

Universidade Estadual Paulista – UNESP
INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA

TESE DE DOUTORADO

**Síntese, Caracterização e Investigação das Atividades
Biológicas de Complexos de Cobre(II) Contendo
Moléculas Bioativas e Ligantes Nitrogenados**

Patricia Bento da Silva



Araraquara

2012

PATRICIA BENTO DA SILVA

**Síntese, Caracterização e Investigação das Atividades
Biológicas de Complexos de Cobre(II) Contendo Moléculas
Bioativas e Ligantes Nitrogenados**

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor em
Química

Orientadora: Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo

Araraquara

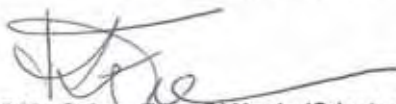
2012

PATRÍCIA BENTO DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Araraquara, 21 de setembro de 2012.

BANCA EXAMINADORA



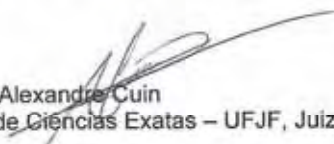
Prof.ª Dr.ª Regina Célia Galvão-Frem Di Nardo (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



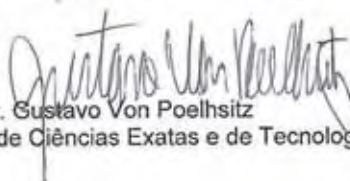
Prof. Dr. Marlus Chorilli
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Victor Marcelo Deffon
Instituto de Química – USP, São Paulo



Prof. Dr. Alexandre Cuin
Instituto de Ciências Exatas – UFJF, Juiz de Fora



Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFU, Uberlândia

CURRICULUM VITAE

DADOS PESSOAIS

Nome: Patrícia Bento da Silva

Data de Nascimento: 28 de março de 1982

Naturalidade: Bebedouro - S.P.

Nacionalidade: Brasileira

Estado Civil: Casada

Filiação:

pai - Narcizo Bento da Silva

mãe - Luzia Hideco Kitatani da Silva

Profissão: Licenciada em Química

Documento de Identidade: RG 32473649-6

Endereço para Correspondência:

Rua José do Patrocínio, 692 - Bairro: Vila Xavier - CEP: 14.810-150

Araraquara - S.P.

e-mail: patrbent@yahoo.com.br

Formação

Básica

Ensino Fundamental I: E.E.P.G. "José Francisco Paschoal", Bebedouro-SP

Ensino Fundamental II: E.E.P.G. "José Francisco Paschoa", Bebedouro-SP

Ensino Médio: E.E.P.S.G. "Prof. Dr. Paraíso Cavalcanti", Bebedouro-SP

Acadêmica

Graduação

Licenciada em Química junto ao Instituto de Química de Araraquara - UNESP.

Iniciação Científica realizada junto ao Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP- Araraquara-SP, sob a orientação da Prof^a. Dra. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo.

Projeto: "Compostos pirazólicos de cádmio e pseudo-haletos: uma estratégia para obtenção de espécies supra-moleculares"

Concluído em dezembro de 2004.

PÓS-GRADUAÇÃO

Mestrado em Química Inorgânica, junto ao Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP- Araraquara-SP, sob a orientação da Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo e co-orientação do Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro.

Projeto: "Investigação da atividade biológica de complexos de cobre(II) contendo ligantes nitrogenados"

Concluído em março de 2008.

Doutorado em Química Inorgânica, junto ao Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Araraquara-SP, sob a orientação da Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo.

Projeto: "Síntese, caracterização e investigação da atividade biológica de complexos de cobre(II) contendo moléculas bioativas e ligantes nitrogenados"

Conclusão prevista: setembro de 2012.

DISCIPLINAS CURSADAS NA PÓS-GRADUAÇÃO

Disciplinas Kursadas	Créditos	Carga Horária	Frequência	Conceito
Análise Térmica	12	180	93	B
Aplicações em Análises Térmicas	3	45	100	A
Avaliação da Atividade Citotóxica e Imunológica de Complexos Metálicos em Macrófagos Peritoneais e em Linhagens de Câncer Mamário Murino	3	45	100	A
Avanços em Biologia Celular e Tráfego Intracelular	3	45	100	A
Bioensaios	12	180	87	B
Compostos Organometálicos e Aplicações em Química de Materiais	12	180	90	B
Estrutura Eletrônica e Molecular	12	180	93	A
Métodos Epidemiológicos Aplicados ao Estudo de Doenças Transmissíveis e Não Transmissíveis	3	45	100	A
Métodos Espectrométricos I	12	180	100	A
Química de Coordenação	12	180	100	A
Química Supramolecular e suas Aplicações em Nanociências	2	30	100	A
Seminário Geral	05		100	

ESTÁGIO-DOCÊNCIA

Disciplina *Química Inorgânica* oferecida aos alunos do 1º ano do curso de Farmácia-Bioquímica da UNESP de Araraquara, período integral, durante o 2º semestre do ano letivo de 2008.

Disciplina *Química Inorgânica II* oferecida aos alunos do 5º ano do curso de Licenciatura em Química da UNESP de Araraquara, período noturno, durante o 1º semestre de 2010.

SUPERVISÃO CIENTÍFICA

Aluna: Jeniffer Biin Huoy Lin.

Projeto: Investigação da possibilidade de formação de quadrados moleculares e polímeros de coordenação a partir de reações de auto-organização de complexos de paládio(II) contendo ácidos dicarboxílicos e ligantes nitrogenados lineares.

Período: 02/2010-07/2011.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Química) - Instituto de Química de Araraquara

Bolsa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

PALESTRAS/CURSOS

Seminário *Atividade Tuberculostática de Compostos de Coordenação*, ministrado no Instituto de Química de Araraquara – IQAr UNESP, Araraquara-SP em 3 de dezembro de 2010.

Palestra *A Química Inorgânica e suas Potencialidades Farmacêuticas*, ministrada durante a XIII Jornada de Química do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos –UNIFEB, Barretos-SP, em 18 de maio de 2010.

PUBLICAÇÕES

01. SILVA, Patrícia Bento; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. "Pyrazolyl Coordination Polymers of Cadmium(II)". **Inorganic Chemistry Communications**, v. 9, p. 235-238, 2006.
02. P. B. da SILVA; P. H. TERRA; R. C. G. FREM, A. V. G. NETTO, A. E. MAURO. "Synthesis, characterization, and investigation of the thermal behavior of Cu(II) pyrazolyl complexes", **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, p. 495-499, 2011.
03. SILVA, P. B.; TERRA, P. H.; FREM, R. C.; GODOY NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; SATO, D. N.; PAVAN, F. R.; SANTOS, R. H. A.; FERREIRA, J. G. "Synthesis of Cu(II) and Cd(II) pyrazolyl complexes their characterization as antitubercular agents". Aceito no **Journal of Coordination Chemistry**.
04. C. da SILVA; A. V. G. NETTO; A. E. MAURO; R. C. G. FREM; A. C. MORO; P. B. da SILVA, E. T. de ALMEIDA. "Thermal studies on palladium(II) coordination polymers containing pyrazolates and azido ligands". Submetido no **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**.
05. S. J. S. FRANCHI; F. V. ROCHA; D. L. CASSIMIRO; A. E. MAURO; O. TREU-FILHO; C. A. RIBEIRO; P. B. da SILVA; E. T. de ALMEIDA; A. V. G. NETTO. "Synthesis, spectroscopic and thermal behavior studies on palladium(II) compounds containing 2,2'-bis(4,5-dimethylimidazole)". Submetido ao **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**.
06. SEGURA, D. F.; NETTO, A. V. G.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SILVA, P. B. da; PAVAN, F. R.; DE SOUZA, P. C.; DE BARROS, H. B.; DE ALMEIDA, E. T.. "Synthesis, characterization and antimycobacterial activity of ternary silver compounds bearing N,N-chelating ligands and thiourea". Submetido ao **Journal of Coordination Chemistry**.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

01. DA SILVA, C.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; MORO, A. C.; SILVA, P. B. da, ALMEIDA, E. T.: "Estudo térmico de polímeros de coordenação de paládio(II) com ligantes pirazolatos e azida" IN: **VIII Congresso Brasileiro e III Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria**, Campos do Jordão-Sp, 01 a 04 de abril de 2012.
02. FERRARINI, F. O. C.; OLIVEIRA, V. G. N.; SILVA da, P. B.; MORO, A. C.; FREM, R. C. G.; MONTI, R.; BASSAN, J. C.: "Obtenção de um quelato de cobre(II) a partir de proteínas hidrolisadas do soro de leite bovino" IN: **18º Encontro da Sociedade Brasileira de Química Regional do Interior Paulista "Waldemar Saffioti"**, São José do Rio Preto-SP, 6 a 8 de novembro de 2011.
03. FERREIRA, V.; FREM, R. C. G.; SILVA da, P. B.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.: "Uso de diferentes metodologias para a síntese de compostos de coordenação de Paládio(II) contendo pirazol e ácido tereftálico" IN: **XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, Araraquara-SP**, 18 e 19 de outubro de 2011.
04. FERNANDES, R. J.; FREM, R. C. G.; SILVA da, P. B.; FREITAS, R. S.; SILVA, P.; FERNANDES, J. A. P.; PAZ, F. A. A.: "Synthesis of 1D Coordination polymer using Ni(II), malonic acid and 4-aminopyridine as building blocks" IN: **X Encontro da SBPMat**, Gramado-RS, 25 a 29 de setembro de 2011.
05. FRANCHI, S. J. S.; DE SOUZA, R. A.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; SILVA da, P. B.; RIBEIRO, L. C. A.; CARLOS, I. Z.; DE ALMEIDA, E. T.: "Synthesis and antitumor properties of Palladium(II) containing 2,2'-bis(4,5-dimethylimidazole)" IN: **8th International Congress of Pharmaceutical Sciences**, Ribeirão Preto-SP, 21 a 24 de agosto de 2011.

06. SILVA da, P. B.; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; PAVAN, F. R.; MIYATA, M.; LEITE, C. Q. F.: "Compostos de coordenação de Cu(II) contendo ácido isonicotínico e haletos" IN: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Florianópolis-SC, 23 a 26 de maio de 2011.
07. FERNANDES, R. J.; FREM, R. C. G.; SILVA da, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.: "Níquel(II) e moléculas orgânicas multidentadas como building blocks na construção de sólidos de coordenação porosos" IN: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Florianópolis-SC, 23 a 26 de maio de 2011.
08. LIN, J. B. H.; FOSSA, T.; FREM, R. C. G.; SILVA da, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SILVA, P.; PAZ, F. A. A.; ROCHA, J.: "Construção de triângulos supramoleculares de paládio e investigação em sistemas hospede-hospedeiro" IN: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Florianópolis-SC, 23 a 26 de maio de 2011.
09. SILVA da C.; SILVA da, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; GONÇALVES, N. S.; BARROS, C.; ROCHA, J.: "Estudo da reação de auto-montagem entre o complexo [PdCl₂(bpy)] (2,2'-bipiridina) e o ligante 2,4,5-tris(4-piridil)imidazol" IN: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Florianópolis-SC, 23 a 26 de maio de 2011.
10. LIN, J. B. H.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SILVA da, P. B.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de paládio(II) contendo 4-aminopiridina e dicarboxilatos" IN: **XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, Araraquara-SP, 30 de setembro de 2010.
11. FERREIRA, V.; FREM, R. C. G.; GOMES, N.; MAURO, A. E.; SILVA da, P. B.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de paládio(II) contendo pirazóis e succinato" IN: **XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, Araraquara-SP, 30 de setembro de 2010.
12. SILVA da, P. B.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; FERREIRA, A. M. C.: "Síntese e caracterização espectroscópica de complexos de Cu(II) contendo a molécula biologicamente ativa isoniazida (INH)" IN: **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 28 a 31 de maio de 2010.
13. SILVA da, P. B.; TERRA, P. H.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.: "Investigação do Comportamento Térmico de Cloro-complexos pirazólicos de Cu(II)" IN: **VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria**, São Pedro-SP, 25 a 28 de abril de 2010.
14. SILVA da, P. B.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.: "Síntese e caracterização de complexos de Cobre(II) contendo etambutol" IN: **17º Encontro Regional da SBQ – Regional IPWS**, Araraquara-SP, 18 a 20 de outubro de 2009.
15. SILVA da, P. B.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; FERREIRA, A. M. C.: "Copper(II) complexes: preparation, characterization and antimycobacterial activity" IN: XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, Foz do Iguaçu-PR, 31 de agosto a 4 de setembro de 2008.
16. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F.; NEVES, T. P. DA C.; FERREIRA, A. M. FERNANDES, R. L.: "Síntese, caracterização e investigação da atividade antimicrobiana do complexo [Cu(SO₄)(INH)]" IN: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
17. NEVES, T. P. da C.; FERNANDES, R. L.; DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; OLIVEIRA, L. A. A.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de rutênio(II) contendo ligantes pirazólicos" IN: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.

18. FERNANDES, R. L.; NEVES, T. P. da C.; DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de paládio(II) contendo ligantes lineares nitrogenados e oxalatos" IN: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
19. Da SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; SATO, D. N.: "Síntese, caracterização e atividade antimicrobiana de complexos pirazólicos de cádmio(II)" IN: **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-MG, 30 de maio a 2 de junho de 2005.
20. Da SILVA, P. B.; MELLO, L. P.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.: "Polímeros de Coordenação de Cádmio(II)" IN: **XVI Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, Ilha Solteira-SP, 4 a 11 de dezembro de 2004.
21. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; FERREIRA, J. G.: "Pyrazolyl coordination polymers of cadmium(II)" IN: **XII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry**, São Carlos-SP, 8 a 11 de setembro de 2004.
22. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.: "A influência da razão molar cádmio: azida na obtenção de espécies polinucleares de Cd(II)" IN: **XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, São Carlos-SP, 12 a 14 de novembro de 2003.
23. Da SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Polímeros de coordenação de Cd(II) contendo pirazóis e tiocianato" IN: **XXXIII Semana da Química**, Araraquara-SP., 25 a 31 de outubro de 2003.
24. Da SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Complexos polímeros contendo pirazóis e tiocianato de Cd(II)" IN: **XV Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, Marília – S.P., 18 a 24 de outubro de 2003.
25. Da SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Polímeros de coordenação de Cd(II) contendo pirazóis e tiocianato" IN: **26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-M.G., 26 a 29 de maio de 2003, Livro de Resumos, p.QI-127.
26. MELO, L. P.; DA SILVA, P. B.; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.: "Complexos pirazólicos de Co(II) e Cd(II) como precursores de espécies supramoleculares" IN: **XIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP - Exatas**, 2002, Presidente Prudente-SP Livro de Resumos, 2002.
27. Da SILVA, P. B.; MELO, L. P.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Cloro-Complexos pirazólicos de cobalto e cádmio divalentes" IN: **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-M.G., 20 a 23 de maio de 2002.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

01. II Simpósio de Planejamento e Desenvolvimento de Novos Fármacos para Doenças Negligenciadas – de 7 a 10 de novembro de 2011. São Paulo – SP.
02. 58ª Jornada Farmacêutica da UNESP – 20 a 26 de agosto de 2011. Araraquara – SP.
03. II International Symposium on Drug Discovery – de 27 a 29 de julho de 2011. Araraquara – SP.
04. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – de 23 a 26 de maio de 2011. Florianópolis – SC.
05. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – de 28 a 31 de maio de 2010. Águas de Lindóia – SP.
06. VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria – de 25 a 28 de abril de 2010. São Pedro – SP.
07. Workshop 2009 dos Programas de Pós-Graduação em Química e em Biotecnologia - IQ-UNESP, 15 anos do PPG em Biotecnologia. Araraquara – SP.

08. I Simpósio de Planejamento e Desenvolvimento de Novos Fármacos para Doenças Negligenciadas – USP e as Redes Temáticas, Série 2009, realizado de 23 a 25 de setembro de 2009.
09. II Simpósio de Microbiologia e Imunologia – promovido pela Faculdade de Ciências de Bauru - UNESP, realizado de 27 a 29 de agosto de 2009.
10. Workshop “Global Development of New Anti-TB Drugs and Possibility to Treat M(X)-DR-TB and TB/HIV”, ministrado pelo Dr. Norio Doi do Research Institute of Tuberculosis – RIT, Japan Anti-Tuberculosis Association – JATA, coordenado pela Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite – Araraquara-S.P. – Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, realizado no período de 17 a 18 de outubro de 2007.
11. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-S.P., de 31/05 a 03/06/2007.
12. Workshop “A Química Bioinorgânica no Brasil”, dentro das programações da XXX Reunião Anual da SBQ 2007.
13. I Workshop “Pós-Graduação em Química: Formação de Recursos Humanos e Transferência de Tecnologia” – Araraquara-S.P. – Instituto de Química – UNESP, realizado em 5 de Outubro de 2006.
14. Mini-Symposium “New Drugs Against Tuberculosis”, ministrado pelo Dr. Scott Gary Franzblau, do Institute for Tuberculosis Research – University of Illinois at Chicago, sob coordenação da Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite – Araraquara-S.P. – Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, realizado em 7 de Abril de 2005.
15. II EVEQ: Segundo Evento do Ensino de Química, Araraquara-S.P., maio de 2004.
16. XXXIII Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2003.
17. XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, São Carlos-S.P., de 12 a 14 de novembro de 2003.
18. II TEJ: Treinamento Empresarial Júnior, “Gestão Empresarial para Empresa Júnior”, Araraquara-S.P., 27 de setembro de 2003.
19. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-M.G., de 26 a 29 de maio de 2003.
20. I EVEQ: Primeiro Evento do Ensino de Química, Araraquara-S.P., maio de 2003.
21. I Encontro de Empresas de Juniores da Unesp, Bauru-S.P., abril de 2003.
22. XV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, Marília-S.P., outubro de 2003.
23. XXXII Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2002.
24. I TEJ: Treinamento Empresarial Júnior, Araraquara-S.P., setembro de 2002.
25. I CEI: Primeiro Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química, Araraquara-S.P., julho de 2002.
26. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-M.G., de 20 a 23 de maio de 2002.
27. Simpósio de Patentes, Araraquara-S.P., novembro de 2001.
28. XXXI Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2001.
29. XXX Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2000.

PARTICIPAÇÃO EM CURSOS

1. “Nanocosméticos e Nanomedicamentos: Do conceito à Inovação Tecnológica”, duração 4 h.
2. “Microbiologia: Teoria e Prática Docente”, duração 4 h.
3. “Citometria de Fluxo”, duração 8 h.
4. “Células Combustíveis”, duração 14 h.
5. “O Descarte de Corantes Têxteis: Problemas e Soluções”, duração 6 h.
6. “Leitura Instrumental de Textos Acadêmicos”, duração 2 h.
7. “Acertando as Contas: as Finanças da EJ”, duração 3 h.
8. “A Lei a Nosso Favor: Administração Jurídica”, duração 3 h.
9. “Violência no Ambiente Escolar: Como educar e ensinar diante deste problema”, duração 6 h.
10. “Avaliação Educacional, Escolar e de Aprendizagem”, duração 6 h.
11. “Fundamentos para Prática de Leitura e Produção de Textos, com Ênfase no Texto Científico”, duração 12 h.
12. “Poliésteres Bacterianos para Plásticos Biodegradáveis”, duração 12 h.
13. “Química Forense”, duração 8 h.
14. “Metrologia em Química ISO-Guia 17025”, duração 16 h.

15. “Cromatografia Líquida de Alto Desempenho”, duração 6 h.
16. “Aplicação em Cromatografia Líquida Preparativa e Espectrofotometria Ultra Violeta/Visível”, duração 6 h.
17. “Células Fotoeletroquímicas”, duração 6 h.
18. “Tools – MS Project”, duração 4 h.
19. “Reciclagem de Papel”, duração 4 h.
20. “Química e Meio Ambiente: Construção de relações a partir de mapas conceituais”, duração 4 h.

ATIVIDADES EXTRACURRICULARES

1. Diretora Presidente da Associação dos Ex-alunos do Instituto de Química de Araraquara, outubro de 2005 a outubro de 2007.
2. Diretora Presidente da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2003 a julho de 2004.
3. Diretora do Departamento de Marketing da Emprodequi-Jr – Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., setembro de 2003 a junho de 2004.
4. Diretora do Departamento de Projetos da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2002 a junho de 2003.
5. Gerente do Departamento de Projetos da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., de julho de 2001 a junho de 2002.
6. Gerente do Departamento de Marketing da Emprodequi-Jr – Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., junho de 2003 a dezembro de 2004.
7. Membro da Comissão Organizadora da XXXIII Semana da Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., outubro de 2003.
8. Membro da Comissão Organizadora do II CEI: Segundo Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2003.
9. Membro da Comissão de Seleção de Bolsa BAE do Instituto de Química de Araraquara-S.P. nos anos de 2003 e 2004.
10. Membro da Comissão Organizadora do I CEI: Primeiro Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2002.
11. Monitora da disciplina *Cálculo Diferencial e Integral I*, primeiro semestre de 2002.
12. Representante Discente nos Conselhos dos Departamentos de Química Geral e Inorgânica em 2000, Química Analítica em 2001 e Bioquímica em Química e Biotecnologia em 2002.

ESTÁGIOS, BOLSA E AUXÍLIOS

Bolsa de Iniciação Científica (IC) concedida pela FAPESP.

Bolsa de Mestrado (MS) concedida pela CNPq e CAPES.

Bolsa de Doutorado (DR) concedida pela CAPES.

LÍNGUAS ESTRANGEIRAS

Inglês: nível avançado.

Espanhol: nível avançado.

Dedico este trabalho as pessoas que foram a minha base para que esse trabalho pudesse existir.....

Aos meus pais Narcizo (in memorian) e Luzia por serem os responsáveis pela minha existência e por sempre acreditarem que o conhecimento é uma das poucas coisas que levamos dessa vida e que a educação é capaz de mudar a vida de uma pessoa.

Ao meu esposo Wellington (Paca) pela pessoa que és, meu companheiro, meu grande amigo e parceiro em todos os momentos de nossas vidas ao longo desses dez anos e por não deixar que eu desistisse dos meus sonhos. Com certeza sem o seu apoio e sua companhia não teria conseguido chegar até aqui!!!

A Profa. Regina que além de orientadora, amiga, madrinha, segunda mãe, é uma das pessoas responsáveis pelo meu crescimento no mundo científico, por me fazer permanecer ao longo desses anos nesse laboratório querendo aprender mais e mais e foi com ela que aprendi muitas coisas inclusive a escrever melhor, a apagar, reescrever os textos, inclusive a ser mais crítica.

Meu muito obrigado....

A Profa. Dra. Regina Frem pela orientação, confiança, paciência, por acreditar no meu trabalho, por todos os ensinamentos ao longo desses quase onze anos, posso dizer que aprendi muito com ela, até quando não concordávamos, sou literalmente a “cria” dela no meio acadêmico. Muito obrigada por tudo, inclusive por me agüentar e me desculpe por qualquer coisa, você sabe o quanto é especial e importante na minha formação profissional e pessoal!

Ao Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro pelo convívio, incentivo e por sempre se preocupar com o meu trabalho e o meu bem estar;

Ao Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto pelas discussões de resultados, pelas conversas sobre as nossas pesquisas e até mesmo por ouvir os meus desabafos;

Ao Prof. Dr. Victor Deflon, Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz, Prof. Dr. Alexandre Cuin e Prof. Dr. Marlus Chorilli pelas valiosas sugestões na minha defesa de doutorado;

Ao Prof. Eder José Cavaleiro e Sergio Roberto de Andrade Leite pelas sugestões no exame de qualificação;

Ao Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida do Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Alfenas – MG, pelo auxílio nas curvas TGA-DTA;

Ao Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro, Profa. Dra. Marisa Spirandeli Crespi e ao Dr. Marcelo Kobelnik pelo auxílio nas curvas TGA-DTA;

Ao Prof. Dr. Alexandre de Oliveira Legendre do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo – ES, pelas discussões das curvas termogravimétricas;

Ao Prof. Massao Ionashiro do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química de Araraquara – UNESP, pelas valiosas e prazerosas discussões e ensinamentos sobre análise térmica;

A Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira do Instituto de Química - USP – São Paulo-SP, pelo auxílio nos experimentos de EPR;

Ao Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora – MG, pelo fornecimento dos ligantes derivados da 1,2-etanodiamina, 1,3-propanodiamina e os aminoálcoois;

À Fundação para o Remédio Popular (Furp) pela doação dos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose e utilizados como ligantes nesse trabalho;

A Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e ao Dr. Fernando Rogério Pavan do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, pelos ensaios frente ao Mycobacterium tuberculosis realizados, pelos ensinamentos, esclarecimentos, paciência, incentivo, pelas oportunidades oferecidas e amizade;

A Profa Dra. Maria Stella Gonçalves Raddi e à técnica Elaine Toscano Miranda do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP pelos ensaios antimicrobianos frente ao Staphylococcus aureus e Escherichia coli;

A Profa. Tais Maria Bauab e ao doutorando Leonardo Gorla Nogueira do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP pelos ensaios microbiológicos frente à Staphylococcus aureus e Escherichia coli;

Ao Prof Marlus Chorilli do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP pelos ensinamentos sobre microemulsão lipídica, por disponibilizar o laboratório de farmacotécnica para a realização dos experimentos e pela amizade;

Ao Prof. Fabio Furlan Ferreira do Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC, ao Prof. Carlos de Oliveira Paiva do Departamento de Físico-química do Instituto de Química de Araraquara e a Pós-doc Selma Gutierrez Antonio do Instituto de Química de Araraquara pela tentativa de determinação de estrutura pelo método de Rietveld;

Ao Dr. José Alberto Pires Fernandes Departamento de Química da Universidade de Aveiro, Portugal, pela análise de raios X de monocristal;

Ao Prof. Dr. Marcelo Ornaghi Orlandi do Departamento de Físico-química do Instituto de Química de Araraquara pelos ensinamentos e discussões sobre microscopia eletrônica de varredura;

A aluna Caroline Cunha Trevelin do curso de Ciências Farmacêuticas pelos primeiros ensinamentos e pela paciência no laboratório de farmacotécnica, além da amizade que ficou;

A Paula e a Helo da Microbiologia pelos ensaios;

Ao Ricardo José Giagio, pelos difratogramas de Raios X pelo método do pó;

Ao Sebastião Anésio Dametto, pelas microscopias eletrônica de varredura;

Ao pós-graduando Rodrigo Alves de Souza por toda ajuda nas discussões dos dados biológicos, bem como pela leitura e sugestões na redação da tese, não sei nem como te agradecer!!!

A pós-graduanda Sáhra Cavalcante Lemos pelo auxílio na correção do abstract;

Aos funcionários Irene, Serginho e Valéria pela atenção, auxílio e convívio no Departamento de Química Geral e Inorgânica;

Aos meus amigos do grupo de Química de Coordenação e Organometálicos: Antônio (Tonho), Alexandre Legendre, Rodrigo, Gislaine, Manka, Dani, Ana Paula, Cris, Carol, Fillipe, Sáhra, Daniel (Homer), Caio (Muringa), Noelle, Silmar, Chico, Marcelo, Juninho, Elaine, Ronaldo, Victor, Aline, Thiago (Marido), Jeniffer, Vitória, Katinha, Tales (Bigola), Marcelo IC, Cassio,.... que de uma forma ou de outra me auxiliaram;

Aos meus irmãos científicos: Aline, Victor, Vitória, Jen, Thiago, Chico, Ronaldo, Marcelo, Juninho e Elaine por todo aprendizado e convívio durante esse tempo que convivemos sempre um socorrendo o outro, isso é viver em família;

Aos meus três anjos da guarda Aline, Thiago e Victor, ambos alunos da mesma orientadora e meus companheiros de laboratório. O Victor o “mais velho” de casa, a Li a menina que chegou de mancinho e que foi me cativando, e o Thiago, o caçula. Hoje não nos desgrudamos!!!! Não sou a orientadora, mas, sinto um pouco a mãe deles, porque ensinei os primeiros passos dentro de um laboratório de pesquisa e eles sempre me pedem ajuda e por incrível que pareça foram eles quem me ajudaram nos últimos experimentos para que essa tese fosse concluída. Muito obrigada aos três, sentirei saudades e temos um trato que nunca perderemos o contato!!!!

À minha mais nova amiga Aline Renata Pavan por dividir comigo os momentos difíceis do final do meu doutorado, por dar colo enquanto eu fazia os experimentos na farmácia, e que em pouco tempo acabei descobrindo uma grande mulher e amiga nessa pequena menina tímida.

Aos meus dois grandes amigos que fiz durante o meu doutorado o Rodrigo Alves de Souza e o Silmar José Spinardi Franchi, obrigada pelas discussões de resultados, pelos novos conhecimentos, por tudo que convivemos, até por carregarem minhas sacolas de compras nos congressos, como dizem: somos o trio que gosta que criar polêmicas!!!!

Ao casal de amigos Carol e Fillipe, os mineiros que sempre estão dispostos a baterem um papo científico tomando uma cerveja e comendo um queijo, além da enorme disposição em auxiliar os amigos;

A todos os professores do Departamento de Química Geral e Inorgânica pelo convívio e por participarem da minha formação acadêmica;

As funcionárias da Seção de Pós-graduação em Química do Instituto de Química, pela atenção, cordialidade e amizade;

A Bel, Valéria Novelli, Cris e demais funcionárias da Biblioteca do Instituto de Química de Araraquara, pela atenção, prestatividade, cordialidade e amizade;

A Alessandra Stevanato, madrinha e amiga que agora está em Londrina, não foi para o Amazonas. Ale, muito obrigada por tudo, pelas risadas, por ser minha companheira de quarto nos congressos, sempre disposta a ajudar mesmo

com a vida corrida que leva, pessoa símbolo de determinação e independência, sua história me dá força para não desistir da caminhada;

A minha irmã e amiga Cristiana da Silva, pessoa engraçadíssima, que me faz rir e sempre disposta a ajudar, muito obrigada por me ouvir e por não me deixar desanimar naqueles momentos difíceis que passei ao longo desses quatro anos;

A toda Família Kitatani pelo apoio e incentivo, muito obrigada;

Ao meu irmão Rodrigo, minha cunhada Elinéia e ao meu sobrinho-afilhado João Vitor por me incentivarem, ouvirem e sempre me apoiarem mesmo que de longe. Muito obrigada por tudo. Amo muito vocês!!!!

Aos meus sogros José e Zeza pelo apoio e carinho;

A todos os meus amigos da turma Licenciatura 2000;

A Camila Silveira, Isabelle Marcelino, André Mendonça, Marcão, Robson Patto, José Maruyama, Elaine Ruzgus, Juliana Rodrigues, Patrícia Dametto, por serem grandes amigos e companheiros ao longo desses anos!!!!

As novas amigas: Maricelli Branquinho e Aline Ura;

A todos os meus amigos de Araraquara e Bebedouro;

A July e a Nina;

A todos que não estão aqui citados, mas, que de alguma forma fizeram parte desse trabalho, muito obrigada!!!!

A Capes pela bolsa concedida;

Aos órgãos de fomento pelo apoio financeiro;

A Deus, por me conceder a vida.

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante dos meus olhos.”

Isaac Newton

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância.”

John F. Kennedy

RESUMO

O cobre é o terceiro elemento de transição mais abundante no corpo humano e está presente no sítio ativo de enzimas que participam de reações oxidativas como a citocromo oxidase ou a superóxido dismutase. Além disso, é reconhecido há muito tempo que compostos de cobre são capazes de inibir uma gama de fungos e bactérias. Dentro dessa perspectiva, o objetivo principal deste trabalho consistiu na síntese, caracterização e investigação da atividade antibacteriana de complexos de cobre(II) contendo como ligantes moléculas bioativas {etambutol (EMB), isoniazida (INH) e pirazinamida (PZA)}, ácido isonicotínico (Hina), diaminas {*N*-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2), *N,N'*-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3), *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (L4), *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5)} e aminoálcoois {*N*-tetradecil-2-amino-etanol (L6), *N*-tetradecil-2-amino-propanol (L7), 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (L8) e *N*-tetradecildietanolamino (L9)}. Foram preparados 14 compostos de cobre(II) inéditos: $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (**9**), $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**), $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**), $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**), $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**), $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (**17**), $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**18**), $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**19**) e $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (**20**). Os compostos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia vibracional no infravermelho, espectroscopia eletrônica no UV/Visível, ressonância paramagnética eletrônica e por análise térmica (TGA e DTA). O composto $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**) teve sua estrutura determinada por difratometria de raios X de monocristal. A superfície dos compostos foi analisada por microscopia eletrônica de varredura e a textura porosa dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) foi investigada via medidas de adsorção-dessorção de nitrogênio (técnica ASAP), que mostrou que ambos os complexos são mesoporos. Os complexos de cobre(II) foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento das bactérias gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC 25922) e ao *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv ATCC 27194). Os melhores resultados para *S. aureus* e *E. coli* foram obtidos com o complexo **14** (CIM = 7,81 µg mL⁻¹) enquanto que os compostos **4** e **5** foram os mais ativos frente ao *M. tuberculosis*, com valor de concentração inibitória mínima igual a 0,39 e 0,78 µg mL⁻¹, respectivamente. Quando testados em isolados clínicos de *M. tuberculosis*, os compostos **4** e **5** tiveram baixa atividade (< 25 µg mL⁻¹), que foi potencializada após incorporação em microemulsão lipídica (0,180 µg mL⁻¹) mostrando que esses dois compostos são candidatos promissores anti-TB quando transportados via microemulsão.

Palavras-chaves: complexos de cobre(II), atividade antibacteriana, microemulsão lipídica, diaminas e aminoálcoois.

ABSTRACT

Copper is the third most abundant transition metal element in biological systems and was recognized as essential biological element in 1920. The use of copper salts as fungicide has been known for a long time. The main purpose of this study consisted in the synthesis, spectroscopic characterization and investigation of the antibacterial activity of copper(II) complexes containing biological active molecules {ethambutol (EMB), isoniazid (INH) and pyrazinamide (PZA)}, isonicotinic acid (Hina), diamines {N-dodecyl-1,2-ethanediamine (L1), N-tetradecyl-1,2-ethanediamine (L2), N,N'-bisdodecyl-1,2-ethanediamine (L3), N-dodecyl-1,3-propanodiamine (L4), N-tetradecyl-1,3-propanodiamine (L5)} and amino alcohols {N-tetradecyl-2-amino-ethanol (L6), N-tetradecyl-2-amino-propanol (L7), 2-tetradecylamino)-2'-methyl-1-propanol (L8) and N-tetradecyldiethanolamine (L9)}. Fourteen new complexes were prepared: [Cu₂(NCS)₄(EMB)] (**2**), [Cu(NCS)₂(INH)₂·5H₂O (**4**), [Cu(NCO)₂(INH)₂·4H₂O (**5**), [CuI₂(PZA)₂] (**8**), [CuCl₂(Hina)₂] (**9**), [CuCl₂(L1)₂·2H₂O (**12**), [CuCl₂(L2)₂] (**13**), [CuCl₂(L3)₂·2H₂O (**14**), [CuCl₂(L4)₂·H₂O (**15**), [CuCl₂(L5)₂·H₂O (**16**), [CuCl₂L6] (**17**), [CuCl₂L7]·4H₂O (**18**), [Cu(SO₄)L8]·4H₂O (**19**) and [CuCl₂L9] (**20**). The compounds were characterized by elemental analysis, infrared spectroscopy, UV-Vis spectroscopy, electron paramagnetic resonance, thermogravimetry and differential thermal analysis. The compound [CuCl₂(L4)₂·H₂O (**15**) had its structure determined by single crystal X ray diffraction. The surface of the compounds was analysed by scanning electron microscopy, and the porous texture of the complexes [Cu(NCS)₂(INH)₂·5H₂O (**4**) and [Cu(NCO)₂(INH)₂·4H₂O (**5**) was analysed by nitrogen adsorption-desorption (ASAP technique), which showed that both complexes are mesopores. The copper(II) complexes were submitted to growth-inhibition assays of the gram-positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), gram-negative *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv ATCC 27194). The compounds **4** and **5** were the most active against *M. tuberculosis*, with value minimum inhibitory concentration (MIC) equal to 0.39 and 0.78 µg mL⁻¹, respectively. While for *S. aureus* and *E. coli* was the most active complex **14** with MIC equal to 7.81 µg mL⁻¹. When tested with clinical isolates of *M. tuberculosis*, the compounds **4** and **5** had low activity, < 25 µg mL⁻¹, which was potentiated by incorporation in the lipid microemulsion (0.180 µg mL⁻¹), showing that these two compounds are promising candidates anti-TB when carried by microemulsion.

Key-words: copper(II) complexes, antimycobacterial activity, lipid microemulsion, diamines and amino alcohols.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura do complexo $[Cu(TTA)_2]$ [12].....	35
Figura 2 – Estruturas propostas para os complexos de cobre(II).....	36
Figura 3 – Micrografia eletrônica de varredura do <i>M. tuberculosis</i>	37
Figura 4 - Fármacos anti-TB de primeira escolha no Brasil.....	39
Figura 5 – Fármacos anti-TB de segunda escolha no Brasil.....	40
Figura 6 – Principal mecanismo de ação da isoniazida (INH).....	45
Figura 7 – Mecanismo de ação da PZA.....	46
Figura 8 – Estruturas dos candidatos a medicamentos que estão em triagem clínica.....	49
Figura 9 - Estruturas químicas das moléculas: N-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), N-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2), N, N'-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3), N-dodecil-1,3-propanodiamina (L4), N-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5), N-tetradecil-2-amino-etanol (L6), N-tetradecil-2-amino-propanol (L7), 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (L8) e N-tetradecildietanolamino (L9).....	50
Figura 10 – Representação ORTEP do organometálico $[Pd(C\text{-}bz\text{-}an)(SCN)(dppp)]$ [82].....	53
Figura 11 – Estruturas propostas para os complexos de Fe(III) contendo os derivados da 3-amino- N^1, N^4 -dióxido-2-carbonitrila-quinoxalinas como ligantes [84].....	54
Figura 12 – Representação esquemática da organização das microemulsões.....	58
Figura 13 – Microemulsão do tipo O/A com fármaco incorporado.....	59
Figura 14 – Dendrímero manossilado com RMP.....	61
Figura 15 - Micrografia eletrônica de varredura de <i>S. aureus</i> resistente à metilicina.....	64
Figura 16 – Principais doenças causadas por <i>S. aureus</i> [129].....	65
Figura 17 – Microscopia eletrônica de varredura de um cluster de <i>E. coli</i> ampliado 10000 vezes.....	70
Figura 18 – Esquema de síntese dos compostos contendo etambutol (EMB).....	77
Figura 19 – Esquema de síntese dos compostos contendo isoniazida (INH).....	77
Figura 20 – Esquema de síntese dos compostos contendo pirazinamida (PZA).....	78
Figura 21 – Esquema de síntese dos compostos contendo ácido isonicotínico (Hina).....	78
Figura 22 – Esquema de síntese dos compostos contendo os derivados da 1,2-etanodiamina.....	79
Figura 23 – Esquema de síntese dos compostos contendo derivados da 1,3-propanodiamina.....	79
Figura 24 – Esquema de síntese dos compostos contendo aminoálcoois.....	80
Figura 25 – Fluoxograma utilizado no preparo da formulação.....	91
Figura 26 – Placa de 96 orifícios utilizada para os ensaios microbiológicos.....	93
Figura 27 - Pipeline: Pesquisa de novos fármacos anti-TB, Laboratório “Prof. Dr. Hugo David” FCFAR/UNESP Araraquara.....	95
Figura 28 – Espectros vibracionais no IV para o ligante livre etambutol (EMB) e complexos 1-2	99
Figura 29 – Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis do ligante EMB e dos compostos $[Cu_2(SO_4)_2(EMB)]$ (1) e $[Cu_2(NCS)_4(EMB)]$ (2).....	102

Figura 30 – MEV do composto 1 com aumento de 700 vezes (a) e 3000 vezes (b).....	103
Figura 31 – MEV do composto 2 com aumento de 700 vezes (a) e 3000 vezes (b).....	104
Figura 32 – Estruturas de complexos de cobre(II) contendo EMB: (a) $[\text{Cu}(\text{EMB})]^{0}$, Gupta et al. [137], (b) $[\text{CuCl}(\text{EMB})]^{1+}$, Faria et al. [161] e (c) composto 1 , estrutura proposta.....	105
Figura 33 – Estrutura proposta para o complexo 2	106
Figura 34 – Espectros vibracionais no IV do ligante livre INH e complexos 3-5	107
Figura 35 – Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis do ligante INH e dos compostos 3-5	110
Figura 36 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3)	112
Figura 37 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4).....	113
Figura 38 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5).....	114
Figura 39 – Difrátogramas de raios X do resíduo obtido (CuO) no final da termodecomposição do composto 4 a 1000 °C comparado com o da literatura	116
Figura 40 – Imagens MEV do composto 3 com aumento de 500 vezes (a) e 3000 vezes (b)	117
Figura 41 – Imagens MEV do composto 4 com aumento de 150 vezes (a) e 1500 vezes (b)	117
Figura 42 – Imagens MEV do composto 5 com aumento de 700 vezes (a) e 2000 vezes (b)	118
Figura 43 – Isoterma de adsorção do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)	119
Figura 44 – Isoterma de adsorção do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)	120
Figura 45 – Espectro de EPR do complexo 3 , em solução congelada de DMSO, a 77 K	122
Figura 46 – Estrutura proposta para o complexo 3	123
Figura 47 – Estrutura proposta para o complexo 4	123
Figura 48 – Estrutura proposta para o complexo 5	124
Figura 49 – Espectros vibracionais no IV do ligante livre pirazinamida (PZA) e dos complexos 6-8	125
Figura 50 – Espectros eletrônicos dos compostos 6-8 (reflectância difusa).....	128
Figura 51 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6).....	129
Figura 52 – Curvas TGA-DTA do $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7).....	130
Figura 53 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8).....	131
Figura 54 – Difrátograma de raios X, método do pó, do resíduo obtido a 600 °C na termodecomposição do composto 6 comparado com o da literatura	132
Figura 55 – MEV do composto 6 com aumento de 3000 vezes (a) e 7000 vezes (b).....	133
Figura 56 – Imagens MEV do composto 7 com aumento de 1500 vezes (a) e 10000 vezes (b)	133
Figura 57 – Imagens MEV do composto 8 com aumento de 2000 vezes (a) e 10000 vezes (b)	134
Figura 58 – Espectro EPR do complexo 6 , em solução congelada de DMSO, a 77 K	135
Figura 59 – Estruturas propostas para os complexos contendo PZA: X = Cl ⁻ (6), Br ⁻ (7) e I ⁻ (8): (a) estrutura proposta por Allan et al. [142] e (b) estrutura proposta neste trabalho.....	136
Figura 60 – Espectros vibracionais no IV para o ligante livre ácido isonicotínico (Hina) e os complexos 9-11 ...	137
Figura 61 – Espectros eletrônicos dos compostos 9-11 (reflectância difusa).....	140
Figura 62 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (9)	141
Figura 63 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (10).....	142

Figura 64 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11).....	143
Figura 65 – Difratoograma de raios X, método do pó, do resíduo obtido (CuO) na termodecomposição a 600 °C do composto 10 comparado com o da literatura	144
Figura 66 – MEV do composto 9 com aumento de 1000 vezes (a) e 5000 vezes (b)	145
Figura 67 – MEV do composto 10 com aumento de 5000 vezes (a) e 20000 vezes (b)	145
Figura 68 – Imagens MEV do composto 11 com aumento de 2000 vezes (a) e 5000 vezes (b).....	146
Figura 69 – Estrutura proposta para a série $[\text{CuX}_2(\text{Hina})_2]$	147
Figura 70 – Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 12-14 (em KBr)	147
Figura 71 – Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis dos ligantes livres L1, L2 e L3 e dos compostos 12-14	149
Figura 72 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12)	152
Figura 73 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13)	153
Figura 74 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)	154
Figura 75 – Difratoograma de raios X, método do pó, CuO, obtido a 800 °C na termodecomposição do composto 12 comparado com o da literatura	155
Figura 76 – Micrografias do composto 12 com aumento de 700 vezes (a), 2000 vezes (b), 5000 vezes (c) e 10000 vezes (d).....	156
Figura 77 – Imagens MEV do composto 13 com aumento de 200 vezes (a), 1000 vezes (b) e 2000 vezes (c)	156
Figura 78 – Micrografias do composto 14 com aumento de 200 vezes (a), 2000 vezes (b) e 7000 vezes (c).....	157
Figura 79 – Espectro de EPR do composto 12 , no estado sólido a 77 K.....	159
Figura 80 – Espectro de EPR do complexo 13 , no estado sólido a 77 K.....	159
Figura 81 – Espectro de EPR do complexo 12 , em solução de metanol a 77 K.....	161
Figura 82 – Espectro de EPR do complexo 13 , em solução de metanol a 77 K.....	161
Figura 83 – Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12).....	162
Figura 84 – Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13).....	162
Figura 85 – Proposição estrutural para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14).....	163
Figura 86 – Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 15 e 16 (em KBr).....	164
Figura 87 – Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis dos ligantes livres e dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (15) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16).	166
Figura 88 – Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16)	168
Figura 89 – Difratoograma de raios X, método do pó, do resíduo final a 700 °C da termodecomposição do composto 16 comparado com o da literatura	169
Figura 90 – Imagens MEV do composto 15 com aumento de 200 vezes (a), 500 vezes (b), 1000 vezes (c) e 3000 vezes (d).....	170
Figura 91 – Fotomicrografias do composto 16 com aumento de 500 vezes (a), 1000 vezes (b) e 10000 vezes (c)	171
Figura 92 – Estrutura do composto 15 obtido por difratometria de raios X de monocristal.....	172
Figura 93 – Espectro de EPR do composto 16 no estado sólido a 77 K.....	173
Figura 94 – Espectro de EPR do composto 16 em solução metanólica a 77 K.....	174

Figura 95 – Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16)	175
Figura 96 – Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 17-20 (KBr)	176
Figura 97 – Espectros eletrônicos dos compostos 17-20 (reflectância difusa)	179
Figura 98 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)	180
Figura 99 - Difratoograma de raios X, método do pó, do resíduo final a 800 °C da termodecomposição do composto 20 comparado com o da literatura	181
Figura 100 – Imagens MEV do composto 17 com aumento de 150 vezes (a), 700 vezes (b), 1500 vezes (c) e 5000 vezes (d)	182
Figura 101 – Imagens MEV do composto 18 com aumento de 3000 vezes (a) e (b), 7000 vezes (c) e 10000 (d)	183
Figura 102 – Imagens MEV do composto 19 com aumento de 1500 vezes (a), 5000 (b) e (c) e 7000 (d)	183
Figura 103 – Imagens MEV do composto 20 com aumento de 70 vezes (a), 300 vezes (b), 1500 vezes (c) e 2000 vezes (d)	184
Figura 104 – Espectro de EPR do composto 20 no estado sólido a 77 K	186
Figura 105 – Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)	187
Figura 106 – Estruturas propostas para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (17), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)	187
Figura 107 – Estruturas propostas para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L7}]$ (18), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)	188
Figura 108 – Estruturas propostas para o composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (19), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)	188

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Procedência de reagentes e solventes	76
Tabela 2 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos 1-2 e suas respectivas atribuições	100
Tabela 3 – Valores de absorvidade molar para os compostos 1 e 2 em metanol	102
Tabela 4 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos 3-5 e suas respectivas atribuições	108
Tabela 5 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)	115
Tabela 6 – Dados da avaliação textural dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)	120
Tabela 7 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e os complexos 6-8 e suas respectivas atribuições	126
Tabela 8 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6), $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7) e $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8)	131
Tabela 9 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos 9-11 e suas respectivas atribuições	138
Tabela 10 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (9), $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (10) e $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11)	143
Tabela 11 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) dos ligantes livres e complexos 12-14 e suas respectivas atribuições	148
Tabela 12 – Valores de absorvidade molar dos ligantes livres L1-L3 e dos compostos 12-14 em metanol	150
Tabela 13 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13) e $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)	154
Tabela 14 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente aos ligantes livres e complexos 15 e 16 e suas respectivas atribuições	165
Tabela 15 – Valores de absorvidade molar dos ligantes L4 e L5, e dos compostos 15 e 16 em metanol	167
Tabela 16 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16)	169
Tabela 17 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente aos ligantes livres L6-L8 e complexos 17-19 e suas respectivas atribuições	177
Tabela 18 – Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre L9 e o complexo 20 e suas respectivas atribuições	177
Tabela 19 – Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)	181
Tabela 20 – CIM dos compostos 1-11 frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO	190

Tabela 21 – CIM dos compostos 12-20 frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO	191
Tabela 22 - Resultados das avaliações biológicas (CIM e IC ₅₀) e determinação do IS dos compostos 1 - 5	193
Tabela 23 – Valores de CIM dos complexos 4 e 5 frente aos isolados clínicos sensíveis, mono e TB-MDR	194
Tabela 24 - Valores de CIM dos complexos 4 e 5 incorporados em microemulsão lipídica frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194	195
Tabela 25 – CIM e CBM dos compostos 1-11 frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923 e <i>E. coli</i> ATCC 25922, pela técnica de microdiluição em placa, em DMSO.....	197
Tabela 26 - CIM dos compostos 12-20 , ligantes L1-L9 e precursores de Cu(II) frente à <i>S. aureus</i> ATCC 25923 e <i>E. coli</i> ATCC 25922, pela técnica de microdiluição em placa, utilizando-se como solvente DMSO	198

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

A/O – Água em óleo
ABC – Academia Brasileira de Ciências
AM – Amicacina
anti-*M. tuberculosis* – Anti *Mycobacterium tuberculosis*
anti-TB - Tratamento contra Tuberculose
CBM – Concentração Bactericida Mínima
CIM – Concentração Inibitória Mínima (Sigla em inglês: MIC)
CL – Campo Ligante
CM – Canamicina
CP – Capreomicina
CS – Cicloserina
DMF – Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
EMB – Etambutol
EPR – Ressonância Paramagnética Eletrônica
ETM – Etionamida
FDA – Food and Drug Administration
GM – Gentamicina
HIV – Human Immunodeficiency Vírus (Retrovírus da imunodeficiência humana)
IC₅₀ – Índice de Citotoxicidade
IL – Intraligante
INH – Isoniazida
IS – Índice de Seletividade
IV – Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho
LDE – Microemulsão Lipídica
LMCT – Transferência de Carga Ligante Metal
LVFX – Levofloxacina
ME – Microemulsões
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
MS – Ministério da Saúde
MSF – Médicos sem fronteiras
O/A – Óleo em água
OMS – Organização Mundial da Saúde
PAS – Ácido para-aminossalicílico

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

PCT – Programa de Controle da Tuberculose
POA – Pirazinoato
PZA – Pirazinamida
PZAse – Pirazinamidase
REA – Relação Estrutura-Atividade
RMP – Rifampicina
SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (sigla em inglês: AIDS)
SM – Streptomina
TB – Tobramicina
TB - Tuberculose
TB-MDR – Tuberculose Multi-Droga-Resistente
TB-XDR – Tuberculose Extensivamente-Droga-Resistente
TGA-DTA – Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial
THF – Tetrahidrofurano
TRZ – Terizidona
TSC – Tiossemicarbazona
UV/Vis – Ultravioleta/visível

v_{as} =estiramento assimétrico,

v_s =estiramento simétrico,

ϕ =respiração do anel,

β =deformação no plano,

δ_{as} =deformação angular assimétrica no plano,

γ = deformação fora do plano.

Sumário

I	INTRODUÇÃO.....	33
I.1	Propriedades Biológicas dos Compostos de Cobre(II)	33
I.1.1	Atividade antimicrobiana	33
I.2	Tuberculose.....	36
I.2.1	Co-infecção TB/HIV.....	37
I.2.2	Tratamento da tuberculose	38
I.2.2.1	Quimioterapia anti-TB no Brasil.....	38
I.2.3	Tuberculose multirresistente	40
I.2.4	Epidemiologia	42
I.2.5	Alvos e mecanismos de ação dos medicamentos do esquema terapêutico vigente	43
I.2.5.1	Isoniazida (INH).....	43
I.2.5.2	Pirazinamida (PZA).....	45
I.2.5.3	Etambutol (EMB).....	46
I.2.5.4	Rifampicina (RMP)	47
I.2.5.5	Estreptomicina (SM)	47
I.2.5.6	Levofloxacina (LVFX)	47
I.2.5.7	Terizidona (TRZ)	48
I.2.6	Pesquisas de novas drogas tuberculostáticas.....	48
I.2.7	Complexos metálicos com atividade frente ao <i>M. tuberculosis</i>	51
I.2.8	Nanotecnologia: uma nova estratégia para o tratamento da tuberculose [93].....	56
I.2.8.1	Microemulsões (ME).....	57
I.2.8.2	Alguns sistemas transportadores contendo fármacos tuberculostáticos.....	60
I.3	<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>).....	63
I.3.1	Doenças	64
I.3.2	Patogênese [72, 129]	66
I.3.2.1	Infecções cutâneas e subcutâneas [129]	66
I.3.2.2	Bacteremias [129]	66
I.3.2.3	Endocardites [129].....	67
I.3.2.4	Pneumonia e empiema [129].....	67
I.3.2.5	Osteomielite [129]	67
I.3.2.6	Intoxicação alimentar [129]	68
I.3.2.7	Síndrome do choque tóxico [129].....	68
I.3.2.8	Síndrome da pele escaldada [129].....	68

I.3.3	Tratamento e controle [72, 129].....	69
I.4	<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	70
I.4.1	Doenças.....	71
I.4.2	Patogênese [72]	71
I.4.2.1	Infecção do trato intestinal [72].....	71
I.4.2.2	Infecção sistêmica [72].....	73
I.4.2.3	Infecção do trato urinário [72].....	73
I.4.3	Tratamento clínico [72].....	73
II	OBJETIVOS.....	75
II.1	Objetivo Central.....	75
II.2	Objetivos Específicos.....	75
III	EXPERIMENTAL.....	76
III.1	Procedência dos Reagentes e Solventes.....	76
III.2	Metodologias de Síntese	77
III.2.1	Metodologia para preparação dos complexos contendo etambutol (1-2) [137-139]	77
III.2.2	Metodologia para preparação dos complexos contendo isoniazida (3-5) [140, 141]	77
III.2.3	Metodologia para preparação dos complexos contendo pirazinamida (6-8).....	77
III.2.4	Metodologia para preparação dos complexos contendo ácido isonicotínico (9-11).....	78
III.2.5	Metodologia para preparação dos complexos contendo derivados da 1,2-etanodiamina (12-14) ..	78
III.2.6	Metodologia para preparação dos complexos contendo derivados da 1,3-propanodiamina (15-16)	79
III.2.7	Metodologia para preparação dos complexos contendo aminoálcoois.....	79
III.3	Caracterização dos Compostos	80
III.3.1	Análise elementar	80
III.3.2	Complexometria com EDTA [145].....	80
III.3.3	Intervalos de fusão.....	81
III.3.4	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	81
III.3.5	Espectroscopia eletrônica na região do UV/Vis.....	81
III.3.6	Ressonância paramagnética eletrônica (EPR).....	82
III.3.7	Análise térmica (Termogravimetria e análise térmica diferencial).....	82
III.3.8	Difratometria de raios X: método do pó.....	82
III.3.9	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	82
III.3.10	Experimentos de adsorção de nitrogênio – ASAP	83

III.4	Sínteses dos Compostos.....	83
III.4.1	Síntese do composto $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$ (1) [137-139]	83
III.4.2	Síntese do composto $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (2)	83
III.4.3	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) [140, 141].....	84
III.4.4	Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)	84
III.4.5	Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)	85
III.4.6	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6) [140, 142, 143]	85
III.4.7	Síntese do composto $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7) [142]	85
III.4.8	Síntese do composto $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8)	86
III.4.9	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (9)	86
III.4.10	Síntese do composto $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (10) [144]	86
III.4.11	Síntese do composto $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11) [144]	87
III.4.12	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12)	87
III.4.13	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13)	87
III.4.14	Síntese do Composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)	88
III.4.15	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (15)	88
III.4.16	Síntese do Composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16)	88
III.4.17	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (17).....	89
III.4.18	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (18)	89
III.4.19	Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (19)	89
III.4.20	Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20).....	90
III.5	Formulação da Microemulsão Lipídica e Incorporação dos Compostos.....	90
III.5.1	Composição da Formulação	90
III.5.1.1	Preparo do sistema tensoativo	91
III.5.2	Preparo da formulação	91
III.5.3	Incorporação dos compostos na microemulsão lipídica	92
III.6	Ensaios de Atividade Biológica	92
III.6.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	92
III.6.1.1	Testes microbiológicos para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente ao <i>M. tuberculosis</i> [146].....	92
III.6.1.2	Testes citológicos para determinação da citotoxicidade (IC_{50}) e índice de seletividade (IS).....	94
III.6.1.3	Determinação da atividade anti- <i>M. tuberculosis</i> dos compostos 4 e 5 frente a isolados clínicos selecionados de um painel, com perfil de sensibilidade/resistência	96
III.6.1.4	Determinação da atividade extracelular dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4), $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5) incorporados em microemulsão lipídica frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194	96
III.6.2	Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	97

III.6.2.1	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) para os compostos de 1-11	97
III.6.2.2	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para os compostos 12-20.....	98

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO 99

IV.1 Compostos de Cobre(II) 99

IV.1.1	Compostos contendo o ligante etambutol (EMB)	99
IV.1.1.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	99
IV.1.1.2	Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível	101
IV.1.1.3	Microscopia eletrônica de varredura	103
IV.1.1.4	Proposição estrutural para os complexos 1-2	104
IV.1.2	Compostos contendo o ligante isoniazida (INH).....	106
IV.1.2.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	106
IV.1.2.2	Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível	110
IV.1.2.3	Análise térmica (TGA e DTA)	111
IV.1.2.4	Microscopia eletrônica de varredura	116
IV.1.2.5	Experimentos de adsorção de nitrogênio (ASAP).....	118
IV.1.2.6	Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos 3-5	121
IV.1.3	Compostos Contendo o Ligante Pirazinamida (PZA).....	124
IV.1.3.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	124
IV.1.3.2	Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa	127
IV.1.3.3	Análise térmica (TGA e DTA)	128
IV.1.3.4	Microscopia eletrônica de varredura	132
IV.1.3.5	Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos 6-8	134
IV.1.4	Compostos contendo o ligante ácido isonicotínico (Hina).....	136
IV.1.4.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	136
IV.1.4.2	Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa	139
IV.1.4.3	Análise térmica (TGA e DTA)	141
IV.1.4.4	Microscopia eletrônica de varredura	144
IV.1.4.5	Proposição estrutural para os complexos 9-11	146
IV.1.5	Compostos contendo derivados da 1,2-etanodiamina	147
IV.1.5.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	147
IV.1.5.2	Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível	148
IV.1.5.3	Análise térmica (TGA e DTA)	151
IV.1.5.4	Microscopia eletrônica de varredura	155

IV.1.5.5	Ressonância paramagnética eletrônica e proposição estrutural para os complexos 12-14	158
IV.1.6	Compostos contendo derivados da 1,3-propanodiamina	163
IV.1.6.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	163
IV.1.6.2	Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível	166
IV.1.6.3	Análise térmica (TGA e DTA)	168
IV.1.6.4	Microscopia eletrônica de varredura	170
IV.1.6.5	Difração por raios X de monocristal do composto 15	172
IV.1.6.6	Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural do complexo 16 ...	173
IV.1.7	Compostos contendo aminoálcoois	175
IV.1.7.1	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	175
IV.1.7.2	Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa	178
IV.1.7.3	Análise térmica (TGA e DTA)	180
IV.1.7.4	Microscopia eletrônica de varredura	182
IV.1.7.5	Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos 17-20	185
IV.2	Atividade Biológica	189
IV.2.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	189
IV.2.1.1	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194	189
IV.2.1.2	Determinação da citotoxicidade (IC ₅₀) e índice de seletividade (IS)	193
IV.2.1.3	Determinação da atividade anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dos compostos [Cu(NCS) ₂ (INH) ₂].5H ₂ O (4) e [Cu(NCO) ₂ (INH) ₂].4H ₂ O (5) frente aos 14 isolados clínicos selecionados com perfil de sensibilidade/resistência	193
IV.2.1.4	Determinação da atividade extracelular dos compostos [Cu(NCS) ₂ (INH) ₂].5H ₂ O (4) e [Cu(NCO) ₂ (INH) ₂].4H ₂ O (5) incorporados em microemulsão lipídica frente ao <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv ATCC 27194	195
IV.2.2	Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> para <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	196
IV.2.2.1	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos compostos 1-11	196
IV.2.2.2	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos 12-20	198
V	CONCLUSÕES	200
VI	PERSPECTIVAS.....	201
	REFERÊNCIAS.....	202

I INTRODUÇÃO

I.1 Propriedades Biológicas dos Compostos de Cobre(II)

O cobre é o terceiro elemento de transição mais abundante no corpo humano (80 – 120 mg) depois do ferro (4,0 – 5,0 g) e do zinco (1,4 – 2,3 g) [1]. A biodisponibilidade geral e o destino metabólico do cobre em dietas de humanos são bem compreendidos [2]. A ingestão diária de Cu em humanos é aproximadamente 1,5 – 3,0 mg. O corpo de um homem adulto saudável médio (70 kg) contém aproximadamente 110 mg de cobre, do qual grande parte está no esqueleto (46 mg), músculo esquelético (26 mg), fígado (10 mg), cérebro (8,8 mg) e sangue (6 mg) [3].

O uso medicinal do cobre é de fato, milenar. Em cerca de 3000 a.C., os egípcios utilizavam o cobre como um antisséptico para esterilizar água de beber [4]. Em torno de 1500 a.C., há relatos do uso medicinal de ungüentos à base de cobre. É conhecido há muito tempo, também, o uso de braceletes de cobre como um remédio popular para o tratamento de artrite [5].

No entanto, o cobre foi reconhecido pela primeira vez como elemento biológico essencial apenas em 1920, quando foi descoberto que dietas deficientes em cobre administradas a animais causavam anemia e que, além disso, sais de cobre corrigiam essa doença. O reconhecimento do cobre como um elemento necessário para o desempenho de certas funções biológicas aconteceu nesta mesma década. Assim sendo, este metal é um componente catalítico para muitas enzimas, que atua exibindo atividade redutase-oxidativa em oxidases e hidroxilases, auxiliando no transporte de elétrons na citocromo oxidase, atuando como co-fator em processos metabólicos envolvendo tecido articular/conectivo, co-fator para a melanogênese e sistema imunológico (seu papel como antiinflamatório), entre outros [5].

No que diz respeito ao controle de fungos e bactérias em plantas, o uso de sais de cobre como fungicida também já é conhecido há muito tempo. A calda bordalesa, por exemplo, é obtida misturando-se uma solução de sulfato de cobre com cal (hidróxido de cálcio). A suspensão mais concentrada, conhecida como pasta bordalesa, é empregada para a proteção dos cortes resultantes das podas e da remoção de tecidos atacados por gomose e rubelose em citros [6].

I.1.1 Atividade antimicrobiana

Tem havido na literatura um interesse crescente na investigação de compostos de cobre(II) com ação antimicrobiana. O complexo polimérico $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{BPEI})]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [BPEI =

poli(etilenoimina)ramificada], por exemplo, preparado por Kumar *et al.* [7], apresentou maior atividade frente às bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* do que as gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esse polímero também apresentou uma alta atividade frente à *Candida albicans*. Em todos os casos, com exceção da bactéria gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, o complexo polimérico de cobre(II) apresentou uma maior atividade do que os padrões antibacteriano e agente antifúngico, ciprofoxacin e clotrimazol, respectivamente.

A atividade biológica de um complexo de Cu(II) contendo o ligante 4,6-di(terc-butil)-2-aminofenol foi também descrita na literatura [8], tendo apresentado uma maior atividade antimicrobiana contra *Pichia pastoris*, *Lypomyces lipofer*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Hansenula sp.* do que o respectivo ligante livre. Entretanto, a presença de íons Cu(II) diminuiu o efeito tóxico do ligante contra *Cryptococcus laurenti*.

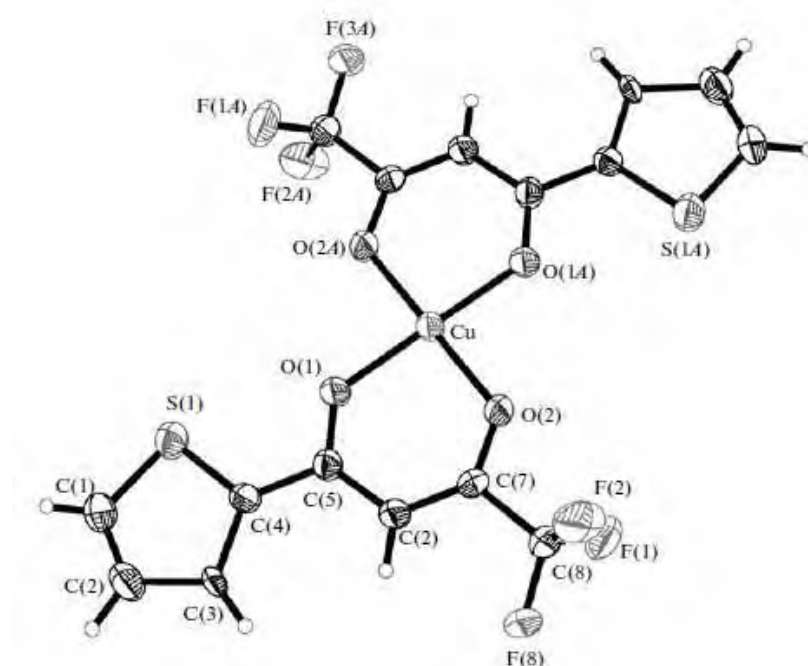
Efthimiadou *et al.* [9] prepararam um complexo mononuclear de cobre com o fármaco bactericida enrofloxacin (Herx), $[Cu(herx)_2] \cdot H_2O$. A eficiência antimicrobiana do complexo foi testada frente a *E. coli* e *P. aeruginosa*. O complexo foi quatro vezes mais ativo do que o ligante livre frente às duas bactérias.

Um estudo realizado por Angelusiu *et al.* [10] mostrou que o ligante N-(2-piridinocarbaldeído)-N-[4-(4-cloro-fenilsulfonil)benzoil]-hidrazona (L), quando coordenado ao íon Cu(II), sob as formas $[Cu(L)(OCOCH_3)]$ e $[Cu(L)(SCN)(H_2O)]$, possui uma melhor atividade antibacteriana frente à bactérias gram-positivas (*S. aureus* e *B. subtilis*) e gram-negativas (*P. aeruginosa* e *E. coli*).

A atividade antimicrobiana do complexo catiônico $[Cu(lvx)(phen)(H_2O)]NO_3 \cdot 2H_2O$ {lvx = levofloxacin e phen = fenantrolina} sintetizado e caracterizado por Sousa *et al.* [11] foi determinada frente a quatro cepas de *E. coli*, sendo uma padrão de referência, a *E. coli* ATCC 25922, e duas últimas mutantes deficientes de porina (JF701 e JF703). Os resultados biológicos mostraram que os valores da concentração inibitória mínima (CIM) para o fármaco padrão levofloxacin e para o complexo foram muito próximos, com exceção para a cepa JF703, cujo valor de CIM para o complexo foi inferior, mostrando a vantagem de se utilizar um composto de coordenação frente à espécie resistente.

O composto $[Cu(TTA)_2]$, Figura 1, TTA = 2-tenoiltrifluoroacetato, sintetizado e caracterizado por Xu *et al.* [12] apresentou atividade antibacteriana frente a *E. coli* e *S. aureus* com CIM (concentração inibitória mínima) de 180 e 150 $\mu g \cdot mL^{-1}$, respectivamente.

Figura 1 - Estrutura do complexo $[\text{Cu}(\text{TTA})_2]$ [12]

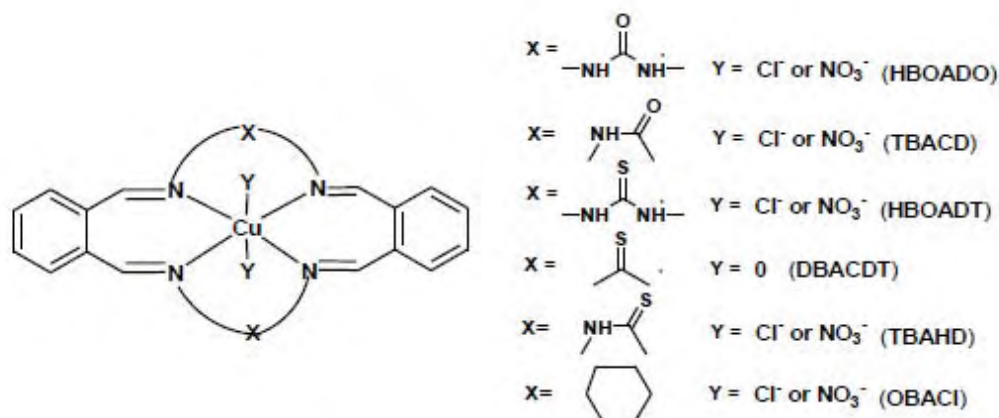


Fonte: [12]

Patel *et al.* [13] estudaram a atividade antibacteriana de complexos de cobre(II) com norfloxacin (NFL) e terperidinas neutras (L) frente a dois micro-organismos gram (+): *S. aureus* e *B. subtilis* e três gram (-): *S. marcescens*, *E. coli* e *P. aeruginosa* usando o método da diluição. As atividades antimicrobianas de todos os complexos estudados: $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^1)\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^2)\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^3)\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^4)\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^5)\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^6)\text{Cl}]$ e $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^7)\text{Cl}]$ foram melhores do que as do sal de cobre. O complexo $[\text{Cu}(\text{NFL})(\text{L}^3)\text{Cl}]$ foi o mais ativo quando comparado a NFL livre frente às espécies bacterianas testadas, enquanto os demais complexos foram tão ativos quanto NFL ou menos ativo que o ligante livre.

Uma nova família de 12 complexos macrocíclicos de cobre(II), cuja estruturas propostas estão representadas na Figura 2, foi sintetizada, caracterizada e sua atividade antibacteriana *in vitro* foi avaliada frente a cinco bactérias: *S. aeruginosa*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis* [14].

Figura 2 - Estruturas propostas para os complexos de cobre(II)



Fonte: [14]

Todos os complexos apresentaram boa atividade antibacteriana contra as bactérias gram-positivas e gram-negativas. A maior atividade antibacteriana dos complexos de cobre pode ser devido à mudança na estrutura, pois o efeito macrocíclico obtido com a coordenação tende a fazer com que os complexos metálicos apresentem uma maior atividade bacteriostática. Os complexos que contém os ligantes HBOADT, DBACDT e TBAHD foram mais potentes contra as bactérias gram-positivas do que frente à bactéria gram-negativa *P. aeruginosa* e também mostraram ser mais ativos do que os antibióticos comerciais Linezolida e Cefaclor. A atividade desses complexos provavelmente está associada à presença do grupo tiol nos ligantes coordenados [14].

I.2 Tuberculose

A tuberculose (TB), causada pela micobactéria aeróbica dependente de oxigênio *Mycobacterium tuberculosis* (*M. Tuberculosis*), é a principal doença infecciosa de origem bacteriana no mundo [15]. Esta bactéria tem formato de bacilo (Figura 3), podendo ser disseminada através da exteriorização de material biológico contaminado, em especial aqueles de origem pulmonar, por meio de aerossóis provenientes de espirros ou tosses [15]. Isso se deve ao fato do tecido pulmonar, por ser rico em oxigênio, ser bastante propício para o desenvolvimento deste micro-organismo [16]. No entanto, o *M. tuberculosis* é capaz de se manter em estado de baixo metabolismo (latência) mesmo em tecidos com baixa concentração de oxigênio, não respondendo adequadamente ao tratamento anti-TB e propiciando recidiva da doença [16].

Figura 3 – Micrografia eletrônica de varredura do *M. tuberculosis*



Fonte: [17]

Embora o maior número de casos seja da forma pulmonar, existe a possibilidade do desenvolvimento do quadro de TB extra-pulmonar, que pode coexistir com o primeiro. Neste caso, a micobactéria pode infectar diferentes tecidos humanos, como o linfático, gastrointestinal, nervoso e até mesmo o tecido ósseo, além da disseminação generalizada chamada de tuberculose miliar, que é extremamente grave [18].

As formas extrapulmonares da TB ocorrem principalmente em indivíduos com imunodeficiência, isto é, com o sistema imunológico em baixo potencial combativo. Esse quadro acomete em especial pacientes que possuem a síndrome da imunodeficiência humana adquirida (SIDA, ou AIDS em inglês) causada pelo retrovírus da imunodeficiência humana (HIV – do inglês *Human Immunodeficiency Virus*) [18].

I.2.1 Co-infecção TB/HIV

A coinfeção TB-HIV é a principal causa de morte de portadores da SIDA [15]. Isso se deve ao fato dos dois micro-organismos atuarem de forma sinérgica para a debilitação do indivíduo. Além disso, um fator que agrava este quadro é a interação medicamentosa entre aqueles medicamentos utilizados no tratamento anti-TB com alguns empregados na quimioterapia antirretroviral, pois a mesma enzima do citocromo P450 é responsável pela metabolização destes fármacos.

As pessoas coinfectadas têm de 21 a 34 vezes mais chances de desenvolver a TB quando comparado com aquelas pessoas que são soro negativo. A partir da década de 1980, a epidemia de HIV elevou o número de casos novos e de mortalidade por tuberculose. Em muitos países isso persistiu

ao longo da década de 1990 até por volta de 2004, especialmente no sul e leste da África [15].

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2010, das 9 milhões de pessoas que desenvolveram tuberculose, 1,1 milhão eram soro-positivo. Na África, que foi responsável por 82% dos novos casos de tuberculose com HIV em 2010, estima-se que 900.000 (39%) das 2,3 milhões das pessoas que desenvolveram TB em 2010, eram HIV-positivo [15].

Mundialmente, em 2010, houve uma estimativa de 0,35 milhões de mortes (variando entre 0,32-0,39 milhões) de pessoas portadoras de coinfeção [15].

I.2.2 Tratamento da tuberculose

A quimioterapia da TB iniciou-se no final da década de 1940, com a descoberta da estreptomicina (SM), utilizada em monoterapia, conforme os primeiros trabalhos publicados pelo Conselho Médico Britânico. A constatação do rápido desenvolvimento de resistência à estreptomicina levou à descoberta e testes de novos fármacos, como ácido para-aminossalicílico (PAS), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA), tiossemicarbazona (TSC), cicloserina (CS), etionamida (ETM), etambutol (EMB), capreomicina (CP) e alguns aminoglicosídeos como canamicina (CM), tobramicina (TB), ampicacina (AM) e gentamicina (GM) [19].

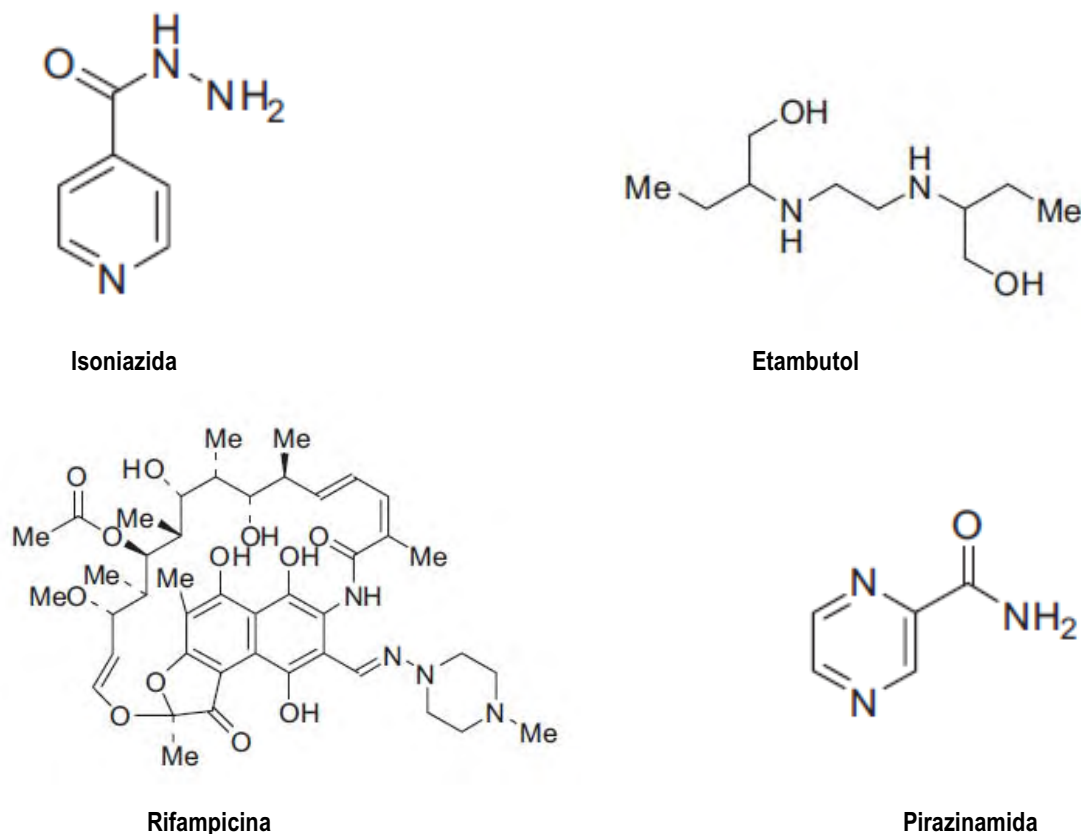
Os primeiros ensaios já demonstravam a necessidade de uma combinação farmacológica no tratamento como a principal medida para se prevenir a resistência. Nos anos 1950, surgiu o primeiro regime poliquimioterápico, composto por SM, PAS e INH, administrados por 24 meses. A longa duração e a difícil aceitação do PAS justificaram buscar regimes mais eficazes, mais curtos e mais toleráveis. Na década de 1960, o PAS foi gradualmente substituído pelo EMB, e o regime tríptico, com SM, INH e EMB, foi encurtado para 12 meses. A rifampicina (RMP) foi introduzida na terapêutica em 1971, sendo um marco no tratamento da TB por sua potente atividade bactericida, tanto na fase de multiplicação rápida, quanto na fase de manutenção. Sua incorporação aos esquemas possibilitou a redução do tempo de tratamento de 12 para 6 meses, com a chamada curta duração [19].

I.2.2.1 Quimioterapia anti-TB no Brasil

A quimioterapia de primeira escolha da TB no Brasil é constituída por quatro fármacos, Figura 4 [20]. O tratamento é longo, com efeitos adversos e demanda disciplina ao paciente. Como há uma melhora significativa logo no início do tratamento, é comum o paciente abandoná-lo antes do período recomendado, o que estimula o desenvolvimento de resistência bacteriana aos fármacos utilizados, em

especial à INH e a RMP [21].

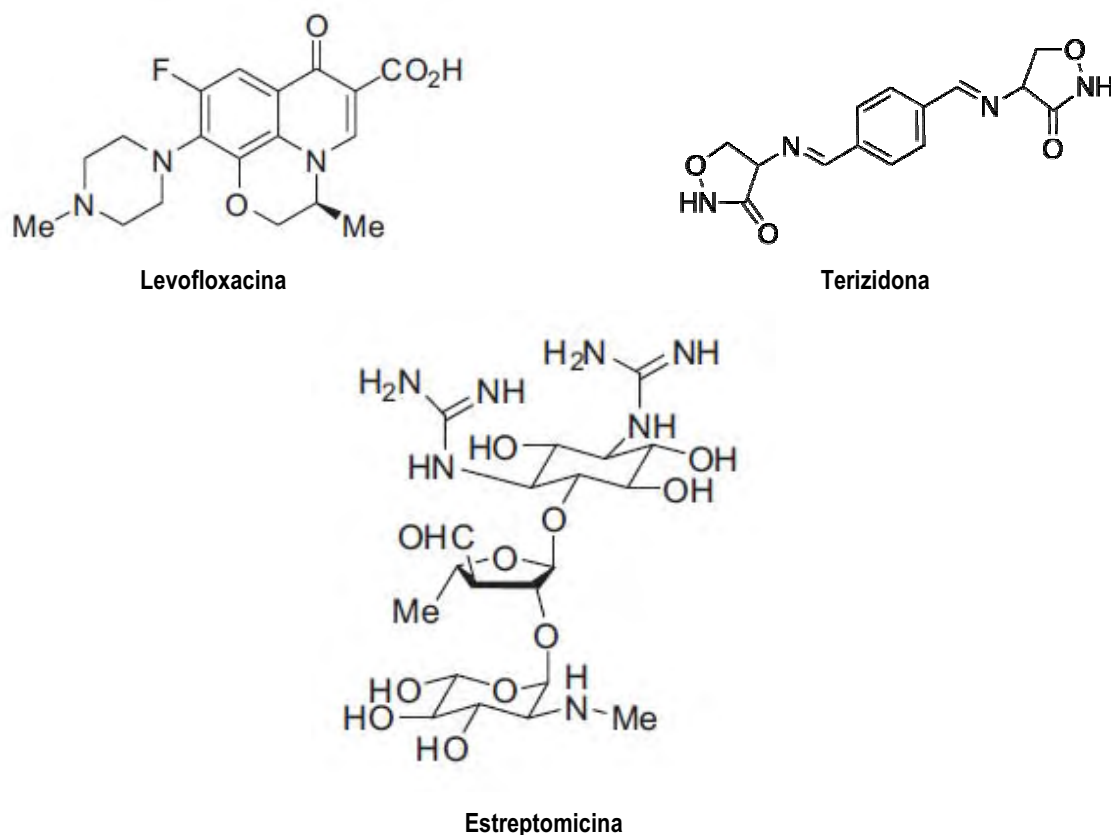
Figura 4 - Fármacos anti-TB de primeira escolha no Brasil



Fonte: [21]

O esquema terapêutico de 1ª escolha referenciado pelo Ministério da Saúde consiste, inicialmente, na utilização, durante dois meses, de comprimidos em dose combinada de RMP, INH, PZA e EMB, conhecido como 4 em 1. Subsequentemente é usado por mais 4 meses um comprimido com a combinação de RMP e INH, visando a manutenção do quadro clínico até a cura [22]. A utilização de uma combinação de fármacos tem como objetivo aumentar a adesão, ou seja, o não abandono do paciente ao tratamento e evitar o desenvolvimento de cepas resistentes a um fármaco específico.

Quando há falha no tratamento de 1ª escolha, por resistência à INH e/ou RMP, ou quando há impossibilidade na utilização deste por aspectos individuais, é utilizado o tratamento de 2ª escolha, com duração de 18 meses. Este compreende, além da PZA e EMB (cujo desenvolvimento de resistência é menos observado), os fármacos estreptomicina (SM), levofloxacina (LVFX) e terizidona (TRZ), representados na Figura 5, cujo uso, assim como os do tratamento de 1ª escolha, é bastante antigo [22-25].

Figura 5 - Fármacos anti-TB de segunda escolha no Brasil

Fonte: Autora

Assim como o tratamento de 1ª escolha, o de 2ª escolha também se divide em duas fases. A fase intensiva compreende duas etapas com PZA, EMB, SM, LVFX e TRZ, sendo dois meses na etapa I e quatro meses na etapa II. Em seguida, é iniciada a etapa de manutenção, cuja duração é de 12 meses. Nesta, são empregados o EMB, LVFX e TRZ. Este tratamento, além de longo, apresenta uma série de efeitos adversos aos pacientes, o que leva ao aumento da taxa de abandono [22-25].

I.2.3 Tuberculose multirresistente

Uma das grandes ameaças ao controle da tuberculose tem sido o surgimento da tuberculose resistente às drogas, principalmente a tuberculose multi-droga-resistente (TB-MDR). Segundo a OMS, indivíduos que apresentam a doença causada por cepas de *M. tuberculosis* com resistência *in vitro* à rifampicina e à isoniazida são considerados pacientes com TB-MDR.

A TB-MDR representa uma ameaça não apenas para os pacientes, devido ao tratamento tóxico prolongado e com baixas taxas de cura, mas também à comunidade, pelo fato do paciente permanecer no estado infeccioso [26].

Em Microbiologia Médica, o mecanismo mais frequente de resistência é a presença de plasmídeos de genes que controlam a síntese de enzimas modificadoras dos antibióticos que os tornam inativos na sua ação antibacteriana. No caso do *M. tuberculosis*, não há indicação de uma transferência horizontal de genes, isto é, a aquisição de resistência por plasmídeos ou transposons e o mecanismo de resistência é exclusivamente por mutações [27].

Desde o surgimento dos fármacos tuberculostáticos, observa-se a presença de bacilos naturalmente resistentes em populações selvagens de *M. tuberculosis*. Em toda população de células sensíveis existe uma pequena proporção de mutantes resistentes. Indivíduos que se contaminarem com cepas resistentes, e desenvolverem tuberculose, mesmo sem história de tratamento anterior, apresentarão a tuberculose resistente. Nesse caso, essa resistência é denominada resistência primária [28].

A resistência adquirida acontece frequentemente por terapia inadequada, por interrupção do tratamento, ou quando não é seguido o regime de tratamento estabelecido.

A resistência dos bacilos aos medicamentos antituberculose pode estar relacionada aos seguintes fatores [29]:

- a) Utilização inadequada dos medicamentos, por falta de adesão do paciente ao tratamento, irregularidade, descontinuidade ou uso incorreto das medicações, ocasionando sub-doses.
- b) Absorção intestinal deficiente dos medicamentos em consequência de síndromes disabsortivas, parasitoses ou SIDA.
- c) Prescrição inadequada dos medicamentos pela equipe de saúde, devido ao desconhecimento, ou não utilização dos esquemas padronizados; falta de suspeita da existência de resistência primária, pela avaliação inadequada da história dos pacientes; utilização de esquema com múltiplos medicamentos, quando o bacilo é sensível apenas a um deles e adição de medicamentos a esquemas já falidos, sem realização do teste de sensibilidade e sem história terapêutica.
- d) Falta ou falha na provisão e distribuição dos medicamentos padronizados.
- e) Falhas na organização do Programa de Controle da Tuberculose (PCT).

Nesse cenário, a deterioração dos programas de controle da tuberculose resulta em grandes desafios no campo das doenças infecciosas, como por exemplo: aumento da resistência aos fármacos utilizados para tratamento da TB, emergência das formas multirresistentes e o surgimento, em 2006, da forma denominada tuberculose extensivamente resistente, TB-XDR (*extensively drug resistant tuberculosis*). A TB-XDR é a tuberculose que além de ser TB-MDR, é resistente a qualquer das fluoroquinolonas e, pelo menos, a um dos três grandes fármacos injetáveis de segunda-linha (capreomicina, canamicina e ampicilina) [19].

O desenvolvimento da TB-MDR está também associado às falhas nos sistemas de saúde e em

seus programas de controle da tuberculose, como por exemplo, a incapacidade de detectar, com rapidez, novos casos de tuberculose. Quanto maior o tempo da doença sem tratamento e da lesão gerada, maior a possibilidade das cepas se tornarem monorresistentes e apresentarem ao longo do tempo bacilos multirresistentes, assim como maior o período de transmissão da doença [30].

I.2.4 Epidemiologia

Segundo a OMS, cerca de um terço da população mundial apresenta a infecção latente por *M. tuberculosis* e estima-se que um em cada dez indivíduos contaminados irá desenvolver a TB [15]. Em 2010, a incidência da TB esteve em torno de 8,8 milhões de novos casos, com a ocorrência de cerca de 1,45 milhões de mortes, das quais 25% são vítimas da coinfeção com o HIV. Cerca de 3,4% dos casos são TB-MDR. As regiões da África e Ásia concentram 86% dos casos desta enfermidade [15].

O Brasil está na 17ª posição entre os 22 países com 80% do número de casos de TB. No país é estimado que mais de 50 milhões de pessoas estejam infectadas pelo bacilo. Em 2010, foram notificados 71 mil novos casos e 4,6 mil mortes por esta patologia, sendo a 4ª principal causa de morte por doença infecciosa e a principal em pacientes com SIDA. Os números mais alarmantes pertencem aos estados do Rio de Janeiro e Amazonas, onde a taxa de incidência é comparável aos números da Ásia e da África [31].

Esse ano, no Dia Mundial de Luta contra a Tuberculose (24/03), os dados apresentados pelo Ministério da Saúde revelaram, pela primeira vez, que os casos de tuberculose foram inferiores a 70 mil. O número de casos registrados no último ano caiu 3,54%: 71.790 em 2010 contra 69.245 no ano de 2011. Na última década, o Brasil registrou queda de 15,9% na taxa de incidência por tuberculose. Em 2011, foram registrados 36 casos da doença para cada 100 mil habitantes, contra 42,8 casos em 2001. Com relação aos óbitos, a redução foi ainda maior: a taxa de mortalidade caiu 23,4% em uma década. O país registrou 3,1 óbitos para cada grupo de 100 mil habitantes em 2001, passando para 2,4 em 2010 [32].

Ainda que os dados estatísticos apontem para um aumento no número de novos casos de TB, o número de óbitos tem reduzido nos últimos anos.

Cabe destacar ainda que pelo fato da tuberculose estar incluída no grupo das doenças negligenciadas, a incidência maior se dá nos países subdesenvolvidos. O termo doença negligenciada surgiu na década de 1970 e refere-se a doenças causadas por agentes infecciosos e parasitários, como Doença de Chagas, Tripanossomíase Africana, Leishmanioses, Malária, Febre Amarela, Tuberculose, entre outros. Tais doenças tendem a ser endêmicas em populações de baixa renda,

representando, portanto, um problema latente na África, Ásia e nas Américas. A adoção do adjetivo "negligenciada" tomou como base o fato de que tais enfermidades não despertam o interesse das grandes empresas farmacêuticas para a produção de medicamentos e vacinas. Além disso, a pesquisa neste setor não conta com recursos suficientes, o que gera a escassez dos métodos de profilaxia disponíveis em todo o mundo [33].

O acesso ao tratamento da TB-MDR também está comprometido, especialmente nos países do sul da África, porque poucas empresas farmacêuticas fabricam remédios de qualidade. Além disso, a falta de competição faz os preços aumentarem. Na última década, aproximadamente cinco milhões de pessoas em todo mundo desenvolveram a TB-MDR. Contudo, menos de 1% teve acesso ao tratamento apropriado, segundo a organização Médicos Sem Fronteiras (MSF). Um paciente com TB-MDR pode custar US\$ 9 mil, quase 475 vezes a mais que o tratamento comum [34].

No Brasil, as doenças negligenciadas também sofrem com uma disponibilidade de recursos muito aquém do necessário ao seu combate. Nesse sentido, é um desafio para a comunidade científica brasileira criar meios de se diagnosticar, tratar e superar tais doenças com os orçamentos destinados ao setor [33].

Visando prover subsídios para políticas governamentais relativas ao combate às doenças negligenciadas, a Academia Brasileira de Ciências (ABC) criou, em 2009, o Grupo de Estudos sobre Doenças Infecto-contagiosas, coordenado pelo Prof. Dr. Wanderley de Souza, que resultou, em 2010, na publicação intitulada "Doenças Negligenciadas", além de um volume da série Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento Nacional: Estudos Estratégicos, editada pela ABC [33].

I.2.5 Alvos e mecanismos de ação dos medicamentos do esquema terapêutico vigente

I.2.5.1 Isoniazida (INH)

A isoniazida (hidrazida do ácido isonicotínico) possui ação bacteriostática para o bacilo em repouso e ação bactericida para o bacilo em multiplicação. A INH penetra com facilidade nas células e se mostra eficaz contra bacilos que crescem no interior de macrófagos ou *in vitro* (meio de cultura). Além disso, esse fármaco é seletivo para micobactérias, sendo necessárias altas concentrações para que algum efeito seja observado em outros micro-organismos [35].

Na década de 1970, cientistas apresentaram dados que mostraram que a INH inibe a síntese dos ácidos micólicos em *M. tuberculosis* levando então à correlação entre a biossíntese de ácidos micólicos e à viabilidade celular [36-38], sendo esse o principal mecanismo de ação da INH. Os ácidos

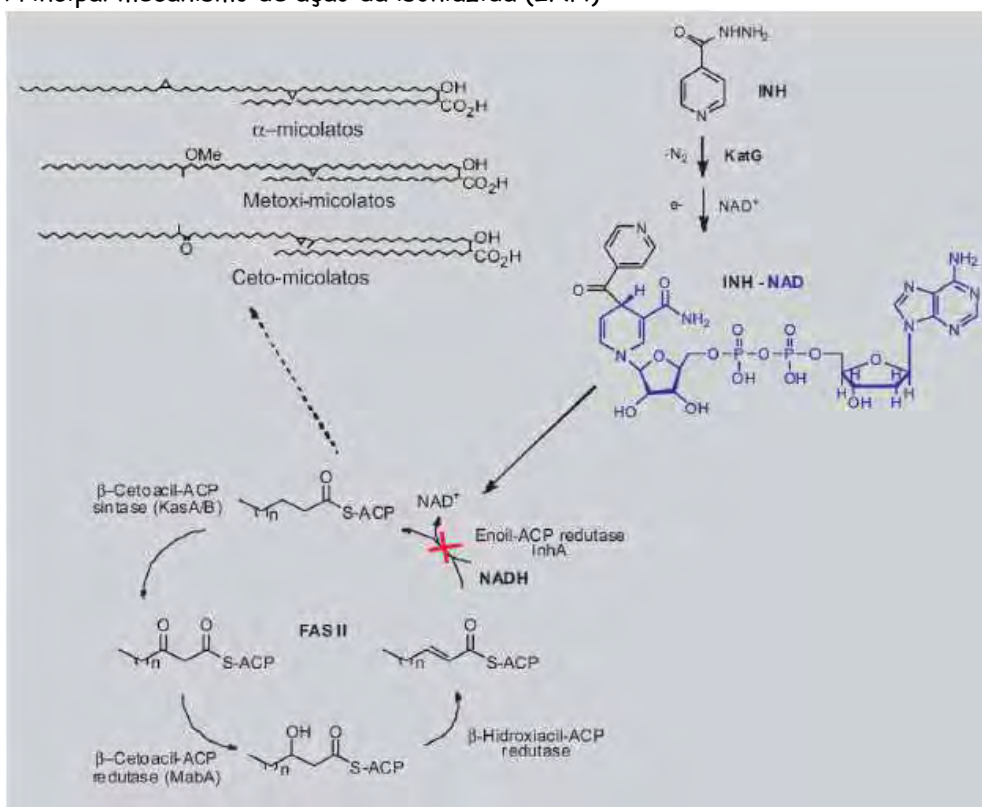
micólicos são componentes estruturais importantes para a manutenção da integridade da parede celular micobacteriana e consistem em cadeias longas de ácidos graxos (α -pregueadas e β -hidroxiladas) que ligam o esqueleto rígido da parede celular (arabinogalactana) à membrana celular externa. Sendo assim, a inibição da síntese de ácidos micólicos leva à deformidades celulares em *M. tuberculosis*, causando a perda da integridade celular [39]. Consequentemente, a inibição da síntese do ácido micólico pode explicar a perda da álcool-ácido resistência pelas micobactérias expostas à isoniazida [40].

A isoniazida é considerada um fármaco porque requer a ativação celular antes de exercer seus efeitos tóxicos no bacilo. A enzima micobacteriana catalase-peroxidase (traduzida pelo gene *katG*) transforma a INH na sua forma ativada através de uma reação de oxidação [41]. Essa enzima desempenha diversas funções dentro da micobactéria, como: atividades de catalase-peroxidase, de peroxidase dependente de Mn^{2+} , de peroxinitrilase e de mono-oxigenase (P450), sendo importante no estresse oxidativo e na virulência.

Segundo dados da literatura, a forma ativa proposta da INH (radical isonicotinil ou acilisonicotínico) é um metabólito intermediário da formação do ácido isonicotínico, da isonicotinamida e piridina-4-carboxialdeído, produtos da oxidação de INH por KatG [41,42]. Uma vez formado no interior da célula micobacteriana, o radical isonicotinil se liga ao cofator NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado) localizado no sítio ativo da proteína InhA, uma enoil-ACP (acyl carrier protein) redutase. Além disso, a forma ativada de INH se liga covalentemente à outra proteína chamada KasA, uma β -cetoacil-ACP sintetase. Ambas as proteínas estão envolvidas na elongação de ácidos graxos e biossíntese de ácidos micólicos.

A ligação do complexo NADH-isonicotinil à InhA e KasA reduz as atividades de redutase e sintetase das enzimas, interferindo com a biossíntese de ácidos graxos e micólicos (Figura 6), provocando então o acúmulo de ácidos graxos saturados de cadeias não muito longas [42]. A interrupção da síntese de ácidos micólicos na micobactéria em crescimento leva à formação de poros na parede celular, com a consequente lise da célula. O mecanismo mais comum de resistência à isoniazida consiste, então, em mutações ou deleções no gene *katG*, que diminuem sua atividade, impedindo a conversão do pró-fármaco em seu metabólito ativo [41].

Figura 6 - Principal mecanismo de ação da isoniazida (INH)



Fonte: [43]

I.2.5.2 Pirazinamida (PZA)

Atualmente a proposta mais aceita de mecanismo de ação da PZA é aquela em que ela é considerada um pró-fármaco, visto que a PZA converte-se em pirazinoato (POA) pela enzima bacteriana dependente de ferro conhecida como pirazinamidase (PZAse). Em seguida, o POA é excretado pelo bacilo e, como o lisossomo tem pH ácido, é convertido no ácido conjugado HPOA. Este retorna para o citoplasma micobacteriano promovendo a acidificação e a alteração do potencial da membrana, o que induz à morte do bacilo, conforme representado na Figura 7 [44, 45].

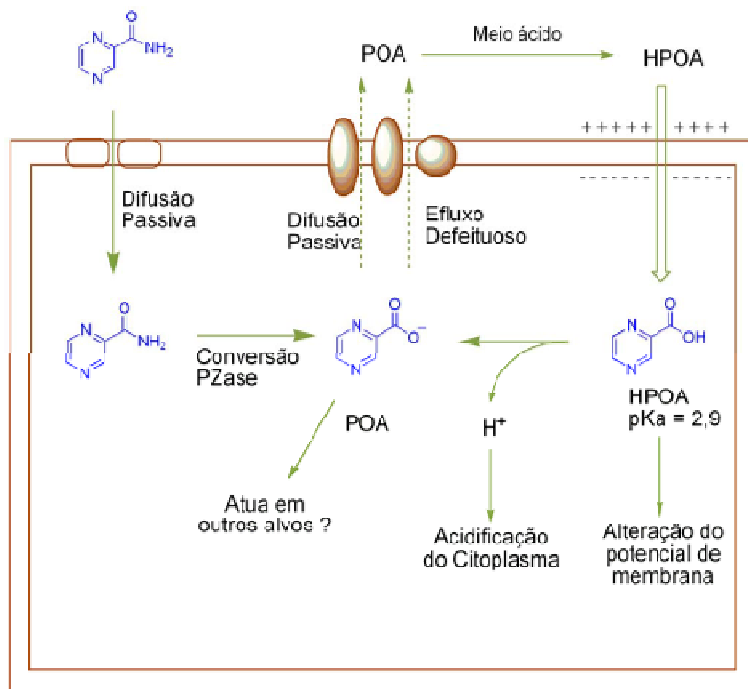
Os estudos *in vitro* com o bacilo da TB demonstraram que a concentração inibitória mínima da PZA aumenta mais de sete vezes após três diluições em sequência no meio Tween-albumina, sugerindo que há uma correlação entre a diminuição da atividade da PZase e a resistência ao fármaco [46, 47].

Atualmente, sabe-se que a PZA é altamente específica para o *M. tuberculosis*, e não tem atividade significativa contra outras micobactérias do complexo *Mycobacterium* (como *M. smegmatis* e *M. bovis Calmette-Guerin* (BCG)) [48]. Nesses organismos, usualmente a PZase apresenta mutações no gene codificador (*pncA*), alterando o sítio catalítico de ligação com o metal ou por ruptura da

estrutura da proteína [45, 49]

Entretanto, outros mecanismos de resistência, isto é, alteração da captação da PZA, através da regulação da *pncA* ou do efluxo da POA, podem influenciar o surgimento de bacilos com alto nível de resistência à PZA sem necessariamente levar a mutações no gene *pncA* [45, 50].

Figura 7 - Mecanismo de ação da PZA



Fonte: [46]

I.2.5.3 Etambutol (EMB)

A elucidação do mecanismo de ação do EMB nas micobactérias é recente. Apesar das diversas hipóteses sobre o mecanismo de ação deste fármaco, sabe-se que ele atua especificamente sobre a biossíntese da parede celular [51-55], inibindo a polimerização da arabinose de arabinogalactanos e de lipoarabinomanoses [55-58], os quais servem de ligação para os ácidos micólicos presentes na parede celular do *M. tuberculosis* e de outras micobactérias [59]. Lee *et al.* sugeriram em 1995 [60], que o principal alvo deste fármaco era a enzima arabinosiltransferase, que tem a função de incorporar ácidos micólicos na parede [54, 61]. Esta enzima é uma proteína integral de membrana com 12 domínios transmembranares, onde as principais alterações que determinam a resistência ocorrem numa região localizada na alça citoplasmática do gene *embB* [62].

Sendo assim, o EMB tem a função de aumentar a permeabilidade da parede celular, promovendo um acúmulo de ácido micólico e finalmente a morte da célula.

I.2.5.4 Rifampicina (RMP)

A RMP inibe a RNA polimerase (RNAP) procariótica, dependente de DNA, por ligar-se à subunidade β no presumido centro catalítico da enzima, impedindo a iniciação da transcrição. A subunidade β deve estar complexada com o trímero $\alpha_2\beta'$ para que ocorra a incorporação correta de nucleotídeos e os RNAs possam ser sintetizados. Com a ligação da RMP, o complexo fármaco-subunidade β é formado, impedindo então a síntese de RNAs e, consequentemente, os processos de tradução. A RNA polimerase de mamíferos é inibida pela RMP apenas em concentrações significativamente altas [63].

A resistência à RMP ocorre devido à mutação do gene *rpoB*, que codifica a cadeia beta da RNAP [62, 63].

I.2.5.5 Estreptomicina (SM)

A SM é um aminoglicosídeo que interfere na síntese proteica, bloqueando a tradução de RNA mensageiro (RNAm). O local de sua ação é na subunidade menor do ribossomo (30S), especificamente na proteína ribossomal S12 ou RNAr 16S. Ela bloqueia a tradução do RNAm em seu início, tanto na incorporação de novos aminoácidos na cadeia polipeptídica como na facilitação de uma revisão ineficiente pelo ribossomo [64, 65].

As mutações associadas à resistência a SM em *M. tuberculosis* foram identificadas no gene *rrs*, que codifica o RNA ribossomal 16S, e no gene *rpsL* que codifica a proteína ribossomal S12 [62, 63].

I.2.5.6 Levofloxacin (LVFX)

A LVFX inibe a atividade da DNA girase ou da topoisomerase II bacteriana, que regula a topologia do DNA e é essencial à sobrevivência da bactéria. A DNA girase torna a molécula de DNA bacteriana compacta e biologicamente ativa. Ao inibir essa enzima, a molécula de DNA deixa de possuir a propriedade de super-helicoidização para que possa ocupar um pequeno espaço celular para sua expressão, recombinação e replicação. As extremidades livres do DNA induzem a síntese descontrolada de RNAm e de proteínas, assim como a produção de exonucleases e a degradação cromossômial, fatores esses que levam à morte celular [66, 67]. A resistência bacteriana ocorre rapidamente quando o fármaco é utilizado como monoterapia ou quando acrescentada em regimes em desuso. Três mecanismos principais explicam a resistência: a) mutação na enzima DNA girase, que

passa a não sofrer a ação do antibiótico; b) alteração na membrana celular da bactéria, que se torna impermeável à LVFX, diminuindo a difusão do fármaco para o interior da célula e c) existência de um mecanismo de efluxo que retira o fármaco do interior da célula bacteriana [66].

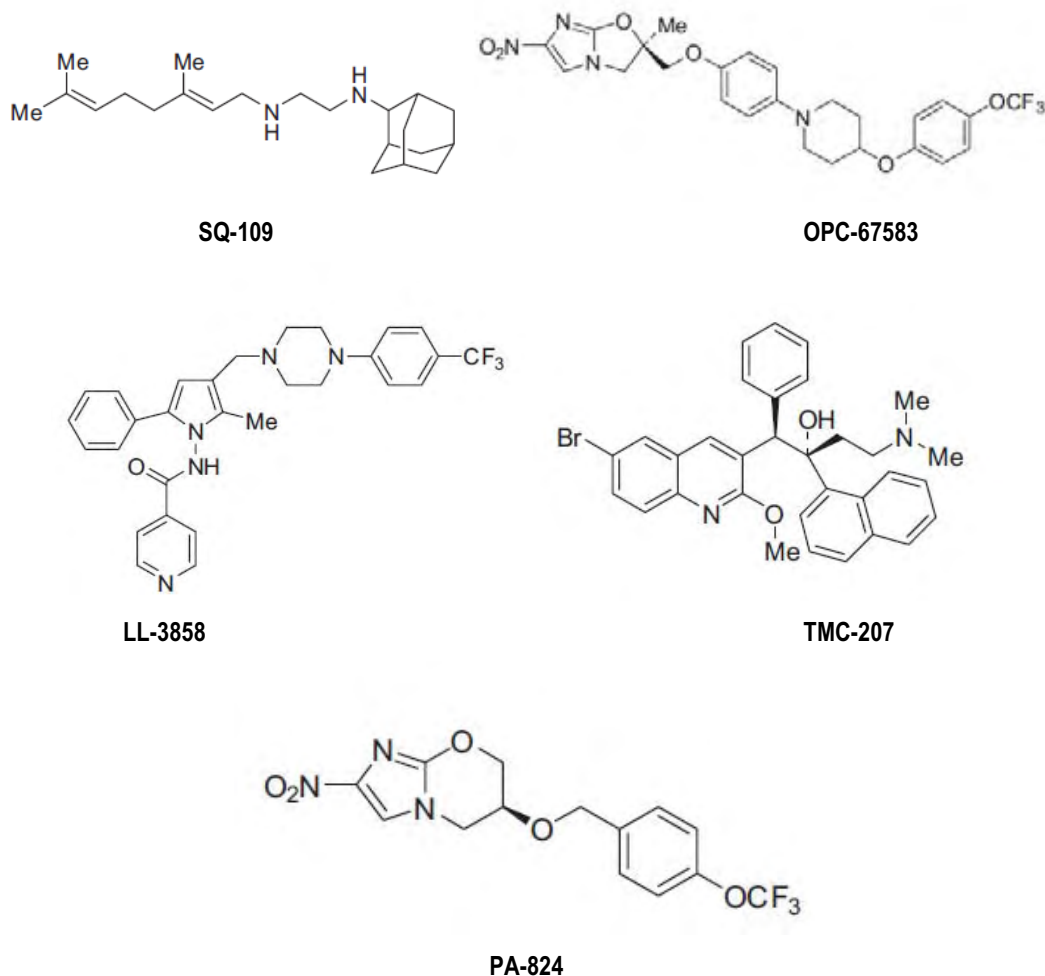
I.2.5.7 Terizidona (TRZ)

Acredita-se que esse fármaco atue por competição, inibindo as enzimas D-alanil-D-alanina sintetase, alanina racemase e alanina permease, imprescindíveis para a síntese do peptidoglicano que confere rigidez e estabilidade à membrana celular do *M. tuberculosis*. Os mecanismos de resistência em relação ao *M. tuberculosis* não estão bem esclarecidos, ainda que acredita-se que se deva à mutação genética das enzimas acima citadas [63].

I.2.6 Pesquisas de novas drogas tuberculostáticas

A necessidade de desenvolver novos fármacos e mais eficazes para reduzir a duração do tratamento, serem ativas contra cepas resistentes, reduzir a interação com os fármacos da terapia antiretroviral e serem ativos contra os bacilos em estado de latência tem sido reconhecida, mas negligenciada por décadas [68]. Nos últimos anos, diferentes compostos orgânicos estão em triagem clínica como candidatos a medicamentos. São eles: SQ-109 (Sequella Inc.), OPC-67583 (Otsuka Pharmaceutical Company), LL-3858 (Lupin Ltd), TMC 207 (Johnson & Johnson) e PA-824 (TB Alliance and Novartis), cujas estruturas estão ilustradas na Figura 8 [69, 70]. Curiosamente, todos esses compostos são originários de fármacos conhecidos e que foram modificados, ex.: SQ-109 é originário do EMB; OPC-67583 é originário do metronidazol e todos foram identificados através de abordagens fenotípicas, sugerindo que a estratégia de *screening* com base em células inteiras apresenta maior sucesso do que a abordagem baseada em um único alvo [71]. Entretanto, a carência em estruturas químicas inéditas permanece e apesar da possibilidade da entrada de novos medicamentos, o desenvolvimento de novos fármacos contra TB ainda é insuficiente para resolver as necessidades não atendidas do tratamento [68].

Figura 8 - Estruturas dos candidatos a medicamentos que estão em triagem clínica



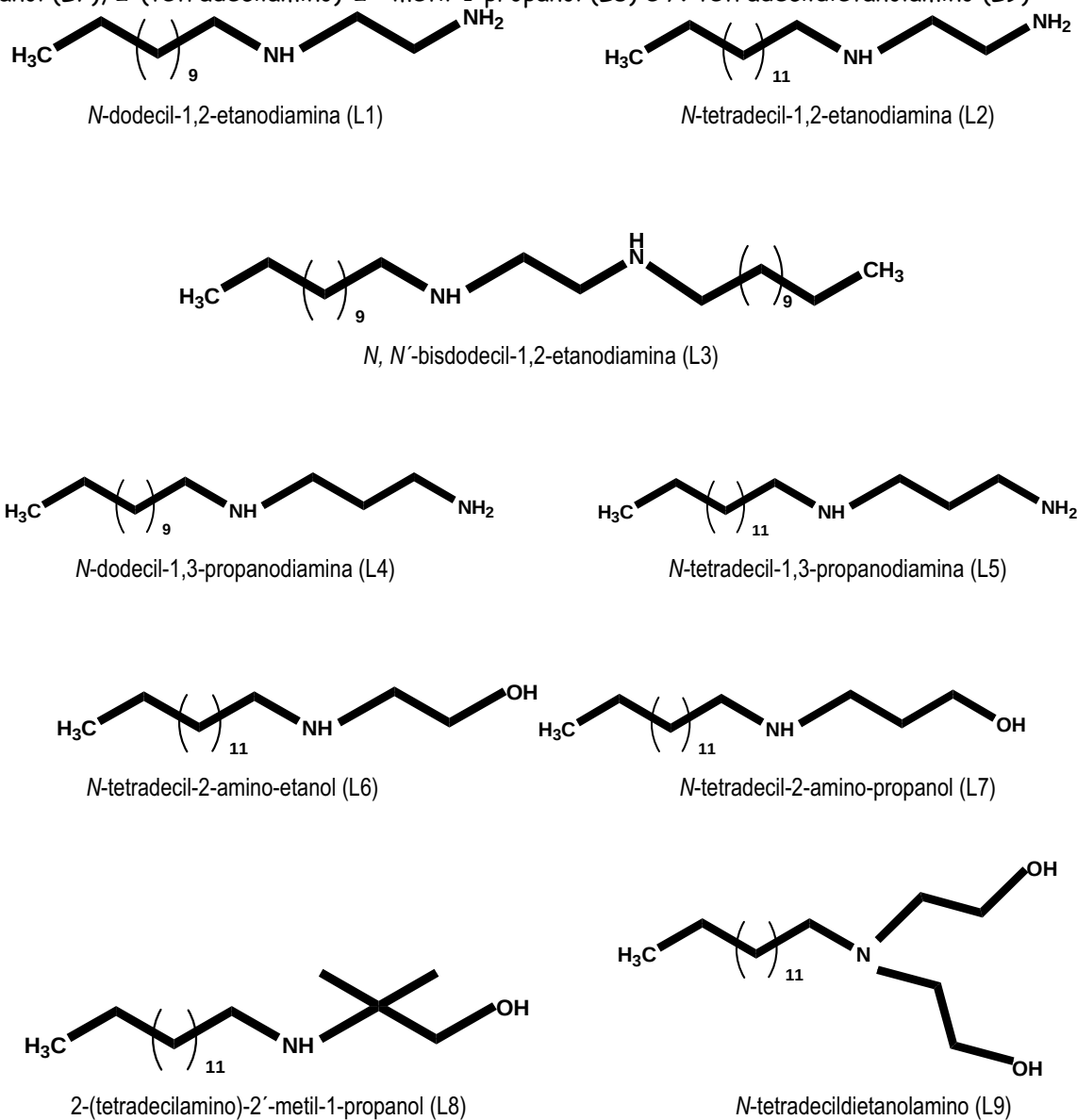
Fonte: Autora

Motivação desse trabalho

Com base nos dados da literatura, principalmente nos trabalhos relacionados ao composto SQ109, pode-se afirmar que a lipofilicidade é uma característica importante no desenvolvimento de novos fármacos contra TB, porque a cadeia hidrofóbica pode interagir com os lipídios da membrana da micobactéria, permitindo a penetração do fármaco no citoplasma [72]. Além disso, os aminoálcoois glicosilados e as aminas são conhecidos por suas atividades antimicobacterianas [73].

Com o objetivo de se obter novas moléculas com atividade anti-TB, o grupo de pesquisa liderado pelo pesquisador Dr. Mauro Vieira de Almeida, do Departamento de Química da Universidade Federal de Juíz de Fora, com base nas informações da literatura citadas acima, tem sintetizado e caracterizado aminoálcoois e diaminas, cujas estruturas estão ilustradas na Figura 9.

Figura 9 - Estruturas químicas das moléculas: *N*-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2), *N, N'*-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3), *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (L4), *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5), *N*-tetradecil-2-amino-etanol (L6), *N*-tetradecil-2-amino-propanol (L7), 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (L8) e *N*-tetradecildietanolamino (L9)



Fonte: Autora

Dentro desse contexto, visando contribuir para a descoberta de novos fármacos contra a TB, reunimos as duas principais linhas: uma delas baseada na síntese de análogos de fármacos já existentes, e a outra, envolvendo a busca de novas estruturas através da síntese de complexos metálicos contendo diaminas e aminoálcoois.

I.2.7 Complexos metálicos com atividade frente ao *M. tuberculosis*

Pavan *et al.* [74] sintetizaram, caracterizaram e realizaram testes frente à micobactéria *M. tuberculosis* de dois novos complexos de rutênio contendo as fosfinas dpmm e dppe [dpmm = bis(difenilfosfina)metano, dppe = 1,2-bis(difenilfosfina)etano] e o ânion picolinato (pic) como ligantes, *cis*-[Ru(pic)(dpmm)₂](PF₆) (1) e *cis*-[Ru(pic)(dppe)₂](PF₆) (2). Os resultados de CIM (concentração inibitória mínima) para os complexos 1 e 2 foram 0,78 e 0,26 µg mL⁻¹, respectivamente. Os resultados são comparáveis ou superiores aos dos medicamentos de primeira ou segunda linha comumente usados no tratamento da tuberculose.

O complexo Ag(I)-acesulfama, sintetizado e caracterizado por Cavicchioli *et al.* [75], também teve sua atividade testada frente ao *M. tuberculosis*, apresentando CIM igual a 3,42 µg mL⁻¹. Esse valor indica que o complexo Ag(I)-acesulfama é mais eficiente contra *M. tuberculosis* do que o composto comercial Ag(I)-sulfadiazina (CIM = 7,78 µg mL⁻¹) com propriedades antibacterianas de amplo espectro de atividade sobre micro-organismos gram-positivos e negativos, sendo de particular eficácia para *P. aeruginosa*, um dos principais responsáveis por infecções decorrentes de queimaduras. O complexo Ag(I)-acesulfama é menos ativo do que a isoniazida (CIM = 0,03 µg mL⁻¹), que é usada como fármaco tuberculostático de primeira linha. Entretanto, é mais efetivo do que a pirazinamida (CIM = 50 µg mL⁻¹), que também tem sido usada para o tratamento da tuberculose, como já mencionada nessa Tese.

A atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* do composto [Pd(apptsc)(PPh₃)](NO₃)·H₂O (apptsc = 2-acetilpiridina-*N*(4)-fenil-tiosemicarbazona) apresentou um valor de CIM igual a 6,25 µg mL⁻¹, pelo grupo de Maia *et al.* [76], mostrando ser mais ativo do que o ligante livre (CIM = 15,6 µg mL⁻¹), e sendo comparável à de alguns compostos usados no tratamento da TB, como cicloserina (CIM = 12,5-50,0 µg mL⁻¹), gentamicina (CIM = 2,0-4,0 µg mL⁻¹) e tobramicina (CIM = 4,0-8,0 µg mL⁻¹).

Bottari *et al.* [77] sintetizaram complexos de Cu(II) e Ni(II) de fórmula geral [ML₂(H₂O)₂] (L = isonicotinoilhidrazona). A atividade antimicobacteriana *in vitro* destes complexos foi testada frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv e comparada com aquela apresentada pelos ligantes livres, que são derivados da isoniazida. Grande parte dos compostos submetidos ao ensaio exibiu valores de CIM ≤ 0,2 µg mL⁻¹, que são considerados extremamente satisfatórios.

A atividade antimicobacteriana de três compostos de cobre(II) contendo derivados de isonicotinoilhidrazona fluoradas foi avaliada em um modelo de macrófago infectado com TB e todos os metalocomplexos exibiram uma excelente atividade contra *M. tuberculosis* Erdman crescente em macrófagos, em concentrações muito menores do que em meios de cultura [78].

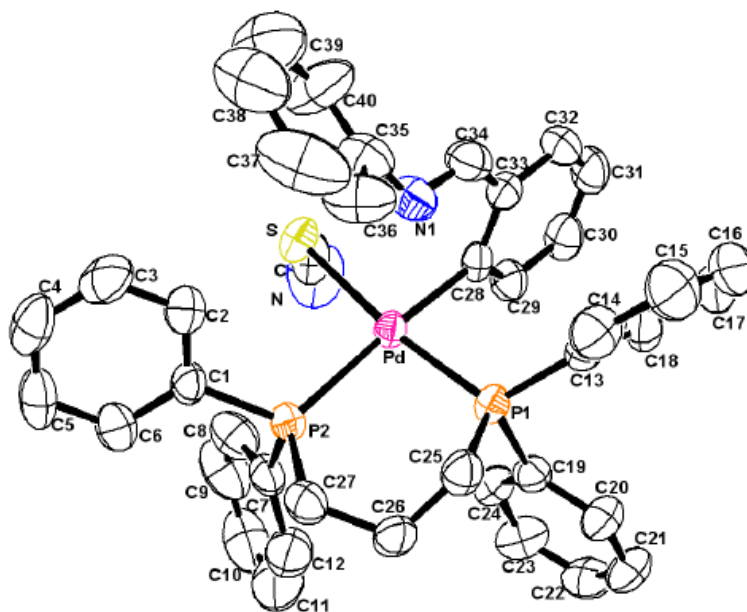
Complexos de cobre de fórmulas moleculares [CuL¹(OAc)], [CuL²(H₂O)], [CuL³(H₂O)],

[CuL⁴(H₂O)], [CuL⁵(H₂O)], onde L¹-L⁵ representam Bases de Schiff obtidas pela condensação de 3-hidroxi-flavona com 4-aminoantipirina (L¹) / o-aminofenol (L²) / ácido o-aminobenzoico (L³) / o-aminotiazol (L⁴) / tiosemicarbazida (L⁵), foram preparados, caracterizados e testados frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv. O valor da CIM obtido para os complexos variou de 1,7 . 10⁻³ a 9,9 . 10⁻³ µg mL⁻¹ enquanto que para os ligantes livres, o valor variou de 10,5 . 10⁻³ a 20,7 . 10⁻³ µg mL⁻¹. Esses resultados mostram que a coordenação ao íon Cu(II) potencializou a atividade tuberculostática dos ligantes. O complexo [CuL⁴(H₂O)] que apresentou CIM de 1,7 . 10⁻³ µg mL⁻¹ mostrou ser mais ativo do que a própria isoniazida, comercialmente utilizada (2 . 10⁻³ µg mL⁻¹) [79].

Reações entre [Pd(C²,N-dmba)(μ-X)]₂ (Hdmba = *N,N*-dimetilbenzilamina; X = Cl, Br, NCO, N₃) e 1,3-bis(4-piridil)propano (bpp) na razão molar 1:1 e à temperatura ambiente resultaram nos compostos binucleares [{Pd(C²,N-dmba)(X)}₂(μ-bpp)] (X = Cl (**1**), Br (**2**), NCO (**3**), N₃ (**4**)), os quais foram testados contra *M. tuberculosis*. Os valores de CIM desses ciclopáládados variaram de 15,6 a 31,2 µg mL⁻¹, resultados satisfatórios, uma vez que são menores do que aqueles apresentados pelos ligantes livres Hdmba e bpp (CIM > 250 µg mL⁻¹) e até mesmo mais ativo do que a pirazinamida, fármaco padrão utilizado no tratamento da tuberculose, cujo CIM é de 50-100 µg mL⁻¹ [80]. A baixa atividade antimicobacteriana do composto **1** pode ser explicada pela presença das ligações lábeis do tipo Pd-Cl, como resultado de uma interação entre um ácido de Lewis mole e uma base de Lewis dura. A mesma atividade inibitória para os complexos **2-4** pode estar associada à habilidade das bases de Lewis moles reduzirem a labilidade dos complexos de Pd(II). Esses resultados sugerem que a substituição do Cl por X (X = Br, NCO, N₃) aumenta a atividade do composto de paládio(II) contra *M. tuberculosis*, como observado para a triagem de outros agentes tuberculostáticos [81].

O composto organometálico [Pd(C-bzan)(SCN)(dppp)] {bzan = *N*-benzilidenoanilina, dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano} foi sintetizado e caracterizado por análise elementar, espectroscopia no IV e RMN de ¹H- e ³¹P{¹H}. As estruturas molecular e cristalina do composto foram determinadas pela técnica de difratometria de raios X de monocristal (Figura 10) [82]. O teste antimicobacteriano *in vitro* do organometálico [Pd(C-bzan)(SCN)(dppp)] apresentou um valor de CIM de 3,9 µg mL⁻¹, que é um valor inferior àqueles encontrados para outros complexos de Pd(II) publicados recentemente na literatura por Moro *et al.* [80].

Figura 10 - Representação ORTEP do organometálico [Pd(C-bzan)(SCN)(dppp)] [82]



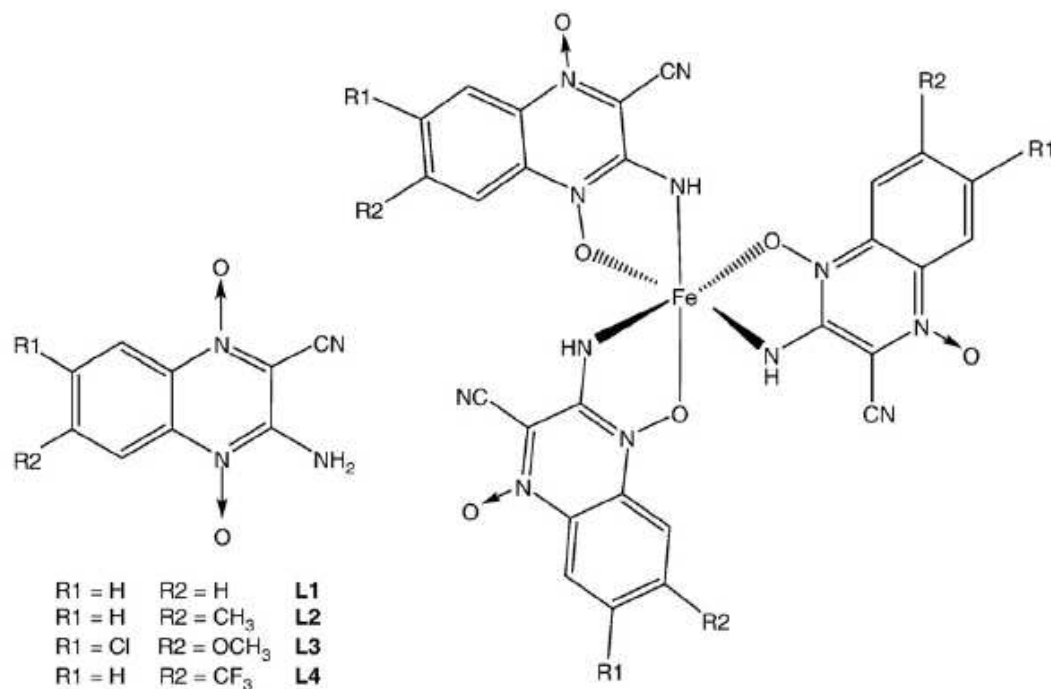
Fonte: [82]

A alta atividade antimicobacteriana desse organometálico publicado recentemente na literatura pode ser parcialmente atribuída não apenas pela presença dos grupos lipofílicos (PPh_2 e parte da bzan), mas também pelo modo de coordenação quelante do ligante dppp. A quelação reduz consideravelmente a polaridade do íon metálico devido ao compartilhamento parcial da sua carga positiva com os grupos doadores, reforçando o caráter lipofílico do átomo metálico central, que, posteriormente, favorece a permeação através da camada lipídica da membrana celular [82].

Recentemente foi descrito na literatura a atividade tuberculostática de complexos de prata e ouro com o ligante 6-mercaptopurina (H_2MP). Os valores de CIM obtidos para os complexos $[\text{AgHMP}]$ e $[\text{AuHMP}]$ contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194 foram 25,0 e 0,78 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. O resultado de CIM obtido para o complexo de ouro foi excelente, pois está abaixo do valor de CIM da pirazinamida (CIM = 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e outros fármacos também utilizados no tratamento da TB [83].

Na busca por novos fármacos contra a tuberculose, novos complexos de ferro de fórmula geral $[\text{Fe}(\text{L-H})_3]$ contendo derivados da 3-amino- N^1,N^4 -dióxido-2-carbonitrila-quinoxalinas foram sintetizados, caracterizados e avaliados *in vitro* por Tarallo *et al.* [84], cujas estruturas propostas estão apresentadas na Figura 11.

Figura 11 - Estruturas propostas para os complexos de Fe(III) contendo os derivados da 3-amino-*N*¹,*N*⁴-dióxido-2-carbonitrila-quinoxalinas como ligantes [84]



Fonte: [84]

Todos os ligantes e os complexos foram ativos contra *M. tuberculosis*. Complexos de ferro dos ligantes L2, L3 e L4 foram mais ativos do que os correspondentes ligantes livres, o que demonstra que a coordenação ao metal pode modificar favoravelmente o perfil da atividade antimicrobiana dos derivados das 3-amino-*N*¹,*N*⁴-dióxido-2-carbonitrila-quinoxalinas. Apenas o complexo contendo o ligante L1 apresentou uma atividade inferior ao do ligante livre. Os valores de CIM dos complexos de ferro contendo L3 ou L4 (0,78 $\mu\text{g mL}^{-1}$) são comparáveis ou melhores do que aqueles dos fármacos de segunda linha usadas no tratamento clínico como estreptomicina (CIM = 1,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), ciprofloxacina (CIM = 2,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), ácido *p*-aminosalicílico (CIM = 0,5-2,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), etionamida (CIM = 0,63-1,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$), cicloserina (CIM = 12,5-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), gentamicina (CIM = 2,0-4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), etambutol (0,94-1,88 $\mu\text{g mL}^{-1}$), canamicina (CIM = 1,25-5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e tobramicina (CIM = 4,0-8,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$) [84].

Compostos de cádmio de fórmula geral $[\text{CdX}_2\text{L}_2]$ (L = pirazóis; X = Cl, SCN) preparados a partir de reações entre cloreto de cádmio(II) e ligantes pirazólicos (HPZ = pirazol, HdmPz = 3,5-dimetilpirazol, HIPz = 4-iodopirazol), na presença ou ausência de íons tiocianato, foram descritos por Silva *et al.* [85]. No que diz respeito à avaliação biológica frente ao *M. tuberculosis*, grande parte dessa classe de compostos foi eficaz contra a micobactéria, com valores de CIM na faixa de 0,31 a 1,3 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O composto mais ativo foi o $[\text{CdCl}_2(\text{HPZ})_2]_n$ que apesar de exibir ainda comparável ou menor atividade quando comparado à fármacos de primeira escolha RMP (0,31 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e INH (0,125 $\mu\text{g mL}^{-1}$),

apresentou resultado surpreendente no que concerne à outros fármacos usados como a PZA ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$) ou aos fármacos de segunda escolha cicloserina ($12,5 - 50 \mu\text{g mL}^{-1}$) e claritromicina ($8,0-16,0 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Analisando os dados publicados recentemente na literatura e abordados nessa Introdução, pode-se afirmar que a Química Inorgânica Medicinal tem mostrado ser uma potente ferramenta para o desenvolvimento de possíveis fármacos tuberculostáticos. Sabe-se que muitos íons metálicos desempenham um importante papel em sistemas vivos [86]. Considerando que íons metálicos são deficientes em elétrons e que a maioria das moléculas biológicas, tais como proteínas e DNA, são ricas em elétrons, a atração destas cargas opostas faz com que ocorra uma interação entre os mesmos dentro dos sistemas biológicos.

Relações estrutura-atividade (REA) têm mostrado que a complexação com o metal pode aumentar a atividade antimicobacteriana do fármaco orgânico biologicamente ativo (usado como ligante), e sugere também que o metal possa desempenhar por si só um papel relevante [87, 88]. Um exemplo clássico trata-se do composto metálico sintetizado pelo grupo do professor Ícaro de Sousa Moreira do Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará. A metalodroga $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{INH})]^{3-}$, um ferrocianeto associado à molécula da isoniazida (INH), exibiu um valor de CIM frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv (cepa sensível) igual a $0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$, embora esse não tenha sido menor do que aquele apresentado pela droga livre ($0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$). Testes frente a cepas do *M. tuberculosis* resistentes à isoniazida mostraram que esse complexo foi ativo com um valor de CIM variando de $1,0$ a $4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. No que diz respeito à citotoxicidade, os testes mostraram que o composto é menos tóxico que o fármaco padrão [89]. Desse modo, pode-se afirmar que a complexação da INH ao ferro alterou o mecanismo de ação do fármaco, consequentemente potencializou sua ação e também reduziu os efeitos tóxicos.

A literatura tem mostrado também uma relação entre a formação de anéis quelatos e a atividade antimicobacteriana desses complexos, sendo tentativamente explicada com base no conceito de Overtone e na teoria da quelação de Tweedy [90, 91]. De acordo com o conceito de Overtone sobre permeabilidade celular, a membrana lipídica que envolve a célula favorece a passagem apenas de materiais lipossolúveis o que faz a lipossolubilidade um fator importante no controle da atividade antimicrobiana. Na teoria da quelação de Tweedy, a polaridade do íon metálico é reduzida em maior grau devido à sobreposição dos orbitais do ligante e o compartilhamento parcial da carga positiva do íon metálico com os grupos doadores. Além disso, a deslocalização de elétrons- π sobre o anel quelato é aumentada, o que, consequentemente, aumenta a lipofilicidade dos complexos. Este aumento da lipofilicidade aumenta a permeação dos complexos na membrana lipídica bloqueando os sítios de

ligação dos metais nas enzimas dos micro-organismos. Estes complexos também perturbam o processo de respiração das células e, assim, bloqueiam a síntese das proteínas que restringem ainda mais o crescimento do organismo e como resultado, os micro-organismos morrem.

A presença de ligantes contendo átomos de enxofre na composição dos anéis quelatos também parece ser um fator relevante. Complexos contendo tiossemicarbazonas, tióis, sulfetos ou outros grupos contendo enxofre têm apresentado atividade antimicobacteriana tão alta quanto aos fármacos de segunda linha. Segundo Nomiya *et al.* [92], isso se deve à habilidade do átomo de enxofre em quelar metais essenciais ao metabolismo dos micro-organismos.

No que diz respeito à citotoxicidade, observa-se na literatura que os compostos menos tóxicos na maioria das vezes são os de bioelementos, como seria de se esperar. Contudo, mesmo a bioacumulação do íon metálico essencial pode causar efeitos colaterais severos e, portanto, aspectos farmacológicos e fisiológicos devem ser investigados *in vivo* utilizando modelos animais que comprovem a eficácia e a segurança do composto antes da liberação do fármaco para testes clínicos em humanos. O composto de ferro, $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{INH})]^{3-}$, é um exemplo de estudo *in vivo* em animais que está sendo realizado para a possível liberação dos testes clínicos em humanos [89].

I.2.8 Nanotecnologia: uma nova estratégia para o tratamento da tuberculose [93]

Apesar do fato de que vivemos em uma era de avançada tecnologia e inovação, as doenças infecciosas como a tuberculose (TB) continuam a ser um dos maiores desafios da saúde mundial, como já citado nessa Tese. O principal inconveniente do tratamento convencional da TB muitas vezes é o desenvolvimento da resistência à múltiplos fármacos, tendo como consequência a necessidade da administração de doses cada vez mais elevadas do fármaco levando a níveis praticamente intoleráveis de toxicidade. Portanto, visando minimizar os efeitos colaterais do tratamento, novas estratégias têm sido investigadas. Dentro desse contexto, sistemas nanoestruturados de liberação de fármacos têm um potencial considerável para o tratamento de TB. As vantagens tecnológicas destes sistemas como transportadores de fármacos são alta estabilidade, alta capacidade transportadora, viabilidade de incorporação de substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas, e possibilidades de rotas variáveis de administração, incluindo a aplicação por via oral e inalação. Estas propriedades de nanopartículas permitem a melhoria da biodisponibilidade do fármaco e da redução da frequência de administração, e pode resolver o problema da não aderência à terapia pré-escrita, que é um dos principais obstáculos no controle da epidemia de TB [93].

Utilizando-se a nanotecnologia, é possível melhorar a liberação dos fármacos pouco solúveis em

água, liberar o fármaco em células ou tecidos específicos e até fazer a liberação intracelular de macromoléculas [94].

A base dessa tecnologia consiste na utilização de sistemas nanoestruturados os quais apresentam limite de tamanho que variam da escala nanométrica à micrométrica, sendo ambas importantes na aplicação da medicina [95, 96].

Vários tipos de sistemas nanoestruturados têm sido pesquisados para o tratamento da TB, como por exemplo, os nanocarreadores poliméricos (dendrímeros, ciclodextrinas, micelas poliméricas, nanopartículas poliméricas), nanocarreadores não poliméricos (lipossomas, nanoemulsões, nanosuspensões, niossomas, nanopartículas lipídicas sólidas) e as microemulsões lipídicas [93]. A microemulsão tem como vantagem frente a outros sistemas dispersos (suspensões, emulsões e lipossomas) a sua estabilidade termodinâmica e conseqüentemente seu tempo de vida útil muito mais amplo [97]. Esses sistemas representam um eficiente veículo para administração de fármacos, permitindo adequada solubilização na fase interna, oleosa ou aquosa, ou na mistura fase interna/tensoativos [98].

I.2.8.1 Microemulsões (ME)

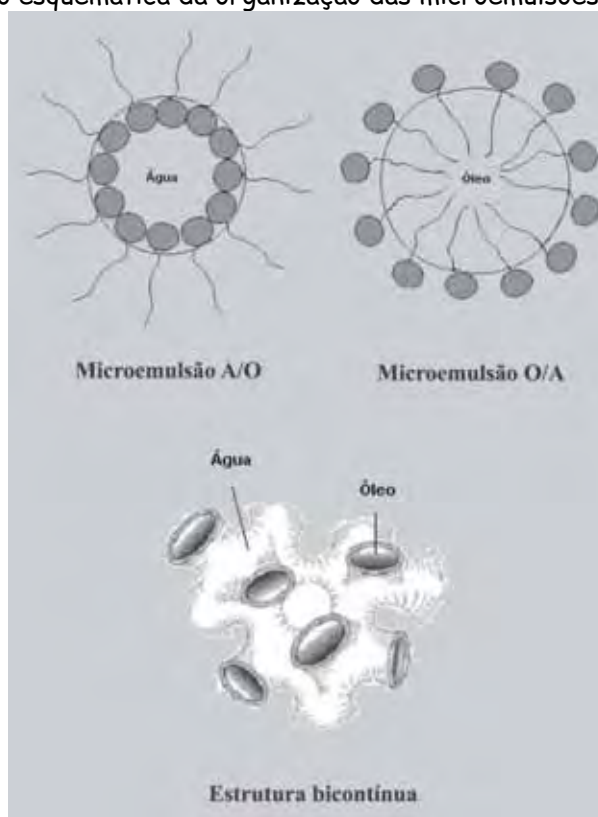
O termo microemulsão (ME) foi introduzido pela primeira vez por Hoar e Schulman em 1943 [99] para definir um sistema fluido e semi-transparente obtido pela titulação até o ponto de clarificação de uma emulsão simples com um álcool de cadeia média, como o hexanol ou o pentanol. No ponto de clarificação, não houve necessidade de agitação e uma dispersão transparente foi formada espontaneamente. Estes pesquisadores observaram, através de microscopia eletrônica, que as dispersões transparentes formadas eram constituídas de microgotículas de óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O), cercadas por um filme interfacial misto de tensoativo e co-tensoativo (álcool). O tamanho das gotículas variava de 100 a 600 nm, significativamente menores que os da emulsão simples inicial, justificando seu aspecto transparente e o termo microemulsão.

Atualmente, MEs são definidas como sistemas termodinamicamente estáveis isotrópicos, transparentes, constituídos por dois líquidos imiscíveis, usualmente água e óleo, estabilizados por um filme de tensoativo localizado na interface água/óleo [100].

Já, o termo microemulsão lipídica, também chamado de LDE, foi introduzido somente na década de 1980, por Maranhão *et al.* [101] para definir um sistema microemulsionado rico em colesterol obtido pela técnica de sonicação até o ponto de clarificação de uma ME comum. Esses sistemas diferem das MEs comuns por apresentarem colesterol na sua formulação e capacidade de direcionamento para o interior das células, minimizando os efeitos tóxicos dos fármacos [102].

Do ponto de vista microestrutural (Figura 12), as MEs podem ser do tipo água em óleo (A/O), óleo em água (O/A) ou estruturas bicontínuas. Nas MEs do tipo A/O, o componente hidrofílico é disperso na forma de gotículas coloidais no componente lipofílico. Já nas MEs do tipo O/A, o componente lipofílico é disperso na forma de gotículas coloidais no componente hidrofílico e ambas podem ser invertidas de A/O para O/A ou vice-versa ao variar as condições de emulsificação. Nas MEs com estrutura bicontínua, os componentes hidrofílicos e lipofílicos formam canais adjacentes alongados com gotículas na faixa de 1-100 nm, como uma rede de tubos aquosos em matriz oleosa ou rede de tubos oleosos em matriz aquosa contendo volumes relativos aproximadamente iguais entre as fases aquosa e oleosa [103].

Figura 12 - Representação esquemática da organização das microemulsões



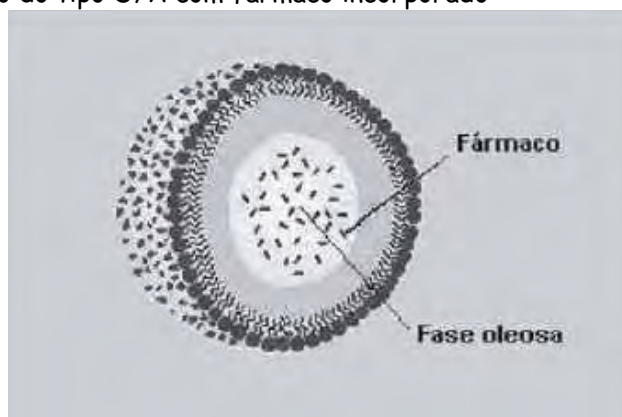
Fonte: [103]

A formação da microemulsão geralmente envolve a combinação de três a cinco componentes, tais como: tensoativo, água, óleo e, quando necessário, o co-tensoativo [97, 104], sendo que a orientação para sistemas O/A ou A/O é dependente das propriedades físico-químicas do tensoativo e do óleo, da relação entre as proporções tensoativo/co-tensoativo e entre as proporções A/O [97, 105, 106]. A possibilidade de formar microemulsão depende também do balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo, determinada não somente pela sua estrutura química, mas

também por outros fatores como temperatura, força iônica e a presença de co-tensoativo. A mistura de tensoativos com equilíbrio hidrófilo-lipófilo adequado proporciona a condição máxima de “solubilização” do óleo e da água [107]. A principal característica desses sistemas é formar uma emulsão muito fina por homogeneização suave com fase aquosa, cujas dimensões das gotículas da fase interna é da ordem de nanômetros. As MEs são superiores às soluções micelares em termos de potencial de solubilização de substâncias, por isso, são usadas para aumentar a solubilização e a absorção de fármacos lipofílicos.

Microemulsões lipídicas do tipo O/A são alternativas interessantes como sistemas de liberação de fármacos, como representado na Figura 13. A estrutura básica da microemulsão lipídica é um lipídio neutro na região interna, como por exemplo, um triglicerídeo líquido, estabilizado por lipídios anfifílicos, como os fosfolipídios. Esse sistema pode solubilizar uma quantidade considerável de fármacos lipossolúveis no domínio hidrofóbico da fase interna oleosa e, portanto apresentar potencial de aplicação terapêutico como transportadores de fármacos lipossolúveis [108].

Figura 13 - Microemulsão do tipo O/A com fármaco incorporado



Fonte: [109]

A literatura relata que fármacos parcialmente hidrofílicos solubilizados em sistemas microemulsionados podem particionar entre a fase contínua, interior da ME e na região interfacial. Portanto, a região interfacial pode não consistir inteiramente de compostos tensoativos. Além disso, a literatura também mostra que o aumento da solubilidade do fármaco nas gotículas dispersas de óleo está relacionado com a partição favorável do mesmo nesta fase e o sistema terá característica de reservatório, apresentando liberação prolongada do fármaco. Essa liberação acontece devido à difusão lenta e contínua de fármaco das gotículas de óleo para a fase contínua [110].

As ME do tipo água em óleo (A/O) podem ser utilizadas para fármacos hidrofílicos e têm sido descritas na literatura como sistemas carreadores de fármacos hidrofílicos, principalmente para

liberação de fármacos por via oral [97, 111] e intramuscular [97, 112]. No caso de microemulsões do tipo A/O, a inversão de fase é uma propriedade interessante, que resulta em microemulsões do tipo O/A, e estas podem ser usadas para liberação de fármacos via oral [97, 113]. A literatura relata que ME A/O podem ser facilmente invertidas em ME O/A e/ou emulsões múltiplas do tipo água-óleo-água (A/O/A), quando estas são diluídas com excesso de fase aquosa. As microemulsões do tipo O/A apresentam muitas vantagens como sistema de liberação de fármacos, pois estes melhoram a solubilização de fármacos lipofílicos, tornando possível o uso parenteral e permitindo assim, a produção em larga escala industrial sem o uso de energia para a homogeneização [97]. Por outro lado, estudos experimentais mostram a melhora na absorção oral quando se utiliza sistema microemulsionado. Esta melhora é devido à incorporação do fármaco nas gotículas das microemulsões (O/A) e também ao aumento específico da área superficial, resultando no intenso contato das gotículas com o trato gastrointestinal. Outro fator importante é o tamanho e a polaridade das gotículas das ME resultante do balanço hidrofílico e lipofílico do tensoativo, pois a variação dessa polaridade influencia a incorporação do fármaco e do tensoativo na interface, alterando-se propriedade de liberação [114].

I.2.8.2 Alguns sistemas transportadores contendo fármacos tuberculostáticos

Nas duas últimas décadas, houve um aumento extraordinário no número de tecnologias viáveis para o controle da biodistribuição de fármacos tuberculostáticos. Esse aspecto está sendo explorado, visando à obtenção de sistemas nanoestruturados como os dendrímeros, lipossomas, micelas poliméricas, nanoemulsões, entre outros.

Os sistemas transportadores de fármacos anti-TB, nos quais ligantes específicos permitem que materiais sejam direcionados para locais específicos do organismo, também, estão sendo estudados. As tecnologias de liberação discutidas a seguir, podem ser usadas para prolongar a meia vida dos fármacos, controlar sua liberação ou melhorar sua atividade.

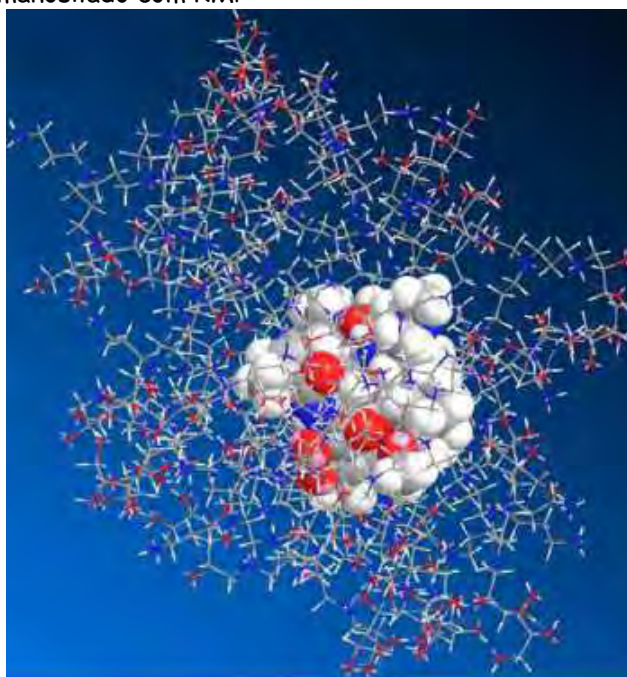
Dendrímeros

Dendrímeros são definidos como nanomateriais sintéticos que tem aproximadamente 100 nm de diâmetro. Eles são feitos de camadas de polímero em torno de um núcleo central. Dendrímeros funcionais são constituídos por três diferentes componentes topológicos de importância química: um núcleo polifuncional, a camada no interior e uma superfície multivalente. O núcleo polifuncional pode encapsular várias espécies químicas e exibe propriedades inigualáveis devido ao ambiente especial

nanorrodeado por extensas ramificações dendríticas [115]. Devido a esta estrutura única, estas moléculas representam candidatos atraentes para o encapsulamento e liberação de agentes anti-TB para serem administrados por diversas vias, embora poucos trabalhos de pesquisa têm sido relatados nessa área.

Dentro desse contexto, para direcionar a liberação do fármaco para os macrófagos, Kumar *et al.* [116] desenvolveram nanocarreadores dendriméricos PPI de 5ª geração (5G) manosilados carregados de RMP (Figura 14). A modificação da superfície com moléculas de açúcar (por exemplo, a manose) reconhecível pelos receptores de lectina localizados na superfície de células fagocíticas melhorou a absorção seletiva das nanopartículas contendo o fármaco pelas células do sistema imunológico. Estudos de liberação do fármaco realizados *in vitro* mostraram que os dendrímeros modificados sustentaram a liberação por aproximadamente 120 horas, em oposição à entrega rápida (10 horas) observada com dendrímeros regulares. A captação fagocítica da RMP e de dendrímeros carregados de RMP foi investigada com macrófagos alveolares de pulmões de ratos e observou-se um claro aumento na concentração intracelular do antibiótico nos pulmões desses animais.

Figura 14 - Dendrímero manosilado com RMP



Fonte: [116]

Lipossomas

Os lipossomas são vesículas microscópicas que compreendem uma ou mais bicamadas de

fosfolípidos que rodeiam um núcleo aquoso e variam de tamanho entre 25 nm e alguns microns [117]. Eles são preparados a partir de fosfolípidos naturais ou sintéticos e de colesterol, e pode também adicionalmente incluir outros lipídios ou proteínas. O núcleo aquoso facilita a retenção de fármacos hidrofílicos, ao passo que os fármacos hidrofóbicos são ligados ou incorporados na bicamada lipídica. Quando administrados, os lipossomas são reconhecidos como um corpo estranho, sendo imediatamente absorvidos pelas células do sistema fagocítico mononuclear (SMF). A fim de evitar a eliminação e estender o tempo de circulação, os lipossomas são geralmente de polietileneglicol (PEG).

Um trabalho pioneiro explorou a incorporação de gentamicina em lipossomas e comparou a atividade antimicobacteriana à do fármaco livre em um modelo experimental de rato infectado com *M. avium* [118]. O fármaco encapsulado reduziu significativamente a contagem de bactérias no baço e no fígado. Além disso, uma redução dose-dependente da carga bacteriana foi encontrada. Resultados semelhantes foram obtidos com diferentes antibióticos de segunda linha encapsulados em lipossomas [119-121]. Deol e Khuller produziram lipossomas Stelth[®] preparadas com fosfatidilcolina, colesterol, dicetilfosfato, amilopectina o-estearoil e monossialogangliosídeo/poli(etilenoglicol) 2000 para a liberação direcionada dos fármacos anti-TB para o pulmão [122].

Experimentos de biodistribuição de diferentes tipos de lipossomas foram conduzidos em camundongos saudáveis e infectados com TB após injeção intravenosa. Resultados mostraram um aumento pronunciado na biodistribuição de 5,1% com lipossomas convencionais para 31% com sistemas peguizados contendo amilopectina o-estearoil no acúmulo dos nanocarreadores nos pulmões após 30 minutos. A extensão do acúmulo foi associada com a composição da vesícula [122].

Micelas poliméricas

As micelas poliméricas são nanocarreadores gerados pela auto-montagem de polímeros anfifílicos em água acima da concentração micelar crítica (CMC) [123]. Os blocos hidrofílicos são expostos para o meio aquoso formando uma casca micelar, estabilizando o agregado. Em contraste, os blocos hidrofóbicos formam o núcleo interno micelar, um domínio que permite a incorporação de fármacos com baixa solubilidade em água e que pela interação física ou pela conjugação química conduzem a uma maior solubilidade. Além disso, fármacos sensíveis hospedados dentro do núcleo são protegidos dos processos de degradação químico e biológico. Comercialmente disponível e aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), os copolímeros de blocos de polioxietileno e polioxipropileno (poloxameros lineares e poloxaminas ramificadas) estão entre os mais importantes materiais para formar as micelas [124].

Silva *et al.* [125] sintetizaram um conjugado de polietilenoglicol-poli(ácido aspártico) contendo isoniazida para manter a liberação do fármaco. A formulação micela-isoniazida mostrou ser de cinco a seis vezes mais ativa frente ao *M. tuberculosis in vitro* quando comparada ao pró-fármaco livre. O mecanismo mais provável nesse caso é que a INH é liberada após a internalização da micelas e clivagem enzimática. O aumento da permeabilidade é possível devido a superfície dos polímeros, mas quanto à atividade tuberculostática, esses polímeros de transporte não apresentaram nenhuma atividade. Além disso, a INH tem uma relação estrutura-atividade rígida que limita a sua modificação molecular, exigindo que o fármaco seja liberado antes de interagir com o receptor. Entretanto, são necessários mais estudos para explicar o mecanismo envolvido.

Nanoemulsões

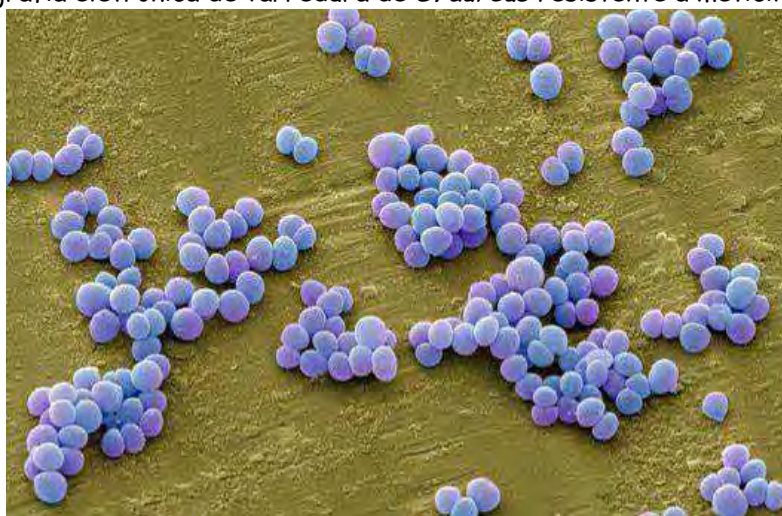
Nanoemulsões são dispersões transparentes ou translúcidas de óleo-em-água (O/A) ou água-em-óleo (A/O) de gotículas com um diâmetro médio entre 10-100 nm [126]. Nanoemulsões são também conhecidas como emulsões submicrônicas, mini-emulsões ou emulsões ultrafinas. A principal vantagem destes sistemas é que eles são gerados de forma espontânea e podem ser produzidos em larga escala sem a necessidade de alta homogeneização energética.

Ahmed *et al.* [127] desenvolveram diferentes nanoemulsões O/A contendo RMP para a administração intravenosa usando adjuvantes farmaceuticamente aceitáveis: Sefsol® 218 como fase oleosa, Tween® 80, Tween® 85 e solução salina como o tensoativo, co-tensoativo e a fase aquosa, respectivamente. O tamanho médio das gotículas variou entre 47 e 115 nm. A eficiência de encapsulação foi mais de 99% e a homogeneidade visual foi excelente para todas as nanoemulsões estudadas. Estudos *in vitro* de liberação indicaram um aumento repentino inicial na liberação de 40 para 70% após duas horas, seguida por uma liberação mais moderada. Os ensaios de estabilidade ao longo de três meses indicou ligeiros aumentos no tamanho das gotículas e na viscosidade dos sistemas.

I.3 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

O *S. aureus* é uma bactéria do grupo cocos gram e catalase-positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóvel, não-esporulado e geralmente não-encapsulado. Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, pares, cadeias curtas, até agrupamentos irregulares (com aspecto semelhante a um cacho de uvas) (Figura 15), devido a sua divisão celular que ocorre em três planos perpendiculares [128, 129].

Figura 15 - Micrografia eletrônica de varredura de *S. aureus* resistente à meticilina



Fonte: [130]

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae*, juntamente com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus*. Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Geralmente, esse gênero faz parte da microbiota da pele humana normal e de outros sítios anatômicos. A espécie de maior interesse médico, principalmente em ambiente nosocomial, é o *S. aureus*, que está frequentemente relacionado com diversas infecções em seres humanos [128].

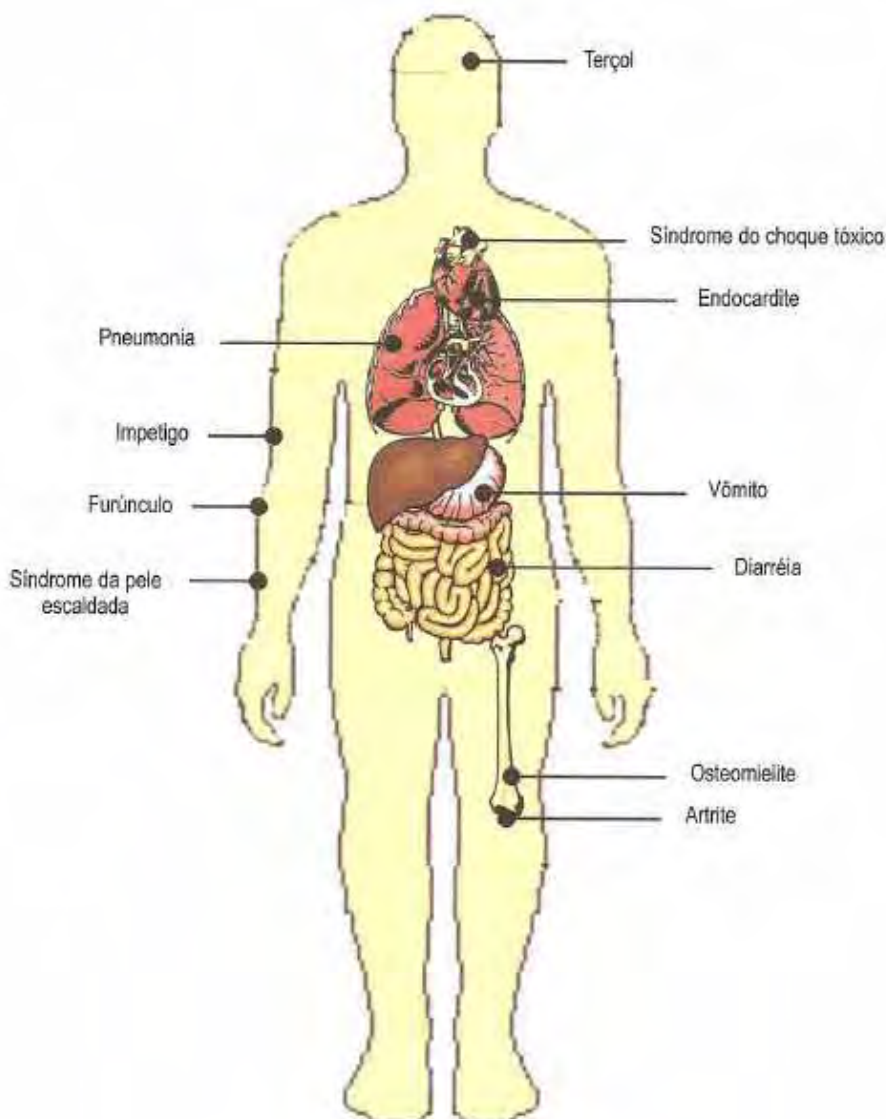
As cepas de *S. aureus* crescem em meios comuns, caldo ou ágar simples, pH = 7, à temperatura ótima de 37 °C. As colônias formadas em placa, após 18-24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes. A coloração dessas colônias varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta com o tempo de incubação prolongado, não chegando a ser formada nos casos de crescimento em condições anaeróbicas, ou na cultura em caldo. Em placas de ágar sangue, um halo de hemólise desenvolve-se em torno das colônias formadas [128, 129]. Outro meio importante para a identificação do *S. aureus* é o ágar manitol-sal, seletivo para essa espécie, uma vez que o micro-organismo consegue fermentar o manitol, produzindo ácido lático. Essa espécie se desenvolve também na presença de 7,5% de NaCl, que estimula a produção de coagulase, enzima que caracteriza a espécie [128, 129].

I.3.1 Doenças

Apesar da grande variedade de quadros clínicos (Figura 16) causados pelo *S. aureus*, estes podem ser divididos em três principais tipos: aqueles caracterizados por infecções superficiais, tais

como os abscessos cutâneos e as infecções de feridas; as infecções sistêmicas, tais como bacteremia, endocardite, osteomielite, artrite, miosite tropical e pneumonia, e os quadros tóxicos, tais como síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada e a intoxicação alimentar [129].

Figura 16 - Principais doenças causadas por *S. aureus* [129]



Fonte: [129]

A distribuição de *S. aureus* é muito ampla, visto que essa bactéria é significativamente capaz de resistir a dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira. Esse micro-organismo pode ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Desses sítios anatômicos, as narinas possuem o maior

índice de colonização, cuja prevalência é de cerca de 40% na população adulta, podendo ser ainda maior dentro de hospitais [131].

I.3.2 Patogênese [72, 129]

S. aureus causa doença por meio da produção de toxinas e pela indução de inflamação piogênica. A lesão típica de infecção por *S. aureus* é o abscesso. Os abscessos sofrem necrose central e geralmente drenam para o exterior (p. ex., furúnculos), mas os organismos podem também ser disseminados na corrente sanguínea. Corpos estranhos, como suturas e cateteres intravenosos, são importantes fatores predisponentes à infecção por *S. aureus*.

Várias toxinas e enzimas importantes são produzidas por *S. aureus*. Três exotoxinas clinicamente importantes são a enterotoxina, a toxina da síndrome do choque tóxico e a esfoliatina.

I.3.2.1 Infecções cutâneas e subcutâneas [129]

O impetigo é uma infecção da epiderme que se localiza principalmente na face e nos membros, mais comumente em crianças jovens. Frequentemente ocorrem lesões múltiplas devido à propagação secundária do processo para áreas adjacentes da pele. Estas lesões múltiplas se apresentam em diferentes estágios de desenvolvimento. A foliculite é uma infecção do folículo piloso, com a formação de um acúmulo de pus abaixo da epiderme. Quando ocorre nos pêlos das pálpebras, a infecção chama-se ordeolo ou terçol. O furúnculo ou abscesso é uma extensão da foliculite que se apresenta sob a forma de nódulos dolorosos, com acúmulo de pus na parte central. Os furúnculos podem drenar espontaneamente ou após incisão cirúrgica. O carbúnculo ocorre quando os furúnculos coalescem e a infecção se estende para os tecidos mais profundos. Podem apresentar vários sítios de drenagem e situam-se principalmente na nuca e na parte superior do dorso. Ao contrário do que acontece em casos de furúnculos, o paciente com carbúnculo pode apresentar calafrios e febre que indicam a ocorrência de bacteremia. O *S. aureus* é a principal bactéria causadora de infecções de feridas cirúrgicas. A ocorrência dessas infecções em indivíduos imunocomprometidos é mais frequente quando a ferida contém algum corpo estranho. A infecção se caracteriza por edema e presença de material purulento.

I.3.2.2 Bacteremias [129]

S. aureus é uma das causas mais frequentes de bacteremias. O processo é mais comum em

pacientes internados. A infecção é geralmente adquirida quando do emprego de cateteres intravenosos. Em mais ou menos um terço dos casos de pacientes não internados a origem da infecção não é identificada. A bacteremia é um processo secundário a infecções cutâneas ou de outros locais e pode dar origem a diferentes tipos de infecções, tais como endocardites, osteomielites e abscessos metastáticos em vários órgãos. Pode também evoluir para sepse, com mortalidade elevada, que pode variar de 11 a 43%.

I.3.2.3 Endocardites [129]

S. aureus é responsável por 25 a 35% de todos os casos de endocardite. Em usuários de drogas ilícitas, a infecção é adquirida por meio de injeção intravenosa e a válvula mais comprometida é a tricúspide. Nos não-usuários de drogas, a infecção é devida à disseminação a partir de uma infecção local ou de cateteres intravenosos colonizados e a taxa de mortalidade é alta.

I.3.2.4 Pneumonia e empiema [129]

A pneumonia pode ser devido à aspiração da secreção oral ou disseminação hematogênica a partir de um foco infeccioso distante. A pneumonia por aspiração é primariamente observada em crianças de tenra idade, em indivíduos idosos, em pacientes com fibrose cística, influenza e bronquiectasias. O exame do tecido pulmonar revela a inflamação e abscessos. A pneumonia decorrente de disseminação hematogênica é comum em pacientes com bacteremias e endocardites. A pneumonia estafilocócica pode ser acompanhada de empiema, caracterizado pela coleção de material purulento na pleura.

I.3.2.5 Osteomielite [129]

S. aureus é a causa mais frequente de osteomielite aguda e crônica. A bactéria pode alcançar os ossos por via hematogênica, em consequência de traumas (cirúrgicos ou não) ou por extensão de infecções em tecidos contíguos. Na disseminação hematogênica, o tipo de osso afetado depende da idade do paciente. Nas crianças, a bactéria se localiza quase que exclusivamente nas extremidades dos ossos longos, enquanto no adulto a maioria das infecções se localiza nas vértebras lombares e torácicas. Com alguma frequência os pacientes com osteomielite hematogênica apresentam antecedentes de infecções cutâneas ou de traumas.

I.3.2.6 Intoxicação alimentar [129]

A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das intoxicações alimentares mais frequentes. É decorrente da ingestão de enterotoxinas pré-formadas no alimento contaminado pela bactéria, a qual pode continuar viável ou não. As manifestações clínicas são decorrentes da ação da enterotoxina produzida pela bactéria. Os alimentos que são contaminados com maior frequência são as carnes processadas, cremes de leite, saladas de batata e sorvetes. Uma vez contaminado, se o alimento permanecer sem refrigeração (à temperatura ambiente ou estufa), ocorrerá o crescimento da bactéria. As amostras de *S. aureus* que contaminam os alimentos são geralmente provenientes de indivíduos que manuseiam esses alimentos, podendo ser portadores assintomáticos ou indivíduos que apresentam algum tipo de infecção, geralmente cutânea. Os sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica consistem de náuseas, vômitos, diarreias e dores abdominais. Geralmente têm início em torno de quatro horas após a ingestão do alimento e duram em média 12 horas. Como as enterotoxinas são termoestáveis, a cocção dos alimentos não as destroem.

I.3.2.7 Síndrome do choque tóxico [129]

Esta síndrome adquiriu grande proeminência no início da década de 1980, quando passou a ser diagnosticada com relativa frequência em mulheres no período menstrual que usavam determinada marca de absorvente íntimo. Verificou-se, em seguida, que a síndrome era devida à colonização por amostras de *S. aureus* existentes na vagina, as quais produziam a toxina da síndrome do choque tóxico (TSST, do inglês, *toxic shock syndrome toxin*), que hoje sabe-se ser um superantígeno. A retirada deste tipo de absorvente do comércio fez com que a ocorrência da síndrome caísse rapidamente. O choque tóxico é também causado por amostras de *S. aureus* produtoras de TSST-1 que colonizam outros locais, tais como feridas cirúrgicas. Aproximadamente 50% dos casos de choque tóxicos não associados à menstruação são causados por estafilococos produtores da enterotoxina do tipo B.

I.3.2.8 Síndrome da pele escaldada [129]

Esta síndrome é também conhecida como doença de Ritter (em referência ao autor que a descreveu). Caracteriza-se principalmente pelo deslocamento de extensas áreas da epiderme, lembrando o que ocorre quando a pele é banhada por água fervente. O deslocamento da epiderme é consequência da destruição da desmogleína pela esfoliatina, produzida pelo *S. aureus* em um foco de

infecção distante e levada até a pele pela corrente sanguínea (a secreção existente na pele não contém a bactéria). A desmogleína é a proteína de adesão dos epidermócitos, sendo específica destas células. O deslocamento da epiderme observado no impetigo bolhoso é também provocado pela esfoliatina.

I.3.3 Tratamento e controle [72, 129]

Embora o *S. aureus* possa ser suscetível à ação de vários fármacos ativos contra bactérias gram-positivas (tais como penicilinas, cefalosporinas, eritromicina, aminoglicosídeos, tetraciclina e clorafenicol), é também reconhecido pela sua elevada capacidade de desenvolver resistência à todos eles. Portanto, a antibioticoterapia adequada das infecções estafilocócicas deve ser precedida da escolha do fármaco com base nos resultados de testes de suscetibilidade. No entanto, deve ser lembrado que amostras isoladas de pacientes hospitalizados frequentemente são mais resistentes do que amostras isoladas de pacientes na comunidade.

A resistência aos antimicrobianos em *S. aureus* é determinada por mutações em seus genes e/ou pela aquisição de genes de resistência de outras bactérias da mesma espécie, ou, eventualmente, de outras espécies. Em geral, a resistência por mutação é decorrente de uma alteração no sítio de ação do antibiótico, enquanto a resistência por aquisição de genes de resistência frequentemente envolve destruição ou inativação do antibiótico. Plasmídios e transposons contribuem de maneira significativa para o último mecanismo.

A penicilina é o fármaco de escolha se a amostra for suscetível. No entanto, a ampla disseminação de amostras resistentes a esse antimicrobiano reduziu drasticamente o seu valor. A resistência à penicilina é atribuída à produção de enzimas (β -lactamases) capazes de inativar esse fármaco. Além disso, o surgimento e a disseminação progressiva da resistência à meticilina e outras penicilinas semi-sintéticas (tais como oxacilina, nafcilina e cloxacilina) tiveram grande impacto na terapia das infecções estafilocócicas. Esta característica constitui, há vários anos, um dos aspectos que mais tem merecido a atenção para pesquisas relacionadas à epidemiologia, tratamento e controle das infecções causadas pelos estafilococos.

A resistência à meticilina é conferida por um gene (*mecA*), que codifica uma proteína que se liga à penicilina (*penicillin-binding protein 2a* – PBP2a) com baixa afinidade pelo antimicrobiano. As amostras que a apresentam são frequentemente referidas pela sigla MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), são resistentes aos β -lactâmicos e, muitas vezes, também a vários outros antimicrobianos.

A vancomicina é considerado fármaco de escolha para o tratamento de infecções estafilocócicas graves, especialmente as causadas por amostras de MRSA. Entretanto, o surgimento recente de amostras com suscetibilidade diminuída a esse antimicrobiano (denominadas de VISA, *vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus*), seguido, pouco depois, do isolamento de amostras plenamente resistentes, chama a atenção para a contínua problemática relacionada ao tratamento e controle das infecções causadas pelos estafilococos, sobretudo por *S. aureus*.

A profilaxia das infecções hospitalares tem por base a aplicação de métodos de controle de infecção. O antibiótico mupirocina, de uso tópico, tem sido empregado com sucesso na eliminação da colonização das fossas nasais por *S. aureus*, reduzindo a incidência de infecção de feridas cirúrgicas. Entretanto, amostras resistentes a esse antimicrobiano podem ser encontradas em percentuais bastante variáveis, de instituição para instituição.

I.4 *Escherichia coli* (*E. coli*)

A *E. coli* pertence à família Enterobacteriaceae, composta por bacilos gram-negativos de tamanho médio (0,5 μm de diâmetro e 1,0-3,0 μm de comprimento), Figura 17, são móveis com flagelos peritricos e não formam esporos [132].

Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura de um cluster de *E. coli* ampliado 10000 vezes



Fonte: [133]

O gênero *Escherichia* é composto por cinco espécies, das quais *E. coli* é a mais comum e

importante, do ponto de vista clínico. *Escherichia coli* é o micro-organismo aneróbio facultativo mais abundante no cólon e nas fezes dos seres humanos e de outros animais de sangue quente. Essa bactéria fermenta lactose, característica que a distingue dos dois principais patógenos intestinais, *Shigella* e *Salmonella*. Desenvolve-se bem em meios de cultura utilizados na rotina laboratorial como MacConkey e Teague. *E. coli* possui três antígenos utilizados para identificar o organismo em investigações epidemiológicas: o antígeno O, ou de parede celular; o antígeno H, ou flagelar; e o antígeno K, ou capsular. Uma vez que existem mais de 150 antígenos O, 50 H, 90 K, as várias combinações resultam em mais de 1000 tipos antigênicos de *E. coli*. Sorotipos específicos são associados a determinadas doenças; por exemplo, O55 e O111 causam surtos de diarreia neonatal [72].

I.4.1 Doenças

E. coli é a causa mais comum de infecção do trato urinário e sépsis associada a bacilos gram-negativos. É uma das duas importantes causas de meningite neonatal e o agente associado com maior frequência à diarreia do viajante, uma diarreia aquosa. Pelo menos cinco categorias de amostras causam infecção intestinal por diferentes mecanismos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC). Algumas linhagens de *E. coli* são entero-hemorrágicas e provocam diarreia sanguinolenta [72, 129].

I.4.2 Patogênese [72]

O reservatório de *E. coli* inclui humanos e animais. Essa bactéria possui vários componentes claramente identificados que contribuem para sua capacidade de causar doença: pili, uma cápsula endotoxina, e três exotoxinas (enterotoxinas), duas que causam diarreia aquosa e uma que provoca diarreia sanguinolenta e síndrome hemolítica-urêmica.

I.4.2.1 Infecção do trato intestinal [72]

A primeira etapa corresponde à adesão do organismo às células do jejuno e íleo por meio dos pili que se projetam a partir da superfície bacteriana. Uma vez aderidas, as bactérias sintetizam enterotoxinas (exotoxinas que atuam no trato intestinal), que atuam sobre as células do jejuno e íleo,

causando diarreia. As toxinas são marcadamente células-específicas; as células do cólon não são suscetíveis, provavelmente por serem desprovidas de receptores para a toxina. As linhagens de enterotoxigênicas de *E. coli* podem produzir uma ou ambas enterotoxinas.

A toxina termolábil (LT, do inglês, *labil toxin*) atua estimulando a adenilato ciclase. Tanto a LT como a toxina colérica atuam catalisando a adição de adenosina difosfato ribose (um processo denominado ADP-ribosilação) à proteína G, que estimula a ciclase, e a ativa irreversivelmente. O aumento resultante na concentração de adenosina monofosfato (AMP) cíclico intracelular estimula a proteína quinase dependente de AMP cíclico, que fosforila os transportadores de íons da membrana. Os transportadores exportam íons, causando um extravasamento de fluidos, potássio e cloro a partir dos enterócitos para o lúmen intestinal, resultando em diarreia aquosa. A toxina colérica possui o mesmo mecanismo de ação.

A outra enterotoxina é uma toxina termoestável (ST, do inglês, *stable toxin*) de baixa massa molecular, que estimula o guanilato ciclase.

As linhagens produtoras de enterotoxina não causam inflamação, não invadem a mucosa intestinal e causam diarreia aquosa não sanguinolenta. No entanto, certas linhagens de *E. coli* são enteropatogênicas (enteroinvasivas) e causam doença não pela formação de enterotoxina, mas, pela invasão do epitélio do intestino grosso, provocando diarreia sanguinolenta (disenteria) acompanhada por células inflamatórias (neutrófilos) nas fezes.

Determinadas linhagens entero-hemorrágicas de *E. coli*, isto é, aquelas do sorotipo O157:H7, também causam diarreia sanguinolenta por produzirem uma exotoxina denominada verotoxina, assim denominada por ser tóxica às células Vero (macaco) em cultura e também às células de revestimento do cólon. Essas toxinas são também denominadas toxinas do tipo Shiga, uma vez que são muito similares àquelas produzidas por espécies *Shigella*. A verotoxina atua removendo uma adenina do RNA ribossomal maior (28S), interrompendo, assim, a síntese proteica. As verotoxinas, assim como as toxinas Shiga, são codificadas por bacteriófagos temperados (lisogênicos).

Essas linhagens O157:H7 estão associadas a surtos de diarreia sanguinolenta decorrentes da ingestão de hambúrguer malcozido, frequentemente em restaurantes do tipo *fast-food*. As bactérias na superfície do hambúrguer são mortas por cocção, mas, aquelas presentes no interior sobrevivem. Além disso, o contato direto com animais, por exemplo, visitas a fazendas e zoológicos que permitam contato com os animais, também podem estar associados à diarreia sanguinolenta causada por linhagens O157:H7.

Alguns pacientes acometidos por diarreia sanguinolenta causada por linhagens O157:H7 também apresentam uma complicação de risco à vida, denominada síndrome hemolítica-urêmica, que ocorre quando a verotoxina atinge a corrente sanguínea. Essa síndrome consiste em anemia

hemolítica, trombocitopenia e insuficiência renal aguda.

A anemia hemolítica e insuficiência renal ocorrem porque há receptores para a verotoxina na superfície do endotélio de pequenos vasos sanguíneos, assim como na superfície do epitélio renal. A morte das células endoteliais dos pequenos vasos sanguíneos resulta em uma anemia hemolítica microangiopática, em que as hemácias que atravessam a área danificada tornam-se intensamente distorcidas (esquistócitos) e, em seguida, sofrem lise. A trombocitopenia ocorre porque as plaquetas aderem à superfície endotelial danificada. A morte das células epiteliais dos rins leva à insuficiência renal. O tratamento da diarreia causada por linhagens O157:H7 com antibióticos, como ciprofloxacina aumenta o risco de desenvolvimento da síndrome hemolítico-urêmica por aumentar a quantidade de verotoxina liberada pelas bactérias em processo de morte.

I.4.2.2 Infecção sistêmica [72]

Os outros dois componentes estruturais, a cápsula e a endotoxina, desempenham um papel mais marcante na patogênese da doença sistêmica do que na doença do trato intestinal. O polissacarídeo capsular interfere na fagocitose, intensificando assim a capacidade do organismo causar infecções em vários órgãos. Por exemplo, as linhagens de *E. coli* que causam meningite neonatal geralmente apresentam um tipo capsular específico, denominado antígeno K1. A endotoxina de *E. coli* corresponde ao polissacarídeo da parede celular, sendo responsável por várias características da sépsis por gram-negativos, como febre, hipertensão e coagulação intravascular disseminada.

I.4.2.3 Infecção do trato urinário [72]

Certos sorotipos O de *E. coli* causam preferencialmente infecções do trato urinário. Essas linhagens uropatogênicas caracterizam-se por pili contendo proteínas adesinas que se ligam a receptores específicos do epitélio do trato urinário. O sítio de ligação desses receptores consiste em dímeros de galactose (dímeros de Gal-gal). A motilidade de *E. coli* pode auxiliar em sua capacidade de ascender pela uretra até a bexiga, bem como ascender pelo ureter até o rim.

I.4.3 Tratamento clínico [72]

O tratamento de infecções por *E. coli* depende do sítio da doença e do perfil de resistência do isolado específico. Resistência a sulfonamidas, trimetoprima, ampicilina e cloranfenicol é frequente,

INTRODUÇÃO

enquanto a resistência à ciprofloxacina é rara. Por exemplo, uma infecção não complicada do trato urinário inferior pode ser tratada com trimetoprim-sulfametoxazol oral ou uma penicilina oral, por exemplo, ampicilina, por apenas 1-3 dias. Entretanto, a sépsis por *E. coli* requer tratamento com antibióticos parenterais (por exemplo, uma cefalosporina de terceira geração, como cefotaxima, associada ou não a um aminoglicosídeo, como a gentamicina). Para o tratamento de meningite neonatal, geralmente é administrada uma combinação de ampicilina e cefotaxima. A terapia antibiótica usualmente não é indicada para doenças diarreicas por *E. coli*. Contudo, a administração de trimetoprim-sulfametoxazol ou loperamida pode diminuir a duração dos sintomas. Tipicamente, apenas a reidratação é necessária nessa doença autolimitante.

II OBJETIVOS

II.1 Objetivo Central

- Preparar, caracterizar e avaliar as atividades biológicas de complexos de cobre(II) contendo moléculas bioativas e ligantes nitrogenados.

II.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar complexos de cobre(II) contendo etambutol (EMB), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA), ácido isonicotínico (Hina), diaminas derivadas da 1,2-etanodiamina, diaminas derivadas da 1,3-propanodiamina e aminoalcóois como ligantes, bem como caracterizá-los por meio de análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de absorção eletrônica, ressonância paramagnética eletrônica e técnicas termogravimétricas. O estudo morfológico e a avaliação textural de alguns dos compostos obtidos também constituem-se em um dos objetivos do trabalho.
- Avaliar a atividade extracelular *in vitro* dos complexos de cobre(II) frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294.
- Determinar a citotoxicidade (IC₅₀) dos compostos que apresentaram CIM ≤ 10 µg mL⁻¹ utilizando cultura celular de macrófagos de linhagem J774.
- Determinar a atividade frente ao *M. tuberculosis in vitro* dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (**4**), [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) frente aos 14 isolados clínicos selecionados de um painel, com perfil de sensibilidade/resistência.
- Determinar a atividade extracelular *in vitro* dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (**4**), [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) incorporados em microemulsão lipídica frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294
- Determinar a atividade antibacteriana *in vitro* dos complexos de cobre(II) frente às espécies *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 25922).

III EXPERIMENTAL

III.1 Procedência dos Reagentes e Solventes

Os reagentes (p.a.) foram utilizados nas sínteses sem purificação prévia. Os ligantes *N*-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2), *N*, *N'*-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3), *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (L4), *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5), *N*-tetradecil-2-amino-etanol (L6), *N*-tetradecil-2-amino-propanol (L7), 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (L8) e *N*-tetradecil dietanolamino (L9) foram preparados pelo Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida, da Universidade Federal de Juiz de Fora, de acordo com métodos descritos na literatura [134-136].

Os solventes (p.a.) empregados nas reações foram tratados com peneira molecular e armazenados em frascos de vidro escuro. A procedência dos reagentes e solventes utilizados neste trabalho está compilada na Tabela 1.

Tabela 1 - Procedência de reagentes e solventes

Reagentes	Procedência	Solventes	Procedência
Ácido isonicotínico	Acros Organic	Acetona	Merck
Brometo de potássio	Merck	Acetonitrila	Merck
Cianato de potássio	Riedel-de-Haen	Álcool etílico	Mallickrodt Chemical
Cloreto de cobre dihidratado	Riedel-de-Haen	Álcool metílico	Tedia
Cloridrato de etambutol	Pharma Nostra/Zhejiang	Clorofórmio	Merck
Iodeto de potássio	Sigma	Dimetilsulfóxido	Aldrich
Isoniazida	Pharma Nostra/Zhejiang Jiangsei	Dimetilformamida	Merck
Pirazinamida	Pharma Nostra/Calyx	Pentano	Synth
Sulfato de cobre(II) pentahidratado	Cromato Produtos Químicos	Tetra-hidrofurano	Merck
Tiocianato de sódio	Riedel-de-Haen		

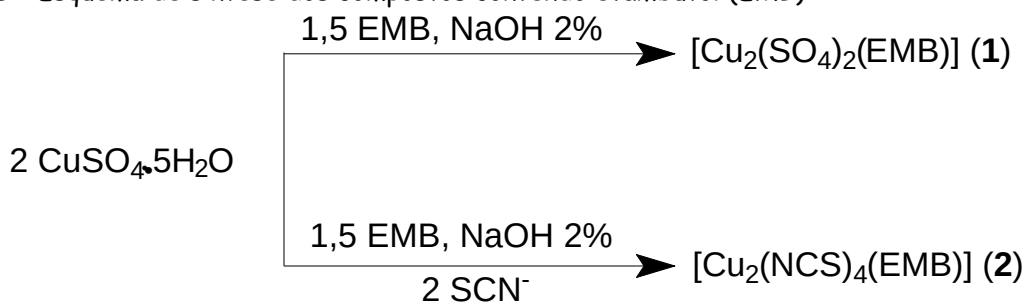
Fonte: Autora

III.2 Metodologias de Síntese

III.2.1 Metodologia para preparação dos complexos contendo etambutol (1-2) [137-139]

Os complexos de cobre foram preparados em meio aquoso com hidróxido de sódio a 2%, à temperatura ambiente, conforme o esquema apresentado na Figura 18.

Figura 18 - Esquema de síntese dos compostos contendo etambutol (EMB)

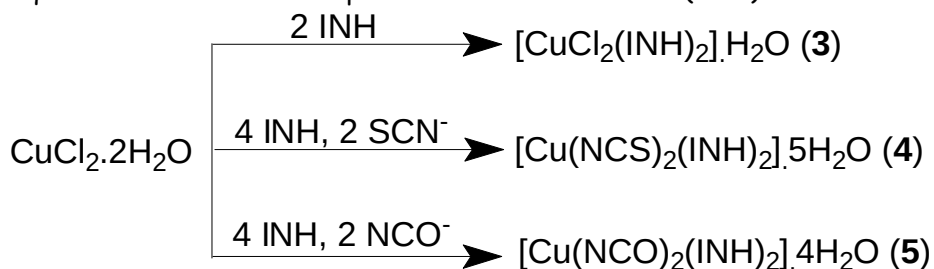


Fonte: Autora

III.2.2 Metodologia para preparação dos complexos contendo isoniazida (3-5) [140, 141]

Os complexos de cobre foram preparados em metanol, à temperatura ambiente, conforme o esquema apresentando na Figura 19.

Figura 19 - Esquema de síntese dos compostos contendo isoniazida (INH)



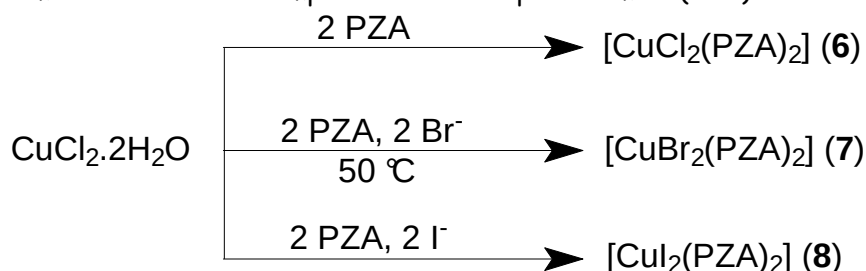
Fonte: Autora

III.2.3 Metodologia para preparação dos complexos contendo pirazinamida (6-8)

Os complexos 6 e 7 foram preparados conforme procedimento da literatura, com algumas

modificações [140, 142, 143], conforme o esquema apresentado na Figura 20.

Figura 20 - Esquema de síntese dos compostos contendo pirazinamida (PZA)

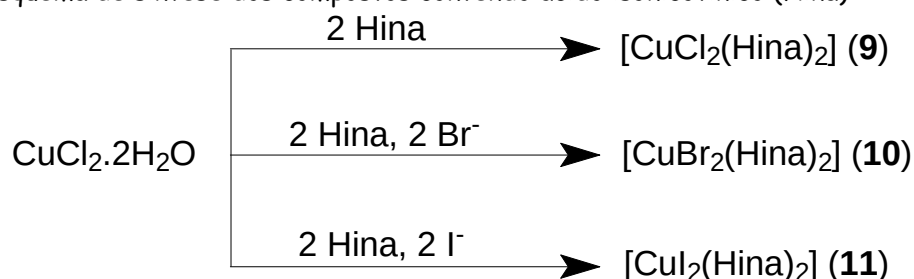


Fonte: Autora

III.2.4 Metodologia para preparação dos complexos contendo ácido isonicotínico (9-11)

Cabe destacar que apesar dos complexos **10** e **11** já serem conhecidos da literatura [144], foram re-preparados, mas, com algumas modificações nas rotas sintéticas conforme o esquema apresentado na Figura 21.

Figura 21 - Esquema de síntese dos compostos contendo ácido isonicotínico (Hina)

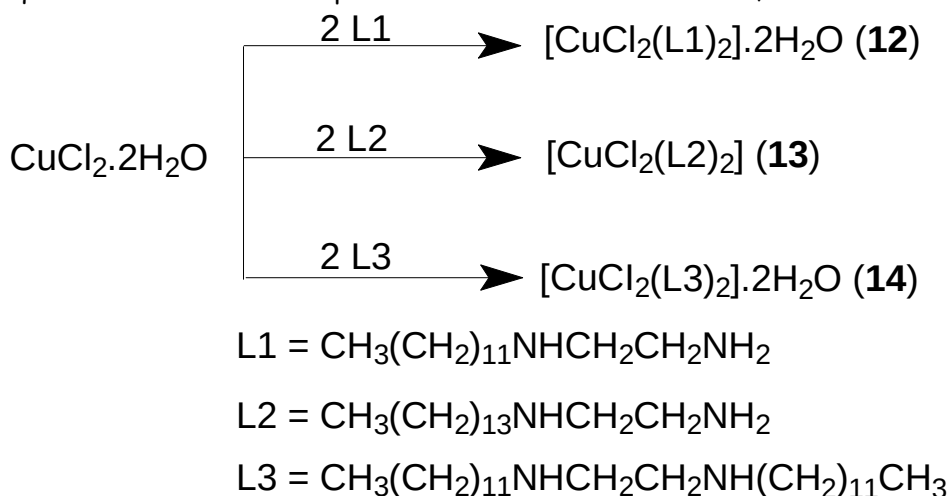


Fonte: Autora

III.2.5 Metodologia para preparação dos complexos contendo derivados da 1,2-etanodiamina (12-14)

Os complexos de cobre foram preparados em meio etanólico, à temperatura ambiente, conforme o esquema apresentando na Figura 22.

Figura 22 - Esquema de síntese dos compostos contendo os derivados da 1,2-etanodiamina

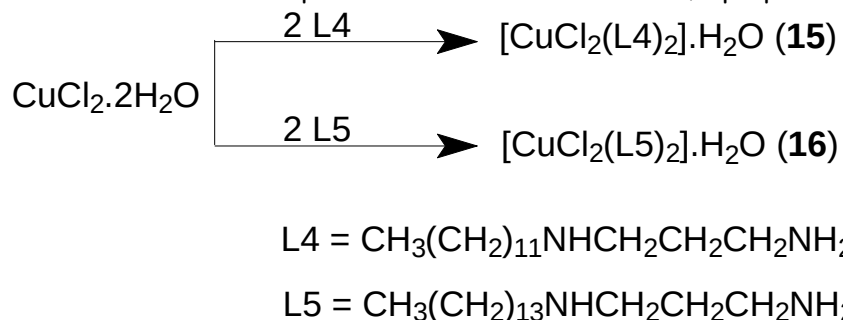


Fonte: Autora

III.2.6 Metodologia para preparação dos complexos contendo derivados da 1,3-propanodiamina (15-16)

Os compostos contendo derivados da 1,3-propanodiamina foram sintetizados conforme o esquema apresentando na Figura 23.

Figura 23 - Esquema de síntese dos compostos contendo derivados da 1,3-propanodiamina

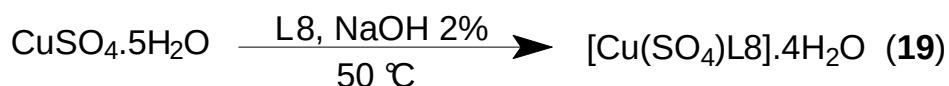
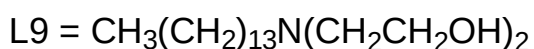
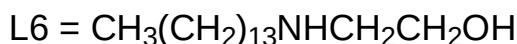
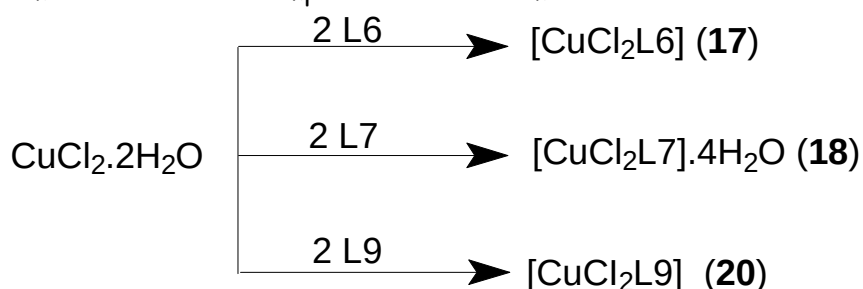


Fonte: Autora

III.2.7 Metodologia para preparação dos complexos contendo aminoálcoois

Os compostos contendo os aminoálcoois foram sintetizados em meio etanólico, conforme o esquema apresentado na Figura 24.

Figura 24 - Esquema de síntese dos compostos contendo aminoálcoois



Fonte: Autora

III.3 Caracterização dos Compostos

III.3.1 Análise elementar

As análises elementares foram realizadas pela Central Analítica do IQ-USP-SP usando um microanalisador ELEMENTAR ANALYSER CHN modelo 2400 Perkin-Elmer, que permite a determinação de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio com precisão de $\pm 0,5\%$.

III.3.2 Complexometria com EDTA [145]

Para a análise do teor de cobre foram pesados 5 mg da amostra em uma balança analítica com incerteza de 0,01 mg. A amostra foi aberta pela adição de cinco gotas de solução aquosa de HNO_3 (70 % m/m) a quente. Após resfriamento, adicionou-se 1,0 mL de solução tampão de acetato de amônio $0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e, em seguida, um excesso conhecido de solução de EDTA, suficiente para complexar todo o metal presente na amostra. Seguiu-se o ajuste do pH para 5,0 ($\pm 0,1$) e a adição do indicador alaranjado de xilenol, em quantidade suficiente para observar a cor amarela. Em seguida, a mesma foi submetida à titulação com solução de ZnCl_2 $0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, previamente padronizada com EDTA. A

EXPERIMENTAL

viragem foi observada pelo aparecimento de cor rosa. O teor de cobre foi calculado pela seguinte equação:

$$T_{Cu} = M_{Cu} \times (C_{EDTA} \times V_{EDTA} - C_{ZnCl_2} \times V_{ZnCl_2}) \div m_{amostra}$$

Onde, T_{Cu} = teor de cobre

M_{Cu} = massa molar do cobre

C_{EDTA} = concentração da solução de EDTA

V_{EDTA} = volume da solução de EDTA

C_{ZnCl_2} = concentração da solução de cloreto de zinco

V_{ZnCl_2} = volume da solução de cloreto de zinco

$m_{amostra}$ = massa da amostra pesada

III.3.3 Intervalos de fusão

Intervalos de fusão foram determinados no aparelho MQAPF-302, que alcança a temperatura máxima de 350 °C.

III.3.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Spectrometer Spectrum2000 (4000 – 400 cm^{-1}) da Perkin Elmer, com resolução de 4 cm^{-1} , usando pastilhas de KBr.

III.3.5 Espectroscopia eletrônica na região do UV/Vis

Todos os espectros eletrônicos foram obtidos em solução metanólica, utilizando-se o espectrofotômetro UV-Vis Spectrometer Lambda 14P da Perkin Elmer (190 – 1100 nm) ou o espectrofotômetro Cary 5000 da Varian (175 - 1100 nm), utilizando cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico.

Os espectros de absorção eletrônica com medida de reflectância, para os compostos no estado sólido, foram obtidos no espectrofotômetro Cary 5000 da Varian (175 – 1100 nm) utilizando MgO como referência.

III.3.6 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR)

Esta parte do trabalho foi realizada em colaboração com a Profa. Dra. Ana Maria da Costa Ferreira, do Instituto de Química de São Paulo – USP. Os espectros de EPR foram obtidos no espectrômetro BRUKER, modelo EMX, operando na banda X (9,33 GHz), com potência de 20 mW e frequência de modulação de 100 kHz. Os experimentos foram realizados à 77K, no estado sólido ou em solução congelada de DMSO ou DMF, ou em solução de metanol.

III.3.7 Análise térmica (Termogravimetria e análise térmica diferencial)

As curvas TGA-DTA foram obtidas utilizando o equipamento SDTQ 600 da TA Instruments pertencente ao Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Alfenas e no equipamento SDTQ 2960 da TA Instruments pertencente ao Departamento de Química Analítica do Instituto de Química de Araraquara – UNESP. Os termopares para amostra e referência foram de Pt / Pt-Rh 13 % (m/m) com sensibilidade da balança 0,1 µg e exatidão de ±1 %. O sistema foi calibrado seguindo as especificações fornecidas pelo fabricante. As curvas foram obtidas em cadinhos de α-Al₂O₃ (40 µL), com razão de aquecimento de 20 °C•min⁻¹, sob atmosfera dinâmica de ar sintético com vazão de 100 mL min⁻¹ e intervalo de temperatura de 25-1000 °C.

III.3.8 Difratometria de raios X: método do pó

Os difratogramas de raios X dos resíduos provenientes da decomposição térmica dos complexos foram obtidos em um difratômetro Siemens D-5000 utilizando a radiação Cu Kα ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$). As amostras foram colocadas em suportes de vidro próprios do equipamento e expostas à radiação ($5^\circ \leq 2\theta \leq 70^\circ$). A identificação foi feita por comparação com a base de dados International Centre for Diffraction Data (ICDD).

III.3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas em um microscópio de alta resolução (TOPCON SM-300) operando entre 10 e 20 KV. As amostras foram colocadas em suporte, cobertas com uma fina camada de ouro.

III.3.10 Experimentos de adsorção de nitrogênio - ASAP

Informações sobre a textura porosa das amostras foram obtidas através dos dados de adsorção-desorção de N₂, usando o método volumétrico estático e intervalo de pressão relativa entre 0,002 e 0,998, e o equipamento ASAP 2010 – Micromeritics, equipado com transdutores para baixas ($p < 10\text{mmHg}$) e altas pressões ($10 < p < 1000\text{mmHg}$). As amostras foram pré-tratadas a 100°C sob vácuo da ordem de 10⁻³ mmHg, durante 4 horas, para eliminar vapores adsorvidos na superfície das amostras.

III.4 Sínteses dos Compostos

Foram sintetizados neste trabalho 14 compostos de cobre(II) inéditos: [Cu₂(NCS)₄(EMB)] (2), [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (4), [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (5), [CuI₂(PZA)₂] (8), [CuCl₂(Hina)₂] (9), [CuCl₂(L1)₂]·2H₂O (12), [CuCl₂(L2)₂] (13), [CuCl₂(L3)₂]·2H₂O (14), [CuCl₂(L4)₂]·H₂O (15), [CuCl₂(L5)₂]·H₂O (16), [CuCl₂L6] (17), [CuCl₂L7]·4H₂O (18), [Cu(SO₄)L8]·4H₂O (19) e [CuCl₂L9] (20).

III.4.1 Síntese do composto [Cu₂(SO₄)₂(EMB)] (1) [137-139]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,500 g (2,00 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O), dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução aquosa contendo 0,400 g (1,44 mmol) de cloridrato de etambutol; em seguida, adicionou-se 10 mL de uma solução de hidróxido de sódio 2%, conduzindo à formação de uma suspensão de cor azul escura. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de cor azul obtido foi isolado por filtração, lavado com água e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol e THF. Rendimento: 62,0 %. P.f. (°C) = 118. Análise Elementar: obtido (calculado para Cu₂C₁₀N₂H₂₄O₁₀S₂) %C = 23,4 (23,0); %N = 6,50 (5,35); %H = 4,62 (4,25); %Cu = 24,8 (24,3).

III.4.2 Síntese do composto [Cu₂(NCS)₄(EMB)] (2)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,500 g (2,00 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O), dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução aquosa contendo 0,400 g (1,44 mmol) de cloridrato de etambutol; em seguida, adicionou-se 6,0 mL de uma solução de hidróxido de sódio 2%,

EXPERIMENTAL

conduzindo a uma suspensão azul. Manteve-se sob agitação magnética por 5 minutos e em seguida, gotejou-se 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,324 g (4,00 mmol) de tiocianato de sódio (NaSCN), o que conduziu à formação de uma suspensão de cor azul esverdeada. A agitação magnética foi mantida por 1 h e o composto de cor verde obtido foi isolado por filtração, lavado com metanol e água e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO e THF. Rendimento: 40,0 %. P.f. (°C) = 134. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{Cu}_2\text{C}_{14}\text{N}_6\text{H}_{24}\text{O}_2\text{S}_4$) %C = 29,5 (29,8); %N = 13,5 (14,9); %H = 4,29 (4,29); %Cu = 21,2 (22,5).

III.4.3 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) [140, 141]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 15 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,0804 g (0,586 mmol) de isoniazida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde clara. A agitação magnética foi mantida durante 3 h, o composto de cor verde claro obtido foi isolado por filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e DMF. Rendimento: 52,0 %. P.f. (°C) = 153 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{12}\text{N}_6\text{H}_{14}\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 31,8 (33,8); %N = 21,4 (19,7); %H = 2,47 (2,38); %Cu = 15,3 (15,6).

III.4.4 Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 15 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,161 g (1,17 mmol) de isoniazida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde clara. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,0475 g (0,0586 mmol) de tiocianato de sódio (NaSCN). A agitação magnética foi mantida durante 3 h e o composto de cor verde-musgo obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 40 %. P.f. (°C) = 149. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{14}\text{N}_8\text{H}_{24}\text{O}_7\text{S}_2$) %C = 31,5 (30,9); %N = 20,2 (20,6); %H = 2,46 (4,45); %Cu = 11,0 (11,7).

III.4.5 Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 15 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,161 g (1,17 mmol) de isoniazida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde clara. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,0476 g (0,0587 mmol) de cianato de potássio (KCNO). A agitação magnética foi mantida durante 5 h e o composto de cor azul escuro obtido foi isolado a partir de uma filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 33 %. P.f. ($^{\circ}\text{C}$) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{14}\text{N}_8\text{H}_{22}\text{O}_8$) %C = 34,0 (34,0); %N = 18,0 (22,7); %H = 3,06 (4,49); %Cu = 13,6 (13,0).

III.4.6 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6) [140, 142, 143]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,144 g (1,17 mmol) da molécula pirazinamida, resultando em uma suspensão de cor verde água. A agitação magnética foi mantida durante 3 h, o composto foi isolado a partir da filtração da suspensão, em seguida foi lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em DMSO. Rendimento: 45,0 %. P.f. ($^{\circ}\text{C}$) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{10}\text{N}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 30,0 (31,8); %N = 21,5 (22,2); %H = 2,60 (2,13); %Cu = 16,0 (16,9).

III.4.7 Síntese do composto $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7) [142]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 2,50 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50 $^{\circ}\text{C}$, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,0710 g (0,586 mmol) de pirazinamida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde água. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,140 g (1,17 mmol) de brometo de potássio (KBr). A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de cor verde obtido foi isolado via filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em acetonitrila, DMF, DMSO e THF. Rendimento: 60,0 %. P.f. ($^{\circ}\text{C}$) > 250. Análise Elementar: obtido

EXPERIMENTAL

(calculado para $\text{CuC}_{10}\text{N}_6\text{H}_{10}\text{O}_2\text{Br}_2$) %C = 28,0 (25,5); %N = 18,9 (17,9); %H = 2,47 (2,15); %Cu = 13,1 (13,6).

III.4.8 Síntese do composto $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 2,50 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,0710 g (0,586 mmol) de pirazinamida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde água. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,0974 g (0,586 mmol) de iodeto de potássio (KI). A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de cor marrom alaranjado obtido foi isolado via filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em acetonitrila, DMF, DMSO e THF. Rendimento: 40,0 %. P.f. ($^{\circ}\text{C}$) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{10}\text{N}_6\text{H}_{10}\text{O}_2\text{I}_2$) %C = 21,0 (21,3); %N = 14,1 (14,9); %H = 1,82 (1,79); %Cu = 13,0 (11,3).

III.4.9 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (9)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,586 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 10 mL de metanol (solução verde claro), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,144 g (1,17 mmol) de ácido isonicotínico, conduzindo a formação de uma suspensão azul clara. A agitação magnética foi mantida durante 1 h, o composto azul claro obtido foi isolado via filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em metanol e DMSO. Rendimento: 95,0 %. P.f. ($^{\circ}\text{C}$) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{12}\text{N}_2\text{H}_8\text{O}_4\text{Cl}_2$) %C = 37,7 (38,1); %N = 7,35 (7,40); %H = 2,54 (2,13); %Cu = 15,9 (16,8).

III.4.10 Síntese do composto $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (10) [144]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,586 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 10 mL de metanol (solução verde claro), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,144 g (1,17 mmol) de ácido isonicotínico, conduzindo à formação de uma suspensão azul clara. Em seguida, gotejou-se cerca de 4,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,140 g (1,18 mmol) de brometo de potássio (KBr).

EXPERIMENTAL

A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto verde água obtido foi isolado via filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em metanol, acetonitrila, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 80,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{12}\text{N}_2\text{H}_8\text{O}_4\text{Br}_2$) %C = 36,7 (31,1); %N = 7,13 (6,00); %H = 3,07 (1,72); %Cu = 13,5 (15,0).

III.4.11 Síntese do composto $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11) [144]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,586 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 10 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,144 g (1,17 mmol) de ácido isonicotínico, conduzindo à formação de uma suspensão azul clara. Em seguida, gotejou-se cerca de 4,0 mL de uma solução aquosa contendo 0,195 g (1,17 mmol) de iodeto de potássio (KI). A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto marrom alaranjado obtido foi isolado a via filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é pouco solúvel em acetona, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 70,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{12}\text{N}_2\text{H}_8\text{O}_4\text{I}_2$) %C = 26,2 (25,7); %N = 5,11 (4,99); %H = 2,21 (1,44); %Cu = 13,1 (11,3).

III.4.12 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 4,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,1371 g (0,586 mmol) do ligante *N*-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), conduzindo à formação de uma suspensão de cor azul-hortência. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto lilás obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 52,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{28}\text{N}_4\text{H}_{68}\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 49,0 (53,6); %N = 8,13 (8,93); %H = 11,3 (10,9).

III.4.13 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0250 g (0,147 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 3,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,0750 g (0,293 mmol) do ligante *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2), conduzindo à formação de uma suspensão de cor

EXPERIMENTAL

azul clara. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de cor lilás obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 38,3 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{32}\text{N}_4\text{H}_{72}\text{Cl}_2$) %C = 59,1 (59,4); %N = 8,80 (8,66); %H = 10,6 (11,2); %Cu = 11,5 (9,82).

III.4.14 Síntese do Composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0215 g (0,126 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 4,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,100 g (0,252 mmol) do ligante *N,N'*-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3), conduzindo à formação de uma suspensão de cor azul clara. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de lilás claro obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 35,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{52}\text{N}_4\text{H}_{116}\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 65,0 (64,0); %N = 5,97 (5,82); %H = 11,8 (12,1).

III.4.15 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (15)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0352 g (0,206 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 4,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,100 g (0,413 mmol) do ligante *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (L4), conduzindo à formação de uma solução azul royal. A agitação magnética foi mantida durante 3 h. A partir da evaporação lenta do solvente, observou-se a formação de monocristais azuis, que foram submetidos à caracterização estrutural via DRX de monocristal (Departamento de Química – Universidade de Aveiro, Portugal). O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 32,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{30}\text{N}_4\text{H}_{70}\text{OCl}_2$) %C = 57,2 (56,5); %N = 9,25 (8,80); %H = 10,2 (11,1).

III.4.16 Síntese do Composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (16)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0500 g (0,293 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 4,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,158 g (0,586 mmol) do ligante *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5), conduzindo à formação de uma suspensão de cor azul

EXPERIMENTAL

clara. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o composto de cor azul claro obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em metanol, DMSO, DMF e THF. Rendimento: 40,0 %. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{34}\text{N}_4\text{H}_{78}\text{OCl}_2$) %C = 57,1 (58,9); %N = 8,30 (8,08); %H = 9,80 (11,3).

III.4.17 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (17)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0250 g (0,147 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,0755 g (0,294 mmol) do ligante *N*-tetradecil-2-amino-etanol (L6), conduzindo à formação de uma suspensão de cor azul clara. A agitação magnética foi mantida durante 2 h e o composto de cor verde claro obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e pouco solúvel em metanol. Rendimento: 40,0 %. P.f. (°C) 107-180 °C. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{16}\text{NH}_{35}\text{OCl}_2$) %C = 52,5 (49,0); %N = 3,97 (3,57); %H = 9,75 (9,00); %Cu = 19,0 (16,2).

III.4.18 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (18)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0250 g (0,147 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,0796 g (0,294 mmol) do ligante *N*-tetradecil-2-amino-propanol (L7), conduzindo à formação de uma suspensão verde clara. A agitação magnética foi mantida durante 2 h e o composto de cor verde claro obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e pouco solúvel em metanol. Rendimento: 32,0 %. P.f. (°C) = 105 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{17}\text{NH}_{45}\text{O}_5\text{Cl}_2$) %C = 40,8 (42,7); %N = 3,13 (2,93); %H = 8,34 (9,49).

III.4.19 Síntese do composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (19)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0441 g (0,175 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50 °C, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,0500 g (0,175 mmol) do ligante 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (L8); em seguida, adicionou-se 1,0 mL

EXPERIMENTAL

de uma solução de hidróxido de sódio 2%, conduzindo à formação de uma suspensão de cor verde água. A agitação magnética foi mantida durante 7 h e o composto verde água obtido foi isolado a partir de filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO, DMF e pouco solúvel em metanol. Rendimento: 32,0 %. P.f. (°C) = 211-230. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{18}\text{NH}_{47}\text{O}_9\text{S}$) %C = 39,2 (41,8); %N = 2,54 (2,71); %H = 7,88 (9,16).

III.4.20 Síntese do composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,0250 g (0,147 mmol) de cloreto de cobre(II) dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dissolvido em 5,0 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura ambiente, foi gotejada uma solução etanólica contendo 0,0885 g (0,294 mmol) do ligante *N*-tetradecildietanolamina (L9), conduzindo à formação de uma suspensão verde clara. A suspensão permaneceu sob agitação magnética por 1 hora e o composto verde claro obtido foi isolado a partir de uma filtração, lavado com etanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e pouco solúvel em metanol. Rendimento: 42%. P.f. (°C) 129-140 °C. Análise Elementar: obtido (calculado para $\text{CuC}_{18}\text{NH}_{39}\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 52,5 (49,6); %N = 3,38 (3,21); %H = 9,36 (9,51).

III.5 Formulação da Microemulsão Lipídica e Incorporação dos Compostos

Em colaboração com o Prof. Dr. Marlus Chorilli, do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP foram realizados experimentos de formulação de microemulsão lipídica e incorporação dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5) na formulação preparada.

III.5.1 Composição da Formulação

A microemulsão lipídica utilizada nesse trabalho tem a seguinte composição:

- Colesterol (fase oleosa) – 10%
- Tampão fosfato pH 7,4 – 80%
- Sistema tensoativo – 10%, constituído de oleato de sódio (OS), fosfatidilcolina de soja (FS – Epikuron® 200) e óleo de rícino polioxil-40-hidrogenado (ORPH – Eumulgin® HRE 40).

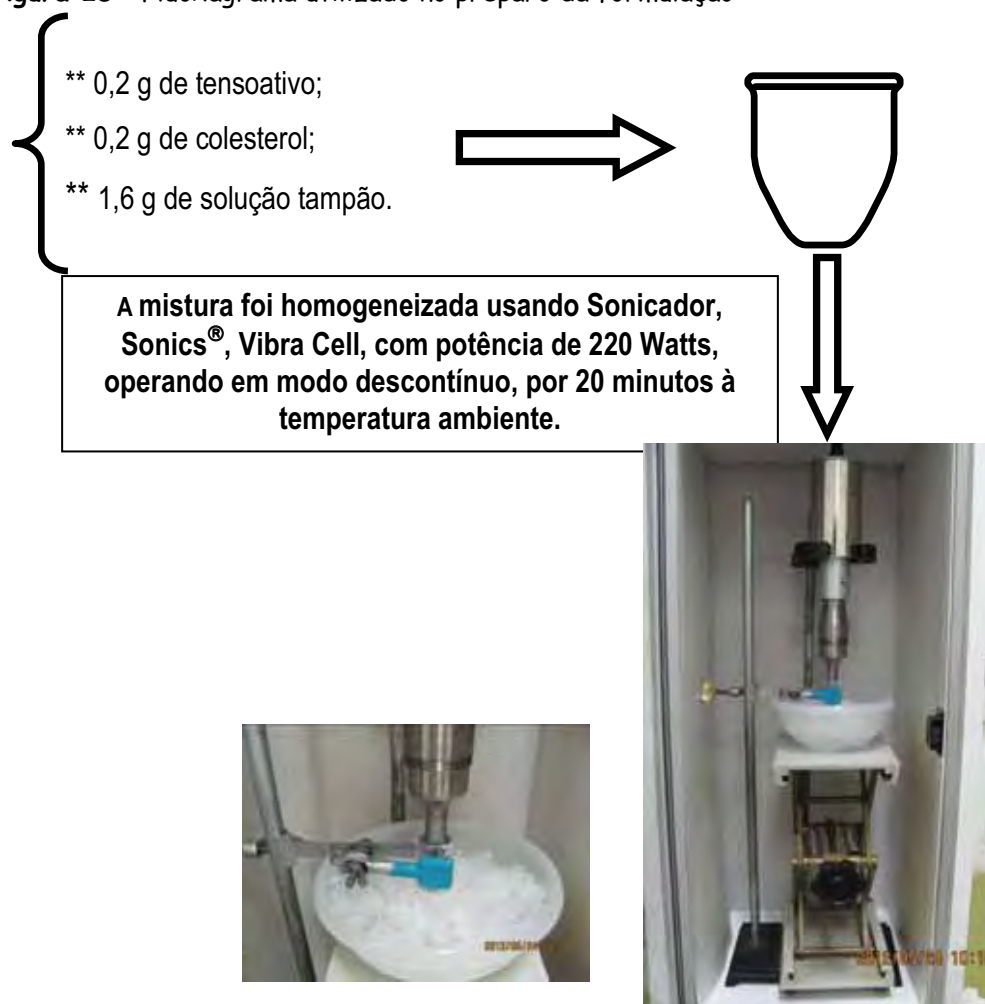
III.5.1.1 Preparo do sistema tensoativo

Uma massa de 6,000 g de oleato de sódio foi adicionado no gral e macerado; em seguida, acrescentou-se 3,000 g de fosfatidilcolina de soja misturando-se adequadamente. Finalmente, adicionou-se 8,000 g do óleo de rícino polioxil-40-hidrogenado e homogeneizou-se. A mistura obtida foi armazenada sob refrigeração.

III.5.2 Preparo da formulação

A formulação foi preparada seguindo o fluxograma representado na Figura 25.

Figura 25 - Fluxograma utilizado no preparo da formulação



Fonte: Autora

III.5.3 Incorporação dos compostos na microemulsão lipídica

Após obter a microemulsão, incorporou-se os compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5) através do seguinte procedimento experimental:

Em um frasco adequado, adicionou-se 0,100 mg do composto (4) ou (5) e 2 mL da microemulsão lipídica e homogeneizou-se a mistura sonicando por 20 minutos à temperatura ambiente em modo descontínuo para que houvesse a incorporação do material na microemulsão lipídica na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

III.6 Ensaios de Atividade Biológica

III.6.1 *Mycobacterium tuberculosis*

III.6.1.1 Testes microbiológicos para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente ao *M. tuberculosis* [146]

Em colaboração com a Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e o Dr. Fernando Rogério Pavan, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, foram realizados ensaios microbiológicos frente ao *M. tuberculosis*, linhagem H₃₇Rv ATCC 27194 para todos os complexos preparados neste trabalho, com o intuito de determinar sua capacidade de inibir a reprodução das micobactérias.

Solução reveladora

Foi preparada uma mistura 1:1 v/v contendo azul de Alamar (ACCUMED INTERNATIONAL) e solução de Tween 80 (INTERLAB) a 10%. Esta mistura foi preparada imediatamente antes da adição aos orifícios da microplaca.

Preparação da suspensão bacteriana

As cepas foram cultivadas em caldo Middlebrook 7H9 (Difco™) enriquecido com OADC (BD/BBL®) e incubadas por aproximadamente 10 dias a 37 °C até obtenção de uma grande quantidade de massa bacilar. Na sequência, foi realizada colheita da suspensão de micobactérias e lavagem com PBS, acrescido de Tween 80 à 0,05% através de centrifugação por 15 minutos a 3150 g ($\approx 3000 \text{ rpm}$) por 2 vezes. O sedimento obtido foi ressuspenso em 50 mL do mesmo tampão. Essa suspensão foi aliquoteada em microtubos e congelada a -80 °C. Semeou-se, então, 100 μL da suspensão pura e das

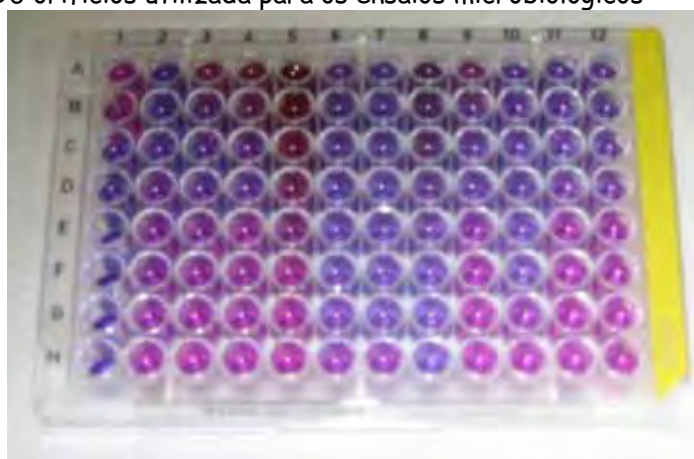
EXPERIMENTAL

diluições: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} em placas de 3 quadrantes contendo meio Middlebrook 7H11 (Difco™) acrescido de 10% de OADC. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C com 5% de CO₂ por até 20 dias para a realização da contagem das unidades formadoras de colônias mL⁻¹ (UFC mL⁻¹).

Determinação da CIM em microplaca utilizando azul de Alamar como revelador

A determinação da CIM frente às cepas padrões de *M. tuberculosis* H₃₇Rv foi realizada segundo técnica proposta por Collins & Franzblau [146], denominada MABA. Em uma microplaca estéril de 96 orifícios, distribuídos em oito fileiras horizontais e doze verticais, conforme ilustra a Figura 26, foram depositados 200 µL de água destilada estéril em todos os orifícios da periferia da microplaca, para evitar a evaporação durante a incubação na estufa. Cada orifício recebeu um volume total igual a 200 µL entre caldo Middlebrook 7H9 suplementado com OADC, solução de dimentilsulfóxido do complexo e a suspensão bacteriana. Os orifícios restantes foram usados para os controles necessários: controle do meio (200 µL do caldo Middlebrook 7H9, sem bactérias), controle positivo (100 µL do caldo Middlebrook 7H9 + 100 µL de suspensão bacteriana) e controle da droga (150 µL do caldo Middlebrook 7H9 + 50 µL da droga a ser testada). As placas foram, então, seladas com parafilme e incubadas a 37 °C por 7 dias com 5% de CO₂ em seguida, foram adicionados 25 µL do indicador azul de Alamar em cada um dos orifícios e as placas foram incubadas novamente por 24 h e a fluorescência foi medida no leitor de microplacas SPECTRAFLUOR (Tecan®).

Figura 26 - Placa de 96 orifícios utilizada para os ensaios microbiológicos



Fonte: Autora

Experimentos de citotoxicidade (IC₅₀) para alguns complexos e a determinação da atividade anti-*M. tuberculosis* dos compostos **4** e **5** frente a isolados clínicos selecionados de um painel, com perfil de

sensibilidade/resistência também foram realizados (ver a seguir).

III.6.1.2 Testes citológicos para determinação da citotoxicidade (IC_{50}) e índice de seletividade (IS)

Citotoxicidade (IC_{50})

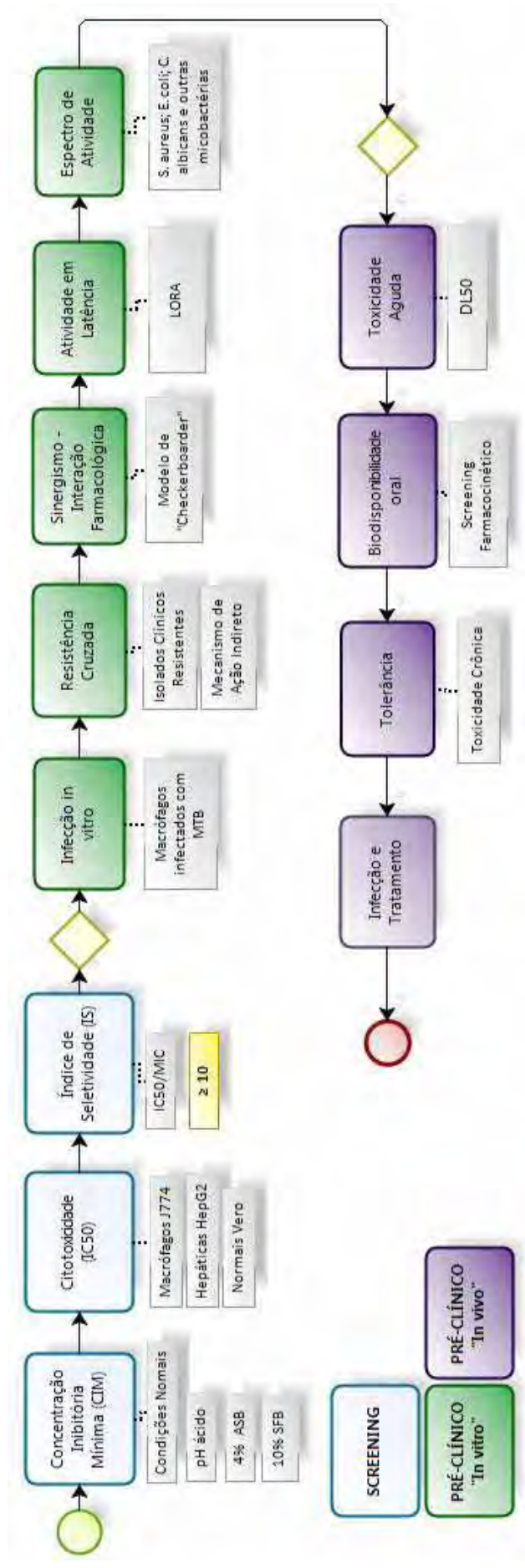
Os ensaios para a determinação do Índice de Citotoxicidade (IC_{50}) ou Viabilidade Celular foram realizados *in vitro* frente a macrófagos da linhagem J774. A linhagem J774 foi mantida a 37 °C, com 5% de CO₂, em garrafas com superfície de 12,5 cm², contendo 10 mL de meio de cultura RPMI 1640 (GIBCO), suplementado com 10% de soro fetal bovino. A técnica consiste em coletar linhagens celulares por raspagem (utilizando scraper), centrifugação e contagem do número de células ajustando para 1×10^5 células mL⁻¹ em meio RPMI. As células foram incubadas a 37 °C em atmosfera de 5 % de CO₂ por 24 a 48 horas. Em seguida, foram preparadas diluições dos complexos a serem testados, os quais foram adicionados às células após a retirada do meio, sendo novamente incubadas. A citotoxicidade do complexo foi determinada pela adição do revelador Resazurina. O revelador age como indicador de crescimento celular e/ou viabilidade, sendo que a cor azul representa a ausência de crescimento/inviabilidade celular, enquanto que a rosa indica crescimento ou viabilidade [147]. A leitura final foi baseada na medida da luminescência no microfluorímetro SpectraFluor Plus da TECAN®.

Índice de seletividade (IS)

O índice de seletividade (IS) pode ser calculado pela divisão dos valores de IC_{50} pelos valores de CIM. Um IS igual ou superior a 10 indica que o composto em análise pode ser aplicado na concentração 10 ou mais vezes acima do valor de CIM sem apresentar citotoxicidade [148]. Portanto, se forem obtidos valores de IS igual ou superiores a 10, os compostos são bastante promissores, sendo recomendável, portanto, a continuidade do protocolo de análises conforme o *pipeline* apresentado na Figura 27.

EXPERIMENTAL

Figura 27 - Pipeline: Pesquisa de novos fármacos anti-TB, Laboratório "Prof. Dr. Hugo David" FCFAR/UNESP Araraquara



Fonte: [149]

III.6.1.3 Determinação da atividade anti-*M. tuberculosis* dos compostos 4 e 5 frente a isolados clínicos selecionados de um painel, com perfil de sensibilidade/resistência

Os isolados clínicos foram cedidos por Dr. Fernando Augusto Fiúza de Melo do Instituto Clemente Ferreira de São Paulo. Todos os isolados já vieram com o perfil de sensibilidade/resistência para os fármacos INH, RMP, EST e EMB, determinado pelo sistema automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 utilizando o SIRE Kit (BD®), seguindo recomendações do fabricante com as seguintes concentrações críticas para os fármacos: INH (0,1 µg mL⁻¹), RMP (1,0 µg mL⁻¹), EST (1,0 µg mL⁻¹) e EMB (5,0 µg mL⁻¹).

Valores de CIM dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (**4**) e [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) frente ao painel de isolados clínicos sensíveis, mono-resistentes e TB-MDR foram determinados empregando a metodologia de Luna-Herrera *et al.* [150], modificando a técnica do MABA pela do REMA [151]. O cultivo do *M. tuberculosis* mono e/ou MDR foi obtido em 7 a 10 dias de incubação em Middlebrook 7H9 suplementado com OADC e adicionado com Tween 80 para evitar a formação de grumos. Suspensões das bactérias foram preparadas e comparadas visualmente e por absorbância com filtro de referência de 492 nm no microfluorímetro SpectraFluor Plus da TECAN® com a escala turbidimétrica de McFarland n° 1 (escala padrão). Após o acerto da turbidez, a suspensão foi diluída de 1:25 em Middlebrook 7H9 suplementado com OADC e o inóculo foi adicionado em cada orifício da microplaca de 96 orifícios (TPP®) onde já se encontravam diluídos os compostos a serem analisados. Os experimentos foram realizados em triplicata. As microplacas foram incubadas por 7 dias a 37 °C quando foi adicionada a solução de Resazurina e realizada incubação a 37 °C por mais 24 h, seguida de leitura e cálculo da CIM. A determinação do *breakpoint* para cada composto foi baseada na interpretação da curva ROC (Receiver Operating Characteristic) [152] utilizando o software MedCalc [Mariakerke, Bélgica] que forneceu o correspondente ponto de corte correspondente e avaliou a performance do teste utilizando as características de sensibilidade e especificidade e o cálculo da área sob a curva (ASC).

III.6.1.4 Determinação da atividade extracelular dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (4**), [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) incorporados em microemulsão lipídica frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194**

Os valores de CIM dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (**4**), [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) incorporados na microemulsão lipídica frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194 foram determinados conforme o item III.6.1.1. Entretanto, soluções diluídas nas concentrações desejadas

foram preparadas com microemulsão lipídica e não com meio de cultura.

III.6.2 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* para *S. aureus* e *E. coli*

III.6.2.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM) para os compostos de 1-11

Em colaboração com a Profa. Dra. Maria Stella Gonçalves Raddi e da técnica Elaine Toscano Miranda, do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, foram realizados ensaios microbiológicos para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) frente ao *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922 dos complexos 1-11.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) seguiram metodologia descrita em Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [153].

S. aureus ATCC 25923 foi semeado em placas contendo agar sangue de carneiro 5 % e *E. coli* ATCC 25922 em placas contendo agar McConkey sendo, posteriormente, incubadas a 37 °C. Após 24 h, colônias foram repicadas para tubos contendo caldo Mueller Hinton os quais foram incubados durante uma noite. Uma alíquota dessa cultura foi adicionada a 2,0 mL do mesmo meio e incubado a 37 °C até turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland para obtenção de crescimento em fase exponencial. Orifícios de microplacas foram preenchidos com 100 µL de caldo Mueller Hinton contendo concentrações variadas das substâncias teste (0,125 mg mL⁻¹ a 8 mg mL⁻¹) e do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações de 0,002 mg mL⁻¹ a 1mg mL⁻¹ para *S. aureus* e de 0,00025 mg mL⁻¹ a 0,125 mg mL⁻¹ para *E. coli*, sobre os quais foram adicionados 100 µL de cultura dos diferentes micro-organismos em crescimento exponencial, conforme descrito, diluída a 1/10. As placas foram submetidas à leitura espectrofotométrica em 620 nm e, a seguir, incubadas a 35-37 °C. Após 24 horas, as mesmas foram homogeneizadas e outra leitura realizada para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Alíquotas dessas culturas foram inoculadas em placas contendo agar Mueller Hinton para determinação da concentração bactericida mínima (CBM).

Os testes foram realizados em triplicata e acompanhados de crescimento controle, meio e das substâncias nas diferentes concentrações. A primeira leitura espectrofotométrica foi realizada para eliminar a coloração de fundo, servindo de branco do teste, dessa maneira somente o crescimento bacteriano foi computado nos experimentos.

A CIM foi determinada através da relação direta entre a absorbância do crescimento bacteriano e

concentração da substância teste. A CIM foi definida, graficamente, como sendo a menor concentração do composto que induziu a um brusco declínio no valor da absorbância, o qual foi mantido nas concentrações seguintes e próximas de zero. A CBM foi determinada como sendo a menor concentração da substância teste a partir da qual não houve crescimento bacteriano, após repique em meios isentos de substância teste. Teoricamente, CIM é definida como a menor concentração da substância teste que inibe o crescimento bacteriano e CBM como a menor concentração onde ocorre morte (perda da viabilidade) do micro-organismo.

III.6.2.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para os compostos 12-20

Para os compostos **12-20**, os experimentos para a determinação de CIM frente a bactéria gram-positiva *S. aureus* ATCC 25923 e a gram-negativa *E. coli* ATCC 25922 foram realizados em colaboração com a Profa. Dra. Taís Maria Bauab e do doutorando Leonardo Gorla Nogueira do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método da técnica de microdiluição de acordo com a metodologia descrita segundo a norma M7-A8 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) com algumas alterações [153].

As culturas de cepas bacterianas padrão gram-positiva e gram-negativa incubadas em caldo Mueller-Hinton por 24 h a 37 °C utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). As soluções dos compostos testados foram preparadas em dimetilsulfóxido com concentração inicial de 1000 µg mL⁻¹ e diluídas seriadamente até 7,81 µg mL⁻¹. Utilizou-se microplaca de 96 orifícios, e em cada poço adicionou-se 100 µL de cada concentração contendo 80 µL de caldo Mueller-Hinton e 20 µL de inóculo padronizado a 1,0 x 10⁸ UFC mL⁻¹ por ajuste de densidade óptica a 620 nm (Pharmacia LKB-Ultrospec III spectrophotometer). Ampicilina (concentração entre 0,5 x 10⁻⁵ -35 µg mL⁻¹) e dimetilsulfóxido foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente.

As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h. O resultado foi avaliado observando-se a turbidez ocorrida nos poços teste, e posterior avaliação colorimétrica utilizando uma solução indicadora. Adicionou-se 50 µL de solução de resazurina (0,2 mg mL⁻¹) e incubou a 37 °C por 30 minutos. Os foram realizados em triplicata.

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

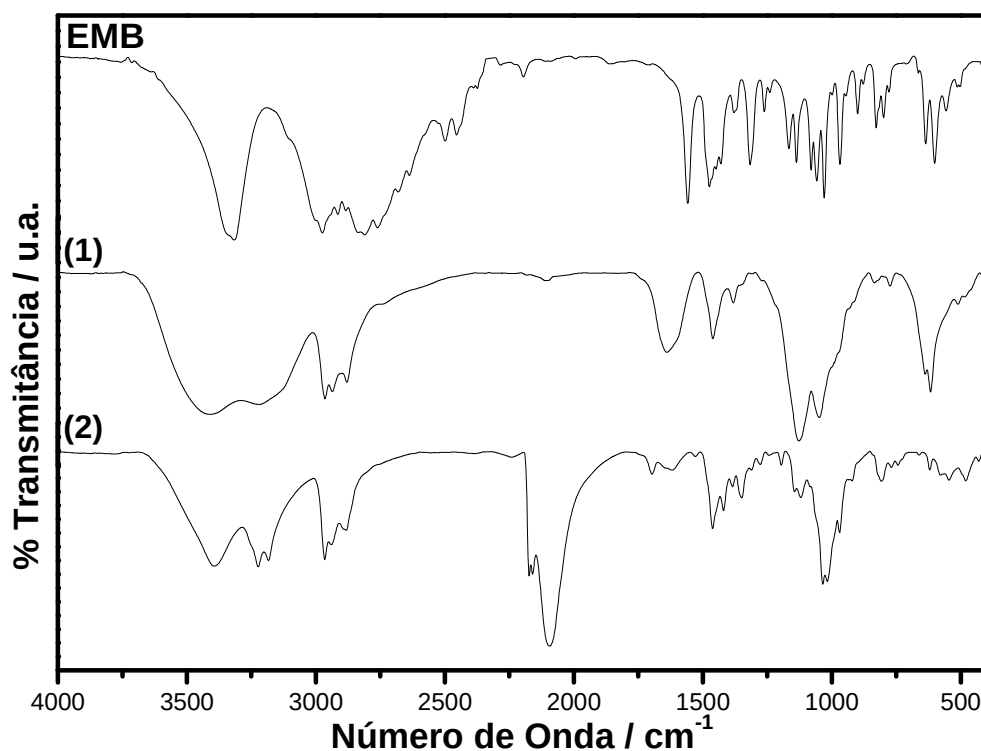
IV.1 Compostos de Cobre(II)

IV.1.1 Compostos contendo o ligante etambutol (EMB)

IV.1.1.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 28 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e dos complexos $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$ (1) e $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (2) cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 2.

Figura 28 - Espectros vibracionais no IV para o ligante livre etambutol (EMB) e complexos 1-2



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos 1-2 e suas respectivas atribuições

Composto			Atribuição
EMB	1	2	
3356 <i>om</i>	3411 <i>m</i>	3393 <i>m</i>	νOH
3316 <i>F</i>	3248 <i>m</i> , 3221 <i>m</i>	3224 <i>m</i> , 3184 <i>m</i>	νNH
3001 <i>F</i> , 2972 <i>F</i>	2965 <i>m</i>	2966 <i>m</i>	$\nu_s \text{CH}_2$
2942 <i>F</i> , 2914 <i>F</i>	2936 <i>m</i>	2940 <i>m</i>	$\nu_{as} \text{CH}_2$
-	-	2166 <i>m</i> , 2094 <i>F</i>	$\nu_{as} \text{NCS}$
-	1640 <i>m</i>	1697 <i>f</i> , 1620 <i>f</i>	δHOH
1558 <i>F</i>	-	1529 <i>f</i>	δNH
1475 <i>F</i>	1461 <i>m</i>	1462 <i>m</i>	<i>Scissoring</i> $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$
1449 <i>m</i>	-	-	$\delta\text{NH} + \delta\text{OH}$
1429 <i>m</i>	-	1419 <i>m</i>	<i>Scissoring</i> $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$
1378 <i>f</i>	1381 <i>f</i>	1384 <i>f</i>	$\delta\text{NH} + \nu\text{CO}$
1262 <i>f</i>	1270 <i>f</i>	1277 <i>f</i>	νCN
1239 <i>f</i>	-	1243 <i>f</i>	$\delta\text{NH} + \delta\text{CH}$
1166 <i>m</i>	-	-	<i>Twisting</i> NH_2
1137 <i>m</i>	-	-	$\delta\text{CH}_2 + \delta\text{CH}$
-	1127 <i>F</i> , 1048 <i>F</i> ,	-	$\text{SO}_4^{2-} + \nu\text{CO}$
1080 <i>m</i> , 1057 <i>m</i>	-	1083 <i>om</i> , 1035 <i>m</i>	νCO
1029 <i>F</i>	-	1017 <i>m</i>	<i>Twisting</i> CH_2
-	967 <i>om</i>	-	SO_4^{2-}
900 <i>f</i>	915 <i>om</i>	908 <i>om</i>	<i>Rocking</i> $\text{CH}_2 + \delta\text{OH}$
878 <i>f</i>	-	890 <i>om</i>	$\gamma\text{NH} + \delta\text{CH}_2$
828 <i>m</i>	834 <i>f</i>	843 <i>om</i>	<i>Rocking</i> CH_2
-	-	807 <i>f</i> , 769 <i>f</i>	$\nu_s \text{NCS}$
636 <i>m</i> , 601 <i>m</i>	638 <i>m</i>	620 <i>f</i>	δCC
-	617 <i>m</i>	-	SO_4^{2-}
557 <i>mf</i> , 514 <i>f</i>	510 <i>f</i>	546 <i>f</i>	$\delta\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$
-	485 <i>f</i>	480 <i>f</i> , 430 <i>f</i>	δNCS
414 <i>f</i>	413 <i>f</i>	398 <i>f</i>	νCC

ν_{as} =estiramento assimétrico, ν_s =estiramento simétrico, ϕ =respiração do anel, β =deformação no plano, δ_{as} =deformação angular assimétrica no plano, γ = deformação fora do plano.

Intensidades: F = forte, m = média, f = fraca, om=ombro

A análise dos espectros no IV do ligante livre e dos compostos 1 e 2 permitiram obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante etambutol (EMB) ao centro metálico. No

RESULTADOS E DISCUSSÃO

espectro no IV do complexo **1** observa-se que as bandas νNH e *scissoring* $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$ apresentaram um deslocamento de 3316 para 3248 cm^{-1} e de 1475 para 1461 cm^{-1} , respectivamente. Essas alterações são típicas da coordenação do metal aos átomos de nitrogênio do ligante. A presença de duas bandas intensas e alargadas em 1127 e 1048 cm^{-1} , e um ombro em 967 cm^{-1} , caracteriza a presença do íon sulfato coordenado de modo quelante bidentado. Essas bandas alargadas provavelmente estão encobrindo a banda atribuída ao modo vibracional νCO , que está na mesma região espectral. Observou-se ainda a presença da banda em 617 cm^{-1} , que também caracteriza a presença do sulfato coordenado de modo quelante bidentado. A banda νOH em 3411 cm^{-1} junto da ocorrência da banda larga em 1640 cm^{-1} (δHOH) provavelmente provêm da pastilha de KBr.

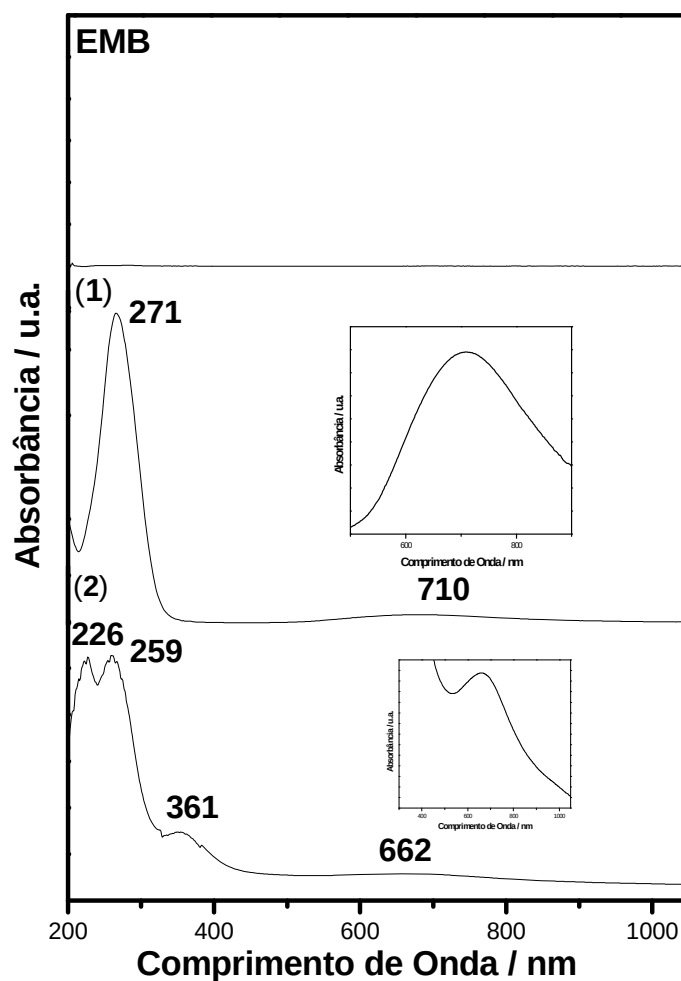
No espectro no IV do complexo **2** observa-se que as bandas νNH e *scissoring* $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$ apresentaram um deslocamento de 3316 para 3224 cm^{-1} e de 1475 para 1462 cm^{-1} , respectivamente. Essas alterações são típicas da coordenação do metal aos átomos de nitrogênio. A banda νCO apresentou um deslocamento significativo de 1057 para 1035 cm^{-1} , sendo um indicativo da coordenação do metal também através dos átomos de oxigênio do ligante. Nesse espectro, na região do modo vibracional $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$ do grupo tiocianato, foram observadas duas bandas. A primeira, em 2166 cm^{-1} , encontra-se no intervalo espectral típico da coordenação em ponte do tipo *end-to-end* ($\text{M} - \text{NCS} - \text{M}$) deste pseudo-haleto [154-157]. A outra banda, observada em 2094 cm^{-1} , é característica de coordenação terminal e através do átomo de nitrogênio ao centro metálico [154-157]. A banda νOH em 3393 cm^{-1} junto da ocorrência das bandas largas em 1697 e 1620 cm^{-1} (δHOH) provavelmente provêm da pastilha de KBr.

IV.1.1.2 Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível

Os espectros no UV/Vis para o ligante livre EMB e para os compostos **1-2** estão apresentados na Figura 29 e os valores de absortividade molar estão compilados na Tabela 3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 29 - Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis do ligante EMB e dos compostos $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$ (1) e $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (2)



Fonte: Autora

Tabela 3 - Valores de absorvidade molar para os compostos 1 e 2 em metanol

Composto - λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
1	-
271	1490
710	40
2	-
226	2630
259	2620
361	620
662	290

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o ligante livre EMB não se observa nenhuma banda no UV/Vis, devido a baixa absortividade molar, mas quando este é complexado ao cobre, observa-se uma banda próxima a 260 nm ($\epsilon \sim 2620 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) [158]. Essa técnica é muito utilizada para analisar etambutol em formulações farmacêuticas [137-139].

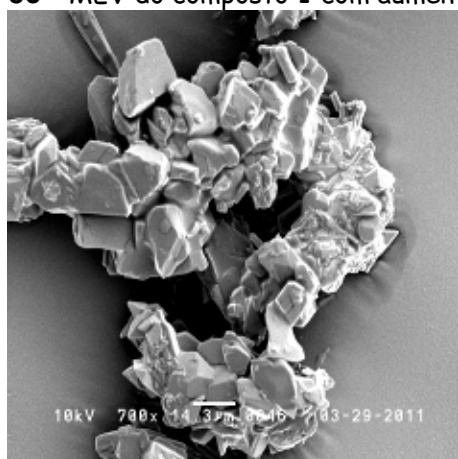
O composto azul escuro $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$ (**1**) quando dissolvido em metanol forma uma solução de cor azul-esverdeada. No espectro eletrônico desta solução é observada uma banda intensa em 271 nm, que comprova que ocorreu a complexação e que pode ser atribuída a uma transição intraligante (IL) [137-139]. Na região do visível, pode também ser observada uma banda larga, de baixa intensidade, centrada em 710 nm, típica de transição de campo ligante (CL) [137, 159].

O composto **2** mantém sua cor verde escura quando dissolvido em metanol. No espectro eletrônico desse composto (ver Figura 29), observa-se, como no espectro do complexo **1**, a presença de uma banda intensa no UV associada a transições IL, que aparece desdobrada nesse caso. Está presente, também, a banda *d-d*, de baixa intensidade, que é observada próxima a 662 nm. Além disso, uma terceira banda, pouca intensa, foi observada em 361 nm e pode ser atribuída à transição de transferência de carga LMCT do tipo $\text{NCS}^- \rightarrow \text{Cu}$ [160].

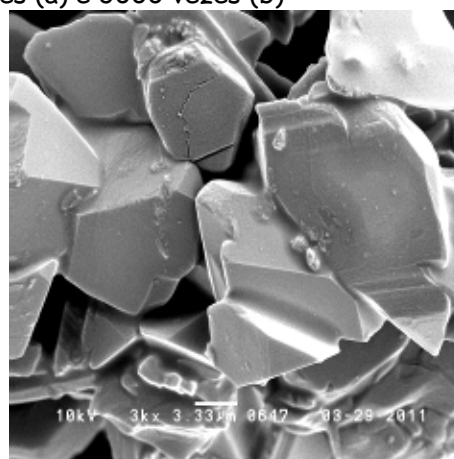
IV.1.1.3 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 30 e 31 ilustram as fotomicrografias dos compostos $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$ (**1**) e $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (**2**), respectivamente.

Figura 30 - MEV do composto **1** com aumento de 700 vezes (a) e 3000 vezes (b)



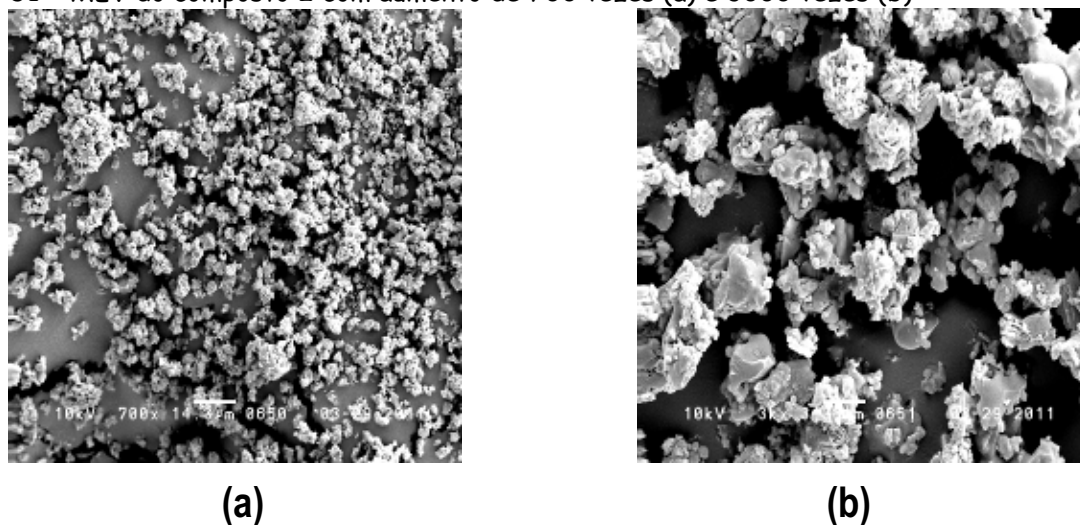
(a)



(b)

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 31 - MEV do composto **2** com aumento de 700 vezes (a) e 3000 vezes (b)

Fonte: Autora

Analisando-se as micrografias do complexo **1** pode-se observar certa tendência do composto a se cristalizar na forma de placas multifacetadas, entretanto, pode-se notar ainda a presença discreta de aglomerados não cristalinos sobre os cristais. As partículas apresentam homogeneidade de forma e tamanho.

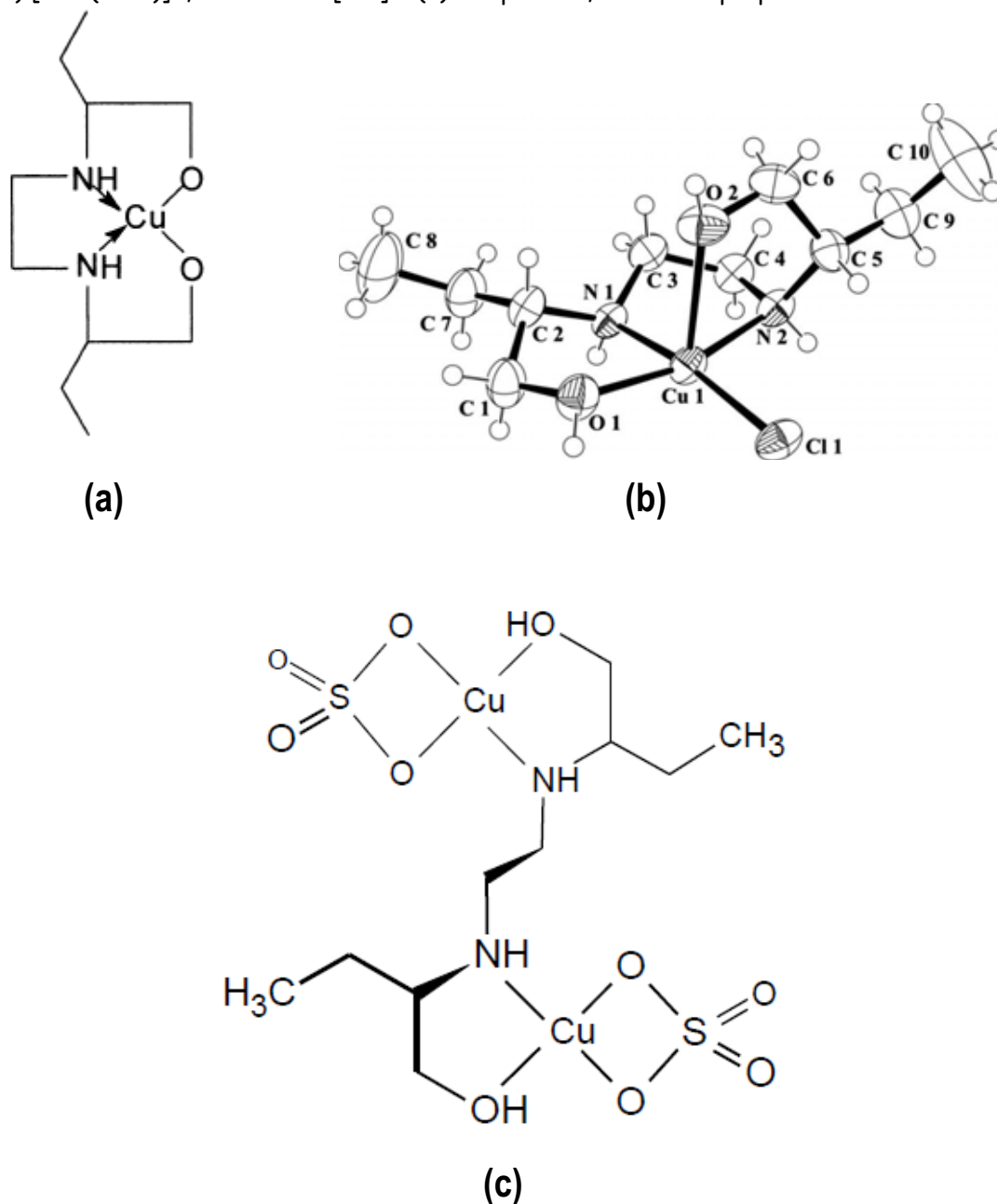
Para o composto **2** que também contém o ligante etambutol, mas na esfera de coordenação apresenta o grupo tiocianato, observa-se que as partículas mostram hábito cristalino similar ao do composto **1**, embora apresentem tamanho de partículas significativamente menores.

IV.1.1.4 Proposição estrutural para os complexos 1-2

O composto **1** foi preparado segundo o método da literatura [137], mas de acordo com os dados de análise elementar bem como as evidências espectroscópicas obtidas neste trabalho, principalmente no que diz respeito às regiões onde são observados os modos vibracionais do sulfato (1127, 1048, 967 e 617 cm^{-1} , Tabela 2), não se confirma a proposição estrutural do grupo de Gupta *et al.* (Figura 32-a), e também não se observa a formação da estrutura obtida por Faria *et al.* [161], no qual o íon cobre(II) está coordenado a uma molécula de etambutol e a um cloro, formando uma pirâmide de base quadrada (Figura 32-b). Mas, sugere-se uma estrutura com base em dados recentemente publicados na literatura que mostram a forte tendência de coordenação do grupo sulfato ao íon cobre(II), inclusive em MOFs (*Metal-Organic Frameworks*) e na quase totalidade dos minerais contendo esse metal [162], um composto neutro com fórmula mínima $[\text{Cu}_2(\text{SO}_4)_2(\text{EMB})]$, Figura 32-c.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

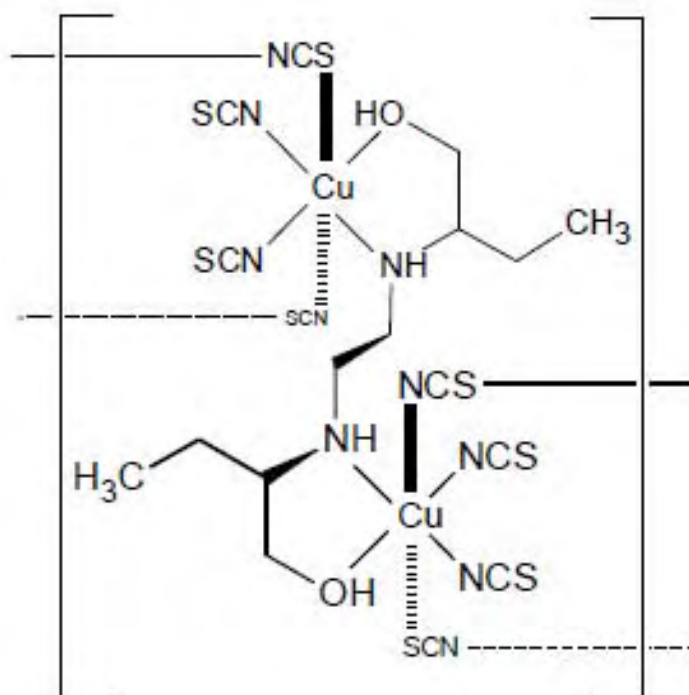
Figura 32 - Estruturas de complexos de cobre(II) contendo EMB: (a) $[\text{Cu}(\text{EMB})]^\circ$, Gupta *et al.* [137], (b) $[\text{CuCl}(\text{EMB})]^{1+}$, Faria *et al.* [161] e (c) composto **1**, estrutura proposta



Fonte: [137], [161] e autora

Para o complexo **2** sugere-se um arranjo polimérico no qual o íon cobre encontra-se em um ambiente octaédrico tetragonalmente distorcido. Como mostra a Figura 33, a esfera de coordenação do composto, cuja fórmula mínima é $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$, é constituída por um ligante etambutol coordenado pelos átomos de nitrogênio e oxigênio, dois grupos tiocianato ligados terminalmente pelo átomo de nitrogênio e dois grupos SCN em ponte *end-to-end*.

Figura 33 - Estrutura proposta para o complexo 2



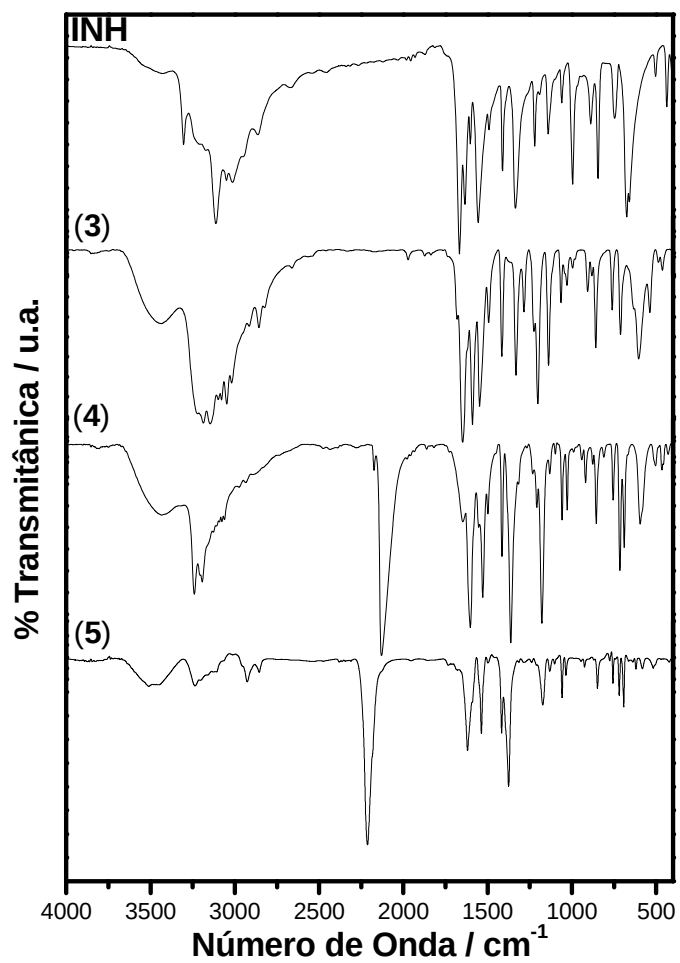
Fonte: Autora

IV.1.2 Compostos contendo o ligante isoniazida (INH)

IV.1.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 34 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre INH e dos complexos $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 4.

Figura 34 - Espectros vibracionais no IV do ligante livre INH e complexos 3-5



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos 3-5 e suas respectivas atribuições

Composto				Atribuição
INH	3	4	5	
-	3437 <i>m</i>	3434 <i>m</i>	3449 <i>f</i>	νOH
3306 <i>m</i> , 3213 <i>om</i>	3222 <i>F</i>	3241 <i>F</i>	3236 <i>f</i>	$\nu_{\text{as}}\text{NH}_2$
3112 <i>F</i>	3098 <i>F</i>	3101 <i>om</i>	3108 <i>f</i>	$\nu_{\text{s}}\text{NH}_2$
3035 <i>m</i> , 3014 <i>m</i>	3048 <i>F</i> , 3019 <i>m</i>	3057 <i>om</i>	3061 <i>om</i> , 3017 <i>f</i>	νCH
-	-	-	2212 <i>F</i>	$\nu_{\text{as}}\text{NCO}$
-	-	2130 <i>F</i>	-	$\nu\text{N-CS}$
1667 <i>F</i>	1653 <i>m</i>	1606 <i>f</i>	1615 <i>m</i>	$\nu\text{C=O}$
1635 <i>m</i>	1648 <i>F</i>	1648 <i>m</i>	1655 <i>om</i>	<i>Scissoring</i> NH_2
1603 <i>m</i>	1590 <i>F</i>	1603 <i>F</i>	1589 <i>om</i>	$\nu_{\text{anel}} + \delta\text{CH} + \delta\text{HOH}$
1556 <i>F</i>	1547 <i>F</i>	1554 <i>m</i>	1537 <i>m</i>	ν_{anel}
1492 <i>f</i>	1494 <i>f</i>	1498 <i>f</i>	1499 <i>f</i>	$\delta\text{CH} + \nu_{\text{anel}} + \delta\text{NH}$
1412 <i>m</i>	1415 <i>m</i>	1415 <i>m</i>	1416 <i>m</i>	$\delta\text{CH} + \nu_{\text{anel}}$
-	-	-	1317 <i>f</i>	$\nu_{\text{s}}\text{NCO}$
1335 <i>F</i>	1332 <i>m</i>	-	-	<i>Rocking</i> NH_2
-	1284 <i>f</i>	1268 <i>f</i>	1283 <i>f</i>	ν_{anel}
1221 <i>m</i>	1225 <i>m</i> , 1202 <i>F</i>	1233 <i>f</i> , 1208 <i>f</i>	1239 <i>f</i>	$\delta\text{CH} + \nu_{\text{anel}}$
1141 <i>m</i>	1139 <i>m</i>	1131 <i>f</i> , 1098 <i>f</i>	1131 <i>f</i> , 1103 <i>f</i>	$\delta\text{CH} + \nu_{\text{anel}} + \nu\text{CN}$
1060 <i>f</i>	1065 <i>f</i>	1058 <i>m</i>	1058 <i>f</i>	$\nu_{\text{anel}} + \delta\text{CH} + \delta_{\text{anel}}$
996 <i>m</i>	996 <i>f</i>	988 <i>f</i>	987 <i>om</i>	$\nu_{\text{anel}} + \delta_{\text{anel}}$
943 <i>f</i>	-	941 <i>f</i> , 919 <i>f</i>	945 <i>f</i> , 924 <i>f</i>	$\nu\text{NN} + \text{twisting } \text{NH}_2 + \nu\text{NH}_2$
888 <i>f</i> , 845 <i>m</i>	906 <i>f</i> , 881 <i>f</i> , 858 <i>m</i>	876 <i>f</i>	868 <i>om</i>	$\gamma\text{CH} + \gamma\text{C-CO-NH-NH}_2$
747 <i>f</i>	761 <i>f</i>	755 <i>f</i>	775 <i>f</i> , 756 <i>f</i>	$\gamma\text{CH} + \tau_{\text{anel}} + \gamma\text{CO} + \nu\text{NC-S}$
-	712 <i>m</i>	715 <i>m</i>	719 <i>f</i>	$\tau_{\text{anel}} + \gamma\text{CO} + \gamma\text{CH}$
675 <i>F</i>	-	690 <i>m</i>	692 <i>f</i>	$\delta_{\text{anel}} + \nu\text{C-CO-NH-NH}_2$
659 <i>F</i>	-	664 <i>om</i>	658 <i>f</i>	$\delta_{\text{anel}} + \delta\text{CH}$
-	-	-	620 <i>f</i>	δNCO
504 <i>f</i>	538 <i>f</i>	504 <i>f</i>	501 <i>om</i>	$\tau\text{HNNH} + \gamma\text{NH} + \delta\text{NCC} + \delta\text{C-CO-NH-NH}_2 + \delta\text{OCC}$
436 <i>f</i>	463 <i>f</i>	466 <i>f</i> , 430 <i>f</i>	420 <i>f</i>	$\gamma\text{NH} + \tau\text{HNNH} + \gamma\text{CH} + \tau_{\text{anel}} + \delta\text{NCS}$

Fonte: Autora

A molécula de isoniazida (INH) pode se coordenar pelos átomos de nitrogênio do grupo $-\text{NH}_2$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

e/ou do anel piridínico bem como através do oxigênio da carbonila (Figura 4). A espectroscopia no IV permite obter informações valiosas no que diz respeito à participação destes grupos na coordenação. Quando o nitrogênio do grupo -NH_2 está envolvido na coordenação, observa-se um deslocamento negativo do modo νNH ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [163]. Já a coordenação via oxigênio do grupo carbonila é sugerida pelo deslocamento positivo do modo $\nu(\text{C=O})$ ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [164]. Algumas vibrações do anel da piridina observadas no intervalo de $1600\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ sofrem pequenos deslocamentos para frequências mais altas após a formação do complexo [165].

A análise dos espectros no IV do ligante livre e dos compostos **3-5** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante isoniazida (INH) ao centro metálico. No espectro no IV do complexo **3** observa-se que a banda νNH apresentou um deslocamento de 3213 para 3222 cm^{-1} ($\Delta\nu = -9\text{ cm}^{-1}$). Essa alteração é típica da coordenação do metal ao nitrogênio do grupo -NH_2 . As absorções no IV relacionadas às vibrações associadas ao anel piridínico da isoniazida (Tabela 4) não sofrem deslocamentos significativos para frequências mais altas após a coordenação, sugerindo a não participação do átomo de nitrogênio heterocíclico na coordenação. Observa-se, ainda, um deslocamento da banda $\nu\text{C=O}$ para frequências mais baixas, de 1667 (ligante livre) para 1653 cm^{-1} , sugerindo a coordenação também pelo átomo de oxigênio da carbonila. Cabe mencionar que a presença de água de hidratação no composto **3** foi confirmada pelo aparecimento de uma banda larga em 3437 cm^{-1} (νOH).

No espectro no IV do complexo **4**, no que diz respeito ao grupo -NH_2 , nota-se que a banda νNH apresentou um deslocamento de 3213 para 3241 cm^{-1} ($\Delta\nu = -28\text{ cm}^{-1}$). Essa alteração é típica da coordenação do metal ao nitrogênio do grupo -NH_2 . A banda referente ao modo vibracional νanel (1554 cm^{-1}) não sofre deslocamento significativo quando comparada a do ligante livre (1556 cm^{-1}), sugerindo que o nitrogênio piridínico da isoniazida não participa da coordenação. Nota-se ainda que a banda $\nu\text{C=O}$ (1606 cm^{-1}) sofre um deslocamento significativo para frequências mais baixas quando comparada a do ligante livre (1667 cm^{-1}), sugerindo que a carbonila participa da coordenação do ligante ao centro metálico. A banda $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$, característica do grupo tiocianato, foi observada em 2130 cm^{-1} e encontra-se no intervalo espectral típico da coordenação terminal pelo átomo de enxofre. A banda νOH em 3434 cm^{-1} junto da banda em 1603 cm^{-1} (δHOH) indica a presença de moléculas de água de hidratação.

No espectro no IV do complexo **5**, observa-se que a banda νNH apresentou um deslocamento de 3213 para 3236 cm^{-1} ($\Delta\nu = -23\text{ cm}^{-1}$). Essa alteração é típica da coordenação do metal ao nitrogênio do grupo -NH_2 . A banda referente aos modos vibracionais $\nu\text{anel} + \delta\text{CH} + \delta\text{anel}$ (1060 cm^{-1})

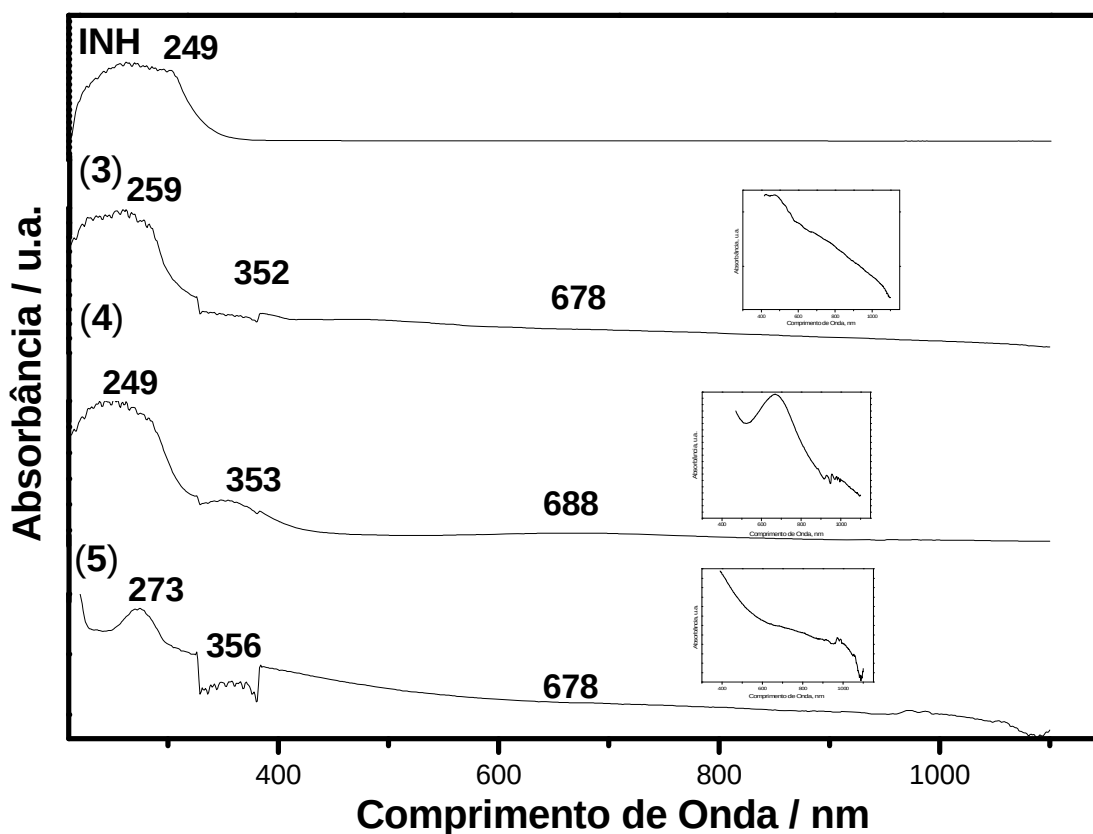
RESULTADOS E DISCUSSÃO

não sofre deslocamento significativo para frequências mais altas quando comparada a do ligante livre (1058 cm^{-1}), sugerindo que o nitrogênio piridínico da isoniazida não participa da coordenação. A banda $\nu\text{C=O}$ (1615 cm^{-1}) sofre um deslocamento significativo para frequências mais baixas quando comparada a do ligante livre (1667 cm^{-1}), sugerindo que a carbonila participa da coordenação do ligante ao centro metálico. O deslocamento das bandas do grupo cianato referente aos modos vibracionais $\nu_{\text{as}}(\text{CN})$, $\nu_{\text{s}}(\text{CO})$ e $\delta(\text{NCO})$ para 2212 , 1317 e 620 cm^{-1} , respectivamente, confirma a coordenação do pseudo-haleta de forma terminal, via átomo de nitrogênio [166]. A banda νOH em 3449 cm^{-1} junto da banda em 1589 cm^{-1} (δHOH) indica a presença de moléculas de água de hidratação.

IV.1.2.2 Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível

A Figura 35 apresenta os espectros eletrônicos no UV/Vis para o ligante INH e para os compostos 3-5.

Figura 35 - Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis do ligante INH e dos compostos 3-5



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

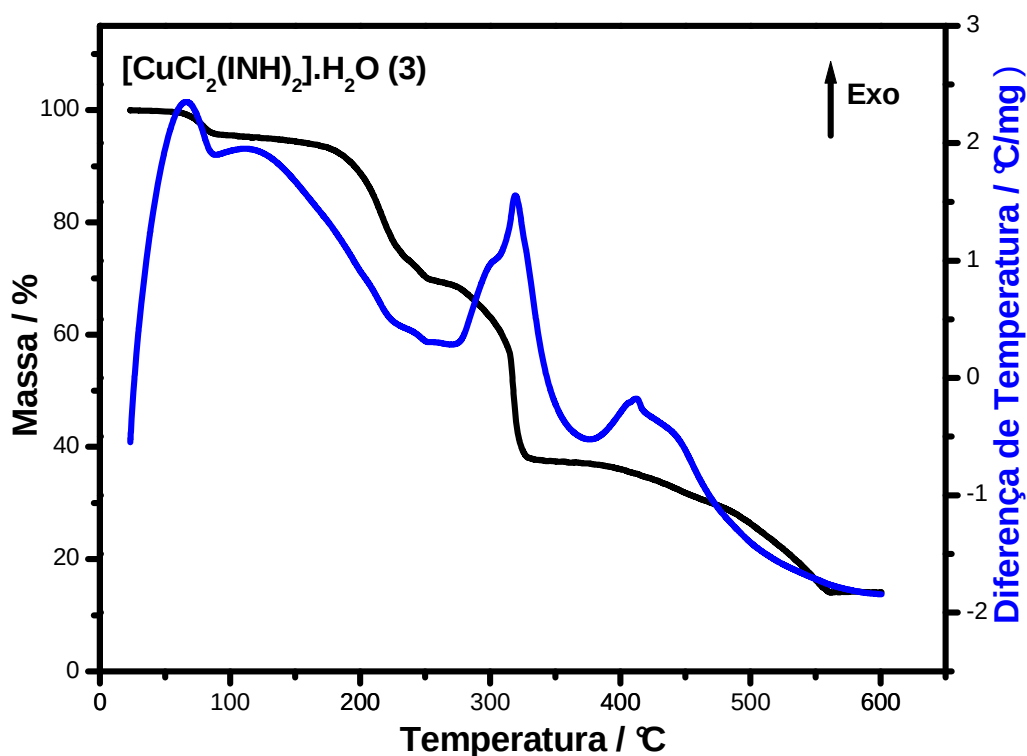
O composto verde claro $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**) apresenta geometria de coordenação octaédrica tanto no estado sólido quanto em solução. Uma solução de cor verde-amarelada é obtida quando este complexo é dissolvido em metanol. No espectro eletrônico desta solução observa-se uma banda intensa próxima a 259 nm, atribuída a uma transição do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ da isoniazida (intra-ligante, IL). A banda atribuída às transições de transferência de carga ligante-metal (LMCT) do tipo $\text{Cl}^- \rightarrow \text{Cu}$ é observada em 352 nm. No espectro eletrônico desta solução é observada, ainda, uma banda larga, de baixa intensidade, centrada em 678 nm, atribuída a uma transição de CL do tipo $^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{T}_{2g}$, característica de sistema d^9 octaédrico [159].

O composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) é um sólido verde-musgo que, quando solubilizado em metanol, gera uma solução verde. No espectro, é observada uma banda intensa em 249 nm, atribuída à transição IL da INH. Observa-se, ainda, uma banda de baixa intensidade em 353 nm, atribuída à transição LMCT $\text{NCS}^- \rightarrow \text{Cu}$ [160] e uma outra banda, pouca intensa, em 688 nm, que pode ser atribuída à transição de campo ligante [159].

O composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) quando dissolvido em metanol, forma uma solução azul esverdeada. No espectro, pode ser observada uma banda em 273 nm, atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da isoniazida. Observa-se, ainda, uma banda em 356 nm, atribuída à transição LMCT do tipo $\text{NCO}^- \rightarrow \text{Cu}$. Está presente, também, uma banda de baixa intensidade, centrada em 678 nm, que provavelmente está associada a uma transição de campo ligante [159].

IV.1.2.3 Análise térmica (TGA e DTA)

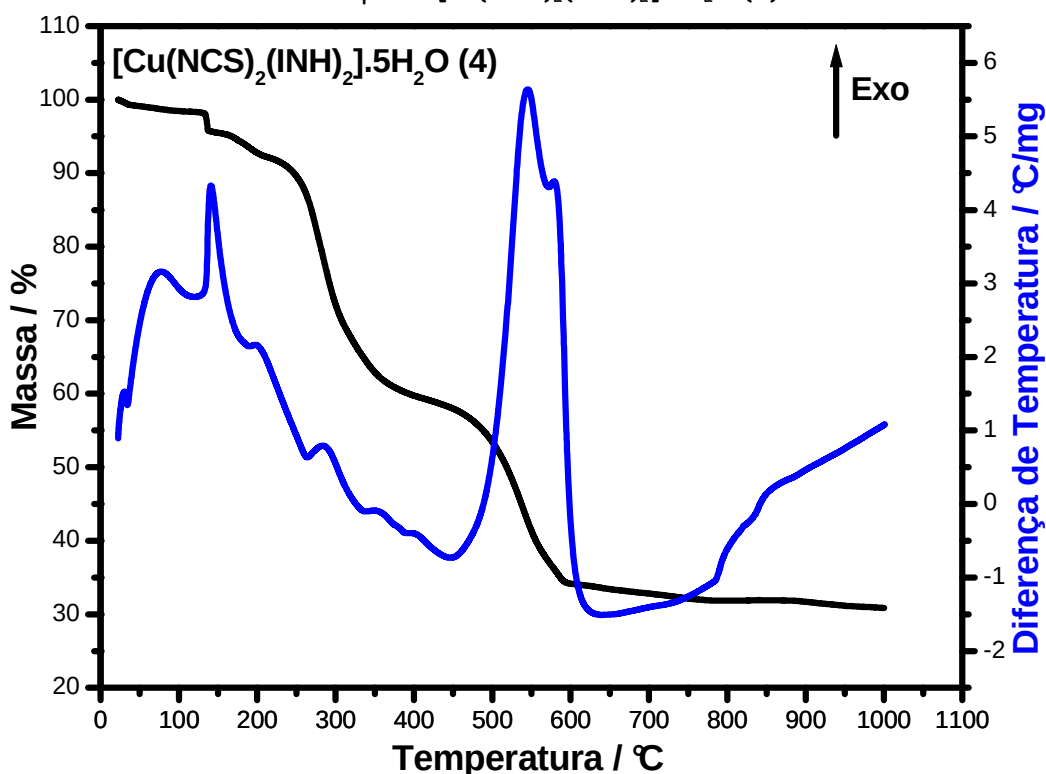
Analisando-se as curvas TGA-DTA (Figura 36) do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**), nota-se que sua decomposição a cobre metálico ocorre em quatro etapas. Na primeira (50-100 °C), é observada a eliminação da molécula de água acompanhada de um sinal endotérmico em 89 °C. Da segunda até a quarta perda de massas, ocorre a decomposição térmica do composto com a oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA observa-se uma endoterma com um pico em 231 °C e uma exoterma com picos próximos de 320 e 412 °C. A Tabela 5 mostra os dados termoanalíticos obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**).

Figura 36 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3)

Fonte: Autora

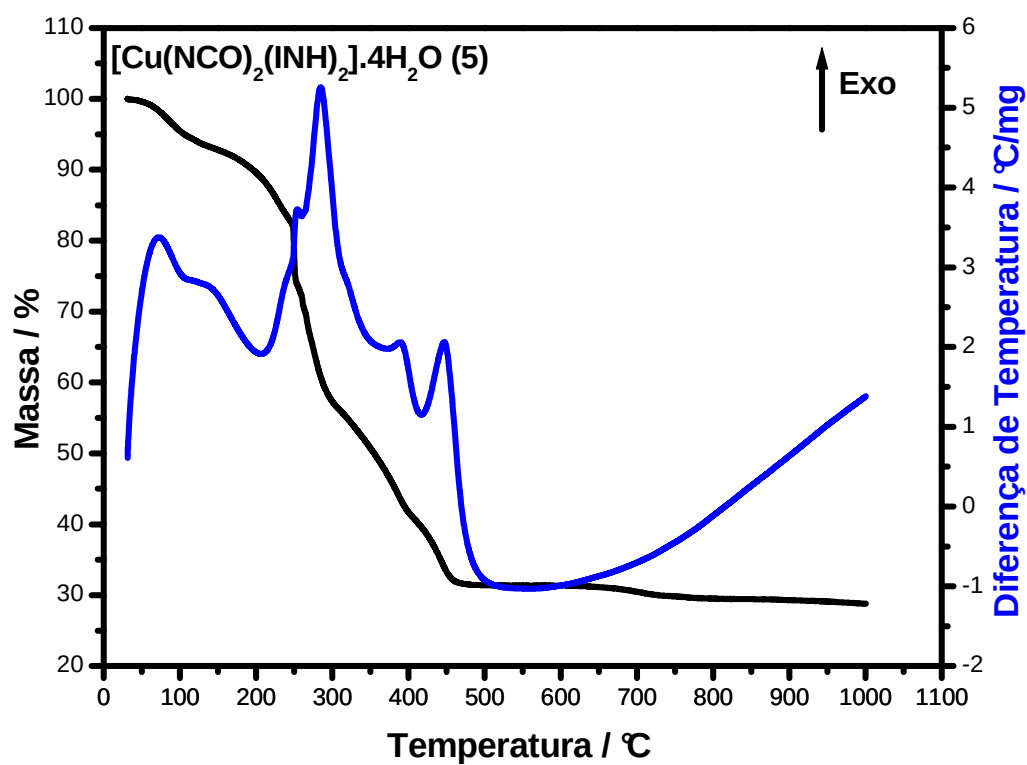
As curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) (Figura 37) mostram que sua termodecomposição a óxido de cobre(II) ocorre em quatro etapas. Durante as duas primeiras etapas (58-214 °C), observa-se a eliminação de moléculas de água correspondendo na curva DTA a uma endoterma com dois picos em 124 e 183 °C. Durante a terceira etapa (214-413 °C), observa-se uma perda de massa atribuída à eliminação de moléculas de água e a queima do ligante orgânico e junto na curva DTA observa-se um pico endotérmico em 263 °C e um pico exotérmico em 283 °C. A quarta perda de massa (413-1000 °C) é atribuída à eliminação do ligante, que é acompanhada por dois picos exotérmicos em 545 e 579 °C na curva DTA, resultando o resíduo em 1000 °C em uma mistura de CuO e material carbonizado. Os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) estão compilados na Tabela 5.

Figura 37 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)



Fonte: Autora

Como se pode notar as curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5) (Figura 38), sua decomposição ocorrem em cinco etapas, com formação de óxido de cobre(II). Na primeira etapa (80-250 °C), observa-se uma perda de massa atribuída à eliminação das moléculas de água de hidratação associada a dois sinais endotérmicos em 112 e 206 °C. Da segunda a quinta etapa (250-1000 °C), as perdas de massas são atribuídas à eliminação dos ligantes e na curva DTA observa-se uma exoterma com picos entre 256 e 446 °C. Em 1000 °C, o resíduo deve ser constituído de uma mistura de CuO e material carbonizado. A Tabela 5 apresenta os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5).

Figura 38 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

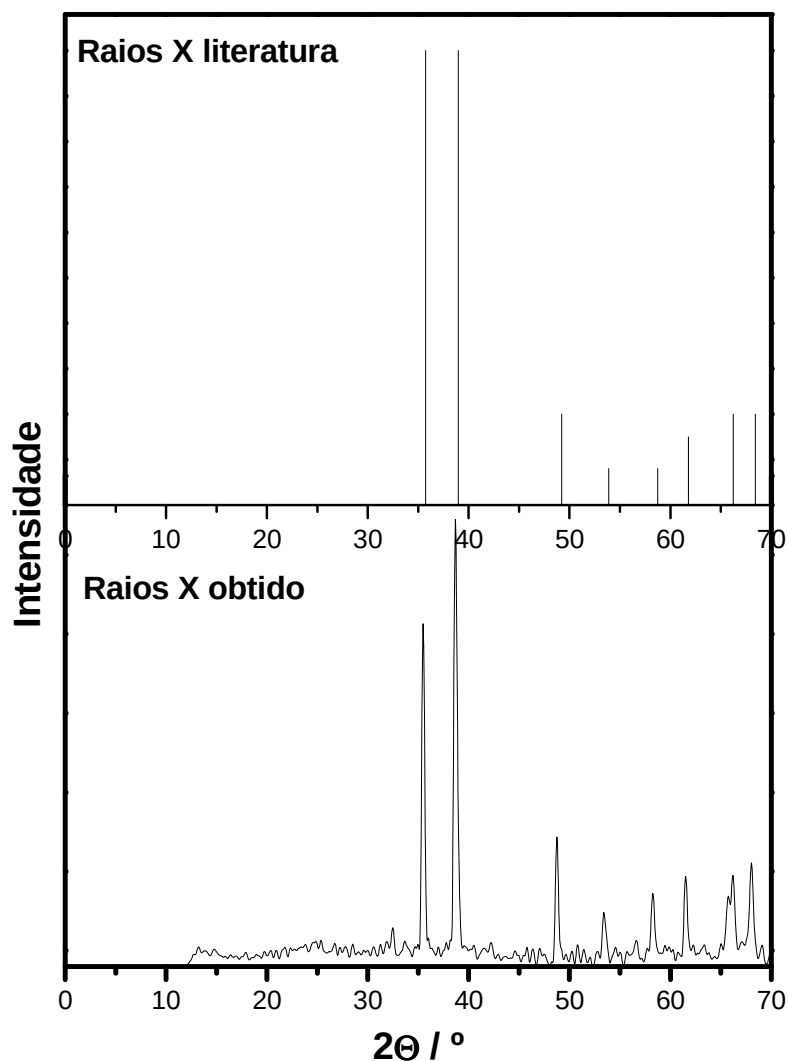
Tabela 5 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**)

Composto	Etapas	T _{inicial} - T _{final} (°C)	Δm (%)		DTA/°C	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
3	Desidratação	50-100	4,51	4,22	89	
	Decomposição térmica	100-260	26,15	26,06	231	
	Decomposição térmica	260-350	31,99	32,19		320
	Decomposição térmica	350-600	23,24	23,05		412
	Resíduo	-	14,13	14,89		-
4	Desidratação	58-150	4,52	4,51	124	
	Desidratação	150-214	3,35	3,31	183	
	Desidratação e decomposição térmica	214-413	32,81	32,77	263	283
	Decomposição térmica	413-1000	25,33	25,38		545 e 579
	Resíduo	-	30,89	34,11		-
5	Desidratação	80-250	14,66	13,93	112 e 206	
	Decomposição térmica	250-260	10,00	10,66		256
	Decomposição térmica	260-305	16,47	15,93		285
	Decomposição térmica	305-410	15,75	15,93		390
	Decomposição térmica	410-1000	8,30	7,96		446
	Resíduo	-	25,52	28,65		-

Fonte: Autora

A identificação do resíduo final das termodecomposições dos compostos **4** e **5** como óxido de cobre(II) foi realizada através da difração de raios X pelo método do pó. A Figura 39 mostra o difratograma de raios X de pó do resíduo final da decomposição térmica do composto **4**, sendo esta figura representativa também para o resíduo formado na decomposição do composto **5** [167].

Figura 39 - Difratomogramas de raios X do resíduo obtido (CuO) no final da termodecomposição do composto **4** a 1000 °C comparado com o da literatura



Fonte: Autora

IV.1.2.4 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens MEV dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**3**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) estão representadas pelas Figuras 40-42, respectivamente.

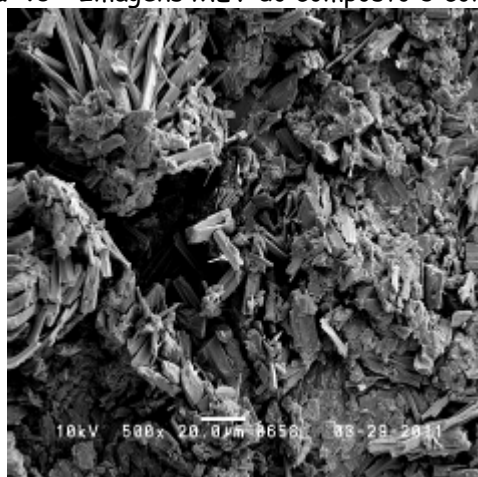
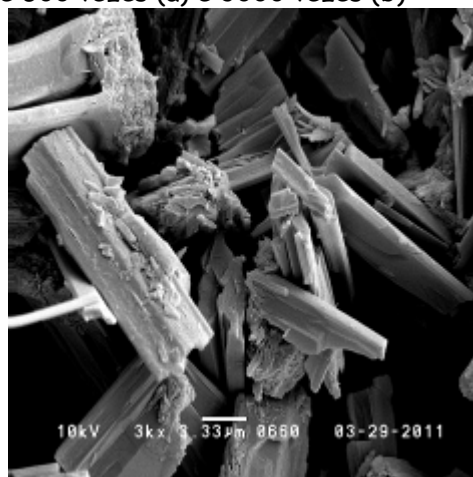
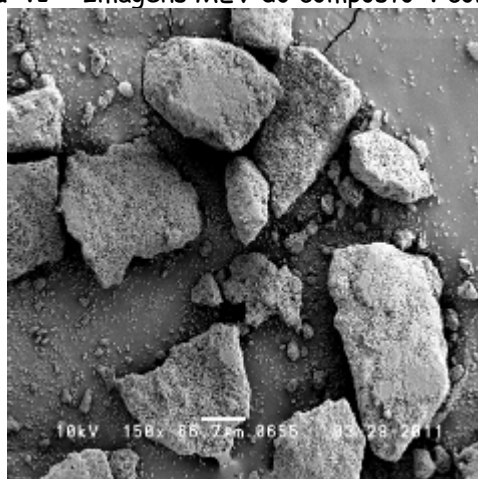
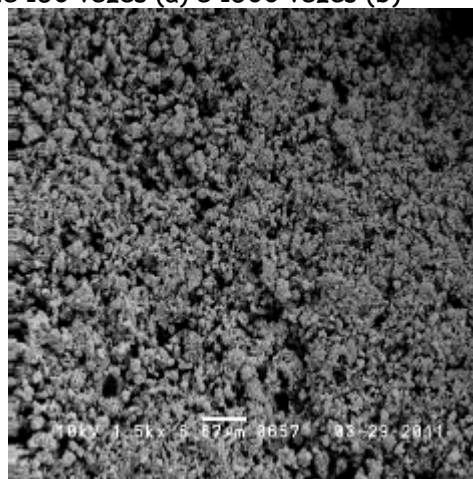
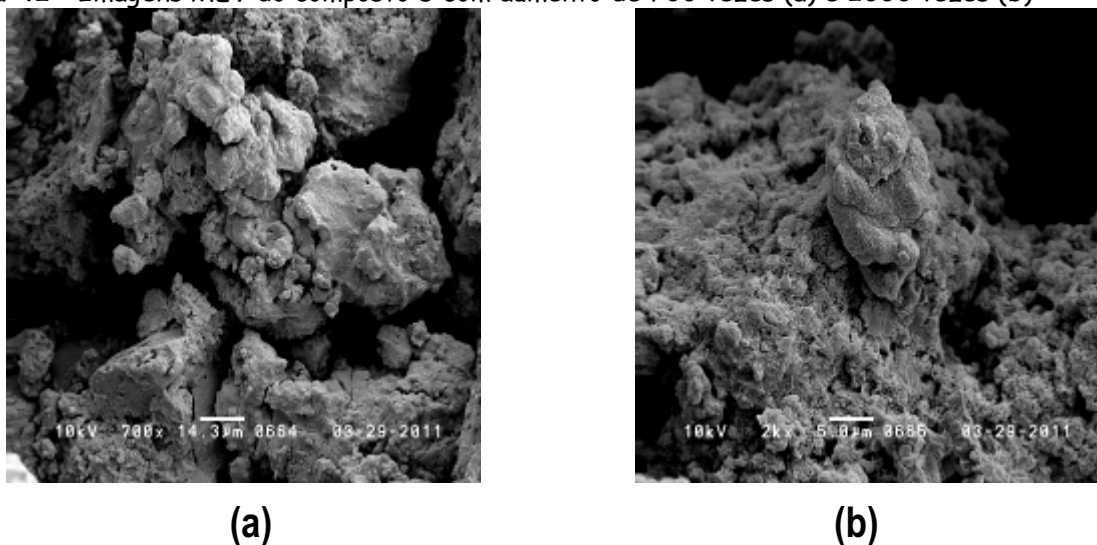
RESULTADOS E DISCUSSÃO**Figura 40** - