

## COMPOSTOS QUIMIOTERÁPICOS DE OURO: UMA VISÃO GERAL DOS COMPLEXOS ANTICÂNCER DE Au(I/III) EM RELAÇÃO À ESTRUTURA DO LIGANTE

Giset Y. Sánchez Delgado<sup>a,\*</sup>, Camila A. S. R. Condé<sup>a</sup>, Hélio F. Dos Santos<sup>a</sup> e Maribel Navarro<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, 36036-900 Juiz de Fora – MG, Brasil

Recebido em 21/02/2020; aceito em 23/04/2020; publicado na web em 10/06/2020

**GOLD CHEMOTHERAPEUTIC COMPOUNDS: AN OVERVIEW OF ANTICANCER Au(I/III)-COMPLEXES IN RELATION TO THE STRUCTURE OF THE LIGAND.** Gold compounds engage an important place in the field of medicinal chemistry due to their therapeutic properties. Since the last four decades, Au(I) and Au(III) complexes have attracted the attention of researchers due to their anti-tumor properties and the different mechanisms of action they display in comparison to conventional anticancer platinum compounds. Au(I/III) complexes can inhibit the activity of enzymes containing thiols including thioredoxin reductase; nevertheless, the affinity for several therapeutic targets has been confirmed in recent years. The properties conferred by auxiliary ligands such as phosphines (PR<sub>3</sub>) and N-heterocyclic carbenes (NHCs) to gold complexes have been key to the development of more promising anticancer compounds. In the same way, it has happened with the inclusion of some multidentate ligands in Au(III) complexes, increasing their stability and selectivity for tumor cells. In this review, we discuss the anticancer effects of Au(I) complexes containing PR<sub>3</sub> and NHCs ligands as well as Au(III) complexes containing multidentate ligands especially those that have high cytotoxicity and information on the mechanism of action, as well as attempts to target identification and validation.

**Keywords:** Au(I) complexes; Au(III) complexes; anticancer activity; phosphines; N-heterocyclic carbenes.

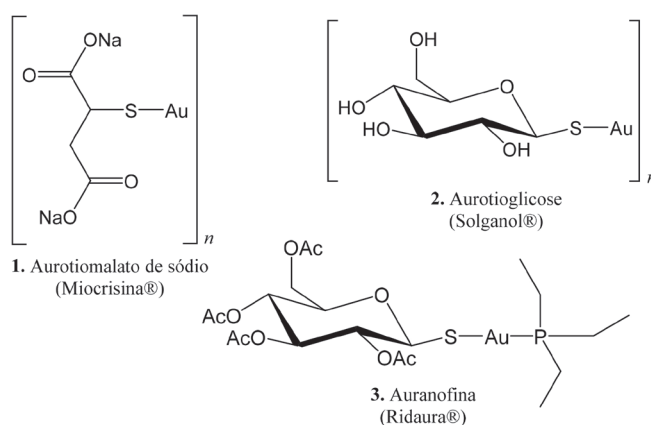
### INTRODUÇÃO

Desde tempos imemoriáveis, o ouro vem sendo usado no tratamento de diversas doenças, as quais lhe concederam virtudes e muitas propriedades curativas. Porém, sua primeira aplicação como terapêutico foi registrada cerca de 2500 a.C., quando ouro era utilizado pelas medicinas chinesa e árabe.<sup>1</sup> O interesse moderno na aplicação do ouro nesta área origina-se em 1890, quando Robert Koch observou a inibição do bacilo da tuberculose pelo sal cianeto de Au(I), embora tenha sido demonstrado que esse tinha poucos benefícios para o tratamento da doença. A partir daí, aumentou-se o interesse pela busca de compostos de Au(I) com potencial antituberculose e de baixa toxicidade.<sup>1,2</sup>

Durante a década de 1925-1935, sais de tiolato de Au(I) foram utilizados para o tratamento da tuberculose, apesar da falta de evidências experimentais de que esses curassem a doença. Já em 1929, o cientista francês Jacques Foriester investigou o uso de compostos de ouro para o tratamento de artrite reumatoide (AR); entretanto, somente em 1960 que ensaios clínicos controlados provaram a eficácia da terapia com ouro.<sup>2-4</sup>

Atualmente, alguns tiolatos injetáveis de Au(I), representados na Figura 1, são pouco usados clinicamente, porém, mantêm-se na classe de drogas antirreumáticas que retardam a progressão da doença. Em 1985, o composto de fosfina de Au(I), conhecido como Auranofina (AF) (Figura 1) foi aprovado para o tratamento da artrite reumatoide. A AF substituiu o tratamento clínico com tiolatos injetáveis de Au(I) sendo usada amplamente por muitos anos, mostrando alguns efeitos secundários. Posteriormente, AF mostrou-se menos eficaz do que outras drogas antirreumáticas, tais como o metotrexato, o que levou a uma diminuição do seu uso clínico. Em meados dos anos 80, a AF mostrou-se um potente inibidor do crescimento de células tumorais *in vitro*, com atividade antitumoral *in vivo* limitada em modelos tumorais de camundongos.<sup>3,5</sup>

Desde então, a busca por compostos promissores de ouro anticâncer tem sido continuamente ativa e um grande número de complexos de Au(I) e Au(III) têm sido sintetizados nas últimas décadas. Tais compostos de ouro vem sendo testados como agentes anticâncer e têm mostrado resultados bastante promissores. Alguns desses compostos também têm sido testados como possíveis agentes antiparasitários, antimicrobianos, anti-VIH, entre outros.<sup>6-12</sup>



**Figura 1.** Compostos de ouro utilizados no tratamento da artrite reumatoide. 1 e 2 são polímeros solúveis em água

A AF, utilizada como antiartrítico, exibiu potenciais efeitos anticancerígenos *in vitro* em diferentes linhagens celulares de câncer humano e mostrou efeitos *in vivo* no modelo de camundongos com leucemia P388.<sup>5</sup> Mediante tais resultados, uma grande variedade de análogos de AF foram testados como agentes anticâncer, apresentando os complexos de Au(I) como potenciais inibidores do crescimento de células tumorais *in vitro*. Estudos de relação estrutura-atividade sobre AF indicaram que o ligante fosfina é muito mais importante para a atividade biológica do que a fração de tioglucose.<sup>3</sup> De fato, extensivos estudos mecanísticos mostraram que tanto a AF como o [Au(PEt<sub>3</sub>)Cl] afetam a função mitocondrial, levando a indução de vias apoptóticas.<sup>3,13</sup>

\*e-mail: gysdelgado@ice.ufjf.br

#e-mail alternativo: maribel.navarro@ufjf.edu.br

Nos últimos anos, tem sido relatada a atividade antitumoral de complexos lineares de Au(I) contendo carbenos N-heterocíclicos (NHC). Tais compostos NHC são considerados ligantes alternativos às fosfinas e atuam como fortes ligantes doadores de elétrons para uma ampla gama de metais de transição. Além disso, o fato de os NHCs serem altamente estáveis, facilmente sintetizados e quimicamente modificados, aumenta-se o interesse na obtenção de novas drogas onde esses ligantes coordenam-se aos metais de transição.<sup>14</sup> Vários complexos Au(I)-NHC foram sintetizados realizando variações sistemáticas de diferentes grupos alquila no átomo de nitrogênio secundário para facilitar a captação celular. Tal interesse se dá pelo fato de que este tipo de alterações estruturais permitiu aos pesquisadores obterem informações importantes sobre lipofilicidade, carga, reatividade, citotoxicidade e interação com proteínas/enzimas, como a tioredoxina redutase (TrxR). Assim, foram preparados um grande número de compostos de ouro estruturalmente diversificados, estabilizados por ligantes de fosfinas PR<sub>3</sub> e NHCs, e verificou-se que estes induzem efeitos anticancerígenos importantes, tanto *in vitro* como *in vivo*.<sup>4,15</sup> Na Figura 2, é apresentado o número das publicações nos últimos 20 anos sobre complexos de Au(I) e Au(III) como agentes anticâncer. É interessante notar que na última década esse tema tem atraído atenção dos cientistas. Os complexos de Au(I) tiveram aproximadamente o dobro do número de publicações comparado aos complexos de Au(III), o que é atribuído ao grande número de compostos derivados da AF que foram testados como agentes quimioterápicos nesta última década.

Complexos de ouro exibem uma elevada propensão às enzimas, especialmente aquelas que contêm grupos tióis. Essa característica é atribuída à forte afinidade de ligação dos íons de ouro com tióis.<sup>3-5,13</sup> A maioria das enzimas que contêm tióis, tais como a TrxR, glutathione redutase (GR) e cisteína protease, encontram-se altamente expostas em células cancerosas proporcionando, assim, potenciais alvos para a terapia com complexos de ouro.<sup>4</sup> Várias estruturas de adutos de Au<sup>1+</sup>-proteína têm sido estudadas usando cristalografia de raios X. A maioria dessas estruturas apresentam interações entre as ligações Cys-S-Au-S-Cys e/ou Cys-S-Au-ligante no sítio ativo da enzima, motivo pelo qual acredita-se que a ligação Au-S seja responsável pela forte inibição observada da atividade enzimática.<sup>4</sup> GR e TrxR são dissulfeto-redutases que contêm grupos tióis no sítio ativo e a TrxR também contém um resíduo selenocisteína (Sec) que é exclusivo da TrxR dos mamíferos. Ambas as enzimas (GR e TrxR) desempenham um papel fundamental na regulação redox de importantes processos celulares, como síntese de ADN, transcrição, crescimento celular e resistência a fármacos. No caso da TrxR, acredita-se que sua inibição pode causar um estresse oxidativo celular devido à acumulação de espécies reativas de oxigênio o que, posteriormente, leva à liberação de sinalizadores de apoptose causando a morte celular.<sup>13</sup> A inibição da atividade da TrxR foi estudada por

Smith *et al.*,<sup>16</sup> em camundongos utilizando aurotioglicose (ATG) como inibidor. Doses baixas de 0,025 mg de ATG g<sup>-1</sup> por peso corporal de ratos causaram uma inibição significativa e prolongada da atividade da TrxR no fígado, coração, rim e pâncreas.<sup>16</sup> Um estudo detalhado sobre as interações Au(I)-TrxR por espectrometria de massas indicou que até quatro fragmentos de Au-PET<sub>3</sub> podem ser ligados à proteína. Estudos *in vitro* mostraram formas similares de interação em adutos de Au(I) com tioredoxina-glutationa redutase (TGR), uma enzima parasitária similar à TrxR, após reação com a AF.<sup>4,17</sup> Com base nessas observações, têm-se proposto caminhos de reação, como o representado na Figura 3, para a inibição da TrxR por complexos de Au(I).<sup>18</sup> A interação da enzima na sua forma reduzida com complexos de Au(I) também pode levar à formação do complexo proteína-selenolato de ouro (TrxR-Se-Au-X) pela reação com o resíduo Sec498 e, posteriormente, o produto final conterá o íon Au(I) preso pelas ligações Se-Au-S. Embora interações Au-Se não tenham sido elucidadas neste tipo de adutos, algumas reações entre compostos de ouro e selenol têm apresentado informações relevantes.<sup>19,20</sup> Semelhante à substituição de ligantes de fosfina por tióis, tal reação de deslocamento do ligante ocorre na presença de selenol. A reação entre o composto [Au(PET<sub>3</sub>)Cl] com o selenol leva à formação do complexo contendo ligações Se-Au-PET<sub>3</sub>. Logo, o ataque nucleofílico do selenol no centro de ouro leva à eliminação de PET<sub>3</sub> e o íon Au<sup>1+</sup> é preso pelas ligações Se-Au-Se e, após liberação, a fosfina sofre uma oxidação espontânea para produzir O=PEt<sub>3</sub>.<sup>20</sup> Embora a Sec e Cys sejam amplamente consideradas como principais alvos de ligação dos íons Au, a coordenação entre íons Au(I) e histidina (His) também tem sido observada. Zou *et al.*<sup>21</sup> relataram a estrutura cristalina de um aduto de [Au(PET<sub>3</sub>)Cl] com a enzima ciclofilina 3 (Cyp-3). Essa enzima contém quatro resíduos de cisteína, dos quais os resíduos Cys163 e Cys168 são acessíveis para ligação Au-S. No entanto, a estrutura cristalina do aduto Au<sup>1+</sup>-Cyp-3 não apresentou a esperada coordenação S<sub>Cys</sub>-Au(I), em vez disso, evidenciou-se a ligação N<sub>His</sub>-Au(I)-PET<sub>3</sub>. O ensaio acoplado com a enzima quimotripsina revelou que a ligação de His133-Au(I) de Cyp-3 pode inibir significativamente a atividade da peptidilprolil isomerase (PPIase) (também conhecida como CypA) com o composto [Au(PET<sub>3</sub>)Cl] em uma concentração inibitória média (IC<sub>50</sub>) de 14 nmol L<sup>-1</sup>.<sup>21</sup> De fato, estudos teóricos sugerem que a reação com selenatos é mais rápida e espontânea do que com tióis. Porém, a energia de ativação para a reação de Au(I) com histidina se mostra bastante próxima à da cisteína.<sup>22,23</sup>

Complexos de Au(III) por terem geometria quadrática plana e serem isoeletrônicos dos complexos de Pt(II) (configuração eletrônica de valência d<sup>8</sup>), têm sido considerados desde os anos 80 como outra classe de compostos promissores para o tratamento do câncer, SIDA e outras doenças. Em contraste com os complexos de Pt(II), complexos

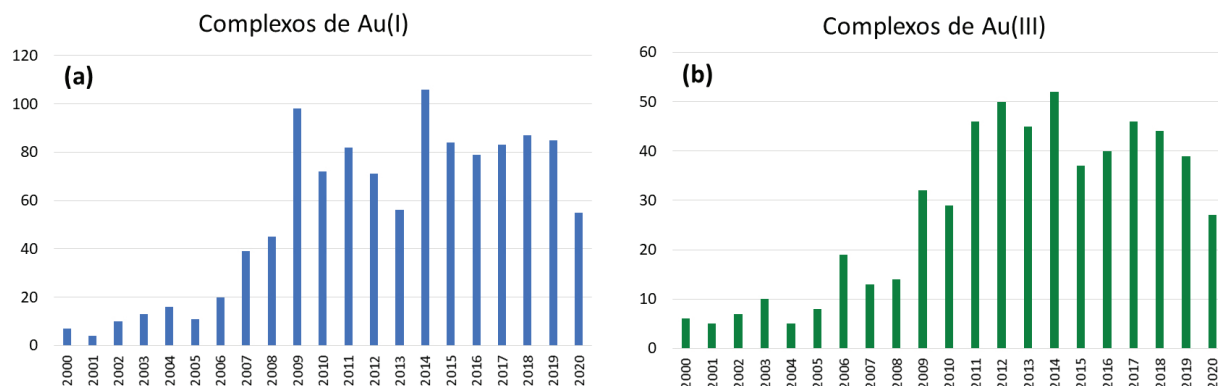
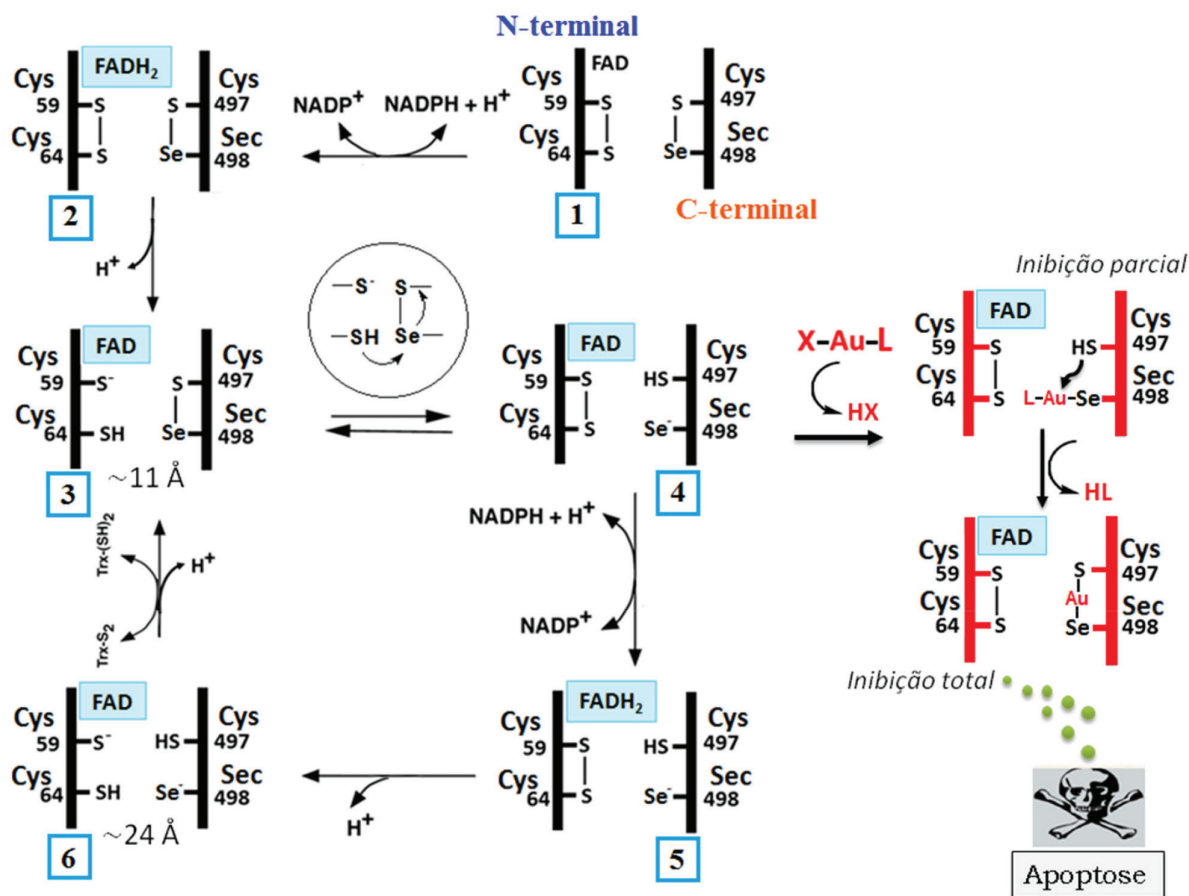


Figura 2. Número de artigos publicados sobre complexos Au(I) e Au(III) como agentes anticâncer nos últimos 20 anos. Dados obtidos do Scifinder usando as palavras: “complexes, Gold(I), anticancer” para (a) e “complexes, Gold(III), anticancer” para (b)



**Figura 3.** Mecanismo de reação proposto para a interação de complexos de Au(I) com a enzima TrxR reduzida (adaptado das referências<sup>17,18</sup>). No composto de ouro, X representa um ligante de caráter lábil como tetraacetil-β-D-tioglucoose ou cloreto e L um ligante forte doador como PR<sub>3</sub> ou NHC. O ciclo se inicia com a enzima totalmente oxidada (etapa 1), onde o cofator FAD é reduzido pelo NADPH (etapa 2). Na etapa 3, o braço C-terminal dirige-se para o centro redox N-terminal para ser reduzido. A distância entre os grupos Cys497 e Sec498 (C-terminal) e Cys59 e Cys64 (N-terminal) é ao redor de 11 Å. Uma vez reduzidos a região C-terminal e o FAD (etapas 4 e 5 respectivamente), o braço C-terminal desloca-se para a superfície da enzima ficando longe da região N-terminal a uma distância de ~24 Å como representado na etapa 6. Esta última posição tem importância no transporte dos elétrons para a superfície da enzima. Nesta etapa 6, a TrxR está pronta para reduzir a tiorredoxina (Trx), portanto é vantajoso manter o braço C-terminal próximo à superfície expondo o grupo selenato (Sec498). A interação covalente entre o composto de ouro e o braço C-terminal durante as etapas 4 ou 5 pode causar a inibição parcial ou total das atividades da TrxR o que conseqüentemente poderia desencadear a liberação de sinalizadores de apoptose celular

de Au(III) são menos estáveis em condições fisiológicas, devido a seu alto potencial de redução e rápida taxa de hidrólise. Devido a isso, na última década, cresceu o interesse particular na síntese de estruturas mais estáveis para estes compostos.<sup>24</sup>

Sabe-se que em condições fisiológicas, a redução de Au<sup>3+</sup> em Au<sup>1+</sup> ocorre rapidamente, e as espécies formadas de Au<sup>1+</sup> podem sofrer reações de troca de ligantes. Complexos de Au(III) podem ser reduzidos por agentes redutores celulares como a glutatona (GSH), a qual é o tiol intracelular mais abundante, apresentando concentrações de 0,5 a 10 mmol L<sup>-1</sup> em células cancerosas. Outros agentes como o ácido ascórbico também poderiam causar a redução dos complexos de Au(III).<sup>4</sup> Com base nessas observações, podemos propor duas possíveis vias de reação para um complexo de Au(III) uma vez que este ingresse na célula, como mostra a Figura 4. Como os complexos de Au(III) são geralmente tetracoordenados e complexos de Au(I)/Au(0) geralmente contêm menos de quatro ligantes coordenados (geralmente são estruturas lineares), a redução do Au<sup>3+</sup> será acompanhada pela liberação de ligantes.<sup>4,23,25</sup> Na etapa [I], mostra-se a redução de um complexo de Au(III) tetra-coordenado até Au(I) di-coordenado, acompanhado da liberação de ligantes. Por outro lado, a etapa [II] representa a reação de troca de ligante com o nucleófilo através de um estado

de transição trigonal plano. Considerando o caminho de reação na direção oposta, o complexo de Au(III) tetra-coordenado sofre primeiramente uma reação de substituição nucleofílica através de um estado de transição penta-coordenado (etapa [II]) e depois é reduzido a Au<sup>1+</sup> (2),(3), considerando duas reduções com liberação de ligantes (incluindo a liberação do nucleófilo). Dependendo do tipo de ligantes, a etapa [I] pode acontecer via uma reação de hidrólise prévia (L<sub>n</sub>/H<sub>2</sub>O) e posterior substituição da água por um nucleófilo mais forte (H<sub>2</sub>O/Nu). A via de reação a seguir dependerá da estabilidade do complexo de Au(III).

