



UFOP
Universidade Federal
de Ouro Preto

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO



AUGUSTO VIEIRA PONTES SILVA

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS POR SELONAS
N-HETEROCÍCLICAS BASEADAS EM D-GALACTOSE E AVALIAÇÃO DA SUA
CITOTOXICIDADE**

Ouro Preto

2023

AUGUSTO VIEIRA PONTES SILVA

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS POR SELONAS
N-HETEROCÍCLICAS BASEADAS EM D-GALACTOSE E AVALIAÇÃO DA SUA
CITOTOXICIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia Generalista pela Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Profa. Dra. Rute Cunha Figueiredo

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo César de Moraes

OURO PRETO

2023

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586s Silva, Augusto Vieira Pontes.
Síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por selonas N-heterocíclicas baseadas em D-galactose e avaliação da sua citotoxicidade. [manuscrito] / Augusto Vieira Pontes Silva. - 2023.
73 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Rute Cunha Figueiredo.

Coorientador: Dr. Leonardo César de Moraes Teixeira.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Nanopartículas. 2. Galactose. 3. Selonas N-heterocíclicas. 4. Citotoxicidade. I. Figueiredo, Rute Cunha. II. Teixeira, Leonardo César de Moraes. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 620.3

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Augusto Vieira Pontes Silva

Síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por selonas *N*-heterocíclicas baseadas em D-galactose e avaliação da sua citotoxicidade

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia Generalista

Aprovada em 30 de março de 2023

Membros da banca

Dra - Rute Cunha Figueiredo - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr - Leonardo César de Moraes Teixeira - Co-orientador (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro)
Dr - Thiago Belarmino de Souza - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr- Rodrigo de Souza Correa - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Rute Cunha Figueiredo, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 30/03/2023



Documento assinado eletronicamente por **Rute Cunha Figueiredo, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 30/03/2023, às 08:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0500873** e o código CRC **06C6AB27**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por não medirem esforços para a realização deste sonho. À minha mãe, Giovana, agradeço por todo amor e carinho que sempre teve comigo. Por estar sempre ao meu lado e me apoiar. Ao meu pai, Adriano, por ser um exemplo de caráter e bondade no qual me espelho. Embora você não esteja presente fisicamente, seus ensinamentos me moldaram e fazem parte de mim.

À minha avó Rita por todos os conselhos e por me mostrar o valor do pensamento positivo. Ao meu avô Catatau por todas as conversas e pelo apoio. À minha avó Zinha por todas as orações e por todos os momentos que compartilhamos.

À Jéssica pelo apoio durante todo curso. Agradeço por me amparar nos momentos mais difíceis e por compartilhar comigo momentos incríveis em Ouro Preto. Por me incentivar a buscar minha melhor versão e por me fazer acreditar que isso seria possível. Obrigado por tudo que fez por mim!

À Professora Rute por todo empenho para a realização deste trabalho. Agradeço por me apresentar o mundo da ciência e por ter me orientado durante toda minha trajetória na UFOP. Agradeço também pela amizade e pelos valiosos conselhos que, com certeza, levarei para toda a minha vida. Sua força e sabedoria tem sido uma inspiração diária para mim.

Ao Professor Leonardo pela amizade e por todos os momentos que vivenciamos no laboratório. Agradeço por todos os ensinamentos e por compartilhar sua paixão pela ciência comigo. Seus conselhos sempre foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Sua dedicação e coragem me motivam diariamente.

A todos colegas do DENDRON que tive a oportunidade de aprender e compartilhar experiências. Agradeço, em especial, ao Victor, por todos os momentos que compartilhamos no laboratório e pelo apoio para realização deste trabalho. Ao Paulo por todo carinho e alegria contagiante.

Aos amigos que fiz durante a graduação por todo apoio, pelas horas de estudo e pelos momentos que estarão sempre marcados em minha memória. Aos amigos de Alvinópolis que sempre estiveram presentes apesar da distância.

A todos os funcionários da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) que trabalham diariamente para garantir o ensino público de qualidade.

Ao Laboratório de Caracterização de Moléculas da UFOP e ao técnico Hygor Mezdri pelas análises de RMN.

Ao Professor Breno Mello e ao Doutorando Wellington Malta pelos ensaios de citotoxicidade.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

RESUMO

Os nanomateriais têm despertado grande interesse na comunidade científica devido as suas propriedades únicas, especialmente relacionadas ao tamanho nanométrico. Dentre esses materiais, as nanopartículas metálicas têm se destacado quanto as suas características ópticas e eletrônicas exclusivas. A utilização de ligantes têm um papel fundamental na estabilização das nanopartículas e pode influenciar diretamente o tamanho e a morfologia das partículas. Os ligantes podem, também, modular a citotoxicidade das nanopartículas. Neste trabalho, foi proposta a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por selonas *N*-heterocíclicas baseadas em D-galactose e avaliação da sua citotoxicidade. Inicialmente, foi realizada a síntese de uma selona *N*-heterocíclica a partir da D-galactose. A selona *N*-heterocíclica (ligante) foi caracterizada utilizando a técnica de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . As nanopartículas de prata obtidas foram caracterizadas por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível. A avaliação da citotoxicidade das nanopartículas de prata e do ligante livre foi realizada por meio do ensaio de MTT em células VERO. A selona *N*-heterocíclica foi obtida pela primeira vez nesse trabalho, assim como a nanopartícula de prata estabilizada por esse ligante.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, Selonas *N*-heterocíclicas, D-galactose.

ABSTRACT

Nanomaterials have aroused great interest in the scientific community due to their unique properties, especially related to nanometric size. Among these materials, metallic nanoparticles have stood out for their unique optical and electronic characteristics. The use of ligands plays a fundamental role in the stabilization of nanoparticles and can directly influence the size and morphology of the particles. Ligands can also modulate the cytotoxicity of nanoparticles. In this work, the synthesis of silver nanoparticles stabilized by *N*-heterocyclic selones based on D-galactose and the evaluation of their cytotoxicity were proposed. Initially, the synthesis of an *N*-heterocyclic selone from D-galactose was carried out. *N*-heterocyclic selone (ligand) was characterized using the ¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance technique. The obtained silver nanoparticles were characterized by absorption spectroscopy in the ultraviolet-visible region. The evaluation of the cytotoxicity of silver nanoparticles and the free ligand was performed using the MTT assay in VERO cells. The *N*-heterocyclic selone was obtained for the first time in this work, as well as the silver nanoparticle stabilized by this ligand.

Keywords: Silver nanoparticles, *N*-heterocyclic selones, D-galactose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Logo do IBM escrito com 35 átomos de xenônio.	12
Figura 2: Classificação de nanopartículas com base na composição química representadas por alguns exemplos.	13
Figura 3: Representação esquemática de uma nanopartícula metálica.	14
Figura 4: Abordagens utilizadas na síntese de nanopartículas.	16
Figura 5: Representação esquemática da interação de carboidratos presentes na superfície de uma célula com lectinas de várias origens.	18
Figura 6: Representação esquemática da estrutura de uma selona <i>N</i> -heterocíclica.	21
Figure 7: Plano de síntese da selona <i>N</i> -heterocíclica (6).	25
Figura 8: Mecanismo da reação de formação do derivado bromado (1).	35
Figura 9: Estruturas canônicas de ressonância e mapa de potencial eletrostático do 1-metilimidazol.	36
Figura 10: Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado bromado (1).	37
Figura 11: Espectro de RMN de ¹ H do derivado bromado (1) (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz).	38
Figura 12: Representação esquemática do acoplamento spin-órbita.	39
Figura 13: Influência dos substituintes halogênio no deslocamento químico de ¹³ C.	40

Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 do derivado bromado (1) (DMSO- d_6 , 100 MHz).....	41
Figura 15: Mecanismo da reação de formação do derivado azido (2).....	42
Figura 16: Sobreposição do espectro de absorção na região do infravermelho do derivado bromado (1) e do derivado azido (2).....	42
Figura 17: Espectro de RMN de ^1H do derivado azido (2) (DMSO- d_6 , 400 MHz).....	43
Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 do derivado azido (2) (DMSO- d_6 , 100 MHz).	44
Figura 19: Mecanismo da reação de formação do derivado peracetilado (3).....	45
Figura 20: Espectro de RMN de ^1H do derivado peracetilado (3) (CDCl $_3$, 400 MHz).	46
Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado peracetilado (3) (CDCl $_3$, 100 MHz).	47
Figura 22: Mapa de contornos HSQC do derivado galactosídeo peracetilado (3) (CDCl $_3$, 100 MHz).....	48
Figura 23: Mecanismo da reação de formação do derivado alquino (4).....	49
Figura 24: Espectro de RMN de ^1H do derivado alquino (4) (CDCl $_3$, 400 MHz).	50
Figura 25: Representação esquemática do acoplamento propargílico.....	51
Figura 26: Anisotropia causada pela presença de elétrons π em alquinos.	51
Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado alquino (4) (CDCl $_3$, 100 MHz).....	52
Figura 28: Mapa de contornos HSQC do derivado alquino (4) (CDCl $_3$, 100 MHz). ..	53

Figura 29: Mecanismo proposto para a reação de cicloadição alquino-azida catalisada por cobre.....	54
Figura 30: Espectro de RMN de ^1H do derivado galactosídeo peracetilado (5a) (CDCl_3 , 400 MHz).....	55
Figure 31: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado galactosídeo peracetilado (5a) (CDCl_3 , 100 MHz).....	56
Figura 32: Mapa de contornos HSQC do derivado galactosídeo peracetilado (5a) (CDCl_3 , 100 MHz).....	57
Figura 33: Espectro de RMN de ^1H da selona <i>N</i> -heterocíclica (6) ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz).....	58
Figura 34: Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 da selona <i>N</i> -heterocíclica (6) ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz).....	60
Figura 35: Mapa de contornos HSQC da selona <i>N</i> -heterocíclica (6) ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz).....	61
Figura 36: Aspecto do meio reacional antes e após adição de NaBH_4 durante síntese da NPAg-NHSe.....	62
Figura 37: Espectro de absorção na região do UV-VIS da NPAg-NHSe e do ligante livre.....	63
Figura 38: Representação do ensaio de viabilidade celular pelo método MTT.	64
Figura 39: Gráfico de viabilidade celular das células VERO tratadas com a nanopartícula de prata e com o ligante livre.....	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Reagentes e soluções	23
3.2 Caracterizações.....	23
3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	23
3.2.2 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho	23
3.2.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS)....	24
3.3 Sínteses.....	24
3.3.1 Plano de síntese.....	24
3.3.2 Síntese do brometo de 1-(2-bromoetil)-3-metilimidazólio (1)	25
3.3.3 Síntese do brometo de 3-(2-azidoetil)-1-metil-imidazólio (2).....	26
3.3.4 Síntese do 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil- α,β -D-galactopiranosose (3).....	27
3.3.5 Síntese de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-galactopiranosídeo de 2-propinila (4)	28

3.3.6 Síntese do brometo de 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazol)-1-metilimidazólio (5a) e do brometo de β -D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazol)-1-metilimidazólio (5b)	30
3.3.7 Síntese da β -D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazol)-1-metilimidazol-2-selenona (6)	32
3.3.8 Síntese da nanopartícula de prata estabilizada pela selona <i>N</i> -heterocíclica (NPAg-NHSe).....	33
3.4 Ensaio de citotoxicidade	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 Síntese da selona <i>N</i> -heterocíclica	35
4.2 Síntese das nanopartículas de prata estabilizadas pela selona <i>N</i> -heterocíclica	61
4.3 Avaliação da citotoxicidade das nanopartículas de prata	64
5 CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

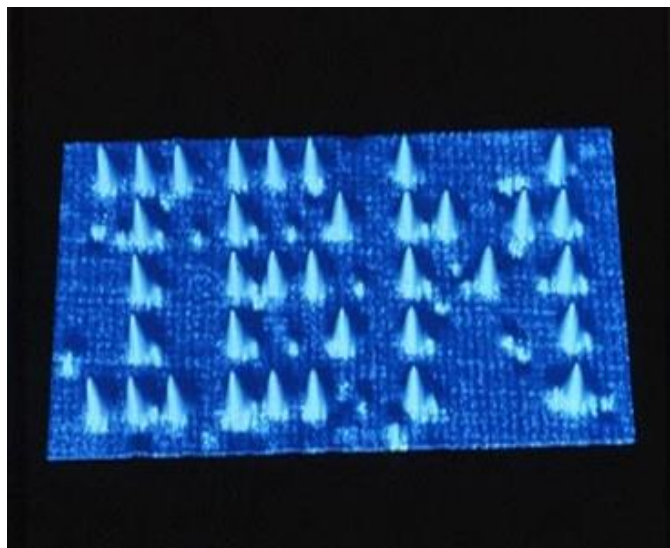
Nas últimas décadas, a nanotecnologia tem atraído cada vez mais interesse da comunidade científica e os investimentos em pesquisa e desenvolvimento nessa área aumentam consideravelmente a cada ano (ROCO, 2011). A nanotecnologia é considerada uma tecnologia multidisciplinar que abrange áreas como química, física, ciência dos materiais, entre outras. A exploração das propriedades únicas dos materiais em escala nanométrica possibilita aplicações nos mais diversos campos do conhecimento, como desenvolvimento de fármacos, catálise e magnetismo (CORDEIRO et al, 2016; KALSI et al, 2022; MOURDIKLOUDIS; KOSTOPOULOU; LAGROW, 2021).

Os conceitos sobre nanociência foram introduzidos na comunidade científica em 1959, pelo físico norte-americano Richard Feynman, em sua palestra intitulada "*There's Plenty of Room at the Bottom*". Durante a apresentação, Feynman destacou que o controle e manipulação da matéria em escala nanométrica contribuiriam de forma significativa para a evolução científica (FEYNMAN, 2011). Em 1974, Norio Taniguchi introduziu o termo "nanotecnologia" para descrever a criação de materiais em escala nanométrica. Anos depois, Eric Drexler publicou o livro "*Engines of Creation*", no qual apresentou uma definição que se aproxima mais da utilizada atualmente, considerando a manipulação da matéria átomo a átomo (FERREIRA; RANGEL, 2009).

Apesar das constantes discussões acerca da nanotecnologia, não eram observados avanços consideráveis na área. Os pesquisadores enfrentavam dificuldades na observação e manipulação da matéria de modo controlado, pois naquela época não existiam microscópios com tecnologia suficiente para realização dessas atividades. Foi então que, em 1981, os pesquisadores Gerd Binnig e Heinrich Rohrer desenvolveram o microscópio de tunelamento, técnica que possibilitou a visualização e manipulação da matéria em escala nanométrica, abrindo assim as portas para o avanço da nanotecnologia. Alguns anos mais tarde,

em 1990, Donald Eigler e Erhard Schweizer manipularam 35 átomos de xenônio em um substrato de níquel de modo que fosse possível escrever as iniciais da empresa IBM (*International Business Machines*), evidenciando a possibilidade de manipulação da matéria em escala nanométrica (EIGLER; SCHWEIZER, 1990). Com o avanço da tecnologia e o desenvolvimento de novos métodos de observação da matéria em escala nanométrica, como, por exemplo, a microscopia eletrônica de transmissão e a microscopia de força atômica, a nanotecnologia tornou-se um campo de estudo cada vez mais promissor (TOMA, 2016).

Figura 1: Logo do IBM escrito com 35 átomos de xenônio.



Fonte: IBM, Disponível em: < http://www-03.ibm.com/ibm/history/exhibits/vintage/vintage_4506VV1003.html >. Acesso em: 27 de fev. 2023

O tamanho nanométrico faz com que os nanomateriais se situem entre as espécies moleculares e os materiais com dimensões convencionais. Nessa dimensão, as nanoestruturas apresentam propriedades físicas e químicas diferentes das observadas no mesmo material em escala maior. As nanopartículas (NPs) são exemplos de nanomateriais que têm sido amplamente estudados devido as suas propriedades únicas, que dependem do seu tamanho e forma. Por definição, as

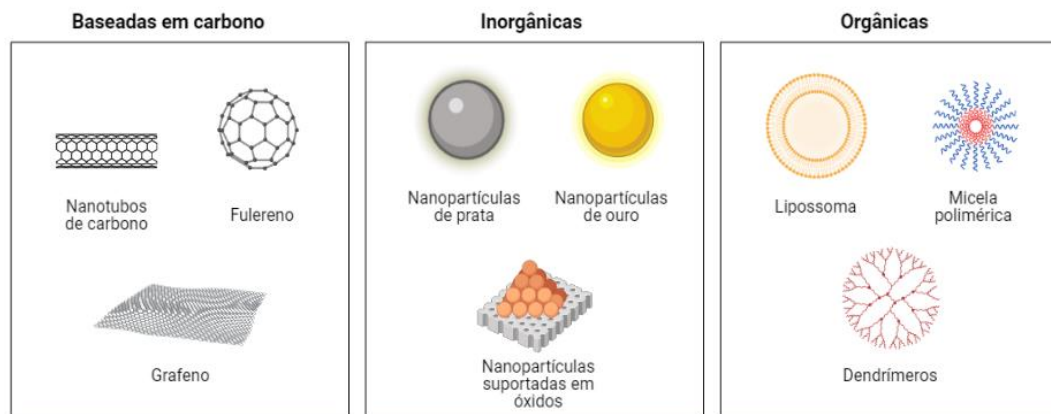
nanopartículas são materiais que possuem tamanho entre 1 e 100 nanômetros em pelo menos uma de suas dimensões (ALLHOFF; LIN; MOORE, 2009, p. 4).

As nanopartículas (NPs) possuem variadas formas, tamanhos e composições, e podem ser classificadas com base em parâmetros como dimensionalidade e composição química. Quanto à composição, elas se dividem em três categorias principais: orgânicas, inorgânicas e baseadas em carbono (JEEVANANDAM et al, 2018).

As NPs orgânicas são amplamente utilizadas no campo biológico, devido a sua maior biocompatibilidade. Micelas e lipossomas são exemplos clássicos desse tipo de nanopartícula. As NPs baseadas em carbono, por sua vez, são compostas exclusivamente por átomos de carbono. Fullerenos, grafeno e nanotubos de carbono são exemplos conhecidos. As nanopartículas inorgânicas são compostas por metais e podem ser divididas em dois grupos: nanopartículas baseadas em óxidos metálicos e nanopartículas metálicas (JEEVANANDAM et al, 2018).

Figura 2: Classificação de nanopartículas com base na composição química representadas por alguns exemplos.

Classes de nanopartículas

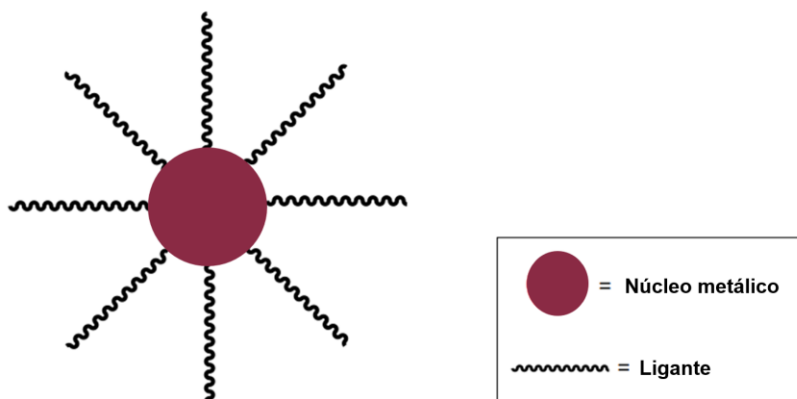


Fonte: Elaboração própria

As nanopartículas metálicas são sintetizadas por meio da redução de precursores metálicos e estabilizadas por moléculas orgânicas, chamadas ligantes

(Figura 3). Uma ampla variedade de metais, incluindo ouro, ferro, prata, cobre, paládio, rutênio e platina, é frequentemente utilizada na síntese dessas nanopartículas (DEJESUS et al, 2020; FAROOQI et al, 2022; SUR et al, 2010).

Figura 3: Representação esquemática de uma nanopartícula metálica.



Fonte: Elaboração própria

As nanopartículas metálicas possuem propriedades únicas relacionadas com seu tamanho, forma e composição. Essas NPs apresentam uma maior proporção de átomos em sua superfície em comparação com materiais macroscópicos, o que resulta em uma área superficial maior. Essa área superficial aumentada, juntamente com a relação superfície/volume crescente conforme o tamanho da partícula diminui, confere às nanopartículas metálicas características físicas e químicas diferentes das apresentadas por materiais em escala convencional (ZHOU et al, 2010; RAO et al, 2022). Além disso, as nanopartículas metálicas também possuem propriedades ópticas relacionadas com seu tamanho e forma, como, por exemplo, as propriedades plasmônicas que podem ser exploradas em aplicações de diagnóstico biomédico e terapia fototérmica contra tumores (RAVICHANDRAN et al, 2016). As propriedades eletrônicas das nanopartículas metálicas também são influenciadas pela sua morfologia e tamanho, resultando em um comportamento eletrônico único. A possibilidade de sintetizar nanopartículas metálicas de maneira controlada

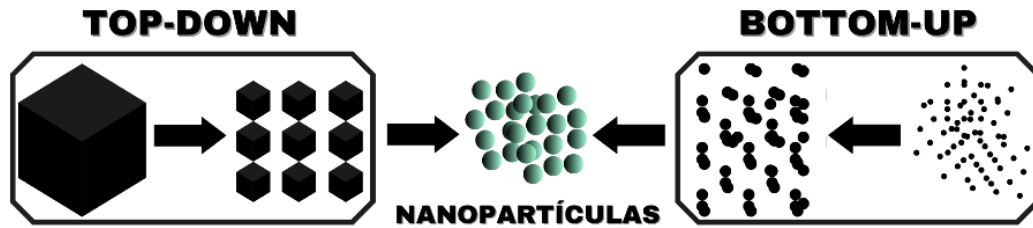
conforme a aplicação desejada tornam essas estruturas uma alternativa promissora para diversas aplicações em áreas como biomedicina, eletrônica, energia e meio ambiente (KHAN; SAEED; KHAN, 2019).

Entre os diversos metais que podem ser utilizados na síntese de nanopartículas, as nanopartículas de prata (AgNP) têm despertado grande interesse na comunidade científica devido as suas propriedades ópticas, catalíticas e antimicrobianas promissoras (COBLEY et al, 2009; FRANCI et al, 2015). Além disso, o custo para a produção de nanopartículas de prata é relativamente baixo quando comparado a outros metais nobres frequentemente utilizados na síntese desses sistemas, tornando-as uma opção economicamente mais viável.

A síntese de nanopartículas pode ser feita por meio de duas abordagens distintas: *top-down* e *bottom-up* (WANG; XIA, 2004). Na abordagem *top-down*, as nanopartículas são obtidas por meio de técnicas destrutivas que partem de uma estrutura maior e a decompõem até a escala nanométrica, mas o controle do nível atômico não é possível com essa abordagem. Já na abordagem *bottom-up*, as nanopartículas são formadas a partir de átomos que se unem para formar estruturas nanométricas (JAMKHANDE et al, 2019).

O método de síntese utilizado influencia nas características finais da nanopartícula, por isso é importante levar em consideração as vantagens e desvantagens de cada técnica. Para a obtenção de nanopartículas metálicas, os métodos químicos são amplamente empregados, pois permitem variações nas etapas do processo de síntese, possibilitando maior controle das características das nanopartículas (JAMKHANDE et al, 2019).

Figura 4: Abordagens utilizadas na síntese de nanopartículas.



Fonte: Elaboração própria

A síntese de nanopartículas metálicas é frequentemente realizada por meio do método químico de redução de precursores metálicos. Nesse processo, sais ou complexos metálicos são reduzidos na presença de agentes redutores e ligantes estabilizadores (JAMKHANDE et al, 2019). Na síntese de nanopartículas de prata, por exemplo, o íon Ag^+ é reduzido a Ag^0 pelos agentes redutores presentes no meio reacional. A estabilidade das nanopartículas em solução coloidal depende da capacidade de se controlar as forças que agem na superfície das partículas, com isso, a utilização de ligantes estabilizadores é uma estratégia comum para evitar a agregação dos núcleos metálicos das nanopartículas (DUNG DANG, 2011). Neste processo, a morfologia e o tamanho das nanopartículas podem ser controlados modificando a proporção entre o precursor metálico e o ligante estabilizador. Além disso, fatores como temperatura, solvente e pH do meio reacional também influenciam nas características finais das nanopartículas (DUNG DANG, 2011). O controle desses parâmetros é crucial para a obtenção de nanopartículas com as características desejadas

No contexto de aplicações biológicas, é ainda mais importante garantir a estabilidade das nanopartículas, uma vez que a agregação pode afetar a atividade das mesmas. Por isso, a escolha do ligante é uma etapa crítica no processo de síntese, pois além de atuar na estabilização das nanopartículas, pode modular sua interação com receptores presentes na superfície celular, afetando a atividade biológica e a citotoxicidade. Assim, na síntese de nanopartículas metálicas para

aplicações biológicas deve-se considerar esses fatores para maximizar a eficiência da atividade (ZHANG et al, 2016).

Existem diferentes tipos de ligantes que podem ser utilizados na síntese de nanopartículas metálicas. Os ligantes com sítios de coordenação de alta densidade eletrônica, como as bases de Lewis, são capazes de interagir com o núcleo metálico das nanopartículas e favorecer sua estabilização (NOSRATABAD et al, 2021). Ligantes volumosos também podem ser empregados para evitar a interação entre os núcleos metálicos por meio do impedimento estérico gerado por esses ligantes, impedindo assim a agregação das partículas. Exemplos de ligantes estabilizadores utilizados na síntese de nanopartículas de prata, são polímeros, tióis e carboidratos (KUMAR; VARSHNET; FRANCIS, 2005; BATTOCCHIO et al, 2012; RAMTENKI et al, 2013).

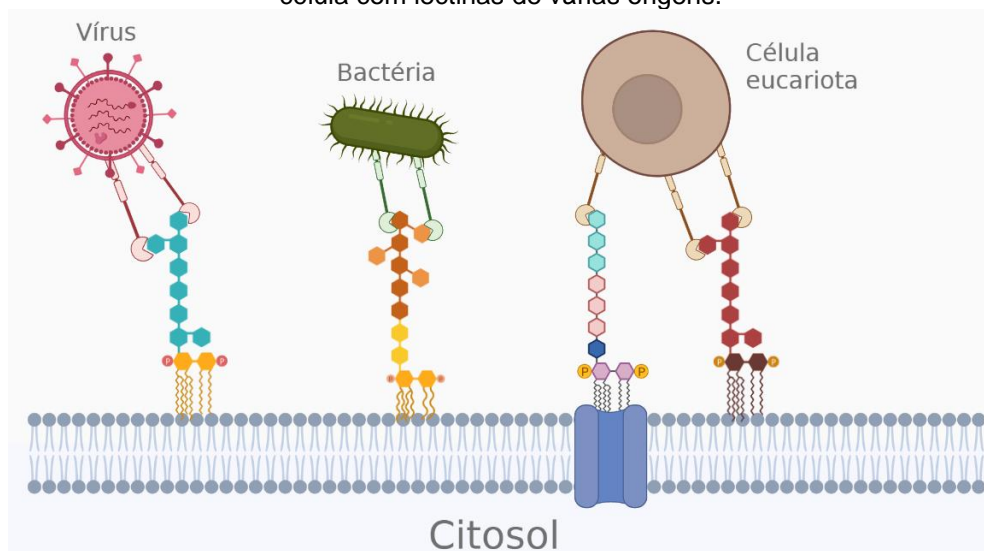
Os carboidratos podem ser ligantes altamente úteis na síntese de nanopartículas metálicas com aplicações biológicas. A alta hidrossolubilidade dos ligantes baseados em carboidratos pode auxiliar a solubilização das nanopartículas em sistemas biológicos, o que é essencial para alcançar a atividade desejada. Além disso, esses ligantes podem reduzir a toxicidade das nanopartículas metálicas devido a sua maior biocompatibilidade e biodegradabilidade quando comparados com outros ligantes usualmente empregados (THODIKAYIL; SHARMA; SAHA, 2021). Os ligantes baseados em carboidratos têm sido amplamente utilizados em sistemas de endereçamento de fármacos para alvos específicos devido à alta especificidade das lectinas por diferentes tipos de carboidratos (KHAN et al, 2021).

Do ponto de vista econômico, a utilização de carboidratos é altamente atraente, devido ao baixo custo e à alta disponibilidade desses compostos. Além disso, eles podem ser funcionalizados, permitindo a síntese de moléculas com diferentes grupos funcionais e, conseqüentemente, aumentando a versatilidade das nanopartículas produzidas (THODIKAYIL; SHARMA; SAHA, 2021).

Os carboidratos são moléculas que, além de estarem envolvidas na produção de energia, desempenham diversos papéis fisiológicos como mediadores das

interações celulares. Os carboidratos presentes na membrana celular na forma de glicoproteínas e glicolipídios são importantes na interação com outras células por meio de interações carboidrato-proteína. Essas interações são mediadas por lectinas, que são proteínas especializadas no reconhecimento de carboidratos e podem ser encontradas na superfície ou no interior das células. As lectinas são moléculas de origem não imune que estão expressas em diferentes tecidos e tipos celulares, e também podem ser encontradas em plantas, animais e diversos microrganismos (LIS; SHARON, 1998).

Figura 5: Representação esquemática da interação de carboidratos presentes na superfície de uma célula com lectinas de várias origens.



Fonte: Adaptado de FIGUEIREDO, 2009.

Existem diferentes famílias de lectinas com seletividades distintas para ligantes monossacarídeos. As galectinas são uma família de lectinas de origem animal, que apresentam um ou mais domínios de reconhecimento de carboidratos, com afinidade por β -galactosídeos. Essas proteínas são importantes em eventos relacionados à imunidade inata e adaptativa, contribuindo para a ativação e resolução de respostas imunes, além de estarem envolvidas em processos patológicos, como o câncer (DI LELLA et al, 2011).

Devido à seletividade das galectinas, a utilização de ligantes baseados em D-galactose pode levar a uma maior afinidade na interação desses ligantes com as galectinas (DI LELLA et al, 2011). Além disso, existem receptores específicos para a D-galactose, como as asialoglicoproteínas, que são expressos em abundância nos hepatócitos (TREERE et al). Dessa forma, nanopartículas revestidas com ligantes baseados em D-galactose podem ser direcionadas preferencialmente para hepatócitos, diminuindo a possibilidade de efeitos nocivos a outros tecidos.

Kennedy e colaboradores descreveram a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por diferentes tipos de carboidratos e avaliaram sua citotoxicidade (KENNEDY et al, 2014). Os resultados indicaram que as nanopartículas de prata funcionalizadas com ligantes baseados em D-galactose e D-manose apresentaram menor citotoxicidade em comparação com as nanopartículas funcionalizadas com glicose ou íon citrato. Foi observado que a nanopartícula mais absorvida não foi a mais citotóxica, uma vez que as NPs revestidas com D-galactose foram mais absorvidas quando comparadas com outros carboidratos. Adicionalmente, observou-se que as nanopartículas estabilizadas por ligantes baseados em D-galactose foram menos citotóxicas devido à maior eficiência na redução do estresse oxidativo relacionado à formação de espécies reativas de oxigênio. O estudo foi realizado em culturas de células neuronais e uma linhagem celular de hepatócitos. Por análise desses resultados foi possível demonstrar que a escolha da molécula de carboidrato para a estabilização de nanopartículas pode ser crucial na minimização da citotoxicidade (KENNEDY et al, 2014).

Nesse contexto, a busca por novos ligantes, baseados em D-galactose, capazes de estabilizar nanopartículas de prata é altamente desejável. Para alcançar esse objetivo, modificações na estrutura da D-galactose podem ser realizadas, de modo a obter moléculas com outros grupos funcionais que atuem favorecendo a interação com o centro metálico. Uma abordagem promissora para essa finalidade é a síntese de compostos organosselênio, compostos orgânicos que apresentam um ou mais átomos de selênio na estrutura.

O selênio é um elemento químico que faz parte da família dos calcogênios. Os compostos de selênio são essenciais para o funcionamento de processos biológicos importantes no organismo, tornando o selênio um oligoelemento vital (CHAN; GERSON; SUBRAMANIAM, 1998). O selênio está presente em várias selenoproteínas, como por exemplo, a glutathiona peroxidase (GPx4), que possui uma função antioxidante crucial. Esta proteína atua reduzindo hidroperóxidos fosfolipídicos presentes nas biomembranas de células de mamíferos, protegendo-as de danos oxidativos (NOGUEIRA; BARBOSA; ROCHA, 2021).

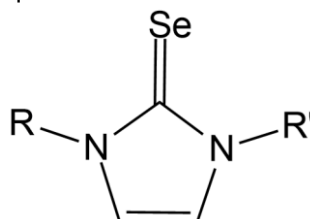
Os compostos de organosselênio possuem um comportamento semelhante aos análogos de enxofre, mas são mais nucleofílicos em comparação (WITCHZAK; CZERNECKI, 1998, p. 143). A capacidade desses compostos de atuarem como ligantes está relacionada à alta capacidade de doação de elétrons do átomo de selênio (ARORA et al, 2021).

Lorenzoni e colaboradores descreveram a síntese de nanopartículas de ouro estabilizadas por quatro tipos diferentes de ligantes organosselênio a partir do método de redução química (LORENZONI et al, 2022). Ficou demonstrado que o uso de compostos de organosselênio como agentes funcionalizadores de nanopartículas de ouro representa uma abordagem promissora para a terapia contra o câncer (LORENZONI et al, 2022).

A energia de dissociação de ligação entre a prata e o selênio apresenta um valor aproximado de 210 KJ/mol (LUO, 2012, p.89). Assim, considerando que a ligação covalente entre prata e selênio é bastante forte, a utilização de selonas *N*-heterocíclicas (NHSe) como ligantes pode favorecer a interação dessas estruturas com o núcleo metálico das nanopartículas devido à sua capacidade doadora de elétrons. Outro efeito importante que pode favorecer a obtenção de nanopartículas de prata estabilizadas por selonas *N*-heterocíclicas é a retrodoação π . Esse efeito ocorre quando o metal possui orbitais *d* preenchidos ou com grande quantidade de elétrons, podendo doá-los para orbitais *p* vazios do ligante que apresentam simetria adequada, com isso, ligações mais estáveis são formadas. Embora já tenha sido

descrita a síntese de complexos de prata utilizando-se selonas *N*-heterocíclicas como ligantes (ALLEN, 2018), a obtenção de nanopartículas estabilizadas por compostos organosselênio, e, mais especificamente por selonas *N*-heterocíclicas não tem sido encontrado na literatura.

Figura 6: Representação esquemática da estrutura de uma selona *N*-heterocíclica.



Fonte: Elaboração própria

Com base no exposto, fica evidente que a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por selonas *N*-heterocíclicas baseadas D-galactose para avaliação de sua citotoxicidade, é de grande relevância. Os resultados dos ensaios de citotoxicidade podem direcionar várias aplicações futuras, dada a importância das galectinas em diversos processos patológicos. Além disso, o uso de selonas *N*-heterocíclicas como ligante estabilizador pode favorecer a aplicação biológica das NPs obtidas devido a atividade antitumoral, antibacteriana e antifúngica dos organosselênios. A avaliação da citotoxicidade dessas nanopartículas é crucial para verificar como as modificações na superfície das NPs podem ser usadas para modular sua toxicidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Sintetizar nanopartículas de prata estabilizadas por selonas *N*-heterocíclicas baseadas em D-galactose e avaliar sua citotoxicidade.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar selonas *N*-heterocíclicas baseadas em D-galactose utilizando reações de cicloadição, do tipo *Click Chemistry*;
- Sintetizar nanopartículas de prata a partir dessas selonas *N*-heterocíclicas;
- Realizar a caracterização estrutural das selonas sintetizadas utilizando técnicas clássicas de análise orgânica;
- Realizar a caracterização das nanopartículas de prata sintetizadas;
- Avaliar a citotoxicidade dessas nanopartículas de prata.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Os reagentes e solventes empregados nas reações foram adquiridos da empresa comercial Sigma-Aldrich. Exceto pelo diclorometano, que foi tratado utilizando tamis molecular com porosidade de 4 Å, todos os solventes foram utilizados sem nenhum tratamento prévio.

Para detecção dos produtos foram utilizados os seguintes reveladores: solução etanólica de ácido sulfúrico a 5% v/v (10 mL de H₂SO₄ e 200 mL de H₂O) e solução alcalina de permanganato de potássio (1,5 g de KMnO₄, 10 g de K₂CO₃, 1,25 mL de NaOH a 10% e 200 mL de H₂O).

3.2 Caracterizações

3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A elucidação estrutural dos compostos sintetizados foi feita por meio da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C. As análises foram executadas utilizando o espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Bruker Ascend 400 no Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas (LMCM) do CiPharma-UFOP. Os solventes empregados nas análises foram: dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*6) e clorofórmio deuterado (CDCl₃). As análises foram realizadas a temperatura ambiente.

3.2.2 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho

Os compostos sintetizados foram caracterizados utilizando a técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), as análises

foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) utilizando o espectrômetro ABB Bomem MB 3000 FTIR, com dispositivo ATR, as análises foram realizadas na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

3.2.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS)

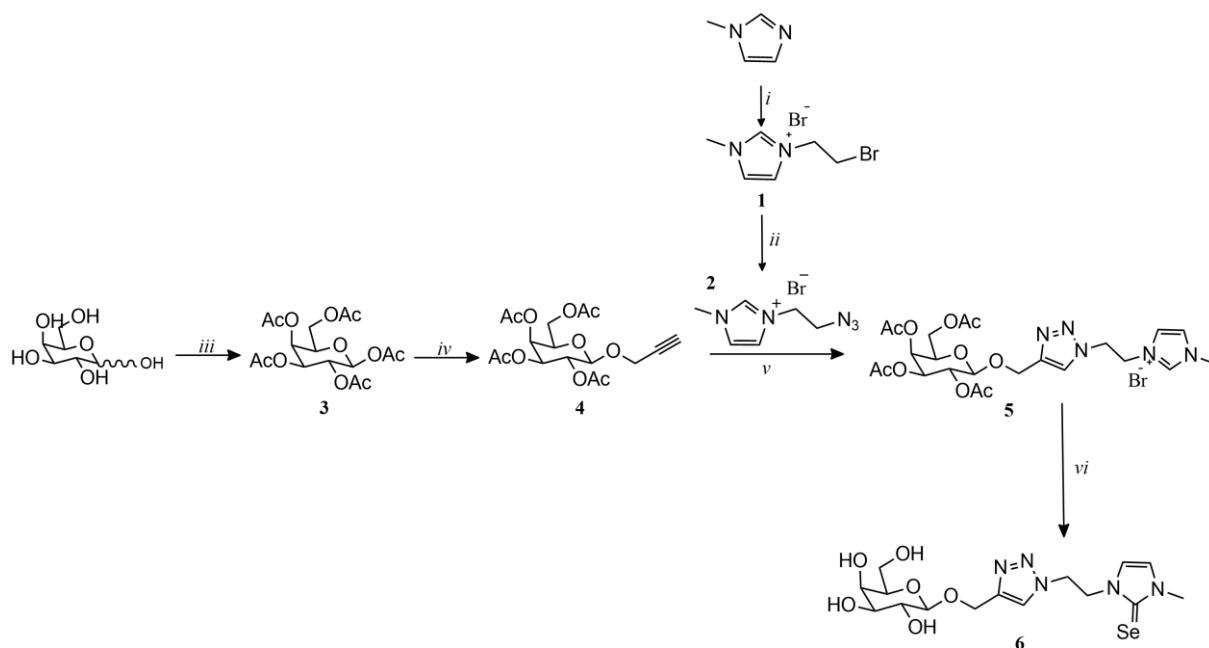
Para avaliar a presença de bandas características de nanopartículas de prata devido ao efeito de ressonância plasmônica de superfície foram realizadas análises das soluções de prata coloidal obtidas. As análises de espectroscopia na região do ultravioleta visível foram realizadas no Departamento de Química da UFOP utilizando um espectrofotômetro GENESYS 10S na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nanômetros. O solvente empregado nas análises foi água destilada.

3.3 Sínteses

3.3.1 Plano de síntese

A síntese da selona *N*-heterocíclica (**6**) foi planejada a partir da D-galactose. Inicialmente, foi realizada a síntese do derivado peracetilado (**3**) a partir da reação da D-galactose com anidrido acético em presença de acetato de sódio. Em seguida, foi obtido o derivado alquino (**4**) por meio da reação entre o galactosídeo peracetilado (**3**) e álcool propargílico na presença de trifluoreto de boro eterato. Paralelamente, foi realizada a síntese do derivado bromado (**1**) por meio de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}2}$) entre o 1-metilimidazol e dibromoetano. O derivado azido (**2**) foi obtido a partir da reação entre o derivado bromado (**1**) e azida de sódio. Em seguida, o galactosídeo peracetilado (**5**) foi obtido por meio da reação do derivado azido (**2**) com o derivado alquino (**4**) em condições de *click chemistry*. Por fim, a selona *N*-heterocíclica (**6**) foi obtida por reação de **5** com selênio elementar na presença de carbonato de potássio.

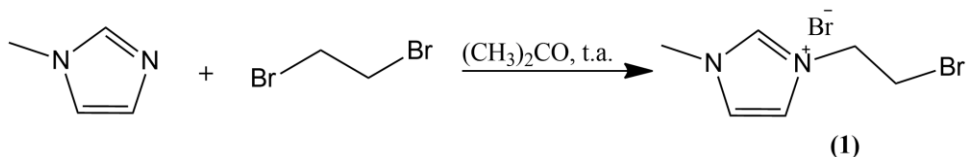
Figure 7: Plano de síntese da selona *N*-heterocíclica (**6**).



i- C₂H₄Br₂, t.a., (CH₃)₂CO, *ii*- NaN₃, 60° C, DMF, *iii*- (Ac)₂O, AcONa, 80° C, *iv*- álcool propargílico, BF₃(Et)₂O, CH₂Cl₂, 0° C- t.a. *v*- ácido ascórbico, K₂CO₃, CuSO₄.5H₂O, THF/H₂O, 60° C, *vi*- Se, K₂CO₃, CH₃OH, refluxo

Fonte: Elaboração própria

3.3.2 Síntese do brometo de 1-(2-bromoetil)-3-metilimidazólio (**1**)



Fórmula química: C₆H₁₀Br₂N₂

Massa molecular: 269,96 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 22 mL (255,2 mmol) de 1,2-dibromoetano, 1 mL (12,6 mmol) de 1-metilimidazol e 6 mL de acetona. A reação foi mantida sob agitação magnética a 75°C durante 15 horas. Ao

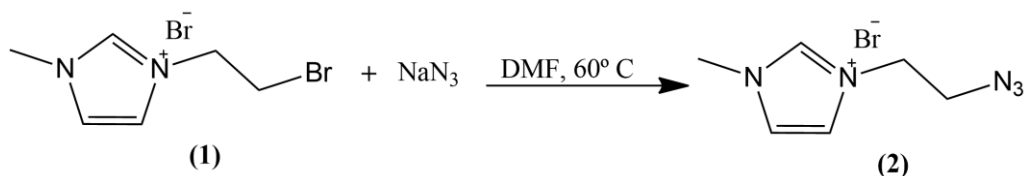
final da reação, foi observada a formação de um precipitado branco. O sólido foi lavado com acetona e, em seguida, foi realizada uma filtração simples para obtenção do sólido. Não foi necessário realizar a purificação do produto obtido. O produto foi caracterizado utilizando-se a técnica de espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . Foram obtidos 2,8 g do intermediário bromado (83% de rendimento) na forma de um sólido branco.

IV-FT (ν/cm^{-1}): 3095 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 3045 ($\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 2983 ($\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$), 2945 ($\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$), 1571($\text{C}=\text{C}$), 1450 ($\text{C}=\text{C}$), 1178 (C-N).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ [ppm] 9,34 (s, 1H, $\text{N}^+=\text{CH}$), 7,90 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CH-N}^+$), 7,80 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CH-N}^+$), 4,65 (t, 2H, $J_3 = 5,90$ Hz, NCH_2), 3,97 (t, 2H, $J_3 = 5,90$ Hz, CH_2Br), 3,91 (s, 3H, N-CH_3).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ [ppm] 138,0 ($\text{N}^+=\text{CH}$), 124,2 ($\text{CH}=\text{CH-N}^+$), 122,8 ($\text{CH}=\text{CH-N}^+$), 50,5 (NCH_2), 36,3 (CH_2Br), 32,0 (CH_3).

3.3.3 Síntese do brometo de 3-(2-azidoetil)-1-metil-imidazólio (2)



Fórmula química: $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{N}_2$

Massa molecular: 232, 08 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 1 g (3,7 mmol) do intermediário bromado (1), 2,4 g (37 mmol) de azida de sódio e 10 mL de *N-N*-

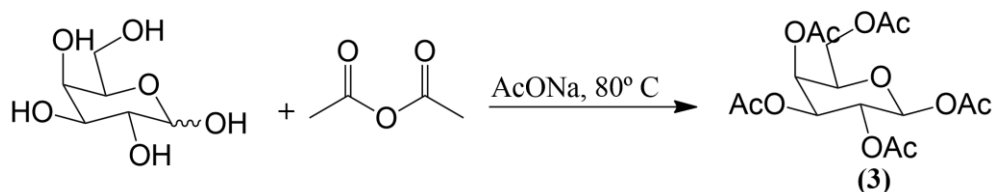
dimetilformamida (DMF). A reação foi mantida sob agitação magnética a 60 °C durante 16 horas. Ao final da reação, o produto foi filtrado e o solvente foi evaporado. Em seguida, foi realizada cromatografia por exclusão de tamanho utilizando-se Sephadex LH20. As frações recolhidas foram avaliadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando-se, como eluente, uma mistura de hexano:acetato de etila (1:1) e solução de KMnO₄, como revelador. As frações foram agrupadas por semelhança e o solvente foi evaporado. O produto obtido foi caracterizado utilizando-se RMN de ¹H e ¹³C. Foram obtidos 714 mg (83% de rendimento) do derivado azido na forma de um óleo amarelo acastanhado.

IV-FT (v/cm⁻¹): 3145 (C_{sp2}-H), 3096 (C_{sp2}-H), 2103 (N₃), 1580 (C=C), 1458 (C=C), 1192 (C-N).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 9,22 (s, 1H, N⁺=CH), 7,82 (s, 1H, CH=CH-N⁺), 7,77 (s, 1H, CH=CH-N⁺), 4,38 (t, 2H, J₃ = 5,90 Hz, NCH₂), 3,87 (m, 5H, CH₂N₃/N-CH₃).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 137,5 (N⁺=CH), 124,2 (CH=CH-N⁺), 122,9 (CH=CH-N⁺), 50,2 (NCH₂), 48,75 (CH₂N₃), 36,3 (CH₃).

3.3.4 Síntese do 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- α,β -D-galactopiranosose (**3**)



Fórmula molecular: C₁₆H₂₂O₁₁

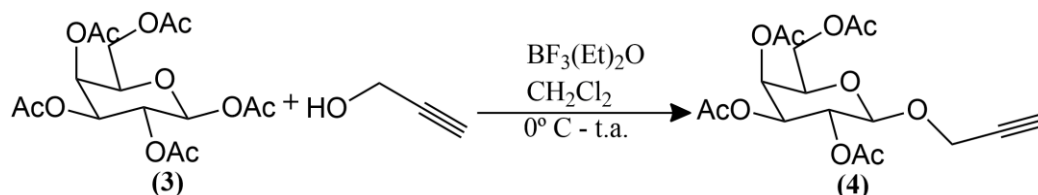
Massa molecular: 390 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 5 g (22,77 mmol) de D-galactose, 4 g (48,78 mmol) de acetato de sódio anidro e 25 mL de anidrido acético. A reação foi mantida sob agitação magnética a 80 °C durante 6 horas. O monitoramento da reação foi realizado por CCD utilizando-se, como eluente, uma mistura de hexano:acetato de etila (1:1) e solução de ácido sulfúrico 5% em etanol, como revelador. Ao final da reação, o conteúdo do balão foi vertido lentamente em um erlenmeyer contendo solução saturada de bicarbonato de sódio e gelo pilado. Foi observada a formação imediata de um precipitado branco. Esse material foi filtrado a vácuo. O produto obtido foi caracterizado utilizando RMN de ^1H e ^{13}C . Foram obtidos 7 g do derivado galactosídeo peracetilado (65% de rendimento) na forma de um sólido branco.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) – δ [ppm] = 5,71 (d, 1H, $J_{1,2} = 8,30$ Hz, **H-1**), 5,44 (dd, 1H, $J_{4,3} = 3,54$ Hz; $J_{4,5} = 1,14$ Hz, **H-4**), 5,35 (dd, 1H, $J_{2,1} = 8,30$ Hz; $J_{2,3} = 10,80$, **H-2**), 5,10 (dd, 1H, $J_{3,2} = 10,80$ Hz; $J_{3,4} = 3,54$ Hz, **H-3**), 4,20 – 4,10 (m, 3H, **H-5/H-6 e H-6'**), 2,18 – 2,01 (s, 15H, OCOCH_3).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) - δ [ppm] = 170,4 – 169,2 (OCOCH_3), 92,1 (**C1**), 71,7 (**C5**), 70,9 (**C3**), 67,9 (**C2**), 66,8 (**C4**), 60,9 (**C6**), 20,8 – 20,5 (OCOCH_3).

3.3.5 Síntese de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-galactopiranosídeo de 2-propinila (**4**)



Fórmula molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$

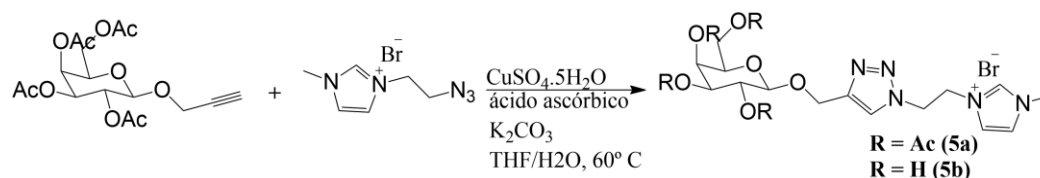
Massa molecular: 386 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 2 g (5,12 mmol) do derivado peracetilado (**3**) em 10 mL de diclorometano anidro. Em seguida, foi adicionado 0,4 mL (6,4 mmol) de álcool propargílico. À solução, foram adicionados, gota a gota, 3,15 mL (25,6 mmol) de trifluoreto de boro eterato. A reação foi mantida sob atmosfera de argônio e agitação magnética. A temperatura variou de 0 °C a temperatura ambiente. O término da reação foi verificado por CCD. Ao final da reação, o conteúdo do balão foi vertido em um erlenmeyer contendo 30 mL de água destilada gelada. Em seguida, foi realizada uma extração líquido-líquido utilizando-se diclorometano (3 x 30 ml). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água destilada (3 x 10 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (3 x 10 mL) e, novamente, com água destilada (3 x 10 mL). Em seguida, adicionou-se sulfato de sódio anidro à fase orgânica e realizou-se uma filtração a gravidade. O filtrado foi coletado em uma placa de Petri e o solvente foi evaporado. O produto foi caracterizado utilizando RMN de ^1H e ^{13}C . Foi obtido 1,86 g do derivado alquino (**4**) na forma de um óleo amarelo acastanhado.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5,41 dd, 1H, $J_{4,3} = 3,55$ Hz; $J_{4,5} = 1,19$ Hz, **H-4**), 5,23(dd, 1H, $J_{2,1} = 7,80$ Hz; $J_{2,3} = 10,40$, **H-2**), 5,08 (dd, 1H, $J_{3,2} = 10,40$ Hz; $J_{3,4} = 3,55$ Hz, **H-3**), 4,75 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,80$ Hz, **H-1**), 4,39 (d, 2H, $J_3 = 2,47$ Hz, O-**CH₂**), 4,19 – 4,14 (m, 2H, **H-6**), 3,95 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,19$ Hz **H-5**), 2,49 (t, 1H, $J_3 = 2,42$ Hz, **C \equiv CH**), 2,16 (s, 3H, **CH₃**), 2,09 (s, 3H, **CH₃**), 2,07 (s, 3H, **CH₃**), 2,00 (s, 3H, **CH₃**).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170,3-169,5 (O**COCH₃**), 98,6 (**C-1**), 78,6 (**C \equiv CH**), 75,4 (**C \equiv CH**), 70,0 (**C-5**), 70,0 (**C-3**), 68,4 (**C-2**), 66,9 (**C-4**), 61,2 (**C-6**), 55,9 (O**CH₂**), 20,8-20,5 (O**COCH₃**).

3.3.6 Síntese do brometo de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazolil)-1-metilimidazólio (**5a**) e do brometo de β-D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazolil)-1-metilimidazólio (**5b**)



5a

Fórmula química: C₂₃H₃₂N₅O₁₀

Massa molecular: 538,21 g/mol

5b

Fórmula química: C₁₅H₂₄N₅O₆

Massa molecular: 370,17 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 128 mg (0,3315 mmol) do derivado alquino (**4**), 100 mg (0,4310 mmol) do derivado azido (**2**) e 2,5 mL de tetrahydrofurano (THF). A reação permaneceu sob agitação magnética durante 10 minutos. Em seguida, foi preparada uma solução aquosa de 2,5 mL utilizando 23,3 mg (0,1326 mmol) de ácido ascórbico, 8 mg (0,03315 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado e uma ponta de espátula de carbonato de potássio. A reação foi mantida sob agitação magnética a 60 °C durante 2 horas. A formação do produto foi verificada por CCD utilizando-se, como eluente, uma mistura de hexano:acetato de etila (1:1) e solução de KMnO₄ como revelador. Em seguida, foi adicionado uma ponta de espátula da resina Quadrasil MP e a mistura foi mantida sob agitação orbital durante 10 minutos. A resina foi filtrada e lavada com THF e o solvente foi eliminado por evaporação. O produto obtido foi lavado com clorofórmio e, na sequência, com metanol. e foram obtidas duas frações, em seguida, o solvente foi evaporado. As frações obtidas, clorofórmica e metanólica, tiveram seus respectivos solventes evaporados e foram caracterizadas por RMN de ¹H e ¹³C. Da fração clorofórmica foram obtidos 115 mg (50% de rendimento) do galactosídeo protegido

(5a) na forma de um óleo amarelado. Da fração metanólica forma obtidos 83 mg (47% de rendimento) do galactosídeo (5b) na forma de um óleo amarelado.

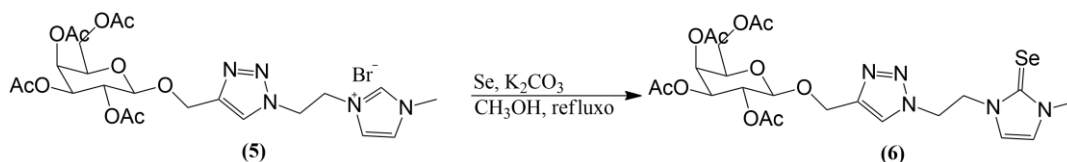
(5a) RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8,16 (s, 1H, N-C=CH-N), 7,29 (s, 1H, N⁺-CH=C), 7,19 (s, 1H, N⁺-CH=CH), 5,41 (d, 1H, $J_{4,3} = 2,95$ Hz, H-4), 5,17 – 5,03 (m, 6H, N-CH₂-CH₂-N⁺; N-CH₂-CH₂-N⁺; H-3 e H-2), 4,94 (d, 1H, OCH₂), 4,71 (d, 1H, OCH₂'), 4,66 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,80$ Hz, H-1), 4,23 – 3,96 (m, 6H, H-6/H-6'; H-5; N-CH₃), 2,16 (s, 3H, CH₃), 2,07 (s, 3H, CH₃), 2,04 (s, 3H, CH₃), 1,98 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170,3-169,5 (OCOCH₃), 137,3 (N-C=CH-N), 125,7 (N-C=CH-N), 123,2 (N⁺-CH=C), 122,8 (N⁺-CH=CH), 100,2 (C-1), 70,8 (C-5), 70,6 (C-3), 68,4 (C-2), 66,9 (C-4), 62,5, (OCH₂), 61,2 (C-6), 49,6 (N-CH₂-CH₂-N⁺), 49,2 (N-CH₂-CH₂-N⁺), (36,2 (N-CH₃), 20,8-20,5 (OCOCH₃).

(5b) RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 8,11 (s, 1H, N-C=CH-N), 7,59 (s, 1H, $J_3 = 1,85$ Hz, N⁺-CH=C), 7,52 (s, 1H, $J_3 = 1,85$ Hz, N⁺-CH=CH), 4,84 – 4,80 (m, 6H, OCH₂, N-CH₂-CH₂-N⁺; N-CH₂-CH₂-N⁺), 4,37 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,20$ Hz, H-1), 3,97 (d, 1H, H-3), 3,92 (s, 3H, N-CH₃), 3,87 (d, 1H, $J_3 = 2,60$ Hz, H-4), 3,60 – 3,49 (m, 2H, H-5 e H-2)

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): δ [ppm] = 145,1 (N-C=CH-N), 124,8 (N-C=CH-N), 123,9 (N⁺-CH=C), 122,4 (N⁺-CH=CH), 100,9 (C-1), 75,4 (C-2), 73,5 (C-3), 71,0 (C-5), 68,9 (H-4), 61,5(OCH₂), 61,2(C-6), 49,3 (N-CH₂-CH₂-N⁺), 48,9 (N-CH₂-CH₂-N⁺), 35,2 (N-CH₃).

3.3.7 Síntese da β -D-galactopiranosídeo de (4-metil-1-etil-1,2,3-triazoil)-1-metilimidazol-2-selenona (**6**)



Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6\text{Se}$

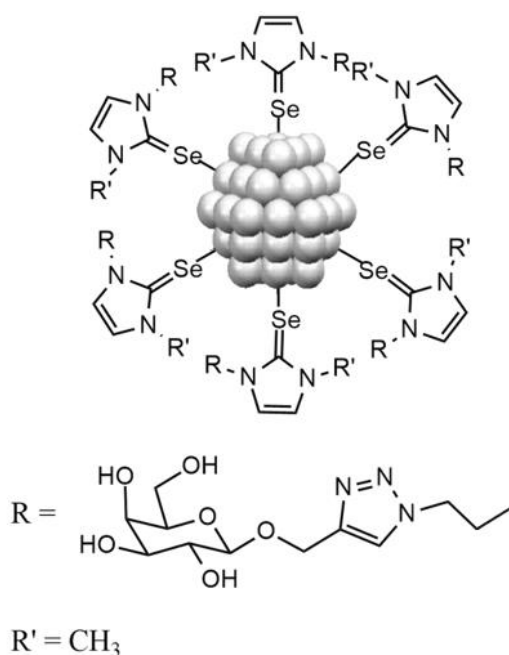
Massa molecular: 448,33 g/mol

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 100 mg (0,2702 mmol) do derivado galactosídeo peracetilado (**5a**), 42 mg (0,5404 mmol) de selênio molecular, 48 mg (0,3512 mmol) de carbonato de potássio e 10 mL de metanol. A reação foi mantida sob agitação magnética a 70 °C durante 18 horas. A formação do produto foi verificada por CCD utilizando-se, como eluente, uma mistura de acetato de etila:metanol (7:3) e solução de ácido sulfúrico em etanol como revelador. Ao final da reação, o produto foi filtrado e transferido para uma cápsula de porcelana para evaporação do solvente. Em seguida, o produto foi lavado com etanol e transferido para um béquer. O solvente foi evaporado e o produto foi caracterizado utilizando RMN de ^1H e ^{13}C . Foram obtidos 62 mg (51% de rendimento) da selona *N*-heterocíclica (**6**) na forma de um óleo amarelado.

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 8,11 (s, 1H, N-**CH=C**), 7,26 (d, 1H, $J_3 = 2,20$ Hz, **CH=CH-NCH**₃), 6,93 (d, 1H, $J_3 = 2,20$ Hz, **CH=CH-NCH**₃), 4,81 – 4,76 (m, 3H, N-**CH**₂-CH₂; **OCH**₂-C-N), 4,60 (d, 1H, **OCH**₂'-C-N), 4,52 (t, 2H, $J_3 = 12,0$ Hz, N-**CH**₂-**CH**₂), 4,16 (d, 1H, $J_{1,2} = 7,45$ Hz, **H-1**), 3,68 (d, 1H, $J_{4,3} = 2,80$ Hz, **H-4**), 3,54 – 3,24 (m, 5H, **H-6**, **H-5**, **H-3**, **H-2**).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 155,1 (**C**=Se), 144,3 (N=N-**C**=CH), 124,8 (**C**=CH-N), 121,1 (N-**CH**=CH-N), 120,1 (CH=**CH**-NCH₃), 102,9 (**C**-1), 75,8 (**C**-5), 74,0 (**C**-3), 71,1 (**C**-2), 68,5 (**C**-4), 61,5 (**C**-6), 60,4 (OCH₂), 49,8 (N-CH₂-CH₂), 48,0 (N-CH₂-CH₂), (36,7 (NCH₃).

3.3.8 Síntese da nanopartícula de prata estabilizada pela selona *N*-heterocíclica (NPAg-NHSe)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 10 mg (0,022 mmol) da selona *N*-heterocíclica (**6**) solubilizados em 8 mL de água destilada e 3,7 mg (0,0220 mmol) de nitrato de prata solubilizados em 8 mL de água destilada. A reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 100 μL de uma solução de borohidreto de sódio 0,8436 mg/mL. A mistura reacional apresentou uma rápida alteração na coloração, passando de amarelo claro para marrom escuro. Em seguida, a reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, o produto da reação foi caracterizado por meio da técnica de

espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível, sendo observada uma banda de absorção a 401 nm.

3.4 Ensaio de citotoxicidade

A avaliação da citotoxicidade das nanopartículas de prata e da selona *N*-heterocíclica foi feita por meio do método

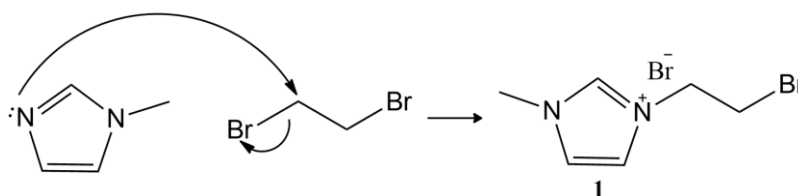
Células VERO, foram semeadas em placas de 96 poços com confluência de 90% (4×10^4 células/poço), incubadas por 24 horas em estufa 37°C com 5% de CO₂. Após o período de adesão, o meio foi removido e a monocamada foi lavada com PBS. Em seguida, adicionou-se a solução da selona *N*-heterocíclica em meio de cultura nas concentrações de [100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812; 0,3906; 0,1953; 0,0976; 0,0488; 0,0244; 0,0122; 0,0061; 0,0030; 0,0015; 0,0007 µM]. A solução das nanopartículas de prata estabilizadas pela selona *N*-heterocíclica foi adicionada em outra placa nas concentrações de [100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812; 0,3906; 0,1953; 0,0976; 0,0488; 0,0244; 0,0122; 0,0061; 0,0030; 0,0015; 0,0007 µg]. Após a adição dos tratamentos, as placas foram mantidas em estufa a 37°C com 5% de CO₂ por 24 e 48 horas. Ao final do tempo de tratamento o meio foi retirado e adicionou-se 25µl de MTT (1mg/mL – Sigma-Aldrich) em cada poço, seguido de incubação em estufa, protegido da luz, por 90 minutos. Após o período de incubação foram adicionados 100 µl DMSO em cada poço. Em seguida, as placas foram colocadas sob agitação leve por 15 minutos para completa solubilização. A quantidade de formazan gerado foi mensurado pelo leitor de microplacas VICTOR X3 (PerkinElmer) por leitura de absorbância a 490 nm. Os resultados de viabilidade foram expressos em relação ao controle de células não tratadas. Como controle positivo foi utilizado peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 10 mM.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese da selona *N*-heterocíclica

Inicialmente, foi realizada a síntese do derivado bromado (**1**), a reação ocorre por um mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), onde o par de elétrons não ligantes do átomo de nitrogênio do anel imidazólico é doado em um ataque nucleofílico ao carbono metilênico deslocando o íon brometo.

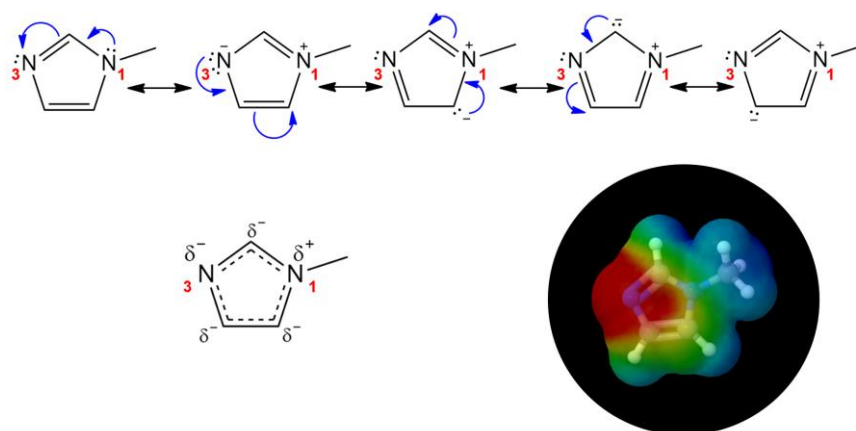
Figura 8: Mecanismo da reação de formação do derivado bromado (**1**).



Fonte: Elaboração própria

O ataque nucleofílico ocorre preferencialmente a partir do átomo de nitrogênio 3. A partir da análise da representação das estruturas canônicas e do híbrido de ressonância do 1-metilimidazol é possível observar que o átomo de nitrogênio 3 é mais rico em densidade eletrônica. No mapa de potencial eletrostático do 1-metilimidazol é possível observar que a região com maior densidade eletrônica, representada pela cor vermelha, está localizada sobre o átomo de nitrogênio 3, evidenciando seu caráter nucleofílico.

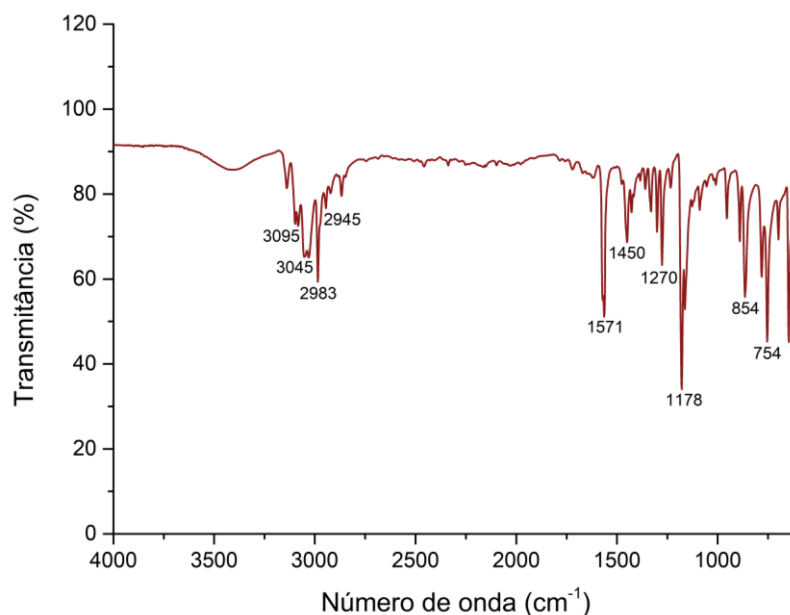
Figura 9: Estruturas canônicas de ressonância e mapa de potencial eletrostático do 1-metilimidazol.



Fonte: Elaboração própria

O produto foi obtido na forma de um sólido branco com 83% de rendimento. No espectro de absorção na região do infravermelho (Figura 10) do derivado bromado (1), foram observadas bandas de absorção em 3095 cm^{-1} e 3045 cm^{-1} , referentes ao estiramento C-H de carbono sp^2 , uma banda em 2983 cm^{-1} , referente ao estiramento C-H de carbono sp^3 , uma banda em 2945 cm^{-1} referente ao estiramento C-H de carbono sp^3 . Foram observadas também, bandas de absorção em 1571 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} , referente ao estiramento C=C. Além disso, foi possível observar uma banda de absorção em 1178 cm^{-1} , referente ao estiramento C-N.

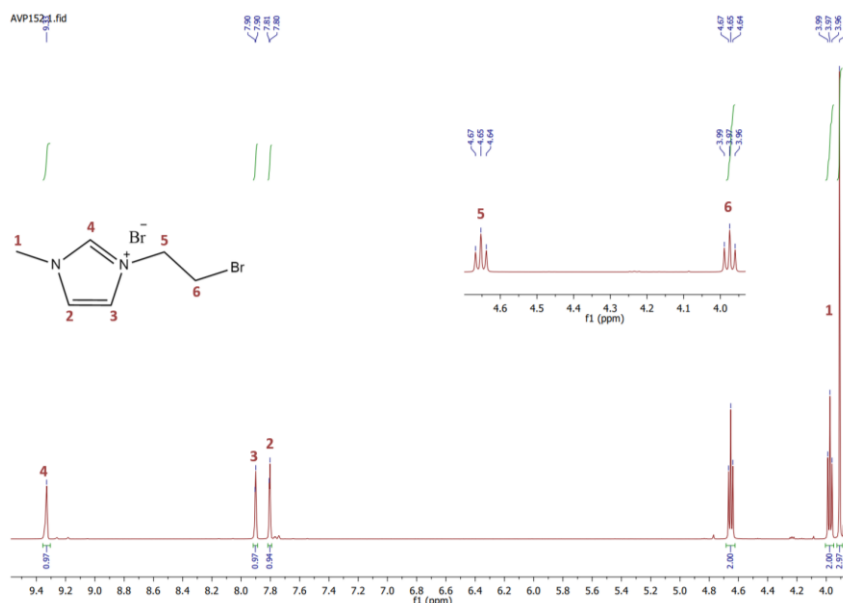
Figura 10: Espectro de absorção na região do infravermelho do derivado bromado (1).



Fonte: Elaboração própria.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 11) foi observado um simpleto em δ 3,91 ppm referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio do grupo metila. Além disso, é possível observar um tripleto com constante de acoplamento 5,8 Hz em δ 3,97 ppm referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio metilênicos do carbono ligado ao átomo de bromo. O tripleto em δ 4,65 ppm com constante de acoplamento de 5,8 Hz é referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio metilênicos do carbono ligado ao átomo de nitrogênio. O deslocamento deste sinal indica a desproteção dos átomos de hidrogênio tendo em vista que o átomo de carbono metilênico está diretamente ligado a um átomo eletronegativo com carga positiva (nitrogênio). Além disso, é possível observar dois simpletos em δ 7,80 e δ 7,90 ppm referentes ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio H-2 e H-3, respectivamente. Por fim, é possível observar em δ 9,36 ppm um simpleto referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-4.

Figura 11: Espectro de RMN de ^1H do derivado bromado (1) ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz).

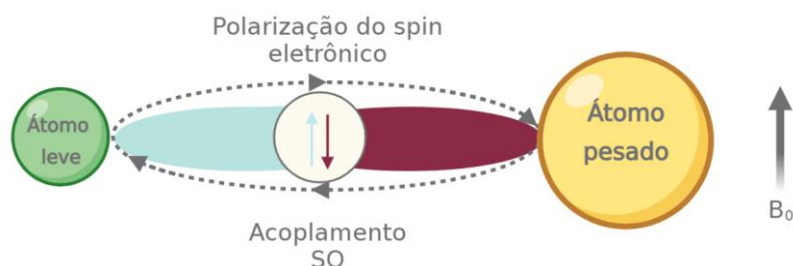


Fonte: Elaboração própria.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 14) é possível observar em δ 32 ppm um sinal referente ao carbono metilênico diretamente ligado ao átomo de bromo.

A presença de átomos de halogênios causa alterações no deslocamento químico de sinais de ^{13}C , principalmente no sinal relativo ao átomo de carbono diretamente ligado ao halogênio. Uma das alterações observadas é o acoplamento *spin*-órbita (SO). No SO o campo magnético externo induz a polarização de *spin* no núcleo do halogênio, essa polarização é transferida para o núcleo de carbono por meio da ligação covalente entre os átomos, esse fenômeno promove um efeito de blindagem no núcleo do átomo de carbono, chamado efeito do átomo pesado (VIESSER et al, 2018; VÍCHA et al, 2020).

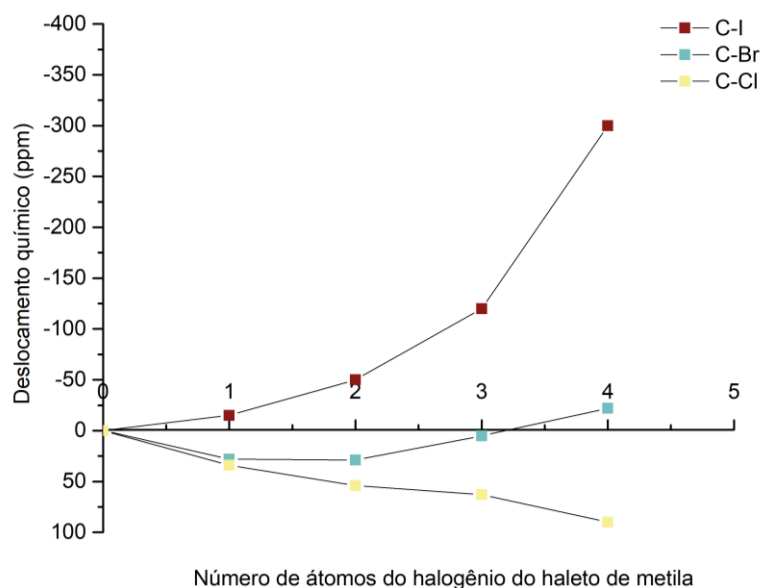
Figura 12: Representação esquemática do acoplamento spin-órbita.



Fonte: Adaptado de VÍSHA et al, 2020.

O acoplamento SO é observado ao longo da série dos halogênios com um comportamento de dependência normal do halogênio, ou seja, o acoplamento SO cresce com o aumento da carga nuclear do halogênio (VÍCHA et al, 2020). O grau de acoplamento SO está diretamente relacionado à blindagem do átomo de carbono em uma molécula. No gráfico (Figura 13) são apresentados valores aproximados de deslocamento químico para átomos de carbono ligados a diferentes átomos de halogênio. Observa-se que quanto maior o raio atômico do halogênio, mais protegido estará o átomo de carbono. O número de átomos de halogênio na estrutura influencia diretamente o deslocamento químico de ^{13}C (GUNTHER, 1996).

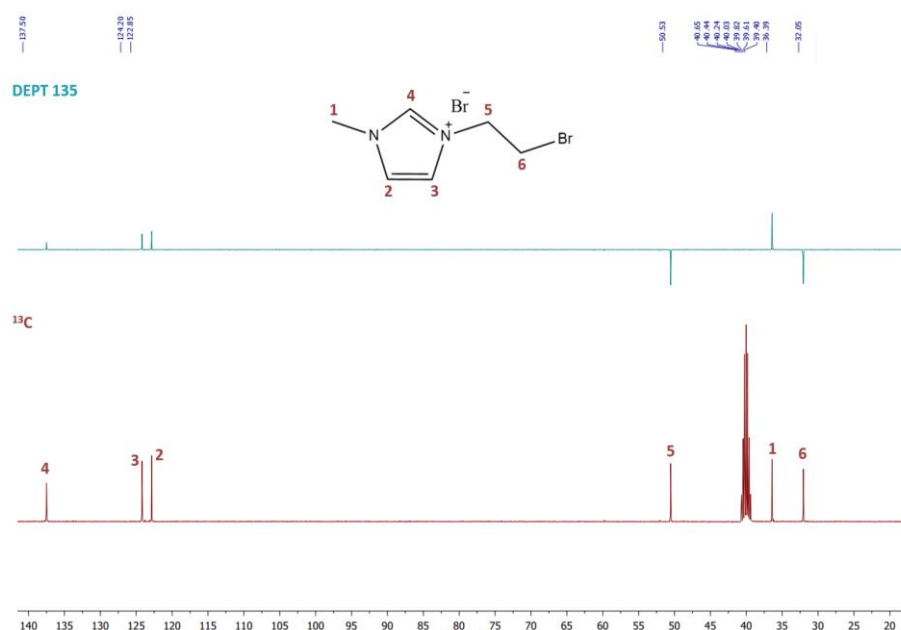
Figura 13: Influência dos substituintes halogênio no deslocamento químico de ^{13}C .



Fonte: Adaptado de GUNTHER, 1996

Também foi observado um sinal em δ 36 ppm correspondente ao carbono metílico C-1. Foi observado um sinal em δ 50 ppm referente ao carbono metilênico C-5. Os sinais em δ 122 e δ 124 ppm são referentes aos átomos de carbono C-2 e C-3, respectivamente. O sinal em δ 137 ppm corresponde ao átomo de carbono C-4 do anel imidazólico. As atribuições dos sinais dos carbonos metilênicos C-5 e C-6 foram confirmadas na análise do subespectro DEPT 135.

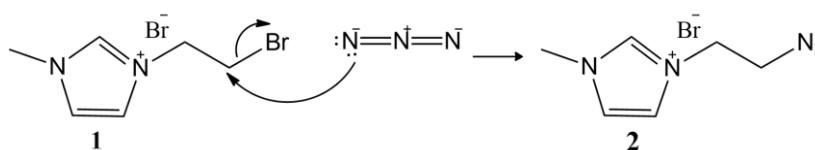
Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C e subspectro DEPT 135 do derivado bromado **(1)** ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz).



Fonte: Elaboração própria.

Em seguida, foi realizada a síntese do derivado azido **(2)** utilizando o intermediário bromado **(1)** e azida de sódio na presença de *N,N*-dimetilformamida (DMF). A reação ocorre por um mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) onde o par de elétrons não ligantes do átomo de nitrogênio do grupo azida é doado em um ataque nucleofílico ao carbono metilênico deslocando o íon brometo. A utilização de DMF, um solvente polar aprótico, favorece reações $\text{S}_{\text{N}}2$, uma vez que este solvente é capaz de solvatar o cátion sódio e deixar disponível o ânion azido não solvatado, tornando-o um nucleófilo mais forte.

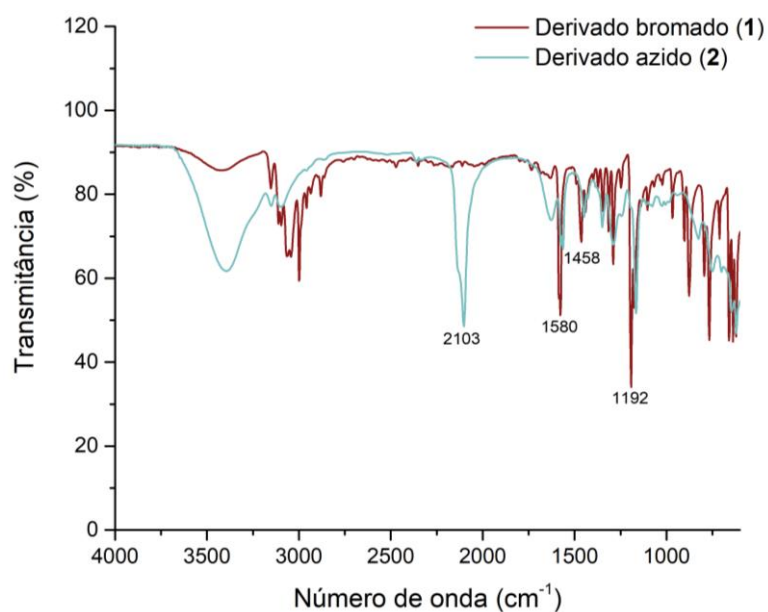
Figura 15: Mecanismo da reação de formação do derivado azido (2).



Fonte: Elaboração própria.

O produto foi obtido na forma de um óleo amarelo acastanhado com 83% de rendimento. Na sobreposição dos espectros de absorção na região do infravermelho do derivado bromado (1) e do derivado azido (2) (Figura 16), foi observada uma banda de absorção em 2103 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo azido. A presença dessa banda no espectro do derivado azido, representado pela linha azul, é um indício que houve a substituição do átomo de bromo pelo grupo azida.

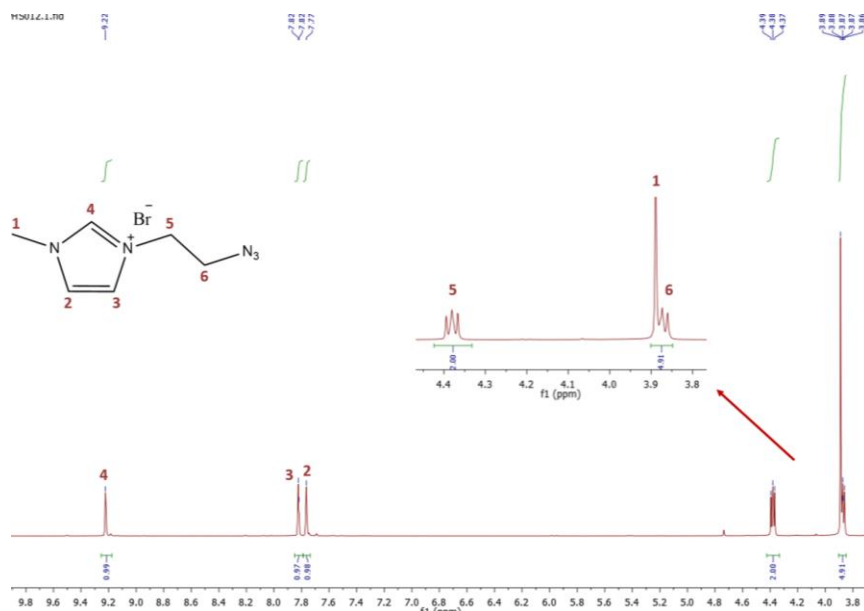
Figura 16: Sobreposição do espectro de absorção na região do infravermelho do derivado bromado (1) e do derivado azido (2).



Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^1H (Figura 17) é possível observar um multipeto na faixa de δ 3,86 a δ 3,89 ppm referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio do grupo metila e dos átomos de hidrogênio metilênicos H-6. É possível observar um tripleto em δ 4,38 ppm com constante de acoplamento de 5,4 Hz referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio metilênicos H-5. Também é possível observar dois simpletos em δ 7,77 e δ 7,82 ppm referentes ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio H-2 e H-3, respectivamente. Por fim, é possível observar em δ 9,22 ppm um simpleto referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-4.

Figura 17: Espectro de RMN de ^1H do derivado azido (**2**) (DMSO- d_6 , 400 MHz).



Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 18) é possível observar um sinal em δ 36 ppm referente ao átomo de carbono metílico C-1. É possível observar também um sinal em δ 49 ppm referente ao carbono metilênico C-6. O deslocamento desse sinal é um indício de que houve a substituição do átomo de bromo pelo grupo azida,

tendo em vista que não é mais observado o efeito do átomo pesado. O sinal em δ 50 ppm é referente à ressonância do átomo de carbono metilênico C-5. Além disso, é possível observar os sinais em δ 122 e δ 124 ppm referentes aos átomos de carbono C-2 e C-3, respectivamente. Por fim, é possível observar um sinal em δ 137 ppm referente ao átomo de carbono C-4. A natureza metilênica dos carbonos C-5 e C-6 foi comprovada no subespectro DEPT 135.

Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 do derivado azido (**2**) ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz).

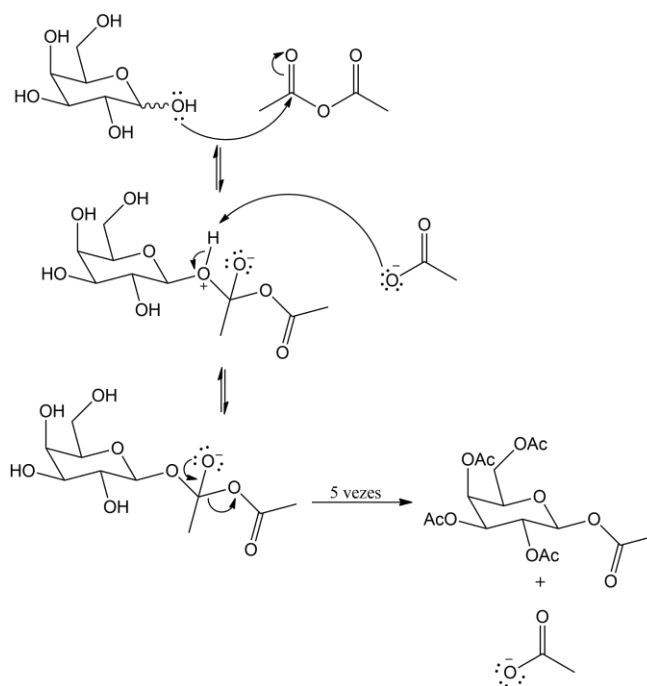


Fonte: Elaboração própria

Em seguida, foi realizada a reação de peracetilação da D-galactose para proteção dos grupos hidroxila. A presença do grupo acetila reduz a polaridade do carboidrato favorecendo assim sua solubilização em solventes orgânicos utilizados nas etapas seguintes da síntese. O derivado peracetilado (**3**) foi obtido por meio da reação da D-galactose com anidrido acético na presença de acetato de sódio anidro.

A reação se inicia com o ataque nucleofílico do átomo de oxigênio da hidroxila, por doação do par de elétrons não ligantes ao carbono carbonílico do anidrido acético. Isso desloca o par de elétrons da ligação π para o átomo de oxigênio carbonílico, levando à formação de um intermediário tetraédrico. Em seguida, o íon acetato, presente no meio reacional, captura um próton do intermediário tetraédrico formado. Por fim, ocorre o colapso do intermediário tetraédrico, quando o par de elétrons do átomo de oxigênio regenera a ligação dupla entre carbono e oxigênio, liberando assim o íon acetato no meio. A ocorrência dessa reação em todos os grupos hidroxila da molécula leva à formação do produto peracetilado.

Figura 19: Mecanismo da reação de formação do derivado peracetilado (3).

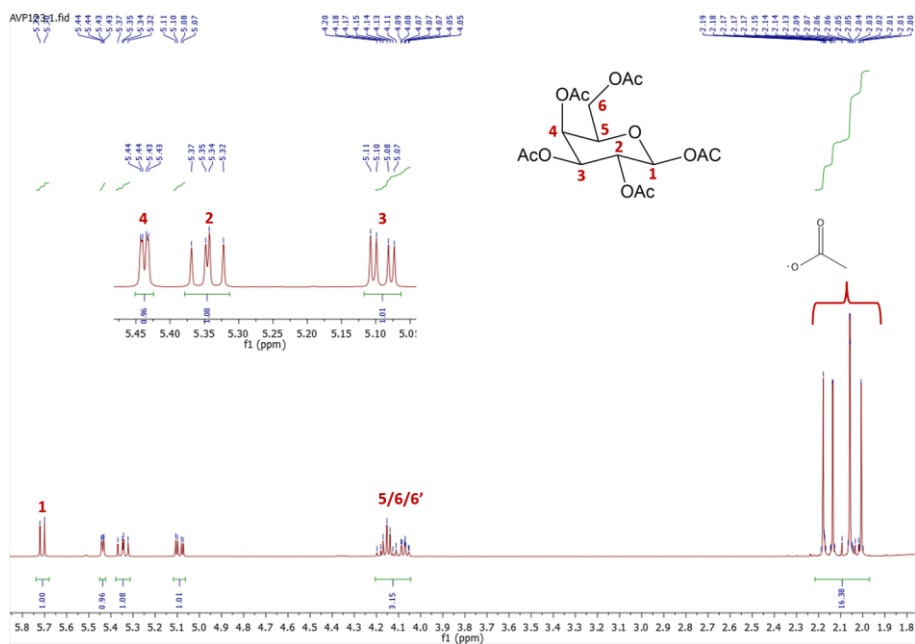


Fonte: Elaboração própria

O produto foi obtido na forma de um sólido branco com 65,4% de rendimento. No espectro de RMN de ^1H (Figura 20) é possível observar em δ 5,71 ppm um duplete com constante de acoplamento 8,50 Hz referente ao sinal de ressonância do

átomo de hidrogênio H-1. Em δ 5,44 ppm foi observado um duplete duplo, com constantes de acoplamento de 3,54 e 1,14 Hz, referente ao átomo de hidrogênio H-4. Também foi observado, em δ 5,35 ppm, um duplete duplo, com constantes de acoplamento de 10,80 e 8,50 Hz referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-2. Foi observado um duplete duplo, em δ 5,10 ppm, com constantes de acoplamento 10,80 e 3,54 Hz, referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-3. Na faixa de δ 4,20 a δ 4,10 ppm é possível observar um multipletto referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio H-5, H-6 e H-6'. Por fim, foram observados 5 simpletos na faixa de δ 2,18 a δ 2,01 ppm referentes aos sinais de ressonância dos átomos dos átomos de hidrogênio metílicos do grupo acetila, evidenciando assim a presença do grupo protetor na estrutura da molécula.

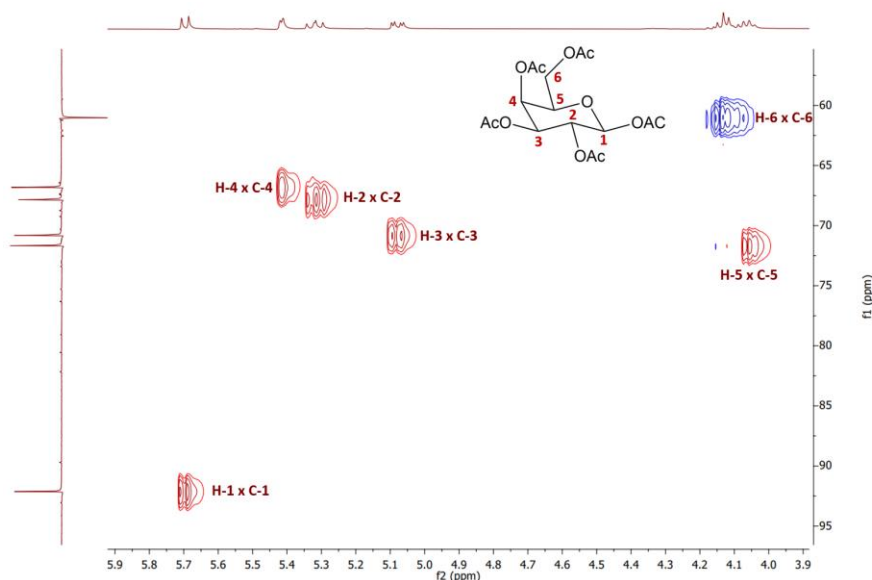
Figura 20: Espectro de RMN de ^1H do derivado peracetilado (**3**) (CDCl_3 , 400 MHz).



Fonte: Elaboração própria

correlações entre os sinais desses átomos de carbono e dos respectivos átomos de hidrogênio ligados a eles.

Figura 22: Mapa de contornos HSQC do derivado galactosídeo peracetilado (**3**) (CDCl₃, 100 MHz).



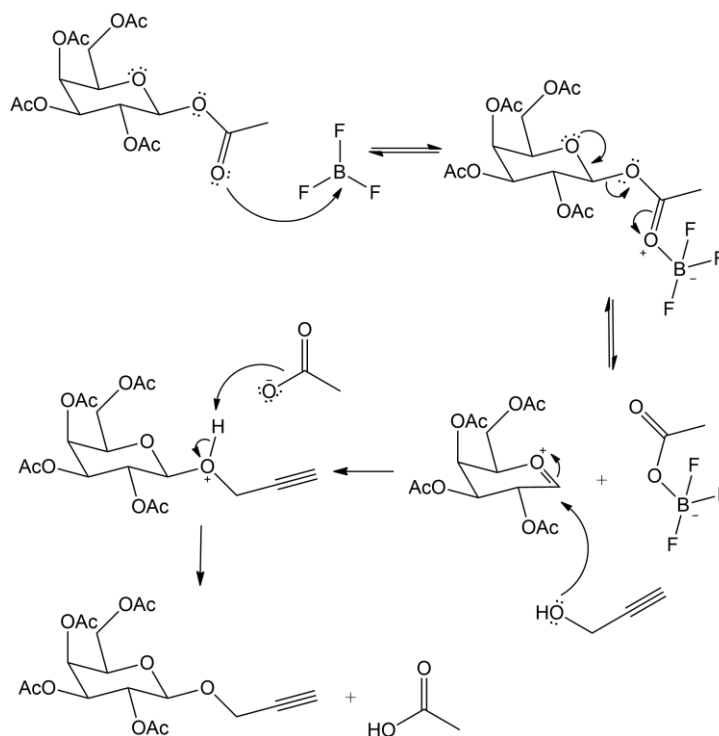
Fonte: Elaboração própria

Em seguida, foi realizada a síntese do derivado alquino (**4**) a partir da reação do derivado peracetilado (**3**) com álcool propargílico na presença de trifluoreto de boro eterato. O produto foi obtido na forma de um óleo amarelo acastanhado com 93% de rendimento.

Inicialmente, o par de elétrons do átomo de oxigênio carbonílico é doado para o orbital p vazio do átomo do boro, levando à formação de um intermediário que apresenta um bom grupo abandonador em sua estrutura. Em seguida, ocorre o deslocamento dos pares de elétrons do oxigênio heterocíclico para o carbono 1 formando o íon oxônio e liberando o grupo acetila ligado ao trifluoreto de boro. O íon oxônio é um intermediário altamente reativo e eletrofílico. Com isso, ocorre o ataque nucleofílico com a doação do par de elétrons livres do átomo de oxigênio do álcool

propargílico ao carbono 1 e os elétrons da ligação C=O do anel oxônio migram para o átomo de oxigênio levando à formação do produto.

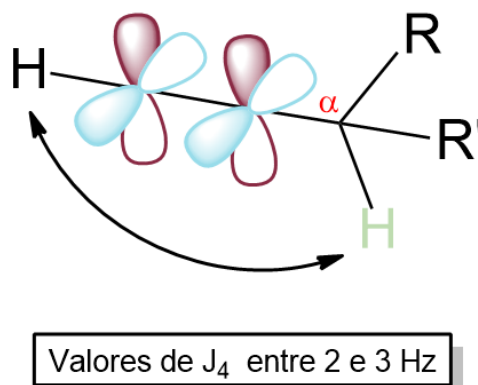
Figura 23: Mecanismo da reação de formação do derivado alquino (**4**).



Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^1H (Figura 24) é possível observar um duplete em δ 4,4 ppm com constante de acoplamento 2,43 Hz referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio metilênicos H-7. É possível observar um tripleto em δ 2,49 ppm, com constante de acoplamento de 2,43 Hz, referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio acetilênico H-9. Também é possível observar quatro simpletos na faixa de δ 2,00 a δ 2,13 ppm referentes ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio metílicos do grupo acetila. Os demais sinais apresentam atribuição similar aos descritos para o derivado galactosídeo peracetilado (**3**).

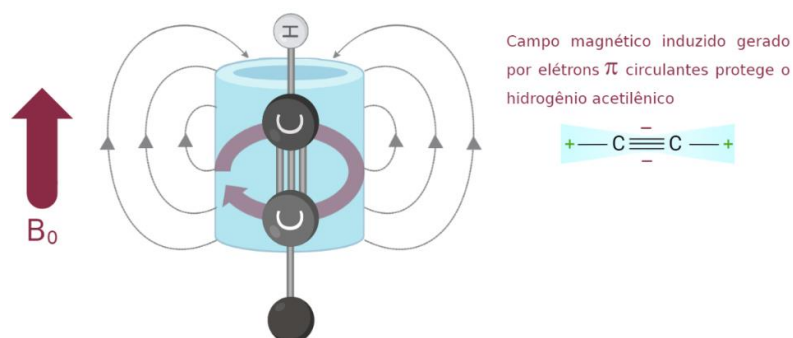
Figura 25: Representação esquemática do acoplamento propargílico.



Fonte: Elaboração própria

Outro aspecto relevante a ser ressaltado é o deslocamento químico do sinal do hidrogênio acetilênico H-9 para uma região mais protegida no espectro. Esse fenômeno é explicado pelo efeito de blindagem anisotrópica provocado pelas ligações π adjacentes. O campo magnético gerado pela circulação dos elétrons do sistema π possui uma geometria que possibilita uma maior blindagem do átomo de hidrogênio acetilênico.

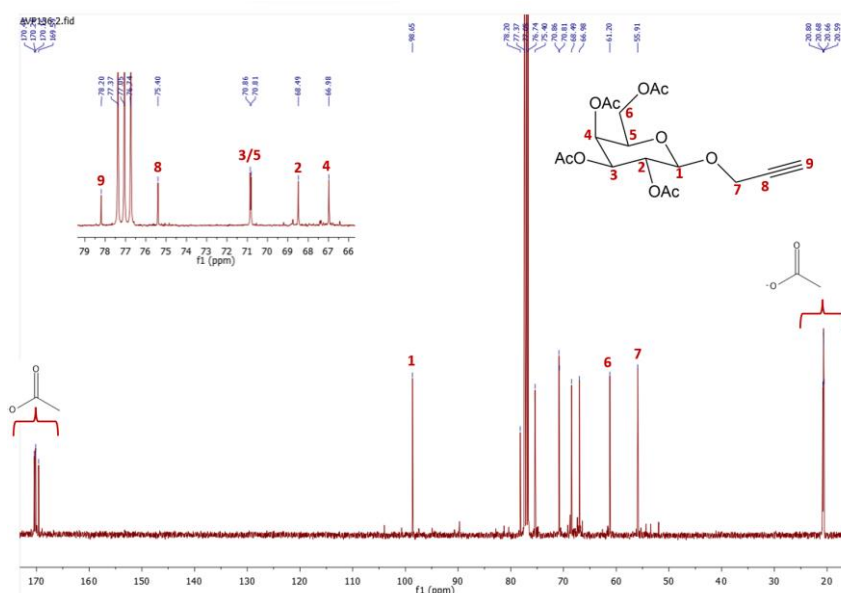
Figura 26: Anisotropia causada pela presença de elétrons π em alquinos.



Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 27) é possível observar um sinal em δ 78 ppm referente ao sinal de ressonância do átomo de carbono C-9 do alquino. Além disso, também é possível observar, em δ 75 ppm um sinal de ressonância referente ao carbono C-8 do alquino. Em δ 55 ppm é possível observar um sinal referente ao átomo de carbono metilênico C-7. A presença desses sinais no espectro evidencia que o derivado alquino foi obtido. Foram observados quatro sinais na faixa de δ 170,4 a δ 169,5 ppm referentes aos átomos de carbono carbonílicos do grupo acetila e quatro sinais na faixa de δ 20,8 a δ 20,5 ppm referentes aos átomos de carbono metílicos.

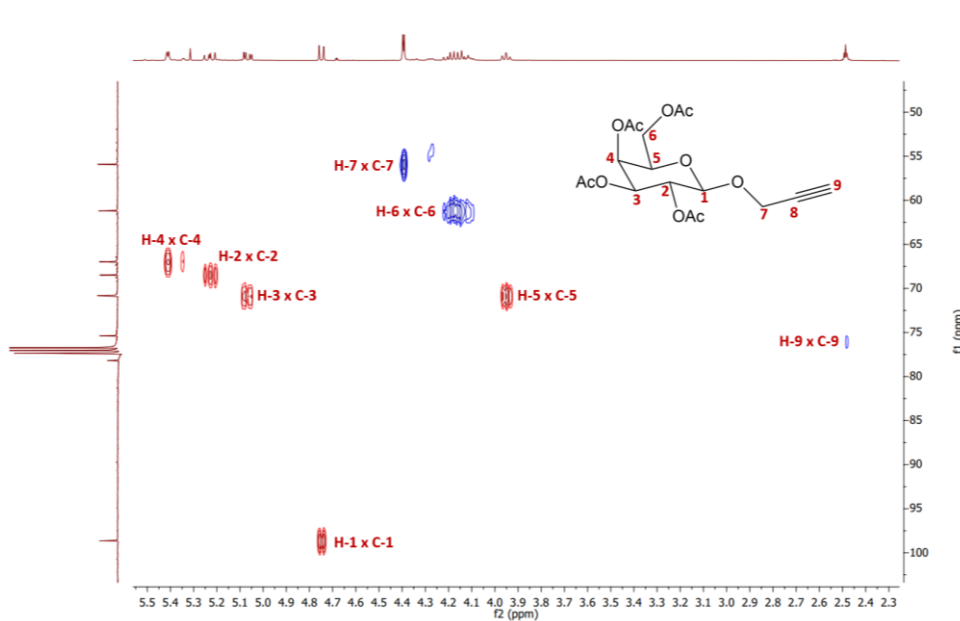
Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado alquino (**4**) (CDCl_3 , 100 MHz).



Fonte: Elaboração própria

No mapa de contornos HSQC (Figura 28), foi observada uma correlação entre os H-9 e C-9, como esperado. Além disso, as demais atribuições foram confirmadas pela análise do mapa.

Figura 28: Mapa de contornos HSQC do derivado alquino (**4**) (CDCl₃, 100 MHz).

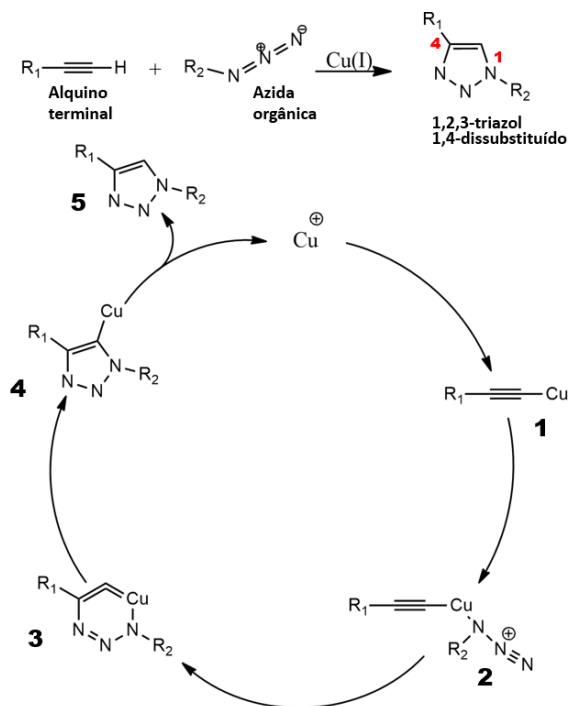


Fonte: Elaboração própria

Após a obtenção do derivado alquino (**4**), foi realizada a síntese do derivado galactosídeo protegido (**5a**) e do galactosídeo desprotegido (**5b**) por meio da reação entre o derivado alquino (**4**) e o derivado azido (**2**), utilizando condições de *click chemistry*.

O mecanismo da reação de cicloadição alquino-azida catalisada por cobre (I) envolve várias etapas (Figura 29). Inicialmente, ocorre a formação do acetileto de cobre (1) por meio da complexação do cobre (I) com o alquino terminal. Em seguida, ocorre a complexação do átomo de nitrogênio nucleofílico da azida com o acetileto de cobre, gerando o complexo intermediário azida-acetileto (2). Após a formação do intermediário, ocorre o ataque do carbono β -vinilidênico nucleofílico do acetileto ao nitrogênio terminal da azida para formar o metalociclo (3). Ocorre, então, a contração do anel para formar o intermediário triazolila de cobre (4), que após ser protonado da origem ao 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído (5) (FREITAS et al, 2011).

Figura 29: Mecanismo proposto para a reação de cicloadição alquino-azida catalisada por cobre.



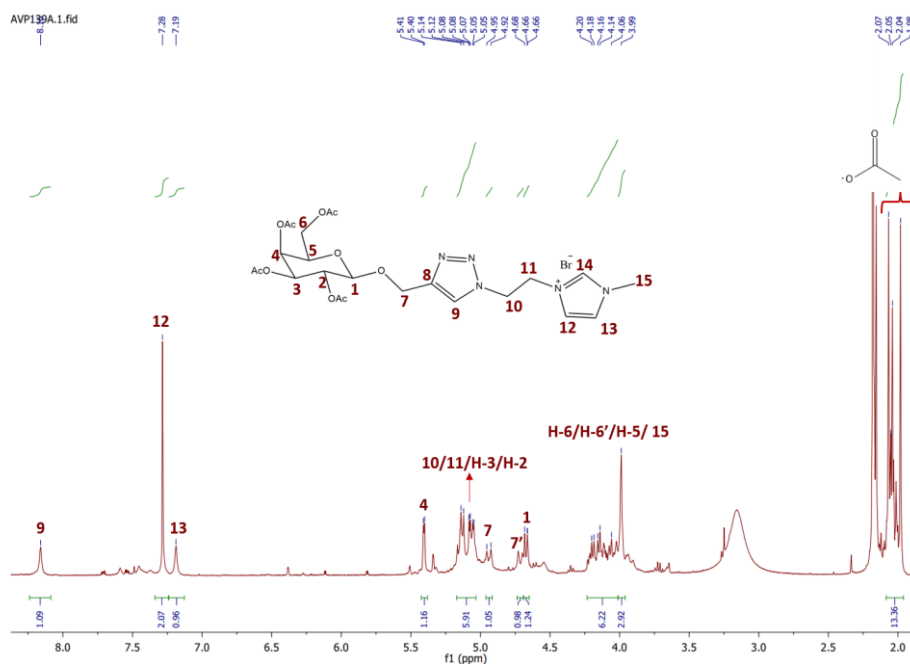
Fonte: Elaboração própria

O galactosídeo protegido (**5a**) foi obtido na forma de um óleo amarelado com 50% de rendimento, já o galactosídeo (**5b**) foi obtido com 47% de rendimento, o produto também apresentou aspecto de um óleo amarelado.

No espectro de RMN de 1H (Figura 30) do galactosídeo protegido (**5a**) foi observado um simpleto em δ 8,14 ppm referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-9 do anel triazólico. Além disso, foram observados dois simpletos em δ 7,28 e δ 7,19 ppm referente aos átomos de hidrogênio imidazólicos H-12 e H-13. Em δ 5,41 ppm foi observado um duplete, com constante de acoplamento de 2,95 Hz, referente ao átomo de hidrogênio H-4. Na faixa de δ 5,14 a δ 5,05 ppm, foi observado um multiplete referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio H-3, H-2, H-10 e H-11. Em δ 4,93 e δ 4,67 ppm foram observados dois dupletos, com constante de acoplamento de 11,20 Hz, referentes ao sinal de ressonância dos

hidrogênios metilênicos H-7 e H-7'. Além disso, em δ 4,66 ppm foi observado um duplete com constante de acoplamento de 7,80 Hz referente ao sinal do hidrogênio H-1. Na faixa de δ 4,20 a δ 3,99 ppm foi observado um multiplete referente ao sinal de ressonância dos átomos de hidrogênio H-6, H-6', H-5 e H-15. Por fim, na faixa de δ 2,07 a δ 1,98 ppm foram observados quatro simpletos referentes aos sinais de ressonância dos átomos de hidrogênio metílicos do grupo acetila.

Figura 30: Espectro de RMN de ^1H do derivado galactosídeo peracetilado (**5a**) (CDCl_3 , 400 MHz).

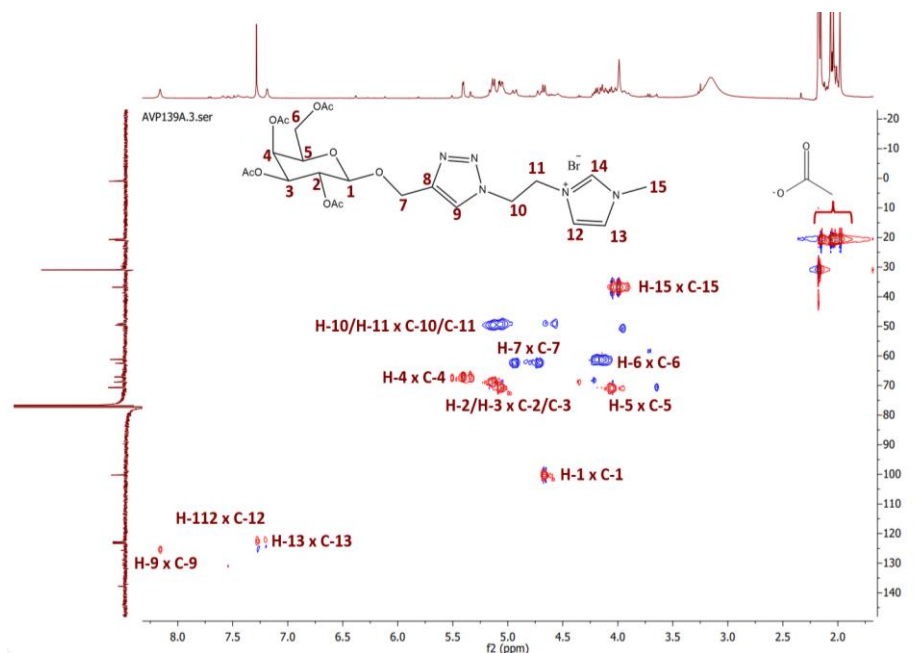


Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 31) do galactosídeo protegido (**5a**) é possível observar na faixa de δ 170,6 a δ 169,9 ppm quatro sinais referentes ao sinal de ressonância dos átomos de carbono carbonílico dos grupos acetila. Os sinais observados em δ 137 e δ 125 ppm são referentes aos átomos de carbono C-8 e C-9 do anel triazólico, evidenciando assim a formação do anel 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído. Os sinais observados em δ 123,2 e δ 122,8 ppm são referentes aos

No mapa de contornos HSQC (Figura 32), foi observada uma correlação entre os H-9 e C-9, como esperado. Além disso, as demais atribuições foram confirmadas pela análise do mapa.

Figura 32: Mapa de contornos HSQC do derivado galactosídeo peracetilado (**5a**) (CDCl₃, 100 MHz).

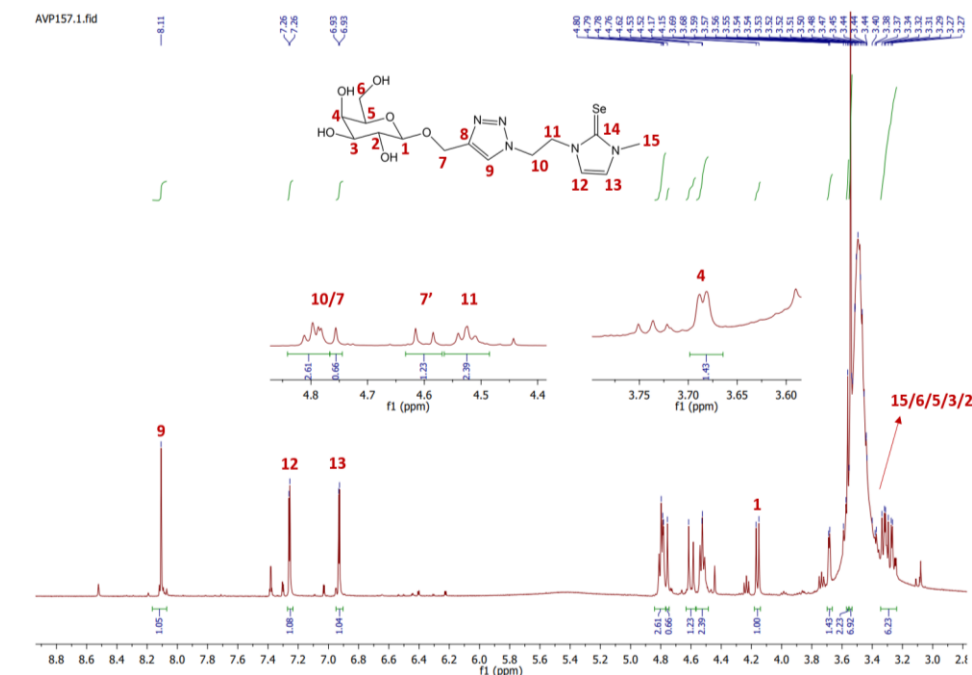


Fonte: Elaboração própria

Em seguida, foi realizada a síntese da selona *N*-heterocíclica (**6**) por meio da reação entre o galactosídeo (**5a**) e selênio molecular na presença de carbonato de potássio. A selona *N*-heterocíclica foi obtida na forma de um óleo amarelado com 51,2% de rendimento. No espectro de RMN de ¹H (Figura 33) foi observado um simpleto em δ 8,11 ppm referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-9 do anel triazólico. Foram observados também, dois dupletos em δ 7,26 e δ 6,93 ppm com constante de acoplamento de 2,20 Hz, referentes ao sinal de ressonância dos hidrogênios H-12 e H-13 do anel imidazólico. Na faixa de δ 4,81 a δ 4,76 ppm foi observado um multipletto referente ao sinal dos átomos de hidrogênio metilênicos H-

10 e H-7. Além disso, na faixa de δ 4,60 a δ 4,50 ppm foi observado um multipletto referente ao sinal dos átomos de hidrogênio metilênicos H-11 e H-7'. Em δ 4,16 ppm foi observado um dupletto com constante de acoplamento de 7,45 Hz referente ao sinal do átomo de hidrogênio anomérico H-1. Foi observado um dupletto em 3,68 ppm com constante de acoplamento de 2,80 Hz referente ao sinal de ressonância do átomo de hidrogênio H-4. Por fim, na faixa de δ 3,54 a δ 3,24 ppm foi observado um multipletto referente ao sinal dos átomos de hidrogênio H-13, H-6, H-5, H-3 e H-2. É importante ressaltar que, além da introdução do átomo de selênio, as condições utilizadas na reação favorecem a desproteção do carboidrato devido à presença de carbonato de potássio, que deixa o meio alcalino, propiciando a ocorrência da reação de desproteção.

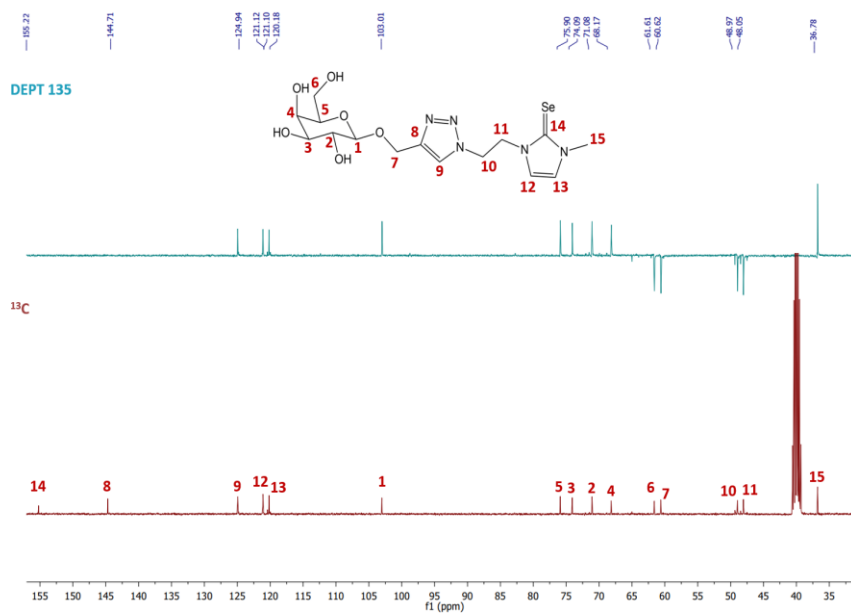
Figura 33: Espectro de RMN de ^1H da selona *N*-heterocíclica (**6**) (DMSO- d_6 , 400 MHz).



Fonte: Elaboração própria

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 34) é possível observar um sinal em δ 155,2 ppm referente ao carbono da selona C-14. Esse valor de deslocamento é semelhante aos observados em espectros de RMN de ^{13}C de selonas *N*-heterocíclicas já descritas na literatura (SATHYANARAYANA et al, 2014). É possível observar em δ 144,7 ppm um sinal referente ao carbono C-8 do anel triazólico. O sinal em δ 124,9 ppm é referente ao átomo de carbono C-9 do anel triazólico. Os sinais observados em δ 121,1 e δ 120,1 ppm são referentes aos átomos de carbono C-12 e C-13 do anel imidazólico, respectivamente. Em δ 103,0 ppm, foi observado um sinal referente ao carbono anomérico C-1. Os sinais observados em δ 75,9, δ 74,0, δ 71,0 e δ 68,1 ppm são referentes aos átomos de carbono C-5, C-3, C-2 e C-4, respectivamente. O sinal observado em δ 61,6 ppm é referente ao carbono metilênico C-6. Além disso, em 60,6 ppm é possível observar um sinal referente ao carbono metilênico C-7. Os sinais observados em δ 48,9 e δ 48,0 ppm correspondem aos átomos de carbono metilênicos C-10 e C-11, respectivamente. Por fim, foi observado, em δ 36,7 ppm, um sinal referente ao átomo de carbono metílico C-15. A natureza metilênica dos carbonos C-6, C-7, C-10 e C-11 foi confirmada por meio da análise do subespectro DEPT 135. A análise confirmou as atribuições dos átomos de carbono C-14 e C-8.

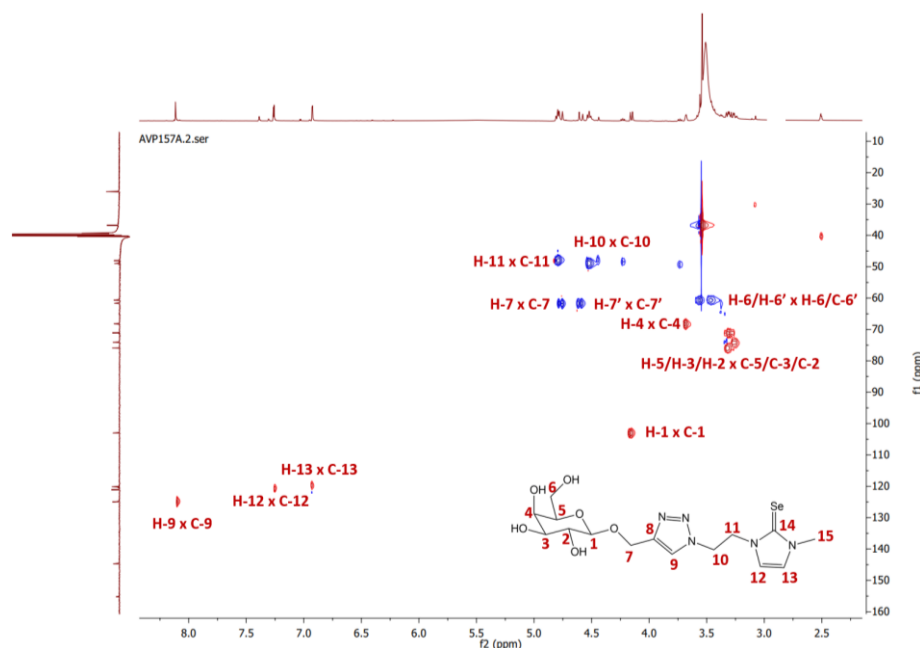
Figura 34: Espectro de RMN de ^{13}C e subespectro DEPT 135 da selona *N*-heterocíclica (**6**) ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz)



Fonte: Elaboração própria

As atribuições foram confirmadas pela análise do mapa de contornos HSQC (Figura 35), em que foi possível observar as correlações entre os sinais dos átomos de carbono e seus respectivos átomos de hidrogênio.

Figura 35: Mapa de contornos HSQC da selona *N*-heterocíclica (**6**) (DMSO-*d*₆, 100 MHz)



Fonte: Elaboração própria

É importante destacar que, entre os compostos obtidos, os compostos **5** e **6** são inéditos.

4.2 Síntese das nanopartículas de prata estabilizadas pela selona *N*-heterocíclica

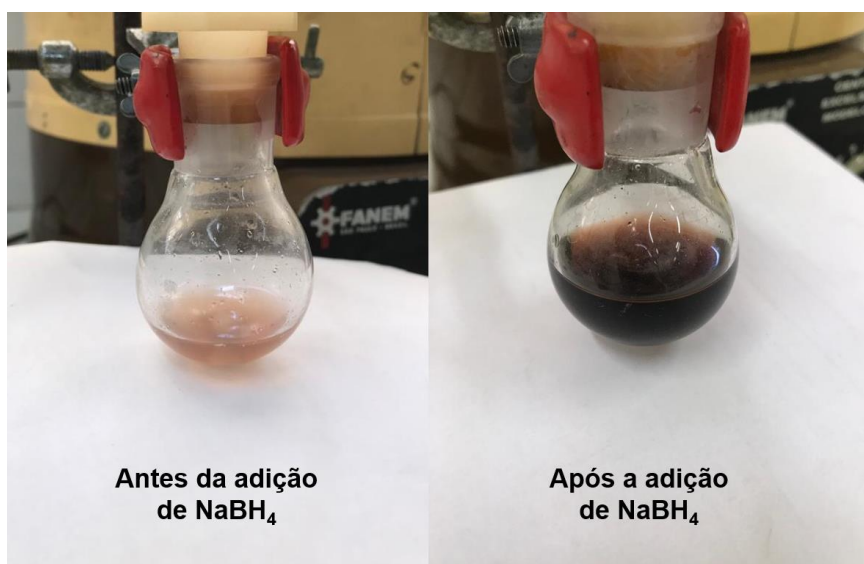
Foi realizada a síntese das nanopartículas de prata estabilizadas pela selona *N*-heterocíclica, utilizando-se nitrato de prata como fonte metálica e borohidreto de sódio como agente redutor.

É importante destacar que a síntese foi efetuada empregando-se água como solvente, em virtude da elevada solubilidade da selona *N*-heterocíclica derivada da D-galactose. A reação transcorreu à temperatura ambiente. As condições reacionais empregadas foram mais suaves quando comparadas a outras metodologias

convencionalmente utilizadas na síntese de nanopartículas de prata, as quais requerem a utilização de solventes orgânicos e altas temperaturas.

Durante a síntese, logo após a adição do borohidreto de sódio, a coloração do meio sofreu rápida alteração, passando de bege claro para marrom acastanhado. Essa mudança é característica da formação de nanopartículas de prata, sendo este um indício da formação das NPs.

Figura 36: Aspecto do meio reacional antes e após adição de NaBH_4 durante síntese da NPAg-NHSe.

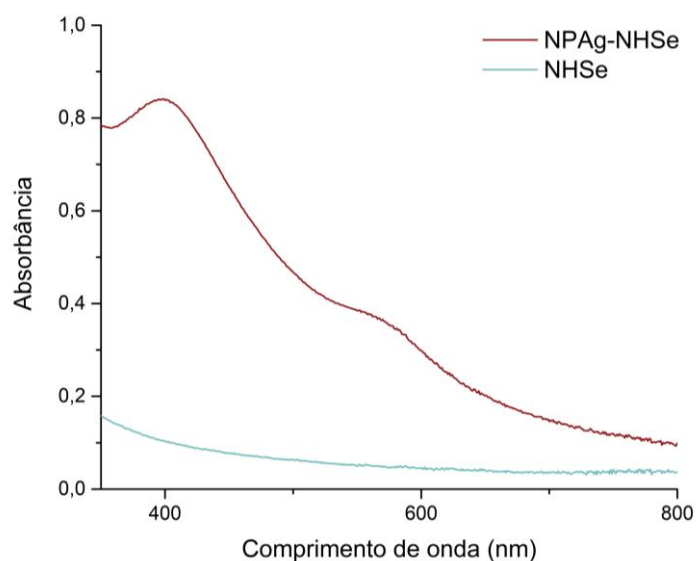


Fonte: Elaboração própria

As nanopartículas de prata foram caracterizadas, na solução de preparo, por meio de espectroscopia na região do ultravioleta-visível. No espectro de UV-VIS (Figura 37) foi observada uma banda de absorbância máxima em 398 nm, característica típica de nanopartículas de prata devido ao efeito de ressonância plasmônica de superfície desse metal. Esse fenômeno ocorre quando elétrons livres na superfície do metal interagem com um campo eletromagnético externo, gerando um campo elétrico que pode oscilar em ressonância com o campo eletromagnético

aplicado (SMITHA et al, 2008). A exploração desse efeito é útil na caracterização de nanopartículas de ouro, cobre e prata, cujas partículas apresentam características plasmônicas na região visível do espectro. No caso das nanopartículas de prata o valor de absorbância máxima pode variar de 390 a 450 nm. Vale ressaltar que a oscilação dos plasmons de superfície está diretamente relacionada com o tamanho e a forma das nanopartículas, sendo que partículas menores apresentam banda de absorbância máxima em valores menores de comprimento de onda. Além disso, o ligante utilizado para recobrir a nanopartícula pode influenciar no deslocamento da banda de ressonância plasmônica de superfície. (AMIRJANI; KOOCHAK; HAGHSHENAS, 2019; SMITHA et al, 2008).

Figura 37: Espectro de absorção na região do UV-VIS da NPAg-NHSe e do ligante livre.

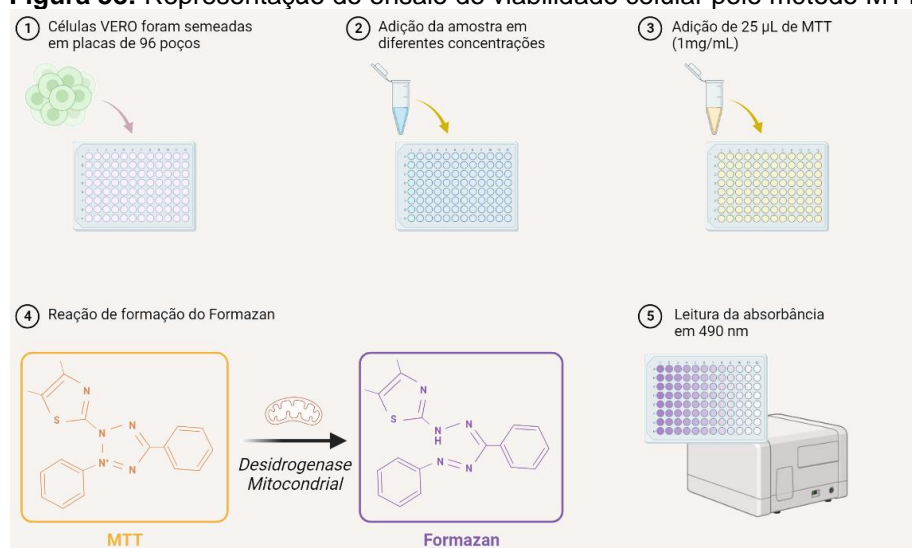


Fonte: Elaboração própria

4.3 Avaliação da citotoxicidade das nanopartículas de prata

A avaliação da citotoxicidade das nanopartículas de prata estabilizadas e da selona *N*-heterocíclica foi realizada por meio do ensaio de redução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazólio). O teste consiste na avaliação indireta da viabilidade celular a partir da redução do sal de MTT à formazan, um cristal de coloração roxa que pode ser quantificado pela leitura das placas por espectroscopia na região do ultravioleta-visível. A redução do MTT à formazan ocorre somente em células viáveis, tendo em vista, a participação de enzimas redutases no processo. Com isso, a formação do formazan está relacionada com a viabilidade celular.

Figura 38: Representação do ensaio de viabilidade celular pelo método MTT.

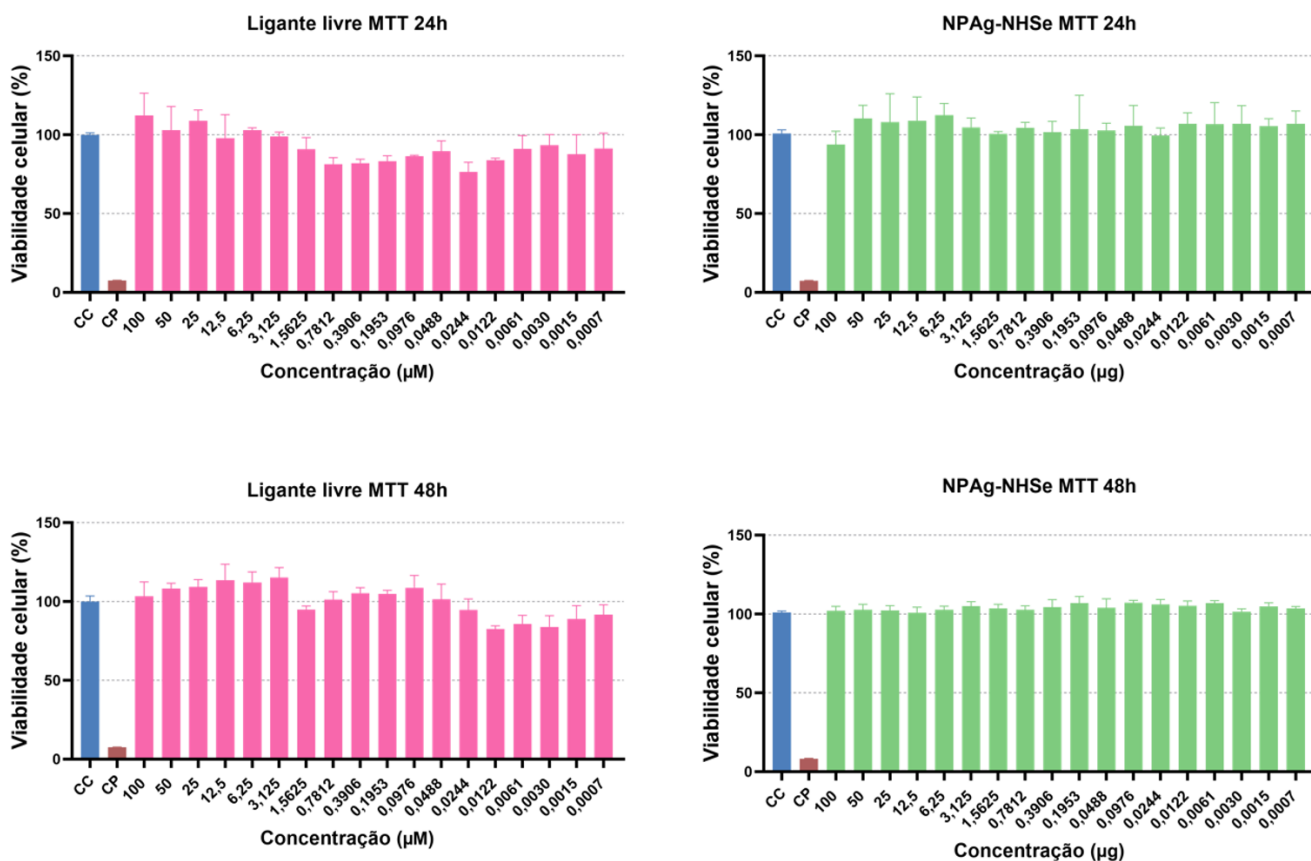


Fonte: Elaboração própria

A análise dos resultados mostrou que tanto as nanopartículas de prata estabilizadas pela selona *N*-heterocíclica quanto o ligante livre não apresentaram citotoxicidade nas concentrações avaliadas no estudo (Figura 39). As análises estatísticas mostraram que não houve diferença significativa na viabilidade celular após 24 e 48 horas entre o controle celular (CC) e os tratamentos em diferentes concentrações. Além disso, foi observado que a variação da viabilidade celular foi

menor no grupo que recebeu o tratamento com as nanopartículas de prata estabilizadas pela selona *N*-heterocíclica, sendo assim, a estabilização pode ter contribuído para a redução da citotoxicidade.

Figura 39: Gráfico de viabilidade celular das células VERO tratadas com a nanopartícula de prata e com o ligante livre.



Fonte: Elaboração própria

5 CONCLUSÃO

Foram sintetizadas nanopartículas de prata estabilizadas por uma selona *N*-heterocíclica baseada em D-galactose. As nanopartículas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia na região do ultravioleta-visível. A selona *N*-heterocíclica utilizada como ligante foi obtida com 11% de rendimento global a partir da D-galactose. Todos os intermediários e o ligante sintetizados foram purificados e caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Nas concentrações avaliadas no ensaio de MTT em células VERO, tanto as nanopartículas de prata quanto o ligante livre não foram citotóxicos.

REFERÊNCIAS

ALLEN, Alexander M. **Synthesis and Reactivity of N-Heterocyclic Chalcogenone Complexes of Copper and Silver**. 2018. Tese de Doutorado. The University of North Carolina at Charlotte.

ALLHOFF, Fritz; LIN, Patrick; MOORE, Daniel. What is nanotechnology and why does it matter?: from science to ethics. John Wiley & Sons, 2009.

AMIRJANI, Amirmostafa; KOOCHAK, Niloofar Namazi; HAGHSHENAS, Davoud Fatmehsari. Investigating the shape and size-dependent optical properties of silver nanostructures using UV–vis spectroscopy. **Journal of Chemical Education**, v. 96, n. 11, p. 2584-2589, 2019.

ARORA, Aayushi et al. Organoselenium ligands for heterogeneous and nanocatalytic systems: development and applications. **Dalton Transactions**, v. 50, n. 25, p. 8628-8656, 2021.

BATTOCCHIO, Chiara et al. Silver nanoparticles stabilized with thiols: A close look at the local chemistry and chemical structure. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 36, p. 19571-19578, 2012.

CHAN, Sum; GERSON, Benjamin; SUBRAMANIAM, Suresh. The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. **Clinics in laboratory medicine**, v. 18, n. 4, p. 673-685, 1998.

COBLEY, Claire M. et al. Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles for plasmonic and sensing applications. **Plasmonics**, v. 4, p. 171-179, 2009.

CORDEIRO, Milton et al. Gold nanoparticles for diagnostics: advances towards points of care. **Diagnostics**, v. 6, n. 4, p. 43, 2016.

DEJESUS, Joseph F. et al. A Benchtop Method for Appending Protic Functional Groups to N-Heterocyclic Carbene Protected Gold Nanoparticles. **Angewandte Chemie**, v. 132, n. 19, p. 7655-7660, 2020.

DI LELLA, Santiago et al. When galectins recognize glycans: from biochemistry to physiology and back again. **Biochemistry**, v. 50, n. 37, p. 7842-7857, 2011.

DUNG DANG, Thi My et al. The influence of solvents and surfactants on the preparation of copper nanoparticles by a chemical reduction method. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 2, n. 2, p. 025004, 2011.

EIGLER, Donald M.; SCHWEIZER, Erhard K. Positioning single atoms with a scanning tunnelling microscope. **Nature**, v. 344, p. 524-526, 1990.

FAROOQI, Zahoor H. et al. Zero valent iron nanoparticles as sustainable nanocatalysts for reduction reactions. **Catalysis Reviews**, v. 64, n. 2, p. 286-355, 2022.

FERREIRA, Hadma Sousa; RANGEL, Maria do Carmo. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química nova**, v. 32, p. 1860-1870, 2009.

FEYNMAN, Richard P. There's plenty of room at the bottom. **Resonance**, v. 16, n. 9, p. 890-905, 2011.

FIGUEIREDO, Rute Cunha. **Síntese de glicodendrimeros e avaliação de sua interação com lectinas**. 2009. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

FRANCI, Gianluigi et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8856-8874, 2015.

FREITAS, Luiza Baptista de Oliveira et al. A reação "click" na síntese de 1, 2, 3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, p. 1791-1804, 2011.

GUNTHER, H. La Spectroscopie de RMN: principes de base, concepts et applications de la Spectroscopie de Resonance Magnétique Nucléaire du Proton et du Carbone 13 en Chimie. 1996.

JAMKHANDE, Prasad Govindrao et al. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 53, p. 101174, 2019.

JEEVANANDAM, Jaison et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 9, n. 1, p. 1050-1074, 2018.

KALSI, Deepti et al. One-Pot Multicomponent Synthesis of Allyl and Alkylamines Using a Catalytic System Composed of Ruthenium Nanoparticles on Copper N-Heterocyclic Carbene-Modified Silica. **ACS Catalysis**, v. 12, n. 24, p. 14902-14910, 2022.

KENNEDY, David C. et al. Carbohydrate functionalization of silver nanoparticles modulates cytotoxicity and cellular uptake. **Journal of nanobiotechnology**, v. 12, n.

1, p. 1-8, 2014.

KHAN, Haroon et al. Glyco-nanoparticles: New drug delivery systems in cancer therapy. In: **Seminars in cancer biology**. Academic Press, 2021. p. 24-42.

KHAN, Ibrahim; SAEED, Khalid; KHAN, Idrees. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian journal of chemistry**, v. 12, n. 7, p. 908-931, 2019.

KUMAR, Manmohan; VARSHNEY, Lalit; FRANCIS, Sanju. Radiolytic formation of Ag clusters in aqueous polyvinyl alcohol solution and hydrogel matrix. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 21-27, 2005.

LIS, Halina; SHARON, Nathan. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chemical reviews**, v. 98, n. 2, p. 637-674, 1998.

LORENZONI, Sara et al. Organoselenium compounds as functionalizing agents for gold nanoparticles in cancer therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 219, p. 112828, 2022.

LUO, Yu-Ran; KERR, J. Alistair. Bond dissociation energies. **CRC handbook of chemistry and physics**, v. 89, p. 89, 2012.

MOURDIKOUDIS, Stefanos; KOSTOPOULOU, Athanasia; LAGROW, Alec P. Magnetic nanoparticle composites: synergistic effects and applications. **Advanced Science**, v. 8, n. 12, p. 2004951, 2021.

NOGUEIRA, Cristina W.; BARBOSA, Nilda V.; ROCHA, João BT. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: An update. **Archives of Toxicology**, v. 95, p. 1179-1226, 2021.

NOSRATABAD, Neda Arabzadeh et al. N-heterocyclic carbene-stabilized gold nanoparticles: mono-versus multidentate ligands. **Chemistry of Materials**, v. 33, n. 3, p. 921-933, 2021.

PAVIA, Donald L. et al. Introdução a Espectroscopia: tradução da 5a edição Americana. 2015.

RAMTENKI, Vilas et al. Synthesis of Ag-glyconanoparticles using C-glycosides, their lectin binding studies and antibacterial activity. **New Journal of Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 3716-3720, 2013.

RAO, C. N. R. et al. Size-dependent chemistry: properties of nanocrystals. **Chemistry—A European Journal**, v. 8, n. 1, p. 28-35, 2002.

RAVICHANDRAN, M. et al. Plasmonic/magnetic multifunctional nanoplatform for cancer theranostics. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-15, 2016.

ROCO, Mihail C. The long view of nanotechnology development: the National Nanotechnology Initiative at 10 years. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, p. 427-445, 2011.

SATHYANARAYANA, Arruri et al. Synthesis, spectral and structural properties of bis-imidazoline selones. **Journal of Chemical Sciences**, v. 126, p. 1589-1595, 2014.

SMITHA, S. L. et al. Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 71, n. 1, p. 186-190, 2008.

SUR, Ilknur et al. Interaction of multi-functional silver nanoparticles with living cells. **Nanotechnology**, v. 21, n. 17, p. 175104, 2010.

THODIKAYIL, Aiswarya Thattaru; SHARMA, Shivangi; SAHA, Sampa. Engineering carbohydrate-based particles for biomedical applications: strategies to construct and modify. **ACS Applied Bio Materials**, v. 4, n. 4, p. 2907-2940, 2021.

TOMA, Henrique Eisi. **Nanotecnologia Molecular: materiais e dispositivos**. Editora Blucher, 2016.

TREERE, D. et al. The asialoglycoprotein receptor in human hepatocellular carcinomas: its expression on proliferating cells. **British journal of cancer**, v. 81, n. 3, p. 404-408, 1999.

VÍCHA, Jan et al. Relativistic heavy-neighbor-atom effects on NMR shifts: Concepts and trends across the periodic table. **Chemical reviews**, v. 120, n. 15, p. 7065-7103, 2020.

VIESSER, Renan V. et al. The halogen effect on the ¹³C NMR chemical shift in substituted benzenes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 20, n. 16, p. 11247-11259, 2018.

WANG, Yuliang; XIA, Younan. Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of monodispersed spherical colloids of low melting-point metals. **Nano letters**, v. 4, n. 10, p. 2047-2050, 2004.

WITCZAK, Zbigniew J.; CZERNECKI, Stanislas. Synthetic applications of selenium-

containing sugars. **Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry**, v. 53, p. 143-199, 1998.

ZHANG, Xi-Feng et al. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 9, p. 1534, 2016.

ZHOU, Xiaochun et al. Size-dependent catalytic activity and dynamics of gold nanoparticles at the single-molecule level. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 1, p. 138-146, 2010.