



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

IGOR SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA, ANTIPARASITÁRIA E
ANTIVIRAL DE COMPLEXOS DE PRATA(I) COM DERIVADOS DE
SULFADOXINA E CARBENOS N-HETEROCÍCLICOS DE OURO(I)**

**CAMPINAS
2024**

IGOR SANTOS OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA, ANTIPARASITÁRIA E
ANTIVIRAL DE COMPLEXOS DE PRATA(I) COM DERIVADOS DE
SULFADOXINA E CARBENOS N-HETEROCÍCLICOS DE OURO(I)**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Camilla Abbehausen

O arquivo digital corresponde à versão final da Tese defendida pelo aluno Igor Santos Oliveira e orientada pela Profa. Dra. Camilla Abbehausen.

**CAMPINAS
2024**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Ol4a Oliveira, Igor Santos, 1995-
Avaliação de propriedade antimicrobiana, antiparasitária e antiviral de complexos de prata(I) com derivados de sulfadoxina e carbenos N-heterocíclicos de ouro(I) / Igor Santos Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Camilla Abbehausen.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Complexos de prata. 2. Bases de Schiff. 3. Sulfadoxina. 4. Complexos de ouro. 5. Carbenos N-heterocíclicos. I. Abbehausen, Camilla, 1979-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Evaluation of antimicrobial, antiparasitic and antiviral properties of silver(I) complexes with sulfadoxine derivatives and gold(I) N-heterocyclic carbenes

Palavras-chave em inglês:

Silver complexes

Schiff bases

Sulfadoxine

Gold complexes

N-heterocyclic carbenes

Área de concentração: Química Inorgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Camilla Abbehausen [Orientador]

Victor Marcelo Deflon

Paulo Cesar de Sousa Filho

Italo Odoni Mazali

João Honorato de Araujo Neto

Data de defesa: 18-03-2024

Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-8425-5582>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0321870648299858>

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Camilla Abbehausen (Orientadora)

Prof. Dr. Italo Odoni Mazali (IQ - UNICAMP)

Prof. Dr. João Honorato de Araujo Neto (IQ - USP)

Prof. Dr. Paulo Cesar de Sousa Filho (IQ - UNICAMP)

Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon (IQSC - USP)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Tese de Doutorado defendida pelo aluno **IGOR SANTOS OLIVEIRA**, aprovada pela Comissão Julgadora em 18 de março de 2024.

Agradecimentos

Aos meus pais, Shirley e Isaias, que sempre acreditaram nos meus sonhos de ser um cientista, apesar de desejarem um filho engenheiro. E por sempre me lembrarem de acreditar em mim mesmo nos momentos de dúvidas e cansaço.

A minha família disfuncional em Campinas, Aline Maria Luchetta, João Alvim e João Paulo Constatino, que me escutaram, me confortaram e compartilharam vários momentos de alegria e tristeza durante esses anos de doutorado. Com vocês Barão Geraldo se tornou um lugar bem melhor!

A minha orientadora Profa. Dra. Camilla Abbehausen, por ter me aceitado me guiar nessa jornada.

Aos amigos e colegas do GREMMELENZ e do IQ-UNICAMP. Em especial para Laiane, Josi, Marcelo, Gabi, Maurício, Rebeca, Mateus, Marcus e Nycolas. Poder compartilhar as mazelas da vida do pós-graduando com vocês com certeza me ajudou muito a continuar.

Aos técnicos do IQ-UNICAMP pelo apoio e suporte nos experimentos. Em especial ao Anderson Santos e Carolina Galuppo por me ajudarem a planejar e executar vários experimentos de RMN deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Douglas Pereira pela colaboração na modelagem molecular dos compostos.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins pela colaboração nos experimentos de atividade antibacteriana e antifúngica dos compostos.

Ao Prof. Dr. Danilo Ciccone Miguel pela colaboração nos experimentos de atividade antileishmania.

Ao Prof. Dr. João Honorato pela colaboração no refinamento dos dados de cristalografia de raios X.

A Profa. Dra. Ana Carolina Gomes Jardim pela colaboração nos experimentos de atividade antiviral.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida, processo nº. 88887.372945/2019-00.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Resumo

Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN), como Chikungunya e Leishmaniose, e enfermidades emergentes, a exemplo de infecções por Zika, Mayaro e bactérias resistentes, causam milhares de óbitos anualmente e impactam a qualidade de vida de milhões de indivíduos em todo o mundo. Contudo, essas doenças recebem pouco investimento e um baixo grau de desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Neste trabalho estudamos complexos metálicos como alternativas terapêuticas para DTNs, pois podem apresentar mecanismos de ação em múltiplos alvos e possibilidade de modulação da reatividade mediante alterações no estado de oxidação do metal e na esfera de coordenação. Uma parte do estudo consiste na síntese, caracterização e avaliação da atividade antibacteriana, antifúngica e inibição da replicação do vírus Chikungunya (CHIKV) da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL) e seu correspondente complexo de prata (AgSFX-SL). Os resultados apontam para uma proporção metal:ligante 1:1, a presença de espécies diméricas do complexo em solução sugerem a coordenação da base de Schiff ao íon prata(I) por meio dos átomos de nitrogênio e oxigênio do grupo sulfonamida. A modelagem molecular corrobora a proposta de uma estrutura dimérica para AgSFX-SL, o qual demonstrou atividade antimicrobiana contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos, com valores de concentração inibitória mínima (MIC) na faixa de 12,0 a 48,0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, e contra *Candida albicans*, com MIC de 2,8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Além desse complexo, este trabalho também aborda a síntese e avaliação da atividade antiviral contra os vírus Zika (ZIKV), Mayaro (MAYV) e um pseudovírus do novo coronavírus (VSV-eGFP-SARS-CoV-2), bem como a atividade antileishmania de quatro complexos de ouro(I) lineares contendo carbeno N-heterocíclicos (NHC) *trans* a diferentes ligantes tiolato, contendo tiazolinas e pirimidinas. Todos eles exibiram elevadas taxas de inibição da replicação viral contra ZIKV, MAYV e VSV-eGFP-SARS-CoV-2 em concentrações de 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, evidenciando amplo espectro de ação em três diferentes famílias de vírus. Ensaio de interação com o aminoácido N-acetil cisteína (NAC) por RMN de ^1H indicam a suscetibilidade desses complexos a reações de substituição de ligantes por cisteína. Dentre os compostos, dois deles inibiram o crescimento de promastigotas de *Leishmania amazonensis* com EC_{50} de aproximadamente 2,0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. No entanto, nestes testes com macrófagos infectados com *Leishmania*, os complexos não apresentaram redução significativa na taxa de infecção, o que demanda estudos futuros para entendimento da absorção celular destes complexos.

Abstract

Neglected Tropical Diseases (NTD) such as Chikungunya and Leishmaniasis, and emerging diseases like Zika, Mayaro and superbugs, cause thousands of deaths annually and impact the lives of millions worldwide. However, these diseases receive minimal investment and a slow development of new therapeutic agents. In this work, we studied metallic complexes as therapeutic alternatives for NTDs, due to their mechanisms of action on multiple targets and the possibility of modulating reactivity by altering the metal's oxidation state and coordination sphere. In one part we present the synthesis, characterization, and evaluation of the antibacterial, antifungal, and Chikungunya virus (CHIKV) replication inhibition activities of the sulfadoxine-salicylaldehyde Schiff base (SFX-SL) and its novel silver complex (AgSFX-SL). The results indicate a 1:1 metal-to-ligand molar composition for the AgSFX-SL complex, the existence of dimeric species of the complex in solution and the coordination of the Schiff base to the silver(I) ion through the nitrogen and oxygen atoms of the sulfonamide group. Molecular modeling supports the proposal of a dimeric structure for the AgSFX-SL, which exhibits antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative pathogens, with minimum inhibitory concentration (MIC) values ranging from 12.0 to 48.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, and against *Candida albicans*, with an MIC of 2.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Besides, this work presents the synthesis characterization and evaluation of antiviral activity against Zika virus (ZIKV), Mayaro virus (MAYV), and a pseudovirus of the novel coronavirus (VSV-eGFP-SARS-CoV-2), and the antileishmanial activity of four linear gold(I)-N-heterocyclic-carbenes bound *trans* to different thiolate ligands, especially thiazolines and pyrimidines. They showed high rates of viral replication inhibition against ZIKV, MAYV, and VSV-eGFP-SARS-CoV-2 at concentrations of 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, demonstrating a broad spectrum of action against three different virus families. ^1H NMR interaction assays with the amino acid N-acetylcysteine (NAC) suggest that they are highly susceptible to substitution reactions with this amino acid in the coordination sphere. Two of the compounds inhibited promastigotes of *Leishmania amazonensis* at concentrations around 2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. However, in tests with macrophages infected with *Leishmania*, these compounds did not show a significant reduction in the infection rate, which demands further studies to understand their cellular uptake.

Lista de Figuras

Figura 1. Representação estrutural da sulfadiazina de prata.	21
Figura 2. Estrutura do Prontosil e respectivo produto de metabolismo, a sulfanilamida.	22
Figura 3. Estrutura da (a) sulfadoxina (SFX) e (b) pirimetamina.	23
Figura 4. Estrutura da (a) aurotiomalato sódico, (b) aurotioglicose e (c) auranofina.....	24
Figura 5. Representação de orbitais envolvidos no compartilhamento de densidade eletrônica no anel imidazol dos NHCs.	26
Figura 6. Estrutura do complexo [Au(IMes)Cl].	27
Figura 7. Reação de especiação do complexo [Au(IMes)Cl].	27
Figura 8. Estrutura da (a) 2-mercaptotiazolina, (b) 2-mercaptobenzotiazol, (c) 2-mercaptopirimidina e (d) 2-tiouracil.	28
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H e respectiva atribuição estrutural do composto SFX-SL em DMSO- d_6 a 400 MHz. O asterisco destaca o sinal ferente ao sinal residual de H_2O no solvente.	43
Figura 10. Diagrama ORTEP do composto SFX-SL demonstrando ligações de hidrogênio intramolecular e intermolecular com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.	44
Figura 11. Espectros de FT-IR no modo ATR dos compostos SFX, SFX-SL e AgSFX-SL.	46
Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C CPMAS de (a) SFX-SL e (b) AgSFX-SL a 400 MHz.	47
Figura 13. Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AgSFX-SL da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos em A. Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Ag}_2(\text{SFX-SL})_2+\text{H}]^+$ em B.	48
Figura 14. a) Estrutura otimizada do ânion SFX-SL e b) barreira rotacional interna para o diedro C-N-S-O.	49
Figura 15. Fórmula estrutural para o complexo AgSFX-SL obtida a partir da modelagem molecular.	50
Figura 16. Gráfico molecular do complexo AgSFX-SL e parâmetros topológicos $\rho(r)$ gerados pelo QTAIM.	52
Figura 17. Efeito viabilidade celular de BHK-21 e infecção por CHIKV na presença dos complexos de prata(I) e seus ligantes em diferentes concentrações.....	55
Figura 18. Estrutura dos pares de ligantes tióis 2-mercaptotiazolina (HStzn) e 2-mercaptobenzotiazol (HSbtz); 2-mercaptopirimidina (HSpym) e 2-tiouracil (2-tuH).	56

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesStzn em DMSO- d_6 a 400 MHz.....	58
Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura do composto AuIMesStzn com respectivas atribuições dos sinais.	59
Figura 21. Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do complexo AuIMesStzn da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos.....	60
Figura 22. Diagrama ORTEP do composto AuIMesStzn com alto grau de desordem, representando a posição de $2/3$ das posições dos átomos com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.	61
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSbtz em DMSO- d_6 a 250 MHz.....	62
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura do composto AuIMesSbtz com respectivas atribuições dos sinais.	63
Figura 25. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMesSbtz da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Sbtz})+\text{H}]^+$	64
Figura 26. Diagrama ORTEP do composto AuIMesSbtz com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.	65
Figura 27. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSpym em DMSO- d_6 a 250 MHz...	67
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C do composto AuIMesSpym em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura com respectivas atribuições dos sinais. (*) Resíduo do solvente metanol na amostra.	68
Figura 29. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMesSpym da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Spym})+\text{H}]^+$	69
Figura 30. Diagrama ORTEP do composto AuIMesSpym com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.	70
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMes2tu em DMSO- d_6 a 250 MHz.....	71
Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura do composto AuIMes2tu com respectivas atribuições dos sinais.	72
Figura 33. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMes2tu da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Au}(\text{IMes})(2\text{-tu})+\text{H}]^+$	73

Figura 34. Diagrama ORTEP do composto AuIMes2tu com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.	74
Figura 35. Espectros de dicroísmo circular de CT-DNA na presença de a) AuIMesCl, b) AuIMesStzn, c) AuIMesSbtz, d) AuIMesSpym e e) AuIMes2tu em diferentes concentrações.	79
Figura 36. Gráfico com porcentagem de NAC coordenado ao longo do tempo da reação da interação de complexos diferentes complexos do tipo [Au(IMes)(L)] com N-acetil-L-cisteína.	81
Figura 37. Estruturas tautoméricas dos tióis HStzn, HSbtz, HSpym e 2-tuH e respectivos espectros de RMN de ^1H em DMSO- d_6 a 250 MHz.	82
Figura 38. (A) Taxa de infecção e (B) carga parasitária de células BMDM infectadas com promastigotas de <i>L. amazonensis</i> , incubadas com os compostos AuIMesStzn e AuIMes2tu nas concentrações de 0,5; 1,5; 3 e 5 μM , e controle não tratado. Os resultados apresentados são representativos de dois ensaios independentes realizados em triplicata. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.	85
Figura 39. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do ZIKV. DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.	87
Figura 40. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do MAYV- <i>nanoluc</i> . DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$.	88
Figura 41. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do VSV-eGFP-SARS-CoV-2. DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$.	89

Lista de Tabelas

Tabela 1. Valores de comprimento de ligação calculados para AgSFX-SL e valores de comprimento de ligação experimentais para outros complexos de prata-sulfonamida reportados na literatura por diferentes métodos.	51
Tabela 2. Energia de ligação ($\Delta E_{\text{Ligação}}$) a zero Kelvin, Energia de Gibbs (ΔG) e entalpia dos complexos a 298 Kelvin.	51
Tabela 3. Concentração inibitória mínima dos compostos isolados diante a bactérias anaeróbicas e anaeróbicas, e leveduras. Valores representados em $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. *No caso da gentamicina, vancomicina, cloranfenicol e anfotericina os valores são expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	53
Tabela 4. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesStzn.	61
Tabela 5. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesSbtz.	65
Tabela 6. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesSpym.	70
Tabela 7. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMes2tu.	75
Tabela 8. Valores de deslocamento químico (δ) do carbeno no ligante IMes e a distância da ligação Au–C em diferentes complexos de ouro com fórmula geral $[\text{Au}(\text{IMes})\text{L}]$	76
Tabela 9. Constante Stern-Volmer (K_{SV}), constante de ligação (K_b) e número de sítios de ligação (n) da interação dos compostos com BSA.	77
Tabela 10. Valores de EC_{50} com a forma promastigota de <i>L. amazonensis</i> , CC_{50} com células BMDM e índice de seletividade (SI) dos compostos de ouro.	84
Tabela 11. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6.	86
Tabela 12. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade de ZIKV.	87
Tabela 13. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade celular em Vero-E6 e na infecção pelo MAYV- <i>nanoluc</i>	88

Lista de Abreviaturas e Siglas

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BHK-21 – Linhagem contínua de células fibroblastos de rim de hamster

BMDM – Macrófagos derivados de medula óssea

BSA – Albumina sérica bovina

CC₅₀ – Concentração citotóxica para 50% das culturas

CD – Dicroísmo circular

CHIKV – Vírus Chikungunya

CIM – Concentração inibitória mínima

CPMAS – Polarização cruzada e rotação segundo o ângulo mágico

CSD – Banco de Dados Estruturais de Cambridge. Do inglês: *Cambridge Structural Database*

CT-DNA – DNA de timo de boi. Do inglês: *Calf Thymus DNA*

DCM - Diclorometano

DFT – Teoria do funcional de densidade

DMSO – dimetilsulfóxido

DTN – Doenças Tropicais Negligenciadas

EC₅₀ – Concentração efetiva para inibir 50% do crescimento das culturas

ESI-MS – Espectrometria de massas com ionização por *eletrospray*

FT-IR – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

HIV – Vírus da imunodeficiência humana. Do inglês: *Human Immunodeficiency Virus*

HMBC – do inglês: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HRMS – Espectrometria de massas de alta resolução

HSQC – do inglês: *Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy*

IDH – Índice de desenvolvimento humano

KOH – Hidróxido de potássio

LC – Leishmaniose cutânea

LM – Leishmaniose mucocutânea

LV – Leishmaniose visceral

MeOH – Metanol

MOI – Multiplicidade de infecção

MTT – Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio

NaOMe – Metóxido de sódio

NHC – Carbenos N-heterocíclicos

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORTEP – Do inglês: *Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot*

QTAIM – Teoria Quântica de Átomos em Moléculas

RMN – Ressonância magnética nuclear

ROS – Espécies reativas de oxigênio

SARS-CoV-2 – Coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave

SSD – Sulfadiazina de prata

tht – Tetrahidrotiofeno

VSV-eGFP-SARS-CoV-2 – Vírus da estomatite vesicular com forma modificada do gene da espícula do SARS-CoV-2 no lugar do gene nativo da glicoproteína.

ZIKV – Vírus Zika

- Ligantes estudados na tese

SFX – Sulfadoxina

SFL-SL – Base de Schiff da sulfadoxina com salicilaldeído

HStzn – 2-mercaptotiazolina

HSbtz – 2-mercaptobenzotiazol

HSpym – 2-mercaptopirimidina

2-tuH – 2-tiouracil

- Complexos metálicos estudados na tese

AgSFX – Complexo de prata(I) com ligante sulfadoxinato

AgSFX-SL – Complexo de prata(I) com ligante base de Schiff da sulfadoxina com salicilaldeído desprotonado

AuIMesCl – Complexo de ouro(I) com os ligantes IMes e cloreto

AuIMesStzn – Complexo de ouro(I) com os ligantes IMes e tiolato de tiazolina

AuIMesSbtz – Complexo de ouro(I) com os ligantes IMes e tiolato de benzotiazol

AuIMesSpym – Complexo de ouro(I) com os ligantes IMes e tiolato de pirimidina

AuIMes2tu – Complexo de ouro(I) com os ligantes IMes e 2-tiouracilato

Sumário

1	Introdução.....	17
1.1	Doenças Tropicais Negligenciadas e Patógenos Emergentes.....	17
1.2	Metalofármacos	19
1.3	Uso medicinal da prata	20
1.4	Sulfonamidas	22
1.5	Uso medicinal do ouro.....	24
2	Objetivos.....	29
3	Parte Experimental	30
3.1	Materiais e Equipamentos	30
3.2	Síntese da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL).....	31
3.3	Síntese do complexo de prata(I) com base de Schiff (AgSFX-SL).....	31
3.4	Síntese do complexo [Au(IMes)Cl].....	32
3.5	Procedimento geral de síntese dos complexos de ouro [Au(IMes)(SR)]	32
3.5.1	Síntese do complexo [Au(IMes)(Stzn)].....	33
3.5.2	Síntese do complexo [Au(IMes)(Sbtz)].....	33
3.5.3	Síntese do complexo [Au(IMes)(Spym)]	34
3.5.4	Síntese do complexo [Au(IMes)(2-tu)]	34
3.6	Modelagem computacional molecular.....	34
3.7	Ensaio de concentração inibitória mínima de atividade antimicrobiana.....	35
3.8	Ensaio de atividade antileishmania	36
3.8.1	Cultivo do parasito e ensaio com promastigotas	36
3.8.2	Cultivo de células hospedeiras e ensaio de viabilidade celular	37
3.8.3	Infecção <i>in vitro</i>	37
3.9	Ensaio de atividade antiviral	37
3.9.1	Ensaio de viabilidade celular de BHK-21 – Ensaio MTT	38

3.9.2	Cultura celular de Vero-E6.....	38
3.9.3	Ensaio de viabilidade celular de Vero-E6 – Ensaio MTT	38
3.9.4	Ensaio de atividade antiviral - CHIKV	39
3.9.5	Ensaio de atividade antiviral - ZIKV	39
3.9.6	Ensaio de atividade antiviral - MAYV	40
3.9.7	Titulação viral – VSV-eGFP-SARS-CoV-2.....	40
3.9.8	Ensaio de atividade antiviral – VSV-eGFP-SARS-CoV-2	41
3.10	Estudos biofísicos.....	41
3.10.1	Estudos de interação da albumina de soro bovino por supressão da fluorescência 41	
3.10.2	Estudo de interação com CT-DNA por dicroísmo circular	41
3.11	Cinética de interação com N-acetil-L-cisteína por ressonância magnética nuclear de hidrogênio.....	42
4	Resultados e Discussão – Complexos de prata com Sulfadoxina e derivados	43
4.1	Caracterização da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL) e respectivo complexo de prata(I) (AgSFX-SL).....	43
4.2	Modelagem molecular	48
4.3	Estudos biológicos dos complexos de prata	52
4.3.1	Avaliação de atividade antibacteriana e antifúngica	52
4.3.2	Atividade antiviral – CHIKV	54
5	Resultados e Discussões - Carbenos-N-heterocíclicos de ouro(I).....	56
5.1.1	Caracterização do complexo AuIMesStzn	57
5.1.2	Caracterização do complexo AuIMesSbtz	61
5.1.3	Caracterização do complexo AuIMesSpym	66
5.1.4	Caracterização do complexo AuIMes2tu	70
5.2	Comparação da força de doação dos ligantes tiolatos	75
5.3	Ensaio de interação com BSA por supressão da fluorescência	76
5.4	Estudo de interação com CT-DNA por dicroísmo circular	78

5.5	Ensaio de interação com N-acetil-L-cisteína por RMN de ^1H	79
5.6	Estudos biológicos dos NHCs de ouro	83
5.6.1	Avaliação da atividade antileishmania	83
5.6.2	Viabilidade celular em células Vero-E6.....	86
5.6.3	Atividade anti-ZIKV.....	86
5.6.4	Atividade anti-MAYV	87
5.6.5	Atividade anti-VSV-eGFP-SARS-CoV-2	88
5.6.6	Avaliação das atividades antivirais.....	89
6	Considerações finais	91
7	Referências	93
8	Anexos.....	104

1 Introdução

Esta tese aborda duas estratégias distintas para o desenvolvimento de metalofármacos. A primeira estratégia baseia-se na modificação de moléculas bioativas, que são posteriormente associadas a íons metálicos. Nesse contexto, foi utilizado uma base de Schiff de um fármaco sulfonamida para síntese de um complexo metálico de prata. Foram avaliadas as atividades antibacterianas contra organismos Gram-positivos e Gram-negativos, bem como as propriedades antivirais dos compostos obtidos. Os efeitos na atividade biológica resultante da modificação estrutural foram avaliados através dos valores de concentração inibitória mínima e inibição da replicação viral.

Enquanto que a segunda abordagem, envolve a substituição do íon cloreto na esfera de coordenação do complexo de ouro $[Au(IMes)Cl]$ que contém o carbeno N-heterocíclico 1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-imidazol-2-íledeno (IMes) e possui bioatividade, por ligantes tiolato contendo diversos grupos cíclicos nitrogenados, como tiazolinas e pirimidinas. O propósito dessa modificação é reduzir as reações de especiação do complexo de ouro no meio. Para esses compostos foram avaliadas a capacidade da atividade antileishmania e antiviral, buscando estabelecer correlações entre as atividades dos complexos com ligantes tiolatos em comparação ao complexo com cloreto.

O texto está organizado em quatro seções principais: uma introdução que aborda as patologias de interesse, a classe de metalofármacos, o uso medicinal de prata, de ouro e apresenta os ligantes essenciais para este trabalho; em seguida, uma parte experimental que detalha as condições utilizadas no desenvolvimento do trabalho; uma seção de apresentação e discussão dos resultados, com caracterizações estruturais dos complexos de prata com derivados de sulfadoxina, ensaios biofísicos e testes de atividade biológica, seguida pelos respectivos dados relacionados aos complexos de ouro; e, finalmente, uma conclusão geral do trabalho.

1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas e Patógenos Emergentes

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) compreendem um conjunto de 20 doenças categorizadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que afetam principalmente países em desenvolvimento nas regiões tropicais e recebem pouco investimento no desenvolvimento de novos tratamentos^{1,2}. A incidência dessas doenças está estritamente ligada a altos índices de

pobreza, falta de acesso a água potável e saneamento básico, impactando mais de 1 bilhão de pessoas globalmente³. No Brasil, as regiões Norte e Nordeste são as mais afetadas, especialmente em regiões com baixos Índices de Desenvolvimento Humano (IDH)^{4,5}.

Entre as DTN, está a febre Chikungunya, uma arbovirose emergente no continente americano causada pelo vírus da Chikungunya (CHIKV), transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*⁶. Os sintomas incluem dor muscular e nas juntas, erupções cutâneas e febre durante a fase aguda da doença, que pode durar em torno de duas semanas. Porém, há possibilidade de evolução da doença para um estágio pós-agudo que dura até três meses e até mesmo um estágio crônico com sintomas que excedem esse período e causam incapacidade física⁷⁻⁹. Recentemente, a agência reguladora estadunidense *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a primeira vacina contra Chikungunya, que se baseou nos resultados dos testes clínicos de fase três¹⁰. Entretanto, não há agentes antivirais para o tratamento da Chikungunya e a abordagem terapêutica utilizada é voltada para o alívio dos sintomas dolorosos e febris¹¹.

Além do CHIKV outras arboviroses também representam uma preocupação significativa no contexto da saúde pública no Brasil. Entre elas, destacam-se o vírus Zika (ZIKV) e o vírus Mayaro (MAYV), responsáveis pela febre Zika e a febre Mayaro, respectivamente¹². Os sintomas dessas duas doenças assemelham-se aos apresentados em infecções por outras arboviroses, como dengue e Chikungunya, apresentando febre, mialgia, artralgia, artrite, dor de cabeça e inchaço nas articulações¹³.

Em relação à infecção por ZIKV, há uma crescente preocupação devido à associação com a ocorrência de graves desordens neurológicas, como microcefalia em recém-nascidos e a síndrome de Guillain-Barré^{14,15}. Assim como na infecção por CHIKV, a febre Mayaro pode evoluir para um estágio crônico, com sintomas de artrite e artralgia persistindo por mais de 3 meses¹⁶.

Estas enfermidades exercem um impacto considerável no sistema de saúde, e algumas podem resultar no desenvolvimento de síndromes crônicas. Entretanto, até o momento, não existem medicamentos específicos para o tratamento destas doenças, o que destaca a necessidade do desenvolvimento de agentes antivirais voltados para essas patologias.

Dentro das doenças virais, não se pode deixar de mencionar o SARS-CoV-2 como um patógeno emergente de grande preocupação. A rápida propagação do novo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2) pelo globo desencadeou a pandemia da COVID-19 em 2020, levando os sistemas de saúde de várias nações, incluindo o Brasil, ao ponto de colapso¹⁷. Até dezembro de 2023, foram registradas aproximadamente 7 milhões de mortes decorrentes da COVID-19 em todo o mundo. A contenção significativa da pandemia foi

possível, em grande parte, graças à rápida produção e implementação de vacinas^{18,19}. Atualmente, diversos agentes antivirais, como Remdesivir, Sotrovimabe, Baricitinibe, Paxlovid, Molnupiravir e Tocilizumabe, receberam aprovação para uso da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), proporcionando ferramentas eficazes no combate à doença²⁰. No entanto, a notável capacidade de mutação e adaptação do vírus destaca a necessidade do desenvolvimento contínuo desse arsenal antiviral para enfrentar desafios futuros^{21,22}.

Já na categoria das parasitoses, a leishmaniose, também designada como DTN, é causada por parasitas do gênero *Leishmania*. É transmitida pelo mosquito-palha infectado e pode se manifestar em três diferentes formas, a leishmaniose visceral (LV), a forma mais grave da doença que também é conhecida como calazar, a leishmaniose cutânea (LC) e a leishmaniose mucocutânea (LM)²³. São estimados 700 mil a 1 milhão de novos casos de leishmaniose anualmente, com casos da doença concentrados em nove países, incluindo o Brasil. Apenas em 2020, foram registrados 16 056 casos de leishmaniose cutânea no país. Os casos de leishmaniose visceral no Brasil representam 97 % de todos os casos reportados nas Américas, e 90 % dos casos de LM no mundo ocorrem em países como Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru²⁴.

Os principais medicamentos para o tratamento da leishmaniose são os antimonial pentavalentes (Pentostan e o Glucantime) que possuem eficiência limitada e efeitos adversos severos. A anfotericina B é utilizada em casos de ineficiência desses fármacos, entretanto as formulações apresentam alta toxicidade e alto custo financeiro²⁵. O surgimento de casos de resistência tornam a situação ainda mais preocupante e tornam o desenvolvimento de novas opções de tratamento urgente^{26,27 28}.

1.2 Metalofármacos

O termo metalofármacos se refere a agentes terapêuticos que possuem metais ou metaloides em sua composição que desempenham atividade biológica. O início do uso dessa classe de compostos remonta ao uso clínico do Salvarsan por volta de 1910, um fármaco organoarsênico descoberto por Paul Ehrlich. Esse composto foi essencial no tratamento de sífilis e outras infecções até o surgimento da penicilina, e marcou a consolidação da quimioterapia²⁹.

Outro marco importante da quimioterapia foi o advento da cisplatina (Platinol) na década de 1960, resultado de estudos conduzidos por Barnett Rosenberg e Loretta VanCamp para o tratamento de diversos tipos de câncer. O notável sucesso da cisplatina, impulsionou a pesquisa e desenvolvimento de compostos inorgânicos para tratamento e diagnóstico de

diversas doenças, o que contribuiu para a formação da área de química bioinorgânica³⁰. Atualmente, metalofármacos baseados em metais como lítio, bismuto, prata, paládio, platina e ouro, estão comercialmente disponíveis³¹.

Os metalofármacos exibem um modo de ação em múltiplos alvos celulares, podem atuar na ruptura da membrana, na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), na desnaturação de proteínas e enzimas essenciais, e na interrupção do processo de divisão celular. Destacam-se em relação aos fármacos orgânicos, pois não se baseiam em um alvo específico. Esses compostos usualmente possuem um perfil pró-fármacos e são ativados no organismo por meio de mudanças na esfera de coordenação e no estado de oxidação. Uma característica que proporciona maior diversidade de mecanismos de ação e amplifica seu espectro de ação. Entretanto, compreender esses processos e os efeitos nos organismos se demonstra uma tarefa árdua e complexa³².

A ampla variedade de estruturas tridimensionais obtidas por compostos de coordenação é outro fator de destaque para esse grupo, e proporciona um aumento da capacidade de interação desses compostos com alvos biológicos, em comparação com compostos orgânicos bioativos que tendem possuir estruturas lineares ou planares³³. O modo de ação diferenciado dos metalofármacos indica um grande potencial para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, com capacidade de minimizar o surgimento de novos mecanismos de resistência em patógenos emergentes³⁴. Essa habilidade se torna ainda mais interessante diante do cenário alarmante de crescimento no número de relatos de microrganismos resistentes. E estabelece uma necessidade urgente no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, dado que esse processo é consideravelmente mais lento do que o surgimento de novos microrganismos resistentes³⁵.

1.3 Uso medicinal da prata

A prata pode ser considerada um dos primeiros e mais estudados metais para aplicações medicinais devido às suas propriedades antimicrobianas³⁶. Com diversas aplicações da prata ao longo da história da ciência, desde a purificação de bebidas até o uso de fios de prata em suturas cirúrgicas. Sais de prata foram amplamente utilizados de maneira empírica durante muito tempo para o tratamento de vários distúrbios humanos, tais como conjuntivite, gastroenterite e lesões na pele³⁷.

Embora a propriedade antibacteriana dos compostos de prata seja amplamente reconhecida, o mecanismo do modo de ação associado a esse metal ainda permanece

parcialmente compreendido, sendo atribuído a uma atividade em diversos alvos. Evidências indicam que a liberação de íons Ag^+ no meio pode proporcionar o rompimento da parede celular, inibição de enzimas e proteínas, geração de espécies reativas de oxigênio e interação com DNA. Como o íon Ag^+ é um ácido mole, pela teoria ácido-base de Pearson, esta espécie possui afinidade por bases moles como enxofre e, em situações específicas, com nitrogênio. Portanto, proteínas com alto teor de resíduos de cisteína reduzida podem ser potenciais alvos³⁸.

O maior exemplo da aplicação de compostos de prata como agentes antibacterianos é a sulfadiazina de prata (SSD) (Figura 1), um metalofármaco utilizado no tratamento de queimaduras por mais de cinquenta anos. Estudos demonstraram que a SSD age como um pró-fármaco e libera íons Ag^+ lentamente, o que garante concentrações menos tóxicas e mais seguras do que a apresentada pelo uso de nitrato de prata, que libera esses íons em altas concentrações³⁹.

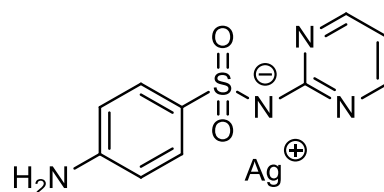


Figura 1. Representação estrutural da sulfadiazina de prata.

O sucesso da utilização clínica da sulfadiazina de prata estimulou o desenvolvimento de novos complexos de prata para aplicações farmacológicas, explorando as atividades anticâncer, antifúngica e antibacteriana desses compostos. Os complexos de prata(I) que se destacam nesse campo, se baseiam em ligantes carboxilatos, fosfinas, N-doadores, S-doadores e carbenos N-heterocíclicos. Em muitos casos os complexos de prata apresentam atividade superior aos fármacos referência utilizados nos estudos⁴⁰.

Apesar da vasta quantidade de estudos que exploram a propriedade antibacteriana, existem relativamente poucos trabalhos que investigam a atividade antiviral desses complexos. Na literatura, há relatos da atividade da SSD contra o herpesvírus⁴¹ e outros complexos de prata com atividade contra o HIV e, mais recentemente, contra o SARS-CoV-2^{42,43}.

Com o intuito de expandir o conhecimento sobre a atividade antiviral de complexos de prata que possuem ligantes sulfonamidas, Esquezaro *et al.* demonstram o potencial da atividade anti-CHIKV de complexos de prata com os ligantes mafenida e etil-mafenida, obtendo resultados mais significativos para os complexo em concentrações mais baixas em relação aos

ligantes isolados, sugerindo um importante papel da prata destes complexos na atividade anti-CHIKV⁴⁴.

1.4 Sulfonamidas

As sulfonamidas, ou sulfas, são amidas de ácidos sulfônicos de fórmula geral $R-SO_2-NHR$ e são reconhecidas como um marco importante na quimioterapia antimicrobiana desde a descoberta dos efeitos antibacterianos do Prontosil (Figura 2) por Gerhard Domagk em 1932. Nos anos seguintes, foi descoberto que esse composto possuía um perfil pró-fármaco, sendo necessário uma redução na etapa de metabolização no organismo para gerar a espécie ativa sulfanilamida (Figura 2)⁴⁵.

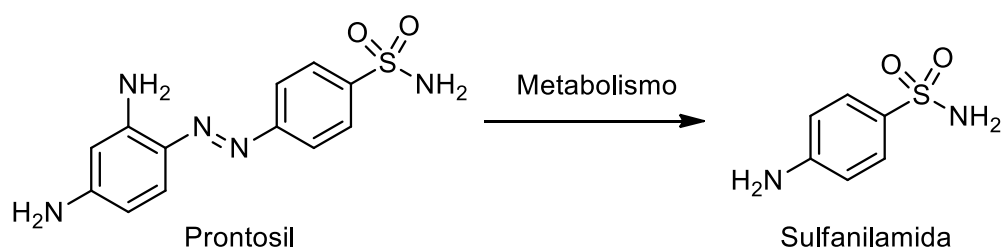


Figura 2. Estrutura do Prontosil e respectivo produto de metabolismo, a sulfanilamida.

Essa classe de compostos representou os primeiros fármacos de uso sistêmico que afetam bactérias seletivamente, através do mecanismo de inibição da enzima diidropteroato sintase e interferindo na via biossintética essencial do folato, devido a sua similaridade estrutural com o ácido para-aminobenzoico (PABA)^{46,47}. Esse modo de ação específico se torna viável, pois seres procarióticos como bactérias e alguns microrganismos eucarióticos como parasitas, obtêm o ácido dihidrofólico através da síntese endógena e utiliza a enzima diidropteroato (DHPS) sintase em parte desse processo. Enquanto os mamíferos adquirem esse nutriente através da dieta alimentar e não possuem a enzima DHPS⁴⁸.

Atualmente, o grupo funcional das sulfonamidas desempenha um papel importante no design de medicamentos, levando ao desenvolvimento de compostos anti-inflamatórios, antibacterianos, antifúngicos e antiparasitários⁴⁹. No entanto, a resistência microbiana é um fator significativo que restringe o uso das sulfonamidas, limitando sua aplicação. Modificações estruturais nesses compostos, incluindo a síntese de derivados de bases de Schiff de sulfonamidas, têm sido empregadas para aprimorar a bioatividade, visando superar a resistência bacteriana.

Mondal *et al.* publicaram a síntese de bases de Schiff de diversas sulfonamidas que demonstraram atividade inibitória contra microrganismos resistentes, ao passo que as sulfonamidas originais eram inativas⁵⁰. Além disso, foi descrita a síntese de derivados de bases de Schiff da sulfadiazina, com atividade e seletividade contra estafilococos e fungos. Esses compostos apresentaram valores de concentração inibitória mínima (CIM) inferiores aos da sulfadiazina⁵¹. Outras bases de Schiff derivadas de sulfonamidas demonstraram atividade antifúngica contra cepas de *Candida auris* resistentes ao fluconazol⁵². Esses dados reforçam o potencial de aplicação das bases de Schiff derivadas de sulfonamidas na medicina.

Uma das estratégias no desenvolvimento de metalofármacos consiste na combinação de moléculas bioativas com atividades já bem estabelecidas, como propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, com metais como prata, platina e cobre, entre outros. O grupo de fármacos sulfas, ou sulfonamidas, representam um excelente exemplo de uma classe de moléculas bioativas que têm sido consideradas para essa tática. A sulfadiazina de prata (SSD) é provavelmente o exemplo mais notável do sucesso na combinação de sulfonamidas e metais na busca por agentes antibacterianos para infecções na pele. A OMS incluiu a SSD na lista de medicamentos essenciais e é usada topicamente na forma de creme a 1 % para tratar queimaduras de segundo e terceiro grau^{36,53}.

A sulfadoxina (SFX) (Figura 3) é uma sulfonamida usada em combinação com a pirimetamina como agente antiparasitário. Comercializada como Fansidar®, é utilizada no tratamento de malária resistente à cloroquina⁵⁴. A molécula de SFX atua como um antagonista do folato, inibindo a enzima diidrofolato redutase, interferindo na via biossintética essencial do folato do parasita⁵⁵. Contudo, mutações nessa enzima podem gerar parasitas resistentes à sulfadoxina⁵⁶.

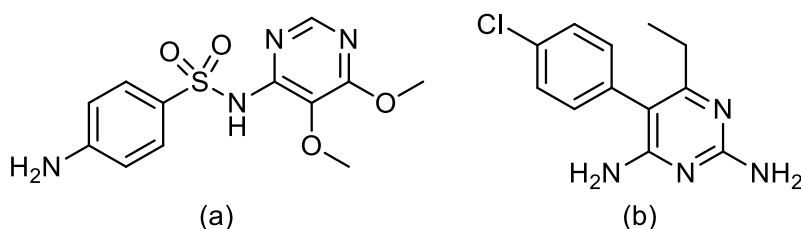


Figura 3. Estrutura da (a) sulfadoxina (SFX) e (b) pirimetamina.

Chellan *et al.*⁵⁷ publicaram a síntese de complexos metálicos com derivados de bases de Schiff da sulfadoxina, os quais apresentaram boas respostas *in vitro* contra cepas resistentes de *Plasmodium*, evidenciando um aprimoramento na atividade antimicrobiana do fármaco quando

associado a íons metálicos. Na literatura há diversos outros trabalhos publicados que seguem uma abordagem similar, e propõem o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos baseados na combinação de complexos metálicos com sulfonamidas^{44,58-64}.

1.5 Uso medicinal do ouro

As propriedades incomuns do ouro em relação a outros metais, como resistência à corrosão, oxidação e seu característico brilho dourado, conferiram a esse elemento um aspecto místico em diversas culturas, levando à sua utilização na formulação de elixires para tratar diferentes doenças. Um importante marco na investigação das propriedades terapêuticas dos complexos de ouro foram os estudos de Robert Koch que demonstraram a propriedade bacteriostática do composto dicianoaurato de potássio, $K[Au(CN)_2]$, em cepas dos microrganismos responsáveis pela tuberculose⁶⁵.

Embora o dicianoaurato de potássio não tenha demonstrado atividade terapêutica esperada, o seu uso revelou seu potencial como agente anti-inflamatório e impulsionou o desenvolvimento e a aplicação de medicamentos baseados em ouro para o tratamento de artrite reumatoide. Esses medicamentos (Figura 4) com complexos de ouro(I) com ligantes tiolato em sua estrutura, incluem o aurotiomalato sódico (MyocrisinTM), aurotioglicose (SolganolTM) e a auranofina (RidauraTM), sendo este último o metalofármaco mais recente para esse fim terapêutico⁶⁶.

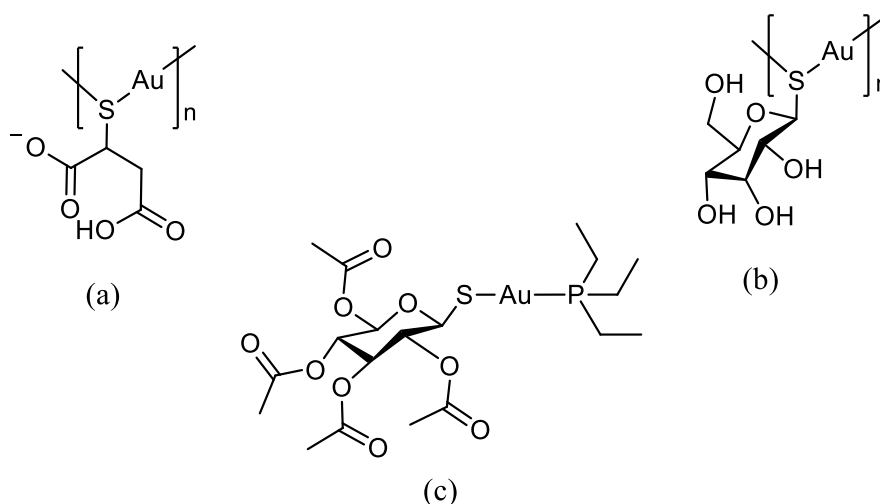


Figura 4. Estrutura da (a) aurotiomalato sódico, (b) aurotioglicose e (c) auranofina.

Apesar das propriedades anti-inflamatórias citadas anteriormente, os compostos de ouro se destacam na química bioinorgânica pela proeminente atividade antiproliferativa. Complexos

com ligantes fosfinas, ditiocarbamatos, ciclometalatos e bases de Schiff se destacam nesse aspecto. Essa atividade, se deve ao caráter ácido mole da espécie Au^+ que possui alta afinidade por bases moles como os grupos tióis e selenóis presentes em proteínas⁶⁷. O principal modo de ação conhecido é a indução de apoptose celular via inibição de proteínas, como as enzimas do grupo tiorredoxina redutase (TrxR). Essas enzimas estão envolvidas no controle redox celular e são expressas em uma maior quantidade em células tumorais do que em células saudáveis⁶⁸. A inibição da enzima TrxR interrompe a mediação de redução da tiorredoxina (Trx), levando a um efeito cascata que proporciona um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) no ambiente celular, causando estresse oxidativo e consequentemente induzindo ao processo de apoptose⁶⁹.

A afinidade de espécies de Au^+ com resíduos de cisteína em biomoléculas, despertou o interesse da comunidade científica para explorar essa propriedade em outros organismos patógenos. O que resultou em um aumento crescente de trabalhos com aplicação de complexos metálicos de ouro como agentes antiparasitários. Esses estudos se baseiam na interação com biomoléculas específicas no processo metabólico de parasitas e a possibilidade de inativação dessas enzimas, como a tripanotiona redutase (TR). A química de coordenação atua como uma ferramenta poderosa nesse processo e proporciona alterações no perfil de reatividade do centro metálico com esses alvos a partir de mudanças na esfera de coordenação desses compostos⁷⁰.

Compostos como a auranofina e análogos foram selecionados para estudos de reposicionamento desse metalofármaco e avaliar sua eficácia frente a organismos relacionados à doenças parasitárias, como malária e leishmaniose^{71,72}. Nos trabalhos onde foram utilizados parasitas do gênero *Leishmania*, a auranofina demonstrou atividade antiproliferativa contra a forma promastigota do parasita em testes *in vitro*⁷³.

Outros estudos publicados por Sharlow *et al.* evidenciaram a atuação da auranofina como agente indutor de um processo semelhante a apoptose na forma amastigota do parasita *in vitro* e *in vivo* com modelos murinos, demonstrando resultados comparáveis ao obtidos com anfotericina B, utilizada como referência nestes testes. Os autores destacam que o mecanismo de ação principal da auranofina ocorre pela interação do íon Au^+ com a enzima TR, causando a inibição da sua atividade. Esta proteína pertence exclusivamente ao gênero *Leishmania* e tem a função de regular o equilíbrio redox dentro da célula, a interferência nesse mecanismo pode resultar na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são capazes de causar a morte do parasita⁷⁴.

Uma outra categoria de complexos de ouro que tem se destacado na química medicinal são os carbenos N-heterocíclicos (NHCs) de ouro. Embora tenham sido inicialmente

desenvolvidos para aplicações em catálise, vários estudos destacam o potencial terapêutico desses compostos, evidenciando atividade antibacteriana, antitumoral e antiparasitária⁷⁵⁻⁷⁷.

Os ligantes NHCs são uma classe bem estabelecida de ligantes neutros com pelo menos um átomo de nitrogênio no anel da estrutura, onde o átomo doador é um carbono que dispõe de seis elétrons em sua camada de valência. Esse carbono possui um par de elétrons ocupando um orbital com hibridização sp^2 e um orbital p vazio em uma posição ortogonal ao par de elétrons⁷⁸. Esse carbeno é estabilizado por fatores estéricos, em que o volume dos grupos substituintes impede reações de dimerização, e por fatores eletrônicos, devido ao efeito retirador de elétrons exercido pelos átomos de nitrogênio do anel e a doação de densidade eletrônica π dos pares não ligantes dos nitrogênios para o orbital p do carbono (Figura 5)⁷⁹.

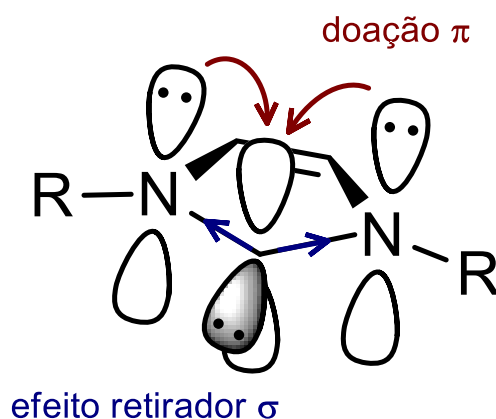


Figura 5. Representação de orbitais envolvidos no compartilhamento de densidade eletrônica no anel imidazol dos NHCs.

Esse grupo de ligantes é caracterizado como doador σ forte e também como receptor e doador π fraco⁸⁰. Tendem a formar fortes ligações com diversos metais do bloco d, conferindo alta estabilidade ao complexo metálico, o que favorece aplicações desses compostos até mesmo em condições fisiológicas⁸¹. Apesar serem frequentemente comparados aos ligantes fosfinas, devido à similaridade na capacidade de doação de elétrons, são reconhecidos como doadores mais eficientes em muitos casos. Essa classe de ligantes permite uma grande facilidade na sua modificação estrutural a partir de diferentes substituintes nos átomos de nitrogênio e no anel imidazol. O que proporciona uma vasta modulação da reatividade do complexo metálico e permite a investigação de efeitos estéricos, eletrônicos e a inserção de grupos funcionais específicos⁸².

Com o intuito de aprofundar os estudos da atividade antiparasitária de complexos de ouro(I), nosso grupo de pesquisa propôs o uso de NHCs de ouro(I) como agentes

antileishmania. Dentre os diversos NHCs simétricos de ouro testados com grupos benzila e arila, o composto $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$ (Figura 6) demonstrou a atividade antileishmania mais promissora, com o maior índice de seletividade. A partir desses estudos foi possível apontar o caráter lipofílico como parâmetro importante na atividade e seletividade dos compostos⁸³.

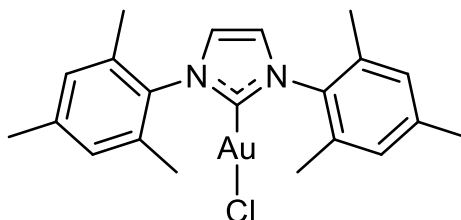


Figura 6. Estrutura do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$.

Em outro trabalho publicado pelo nosso grupo de pesquisa, Aires *et al.* demonstraram o potencial do uso de compostos de ouro contra arboviroses, explorando a atividade anti-CHIKV de diferentes complexos de ouro(I) com os ligantes trifenilfosfina (PPh_3) e IMes. Em um ensaio com soluções de água/dimetilsulfóxido do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$, foi observada a formação da espécie $[\text{Au}(\text{NHC})_2]^+$ a partir de reações de especiação no meio (Figura 7), e o aumento da sua concentração ao longo do tempo⁸⁴. As espécies $[\text{Au}(\text{NHC})_2]^+$ são bastante exploradas na química medicinal, pois possuem propriedades como carga positiva e alta lipofilicidade que facilitam a penetração desses complexos através da membrana celular. Porém, tendem a demonstrar uma maior citotoxicidade do que os complexos heteroléticos correspondentes com íons halogeneto, o que pode conferir baixa seletividade a esses compostos.

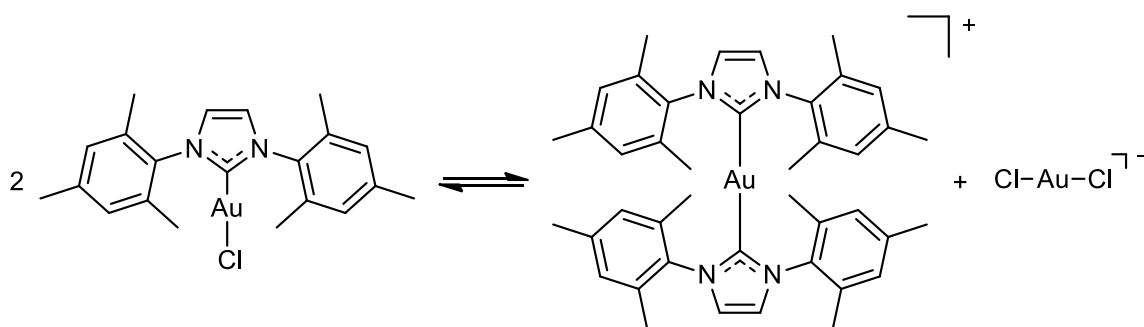


Figura 7. Reação de especiação do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$.

Uma das estratégias utilizadas para impedir reações de especiação de NHCs de ouro heteroléticos é a funcionalização da ligação $(\text{NHC})\text{Au}-\text{Cl}$, na qual o haleto é substituído por ligantes contendo átomos de nitrogênio ou enxofre. A formação de ligações $\text{Au}-\text{S}$ é bem

favorável, por estabelecer uma interação entre um ácido e uma base mole, conferindo estabilidade ao complexo. Essa estabilidade pode contribuir para um aumento das chances de alcance dos complexos a alvos biológicos⁸⁵. Um exemplo notável dessa propriedade é observado na aplicação da auranofina em condições fisiológicas, um complexo de ouro que contém um ligante tiolato em sua esfera de coordenação⁸⁶.

Ligantes tiolatos (RS^-) são facilmente obtidos pela desprotonação de tióis e oferecem uma grande variedade de moléculas com átomos de enxofre doadores. Em complexos do tipo (NHC)Au–SR, os grupos ligados aos tiolatos permitem a modificação do perfil de lipofilicidade, fatores estéricos e capacidade de doação do átomo de enxofre. E a introdução de grupos nitrogenados e análogos de nucleotídeos podem possibilitar novas interações com biomoléculas⁸⁷. Alguns exemplos de tióis, como 2-mercaptotiazolina (HStzn), 2-mercaptobenzotiazol (HSbtz), 2-mercaptopirimidina (HSpym) e 2-tiouracil (2tuH), ilustrados na Figura 8, apresentam tautomerismo tiol/tioacetona e são empregados na obtenção de complexos (NHC)Au–SR e outros tipos de complexos de ouro, utilizados em diversos estudos com aplicação medicinal^{69,76,88–90}.

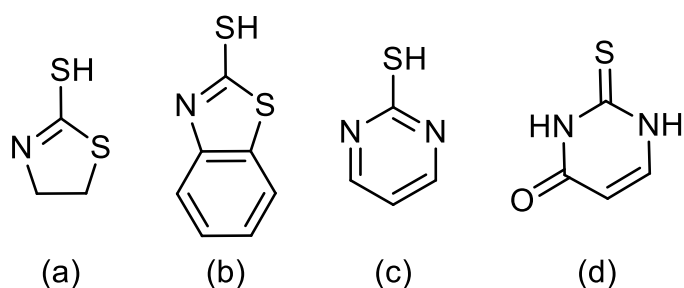


Figura 8. Estrutura da (a) 2-mercaptotiazolina, (b) 2-mercaptobenzotiazol, (c) 2-mercaptopirimidina e (d) 2-tiouracil.

2 Objetivos

Levando em conta o cenário da química de coordenação envolvendo ligantes do tipo sulfonamida e da bem estabelecida atividade antibacteriana de complexos de prata, este trabalho tem como objetivo inicial a síntese, caracterização e avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de complexos de prata(I) com derivados de sulfadoxina, com foco na investigação das atividades biológicas resultantes da formação da base de Schiff a partir da reação deste ligante com salicilaldeído. Assim como, a investigação da atividade anti-CHIKV dos compostos já mencionados, frente aos recentes relatos da atividade antiviral de complexos de prata.

Diante da atividade antileishmania e antiviral apresentada pelo NHC de ouro(I) $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$, é estabelecido também como objetivo deste trabalho a síntese, caracterização, avaliação da atividade antileishmania e avaliação da atividade antiviral contra o ZIKV, MAYV e SARS-CoV2 de uma série de compostos NHC de ouro(I) com ligantes tiolatos, empregando reações de troca do ligante cloreto no complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$ e utilizando ligantes tióis, como o 2-mercaptobenzotiazol, 2-mercaptotiazolina, 2-mercaptobenzimidazol e o 2-tiouracil.

3 Parte Experimental

3.1 Materiais e Equipamentos

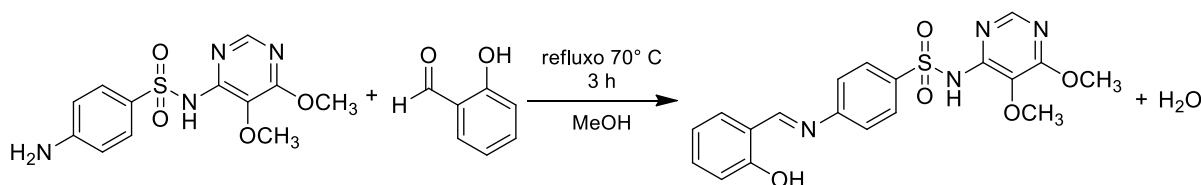
Todos os reagentes de grau comercial foram utilizados sem purificação prévia. Os reagentes sulfadoxina, salicilaldeído, hidróxido de potássio, nitrato de prata, glioxal 40 % (m/m), 2,4,6-trimetilaniline, paraformaldeído, clorotrimetilsilano, tetrahidrotiofeno, tetracloroaurato de potássio, 2-mercaptotiazolina, 2-mercaptobentiazol, 2-mercaptopirimidina, 2-tiouracil, metóxido de sódio, N-acetil-cisteína, dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6), DNA de timo de boi (CT-DNA), membrana de dialise foram adquiridos pela Sigma-Aldrich. E os reagentes carbonato de potássio, metanol, diclorometano, éter etílico e dimetilsulfóxido foram adquiridos pela Synth. A albumina sérica bovina (BSA) foi adquirida pela Bio Basic Canada.

Os dados de difração de raios X de monocristal foram obtidos pelo difratômetro Bruker Kappa Apex II DUO utilizando uma fonte de molibdênio. Os espectros de RMN de 1H em solução foram obtidos no equipamento Bruker 250 MHz e Bruker Avance 400 MHz utilizando DMSO- d_6 como solvente. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio (1H), carbono (^{13}C) difratômetro Bruker Kappa Apex II DUO Bruker Avance III 500 MHz ou 400 MHz e Bruker Avance III HD 250 MHz. Enquanto os espectros de RMN de polarização cruzada e rotação segundo o ângulo mágico (CPMAS) para o núcleo de carbono-13 (^{13}C) foram adquiridas no equipamento Bruker Avance II+ 400 MHz. Os espectros no infravermelho (FT-IR) foram obtidos no espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR, usando o método de refletância total atenuada (ATR), na faixa de 4000-400 cm^{-1} e com resolução de 4 cm^{-1} . As análises elementares foram obtidas no equipamento Perkin Elmer 2400 CHNS/O Analyzer. Os espectros gerados a partir da espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foram adquiridos utilizando o equipamento Orbi-trap Thermo Q-Exactive com o método de ionização por electrospray (ESI-MS) no modo de aquisição positivo. As amostras de AgSFX-SL foram preparadas a partir de uma suspensão de 1,0 mg do complexo em 1,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), enquanto as amostras dos complexos de ouro(I) foram preparadas a partir de uma solução contendo 1,0 mg de complexo em 1,0 mL de metanol. Todas as amostras foram filtradas e diluídas em uma solução de metanol:água contendo 0,1 % v/v de ácido fórmico. As soluções finais foram injetadas diretamente no instrumento e foram analisadas no modo positivo com o fluxo de 200 $\mu L \cdot min^{-1}$. Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrofotômetro de fluorescência Cary Eclipse com utilização de cubeta de quartzo com 4 faces polidas e

caminho óptico de 1,0 cm, com velocidade de varredura média pré-definida pelo equipamento. Os espectros de dicroísmo circular foram obtidos em um espectrofotômetro Jasco J-720 com cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

3.2 Síntese da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL)

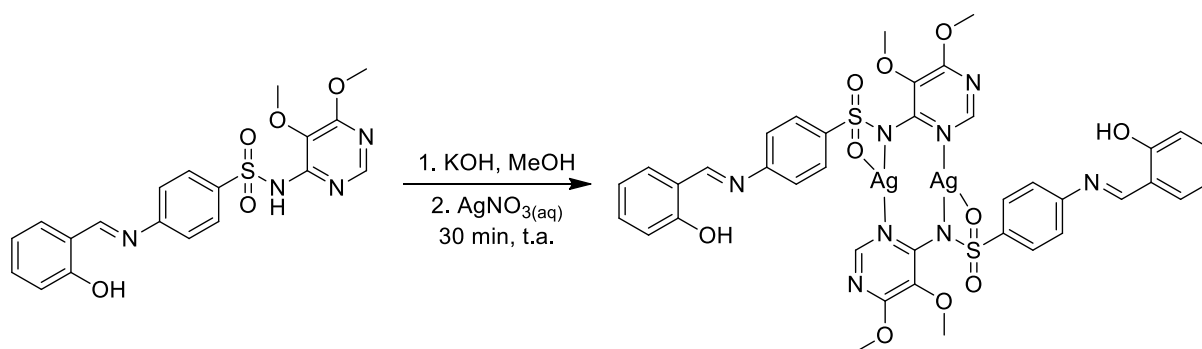
Para a síntese do ligante base de Schiff foi utilizado o seguinte procedimento (Esquema 1): em um balão foram adicionados 1,0 mmol de sulfadoxina (SFX), 1,0 mmol de salicilaldeído (1,0 mmol) e 5,0 mL de metanol. Essa mistura foi acondicionada em um sistema de refluxo e agitação constante por 3 h, obtendo um precipitado amarelo ao final do tempo de reação. Depois de resfriado o precipitado foi separado por filtração a vácuo, lavado com algumas porções de metanol e seco em um dessecador. Os monocristais da base de Schiff de sulfadoxina com salicilaldeído (SFX-SL) foram obtidos a partir da cristalização do sobrenadante da reação armazenado em -4°C após alguns dias. Calculado (%): C 55,06; H 4,38; N 13,52 Experimental (%): C 54,39; H 4,00; N 13,54. Rendimento 86,0%.



Esquema 1. Procedimento de síntese da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL).

3.3 Síntese do complexo de prata(I) com base de Schiff (AgSFX-SL)

O complexo de prata(I) foi sintetizado a partir do seguinte procedimento (Esquema 2): em um balão foram adicionados 0,25 mmol do composto SFX-SL e 0,30 mmol de hidróxido de potássio (KOH) em 5,0 mL de metanol (MeOH), solubilizando parcialmente a base de Schiff. Então foi gotejado lentamente uma solução recém preparada com 0,25 mmol de nitrato de prata em 2,0 mL de água destilada ao meio reacional que foi mantido em agitação constante, em temperatura ambiente e protegido da luz por 30 min. O precipitado amarelo claro obtido na síntese foi separado por filtração a vácuo, lavado com metanol e seco em dessecador. A partir da análise elementar foi proposta a fórmula mínima $\text{AgC}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$. Calculado (%): C 43,78; H 3,29; N 10,75. Experimental (%): C 43,17; H 3,20; N 10,20. Rendimento 94 %. Apesar de diversas tentativas não foi possível obter monocristais deste complexo para uma análise mais detalhada por difração de raios de X.



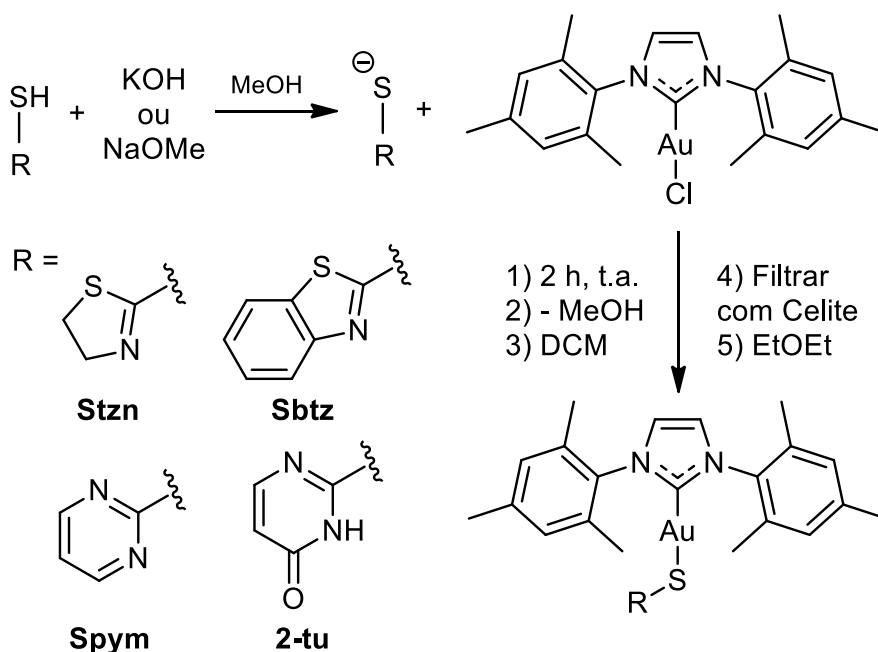
Esquema 2. Síntese do complexo de prata(I) com a base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (AgSFX-SL) e respectiva proposta estrutural.

3.4 Síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$

A síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})\text{Cl}]$ foi feita de acordo com o procedimento descrito na literatura⁹¹. Em um balão foram adicionados 0,35 mmol, IMes.HCl 0,35 mmol de $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ e 15,0 mL de diclorometano (DCM), essa solução ficou em agitação constante por 15 min. Em seguida foram adicionados 7,0 mmol de K_2CO_3 , mantendo o sistema em agitação constante e protegido da luz por 1,5 h. A mistura foi filtrada em Celite e a solução resultante teve seu volume reduzido para aproximadamente 5,0 mL. Então a essa solução foi gotejada um volume de 10,0 mL de éter etílico gelado, formando um precipitado branco de aspecto cristalino que foi separado por filtração e lavado com três porções de 5,0 mL de éter etílico. O precipitado foi seco sob vácuo.

3.5 Procedimento geral de síntese dos complexos de ouro $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{SR})]$

O procedimento geral de síntese de substituição do ligante cloreto no NHC de ouro(I) por ligantes tiolatos foi adaptado da literatura⁷⁶. Em um balão foram adicionados 0,06 mmol da respectiva base nitrogenada com grupo tiol (HSR), 0,06 mmol de base (hidróxido de potássio ou metóxido de sódio), e 5,0 mL de metanol (MeOH), resultando em uma solução a qual foram adicionados 0,06 mmol do complexo precursor AuIMesCl (Esquema 3). A mistura foi mantida em agitação constante e protegida da luz em temperatura ambiente por 2 h. Para remover o cloreto de potássio do produto, o volume de MeOH foi removido em um rotaevaporador e foram adicionados 5,0 mL de diclorometano (DCM) nesse balão, formando uma suspensão que foi filtrada com Celite. A solução resultante foi concentrada em pressão reduzida a um volume de aproximadamente 2,0 mL e então foi adicionado éter etílico para precipitação, obtendo um sólido incolor de aspecto cristalino que foi seco sob vácuo.



Esquema 3. Rota geral de síntese dos complexos $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{SR})]$.

3.5.1 Síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Stzn})]$

O procedimento de síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Stzn})]$ foi realizado de acordo com o descrito no procedimento geral, onde foi utilizado o 2-mercaptobenzotiazolina (HStzn) e hidróxido de potássio (KOH) como base, obtendo um sólido incolor de aspecto cristalino ao final do procedimento. Este complexo pode também ser nomeado como AuIMesStzn ao longo do texto. A partir da análise elementar foi proposta a fórmula mínima $\text{AuC}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{S}_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$. Calculado (%): C 45,86; H 4,65; N 6,68. Experimental (%): C 45,75; H 4,55; N 6,60. Rendimento 70 %.

3.5.2 Síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Sbtz})]$

O procedimento de síntese do complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Sbtz})]$ foi realizado de acordo com o descrito no procedimento geral, onde foi utilizado o 2-mercaptobenzotiazol (HSbtz) e metóxido de sódio (NaOMe) como base, obtendo um sólido incolor de aspecto cristalino ao final do procedimento. Este complexo pode também ser nomeado como AuIMesSbtz ao longo do texto. A partir da análise elementar foi proposta a fórmula mínima $\text{AuC}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Calculado (%): C 49,05; H 4,41; N 6,13. Experimental (%): C 49,25; H 4,125; N 6,13. Rendimento 85%.

3.5.3 Síntese do complexo [Au(IMes)(Spym)]

O procedimento de síntese do complexo [Au(IMes)(Spym)] foi realizado de acordo com o descrito no procedimento geral, onde foi utilizado 2-mercaptopirimidina (HSpym) e metóxido de sódio como base, obtendo um sólido amarelado de aspecto cristalino ao final do procedimento. Os monocristais foram obtidos a partir da evaporação lenta do meio reacional em metanol a temperatura de 5 °C. Este complexo pode também ser nomeado como AuIMesSpym ao longo do texto. A partir da análise elementar foi proposta a fórmula mínima $\text{AuC}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{S}^{5/3}\text{H}_2\text{O}$. Calculado (%): C 46,73; H 4,76; N 8,72. Experimental (%): C 46,70; H 4,29; N 8,41. Rendimento 63 %.

3.5.4 Síntese do complexo [Au(IMes)(2-tu)]

O procedimento de síntese do complexo [Au(IMes)(2-tu)] foi realizado de modo similar ao descrito para o [Au(IMes)(Stzn)], porém utilizando 2-tiouracil (2-tuH) e metóxido de sódio como base, obtendo um sólido incolor de aspecto cristalino ao final do procedimento. Os monocristais foram obtidos a partir da evaporação lenta do meio reacional em metanol a temperatura de 5 °C. Este complexo pode também ser nomeado como AuIMes2tu ao longo do texto. A partir da análise elementar foi proposta a fórmula mínima $\text{AuC}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{OS}^{3/2}\text{H}_2\text{O}$. Calculado (%): C 45,80; H 4,61; N 8,55. Experimental (%): C 45,94; H 4,24; N 8,36. Rendimento 80 %

3.6 Modelagem computacional molecular

Os estudos de modelagem computacional molecular foram realizados em colaboração com o Prof. Dr. Douglas Henrique Pereira, da Universidade Federal de Tocantins - UFT, Brasil. Para estudos teóricos, foi utilizada a teoria do funcional de densidade (DFT) e todas as moléculas foram otimizadas para a energia mínima usando o funcional híbrido ωB97XD^{92} . Para os átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio, enxofre e nitrogênio, foi utilizado o conjunto de base 6-31G(d,p)^{93,94}, e para o átomo de prata, foi selecionado o conjunto de base de potencial de núcleo efetivo LANL2DZ⁹⁵. Os cálculos de frequência foram realizados para confirmar que as estruturas otimizadas estavam em sua energia mínima. Todas as otimizações e cálculos de frequência foram realizados usando o programa Gaussian 09⁹⁶. As estruturas foram construídas utilizando o programa GaussView⁹⁷. A energia de ligação ($\Delta E_{\text{Ligação}}$), a energia de Gibbs e a entalpia do processo de coordenação foram quantificadas pelas equações 1–3.

$$\Delta E_{\text{Ligação}} = E_{\text{complexo}} - [E_{\text{ligante}} + E_{\text{metal}}] \quad (1)$$

$$\Delta G = G_{\text{complexo}} - [G_{\text{ligante}} + G_{\text{metal}}] \quad (2)$$

$$\Delta H = H_{\text{complexo}} - [H_{\text{ligante}} + H_{\text{metal}}] \quad (3)$$

onde $\Delta E_{\text{Ligação}}$ corresponde à energia de ligação, E_{complexo} é a energia do complexo, E_{ligante} e E_{metal} correspondem às energias eletrônicas do ligante SFX-SL e do átomo de prata, respectivamente^{98–100}. A energia de ponto zero (ZPE) foi adicionada à energia eletrônica ($E + \text{ZPE}$). A energia Gibbs e a entalpia do processo também foram calculadas de maneira análoga. As energias do HOMO (Orbital Molecular mais Alto Ocupado) e do LUMO (Orbital Molecular mais Baixo Não Ocupado) foram usadas para obter a dureza química (η), a maciez química (S), o potencial químico (μ), a eletronegatividade (χ) e o índice de eletrofilicidade (ω)^{101,102}, levando em consideração o teorema de Koopmans¹⁰³, equações 4–7:

$$\eta = \frac{(E_{\text{HOMO}} - E_{\text{LUMO}})}{2} \quad (4)$$

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (5)$$

$$\mu = \frac{(E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}})}{2} = -\chi \quad (6)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (7)$$

O pacote AIMALL¹⁰⁴ foi selecionado e aplicado para caracterizar as interações ou ligações usando a Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM)^{105–109}.

3.7 Ensaios de concentração inibitória mínima de atividade antimicrobiana

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados pela parceria com o Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins e as alunas Mariana Brentini Santiago e Nagela Bernadelli Sousa Silva do Laboratório de Ensaios Antimicrobianos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A concentração inibitória mínima (CIM) pode ser definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano. Para a determinação de CIM de bactérias aeróbias e anaeróbias incluídas neste estudo, foi utilizado o método de microdiluição recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*^{110,111}, com algumas modificações que são descritas a seguir.

Os compostos isolados foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO; Merck®) ou água destilada e diluídos com caldo Mueller Hinton (Kasvi®) para as bactérias aeróbias e caldo Schaedler (Difco®) suplementado com hemina (5 mg·mL⁻¹, Sigma®) e menadiona (1 mg·mL⁻¹, Sigma®) para as bactérias anaeróbias. Então, doze concentrações dos compostos isolados, variando de 0,195 a 400 µg·mL⁻¹, foram testadas em uma microplaca de 96 poços.

As bactérias utilizadas neste estudo foram obtidas na *American Type Culture Collection* (ATCC). Foram utilizadas as seguintes bactérias aeróbias: *Staphylococcus aureus* ATCC BA44, *Burkholderia cepacia* ATCC 25416, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e a bactéria anaeróbia *Cutibacterium acnes* ATCC 11827. Os inóculos foram ajustados para dar uma concentração de células $5 \cdot 10^5$ CFU·mL⁻¹ para as bactérias aeróbias e $1 \cdot 10^6$ CFU·mL⁻¹ para as bactérias anaeróbias.

As placas contendo as bactérias aeróbias foram incubadas a 37 °C por 24 h e as placas contendo os microrganismos anaeróbios foram incubadas a 37 °C por 72h em (80 % N₂, 10 % CO₂, 10 % H₂) em uma câmara anaeróbica (Don Whitley Scientific, Bradford, Reino Unido). Após a incubação, 30 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma®) a 0,02 % foram adicionados a cada poço, para revelar o crescimento bacteriano¹¹². As cores azul e vermelha representam a ausência e a presença de crescimento microbiano, respectivamente. Para controle negativo foi utilizado DMSO 5 % (v/v). Como controle positivo, gentamicina (0,0115 a 5,9 µg·mL⁻¹), vancomicina (0,0115 a 5,9 µg·mL⁻¹) e cloranfenicol (7,198 a 5000 µg·mL⁻¹) foram usados para bactérias aeróbias e apenas gentamicina (0,0115 a 5,9 µg·mL⁻¹) como um controle positivo para as bactérias anaeróbias. Um inóculo foi incluído para monitorar o crescimento bacteriano. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.8 Ensaios de atividade antileishmania

Os ensaios biológicos envolvendo *Leishmania* e macrófagos derivados de medula óssea foram realizados em parceria com o Prof. Danilo Ciccone Miguel e o aluno Marcus Sávio Araujo Garcia do Laboratório de Estudos de Biologia da Infecção por *Leishmania* (LEBIL) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

3.8.1 Cultivo do parasito e ensaio com promastigotas

As formas promastigotas de *Leishmania. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) foram cultivadas a 25 °C em meio 199 (Gibco-BRL, Invitrogen), suplementado com penicilina 50 U·mL⁻¹, estreptomicina 50 µg·mL⁻¹, tampão HEPES pH 7,4, adenina 0,1 M, hemina 0,0005 % v/v e 10 % v/v de soro fetal bovino (SFB)(Invitrogen®). Os ensaios foram executados duas vezes separadamente com experimentos realizados em triplicata, a partir da incubação de promastigotas de fase logarítmica com concentrações decrescentes dos compostos de ouro (24; 12; 6; 3; 1,5; 0,75 µM). Os ligantes HStzn, HSBtz, HSpym e 2-tuH, também foram testados em paralelo para exclusão da atividade leishmanicida em cada caso, além de grupo contendo até 1

% (v/v) de DMSO como controle de diluente. Os ensaios foram conduzidos por 24 h para avaliação da viabilidade pelo método do MTT e as concentrações efetivas para inibir 50 % do crescimento de culturas parasitárias (EC_{50}) foram estabelecidas a partir de curvas de dose-resposta sigmoidais utilizando-se o GraphPad Prism (©2022 GraphPad Software).

3.8.2 Cultivo de células hospedeiras e ensaio e viabilidade celular

Para a obtenção de macrófagos derivados de medula óssea (*Bone marrow-derived macrophages* - BMDM), foram extraídas células precursoras da medula óssea de fêmures e tíbias de camundongos fêmeas BALB/c de 45 dias. Estas células foram cultivadas para diferenciação em macrófagos durante sete dias em placas contendo 10,0 mL de meio R2030, e mantidas em estufa a 37 °C, com atmosfera de 5 % CO_2 . Ao fim de uma semana, os macrófagos diferenciados foram recolhidos em meio RPMI e centrifugados a 1500 rpm por 5 min a 4 °C para contagem em câmara de Neubauer e semeados a $5 \cdot 10^4$ células por poço de placas de 96 poços. Ensaios de citotoxicidade foram conduzidos a partir do método de MTT para estabelecimento de curvas dose-resposta e cálculo de concentrações citotóxicas dos compostos por 24 h para 50 % das culturas (CC_{50}) utilizando-se GraphPad Prism (©2022 GraphPad Software).

3.8.3 Infecção *in vitro*

Para os ensaios de infecção, foram incubados $4 \cdot 10^5$ células BMDM por poço em placas de 24 poços para infecção com 5 promastigotas de fase estacionária para cada macrófago, com multiplicidade infecção (MOI) igual a 5 a 34 °C, com atmosfera de 5 % CO_2 . Após infecção por período *overnight*, os poços foram lavados com tampão aquecido (PBS 10mM) para remoção de parasitas não internalizados. Os grupos de células infectadas foram incubadas apenas com meio RPMI completo ou com diferentes concentrações dos complexos AuIMesStzn e AuIMes2tu (5; 3; 1,5; 0,5 e 0 μM) por 24 h para análise da carga parasitária e taxas de infecção. As contagens destes parâmetros ocorreram a partir da obtenção de fotomicrografias das placas (EVOS Cell Imaging System) previamente fixadas com metanol puro e coradas com o kit Instant Prov (New Prov, Pinhais, Brasil). Os dados de inibição de multiplicação de amastigotas intracelulares foram contabilizados em triplicatas biológicas.

3.9 Ensaios de atividade antiviral

Os ensaios biológicos para avaliação da atividade antiviral dos compostos foram realizados em parceria com a Profa. Ana Carolina Gomes Jardim e os alunos Ana Laura Costa Oliveira, Daniel Oliveira Silva Martins, Igor Andrade Santos, Natasha Marques Cassani e Uriel Enrique Aquino Ruiz do Laboratório de Virologia da UFU.

3.9.1 Ensaio de viabilidade celular de BHK-21 – Ensaio MTT

A viabilidade celular foi realizada pelo método MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (Sigma-Aldrich®). As células BHK-21 foram cultivadas em placas de 48 poços com uma densidade de $5 \cdot 10^4$ células por poço e incubadas durante a noite a 37 °C. Esses poços foram tratados com diferentes concentrações de cada compostos, resultando em oito concentrações diferentes, e incubadas por 24 h. Em seguida, o meio foi substituído pela solução de MTT a $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, as células foram incubadas por 30 minutos, e então a solução de MTT foi removida e substituída por 300 μL de DMSO para solubilizar os cristais de formazan. A absorbância foi medida a 490 nm no leitor de microplacas Glomax (Promega®). A viabilidade celular foi calculada a partir da equação $(T/C) \times 100\%$, onde T e C representam a média de densidade óptica dos grupos tratados e dos grupos de controle, respectivamente. A concentração citotóxica de 50 % (CC_{50}) foi calculada utilizando GraphPad Prism 8.

3.9.2 Cultura celular de Vero-E6

Células Vero-E6 (tecido renal derivado de um macaco verde africano, ATCC E6) foram cultivadas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Sigma–Aldrich) suplementado com $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ de penicilina (Gibco Life Technologies), $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de estreptomicina (Gibco Life Technologies), 1 % (v/v) de aminoácidos não essenciais (Gibco Life Technologies) e 10 % (v/v) de soro fetal bovino (FBS; Hyclone) a 37 °C em incubadora umidificada a 5 % de CO_2 .

3.9.3 Ensaio de viabilidade celular de Vero-E6 – Ensaio MTT

A viabilidade celular foi medida pelo método MTT (Sigma-Aldrich). As células Vero-E6 (tecido renal derivado de um macaco verde africano) foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de $5 \cdot 10^3$ células por poço e incubadas durante a noite a 37 °C em uma estufa umidificada de 5 % de CO_2 . Ao meio de cultura celular foram adicionadas soluções dos complexos de ouro nas concentrações de 50, 10 e 2 μM , que foram incubadas com essas soluções a 37 °C por períodos distintos, 24, 48 e 72 h, respectivo ao tempo do ensaio de infecção

de cada vírus. Em seguida, o meio foi removido e uma solução de MTT na concentração de $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ foi adicionada a cada poço, incubada por 30 min a 37°C em estufa umidificada de 5 % CO_2 . Em seguida, o meio foi substituído por 100 μL de DMSO para solubilizar os cristais de formazan. Então, a absorbância foi medida pela densidade óptica (DO) de cada poço a 560 nm, utilizando-se o leitor de microplacas Glomax (PROMEGA). A viabilidade celular foi calculada de acordo com a equação $(T/C) \times 100\%$, onde T e C representam a densidade óptica média do grupo tratado e do grupo controle veículo, respectivamente.

3.9.4 Ensaios de atividade antiviral - CHIKV

Para avaliar a atividade antiviral de cada composto, foram semeadas células BHK-21 com uma densidade de $5 \cdot 10^4$ células por poço em uma placa de 48 poços por 24 h e infectadas com CHIKV-*nanoluc* com uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,1 PFU/célula na presença de cada composto em uma concentração não tóxica estabelecida (50; 10 e 2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). As amostras foram coletadas em tampão de lise Renilla luciferase (Promega®) em 16 h após a infecção (h.p.i.) e o nível de replicação do vírus foi quantificada medindo a atividade da nanoluciferase utilizando o Sistema Renilla luciferase (Promega®). Os dados foram analisados pela distribuição normal para demonstrar a aplicabilidade do teste paramétrico ou não paramétrico. Em seguida, foi utilizado o teste *Two-way ANOVA* para comparar o tratamento de cada composto com DMSO ou água como controle, com um $p < 0,01$ ^{113,114}.

3.9.5 Ensaios de atividade antiviral - ZIKV

Uma amostra de ZIKV selvagem isolada de uma amostra clínica de um paciente no Brasil (ZIKV_{PE243})¹¹⁵ foi amplificado empregando células Vero-E6 em frasco de 75 cm^2 por 3 dias. Em seguida, o sobrenadante viral foi coletado e armazenado a -80°C . Para determinar os títulos virais, $5 \cdot 10^3$ células Vero-E6 foram semeadas em cada uma das placas de 96 poços por 24 h antes da infecção. As células foram infectadas com diluição em série de 10 vezes do ZIKV_{PE243} e incubadas por 72 h em estufa umidificada a 5 % CO_2 a 37°C . Em seguida, as células foram fixadas com formaldeído a 4 % (v/v), lavadas com PBS e adicionadas de tampão bloqueador (BB) contendo Triton X-100 0,1% (Vetec Labs, BR), BSA a 0,2 % (m/m) e PBS por 30 min, para realização do ensaio de imunofluorescência conforme descrito na literatura¹¹⁶.

Para avaliar a atividade antiviral de cada composto, células Vero-E6 foram semeadas a uma densidade de $5 \cdot 10^3$ células por poço em placas de 96 poços por 24 h e infectadas com ZIKV_{PE243} a uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,01 PFU/célula na presença de cada

composto na concentração não citotóxica estabelecida. As células foram fixadas com formaldeído a 4 % (v/v), lavadas com PBS e adicionadas de BB para ensaio de imunofluorescência. Os dados foram analisados para distribuição normal para demonstrar a aplicabilidade do teste paramétrico ou não paramétrico. Em seguida, o teste *two-way* ANOVA foi empregado para comparar o tratamento de cada composto com o controle de DMSO, com um $p < 0,05$.

3.9.6 Ensaios de atividade antiviral - MAYV

Para avaliar a atividade antiviral dos compostos, células Vero-E6 foram semeadas a uma densidade de $2 \cdot 10^4$ células por poço em placas de 48 poços. Após 24 h, as células foram infectadas com MAYV-*nanoluc* na presença de cada composto em sua maior concentração não citotóxica. Após 24 h de tratamento, as amostras foram coletadas com tampão de lise *Renilla-luciferase* (Promega®) e os níveis de replicação viral foram quantificados medindo-se a atividade por meio do Ensaio de *Renilla-luciferase* (Promega®). A atividade antiviral foi calculada de acordo com a equação $(T/C) \times 100\%$, onde T e C representam a média do grupo tratado e a média da última concentração, respectivamente.

3.9.7 Titulação viral – VSV-eGFP-SARS-CoV-2

O vírus da estomatite vesicular (VSV) pseudotipado expressando eGFP como marcador para infecção, no qual o gene da glicoproteína (G) foi substituído pela proteína *spike* do SARS-CoV-2 (VSV-eGFP-SARS-CoV-2). O vírus foi expandido utilizando células Vero-E6 em garrafas para cultura de 175 cm^2 e após 48 h o sobrenadante foi recolhido para a obtenção de alíquotas, a fim de estocar o vírus expandido. Para determinar o título viral, $1 \cdot 10^4$ células Vero E6 foram cultivadas em microplacas de 96 poços 24 h antes da infecção. Após aderência celular, as células foram infectadas com o VSV-eGFP-SARS-CoV-2 em diluições seriada 1:10. As células infectadas ficaram incubadas por 24 horas em uma incubadora umidificada com 5 % de CO_2 a 37°C . Os focos virais foram contados usando microscopia de fluorescência de sistemas de imagem de células EVOs (Thermo Fisher Scientific), detectando a expressão de eGFP, para determinar o título viral que é expresso em unidade de formação de focos por mililitros ($\text{ffu} \cdot \text{mL}^{-1}$).

3.9.8 Ensaios de atividade antiviral – VSV-eGFP-SARS-CoV-2

Células Vero-E6 foram semeadas a uma densidade de $1 \cdot 10^4$ células por poço em placas de 96 poços 24 h antes da infecção. Amostras do pseudovírus VSV-eGFP-SARS-CoV-2 a uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,001 e as soluções dos complexos de ouro em concentrações não tóxicas pré-determinadas em ensaios de viabilidade celular, foram previamente incubados durante 1 h em temperatura ambiente. As células foram infectadas com VSV-eGFP-SARS-CoV-2 e incubadas com soluções dos compostos, em diferentes concentrações, a 37 °C durante 2 h. O sobrenadante foi removido, as monocamadas de células foram suavemente lavadas com 100 µL de PBS gelado, e os poços foram completados com meio de cultivo DMEM 2 %. Depois de 24 horas pós-infecção (h.p.i.), os ensaios foram analisados em microscopia de fluorescência de células EVOs (Thermo Fisher Scientific) e os focos de infecção foram contados. A atividade antiviral foi calculada de acordo com a equação $(T/C) \times 100 \%$, onde T e C representam a média do grupo tratado e a média da última concentração, respectivamente. O teste *two-way* anova foi realizado para comparar o efeito de cada composto na infecção viral. Os valores de quatro experimentos independentes, cada um medido em triplicata, incluindo desvio padrão estão demonstrados. $P < 0,05$ foi considerada significativo.

3.10 Estudos biofísicos

3.10.1 Estudos de interação da albumina de soro bovino por supressão da fluorescência

Neste ensaio foram utilizadas amostras com um volume de 2,50 mL de uma solução de BSA na concentração de $20,0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ preparadas em solução de tampão fosfato $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,4 que foram tituladas com sucessivas adições de 2,0 µL de uma solução de complexo dissolvidos em DMSO com concentração de $1,50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. De modo que a adição dessa solução não alterasse significativamente a concentração final de BSA. A emissão da fluorescência intrínseca da BSA foi monitorada na faixa de 300 a 450 nm e com excitação em 280 nm a 25 °C, utilizando uma fenda de excitação e emissão de 5 nm.

3.10.2 Estudo de interação com CT-DNA por dicroísmo circular

Nesse estudo foram utilizadas amostras de DNA de timo de bezerro (CT-DNA) a $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, preparadas com tampão fosfato a $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7,4. Essas amostras foram

incubadas a 37 °C por 24 h com soluções de complexos de ouro(I) em DMSO, em diferentes razões [compostos]/[DNA] (de 0 a 0,50) para um volume total de 2,0 mL e uma concentração final de 1 % (v/v) de DMSO. Como controle foi utilizada uma amostra de CT-DNA a 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em tampão fosfato 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 7,4 e 1 % de DMSO. Os espectros foram adquiridos com uma velocidade de varredura de 50 $\text{nm}\cdot\text{min}^{-1}$, com 8 acumulações e à temperatura de 37 °C.

3.11 Cinética de interação com N-acetil-L-cisteína por ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Para a realização das análises da reação de substituição de ligantes dos carbenos de ouro(I) com N-acetil-L-cisteína (NAC), foi preparada uma solução de cada complexo de ouro(I) a uma concentração de 27,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ em 650 μL de DMSO- d_6 e uma solução estoque de NAC em DMSO- d_6 a uma concentração de 210,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Em cada tubo de RMN contendo a solução do complexo de ouro(I), foram adicionados 50 μL da solução estoque de NAC e homogeneizada com auxílio de um vórtex. Obtendo uma concentração final de 25,0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ para ambos os compostos e um volume total de 700 μL . Esse procedimento buscou estabelecer uma proporção molar de 1:1 (complexo:NAC) para a reação. O intervalo de tempo entre a adição da solução estoque de NAC e o início da medida de RMN de ^1H foi de aproximadamente 5 minutos. Os espectros foram registrados a 25 °C em intervalos específicos: 0 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h, 18 h e 24 h. Cada medida foi obtida através de quatro varreduras e um tempo de relaxação de 60 segundos, utilizando o equipamento Bruker Avance 400 MHz.

4 Resultados e Discussão – Complexos de prata com Sulfadoxina e derivados

4.1 Caracterização da base de Schiff sulfadoxina-salicilaldeído (SFX-SL) e respectivo complexo de prata(I) (AgSFX-SL)

As análises espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C da base de Schiff SFX-SL foram realizadas em solução, utilizando DMSO- d_6 . Para fins de comparação, a SFX também foi avaliada nas mesmas condições. No espectro de RMN de ^1H da base de Schiff SFX-SL (Figura 9), é possível observar sinais relacionados aos grupos metoxi no anel de pirimidina em 3,72 e 3,91 ppm, assim como a presença de um singlete relacionado ao grupo azometina ($-\text{HC}=\text{N}-$) em 8,97 ppm. Os sinais observados em 6,99, 7,45 e 7,69 ppm correspondem aos hidrogênios aromáticos, enquanto um singlete em 11,22 ppm corresponde ao grupo hidroxila presente na porção salicilaldeído.

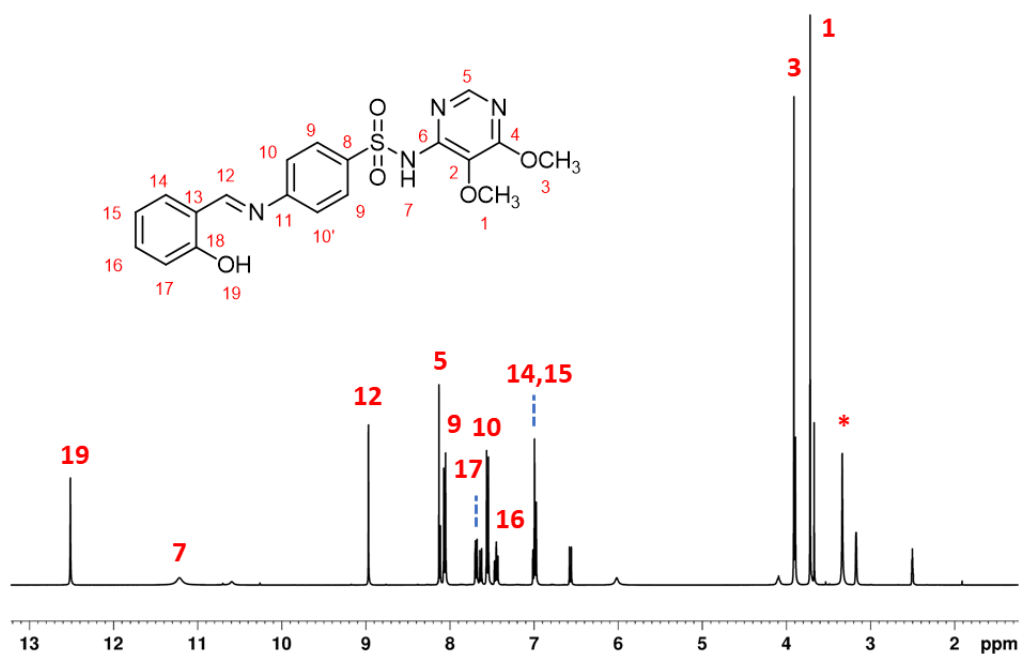


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H e respectiva atribuição estrutural do composto SFX-SL em DMSO- d_6 a 400 MHz. O asterisco destaca o sinal ferente ao sinal residual de H_2O no solvente.

Também são observados outros sinais de baixa intensidade na região alifática do espectro de RMN de ^1H da SFX-SL, centrados em 3,16 e 4,01 ppm, que correspondem ao metanol residual da síntese. O asterisco (*) em 3,30 ppm na Figura 8 refere-se à presença de H_2O no solvente DMSO-d_6 .

Foram obtidos monocristais da base de Schiff SFX-SL (Figura 10), a estrutura cristalina foi indexada no grupo espacial monoclínico $\text{P2}_1/\text{c}$ e é um polimorfo de uma estrutura cristalina obtida para este composto¹¹⁷. O comprimento da ligação C8-N1 de 1,296(4) Å, evidenciado na Figura 9, é consistente com uma ligação dupla, embora mais longo do que o valor médio de 1,279(8) Å¹¹⁸. Este valor também é consistente com o polimorfo deste composto, que apresentou um valor de 1,275(3) Å para esta mesma ligação¹¹⁷. A estrutura cristalina obtida corrobora com os dados obtidos pela análise elementar e RMN de ^1H , que indicam a formação da imina.

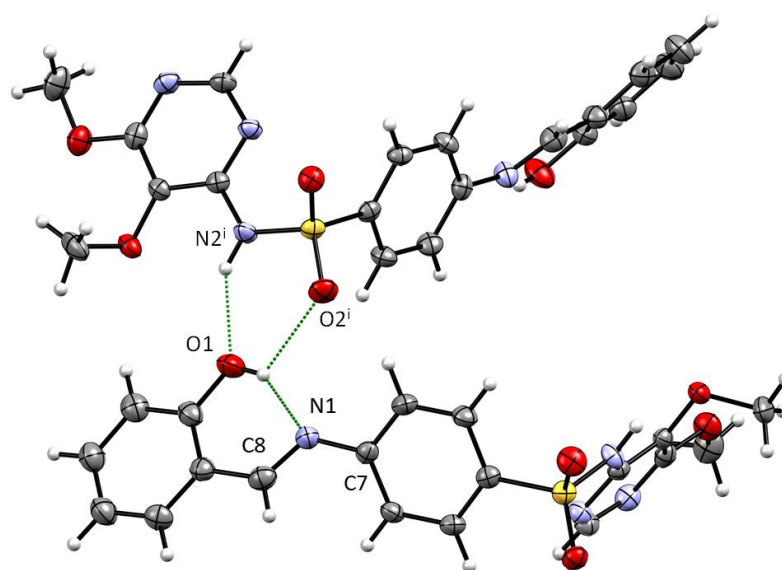


Figura 10. Diagrama ORTEP do composto SFX-SL demonstrando ligações de hidrogênio intramolecular e intermolecular com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.

Ao comparar a presente estrutura com os dados da sulfadoxina¹¹⁹, existe uma diferença entre o comprimento da ligação C7-N1 na sulfadoxina (1,355(4) Å) e na SFX-SL (1,411(5) Å). A estrutura cristalina da SFX-SL mostra uma rede de ligações de hidrogênio, que é muito distinta da apresentada pela entrada GUVQOE no repositório CSD¹¹⁸. O grupo sulfonamida da SFX-SL participa em ligações de hidrogênio com o grupo hidroxila do fenol. Entretanto, os átomos de nitrogênio do anel pirimidina não estão envolvidos em ligações de hidrogênio.

A síntese do complexo AgSFX acontece rapidamente e apresenta alto rendimento, logo após a adição da solução de AgNO₃ ao balão que contém a base de Schiff desprotonada, foi observada a formação de um precipitado amarelo claro. Esse sólido apresentou baixa solubilidade em DMSO e foi insolúvel em clorofórmio, etanol, metanol e acetonitrila.

Os resultados da análise elementar indicam uma proporção metal:ligante de 1:1 e um complexo com carga neutra.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (FT-IR) do precursor SFX, da base de Schiff SFX-SL e seu respectivo complexo AgSFX-SL são apresentados na Figura 10. É possível observar a ausência da banda referente ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo terminal amino (–NH₂) em 3461 e 3374 cm⁻¹ no espectro da SFX-SL respectivamente, o que indica a formação da base de Schiff a partir da reação de SFX com salicilaldeído. O espectro do complexo AgSFX-SL contém as principais bandas do ligante SFX-SL, entretanto, as bandas referentes aos estiramentos do grupo sulfonila (O=S=O) sofrem deslocamento e são observadas em 1262 e 1153 cm⁻¹, apontando este grupo como possível sítio de coordenação com o íon prata(I). Também é possível constatar o desaparecimento da banda relacionada ao estiramento da ligação N–H vizinha ao grupo sulfonila no complexo AgSFX-SL em relação ao ligante SFX-SL. O que sugere uma coordenação com o íon metálico pelo átomo de nitrogênio desprotonado do grupo sulfonamida⁵⁸.

É importante destacar a ausência da banda relacionada ao estiramento da ligação –O–H do grupo salicil no espectro de infravermelho da base de Schiff SFX-SL, o que pode indicar uma segunda desprotonação desse ligante e a formação de outro sítio de coordenação para o íon prata(I) se ligando possivelmente ao átomo de nitrogênio da imina e o átomo de oxigênio do grupo salicil. A possibilidade de coordenação em dois sítios distintos no ligante SFX-SL, sugere uma estrutura polimérica para o complexo AgSFX-SL.

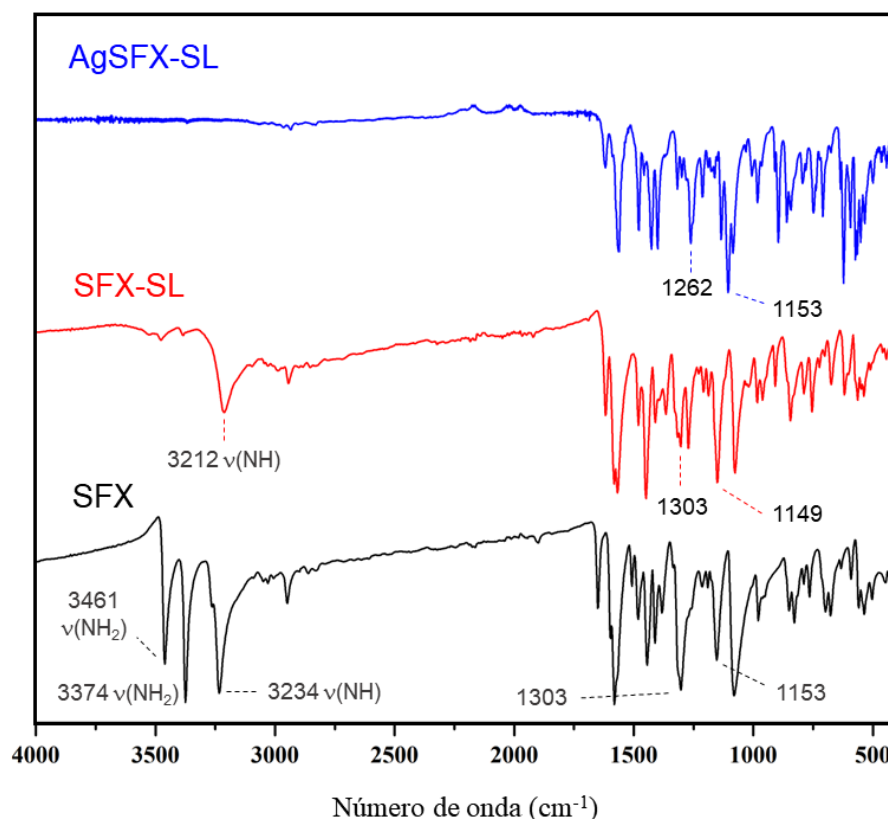


Figura 11. Espectros de FT-IR no modo ATR dos compostos SFX, SFX-SL e AgSFX-SL.

Devido à baixa solubilidade do complexo AgSFX-SL em DMSO e em outros solventes, os estudos de RMN de ^{13}C de SFX-SL e AgSFX-SL foram realizados no estado sólido para análise comparativa. Os espectros do SFX-SL e AgSFX-SL com as respectivas atribuições dos átomos de carbono estão representados na Figura 12. Os dois sinais observados no espectro do SFX-SL e AgSFX-SL na faixa de 50-60 ppm são atribuídos aos átomos de carbono, C3 e C1, dos grupos $-\text{OCH}_3$ do anel pirimidina.

Os dados de RMN de ^{13}C de estado sólido indicam a integridade da base de Schiff e a sua coordenação com a prata. Os deslocamentos químicos nos sinais relacionados aos núcleos de carbono C5, C6 e C8 em 150,99, 149,29 e 137,87 ppm no espectro do ligante e em 145,65, 150,62 e 133,53 ppm no espectro do complexo AgSFX-SL, respectivamente, sugerem a coordenação com o íon prata pelo átomo de nitrogênio do grupo SO_2N . Estes dados reforçam o modo de coordenação do ligante com o íon prata pelo grupo sulfonamida, como indicado pela análise de FT-IR do complexo AgSFX-SL. No entanto, foram observadas alterações nos valores de deslocamento químico dos sinais referentes aos carbonos C12, C13 e C18 quando comparado o espectro de RMN de ^{13}C do ligante com o do complexo. Logo, a interação do ligante com a

prata pelo átomo de nitrogênio da imina e o átomo de oxigênio do grupo salicil não pode ser descartada considerando apenas esta análise.

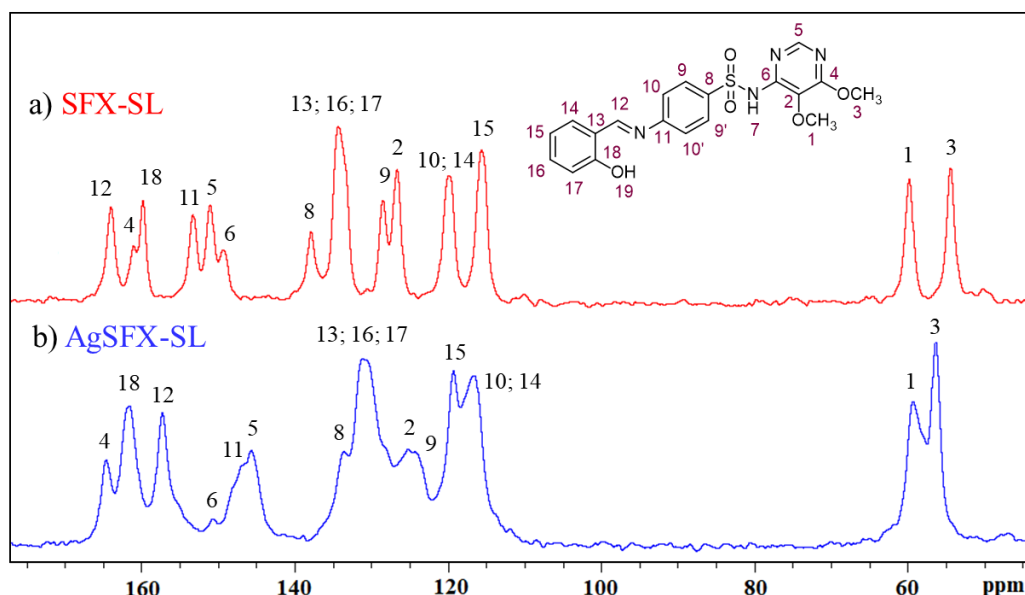


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C CPMAS de (a) SFX-SL e (b) AgSFX-SL a 400 MHz.

O espectro de massas do complexo AgSFX-SL é apresentado na Figura 13. Os sinais em 833,0755 m/z e 729,0493 m/z são atribuídos às espécies $[\text{Ag}(\text{SFX-SL})(\text{SFX})+\text{H}]^+$ e $[\text{Ag}(\text{SFX})_2+2\text{H}]^+$, respectivamente. Esses sinais correspondem à sucessiva perda de grupos salicil da base de Schiff. Os sinais observados em 601,0164 m/z e em 264,9310 m/z são atribuídos a troca do ligante na fase gasosa, ocorrendo a formação das espécies $[\text{Ag}(\text{SFX-SL})(\text{DMSO})+\text{H}]^+$ e $[\text{Ag}(\text{DMSO})_2]^+$. A presença de DMSO se deve pelo método de preparação da amostra para a análise de HRMS. O íon molecular $[\text{Ag}_2(\text{SFX-SL})_2+\text{H}]^+$ observado em 1042,9985 m/z sugere uma estrutura dimérica para o complexo AgSFX-SL, como já observado para complexos de prata semelhantes com outras sulfonamidas^{58,60,62-64}. Outro indicativo da estrutura dimérica é a presença do sinal em 937,0121 m/z relacionado com o processo de fragmentação do íon molecular $[\text{Ag}_2(\text{SFX-SL})_2+\text{H}]^+$ com a perda de um íon de prata e gerando o íon $[\text{Ag}(\text{SFX-SL})_2+\text{H}]^+$.

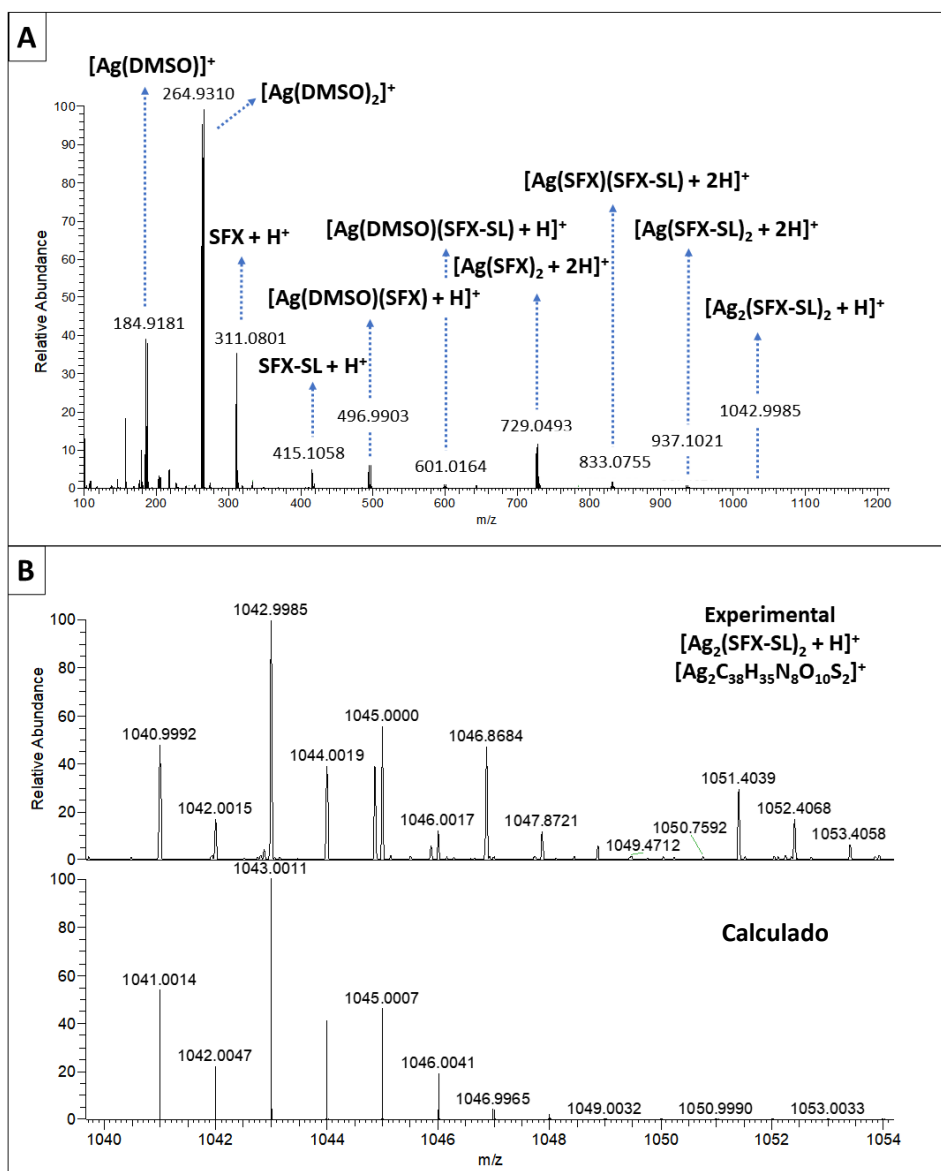


Figura 13. Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AgSFX-SL da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos em A. Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[Ag_2(SFX-SL)_2 + H]^+$ em B.

4.2 Modelagem molecular

Para o estudo teórico do complexo AgSFX-SL, o ligante SFX-SL foi considerado em sua forma aniônica pela desprotonação do átomo de nitrogênio do grupo sulfonamida. A perda do hidrogênio da porção SO_2N-H do ligante foi confirmada ao considerar o espectro experimental de FT-IR do complexo AgSFX-SL, conforme discutido anteriormente. A estrutura aniônica foi gerada a partir da molécula neutra obtida do cristal de acordo com os dados cristalográficos descritos mais acima no texto.

Considerando os dados espectroscópicos de FT-IR e RMN, também foi proposta uma coordenação do oxigênio do grupo sulfonamida ao íon Ag(I). Com os dados experimentais, foi realizada uma análise conformacional para elucidação dos confôrmeros de menor energia e consequentemente as estruturas mais estáveis para o complexo AgSFX-SL apresentada na Figura 14, utilizando o plano diédrico C-N-S-O. Os resultados obtidos na barreira rotacional para o ânion SFX-SL, indicam duas conformações mais estáveis a 50° e 180°. A conformação a 50° é a estrutura mostrada na Figura 13a na qual o grupo –OCH₃ está no plano diédrico C-N-S-O. A 180°, o nitrogênio do anel de pirimidina está orientado em direção a um dos oxigênios do grupo -SO₂. O confôrmero a 290° apresenta menor possibilidade de coordenar o metal, devido a impedimentos estéricos dos grupos –OCH₃.

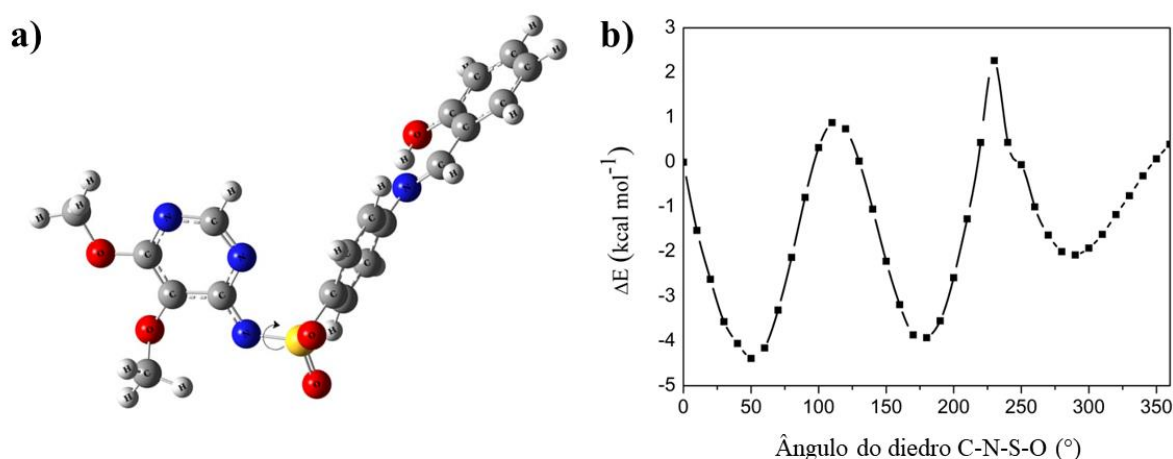


Figura 14. a) Estrutura otimizada do ânion SFX-SL e b) barreira rotacional interna para o diedro C-N-S-O.

Na literatura, a possibilidade de formação de espécies monoméricas ou diméricas envolvendo complexos de prata com sulfonamidas é bem estabelecida. Nesse contexto, e considerando a composição molar 1:1 metal:ligante encontrada na análise elementar, foram consideradas formas monoméricas e diméricas para o complexo de prata(I) com SFX-SL^{58,60}. A Figura 15 mostra a estrutura dimérica do complexo otimizada com nível de teoria descrito na metodologia com as respectivas distâncias de ligações entre o metal e os átomos doadores do ligante SFX-SL. O modo de coordenação proposto para o AgSFX-SL é consistente com as geometrias relatadas para complexos de prata(I)-sulfonamida, formando um anel de oito membros onde dois átomos de nitrogênio (do grupo sulfonamida e do anel de pirimidina) do ligante se ligam a um íon de prata(I) específico¹²⁰. Uma ligação adicional com os átomos de

oxigênio do grupo sulfonamida também foi observada em estruturas cristalinas de complexos de prata(I)-sulfonamida^{58,62,63}.

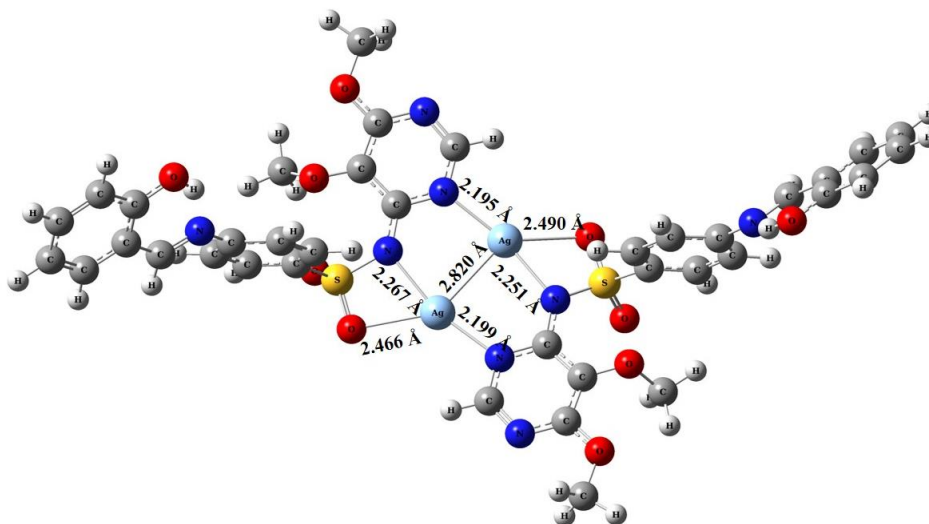


Figura 15. Fórmula estrutural para o complexo AgSFX-SL obtida a partir da modelagem molecular.

A Tabela 1 apresenta uma comparação das principais distâncias de ligação calculadas para o complexo AgSFX-SL e valores reportados para estruturas cristalinas de outros complexos de prata-sulfonamida. Após a formação do dímero ilustrado na Figura 14, as distâncias de ligação entre o oxigênio e a prata apresentaram valores de 2,466 Å e 2,490 Å. As distâncias de ligação Ag–O calculadas são ligeiramente menores, com valores de 2,60(2) Å e 2,662(2) Å relatados para os complexos de prata(I)-sulfadoxina⁵⁸ e prata(I)-sulfametoxina⁶², respectivamente. As distâncias de ligação Ag–N calculadas, referentes aos átomos de nitrogênio de SFX-SL e prata, estão consistentes com o valor médio de 2,24(12) Å relatado no Banco de Dados Estruturais de Cambridge (CSD)¹²¹. Por fim, o modelo teórico de AgSFX-SL proposto neste estudo leva em consideração a formação de uma interação argentofílica Ag...Ag (2,820 Å), similar ao que foi observado nas estruturas cristalinas de complexos de prata-sulfonamida^{58,62,122}.

Tabela 1. Valores de comprimento de ligação calculados para AgSFX-SL e valores de comprimento de ligação experimentais para outros complexos de prata-sulfonamida reportados na literatura por diferentes métodos.

Composto	Ag – N (Å)*	Ag – O (Å)*	Ag ... Ag (Å)	Referência
AgSFX-SL	2,195 – 2,267	2,466 – 2,490	2,820	Este trabalho
Ag(I)-sulfadoxina	2,26(2) – 2,53(1)	2,60(2) – 2,71(2)	2,744(6)	58
Ag(I)-sulfameter	2,192(6) – 2,267(5)	2,662(2)	2,901(1)	62
Ag(I)-sulfamoxol	2,122(5) – 2,152(4)	-	2,8957(10)	123
Ag(I)-sulfaclopiridazina	2,105(6)	-	2,8897(3)	122
Ag(I)-sulfadimetoxina	2,235(6) – 2,408(6)	2,806(7) – 2,899(6)	2,737(9)	63

* Faixas de valores de comprimento de ligação encontrados nas estruturas cristalinas. No caso específico das ligações Ag-O, elas podem estar ausentes por completo, dependendo da estrutura cristalina.

Com o intuito de avaliar a extensão da coordenação do metal com o ligante SFX-SL e a formação da estrutura dimérica, as energias de ligação ($E_{\text{Ligação}}$), energias de Gibbs (ΔG) e entalpias (ΔH) envolvidas na coordenação foram calculadas para as espécies monoméricas e diméricas, sendo apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Energia de ligação ($\Delta E_{\text{Ligação}}$) a zero Kelvin, Energia de Gibbs (ΔG) e entalpia dos complexos a 298 Kelvin.

Complexo	$E_{\text{Ligação}}$	ΔG	ΔH
		kcal mol ⁻¹	
AgSFX-SL (monômero)	-141,97	-133,48	-142,16
AgSFX-SL (dímero)	-357,99	-317,62	-348,08

Ao analisar os resultados na Tabela 2, é possível inferir que os valores de $E_{\text{Ligação}}$ são < 0 , indicando que a coordenação é efetiva em ambas as espécies. Os valores de ΔG e ΔH também são < 0 , o que sugere que a coordenação é espontânea e resulta na liberação de energia no processo. Ao comparar os valores de energia entre o monômero e o dímero, fica evidente que a formação do dímero favorece a complexação devido a diminuição significativa na energia da entalpia e de Gibbs, em que a diferença proporcional é de 25,33 kcal mol⁻¹ (105,98 kJ mol⁻¹). Uma vez que a existência da espécie dimérica também foi corroborada pelos dados experimentais de HRMS, a estrutura proposta na Figura 14 é a mais provável para o complexo AgSFX-SL.

Os resultados da análise de Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM) visam a caracterização da natureza das ligações químicas do dímero. Os dados obtidos para AgSFX-

SL estão apresentados na Tabela A6 no anexo. O gráfico molecular para o AgSFX-SL é mostrado na Figura 16, e os Pontos Críticos de Ligação (BCP) evidenciam a formação do complexo. Os valores da densidade eletrônica ($\rho(r)$) também são representados na Figura 15 e seguem a mesma tendência encontrada nos parâmetros estruturais, onde para comprimentos de ligação menores, a densidade eletrônica é maior.

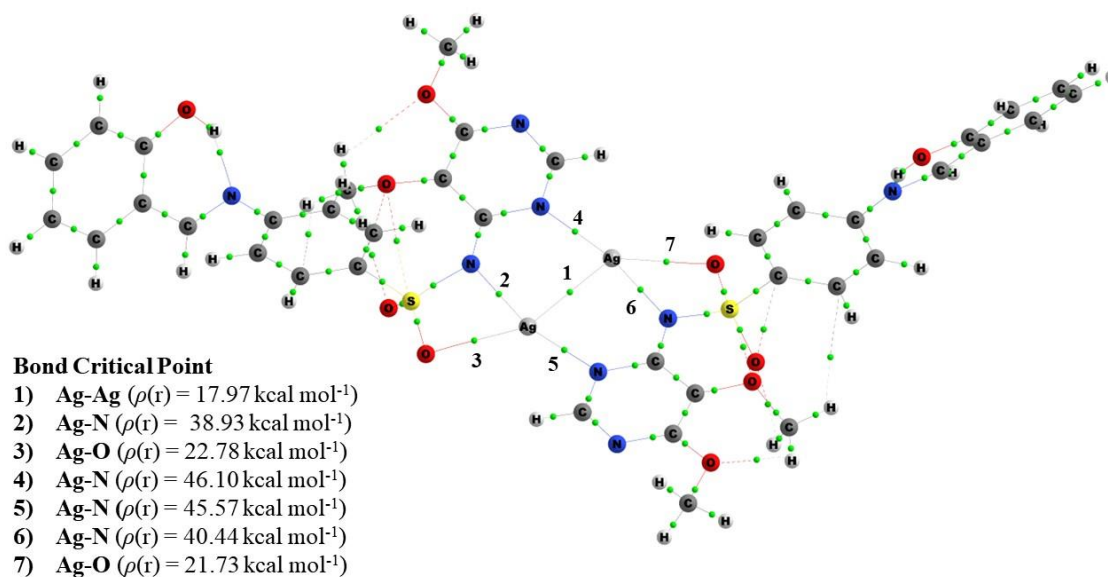


Figura 16. Gráfico molecular do complexo AgSFX-SL e parâmetros topológicos $\rho(r)$ gerados pelo QTAIM.

Uma outra forma de classificar as interações é por meio do Laplaciano da densidade eletrônica ($\nabla^2\rho(r)$) e da densidade total de energia ($H(r)$). Quando $\nabla^2\rho(r) > 0$ e $H(r) < 0$, a interação é parcialmente covalente, enquanto quando $\nabla^2\rho(r) > 0$ e $H(r) > 0$, a interação é eletrostática. Os resultados demonstram que todos os Laplacianos da densidade eletrônica ($\nabla^2\rho(r)$) são positivos e que todas as densidades totais de energia são negativas. Os valores de $H(r)$ e $\nabla^2\rho(r)$ indicam que o caráter de todas as interações do metal com o ligante SFX-SL é parcialmente covalente.

4.3 Estudos biológicos dos complexos de prata

4.3.1 Avaliação de atividade antibacteriana e antifúngica

Para avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos complexos de prata, AgSFX e AgSFX-SL, e seus respectivos ligantes, SFX e SFX-SL, foi realizado um ensaio de concentração inibitória mínima (CIM) frente a bactérias e leveduras causadoras de infecções

em lesões de pele. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 3. O complexo AgSFX, descrito em trabalhos anteriores do grupo, foi incluído nesse ensaio para efeito de comparação⁵⁸. As cepas dos patógenos selecionadas para este estudo são comumente associadas a infecções em queimaduras de pele e algumas dessas cepas são resistentes a antibióticos, o que representa um grande desafio de tratamento¹²⁴⁻¹²⁶.

Tabela 3. Concentração inibitória mínima dos compostos isolados diante a bactérias anaeróbicas e anaeróbicas, e leveduras. Valores representados em $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. *No caso da gentamicina, vancomicina, cloranfenicol e anfotericina os valores são expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Amostras	Bactérias Aeróbicas				Bactérias Anaeróbicas	Leveduras	
	<i>S. aureus</i> ATCC BA44	<i>B. cepacia</i> ATCC 25416	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	<i>C. acnes</i> ATCC 11827	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. albicans</i> ATCC 64550
SFX	>1288,9	>1288,9	>1288,9	>1288,9	644,5	9667,1	9667,1
AgSFX	59,9	15,0	29,9	15,0	239,5	3,5	3,5
SFX-SL	>965,2	965,2	>965,2	>965,2	482,6	904,8	452,4
AgSFX-SL	48,0	12,0	24,0	12,0	191,8	2,8	2,8
AgNO ₃	73,6	18,4	18,4	18,4	587	17,25	34,50
Gentamicina*	-	-	0,05	1,5	0,4	-	-
Vancomicina*	0,7	-	-	-	-	-	-
Cloranfenicol*	-	14,4	-	-	-	-	-
Anfotericina*	-	-	-	-	-	1,0	1,0

Nestas condições, as cepas bacterianas utilizadas demonstraram grande tolerância em relação ao composto sulfadoxina (SFX) e sua respectiva base de Schiff (SFX-SL). No entanto, a espécie SFX-SL demonstrou uma atividade moderada contra as cepas de leveduras em comparação com SFX, mostrando um aumento de atividade frente a esses organismos após a modificação estrutural.

Os complexos AgSFX e AgSFX-SL apresentaram os menores valores de CIM para bactérias aeróbicas, com valores na faixa de 12,5 a 59,9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Todos os compostos testados apresentaram atividades relativamente baixas e altos valores de CIM para *C. acnes* (cepa anaeróbia). Os valores de CIM obtidos para os complexos AgSFX e AgSFX-SL foram inferiores aos encontrados na literatura para a sulfadiazina de prata (SSD), um agente antibacteriano comercial. No que se refere a *P. aeruginosa*, o valor de CIM encontrado para SSD foi de 56 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, enquanto para *S. epidermidis*, o valor de CIM foi de 224 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para SSD¹²⁷. Os valores de CIM dos complexos AgSFX e AgSFX-SL foram muito inferiores aos valores encontrados para SFX e SFX-SL contra bactérias e fungos. As atividades antimicrobianas apresentadas pelos complexos metálicos se devem provavelmente à presença

de íons de prata, com destaque para uma eficácia superior na inibição do crescimento de microrganismos aeróbicos.

Apesar do AgNO_3 apresentar baixos valores de CIM nesse experimento, é importante salientar que esse composto demonstra toxicidade para células e tecidos em concentrações maiores que 1 %, devido à liberação rápida de íons Ag(I) . No caso da sulfadiazina de prata, a liberação de íons prata ocorre lentamente, possibilitando sua utilização em casos clínicos⁴⁴.

4.3.2 Atividade antiviral – CHIKV

A linhagem imortalizada de células fibroblastos de rim de hamster (BHK-21) é amplamente reconhecida como um modelo em estudos de virologia, e demonstra susceptibilidade à infecção por diversos tipos de vírus, proporcionando um valioso substrato para investigações nesse campo. Destaca-se também pela facilidade de manejo em condições padrões de cultivo celular e possui uma rápida taxa de crescimento das células, o que contribui para a eficácia em experimentos em larga escala e na produção de altas titulações virais¹²⁸.

Para avaliar a citotoxicidade dos complexos de prata(I) e seus ligantes, as células BHK-21 foram tratadas com cada composto a concentrações de 50, 10 e 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e a viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio MTT em 24 horas depois do tratamento. O DMSO foi utilizado como controle.

Analisando os efeitos dos compostos na viabilidade celular, verifica-se que SFX e SFX-SL a 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ mantiveram a viabilidade celular em 94,79 % e 102,40 %, respectivamente. Enquanto o tratamento com AgNO_3 manteve a viabilidade das células apenas na concentração de 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo o valor médio de 96,69 %. No entanto, os tratamentos com AgSFX e AgSFX-SL mantiveram uma viabilidade significativa somente na concentração de 2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, apresentando valores de viabilidade de 90,55 % e 90,86 %, respectivamente.

A partir destes experimentos foram estabelecidas as concentrações utilizadas na investigação do efeito de cada composto no ciclo de replicação do CHIKV, pois foram as concentrações não citotóxicas mais elevadas de cada composto respectivamente. Para isso, as células foram infectadas com CHIKV-*nanoluciferase* a um MOI de 0,1 na presença ou ausência de cada composto. Os níveis de atividade da nanoluciferase são proporcionais à replicação viral e foram avaliados 16 horas após a infecção, conforme descrito na parte experimental^{113,114,129}. O ensaio de viabilidade foi realizado em paralelo utilizando DMSO como controle não tratado e os resultados são apresentados na Figura 17.

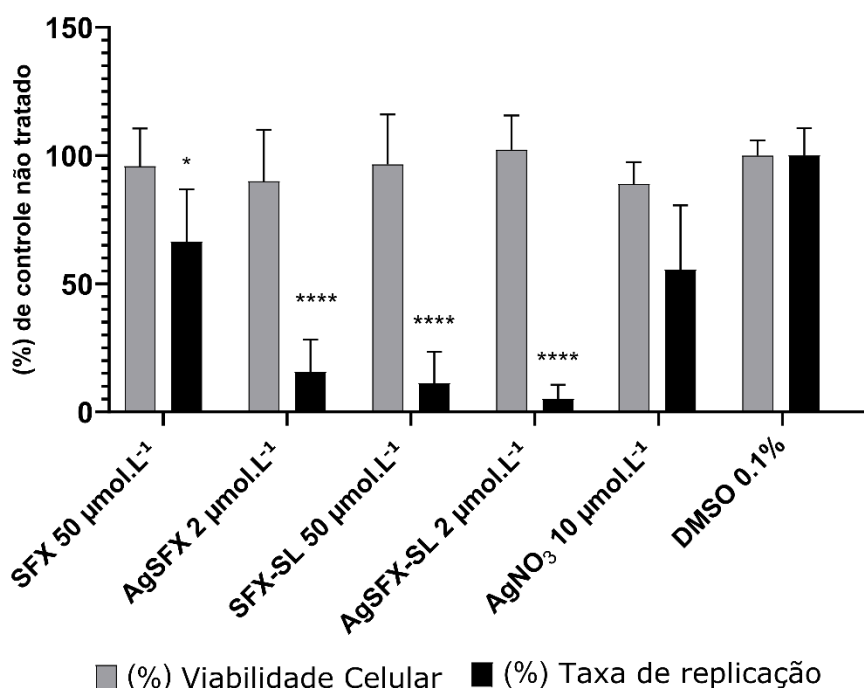


Figura 17. Efeito viabilidade celular de BHK-21 e infecção por CHIKV na presença dos complexos de prata(I) e seus ligantes em diferentes concentrações.

A base de Schiff SFX-SL expressou maior uma eficácia na inibição da replicação do CHIKV, quando comparada ao seu precursor SFX, ambos na mesma concentração. Com valores de inibição viral de 88,9 % e 33,6 %, respectivamente. Isso demonstra que a modificação estrutural a partir da formação da base de Schiff proporciona um aumento dessa atividade anti-CHIKV. Os complexos de prata AgSFX e AgSFX-SL foram ainda mais efetivos e apresentaram altos valores de taxa de inibição de replicação em uma concentração vinte e cinco vezes mais baixa, com valores de 84,4 % e 94,8 %, respectivamente. (Figura 17). Esses resultados demonstram que o íon metálico exerce um papel importante na inibição da replicação viral. Apesar dos complexos de prata serem mais tóxicos para as células hospedeiras que seus respectivos ligantes, esses compostos demonstraram alta atividade anti-CHIKV em concentrações bem mais baixas, o que pode resultar em um melhor índice de seletividade.

5 Resultados e Discussões - Carbenos-N-heterocíclicos de ouro(I)

Os ligantes tióis utilizados neste trabalho foram selecionados em pares com estruturas semelhantes para avaliar a variação da polaridade dos ligantes tiolatos na atividade biológica dos complexos. Sendo os pares: 2-mercaptiazolina e o 2-mercaptobenzotiazol; 2-mercaptopirimidina e 2-tiouracil (Figura 18). Tendo em vista também, que o uso desses ligantes em outros trabalhos resultou na formação de complexos de ouro com atividades biológicas interessantes^{76,88,130}.

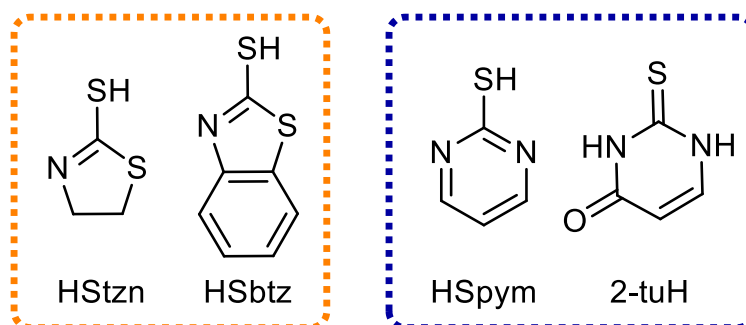


Figura 18. Estrutura dos pares de ligantes tióis 2-mercaptotiazolina (HStzn) e 2-mercaptobenzotiazol (HSbtz); 2-mercaptopirimidina (HSpym) e 2-tiouracil (2-tuH).

Ao desprotonar o grupo tiol ($-\text{SH}$), resultando na formação de um tiolato ($-\text{S}^-$), ocorre um aumento significativo na densidade eletrônica do átomo doador de enxofre. Isso torna o átomo de enxofre mais polarizável e, como consequência, favorece a formação de ligações mais fortes com o íon ouro(I), com complexos mais estáveis e menos suscetíveis a reações de especiação em solução. A substituição do íon cloreto pelo tiolato, que possui um maior caráter de moleza, é altamente favorável e ocorre rapidamente. Esse processo é observado pela rápida diminuição da concentração do precursor AuIMesCl, que possui baixa solubilidade em metanol.

O tipo de base utilizada, foi uma condição importante no procedimento de síntese destes complexos. O uso de metóxido de sódio demonstrou ser ineficaz apenas na síntese do AuIMesStzn. Nesse caso, ocorreu a formação de um sólido amarelo insolúvel, que se dissolve na presença de peróxido de hidrogênio, sendo possivelmente um composto com ligação dissulfeto. No entanto, ao substituir a base por hidróxido de potássio, não houve formação de precipitado amarelo e o produto desejado foi obtido com sucesso.

5.1.1 Caracterização do complexo AuIMesStzn

A reação de substituição do íon cloreto pelo ligante derivado da 2-mercaptotiazolina desprotonada (Stzn) ocorre rapidamente devido à alta nucleofilicidade do íon tiolato e pode ser observada visualmente nos primeiros minutos da reação pelo desaparecimento do sólido do complexo AuIMesCl, que possui baixa solubilidade em metanol. Essa efetividade foi observada também na síntese dos outros complexos com ligantes tiolatos. O sólido obtido foi solúvel em clorofórmio, DCM, acetonitrila, acetona, metanol, etanol e DMSO. E foi insolúvel em éter etílico, hexano e água.

Os resultados da análise elementar desse composto indicam um complexo de ouro neutro com um ligante IMes, um ligante desprotonado Stzn e uma pequena diferença que pode ser atribuída à presença de água na amostra. Os dados indicam que a substituição do íon cloreto pela ligante Stzn na esfera de coordenação do ouro foi efetiva.

O espectro de RMN de ^1H do complexo sintetizado AuIMesStzn está representado na Figura 19 com as respectivas atribuições. O singlete em 2,08 ppm é atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *orto* dos grupos mesitil e o singlete em 2,31 ppm é referente ao grupo $-\text{CH}_3$ na posição *para* dos grupos mesitil. O tripleto em 3,04 ppm é atribuído ao $-\text{CH}_2-$ próximo ao átomo de enxofre no anel tiazolina com uma constante de acoplamento (J) igual a 8,01 Hz e o tripleto em 3,95 ppm é referente ao $-\text{CH}_2-$ do anel tiazolina próximo ao átomo de nitrogênio, possuindo também J igual a 8,01 Hz. Estes sinais referem-se ao ligante 2-mercaptotiazolina coordenado ao íon ouro(I) e possuem deslocamentos químicos diferentes do apresentado no espectro do ligante livre. O singlete em 7,09 ppm representa $-\text{CH}-$ aromático do anel mesitil e o singlete em 7,80 ppm é atribuído ao $-\text{CH}-$ do anel imidazol.

Os valores das integrais dos sinais no espectro, os deslocamentos químicos dos sinais referentes ao ligante Stzn em relação ao ligante livre HStzn e a ausência do sinal relacionado ao grupo $-\text{SH}$ indicam a efetiva substituição do íon cloreto na esfera de coordenação do ouro(I).

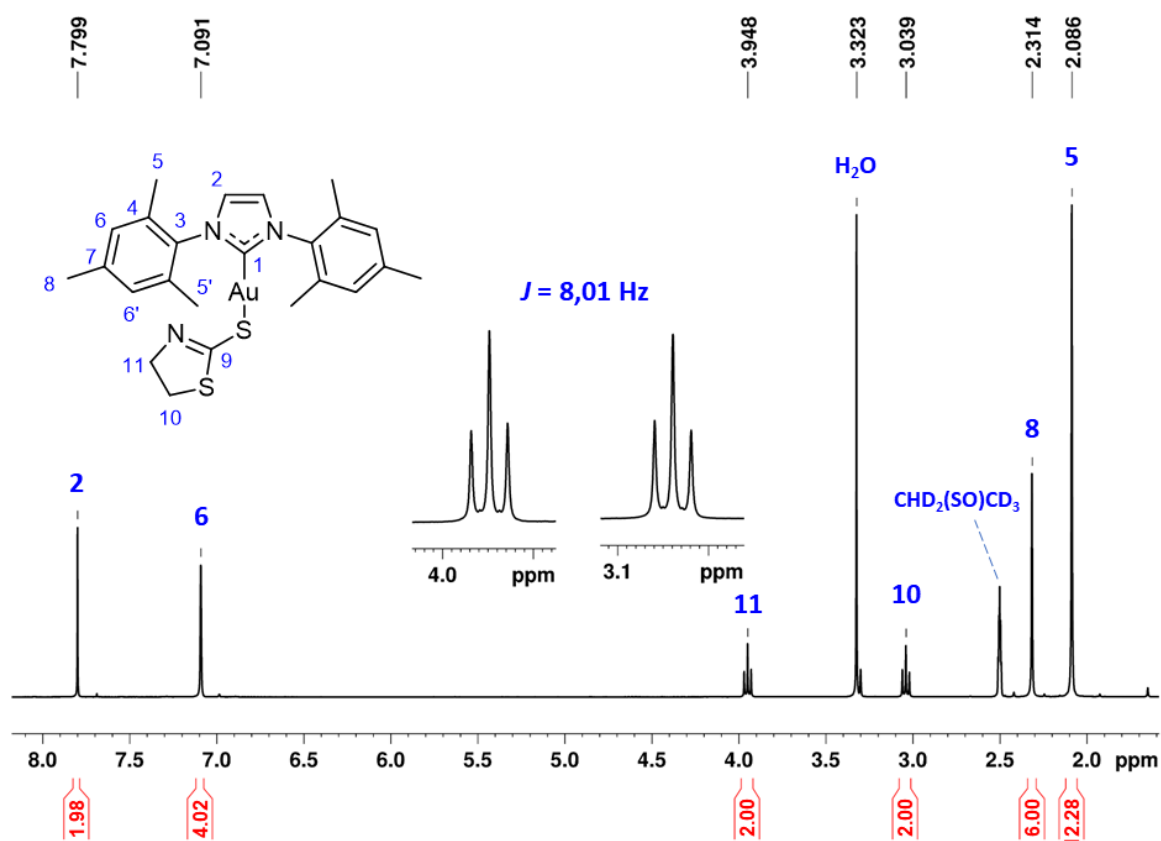


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesStzn em DMSO- d_6 a 400 MHz.

Para realizar uma caracterização mais abrangente do composto AuIMesStzn, empregou-se a técnica de RMN de ^{13}C , e o espectro resultante está apresentado na Figura 20, com as devidas atribuições dos sinais realizadas com o auxílio dos experimentos bidimensionais de RMN como *Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy* (HSQC) e *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (HMBC) $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ (vide Anexo). Nesse espectro de RMN de ^{13}C , são identificados sinais referentes aos carbonos do ligante Stzn e sinais correspondentes aos carbonos do ligante 1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-imidazol-2-iledeno (IMes), os quais apresentam deslocamentos em relação aos observados no precursor AuIMesCl. Uma forte evidência da alteração na esfera de coordenação do ouro é a variação do deslocamento químico do carbono C1, ligado ao íon ouro(I), que atinge 180,26 ppm no complexo AuIMesStzn. Em contraste, no complexo precursor AuIMesCl, esse mesmo carbono exibe um valor de 170,75 ppm (vide Anexo). Esses dados corroboram as informações obtidas pela análise de RMN de ^1H .

Também foi empregado a espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) para caracterização deste complexo. O espectro de HRMS do complexo AuIMesStzn está representado na Figura 21. O sinal mais intenso no espectro é atribuído à espécie $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Stzn})+\text{H}^+]$ em 620,1459 m/z, corroborando com os dados obtidos pelo RMN de ^1H e ^{13}C , e difração de raios X de monocristal, e reforça a obtenção do produto desejado. Outros sinais menos intensos podem ser observados no espectro representando espécies geradas devido ao processo de ionização da amostra, como o ligante livre protonado $[\text{HStzn}+\text{H}^+]$ em 119,9937 m/z e o complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Stzn})\text{Au}(\text{IMes})]^+$ em 1120,2986 m/z.

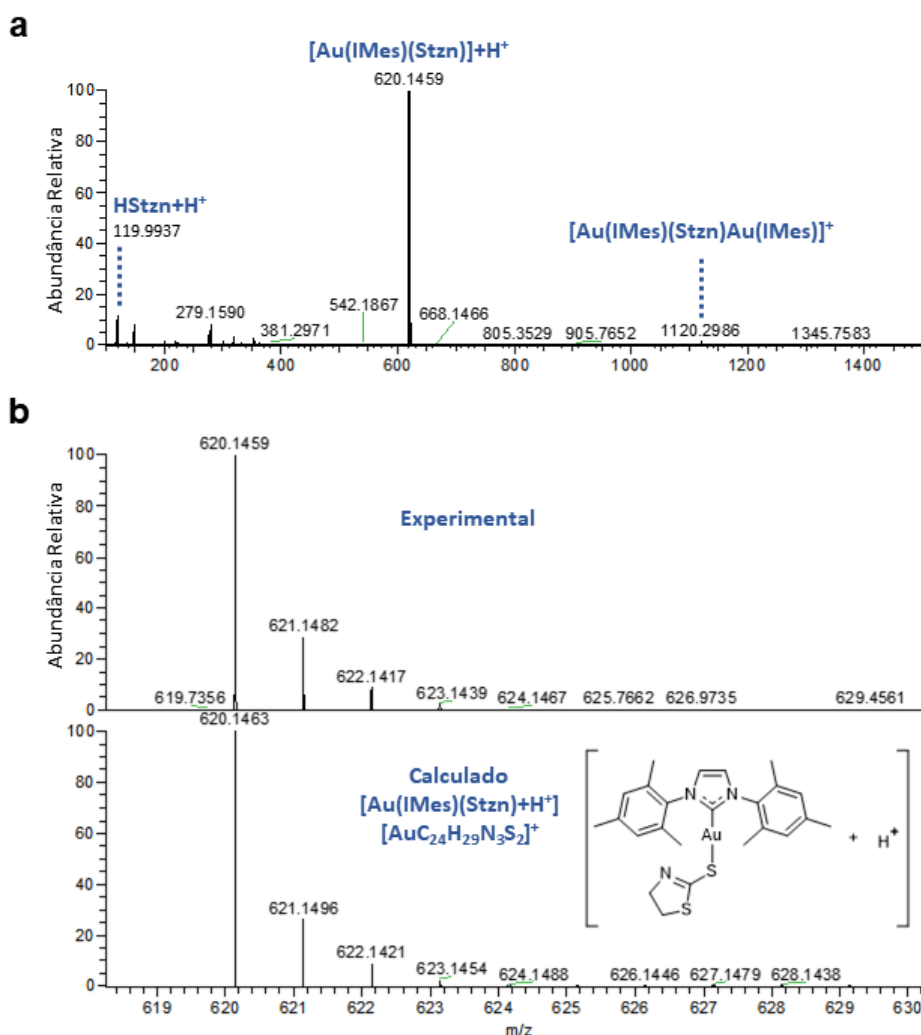


Figura 21. Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do complexo AuIMesStzn da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos.

Os monocristais obtidos do composto AuIMesStzn foram caracterizados por difração de raios X de monocristal e apresentou alto grau de desordem. Figura 22 é representada a unidade assimétrica da estrutura cristalina deste complexo, referente a posição de dois terços dos átomos. Os valores dos principais comprimentos e ângulos de ligação estão apresentados na Tabela 4. A unidade assimétrica é representada por uma unidade de complexo, possuindo grupo espacial $P2_12_12_1$ e com fórmula mínima igual a $C_{24}H_{28}AuN_3S_2$. O complexo apresenta um modo de coordenação linear, onde cada íon de ouro(I) está coordenado a um átomo de enxofre desprotonado e um átomo de carbono entre os nitrogênios do anel imidazol ($N-C-N$). O ângulo entre as ligações $C-Au-S$ tem valor médio de $179,32^\circ$. A distância média de ligação $Au-C$ é de $2,001 \text{ \AA}$ e a distância média da ligação $Au-S$ é igual a $2,2964 \text{ \AA}$, que condiz com os valores observados em complexos análogos com ligante trifenilfosfina¹³¹.

Tabela 4. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesStzn.

Átomos	Comprimento (Å)	Átomos	Ângulos (°)
Au1—C1	2,001(5)	C1—Au1—S1	179,32(18)
Au1—S1	2,2964(10)	C40—S1—Au1	103,4(4)
S1—C40	1,736(11)		

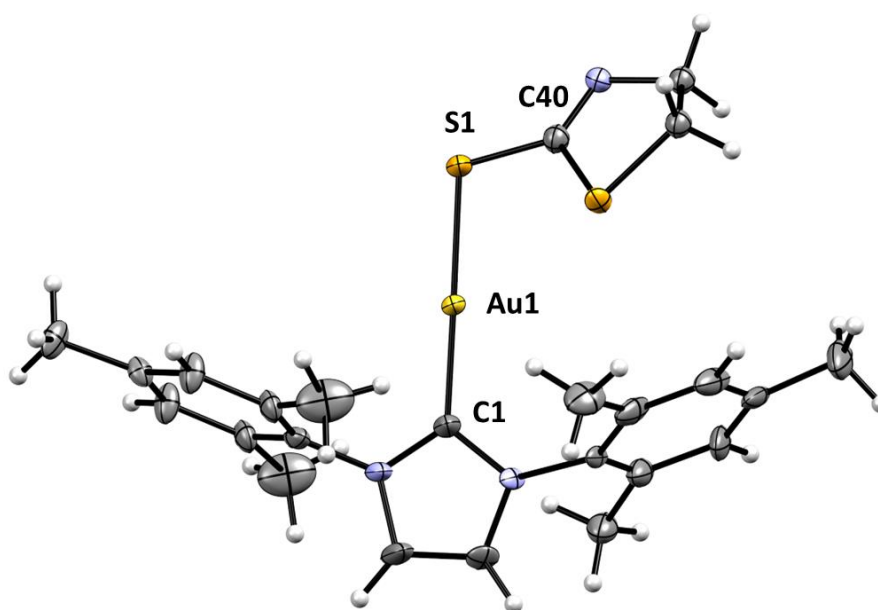


Figura 22. Diagrama ORTEP do composto AuIMesStzn com alto grau de desordem, representando a posição de $2/3$ das posições dos átomos com elipsóides no nível de probabilidade de 50%.

5.1.2 Caracterização do complexo AuIMesSbtz

Como descrito para o complexo anterior, a reação de substituição do íon cloreto pelo ligantes 2-mercaptobenzotiazol desprotonado (Sbtz) acontece rapidamente e poucos minutos após o desaparecimento do sólido do complexo AuIMesCl foi observado a formação de um precipitado branco e floculento. O sólido obtido foi solúvel em clorofórmio, DCM, acetonitrila, acetona e DMSO. Entretanto, o composto apresentou baixa solubilidade em etanol e metanol, e foi possível isolar o complexo sem a necessidade de recristalização com DCM e éter etílico com aspecto menos cristalino. E o sólido foi insolúvel em éter etílico, hexano e água.

Os resultados da análise elementar desse composto indicam um complexo de ouro neutro com um ligante IMes, um ligante desprotonado Sbtz e uma pequena diferença que pode

ser atribuída à presença de água na amostra. Os dados indicam que a substituição do íon cloreto pela ligante Stzn na esfera de coordenação do ouro foi efetiva.

O espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSbtz é representado na Figura 23 juntamente com a estrutura do complexo e respectiva atribuição dos sinais, utilizado DMSO- d_6 como solvente. O singlete observado em 2,13 ppm é atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *orto* e o singlete em 2,34 ppm é atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *para* da porção mesitil. O singlete em 7,16 ppm referente ao CH aromático do grupo mesitil encontra-se sobreposto ao multipeto referente aos hidrogênios aromáticos do benzotiazol centrado em 7,24 ppm. E o multipeto centrado em 7,52 ppm referente aos hidrogênios aromáticos do benzotiazol. Os hidrogênios do anel imidazol são representados pelo singlete em 7,87 ppm. O sinal de alta intensidade observado em 3,33 ppm deve-se à presença de água. A partir dos valores das integrais e dos deslocamentos químicos dos sinais referentes ao ligante Sbtz em relação ao ligante livre HSbtz e a ausência do sinal relacionado ao grupo $-\text{SH}$ é possível inferir a efetiva substituição do íon cloreto na esfera de coordenação do ouro(I).

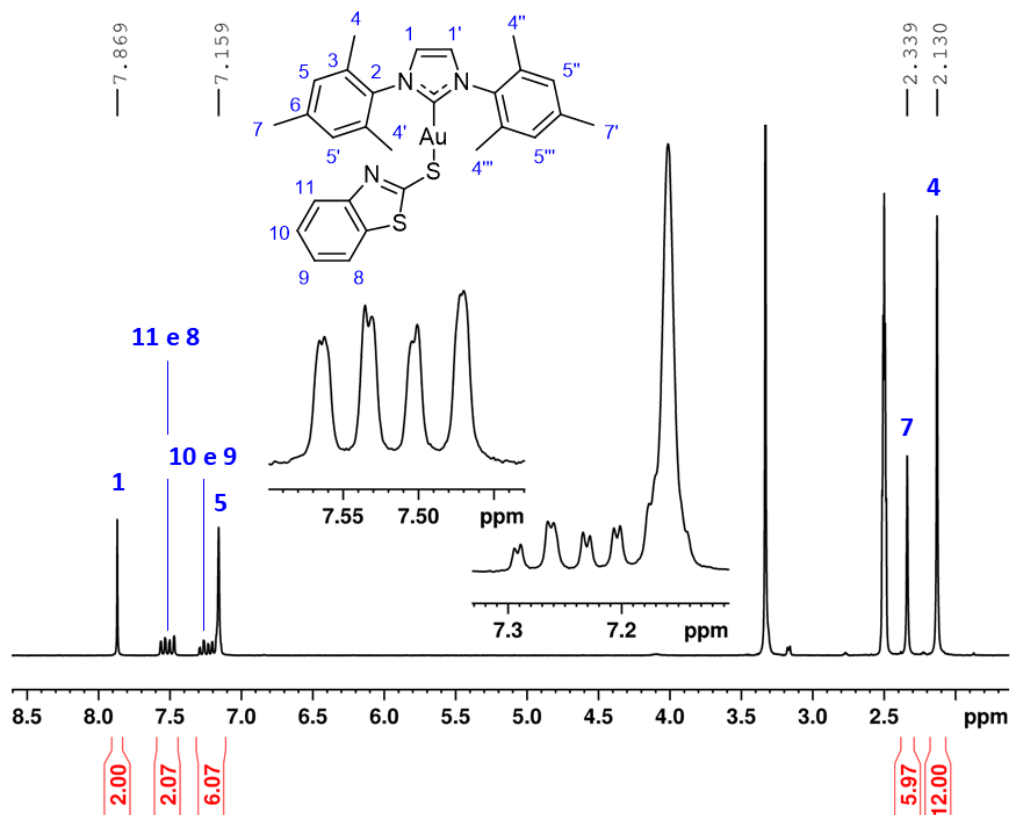


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSbtz em DMSO- d_6 a 250 MHz.

O complexo AuIMesSbtz foi caracterizado por RMN de ^{13}C , cujo espectro é apresentado na Figura 24, a atribuição estrutural foi realizada com auxílio dos experimentos correlativos de HSQC e HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ (Anexo). Neste espectro, destacam-se os sinais correspondentes aos carbonos do ligante IMes, os quais exibem deslocamentos em relação aos observados no precursor AuIMesCl. O carbono C1, ligado ao íon ouro, apresenta um deslocamento químico igual a 179,47 ppm. Além disso, nota-se que os sinais associados aos carbonos do fragmento relacionado ao Sbtz. Esses dados indicam a substituição do ligante cloreto pelo ligantes Sbtz na estrutura do complexo de ouro.

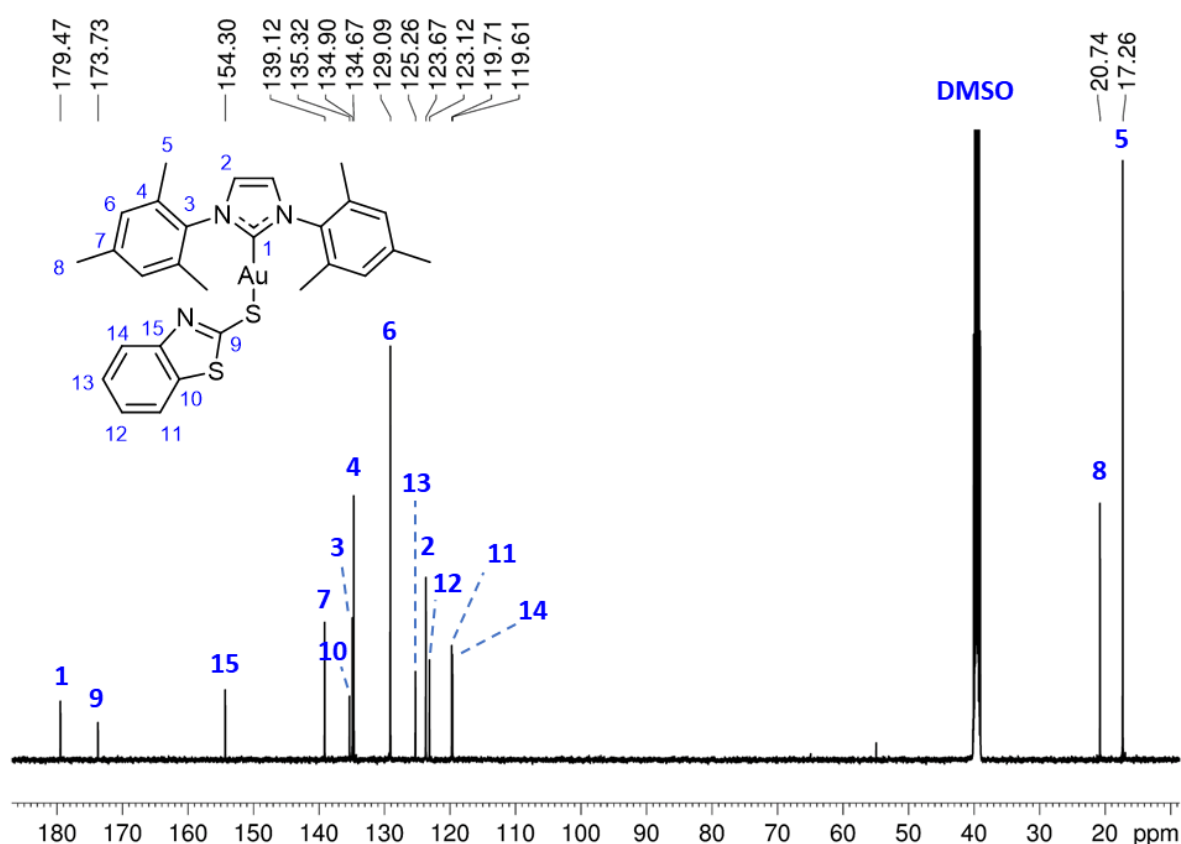


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura do composto AuIMesSbtz com respectivas atribuições dos sinais.

O espectro de HRMS do complexo AuIMesSbtz está representado na Figura 25. O sinal mais intenso no espectro é atribuído à espécie $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Sbtz})+\text{H}^+]$ em 668,1460 m/z, indicando a efetividade da substituição do ligante Sbtz na esfera de coordenação do complexo. Também são observados outros sinais referentes ao ligante livre protonado $[\text{HSbtz}+\text{H}^+]$ em 167,9935 m/z e o complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Sbtz})\text{Au}(\text{IMes})]^+$ em 1168,2984 m/z.

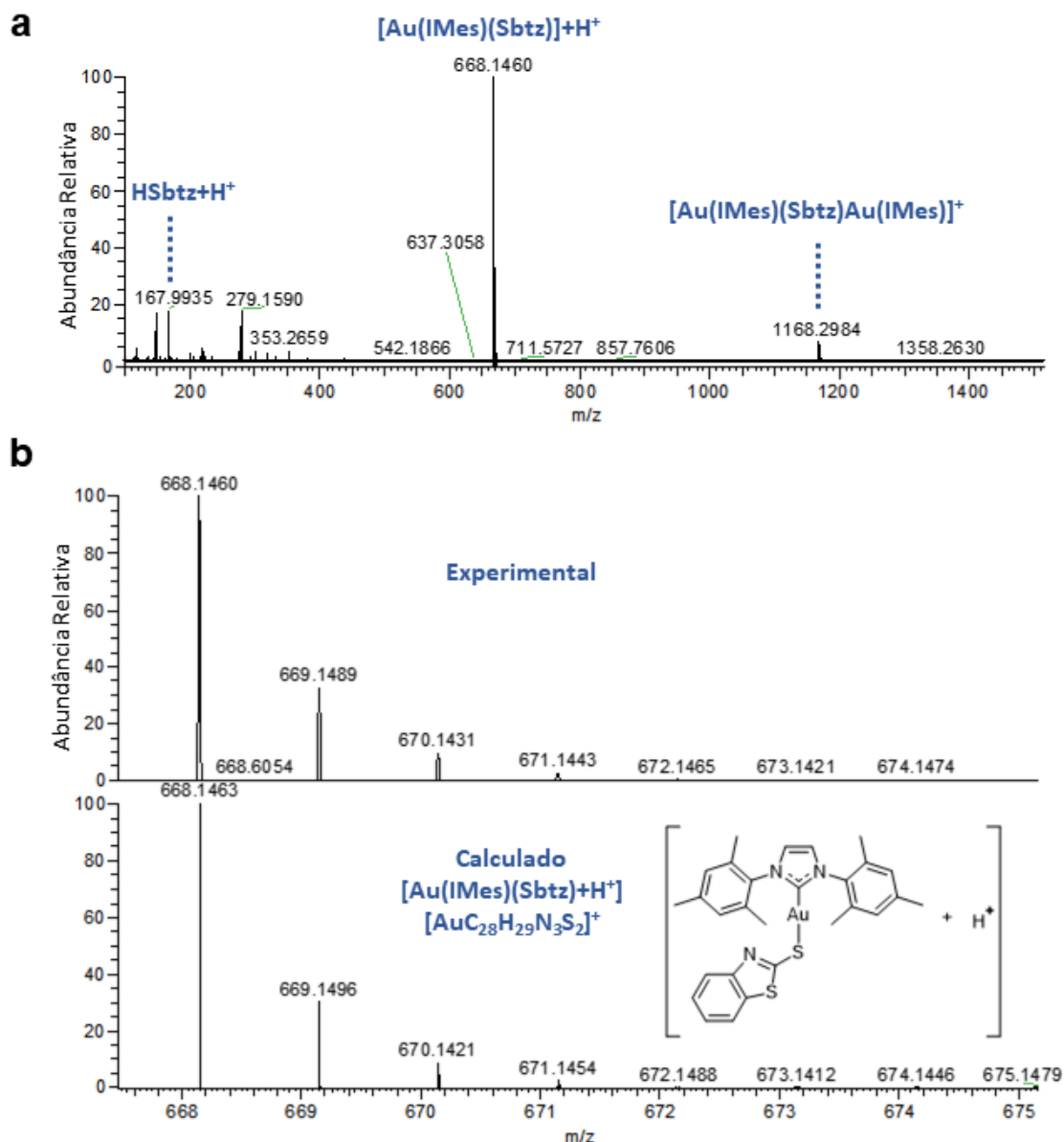


Figura 25. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMesSbtz da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[Au(IMes)(Sbtz)+H]^+$.

A estrutura cristalina do composto AuIMesSbtz é apresentada na Figura 26 e os valores dos principais comprimentos e ângulos de ligação dessa estrutura estão representados na Tabela 5. A unidade assimétrica é representada por dois complexos de ouro com os ligantes IMes e Sbtz cada, possui grupo espacial P-1 e fórmula mínima $C_{28}H_{28}AuN_3S_2$. Os complexos apresentam uma coordenação linear levemente distorcida, onde cada íon de ouro(I) está coordenado a um átomo de enxofre desprotonado do ligantes Sbtz e um átomo de carbono entre

os nitrogênios do anel imidazol (N–C–N) do ligantes IMes. O ângulo dessa ligação C–Au–S tem valor médio de 176,17°. A distância média de ligação entre os átomos Au–C é de 1,999 Å e a distância média da ligação Au–S igual a 2,2954 Å, estes valores condizem com os observados para estruturas similares descritas na literatura.

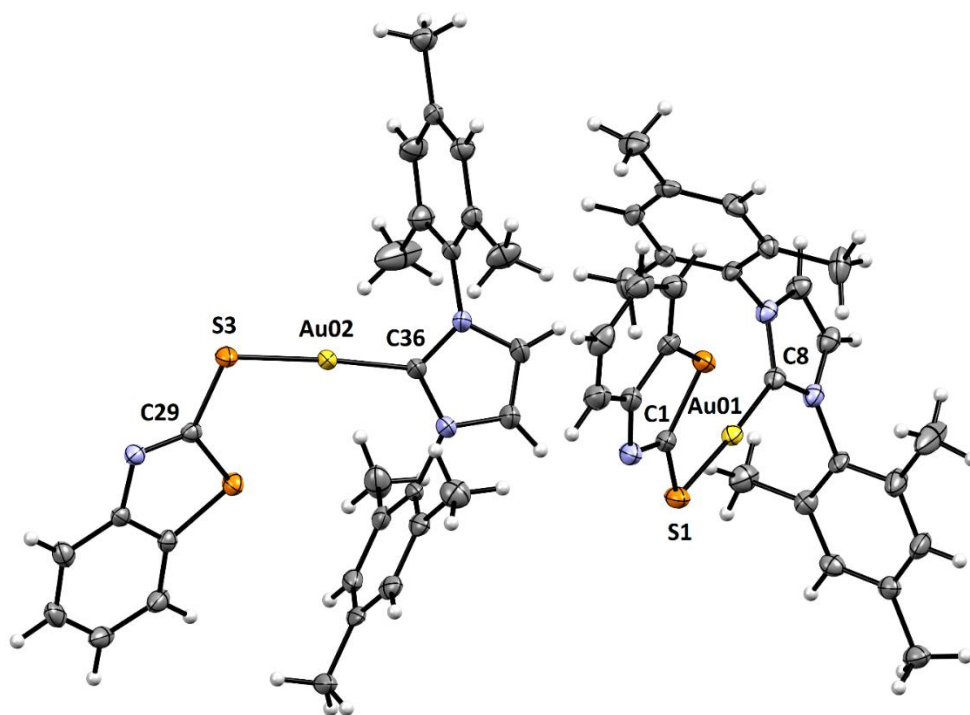


Figura 26. Diagrama ORTEP do composto AuIMesSbtz com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.

Tabela 5. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesSbtz.

Átomos	Comprimento (Å)	Átomos	Ângulos (°)
Au01—C8	1,998(3)	C8—Au1—S1	176,61(8)
Au02—C36	2,001(3)	C36—Au2—S3	175,74(8)
Au1—S1	2,2936(8)	C1—S1—Au1	103,09(9)
Au2—S3	2,2973(9)	C29—S3—Au2	101,75(9)
S1—C1	1,745(2)		
S3—C29	1,742(2)		

5.1.3 Caracterização do complexo AuIMesSpym

Nessa síntese, a reação de substituição na estrutura do complexo de ouro pelo 2-mercaptopirimidina desprotonado (Spym) pode ser acompanhada visualmente pela diminuição na coloração do meio, devido à cor amarelada apresentada pela 2-mercaptopirimidina neutra e desprotonada. Foi observada a mudança de coloração do amarelo para incolor em poucos minutos de reação. O sólido obtido depois da etapa de recristalização foi solúvel em clorofórmio, DCM, acetonitrila, acetona, metanol, etanol e DMSO. E foi insolúvel em éter etílico, hexano e água.

Os dados obtidos a partir da análise elementar deste composto revelam a formação de um complexo de ouro neutro, apresentando um ligante IMes e um ligante Spym. Além disso, observa-se uma discreta variação na proporção elementar proposta e a experimental, possivelmente associada à presença de água na amostra. Os resultados indicam que a substituição do íon cloreto pelo ligante Stzn na esfera de coordenação do ouro foi eficaz.

O espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSpym é apresentado na Figura 27 juntamente com a estrutura do complexo e respectiva atribuição dos sinais, utilizando solvente DMSO- d_6 como solvente. O singlete observado em 2,115 ppm é atribuído aos hidrogênios dos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *orto*, o singlete em 2,313 ppm é atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *para* da porção mesitil e singlete em 7,099 ppm refere-se ao CH aromático do grupo mesitil. O duplete centrado em 8,108 ppm representa os prótons dos grupos CH adjacentes ao nitrogênio do anel pirimidina e o tripleto em 6,825 ppm correspondendo ao hidrogênio do grupo CH em posição *para* ao átomo de enxofre do anel pirimidina, ambos sinais possuem uma constante de acoplamento $J = 4,80$ Hz. Os hidrogênios do anel imidazol são representados pelo singlete em 7,773 ppm. Também há um singlete observado em 3,33 ppm indicando a presença de água no meio.

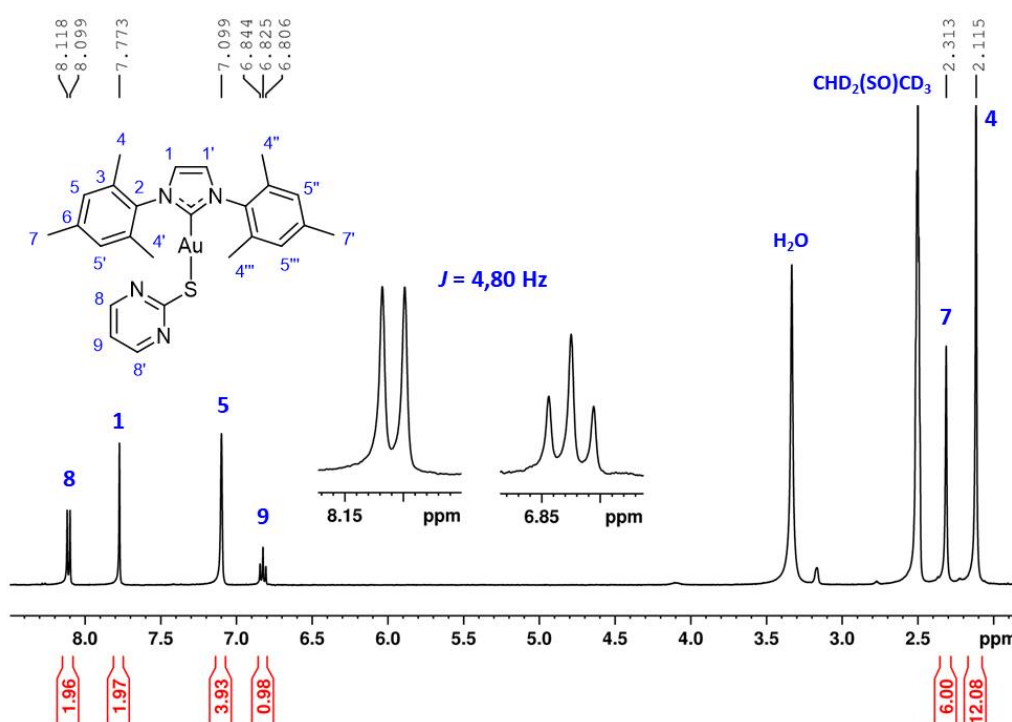


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesSpym em DMSO-d_6 a 250 MHz.

A partir dos valores das integrais e dos deslocamentos químicos dos sinais referentes ao ligante Spym em relação ao ligante livre HSpym e a ausência do sinal relacionado ao hidrogênio do grupo $-\text{SH}$ é possível inferir a efetiva substituição do íon cloreto na esfera de coordenação do ouro(I), juntamente com os deslocamento dos sinais dos hidrogênios da porção 1,3-bis(2,4,6-trimetilfenil)-imidazol-2-iledeno (IMes) em relação ao precursor AuIMesCl .

O complexo AuIMesSpym foi caracterizado por RMN de ^{13}C , o espectro obtido é apresentado na Figura 28. A atribuição estrutural foi realizada com auxílio dos experimentos correlativos de HSQC e HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ (Anexo). Neste espectro, destacam-se os sinais correspondentes aos carbonos do ligante IMes, os quais exibem deslocamentos em relação aos observados no precursor AuIMesCl . O carbono C1, ligado ao íon ouro, apresenta um deslocamento químico igual a 181,63 ppm. Além disso, nota-se os sinais associados aos carbonos do ligante Spym. Esses dados reforçam as informações obtidas com as outras técnicas de caracterização empregadas.

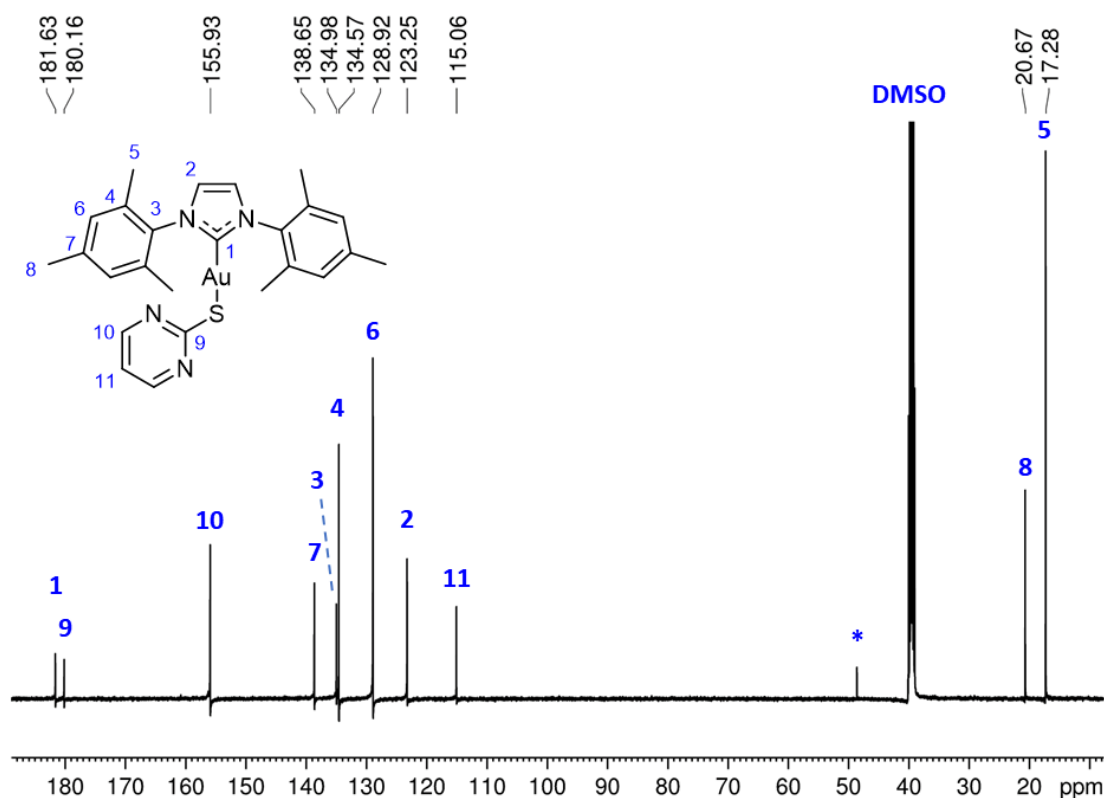


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C do composto AuIMesSpym em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura com respectivas atribuições dos sinais. (*) Resíduo do solvente metanol na amostra.

O espectro de HRMS do complexo AuIMesSpym está representado na Figura 29. O sinal mais intenso no espectro é atribuído à espécie $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Spym}) + \text{H}^+]$ em 613,1688 m/z, apontando a formação da ligação do ouro com o ligante Spym. Também são observados outros sinais referentes ao ligante livre protonado $[\text{HSpym} + \text{H}^+]$ em 113,0170 m/z e o complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Spym})\text{Au}(\text{IMes})]^+$ em 1113,3207 m/z.

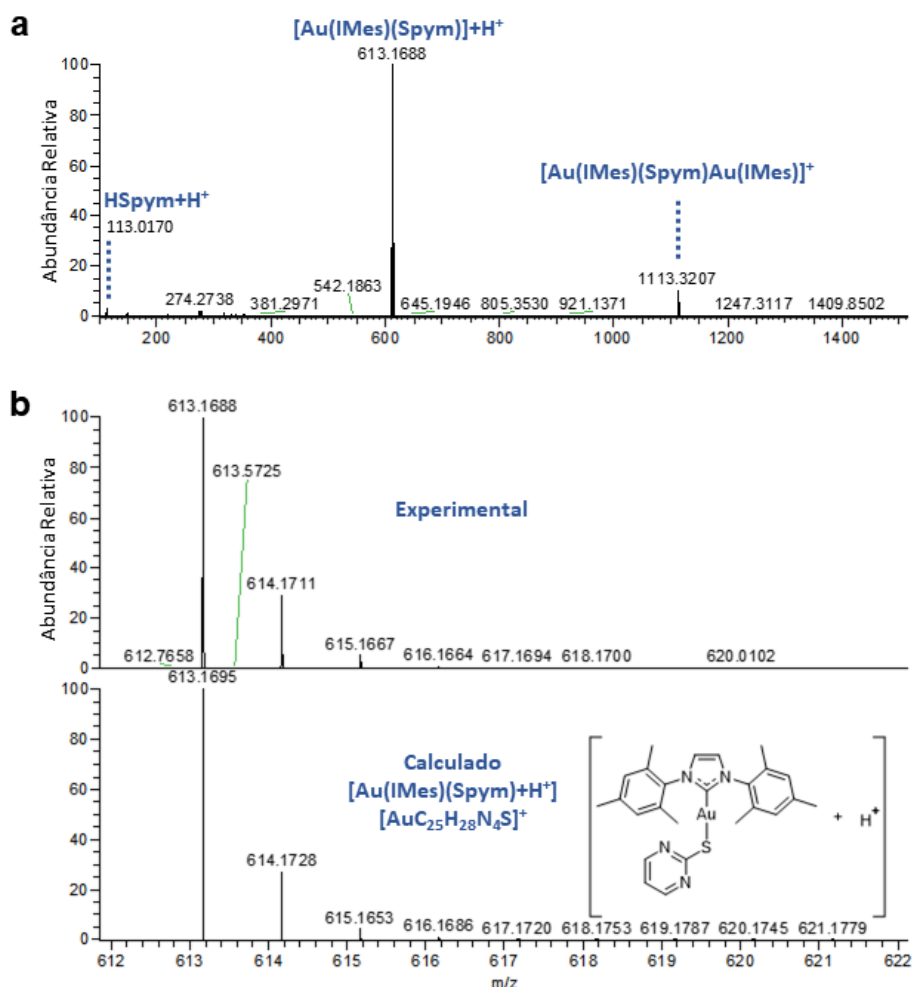


Figura 29. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMesSpym da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{Spym})+\text{H}]^+$.

A estrutura cristalina do complexo AuIMesSpym é apresentada na Figura 30 e os valores dos principais comprimentos e ângulos de ligação na Tabela 4. A unidade assimétrica é representada por dois complexos mononucleares e uma molécula de metanol, possuindo cela unitária P-1 com fórmula mínima $\text{C}_{25.5}\text{H}_{29}\text{AuN}_4\text{O}_{0.5}\text{S}$. Os complexos apresentam uma coordenação linear levemente distorcida, onde cada íon de ouro(I) está coordenado a um átomo de enxofre desprotonado e um átomo de carbono entre os nitrogênios do anel imidazol (N–C–N). O ângulo dessa ligação C–Au–S tem valor médio de 174° . A distância média de ligação entre os átomos Au–C é de 1,989 Å e a distância média da ligação Au–S igual a 2,288 Å, estes valores condizem com os observados para estruturas similares descritas na literatura^{85,88,132}. É observado uma ligação de hidrogênio não clássica entre o átomo de hidrogênio do imidazol direcionado à nuvem eletrônica do grupo mesitil. Também são observadas interações do

solvente presente no retículo cristalino, em que o hidrogênio ligado ao átomo O1s do metanol faz uma ligação de hidrogênio com o nitrogênio N5 do anel pirimidina.

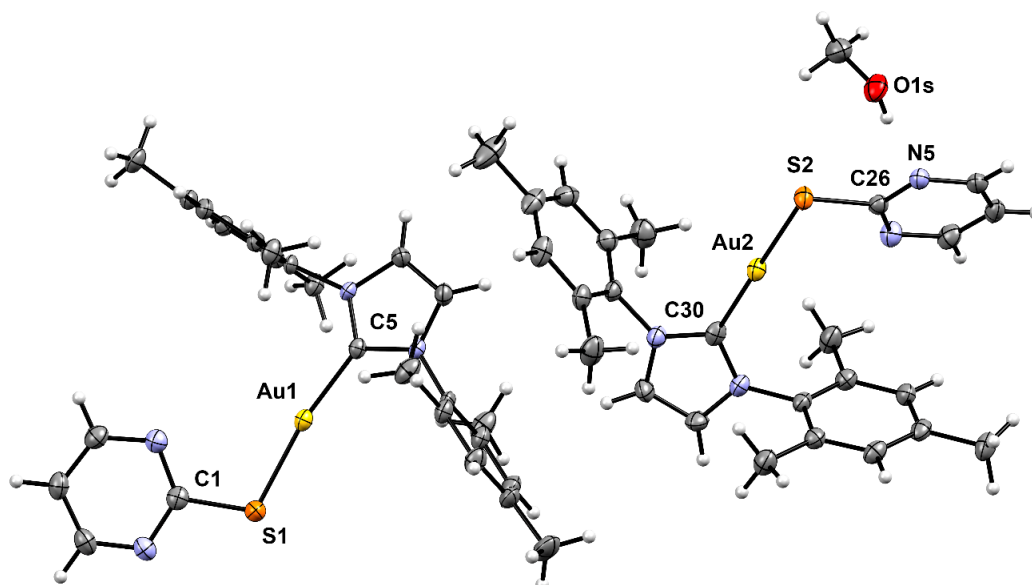


Figura 30. Diagrama ORTEP do composto AuIMesSpym com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.

Tabela 6. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMesSpym.

Átomos	Comprimento (Å)	Átomos	Ângulos (°)
Au1—C5	1,992(3)	C5—Au1—S1	171,00(8)
Au2—C30	1,987(3)	C30—Au2—S2	177,70(9)
Au1—S1	2,2847(8)	C1—S1—Au1	108,52(11)
Au2—S2	2,2921(8)	C26—S2—Au2	102,09(10)
S1—C1	1,755(3)		
S2—C26	1,747(3)		

5.1.4 Caracterização do complexo AuIMes2tu

A reação de substituição do íon cloreto no complexo AuIMesCl utilizando o 2-tiouracil desprotonado (2-tu) ocorre rapidamente, indicado pelo consumo imediato nos primeiros minutos de reação do sólido do complexo precursor no meio. O sólido incolor obtido ao final

do procedimento foi solúvel em clorofórmio, DCM, acetonitrila, acetona, metanol, etanol e DMSO. E foi insolúvel em éter etílico, hexano e água.

Os resultados da análise elementar desse composto indicam um complexo de ouro neutro com um ligante IMes, um ligante desprotonado Stzn e uma pequena diferença que pode ser atribuída à presença de água na amostra. Os dados indicam que a substituição do íon cloreto pela ligante Stzn na esfera de coordenação do ouro foi efetiva.

O espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMes2tu é apresentado na Figura 31 juntamente com a respectiva atribuição dos sinais, utilizando solvente DMSO- d_6 como solvente. O singlete observado em 2,100 ppm é atribuído aos hidrogênios dos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *orto*, o singlete em 2,312 ppm é atribuído aos grupos $-\text{CH}_3$ na posição *para* da porção mesitil e singlete em 7,095 ppm refere-se ao CH aromático do grupo mesitil. Referente ao ligantes 2-tiouracil, é possível observar um duplete centrado em 5,766 ppm correspondendo ao hidrogênio do grupo CH em posição *para* ao átomo de enxofre, um duplete centrado em 7,328 ppm representando o próton do grupo CH adjacentes ao nitrogênio do anel, ambos sinais possuem uma constante de acoplamento $J = 6,61$ Hz, e um singlete alargado equivalente ao hidrogênio da porção NH do anel desse ligante. Os hidrogênios do anel imidazol são representados pelo singlete em 7,797 ppm. Também há um singlete observado em 3,33 ppm indicando a presença de água no meio.

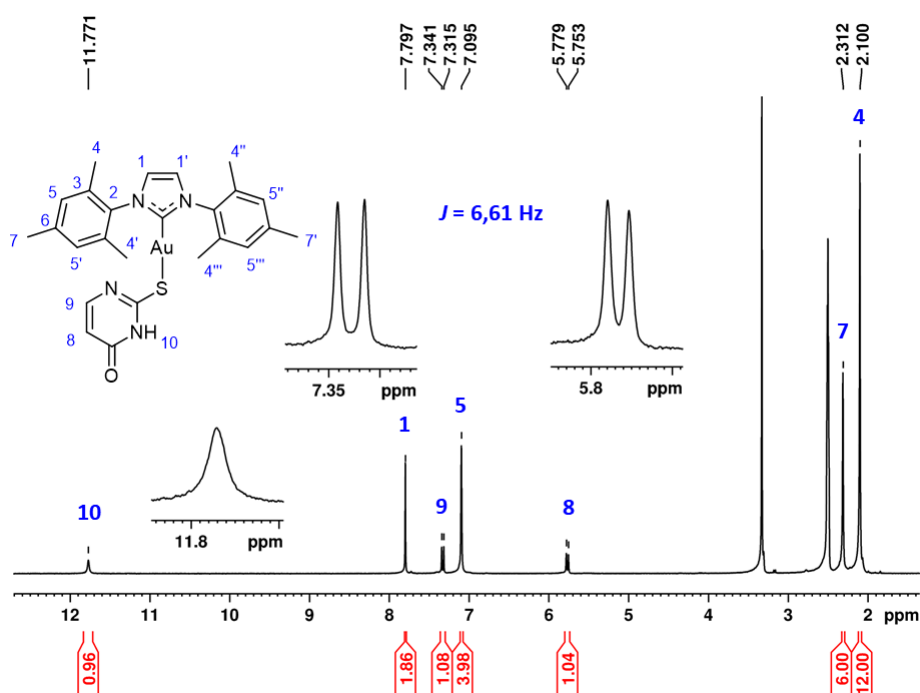


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMes2tu em DMSO- d_6 a 250 MHz.

A partir dos valores das integrais e dos deslocamentos químicos dos sinais referentes ao ligante 2-tu em relação ao ligante livre 2-tuH e a ausência do sinal relacionado ao hidrogênio do grupo –SH é possível inferir a efetiva substituição do íon cloreto na esfera de coordenação do ouro(I), juntamente com os deslocamentos dos sinais dos hidrogênios da porção IMes em relação ao precursor AuIMesCl.

O espectro de RMN de ^{13}C do composto AuIMes2tu está representado na Figura 32. Os sinais observados referentes aos núcleos de carbono apresentam uma variação no valor do deslocamento químico em relação aos seus precursores, AuIMesCl e 2-tuH. Como o sinal que representa o carbono do anel imidazol ligado ao íon ouro(I) (Figura 27), que possui um deslocamento químico de 180,00 ppm. Estes dados corroboram com as análises anteriores indicando a formação do complexo desenhado.

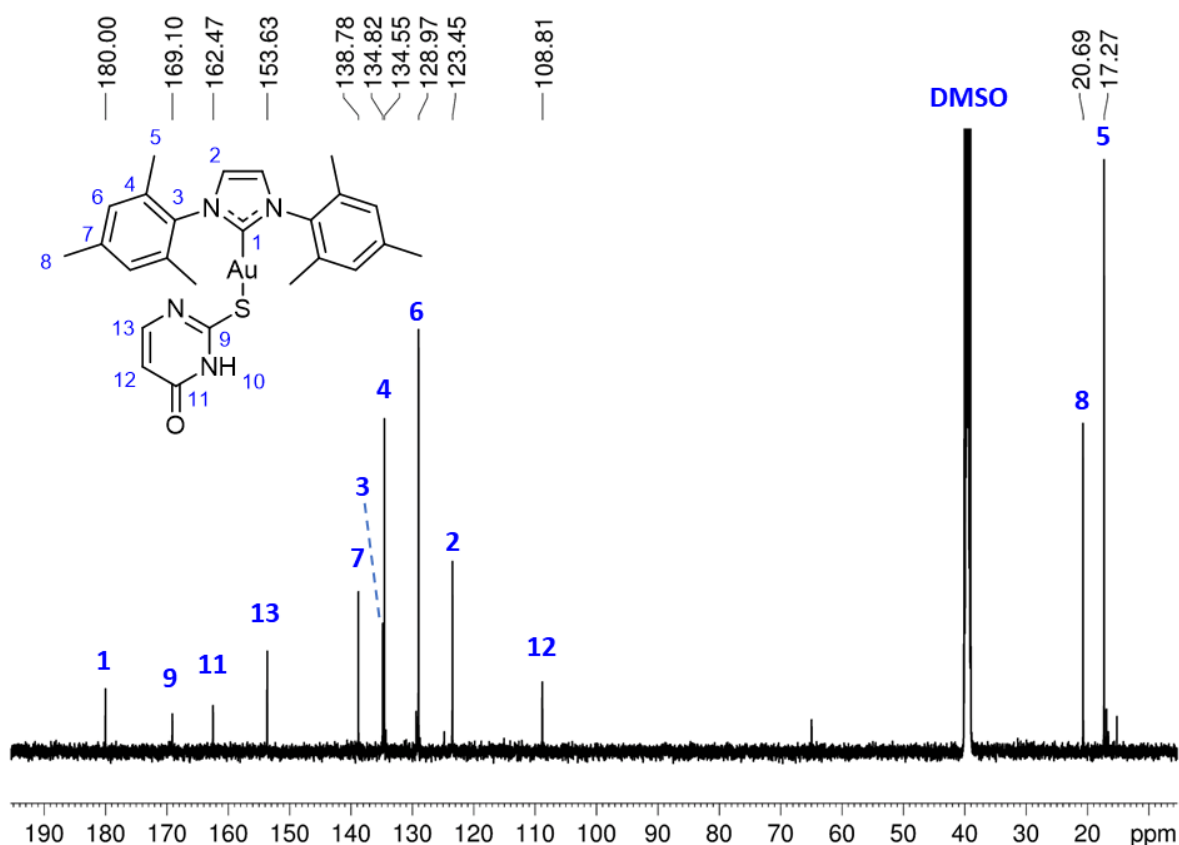


Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO- d_6 a 500 MHz e estrutura do composto AuIMes2tu com respectivas atribuições dos sinais.

O espectro de HRMS do complexo AuIMes2tu está representado na Figura 33. O sinal mais intenso no espectro é atribuído à espécie $[\text{Au}(\text{IMes})(2\text{-tu})+\text{H}^+]$ em 629,1638 m/z e indicam que a reação de troca do ligante cloreto pelo ligante Spym foi efetuada. Também são observados outros sinais referentes ao ligante livre protonado $[2\text{-tuH}+\text{H}^+]$ em 129,0118 m/z e o complexo $[\text{Au}(\text{IMes})(2\text{-tu})\text{Au}(\text{IMes})]^+$ em 1129,3163 m/z.

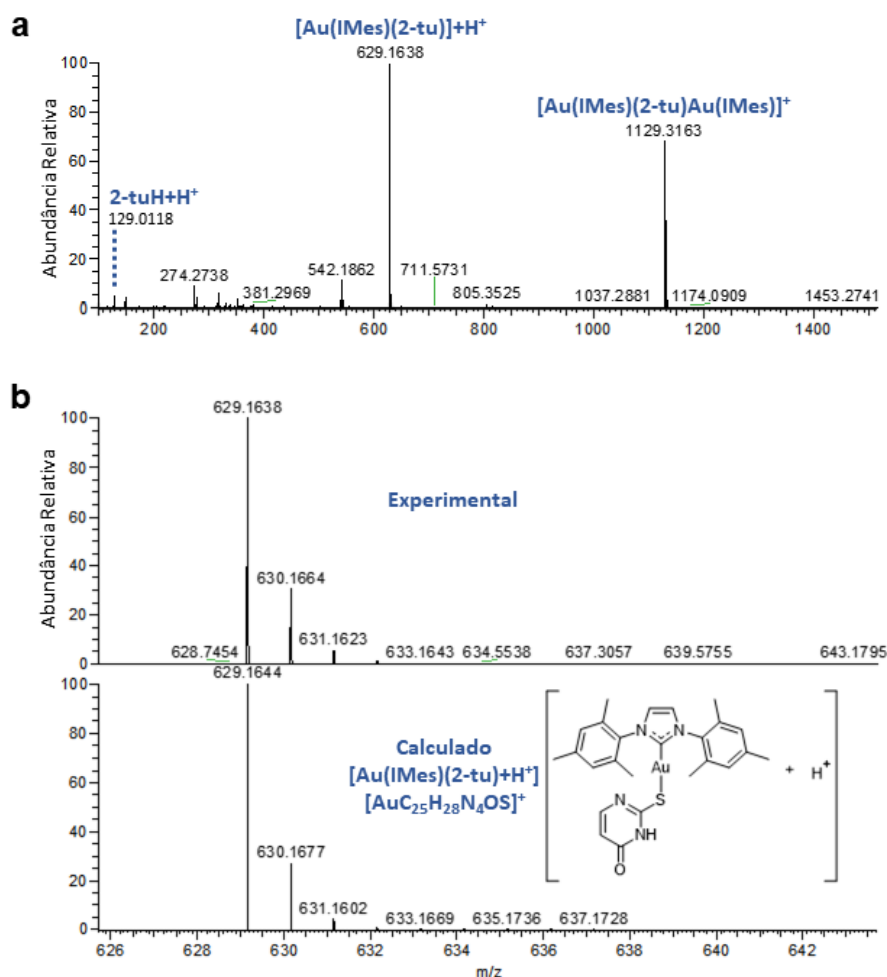


Figura 33. a) Espectro de massas de alta resolução no modo ESI-MS(+) do composto AuIMes2tu da região de 100 a 1500 m/z com respectivos sinais atribuídos. b) Espectro ampliado com intensidade ajustada e padrão isotópico calculado para o íon molecular $[\text{Au}(\text{IMes})(2\text{-tu})+\text{H}^+]$.

A estrutura cristalina do composto AuIMes2tu (Figura 34) obtida através da difração de raios X de monocristal apresenta grupo espacial $P2_1/c$ e fórmula empírica $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{AuN}_4\text{OS}$. Os valores de comprimento e ângulo de ligação estão dispostos na Tabela 5. O complexo apresenta coordenação linear levemente distorcida com ângulo médio de $178,51^\circ$, em que cada íon de

ouro(I) está ligado a um carbono situado entre os nitrogênios do anel imidazol (N–C–N) e um átomo de enxofre desprotonado.

Observa-se uma interação do tipo empilhamento π entre um dos anéis pirimidina (Figura 34) e o anel de um dos grupos mesitil, com uma distância entre os anéis de 3,476 Å. O átomo O1 e o hidrogênio ligado ao N2 desse anel pirimidina fazem ligações de hidrogênio com o hidrogênio em N2 e o O1 do anel pirimidina de outra unidade assimétrica, respectivamente. O segundo anel pirimidina da unidade assimétrica também forma ligações de hidrogênio pelo átomo O2 e o hidrogênio ligado ao N6 de modo similar ao descrito anteriormente. Estes resultados sugerem a efetividade da reação de substituição do íon cloreto pelo ligante tiolato Spym a partir do complexo AuIMesCl.

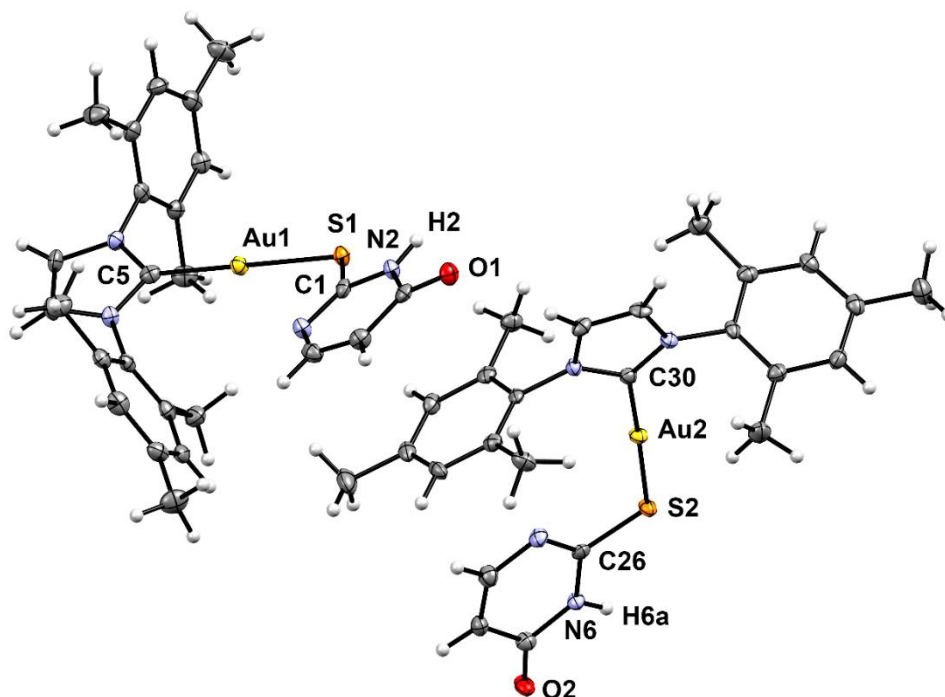


Figura 34. Diagrama ORTEP do composto AuIMes2tu com elipsoides no nível de probabilidade de 50%.

Tabela 7. Principais valores de comprimento (Å) e ângulos (°) de ligação do complexo AuIMes2tu.

Átomos	Comprimento (Å)	Átomos	Ângulos (°)
Au1—C5	1,989(3)	C5—Au1—S1	179,98(8)
Au2—C30	1,998(3)	C30—Au2—S2	177,04(8)
Au1—S1	2,2914(7)	C1—S1—Au1	100,96(9)
Au2—S2	2,3001(7)	C26—S2—Au2	115,5(2)
S1—C1	1,745(3)		
S2—C26	1,743(3)		

5.2 Comparação da força de doação dos ligantes tiolatos

A determinação experimental de parâmetros eletrônicos de ligantes NHCs empregada por Huynh *et al.* com RMN de ^{13}C se demonstrou viável para a avaliação da força de doação de co-ligantes¹³³. O método é baseado na sensibilidade do carbeno no NHC 1,3-diisopropilbenzimidazolin-2-ilidene ($^i\text{Pr}_2\text{-bimy}$) que foi mantido como ligante constante em uma série de complexos $\text{trans-}[\text{PdBr}_2(^i\text{Pr}_2\text{-bimy})\text{L}]^n$, sendo L os ligantes analisados. Os autores ressaltam que para estes complexos, o deslocamento químico deste carbeno tende a deslocar para maiores valores com o aumento da força de doação de outros ligantes na estrutura.

Os compostos AuIMesCl, AuIMesStzn, AuIMesSbtz, AuIMesSpym e AuIMes2tu compartilham uma similaridade estrutural, a porção Au–IMes. Essa semelhança possibilita uma comparação de efeitos eletrônicos como a força de doação dos ligantes transoides, utilizando o método descrito acima com os valores de deslocamento químico do carbeno ligado ao ouro em cada complexo. Esses dados são demonstrados na Tabela 8.

É observada a seguinte ordem da capacidade de doação dos ligantes: $\text{Cl} < \text{Sbtz} < 2\text{-tu} < \text{Stzn} < \text{Spym}$. Os ligantes tiolatos apresentam uma força de doação maior que o cloreto, fator pelo qual favorece a estabilização desse íon metálico. O ligante Sbtz tem uma força de doação menor que o Stzn devido à delocalização da densidade eletrônica causada pelo anel benzeno na estrutura. E a presença de mais um átomo eletronegativo na estrutura do ligante 2-tu imprime uma capacidade de doação menor que no Spym. Apesar da diferença da força de doação, os valores médios da distância de ligação do carbeno com o metal Au–C (Tabela 8) não parecem sofrer alterações significativas. Por se tratar de complexos lineares de ouro com um ligante bem volumoso (IMes), fatores de impedimento estérico podem influenciar nessa comparação.

Tabela 8. Valores de deslocamento químico (δ) do carbeno no ligante IMes e a distância da ligação Au–C em diferentes complexos de ouro com fórmula geral [Au(IMes)L].

Complexos	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Au–C (Å)
AuIMesCl	170,75	2,01
AuIMesSbtz	179,47	1,999
AuIMes2tu	180,00	1,993
AuIMesStzn	180,26	2,001
AuIMesSpym	181,63	1,989

5.3 Ensaio de interação com BSA por supressão da fluorescência

Com o propósito de avaliar a capacidade de interação dos complexos sintetizados com biomoléculas, foi empregado o ensaio de supressão de fluorescência da proteína albumina sérica bovina (BSA). Essa proteína é frequentemente utilizada como modelo em estudos de interação devido à sua semelhança estrutural com a albumina sérica humana (HSA), além da disponibilidade e custo acessível¹³⁴. A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo de humanos e outros mamíferos, desempenhando importantes funções no organismo, como armazenamento, transporte, metabolização e excreção de diversos compostos. E também atua como um carreador de íons e complexos metálicos no organismo¹³⁵.

A fluorescência intrínseca da BSA é atribuída aos resíduos de aminoácidos triptofano, alanina e fenilalanina em sua estrutura. Entre esses, os resíduos triptofano na sua superfície exercem a maior influência nessa propriedade¹³⁶. A supressão da fluorescência da proteína BSA ocorre por diversos mecanismos de interação com o titulante, como a ligação de substratos, mudanças conformacionais em sua estrutura da proteína ou mesmo desnaturação¹³⁷.

O aumento da concentração dos complexos de ouro testados resultou em diminuições sucessivas na intensidade da banda de fluorescência sem alterar seu perfil em cada amostra. Este efeito indica a interação entre os complexos AuIMesStzn, AuIMesSbtz, AuIMesSpym e AuIMes2tu com a proteína BSA a partir da formação de um aduto entre as duas espécies.

Para uma análise comparativa, os resultados dos dados de supressão da fluorescência foram tratados de acordo com a equação de Stern-Volmer¹³⁴ (Equação 8):

$$F_0/F = 1 + K_{SV} \cdot [Q] = 1 + Kq \cdot \tau_0 \cdot [Q] \quad (8)$$

Nesta equação, F_0 é a intensidade da fluorescência na ausência do supressor, F é a intensidade da fluorescência na presença do supressor, K_{SV} é a constante de Stern-Volmer $[Q]$

é a concentração do complexo de ouro(I), K_q é a constante da taxa de supressão biomolecular e τ_0 é o tempo de vida do fluoróforo na ausência do supressor.

O valor de K_{sv} é equivalente ao coeficiente angular da equação da reta obtida pela regressão linear do gráfico F_0/F vs $[Q]$. Alterações na intensidade da fluorescência da proteína causada pela presença dos compostos são indícios de possíveis interações. O valor da constante de ligação (K_b) e o número de sítios de ligação ocupados pelo titulante na estrutura da proteína (n) são determinados pela equação de Scatchard⁵⁹, conforme apresentado na Equação 9:

$$\log (F_0-F)/F = \log [K_b] + n \log [Q] \quad (9)$$

O valor de K_b e n correspondem ao coeficiente linear e angular, respectivamente, da equação da reta obtida pela regressão linear do gráfico $\log (F_0-F) / F$ vs $\log [Q]$.

Os espectros obtidos no experimento de supressão da fluorescência da BSA devido a interação com os NHCs de ouro e os gráficos referentes aos dados obtidos pelo uso da equação de Stern-Volmer e Scatchard encontram-se em anexo respectivamente nas Figuras A13, A14 e A15. Os dados apresentaram parâmetros satisfatórios, os valores das constantes obtidas e os parâmetros da regressão linear estão retratados na Tabela 9.

Tabela 9. Constante Stern-Volmer (K_{SV}), constante de ligação (K_b) e número de sítios de ligação (n) da interação dos compostos com BSA.

Complexo	$K_{SV} \cdot 10^4 (M^{-1})$	R^2	$K_b \cdot 10^4 (M^{-1})$	R^2	n
AuIMesStzn	2,09±0,06	0,99260	13,2	0,99337	1,16
AuIMesSbtz	2,57±0,02	0,99916	3,32	0,99888	1,03
AuIMesSpym	3,07±0,08	0,99465	350,0	0,9783	1,40
AuIMes2tu	2,57±0,06	0,99497	13,6	0,99364	1,14
AuIMesCl ⁸⁴	0,70	0,8914	3,5	-	0,95

Os valores de K_b demonstram que a substituição íon cloreto por ligantes tiolato dessa série proporcionaram um aumento da interação com a BSA, com exceção do complexo AuIMesSbtz. O complexo AuIMesSpym apresentou o maior valor da constante de ligação na temperatura de 25 °C, sendo provavelmente o complexo com a interação mais forte com a proteína BSA quando comparado com os outros complexos da série e até mesmo do complexo precursor. Os valores de n , que variam entre 1,03 até 1,40, indicam que a interação dos complexos com a BSA ocorre aproximadamente por um sítio de ligação.

5.4 Estudo de interação com CT-DNA por dicroísmo circular

A técnica de dicroísmo circular (CD - *circular dichroism*) desempenha um papel crucial na análise de mudanças na estrutura secundária do DNA resultante de sua interação com outros compostos, como potenciais fármacos. Isso contribui significativamente para uma compreensão mais profunda da natureza das interações entre esses compostos e o DNA¹³⁸. O espectro de dicroísmo circular do CT-DNA exibe duas bandas características, sendo uma banda negativa por volta de 247 nm, relacionada à conformação de hélice direita da forma B, e outra banda positiva em 275 nm, atribuída ao empilhamento das bases nitrogenadas no DNA^{59,139}.

A Figura 35 apresenta os diferentes espectros de CD do CT-DNA com adição dos complexos de ouro(I) sintetizados e seus precursores. A presença do complexo AuIMesCl resulta em sutis modificações no espectro de CD do CT-DNA, evidenciando um discreto aumento na intensidade da banda em 275 nm. Esse mesmo tipo de interação é observado pela presença do complexo AuIMesSbtz.

Por outro lado, no caso do complexo AuIMesStzn, observa-se um aumento na intensidade da banda em 275 nm e uma leve diminuição da banda em 245 nm. Os espectros de CD na presença dos complexos AuIMesSpym e AuIMes2tu apresentam perfis semelhantes, onde é observado um aumento da banda em 275 nm e um discreto aumento na intensidade da banda em 245 nm. A pequena variação na intensidade das bandas exibida nos espectros de CD sugere que as interações desses compostos com DNA ocorre por meio de inserção nos sulcos da estrutura¹⁴⁰. As mudanças sutis na estrutura secundária do DNA evidenciadas nos espectros de CD devido à presença dos complexos, demonstra que as interações desses compostos com essa biomolécula são fracas e sugerem que o DNA não seja um alvo no mecanismo de ação desses complexos.

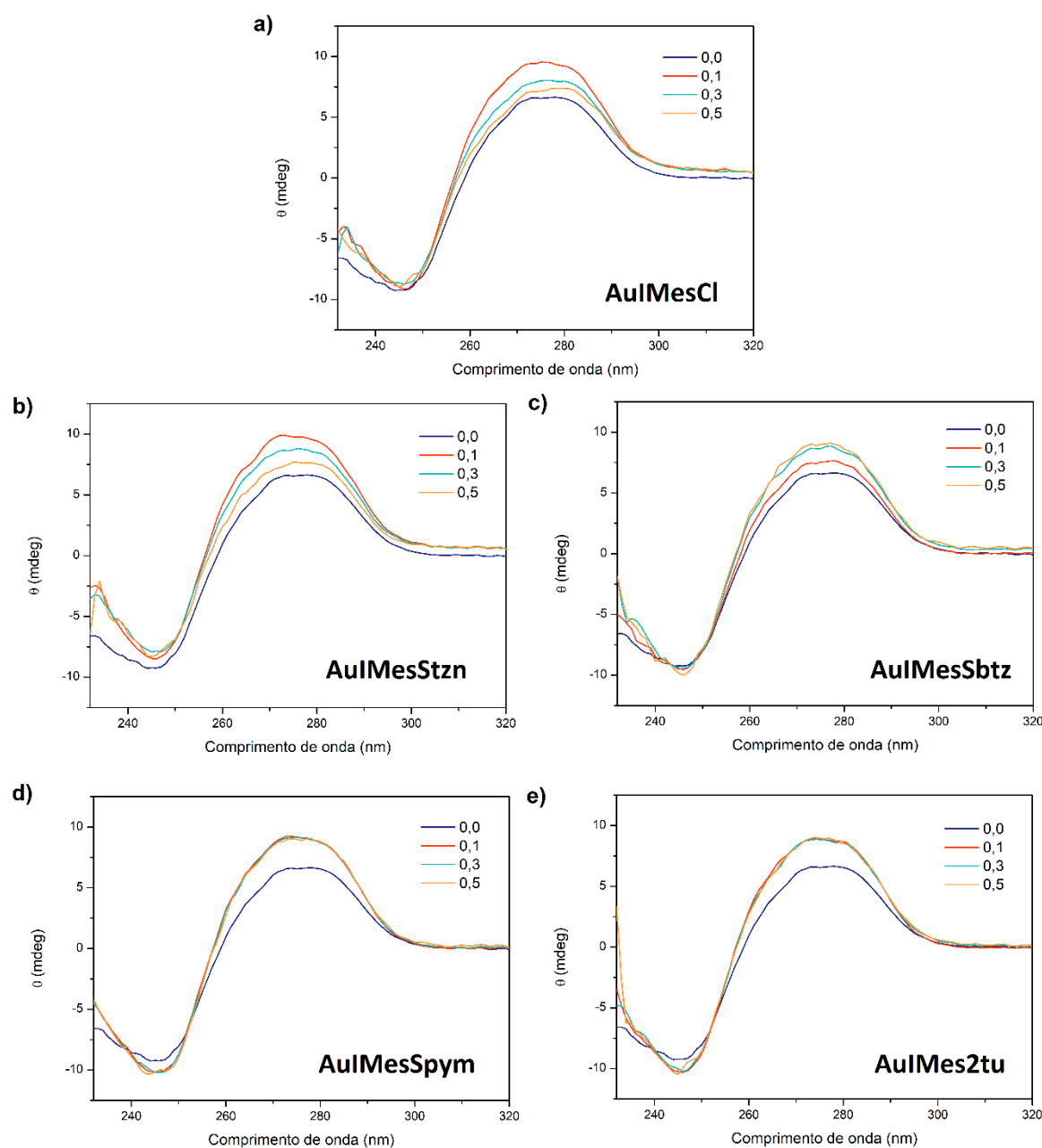


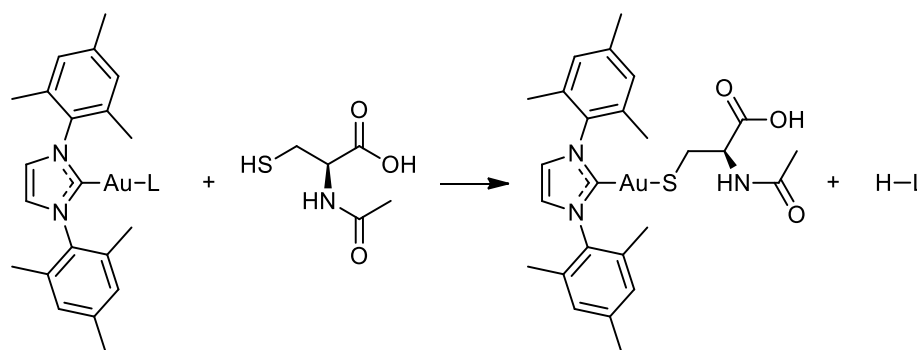
Figura 35. Espectros de dicroísmo circular de CT-DNA na presença de a) AuIMesCl, b) AuIMesStzn, c) AuIMesSbtz, d) AuIMesSpym e e) AuIMes2tu em diferentes concentrações.

5.5 Ensaio de interação com N-acetil-L-cisteína por RMN de ^1H

Um dos potenciais alvos de ação dos complexos de ouro(I) em parasitas, como os pertencentes ao gênero *Leishmania*, são proteínas que possuem sítios ativos ricos em resíduos de cisteína. Como por exemplo, a enzima tripanotona redutase que desempenha um papel essencial no controle redox celular desses organismos.

Para a avaliação da capacidade de interação dos complexos de ouro(I) descritos neste trabalho, possuindo fórmula geral $[\text{Au}(\text{IMes})\text{L}]$, frente a esse tipo específico de proteína, foi

conduzido um ensaio com RMN ^1H quantitativo utilizando, o N-acetil-L-cisteína (NAC), um aminoácido derivado da cisteína, utilizando dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6) como solvente. A partir desse ensaio é possível aferir a reação de troca de ligantes na esfera de coordenação do ouro, na posição trans ao ligante IMes, sendo ocupada pelo ligante NAC desprotonado, conforme ilustrado no Esquema 4.



Esquema 4. Reação de substituição em complexos do tipo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{L})]$ com N-acetil-L-cisteína, sendo $\text{L} = \text{Cl}, \text{Stzn}, \text{Sbtz}, \text{Spym}, 2\text{-tu}$.

A estrutura da molécula de NAC possui um grupo metila identificado por um singlete intenso no espectro de RMN de ^1H , ao utilizar DMSO-d_6 como solvente, esse sinal apresenta um valor de deslocamento químico de 1,875 ppm. Quando essa molécula reage com complexos de fórmula $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{L})]$, ocorre uma modificação no ambiente químico dos átomos de hidrogênio desse grupo metila e o respectivo singlete é observado com um deslocamento químico menor em 1,767 ppm.

Os valores das áreas destes sinais foram utilizados como indicadores neste experimento, com a finalidade de comparação de reatividade dos diferentes complexos utilizados. Considerando que a quantidade de NAC, livre e coordenada, se mantém constante durante todo experimento, a porcentagem (%) de NAC coordenado foi calculada através da seguinte equação:

$$\% \text{ de NAC coord} = \frac{\text{NAC}_C}{(\text{NAC}_L + \text{NAC}_C)} \times 100\%$$

onde NAC_C representa o valor da área do sinal da espécie coordenada ao metal e NAC_L o valor da área referente à espécie livre. Os dados obtidos são apresentados na Figura 36.

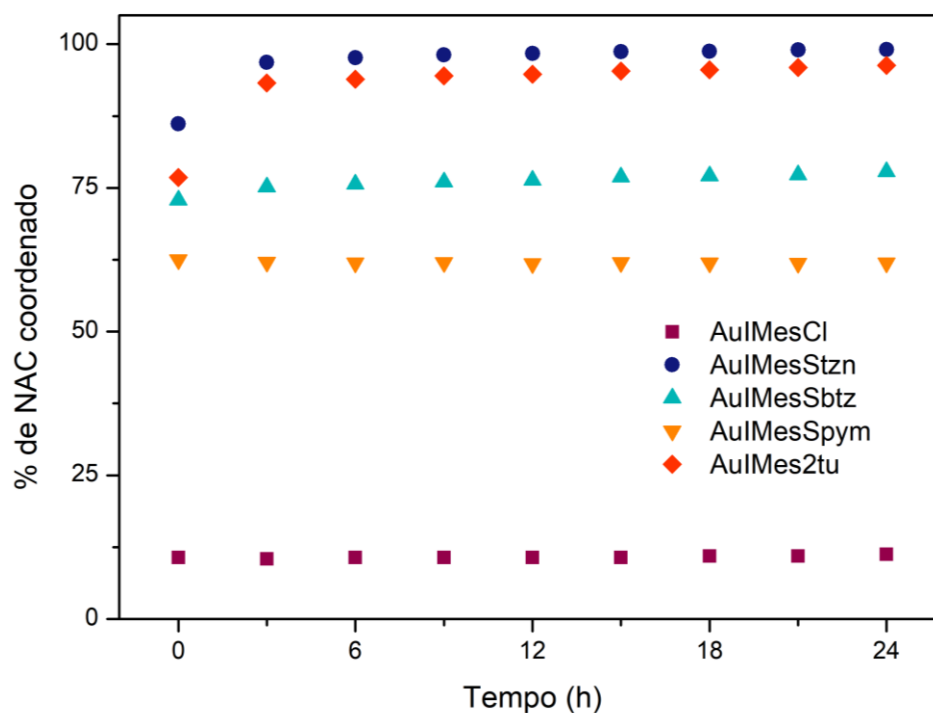


Figura 36. Gráfico com porcentagem de NAC coordenado ao longo do tempo da reação da interação de complexos diferentes complexos do tipo $[\text{Au}(\text{IMes})(\text{L})]$ com N-acetil-L-cisteína.

O composto AuIMesStzn demonstrou ser o mais favorável à reação de troca com NAC, seguido pelo AuIMes2tu, AuIMesSbtz e por fim, AuIMesSpym. Os complexos com ligantes tiolatos alcançaram valores de NAC coordenado muito maiores que o observado para o complexo precursor AuIMesCl. A reação de troca tende a alcançar o equilíbrio após 3 h para estes complexos, com exceção do complexo AuIMesSpym que atinge o equilíbrio em menos de 5 minutos. A alta quantidade do produto resultante da troca sugere que as reações de troca com NAC envolvidas nesse ensaio são determinadas por parâmetros termodinâmicos.

A reatividade superior dos carbenos de Au(I) com ligantes tiolatos em comparação ao carbeno de ouro(I) com cloreto podem ser reproduzidas em meio biológico, ao interagir com biomoléculas que possuam esses resíduos. Como consequência, os complexos contendo ligantes tiolatos podem demonstrar uma maior citotoxicidade para parasitas que seu precursor AuIMesCl e uma menor seletividade em relação às células hospedeiras.

Apesar da ligação Au–S ser bem estável e proporcionar estabilidade ao íon ouro(I) no complexo metálico, reações com troca de ligantes tiolatos na esfera de coordenação desse metal são observadas a partir de estudos de metabolização da auranofina^{68,141}. A primeira etapa da metabolização desse metalofármaco ocorre pela reação com um resíduo de cisteína na sua forma reduzida (–SH) presente na proteína de albumina sérica. Como resultado, a albumina se liga ao

ouro e substitui o ligante de tioglicose acetilado, que é convertido para sua forma tiol. Essa alta afinidade do ouro(I) com a albumina sérica é correlacionada com os valores de pK_{SH} (do grupo tiol) dos ligantes envolvidos. O pK_{SH} do resíduo livre de cisteína ($pK_{SH} \sim 5,0$) é menor do que valor apresentado para a tioglicose acetilada ($pK_{SH} 8,5$), indicando que quanto menor o pK_{SH} do ligante, mais forte será a interação Au–S nesses complexos¹⁴².

Shaw *et al.* ao analisar troca de ligantes tiolato de auranofina e análogos com outras proteínas com cisteína reduzida, destacou que essa tendência da correlação de substituição com o valores de pK_{SH} se aplica apenas a tióis alifáticos, pois em tióis que possibilitam o tautomerismo tiol-tioacetona ocorre um efeito competitivo¹⁴³. Esse tautomerismo tiol-tioacetona ocorre em todos os tióis empregados na síntese dos complexos de ouro nesse trabalho, devido a presença do átomo de nitrogênio no anel (Figura 37). Os espectros de RMN 1H desses compostos indicam a forma tioacetona quando dissolvido em DMSO- d_6 , apresentando singletos largos e altos valores de deslocamento químico característicos de grupos –NH.

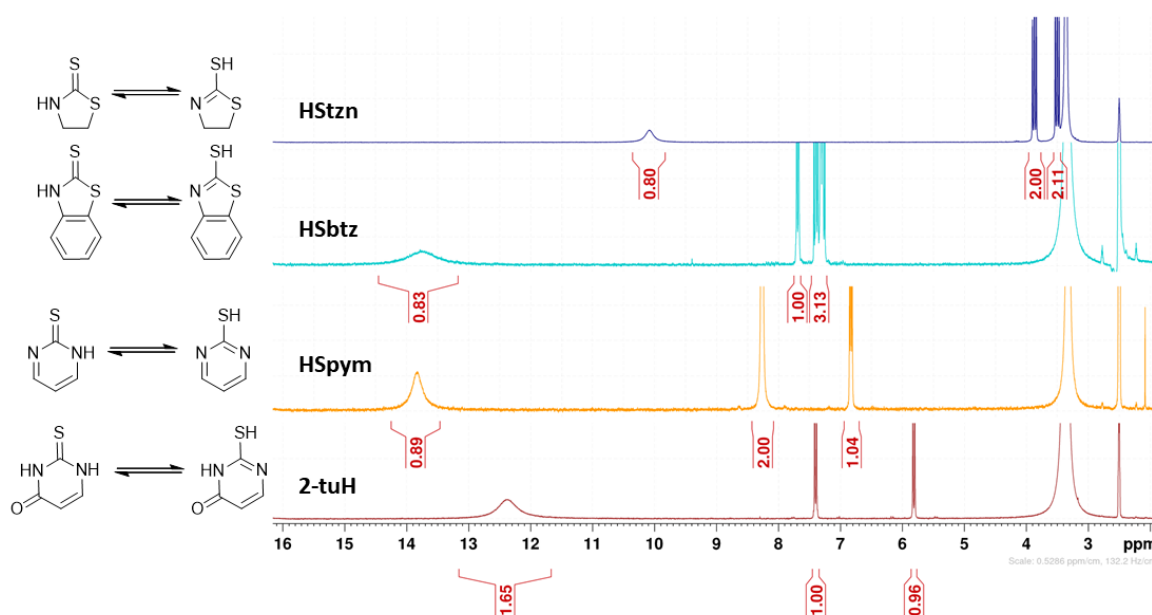


Figura 37. Estruturas tautoméricas dos tióis HStzn, HSbtz, HSpym e 2-tuH e respectivos espectros de RMN de 1H em DMSO- d_6 a 250 MHz.

A ordem da taxa de troca com NAC apresentada pelos complexos de ouro é analisada pela estabilidade das bases conjugadas, que refletem na acidez dos compostos. Ou seja, quanto mais estável for a base conjugada, mais ácida é a espécie. Fatores como efeito indutivo exercido por átomos eletronegativos na estrutura e aromaticidade, favorecem a estabilização da base conjugada e resultam em espécies mais ácidas. O ligante tiolato Spym, presente no complexo

AuIMesSpym, que possui átomos mais eletronegativos com dois átomos de nitrogênio e aromaticidade, seria a base conjugada mais estável dentre os ligantes aqui considerados, sendo então menos propenso a troca de ligantes tiolato. E o complexo com o ligante Stzn, que possui átomos menos eletronegativos e um anel não aromático é mais suscetível a essa reação de troca. Essa lógica pode ser estendida para o complexo AuIMesCl, ao considerar o ligante cloreto como a base conjugada ainda mais estável que gera um ácido forte, o que justificaria sua menor taxa de troca com NAC.

Como os ligantes protonado HL (Esquema 4), resultantes da troca com NAC são observados na forma tiocetona nos espectros de RMN de ^1H em DMSO- d_6 , é possível que a basicidade associada ao átomo de nitrogênio do que do átomo de enxofre presentes nas estruturas desses ligantes seja mais influente nessa troca com NAC. Portanto a ordem observada no experimento de interação com NAC por RMN não se correlaciona com a ordem de força de doação dos ligantes tiolatos discutida anteriormente.

5.6 Estudos biológicos dos NHCs de ouro

5.6.1 Avaliação da atividade antileishmania

Os resultados dos valores das concentrações efetivas para inibir 50 % do crescimento das culturas parasitárias (EC_{50}) da forma promastigotas de *L. amazonensis* e das concentrações citotóxicas para 50 % das culturas (CC_{50}) de células BMDM dos compostos AuIMesStzn e AuIMes2tu estão representados na Tabela 10. Devido a problemas de solubilidade não foi possível realizar estes ensaios para os compostos AuIMesSbtz e AuIMesSpym. Os valores de EC_{50} dos complexos com ligantes tiolato (AuIMesStzn e AuIMes2tu) são muito próximos do valor obtido para seu precursor (AuIMesCl)⁸³. O que indica que para este ensaio a substituição do cloreto na estrutura não altera muita a atividade do íon ouro, entretanto este estudo envolve apenas dois compostos com diferentes ligantes.

Os complexos AuIMesStzn e AuIMes2tu apresentaram valores de CC_{50} iguais a 10,3 e 11,3 μM , respectivamente. Ao analisar esses valores de CC_{50} em relação ao demonstrado pelo precursor⁸³ (Tabela 10), nota-se que os complexos com ligantes tiolatos são mais citotóxicos para BMDM do que o complexo com ligante cloreto, demonstrando uma diminuição da seletividade dos complexos de ouro por esta substituição de ligantes. Esses dados refletem a tendência observada no ensaio com NAC, de maior afinidade dos complexos AuIMesStz e AuIMes2tu por resíduos de cisteína em relação ao AuIMesCl, e podem indicar que esta

citotoxicidade esteja relacionada à inibição de proteínas com resíduos de cisteína reduzida que são essenciais para as células hospedeiras.

Tabela 10. Valores de EC₅₀ com a forma promastigota de *L. amazonensis*, CC₅₀ com células BMDM e índice de seletividade (SI) dos compostos de ouro.

Composto	<i>L. amazonensis</i>	Macrófagos derivados de	Índice de seletividade (SI)
	EC ₅₀ (μM)	medula óssea (BMDM) CC ₅₀ (μM)	
AuIMesStzn	1,93 ± 0,09	10,3	5,3
AuIMes2tu	2,03 ± 0,21	11,3	5,6
AuIMesCl ⁸³	1,57 ± 0,41	21,81 ± 1,07	13,9

Os compostos AuIMesStzn e AuIMes2tu foram empregados em experimentos para avaliar sua capacidade de reduzir a taxa de infecção e a carga parasitária em células BMDM infectadas por *L. amazonensis*. Os resultados, apresentados na Figura 38, demonstraram que o composto AuIMesStzn não promoveu uma diminuição estatisticamente significativa na taxa de infecção e carga parasitária dos macrófagos, apesar de apresentar o um baixo valor de EC₅₀ no ensaio com a forma promastigota da leishmania.

No entanto, o composto AuIMes2tu exibiu a capacidade de reduzir a taxa de infecção apenas na concentração mais elevada testada, de 5 μM (Figura 35A), quando comparado ao grupo controle não tratado. No que diz respeito à carga parasitária, observou-se que o composto AuIMes2tu, nas concentrações de 1,5 μM e 3 μM, foi capaz de reduzir as formas amastigotas de Leishmania em 16,4 % e 23 %, respectivamente, para cada 100 macrófagos. Na concentração mais elevada do composto (5 μM), a redução da carga parasitária foi de aproximadamente 30%.

No processo de infecção do macrófago pela Leishmania, a forma promastigota do parasita é fagocitada pelo macrófago, desencadeando a formação de vacúolos. Nesse ambiente intracelular, ocorre a diferenciação para a forma amastigota e a subsequente replicação do parasita⁷¹. Para que o complexo exerça sua atividade sobre os parasitas no contexto do macrófago infectado, é crucial que o complexo ultrapasse a membrana celular do macrófago, penetre no vacúolo e, por fim, interaja com o parasita.

A disparidade na atividade antileishmania dos complexos AuIMesStzn e AuIMes2tu nos ensaios com promastigotas em relação ao ensaio de infecção pode ser atribuída à significativa afinidade desses complexos por grupos tióis, conforme discutido anteriormente. O que sugere uma possibilidade de inativação desses complexos por proteínas intracelulares antes

de adentrarem nos vacúolos, impedindo a interação desejada com os parasitas. O composto AuIMesStzn possui maior afinidade por esses grupos e provavelmente deve ser inativado antes de alcançar o alvo. Em contraste, o composto AuIMes2tu, com afinidade mais moderada, consegue atingir o alvo em quantidade suficiente para exercer uma atividade reduzida no parasita.

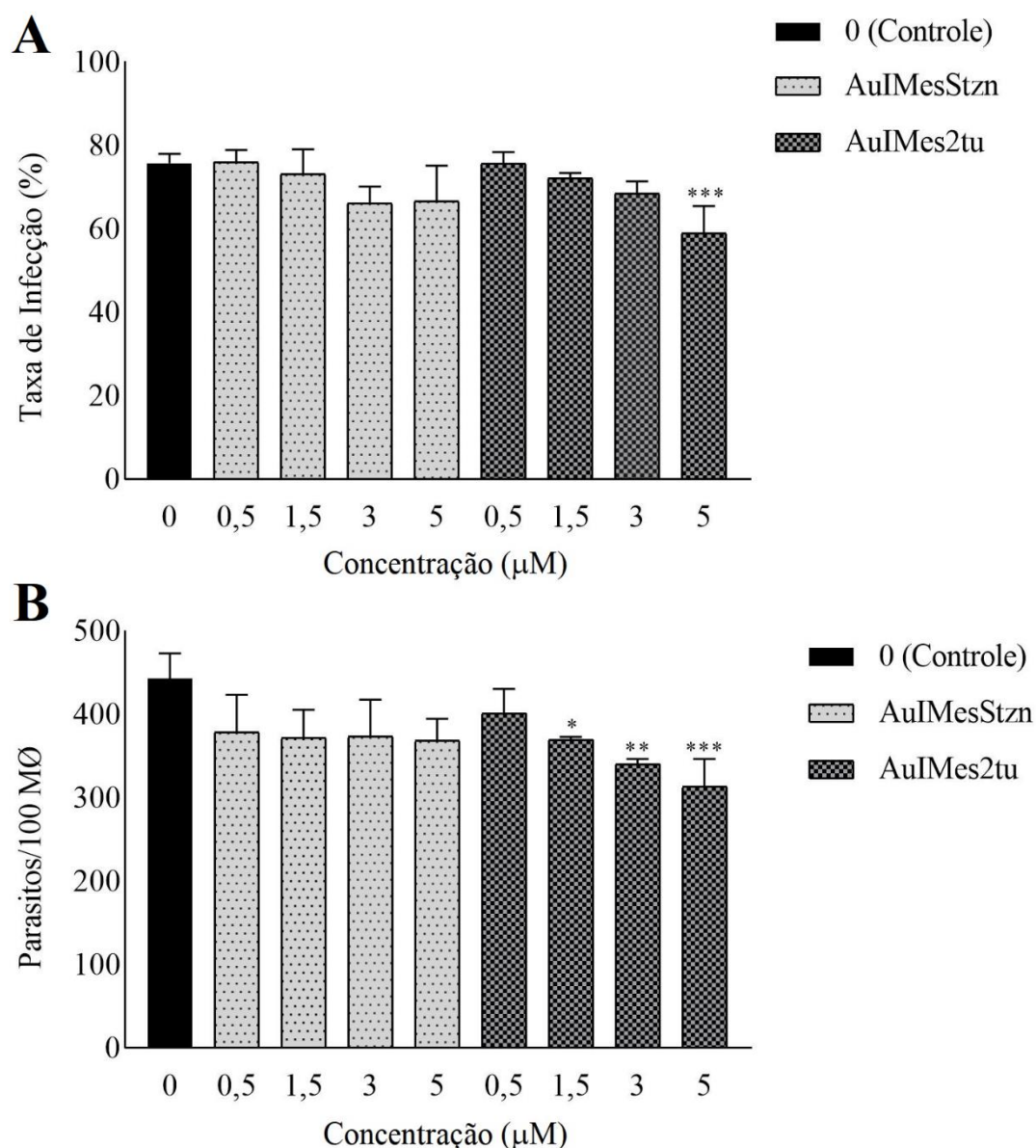


Figura 38. (A) Taxa de infecção e (B) carga parasitária de células BMDM infectadas com promastigotas de *L. amazonensis*, incubadas com os compostos AuIMesStzn e AuIMes2tu nas concentrações de 0,5; 1,5; 3 e 5 µM, e controle não tratado. Os resultados apresentados são representativos de dois ensaios independentes realizados em triplicata. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

5.6.2 Viabilidade celular em células Vero-E6

Para a realização dos ensaios de inibição da replicação viral dos complexos de ouro frente a ZIKV, MAYV e VSV-eGFP-SARS-CoV-2, primeiramente foi executado uma avaliação da citotoxicidade desses compostos nas células hospedeiras, para então utilizar os valores da maior concentração não citotóxica nas etapas de infecção. Com essa finalidade, células Vero-E6 foram tratadas com cada composto nas concentrações de 50, 10 e 2 μM .

Os resultados obtidos pelo ensaio MTT (Tabela 11) mostraram uma toxicidade significativa de todos os complexos de ouro na concentração mais alta de 50 μM . Entretanto, o complexo AuIMesCl apresentou 86,8 % de viabilidade celular a 10 μM , enquanto os compostos AuIMesStzn, AuIMesSbtz, AuIMesSpym e AuIMes2tu foram viáveis a 2 μM com valores equivalentes a 99,0 %, 92,0 %, 104,0 % e 96,0 % respectivamente. Portanto, essas concentrações foram utilizadas nos ensaios de atividade antiviral.

Tabela 11. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6.

Composto	Viabilidade celular (%)		
	50 μM	10 μM	2 μM
AuIMesSbtz	14,0	16,0	99,0
AuIMesStzn	13,9	20,2	92,0
AuIMesSpym	15,6	15,0	104,0
AuIMes2tu	12,7	29,2	96,0
AuIMesCl	25,2	86,8	94,2

Ao observar os dados descritos acima, percebe-se um maior efeito citotóxico dos complexos de ouro com ligantes tiolatos em relação ao complexo de ouro com ligante cloreto, assim como observado nos ensaios com células BMDM, e pode indicar que a dimensão da afinidade desses complexos de ouro com grupos tióis é muito relevante no efeito de citotoxicidade em células hospedeiras.

5.6.3 Atividade anti-ZIKV

Os resultados de viabilidade celular e taxa de infecção por ZIKV obtidos nos ensaios estão destacados na Tabela 12 e Figura 39. Os dados apontam que os compostos AuIMesCl a uma concentração de 10 μM e os compostos AuIMesStzn, AuIMesSbtz, AuIMesSpym e AuIMes2tu a 2 μM demonstraram uma notável capacidade de inibir a replicação do ZIKV, alcançando taxas de inibição de 70,8 %, 88,3 %, 95,5 %, 55,3 %, 93,8 %, respectivamente. Os

complexos de ouro com ligantes tiolatos exibiram valores mais elevados de inibição em uma concentração cinco vezes menor que seu precursor, com exceção do composto AuIMesSpym.

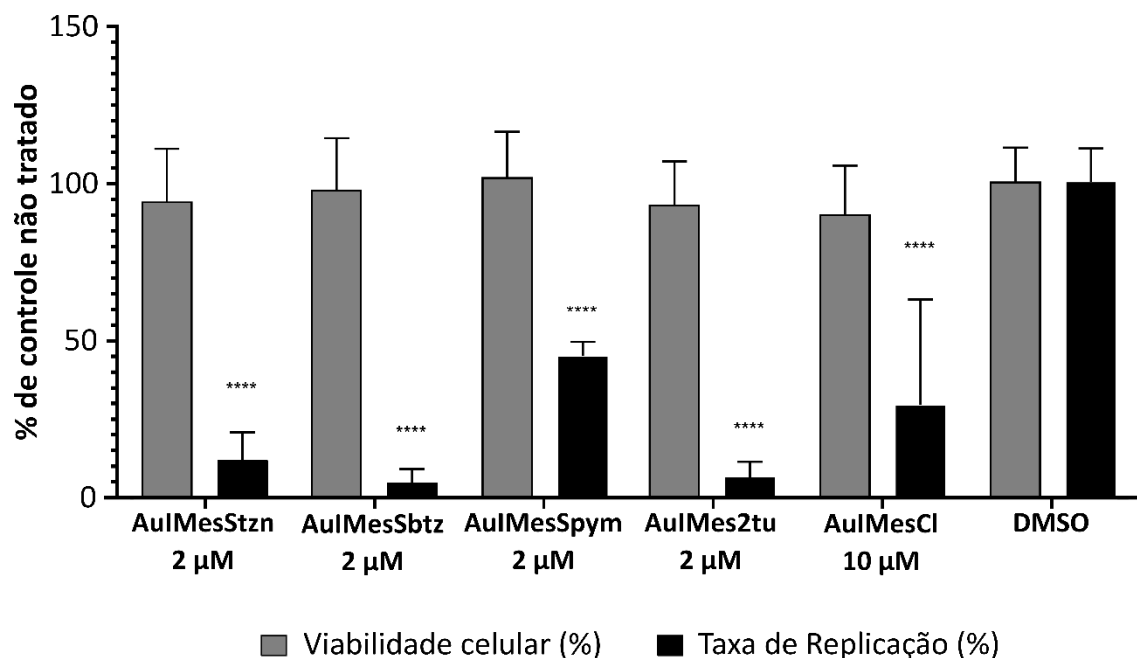


Figura 39. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do ZIKV. DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Tabela 12. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade de ZIKV.

Composto (concentração)	Viabilidade celular (%)	Infecção de ZIKV (%)	Inibição da replicação de ZIKV (%)
AuIMesStzn (2 μM)	93,9	11,7	88,3
AuIMesSbtz (2 μM)	97,8	4,5	95,5
AuIMesSpym (2 μM)	101,5	44,7	55,3
AuIMes2tu (2 μM)	92,7	6,2	93,8
AuIMesCl (10 μM)	89,7	29,1	70,9

5.6.4 Atividade anti-MAYV

Os resultados obtidos dos ensaios de atividade anti-MAYV dos complexos de ouro (Figura 40 e Tabela 13) demonstraram que os compostos inibiram a replicação de MAYV-*nanoluc* em $> 70\%$, sendo que o AuIMesCl a uma concentração de $10\ \mu\text{M}$ diminuiu a replicação viral em $76,2\%$, enquanto os complexos AuIMesStzn, AuIMesSbtz, AuIMesSpym e

AuIMes2tu a 2 μ M inibiram a replicação viral em 83,6 %, 80,9 %, 89,6 % e 84,1 %, respectivamente. Os complexos de ouro com ligantes tiolatos foram mais efetivos na diminuição da replicação viral em concentrações bem mais baixas que seu precursor AuIMesCl.

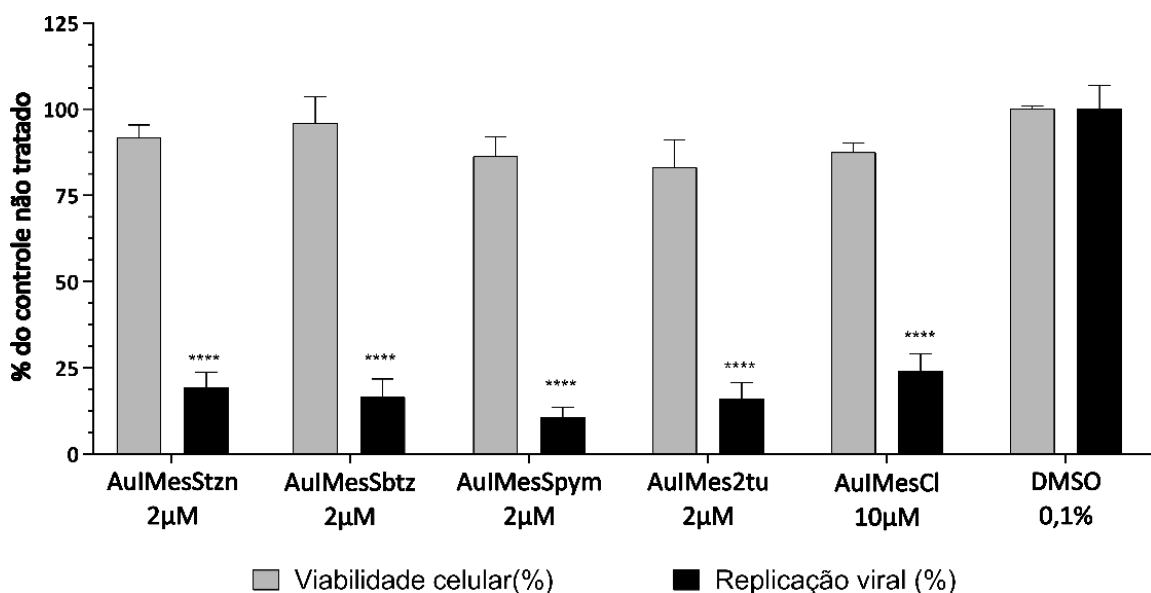


Figura 40. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do MAYV-*nanoluc*. DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$.

Tabela 13. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade celular em Vero-E6 e na infecção pelo MAYV-*nanoluc*.

Composto	Concentração (μ M)	Viabilidade Celular (%)	Inibição da replicação do MAYV (%)
AuIMesStzn	2	91,7	80,9
AuIMesSbtz	2	95,8	83,6
AuIMesSpym	2	86,2	89,6
AuIMes2tu	2	83,0	84,1
AuIMesCl	10	87,4	76,2

5.6.5 Atividade anti-VSV-eGFP-SARS-CoV-2

A avaliação da atividade antiviral dos compostos de ouro testados frente ao VSV-eGFP-SARS-CoV-2, mostram que o composto AuIMesSpym na concentração de 2 μ M inibiu 75,93 % da infecção viral do VSV-eGFP-SARS-CoV-2. Enquanto o AuIMesStzn, AuIMesSbtz e o AuIMes2tu também a 2 μ M, inibiram 69,76 %, 54,96 % e 52,15 % da infecção viral, respectivamente. Já o composto AuIMesCl, apresentou viabilidade celular a 10 μ M e

inibiu em 59,53 % a entrada do vírus na célula (Figura 41). Neste ensaio, os complexos de ouro com ligantes tiolatos também foram mais efetivos que seu precursor, assim como nos testes de avaliação antiviral com ZIKV e MAYV.

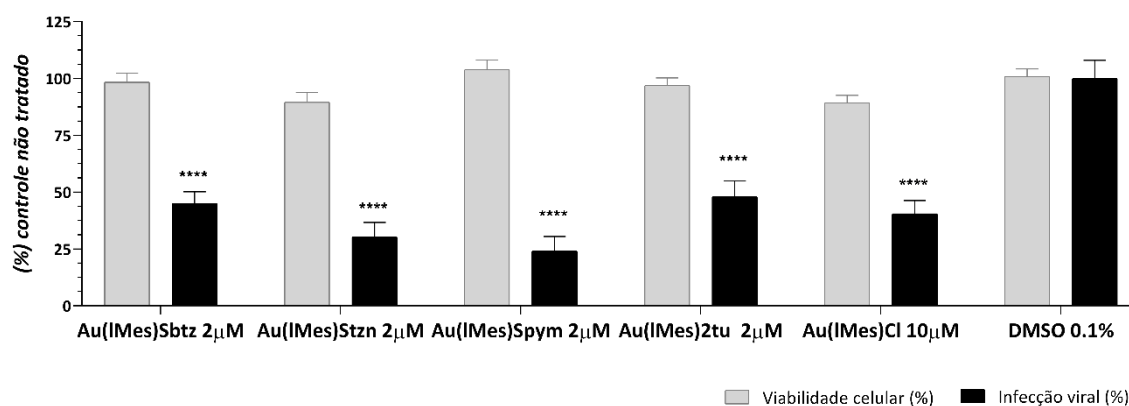


Figura 41. Efeito dos complexos de ouro na viabilidade de células Vero-E6 e infectividade do VSV-eGFP-SARS-CoV-2. DMSO foi utilizado como controle não tratado. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$.

5.6.6 Avaliação das atividades antivirais

De modo geral, a capacidade de inibição de replicação viral do ZIKV, MAYV e VSV-eGFP-SARS-CoV-2 exercida pelos complexos de ouro com ligantes tiolatos são em sua maioria mais efetivas em uma concentração cinco vezes menor que a apresentada pelo precursor AuIMesCl. Em relação ao ZIKV o complexo mais ativo foi o AuIMesSbtz, enquanto para MAYV e VSV-eGFP-SARS-CoV-2 o complexo mais ativo foi o AuIMesSpym. Os altos valores de inibição apresentados por esses complexos em diferentes tipos de vírus denotam a amplitude e o potencial da atividade antiviral dos complexos de ouro. Os altos valores de inibição contra o pseudovírus VSV-eGFP-SARS-CoV-2, indica que os complexos de ouro são bons candidatos a estudos com SARS-CoV-2.

Essa discrepância na atividade pode ser atrelada a uma maior afinidade desses complexos por grupos tióis, que foi apontada no ensaio de interação com NAC, e sinaliza que possivelmente o principal mecanismo de ação desses compostos envolve a inibição de proteínas contendo resíduos de cisteína reduzida que estão envolvidas no processo de replicação viral. Porém, a ordem dessa afinidade dentro do grupo dos complexos com ligantes tiolatos não foi refletida na efetividade das atividades antivirais. E indica que os grupos presentes nos ligantes tiolatos influenciam a reatividade dos complexos, interferindo na permeação dos complexos

aos sítios ativos de proteínas por impedimento estérico ou pelo caráter de lipofilicidade, por exemplo.

No entanto, é importante frisar que outras propriedades, como lipofilicidade, podem também desempenhar um papel influente nessas atividades e devem ser investigadas. Além da necessidade de estudos mais aprofundados para compreender os mecanismos e os alvos de ação desses compostos em diferentes etapas de infecção por estes vírus.

6 Considerações finais

A base de Schiff da sulfadoxina com salicilaldeído (SFX-SL) e seu respectivo complexo de prata(I) (AgSFX-SL) foram sintetizados e caracterizados. As análises e os estudos computacionais indicam que a base de Schiff se coordena ao íon Ag(I) por meio dos átomos de oxigênio e nitrogênio desprotonado do grupo sulfonamida, assim como pelo átomo de nitrogênio do anel de pirimidina, formando uma estrutura dimérica. Tanto o complexo AgSFX anteriormente descrito na literatura quanto o novo complexo AgSFX-SL demonstraram valores de CIM variando de 2,8 a 59,9 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para as cepas bacterianas selecionadas. Além disso, os complexos também apresentaram atividade contra *C. albicans*, com valores de concentração na faixa de concentração micromolar. A base de Schiff SFX-SL destacou-se pela alta taxa de inibição da replicação do CHIKV, enfatizando a influência da modificação estrutural na atividade biológica em relação ao seu precursor, SFX. A alta atividade anti-CHIKV dos complexos AgSFX e AgSFX-SL em baixas concentrações evidenciam que o íon prata(I) exerce grande influência na atividade antiviral desses compostos. Para uma melhor compreensão dessa relação estrutura e atividade, é necessária a realização de estudos mais detalhados que envolvam diferentes estágios da infecção viral.

Em relação aos compostos de ouro, os complexos AuIMeSpym AuIMeSbtz, AuIMeStzn e AuIMe2tu foram sintetizados e caracterizados, os quatro complexos apresentaram uma geometria linear. Os ensaios de interação com N-acetil-L-cisteína por RMN de ^1H demonstraram que os NHCs de ouro com ligantes tiolatos são altamente reativos com grupos tióis, indicando uma maior reatividade com proteínas ricas em resíduos de cisteína disponíveis. Essa afinidade parece estar correlacionada com a acidez do tiol respectivo ao ligante tiolato. Quanto mais ácido o tiol, menos favorável é a substituição na esfera de coordenação. Os compostos AuIMeStzn e AuIMe2tu apresentaram atividade contra a forma promastigota da *Leishmania* com valores de IC_{50} , 1,93 e 2,03 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, nos ensaios com macrófagos infectados, não houve diminuição significativa na infecção possivelmente pela desativação precoce destes complexos.

Na avaliação da atividade antiviral com ZIKV, MAYV e VSV-eGFP-SARS-CoV-2 foi observado que a substituição do cloreto no complexo AuIMeCl por ligantes tiolato aumentou significativamente a capacidade de inibição desses complexos com amplo espectro de ação, exercendo atividade em três diferentes tipos de vírus. Esse aumento da atividade antiviral pode

ser atribuído a maior afinidade desses complexos por grupos tióis e sugere uma atividade pela interação desses complexos com proteínas ricas em cisteína presentes no processo de replicação viral. Esses complexos de ouro com ligantes tiolatos demonstraram ser candidatos promissores para estudos mais avançados de inibição de replicação desses vírus, onde serão exploradas as funções desses compostos nas diferentes etapas de infecção e a investigação dos alvos biológicos específicos para uma compreensão abrangente dos mecanismos de ação.

Os estudos realizados neste trabalho demonstraram que a substituição do ligante cloreto do complexo AuIMesCl por ligantes tiolatos, muda drasticamente o perfil de reatividade e as propriedades biológicas do carbeno de ouro. Exemplificando a capacidade de modificação da reatividade do centro metálico pelas mudanças realizadas na esfera de coordenação do complexo, assim como o processo de desenvolvimento e aprimoramento de complexos metálicos como agente terapêuticos.

7 Referências

- (1) Hotez, P. J.; Aksoy, S.; Brindley, P. J.; Kamhawi, S. What Constitutes a Neglected Tropical Disease? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2020**, *14* (1). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008001>.
- (2) Ferreira, L. L. G.; Moraes, J. De; Andricopulo, A. D. Approaches to Advance Drug Discovery for Neglected Tropical Diseases. *Drug Discov. Today* **2022**, *27* (8), 2278–2287. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.04.004>.
- (3) Feasey, N.; Wansbrough-Jones, M.; Mabey, D. C. W.; Solomon, A. W. Neglected Tropical Diseases. *Br. Med. Bull.* **2010**, *93* (1), 179–200. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldp046>.
- (4) Lindoso, J. A. L.; Lindoso, A. A. B. P. NEGLECTED TROPICAL DISEASES IN BRAZIL. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **2009**, *51* (5), 247–253. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652009000500003>.
- (5) Fonseca, B. de P.; Albuquerque, P. C.; Zicker, F. Neglected Tropical Diseases in Brazil: Lack of Correlation between Disease Burden, Research Funding and Output. *Trop. Med. & Int. Heal.* **2020**, *25* (11), 1373–1384. <https://doi.org/10.1111/tmi.13478>.
- (6) Burt, F. J.; Chen, W.; Miner, J. J.; Lenschow, D. J.; Merits, A.; Schnettler, E.; Kohl, A.; Rudd, P. A.; Taylor, A.; Herrero, L. J.; Zaid, A.; Ng, L. F. P.; Mahalingam, S. Chikungunya Virus: An Update on the Biology and Pathogenesis of This Emerging Pathogen. *Lancet Infect. Dis.* **2017**, *17* (4), e107–e117. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30385-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30385-1).
- (7) van Aalst, M.; Nelen, C. M.; Goorhuis, A.; Stijns, C.; Grobusch, M. P. Long-Term Sequelae of Chikungunya Virus Disease: A Systematic Review. *Travel Med. Infect. Dis.* **2017**, *15*, 8–22. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2017.01.004>.
- (8) Lima Neto, A. S.; Sousa, G. S.; Nascimento, O. J.; Castro, M. C. Chikungunya-Attributable Deaths: A Neglected Outcome of a Neglected Disease. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2019**, *13* (9), 10–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007575>.
- (9) Puntasecca, C. J.; King, C. H.; LaBeaud, A. D. Measuring the Global Burden of Chikungunya and Zika Viruses: A Systematic Review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2021**, *15* (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009055>.
- (10) Schneider, M.; Narciso-Abraham, M.; Hadl, S.; McMahon, R.; Toepfer, S.; Fuchs, U.; Hochreiter, R.; Bitzer, A.; Kosulin, K.; Larcher-Senn, J.; Mader, R.; Dubischar, K.; Zoihsel, O.; Jaramillo, J. C.; Eder-Lingelbach, S.; Buerger, V.; Wressnigg, N. Safety and Immunogenicity of a Single-Shot Live-Attenuated Chikungunya Vaccine: A Double-Blind, Multicentre, Randomised, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet (London, England)* **2023**, *401* (10394), 2138–2147. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00641-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00641-4).
- (11) Rougeron, V.; Sam, I. C.; Caron, M.; Nkoghe, D.; Leroy, E.; Roques, P. Chikungunya, a Paradigm of Neglected Tropical Disease That Emerged to Be a New Health Global Risk. *J. Clin. Virol.* **2015**, *64*, 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.032>.
- (12) Hotez, P. J.; Murray, K. O. Dengue, West Nile Virus, Chikungunya, Zika—and Now Mayaro? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11* (8), e0005462. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005462>.
- (13) Campos, D.; Navarro, S.; Llamas-González, Y. Y.; Sugasti, M.; González-Santamaría, J. Broad Antiviral Activity of Ginkgolic Acid against Chikungunya, Mayaro, Una, and Zika Viruses. *Viruses* **2020**, *12* (4), 449. <https://doi.org/10.3390/v12040449>.

- (14) Schuler-Faccini, L.; Ribeiro, E. M.; Feitosa, I. M. L.; Horovitz, D. D. G.; Cavalcanti, D. P.; Pessoa, A.; Doriqui, M. J. R.; Neri, J. I.; Neto, J. M. de P.; Wanderley, H. Y. C.; Cernach, M.; El-Husny, A. S.; Pone, M. V. S.; Serao, C. L. C.; Sanseverino, M. T. V. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly — Brazil, 2015. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **2016**, *65* (3), 1–4. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6503e2er>.
- (15) Musso, D.; Gubler, D. J. Zika Virus. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29* (3), 487–524. <https://doi.org/10.1128/cmr.00072-15>.
- (16) Santos, F. M.; Dias, R. S.; de Souza Fernandes, L.; da Silva, C. C.; de Paula, S. O. Mayaro Virus Infection: Clinical Features and Global Threat. *Curr. Treat. Options Infect. Dis.* **2020**, *12* (4), 387–397. <https://doi.org/10.1007/s40506-020-00240-7>.
- (17) Abd El-Lateef, H. M. A.; El-Dabea, T.; Khalaf, M. M.; Abu-Dief, A. M. Development of Metal Complexes for Treatment of Coronaviruses. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23* (12), 6418. <https://doi.org/10.3390/ijms23126418>.
- (18) Labach, D. S.; Kohio, H. P.; Tse, E. A.; Paparisto, E.; Friesen, N. J.; Pankovich, J.; Bazett, M.; Barr, S. D. The Metallodrug BOLD-100 Is a Potent Inhibitor of SARS-CoV-2 Replication and Has Broad-Acting Antiviral Activity. *Biomolecules* **2023**, *13* (7), 1095. <https://doi.org/10.3390/biom13071095>.
- (19) Senevirathne, T. H.; Wekking, D.; Swain, J. W. R.; Solinas, C.; De Silva, P. COVID-19: From Emerging Variants to Vaccination. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2023**. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2023.11.005>.
- (20) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *No Title*. Medicamentos aprovados para tratamento da Covid-19. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos> (accessed 2023-12-12).
- (21) Karges, J.; Cohen, S. M. Metal Complexes as Antiviral Agents for SARS-CoV-2. *ChemBioChem* **2021**, *22* (16), 2600–2607. <https://doi.org/10.1002/cbic.202100186>.
- (22) Mehrotra, R.; Shukla, S. N.; Gaur, P. Metallo-Antiviral Aspirants: Answer to the Upcoming Virus Outbreak. *Eur. J. Med. Chem. Reports* **2023**, *8* (July 2022), 100104. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2023.100104>.
- (23) Mansueto, P.; Seidita, A.; Vitale, G.; Cascio, A. Leishmaniasis in Travelers: A Literature Review. *Travel Med. Infect. Dis.* **2014**, *12* (6), 563–581. <https://doi.org/10.1016/J.TMAID.2014.09.007>.
- (24) World Health Organization. *Global health observatory*. <https://www.who.int/data/gho> (accessed 2022-05-30).
- (25) Ferreira, T. N.; Brazil, R. P.; McDowell, M. A.; Cunha-Júnior, E. F.; Costa, P. R. R.; Netto, C. D.; Santos, E. C. T.; Genta, F. A. Effects of Anti- Leishmania Compounds in the Behavior of the Sand Fly Vector Lutzomyia Longipalpis . *Pest Manag. Sci.* **2022**, No. May. <https://doi.org/10.1002/ps.6900>.
- (26) Rabello, A.; Orsini, M.; Disch, J. Leishmania /HIV Co-Infection in Brazil: An Appraisal. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2003**, *97* (sup1), 17–28. <https://doi.org/10.1179/000349803225002507>.
- (27) Molina, R.; Gradoni, L.; Alvar, J. HIV and the Transmission of Leishmania. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2003**, *97* (sup1), 29–45. <https://doi.org/10.1179/000349803225002516>.
- (28) Tahghighi, A. Importance of Metal Complexes for Development of Potential Leishmanicidal Agents. **2014**. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2014.08.007>.
- (29) Mjos, K. D.; Orvig, C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (8), 4540–4563. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>.
- (30) Lucaciu, R. L.; Hangan, A. C.; Sevastre, B.; Oprean, L. S. Metallo-Drugs in Cancer Therapy: Past, Present and Future. *Molecules* **2022**, *27* (19). <https://doi.org/10.3390/molecules27196485>.

- (31) Anthony, E. J.; Bolitho, E. M.; Bridgewater, H. E.; Carter, O. W. L.; Donnelly, J. M.; Imberti, C.; Lant, E. C.; Lermyte, F.; Needham, R. J.; Palau, M.; Sadler, P. J.; Shi, H.; Wang, F. X.; Zhang, W. Y.; Zhang, Z. Metallodrugs Are Unique: Opportunities and Challenges of Discovery and Development. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (48), 12888–12917. <https://doi.org/10.1039/d0sc04082g>.
- (32) Wang, X.; Wang, X.; Jin, S.; Muhammad, N.; Guo, Z. Stimuli-Responsive Therapeutic Metallodrugs. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (2), 1138–1192. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00209>.
- (33) Morrison, C. N.; Prosser, K. E.; Stokes, R. W.; Cordes, A.; Metzler-Nolte, N.; Cohen, S. M. Expanding Medicinal Chemistry into 3D Space: Metallofragments as 3D Scaffolds for Fragment-Based Drug Discovery. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (5), 1216–1225. <https://doi.org/10.1039/c9sc05586j>.
- (34) Frei, A.; Zuegg, J.; Elliott, A. G.; Baker, M.; Braese, S.; Brown, C.; Chen, F.; G. Dowson, C.; Dujardin, G.; Jung, N.; King, A. P.; Mansour, A. M.; Massi, M.; Moat, J.; Mohamed, H. A.; Renfrew, A. K.; Rutledge, P. J.; Sadler, P. J.; Todd, M. H.; Willans, C. E.; Wilson, J. J.; Cooper, M. A.; Blaskovich, M. A. T. Metal Complexes as a Promising Source for New Antibiotics. *Chem. Sci.* **2020**, *11* (10), 2627–2639. <https://doi.org/10.1039/c9sc06460e>.
- (35) Murray, C. J.; Ikuta, K. S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Robles Aguilar, G.; Gray, A.; Han, C.; Bisignano, C.; Rao, P.; Wool, E.; Johnson, S. C.; Browne, A. J.; Chipeta, M. G.; Fell, F.; Hackett, S.; Haines-Woodhouse, G.; Kashef Hamadani, B. H.; Kumaran, E. A. P.; McManigal, B.; Agarwal, R.; Akech, S.; Albertson, S.; Amuasi, J.; Andrews, J.; Aravkin, A.; Ashley, E.; Bailey, F.; Baker, S.; Basnyat, B.; Bekker, A.; Bender, R.; Bethou, A.; Bielicki, J.; Boonkasidecha, S.; Bukosia, J.; Carvalho, C.; Castañeda-Orjuela, C.; Chansamouth, V.; Chaurasia, S.; Chiurchiù, S.; Chowdhury, F.; Cook, A. J.; Cooper, B.; Cressey, T. R.; Criollo-Mora, E.; Cunningham, M.; Darboe, S.; Day, N. P. J.; De Luca, M.; Dokova, K.; Dramowski, A.; Dunachie, S. J.; Eckmanns, T.; Eibach, D.; Emami, A.; Feasey, N.; Fisher-Pearson, N.; Forrest, K.; Garrett, D.; Gastmeier, P.; Giref, A. Z.; Greer, R. C.; Gupta, V.; Haller, S.; Haselbeck, A.; Hay, S. I.; Holm, M.; Hopkins, S.; Iregbu, K. C.; Jacobs, J.; Jarovsky, D.; Javanmardi, F.; Khorana, M.; Kissoon, N.; Kobeissi, E.; Kostyaney, T.; Krapp, F.; Krumkamp, R.; Kumar, A.; Kyu, H. H.; Lim, C.; Limmathurotsakul, D.; Loftus, M. J.; Lunn, M.; Ma, J.; Mturi, N.; Munera-Huertas, T.; Musicha, P.; Mussi-Pinhata, M. M.; Nakamura, T.; Nanavati, R.; Nangia, S.; Newton, P.; Ngoun, C.; Novotney, A.; Nwakanma, D.; Obiero, C. W.; Olivas-Martinez, A.; Olliaro, P.; Ooko, E.; Ortiz-Brizuela, E.; Peleg, A. Y.; Perrone, C.; Plakkal, N.; Ponce-de-Leon, A.; Raad, M.; Ramdin, T.; Riddell, A.; Roberts, T.; Robotham, J. V.; Roca, A.; Rudd, K. E.; Russell, N.; Schnall, J.; Scott, J. A. G.; Shivamallappa, M.; Sifuentes-Osornio, J.; Steenkeste, N.; Stewardson, A. J.; Stoeva, T.; Tasak, N.; Thaiprakong, A.; Thwaites, G.; Turner, C.; Turner, P.; van Doorn, H. R.; Velaphi, S.; Vongpradith, A.; Vu, H.; Walsh, T.; Waner, S.; Wangrangsimakul, T.; Wozniak, T.; Zheng, P.; Sartorius, B.; Lopez, A. D.; Stergachis, A.; Moore, C.; Dolecek, C.; Naghavi, M. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *Lancet* **2022**, *399* (10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).
- (36) Medici, S.; Peana, M.; Nurchi, V. M.; Zoroddu, M. A. Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (13), 5923–5943. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01439>.
- (37) Medici, S.; Peana, M.; Crisponi, G.; Nurchi, V. M.; Lachowicz, J. I.; Remelli, M.; Zoroddu, M. A. Silver Coordination Compounds: A New Horizon in Medicine. *Coord. Chem. Rev.* **2016**, 327–328, 349–359. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.05.015>.

- (38) Betts, H. D.; Whitehead, C.; Harris, H. H. Silver in Biology and Medicine: Opportunities for Metallomics Researchers. *Metallomics* **2021**, *13* (1), 1–12. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfaa001>.
- (39) Bormio Nunes, J. H.; Hideki Nakahata, D.; Corbi, P. P.; Ferraz de Paiva, R. E. Beyond Silver Sulfadiazine: A Dive into More than 50 Years of Research and Development on Metal Complexes of Sulfonamides in Medicinal Inorganic Chemistry. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *490* (May), 215228. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215228>.
- (40) Liang, X.; Luan, S.; Yin, Z.; He, M.; He, C.; Yin, L.; Zou, Y.; Yuan, Z.; Li, L.; Song, X.; Lv, C.; Zhang, W. Recent Advances in the Medical Use of Silver Complex. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *157*, 62–80. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.057>.
- (41) De Paiva, R. E. F.; Marçal Neto, A.; Santos, I. A.; Jardim, A. C. G.; Corbi, P. P.; Bergamini, F. R. G. What Is Holding Back the Development of Antiviral Metallodrugs? A Literature Overview and Implications for SARS-CoV-2 Therapeutics and Future Viral Outbreaks. *Dalt. Trans.* **2020**, *49* (45), 16004–16033. <https://doi.org/10.1039/d0dt02478c>.
- (42) Sánchez, O.; González, S.; Higuera-Padilla, Á. R.; León, Y.; Coll, D.; Fernández, M.; Taylor, P.; Urdanibia, I.; Rangel, H. R.; Ortega, J. T.; Castro, W.; Goite, M. C. Remarkable in Vitro Anti-HIV Activity of New Silver(I)- and Gold(I)-N-Heterocyclic Carbene Complexes. Synthesis, DNA Binding and Biological Evaluation. *Polyhedron* **2016**, *110*, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.02.012>.
- (43) Gil-Moles, M.; O’Beirne, C.; Esarev, I. V.; Lippmann, P.; Tacke, M.; Cinatl, J.; Bojkova, D.; Ott, I. Silver N-Heterocyclic Carbene Complexes Are Potent Uncompetitive Inhibitors of the Papain-like Protease with Antiviral Activity against SARS-CoV-2. *RSC Med. Chem.* **2023**, *14* (7). <https://doi.org/10.1039/d3md00067b>.
- (44) Esquezaró, P. G.; Manzano, C. M.; Nakahata, D. H.; Santos, I. A.; Ruiz, U. E. A.; Santiago, M. B.; Silva, N. B. S.; Martins, C. H. G.; Pereira, D. H.; Bergamini, F. R. G.; Jardim, A. C. G.; Corbi, P. P. Synthesis, Spectroscopic Characterization and in Vitro Antibacterial and Antiviral Activities of Novel Silver(I) Complexes with Mafenide and Ethyl-Mafenide. *J. Mol. Struct.* **2021**, *1246*, 131261. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131261>.
- (45) Tacic, A.; Nikolic, V.; Nikolic, L.; Savic, I. Antimicrobial Sulfonamide Drugs. *Adv. Technol.* **2017**, *6* (1), 58–71. <https://doi.org/10.5937/savteh1701058t>.
- (46) Pervaiz, M.; Riaz, A.; Munir, A.; Saeed, Z.; Hussain, S.; Rashid, A.; Younas, U.; Adnan, A. Synthesis and Characterization of Sulfonamide Metal Complexes as Antimicrobial Agents. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1202*, 127284. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127284>.
- (47) Ayoub, M. S.; Soliman, S. M.; Haukka, M.; Harras, M. F.; Menofy, N. G. E.; Ismail, M. M. F. Prodrugs of Sulfacetamide: Synthesis, X-Ray Structure, Hirshfeld Analysis, Antibacterial Assessment, and Docking Studies. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1251*, 132017. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132017>.
- (48) Ovung, A.; Bhattacharyya, J. Sulfonamide Drugs: Structure, Antibacterial Property, Toxicity, and Biophysical Interactions. *Biophys. Rev.* **2021**, *13* (2), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00795-9>.
- (49) Chen, Y. Recent Functionalizations of Primary Sulfonamides. *Synth.* **2016**, *48* (16), 2483–2522. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1562503>.
- (50) Mondal, S.; Mandal, S. M.; Mondal, T. K.; Sinha, C. Spectroscopic Characterization, Antimicrobial Activity, DFT Computation and Docking Studies of Sulfonamide Schiff Bases. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1127*, 557–567. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.08.011>.
- (51) Krátký, M.; Dzurková, M.; Janoušek, J.; Konečná, K.; Trejtnar, F.; Stolaříková, J.;

- Vinšová, J. Sulfadiazine Salicylaldehyde-Based Schiff Bases: Synthesis, Antimicrobial Activity and Cytotoxicity. *Molecules* **2017**, *22* (9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules22091573>.
- (52) Hamad, A.; Chen, Y.; Khan, M. A.; Jamshidi, S.; Saeed, N.; Clifford, M.; Hind, C.; Sutton, J. M.; Rahman, K. M. Schiff Bases of Sulphonamides as a New Class of Antifungal Agent against Multidrug-Resistant *Candida Auris*. *Microbiologyopen* **2021**, *10* (4), 1–8. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1218>.
- (53) Glasser, J. S.; Guymon, C. H.; Mende, K.; Wolf, S. E.; Hospenthal, D. R.; Murray, C. K. Activity of Topical Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant Bacteria Recovered from Burn Patients. *Burns* **2010**, *36* (8), 1172–1184. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2010.05.013>.
- (54) Kublin, J. G.; Dzinjalamala, F. K.; Kamwendo, D. D.; Malkin, E. M.; Cortese, J. F.; Martino, L. M.; Mukadam, R. A. G.; Rogerson, S. J.; Lescano, A. G.; Molyneux, M. E.; Winstanley, P. A.; Chimpeni, P.; Taylor, T. E.; Plowe, C. V. Molecular Markers for Failure of Sulfadoxine-Pyrimethamine and Chlorproguanil-Dapsone Treatment of *Plasmodium Falciparum* Malaria. *J. Infect. Dis.* **2002**, *185* (3), 380–388. <https://doi.org/10.1086/338566>.
- (55) Nzila, A.; Ward, S. A.; Marsh, K.; Sims, P. F. G.; Hyde, J. E. Comparative Folate Metabolism in Humans and Malaria Parasites (Part I): Pointers for Malaria Treatment from Cancer Chemotherapy. *Trends Parasitol.* **2005**, *21* (6), 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2005.04.002>.
- (56) Francis, J. A.; Shalauddin, M.; Ridzwan, N. F. W.; Mohamad, S. B.; Basirun, W. J.; Tayyab, S. Interaction Mechanism of an Antimalarial Drug, Sulfadoxine with Human Serum Albumin. *Spectroscopy Letters*. 2020, pp 391–405. <https://doi.org/10.1080/00387010.2020.1764588>.
- (57) Chellan, P.; Avery, V. M.; Duffy, S.; Triccas, J. A.; Nagalingam, G.; Tam, C.; Cheng, L. W.; Liu, J.; Land, K. M.; Clarkson, G. J.; Romero-Canelón, I.; Sadler, P. J. Organometallic Conjugates of the Drug Sulfadoxine for Combatting Antimicrobial Resistance. *Chem. - A Eur. J.* **2018**, *24* (40), 10078–10090. <https://doi.org/10.1002/chem.201801090>.
- (58) Zanvettor, N. T.; Abbehausen, C.; Lustri, W. R.; Cuin, A.; Masciocchi, N.; Corbi, P. P. Silver Sulfadoxinate: Synthesis, Structural and Spectroscopic Characterizations, and Preliminary Antibacterial Assays in Vitro. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1082*, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.11.004>.
- (59) Nakahata, D. H.; De Paiva, R. E. F.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. Sulfonamide-Containing Copper(II) Complexes: New Insights on Biophysical Interactions and Antibacterial Activities. *New J. Chem.* **2020**, *44* (40), 17236–17244. <https://doi.org/10.1039/d0nj01889a>.
- (60) Bormio Nunes, J. H.; De Paiva, R. E. F.; Cuin, A.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. Silver Complexes with Sulfathiazole and Sulfamethoxazole: Synthesis, Spectroscopic Characterization, Crystal Structure and Antibacterial Assays. *Polyhedron* **2015**, *85*, 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.09.010>.
- (61) Nakahata, D. H.; de Paiva, R. E. F.; Lustri, W. R.; Ribeiro, C. M.; Pavan, F. R.; da Silva, G. G.; Ruiz, A. L. T. G.; de Carvalho, J. E.; Corbi, P. P. Sulfonamide-Containing Copper(II) Metallonucleases: Correlations with in Vitro Antimycobacterial and Antiproliferative Activities. *J. Inorg. Biochem.* **2018**, *187* (July), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.07.011>.
- (62) Nakahata, D. H.; Lustri, W. R.; Cuin, A.; Corbi, P. P. Crystal Structure, Spectroscopic Characterization and Antibacterial Activities of a Silver Complex with Sulfameter. *J. Mol. Struct.* **2016**, *1125*, 609–615. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.07.049>.

- (63) Fiori, A. T. M.; Nakahata, D. H.; Cuin, A.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. Synthesis, Crystallographic Studies, High Resolution Mass Spectrometric Analyses and Antibacterial Assays of Silver(I) Complexes with Sulfoxazole and Sulfadimethoxine. *Polyhedron* **2017**, *121*, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2016.09.046>.
- (64) Fiori-Duarte, A. T.; de Paiva, R. E. F.; Manzano, C. M.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. Silver(I) and Gold(I) Complexes with Sulfasalazine: Spectroscopic Characterization, Theoretical Studies and Antiproliferative Activities over Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Strains. *J. Mol. Struct.* **2020**, *1214*, 128158. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128158>.
- (65) Navarro, M. Gold Complexes as Potential Anti-Parasitic Agents. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253* (11–12), 1619–1626. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.12.003>.
- (66) Ott, I. On the Medicinal Chemistry of Gold Complexes as Anticancer Drugs. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253* (11–12), 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.02.019>.
- (67) Moreno-Alcántar, G.; Picchetti, P.; Casini, A. Gold Complexes in Anticancer Therapy: From New Design Principles to Particle-Based Delivery Systems. *Angew. Chemie* **2023**, *135* (22), e202218000. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ange.202218000>.
- (68) Di Sarra, F.; Fresch, B.; Bini, R.; Saielli, G.; Bagno, A. Reactivity of Auranofin with Selenols and Thiols – Implications for the Anticancer Activity of Gold(I) Compounds. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, *2013* (15), 2718–2727. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejic.201300058>.
- (69) Rubbiani, R.; Schuh, E.; Meyer, A.; Lemke, J.; Wimberg, J.; Metzler-Nolte, N.; Meyer, F.; Mohr, F.; Ott, I. TrxR Inhibition and Antiproliferative Activities of Structurally Diverse Gold N-Heterocyclic Carbene Complexes. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4* (6), 942–948. <https://doi.org/10.1039/C3MD00076A>.
- (70) Navarro, M.; Gabbiani, C.; Messori, L.; Gambino, D. Metal-Based Drugs for Malaria, Trypanosomiasis and Leishmaniasis: Recent Achievements and Perspectives. *Drug Discov. Today* **2010**, *15* (23). <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.10.005>.
- (71) Rosa, L. B.; Aires, R. L.; Oliveira, L. S.; Fontes, J. V.; Miguel, D. C.; Abbehausen, C. A “Golden Age” for the Discovery of New Antileishmanial Agents: Current Status of Leishmanicidal Gold Complexes and Prospective Targets beyond the Trypanothione System. *ChemMedChem* **2021**, *16* (11), 1681–1695. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100022>.
- (72) da Silva, M. T. A.; Silva-Jardim, I.; Portapilla, G. B.; de Lima, G. M. A.; Costa, F. C.; Anibal, F. de F.; Thiemann, O. H. In Vivo and in Vitro Auranofin Activity against Trypanosoma Cruzi: Possible New Uses for an Old Drug. *Exp. Parasitol.* **2016**, *166*, 189–193. <https://doi.org/10.1016/J.EXPPARA.2015.05.012>.
- (73) Ilari, A.; Baiocco, P.; Messori, L.; Fiorillo, A.; Boffi, A.; Gramiccia, M.; Di Muccio, T.; Colotti, G. A Gold-Containing Drug against Parasitic Polyamine Metabolism: The X-Ray Structure of Trypanothione Reductase from Leishmania Infantum in Complex with Auranofin Reveals a Dual Mechanism of Enzyme Inhibition. *Amino Acids* **2012**, *42* (2–3), 803–811. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0997-9>.
- (74) Sharlow, E. R.; Leimgruber, S.; Murray, S.; Lira, A.; Sciotti, R. J.; Hickman, M.; Hudson, T.; Leed, S.; Caridha, D.; Barrios, A. M.; Close, D.; Grögl, M.; Lazo, J. S. Auranofin Is an Apoptosis-Simulating Agent with in Vitro and in Vivo Anti-Leishmanial Activity. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9* (3), 663–672. <https://doi.org/10.1021/cb400800q>.
- (75) Büssing, R.; Karge, B.; Lippmann, P.; Jones, P. G.; Brönstrup, M.; Ott, I. Gold(I) and Gold(III) N-Heterocyclic Carbene Complexes as Antibacterial Agents and Inhibitors of Bacterial Thioredoxin Reductase. *ChemMedChem* **2021**, *16* (22), 3402–3409. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202100381>.
- (76) Xiao, Q.; Liu, Y.; Jiang, G.; Liu, Y.; Huang, Y.; Liu, W.; Zhang, Z. Heteroleptic Gold(I)-

- BisNHC Complex with Excellent Activity in Vitro, Ex Vivo and in Vivo against Endometrial Cancer. *Eur. J. Med. Chem.* **2022**, 236, 114302. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114302>.
- (77) Minori, K.; Rosa, L. B.; Bonsignore, R.; Casini, A.; Miguel, D. C. Comparing the Antileishmanial Activity of Gold(I) and Gold(III) Compounds in *L. Amazonensis* and *L. Braziliensis* in Vitro. *ChemMedChem* **2020**, 15 (22), 2146–2150. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000536>.
- (78) Hopkinson, M. N.; Richter, C.; Schedler, M.; Glorius, F. An Overview of N-Heterocyclic Carbenes. *Nature* **2014**, 510 (7506), 485–496. <https://doi.org/10.1038/nature13384>.
- (79) Smith, C. A.; Narouz, M. R.; Lummis, P. A.; Singh, I.; Nazemi, A.; Li, C.-H.; Crudden, C. M. N-Heterocyclic Carbenes in Materials Chemistry. *Chem. Rev.* **2019**, 119 (8), 4986–5056. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00514>.
- (80) Jacobsen, H.; Correa, A.; Poater, A.; Costabile, C.; Cavallo, L. Understanding the M–(NHC) (NHC = N-Heterocyclic Carbene) Bond. *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253 (5–6), 687–703. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.06.006>.
- (81) Mora, M.; Gimeno, M. C.; Visbal, R. Recent Advances in Gold-NHC Complexes with Biological Properties. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, 48 (2), 447–462. <https://doi.org/10.1039/c8cs00570b>.
- (82) Scattolin, T.; A. Logvinov, A.; V. Tzouras, N.; S. J. Cazin, C.; P. Nolan, S. Advances in the Synthesis and Applications of N-Heterocyclic Carbene Metal Complexes with a Focus on the Weak Base Route. *Organometallics* **2023**, 42 (19), 2692–2730. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.3c00299>.
- (83) Rosa, L. B.; Galuppo, C.; Lima, R. L. A.; Fontes, J. V.; Siqueira, F. S.; Júdice, W. A. S.; Abbehausen, C.; Miguel, D. C. Antileishmanial Activity and Insights into the Mechanisms of Action of Symmetric Au(I) Benzyl and Aryl-N-Heterocyclic Carbenes. *J. Inorg. Biochem.* **2022**, 229 (January). <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111726>.
- (84) Aires, R. L.; Santos, I. A.; Fontes, J. V.; Bergamini, F. R. G.; Jardim, A. C. G.; Abbehausen, C. Triphenylphosphine Gold (I) Derivatives Promote Antiviral Effects against the Chikungunya Virus. *Metallomics* **2022**, 14 (8). <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfac056>.
- (85) Cordero-Rivera, R. E.; Rendón-Nava, D.; Ángel-Jijón, C.; Suárez-Castillo, O. R.; Mendoza-Espinosa, D. Synthesis and Reactivity of (NHC)AuI-Mercaptopyridine Complexes. *Organometallics* **2020**, 39 (10), 1887–1895. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.0c00118>.
- (86) Abas, E.; Pena-Martinez, R.; Aguirre-Ramírez, D.; Rodríguez-Díeguez, A.; Laguna, M.; Grasa, L. New Selective Thiolate Gold(i) Complexes Inhibit the Proliferation of Different Human Cancer Cells and Induce Apoptosis in Primary Cultures of Mouse Colon Tumors. *Dalt. Trans.* **2020**, 49 (6), 1915–1927. <https://doi.org/10.1039/c9dt04423j>.
- (87) Neshat, A.; Mahdavi, A.; Reza Yousefshahi, M.; Cheraghi, M.; Eigner, V.; Kucerakova, M.; Dusek, M.; Rezaie, F.; Kaboudin, B. Heteroleptic Silver(I) and Gold(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes: Structural Characterization, Computational Analysis, Tyrosinase Inhibitory, and Biological Effects. *Inorg. Chem.* **2023**, 62 (41), 16710–16724. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.3c01759>.
- (88) Schuh, E.; Pflüger, C.; Citta, A.; Folda, A.; Rigobello, M. P.; Bindoli, A.; Casini, A.; Mohr, F. Gold(I) Carbene Complexes Causing Thioredoxin 1 and Thioredoxin 2 Oxidation as Potential Anticancer Agents. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (11), 5518–5528. <https://doi.org/10.1021/jm300428v>.
- (89) Cisnetti, F.; Gautier, A. Metal/N-Heterocyclic Carbene Complexes: Opportunities for

- the Development of Anticancer Metallodrugs. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, 52 (46), 11976–11978. <https://doi.org/10.1002/anie.201306682>.
- (90) Fereidoon nezhad, M.; Ahmadi Mirsadeghi, H.; Abedanzadeh, S.; Yazdani, A.; Alamdarlou, A.; Babaghasabha, M.; Almansaf, Z.; Faghih, Z.; McConnell, Z.; Shahsavari, H. R.; Beyzavi, M. H. Synthesis and Biological Evaluation of Thiolate Gold(i) Complexes as Thioredoxin Reductase (TrxR) and Glutathione Reductase (GR) Inhibitors. *New J. Chem.* **2019**, 43 (33), 13173–13182. <https://doi.org/10.1039/C9NJ02502B>.
- (91) Visbal, R.; Laguna, A.; Concepción Gimeno, M. Simple and Efficient Synthesis of [MCl(NHC)] (M = Au, Ag) Complexes. *Chem. Commun.* **2013**, 49 (50), 5642–5644. <https://doi.org/10.1039/c3cc42919a>.
- (92) Chai, J. Da; Head-Gordon, M. Long-Range Corrected Hybrid Density Functionals with Damped Atom-Atom Dispersion Corrections. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, 10 (44), 6615–6620. <https://doi.org/10.1039/b810189b>.
- (93) Ditchfield, R.; Hehre, W. J.; Pople, J. A. Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules. *J. Chem. Phys.* **1971**, 54 (2), 720–723. <https://doi.org/10.1063/1.1674902>.
- (94) Hehre, W. J.; Ditchfield, K.; Pople, J. A. Self-Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian-Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *J. Chem. Phys.* **1972**, 56 (5), 2257–2261. <https://doi.org/10.1063/1.1677527>.
- (95) Hay, P. J.; Wadt, W. R. Ab Initio Effective Core Potentials for Molecular Calculations. Potentials for the Transition Metal Atoms Sc to Hg. *J. Chem. Phys.* **1985**, 82 (1), 270–283. <https://doi.org/10.1063/1.448799>.
- (96) Gaussian.
- (97) Gaussian View.
- (98) Mallya, A. N.; Panda, S. DFT Study of Iminodiacetic Acid Functionalised Polyaniline Copolymer Interaction with Heavy Metal Ions through Binding Energy, Stability Constant and Charge Transfer Calculations. *Comput. Theor. Chem.* **2021**, 1202 (January), 113288. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2021.113288>.
- (99) Costa, A. M. F.; de Aguiar Filho, S. Q.; Santos, T. J.; Pereira, D. H. Theoretical Insights about the Possibility of Removing Pb²⁺ and Hg²⁺ Metal Ions Using Adsorptive Processes and Matrices of Carboxymethyl Diethylaminoethyl Cellulose and Cellulose Nitrate Biopolymers. *J. Mol. Liq.* **2021**, 331. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115730>.
- (100) Mallya, A. N.; Poduval, M. K.; Ramamurthy, P. C. Design, Synthesis, Fabrication and Simulation of Conjugated Molecule for Detection of Lithium Ions. *Mater. Res. Express* **2019**, 6 (4). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aaecf1>.
- (101) Parr, R. G.; Donnelly, R. A.; Levy, M.; Palke, W. E. Electronegativity: The Density Functional Viewpoint. *J. Chem. Phys.* **1977**, 68 (8), 3801–3807. <https://doi.org/10.1063/1.436185>.
- (102) Duarte, H. A. Chemical Reactivity Indexes from Density Functional Theory: Formalism and Perspectives. *Quim. Nova* **2001**, 24 (4), 501–508. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422001000400011>.
- (103) Koopmans, T. Über Die Zuordnung von Wellenfunktionen Und Eigenwerten Zu Den Einzelnen Elektronen Eines Atoms. *Physica* **1934**, 1 (1–6), 104–113. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2).
- (104) AIMALL.
- (105) Bader, R. F. W.; Essén, H. The Characterization of Atomic Interactions. *J. Chem. Phys.* **1983**, 80 (5), 1943–1960. <https://doi.org/10.1063/1.446956>.

- (106) Keith, T. A.; Bader, R. F. W.; Aray, Y. Structural Homeomorphism between the Electron Density and the Virial Field. *Int. J. Quantum Chem.* **1996**, 57 (2), 183–198. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-461X\(1996\)57:2<183::AID-QUA4>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-461X(1996)57:2<183::AID-QUA4>3.0.CO;2-U).
- (107) Ribeiro, I. H. S.; Reis, D. T.; Pereira, D. H. A DFT-Based Analysis of Adsorption of Cd²⁺, Cr³⁺, Cu²⁺, Hg²⁺, Pb²⁺, and Zn²⁺, on Vanillin Monomer: A Study of the Removal of Metal Ions from Effluents. *J. Mol. Model.* **2019**, 25 (9). <https://doi.org/10.1007/s00894-019-4151-z>.
- (108) Reis, D. T.; Ribeiro, I. H. S.; Pereira, D. H. DFT Study of the Application of Polymers Cellulose and Cellulose Acetate for Adsorption of Metal Ions (Cd²⁺, Cu²⁺ and Cr³⁺) Potentially Toxic. *Polym. Bull.* **2020**, 77 (7), 3443–3456. <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02926-5>.
- (109) Reis, D. T.; de Aguiar Filho, S. Q.; Grotto, C. G. L.; Bihain, M. F. R.; Pereira, D. H. Carboxymethylcellulose and Cellulose Xanthate Matrices as Potential Adsorbent Material for Potentially Toxic Cr³⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺metal Ions: A Theoretical Study. *Theor. Chem. Acc.* **2020**, 139 (6), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00214-020-02610-2>.
- (110) CLSI Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria.
- (111) CLSI Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.
- (112) Sarker, S. D.; Nahar, L.; Kumarasamy, Y. Microtitre Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and Its Application in the in Vitro Antibacterial Screening of Phytochemicals. *Methods* **2007**, 42 (4), 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>.
- (113) Oliveira, D. M. de; Santos, I. de A.; Silva Martins, D. O.; Goncalves, Y. G.; Cardoso-Sousa, L.; Sabino-Silva, R.; Von Poelhsitz, G.; Franca, E. de F.; Nicolau-Junior, N.; Pacca, C. C.; Merits, A.; Harris, M.; Gomes Jardim, A. C. Organometallic Complex Strongly Impairs Chikungunya Virus Entry to the Host Cells. *Front. Microbiol.* **2020**, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.608924>.
- (114) Santos, I. A.; Shimizu, J. F.; de Oliveira, D. M.; Silva Martins, D. O.; Cardoso-Sousa, L.; Oliveira Cintra, A. C.; Aquino, V. H.; Sampaio, S. V.; Nicolau-Junior, N.; Sabino-Silva, R.; Merits, A.; Harris, M.; Gomes Jardim, A. C. Chikungunya Virus Entry Is Strongly Inhibited by Phospholipase A2 Isolated from the Venom of *Crotalus Durissus Terrificus*. *Sci. Rep.* **2021**, 11 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88039-4>.
- (115) Donald, C. L.; Brennan, B.; Cumberworth, S. L.; Rezelj, V. V.; Clark, J. J.; Cordeiro, M. T.; Freitas de Oliveira França, R.; Pena, L. J.; Wilkie, G. S.; Da Silva Filipe, A.; Davis, C.; Hughes, J.; Varjak, M.; Selinger, M.; Zuvanov, L.; Owsianka, A. M.; Patel, A. H.; McLauchlan, J.; Lindenbach, B. D.; Fall, G.; Sall, A. A.; Biek, R.; Rehwinkel, J.; Schnettler, E.; Kohl, A. Full Genome Sequence and SfRNA Interferon Antagonist Activity of Zika Virus from Recife, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, 10 (10), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005048>.
- (116) Cassani, N. M.; Santos, I. A.; Grosche, V. R.; Ferreira, G. M.; Guevara-Vega, M.; Rosa, R. B.; Pena, L. J.; Nicolau-Junior, N.; Cintra, A. C. O.; Mineo, T. P.; Sabino-Silva, R.; Sampaio, S. V.; Jardim, A. C. G. Roles of Bothrops Jararacussu Toxins I and II: Antiviral Findings against Zika Virus. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, 227 (June 2022), 630–640. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.102>.
- (117) Tang, Yun-Zhi; Wen, He-Rui; Zhang, Jian; Tan, Y.-H. CCDC 717094: Experimental Crystal Structure Determination. **2010**. <https://doi.org/10.5517/ccs2623>.
- (118) Allen, F. H.; Watson, D. G.; Brammer, L.; Orpen, A. G.; Taylor, R. International Tables for Crystallography . Volume C: Mathematical Physical and Chemical Tables. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **1993**, 49 (2), 371–373. <https://doi.org/10.1107/S0108767393099969>.

- (119) SeethaLekshmi, S.; Kiran, M. S. R. N.; Ramamurty, U.; Varughese, S. Molecular Basis for the Mechanical Response of Sulfa Drug Crystals. *Chem. - A Eur. J.* **2019**, *25* (2), 526–537. <https://doi.org/10.1002/chem.201803987>.
- (120) Beloso, I.; Castro, J.; García-Vázquez, J. A.; Pérez-Lourido, P.; Romero, J.; Sousa, A. Electrochemical Synthesis and Structural Characterization of Silver(I) Complexes of N-2-Pyridyl Sulfonamide Ligands with Different Nuclearity: Influence of the Steric Hindrance at the Pyridine Ring and the Sulfonamide Group on the Structure of the Complex. *Inorg. Chem.* **2005**, *44* (2), 336–351. <https://doi.org/10.1021/ic0490268>.
- (121) Groom, C. R.; Bruno, I. J.; Lightfoot, M. P.; Ward, S. C. The Cambridge Structural Database. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.* **2016**, *72* (2), 171–179. <https://doi.org/10.1107/S2052520616003954>.
- (122) Mosconi, N.; Giulidori, C.; Velluti, F.; Hure, E.; Postigo, A.; Borthagaray, G.; Back, D. F.; Torre, M. H.; Rizzotto, M. Antibacterial, Antifungal, Phytotoxic, and Genotoxic Properties of Two Complexes of AgI with Sulfachloropyridazine (SCP): X-Ray Diffraction of [Ag(SCP)]N. *ChemMedChem* **2014**, *9* (6), 1211–1220. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201400071>.
- (123) Velluti, F.; Mosconi, N.; Acevedo, A.; Borthagaray, G.; Castiglioni, J.; Faccio, R.; Back, D. F.; Moyna, G.; Rizzotto, M.; Torre, M. H. Synthesis, Characterization, Microbiological Evaluation, Genotoxicity and Synergism Tests of New Nano Silver Complexes with Sulfamoxole: X-Ray Diffraction of [Ag₂(SMX)₂]-DMSO. *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *141*, 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.08.007>.
- (124) Church, D.; Elsayed, S.; Reid, O.; Winston, B.; Lindsay, R. Burn Wound Infections. **2006**, *19* (2), 403–434. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.2.403>.
- (125) Norbury, W.; Herndon, D. N.; Tanksley, J.; Jeschke, M. G.; Finnerty, C. C. Infection in Burns. **2016**, *17* (2). <https://doi.org/10.1089/sur.2013.134>.
- (126) Wang, Y.; Beekman, J.; Hew, J.; Jackson, S.; Issler-fisher, A. C.; Parungao, R.; Lajevardi, S. S.; Li, Z.; Maitz, P. K. M. Burn Injury : Challenges and Advances in Burn Wound Healing , Infection , Pain and Scarring. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2018**, *123*, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.018>.
- (127) Kalinowska-Lis, U.; Felczak, A.; Checińska, L.; Zawadzka, K.; Patyna, E.; Lisowska, K.; Ochocki, J. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Water-Soluble Silver(I) Complexes of Metronidazole Drug and Selected Counter-Ions. *Dalt. Trans.* **2015**, *44* (17), 8178–8189. <https://doi.org/10.1039/c5dt00403a>.
- (128) Yin, P.; Kielian, M. Bhk-21 Cell Clones Differ in Chikungunya Virus Infection and Mxra8 Receptor Expression. *Viruses* **2021**, *13* (6). <https://doi.org/10.3390/v13060949>.
- (129) Matkovic, R.; Bernard, E.; Fontanel, S.; Eldin, P.; Chazal, N.; Hersi, D. H.; Merits, A.; Peloponese Jr., J.-M.; Briant, L. The Host DHX9 DExH-Box Helicase Is Recruited to Chikungunya Virus Replication Complexes for Optimal Genomic RNA Translation. *J. Virol.* **2019**, *93* (4). <https://doi.org/10.1128/JVI.01764-18>.
- (130) Gil-Moles, M.; Türc, S.; Basu, U.; Pettenuzzo, A.; Bhattacharya, S.; Rajan, A.; Ma, X.; Büssing, R.; Wölker, J.; Burmeister, H.; Hoffmeister, H.; Schneeberg, P.; Prause, A.; Lippmann, P.; Kusi-Nimarko, J.; Hassell-Hart, S.; McGown, A.; Guest, D.; Lin, Y.; Notaro, A.; Vinck, R.; Karges, J.; Cariou, K.; Peng, K.; Qin, X.; Wang, X.; Skiba, J.; Szczupak, Ł.; Kowalski, K.; Schatzschneider, U.; Hemmert, C.; Gornitzka, H.; Milaeva, E. R.; Nazarov, A. A.; Gasser, G.; Spencer, J.; Ronconi, L.; Kortz, U.; Cinatl, J.; Bojkova, D.; Ott, I. Metallodrug Profiling against SARS-CoV-2 Target Proteins Identifies Highly Potent Inhibitors of the S/ACE2 Interaction and the Papain-like Protease PLpro. *Chem. - A Eur. J.* **2021**, *27* (71), 17928–17940. <https://doi.org/10.1002/chem.202103258>.
- (131) Horvath, U. E. I.; Cronje, S.; Nogai, S. D.; Raubenheimer, H. G. A Second Polymorph

- of (2-Thiazolidinethionato)-(Triphenylphosphine)Gold(I). *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2006**, *62* (7), 1641–1643. <https://doi.org/10.1107/S1600536806023166>.
- (132) Gasperini, D.; Collado, A.; Gómez-Suárez, A.; Cordes, D. B.; Slawin, A. M. Z.; Nolan, S. P. Gold-Acetyl Complexes: From Side-Products to Valuable Synthons. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21* (14), 5403–5412. <https://doi.org/10.1002/chem.201406543>.
- (133) Huynh, H. V.; Han, Y.; Jothibas, R.; Yang, J. A. ¹³C NMR Spectroscopic Determination of Ligand Donor Strengths Using N-Heterocyclic Carbene Complexes of Palladium(II). *Organometallics* **2009**, *28* (18), 5395–5404. <https://doi.org/10.1021/om900667d>.
- (134) Pereira, A. K. dos S.; Manzano, C. M.; Nakahata, D. H.; Clavijo, J. C. T.; Pereira, D. H.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P. Synthesis, Crystal Structures, DFT Studies, Antibacterial Assays and Interaction Assessments with Biomolecules of New Platinum(II) Complexes with Adamantane Derivatives. *New J. Chem.* **2020**, *44* (27), 11546–11556. <https://doi.org/10.1039/D0NJ02009E>.
- (135) Radisavljević, S.; Petrović, B. Gold(III) Complexes: An Overview on Their Kinetics, Interactions With DNA/BSA, Cytotoxic Activity, and Computational Calculations. *Front. Chem.* **2020**, *8* (May), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00379>.
- (136) Topală, T.; Bodoki, A.; Oprean, L.; Oprean, R. Bovine Serum Albumin Interactions with Metal Complexes. *Clujul Med.* **2014**, *87* (4), 5. <https://doi.org/10.15386/cjmed-357>.
- (137) Coffey, M. T.; Shaw, C. F.; Eidsness, M. K.; Watkins, J. W.; Elder, R. C. Reactions of Auranofin and Et₃PAuCl with Bovine Serum Albumin. *Inorg. Chem.* **1986**, *25* (3), 333–339. <https://doi.org/10.1021/ic00223a020>.
- (138) Karaca, Ö.; Meier-Menches, S. M.; Casini, A.; Kühn, F. E. On the Binding Modes of Metal NHC Complexes with DNA Secondary Structures: Implications for Therapy and Imaging. *Chem. Commun.* **2017**, *53* (59), 8249–8260. <https://doi.org/10.1039/c7cc03074f>.
- (139) Meyer, A.; Oehninger, L.; Geldmacher, Y.; Alborzinia, H.; Wölfl, S.; Sheldrick, W. S.; Ott, I. Gold(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes with Naphthalimide Ligands as Combined Thioredoxin Reductase Inhibitors and DNA Intercalators. *ChemMedChem* **2014**, *9* (8), 1794–1800. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201402049>.
- (140) Kathiresan, S.; Mugesh, S.; Annaraj, J.; Murugan, M. Mixed-Ligand Copper(II) Schiff Base Complexes: The Vital Role of Co-Ligands in DNA/Protein Interactions and Cytotoxicity. *New J. Chem.* **2017**, *41* (3), 1267–1283. <https://doi.org/10.1039/c6nj03501a>.
- (141) Ahmad, S.; Isab, A. A. ¹³C, ³¹P and ¹⁵N NMR Studies of the Ligand Exchange Reactions of Auranofin and Chloro(Triethylphosphine)Gold(I) with Thiourea. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *88* (1), 44–52. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(01\)00305-1](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(01)00305-1).
- (142) Roberts, J. R.; Xiao, J.; Schliesman, B.; Parsons, D. J.; Shaw, C. F. Kinetics and Mechanism of the Reaction between Serum Albumin and Auranofin (and Its Isopropyl Analogue) in Vitro. *Inorg. Chem.* **1996**, *35* (2), 424–433. <https://doi.org/10.1021/ic9414280>.
- (143) Shaw, C. F.; Coffey, M. T.; Klingbeil, J.; Mirabelli, C. K. Application of a ³¹P NMR Chemical Shift: Gold Affinity Correlation to Hemoglobin-Gold Binding and the First Inter-Protein Gold Transfer Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110* (3), 729–734. <https://doi.org/10.1021/ja00211a011>.

8 Anexos

Tabela A1. Dados Cristalográficos da estrutura cristalina de AuIMesStzn.

Fórmula Molecular	AuC ₂₄ H ₂₈ N ₃ S ₂
Massa Molar (g·mol ⁻¹)	619,58
Sistema Cristalino	Ortorrômbico
Grupo Espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a (Å)	8,6550(2)
b (Å)	14,1032(3)
c (Å)	19,7630(4)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å ³)	2412,35(9)
Densidade (g·cm ⁻³)	1,706
Radiação (Å)	Mo K α (λ = 0,71073)
μ (mm ⁻¹)	6,287
T (K)	99,99(10)
Z	4
Número de Parâmetros Refinados	27934
F(000)	1216,0
$\theta_{\text{máx}}$ (°)	34,0770
S	1,065

Tabela A2. Dados Cristalográficos da estrutura cristalina de AuIMesSbtz.

Fórmula Molecular	AuC ₂₈ H ₂₈ N ₃ S ₂
Massa Molar (g·mol ⁻¹)	667,62
Sistema Cristalino	Triclínico
Grupo Espacial	P-1
a (Å)	11,1702(12)
b (Å)	15,1601(17)
c (Å)	17,1723(19)
α (°)	86.211(3)
β (°)	76,397(2)
γ (°)	81,795(3)
Volume (Å ³)	2795,88
Densidade (g·cm ⁻³)	1,586
Radiação (Å)	Mo Kα (λ = 0,71073)
μ (mm ⁻¹)	5,431
T (K)	120,00
Z	4
Número de Parâmetros Refinados	9969
F(000)	1312,0
θ _{máx} (°)	29,101
S	1,031

Tabela A3. Dados Cristalográficos da estrutura cristalina de AuIMesSpym.

Fórmula Molecular	C _{25,5} H ₂₉ AuN ₄ O _{0,5} S
Massa Molar (g·mol ⁻¹)	628,574
Sistema Cristalino	Triclínico
Grupo Espacial	P-1
a (Å)	8,3675(1)
b (Å)	16,1557(2)
c (Å)	19,6651(3)
α (°)	99,070(1)
β (°)	101,772(1)
γ (°)	101,630(1)
Volume (Å ³)	2493,67(6)
Densidade (g·cm ⁻³)	1,674
Radiação (Å)	Mo K α (λ = 0,71073)
μ (mm ⁻¹)	6,005
T (K)	100,00(10)
Z	4
Número de Parâmetros Refinados	641
F(000)	1231,6
$\theta_{\text{máx}}$ (°)	25,680
S	1,023

Tabela A4. Dados Cristalográficos da estrutura cristalina de AuIMes2tu.

Fórmula Molecular	C ₂₅ H ₂₇ AuN ₄ OS
Massa Molar (g·mol ⁻¹)	628,552
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	P2 ₁ /c
a (Å)	9,0579(1)
b (Å)	21,2344(3)
c (Å)	25,5964(4)
α (°)	90
β (°)	96,504(1)
γ (°)	90
Volume (Å ³)	4891,50(12))
Densidade (g·cm ⁻³)	1,707
Radiação (Å)	Mo K α (λ =0,71073)
μ (mm ⁻¹)	6,125
T (K)	100,00(10)
Z	8
Número de Parâmetros Refinados	639
F(000)	2455,3
θ máx (°)	25,680
S	1,030

Tabela A5. Dados calculados para Energia HOMO, Energia LUMO, Diferença de energia (E_g), Potencial de ionização (IP), Afinidade eletrônica (EA), Dureza (η), Moleza (S), Potencial químico (μ), Eletronegatividade (χ) e Índice de eletrofilicidade (ω) para o ligante e para o dímero do complexo.

Parâmetros	Composto	
	SFX-SL neutro	AgSFX-SL dímero
Energia HOMO (eV)	-8.033	-7.912
Energia LUMO (eV)	-0.244	-0.122
Diferença de energia (E_g) (eV)	-7.789	-7.790
Potencial de ionização (IP) ($-E_{\text{HOMO}} - \text{eV}$)	8.033	7.912
Afinidade eletrônica (EA) ($-E_{\text{LUMO}} - \text{eV}$)	0.244	0.122
Dureza (η) (eV)	3.894	3.895
Moleza (S) (eV)	0.257	0.257
Potencial químico (μ) (eV)	-4.139	-4.017
Eletronegatividade (χ) (eV)	4.139	4.017
Índice de eletrofilicidade (ω) (eV)	2.199	2.072

Tabela A6. Parâmetros topológicos calculados nos pontos críticos de ligação (BCP) das interações. Dados em kcal mol⁻¹.

Interação (BCP)	$\rho(r)$	$\nabla^2\rho(r)$	$V(r)$	$G(r)$	$H(r)$	<i>Tipo de interação</i>
N29 - Ag47	38,93	172,95	-52,39	47,81	-4,58	Parcialmente covalente
O27 - Ag47	22,78	105,97	-26,64	26,57	-0,08	Parcialmente covalente
N76 - Ag94	40,44	180,05	-55,24	50,12	-5,12	Parcialmente covalente
Ag47 - N87	45,57	209,42	-65,48	58,91	-6,57	Parcialmente covalente
N40 - Ag94	46,10	211,84	-66,53	59,74	-6,79	Parcialmente covalente
Ag47 - Ag94	17,97	66,09	-17,85	17,19	-0,67	Parcialmente covalente
O74 - Ag94	21,73	99,51	-24,89	24,88	-0,01	Parcialmente covalente

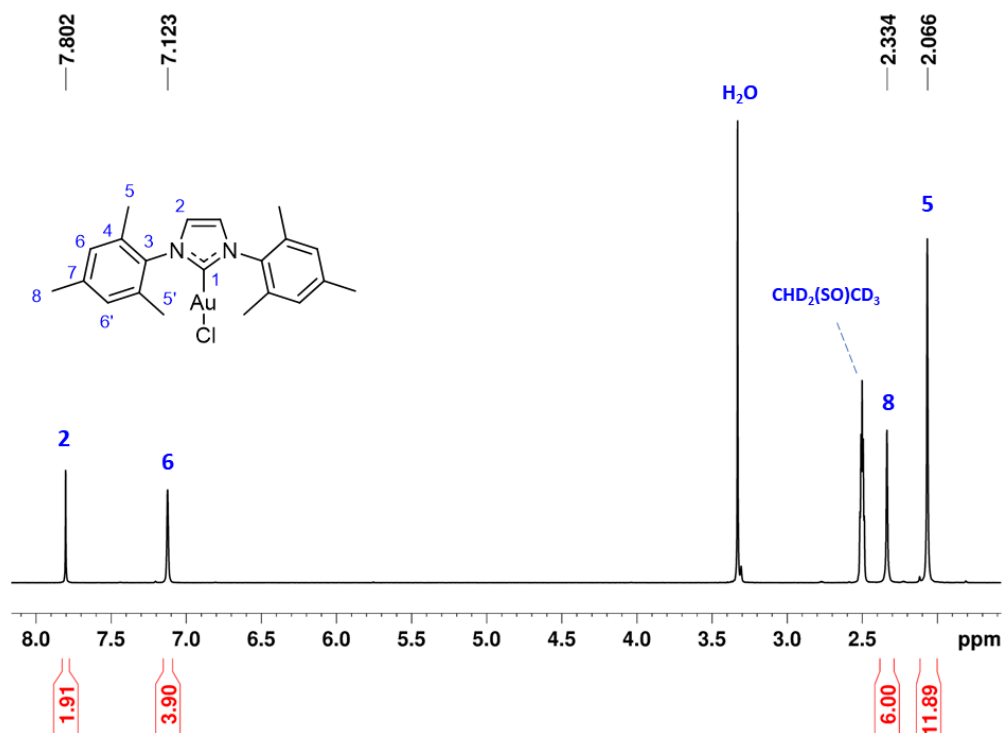


Figura A1. Espectro de RMN de ^1H do complexo AuIMesCl em $\text{DMSO}-d_6$ a 250 MHz.

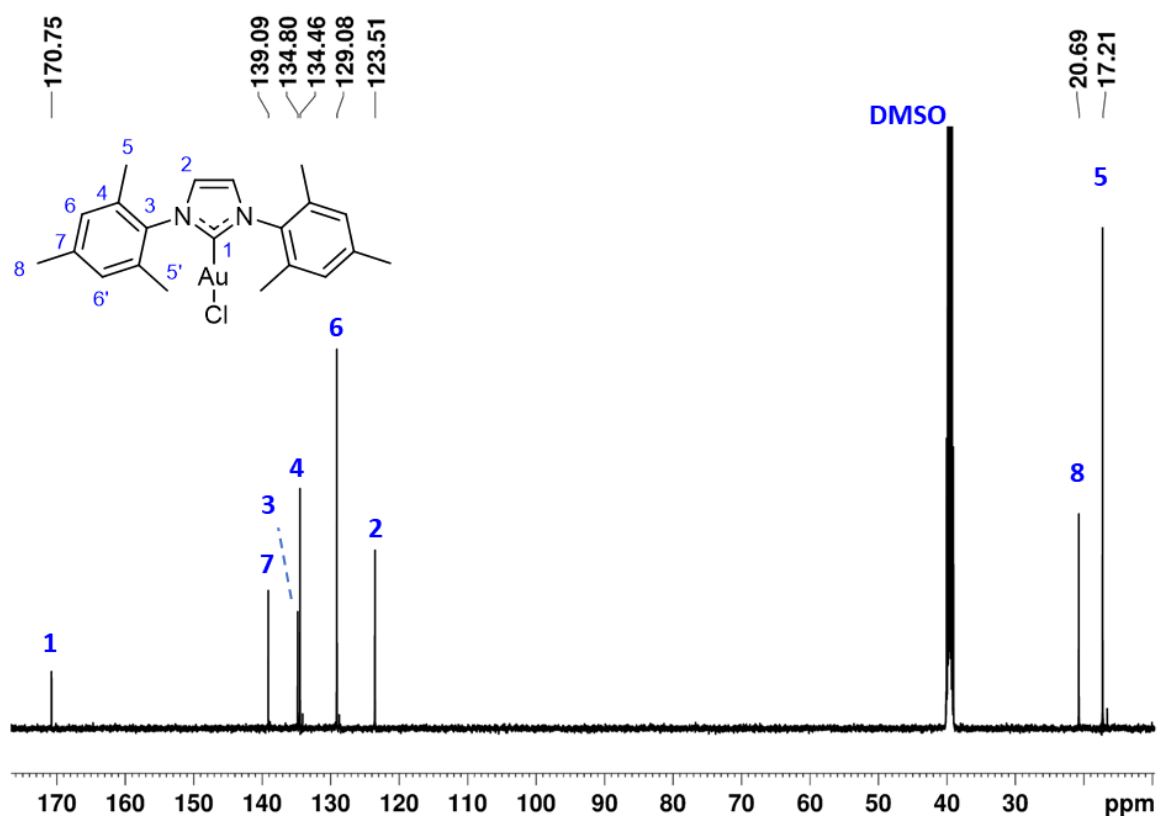


Figura A2. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo AuIMesCl em $\text{DMSO}-d_6$ a 500 MHz.

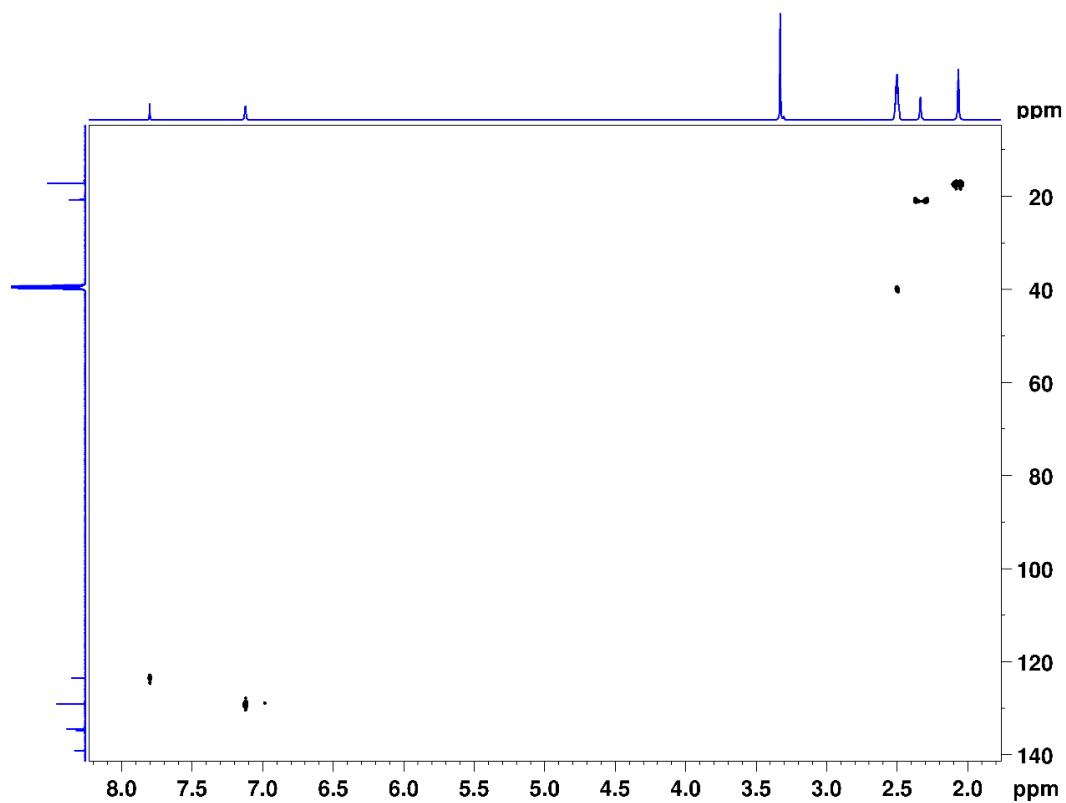


Figura A3. Espectro de RMN HSQC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesCl a 500 MHz em DMSO- d_6 .

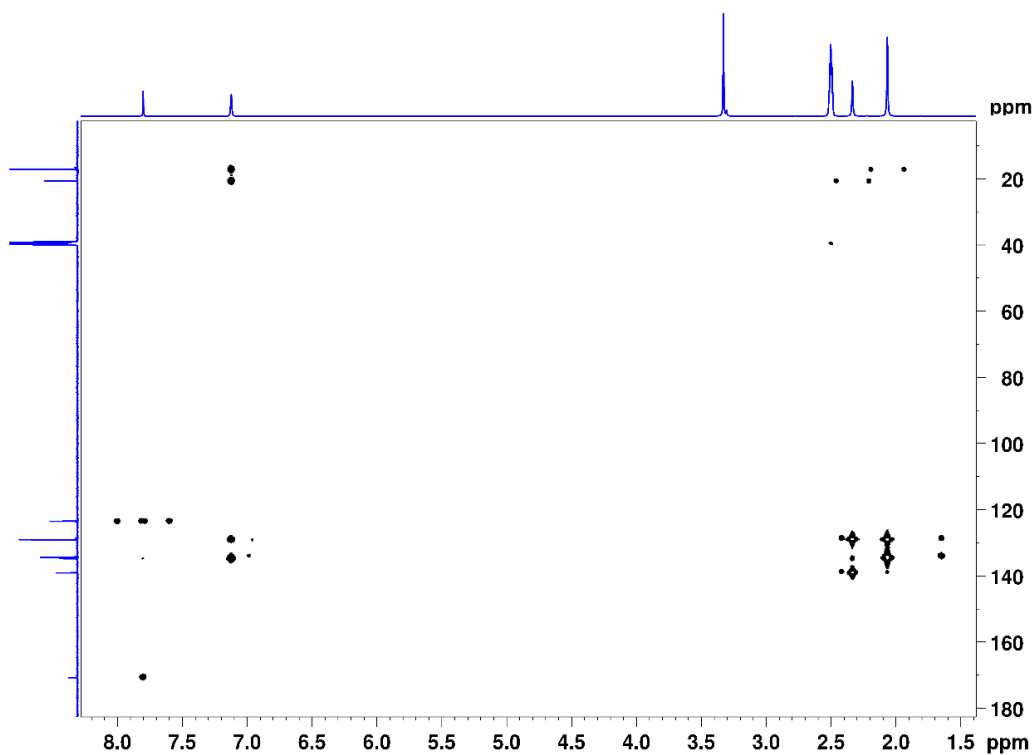


Figura A4. Espectro de RMN HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesCl a 500 MHz em DMSO- d_6 .

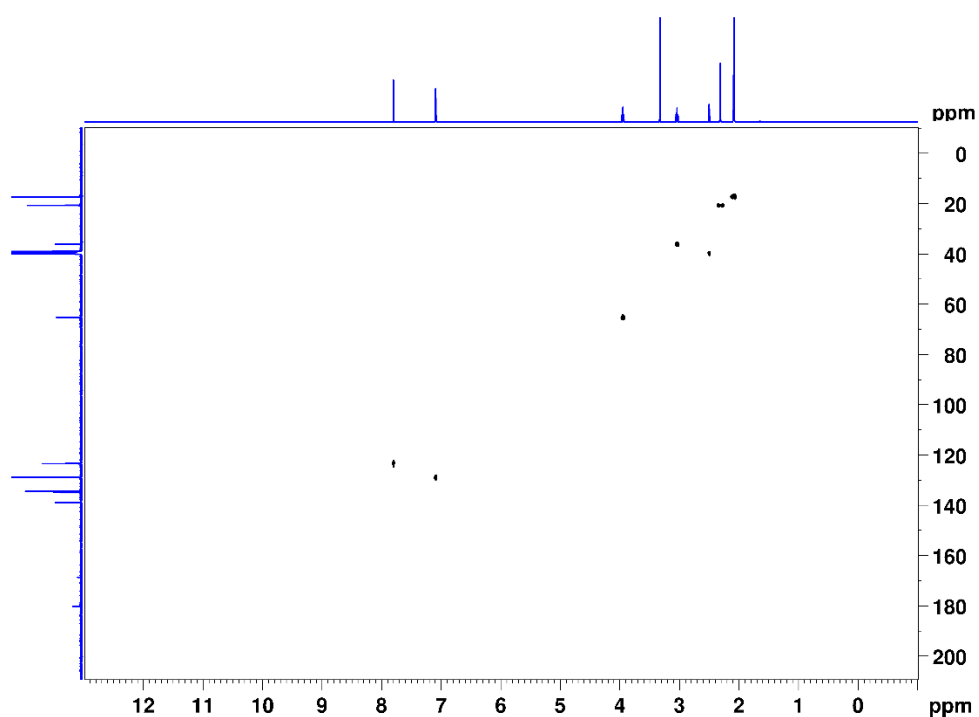


Figura A5. Espectro de RMN HSQC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesStzn a 500 MHz em DMSO- d_6 .

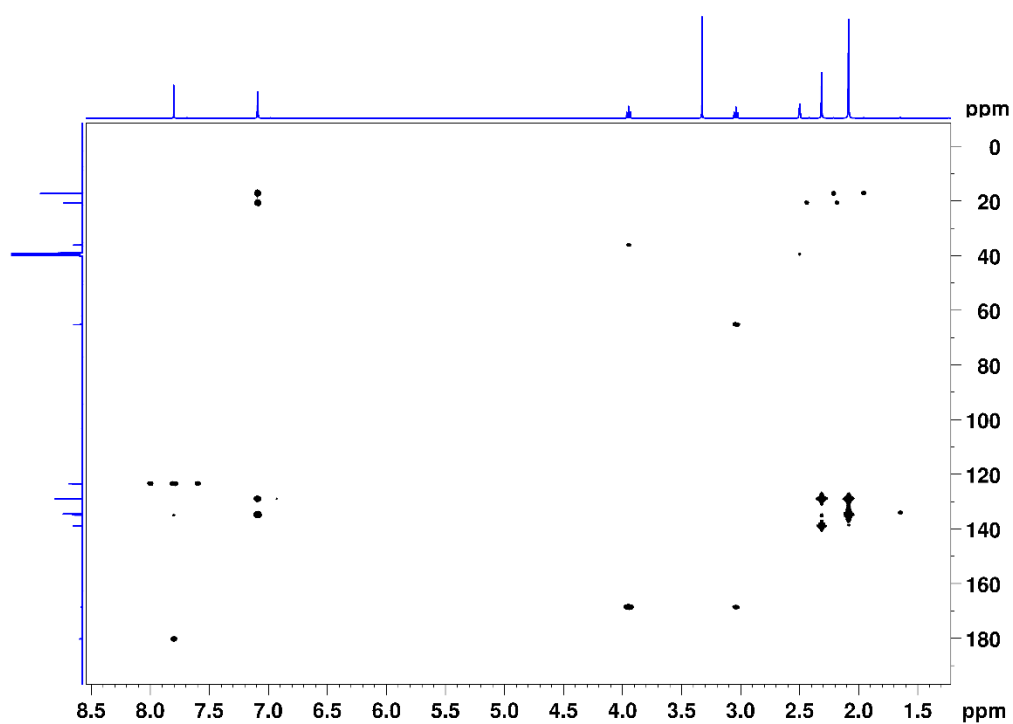


Figura A6. Espectro de RMN HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesStzn a 500 MHz em DMSO- d_6 .

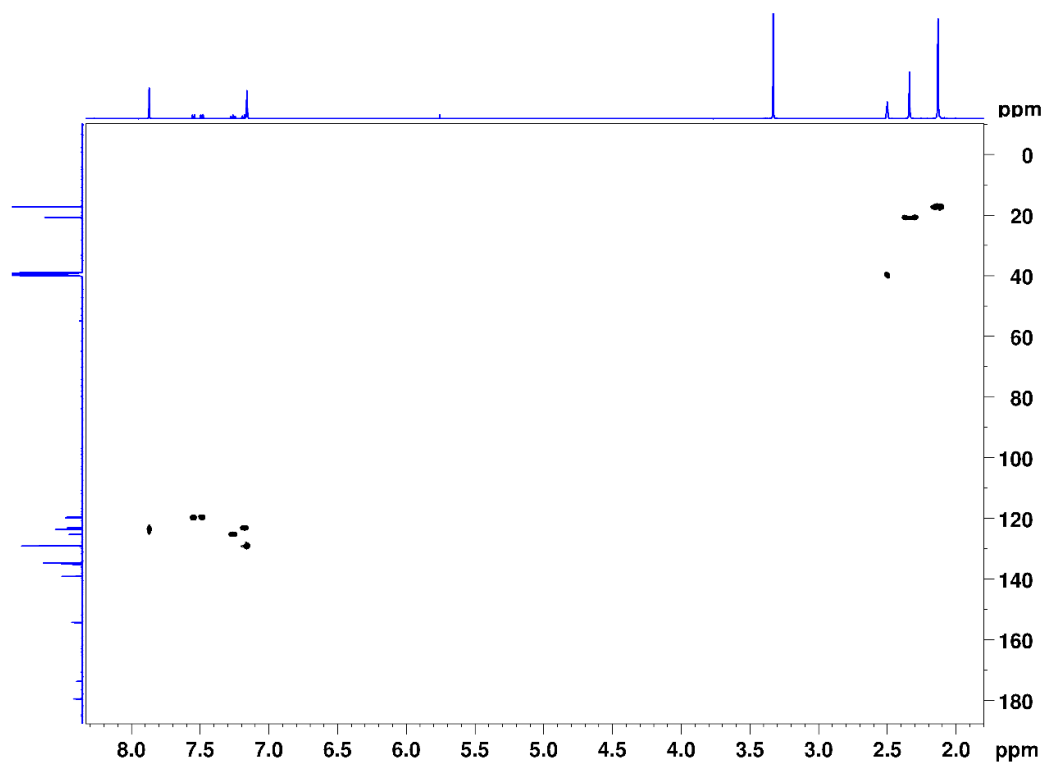


Figura A7. Espectro de RMN HSQC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesSbtz a 500 MHz em DMSO- d_6 .

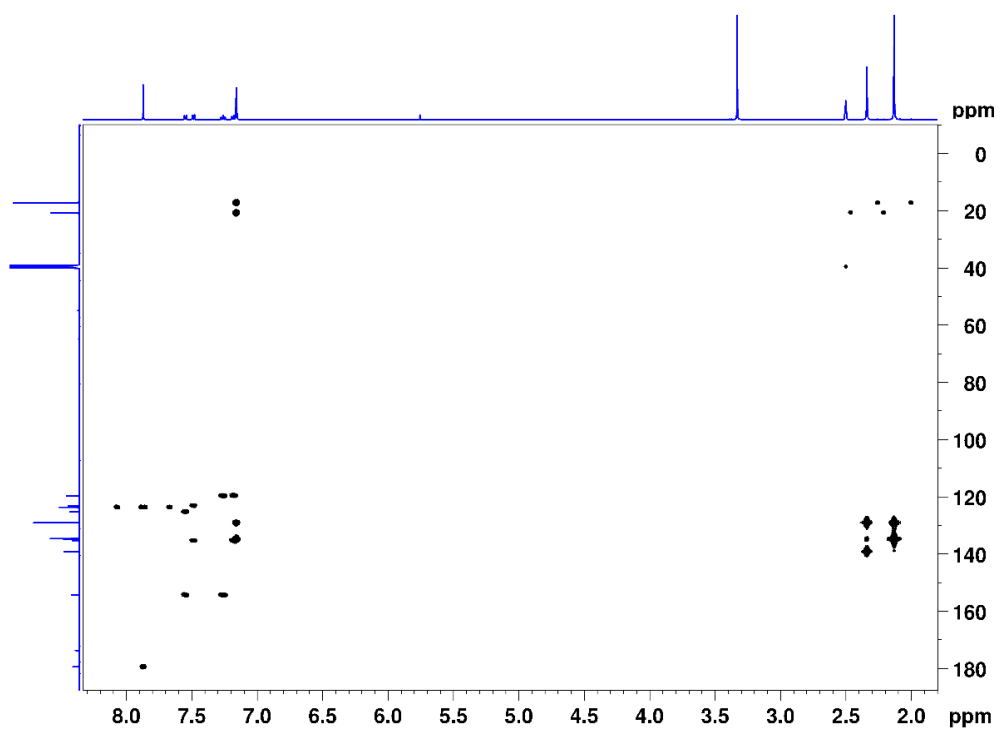


Figura A8. Espectro de RMN HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesSbtz a 500 MHz em DMSO- d_6 .

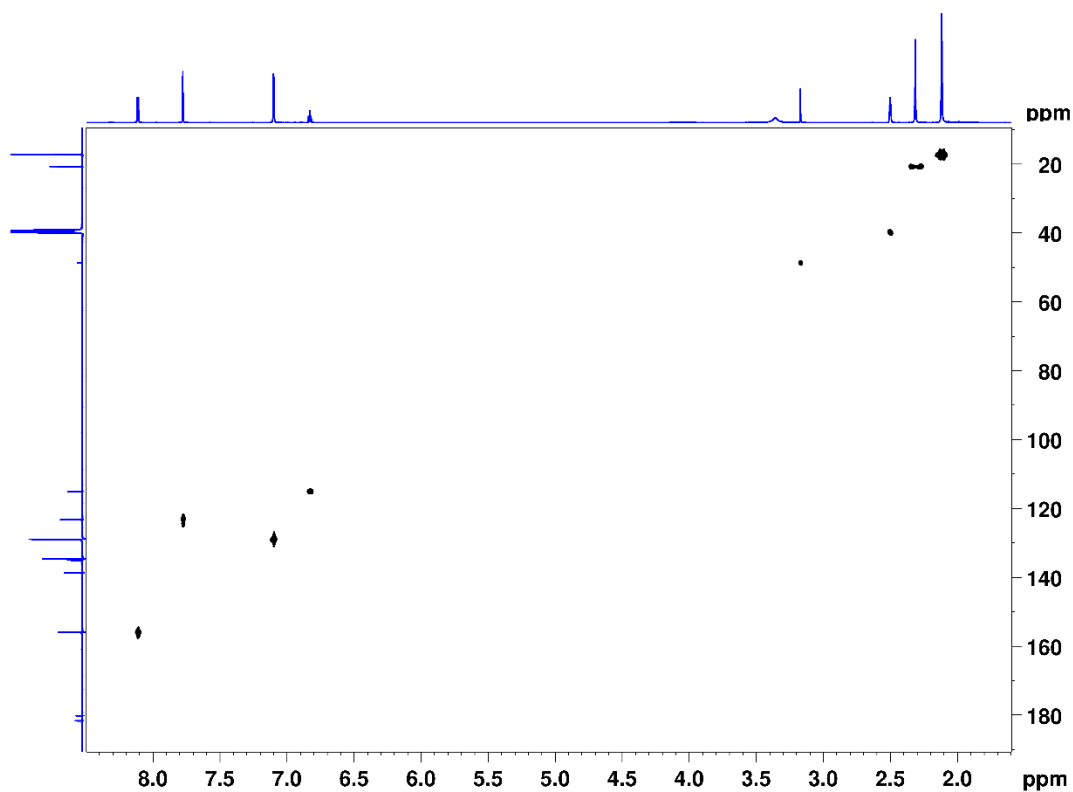


Figura A9. Espectro de RMN HSQC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesSpym a 500 MHz em DMSO- d_6 .

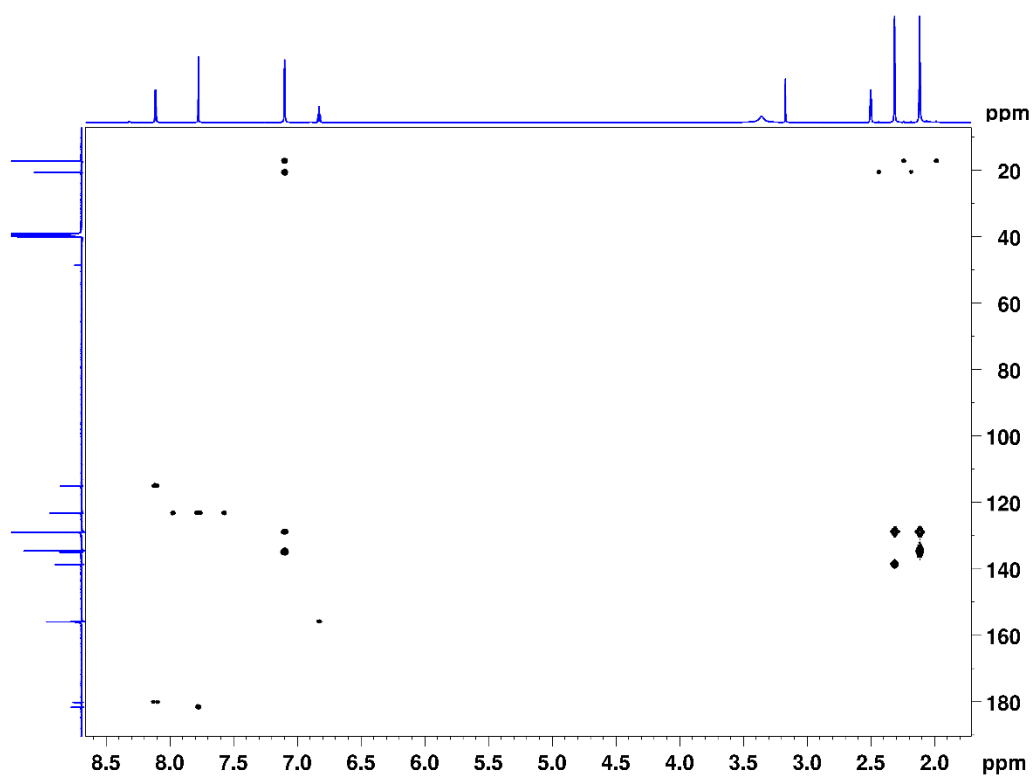


Figura A10. Espectro de RMN HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMesSpym a 500 MHz em DMSO- d_6 .

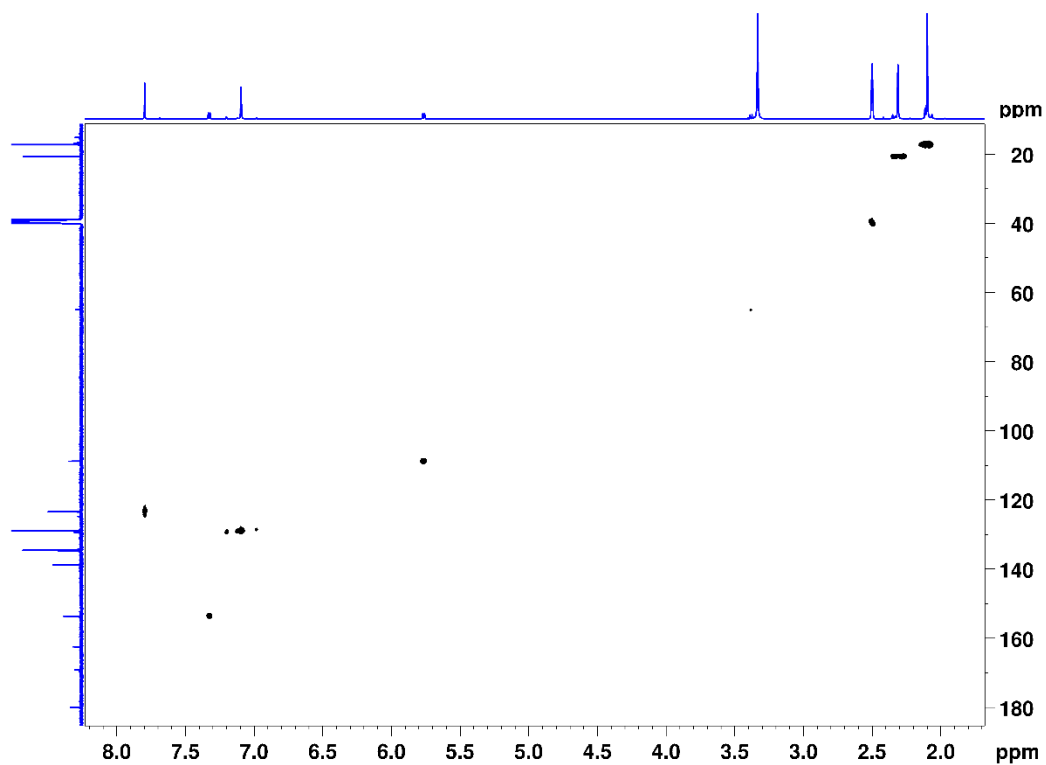


Figura A11. Espectro de RMN HSQC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMes2tu a 500 MHz em DMSO- d_6 .

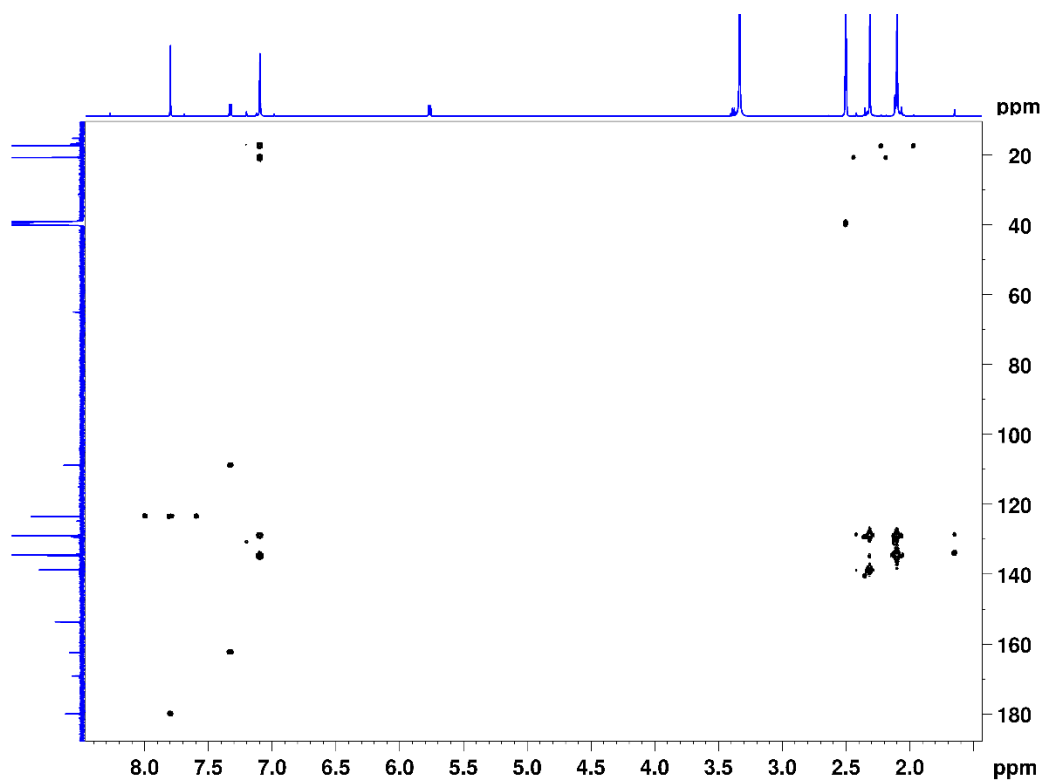


Figura A12. Espectro de RMN HMBC $\{^1\text{H}, ^{13}\text{C}\}$ do complexo AuIMes2tu a 500 MHz em DMSO- d_6 .

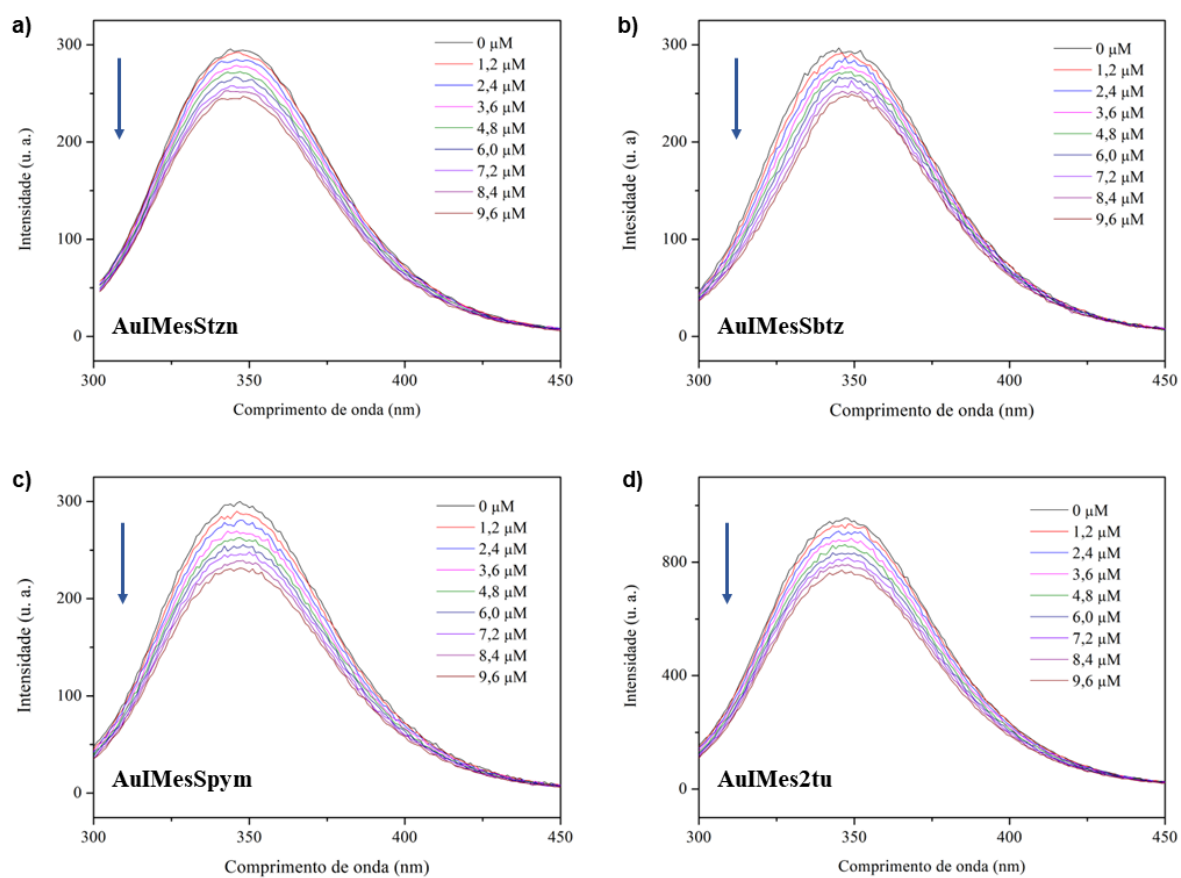


Figura A13. Espectro de supressão de fluorescência da BSA por a) AuIMesStzn, b) AuIMesSbtz, c) AuIMesSpym e d) AuIMes2tu.

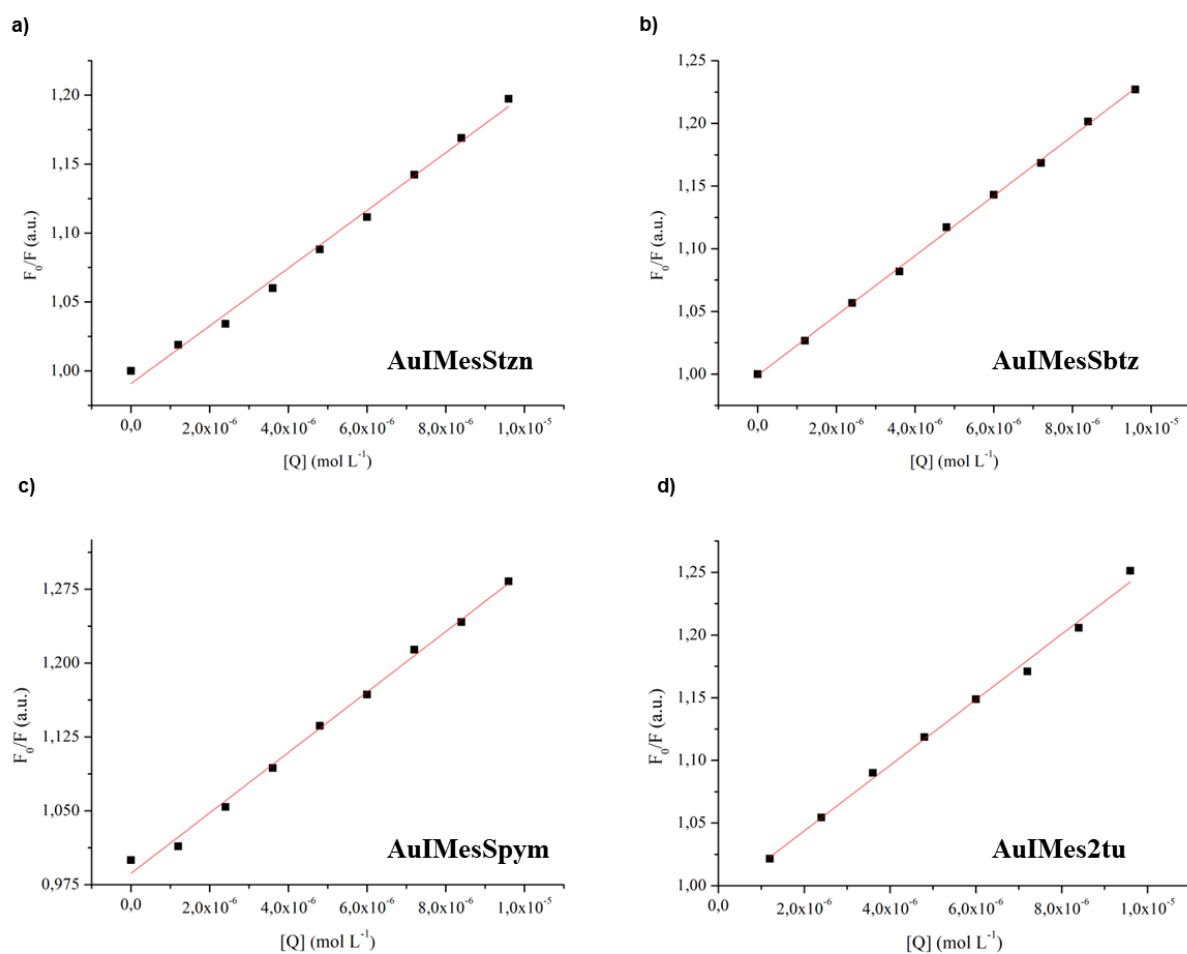


Figura A14. Gráficos de Stern-Volmer a partir da supressão da fluorescência de BSA por a) AuIMesStzn, b) AuIMesSbtz, d) AuIMesSpym e d) AuIMes2tu.

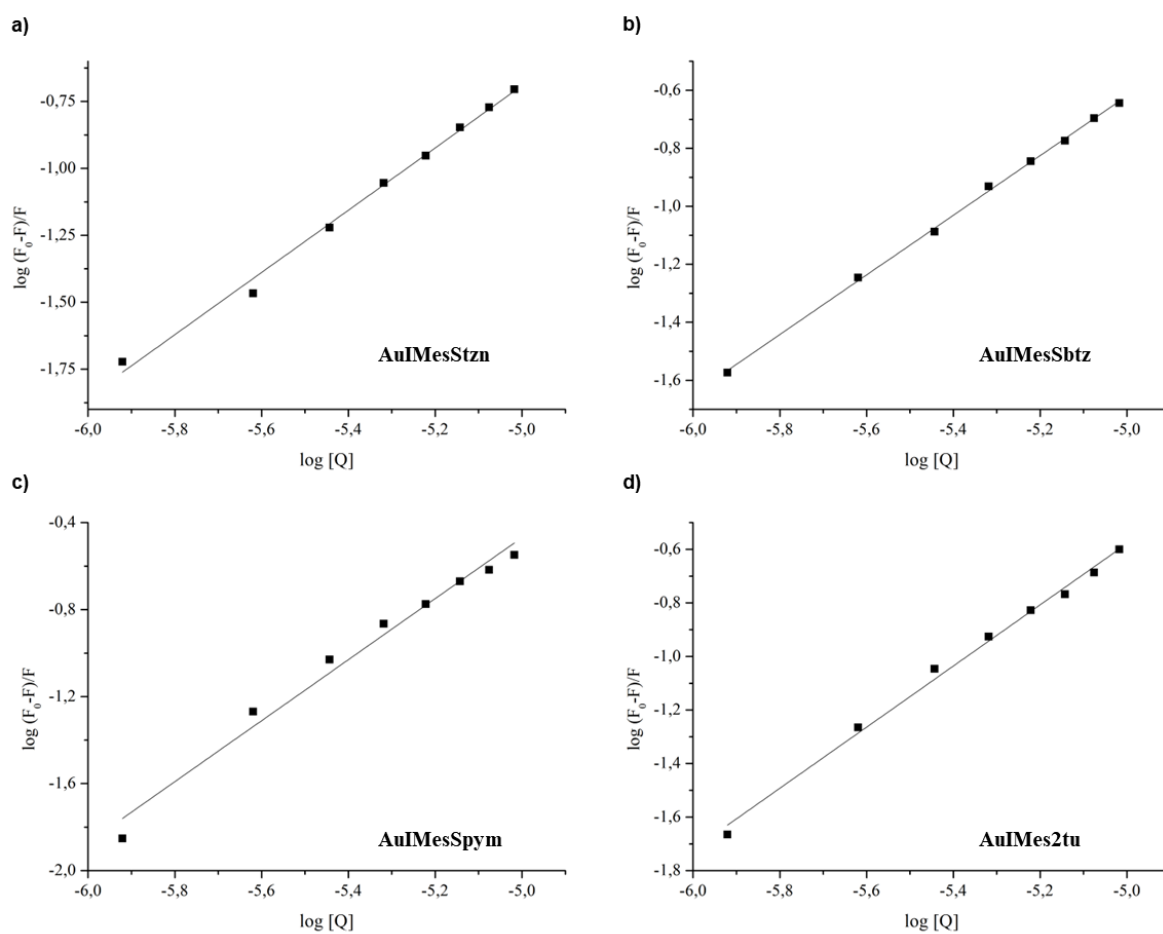


Figura A15. Gráficos de Scatchard a partir da supressão da fluorescência de BSA por a) AuIMesStzn, b) AuIMesSbtz, d) AuIMesSpym e d) AuIMes2tu.