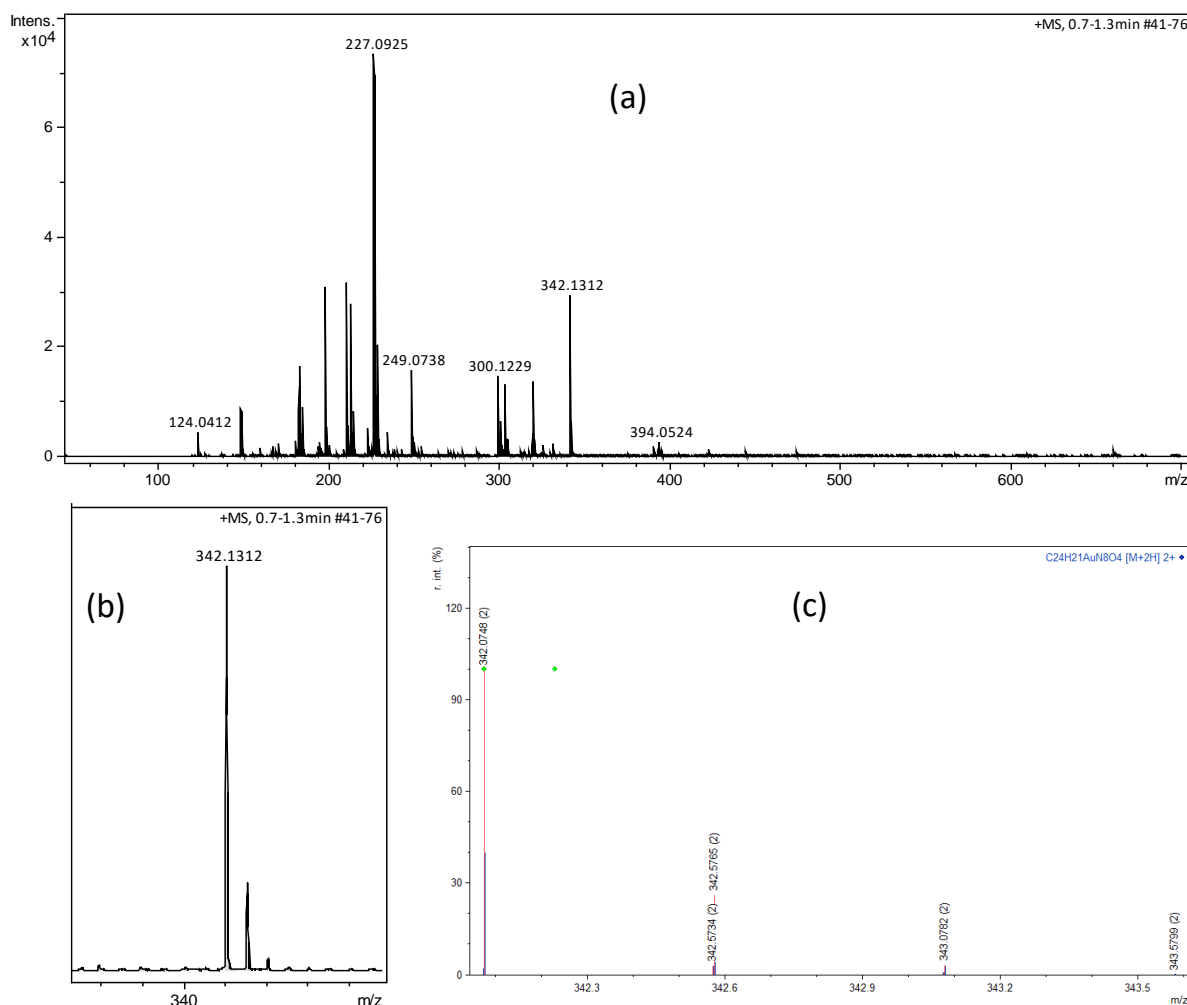
Composto	$m/z$ experimental	$m/z$ teórico	IR* do íon molecular	Atribuição
<b>C01</b>	342	342	40	$[\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{AuN}_8\text{O}_4]^{2+}$
<b>C03</b>	535	535	2	$[\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{AuClN}_4\text{O}]^+$
<b>C04</b>	536	536	100	$[\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{AuN}_{15}\text{O}_{10}]^{2+}$

Legenda: \*IR = Intensidade Relativa, em %.

Fonte: A Autora, 2019.



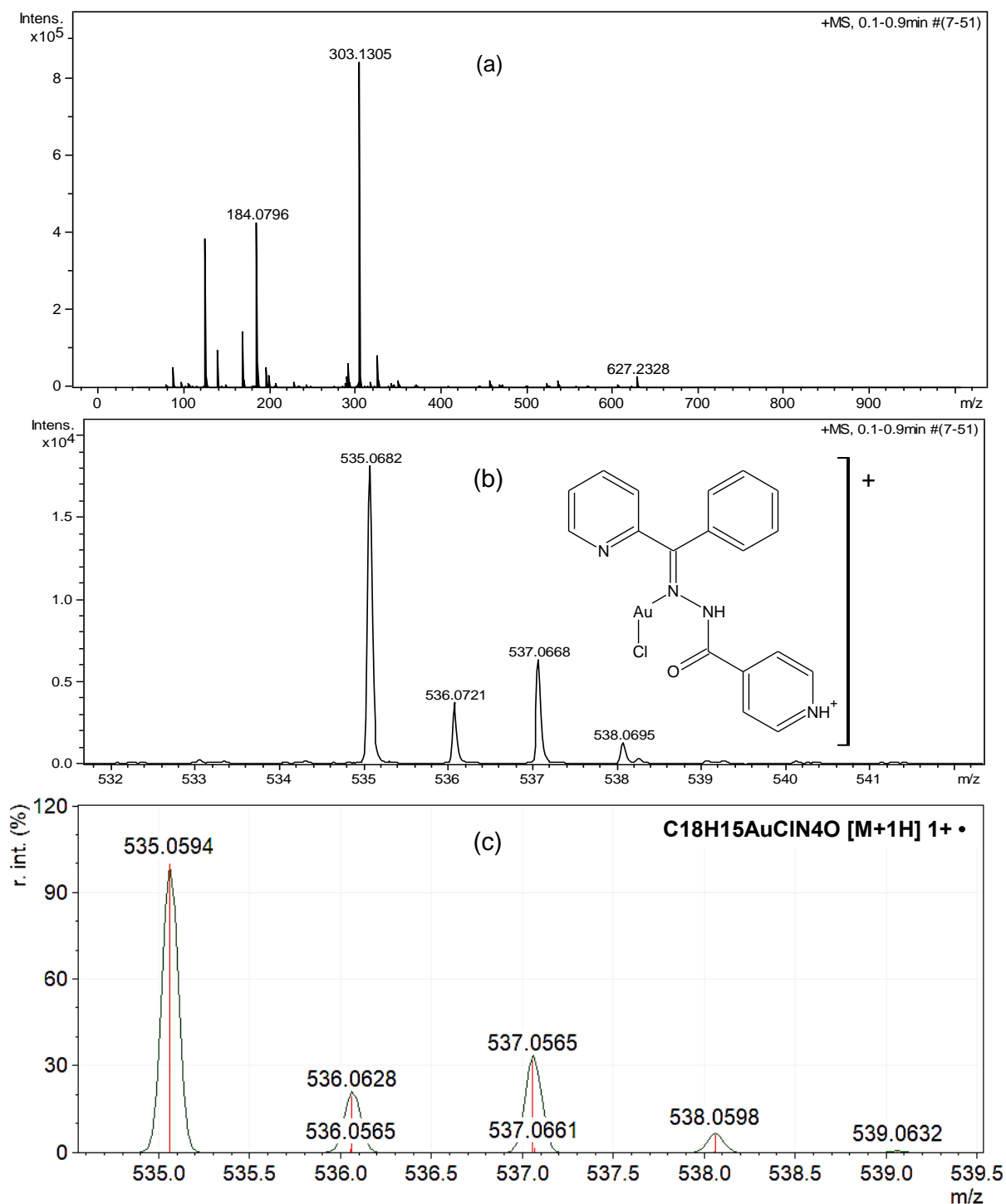
Figura 31 – Espectro de massas do complexo **C01** obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo



Legenda: (a) Espectro experimental de massas de **C01** (modo positivo) em metanol/água (1:1); (b) ampliação do pico de relação m/z 342 e (c) espectro calculado para o fragmento  $[C_{24}H_{23}AuN_8O_4]^{2+}$ .

Fonte: A Autora, 2019.

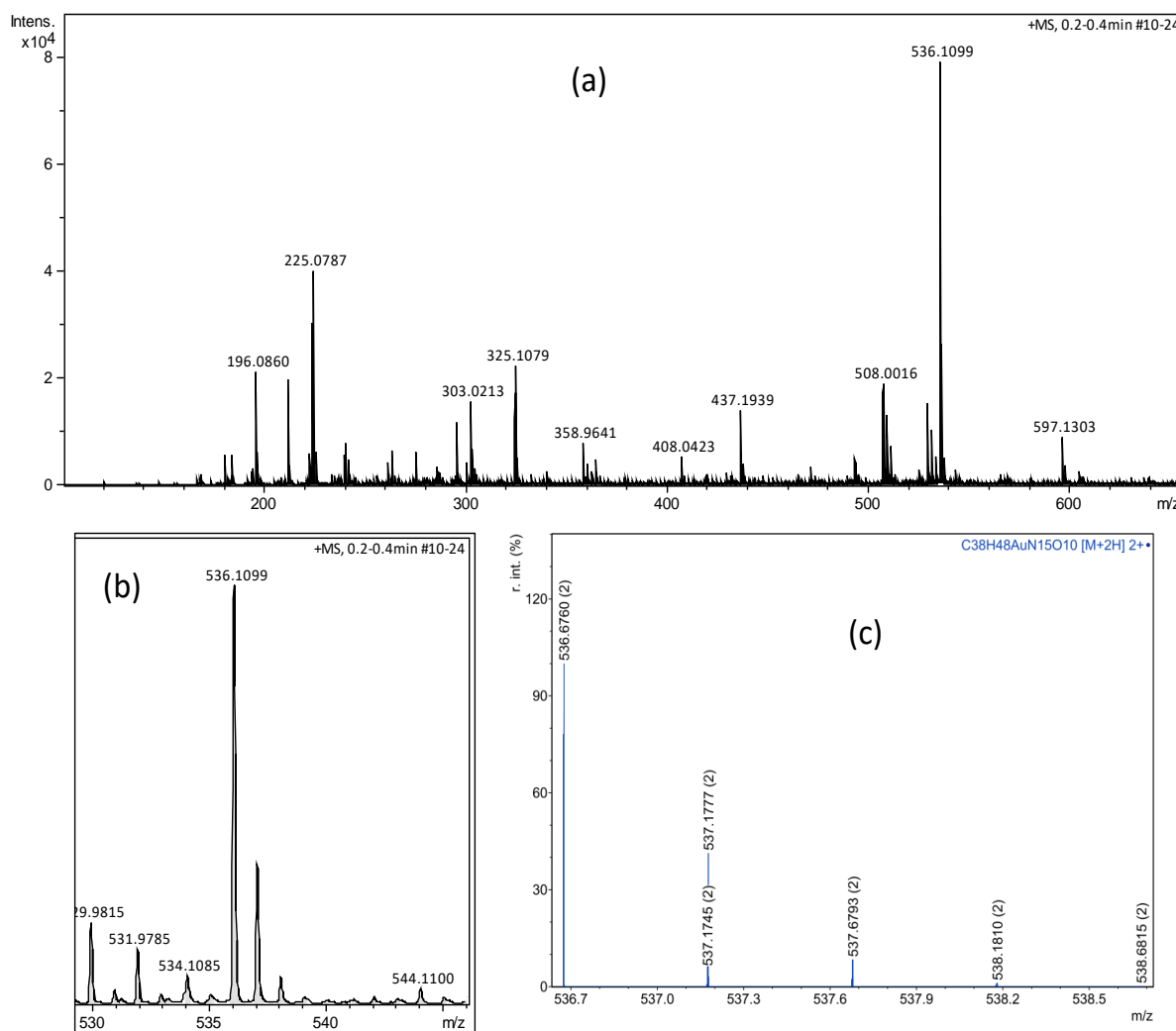
Figura 32 – Espectro de massas do complexo **C03** obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo



Legenda: (a) Espectro experimental de massas de **C03** (modo positivo) em metanol/água (1:1); (b) ampliação do pico de relação  $m/z$  535 e (c) espectro calculado para o fragmento  $[C_{18}H_{15}AuClN_4O]^+$ .

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 33 – Espectro de massas do complexo **C04** obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo



Legenda: (a) Espectro experimental de massas de **C04** (modo positivo) em metanol/água (1:1); (b) ampliação do pico de relação m/z 536 e (c) espectro calculado para o fragmento  $[C_{38}H_{49}AuN_{15}O_{10}]^{2+}$ .

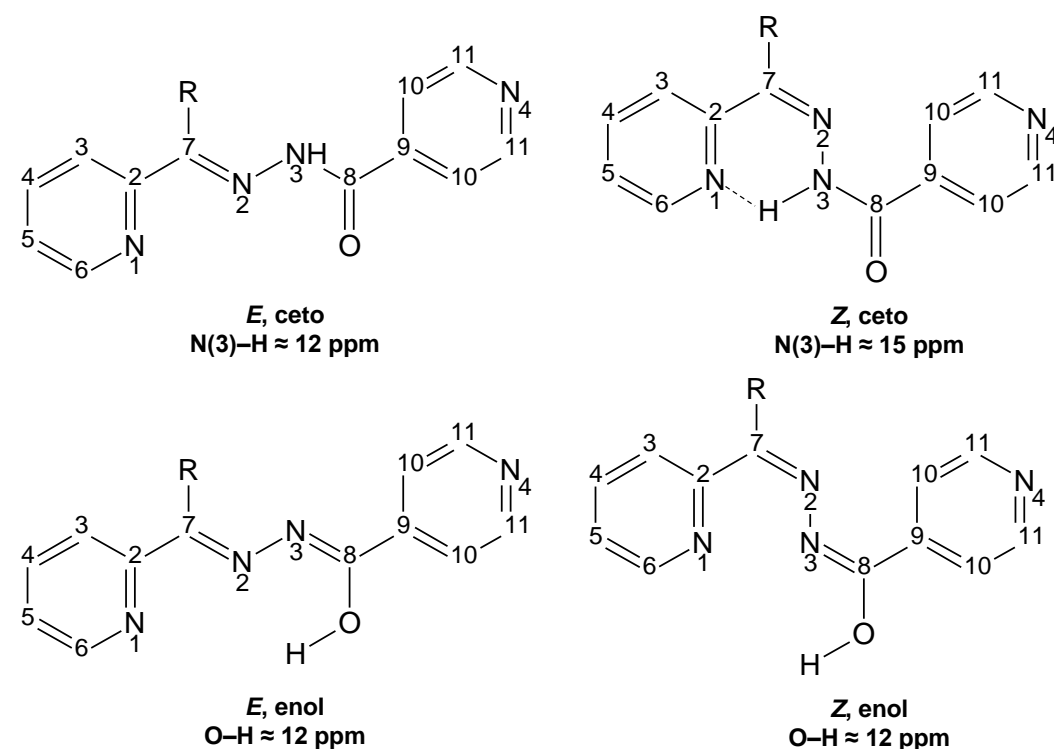
Fonte: A Autora, 2019.

#### 5.1.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os compostos  $[Au(H_3pcih)Cl_3]Cl_2 \cdot 2H_2O$  (**C01**),  $[Au(H_3bpih)Cl_3]Cl_2 \cdot 2H_2O$  (**C03**) e  $[Au(pamih)Cl_2] \cdot \frac{1}{2} CH_3OH$  (**C04**) foram caracterizados por espectroscopia de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  em  $DMSO-d_6$ . Para o complexo **C03**, foi obtido apenas espectro de RMN de  $^1H$  devido a sua baixa solubilidade em  $DMSO-d_6$ . Nas Tabelas 8 e 9 estão as atribuições dos principais sinais detectados nos espectros de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  em  $DMSO-d_6$  para complexos e suas hidrazonas quando livres.

Nos espectros de RMN das hidrazonas livres, ficam evidentes dois ou três conjuntos de sinais, proporcionais entre si e característicos da presença de uma mistura de confôrmeros<sup>11</sup>. Em solução, é possível encontrar em equilíbrio, as espécies apresentadas na Figura 34. Todos os espectros de RMN das hidrazonas são apresentados nos Apêndices A–D e os dados espectroscópicos estão descritos na Seção 5.1.1.

Figura 34 – Estruturas numeradas dos possíveis isômeros de **L01–L04** em solução



Legenda: Grupos R das hidrazonas, respectivamente: H (**L01**), C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (**L03**) e NH<sub>2</sub> (**L04**).  
Fonte: A Autora, 2019.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H **L01** (Apêndice A, Figura A3) são observados três conjuntos de sinais que evidenciam a presença de um isômero A (presente em 64 %), um isômero B (cerca de 15 %) e um isômero C (próximo de 21 %). O sinal em 12,25 ppm pode ser atribuído aos isômeros A e B por apresentar sobreposição característica de: N(3)–H de uma espécie de configuração *E-ceto*, ao O–H em uma espécie tautômero *E-enol* ou ainda ao O–H em um tautômero *Z-enol*; tais sinais ocorrem em regiões próximas (DESPAIGNE, 2012). O isômero C trata-se de uma

<sup>11</sup> O comportamento das hidrazonas em solução foi amplamente por nosso grupo em outros trabalhos (FIRMINO, 2015; AMIM et al., 2016)

espécie de configuração *Z*, caracterizada pelo sinal de N(3)–H em 15,74 ppm. O maior deslocamento químico deste hidrogênio nos isômeros *Z* em relação ao mesmo nos isômeros *E* pode ser explicado pela interação intramolecular que existe entre o hidrogênio do grupo N(3)–H com o nitrogênio da *orto*-piridina, o que torna o hidrogênio da configuração *Z* mais desblindado em relação ao isômero na configuração *E-enol* (PARRILHA, 2012).

A existência dos três isômeros para **L01** é confirmada pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Apêndice A, Figura A4). Os sinais de C(8) entre 157,7 e 170,3 ppm são característicos das espécies *ceto* e *enol*. Dos três sinais observados, um deles encontra-se mais desblindado (168,04 ppm) e corresponde ao carbono no grupo C=O da forma *ceto*, enquanto que os outros dois sinais mais blindados correspondem ao carbono no grupo C–O da forma *enol*. Como há um único isômero *ceto*, este só pode corresponder à forma *Z*, conforme observado anteriormente no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . Portanto, o sinal C(8)=O que encontra-se em 168,04 ppm (tautômero *Z-ceto*) é atribuído ao isômero C. Os outros dois sinais são portanto referentes a isômeros *E-enol* e *Z-enol*. Para o isômero A, o sinal atribuído ao C(8)–O é o mais intenso em 161,89 ppm, e sendo este o isômero majoritário, deve apresentar-se na configuração *E* que é a configuração termodinamicamente mais favorável. Portanto, o isômero A está na forma de *E-enol*. O outro tautômero, *Z-enol*, seria o isômero B, com o deslocamento químico tribuído a C(8)–O em 161,48 ppm.

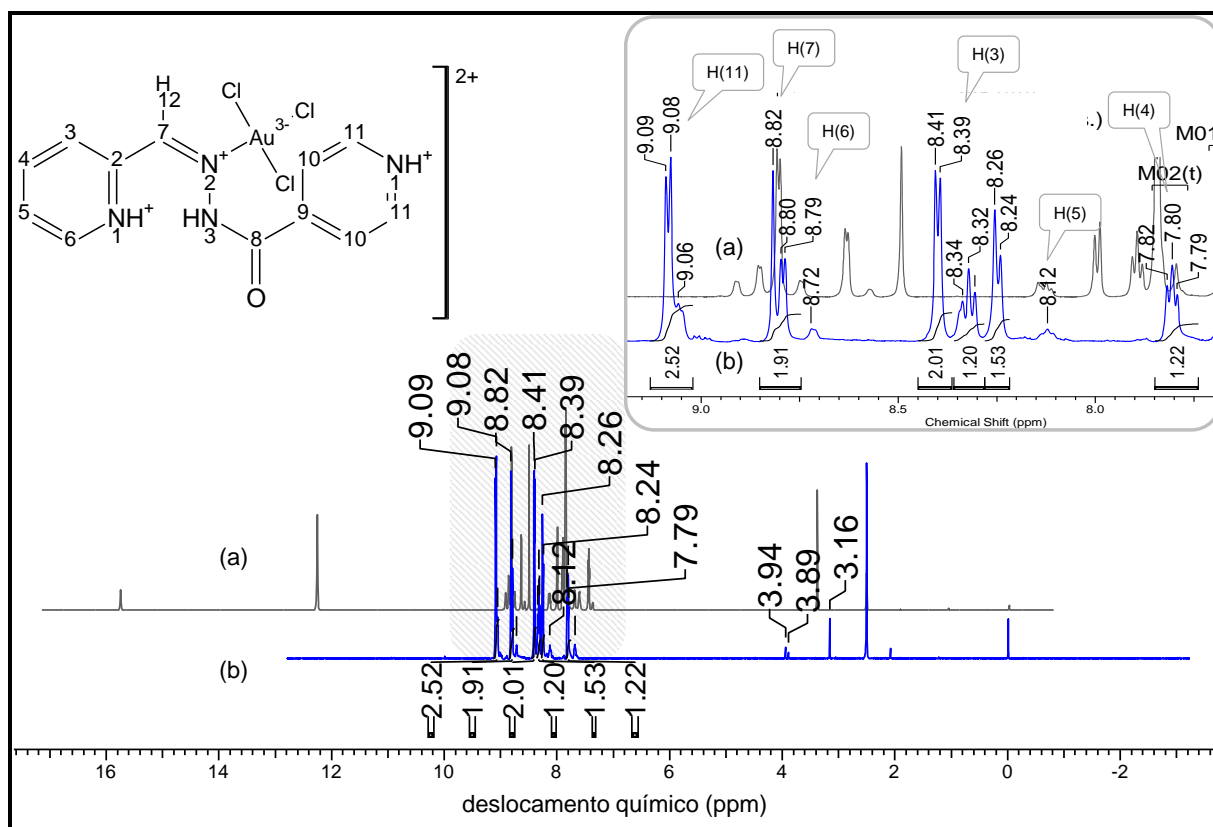
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **C01** evidenciam a mudança no ambiente químico resultante de uma possível coordenação do ligante ao ouro(III). Sinais antes encontrados em 7,42–8,91 ppm no espectro de  $^1\text{H}$  de **L01** encontram-se deslocados para 7,68–9,09 ppm no espectro do complexo **C01**. Não foram encontrados sinais típicos dos demais isômeros encontrados para **L01**, sugerindo que possivelmente ao coordenar-se ao ouro(III), **L01** adota apenas uma configuração preferencial.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo **C01** temos deslocamentos de todos os sinais para valores significativamente diferentes dos encontrados para o ligante livre, sinalizando que o composto é estável em solução de DMSO- $d_6$ . O sinal do C(8) em 160,48 ppm (característico de C(8)–O) teve menor deslocamento químico do que na hidrazona **L01** livre (161,88 ppm), corroborando com a proposta de que não há coordenação pelo átomo de oxigênio da carbonila. O sinal referente ao carbono C(7) de **L01** em 149,20 ppm está deslocado para 145,47 ppm no complexo **C01**, tal

deslocamento pode ser considerado significativo o suficiente para sugerir que o íon ouro(III) pode estar coordenado pelo nitrogênio imínico N(2).

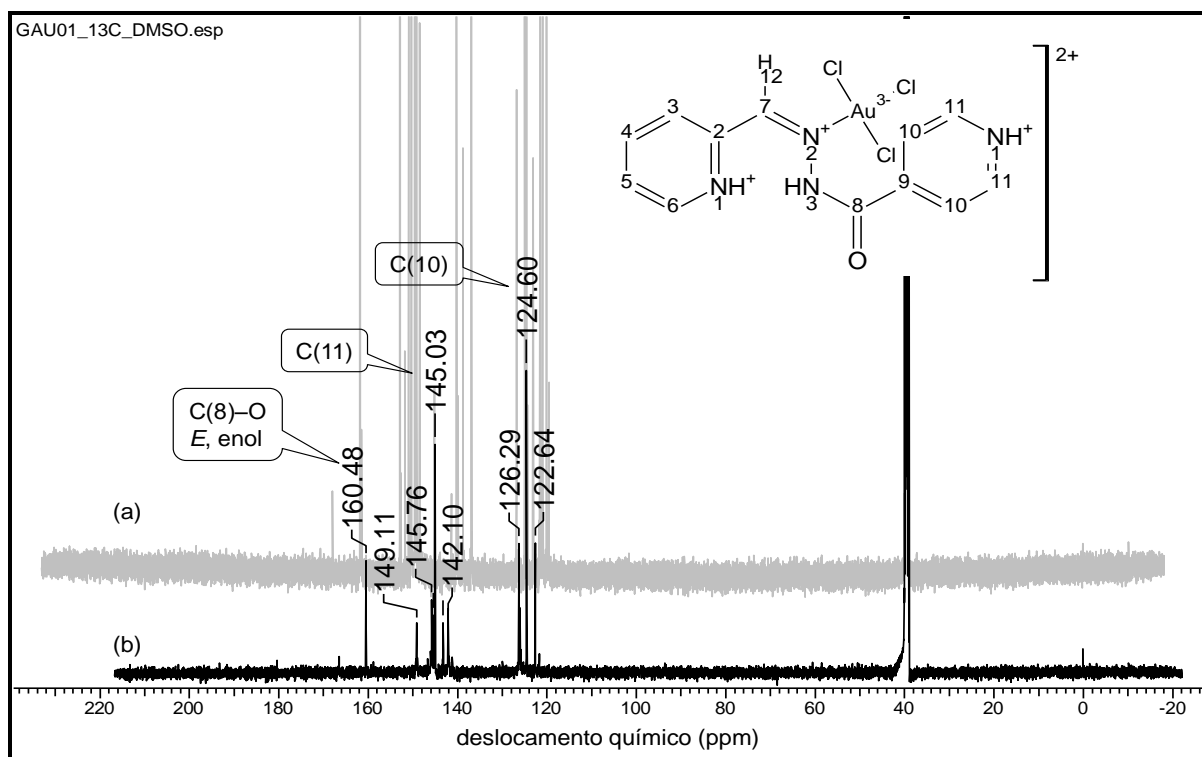
Nas Figuras 35 e 36 temos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (respectivamente) em  $\text{DMSO-}d_6$  do complexo **C01** e da hidrazona **L01** para fins de comparação. É importante ressaltar que nem todos os resultados espectrais foram obtidos em uma mesma janela. Para determinadas análises a janela do arquivo gerado durante a realização da técnica foi menor para o complexo do que para o ligante livre.

Figura 35 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C01** em  $\text{DMSO-}d_6$



Legenda: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (a) **L01** e (b) **C01**. Região hachurada ampliada.  
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 36 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **C01** em  $\text{DMSO-}d_6$



Legenda: Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (a) **L01** e de (b) **C01**.

Fonte: o autor, 2019.

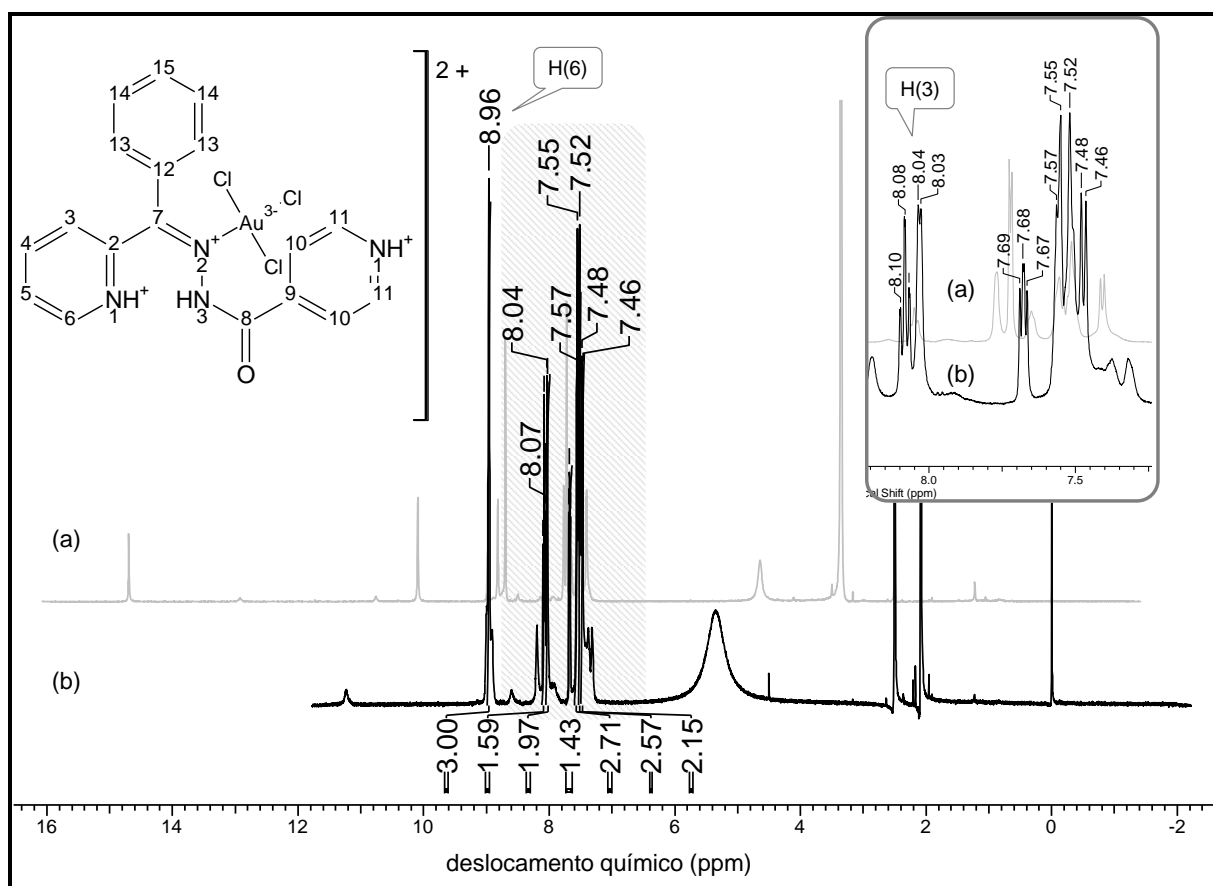
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L03** temos quatro conjuntos de sinais distintos. Dentre esses sinais, é possível identificar os sinais atribuídos aos hidrogênios pertencentes aos grupamentos  $\text{N}(3)\text{-H}$  e  $\text{O-H}$  das 4 conformações possíveis. Com deslocamentos de 10,09 ppm (42 % – isômero A), 14,69 ppm (28 % – isômero B), 12,91 ppm (20 % – isômero C) e 10,76 ppm (10 % – isômero D) (Apêndice C, Figura C3). Considerando os dois sinais de maior integração (10,09 e 14,69 ppm), temos em 14,69 ppm temos o sinal de  $\text{N}(3)\text{-H}$  do tautômero *ceto* na configuração *Z* (RAY et al., 2008). Nos sinais de 12,91 – 10,09 ppm, temos a possibilidade de tautômero *ceto* ou *enol*, sendo caracterizado pelo sinal de  $\text{N-H}$  (na configuração *E*) ou  $\text{O-H}$  (na configuração *E* ou *Z*). Não foi possível identificar cada um deles, então, consideraremos apenas o sinal majoritário em 10,09 ppm (isômero A).

Devido à baixa solubilidade de **L03** em  $\text{DMSO-}d_6$  a qualidade do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  fica comprometida por conta da baixa solubilidade do composto **L03** em  $\text{DMSO-}d_6$ , de forma que não foi possível observar os sinais de todos os carbonos. O sinal do carbono C(8) do *Z-ceto*, não foi observado em torno de 168 ppm. No entanto, foram observados sinais em 163,88 e 161,70 ppm, sugerindo o que já

estava indicado no espectro de  $^1\text{H}$ ; isto é, dois tautômeros *enol* em solução. Dessa forma, pode-se concluir que existem três isômeros em solução: *Z-ceto*, *E-enol* e *Z-enol*. No entanto, neste caso, tanto a forma *E-enol* quanto a forma *Z-enol* poderiam ser o isômero predominante, vez que o substituinte fenil, por ser volumoso, pode favorecer a configuração *Z*.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **C03** apresenta deslocamentos de todos os sinais na região compreendida entre 7,20–9,00 ppm quando comparado ao ligante livre (Hbpih, **L03**). Isto indica que o composto **C03** é produto da reação de complexação metal-ligante e que em solução, permaneceu estável. O sinal mais deslocado está em 11,23 ppm e pode caracterizar hidrogênio em grupo O–H em configurações *E/Z-enol* ou do N(3)–H em configuração *E-ceto* (Figura 37).

Figura 37 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C03** em  $\text{DMSO-}d_6$



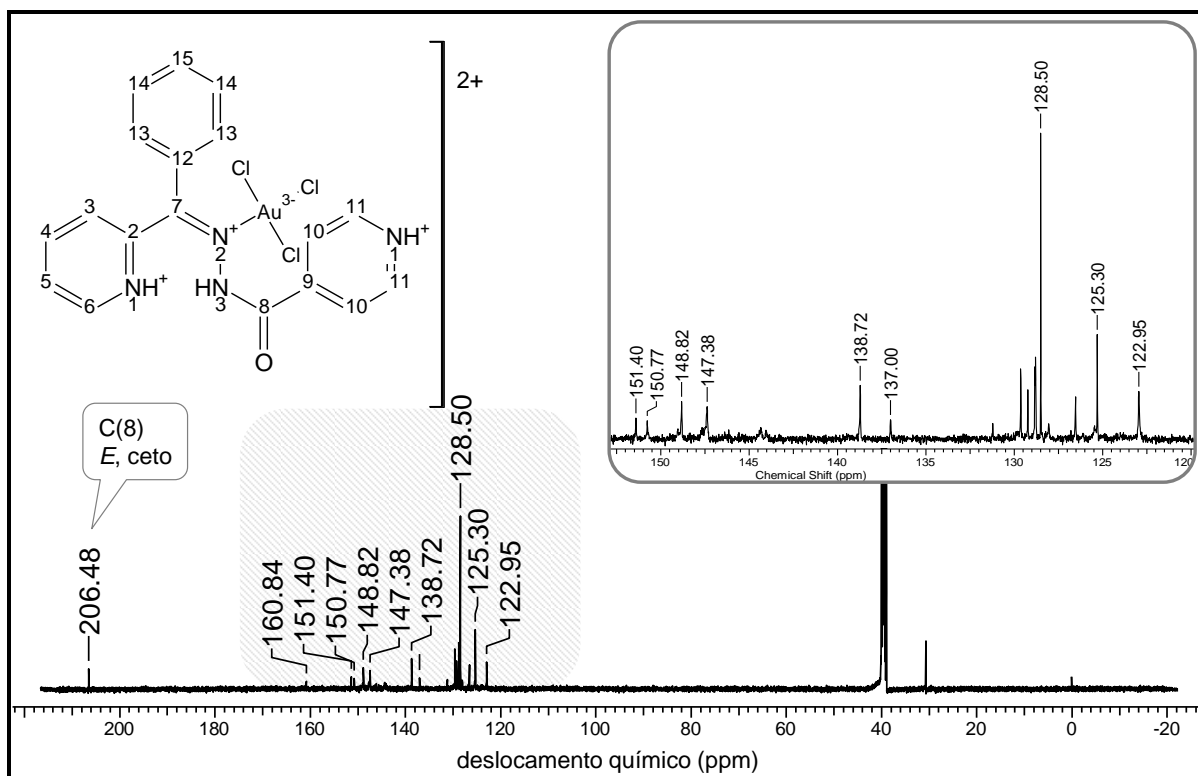
Legenda: Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de (a) **L03** e de (b) **C03**. Região hachurada ampliada.  
Fonte: A Autora, 2019.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 38) temos um sinal em 206,48 ppm característico de carbono C(8)=O, indicando que o ligante encontra-se coordenado



na forma *ceto* (DESPAIGNE, 2010). O sinal de C(7) desloca-se para 160,84 ppm (**L03** – 161,67 ppm), corroborando com a proposta de coordenação do ouro(III) ao ligante pelo N(2). Os sinais de C(2) e C(6) deslocam-se pouco quando comparados aos sinais do ligante livre, sugerindo não há coordenação de N(1) ao íon metálico e, descartando a possibilidade do mesmo ter sido protonado em solução. A esfera de coordenação de **C03** apresenta o ligante **L03** na forma *E-ceto* e coordenado pelo N(2) com possível protonação no N(4) (forma catiônica). Para completar a esfera de coordenação, temos dois ligantes *cloro* e dois cloretos como contra-íons. O comportamento de **C03** é similar ao de **C01** em solução. Isto indica que ocorre possivelmente ocorre algum tipo de troca no meio; um ligante cloro é liberado e o ouro(III) pode se coordenar ao ligante em mais um ponto. Também é notável que a não coordenação ao N(1) pode ser efeito do volume do substituinte R, que no caso da hidrazona **L03** trata-se de um substituinte fenila (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). De forma que ao considerarmos a configuração *E-ceto*, é esperó certo impedimento estérico devido o tamanho de tal grupo.

Figura 38 – Espectros de RMN de <sup>13</sup>C de **C03** em DMSO-d<sub>6</sub>



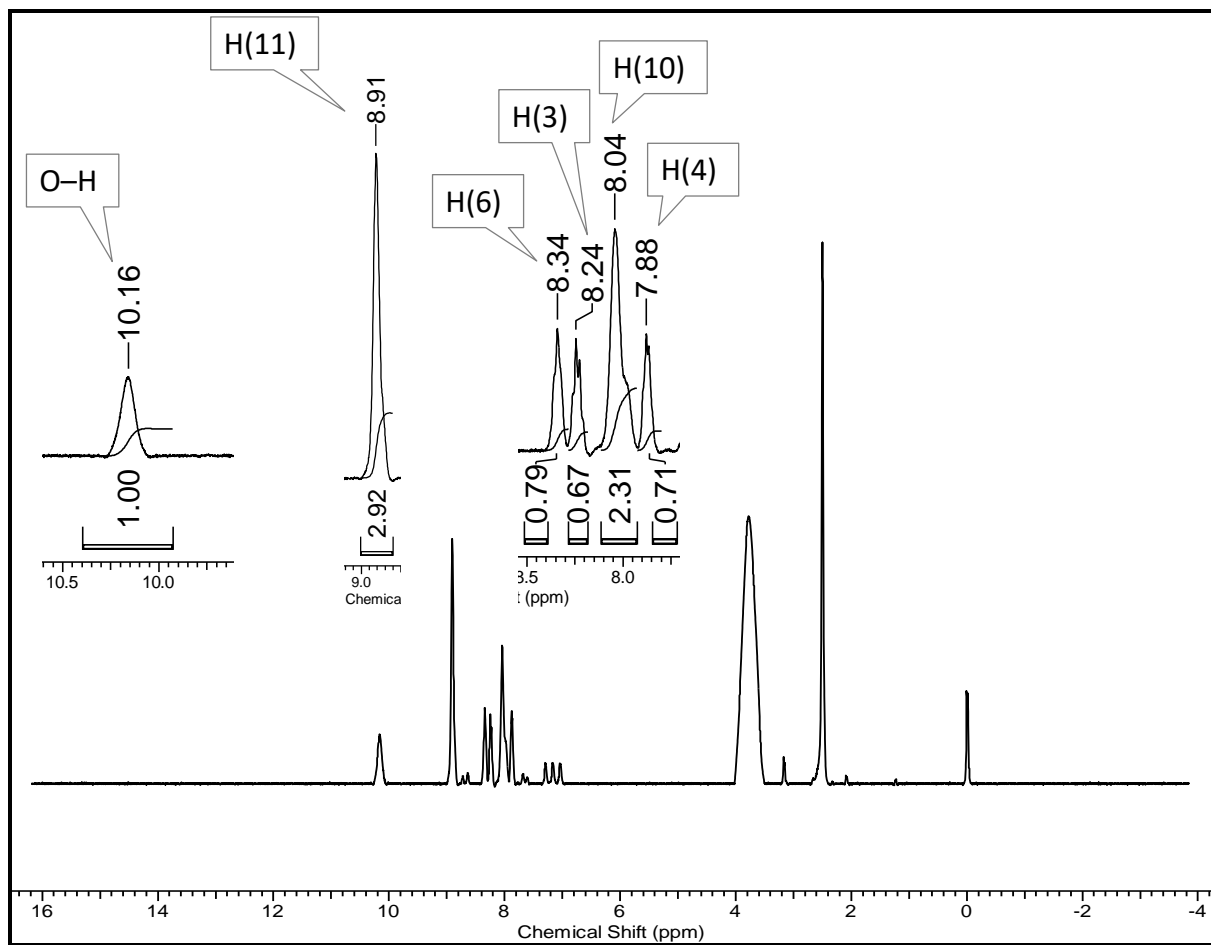
Legenda: ampliação da região hachurada.

Fonte: A Autora, 2019.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da hidrazona Hpamih (**L04**) (APÊNDICE C3 e C4), foram observados conjuntos de sinais correspondentes a uma mistura de dois isômeros em solução, sendo o isômero majoritário presente em cerca de 90%. Analisando o espectro de  $^1\text{H}$  temos que a variação máxima entre os sinais dos isômeros ( $\Delta\delta$ ) é observada para o próton presente em C(3)–H do anel *orto*-piridínico, cerca de 0,4 ppm. Para os demais átomos de hidrogênio dos anéis piridínicos a variação do deslocamento químico não ultrapassa 0,1 ppm, e para as aminas N(3)–H e N(5)H<sub>2</sub> o  $\Delta\delta$  é de 0,22 e 0,20 ppm respectivamente. As interações espaciais entre N(5)H<sub>2</sub> e H(3) e entre N(5)H<sub>2</sub> e N(3)–H para o isômero majoritário foram determinadas por NOESY. O resultado indica que o isômero principal adota configuração *E* em solução, enquanto o isômero secundário encontra-se na configuração *Z*. As diferentes configurações justificam as diferenças nos desvios químicos dos grupos C(3)–H e amina de ambos os isômeros. Outros trabalhos com hidrazonas relatam comportamento similar em solução e atribuem a duplicidade de sinais a mistura de isômeros configuracionais (AMIM, R. et al, 2014; GLUSHKOV, R. G. et al, 2004; KOVARIKOVA, P. et al, 2008). As principais atribuições feitas aos sinais no espectro  $^1\text{H}$  no RMN são apresentadas na Tabela 13.

Nos espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da hidrazona Hpamih (**L04**) (APÊNDICE C4) é possível observar dois sinais de C(8), sendo um correspondente a cada isômero. O sinal em 161,35 ppm é típico de C–O, característico do isômero *E-enol*. O sinal em 167,18 ppm, típico de C=O, é atribuído ao isômero *Z-ceto*. O sinal do carbono C(8) da forma *E-enol* é mais intenso do que o do isômero *ceto*; desta forma, o isômero *E-enol* pode ser considerado como sendo a espécie majoritária. Na Tabela 14 encontram-se os valores atribuídos aos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  para a hidrazona Hpamih (**4**).

Para o complexo **C04**, devido à baixa solubilidade do mesmo em DMSO e clorofórmio, foi possível obter apenas o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . Todos os sinais no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  encontram-se deslocado em comparação aos sinais observados no espectro de **L04**, comprovando a coordenação ao íon metálico. Interessante salientar que o sinal em 7,03 ppm referente aos hidrogênios do grupamento N(5)H<sub>2</sub> não aparece no espectro do complexo. Entretanto, devido a possíveis interações do tipo ligação de hidrogênio, é possível que tal sinal esteja deslocado e sobreposto em 3,79 ppm. Na Figura 39 temos o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **C04** em DMSO-*d*<sub>6</sub>.

Figura 39 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C04** em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 8 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^{\circ}$ ), multiplicidade (M)<sup>a</sup>, constantes de acoplamento<sup>b</sup> e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L01**, **L03** e **L04** e seus complexos **C01**, **C03** e **C04** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$n^{\circ}$	M	L01	M	C01	M	L03	M	C03	M	L04	M	C04
N(3)H	1	s		s			10,09						
N(5)H	2									s	7,03	s(sl)	3,79
OH	1	s	12,25	-		s	10,09	s	11,93	s	10,42	s(sl)	10,16
H(6)	1	d	8,63 (4,1)	d	8,79 (4,9)	d(sl)	8,98	d(sl)	8,96 (ND)	d(sl)	8,62	d	8,34 (4,9)
H(5)	1	t	7,43 (6,4)	t(sl)	8,12 (6,4)	t(sl)	7,65 (ND)	t	8,08 (ND)	t(sl)	7,51	ND	ND
H(4)	1	t	7,89 (7,6)	t(sl)	7,80 (ND)	t	8,02 (7,1)	t(sl)	8,19 (ND)	t(sl)	7,92	d(t)	7,88 (4,9)
H(3)	1	d	7,99 (7,7)	d	8,39 (5,9)	d	7,42 (7,8)	d	8,04 (4,7)	d	8,19 (7,4)	d	8,24 (ND)
H(10)	2	d	7,84 (4,8)	d	8,79 (ND)	dd	7,73-7,72 (4,4/ND)	dd	7,68 (7,3/5,1)	s(sl)	7,82	s(sl)	8,04
H(11)	2	s	8,80 (4,8)	d	9,08 (6,4)	d(sl)	8,70-8,69 (4,4/ND)	d(sl)	8,91	s(sl)	8,73	s(sl)	8,91
H(7)	1	s	8,49	s	8,82		7,77 (ND)						
H(13)	2			m		m	7,49 – 7,52	m	7,57 – 7,46 (ND)				
H(14)	2			m		m	7,49 – 7,52	m	7,57 – 7,46 (ND)				
H(15)	2			m		m	7,49 – 7,52	m	7,57 – 7,46 (ND)				

Legenda:  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C01**),  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpjh})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C03**) e  $[\text{Au}(\text{pamih})\text{Cl}_2] \cdot \frac{1}{2} \text{CH}_3\text{OH}$  (**C04**) em  $\text{DMSO-}d_6$ .  
<sup>a</sup>s = simpleto; d = duplete; t = tripleto; dd = duplo duplete; td = duplo duplete; sl = sinal largo. <sup>b</sup> As constantes de acoplamento, J (Hz), encontram-se entre parênteses.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 9 – Atribuições (A) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  para **L01** e **L03** e seus complexos **C01** e **C03** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$\delta$ (ppm)			
	L01	C01	L03	C03
<b>C(2)</b>	152,95	149,17	151,77	151,40
<b>C(3)</b>	120,08	122,64	126,49	128,50
<b>C(4)</b>	136,93	142,17	138,45	137,00
<b>C(5)</b>	124,64	126,29	125,16	125,30
<b>C(6)</b>	149,58	145,76	148,90	148,82
<b>C(7)</b>	149,20	145,47	161,67	160,84
<b>C(8)</b>	161,88	160,48	163,88	206,48
<b>C(9)</b>	140,23	143,24	140,26	138,72
<b>C(10)</b>	121,55	124,60	120,99	122,95
<b>C(11)</b>	150,37	145,03	150,22	150,77

Legenda:  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{pcih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C01**) e  $[\text{Au}(\text{H}_3\text{bpih})\text{Cl}_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**C03**).

Fonte: A Autora, 2019.

#### 5.1.2.5 Espectroscopia eletrônica (UV-visível)

Na Tabela 10 estão os  $\lambda_{\text{máximos}}$  (comprimentos de onda máximos) e seus respectivos  $\epsilon$  ( $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$ ) de todas as hidrazonas e de seus complexos de ouro(III).

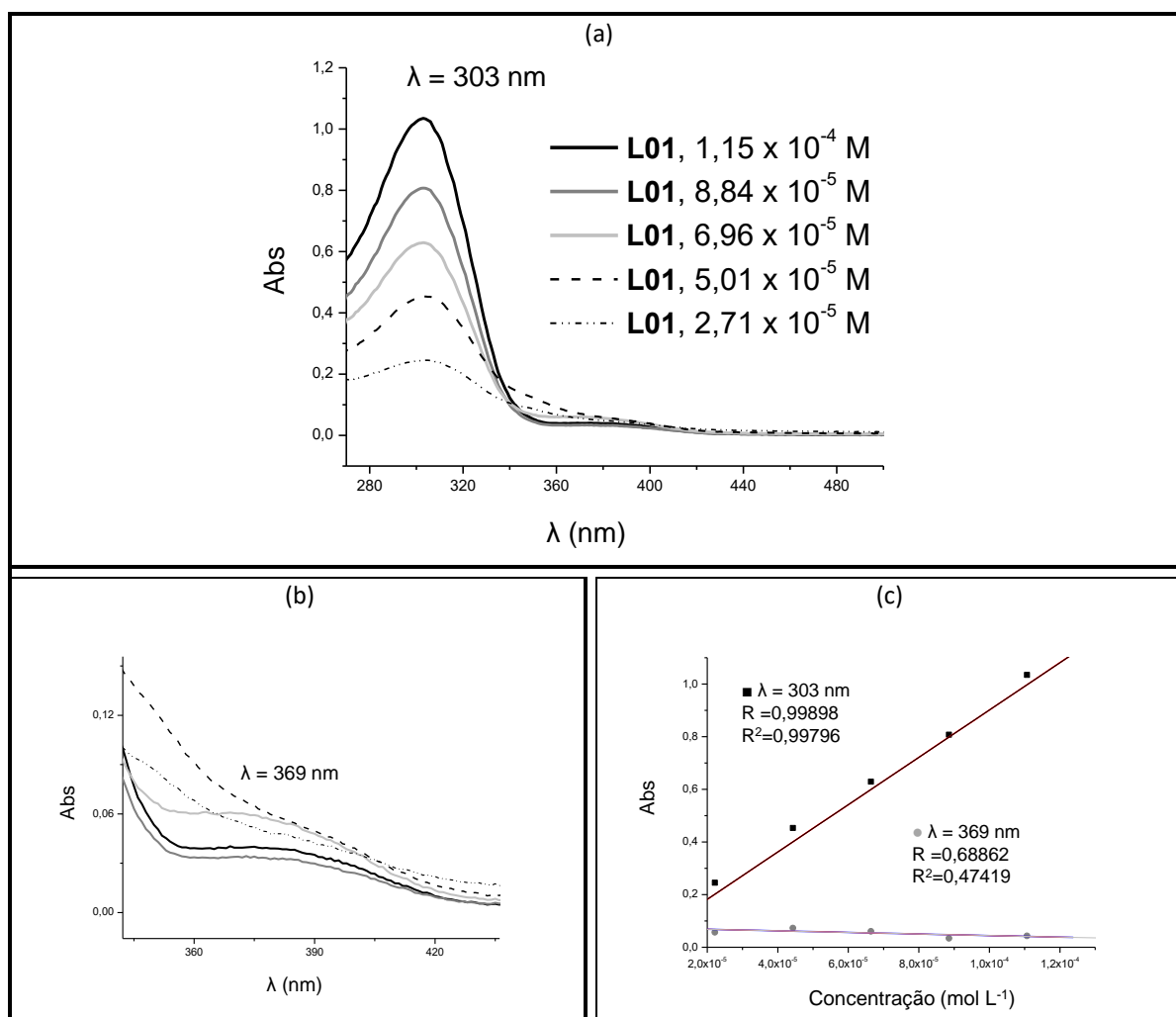
Nos espectros eletrônicos das hidrazonas **L01** e **L04** livres, encontramos dois  $\lambda_{\text{máximo}}$  sendo a banda mais intensa em 303 nm ( $\epsilon = 9,0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) para **L01** e em 324 nm ( $\epsilon = 4,8 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) para **L04**. A segunda banda encontra-se em 369 nm ( $\epsilon = 3,7 \times 10^2 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) para **L01** e em 400 nm ( $\epsilon = 8,8 \times 10^2 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) para **L04**. A hidrazona **L03** apresenta três bandas em 273, 324 e 401 nm ( $\epsilon = 3,9 \times 10^2$ ;  $4,0 \times 10^3$  e  $9,8 \times 10 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ), respectivamente. Sendo 273 nm a mais intensa.

Tais absorções podem ser atribuídas a transições do tipo  $n \rightarrow \pi^*$  realizadas por elétrons presentes nas ligações duplas, sejam elas na carbonila (C=O) ou no

grupo imínico (C=N) ambos encontrados nas estruturas dos três ligantes por se tratarem de hidrazonas derivadas de isoniazida. A hidrazona **L03** apresenta uma banda a mais que é característica das ligações dos grupos cromóforos C=C encontrados no anel aromático do grupo substituinte R=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, diferente das hidrazonas **L01** (R = H) e **L04** (R = NH<sub>2</sub>).

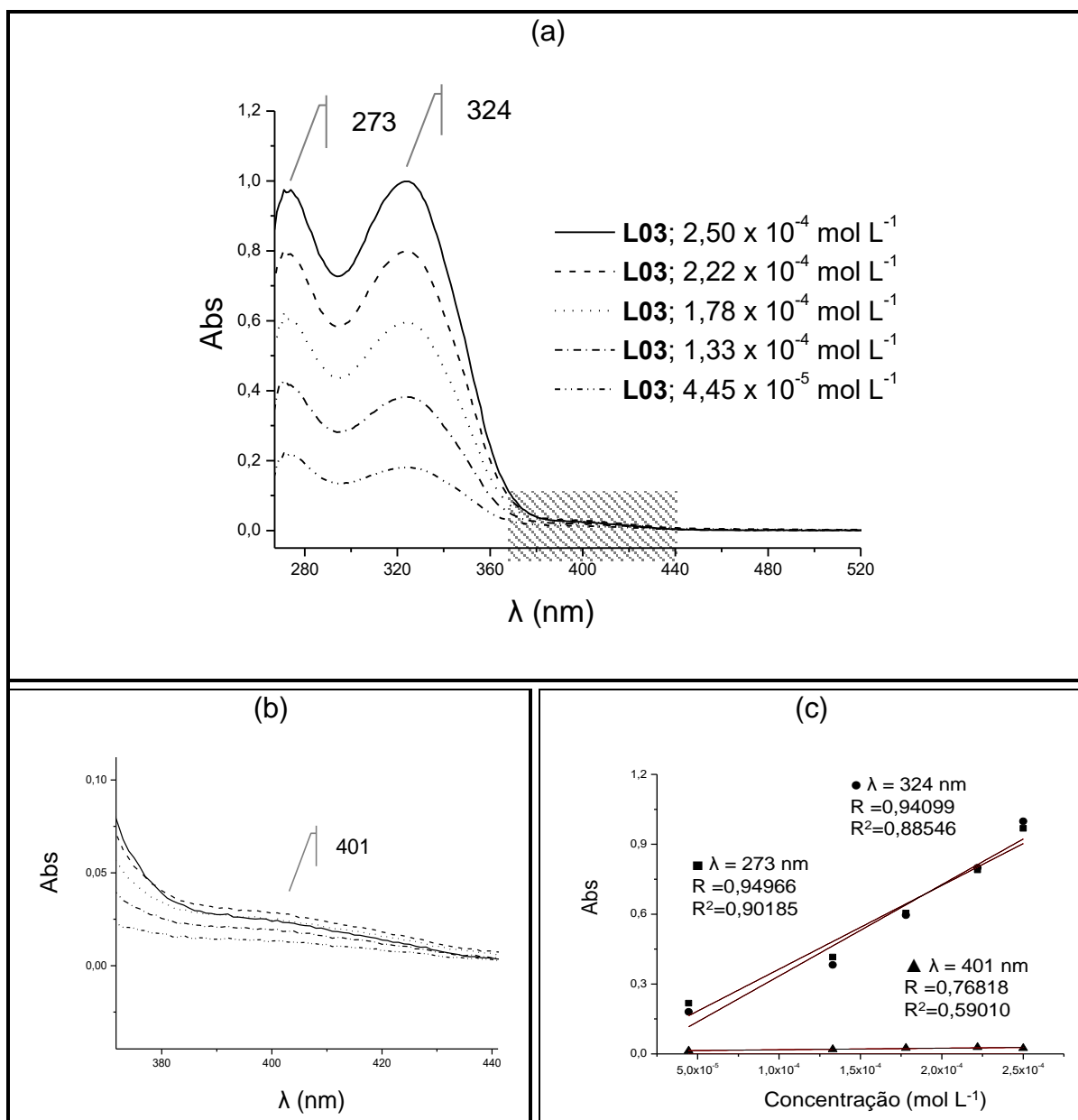
Os deslocamentos das bandas de **L03** e **L04** em relação à **L01** evidenciam a influencia dos grupos substituintes na estrutura de um modo geral. Para os dois  $\lambda$  máximos, temos deslocamentos batocrômicos; isto é, com a substituição de R por C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> e NH<sub>2</sub>, temos o deslocamento para um comprimento de onda maior (menor energia) que **L01** com R = H. Na Figura 40–42 temos os espectros de UV-visível para diferentes diluições de **L01**, **L03** e **L04** em DMF, respectivamente.

Figura 40 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L01** em DMF



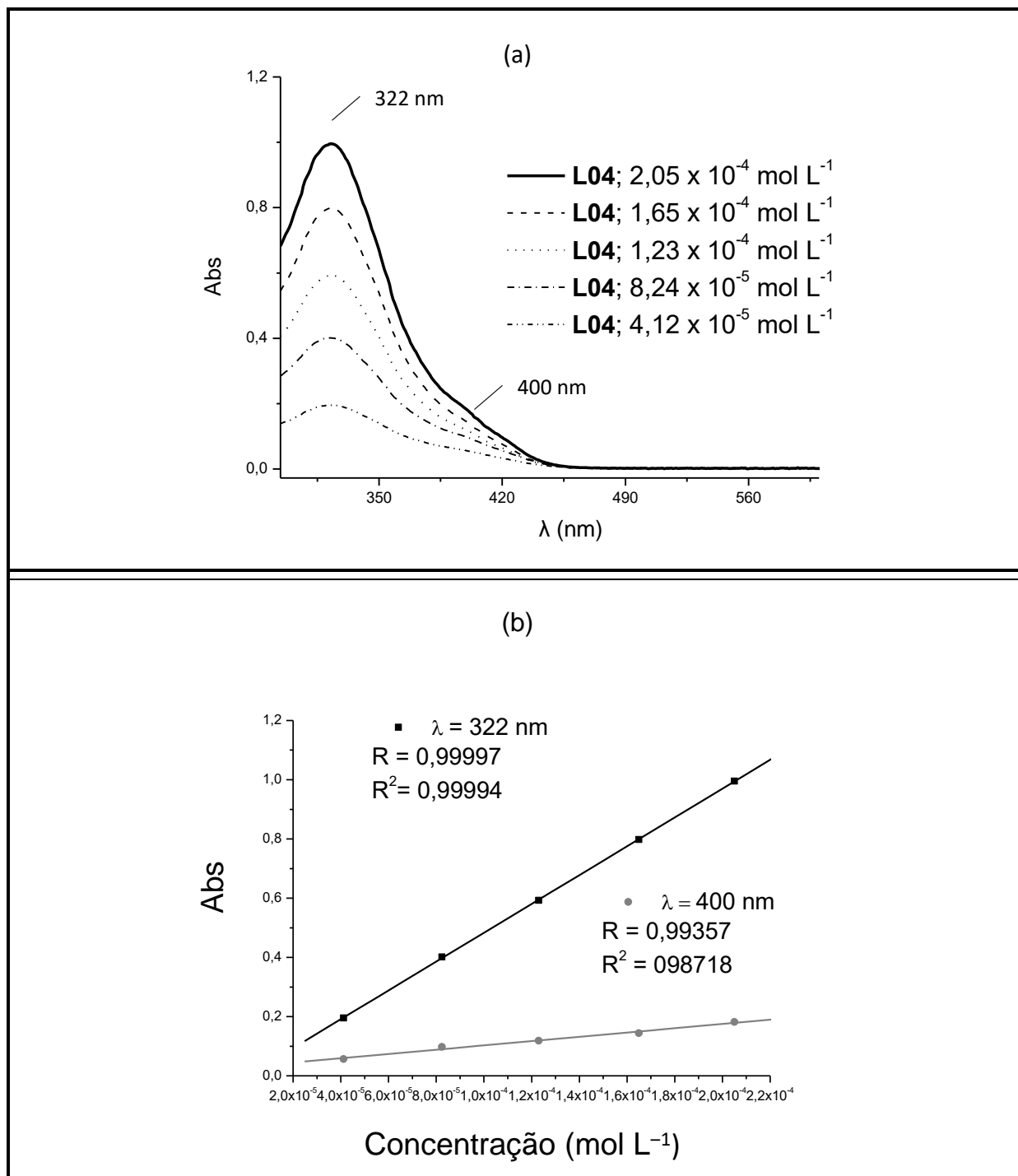
Legenda: (a) Curvas diluição de **L01** em DMF, (b) ampliação da região do  $\lambda = 369 \text{ nm}$  e (c) Regressões lineares.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 41 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L03** em DMF

Legenda: (a) Curvas diluição de **L03** em DMF, (b) ampliação da região do  $\lambda = 401$  nm e (c) Regressões lineares referente as curvas de diluição no gráfico Absorbância *versus*  $\lambda$  máximo das bandas em  $\lambda = 273, 324$  e  $401$  nm, respectivamente.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 42 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L04** em DMF

Legenda: (a) Curvas diluição de **L04** em DMF, (b) regressões lineares referente as curvas de diluição no gráfico Absorbância versus  $\lambda$  máximo das bandas em  $\lambda = 322$  e  $400$  nm, respectivamente. Fonte: A Autora, 2019.

Os complexos **C01** e **C03** apresentaram apenas uma banda de absorção no UV-visível, em  $305$  e  $302$  nm ( $\epsilon = 2,5 \times 10^4$  e  $1,2 \times 10^4$  mol<sup>-1</sup> dm<sup>3</sup> cm<sup>-1</sup>), respectivamente. Já o complexo **C04**, apresentou duas bandas de absorção, uma em  $307$  nm e outra em  $380$  nm ( $\epsilon = 1,6 \times 10^4$  e  $3,6 \times 10^3$  mol<sup>-1</sup> dm<sup>3</sup> cm<sup>-1</sup>,



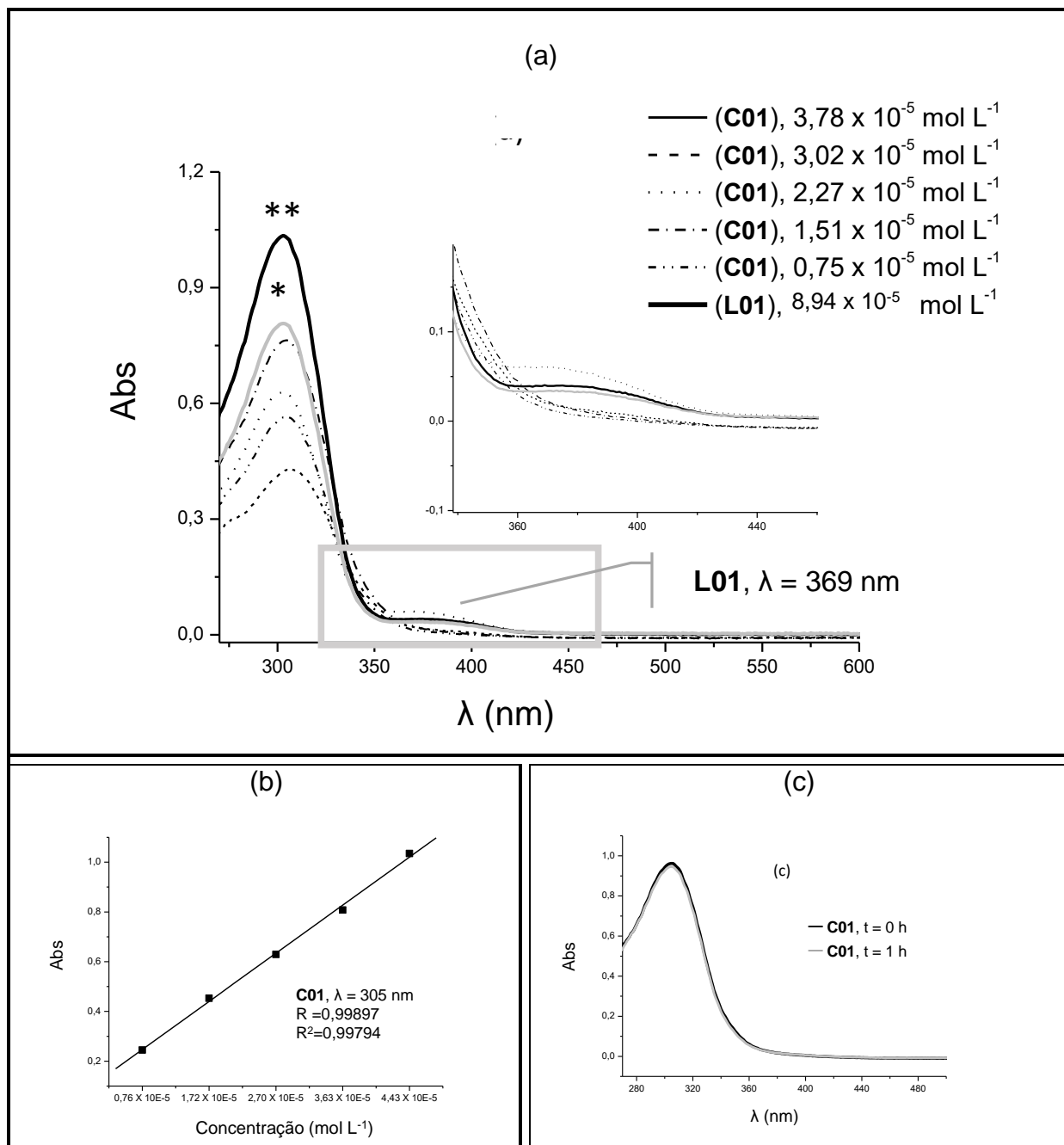
respectivamente). Em todos os casos, fica evidente a mudança de ambiente químico por conta dos deslocamentos dos  $\lambda$  máximos; sendo que o complexo **C01** apresentou um deslocamento batocrômico (comprimento de onda maior) em relação à hidrazona **L01** livre. Tal comportamento é o inverso do apresentado para os compostos **C03** e **C04**, que em relação às hidrazonas livres apresentam deslocamentos hipsocrômicos (comprimentos de onda menores). Isto é um forte indicativo de que a adição de grupo substituinte de caráter doador também afetará os deslocamentos quando o ligante estiver coordenado ao íon metálico ouro(III).

Cada complexo teve o espectro eletrônico obtido para diferentes concentrações em DMF. Interessante notar que o complexo **C01** manteve o mesmo perfil espectroscópico em todas as diluições, o que nos leva a crer na estabilidade do mesmo quando em solução de DMF. O mesmo não ocorre para os complexos **C03** e **C04** que na maior diluição ( $[ ] = 1,6 \times 10^{-5}$  e  $1,2 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente) apresentam absorções de 390 nm (**C03**) e 420 nm (**C04**). Além disso, para o composto **C04** ocorre também o desaparecimento da banda em 380 nm. A mudança detectada nos espectros é resultado da mudança de ambiente químico pelo excesso de solvente em relação às demais soluções. Neste caso, o novo perfil espectroscópico pode ser atribuído a possíveis trocas com o solvente.

Para todos os complexos foi avaliada a estabilidade em DMF após 1 h do preparo da solução  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Os compostos **C01** e **C03** apresentaram o mesmo perfil espectral após 1 h, já o complexo **C04** apresentou efeito hipocrômico (diminuição da absorvidade) em todas as bandas, mas principalmente na absorção em 380 nm. Esse também pode ser um indicativo de que não somente a grande quantidade de solvente afeta a estabilidade do composto, mas que o tempo em que o mesmo se encontra em solução pode influenciar o comportamento químico apresentado inicialmente.

Para todos os complexos de ouro(III) foram obtidos espectros eletrônicos na concentração  $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> afim de observar bandas características de transições d-d. Não foi possível visualizar em nenhum dos espectros obtidos.

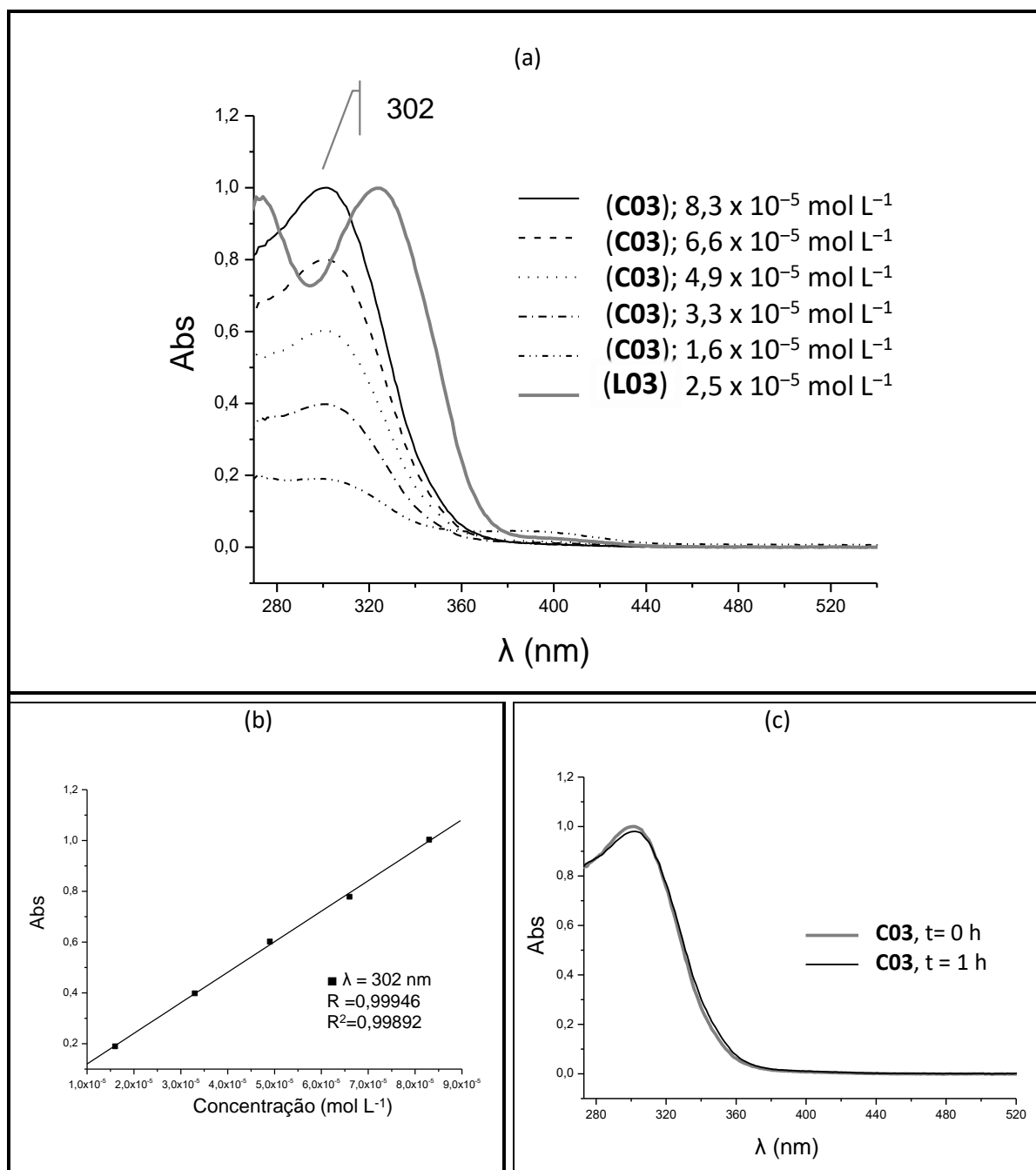
Nas Figuras 43–45 temos os espectros eletrônicos e as regressões lineares dos gráficos de " $\lambda_{\text{máximo}} \times$  concentração (mol L<sup>-1</sup>)" de cada complexo. Na Tabela 10 temos os  $\lambda_{\text{máximo}}$  e o coeficiente de absorvidade molar de todos os compostos.

Figura 43 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L01** e de **C01** em DMF

Legenda: (a) \* **L01**,  $\lambda = 303 \text{ nm}$ ; \*\* **C01**,  $\lambda = 305 \text{ nm}$ . Região ampliada está destacada em cinza no espectro de 270-600 nm. (b) regressão linear referente aos valores de absorvância encontrados para as curvas de diluição de **C01** em  $\lambda = 305 \text{ nm}$ . (c) espectros eletrônicos em  $t = 0 \text{ h}$  e  $t = 1 \text{ h}$  de **C01** em DMF.

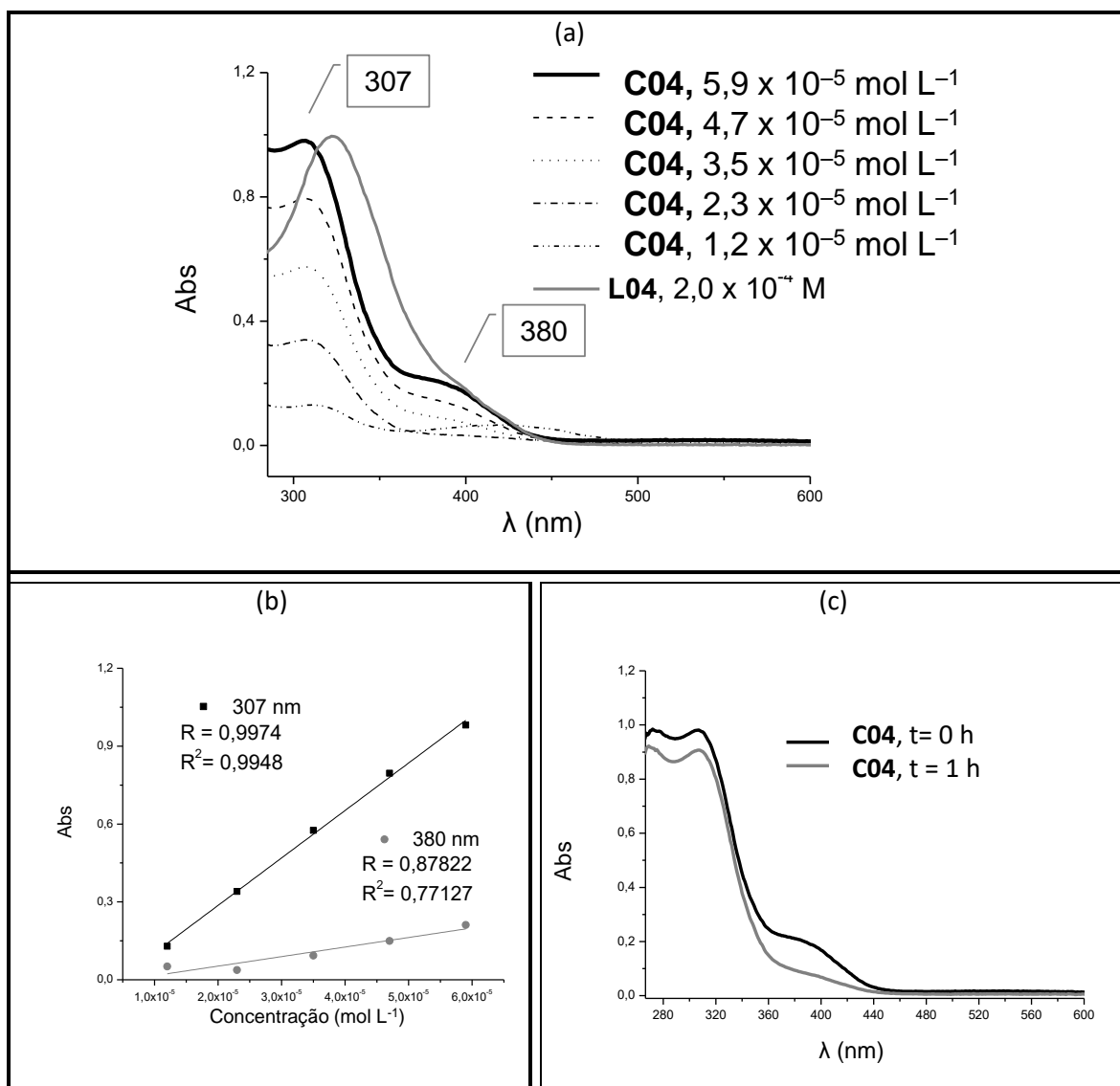
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 44 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L03** e de **C03** em DMF



Legenda: (a) Curvas de diluição de **C03** em comparação ao ligante **L03**, (b) regressão linear referente aos valores de absorvância encontrados para as curvas de diluição de **C03** em  $\lambda = 302 \text{ nm}$ . (c) espectros eletrônicos em  $t = 0 \text{ h}$  e  $t = 1 \text{ h}$  de **C03** em DMF.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 45 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L04** e de **C04** em DMF

Legenda: (a) Curvas de diluição **C04** em DMF; (b) regressões lineares referente as curvas de diluição no gráfico Absorbância versus  $\lambda$  máximo, R e  $R^2$  de **C04** ( $\lambda = 307$  e  $380$  nm), respectivamente e (c) curvas do composto **C04** imediatamente após o preparo e 1 hora depois.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 10 – Valores de comprimentos de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de bandas observadas nos espectros eletrônicos de **L01**, **L03** e **L04** e seus complexos **C01**, **C03** e **C04** em DMF

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ )
<b>L01</b>	303	$9,0 \times 10^3$
	369	$3,7 \times 10^2$
<b>C01</b>	305	$2,5 \times 10^4$
<b>L03</b>	273	$3,9 \times 10^3$
	324	$4,0 \times 10^3$
	401	$9,8 \times 10$
<b>C03</b>	302	$1,2 \times 10^4$
<b>L04</b>	322	$4,8 \times 10^3$
	400	$8,8 \times 10^2$
<b>C04</b>	307	$1,6 \times 10^4$
	380	$3,6 \times 10^3$

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.1.3 Estudos biológicos

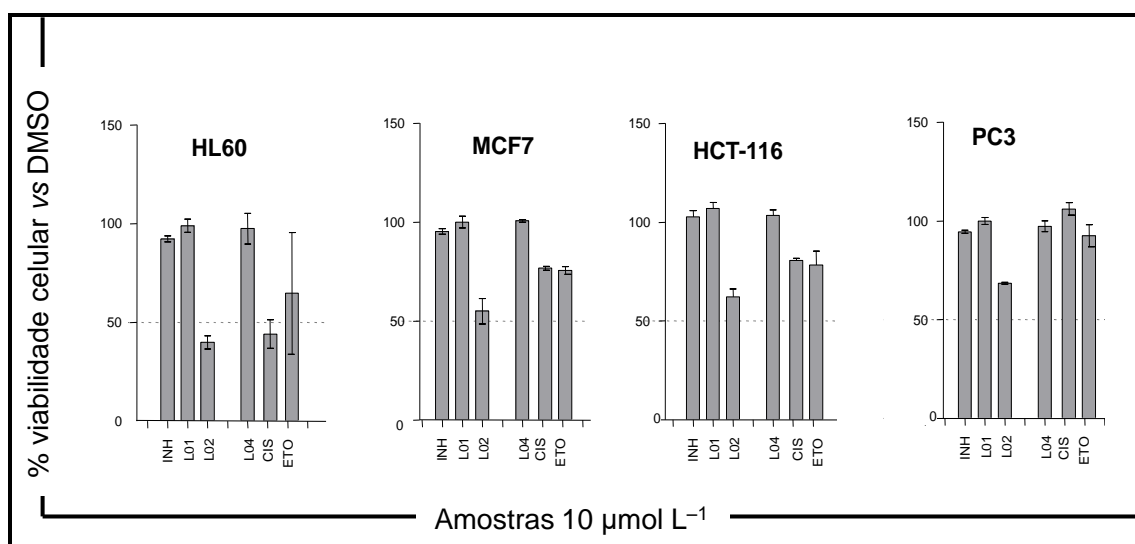
#### 5.1.3.1 Avaliação da atividade citotóxica de substâncias sintéticas em células leucêmicas (mielóide), tumor mamário e colorretal

A citotoxicidade das hidrazonas **L01**, **L02** e **L04** livres frente às linhagens tumorais HL-60, MCF-7, PC-3 e HCT-116 estão representados na Figura 46, estes dados estão expressos em percentual de viabilidade celular vs DMSO. Também foi feita a avaliação da ação citotóxica da INH, o sal de ouro(III) ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) e dos fármacos de referência CIS (cisplatina), ETO (etoposídeo). Devido a um problema na primeira remessa de compostos para ensaios biológicos, os estudos com a hidrazona **L03** ainda estão sendo finalizados.

Dentre as hidrazonas testadas, **L02** foi a mais ativa para as linhagens HL60, MCF-7, PC3 e HCT-116, mostrando-se capaz de reduzir a viabilidade em mais de

50% especificamente para linhagem de células HL60. Frente às demais linhagens **L02** foi ativa, porém não reduziu a viabilidade em mais de 50%. Comparando os resultados de **L02** com os resultados obtidos para INH, CIS e ETO temos o composto **L02** mais ativo que os compostos de referência para todas as linhagens. Apenas para HL-60 a CIS foi capaz de reduzir também a viabilidade celular em mais de 50%; mas ainda assim, o resultado da hidrazona **L02** foi mais expressivo. Tais resultados evidenciam a atividade citotóxica do composto **L02** quando livre e apontam para uma especificidade interessante, de forma que foi possível determinar seu IC<sub>50</sub> (concentração inibitória em 50%).

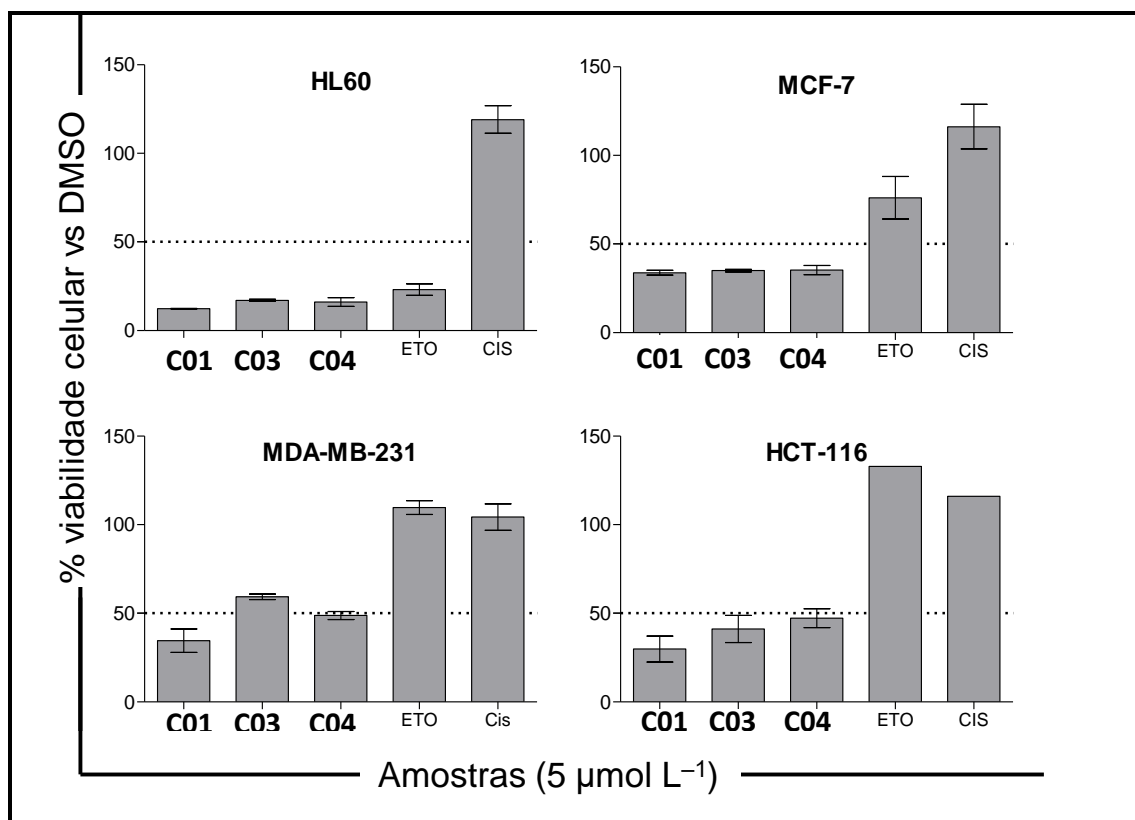
Figura 46 – Efeito de **L01**, **L02**, **L04** e **INH** na viabilidade das células tumorais



Legenda: Os dados representam a porcentagem de viabilidade celular, determinada por MTT, após incubação por 48 h na concentração de 10 µmol L<sup>-1</sup>. Etoposido (ETO) e cisplatina (CIS) foram usados como controle positivo. Os resultados representam a média de dois experimentos realizados em triplicata ± desvio padrão (média ± DP).

Fonte: A Autora, 2019.

Os compostos de ouro(III) **C01**, **C03** e **C04** foram ativos frente HL-60, MCF-7, MDA-MB-231 e HCT-116 na concentração de 5 µmol L<sup>-1</sup>, inibindo a viabilidade em mais de 50%, como observado na Figura 47. Devido à baixa solubilidade dos compostos, não foi possível alcançar 50% de redução de viabilidade celular em MCF-7. Com base nos resultados de viabilidade celular, foram selecionados os seguintes compostos para determinação do IC<sub>50</sub>: **L02**, **C01**, **C03** e **C04**, os resultados são apresentados na Tabela 11.

Figura 47 – Efeito de **C01**, **C03** e **C04** na viabilidade das células tumorais

Legenda: Os dados representam a porcentagem de viabilidade celular, determinada por MTT, após incubação por 48 h na concentração de  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Etoposídeo (ETO) e cisplatina (CIS) foram usados como controle positivo. Os resultados representam a média de dois experimentos realizados em triplicata  $\pm$  desvio padrão (média  $\pm$  DP).

Fonte: A Autora, 2019.

O  $\text{IC}_{50}$  foi determinado para complexos **C01**, **C03** e **C04** complexos frente às linhagens HL-60, MCF-7, MDA-MB-231, HCT-116 e HEK-293 (Tabela 11). Esses resultados foram comparados com o sal ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) e o etoposídeo. O complexo **C01** inibiu a viabilidade celular em menos de 50% na concentração máxima de  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  e, devido às limitações de solubilidade, seus valores de  $\text{IC}_{50}$  não puderam ser determinados. O composto **C03** mostrou ser altamente citotóxico para as células HL-60 e HCT-116, cujos valores  $\text{IC}_{50}$  são  $2,4 \pm 2,17$  e  $2,4 \pm 1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Além disso, o composto **C03** foi mais potente do que o  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  e o etoposídeo contra células MDA-MB-231, MCF-7 e HCT-116, respectivamente.

Os Índices de seletividade ( $\text{IS} = \text{CC}_{50} \text{ HEK-293} / \text{IC}_{50} \text{ célula tumoral}$ ) foram determinados para todos os complexos de ouro(III) com as hidrazonas **L01**, **L03** e **L04**. Os testes foram realizados para determinar o  $\text{CC}_{50}$  contra células não malignas da linhagem HEK-293. Os valores de  $\text{CC}_{50}$  indicam que o composto **C03** tem menos

toxicidade para as células HEK-293 do que as linhagens de células tumorais HL-60 e HCT-116 (Tabela 11). Assim, o composto **C03** é 8 vezes mais tóxico para as células tumorais HL-60 e HCT-116 do que para as células HEK-293.

Tabela 11 – IC<sub>50</sub> e IS (Índice de Seletividade) dos compostos selecionados

Compostos	IC <sub>50</sub> <sup>a</sup>				CC <sub>50</sub> <sup>a</sup>
	HL-60	MCF-7	MDA-MB-231	HCT-116	HEK-293
<b>L02</b>	3,3±2,4	>50	>50	1,9±0,9	>50
<b>C01</b>	>25	>25	>25	>25	>25
<b>C03</b>	2,4±2,17	>25	11,9±4,5	2,4±1,3	19,83±3,03
<b>C04</b>	>25	24,96±0,1	>25	>25	23,44±2,21
<b>HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O</b>	0,33±0,07	18,8±3,74	>25	0,7±3,3	>25
<b>ETO</b>	0,7	>100	ND	>100	>100

Compostos	Índice de Seletividade Estimado			
	HL-60	MCF-7	MDA-MB-231	HCT-116
<b>L02</b>	>15	ND	ND	>26
<b>C01</b>	ND	ND	ND	ND
<b>C03</b>	8	ND	2	8
<b>C04</b>	ND	<1	ND	ND
<b>HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O</b>	>75	>1	ND	>35
<b>ETO</b>	>142	ND	ND	ND

Legenda: <sup>a</sup>unidade = μmol L<sup>-1</sup>. ND = Não Determinado para as amostras cujo valor de IC<sub>50</sub> não pode ser calculado. A viabilidade celular foi determinada por MTT após 48 h de tratamento com os compostos selecionados e o IC<sub>50</sub> foi calculado usando Prisma Software®. Os dados apresentam a média ± desvio padrão.

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.1.3.2 Ensaio de clonogenicidade

O ensaio de clonogenicidade é utilizado para uma grande variedade de estudos com diversos tipos de células. Os ensaios detectam todas as células que mantiveram a capacidade de produzir um grande número de descendentes após tratamentos que podem causar morte reprodutiva resultante dos danos aos cromossomos, apoptose, etc (FRAKEN et al, 2006). Desta forma, é possível prever a eficácia ou potencial de cura de um composto. Assim na realização dos ensaios foram usadas duas concentrações, sendo uma na concentração inibidora de 50% da



viabilidade  $IC_{50}$  e a outra em concentração inibidora de 90% da viabilidade ( $IC_{90}$ ). A linhagem escolhida foi a HCT-116 por ter sido a mais sensível dentre as linhagens testadas e os compostos escolhidos foram **L02** e **C03** por terem apresentado  $IC_{50}$  de 1,9 e 2,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente e  $IC_{90}$  de 18,0 e 22,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Os resultados são apresentados na Tabela 12 e na Figura 48.

Comparando-se o efeito dos compostos pelo  $IC_{50}$ , a hidrazona **L02** e o complexo **C03** apresentaram ação similar. No  $IC_{90}$  o **C03** foi mais ativo, com a fração de sobrevivência zero. Os valores de  $IC_{50}$  e  $IC_{90}$  do complexo **C03** estão muito próximos dos valores encontrados para **L02**, o que o torna também um composto de coordenação interessante no que se refere a atividade investigada. Interessante notar que  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  não teve atividade no ensaio clonogênico mostrando que as alterações químicas influenciaram na atividade do íon ouro(III).

Tabela 12 –  $IC_{50}$  e  $IC_{90}$  de **L02**, **C03** e  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  frente à linhagem HCT-116

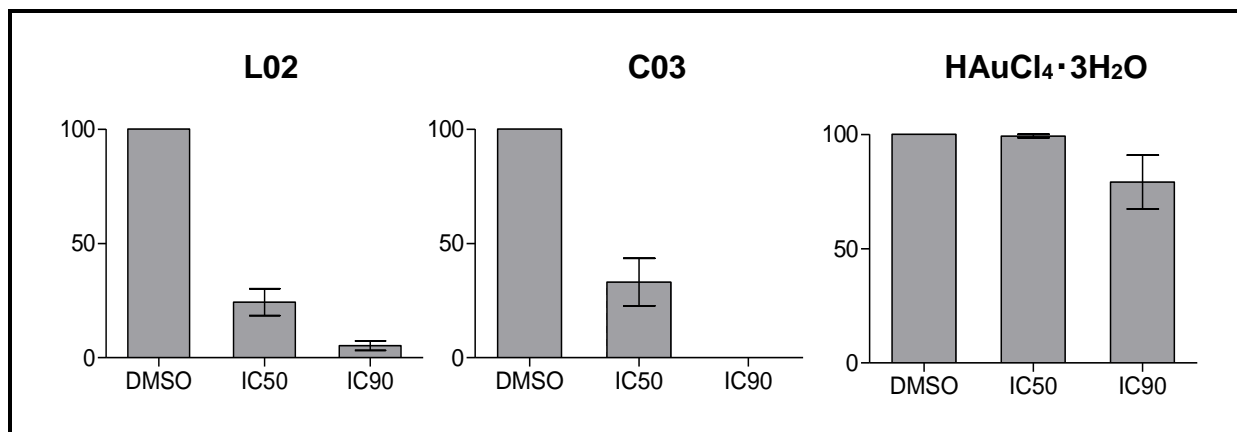
Compostos	<b>L02</b>	<b>C03</b>	<b><math>\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}</math></b>
$IC_{50}$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	1,9	2,4	0,7
$IC_{90}$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	18,0	22,3	6,3

Legenda: Valores de  $IC_{50}$  determinado usando o Prisma Software®. Valores de  $IC_{90}$  calculados a partir de valor de  $IC_{50}$  já determinados usando GraphPad Software®.

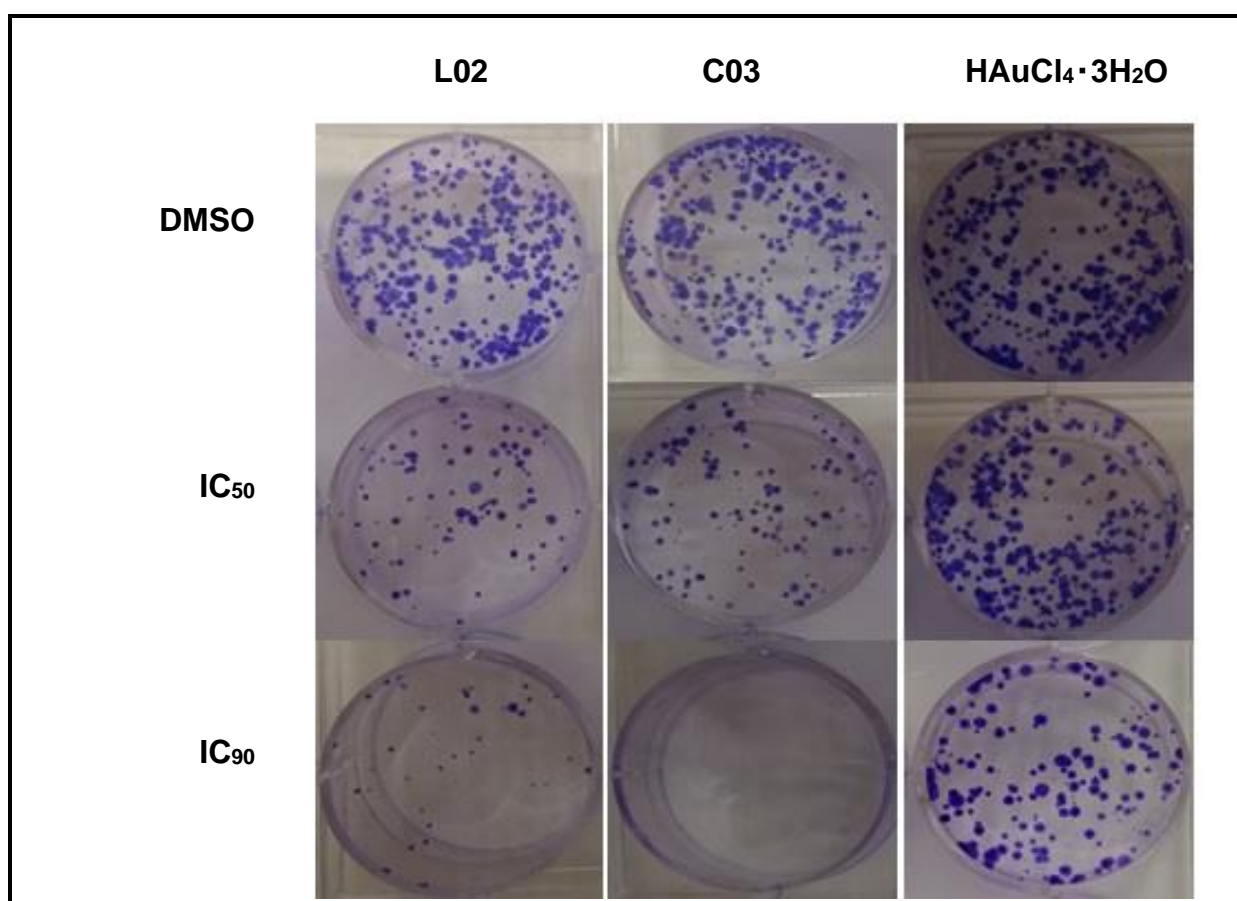
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 48 – Inibição da formação de colônias por **L02**, **C03** e  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  frente a linhagem de células HCT-116

(a)



(b)



Legenda: (a) Fração de sobrevivência em linhagens de células HCT-116 após tratamento pelos compostos **L02**, **C03** e  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  e seus respectivos IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub>. Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (média  $\pm$  DP) de três experimentos independentes realizados em duplicata. (b) Imagens representativas da formação de colônias de células HCT-116 14 dias após o tratamento.

Fonte: A Autora, 2019.

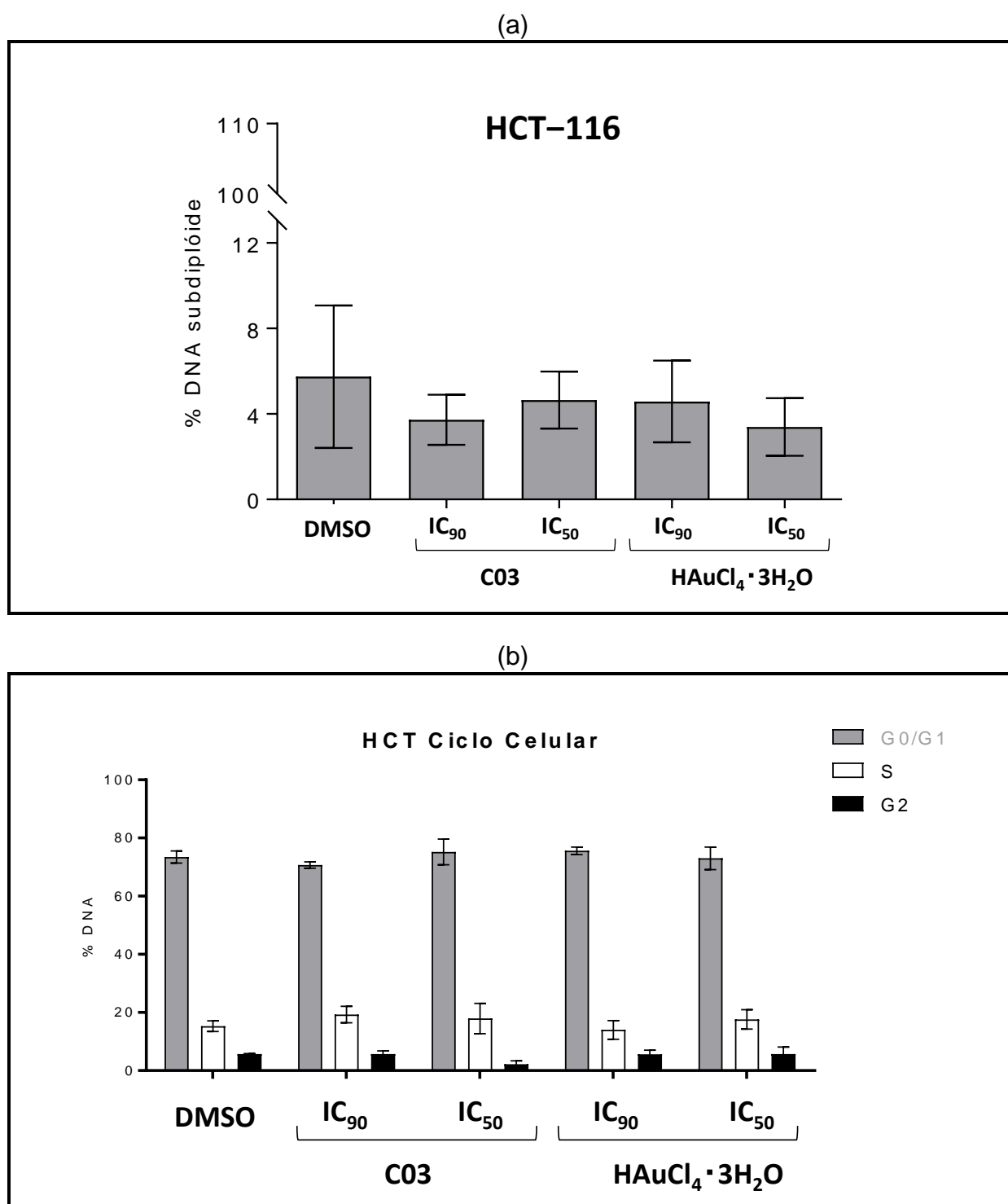
### 5.1.3.3 Análise do ciclo celular

Com a finalidade de obter informações sobre a toxicidade dos compostos e propor um modelo de mecanismo de ação dos mesmos, por exemplo, uma possível indução de morte por apoptose; foram feitos ensaios de citometria para quantificação do conteúdo de DNA e avaliação do ciclo celular. Utilizando citometria de fluxo foi determinada a quantidade de DNA subdiploide que pode ser utilizado como indicativo de fragmentação do DNA por apoptose.

A fim de investigar a relação entre a inibição da proliferação celular induzida por **C03** com a indução de apoptose, decidimos detectar o conteúdo de DNA subdiploide em células HCT-116 marcando-a com iodeto de propídio seguido por análise de citometria de fluxo. O conteúdo de DNA é a entidade mais comumente medida da célula. A análise do conteúdo de DNA permite estimar a frequência de células apoptóticas que são caracterizadas pelo conteúdo de DNA subdiploide e fornece informações sobre a posição das células no ciclo celular. As células HCT-116 foram tratadas com **C03** em suas concentrações de IC<sub>50</sub> e IC<sub>90</sub> descritas na Tabela 12.

Na Figura 49-a, não houve diferença no percentual de células com DNA subdiploide em comparação com DMSO (0,5%). Também não foram observadas alterações de DNA nas fases do ciclo celular (Figura 49-b). Portanto pode-se sugerir que a citotoxicidade dos compostos não envolve indução de apoptose e que pode estar atribuída a outros mecanismos de morte celular que não foram avaliados neste estudo, como necrose, autofagia entre outros.

Figura 49 – Conteúdo de DNA subdiploide determinado por citometria de fluxo



Legenda: Os dados representam a média de três ou quatro experimentos independentes em triplicata  $\pm$  desvio padrão (média  $\pm$  desvio padrão). Em (a) conteúdo de DNA subdiploide (%) para **C03** e (b) conteúdo de DNA subdiploide em cada fase do ciclo celular.

Fonte: o autor, 2019.

## 5.2 *Bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida (L05–L08) e seus complexos de ouro(III)

### 5.2.1 Caracterização das *bis*(N-acil hidrazonas) L05 – L08

A síntese e caracterização das *bis*(N-acil hidrazonas) H<sub>2</sub>ginh (L05) e H<sub>2</sub>pinh (L06) são descritas na literatura (SOMOGYI; CZUGLER; SOHÁR, 1992; YALE et al., 1953), enquanto que as *bis*(N-acil hidrazonas) H<sub>2</sub>apinh L07 e H<sub>2</sub>bpinh L08 são inéditas. Todas as moléculas orgânicas foram caracterizadas por ponto de fusão, análise elementar, espectrometria de massas (ESI-MS), espectroscopia vibracional na região do IV e RMN (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT-135, COSY, APT e HSQC) para confirmar sua obtenção e pureza.

#### 5.2.1.1 Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas

Todas as *bis*(N-acil hidrazonas) apresentaram faixa de fusão diferentes e maiores que a INH e sem a ocorrência de fusão parcial na faixa de temperatura de fusão da INH, o que é um forte indicativo de que não há impureza desse reagente.

Foram realizadas medidas de ponto de fusão com razão de aquecimento de 0,5 °C/minuto afim de registrar a faixa temperatura de fusão mais estreita possível. A *bis*(N-acil hidrazona) L05 tem P.F. descrito na literatura por Yale e colegas (1953) como sendo >300 °C. Não foi possível determinar a faixa exata por limitações do equipamento, mas foi possível verificar que a mesma não funde em temperaturas menores que 337 °C.

Somogyi e colaboradores (1992) relatam em seu trabalho que o ponto de fusão de L06 encontra-se na faixa de 287–289 °C. Entretanto, o fenômeno que ocorreu durante a realização das medidas no PF1500 em temperatura próxima de 290 °C, é característico de decomposição, restando ao final apenas o resíduo de cor preta (sólido carbonizado) e não o sólido fundido.

É interessante ressaltar, que mesmo com o aumento da massa molecular de L05 para L08, não há o aumento do ponto de fusão; pelo contrário, a adição dos

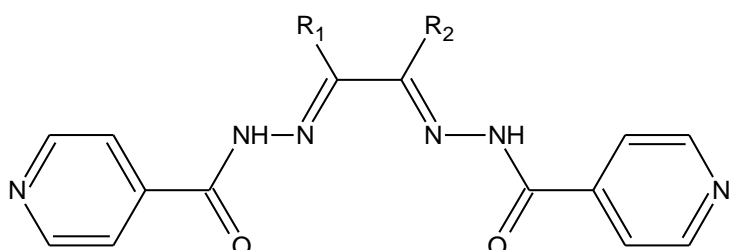
diferentes grupos R reduz os pontos de fusão das *bis(N-acil hidrazonas)* **L06–L08** com substituintes metila e/ou etila adicionados. Este comportamento sinaliza que a substituição promoveu enfraquecimento das interações intermoleculares, possivelmente ocasionadas pela dificuldade de aproximação espacial das moléculas devido a presença de tais grupos. Na Tabela 13 estão os dados de cor, rendimento, composição, massa molar e ponto de fusão das *bis(N-acil hidrazonas)* em comparação com o reagente de partida, a isoniazida (INH). Na Figura 50 estão representadas as estruturas das *bis(N-acil hidrazonas)* obtidas.

Tabela 13 – Cor, Rendimento (R, %), Composição (C, H e N, em %), Fórmula Molecular (FM), Massa Molar (MM, g mol<sup>-1</sup>), e Ponto de fusão (P.F, °C) de **L05**, **L06**, **L07** e **L08** em comparação a isoniazida (INH)

	INH	L05	L06	L07	L08
<b>Cor</b>	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco
<b>R</b>	-	57	51	53	64
<b>% C</b>	-	56,35 <sup>a</sup> (56,75) <sup>b</sup>	57,00 (56,52)	61,25 (60,34)	61,38 (61,35)
<b>% H</b>	-	4,35 (4,08)	4,74 (4,73)	5,43 (5,36)	5,56 (5,72)
<b>% N</b>	-	28,30 (28,36)	24,83 (26,32)	23,59 (24,84)	23,44 (23,85)
<b>FM</b>	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
<b>MM</b>	137,14	296,28	310,31	338,36	352,39
<b>P.F.</b>	171,0 – 173,0	>337,8	Decompôs em 290	249,4 – 251,7	Decompôs em 270

Legenda: <sup>a</sup> Valor experimental; <sup>b</sup> Valor teórico entre parênteses.  
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 50 – Estrutura geral das *bis(N-acil hidrazonas)* sintetizadas



- L05:** R1 = H e R2 = H  
**L06:** R1 = H e R2 = CH<sub>3</sub>  
**L07:** R1 = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> e R2 = CH<sub>3</sub>  
**L08:** R1 = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> e R2 = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

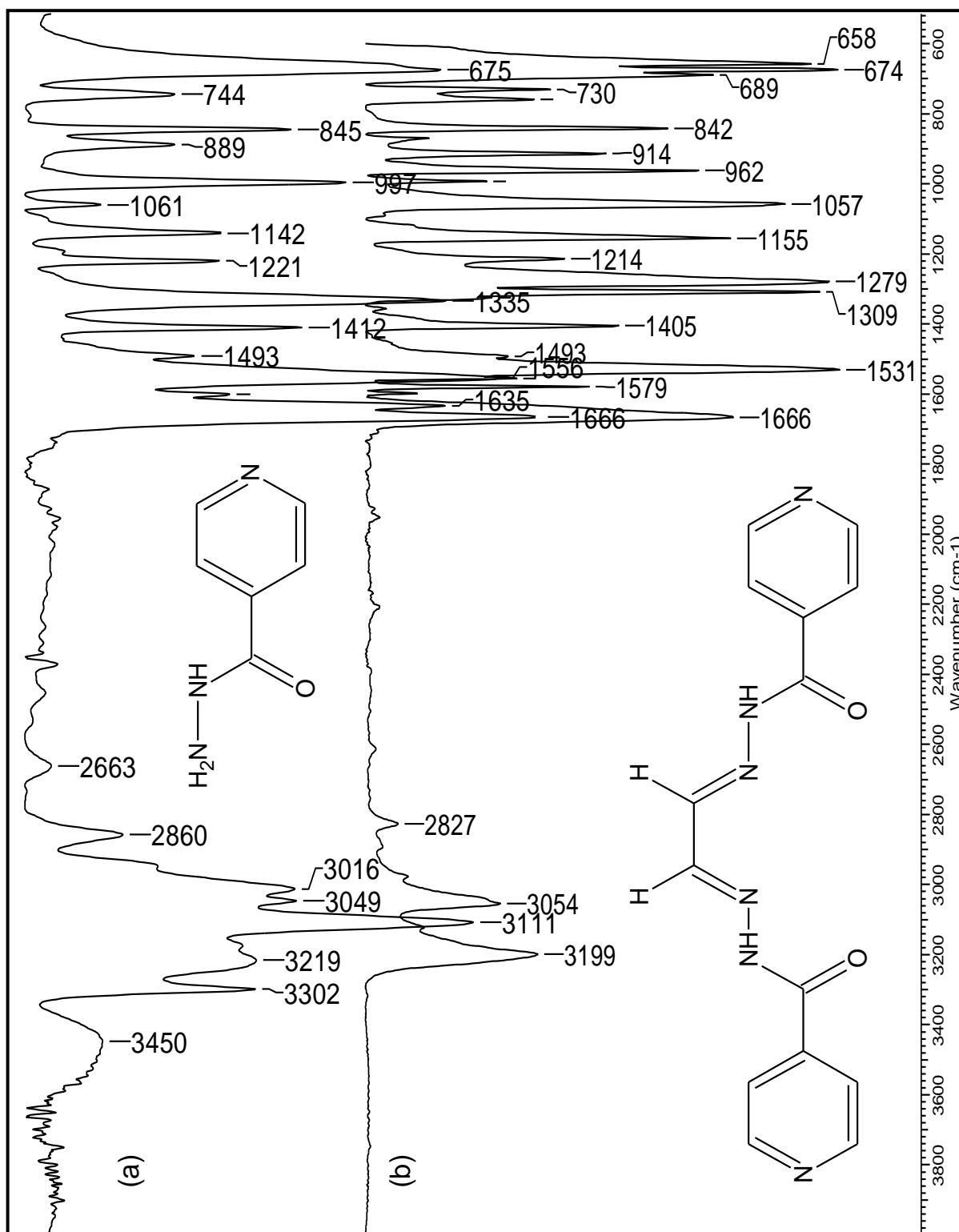
Fonte: A Autora, 2019.

### 5.2.1.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros no IV das *bis*(N-acil hidrazonas) **L05–L08** foram obtidos por ATR na região de 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ . Todos os espectros obtidos foram comparados ao do reagente de partida (INH). Nas Figuras 51–54 estão os espectros da INH sobreposto ao espectro de cada uma das *bis*(N-acil hidrazonas) sintetizadas. A Tabela 14 apresenta as principais bandas de absorção desses compostos.

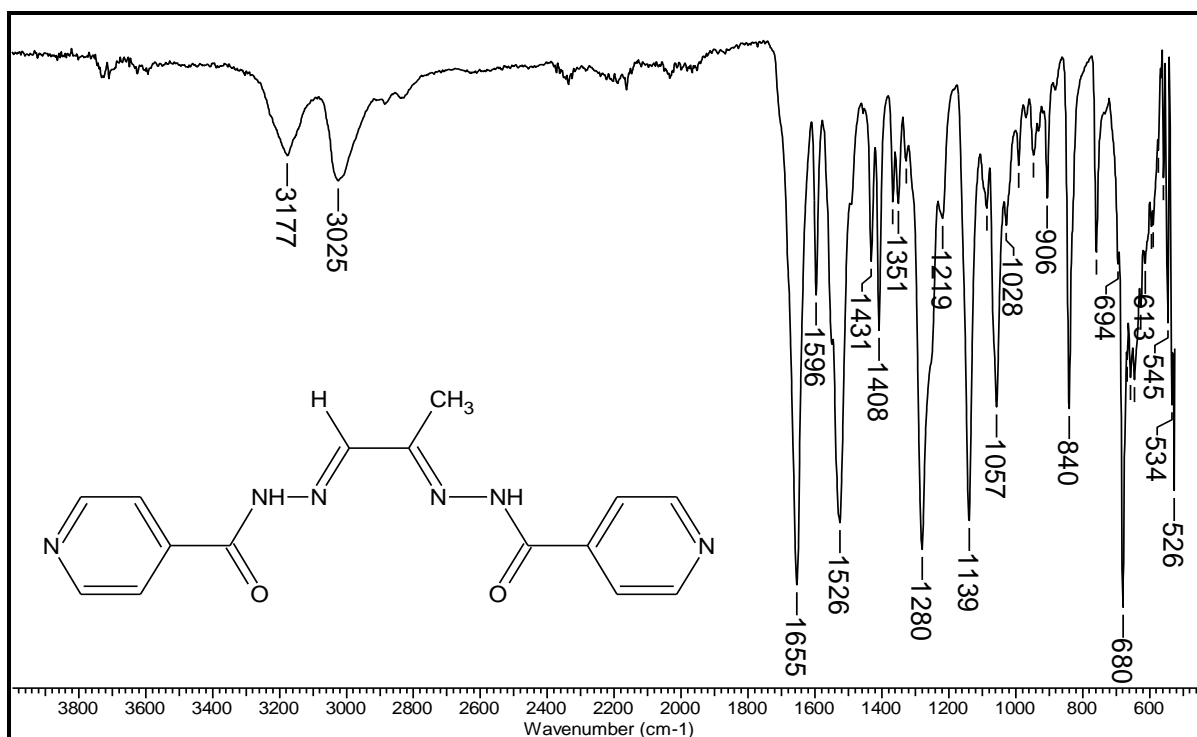
As bandas características de estiramentos simétricos e assimétricos das ligações NH encontradas no grupo  $\text{NH}_2$  presente na estrutura da INH em 3302–3214  $\text{cm}^{-1}$  não estão presentes em nenhum dos espectros dos ligantes livres. A banda de absorção  $\nu\text{N-H}$  em 3111  $\text{cm}^{-1}$  da INH está deslocada em **L05–L08** para região de maior energia de 3177–3199  $\text{cm}^{-1}$ . O estiramento  $\nu\text{C=O}$  em 1666  $\text{cm}^{-1}$  na INH desloca-se para valores de menor energia 1653–1662  $\text{cm}^{-1}$  nas moléculas **L06–L08** e tem um aumento para 1668  $\text{cm}^{-1}$  no espectro de **L05**.

A banda de estiramento da ligação C=N que caracteriza a formação da estrutura C=N-N é encontrada na faixa de 1522–1531  $\text{cm}^{-1}$  em todas as *bis*(N-acil hidrazonas).

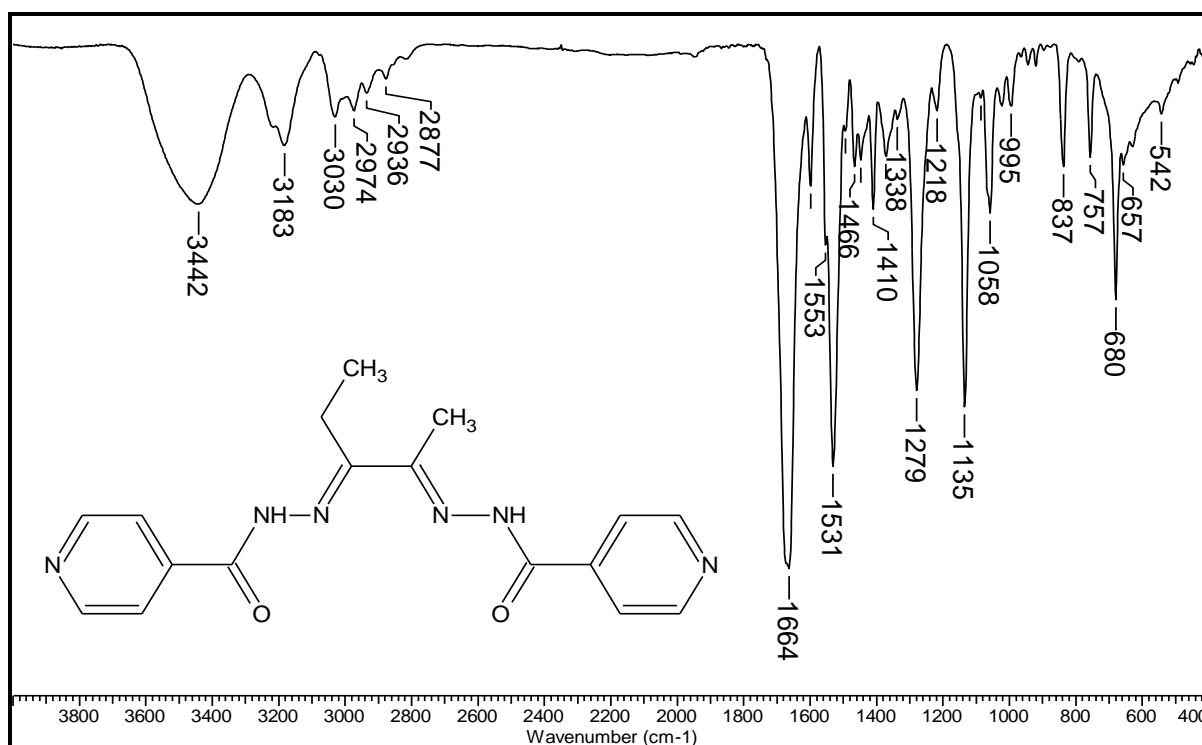
Figura 51 – Espectro no IV de **L05** obtido por ATR

Legenda: Faixa de 4000 – 600 cm<sup>-1</sup>. Espectro (a) INH e (b) L05.  
 Fonte: A Autora, 2019.

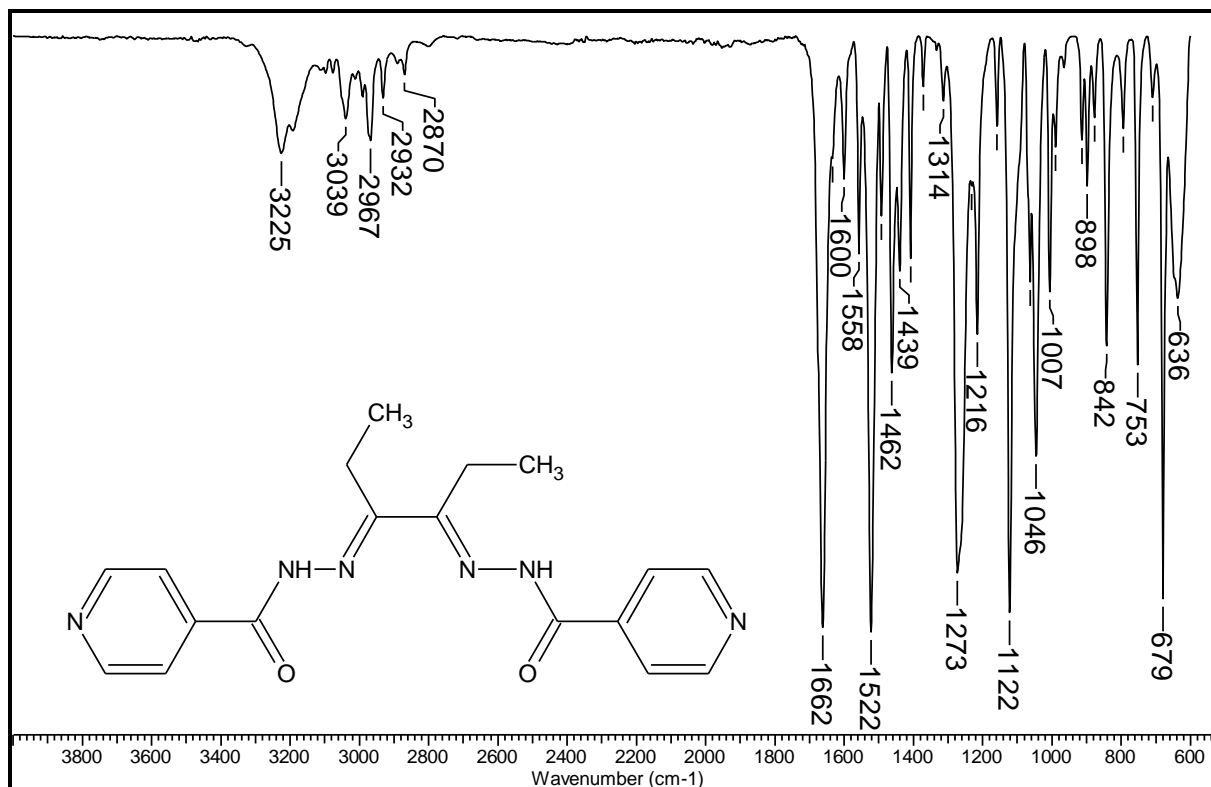


Figura 52 – Espectro no IV de **L06** obtido por ATRLegenda: Faixa de 4000 – 525 cm<sup>-1</sup>.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 53 – Espectro no IV de **L07** obtido por ATRLegenda: Faixa de 4000 – 525 cm<sup>-1</sup>.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 54 – Espectro no IV de **L08** obtido por ATR

Legenda: Faixa de 4000–400 cm<sup>-1</sup>.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 14 – Bandas nos espectros no IV (cm<sup>-1</sup>) de INH e seus derivados **L05–L08** obtidos por ATR na faixa de 4000 – 600 cm<sup>-1</sup>

Composto	$\nu^a$ NH <sub>2</sub>	$\nu$ N–H	$\nu$ C=O	$\nu$ C=N	$\gamma^b$ (py)	$\beta^b$ (py)
INH	3302 ( $\nu_a$ ) <sup>c</sup> , 3219 ( $\nu_s$ ) <sup>d</sup>	3111	1666	-	845	744
L05	-	3199	1668	1531	842	759; 730
L06	-	3177	1653	1526	840	759
L07	-	3183	1664	1531	837	757
L08	-	3192	1662	1522	842; 794	753

Legenda: <sup>a</sup> estiramento; <sup>b</sup> deformação; <sup>c</sup> estiramento assimétrico; <sup>d</sup> estiramento simétrico.

Fonte: A Autora, 2019.

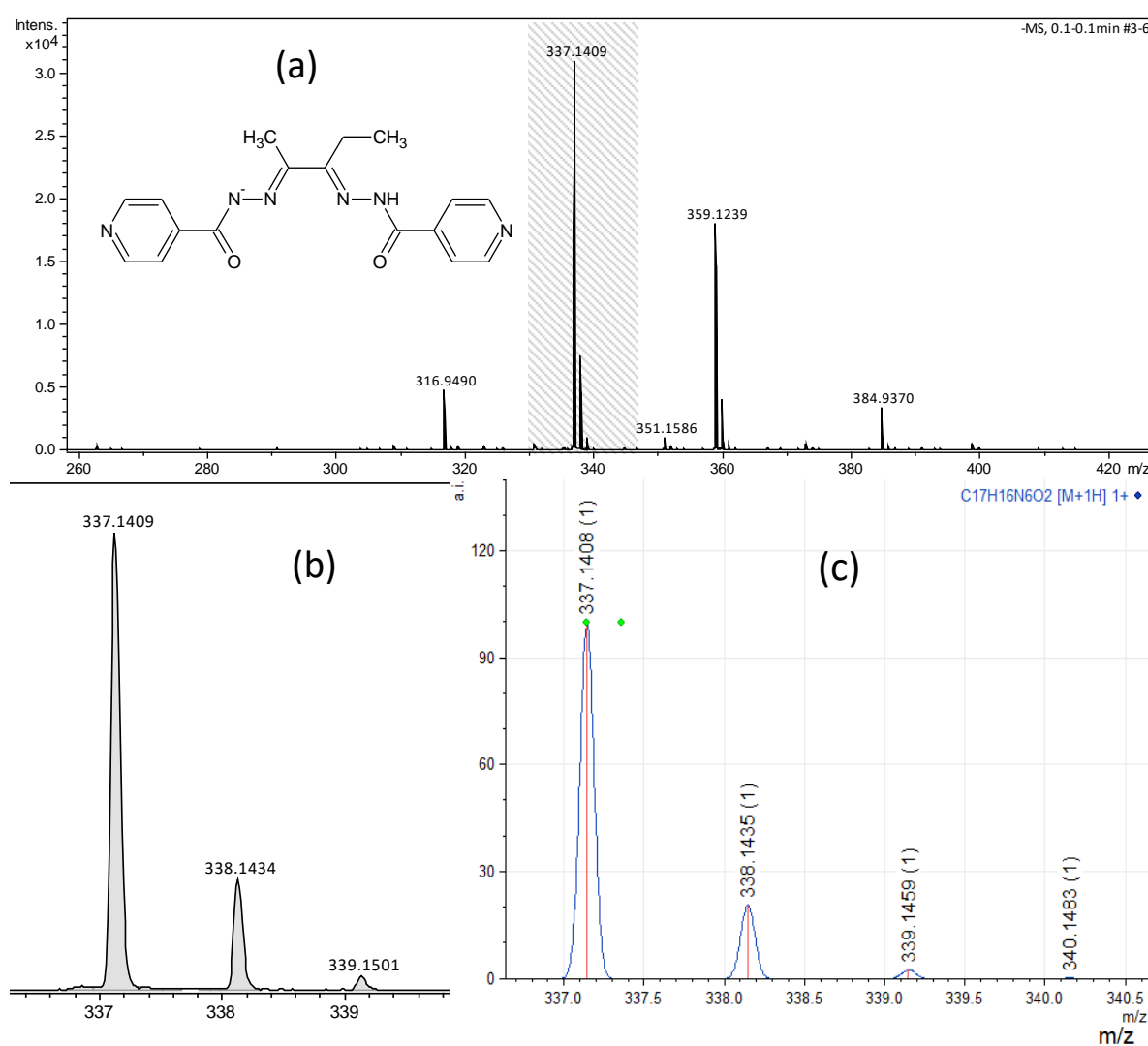
### 5.2.1.3 Espectrometria de massas

Os espectros de massas (ESI-MS) de **L07–L08** foram obtidos por injeção direta no modo positivo e/ou negativo, utilizando-se como solvente a mistura

metanol/água na proporção 1:1. **L05** e **L06** não são compostos inéditos, portanto, tal análise não foi realizada. Os espectros teóricos foram calculados utilizando o programa mMass 5.5.0® e são apresentados na parte (c) das Figuras 55 e 56.

No espectro de massas obtido no modo negativo da hidrazona **L07**, o pico do íon molecular com relação carga/massa  $m/z = 337,1409$  e intensidade relativa de 100%, pode ser atribuído à espécie desprotonada  $C_{17}H_{17}N_6O_2^-$ , como apresentado na Figura 55.

Figura 55 – Espectro de massa de **L07**



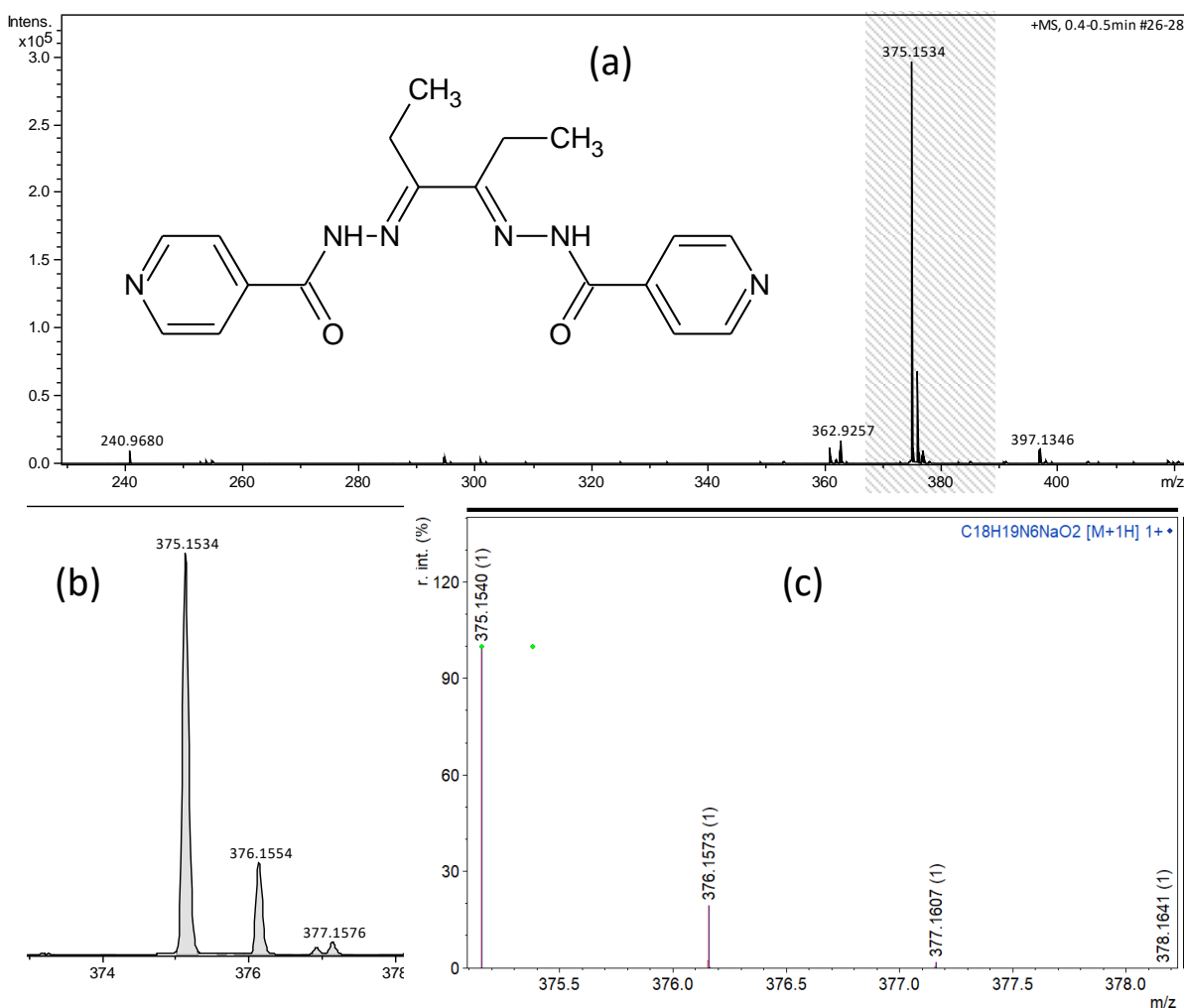
Legenda: (a) estrutura proposta para o fragmento  $m/z = 337,1409$  e espectro ESI-MS de **L07** obtido em metanol/água (1:1) no modo negativo, (b) ampliação do pico do íon molecular; (c) espectro teórico. Atribuição destacada:  $C_{17}H_{17}N_6O_2^-$ .

Fonte: A Autora, 2019.

Para a hidrazona **L08**, no modo positivo, tem-se o pico de  $m/z = 375,1534$  que é referente à proposta de **L08** formando um aduto com cátion sódio ( $\text{Na}^+$ ),  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{NaO}_2^+$ . Na Figura 56 temos o espectro experimental, o espectro calculado e a proposta estrutural da atribuição.

Na Tabela 15 estão as principais fragmentações para **L07** e n resultantes da caracterização por ESI-MS em metanol/água (1:1).

Figura 56 – Espectro de massas de **L08**



Legenda: (a) estrutura proposta para o fragmento  $m/z = 375,1534$  e espectro ESI-MS de **L08** obtido em metanol/água (1:1) no modo positivo, (b) ampliação do pico do íon molecular; (c) espectro teórico. Atribuição destacada:  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{NaO}_2^+$ .

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 15 – Principais fragmentações caracterizadas por ESI-MS para **L07–L08**

Composto	m/z experimental	m/z teórico	Modo	IR* do íon molecular	Atribuição
<b>L07</b>	337,1409	337,1413	negativo	100	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
<b>L08</b>	375,1534	375,1545	positivo	100	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> NaO <sub>2</sub> <sup>+</sup>

Legenda: \*IR = intensidade relativa, em %.

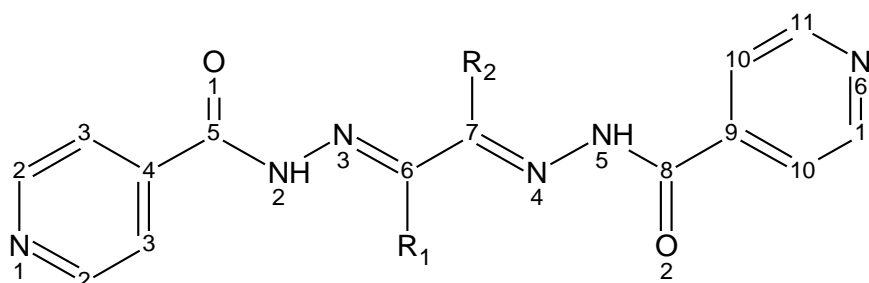
Fonte: A Autora, 2019.

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

Os espectros de RMN das *bis*(hidrazonas) **L05–L08** foram obtidos em DMSO-*d*<sub>6</sub>. Foram obtidos espectros de RMN de <sup>1</sup>H em DMSO-*d*<sub>6</sub> para **L05–L08**, já os espectros de <sup>13</sup>C foram obtidos somente para **L06** e **L07**. As atribuições nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H foram feitas com base nos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento para o espectro de cada composto. Para os compostos com melhor solubilidade ainda foi possível a realização de experimentos como COSY (atribuição das correlações entre hidrogênios) e HSQC (para correlação entre carbono e hidrogênio à distância de uma ligação).

Devido a possibilidade de que em solução essas moléculas, assim como as hidrazonas apresentem um grande número de tautômeros ceto-enólicos ou isômeros configuracionais, a Figura 57 representa a estrutura geral de todas elas identificada no IV com a numeração necessária para discussão dos resultados de RMN sem considerar cada possível isômero. A discussão mais detalhada será feita para cada molécula individualmente.

Figura 57 – Estrutura genérica numerada das *bis*(hidrazonas) **L05–L08**

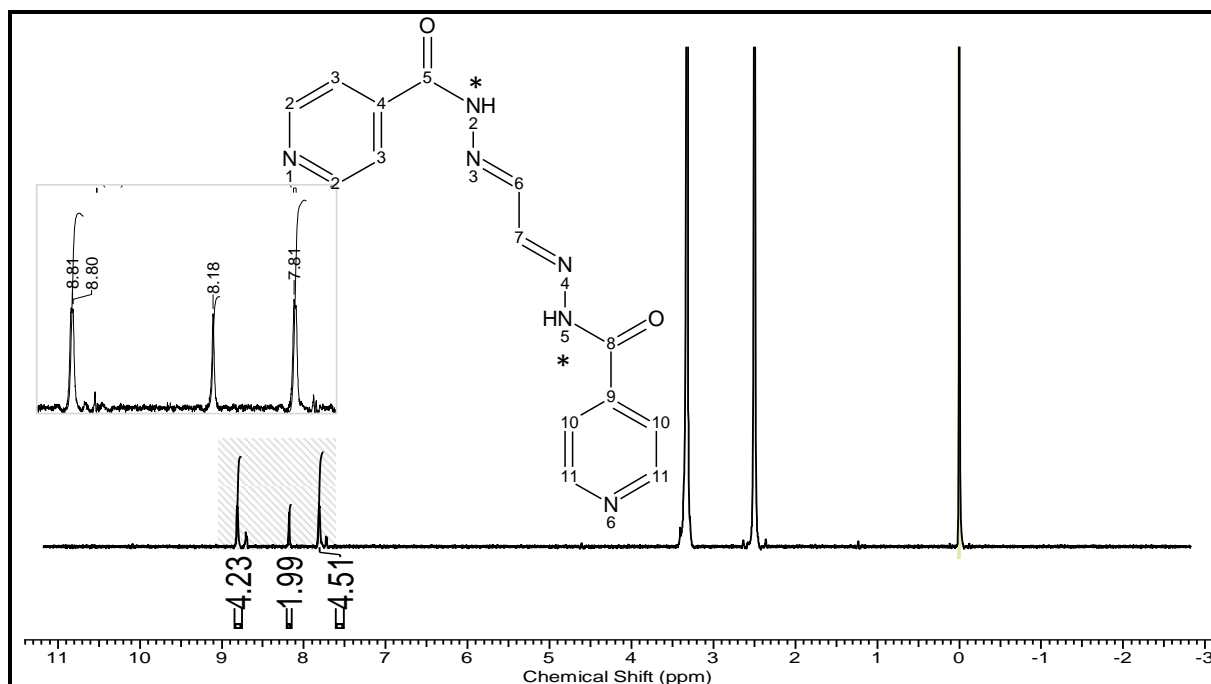


Legenda: **L05**: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H; **L06**: R<sub>1</sub> = H e R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>; **L07**: R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> e R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>; **L08**: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.  
Fonte: A Autora, 2019.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L05** (Figura 58) são observados dois conjuntos de sinais, atribuídos a um isômero A (83%) e ao isômero B (17%). Tanto no isômero A quanto no isômero B, os sinais referentes aos hidrogênios dos anéis aromáticos H2/H11 e H3/H10 caem sobrepostos com integração 4H em cada. O sinal em 8,18 ppm é referente aos hidrogênios H6/H7 apenas do isômero majoritário e tem integração 2H. Isto sugere certa simetria da molécula. Infelizmente não foi possível identificar através deste espectro de RMN de  $^1\text{H}$  os sinais característicos de O–H ou N–H porque a janela de análise vai até 11 ppm e tais sinais deslocam-se para valores maiores que 12 ppm. Na Tabela 16 estão as principais atribuições para os hidrogênios do ligante livre **L05** feitas segundo o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ .

Devido à baixa solubilidade de **L05** em  $\text{DMSO-}d_6$  não foi possível obter o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Posteriormente foi feita uma tentativa de obter espectros de RMN em  $\text{CD}_3\text{OD}$ , mas também não foi obtido resultado.

Figura 58 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L05** em  $\text{DMSO-}d_6$



Legenda: Janela do espectro de 11,53 – -3,17 ppm, com destaque para região de 9,2–7,5 ppm.

\*sinais não encontrados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{DMSO-}d_6$ .

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 16 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^{\circ}$ ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L05** em  $\text{DMSO-}d_6$

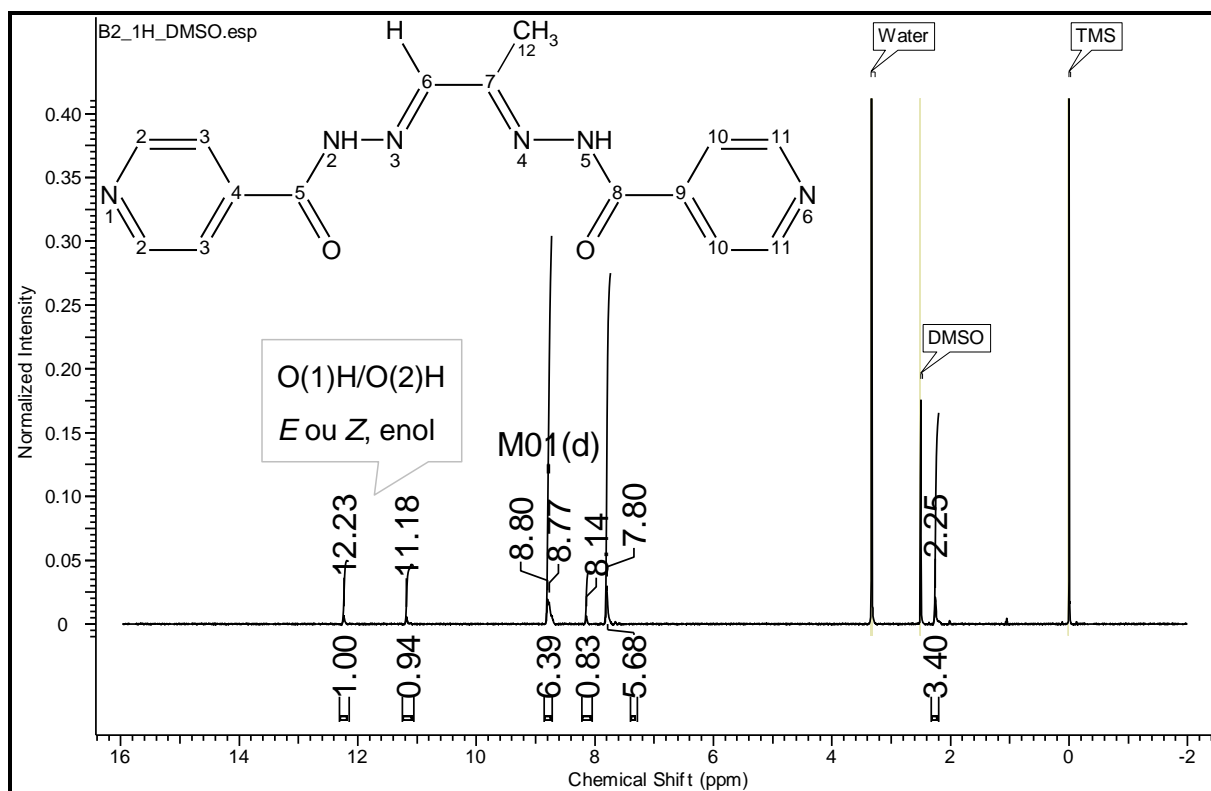
A	$n^{\circ}$	M <sup>a</sup>	$J^b$ (Hz)	$\delta$ (ppm)	
				Isômero A	Isômero B
<b>O(1)H/ O(2)H</b>					
<b>N(2)H/ N(5)H</b>					
<b>H(2)/H(11)</b>	4	s (sl)	nd/4,7	7,81	7,73-7,72
<b>H(3)/H(10)</b>	4	d	4,3/6,0	8,80-8,81	8,71-8,69
<b>H(6)/H(7)</b>	2	s		8,18	Nd

Legenda: <sup>a</sup> s = simpleto, d = duplete, t = tripleto, sl = sinal largo, nd = não determinado.

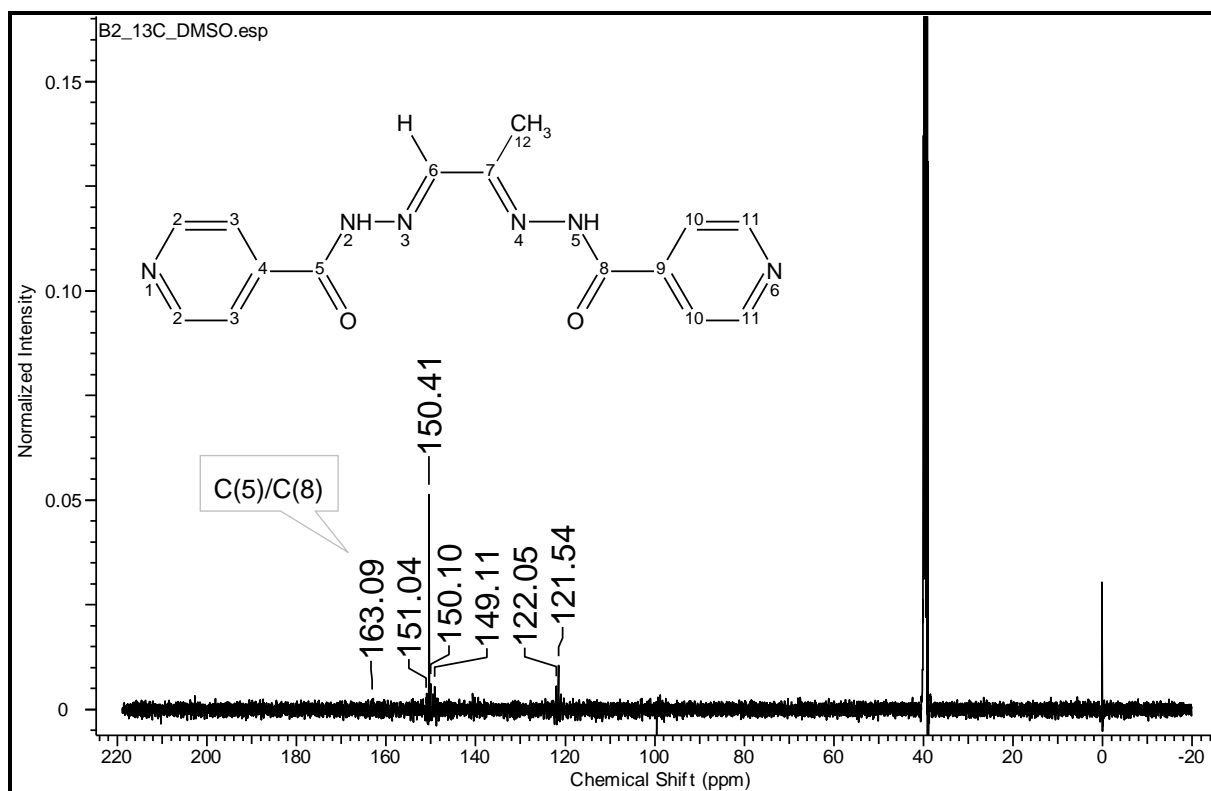
Fonte: A Autora, 2019.

Para **L06** são observados sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135 que também apontam para presença de pelo menos dois isômeros em solução. O isômero majoritário está presente em 72% enquanto que o minoritário em cerca de 28%. Os sinais referentes a H2/H11 e H3/H10 também caem sobrepostos como para **L05**. Os sinais em 12,23 e 11,18 ppm podem ser atribuídos a O(1)H/O(2)H de isômeros *E/Z*, enol ou de N(2)H/N(5)H de isômero *E*, ceto. A única possibilidade descartada é a de um sinal de N(2)H/N(5)H de isômero *Z*, ceto, pois não há sinal em torno de 15 ppm (Figura 59). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  é possível distinguir as espécies de isômeros majoritários devido a presença de do sinal em 163,09 ppm, desta forma, isômero majoritário só pode ser uma espécie *E* ou *Z*, enol (Figura 60).

Na Tabela 17 temos as principais atribuições feitas aos hidrogênios do isômero majoritário no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e na Tabela 18 estão as atribuições para os átomos de carbono apenas da espécie majoritária.

Figura 59 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L06** em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 60 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **L06** em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Fonte: A Autora, 2019.



Tabela 17 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^{\circ}$ ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L06** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$n^{\circ}$	M <sup>a</sup>	J (Hz)	$\delta$ (ppm)	
				E/Z, enol	Isômero B
O(1)H/ O(2)H	1/1	s/s		12,23/ 11,18	
<b>N(2)H/ N(5)H</b>					
H(2)/H(11)	4	d(sl)	nd/nd	7,80	8,72
H(3)/H(10)	4	d	12,6/nd	8,80-8,77	7,66
H(6)	1	s		8,14	
H(12)	3	s(sl)		2,25	2,25

Legenda: <sup>a</sup> s = simpleto; d = duplete; t = tripleto

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 18 – Atribuições (A), e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  (isômero majoritário) para **L06** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$\delta$ (ppm)
C(2)	150,41
C(3)	122,05
C(4)	140,69
C(5)/C(8)	163,09
C(6)	149,56
C(7)	149,11
C(9)	140,02
C(10)	121,54
C(11)	150,10
C(12)	-

Legenda: Atribuições feitas também com resultados de DEPT-135 e de acordo com a literatura (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005)

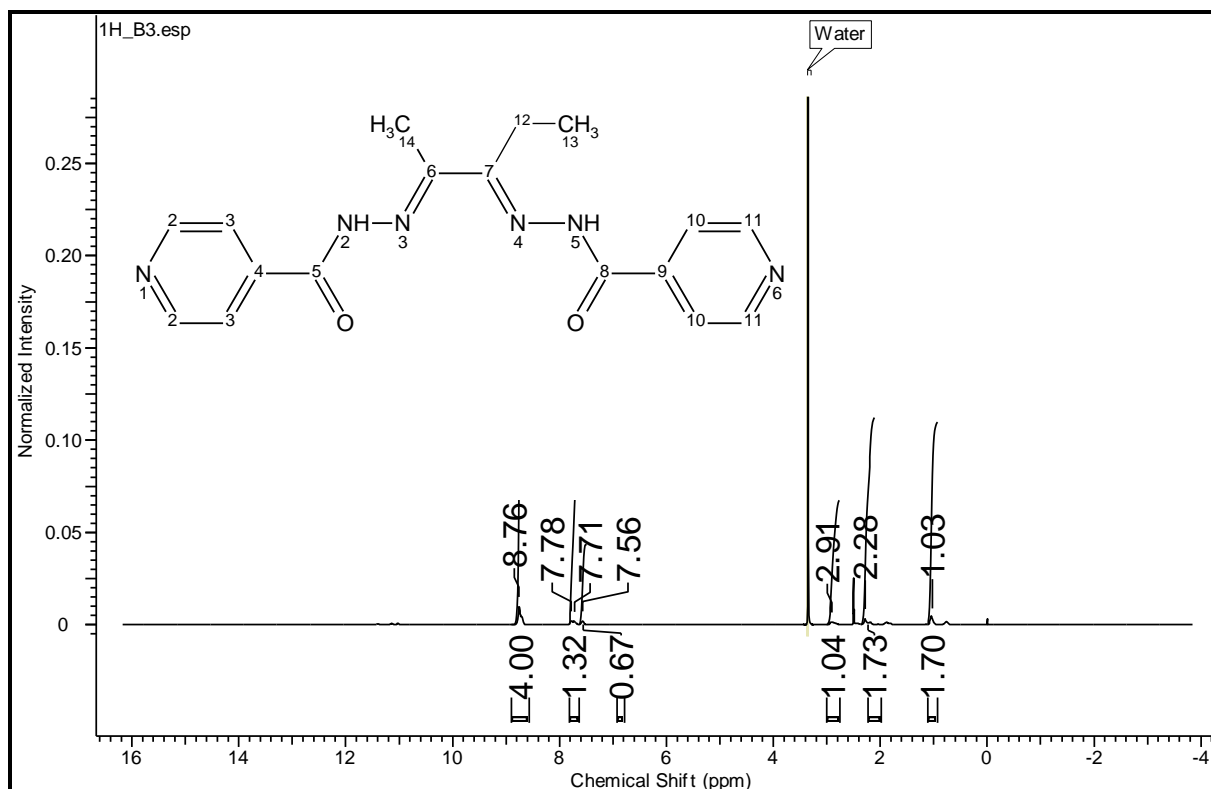
Fonte: A Autora, 2019.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{DMSO-}d_6$  da molécula **L07** (Figura 61) também apresenta pelo menos dois grupos de sinais referentes a dois isômeros presentes em solução. O isômero majoritário está presente em cerca de 87% e o isômero secundário presente em 13%. Os sinais com deslocamento químico em 11,02 e

11,14 ppm são atribuídos ao isômero majoritário e são característicos de O–H de isômeros *E/Z*, enol ou de N–H de isômero *E*, ceto; tal comportamento é semelhante ao detectado para as *bis*(hidrazonas) **L05** e **L06**. Os sinais de H(2)/H(11) e H(3)/H(10) também caem sobrepostos nas faixas de 8,76–8,70 e 7,78–7,57 ppm. Na Tabela 19 estão as principais atribuições feitas ao espectro de RMN de  $^1\text{H}$ .

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 62) o sinal em 163,09 ppm é característico dos carbonos C(5)/C(8) de isômeros *E/Z*, enol. Os demais sinais foram atribuídos com auxílio do espectro do experimento de DEPT-135 (Figura F1 – Apêndice F). Na Tabela 20 estão atribuídos os sinais de carbono para o composto **L07**.

Figura 61 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L07** em  $\text{DMSO-}d_6$



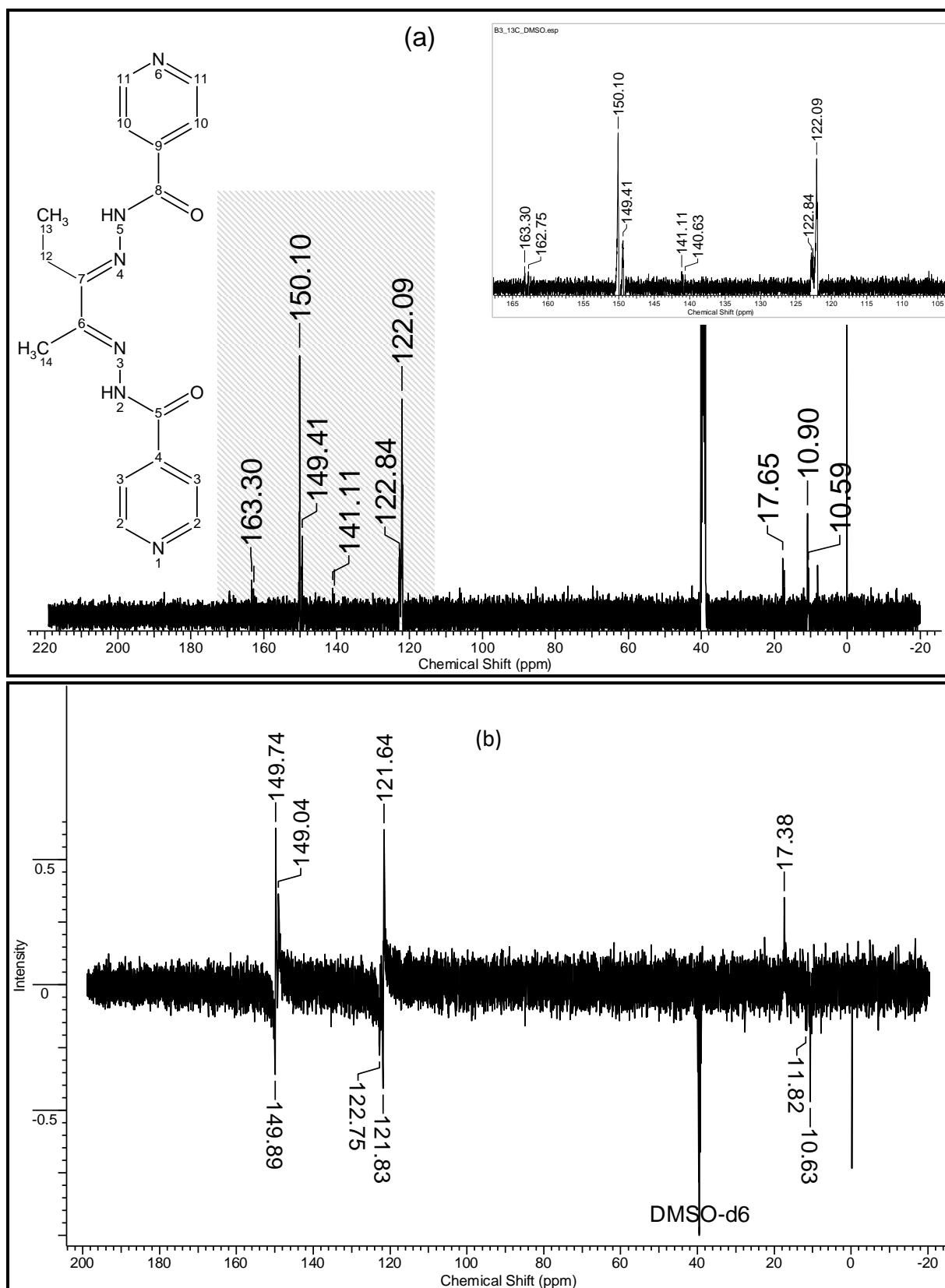
Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 19 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^{\circ}$ ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L07** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$n^{\circ}$	M <sup>a</sup>	J (Hz)	$\delta$ (ppm)	
				E/Z, enol	Isômero B
O(1)H/O(2)H	1/1	s/s		11,02/ 11,14	
N(2)H/N(5)H	1/1	s/s		11,40/ 10,94*	
H(2)/H(11)	4	s(sl)	nd	8,76 – 8,70	
H(3)/H(10)	4	s(sl)	s(sl)	7,78 – 7,57	
H(12)	2	s(sl)		2,90 – 2,84	
H(13)	3	s(sl)		1,04	
H(14)	3	s(sl)		2,28 – 2,19	

Legenda:<sup>a</sup> s = simpleto; d = dupleteo; t = tripleto

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 62 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **L07** obtido em  $\text{DMSO-d}_6$ 

Legenda: (a) espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  com região hachurada ampliada no canto direito superior e (b) DEPT-135.

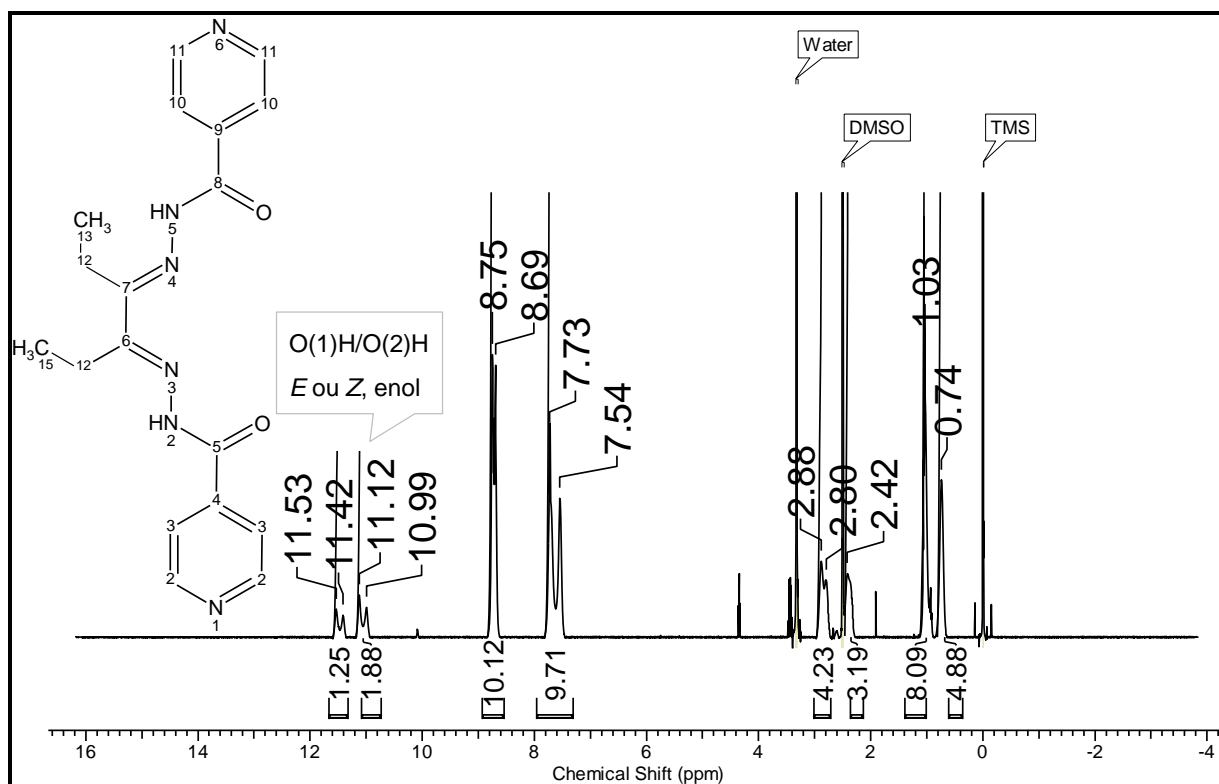
Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 20 – Atribuições (A), e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^{13}\text{C}^*$  de **L07** em  $\text{DMSO-}d_6$

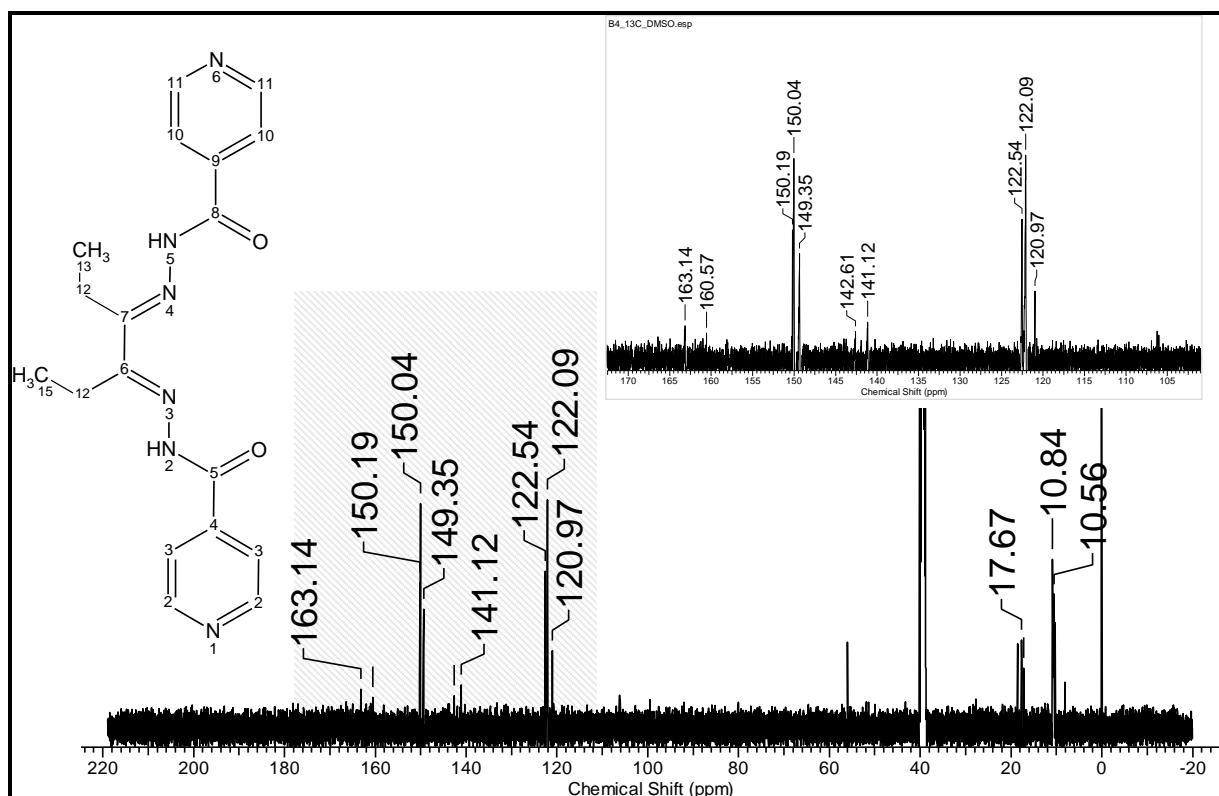
A	$\delta$ (ppm)
C(2)	149,04
C(3)	122,84
C(4)	141,11
C(5)	163,30
C(6)	149,41
C(7)	150,10
C(8)	162,75
C(9)	140,63
C(10)	122,09
C(11)	149,89
C(12)	17,38
C(13)	10,63
C(14)	11,82

Legenda: dados compilados do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135.  
 Fonte: A Autora, 2019.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de **L08** são apresentados nas Figuras 63 e 64. A *bis*(hidrazona) **L08**, assim como as demais moléculas também apresenta pelo menos dois isômeros, um isômero majoritário que poderia ser *E/Z*, enol ou *E*, ceto (72%) por conta dos deslocamentos químicos em 11,12 e 11,53 ppm e o isômero B (28%) com sinais em 11,42 e 10,99 ppm. Diferente dos casos anteriores, os sinais referentes aos hidrogênios H(3)/H(10) estão sobrepostos em dois grupos distintos; sendo um duplete (sinal largo) na faixa de 7,73 – 7,52 ppm e um simpleto (largo) em 7,54 ppm. Os sinais de C(5) e C(8) no espectro de  $^{13}\text{C}$  estão em 160,57 e 163,14 ppm, o que corrobora para a proposta de que **L08** também apresenta como isômero majoritário espécies *E/Z*, enol. Nas Tabelas 21 e 22 estão as principais atribuições para os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para **L08**, respectivamente.

Figura 63 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L08** em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 64 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **L08** em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Legenda: região hachurada ampliada no canto direito superior.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 21 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^{\circ}$ ), multiplicidade (M) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L08** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$n^{\circ}$	M <sup>a</sup>	J (Hz)	$\delta$ (ppm)	
				E/Z, enol	Isômero B
O(1)H/O(2)H	1/1	s/s		11,12/ 11,53	
N(2)H/N(5)H	1/1	s/s			11,42/ 10,99
H(2)/H(11)	4	d(sl)	nd	8,75 – 8,69	
H(3)/H(10)	4	d(sl)/s(sl)	nd/nd	7,73 – 7,52/ 7,54	
H(12)	2	s(sl)		2,42	
H(13)/H(15)	6	s(sl)		1,05	
H(14)	2	s(sl)		2,88 – 2,80	

Legenda: <sup>a</sup> s = simpleto; d = duplete; t = tripleto.  
 Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 22 – Atribuições (A), e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  (isômero majoritário) para **L08** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$\delta$ (ppm)
C(2)	150,04
C(3)	122,09
C(4)	141,12
C(5)	160,57
C(6)	149,35
C(7)	120,97
C(8)	163,14
C(9)	142,61
C(10)	122,54
C(11)	150,19
C(12)	17,17
C(13)	10,84
C(14)	17,67
C(15)	10,56

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.2.2 Caracterização dos complexos de ouro(III) C05–C08 com bis(N–acil hidrazonas) derivadas de INH

Foram sintetizados três complexos de ouro(III) com as bis(N–acil hidrazonas) H<sub>2</sub>ginh (**L05**), H<sub>2</sub>pinh (**L06**) e H<sub>2</sub>bpinh (**L08**) usando o tetracloroaurato de hidrogênio tri-hidratado (HAuCl<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O) como sal de partida (Seção 4.3): Au(H<sub>2</sub>ginh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C05**), [Au(Hpinh)OH]Cl (**C06**) e [Au(H<sub>2</sub>bpinh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C08**). O complexo de ouro(III) com a bis(N–acil hidrazona) **L07** não foi obtido. Os três complexos são inéditos e foram caracterizados por ponto de fusão, análise elementar, espectroscopia no infravermelho, condutivimetria e espectroscopia eletrônica (UV-visível).

#### 5.2.2.1 Características gerais: massas molares, rendimentos e propriedades físicas

As cores, rendimentos, composições, massas molares, fórmulas moleculares e condutividades molares dos complexos **C05**, **C06** e **C08** estão na Tabela 23. Segundo os valores obtidos para as condutividades molares em DMF, todos os complexos são eletrólitos o tipo 1:1 (GEARY,1971). Todos os compostos tiveram sua condutividade específica medida imediatamente após o preparo da solução em DMF e após 1 h, sendo que em todos os casos os valores se mantiveram próximos aos valores registrados inicialmente. Na Figura 65 estão as representações das estruturas **C05**, **C06** e **C08** propostas com base nos resultados de análise elementar, condutivimetria e espectroscopia no infravermelho.

Diferente dos demais, o composto **C06** apresenta o ligante hidróxido em sua esfera de coordenação. São encontrados na literatura outros complexos de ouro(III) com o ligante hidróxido. O composto 8 na Figura 3 sintetizado por Bindoli e colegas (2009) tem proposta estrutural com o mesmo ligante.



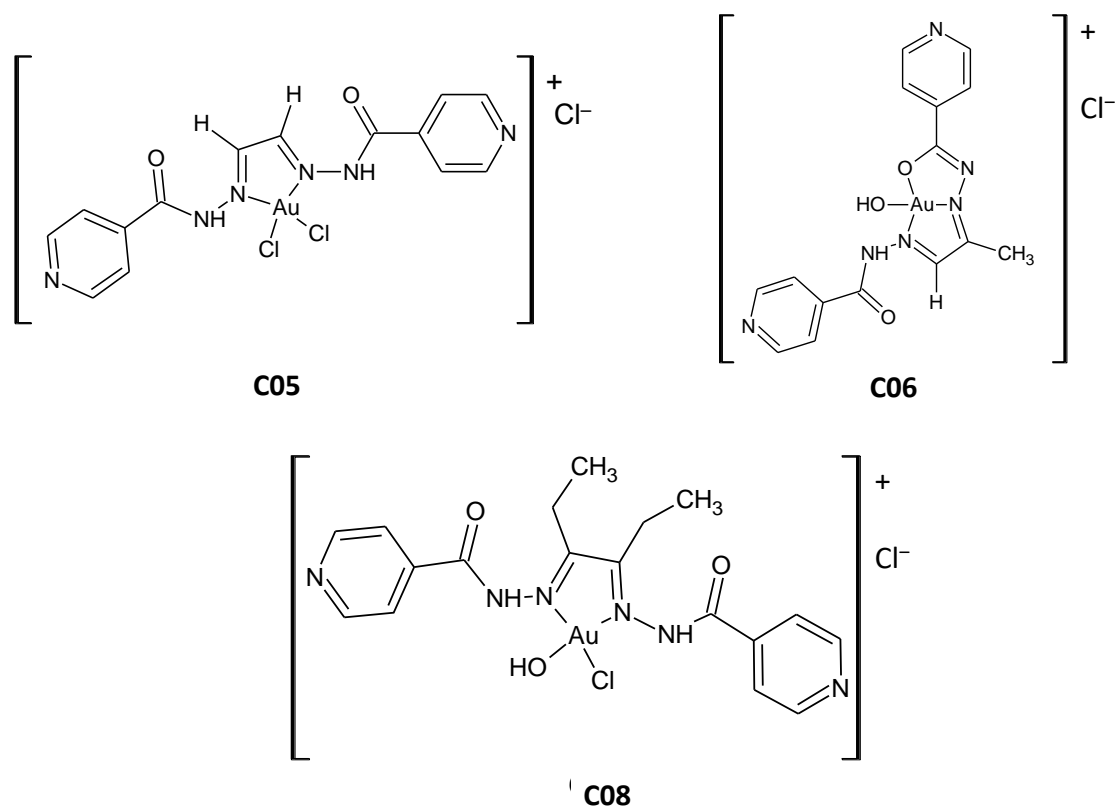
Tabela 23 – Cor, rendimento (R, %), composição (C, H e N, em %), fórmula molecular (FM), massa molar (MM, g mol<sup>-1</sup>), ponto de fusão (°C) e condutividade molar em DMF (1 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>,  $\Lambda_M$  em  $\Omega^{-1}$  cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>) dos compostos **C05**, **C06** e **C08**

	<b>C05</b>	<b>C06</b>	<b>C08</b>
<b>Cor</b>	Amarelo claro	Amarelo	Verde
<b>R</b>	57	70	61
<b>P.F.</b>	310,8 – 312,4 >337,8	232,9 – 234,9 Decompôs em 290	238,6 – 240,1 Decompôs em 270
<b>% C</b>	28,26 (28,29)	32,29 (32,24)	34,12 (33,08)
<b>% H</b>	2,37 (2,29)	2,69 (2,53)	3,34 (3,30)
<b>% N</b>	13,54 (13,65)	14,70 (15,04)	12,87 (12,51)
<b>FM</b>	C <sub>29</sub> H <sub>56</sub> Au <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> N <sub>12</sub> O <sub>5</sub> Au(H <sub>2</sub> ginh)Cl <sub>2</sub> ]Cl · ½CH <sub>3</sub> OH	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> AuClN <sub>6</sub> O <sub>3</sub> [Au(Hpinh)OH]Cl	C <sub>37</sub> H <sub>44</sub> Au <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> N <sub>12</sub> O <sub>5</sub> [Au(H <sub>2</sub> bpinh)Cl <sub>2</sub> ]Cl · ½CH <sub>3</sub> OH
<b>MM</b>	615,63	558,73	671,74
<b><math>\Lambda_M</math></b>	66,6 (26,3 °C) <sup>c</sup> 66,7 (24,7 °C) <sup>d</sup>	83,0 (28,0 °C) 82,7 (23,2 °C)	82,5 (25,5 °C) 85,2 (24,2 °C)

Legenda: <sup>a</sup> Valores de P.F. dos ligantes livres (°C) dos ligantes; <sup>b</sup> Valores teóricos; <sup>c</sup> Condutividade molar em t = 0 h e <sup>d</sup> Condutividade molar em t = 1 h.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 65 – Estrutura geral dos compostos **C05–C08**



Legenda: as moléculas de metanol foram omitidas para fins de clareza.

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.2.2.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros no infravermelho (IV) dos complexos **C05**, **C06** e **C08** foram obtidos por ATR na região de 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ . Nas Figuras 66–68 estão os espectros de cada complexo e o de seu respectivo ligante livre sobreposto. Na Tabela 24 são apresentadas as principais bandas de absorção desses compostos.

Tabela 24 – Principais bandas nos espectros de infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos ligantes **L05**, **L06** e **L08** e seus respectivos complexos de ouro(III) **C05**, **C06** e **C08**, obtidos por ATR na faixa de 4000–600  $\text{cm}^{-1}$

Composto	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	$\rho(\text{py})$
<b>L05</b>	3054	1666	1531	674
<b>C05</b>	3065	1667	1540	667
<b>L06</b>	3025	1653	1526	680
<b>C06</b>	3039	1675	1544	667
<b>L08</b>	2967	1662	1522	679
<b>C08</b>	2971	1678	1530	695

Legenda:  $\text{Au}(\text{H}_2\text{ginh})\text{Cl}_2\text{Cl}\cdot\frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C05**),  $[\text{Au}(\text{Hpinh})\text{OH}]\text{Cl}$  (**C06**) e  $[\text{Au}(\text{H}_2\text{bpinh})\text{Cl}_2\text{Cl}\cdot\frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}]$  (**C08**).

Fonte: A Autora, 2019.

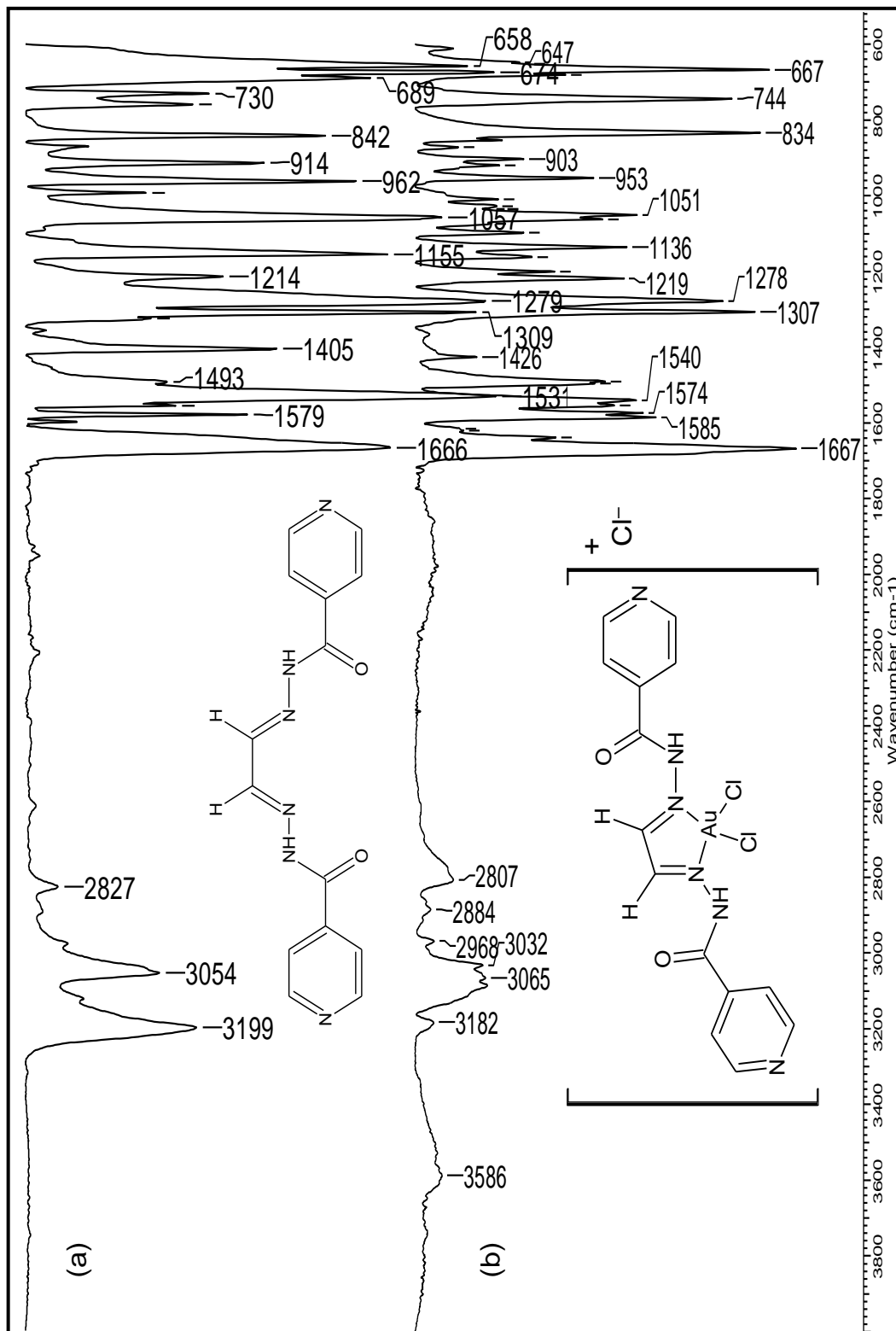
As bandas de absorção  $\nu(\text{C=O})$  encontradas na faixa de 1653–1666  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros das *bis*(hidrazonas) livres estão deslocadas para regiões de maior energia (1667–1678  $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros dos complexos, indicando que ao coordenar-se ao íon ouro(III), os ligantes permanecem com o grupamento carbonila e que em geral possivelmente o oxigênio não está coordenado ao metal.

A mudança no ambiente químico fica evidente pelo deslocamento das bandas de estiramento  $\nu(\text{N-H})$  dos complexos (2971–3065  $\text{cm}^{-1}$ ) em comparação com os estiramentos  $\nu(\text{N-H})$  das *bis*(hidrazonas) (2967–3054  $\text{cm}^{-1}$ ).

A coordenação ao átomo de ouro(III) ocorre possivelmente nos nitrogênios imínicos; isto se deve ao fato de que o deslocamento das bandas de estiramento  $\nu(\text{C=H})$  das *bis*(hidrazonas) deslocam-se de 1522–1531  $\text{cm}^{-1}$  para 1530–1540  $\text{cm}^{-1}$  nos complexos **C05**, **C06** e **C08**. Em **L05** e **L08** os deslocamentos são menores que

para **L06**; e pode ser resultado da simetria de **L05** e **L08**, ambos com grupos R iguais (**L05** com R = H e **L08** com R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>).

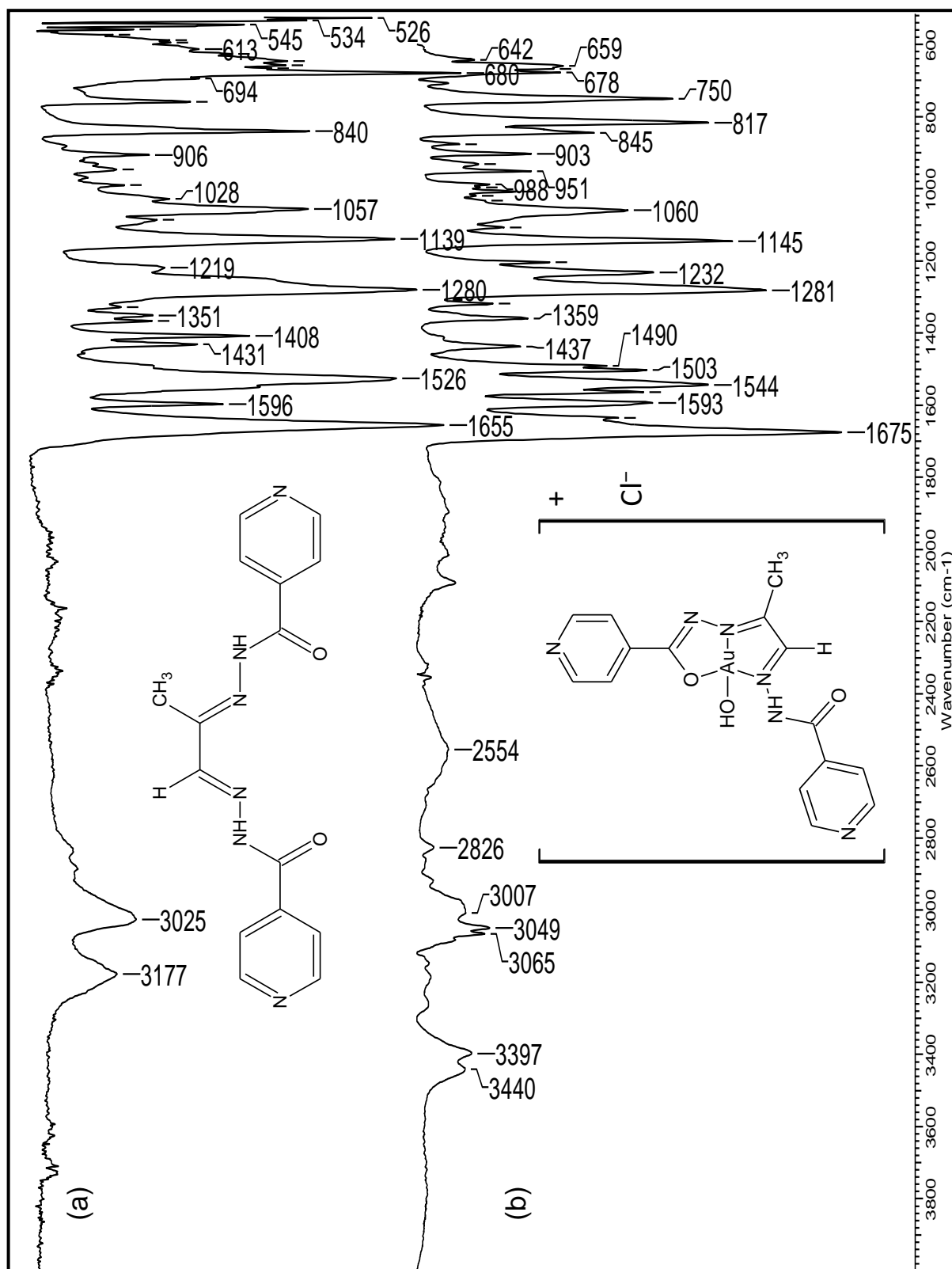
Figura 66 – Espectro no IV de **C05** obtido por ATR



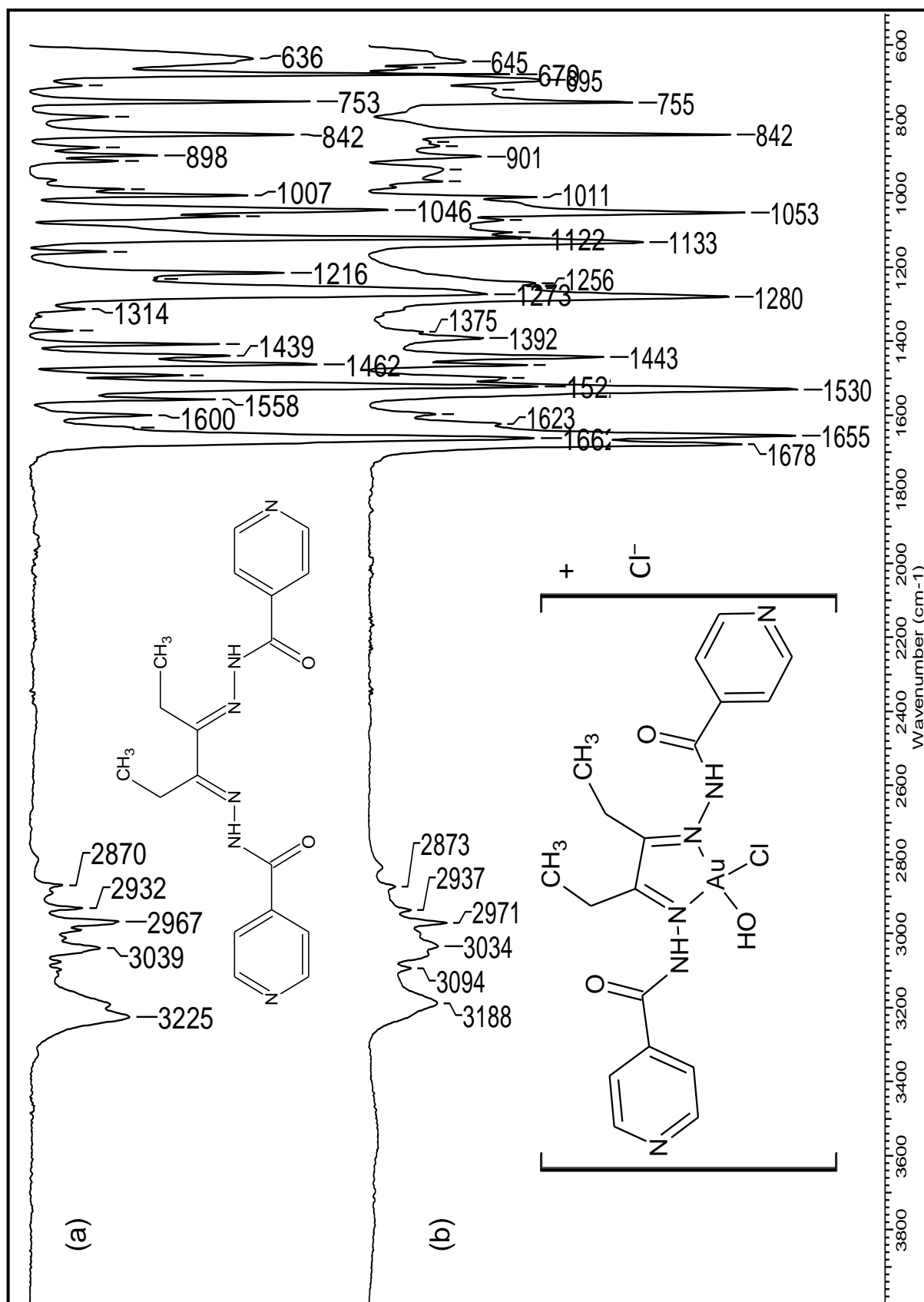
Legenda: Faixa de 4000-600 cm<sup>-1</sup>. Espectro de (a) L05 e (b) C05.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 67 – Espectro de IV de C06 obtido por ATR



Legenda: Faixa de 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Espectro de (a) L06 e (b) C06.  
 Fonte: A Autora, 2019.

Figura 68 – Espectro de IV de **C08** obtido por ATR

Legenda: Os espectros foram obtido por ATR na faixa de 4000–600 cm<sup>-1</sup>.  
 Fonte: A Autora, 2019.

Na Tabela 25 estão as atribuições às principais bandas encontradas nos espectros de IV dos **C05**, **C06** e **C08** na região do baixo IV na faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ . As absorções nas regiões de 342–409  $\text{cm}^{-1}$  e de 315–356  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídas à vibração característica das ligações  $\nu(\text{Au-N})$  (CASAS; CASTELLANO; TABOADA, 2006), isto sugere que os complexos **C05**, **C06** e **C08** encontram-se coordenados à dois átomos de nitrogênio. Nos espectros dos complexos **C05** e **C08** são encontradas bandas referentes aos estiramentos das ligações Au-Cl na faixa de 448–528  $\text{cm}^{-1}$  (VICENTE; CHICOTE, 1982). A banda referente ao  $\nu(\text{Au-O})$  de **C06** e **C08** encontram-se em 245–210  $\text{cm}^{-1}$  (para **C06**, que apresenta duas ligações Au-O) e em 172  $\text{cm}^{-1}$  para **C08** (GARZA-ORTIZ et al., 2007). Tais resultados corroboram com as propostas estruturais de coordenação do ouro(III) às bis (N-acil hidrazonas) nos complexos **C05**, **C06** e **C08** (Figura 65).

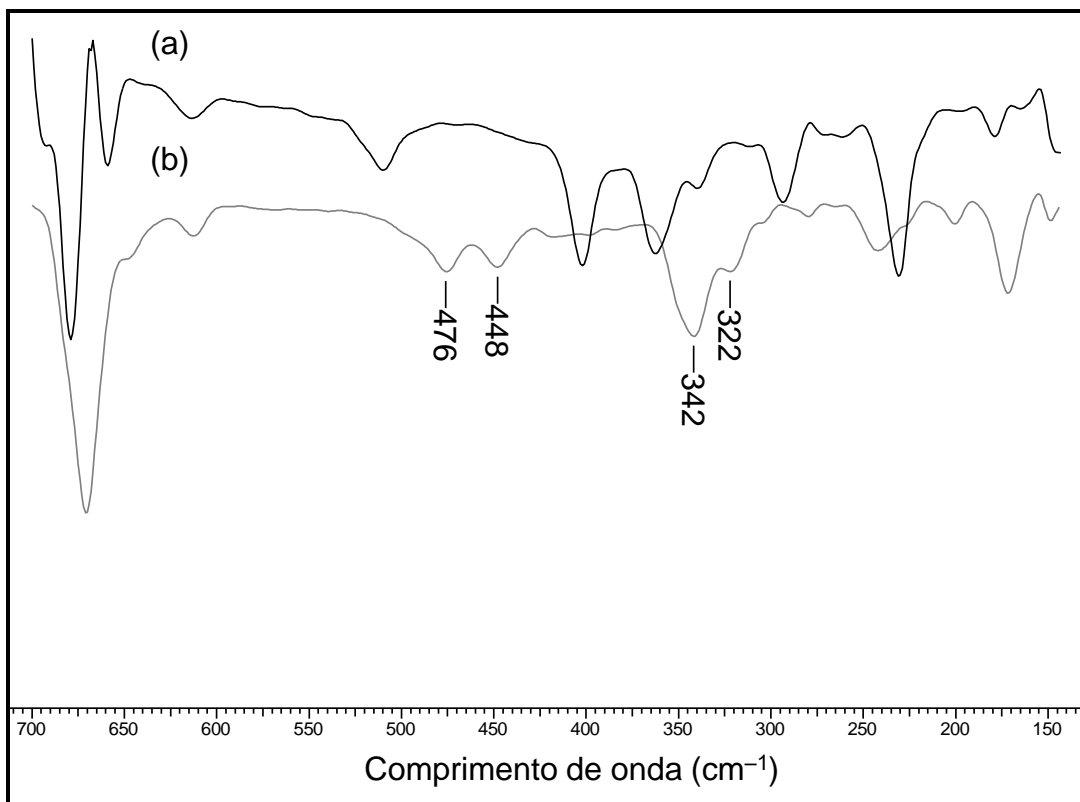
Tabela 25 – Principais bandas nos espectros de infravermelho ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos complexos de ouro(III) **C05**, **C06** e **C08**, obtidos em pastilhas de Csl na faixa de 700–140  $\text{cm}^{-1}$

Compostos	$\nu(\text{Au-O})$	$\nu(\text{Au-N})$	$\nu(\text{Au-Cl})$
<b>C05</b>	-	342/322	475/448
<b>C06</b>	245/210	370/315	-
<b>C08</b>	172	409/356	528

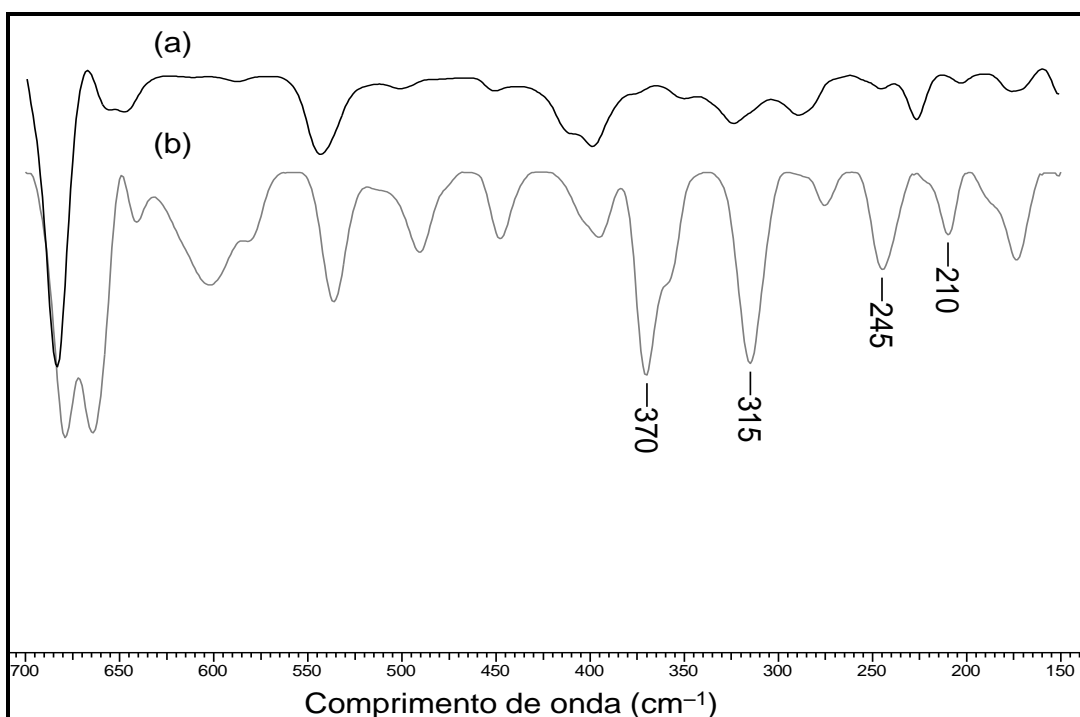
Legenda:  $\text{Au}(\text{H}_2\text{ginh})\text{Cl}_2\text{Cl}\cdot\frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C05**),  $[\text{Au}(\text{Hpinh})\text{OH}]\text{Cl}$  (**C06**) e  $[\text{Au}(\text{H}_2\text{bpinh})\text{Cl}_2\text{Cl}\cdot\frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C08**).

Fonte: A Autora, 2019.

Nas Figuras 69–71 estão os espectros de IV na região de 700–170  $\text{cm}^{-1}$  dos complexos de ouro(III) com as *bis*(N-acil hidrazonas) **L05**, **L06** e **L08**, respectivamente.

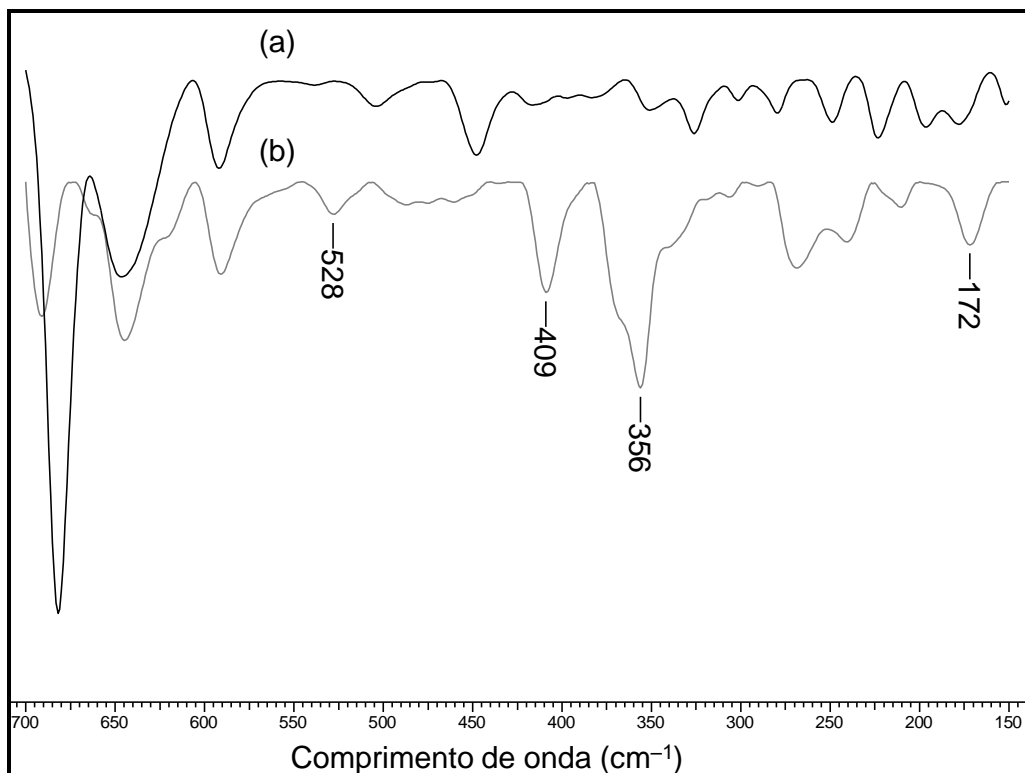
Figura 69 – Espectros no IV de **C05** obtido em pastilha de CsI

Legenda: obtidos em pastilha de CsI na faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ .  
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 70 – Espectros no IV de **C06** obtido em pastilha de CsI

Legenda: obtidos em pastilha de CsI na faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ .  
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 71 – Espectro no IV de **C08** obtido em pastilha de CsI



Legenda: obtidos em pastilha de CsI na faixa de 700–170  $\text{cm}^{-1}$ .

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.2.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

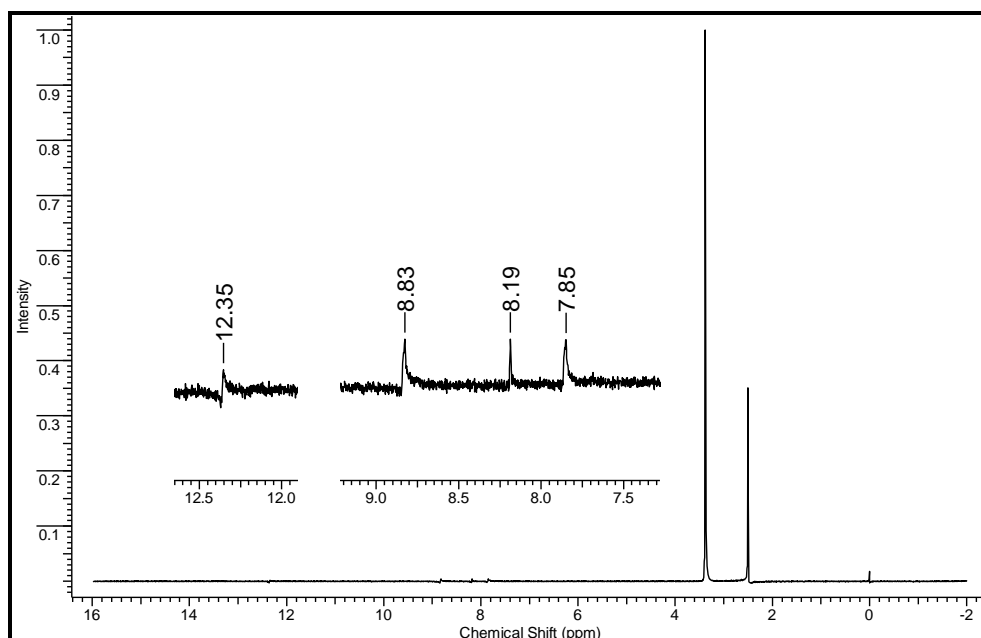
Na Tabela 26 estão as principais atribuições para o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C05**, **C06** e **C08** e na Tabela 27 estão as principais atribuições para o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **C06**.

O complexo **C06** foi caracterizado por espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em  $\text{DMSO-}d_6$ . **C05** e **C08** são poucos solúveis no referido solvente e para esses compostos só foi possível obter espectros de RMN de  $^1\text{H}$ . Os sinais encontrados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos **C05** e **C08** referentes aos hidrogênios dos ligantes **L05** e **L08**, respectivamente mostraram-se deslocados para valores de maior deslocamento químico. Há um sinal em 12,36 ppm no espectro de **L05** e em 11,02 ppm no espectro de **L08** livres que são característicos de N–H de isômero *E*, ceto ou O–H de isômeros *E/Z*, enol; entretanto, apenas com os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  não é possível concluir definitivamente sobre o modo como tais ligantes se coordenaram ao ouro(III) (Figuras 72 e 73). Posteriormente foi feita uma tentativa de



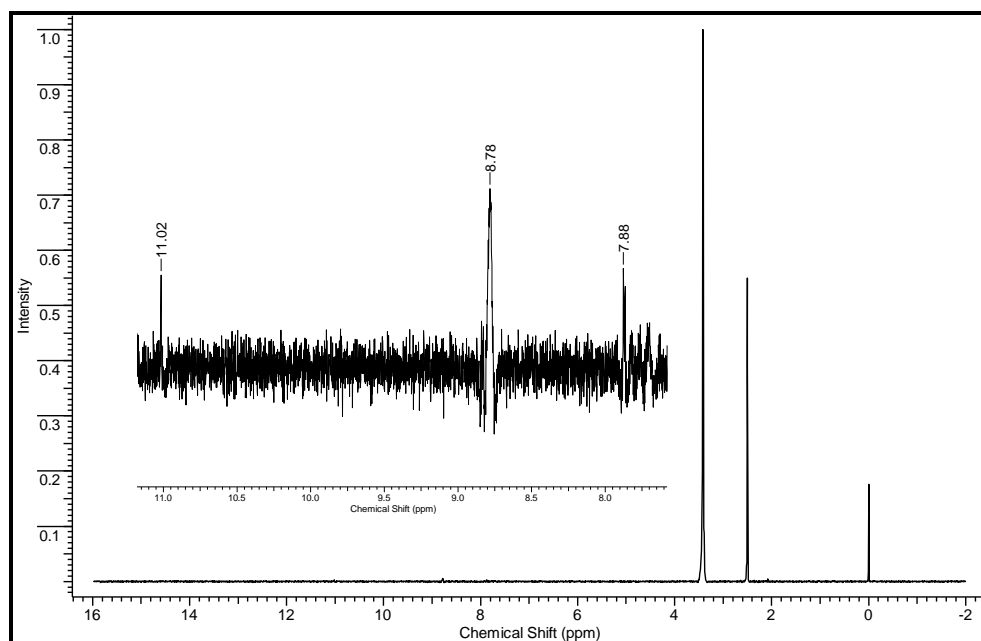
obtenção desses dados utilizando  $\text{CD}_3\text{OD}$ , mas não foram obtidos espectros, devido a limitações de solubilidade.

Figura 72 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C05** obtido em  $\text{DMSO-}d_6$



Fonte: A Autora, 2019.

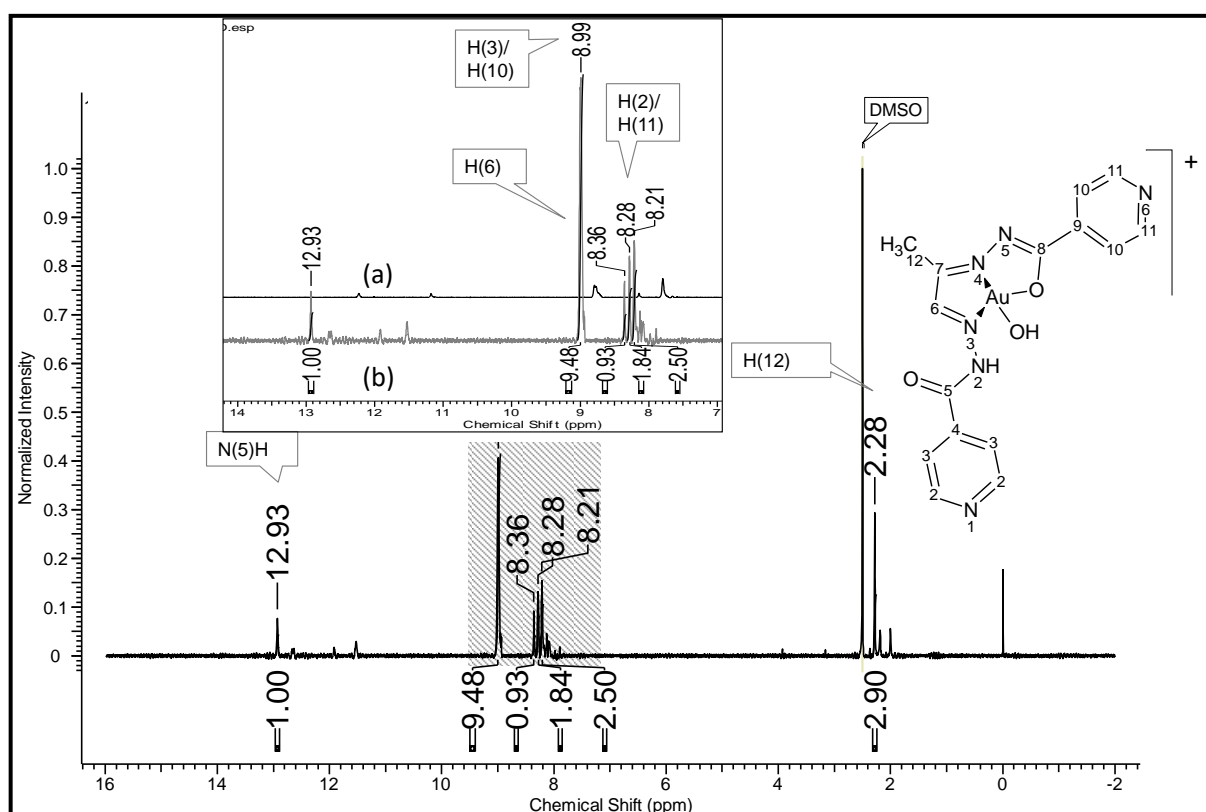
Figura 73 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C08** obtido em  $\text{DMSO-}d_6$



Fonte: A Autora, 2019.

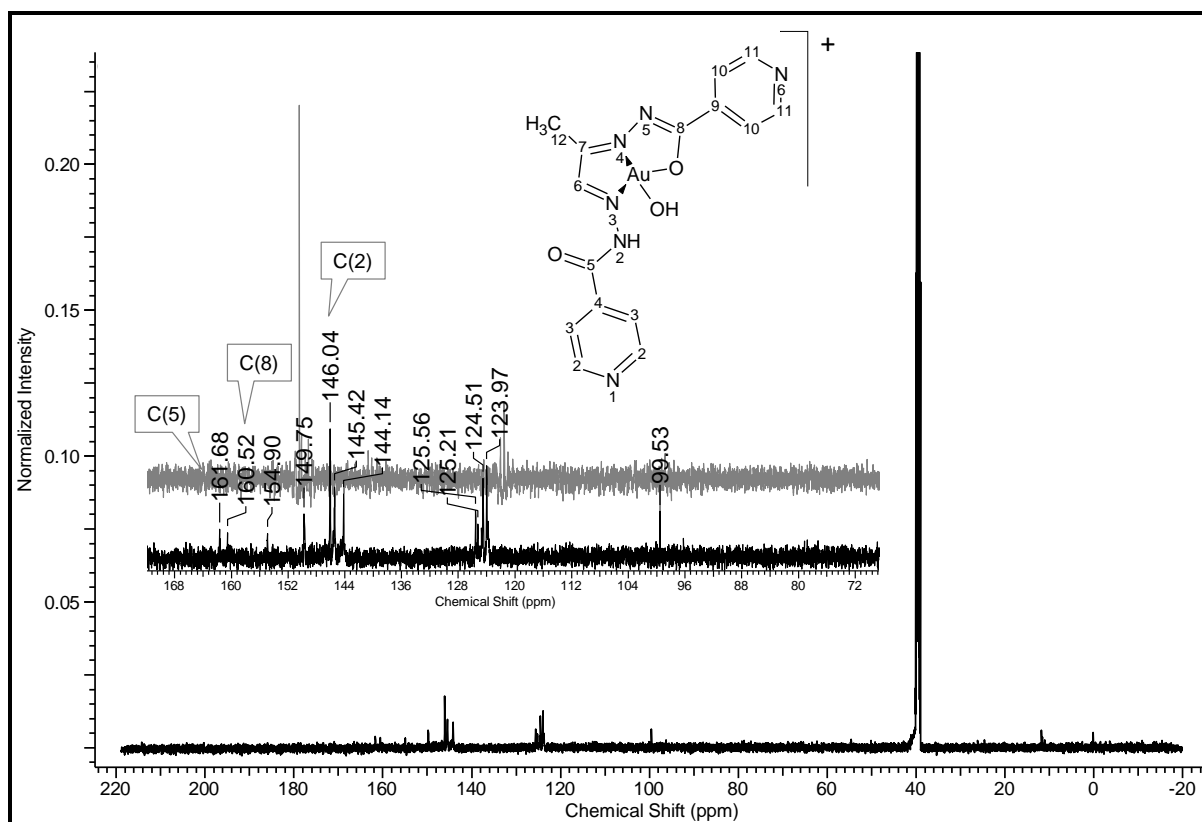
Os sinais no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **C06** estão deslocados em relação à *bis*(hidrazona) **L06** livre. O sinal em 12,93 ppm é também referente ao próton de grupos N–H ou O–H em isômeros *E*, ceto ou *E/Z*, enol porém são identificados sinais menores na faixa de 12,67 – 11,52 ppm que sinalizam uma possível descomplexação em solução (Figura 74). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  os sinais com deslocamento químico em 161,68 e 160,52 ppm indicam que é provável que pelo menos uma das carbonilas, que não coordenou-se ao ouro(III), tenha sido protonada de forma que **L06** apresente-se na forma de *E* ou *Z*, enol (Figura 75).

Figura 74 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **C06** obtido em  $\text{DMSO-}d_6$



Legenda: Ampliação da região de 14,00–7,00 ppm de (a) **L06** e (b) do composto **C06**.

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 75 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **C06** obtido em  $\text{DMSO-}d_6$ 

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 26 – Atribuições (A), número de hidrogênios ( $n^0$ ), multiplicidade (M)<sup>a</sup>, constantes de acoplamento<sup>b</sup> e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^1\text{H}$  para **L05**, **L06** e **L08** e seus complexos de ouro(III) **C05**, **C06** e **C08** em  $\text{DMSO-}d_6$

A	$n^0$	M	L05	M	C05	M	L06	M	C06	M	L08	M	C08
O(1)/H/O(2)H	1/1			s	12,36	s/s	12,23/ 11,18	s	12,93	s/s	11,12/ 11,53	s	11,02
N(2)H/N(5)H	1/1												
H(2)/H(11)	4	s(sl)	7,81	d(sl)	7,86- 7,85 (4,4)	d(sl)	7,8	s(sl)	8,28- 8,21	d(sl)	8,75- 8,69	s(sl)	8,79- 8,71
H(3)/H(10)	4	d	8,80- 8,81	d(sl)	8,84- 8,83 (3,8)	d	8,80- 8,77	d(sl)	9,00- 8,99	d(sl)/ s(sl)	7,73- 7,52/7, 54	d(sl)	7,88- 7,86
H(6)/H(7)	1/1	s	8,18	s	8,19	s	8,14	s(sl)	8,36				
H(12)	2					s(sl)	2,25	t(sl)	2,28	s(sl)	2,42		
H(13)/H(15)	3/3									s(sl)	1,05		
H(14)	2									s(sl)	2,88- 2,80		

Legenda:  $\text{Au}(\text{H}_2\text{ginh})\text{Cl}_2[\text{Cl} \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C05**),  $[\text{Au}(\text{Hpinh})\text{OH}]\text{Cl}$  (**C06**) e  $[\text{Au}(\text{H}_2\text{bpinh})\text{Cl}_2][\text{Cl} \cdot \frac{1}{2}\text{CH}_3\text{OH}$  (**C08**). <sup>a</sup> s = simpleto; d = duplete; t = tripleto; sl = sinal largo. <sup>b</sup> As constantes de acoplamento, J (Hz), encontram-se entre parênteses.  
Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 27 – Atribuições (A) e deslocamentos químicos ( $\delta$ , em ppm) dos principais sinais de  $^{13}\text{C}$  para **L06** e **C06** em  $\text{DMSO}-d_6$

A	$\delta$ (ppm)	
	L06	C06
<b>C(2)</b>	150,41	146,04
<b>C(3)</b>	122,05	124,51
<b>C(4)</b>	140,69	143,87
<b>C(5)</b>	163,09	161,68
<b>C(6)</b>	149,56	149,49
<b>C(7)</b>	149,11	144,14
<b>C(8)</b>	162,90	160,52
<b>C(9)</b>	140,02	nd
<b>C(10)</b>	121,54	123,97
<b>C(11)</b>	150,10	145,42
<b>C(12)</b>	26,54	nd

Fonte: A Autora, 2019.

#### 5.2.2.4 Espectroscopia eletrônica (UV-visível)

Os espectros eletrônicos de **L05** (Figura 76) e **L06** (Figura 77) livres apresentam duas bandas de absorção, sendo a banda mais intensa com  $\lambda_{\text{máximo}}$  entre 316–321 nm ( $\epsilon = 2,57 \times 10^4$  e  $4,27 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) e a segunda banda encontra-se em 437–432 nm ( $\epsilon = 2,03 \times 10^3$  e  $1,70 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ) é menos intensa. Para **L08** (Figura 78), são identificadas duas bandas sobrepostas e de maior energia do que as bandas características de **L05** e **L06**, estando elas em 277 e 300 nm e com intensidades de mesma ordem de grandeza ( $\epsilon = 1,64 \times 10^4$  e  $1,60 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ).

Todas as absorções podem ser atribuídas a transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$  realizadas por elétrons presentes nas ligações duplas, principalmente do grupo carbonil (C=O) e do grupo imínico (C=N). É importante ressaltar que a substituição dos grupos  $R_1$  e  $R_2$  em **L06** e **L08** por grupos metil e etil promoveu deslocamento batocrômico (em comparação a **L05** cujos substituintes  $R_1$  e  $R_2$  são hidrogênios). O fato de tais grupos não terem par de elétrons isolados e mesmo assim promoverem

um efeito batocrômico pode estar associado a uma interação resultante da sobreposição de orbitais ligantes C–H com o sistema  $\pi$ , num efeito de hiperconjugação (KRIZ; PAVIA; LAMPMAN, 2010).

Os espectros eletrônicos no UV-vis dos complexos **C05**, **C06** e **C08** apresentam uma banda de absorção na faixa de 306–322 nm ( $\epsilon = 2,55 \times 10^4$  e  $3,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ), respectivamente. Em todos os compostos as bandas estão deslocadas para energias mais altas (deslocamento hipsocrômico), sendo que para **C08** o deslocamento é mais evidente que para **C05** e **C06**. Tal efeito é o oposto ao observado para as bis(hidrazonas) livres; sendo assim, pode-se concluir que a coordenação ao íon metálico ouro(III) promove uma mudança significativa no ambiente químico a ponto de reverter o efeito batocrômico inicial.

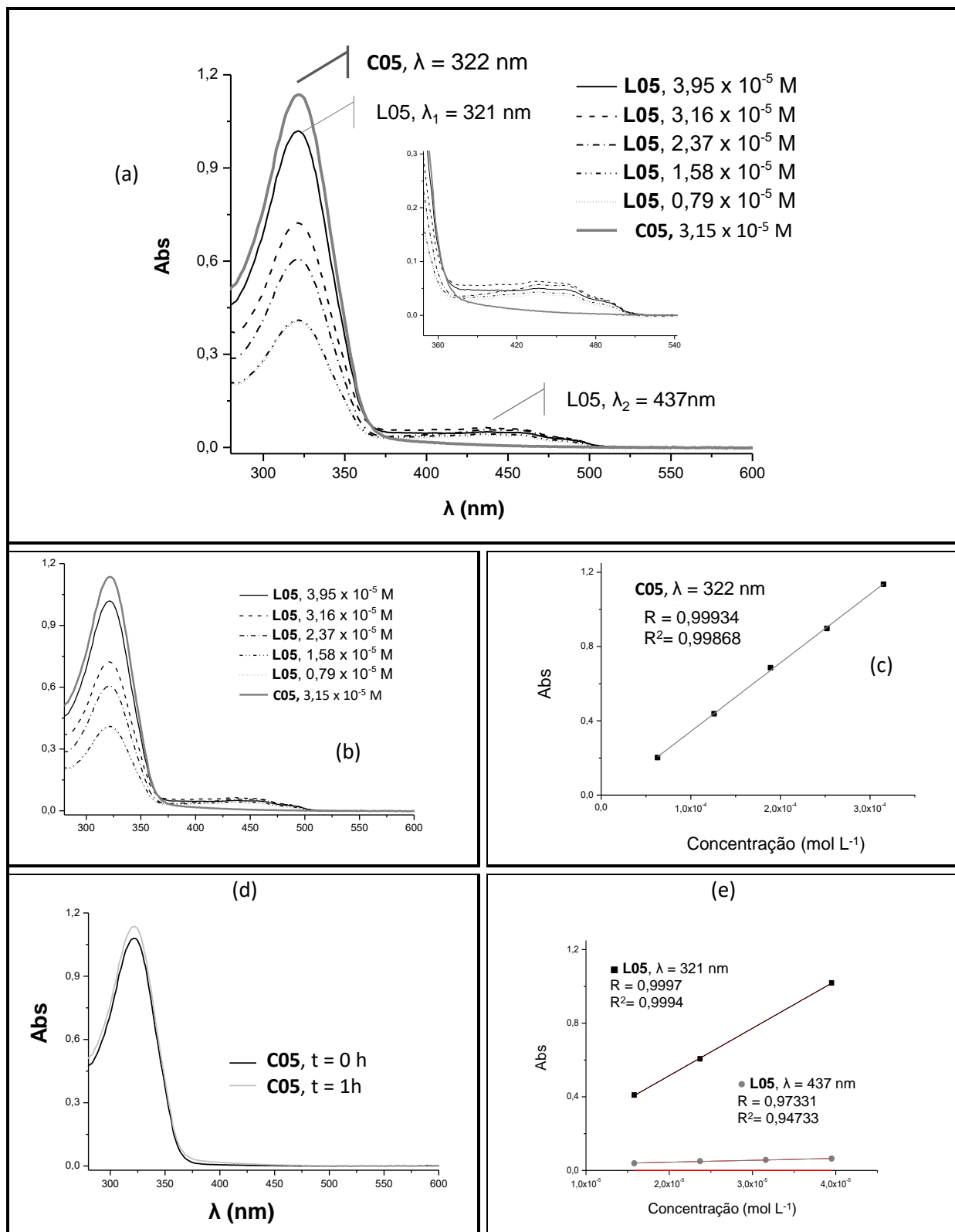
Todos os complexos foram avaliados quanto à estabilidade em DMF após 1 h da leitura da solução de absorvância 1,0. Os espectros obtidos em  $t = 1\text{h}$  sofreram uma pequena modificação em relação aos espectros de  $t = 0\text{h}$ ; desta forma, considera-se que nesta concentração, os compostos são razoavelmente estáveis em solução.

Na Tabela 28 são apresentados os comprimentos de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de bandas observadas nos espectros eletrônicos das *bis(N-acil hidrazonas)* livres e de seus complexos de ouro(III) em DMF.

Tabela 28 – Valores de comprimentos de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de bandas observadas nos espectros eletrônicos de **L05**, **L06** e **L08** de seus complexos de ouro(III) em DMF

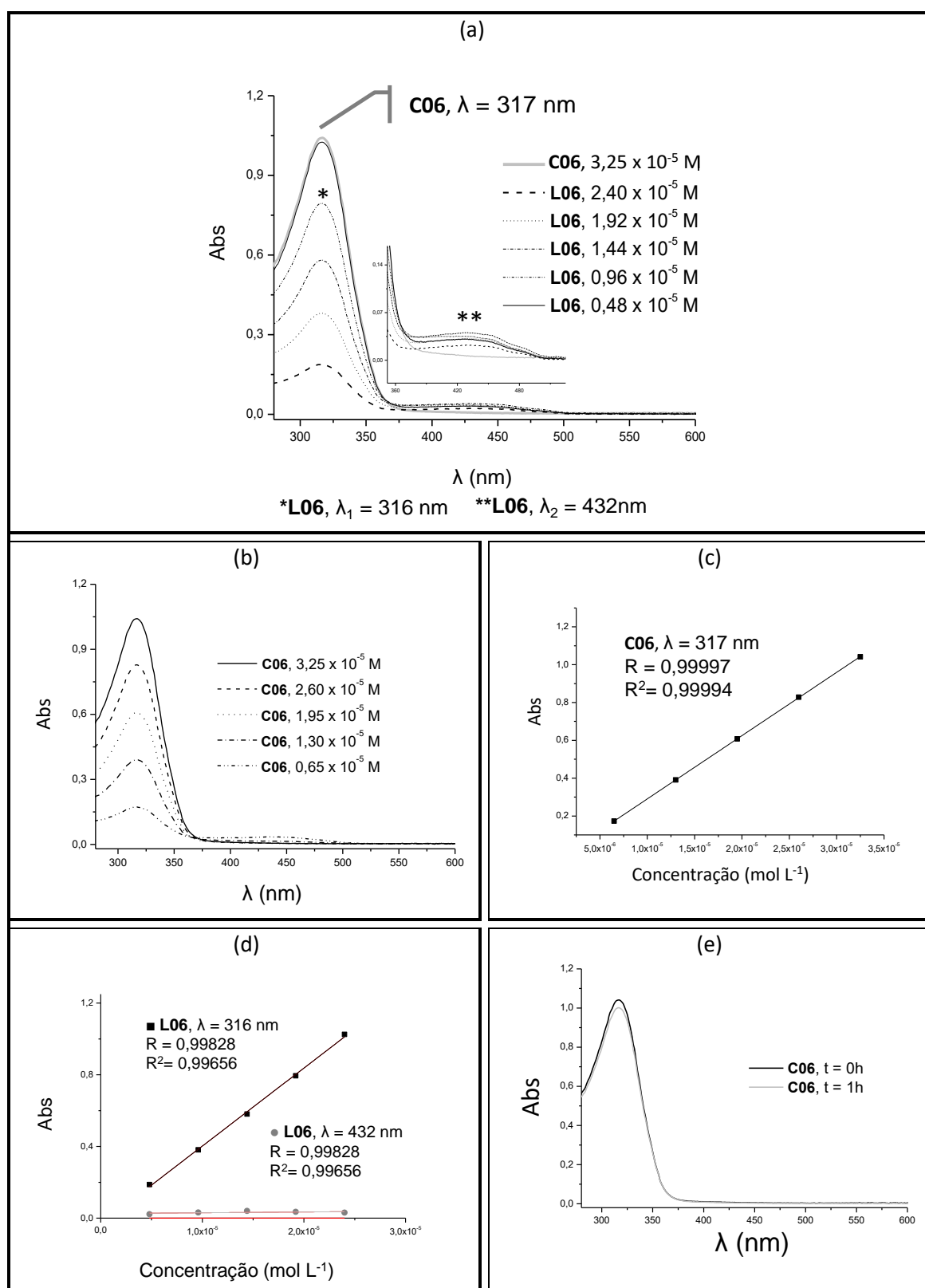
Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ )
<b>L05</b>	321	$2,57 \times 10^4$
	437	$2,03 \times 10^3$
<b>C05</b>	322	$3,60 \times 10^3$
<b>L06</b>	316	$4,27 \times 10^4$
	432	$1,70 \times 10^3$
<b>C06</b>	317	$3,20 \times 10^4$
<b>L08</b>	277	$1,64 \times 10^4$
	300	$1,60 \times 10^4$
<b>C08</b>	306	$2,55 \times 10^4$

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 76 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L05** e **C05** em DMF

Legenda: (a) curvas de diluição de **L05** em comparação com **C05** (DMF), (b) curvas de diluição de **C05** em DMF, (c) regressão linear para  $\lambda_{\text{máximo}} = 322$  nm de **C05**, (d) espectros eletrônicos da solução de **C05** na concentração  $3,15 \times 10^{-5}$  M em  $t = 0$  h e  $t = 1$  h, (e) regressões lineares para **L05** nos  $\lambda_{\text{máximos}} = 321$  e  $437$  nm.

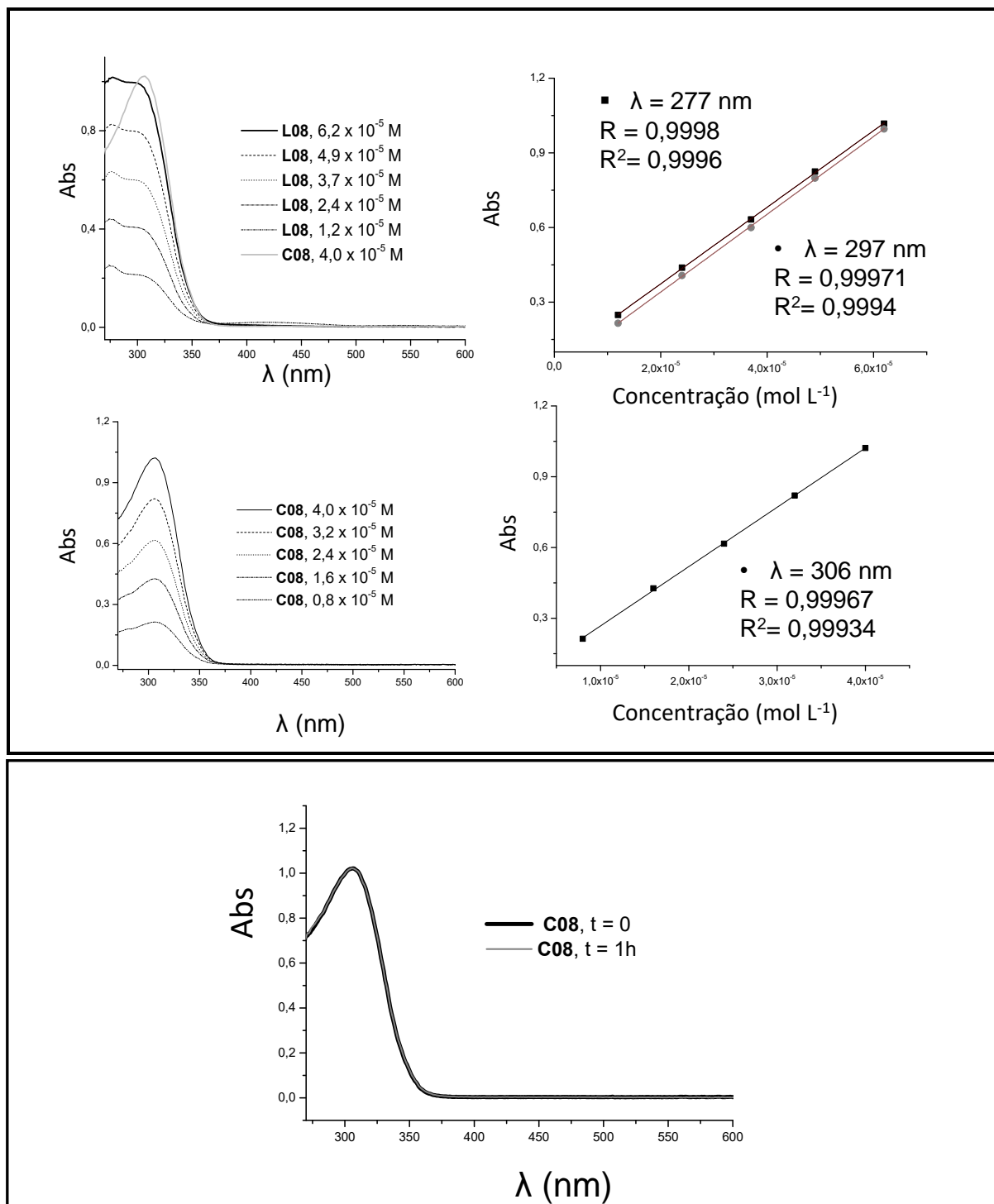
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 77 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L06** e **C06** em DMF

Legenda: (a) Curvas de diluição **L06** em DMF; (c) e (d) regressões lineares referente as curvas de diluição no gráfico Absorbância versus  $\lambda_{\text{máximo}}$ , R e R<sup>2</sup> de **L06** ( $\lambda = 316$  e  $432$  nm) e **C06** ( $\lambda = 317$  nm), respectivamente; (b) curvas de diluição de **C06** em DMF e (e) Curvas do composto **C06** imediatamente após o preparo e 1 hora depois.

Fonte: A Autora, 2019.



Figura 78 – Espectros eletrônicos no UV-vis de **L08** e **C08** em DMF

Legenda: (a) Curvas de diluição **L08** em DMF; (b) e (d) regressões lineares referente as curvas de diluição no gráfico Absorbância versus  $\lambda_{\text{máximo}}$ , R e  $R^2$  de **L08** ( $\lambda = 277$  e  $297$  nm) e **C08** ( $\lambda = 306$  nm), respectivamente; (c) curvas de diluição de **C08** em DMF e (e) Curvas do composto **C08** imediatamente após o preparo e 1 hora depois.

Fonte: A Autora, 2019.

### 5.2.3 Ensaio biológico

Todas as *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida e seus complexos de ouro(III) foram enviados para realização dos ensaios biológicos na UFMG. Até o fim da elaboração da tese os resultados não foram enviados os resultados. Com a finalização dos ensaios, os resultados serão publicados em artigo dos complexos de ouro(III) com as *bis*(N-acil hidrazonas).

## CONCLUSÃO

No presente trabalho foram sintetizadas N-acil e *bis*(N-acil hidrazonas) derivadas de isoniazida e seus complexos metálicos ouro(III) com a finalidade de caracterizar e investigar o possível potencial citotóxico frente às linhagens de células tumorais: HL-60 (leucemia humana promielocítica), MCF-7 e MDA-MB-231 (carcinoma de mama), HCT-116 (carcinoma colorretal) e PC-3 (próstata); além da linhagem não tumoral HEK-293 (células não tumorais embrionárias de rim humano).

As estruturas dos compostos sintetizados foram elucidadas com o auxílio de diferentes técnicas, como: ponto de fusão; análise elementar; espectrometria de massas, espectroscopia de IV, UV-visível e RMN e condutivimetria. Devido à baixa solubilidade de alguns compostos, foram necessárias diversas tentativas de solubilização e repetição de determinadas análises (quando disponíveis).

Foram sintetizadas e caracterizadas as N-acil e *bis*(N-acil hidrazonas): Hpcih (**L01**), Hapih (**L02**), Hbpih (**L03**), Hpamih (**L04**), H<sub>2</sub>ginh (**L05**), H<sub>2</sub>pinh (**L06**) e H<sub>2</sub>pamih (**L07**) – descritas na literatura, e H<sub>2</sub>bpinh (**L08**), que é inédita. Dentre os complexos, foram obtidos e caracterizados seis novos complexos: [Au(H<sub>3</sub>pcih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C01**), [Au(H<sub>3</sub>bpih)Cl<sub>3</sub>]Cl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**C03**) e [Au(pamih)Cl<sub>2</sub>]·½CH<sub>3</sub>OH (**C04**), Au(H<sub>2</sub>ginh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C05**), [Au(Hpinh)OH]Cl (**C06**) e [Au(H<sub>2</sub>binh)Cl<sub>2</sub>]Cl·½CH<sub>3</sub>OH (**C08**); tendo como ligantes **L01**, **L03–L06** e **L08**.

Todos os compostos foram enviados para os ensaios biológicos com a finalidade de avaliação da atividade citotóxica preliminar e posterior realização do ensaio clonogenicidade e análise do ciclo celular dos compostos com resultados mais promissores. Contudo, até o momento somente os resultados de **L01**, **L02**, **L04**, **C01**, **C03** e **C04** haviam sido liberados.

**L02** foi N-acil hidrazona com maior atividade citotóxica frente às linhagens HL-60, MCF-7, PC3 e HCT-116. A especificidade de **L02** frente à linhagem HL-60 é evidenciada pela redução da viabilidade celular desta linhagem em mais de 50%. Frente às demais linhagens **L02** foi ativa, porém não reduziu a viabilidade em mais de 50%. **L02** ainda se mostrou mais ativo que os compostos de referência – isoniazida (INH), a cisplatina (CIS) e o etopósido (ETO), para todas as linhagens.

Os complexos **C01**, **C03** e **C04** mostraram-se mais ativos frente às linhagens HL-60, MCF-7, MDA-MB-231 e HCT-116 na concentração de  $5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ao inibir a viabilidade célula em mais de 50%. **C03** apresentou um resultado bastante expressivo frente às células das linhagens HL-60 e HCT-116,  $\text{IC}_{50} = 2,4 \pm 2,17$  e  $2,4 \pm 1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Sendo mais potente que o sal de ouro(III)  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  e o etoposídeo contra as linhagens: MDA-MB-231, MCF-7 e HCT-116, respectivamente. Com a determinação do índice de seletividade, **C03** é 8 vezes mais tóxico para as linhagens HL-60 e HCT-116 do que para as células HEK-293 (células não tumorais).

No ensaio clonogênico, o  $\text{IC}_{90}$  de **C03** foi mais ativo, com a fração de sobrevivência zero; isto é, células de HCT-116 não mantiveram a capacidade de produzir descendentes após o tratamento com o composto. Sendo o  $\text{IC}_{50}$  e  $\text{IC}_{90}$  de **C03** próximos aos valores encontrados para **L02** (Tabela 13, página 97) podemos considerar que a coordenação ao íon ouro(III) foi uma estratégia válida para produzir um composto potencialmente citotóxico e seletivo.  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  não teve ação efetiva constatada no ensaio clonogênico, o que nos permite considerar que as alterações químicas influenciaram de fato na ação do íon ouro(III) no composto **C03**.

Com a análise de tais resultados, é possível concluir que foi possível obter compostos com interessante atividade citotóxica e com interessantes propriedades farmacológicas, especificamente para o caso de **C03**. Há ainda a necessidade de elucidação dos mecanismos pelos quais **C03** promove a morte celular, uma vez que já ficou comprovado que o mesmo não induz apoptose nas células tumorais.

## REFERÊNCIAS

ABABEI, L. V. et al. Synthesis and characterization of new complexes of some divalent transition metals with 2-acetyl-pyridyl-isonicotinoylhydrazone. *J. Therm. Anal. Calorim.* Budapeste, v. 107, p. 573–584, 2012.

AIROLDI, C. Química Inorgânica ou Química da vida. *Química Nova.* São Paulo, 1994.

AL-JAROUDI, S. S. et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of new gold(III) complexes with 1,2-diaminocyclohexane: Influence of stereochemistry on antitumor activity. *Polyhedron.* Amsterdã, v. 50, n. 1, p. 434–442, 2013.

ALAM, M. et al. A review exploring biological activities of hydrazones. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences.* Mumbai, v. 6, n. 2, p. 69, 2014.

ALMEIDA, S. M. V. DE et al. Compostos coordenados híbridos de platina no tratamento do câncer. *Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada Araraquara,* v. 35, n. 3, p. 337–345, 2014.

AMANI, V. et al. Synthesis and characterization of a series of gold(III) complexes with the 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine ligand: Counterion influence on the cytotoxicity of gold(III) complexes. *Polyhedron.* Amsterdã, v. 79, n. lii, p. 104–115, 2014.

AMIM, R. S. et al. Cytotoxicity and leishmanicidal activity of isoniazid-derived hydrazones and 2-pyrazineformamide thiosemicarbazones. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* São Paulo, v. 27, n. 4, p. 769–777, 2016.

ANTONINI, I. et al. Synthesis, Antitumor Cytotoxicity, and DNA-Binding of Novel N-5, 2-Di (ω-aminoalkyl) -2, 6-dihydropyrazolo [3, 4, 5-kl] acridine-5-carboxamides. *J. Med. Chem.* Washington D.C., v. 44, n. 20, p. 3329–3333, 2001.

ARADHYULA, B. P. R. et al. Synthesis and antibacterial studies of rhodium and iridium complexes comprising of dipyridyl hydrazones. *Journal of Molecular Structure.* Amsterdã, v. 1164, p. 191–199, 2018.

ARMSTRONG, C. et al. Structural Variations and Formation Constants of First-Row Transition Metal Complexes of Biologically Active Aroylhydrazones. *European Journal of Inorganic Chemistry.* Weinheim, v. 2003, n. 6, p. 1145–1156, 2003.

BAKALE, R. P. et al. Structural characterization and antimicrobial activities of transition metal complexes of a hydrazone ligand. *Journal of Molecular Structure.* Amsterdã, v. 1154, p. 92–99, 2018.

BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. *Cadernos temáticos de química nova na escola.* São Paulo, v. 6, p. 7–12, 2005.

BARROS, M. A. et al. Efeitos colaterais em quimioterapia: complicações neurológicas. In: AYOUB, A. C. et al. Bases da enfermagem em quimioterapia, São Paulo: Lemar, p.340-350, 2000.

BENDER, E. Global warning. *Nature.* Londres, v. 509, p. S64–S65, 2005.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. DE P.; BARREIRO, E. J. CONSIDERAÇÕES SOBRE A QUÍMICA BIOINORGÂNICA. *Revista Eletrônica de Farmácia*. Goiânia, v. IV, n. 2, p. 131–142, 2007.

BENTZEN, S. M. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nature Reviews Cancer*. Londres, v. 6, p. 702–713, 2006.

BERNERS-PRICE, S. J.; APPLETON, T. G. berbers prince 2000.pdf. In: FARRELL, N. P.; KELLAND, L. R. (Eds.). . *Platinum-Based Drugs in Cancer Therapy*. New Jersey: Humana Press Inc., p. 3–35, 2001.

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

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

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

BRUIJNINCX, P. C.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current Opinion in Chemical Biology*. Amsterdã, v. 12, n. 2, p. 197–206, 2008.

CAO, W. et al. Synthesis, characterization, theoretical and antimicrobial studies of tridentate hydrazone metal complexes of Zn(II), Cd(II), Cu(II) and Co(III). *Polyhedron*. Amsterdã, v. 147, n. li, p. 62–68, 2018.

CASADO-SÁNCHEZ, A. et al. Effect of electronic and steric properties of 8-substituted quinolines in gold(III) complexes: Synthesis, electrochemistry, stability, interactions and antiproliferative studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 174, n. lii, p. 111–118, 2017.

CASAS, S.; CASTELLANO, E. E.; TABOADA, C. A gold ( I ) complex with a vitamin K 3 derivative : Characterization and antitumoral activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 100, p. 1858–1860, 2006.

CASELLATO, U. et al. Gold(I) complexes of thio- and dithiocarbamate esters. The structure of bis(N-methyl-O-ethyl-thiocarbamate)gold(I) chloride. *Inorganica Chimica Acta*. Amsterdã, v. 167, n. 1, p. 21–24, 1990.

CASINI, A. et al. Gold(III) compounds as anticancer agents: Relevance of gold-protein interactions for their mechanism of action. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 102, n. 3, p. 564–575, 2008a.

CASINI, A. et al. Emerging protein targets for anticancer metallodrugs: Inhibition of thioredoxin reductase and cathepsin B by antitumor ruthenium(II)-arene compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*. Washington, v. 51, n. 21, p. 6773–6781, 2008b.

CHOW, K. H. M. et al. A gold(III) porphyrin complex with antitumor properties targets the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Cancer Research*. Filadélfia, v. 70, n. 1, p. 329–337, 2010.

CINELLU, M. A. et al.  $[\text{Au}_2(\text{phen}_2\text{Me})_2(\mu\text{-O})_2](\text{PF}_6)_2$ , a novel dinuclear gold(III) complex showing excellent antiproliferative properties. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, Washington, v. 1, n. 7, p. 336–339, 2010.

COHEN, S. M.; LIPPARD, S. J. Cisplatin: From DNA damage to cancer chemotherapy. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. Amsterdã, v. 67, p. 93–130, 2001.

CORNELIS, R.; BORGUET, F.; DEKIMPE, J. Trace-Elements in Medicine - Speciation - the New Frontier. *Analytica Chimica Acta*. Amsterdã, v. 283, n. 1, p. 183–189, 1993.

CUTILLAS, N. et al. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold. *Coordination Chemistry Reviews*. Amsterdã, v. 257, n. 19–20, p. 2784–2797, 2013.

DAMAS, G. B.; BERTOLDO, B.; COSTA, L. T. Mercúrio: da Antiguidade aos Dias Atuais. *Revista Virtual de Química*. São Paulo, v. 6, p. 1010–1020, 2014.

DANDASH, F. et al. In viitro anticancer activity of new gold(III) porphyrin complexes in colon cancer cells. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 177, n. June, p. 27–38, 2017.

ALMEIDA, V. L. de et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. *Química Nova*. São Paulo, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.

DEMPKE, W. et al. Cisplatin resistance and oncogenes: a review. *Anti-cancer drugs*. Filadélfia, v. 11, p. 225-236, 2000.

DESPAIGNE, A. A. R. et al. Copper(II) and zinc(II) complexes with 2-formylpyridine-derived hydrazones. *Polyhedron*. Amsterdã, v. 28, n. 17, p. 3797–3803, 2009.

DESPAIGNE, A. A. R. et al. Organotin(IV) complexes with 2-acetylpyridine benzoyl hydrazones: antimicrobial activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. São Paulo, v. 21, n. 7, p. 1247-1257, 2010.

DESPAIGNE, A. A. R. Estudo do perfil farmacológico de novos complexos metálicos de hidrazonas derivadas de piridina e imidazóis. 2012. 152 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química, Belo Horizonte, 2012.

DEVITA, V. T.; CHU, E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*. Filadélfia, v. 68, n. 21, p. 8643–8653, 2008.

DILWORTH, J. R.; HUETING, R. Metal complexes of thiosemicarbazones for imaging and therapy. *Inorganica Chimica Acta*. Amsterdã, v. 389, p. 3–15, 2012.

EL-SHERIF, A. A. et al. Synthesis, structural characterization, DFT studies and biological activity of Cu(II) and Ni(II) complexes of novel hydrazone. *Inorganica Chimica Acta*. Amsterdã, v. 480, n. li, p. 1–15, 2018.

ELMORE, L. W.; HOLT, S. E. Telomerase, Aging and Disease. *Advances in Cell Aging and Gerontology*. Amsterdã, v. 8, p. 89–102, 2001.

FAKAYODE, O. J. et al. Photodynamic therapy evaluation of methoxypolyethyleneglycol-thiol-SPIONs-gold-meso-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin conjugate against breast cancer cells. *Materials Science and Engineering C*. Amsterdã, v. 92, n. June, p. 737–744, 2018.

FARRER, N. J.; SADLER, P. J. *Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art, New Trends, and a Vision of the Future*. Bioinorganic Medicinal chemistry, Weinheim, p.1-47, 2011.

FIRMINO, G. S. S. *Síntese, caracterização e estudo da ação antituberculose e citotóxica de hidrazonas derivadas de isoniazida e de seus complexos de cobre(II) e gálio(III)*. 2015. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

FIRMINO, G. S. S. et al. Synthesis and evaluation of copper(II) complexes with isoniazid-derived hydrazones as anticancer and antitubercular agents. *BioMetals*. Berlim, v. 29, n. 6, p. 953–963, 2016.

FORMAN, D. et al. Time for a European initiative for research to prevent cancer: A manifesto for Cancer Prevention Europe (CPE). *Elsevier*, Amsterdã, 2018.

FREZZA, M. et al. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Current Pharmaceutical Design*. Sharjah, v. 16, p. 1813-1815, 2010.

GARZA-ORTIZ, A. et al. The synthesis , chemical and biological properties of dichlorido ( azpy ) gold ( III ) chloride ( azpy = 2- ( phenylazo ) pyridine ) and the gold-induced conversion of the azpy ligand to the chloride of the novel tricyclic pyrido [ 2 , 1- c ] [ 1 , 2 , 4 ]. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 101, p. 1922–1930, 2007.

GILMAN A. The initial clinical trial of nitrogen mustard. *The American Journal Surgery*. Tallahassee v. 105, p. 574–578, 1963.

GLUSHKOV, R. G. et al. 05- 144. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. Amsterdã, v. 38, p. 16–19, 2005.

GREENSPAN, E. M. et al. Response of advanced breast cancer to the combination of the anti-metabolite methotrexate and the alkylating agent agent thiotepa. *Journal of the Mount Sinai Hospital*. Nova York, v. 30, p. 246–267, 1963



GUNATILLEKE, S. S.; BARRIOS, A. M. Tuning the Au(I)-mediated inhibition of cathepsin B through ligand substitutions. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 102, n. 3, p. 555–563, 2008.

HIGBY, G. J. Gold in medicine - A review of its use in the west before 1900. *Gold Bulletin*. Amsterdã, v. 15, n. 4, p. 130–140, 1982.

HUAIZHI, Z.; YUANTAO, N. China's ancient gold drugs. *Gold Bulletin*. Amsterdã, v. 34, n. 1, p. 24–29, 2001.

IARC. Cancer tomorrow. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/tomorrow/home>>. Acesso em: 21 out. 2019.

MAIA, P. I. S.; DEFLON, V. M.; ABRAM, U. Gold(III) complexes in medicinal chemistry. *Future medicinal chemistry*. Londres, v. 6, n. 13, p. 1515–36, 2014.

MINISTÉRIO da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <[http://www1.inca.gov.br/rbc/n\\_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf](http://www1.inca.gov.br/rbc/n_64/v01/pdf/15-resenha-estimativa-2018-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf)>. Acesso em: 21 out. 2019.

JONES, C. J.; THORNBACK, J. R. "Medicinal Applications of Coordination Chemistry". *Platinum Metals Review*. Londres, v. 52, n. 1, p. 21–22, 2008.

JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chemical reviews*. Washington D. C., v. 107, p. 1387-1407, 2007.

JUNGWIRTH, U. et al. Anticancer Activity of Metal Complexes: Involvement of Redox Process. *Antioxid Redox Signal*. New York, v. 15, p. 1085–1127, 2011.

KAISER, A. *Complexos Heterolépticos de Ouro ( III ) como Potenciais Antitumorais e Anti – Trypanosoma cruzi*. Universidade de São Carlos, 2015.

KALINOWSKI, D. S. et al. Structure-activity relationships of novel iron chelators for the treatment of iron overload disease: The methyl pyrazinylketone isonicotinoyl hydrazone series. *Journal of Medicinal Chemistry*. Washington D. C., v. 51, n. 2, p. 331–344, 2008.

KANTHECHA, D. N. et al. Biological significance of hetero-scaffolds based gold(III) complexes. *Acta Chimica Slovenica*, v. 65, n. 2, p. 333–343, 2018.

KARNOFSKY, D. A. et al. Experimental observations on the use of nitrogen mustard in the treatment of neoplastic diseases, apud MOULTON, F. R. Approaches to tumor chemotherapy. *American Association for the Advancement of Science*, p. 298–305, 1947.

KHAN, T-M. et al. In vitro and in vivo anti-tumor activity of two gold(III) complexes with isoquinoline derivatives as ligands. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 163, p. 333-343, 2018.

KOSTOVA, I. Gold coordination complexes as anticancer agents. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, v. 6, n. 1, p. 19–32, 2006.

KUMAR, A. et al. Trivalente lewis acidic cations govern the electronic properties and stability of heterobimetallic complexes of nickel. *Chemistry - European Journal*, v. 24, 2012.

KUMPULAINEN, J. T.; SALONEN, J. T. Natural antioxidants and food quality in atherosclerosis and cancer prevention. 1. ed. Woodhead Publishing, 1996.

LAINÉ, A. L.; PASSIRANI, C. Novel metal-based anticancer drugs: a new challenge in drug delivery. *Current opinion in pharmacology*, v. 12, p. 420-526, 2012.

LESSA, J. A. et al. Gold (I) complexes with thiosemicarbazones : Cytotoxicity against human tumor cell lines and inhibition of thioredoxin reductase activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 105, n. 12, p. 1729–1739, 2011.

LIU, K. et al. Organotin(IV) complexes derived from hydrazone Schiff base: Synthesis, crystal structure, in vitro cytotoxicity and DNA/BSA interactions. *Inorganica Chimica Acta*. Amsterdã, v. 464, p. 137–146, 2017.

LOVE, R. R. et al. Side effects and emotional distress during cancer chemotherapy. *Cancer*, v. 63, p. 604–612, 1989.

MACHADO, A. E. DA H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Química Nova*, v. 23, n. 2, p. 237–243, 2000.

MARION, D. M. S. et al. Studying cancer metastasis: existing models, challenges and futures perspectives. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 97, p. 107–117, 2016.

MARKOWSKA, A. et al. Noble metals in oncology. *Wspolczesna Onkologia*, v. 19, n. 4, p. 271–275, 2015.

MARTÍN-SANTOS, C. et al. Gold(III) complexes with hydroxyquinoline, aminoquinoline and quinoline ligands: Synthesis, cytotoxicity, DNA and protein binding studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 153, p. 339–345, 2015.

MJOS, K. D.; ORVIG, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry. *Chemical Reviews*, v. 114, n. 8, p. 4540–4563, 2014.

MONIM-UL-MEHBOOB, M. et al. Synthesis , spectroscopic characterization and anti-cancer properties of new gold ( III )– alkanediamine complexes against gastric , prostate and ovarian cancer cells; crystal structure of  $[Au_2(pn)_2(Cl)_2]Cl_2 \cdot H_2O$ . *Polyhedron*. Amsterdã, v. 61, p. 225–234, 2013.

MORDANT, P. et al. Dependence on Phosphoinositide 3-Kinase and RAS-RAF Pathways Drive the Activity of RAF265, a Novel RAF/VEGFR2 Inhibitor, and RAD001 (Everolimus) in Combination. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 9, n. 2, p. 358–368, 2010.

MOURINO, V.; CATTALINI, J. P.; BOCCACCINI, A. R. Metallic ions as therapeutic agents in tissue engineering scaffolds: an overview of their biological applications and strategies for new developments. *Journal of The Society Interface*, v. 9, p. 401-419, 2012.

NDAGI, U.; MHLONGO, M.; E SOLIMAN, M. Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. *Drug Design, Development and Therapy*, v.11, p. 599–616, 2017.

NOBILI, S. et al. Gold Compounds as Anticancer Agents: Chemistry, Cellular Pharmacology, and Preclinical Studies. *Medicinal Research Reviews*, v. 29, n. 6, p. 1292–1327, 2012.

NORN, S.; PERMIN, H.; KRUSE, E.; KRUSE, P. R. Mercury a major agent in the history of medicine and alchemy. *Dan Medicinhist Årboq*, v. 36, p. 21–40, 2008.

NOTASH, B. et al. The influence of steric effects on intramolecular secondary bonding interactions; cytotoxicity in gold(III) bithiazole complexes. *Dalton Transactions*, v. 42, n. 19, p. 6852, 2013.

NUSSBAUMER, S. et al. Analysis of anticancer drugs: a review. *Talanta*, v. 85, p. 2265–2289, 2011.

OEHNINGER, L.; RUBBIANI, R.; OTT, I. N-Heterocyclic carbene metal complexes in medicinal chemistry. *Dalton Trans.*, v. 42, n. 10, p. 3269–3284, 2013.

OKUMUS, D. The relationship between dosimetric factors, side effects, and survival in patients with non-small cell lung cancer treated with definitive radiotherapy. *Medical dosimetry*, v. 42, p. 169–176, 2017.

OMER, K. H. et al. Synthesis, characterization and anticancer activity of gold (III) complexes. *Polyhedron*. Amsterdã, v. 102, p. 773–781, 2015.

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

PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney international*, v. 73, 994-1007, 2008.

PANTELIĆ, N. et al. In vitro anticancer activity of gold(III) complexes with some esters of (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-propanoic acid. *European journal of medicinal chemistry*. Weinheim, v. 90, p. 766–774, 2015.

PAPAC, R. J. Origins of cancer therapy. *Medical Review*, v. 74, p. 391–398, 2001.

PARRILHA, G. L. Complexos metálicos de hidrazonas, tiossemicarbazonas e lapachol: atividade farmacológica e avaliação de relações estrutura-atividade. 2012. 154 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química, Belo Horizonte, 2012.

PAVIC, A. et al. Mononuclear gold(III) complexes with phenanthroline ligands as efficient inhibitors of angiogenesis: A comparative study with auranofin and sunitinib. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Amsterdã, v. 174, n. lii, p. 156–168, 2017.

POSSANZINI, M.; GRECO, C. Stereotactic radiotherapy in metastatic breast cancer. *Breast*, v. 41, p. 57–66, 2018.

RADULOVIĆ, N. S. et al. Water-soluble gold(III) complexes with N-donor ligands as potential immunomodulatory and antibiofilm agents. *Polyhedron*. Amsterdã, v. 141, n. lii, p. 164–180, 2018.

RECIO DESPAIGNE, A. A. et al. Complexation of 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones to copper(II) as an effective strategy for antimicrobial activity improvement. *Polyhedron*. Amsterdã, v. 38, n. 1, p. 285–290, 2012.

RETTONDIN, A. R. et al. Gold(III) complexes with ONS<sup>-</sup>-Tridentate thiosemicarbazones: Toward selective trypanocidal drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Weinheim, v. 120, p. 217–226, 2016.

ROAT-MALONE, R. M. *Bioinorganic Chemistry: A Short Course*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2002.

RODRÍGUEZ-FANJUL, V. et al. Gold(III) bis(thiosemicarbazone) compounds in breast cancer cells: Cytotoxicity and thioredoxin reductase targeting. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Weinheim, v. 148, p. 372–383, 2018.

RONCONI, L. et al. Latest insights into the anticancer activity of gold(III)-dithiocarbamate complexes. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*. Sharjah, v. 10, n. 4, p. 283–292, 2010.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. Applications of heteronuclear NMR spectroscopy in biological and medicinal inorganic chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*. Amsterdã, v. 252, n. 21–22, p. 2239–2277, 2008.

ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*; Londres, v. 205, p. 698–699, 1965.

SANTOS, I. G.; HAGENBACH, A.; ABRAM, U. Stable gold(III) complexes with thiosemicarbazone derivatives. *Dalton transactions*. Cambridge, n. 4, p. 677–682, 2004.

SCHWIETERT, C. W.; MCCUE, J. P. Coordination compounds in medicinal chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, Amsterdã, v. 184, n. 1, p. 67–89, 1999.

SHAIK, N. et al. Synthesis of apoptosis-inducing iminophosphorane organogold(III) complexes and study of their interactions with biomolecular targets. *Inorganic Chemistry*; Washington, v. 48, n. 4, p. 1577–1587, 2009.

SHI, Y. et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of the Au(III) complexes with cyclic amine-based dithiocarbamate ligands. *Inorganic Chemistry Communications*. Amsterdã, v. 30, p. 178–181, 2013.

SHIVER, D. F. et al. Química inorgânica. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7th. ed. New York: 2005.

SOARES, C.R. Princípios da radioterapia: complicações no diagnóstico e tratamento do câncer em cabeça e pescoço. In: CARVALHO A. C, SIMPÓSIO DE CÂNCER , 1. 1999, São Paulo: Instituto do Câncer Arnaldo Vieira de Carvalho, 1999. p.21-23.

SOMOGYI, L.; CZUGLER, M.; SOHÁR, P. Synthesis and stereostructure of some 5,5'-disubstituted 3-acetyl-2,2'-bi-2H-1,3,4-oxa(thia)doazolines. *Tetrahedron*. Amsterdã, v. 48, n. 42, p. 9355–9362, 1992.

STEWART, D. J. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Amsterdã, v. 63, n. 1, p. 12–31, 2007.

STORR, T.; THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Design of targeting ligands in medicinal inorganic chemistry. *Chemical Society Reviews*. Londres, v. 35, n. 6, p. 534, 2006.

SUN, R. W. Y. et al. Stable anticancer gold(III)-porphyrin complexes: Effects of porphyrin structure. *Chemistry - A European Journal*. Weinheim, 2010.

TAO, J. J.; VISVANATHAN, K.; WOLFF, A. C. Long term side effects of adjuvant chemotherapy in patients with early breast cancer. *Breast*. Amsterdã, v. 24, p. 149–153, 2015.

THOTA, S. et al. N-Acylhydrazones as drugs. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. Amsterdã, 2018.

TORRE, L. A. et al. Global Cancer Statistics , 2012. *CA Cancer J Clin*. Washington, p. 1–22, 2015.

VICENTE, J.; CHICOTE, M. T. Neutral, Cationic and Anionic 2-[(phenylazo)phenyl] Complexes of Gold(II). *Inorganica Chimica Acta*, Amsterdã, v. 63, p. 35–39, 1982.

WEIN, A. N. et al. Tumor cytotoxicity of 5,6-dimethyl-1,10-phenanthroline and its corresponding gold(III) complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*; Amsterdã, v. 105, n. 5, p. 663–668, 2011.

WALDRON, K. W.; JOHNSON, I. T.; FENWICK, G. R. Food and Cancer Prevention: Chemical and Biological Aspects. *The Royal Society of Chemistry*. Cambridge, p. 362-363, 1993.

WOLFF J. The Science of cancerous disease from earliest times to the present. *MA: Science History Publications*. Cambridge, 1989.

WU, Z.-Z.; LU, H.-P.; CHAO, C. C.-K. Identification and functional analysis of genes which confer resistance to cisplatin in tumor cells. *Biochemical Pharmacology*. Amsterdã, v. 80, n. 2, p. 262–276, 2010.

YALE, H. L. et al. Chemotherapy of Experimental Tuberculosis. VIII. The Synthesis of Acid Hydrazides, their Derivatives and Related Compounds. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 75, p. 1933–1942, 1953.

YOUSIF, E. et al. Metal complexes of Schiff base: Preparation, characterization and antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, Amsterdã, v. 10, p. S1639–S1644, 2017.

ZHANG, C. et al. Pharmacomodulation on gold-NHC complex for anticancer applications – is lipophilicity the key point? *European Journal of Medicinal Chemistry*. Weinheim, v. 157, p. 320–322, 2018.

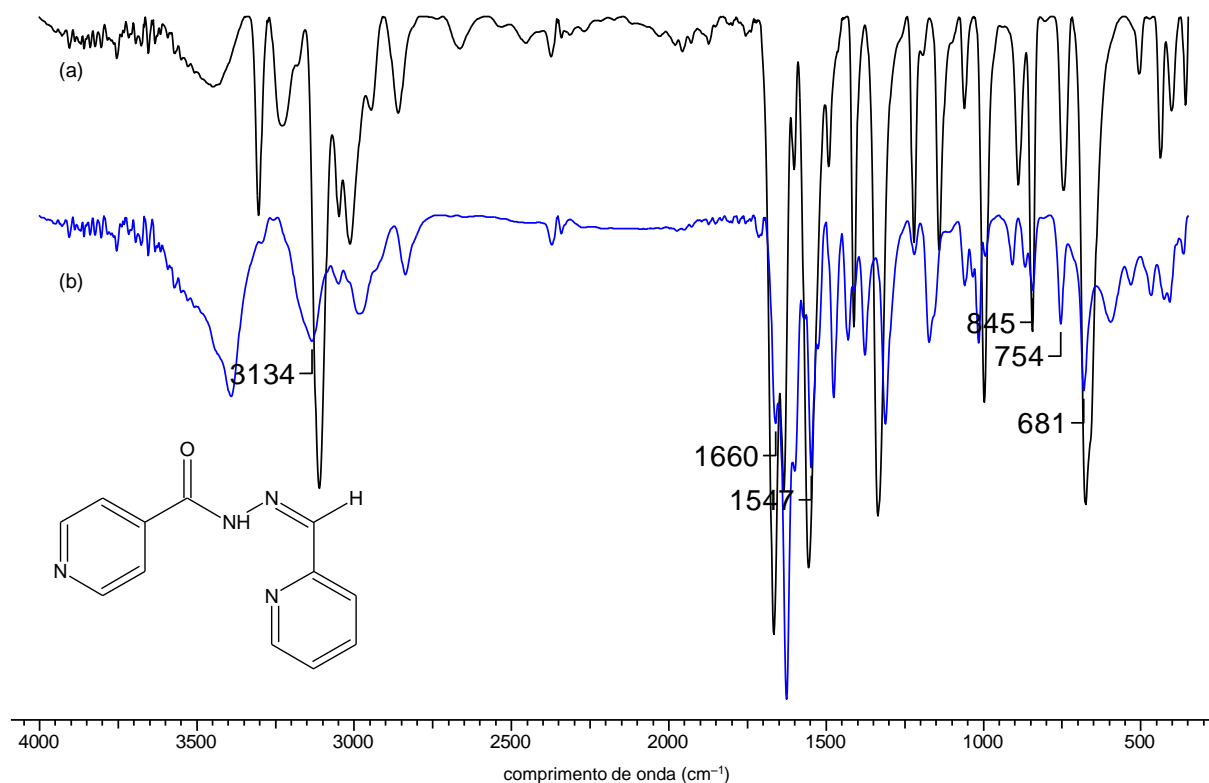
ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. New metal complexes as potential therapeutics. *Current Opinion in Chemical Biology*. Amsterdã, v. 7, n. 4, p. 481–489, 2003.

ZHAO, H.; ZHOU, L. A theoretical study on transition state of the antitumor drug: Gold(III) dithiocarbamate derivative interaction with cysteine and DNA purine bases. *Computational and Theoretical Chemistry*. Amsterdã, v. 979, p. 22–32, 2012.

ZHONG, L.; ARNER, E. S. J.; HOLMGREN, A. Structure and mechanism of mammalian thioredoxin reductase: The active site is a redox-active selenolthiol/selenenylsulfide formed from the conserved cysteine-selenocysteine sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Washington D. C., v. 97, n. 11, p. 5854–5859, 2000.

ZOU, T. et al. Chemical biology of anticancer gold(III) and gold(I) complexes. *Chem. Soc. Rev.* Londres, v. 44, p. 8786–8801, 2015.

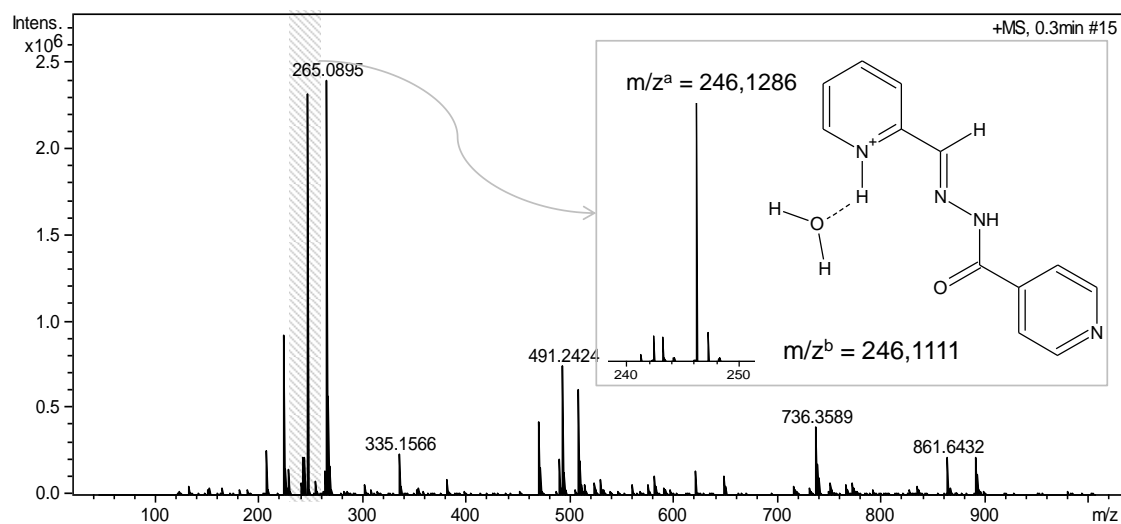
**A1** – Espectro no IV obtidos em pastilha de KBr na faixa de 4000–400  $\text{cm}^{-1}$



Legenda: (a) isoniazida – INH e (b) L01.

Fonte: A Autora, 2019.

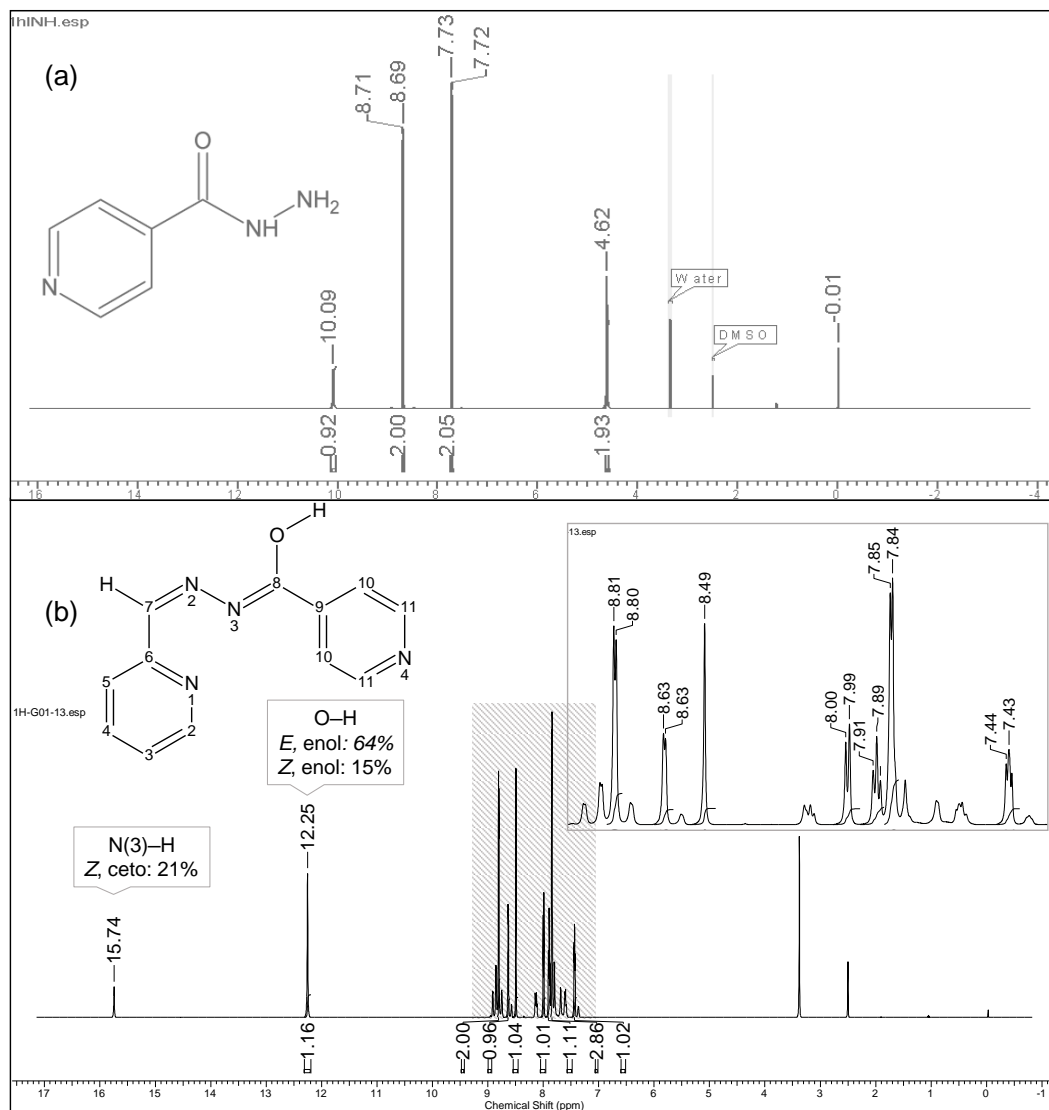
**A2** – Espectro de massas de L01, obtido em metanol no modo positivo



Legenda: <sup>a</sup> relação massa/carga ( $m/z$ ) experimental, <sup>b</sup> relação massa/carga calculada. Região ampliada de 240–250  $m/z$ . Atribuição destacada:  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_2^+$ .

Fonte: A Autora, 2019.

**A3** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  obtido para (a) isoniazida e (b) hidrazona L01 em  $\text{DMSO}-d_6$ .

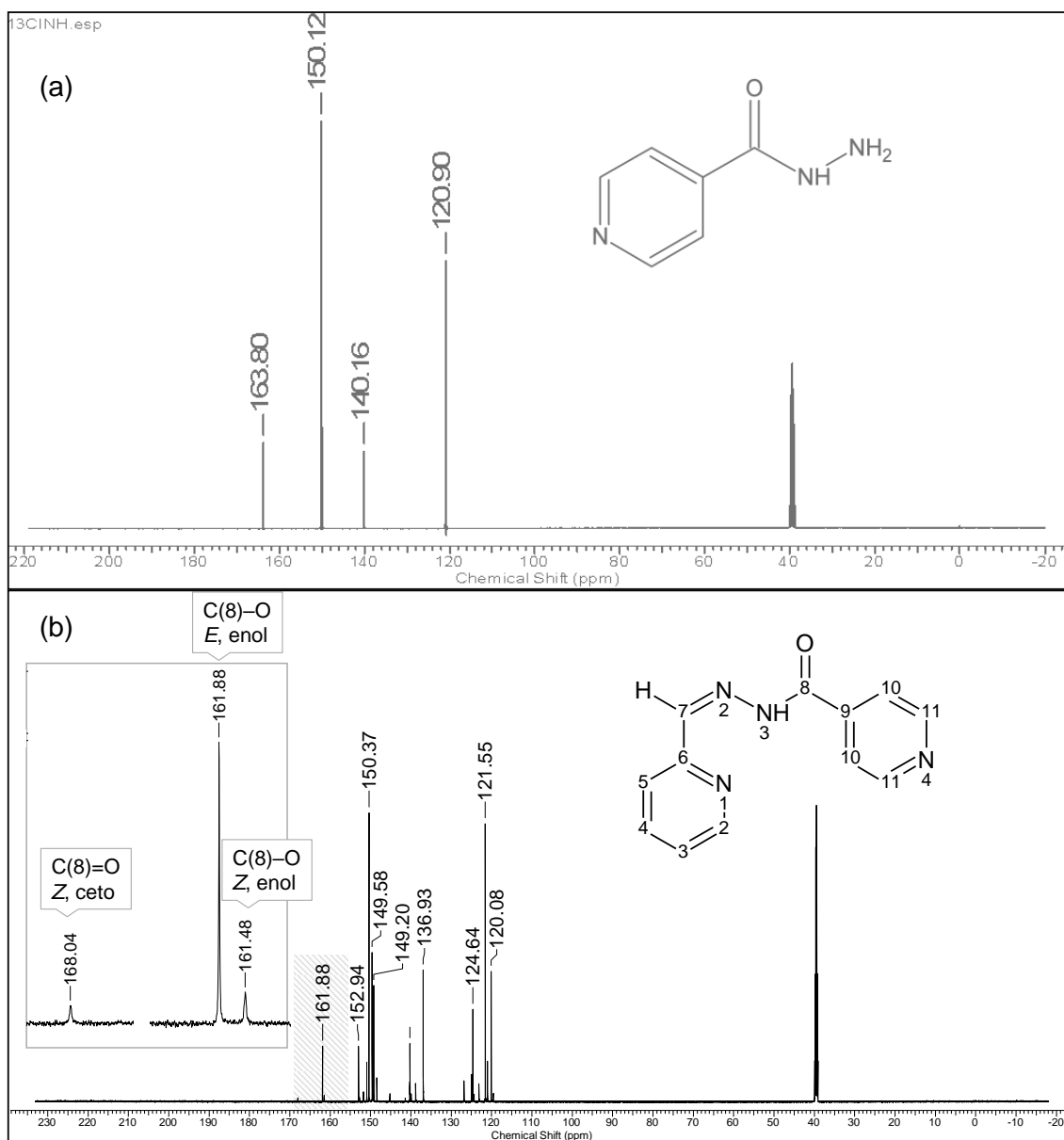


Legenda: Ampliação da área destacada na região compreendida entre 7,42 – 8,81 ppm com a estrutura do isômero majoritário e o destaque dos sinais característicos das três espécies identificadas em solução.

Fonte: A Autora, 2019.

**A4** – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C obtido para (a) isoniazida e (b) hidrazona **L01** em DMSO-*d*<sub>6</sub>.



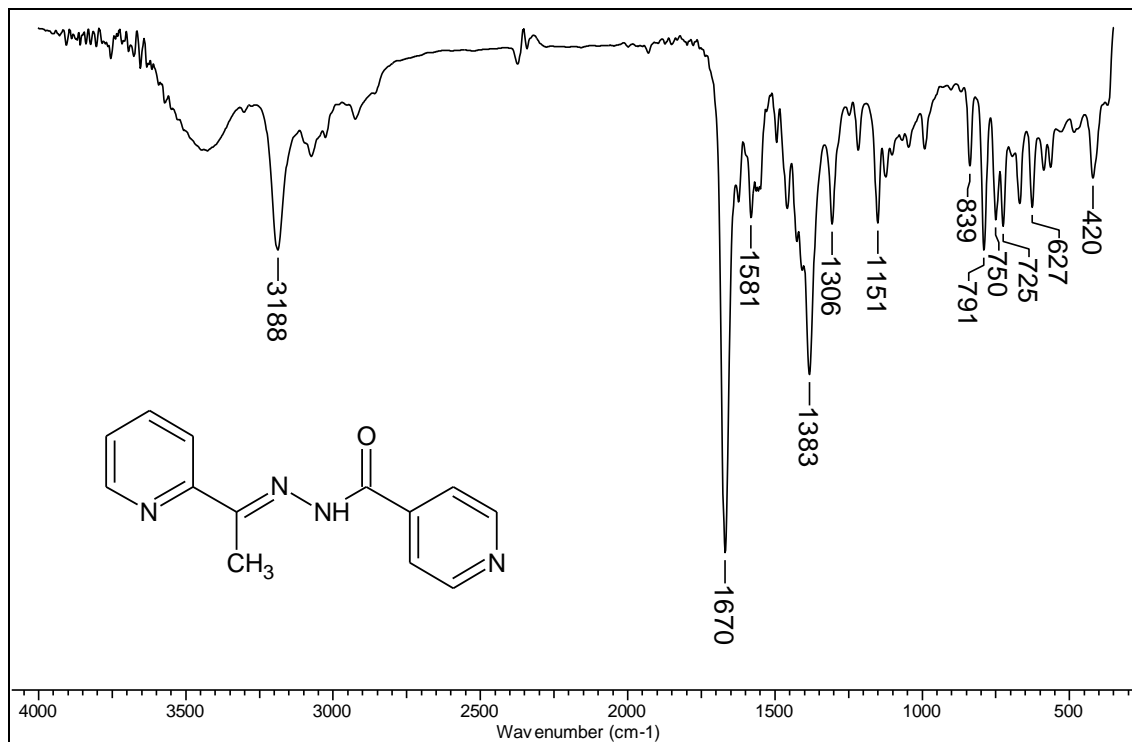


Legenda: Ampliação da área destacada na região compreendida entre 168,20 – 161,40 ppm para sinalizar os sinais de C(8)–O dos isômeros *E*, enol e *Z*, enol.

Fonte: A Autora, 2019.

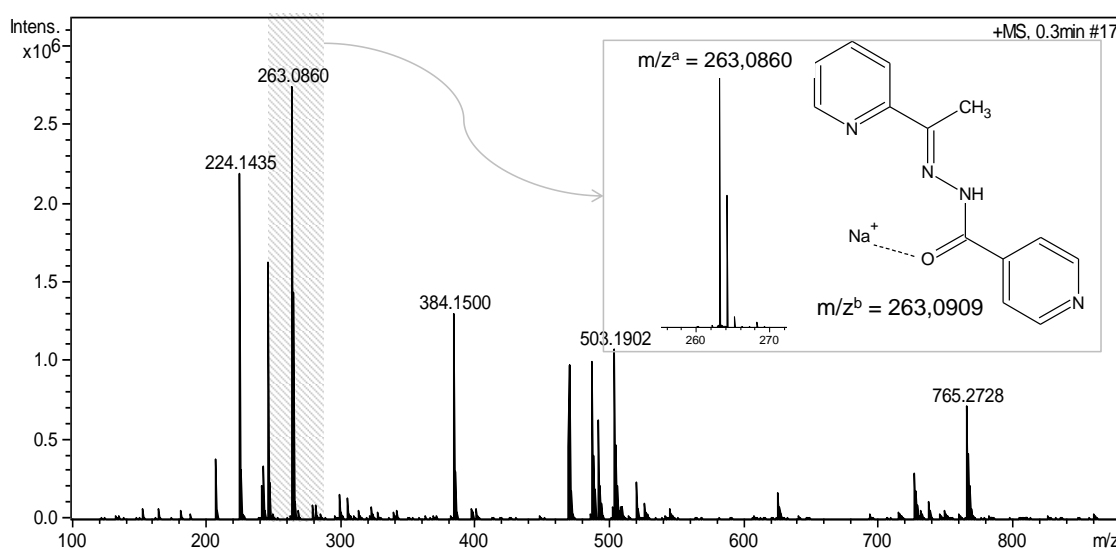
## APÊNDICE B – N-acil hidrazona L02

### B1 – Espectro no infravermelho de L02, obtido em pastilha de KBr



Fonte: A Autora, 2019.

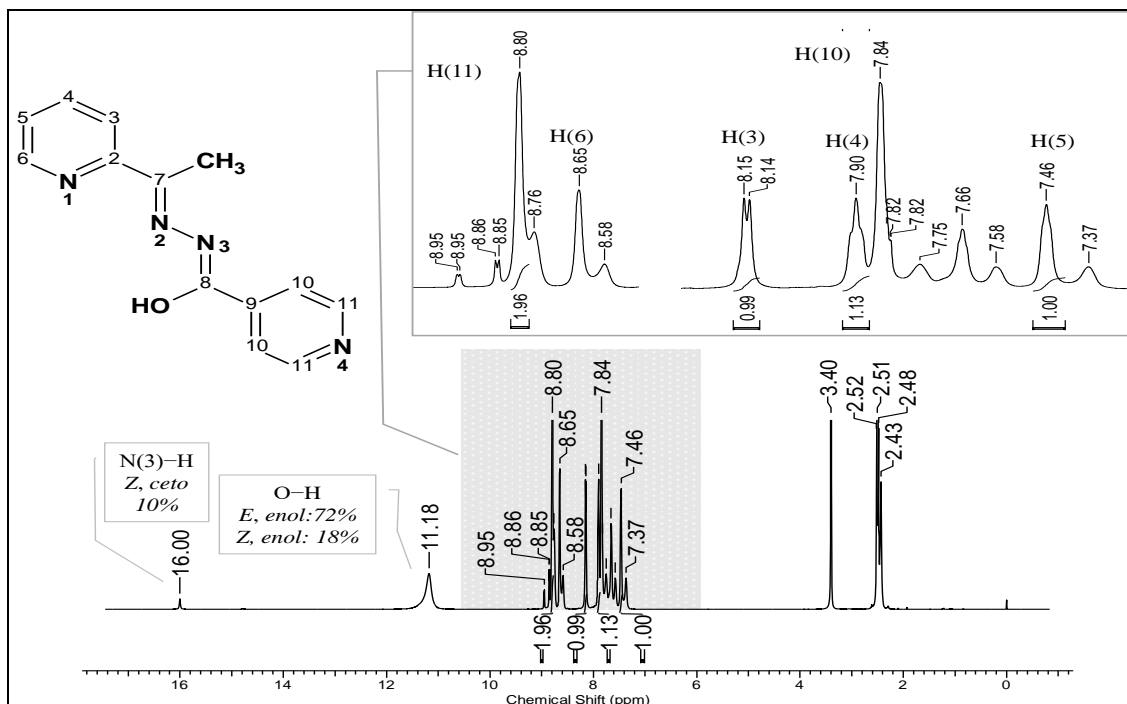
### B2 – Espectro de massas da hidrazona L02, obtido em metanol no modo positivo



Legenda: <sup>a</sup> relação massa/carga ( $m/z$ ) experimental, <sup>b</sup> relação massa/carga calculada. Região ampliada de 260 – 270  $m/z$ . Atribuição destacada:  $C_{13}H_{12}N_4NaO^+$ .

Fonte: A Autora, 2019.

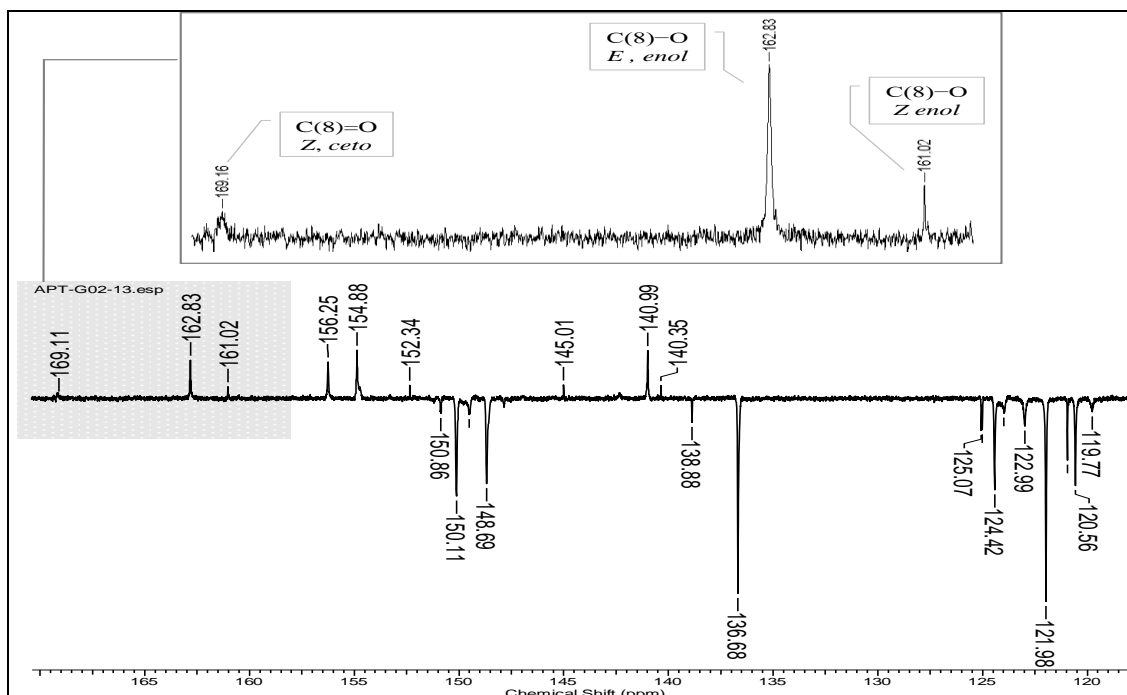
**B3** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **L02** em  $\text{DMSO-}d_6$  na região de 17,90 – -1,28 ppm



Legenda: Estrutura e assinalamento dos principais sinais do espectro de  $^1\text{H}$  com ampliação da região entre 9,00 – 7,30 ppm.

Fonte: A Autora, 2019.

**B4** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da hidrazona **L02** em  $\text{DMSO-}d_6$  na região de 172–118ppm

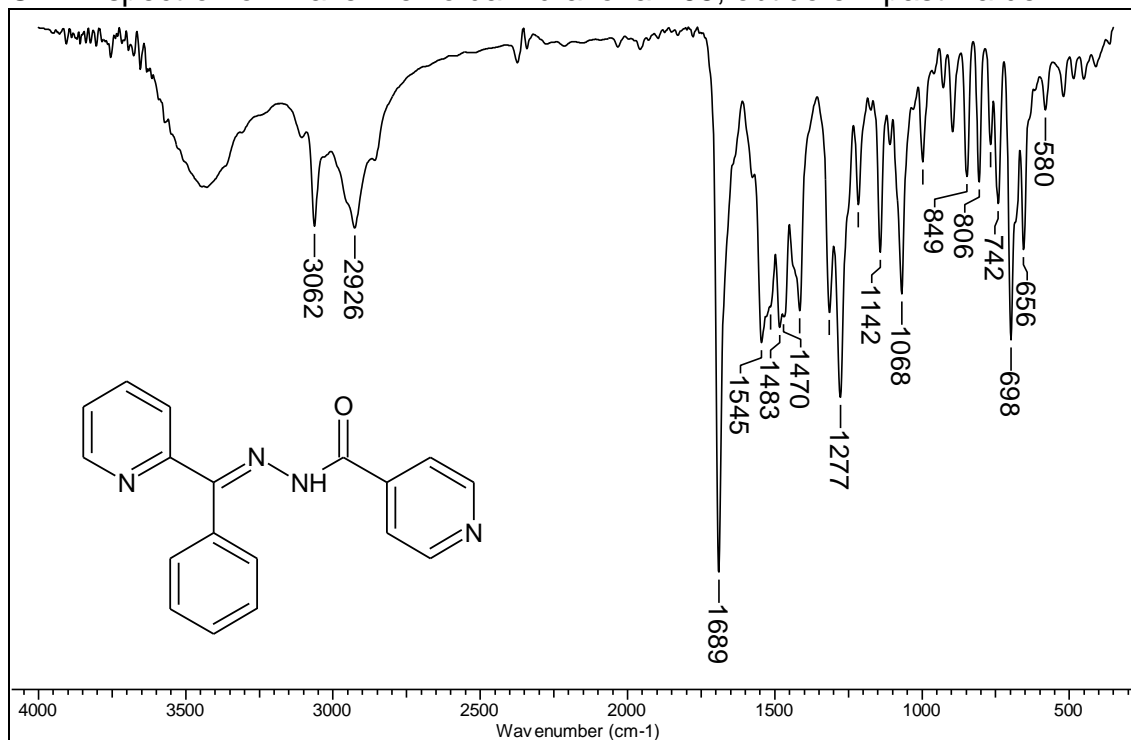


Legenda: Ampliação da região entre 170 – 160 ppm para caracterização dos sinais de C(8) dos três isômeros.

Fonte: A Autora, 2019.

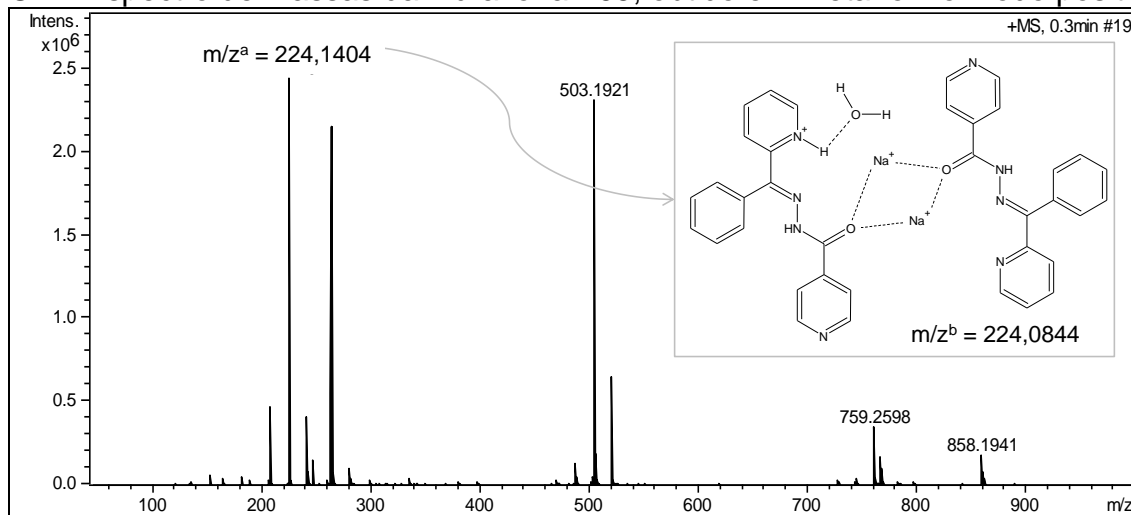
## APÊNDICE C – N-acil hidrazona L03

### C1 – Espectro no infravermelho da hidrazona L03, obtido em pastilha de KBr



Fonte: A Autora, 2019.

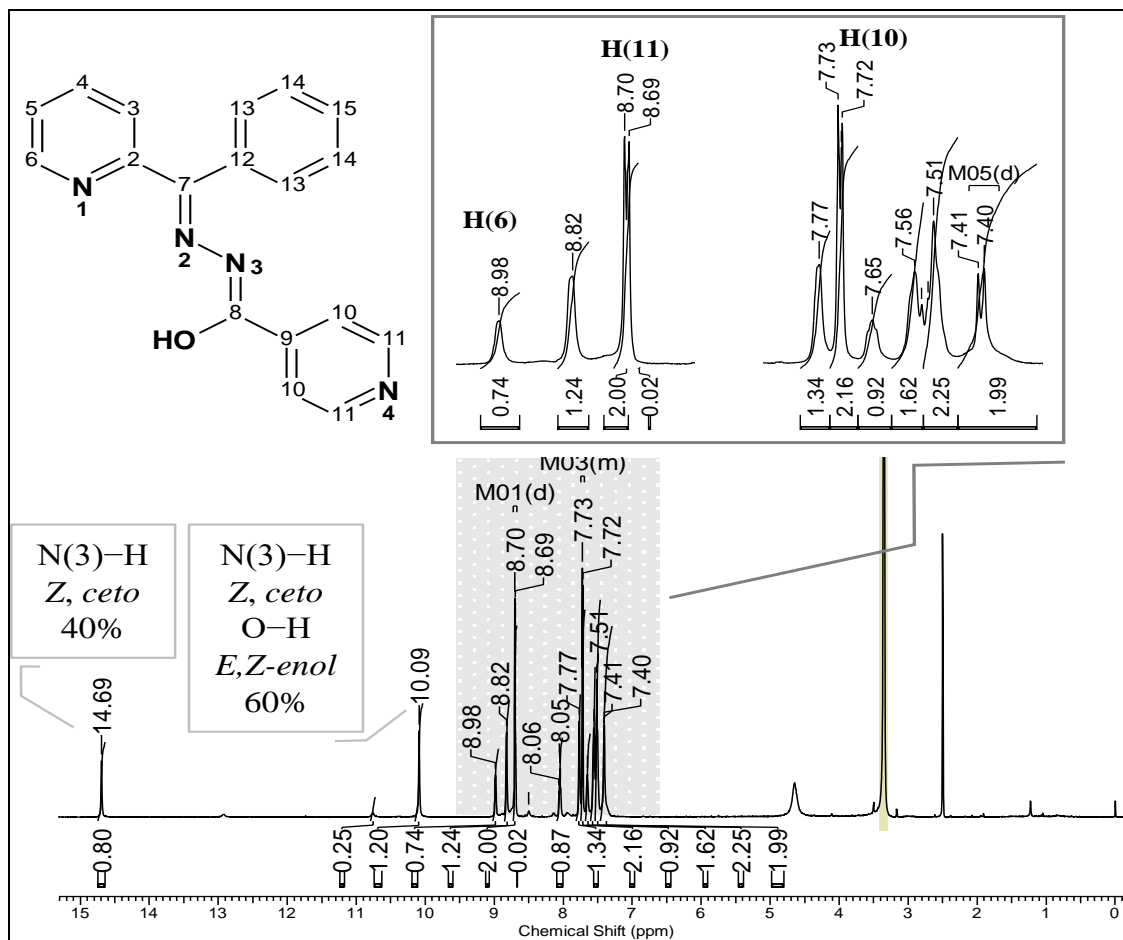
### C2 – Espectro de massas da hidrazona L03, obtido em metanol no modo positivo



Legenda: <sup>a</sup> relação massa/carga ( $m/z$ ) experimental, <sup>b</sup> relação massa/carga calculada. Atribuição destacada:  $C_{36}H_{31}N_8Na_2O_3^{3+}$ .

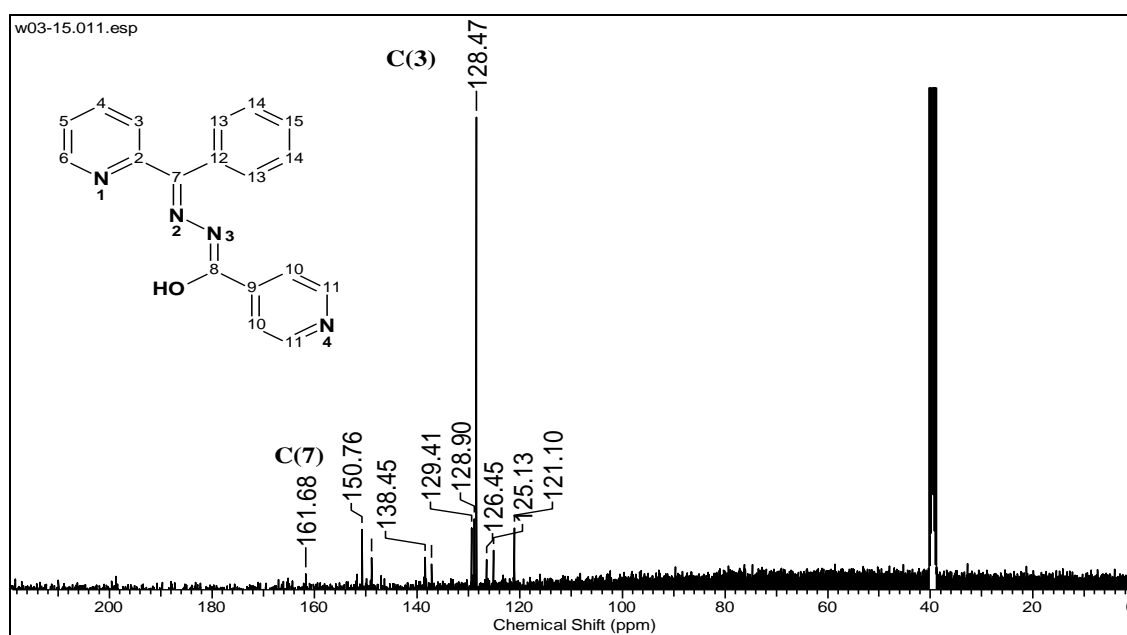
Fonte: A Autora, 2019.

C3 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de L03 em  $\text{DMSO-}d_6$  na região de 15 – 0 ppm



Fonte: A Autora, 2019.

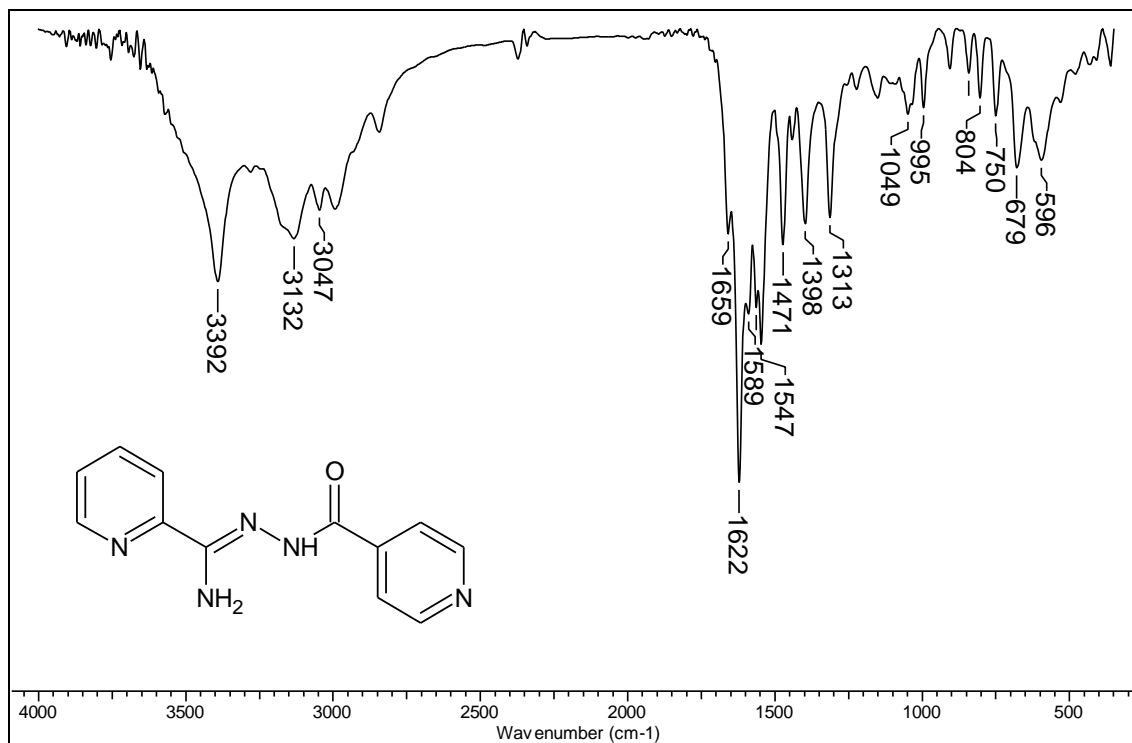
**C4** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da hidrazona **L03** em  $\text{DMSO-}d_6$  na região de 220 – 0 ppm.



Fonte: A Autora, 2019.

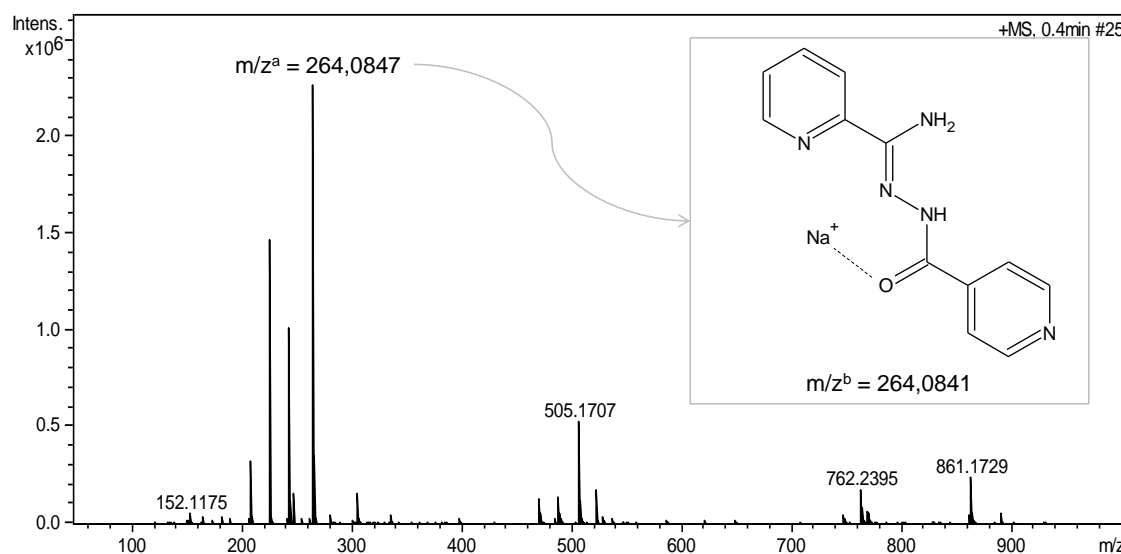
## APÊNDICE D – N-aci hidrazona L04

### D1 – Espectro no infravermelho da hidrazona **L04**, obtido em pastilha de KBr



Fonte: A Autora, 2019.

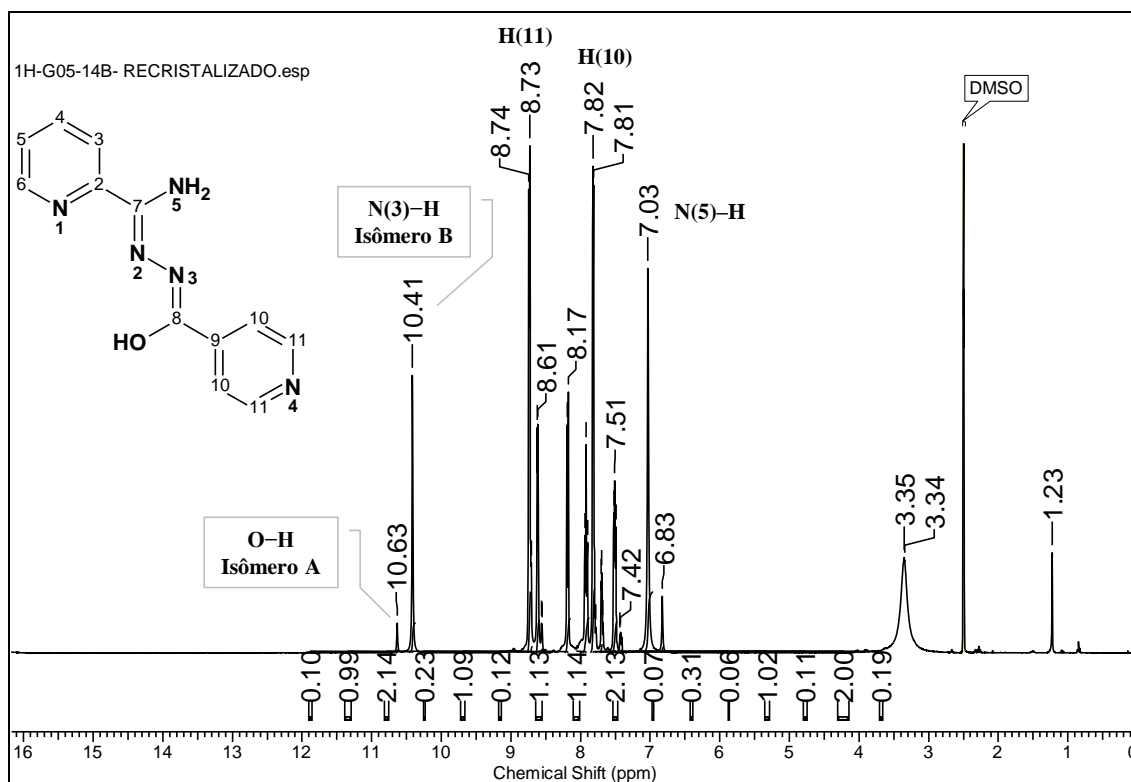
### D2 – Espectro de massas da hidrazona N, obtido em metanol no modo positivo



Legenda: <sup>a</sup> relação massa/carga ( $m/z$ ) experimental, <sup>b</sup> relação massa/carga calculada. Atribuição destacada:  $C_{12}H_{11}N_5NaO^+$ .

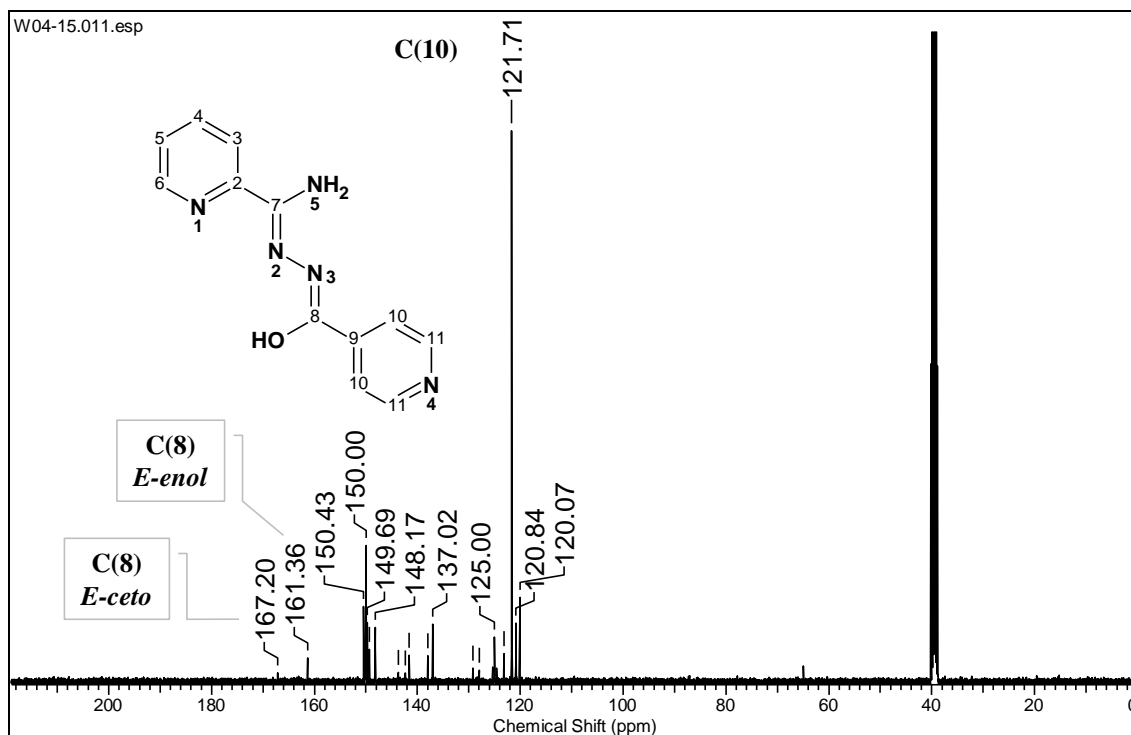
Fonte: A Autora, 2019.

**D3** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da hidrazona **L04** em  $\text{DMSO-}d_6$



Fonte: A Autora, 2019.

**D4** – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da hidrazona **L04** em  $\text{DMSO-}d_6$

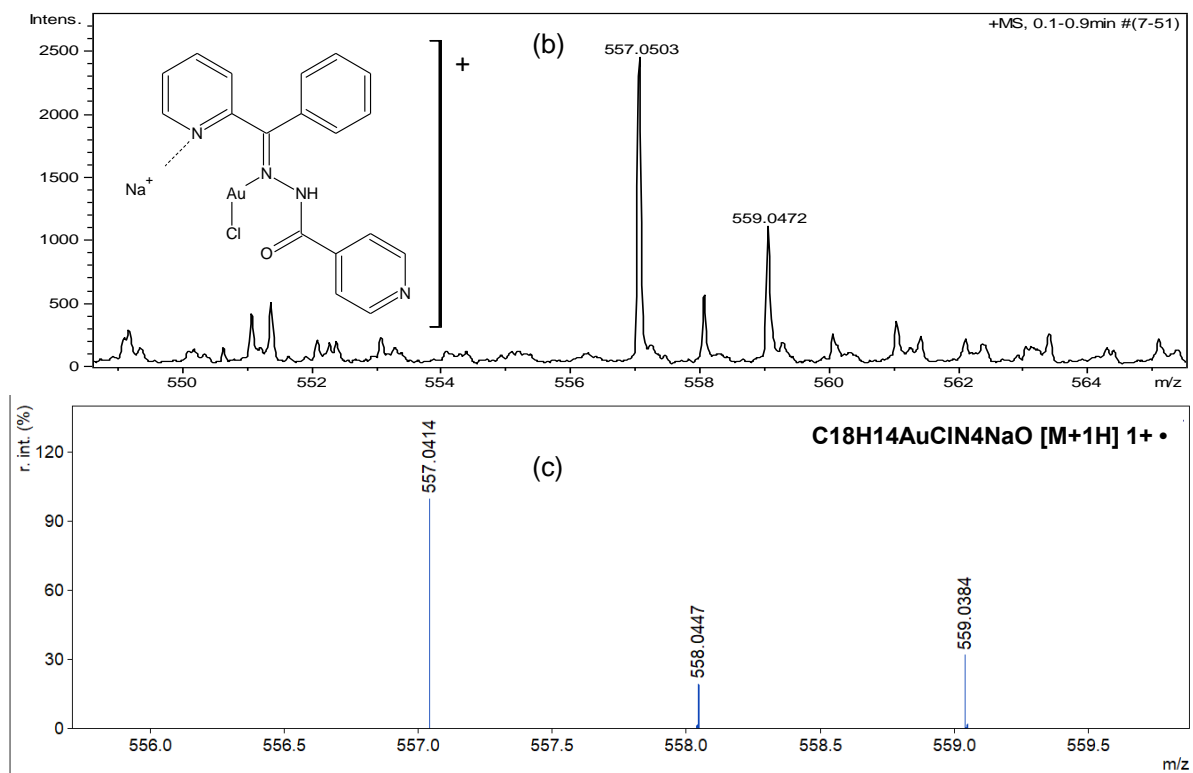


Fonte: A Autora, 2019.



## APÊNDICE E – Complexo C03

## E1 – Espectro de massas de C03, obtido em metanol no modo positivo



Fonte: A Autora, 2019.

**APÊNDICE F – Bis(N-acil hidrazona) L06****F1 – Espectro de DEPT-135 de L06 obtido em DMSO-*d*<sub>6</sub>**