A estabilidade dos complexos metálicos é geralmente melhorada por ligantes quelantes multidentados, fazendo com que a maioria dos compostos de Au(III) desenvolvidos atualmente contenha ligantes bidentados N<sup>2</sup>N, C<sup>2</sup>N, tridentados N<sup>2</sup>N<sup>1</sup>N, C<sup>2</sup>N<sup>2</sup>N, C<sup>2</sup>N<sup>2</sup>C, porfirinas, ditiocarbamatos, entre outros. A maioria destes complexos de Au(III) são estáveis em solução aquosa porque contêm átomos de carbono desprotonados doadores (C<sup>-</sup>-carbânion) exibindo estabilidade redox contra agentes redutores celulares, como o ácido ascórbico e a glutatona (GSH).<sup>4,24</sup> Li *et al.*<sup>26</sup> mostraram que após o tratamento com GSH o complexo [Au(C<sup>2</sup>N<sup>2</sup>C)(meim-1)]<sup>+</sup> (meim-1=1-metilimidazol) não sofreu demetalização em um período de 24 horas demonstrando sua elevada estabilidade em solução.<sup>26</sup>

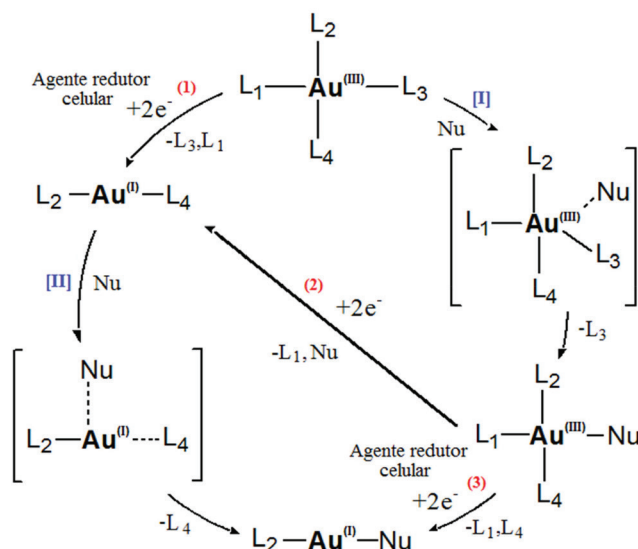


Figura 4. Possíveis caminhos de reação de complexos de Au(III) em ambiente celular<sup>23,25</sup>

Sabe-se há muito tempo que os complexos metálicos  $d^8$  quadráticos-planos possuem atividade devido a ligações covalentes cruzadas (*crosslink*) dos íons metálicos  $d^8$  ao ADN, por intercalação dos complexos metálicos planares entre os pares de bases de ADN e/ou por inibição de atividades enzimáticas.<sup>4,24,26-36</sup> Além de potentes inibidores de enzimas/proteínas contendo tióis e selenatos, complexos de Au(III) também têm mostrado afinidade pelo ADN.<sup>24,26,29,33</sup> A busca de compostos mais estáveis levou a síntese de diversos complexos de Au(III) contendo ligantes quelantes planos que lhe atribuíram a característica de metalintercaladores. A interação dos complexos de ouro com vários alvos celulares importantes para diferentes doenças lhes confere um modo de ação diferente ao mecanismo convencional dos complexos de Pt(II), o que tem chamado a atenção dos pesquisadores nas últimas décadas.

A presente revisão descreve o desenvolvimento de complexos de Au(I) especialmente aqueles estabilizados por ligantes  $PR_3$ , NHCs e complexos de Au(III) contendo diferentes ligantes multidentados, os quais têm mostrado uma excelente atividade como agentes antitumorais nos últimos anos. Mais detalhes sobre mecanismos de ação e a interação destes mesmos com diferentes alvos de interesse serão discutidos, juntamente com algumas abordagens gerais que têm sido utilizadas para tentar melhorar sua eficácia anticâncer.

#### AURANOFINA COMO AGENTE ANTICÂNCER

A AF (o antiartrítico conhecido comercialmente como Riadura<sup>®</sup>, **3**; Figura 1) é há muito tempo conhecida por inibir o crescimento de diferentes células cancerígenas *in vitro*. Porém, como já mencionado, sua atividade antitumoral *in vivo* tem sido limitada. A AF aumentou efetivamente o tempo de vida de camundongos inoculados com células de leucemia linfocítica P388 de maneira dependente da concentração e da dose.<sup>5</sup> No entanto, estudos posteriores mostraram que quando a AF é administrada via injeção intraperitoneal (i.p), ela não inibe o crescimento nem prolonga a sobrevivência de vários modelos de tumores implantados nos camundongos. De fato, Mirabelli *et al.*<sup>37</sup> relataram que, mesmo para camundongos portadores do modelo de leucemia P388, a AF só foi eficaz quando foi administrada via i.p., mas permaneceu inativa quando administrada por via intravenosa (i.v.) ou via subcutânea (s.c.).<sup>37</sup> Estudos sobre o mecanismo de ação revelaram que a AF reage rapidamente com a Cys34 de albumina sérica, a qual é a proteína mais abundante no soro sanguíneo (concentração de 3,5 a

5,0 g 100 mL<sup>-1</sup>). Descobriu-se que a albumina do soro transporta cerca de 80-95% de ouro da AF adicionada ao sangue total. Na estrutura da forma principal da albumina está presente um resíduo de cisteína na posição 34 (Cys34) que transporta um grupo tiol ácido.<sup>38</sup> Esse grupo é normalmente desprotonado em pH fisiológico (pKa <5,0) e oferece um potencial sítio de ligação para  $Au^{1+}$ .<sup>4</sup> Apesar do fato de que tiol-proteínas da membrana celular podem mediar a captação de íons de ouro que se ligam à albumina, a captação celular é muito mais lenta, tendo como resultado uma baixa citotoxicidade.<sup>4</sup> Isso poderia explicar a baixa eficácia da AF em diferentes modelos tumorais *in vivo*. Apesar destas limitações mencionadas, a AF atualmente encontra-se em fase II de ensaios clínicos em pacientes com câncer de pulmão e de ovário na clínica Mayo em colaboração com o Instituto Nacional de Câncer (NCI) nos Estados Unidos de América.<sup>39</sup>

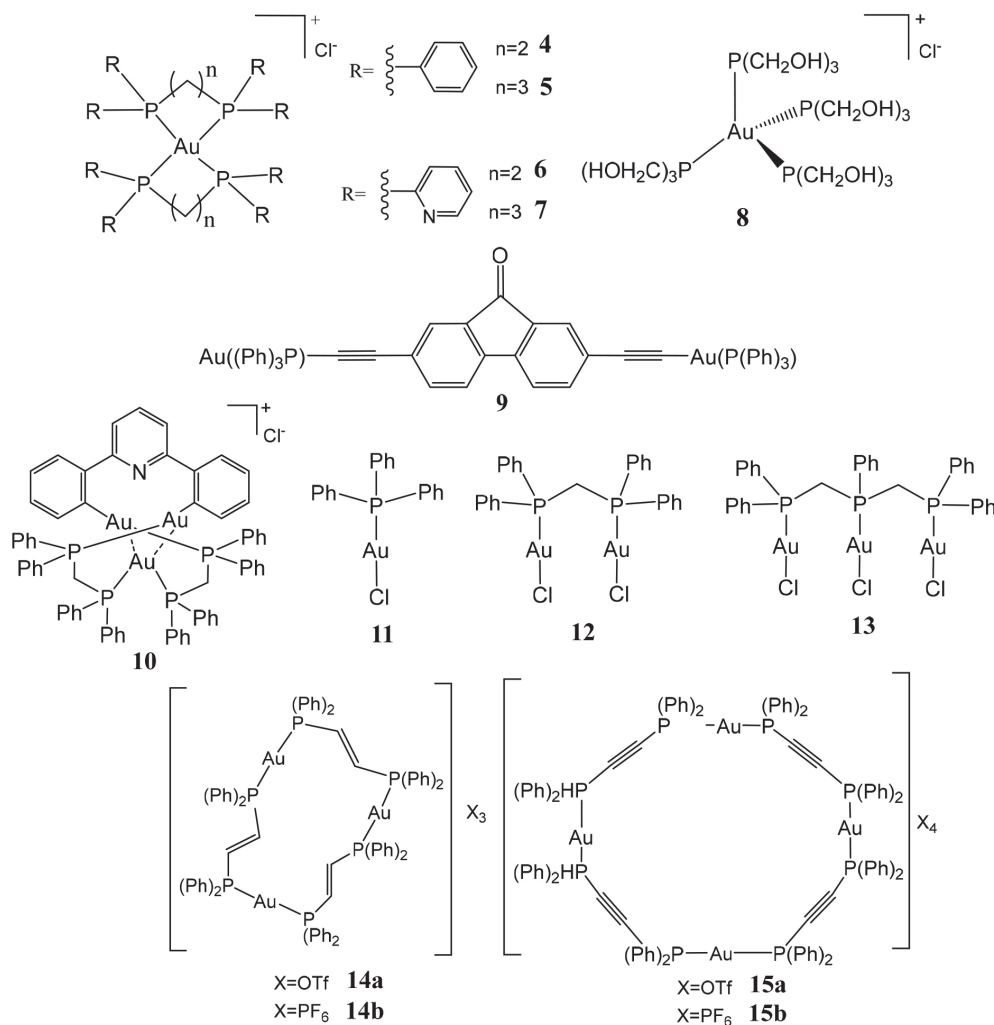
#### COMPLEXOS Au(I)-FOSFINAS

Complexos Au(I)- $PR_3$  têm sido estudados como agentes anticancerígenos por mais de três décadas. Berners-Price *et al.*<sup>40</sup> e Humphreys *et al.*<sup>41</sup> desenvolveram complexos tetracoordenados de Au(I)  $[Au(dppe)_2]Cl$  (dppe=bis(difenilfosfino)etano) e  $[Au(dppp)_2]Cl$  (dppp=bis(difenilfosfino)propano) representados como **4** e **5**, respectivamente, na Figura 5, os quais mostraram alta lipofilicidade.<sup>40,41</sup> O complexo **4** se mostrou bastante estável quando comparado com seu análogo linear dicoordenado. Estudos de RMN de <sup>31</sup>P não revelaram reação deste com excesso de GSH após 8 dias de tratamento. Interessantemente, o composto **4** mostrou uma significativa atividade antitumoral *in vivo* contra uma gama de modelos de tumores de camundongos, incluindo leucemia e tumores sólidos. Esse foi selecionado para ensaios pré-clínicos, mas foi abandonado quando se evidenciou hepatotoxicidade grave em cães. Relações de estrutura-atividade mostraram que a maior atividade *in vitro* foi encontrada quando R=fenil e n=2 e 3 (ver estruturas **4** e **5**; Figura 5). Esse trabalho se mostrou particularmente marcante já que estudos posteriores se concentraram no desenvolvimento de complexos anticâncer de Au(I) de menor caráter lipofílico e mais reativos. O complexo análogo de **4**,  $[Au(d_2pyp)_2]Cl$   $d_2pyp=(2-$  piridildifenilfosfino)etano (**6**; Figura 5), com lipofilicidade intermediária, foi ativo em tumores de cólon em camundongos.<sup>40</sup> Por outro lado, o composto **7**  $[Au(d_2pypp)_2]Cl$   $d_2pypp=(2-$  piridildifenilfosfino)propano exibiu maior inibição da atividade de TrxR e foi mais seletivo para células de câncer de mama.<sup>41</sup>

Em 2003, Pillarsetty *et al.*<sup>42</sup> descreveram outro complexo tetracoordenado de  $[Au(PCH_2OH)_4]Cl$  (**8**; Figura 5). Esse composto apresentou excelente atividade contra o câncer de próstata (LNCaP, PC-3), células do carcinoma gastrointestinal e do cólon (HCT-15) em experimentos *in vitro* e *in vivo*. A administração do composto **8** em camundongos inoculados com células meth/A singênicas com 3 doses (doses totais de 75, 125 e 375 mg kg<sup>-1</sup>) prolongou significativamente o tempo de vida dos ratos, sendo esse dependente da dose aplicada. Além da eficácia terapêutica, não foi encontrada toxicidade aguda nos camundongos quando o composto **8** foi administrado em uma faixa de 0-125 mg kg<sup>-1</sup> por três vezes.<sup>42</sup>

Em 2009, Chui *et al.*<sup>43</sup> estudaram a atividade antitumoral de uma série de compostos  $[Au(PPh_3)(dielinilfluorenos)]$ . Entre eles, o complexo **9** da Figura 5 apresentou uma maior atividade citotóxica do que a cisplatina em estudos *in vitro* em três linhas celulares de câncer humano: Hep3B (hepatoma), MDA-MB231 (adenocarcinoma da mama) e SKHep-1 (adenocarcinoma do fígado), com valores de IC<sub>50</sub> de ~1,7 ~5,1 e ~4,7  $\mu mol L^{-1}$ , respectivamente (ver Tabela 1). O composto **9** induziu a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) em células de carcinoma hepatocelular Hep3B. Também exibe uma boa atividade antitumoral do modelo de xenoinxerto Hep3B





**Figura 5.** Estruturas químicas de complexos anticâncer de Au(I) contendo ligantes de fosfina

em camundongos após nove dias de tratamento. Porém, esse composto apresentou efeitos colaterais limitados em órgãos vitais como fígado e rim. Estudos de relações estrutura-atividade mostraram que a presença da carbonila em **9** parece determinar suas propriedades biológicas, uma vez que a mudança desse grupo carbonila por CH<sub>2</sub> diminui completamente sua citotoxicidade.<sup>43</sup>

A autofagia é um processo catabólico celular que leva à degradação de componentes do citoplasma através dos lisossomas. Tian *et al.*<sup>44</sup> relataram uma série de compostos Au(I)-fosfina (**10-13**) com propriedades anticâncer que podem induzir a autofagia. Todos os compostos apresentaram valores IC<sub>50</sub> na mesma ordem de magnitude que a cisplatina (ver Tabela 1). Os compostos **11-13** aumentaram o acúmulo de autofagossomas em células Hela, o qual está associado à morte celular. Os resultados sugerem que esses compostos modulam distintamente a autofagia através de uma acumulação de autofagossomas, que são os vacúolos intermediários na via para a autofagia. Complexos de Au(I)-PR<sub>3</sub> com propriedades indutoras de autofagia podem fornecer uma nova estratégia para o desenvolvimento de drogas anticâncer.<sup>44</sup>

Compostos de ouro contendo difosfinas quelantes tais como **4-7**, discutidos anteriormente, continuaram sendo investigados. Estratégias para alterar o tamanho do anel quelato, variações no contra-íon e ligantes substituintes também têm sido testados para melhorar as propriedades desse tipo de compostos.<sup>45,46</sup> Em 2017, Reddy *et al.*<sup>46</sup> reportaram a atividade anticâncer de complexos metálicos trímeros e tetrâmeros cíclicos contendo a fração P-Au(I)-P. Os complexos

[Au<sub>3</sub>(μ-dppen)<sub>3</sub>]X<sub>3</sub>, e [Au<sub>4</sub>(μ-dppa)<sub>4</sub>]X<sub>4</sub> [X=OTf; X=PF<sub>6</sub>] (**14-15**; Figura 5) apresentaram uma grande inibição do crescimento das células cancerosas de próstata (DU145), cervical (HeLa), mama (MDA-MB231) e fibro sarcoma (HT1080) com valores de IC<sub>50</sub> no intervalo de 0,04 a 4,7 μmol L<sup>-1</sup> de citotoxicidade. Além disso, estes complexos exibiram uma alta seletividade entre as células tumorais e normais (HaCaT) em comparação com a cisplatina (ver Tabela 1). Todos os quatro compostos apresentaram atividade inibitória significativa da TrxR com valores de EC<sub>50</sub> na faixa de 0,03 a 0,26 μmol L<sup>-1</sup>. O complexo **14a**, que apresentou maiores efeitos inibidores do crescimento celular em comparação com os outros compostos, também apresentou maior atividade inibitória da TrxR *in vitro*. Estudos sobre o mecanismo antitumoral em células de fibro sarcoma (HT1080) foram investigados. O tratamento de células com estes compostos resultou na condensação de polímeros de actina (ensaio *actin staining*) e em uma inibição potente da migração das células do local inicial do tumor (ensaio *healing*). Resultados de citometria de fluxo indicam que o tratamento com estes compostos leva ao bloqueio do ciclo celular da fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. Além disso, os complexos poderiam induzir a apoptose em células HT1080 por meio de disfunção mitocondrial e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS).<sup>46</sup> Subsequentemente, o mesmo grupo de pesquisa investigou o efeito da inclusão de grupos metoxibenzeno na fosfina, sobre a atividade biológica de uma série de compostos de ouro.<sup>47</sup> A atividade anticâncer para esse tipo de compostos foi avaliada nas linhas tumorais de ovário (SKOV-3), fibrossarcoma (HT1080), glioblastoma (U87MG), próstata (PC-3) e cervical (HeLa). De forma

**Tabela 1.** Valores de IC<sub>50</sub> para complexos selecionados de Au(I) contendo ligantes PR<sub>3</sub> em linhagens celulares cancerosas. As respectivas referências são dadas em colchetes

Composto	IC <sub>50</sub> , μmol L <sup>-1</sup>																	
	HeLa	Hep3B	SKHep-1	MDA-MB231	NCI-H460	SUNE1	HepG2	SW 480	PLC	HL-60	DU 145	HT 1080	B16-F10	CT26-WT	A2780/R	CCRF-CEM		
<b>9</b> <sup>[43]</sup>		1,7 ± 1,4	4,7 ± 1,5	5,1 ± 2,6														
<sup>a</sup> CDDP <sup>[43]</sup>		38 ± 4,2	41 ± 2,8	78,0 ± 4,6														
<b>10</b> <sup>[44]</sup>	10,7 ± 2,5			28,1 ± 2,7	57 ± 1,8	39,7 ± 1,6	63,9 ± 2,1	52,5 ± 3,5	>100	39,4 ± 0,6								
<b>11</b> <sup>[44]</sup>	4,9 ± 0,6			4,5 ± 0,4	11,0 ± 1,8	5,2 ± 0,8	13,7 ± 1,5	8,1 ± 1,5	7,0 ± 2,0	3,5 ± 0,5								
<b>12</b> <sup>[44]</sup>	3,4 ± 0,9			5,8 ± 2,3	19,6 ± 1,1	5,2 ± 1,9	22,0 ± 2,1	4,6 ± 0,3	23,8 ± 2,5	4,1 ± 1,1								
<b>13</b> <sup>[44]</sup>	10,6 ± 0,1			11,2 ± 3,1	27,3 ± 1,8	18,8 ± 2,9	33,5 ± 1,2	9,9 ± 1,4	24,8 ± 0,3	9,4 ± 1,0								
<sup>a</sup> CDDP <sup>[44]</sup>	5,1 ± 0,9			52,1 ± 2,5	31,8 ± 2,2	25,6 ± 1,5	80,0 ± 2,6	63,7 ± 3,2	>100	>100								
<b>14a</b> <sup>[46]</sup>	0,5 ± 0,08			0,36 ± 0,19							0,58 ± 0,1	0,04 ± 0,02						
<b>14b</b> <sup>[46]</sup>	1,4 ± 0,25			0,76 ± 0,27							4,65 ± 0,64	0,42 ± 0,19						
<b>15a</b> <sup>[46]</sup>	2,9 ± 0,73			1,23 ± 0,15							3,92 ± 0,66	0,29 ± 0,09						
<b>15b</b> <sup>[46]</sup>	3,1 ± 0,43			0,91 ± 0,26							2,8 ± 0,59	0,15 ± 0,04						
<sup>a</sup> CDDP <sup>[46]</sup>	3,0 ± 0,62			6,35 ± 1,65							1,64 ± 0,39	0,54 ± 0,11						
<b>16a</b> <sup>[51]</sup>													1,2 ± 0,2	1,8 ± 0,8				
<b>16b</b> <sup>[51]</sup>													5,7 ± 0,5	5,7 ± 0,9				
<b>17a</b> <sup>[51]</sup>													1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1				
<b>17b</b> <sup>[51]</sup>													1,8 ± 0,5	1,8 ± 0,3				
<sup>a</sup> CDDP <sup>[51]</sup>													6,0 ± 1,0	5,0 ± 1,7				
<sup>b</sup> AF <sup>[51]</sup>													0,5 ± 0,4	0,5 ± 0,4				
<b>27</b> <sup>[56]</sup>																	4,1 ± 2,5	
<sup>a</sup> CDDP <sup>[56]</sup>																	18,2 ± 1,0	
<b>28</b> <sup>[61]</sup>																		4,2 ± 0,9
<sup>b</sup> AF <sup>[61]</sup>																		6,0 ± 1,2

<sup>a</sup>CDDP=cis-diamino dicloro platina (cis-platina), <sup>b</sup>AF=Auranofina.

geral, os compostos contendo ligantes halogênio [AuX{P(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-OMe)<sub>3</sub>}] e [AuX{P(C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>-2,6-{OMe}<sub>2</sub>)<sub>3</sub>}] (X=Cl, Br, I) se mostraram menos ativos que os compostos a base de difosfinas [Au{P(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-4-OMe)<sub>3</sub>}<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, e [Au{P(C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>-2,6-{OMe}<sub>2</sub>)<sub>3</sub>}<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, confirmando que os substituintes metoxibenzênio na fosfina são cruciais para a atividade biológica. O complexo [Au{P(C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>-2,6-{OMe}<sub>2</sub>)<sub>3</sub>}<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> exibiu uma potente atividade anticâncer para todas as linhas celulares testadas com valores de IC<sub>50</sub> entre 0,19 e 0,77 μmol L<sup>-1</sup>. Esse último composto exibiu melhor atividade em relação à cisplatina, a qual apresentou valores IC<sub>50</sub>=0,63-8,22 μmol L<sup>-1</sup>. Tal composto também mostrou a maior inibição de crescimento de células 3D HeLa. Ensaios mostraram que o mecanismo de ação para este tipo de compostos é dado pela inibição da TrxR, causando o aumento da produção de ROS e subsequentemente indução de apoptose.<sup>47</sup>

De forma geral, as difosfinas são uma classe interessante de ligantes que oferecem diferentes modos de coordenação em torno do ouro, modulando a lipoficidade e a atividade anticâncer dos compostos obtidos. Uma ampla série de compostos anticâncer de ouro contendo ligantes difosfina, incluindo aqueles nos tipos quelante e ponte, têm sido desenvolvidos nos últimos 30 anos. Mais estratégias adotadas para melhorar as propriedades biológicas de compostos de ouro, a partir de difosfinas, podem ser consultadas na recente revisão de Mirzadeh e colaboradores.<sup>48</sup>

Alguns compostos orgânicos como tiazolidinas (TZD), oxadiazolidinas (ODZ) e tiossemicarbazonas (TSC) exibem um amplo espectro de atividade farmacológica. De fato, alguns deles estão presentes em muitos produtos naturais e medicamentos. A coordenação deste tipo de ligantes aos íons metálicos como Au<sup>1+</sup> e Au<sup>3+</sup>, tem

dado origem a diversos compostos de ouro com atividades notáveis especialmente contra doenças tropicais e câncer.<sup>49-52</sup> Nos últimos anos, pesquisadores têm tomado vantagem das propriedades de compostos Au-TZD/ODZ/TSC e Au-PR<sub>3</sub> para criar uma nova classe de complexos de Au(I) que combinasse estes dois tipos de ligantes. Garcia *et al.*<sup>51</sup> descreveram a atividade citotóxica contra linhas células tumorais B16-F10 (melanoma de pele) e CT26-WT (carcinoma colorretal) e a inibição da TrxR para quatro novos complexos de Au(I) com ligantes derivados de adamantano-1,3,4-oxadiazolinas ou 1,3-tiazolidinas heterocíclicas em conjunto com as fosfinas PEt<sub>3</sub> ou PPh<sub>3</sub> (**16-17**; Figura 6). Os complexos de Au(I)-tiazolidina (**17**) foram mais ativos que os complexos Au(I)-oxadiazol (**16**) e o uso da trietilfosfina como ligante auxiliar melhorou a atividade dos compostos em comparação à trifenilfosfina; este mesmo efeito foi observado para os análogos [Au(PEt<sub>3</sub>)Cl] e [Au(PPh<sub>3</sub>)Cl]. Os compostos **17** mostraram-se mais ativos e seletivos em comparação à cisplatina contra ambas células tumorais (Tabela 1). Em particular, o complexo **17a** e apresentou valores de IC<sub>50</sub> próximos à auranofina; no entanto, possui uma maior seletividade. O composto mais citotóxico da série (**17a**) também apresentou a melhor inibição da TrxR quando comparado à auranofina. Cálculos quânticos mostraram que os compostos de tiazolidina reagem com Sec muito mais rápido que os compostos de oxadiazol. Os autores sugerem que a maior resposta biológica para estes dois complexos pode ser devida à rápida troca de ligantes após a interação com o sítio de ligação à TrxR. De fato, a análise de *docking* indica que a flexibilidade deste tipo de estrutura favorece o ingresso do composto no sítio ativo da enzima e, além disso, pode alocar o complexo em uma posição mais favorável ao ataque nucleofílico dos grupos Sec/Cys.<sup>51</sup> Em 2017, Tavares *et al.*<sup>52</sup> adotaram uma estratégia similar, usando ligantes tiossemicarbazonas em conjunto com ligantes de fosfina para o desenho de compostos anticâncer de Au(I). Os complexos metálicos do tipo [Au(aryl-TSC)(PPh<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> (**18a-f**; Figura 6) foram mais citotóxicos e seletivos do que seus respectivos análogos [Au(aryl-TSC)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> sem a presença da fosfina contra as células tumorais de B16-F10 e CT26-WT. Apesar disso, **18a-f** exibiram uma capacidade moderada para inibir a TrxR (entre 56-78%) em comparação aos compostos [Au(aryl-TSC)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, os quais inibiram quase completamente a enzima. A discussão anterior é contraditória com o resultado de citotoxicidade observado para ambas séries de compostos, no entanto, os autores discutem que as condições do teste com a enzima isolada excluem a captação celular a qual é altamente promovida pelos grupos fosfina. A análise de *docking* sugeriu que a inibição da TrxR é dada principalmente pela interação entre o ligante TSC com o resíduo de tirosina (Y116) do N-terminal, o qual é considerado chave para o mecanismo catalítico da enzima. Em relação à cisplatina, os compostos **18a-f** mostraram similar citotoxicidade (IC<sub>50</sub> <2 μmol L<sup>-1</sup>), porém, se mostraram menos seletivos.<sup>52</sup>

Complexos de ouro têm se mostrado promissores agentes antimaláricos após a coordenação de diferentes compostos orgânicos, como o fármaco cloroquina (CQ).<sup>67,53</sup> A atividade anticâncer do composto antimalárico [Au(CQ)(PPh<sub>3</sub>)PF<sub>6</sub>] (**19**; Figura 6) também foi testada em diferentes linhagens celulares tumorais humanas. A citotoxicidade de **19** foi testada em conjunto com os análogos [Au(CQ)Cl] e [Au(CQ)tgta] (tgta=tetraacetato de β-tioglicosa), sem a presença da fosfina. De forma geral, a atividade destes dois últimos foi maior do que a mostrada pela CQ livre e a cisplatina, mas não tão acentuada como a exibida pelo composto **19**. Este último exibiu valores de GI<sub>50</sub> de 0,03 e 0,04 μmol L<sup>-1</sup> nas células de câncer de cólon (HT-29) e melanoma (B16/BL6). O composto **19** se mostrou como potente inibidor da TrxR (IC<sub>50</sub>=8,75 nmol L<sup>-1</sup>), entretanto, em menor proporção em relação ao composto de controle [Au(PEt<sub>3</sub>)Cl] (IC<sub>50</sub>=2,58 nmol L<sup>-1</sup>).<sup>53</sup>

Recentemente, Gambini *et al.*<sup>54</sup> relataram que os compostos Au(I)-azolato/fofanos, [Au(4,5-dicloro-1H-imidazolato-1-il)-(trifenilfosfano)] e [Au(4,5-dicianil-1H-imidazolato-1-il)-(trifenilfosfano)] (**20a** e **20b** respectivamente; Figura 6) mostraram maior citotoxicidade entre a série estudada, principalmente nas células de câncer de mama HMLE/FoxQ1, com valores de IC<sub>50</sub> de 7,41 e 9,27 μmol L<sup>-1</sup>. Os compostos **20a,b** foram testados em tumores A17 transplantados em camundongos singênicos. Após 19 dias de tratamento, estes compostos inibiram o crescimento do tumor similarmente à cisplatina, porém, nos últimos 5 dias de tratamento a cisplatina mostrou-se mais efetiva na supressão do tumor. Apesar disso, **20a,b** exibiram baixa nefrotoxicidade em relação à cisplatina devido ao aumento da hidrofiliabilidade deste tipo de compostos permitindo uma boa excreção de ouro dos rins. Estudos sobre o mecanismo de ação sugerem que ambos os complexos de Au(I) inibiram a proteína desubiquitinase (DUBs) USP14 associada ao proteossoma 19S (responsável pelo controle das quantidades de várias proteínas reguladoras e proteínas danificadas) e induziram apoptose. Adicionalmente, o composto **20a** também depende de sua capacidade de reduzir moléculas chave como STAT3 e Cox-2 que governam o crescimento e a progressão do câncer.<sup>54</sup>

A coordenação de peptídeos a íons metálicos pode ajudar na liberação de complexos metálicos, conseguindo cruzar eficientemente as membranas celulares e se acumular nas mitocôndrias das células cancerígenas. Köster *et al.*<sup>55</sup> relataram a atividade anticâncer de uma série de compostos de fórmula Au(I)-fosfina contendo ligantes di e tetrapeptídeos (compostos **21-26**; Figura 6). A citotoxicidade dos compostos variou de 2 a 50 μmol L<sup>-1</sup> quando testados contra células tumorais HT-29 e MCF-7 e está correlacionada com a lipofiliabilidade dos mesmos. Verificou-se também que os compostos inibem a TrxR, o que levou a níveis elevados de ROS, a perda da função mitocondrial da membrana e, finalmente, apoptose. Em particular, foi observado um efeito na taxa de respiração de células de câncer de mama MDA-MB231 mutantes de p53 altamente agressivas e resistentes à cisplatina.<sup>55</sup>

O uso de ligantes do tipo PTA (1,3,5-triaza-7-fosfadamantane) tem levado à obtenção de complexos de Au(I) solúveis em água com interessantes propriedades antitumorais contra células de câncer de ovário e cólon.<sup>56-59</sup> Vergara *et al.*<sup>56</sup> relatam a atividade anticâncer e a inibição da TrxR de uma série de análogos da AF contendo um tiolato e um ligante fosfina solúvel em água, como PTA. Os valores de IC<sub>50</sub> desses compostos nas células A2780, resistentes e sensíveis à cisplatina, variam de 4 a 30 μmol L<sup>-1</sup>, sendo o composto **27** (Figura 6, Tabela 1) o mais ativo. As concentrações nanomolares destes compostos inibem a TrxR citosólica e mitocondrial. Os valores de IC<sub>50</sub> para a inibição da isoforma mitocondrial são aproximadamente quatro vezes mais altos que os da forma citosólica, fenômeno também observado em outros complexos de Au(I) e atribuído a variações de sequência que tornam o local ativo citosólico mais ácido. No entanto, a inibição da isoforma citosólica e mitocondrial da TrxR interrompe a homeostase redox celular e altera o estado de oxidação dos tióis mitocondriais, o que por sua vez afeta a permeabilidade da membrana mitocondrial, de modo que, em qualquer caso, o complexo metálico provoca atividade antimitocondrial.<sup>56</sup> Recentemente, compostos similares foram estudados usando a fosfina P(NMe<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, que é mais solúvel do que PTA, e incluindo uma maior variedade de grupos tiolatos.<sup>60</sup> Os resultados revelaram que a inclusão da fosfina P(NMe<sub>2</sub>)<sub>3</sub> aumenta a atividade antiproliferativa nas células A2780, resistentes e sensíveis à cisplatina, comparada com a atividade observada com PTA. Adicionalmente, os complexos de Au(I) contendo os tióis 2-tiobenzimidazole e 2-tiouroacil exibiram uma alta seletividade específica para células Caco-2 de câncer de cólon, sendo considerados como promissores candidatos a drogas anticâncer. A inibição da TrxR e

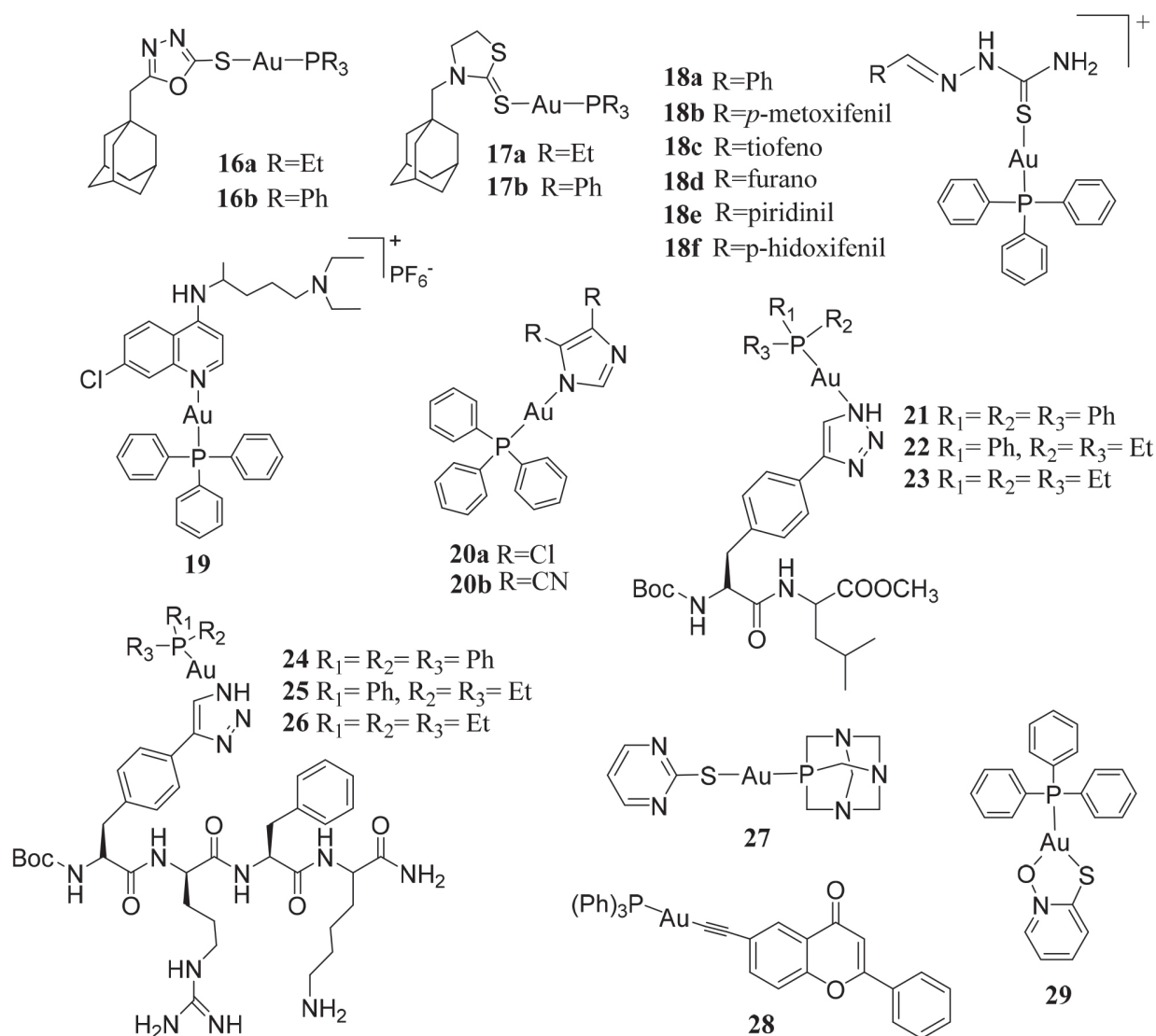


Figura 6. Estruturas químicas de complexos Au(I)-PR<sub>3</sub> com atividade anticâncer

danos oxidativos nos lipídios da membrana foram evidenciados como modo de ação deste tipo de compostos.<sup>60</sup>

Os complexos de Au(I) contendo ligantes fosfina e grupos alcinil também representam candidatos promissores a drogas anticâncer. O composto **28** (Figura 6, Tabela 1), reportado por Hikisz *et al.*,<sup>61</sup> no qual um ligante flavona está ligado à fração Au(PPh<sub>3</sub>) por meio de um ligante alcinil, apresentou atividade inibitória contra a TrxR. A TrxR celular é inibida pelo complexo **28**, mas não foi observada uma correlação entre inibição e citotoxicidade. Em vez disso, foram obtidas evidências de que outros modos de ação, incluindo danos ao ADN e distúrbios do ciclo celular, também são atuantes.<sup>61</sup>

Diversas evidências experimentais têm mostrado que as enzimas deubiquitinas (DUBs) desempenham um papel importante em vários estágios do câncer. Tal fato fez com que recentemente fosse desenvolvida uma nova classe de compostos direcionados aos DUBs para inibir o crescimento tumoral.<sup>54,62</sup> Li *et al.*<sup>63</sup> reportaram em 2019 a síntese de um novo complexo de Au(I), [Au(PPh<sub>3</sub>)PT] (**29**, Figura 6). A atividade inibitória de [Au(PPh<sub>3</sub>)PT] (PT=piritiona) no sistema ubiquitina-proteassoma (UPS) e o crescimento de múltiplos tipos de células cancerígenas foram testados *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*. Tal composto induziu apoptose em duas linhas celulares de câncer de pulmão A549 e NCI/H1299; essa atividade anticâncer foi atribuída em parte à inibição seletiva das DUBs associadas ao proteassoma

19S e à diminuição da atividade de outras DUBs citoplasmáticos não proteassomais (USP7, USP10, USP15 e USP25). Além disso, o composto **29** induziu apoptose em células cancerígenas de pacientes com leucemia mielóide aguda, suprimiu efetivamente o crescimento de xenocertos de adenocarcinoma de pulmão em camundongos nus e provocou menos citotoxicidade em células normais do que vários outros complexos metálicos. Após a análise de tais resultados, concluiu-se que tal complexo é um inibidor eficaz das DUBs e potencial quimioterápico.<sup>63</sup> Estudos prévios têm mostrado que a AF inibe algumas DUBs-proteassomais como UCHL5 e USP14.<sup>64</sup> De fato, como já mencionado, os compostos **20a,b** também mostraram capacidade de inibir a USP14, o que leva a inferir que o ligante fosfina tem um papel importante na inibição destas enzimas.

#### COMPLEXOS Au(I)-NHC

Carbenos N-heterocíclicos (NHCs) são compostos de última geração e atualmente não há dúvida de que eles têm causado um impacto significativo na ciência e na química em geral. Os NHCs são relativamente não-tóxicos, possuem fortes propriedades doadoras de elétrons e suas variações estruturais são essencialmente ilimitadas, permitindo-se ajustar sua lipoficidade e reatividade.<sup>14</sup> Complexos de metais de transição-NHC são facilmente preparados partindo-se de



sais de imidazol. Assim, complexos Au(I)-NHC têm sido extensivamente investigados nas últimas duas décadas.

Em 2006, uma série de complexos catiônicos de fórmula geral  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$  (**30**; Figura 7), foram preparados e elucidados por Baker *et al.*<sup>65</sup> Os substituintes alquila dos ligantes NHC foram variados para modular as propriedades lipofílicas dos complexos resultantes. Os valores do logaritmo decimal do coeficiente de partição octanol/água ( $\log P_{ow}$ ) para estes compostos variaram entre -1,09 a 1,73 e aumentaram conforme o esperado:  $\text{R}=\text{Me}<\text{i-Pr}<\text{t-Bu}<\text{n-Bu}<\text{Cy}$ . Os compostos induzem à permeabilização da membrana mitocondrial do fígado de rato, a qual pode ser atribuída por ambas características catiônicas e lipofílicas. De fato, os resultados mostraram que existe uma relação direta entre a atividade antimitocondrial e a lipoficidade do complexo metálico.<sup>65</sup> Estudos subsequentes focaram-se na inibição da enzima TrxR.<sup>66</sup> Para entender o mecanismo de inibição

da TrxR com os compostos  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$ , estudaram-se reações de troca de ligante R-NHC/Cys,Sec em duas etapas consecutivas, utilizando-se RMN de  $^1\text{H}$ . Os valores das constantes de velocidade estimadas indicaram que a reação de troca de  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$  com substituintes mais volumosos no NHC diminui a velocidade da reação, onde a reação com Sec mostrou-se mais rápida do que com Cys. Os compostos **30b**, **30c** e **30d** se mostraram seletivamente tóxicos em células de câncer de mama (MDA-MB-231 e MDA-MB-468), mas não para as células normais. O grau de seletividade se correlaciona com seus valores de  $\log P_{ow}$ . O composto **30c** inibiu a atividade da TrxR ( $\text{IC}_{50} = \sim 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), porém, não houve inibição da atividade intracelular da GR nas mesmas condições.<sup>66</sup> Mais recentemente, foi descrita uma análise cinética mais detalhada da mesma reação de troca R-NHC/Cys em compostos  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$  usando cálculos DFT.<sup>67</sup> Para a primeira etapa da reação, a qual se mostrou como

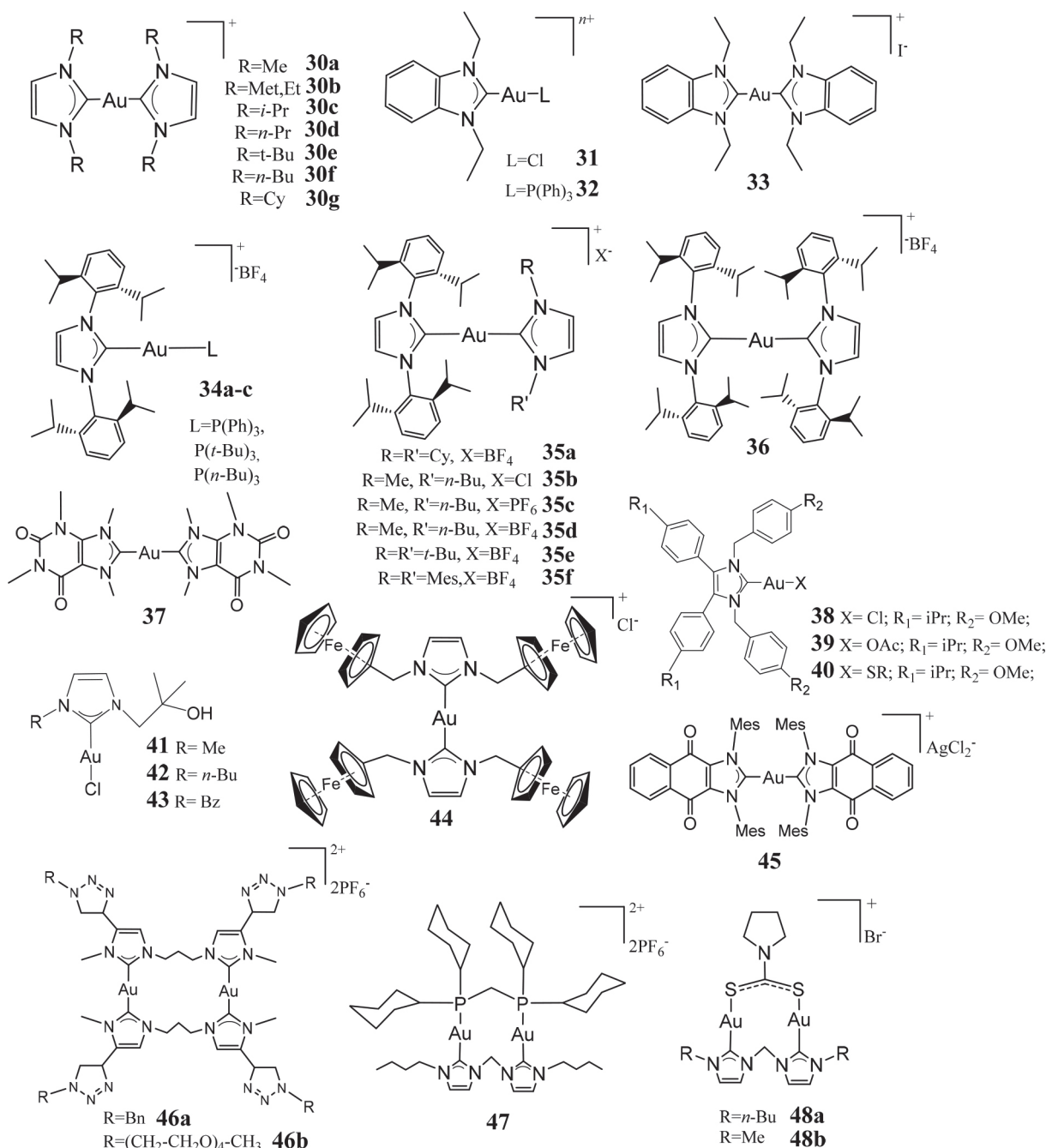


Figura 7. Estruturas químicas de complexos anticâncer de Au(I) contendo ligantes NHC

a etapa limitante da reação total, a entalpia de ativação seguiu a ordem  $\text{Me} < \text{Me}, \text{Et} < n\text{-Bu} < i\text{-Pr} < \text{Cy} < t\text{-Bu}$ , que pode ser explicada por características estéricas e eletrônicas. Os resultados sugerem que o derivado R-NHC (R=Me) leva a uma rápida reação com nucleófilos, em que o estado de transição é menos estabilizado pela  $\sigma$ -doação do carbeno. A segunda etapa de reação também mostrou relações similares de estrutura, porém, as energias de ativação foram menos sensíveis à estrutura.<sup>67</sup>

Rubbiani *et al.*<sup>68</sup> descreveram uma série de complexos  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{L}]^{n+}$  (em que o NHC é 1,3-dietilbenzimidazol-2-ilideno) como potentes inibidores da TrxR. O  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{Cl}]$  inibiu a respiração mitocondrial, aumentou a formação de ROS e induziu a apoptose afetando fortemente o metabolismo celular.<sup>68</sup> O estudo de propriedades farmacodinâmicas com a variação do ligante L (L=Cl, PPh<sub>3</sub> e NHC; **31-33**, Figura 7) foi avaliado posteriormente.<sup>69</sup> A espectrometria de absorção atômica revelou que as velocidades de reação de troca do ligante L com a Cys34 da albumina sérica foram dadas na ordem **31** > **32** > **33**. Como esperado, a reação de troca é mais rápida para o composto **31**, o qual contém o ligante lábil cloreto. As atividades de inibição de TrxR destes complexos seguiram a mesma ordem com

valores de EC<sub>50</sub> 0,36, 0,66, 4,89  $\mu\text{mol L}^{-1}$  respectivamente. A substituição do cloro no composto **31** pelos ligantes fosfina e NHC levou a um aumento de aproximadamente 5 vezes na potência antiproliferativa em células de câncer de mama (MCF-7), bem como um aumento de aproximadamente 15 vezes nas células de câncer de cólon (HT-29). Com relação à biosseletividade, apenas o composto **33** apresentou alguma preferência por células tumorais sobre as não tumorigênicas HEK-293 (ver Tabela 2).<sup>69</sup> Anteriormente, Weaver e colegas haviam reportado uma ampla série de complexos de ouro catiônicos similares do tipo  $[\text{Au}(\text{R-NHC})\text{PR}_3]^+$  e  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$  com o ligante NHC substituído com grupos volumosos (**34-36**, Figura 7).<sup>70</sup> Esses compostos mostraram uma alta citotoxicidade em células de câncer de mama e próstata com valores de IC<sub>50</sub> entre 0,21 e 1,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Tais valores são incluídos na Tabela 2. A inclusão de fragmentos biocompatíveis, tais como tioglicose, sacarina, aminoácidos e esteroides como ligantes (L) para formar compostos neutros do tipo  $[\text{Au}(\text{R-NHC})\text{L}]$ , resultou em uma diminuição significativa da atividade para o mesmo grupo de células cancerosas. Provavelmente, o caráter lipofílico é um importante parâmetro o qual está associado ao acúmulo mitocondrial.<sup>70</sup> De fato, a inibição da função mitocondrial tem sido uma das principais

**Tabela 2.** Valores de IC<sub>50</sub> para complexos selecionados de Au(I) contendo ligantes NHC em linhagens celulares cancerosas. As respectivas referências são dadas em colchetes

Composto	IC <sub>50</sub> , $\mu\text{mol L}^{-1}$													
	MCF-7	HT-29	HEK-293	LNCap	MDA-MB231	A549	A2780	A2780 cis	PC-3	HCT 116	SKOV3	MRC5	HepG2	U-87 MG
<b>31</b> <sup>[69]</sup>	4,57 ± 0,03	6,41 ± 1,97	10,3 ± 1,10											
<b>32</b> <sup>[69]</sup>	0,89 ± 0,40	0,40 ± 0,18	0,41 ± 0,18											
<b>33</b> <sup>[69]</sup>	0,81 ± 0,13	0,44 ± 0,13	3,13 ± 0,54											
<b>34a</b> <sup>[70]</sup>				0,73	0,38									
<b>34b</b> <sup>[70]</sup>				0,41	0,40									
<b>34c</b> <sup>[70]</sup>				0,38	0,35									
<b>35a</b> <sup>[70]</sup>				0,75	0,21									
<b>35b</b> <sup>[70]</sup>				0,41	0,48									
<b>35c</b> <sup>[70]</sup>				0,43	1,00									
<b>35d</b> <sup>[70]</sup>				0,63	0,82									
<b>35e</b> <sup>[70]</sup>				0,48	0,46									
<b>35f</b> <sup>[70]</sup>				0,42	0,38									
<b>36</b> <sup>[70]</sup>				0,37	0,37									
<b>44</b> <sup>[75]</sup>						0,14 ± 0,03	0,19 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,48 ± 0,15					
<b>45</b> <sup>[76]</sup>						0,07 ± 0,016	0,03 ± 0,007	0,05 ± 0,006	0,1 ± 0,017					
<sup>a</sup> Dx <sup>[76]</sup>						0,10 ± 0,023								
<sup>b</sup> AF <sup>[75,76]</sup>						1,67 ± 0,05								
<sup>c</sup> CDDP <sup>[76]</sup>	>10								5,1	3,3	4,4	8,5		
<b>46a</b> <sup>[77]</sup>	2,2 ± 0,2								3,6 ± 1,0	2,8 ± 0,8	12,0 ± 0,8	2,8 ± 0,1		
<b>46b</b> <sup>[77]</sup>	0,09 ± 0,01								0,25 ± 0,14	0,26 ± 0,12	4,4 ± 1,3	0,39 ± 0,02		
<b>48a</b> <sup>[80]</sup>							2,0 ± 0,68	0,83 ± 0,08					2,4 ± 1,0	2,1 ± 0,5
<b>48b</b> <sup>[80]</sup>							4,2 ± 0,83	7,5 ± 2,2					3,0 ± 0,7	7,2 ± 0,8
<sup>c</sup> CDDP <sup>[80]</sup>							3,2 ± 0,61	34 ± 2,4					12 ± 1,3	5,5 ± 0,97

<sup>a</sup>Dx=Doxorrubicina, <sup>b</sup>AF=Auranofina, <sup>c</sup>CDDP=cis-diamino dicloro platina (cis-platina).

características relatadas para esse tipo de compostos antitumorais  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{L}]^{n+}$  (em que L é um ligante doador de 2 elétrons), o qual tem atraído o interesse dos pesquisadores nas últimas duas décadas.<sup>13</sup>

Em 2012, um estudo descreveu pela primeira vez um composto catiônico do tipo  $[\text{Au}(\text{bis-NHC})]^+$  contendo um ligante à base de cafeína (**37**; Figura 7), seletivo para G-quadruplexes do ADN.<sup>71</sup> G-quadruplexes são sequências de ácidos nucleicos ricas em guanina, capazes de formar estruturas de quatro cadeias. Estas estruturas consistem num arranjo em quadrado de guaninas (tetrad) estabilizado por ligações de hidrogênio. São também estabilizadas pela existência de cátions monovalentes, especialmente potássio, no centro das tetradas. A cafeína é um derivado das guaninas e, portanto, poderia imitar melhor a montagem original de guaninas/ $\text{K}^+$ . G-quadruplexes estão sendo bastante estudadas atualmente, já que se perfilam como outra classe de alvos na quimioterapia de câncer, uma vez que se suspeita que tais compostos desempenham papéis-chaves, tais como a regulação da transcrição do ADN. Dessa maneira, o desenvolvimento de drogas visando os quadruplexes parece muito promissor.<sup>24,71</sup>

Em 2013, Hackenberg *et al.*<sup>72</sup> sintetizaram, caracterizaram e avaliaram biologicamente as atividades anticâncer, em linhas de células tumorais de Caki-1 (renal) e MCF-7 (mama), de uma série de compostos de Ru(III) e Au(I) com ligantes NHC. Complexos de fórmula  $[\text{Au}(\text{R-NHC})\text{L}]^{n+}$  foram obtidos utilizando-se clorodimetilssulfeto de ouro(I) ( $[\text{Au}(\text{SMe})_2\text{Cl}]$ ) como agente transmetalante para gerar os compostos do tipo  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{SR}]$  e do tipo  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{OAc}]$ . De maneira geral, os complexos  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{SR}]$  exibiram melhor atividade ou igual à dos compostos  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{Cl}]$  contra as duas linhas celulares citadas anteriormente. Os mesmos compostos também apresentaram melhor atividade do que seus análogos  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{OAc}]$ . As únicas exceções são encontradas para os compostos **38**, **39** e **40** (Figura 7), onde aquele que contém o grupo acetato (**39**) mostra melhor atividade contra Caki-1 ( $18 \pm 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) do que seus análogos contendo cloro ( $41 \pm 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e SR ( $58 \pm 2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Valores mais baixos de  $\text{IC}_{50}$  dos complexos  $[\text{Au}(\text{NHC})\text{SR}]$  são provavelmente atribuídos à maior solubilidade dos complexos de ouro, bem como possível captação celular aprimorada devido à porção tioglucopiranosé.<sup>72</sup>

Karaca *et al.*<sup>73</sup> relataram a síntese de compostos mono e dinucleares de Au(I) contendo ligantes bis(NHC) sulfonados e compostos mononucleares Au(I)-(NHC) hidroxilados. Tanto os complexos de Au(I) quanto os ligantes foram testados contra células de câncer de ovário humano OV2008, e foram também estudados os mecanismos de ação dos complexos de Au(I) frente a TrxR e GR. Com base nos resultados obtidos com os ensaios iniciais de viabilidade celular, os compostos **41**, **42** e **43** (Figura 7) mononucleares Au(I)-(NHC) hidroxilados, apresentaram fortes atividades antiproliferativas contra células de câncer utilizadas nesse estudo, mesmo após 1 hora de incubação. Tais compostos também apresentaram forte atividade inibitória seletiva da TrxR. Informações valiosas sobre a reatividade molecular dos compostos de ouro com TrxR foram obtidas por meio do ensaio BIAM (iodoacetamida conjugada com biotina) e por meio da análise de experimentos de competição por espectrometria de massas (MS). Ambas as técnicas sugerem a afinidade dos complexos mononucleares Au(I)-(NHC) por selenóis e tióis.<sup>73</sup>

Complexos de Au(I) contendo ligantes R-NHC têm sido recentemente desenvolvidos com o objetivo de inibir a TrxR e ao mesmo tempo aumentar o estresse celular oxidativo (níveis mais altos de ROS) esperando-se, consequentemente, uma redução no crescimento celular. Esta é uma característica que tem sido apreciada há muito tempo no contexto da terapia do câncer.<sup>74-76</sup> Arambula *et al.*<sup>75</sup> reportaram compostos  $[\text{Au}(\text{R-NHC})_2]^+$  contendo grupos ferroceno como substituintes (**44**; Figura 7). A incorporação de ferrocenos geradores de ROS nos compostos Au(I)-NHC aumentou consideravelmente as propriedades antiproliferativas que foram correlacionadas positivamente

com o número de unidades de ferroceno incorporadas. O tratamento de células de câncer de pulmão A549 com **44** mostrou um valor de  $\text{IC}_{50}=0,14 \mu\text{mol L}^{-1}$  e um aumento de 13,7 vezes o número de ROS intracelulares. Esse é um aumento significativo em relação ao composto de controle, a AF ( $\text{IC}_{50}=1,67 \mu\text{mol L}^{-1}$ , 2,7 vezes-ROS) (ver Tabela 2). Porém, a AF mostrou uma maior inibição da TrxR do que o composto **44** e seus análogos.<sup>75</sup> A busca de compostos Au(I)-NHC que induzem um estresse oxidativo é contínua. Mais recentemente, o mesmo grupo de pesquisa reportou outro composto com tais características.<sup>76</sup> As quinonas são agentes fortemente oxidantes. Muitas quinonas podem ser seletivamente reduzidas em ambientes hipóxicos como no caso de células cancerosas, aumentando a produção de ROS. O composto **45** dicoordenado com duas unidades de 1,4-naftoquinona, causou uma alta proliferação de células cancerígenas (Tabela 2), muito maior do que seu análogo  $[\text{Au}(\text{naftoq-NHC})(\text{Cl})]$  e o ligante de naftoquinona livre. O composto **45** também mostrou maior citotoxicidade do que a AF e a doxorubicina. De fato, o tratamento de células A549 com o composto **45** produziu um aumento de aproximadamente 27 vezes na expressão de ROS, as quais foram localizadas nas mitocôndrias. A inibição de TrxR do composto **45** foi semelhante à da AF e foi confirmado um mecanismo apoptótico na morte celular.<sup>76</sup>

Tendo em vista as propriedades eletro-doadoras de ligantes NHC para formar fortes ligações Metal-NHC, diversos pesquisadores continuam testando as propriedades anticâncer de complexos de Au(I) dinucleares, contendo ligantes NHC. Baron *et al.*<sup>77</sup> sintetizaram e caracterizaram complexos dinucleares de Au(I), estabilizados por ligantes funcionalizados de NHC (**46**; Figura 7). Os precursores dos azóis foram obtidos utilizando-se a cicloadição de azida/alcino catalisada por cobre (I). Atividades antiproliferativas foram testadas em um grupo de diferentes linhagens celulares tumorais humanas (MCF7, HCT116, PC3 e SKOV3) e em duas células não cancerígenas (MRC5 e EPC). O composto **46b** foi muito mais ativo do que o **46a** em todas as linhagens celulares, ao qual foi atribuído o maior caráter hidrofílico conferido pelo substituinte de polietilenoglicol  $(\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O})_4-\text{CH}_3$  em **46b** comparado com o benzil em **46a** ( $\text{Log}P_{\text{ow}} = -0,6$  e  $-0,9$  para **46a** e **46b**, respectivamente). O composto **46b** mostrou uma potente atividade anticâncer, especialmente nas células MCF7 de câncer de mama ( $\text{IC}_{50}=0,09 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Ambos os compostos mostraram uma alta seletividade frente às células normais endoteliais EPC, mas não para os fibroblastos derivados do pulmão MRC5 (Tabela 2).<sup>77</sup>

Sabendo que vários complexos de Au(I) dinucleares contendo ligantes NHC bidentados em ponte,  $[\text{Au}_2(\text{bis}(\text{NHC}))_2]^{2+}$ , não são reativos contra tióis, Zou *et al.*<sup>78</sup> prepararam um composto com essas características e adicionaram um ligante difosfina  $[\text{Au}_2(\text{dcpm})(\text{bis}(\text{NHC})^{2C4})(\text{PF}_6)_2]$  [ $\text{dcpm}=\text{bis}(\text{diciohexilfosfina})\text{metano}$ ] (**47**; Figura 7). A análise por espectrometria de massas de ionização por electrospray ESI-MS, combinada com experimentos de ICP-MS (espectrometria de massas por plasma acoplado indutivamente) revelou que a AF foi altamente reativa a GSH ( $1-10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e a albumina sérica ( $35-50 \text{mg mL}^{-1}$ ) presentes no sangue. Por outro lado, o complexo dinuclear **47** não reagiu com os tióis em iguais condições, sugerindo que essa estabilidade lhe permite inibir a atividade da TrxR sem ser atacado previamente por tióis do sangue. Utilizando-se o modelo de peptídeo do braço C-terminal da TrxR GCSG (glicina-cisteína-selenocisteína-glicina), ensaios ESI-MS em conjunto com RMN revelaram um aduto 1:1 formado entre a porção GCSG e o complexo **47**, indicando a coordenação simultânea da unidade dinuclear  $[\text{Au}_2(\text{dcpm})]$  com os respectivos átomos S(Cys) e Se(Sec) e a liberação do ligante bis(NHC).<sup>78</sup> Alguns estudos anteriores relataram a ligação de duas unidades de  $[\text{Au}(\text{PET}_3)]^+$  de AF a  $\sim\text{Se}$  e  $\sim\text{SH}$  do peptídeo GCSG.<sup>79</sup> O tratamento de camundongos portadores de xenoinxertos HeLa ( $5 \text{mg kg}^{-1}$ , i.p) e tumores altamente agressivos de melanoma B16-F10 de camundongo ( $15 \text{mg kg}^{-1}$ , i.p) com o composto **47**, resultou na inibição

significativa do tumor em 81% e 62%, respectivamente. A dosagem do tratamento, que variou de 0,6 a 15 mg kg<sup>-1</sup>, não mostrou morte nem perda de peso corporal dos ratos.<sup>78</sup> Subsequentemente, Sun *et al.*<sup>80</sup> relataram uma série de compostos dinucleares Au(I)-bis(NHC) similares aos de Zou *et al.*,<sup>78</sup> contendo um ligante pirrolidinodiocarbamato. As atividades anticancerígenas foram determinadas *in vitro* para um grupo de células humanas de carcinoma de ovário (A2780 e a sua variante resistente a cisplatina A2780cis, HepG2, U-87 MG) e em células epiteliais renais normais Madin-Darby (MDCK). Os valores de IC<sub>50</sub> são incluídos na Tabela 2. O complexo **48a** (Figura 7) apresentou resultados promissores citotóxicos e antimigratórios *in vitro* em células cancerosas A2780cis. Devido à estrutura rígida do composto **48a** foi possível testá-lo em conjunto com uma estrutura metalorgânica baseada em Zn(II) (Zn-MOF), um material biocompatível para facilitar sua captação e liberação em soluções. Os resultados indicam a viabilidade do uso do Zn-MOF com o complexo **48a** em estudos anticâncer e podem abrir caminho para estudos futuros de outros materiais biocompatíveis para melhorar a atividade anticâncer de complexos de ouro.<sup>80</sup> Discussões adicionais de outros complexos de Au(I)-NHC anticancerígenos podem ser encontrados nas recentes revisões de 2018 e 2019.<sup>15,81</sup>

Dada *et al.*<sup>82</sup> reportaram a síntese e a atividade biológica de vários complexos de Au(I) contendo ligantes NHC com estrutura similar aos complexos **38-40** já discutidos. Foram obtidos os complexos **49-54** (Figura 8), pseudo-halogenatos e tiolatos de Au(I) contendo ligantes NHC. Tais compostos foram testados quanto à sua potencial citotoxicidade em linhagens celulares tumorais MCF-7, SN12C, K-562 e NCI/COLO205. Os compostos **49**, **50** e **53** apresentaram atividade média a baixa, enquanto os complexos **51**, **52** e **54** mostraram atividade promissora no painel de células cancerígenas NCI 60. Além disso, os compostos **51** e **54** mostraram inibição de crescimento celular médio de 50% (GI<sub>50</sub>) em concentrações de 1,78 e 1,95 μmol L<sup>-1</sup> respectivamente, enquanto o complexo **52** mostrou atividade superior com um valor GI<sub>50</sub> médio de 0,47 μmol L<sup>-1</sup>.<sup>82</sup> Foi também relatado por Schmidt e colegas o estudo do potencial citotóxico contra células de carcinoma HT-29, bem como em linhagens celulares de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB231, de uma série de compostos de fórmula

geral [Au(R-NHC)Cl] (**55-57**; Figura 8).<sup>83</sup> Essa série de compostos apresentou uma certa tendência para maior citotoxicidade, indicando o forte efeito antiproliferativo contra todas as células cancerígenas mencionadas. Estudos realizados com tais compostos revelaram que a atividade citotóxica dos mesmos foi fortemente influenciada pela estabilidade e eficiência destes para se acumular nas células. Além disso, a biodisponibilidade celular dos mesmos também foi afetada pela ligação destes à albumina, apresentando valores acima de 80%. A efetiva inibição da TrxR de mamíferos e bactérias também foi confirmada para todos os compostos.<sup>83</sup>

Schuh *et al.*<sup>84</sup> relatam a síntese de uma série de complexos de Au(I) contendo um ligante imidazol ou benzimidazol-2-ilideno substituído com 1,3 e 2-mercaptopirimidina (compostos **58a-h**, Figura 8). Os compostos apresentaram valores de IC<sub>50</sub> na faixa de 2 a 30 μmol L<sup>-1</sup> em células A2780, resistentes e sensíveis à cisplatina, sendo mais ativos do que seus pares com um ligante clorido mais lábil, em vez do ligante tiolato. O direcionamento preferencial da selenocisteína da TrxR1 foi confirmado pelo ensaio BIAM. Curiosamente, os complexos **58e**, **58f** e **58g** inibem seletivamente a TrxR nas células A2780S, enquanto esses não apresentam efeito na TrxR das células HEK-293T não cancerígenas. Isso contrasta acentuadamente com as propriedades inibidoras da AF que não mostram seletividade da linha celular. No entanto, **58e-g** ainda são bastante citotóxicos contra células HEK-293T não cancerígenas (IC<sub>50</sub> 12-16 μmol L<sup>-1</sup>).<sup>84</sup>

O complexo **59** (Figura 8) reduz o tamanho do tumor em camundongos portadores de melanoma B16F10.<sup>85</sup> Os estudos celulares indicaram uma perda de potencial de membrana mitocondrial (Δψ<sub>m</sub>) dependente da dose, geração de ROS, regulação negativa da proteína Bcl-2 e regulação positiva de Bax, p53 e p21, de acordo com o envolvimento da via mitocondrial de apoptose. Embora não tenham sido estudados experimentalmente, os autores sugeriram a inibição da TrxR por analogia com outros complexos Au(I)-NHC.<sup>85</sup>

### COMPLEXOS DE Au(III) CONTENDO LIGANTES MULTIDENTADOS COM PROPRIEDADES ANTICÂNCER

A inclusão de diferentes ligantes quelantes multidentados tem

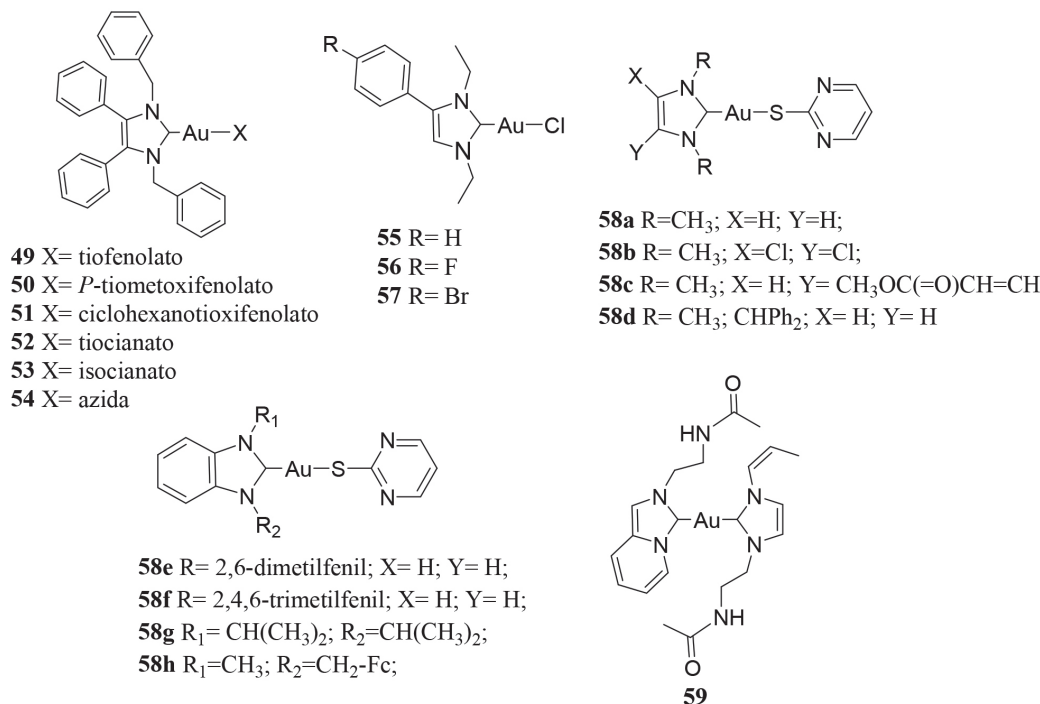


Figura 8. Estruturas químicas de complexos anticâncer Au(I)-NHC



vido uma estratégia eficaz para o desenvolvimento de complexos de Au(III) mais estáveis. Como já mencionado, a maioria dos agentes anticâncer de Au<sup>3+</sup> atualmente desenvolvidos contém ligantes multidentados do tipo N<sup>n</sup>N, N<sup>n</sup>N<sup>n</sup>, C<sup>n</sup>N, C<sup>n</sup>N<sup>n</sup>, C<sup>n</sup>N<sup>n</sup>C, porfirinas e ditio-carbamatos. Compostos de coordenação formados com ligantes tridentados também são conhecidos como complexos metálicos *pincer*. Dessa maneira, os complexos de Au(III) contendo ligantes, tais como N<sup>n</sup>N<sup>n</sup>, C<sup>n</sup>N<sup>n</sup> e C<sup>n</sup>N<sup>n</sup>C, são considerados complexos *pincer* de ouro. Nos últimos tempos, uma grande variedade de complexos de Au(III) tem exibido alta toxicidade para diferentes células tumorais *in vitro* e também alguns poucos resultados *in vivo* têm sido reportados. O resumo e discussão sobre esses resultados serão apresentados a seguir.

### Complexos de Au(III) contendo ligantes C<sup>n</sup>N e C<sup>n</sup>N<sup>n</sup>

Em 1996, Buckley *et al.*<sup>86</sup> e Parish *et al.*<sup>87</sup> descreveram uma série de complexos de Au(III) do tipo [AuX<sub>2</sub>(damp)] (damp=*o*-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>; X=Cl, SCN, OAc, oxalato ou malonato) representados como **60** na Figura 9.<sup>86,87</sup> Esses complexos metálicos apresentaram citotoxicidade semelhante à da cisplatina contra várias linhas de células tumorais humanas, sendo que os complexos metálicos com acetato e malonato geralmente mostraram melhor atividade e seletividade *in vitro* e uma moderada atividade antitumoral *in vivo* contra xenoinxerto de carcinoma humano. A administração de 12,5 mg kg<sup>-1</sup> (via i.p.) destes compostos provocou uma inibição de até 60% do crescimento do tumor em um modelo de xenoinxerto

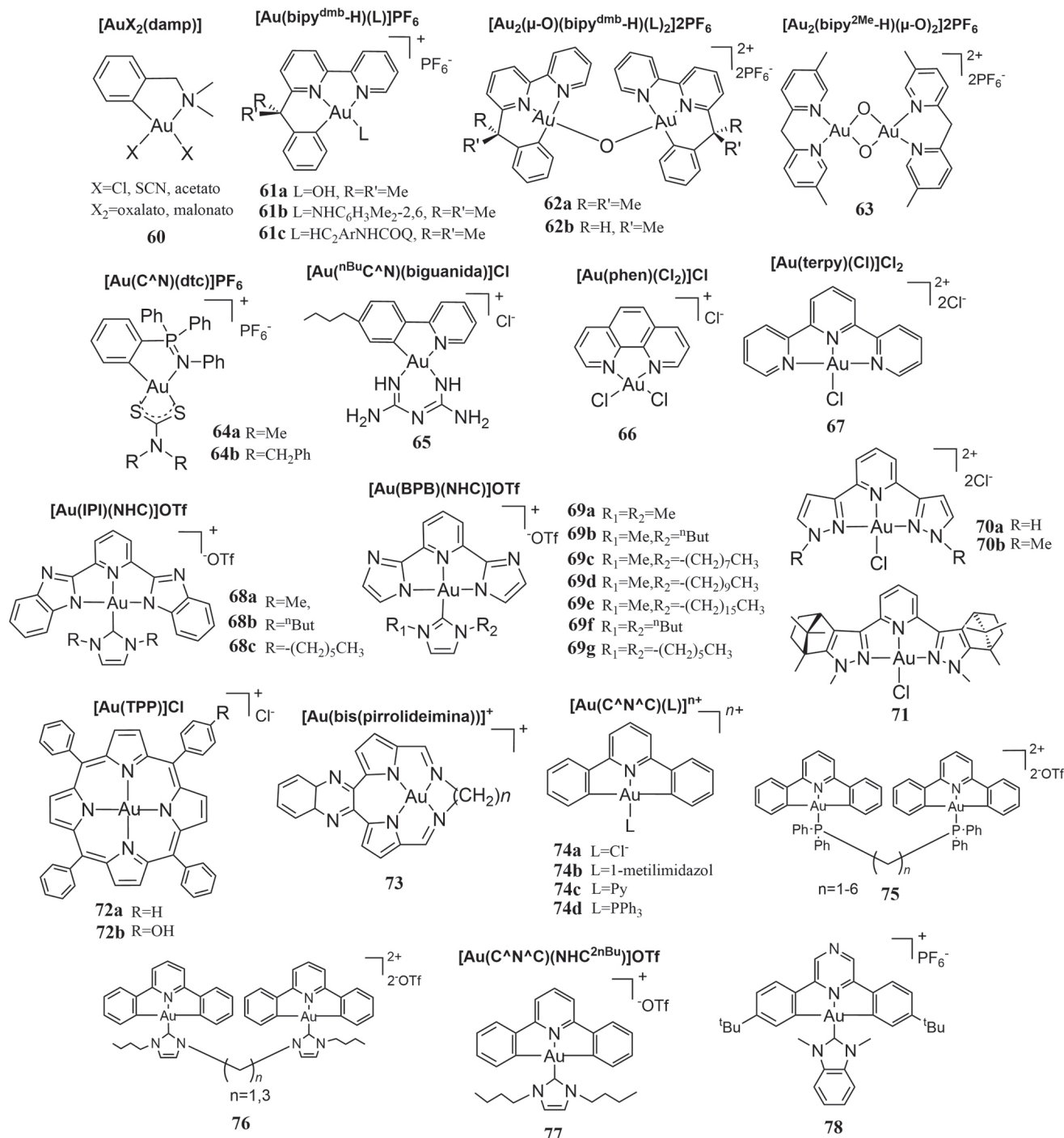


Figura 9. Complexos de Au(III) contendo ligantes multidentados com propriedades anticâncer

de ratos após 28 dias de tratamento.<sup>86</sup> O composto [AuCl<sub>2</sub>(damp)] (**60**) e os análogos de acetato e malonato inibem as cisteínas proteases catépsina B e K, com valores de IC<sub>50</sub> de 0,6-1,36 μmol L<sup>-1</sup> e 1,3-3,3 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente, e, além disso, são potenciais inibidores da TrxR.<sup>88,89</sup> Esses resultados despertaram novamente o interesse em complexos de Au(III) como potenciais agentes antineoplásicos. Assim, foi desenvolvida uma série de complexos de Au(III) ciclometalados, contendo outros ligantes do tipo C<sup>^</sup>N e C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N mostrando interessantes propriedades anticâncer.<sup>4,24</sup> Alguns análogos de **60** (C,N) foram avaliados adicionando uma, duas ou três ligações C-Au. Em geral, a introdução de um número crescente de ligações C-Au torna os compostos mais lipofílicos, facilitando a captação intracelular. No entanto, a capacidade de interagir com os tióis ou grupos selenol de proteínas pareceu ser reduzida.<sup>24,89</sup>

Em 2002, Marcon *et al.*<sup>90</sup> desenvolveram complexos de ouro com ligantes tipo *pincer* (C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N), [(bipy<sup>dmb</sup>-H)Au(L)]PF<sub>6</sub> (bipy<sup>dmb</sup>=6-(1,1-dimetilbenzil)-2,2'-bipiridina) (**61**; Figura 9). O

composto **61a** mostrou relevantes efeitos citotóxicos em células tumorais de câncer de ovário sensíveis e resistentes à cisplatina como reportado na Tabela 3.<sup>90</sup> Na Tabela 3 encontra-se resumida a atividade anticâncer de complexos de Au(III) com valores IC<sub>50</sub> menores a 14 μmol L<sup>-1</sup> em diferentes linhagens celulares cancerosas. Em um estudo sistemático mais recente, o composto **61a** foi testado em um amplo painel de células cancerígenas e mostrou moderado efeito antiproliferativo e escassa seletividade.<sup>91</sup> Porém, o análogo contendo um ligante de 2,6-xilidina, (**61b**), foi marcadamente mais citotóxico e teve um alto grau de seletividade contra um grupo de 36 linhas de células tumorais humanas. A inibição da síntese da proteína quinase mTOR, do proteossoma e/ou do ADN tem sido sugerida como um possível mecanismo de ação.<sup>92</sup> Já o composto **61c**, que apresenta uma cumarina como ligante auxiliar e é dotado de alta estabilidade redox em solução, exibe efeitos antiproliferativos, sendo este o mais ativo nas linhas celulares testadas (Tabela 3). Para estudar a reatividade desse último composto com biomoléculas, a interação do complexo

**Tabela 3.** Valores de IC<sub>50</sub> para complexos selecionados de Au(III) em linhagens celulares cancerosas. As respectivas referências são dadas em colchetes

Complexo de Au(III)	Linhagem celular cancerosa	Atividade (IC <sub>50</sub> /μmol L <sup>-1</sup> )	Atividade <sup>a</sup> CDDP (IC <sub>50</sub> /μmol L <sup>-1</sup> )	Complexo de Au(III)	Linhagem celular cancerosa	Atividade (IC <sub>50</sub> /μmol L <sup>-1</sup> )	Atividade <sup>a</sup> CDDP (IC <sub>50</sub> /μmol L <sup>-1</sup> )
<b>61a</b> <sup>[90]</sup>	<b>A2780</b>	3,3 ±1,4	1,3 ±0,2	<b>72a</b> <sup>[29]</sup>	<b>CNE1</b>	0,17 ±0,02	40,8 ±2,17
	<b>A2780cis</b>	8,2 ±1,5	15,3 ±1,9		<b>HepG2</b>	0,34 ±0,02	13,5 ±1,82
	<b>SKOV3</b>	13,3 ±1,6	21,6 ±4,1	<b>72b</b> <sup>[106]</sup>	<b>MDA-MB231</b>	0,007 ±0,002	7,37 ±1,19
	<b>CCRF-CEM</b>	11,9 ±2,1	1,0 ±0,3		<b>MCF7</b>	0,08 ±0,04	14,3 ±1,46
<b>61c</b> <sup>[91]</sup>	<b>A549</b>	4,5 ±0,8	11,5 ±0,9	<b>74a</b> <sup>[26]</sup>	<b>BT474</b>	0,49 ±0,17	49,0 ±0,50
	<b>MCF-7</b>	2,3 ±0,8	20 ±3		<b>SKBR3</b>	0,02 ±0,01	65,9 ±25,5
	<b>SKOV-3</b>	2,6 ±0,8	13 ±4	<b>74b</b> <sup>[26]</sup>	<b>T47D</b>	0,04 ±0,01	66,5 ±12,4
	<b>A375</b>	1,46 ±0,8	3,10 ±1,59		<b>HeLa</b>	3,4 ±0,6	11 ±1,0
<b>63</b> <sup>[94]</sup>	<b>HEK-293</b>	0,55 ±0,01	8,15 ±0,47	<b>74c</b> <sup>[26]</sup>	<b>SUNE1</b>	4,0 ±0,5	1,0 ±0,1
	<b>A2780</b>	1,79 ±0,17	2,1 ±0,2		<b>CNE1</b>	3,1 ±0,4	3,3 ±0,5
<b>64a</b> <sup>[95]</sup>	<b>A2780cis</b>	4,81 ±0,5	24,4 ±0,1	<b>74d</b> <sup>[26,108]</sup>	<b>HeLa</b>	8,0 ±0,5	11 ±1,0
	<b>HeLa-GPF</b>	6,2	14,9		<b>SUNE1</b>	12 ±1,3	1,0 ±0,1
<b>64b</b> <sup>[95]</sup>	<b>Jurkat-GFP</b>	1,0	31	<b>74e</b> <sup>[26]</sup>	<b>CNE1</b>	6,7 ±1,5	3,3 ±0,5
	<b>Hela-GPF</b>	7,75	14,9		<b>HeLa</b>	8,2 ±0,4	11 ±1,0
<b>65</b> <sup>[97]</sup>	<b>Jurkat-GFP</b>	2,5	31	<b>75</b> <sup>[108]</sup> n=3	<b>SUNE1</b>	4,0 ±0,4	1,0 ±0,1
	<b>HeLa</b>	7,7 ±0,1	5,2 ±0,1		<b>CNE1</b>	2,6 ±0,4	3,3 ±0,5
	<b>B16</b>	10,5 ±0,3	8,7 ±1,0	<b>76</b> <sup>[108]</sup> n=3	<b>HeLa</b>	7,2 ±0,6	0,084 ±0,007
	<b>PLC</b>	8,8 ±0,3	46,4 ±1,8		<b>CNE1</b>	11 ±2,0	-
<b>66</b> <sup>[98]</sup>	<b>MDA-MB231</b>	8,7 ±0,2	66,7 ±1,3	<b>77</b> <sup>[108]</sup>	<b>HeLa</b>	0,043 ±0,006	0,084 ±0,007
	<b>SUNE1</b>	2,1 ±0,1	12,0 ±1,3		<b>PLC</b>	0,17 ±0,07	0,24 ±0,01
<b>67</b> <sup>[98]</sup>	<b>A2780</b>	3,8 ±1,1	1,22 ±0,43	<b>77</b> <sup>[108]</sup>	<b>CCD-19Lu (normal)</b>	1,6 ±0,1	1,9 ±0,1
	<b>A2780cis</b>	3,49 ±0,91	14,16 ±2,72		<b>HepG2</b>	0,21 ±0,09	1,1 ±0,09
<b>69e</b> <sup>[28]</sup>	<b>A2780</b>	0,2	1,22 ±0,43	<b>76</b> <sup>[108]</sup> n=3	<b>HeLa</b>	0,35 ±0,01	0,084 ±0,007
	<b>A2780cis</b>	0,37 ±0,032	14,16 ±2,72		<b>PLC</b>	7,8 ±0,8	0,24 ±0,01
<sup>b</sup> AF <sup>[28]</sup>	<b>HeLa</b>	1,4 ±0,2	-	<b>76</b> <sup>[108]</sup> n=3	<b>CCD-19Lu (normal)</b>	12 ±0,8	1,9 ±0,1
	<b>Hela</b>	1,8 ±0,1	-		<b>HepG2</b>	7,5 ±0,08	1,1 ±0,09
<b>72a</b> <sup>[29]</sup>	<b>HeLa</b>	0,28 ±0,02	11,2 ±0,96	<b>76</b> <sup>[108]</sup> n=3	<b>HeLa</b>	11 ±1,0	0,084 ±0,007
	<b>SUNE1</b>	0,11 ±0,02	12,6 ±0,92		<b>PLC</b>	7,6 ±0,6	0,24 ±0,01
	<b>KB-3-1</b>	0,20 ±0,03	13,2 ±1,24	<b>77</b> <sup>[108]</sup>	<b>CCD-19Lu (normal)</b>	>100	1,9 ±0,1
	<b>HL-60</b>	0,73 ±0,02	16,8 ±1,42		<b>HepG2</b>	13 ±0,9	1,1 ±0,09
	<b>KB-V1</b>	0,11 ±0,02	12,6 ±0,78		-	-	-

<sup>a</sup>CDDP (*cis*-platina), <sup>b</sup>AF (auranofina).

com a proteína citocromo *c* e os aminoácidos Cys e His foi analisada por espectrometria de massas de ionização por eletropulverização (ESI MS), mostrando a formação de adutos somente com Cys após pelo menos 1 hora de incubação. No geral, os resultados obtidos apontam para a possibilidade de atingir seletivamente o ADN com complexos organometálicos de Au(III).<sup>91</sup>

Em 2011, Gabbiani *et al.*<sup>93</sup> apresentaram dois complexos oxo dinucleares catiônicos [(N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C)<sub>2</sub>-Au<sub>2</sub>(μ-O)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> representados como **62a** e **62b**, na Figura 9. Esses compostos revelaram uma estabilidade redox marcada mesmo na presença de fortes agentes redutores biológicos, tais como ácido ascórbico e glutatona. A atividade citotóxica destes dois compostos dinucleares foi avaliada em um painel representativo de 12 linhagens celulares tumorais, em conjunto com seus respectivos compostos mononucleares [Au(N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C)(OH)]PF<sub>6</sub>, apresentando uma citotoxicidade moderada para a maioria delas. O complexo **62b** é particularmente ativo contra células 401NL de câncer de mama, enquanto o **62a** foi fracamente seletivo. Devido a sua estabilidade, possivelmente seus efeitos biológicos são causados pelo Au<sup>3+</sup>, já que após reação com os agentes redutores, esses compostos permanecem no estado de oxidação 3+ conservando seu ligante orgânico. De fato, estudos de espectrometria de massas após reação de **62a,b** com lisozima de clara de ovo de galinha (HEWL) e citocromo *c* de coração de cavalo (cyt *c*) utilizados como proteínas modelo, evidenciou-se que os adutos de proteína-Au resultantes ainda continham íons de ouro no estado de oxidação 3+ em conjunto com seus ligantes multidentados.<sup>93</sup> Tais resultados diferem dos dados relatados anteriormente para outros compostos dinucleares de fórmula geral [Au<sub>2</sub>(N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>)<sub>2</sub>(μ-O)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (**63**; Figura 9), contendo exclusivamente ligantes N-doadores.<sup>94</sup> A reatividade com proteínas facilita a clivagem da ponte de oxigênio para a conversão dos complexos bimetálicos em espécies monometálicas.<sup>24</sup> O composto **63** apresentou melhor atividade do que o complexo **61a** contra as células de câncer de ovário A2780cis resistentes à cisplatina (4,8 e 8,2 μmol L<sup>-1</sup> respectivamente, ver Tabela 3).

Recentemente, as propriedades citotóxicas dos complexos do tipo [Au(C<sup>^</sup>N)(dte)]PF<sub>6</sub> (HC<sup>^</sup>N=N,1,1,1-tetrafenil-λ<sup>5</sup>-fosfammina, dte=ligante de ditiocarbamato, S doador) (**64a,b**; Figura 9) foram avaliadas *in vitro* contra células de carcinoma cervical (Hela) e células de leucemia linfoblástica aguda Jurkat-T.<sup>95</sup> Ambos os compostos mostraram uma alta citotoxicidade, especialmente para células Jurkat de leucemia (Tabela 3). Esses efeitos podem ser atribuídos à disfunção mitocondrial induzida por espécies ROS e pela ativação das proteínas Bax/Bak.<sup>96</sup> As proteínas Bax e Bak são capazes de perfurar a membrana externa mitocondrial para mediar a morte celular por apoptose. Nos últimos anos, Zhang *et al.*<sup>97</sup> desenvolveram um complexo de Au(III) contendo outro tipo de ligante (HC<sup>^</sup>N=2-fenilpiridina) e biguanida como ligante auxiliar o qual é solúvel em água ([Au(<sup>nbu</sup>C<sup>^</sup>N)(biguanida)]Cl, **65**; Figura 9). Interessantemente, ensaios de ESI-MS revelaram que este composto é capaz de formar o aduto Au<sup>3+</sup>-GSH, como os complexos **62a,b**. O composto **65** apresentou maior citotoxicidade para diferentes linhagens celulares de câncer (2,1-17,1 μmol L<sup>-1</sup>) do que em células fibroblásticas pulmonares normais (CCD-19Lu, valor IC<sub>50</sub> de 32,8 μmol L<sup>-1</sup>). Verificou-se que esse complexo metálico induz estresse celular relacionado ao retículo endoplasmático (*stress ER*), regulando positivamente marcadores dele, como as proteínas CHOP e HSP70 e subsequentemente a morte celular.<sup>97</sup>

### Complexos de Au(III) contendo ligantes multidentados N-doadores

Messori *et al.*<sup>98</sup> relataram as atividades anticâncer de uma série de complexos de Au(III) contendo ligantes de bipyridina e terpiridina (**66** e **67**; Figura 9). Esses complexos são eficazes na inibição do

crescimento de células de câncer de ovário (A2780) sensíveis ou resistentes à cisplatina, apresentando valores de IC<sub>50</sub> entre 0,2 e 3,8 μmol L<sup>-1</sup> (Tabela 3). Em comparação com os complexos organometálicos de Au(III) discutidos anteriormente, esses complexos são menos estáveis na presença de agentes redutores, como a glutatona ou ácido ascórbico, e podem causar danos oxidativos às biomoléculas.<sup>98</sup>

Em 2013, Martins *et al.*<sup>99</sup> reportaram os efeitos inibitórios seletivos sobre aquaporinas AQP3 para estes mesmos compostos (**66** e **67**).<sup>99</sup> Aquaporinas são “o sistema de encanamento para as células”. A água se move através das células de forma organizada, mais rapidamente nos tecidos que possuem canais de água de aquaporina. Especificamente, AQP3 medeia a maioria do movimento do glicerol através das membranas hRBC. Além de sua expressão em hRBC, a AQP3 tem uma ampla distribuição tecidual nas células epiteliais do rim, das vias aéreas e da pele, sugerindo um papel na reabsorção de água para este tipo de células. Estudos demonstraram uma expressão anormal de AQP3 em células tumorais de diferentes origens, particularmente em tumores agressivos, portanto, as aquaporinas estão se perfilando como alvos importantes para o tratamento do câncer.<sup>99,100</sup> Tendo isso em conta, é possível que a inibição da AQP3 possa influenciar nos efeitos biológicos dos complexos de Au(III) em relação às células cancerosas. O composto **66** chamado Au(phen), é um dos mais eficazes na inibição da permeação do glicerol via AQP3 mostrando-se como um potente inibidor da AQP3 com um valor de IC<sub>50</sub> na faixa micromolar baixa (0,8 μmol L<sup>-1</sup>). Resultados obtidos usando-se dinâmica molecular em conjunto com cálculos DFT, mostraram que o sítio de interação entre o composto **66** e AQP3 é dado com o resíduo Cys40 devido a sua maior acessibilidade comparado com outros grupos tióis.<sup>101</sup> Recentemente, o ligante fenantrolina (phen) no composto **66** foi modificado em diferentes posições, obtendo-se uma série de seis complexos de Au(III).<sup>102</sup> O composto [Au(bipy)Cl<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (bipy=bipiridina), (Au(bipy)), também foi incluído neste estudo. Cálculos teóricos e experimentos foram realizados buscando melhorar a ligação com as proteínas e entender relações de estrutura-atividade. Os novos derivados contendo Cl<sup>-</sup> e grupos fenil sobre o anel fenantrolina mostraram uma leve melhora na inibição da AQP3 quando comparados aos compostos **66** e Au(bipy). Cálculos quânticos revelaram algumas importantes diferenças entre esses dois últimos. Em condições fisiológicas, os compostos do tipo Au(phen) são mais estáveis e tendem a hidrolisar em menor taxa quando comparados a Au(bipy). Essa diferença afeta principalmente a interação não coordenada com o AQP3, permitindo o acesso a outros resíduos em diferentes orientações.<sup>102</sup>

Devido à fácil redução Au<sup>3+</sup>/Au<sup>1+</sup> de compostos contendo ligantes N-doadores, Zou *et al.*,<sup>28</sup> desenvolveram uma classe de complexos catiônicos de Au(III) contendo ligantes N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N do tipo 2,6-bis(imidazol-2-il)piridina (H<sub>2</sub>IPI) e 2,6-bis(benzimidazol-2-il)piridina (H<sub>2</sub>BPB) e ligantes NHC (**68** e **69**; Figura 9). Esse tipo de ligantes (H<sub>2</sub>IPI) e (H<sub>2</sub>BPB) são altamente fluorescentes e apresentam menor toxicidade do que a terpiridina (terpy). A estratégia de Zou baseou-se no seguinte: a redução Au<sup>3+</sup>→Au<sup>1+</sup> seria acompanhada da liberação do ligante N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N devido a sua labilidade, seguida da ligação da fração Au(I)-NHC ao tiol celular. Os ligantes HN<sup>^</sup>N<sup>^</sup>NH emitem luz visível. Portanto, esse tipo de compostos pode atuar como marcadores fluorescentes de tióis resultantes da emissão após a redução Au<sup>3+</sup>→Au<sup>1+</sup>. O ligante NHC é bem conhecido por estabilizar Au<sup>1+</sup> contra a redução a Au<sup>0</sup>. Dessa maneira, o derivado de Au<sup>1+</sup> poderia inibir a TrxR produzindo a atividade anticâncer. Experimentos de RMN mostraram que, uma vez que se adiciona GSH ou Cys (que contém tiol), os sinais de emissão são detectados em apenas um minuto devido aos ligantes HN<sup>^</sup>N<sup>^</sup>NH livres. Também foi revelada a oxidação dos dois equivalentes de GSH levando à formação da espécie GSSG e o restante equivalente a GSH coordenado ao complexo de Au(I), formando a

espécie [Au(R-NHC)(GS)]. A captação e distribuição intracelular do complexo **68a** em células cancerosas foi seguida por microscopia de fluorescência. Após a incubação de células HeLa com este complexo de Au(III), foi detectada significativa fluorescência no citoplasma, mas não no núcleo ou no ambiente extracelular. Após redução, a espécie formada de Au(I)-NHC pode inibir a atividade da TrxR celular ( $IC_{50}=5,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) sendo citotóxica para as células HeLa. O composto **69a** foi o mais ativo da série contra células HeLa com uma citotoxicidade similar à da AF (ver Tabela 3). Interessantemente, estudos adicionais *in vivo* revelaram que o tratamento com o composto **69e** ( $3 \text{ mg kg}^{-1}$ ) pode suprimir significativamente o crescimento tumoral em camundongos portadores de xenoinxertos HeLa (76% de inibição) sem morte ou perda de peso corporal dos ratos.<sup>28</sup>

Três novos compostos tipo *pincer* [Au(N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>)Cl]<sub>2</sub> (N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>=2,6-bis-pirazolilpiridina) (**70** e **71**; Figura 9) foram preparados e caracterizados por Radisavljević *et al.*,<sup>103</sup> em 2018. A análise de espectroscopia UV/visível mostrou que estes compostos são estáveis em soluções *buffer* de fosfato, nas quais o Au manteve o estado de oxidação 3+ dentro de um período de observação de 24 horas. Tendo em vista o ADN como alvo principal, estudos cinéticos para a reação de troca de ligante Cl/L, em que L representa pequenas biomoléculas derivadas de guanina (guanosina e guanosina 5' monofosfato), foram abordados através da técnica do fluxo interrompido. Os resultados mostraram que a reação depende da natureza do ligante tridentado N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>N<sup>^</sup>, sendo que a presença de substituintes eletrodoadores relativamente volumosos (**70b** e **71**) sobre o anel pirazol afeta a velocidade de reação de troca. Estudos de interação dos compostos **70a,b** e **71** com o ADN extraído do timo de bezerro revelaram que estes compostos se ligam ao ADN com afinidade moderada. Os valores da constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ) foram estimados na faixa  $10^3$ - $10^4 \text{ L mol}^{-1}$ . Estudos de *docking* molecular indicaram que todos os compostos interagem com o ADN através da intercalação entre os pares de base. Tanto os resultados experimentais como o *docking* mostraram que o composto **70a** exibe a maior afinidade ao ADN. A atividade citotóxica de **70a** e do seu correspondente ligante livre HN<sup>^</sup>N<sup>^</sup>NH foi testada nas linhas celulares de câncer de pulmão A549, melanoma A375 e cólon LS-174. Tal composto exibiu valores de  $IC_{50}$  entre 11,2 e 20,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo mais ativo que o ligante HN<sup>^</sup>N<sup>^</sup>NH e a cisplatina em todas as células cancerígenas avaliadas. A indução a apoptose, por parte do composto **70a**, em células A375 foi confirmada por citometria de fluxo.<sup>103</sup>

Em 2003, Che *et al.*<sup>29</sup> reportaram alguns complexos porfirínicos de Au(III), [Au(TPP)Cl], (TPP=5,10,15,20-tetrafenilporfirina) (**72**; Figura 9), eles foram relatados como estáveis no ambiente fisiológico na presença de GSH e apresentaram citotoxicidade *in vitro* em níveis micromolares ou nanomolares em diferentes linhagens celulares de câncer.<sup>29</sup> O complexo **72a** também é ativo em linhagens celulares resistentes à cisplatina, o que indica um mecanismo molecular diferente daquele proposto (Tabela 3). Estudos sobre o mecanismo de ação revelaram que o composto **72a** induz a apoptose através da disfunção mitocondrial e da supressão da proteína Bcl-2, a qual regula a permeabilidade da membrana externa da mitocôndria. Esse composto também tem sido testado *in vivo* mostrando ser um agente anticâncer promissor para o tratamento do carcinoma nasofaríngeo (NPC), metástase de NPC, carcinoma hepatocelular (HCC), câncer de cólon, neuroblastoma e melanoma.<sup>4,29</sup> Em 2012, foi mostrado que o composto **72a** também é capaz de inibir a capacidade de auto-renovação de células tumorais CSCs (*Cancer stem cells*) U-87 MG.<sup>104</sup> Experimentos de toxicidade aguda indicaram uma dosagem segura deste complexo (via i.v.) abaixo de  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ . Testes subsequentes de irritação de vasos sanguíneos usando coelhos e testes de mutagenicidade *in vivo* (o micronúcleo da medula óssea) em camundongos revelaram que o composto **72a** não causa irritação nos vasos sanguíneos

ou genotoxicidade significativa.<sup>104</sup> Posteriormente, esse mesmo grupo de pesquisa testou a utilidade deste tipo de compostos em modelos de camundongo portando tumores de ovário humano A2780 resistentes e sensíveis à cisplatina, simultaneamente. O tratamento com **72a** inibiu significativamente ambos os tipos de tumores resistentes e sensíveis enquanto a cisplatina foi apenas eficaz na supressão de tumores sensíveis.<sup>105</sup> Entretanto, Chow *et al.*<sup>106</sup> prepararam o análogo **72b** com um grupo hidroxil em R (ver Figura 9). Esse composto mostrou-se altamente citotóxico para várias células de carcinoma de mama, principalmente para MDA-MB-231 ( $IC_{50}=7,0 \text{ nmol L}^{-1}$ ) (Tabela 3) e suprimiu significativamente o crescimento do tumor de mama em camundongos nus. O mecanismo de ação do composto **72b** envolve a atenuação da sinalização de Wnt/b-catenina através da inibição da atividade da histona desacetilase de classe I (HDAC).<sup>106</sup> HDACs são classificadas como enzimas capazes de remover grupos acetil ( $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_3$ ) de uma lisina  $\epsilon$ -N-acetil em uma histona, permitindo às histonas a capacidade de enovelar o ADN. Interessantemente, os resultados sugerem que os dois compostos, embora possuam estruturas químicas similares, podem não compartilhar mecanismos citotóxicos comuns no nível molecular.

Akerman *et al.*<sup>107</sup> relataram uma série de complexos de Au(III) estabilizados por um ligante macrocíclico ([Au(bis(pirrolidimina))]⁺). O complexo de ouro com uma ligação  $-(\text{CH}_2)_n-$  ( $n=4$ , **73**; Figura 9) foi identificado como inibidor catalítico específico da topoisomerase **1** (TopoI) já que a inibição da TopoII se mostrou muito mais fraca. Foi revelado que o íon Au(III) desempenha um papel crucial na intercalação do ADN e na inibição da TopoI. O estudo do mecanismo de inibição usando mecânica molecular mostrou que o complexo **73** se liga a uma sequência específica de TopoI através do sulco principal do ADN "major groove", e tal ligação com o ADN possivelmente bloqueia o reconhecimento do substrato pela TopoI, contribuindo assim para o mecanismo de inibição. Os valores de  $IC_{50}$  para todas as linhagens de câncer testadas estiveram entre 5 e 27  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Leucemia, câncer no sistema nervoso central e câncer de cólon foram os tipos de câncer mais sensíveis ao composto **73**.<sup>107</sup>

### Complexos de Au(III) contendo ligantes C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C

Como uma alternativa aos ligantes de porfirina para estabilizar o íon Au<sup>3+</sup>, Li *et al.*,<sup>26</sup> introduziram um ligante tridentado do tipo C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C (C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C=2,6-difenilpiridina) para coordenação ao sítio de Au(III). Exemplos de complexos de Au(III) contendo este tipo de ligante são representados na Figura 9 (**74-78**). Nenhum destes complexos sofre redução a Au<sup>1+</sup> facilmente na presença de agentes redutores celulares, embora, a troca do ligante auxiliar (L) possa ocorrer. Estudos mostraram que o mecanismo de ação dos complexos de ouro com ligantes tipo *pincer* [Au(C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C)L]<sup>ⁿ⁺</sup> (**74**; Figura 9) são fortemente dependentes da substituição do ligante L. Os complexos **74b,c** atuam como agentes metalo-intercaladores e potenciais inibidores da telomerase por meio da ligação do ligante C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C.<sup>26</sup> A estabilidade em solução para esse tipo de compostos aumenta ao usar fosfinas como ligantes auxiliares (**74d**). Diferentes ligantes de fosfina foram usados, obtendo complexos do tipo mono, bi e trinucleares. De fato, em estudos posteriores de 2013, foi observado que a atividade anticâncer aumenta significativamente com complexos análogos binucleares.<sup>108</sup> O complexo binuclear, [Au<sub>2</sub>(C<sup>^</sup>N<sup>^</sup>C)<sub>2</sub>(dppp)](OTf)<sub>2</sub>, com um ligante em ponte bis(difenilfosfino)propano ( $\mu$ -dppp) ( $n=3$  em **75**; Figura 9), exibiu a maior citotoxicidade *in vitro* entre os complexos dinucleares testados ( $n=1-6$ ) incluindo o análogo de NHC (**76**) nas células cancerosas HeLa, HepG2, SUNE1 e CNE1. Os valores de  $IC_{50}$  para o composto **75** ( $n=3$ ) variaram entre 0,043 e 0,21  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e esse foi menos citotóxico para a linhagem de fibroblastos pulmonares normais CCD-19Lu (valor  $IC_{50}$  de 1,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Por outro lado, entre os



compostos mononucleares  $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{PPh}_3]^+$  (**74d**) e  $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{NHC}^{2\text{nBu}}]^+$  (**77**), o composto **75** mostrou uma atividade anticâncer *in vitro* muito maior do que a do composto **74d** (ver Tabela 3).<sup>108</sup>

Sun *et al.*<sup>108</sup> também realizaram testes *in vivo* do complexo **75** ( $n=3$ ) assim como estudos sobre os mecanismos de ação do mesmo. A administração de 2 a 10 mg kg<sup>-1</sup> (via i.p.) deste composto binuclear duas vezes por semana provocou uma inibição de 77% do crescimento tumoral em camundongos portadores de xenoinxertos de PLC (carcinoma hepatocelular) e sua eficácia é ainda maior do que a da cisplatina e da doxorubicina na supressão do crescimento do tumor em condições experimentais semelhantes. O composto **75** ( $n=3$ ) foi também mais eficaz na inibição tumoral do que a cisplatina (28% de inibição) e doxorubicina (60% de inibição). Estudos de toxicidade aguda, subcrônica e genotoxicidade foram realizados em camundongos e cães beagle. Os valores encontrados para cada um destes testes indicam que o composto **75** ( $n=3$ ) pode inibir o crescimento tumoral *in vivo* em uma dosagem relativamente segura. Observaram-se alguns sinais clínicos, como fezes mucóides, depressão do segmento ST e redução do consumo de alimentos nas três primeiras administrações do composto, porém, esses sinais foram desaparecendo gradualmente. Para métodos comparativos, também foram testadas as propriedades inibitórias da TrxR purificada com **76** ( $n=3$ ) e com compostos análogos dinucleares e mononucleares, dentre os quais, o complexo **76** ( $n=3$ ) mostrou-se o inibidor mais potente com um valor de  $\text{IC}_{50}$  de 2,7 nmol L<sup>-1</sup>. Entre os compostos análogos mononucleares, apenas os complexos mononucleares **74a** e **74d** inibiram efetivamente a TrxR em uma concentração menor que 100 nmol L<sup>-1</sup>, com valores de  $\text{IC}_{50}$  de 7,0 e 19,0 nmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. De forma geral, análises transcriptômicas e de mapa de conectividade indicaram que a inibição da TrxR, a indução do estresse ER e uma via apoptótica dependente de receptor de morte DR5, podem estar envolvidos nos mecanismos anticâncer do composto **75** ( $n=3$ ).<sup>108</sup>

Dois diferentes vias para a redução (como as descritas na Figura 4) do complexo **74a** ao derivado de Au(I) foram estudadas em solução aquosa.<sup>23</sup> Água (H<sub>2</sub>O), e metanotiol (CH<sub>3</sub>SH/CH<sub>3</sub>S<sup>-</sup>), metanoselenol (CH<sub>3</sub>Se<sup>-</sup>) e 4 metilimidazol (meim-4-H) foram tomados como nucleófilos representando a cadeia lateral de aminoácidos de Cys, Sec e His, respectivamente. Levando em

consideração os primeiros passos de ambas as rotas, foi encontrado que a energia de ativação para a troca do cloro (7,1-24,2 kcal mol<sup>-1</sup>) foi muito menor do que a energia requerida para a redução direta do Au<sup>3+</sup>→Au<sup>1+</sup> (47,8 kcal mol<sup>-1</sup>). Além disso, a estabilidade redox do metabólito formado  $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Nu}]^{+n}$  foi menor do que no composto original (**74a**). Esses resultados sugerem que **74a** poderia atuar como pró-droga, sendo ativado por reações de troca de ligantes com os nucleófilos disponíveis no organismo, incluindo a água, e subsequentemente reduzido a derivados de Au<sup>1+</sup>. Entre os nucleófilos testados, a reação de troca de ligantes do composto **74a** com CH<sub>3</sub>Se<sup>-</sup> foi muito rápida ( $k_f \sim 10^7$  L mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) e espontânea ( $\Delta G^\circ = -20,69$  kcal mol<sup>-1</sup>), seguida por CH<sub>3</sub>SH/CH<sub>3</sub>S<sup>-</sup>. Também foi analisado o processo de redução Au<sup>3+</sup>→Au<sup>1+</sup> do metabólito formado e o potencial de redução foi positivo. Esse resultado poderia ser interpretado com base em evidências experimentais para a interação de Au-TrxR, em que o íon Au<sup>1+</sup> é coordenado por resíduos de enxofre e selênio no sítio ativo (RS-Au-SeR). Três etapas de reação que poderiam fazer parte do mecanismo de ação do complexo **74a** foram propostas: (1) reação de troca de ligante: Cl<sup>-</sup>/RSe<sup>-</sup> (1a) ou H<sub>2</sub>O/RSe<sup>-</sup> (1b), sendo que essa última acontece através de uma reação inicial de hidrólise (A-B); (2) redução com abertura do quelato ( $\epsilon^\circ = +0,15$  V) e (3) reação de troca e liberação do ligante HC<sup>^</sup>N<sup>^</sup>CH, como representado na Figura 10.<sup>23</sup>

Bertrand *et al.*,<sup>109</sup> reportaram a atividade antiproliferativa contra várias linhagens celulares de câncer de um complexo Au(III)-NHC ciclometalado à base de pirazina (**78**; Figura 9). As propriedades antiproliferativas do complexo **78** foram testadas contra as células câncer HL60, MCF-7 A549 e MRC-5. Tal composto exibiu excelentes valores de  $\text{IC}_{50}$  na faixa submicromolar (0,31; 0,15; 7,8 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente) em todas as linhagens celulares. Os experimentos de captação celular confirmaram que a concentração intracelular de ouro desse composto era quase 11 vezes maior em comparação ao derivado de cafeína, obtido após substituir o grupo 1,3-dimetilbenzimidazol-2-ilideno pela estrutura da cafeína. Além disso, os estudos de reatividade do complexo **78** com glutathione sugeriram que é improvável que esta espécie desencadeie seus efeitos antiproliferativos via coordenação direta de enzimas contendo doadores de enxofre, como TrxR ou PARP-1. Finalmente, o estudo das propriedades de

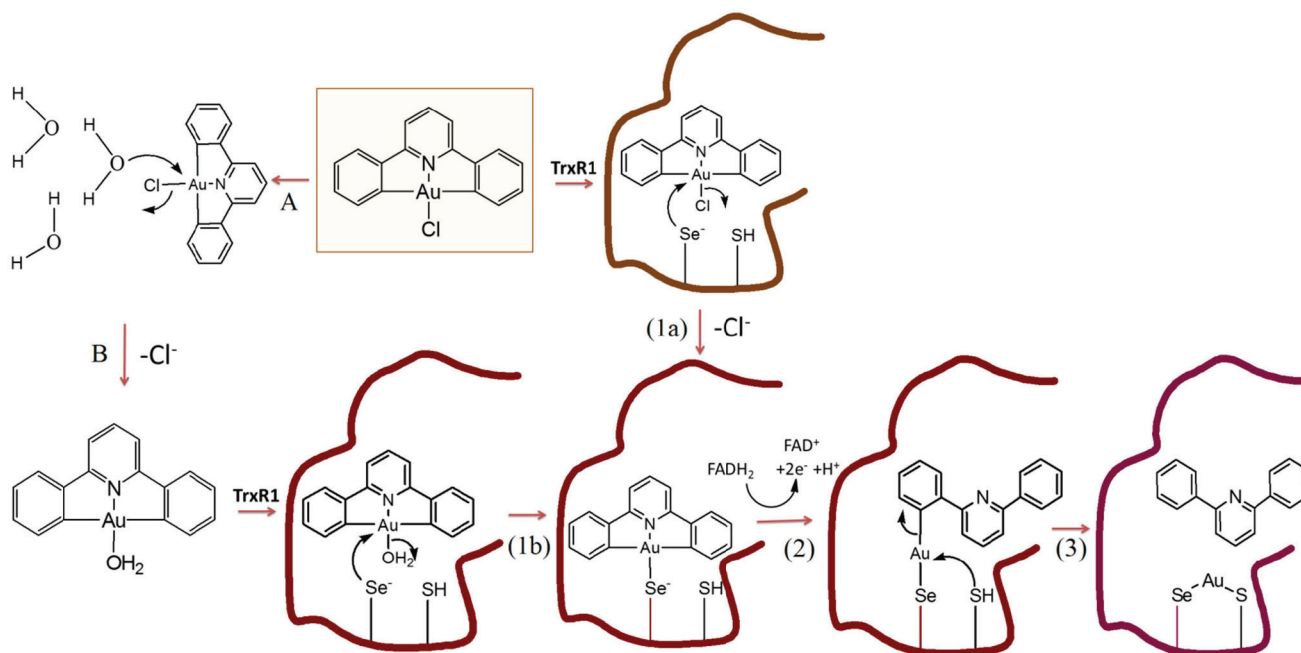


Figura 10. Possíveis mecanismos de ação do complexo  $[\text{Au}(\text{C}^{\wedge}\text{N}^{\wedge}\text{C})\text{Cl}]$  (**74a**) como inibidor da TrxR, de acordo aos resultados da referência<sup>23</sup>

ligação ao ADN indicou que o composto à base de NHC interage de maneira dependente da dose com todas as estruturas de ADN. Particularmente, o composto **78** interage fortemente com estruturas de G-quadruplexes e parece estabilizar a estrutura telomérica ADN de motivo I, mesmo em pH fisiológico.<sup>109</sup>

Interessantemente, o composto  $[\text{AuCl}_3(\text{NHC}^{\text{nBu,CN}})]$  reportado por Haque *et al.*,<sup>110</sup> em 2016, o qual contém um ligante NHC sem a presença do ligante multidentado, exibiu uma significativa atividade antiproliferativa contra linhagens celulares de câncer de cólon humano (HCT 116,  $\text{IC}_{50}=0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), carcinoma de mama (MCF-7,  $\text{IC}_{50}=0,31 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), câncer de próstata (PC3,  $\text{IC}_{50}=0,34 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e leucemia (U937,  $\text{IC}_{50}=0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Resultados do índice de seletividade revelaram que esse composto apresentou maior seletividade para todas as quatro linhas celulares de câncer em comparação com outros complexos de Au(I) já testados.<sup>110</sup> Estudos mais detalhados dos mecanismos de ação de complexos de Au(III) com a presença e ausência de ligantes multidentados poderiam ajudar no desenho de compostos mais seletivos a células cancerosas, bem como o uso de ligantes auxiliares, tais como  $\text{PR}_3$  e NHCs, os quais são chave na atividade anticâncer de complexos de Au(III).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após várias décadas de desenvolvimento, os complexos de ouro têm se mostrado como promissores candidatos para resolver o problema da resistência da cisplatina no tratamento do câncer. Evidências experimentais reunidas até agora sugerem que os efeitos antiproliferativos causados pelos compostos de ouro provavelmente resultam de seus mecanismos de ação inovadores em comparação com drogas anticâncer já estabelecidas. Geralmente, enzimas/proteínas contendo tióis são consideradas alvos moleculares chave dos complexos de ouro devido à alta afinidade de ligação dos íons de ouro com os tióis. Existem estruturas cristalinas de raios X de adutos de proteína-Au relatadas na literatura. Essas evidências têm colocado enzimas como a GR, TrxR e TR como principais alvos dos compostos de ouro. No entanto, a Auranofina e alguns dos seus derivados têm se mostrado inibidores eficazes das enzimas DUBs as quais participam ativamente no controle de eventos celulares no câncer. Por outro lado, complexos de Au(III) têm exibido afinidade pelo ADN, sendo que a coordenação de ligantes planos tem lhe atribuído características metalintercaladoras. Nos últimos anos, alguns complexos estáveis de Au(III) mostraram efeitos inibitórios seletivos para G-quadruplexes e aquaporinas (AQP3), direcionando o desenho de compostos de ouro a novos alvos.

Existem muitos estudos sobre a citotoxicidade e os mecanismos de ação *in vitro* para complexos de Au(I). De fato, a excelente inibição de tiol-enzimas e potentes citotoxicidades foram relatadas para complexos de Au(I) contendo ligantes  $\text{PR}_3$  e NHCs. Grande parte do sucesso deste tipo de compostos como agentes antitumorais é devido a sua capacidade de acumulação na mitocôndria a qual desempenha um papel crítico na regulação da apoptose celular. De maneira geral, os trabalhos mencionados na presente revisão mostram que compostos de Au(I) contendo ligantes NHC apresentam maior atividade antitumoral *in vitro* quando comparados àqueles que contém ligantes fosfina. No entanto, estudos sobre a atividade anticâncer *in vivo* e estudos de toxicidade aguda de complexos de Au(I) são bastante escassos, uma vez que ainda não é possível inferir com certeza que os ligantes NHC são melhores candidatos que os ligantes  $\text{PR}_3$  para o desenho de compostos quimioterápicos anticâncer de Au(I). Apesar de existirem várias informações sobre as relações estrutura-atividade, até o momento os compostos com as melhores relações não possuem informações suficientes de mecanismos de ação nem ensaios *in vivo*. Devido à ampla variação estrutural testada e a alta citotoxicidade que

todos estes têm exibido nas diferentes linhagens celulares cancerígenas, torna-se difícil definir um composto de Au(I) como o mais promissor para o tratamento do câncer.

Quanto aos complexos de Au(III), sua estabilidade frente a tióis celulares e sua seletividade para células tumorais têm melhorado significativamente com o uso de ligantes multidentados apropriados. Entre esses, a ciclometalação de íons  $\text{Au}^{3+}$  com ligantes C-N bi e tridentados e com ligantes auxiliares adequados é certamente uma estratégia viável para a obtenção de complexos de Au(III) mais estáveis e eficazes. De fato, as propriedades luminescentes de alguns ligantes quelantes usados para se estabilizar o  $\text{Au}^{3+}$  têm ajudado na elucidação de seus mecanismos de ação. Outro aspecto que parece relevante é a escolha do ligante auxiliar, como  $\text{PR}_3$  e NHCs, que possam influenciar significativamente na atividade do complexo de Au(III), porém um entendimento mais detalhado do seu papel na atividade é necessário. Apesar disso, em relação a complexos de Au(I), poucos complexos de Au(III) têm sido testados *in vivo*. Estratégias como a sintonização coletiva da reatividade redox e as reações de troca de ligante de Au(III)/Au(I) com tióis são chaves para o desenvolvimento de complexos de Au(III) com potencial quimioterápico, especialmente para o tratamento de câncer de ovário, em que eles têm mostrado uma excelente atividade anticâncer. Porém, essa relação deve ser amplamente acompanhada de testes *in vivo*.

## LISTA DE ABREVIÇÕES

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico.

**AQP3:** Aquaporine ativa.

**Bcl-2:** Proteínas pró-apoptóticas Bax e Bak (regulam a permeabilização da membrana externa mitocondrial durante a apoptose).

**CHOP:** do inglês, CCAAT/Enhancer-binding protein homologous protein (primeira proteína identificada que regula a apoptose induzida pelo estresse oxidativo do retículo endoplasmático).

**Cox-2:** Ciclo-oxigenase.

**Cyp-3:** Ciclofilina 3.

**CypA:** Peptidilprolil isomerase.

**Cys:** Cisteína.

**DFT:** Teoria do funcional da densidade.

**DUBs:** Deubiquitinasas.

**ESI-MS:** do inglês, Electrospray Ionization Mass Spectrometry.

**GCSG:** Glicina-cisteína-selenocisteína-glicina.

**GR:** Glutathione redutase.

**GSH:** Glutathione.

**HCT116:** Linha celular de câncer de cólon humano.

**HDAC:** Histona desacetilase de classe I.

**HEK-293:** do inglês, "Human embryonic kidney 293 cells".

**His:** Histidina.

**HL60:** Linha celular de leucemia humana.

**hRBC:** Gel de celulose bacteriana esférica.

**HSP70:** Grupo de proteínas induzidas por choque térmico.

**K-562:** Linha celular de leucemia humana.

**MOF:** Estruturas metalorgânicas.

**mTOR:** do inglês, "mammalian Target of Rapamycin". Proteína envolvida com o crescimento, proliferação e manutenção das células.

**NCI/COLO205:** Linhagem cancerosa de colon humano desenvolvida pelo Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos.

**NCI/H1299:** Linha celular humana de carcinoma pulmonar desenvolvida pelo Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos.

**NHCs:** Carbenos N-heterocíclicos.

**OAc:** Grupo acetoxi.

**PARP-1:** do inglês, "Poly [ADP-ribose] polymerase 1". É uma enzima essencial para iniciar várias formas de reparo do ADN.

**RMN:** Ressonância magnética nuclear

**ROS:** do inglês, “Reactive Oxygen Species”

**SCN:** Tiocianato.

**Sec:** Seleniocisteína.

**SIDA:** Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida.

**SN12C:** Carcinoma de células renais.

**STAT3:** do inglês, “signal transducers and activators of transcription”.

**UCHL5:** do inglês, Ubiquitin C-Terminal Hydrolase L5.

**USP14:** do inglês, “Ubiquitin-specific protease 14”.

**TopoI:** Topoisomerase I.

**TGR:** Tiorredoxina glutationa-redutase.

**TrxR1:** Tiorredoxina redutase citosólica.

**VIH:** Vírus da Imunodeficiência Humana.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às agências de fomento brasileiras FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio contínuo às atividades de pesquisa. GYSD e CASRC agradecem à CAPES (Finance Code 001) pela bolsa de doutoramento.

## REFERÊNCIAS

- Sadler, P. J.; Sue, R. E.; *Met.-Based Drugs* **1994**, *1*, 107.
- Benedek, T. G.; *J. Hist. Med. Allied Sci.* **2004**, *59*, 50.
- Berners-Price, S. J.; Filipovska, A.; *Metalomics* **2011**, *3*, 863.
- Zou, T.; Lum, C. T.; Lok, C. N.; Zhang, J. J.; Che, C. M.; *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 8786.
- Wattenberg, L. W.; *Cancer Res.* **1985**, *45*, 1.
- Navarro, M.; *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1619.
- Navarro, M.; Castro, W.; Martínez, A.; Sánchez-Delgado, R. A.; *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 276.
- Glišić, B.; Djuran, M. I.; *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2014**, *43*, 5950.
- Bernardes, V. H. F.; Qu, Y.; Du, Z.; Beaton, J.; Vargas, M. D.; Farrell, N. P.; *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 11396.
- De Paiva, R. E. F.; Du, Z.; Peterson, E. J.; Corbi, P. P.; Farrell, N. P.; *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 12308.
- Ong, Y. C.; Roy, S.; Andrews, P. C.; Gasser, G.; *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 730.
- Maia, P. I. da S.; Deflon, U.; *Future Med. Chem.* **2014**, *6*, 1515.
- Barnard, P. J.; Berners-Price, S. J.; *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1889.
- Huynh, H. V.; *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 9457.
- Mora, M.; Gimeno, M. C.; Visbal, R.; *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 447.
- Smith, A. D.; Guidry, C. A.; Morris, V. C.; Levander, O. A.; *J. Nutr.* **1999**, *129*, 194.
- Angelucci, F.; Sayed, A. A.; Williams, D. L.; Boumis, G.; Brunori, M.; Dimastrogiovanni, D.; Miele, A. E.; Pauly, F.; Bellelli, A.; *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 28977.
- Cheng, Q.; Sandalova, T.; Lindqvist, Y.; Arnér, E. S. J.; *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 3998.
- Sengupta, S.; Chen, H.; Togawa, T.; DiBello, P. M.; Majors, A. K.; Büdy, B.; Ketterer, M. E.; Jacobsen, D. W.; *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 30111.
- Bhabak, K. P.; Bhuyana, B. J.; Mughes, G.; *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 2099.
- Zou, J.; Taylor, P.; Dornan, J.; Robinson, S. P.; Walkinshaw, M. D.; Sadler, P. J.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 2931.
- Dos Santos, H. F.; *Comput. Theor. Chem.* **2014**, *1048*, 95.
- Sánchez Delgado, G. Y.; Paschoal, D.; Dos Santos, H. F.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2018**, *23*, 1283.
- Bertrand, B.; Casini, A.; *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 4209.
- Sánchez Delgado, G. Y.; Paschoal, D.; Dos Santos, H. F.; *Comput. Theor. Chem.* **2017**, *1108*, 86.
- Li, C. K. L.; Sun, R. W. Y.; Kui, S. C. F.; Zhu, N.; Che, C. M.; *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5253.
- Navarro, M.; Betancourt, A.; Hernández, C.; Marchán, E.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19*, 1355.
- Zou, T.; Lum, C. T.; Chui, S. S. Y.; Che, C. M.; *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, *52*, 2930.
- Che, C. M.; Sun, R. W. Y.; Yu, W. Y.; Ko, C. B.; Zhu, N.; Sun, H.; *Chem. Commun.* **2003**, *9*, 1718.
- Barolli, J. P.; Corrêa, R. S.; Miranda, F. S.; Ribeiro, J. U.; Bloch, C.; Ellena, J.; Moreno, V.; Cominetti, M. R.; Batista, A. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2017**, *28*, 1879.
- Pich, C. T.; Dos Santos, P. R.; Fortunato, T. V. O.; Chiarello, M.; De Oliveira, I. M.; Soares, B. Q.; Ghermani, N. E.; Machado, M.; Roesch-Ely, M.; Dumas, F.; Terenzi, H.; Henriques, J. A. P.; Moura, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30*, 597.
- Martins, D. A.; Bomfim Filho, L. F.; Da Silva, C. M.; De Fátima, Â.; Louro, S. R. W.; Batista, D. G. J.; Soeiro, M. N. C.; De Carvalho, J. E.; Teixeira, L. R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2017**, *28*, 87.
- Navarro, M.; Hernández, C.; Colmenares, I.; Hernández, P.; Fernández, M.; Sierralta, A.; Marchán, E.; *J. Inorg. Biochem.* **2007**, *101*, 111.
- Villarreal, W.; Colina-Vegas, L.; de Oliveira, C. R.; Tenorio, J. C.; Ellena, J.; Gozzo, F. C.; Cominetti, M. R.; Ferreira, A. G.; Ferreira, M. A. B.; Navarro, M.; Batista, A. A.; *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 11709.
- Navarro, M.; Castro, W.; Higuera-Padilla, A. R.; Sierralta, A.; Abad, M. J.; Taylor, P.; Sánchez-Delgado, R. A.; *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 1684.
- Navarro, M.; Higuera-Padilla, A. R.; Arsenak, M.; Taylor, P.; *Transit. Met. Chem.* **2009**, *34*, 869.
- Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Sung, C. M.; Faucette, L.; Muirhead, K.; Crooke, S. T.; *Cancer Res.* **1985**, *45*, 32.
- Kamal, J. K. A.; Zhao, L.; Zewail, A. H.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 13411.
- <https://www.mayo.edu/research/clinical-trials/cls-20115754>, acessada em Junho 2020.
- Berners-Price, S. J.; Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Mattern, M. R.; McCabe, F. L.; Faucette, L. F.; Sung, C. M.; Mong, S. M.; Sadler, P. J.; Crooke, S. T.; *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5486.
- Humphreys, A. S.; Filipovska, A.; Berners-Price, S. J.; Koutsantonis, G. A.; Skelton, B. W.; White, A. H.; *Dalton Trans.* **2007**, 4943.
- Pillarsetty, N.; Katti, K. K.; Hoffman, T. J.; Volkert, W. A.; Katti, K. V.; Kamei, H.; Koide, T.; *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1130.
- Chui, C. H.; Wong, R. S. M.; Gambari, R.; Cheng, G. Y. M.; Yuen, M. C. W.; Chan, K. W.; Tong, S. W.; Lau, F. Y.; Lai, P. B. S.; Lam, K. H.; Ho, C. L.; Kan, C. W.; Leung, K. S. Y.; Wong, W. Y.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 7872.
- Tian, S.; Siu, F. M.; Kui, S. C. F.; Lok, C. N.; Che, C. M.; *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9318.
- Berners-Price, S. J.; Girard, G. R.; Hill, D. T.; Sutton, B. M.; Jarrett, P. S.; Faucette, L. F.; Johnson, R. K.; Mirabelli, C. K.; Sadler, P. J.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1386.
- Reddy, T. S.; Privér, S. H.; Mirzadeh, N.; Bhargava, S. K.; *J. Inorg. Biochem.* **2017**, *175*, 1.
- Reddy, T. S.; Privér, S. H.; Rao, V. V.; Mirzadeh, N.; Bhargava, S. K.; *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 15312.
- Mirzadeh, N.; Reddy, T. S.; Bhargava, S. K.; *Coord. Chem. Rev.* **2019**, *388*, 343.
- Maia, P. I. da S.; Graminha, A.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Batista, A. A.; Back, D. F.; Lang, E. S.; Ellena, J.; De S. Lemos, S.; Salistre-De-araujo, H. S.; Deflon, V. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 1177.
- Maia, P. I. da S.; Carneiro, Z. A.; Lopes, C. D.; Oliveira, C. G.; Silva, J. S.; De Albuquerque, S.; Hagenbach, A.; Gust, R.; Deflon, V. M.; Abram, U.; *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 2559.
- Garcia, A.; Machado, R. C.; Grazul, R. M.; Lopes, M. T. P.; Corrêa, C. C.; Dos Santos, H. F.; De Almeida, M. V.; Silva, H.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2016**, *21*, 275.



52. Tavares, T. T.; Azevedo, G. C.; Garcia, A.; Carpanez, A. G.; Lewer, P. M.; Paschoal, D.; Müller, B. L.; Dos Santos, H. F.; Matos, R. C.; Silva, H.; Grazul, R. M.; Fontes, A. P. S.; *Polyhedron* **2017**, *132*, 95.
53. Navarro, M.; Castro, W.; González, S.; Abad, J.; Taylor, P.; *J. Mex. Chem. Soc.* **2013**, *57*, 220.
54. Gambini, V.; Tilio, M.; Maina, E. W.; Andreani, C.; Bartolacci, C.; Wang, J.; Iezzi, M.; Ferraro, S.; Ramadori, A. T.; Simon, O. C.; Pucciarelli, S.; Wu, G.; Dou, Q. P.; Marchini, C.; Galassi, R.; Amici, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 418.
55. Köster, S. D.; Alborzina, H.; Can, S.; Kitanovic, I.; Wölfl, S.; Rubbiani, R.; Ott, I.; Riesterer, P.; Prokop, A.; Merz, K.; Metzler-Nolte, N.; *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2062.
56. Vergara, E.; Casini, A.; Sorrentino, F.; Zava, O.; Cerrada, E.; Rigobello, M. P.; Bindoli, A.; Laguna, M.; Dyson, P. J.; *ChemMedChem* **2010**, *5*, 96.
57. Garcia-Moreno, E.; Gascon, S.; Garcia de Jalon, J.; Romanos, E.; Rodriguez-Yoldi, M.; Cerrada, E.; Laguna, M.; *Anticancer Agents Med. Chem.* **2015**, *15*, 773.
58. Vergara, E.; Cerrada, E.; Clavel, C.; Casini, A.; Laguna, M.; *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 10927.
59. García-Moreno, E.; Gascón, S.; Atrián-Blasco, E.; Rodríguez-Yoldi, M. J.; Cerrada, E.; Laguna, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *79*, 164.
60. Abas, E.; Pena-Martínez, R.; Aguirre-Ramírez, D.; Rodríguez-Dieguez, A.; Laguna, M.; Grasa, L.; *Dalton Trans.* **2020**, *49*, 1915.
61. Hikisz, P.; Szczupak, Ł.; Koceva-Chyła, A.; Guśpiel, A.; Oehninger, L.; Ott, I.; Therrien, B.; Solecka, J.; Kowalski, K.; *Molecules* **2015**, *20*, 19699.
62. Wei, R.; Liu, X.; Yu, W.; Yang, T.; Cai, W.; Liu, J.; Huang, X.; Xu, G. T.; Zhao, S.; Yang, J.; Liu, S.; *Oncotarget* **2015**, *6*, 12872.
63. Li, X.; Huang, Q.; Long, H.; Zhang, P.; Su, H.; Liu, J.; *EBioMedicine* **2019**, *39*, 159.
64. Liu, N.; Li, X.; Huang, H.; Zhao, C.; Liao, S.; Yang, C.; Liu, S.; Song, W.; Lu, X.; Lan, X.; Chen, X.; Yi, S.; Xu, L.; Jiang, L.; Zhao, C.; Dong, X.; Zhou, P.; Li, S.; Wang, S.; Shi, X.; Dou, P. Q.; Wang, X.; Liu, J.; *Oncotarget* **2014**, *5*, 5453.
65. Baker, M. V.; Barnard, P. J.; Berners-Price, S. J.; Brayshaw, S. K.; Hickey, J. L.; Skelton, B. W.; White, A. H.; *Dalton Trans.* **2006**, *6*, 3708.
66. Hickey, J. L.; Ruhayel, R. A.; Barnard, P. J.; Baker, M. V.; Berners-Price, S. J.; Filipovska, A.; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12570.
67. Dos Santos, H. F.; Vieira, M. A.; Sánchez Delgado, G. Y.; Paschoal, D.; *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120*, 2250.
68. Rubbiani, R.; Kitanovic, I.; Alborzina, H.; Can, S.; Kitanovic, A.; Onambele, L. A.; Stefanopoulou, M.; Geldmacher, Y.; Sheldrick, W. S.; Wolber, G.; Prokop, A.; Wölfl, S.; Ott, I.; *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8608.
69. Rubbiani, R.; Can, S.; Kitanovic, I.; Alborzina, H.; Stefanopoulou, M.; Kokoschka, M.; Mönchgesang, S.; Sheldrick, W. S.; Wölfl, S.; Ott, I.; *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8646.
70. Weaver, J.; Gaillard, S.; Toye, C.; MacPherson, S.; Nolan, S. P.; Riches, A.; *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6620.
71. Stefan, L.; Bertrand, B.; Richard, P.; Le Gendre, P.; Denat, F.; Picquet, M.; Monchaud, D.; *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1905.
72. Hackenberg, F.; Müller-Bunz, H.; Smith, R.; Streciwilk, W.; Zhu, X.; Tacke, M.; *Organometallics* **2013**, *32*, 5551.
73. Karaca, Ö.; Scalcon, V.; Meier-Menches, S. M.; Bonsignore, R.; Brouwer, J. M. J. L.; Tonolo, F.; Folda, A.; Rigobello, M. P.; Kühn, F. E.; Casini, A.; *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 14237.
74. Lima, B. A. V.; Corrêa, R. S.; Graminha, A. E.; Kuznetsov, A.; Ellena, J.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Batista, A. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 30.
75. Arambula, J. F.; McCall, R.; Sidoran, K. J.; Magda, D.; Mitchell, N. A.; Bielawski, C. W.; Lynch, V. M.; Sessler, J. L.; Arumugam, K.; *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 1245.
76. McCall, R.; Miles, M.; Lascuna, P.; Burney, B.; Patel, Z.; Sidoran, K. J.; Sittaramane, V.; Kocerha, J.; Grossie, D. A.; Sessler, J. L.; Arumugam, K.; Arambula, J. F.; *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 5918.
77. Baron, M.; Bellemin-Lapozzani, S.; Tubaro, C.; Basato, M.; Bogianni, S.; Dolmella, A.; *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *141*, 94.
78. Zou, T.; Lum, C. T.; Lok, C. N.; To, W. P.; Low, K. H.; Che, C. M.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 5810.
79. Pratesi, A.; Gabbiani, C.; Ginanneschi, M.; Messori, L.; *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 7001.
80. Sun, R. W. Y.; Zhang, M.; Li, D.; Zhang, Z. F.; Cai, H.; Li, M.; Xian, Y. J.; Ng, S. W.; Wong, A. S. T.; *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 18534.
81. Porchia, M.; Pellei, M.; Marinelli, M.; Tisato, F.; Del Bello, F.; Santini, C.; *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *146*, 709.
82. Dada, O.; Curran, D.; O'Beirne, C.; Müller-Bunz, H.; Zhu, X.; Tacke, M.; *J. Organomet. Chem.* **2017**, *840*, 30.
83. Schmidt, C.; Karge, B.; Misgeld, R.; Prokop, A.; Franke, R.; Brønstrup, M.; Ott, I.; *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23*, 1869.
84. Schuh, E.; Pflüger, C.; Citta, A.; Folda, A.; Rigobello, M. P.; Bindoli, A.; Casini, A.; Mohr, F.; *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5518.
85. Nandy, A.; Dey, S. K.; Das, S.; Munda, R. N.; Dinda, J.; Saha, K. D.; *Mol. Cancer* **2014**, *13*, 1.
86. Buckley, R. G.; Elsome, A. M.; Fricker, S. P.; Henderson, G. R.; Theobald, B. R. C.; Parish, R. V.; Howe, B. P.; Kelland, L. R.; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 5208.
87. Parish, R. V.; Howe, B. P.; Wright, J. P.; Mack, J.; Pritchard, R. G.; Buckley, R. G.; Elsome, A. M.; Fricker, S. P.; *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1659.
88. Fricker, S. P.; Mosi, R. M.; Cameron, B. R.; Baird, I.; Zhu, Y.; Anastassov, V.; Cox, J.; Doyle, P. S.; Hansell, E.; Lau, G.; Langille, J.; Olsen, M.; Qin, L.; Skerlj, R.; Wong, R. S. Y.; Santucci, Z.; McKerrow, J. H.; *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 1839.
89. Engman, L.; McNaughton, M.; Gajewska, M.; Kumar, S.; Birmingham, A.; Powis, G.; *Anticancer Drugs* **2006**, *17*, 539.
90. Marcon, G.; Carotti, S.; Coronello, M.; Messori, L.; Mini, E.; Orioli, P.; Mazzei, T.; Cinellu, M. A.; Minghetti, G.; *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1672.
91. Carboni, S.; Zucca, A.; Stoccoro, S.; Maiore, L.; Arca, M.; Ortu, F.; Artner, C.; Keppler, B. K.; Meier-Menches, S. M.; Casini, A.; Cinellu, M. A.; *Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 14852.
92. Casini, A.; Kelter, G.; Gabbiani, C.; Cinellu, M. A.; Minghetti, G.; Fregona, D.; Fiebig, H. H.; Messori, L.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2009**, *14*, 1139.
93. Gabbiani, C.; Casini, A.; Kelter, G.; Cocco, F.; Cinellu, M. A.; Fiebig, H. H.; Messori, L.; *Metallomics* **2011**, *3*, 1318.
94. Casini, A.; Cinellu, M. A.; Minghetti, G.; Gabbiani, C.; Coronello, M.; Mini, E.; Messori, L.; *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5524.
95. Shaik, N.; Martínez, A.; Augustin, I.; Giovinazzo, H.; Varela-Ramírez, A.; Sanaú, M.; Aguilera, R. J.; Contel, M.; *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1577.
96. Vela, L.; Contel, M.; Palomera, L.; Azaceta, G.; Marzo, I.; *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 1306.
97. Zhang, J. J.; Sun, R. W. Y.; Che, C. M.; *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 3388.
98. Messori, L.; Abbate, F.; Marcon, G.; Orioli, P.; Fontani, M.; Mini, E.; Mazzei, T.; Carotti, S.; O'Connell, T.; Zanello, P.; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3541.
99. Martins, A. P.; Ciancetta, A.; de Almeida, A.; Marrone, A.; Re, N.; Soveral, G.; Casini, A.; *ChemMedChem* **2013**, *8*, 1086.
100. Kusayama, M.; Wada, K.; Nagata, M.; Ishimoto, S.; Takahashi, H.; Yoneda, M.; Nakajima, A.; Okura, M.; Kogo, M.; Kamisaki, Y.; *Cancer Sci.* **2011**, *102*, 1128.
101. De Almeida, A.; Mósca, A. F.; Wragg, D.; Wenzel, M.; Kavanagh, P.; Barone, G.; Leoni, S.; Soveral, G.; Casini, A.; *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3830.



102. Wenzel, M. N.; Mósca, A. F.; Graziani, V.; Aikman, B.; Thomas, S. R.; De Almeida, A.; Platts, J. A.; Re, N.; Coletti, C.; Marrone, A.; Soveral, G.; Casini, A.; *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 2140.
103. Radisavljević, S.; Bratsos, I.; Scheurer, A.; Korzekwa, J.; Masnikosa, R.; Tot, A.; Gligorijević, N.; Radulović, S.; Rilak Simović, A.; *Dalton Trans.* **2018**, *47*, 13696.
104. Lum, C. T.; Wong, A. S. T.; Lin, M. C.; Che, C. M.; Sun, R. W. Y.; *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4364.
105. Lum, C. T.; Wai-Yin Sun, R.; Zou, T.; Che, C. M.; *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1579.
106. Chow, K. H. M.; Sun, R. W. Y.; Lam, J. B. B.; Li, C. K. L.; Xu, A.; Ma, D. L.; Abagyan, R.; Wang, Y.; Che, C. M.; *Cancer Res.* **2010**, *70*, 329.
107. Akerman, K. J.; Fagenson, A. M.; Cyril, V.; Taylor, M.; Muller, M. T.; Akerman, M. P.; Munro, O. Q.; *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 5670.
108. Sun, R. W. Y.; Lok, C. N.; Fong, T. T. H.; Li, C. K. L.; Yang, Z. F.; Siu, A. F. M.; Che, C. M.; *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1979.
109. Bertrand, B.; Fernandez-Cestau, J.; Angulo, J.; Cominetti, M. M. D.; Waller, Z. A. E.; Searcey, M.; O'Connell, M. A.; Bochmann, M.; *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 5728.
110. Haque, R. A.; Ghdayeb, M. Z.; Budagumpi, S.; Khadeer Ahamed, M. B.; Abdul Majid, A. M. S.; *RSC Adv.* **2016**, *6*, 60407.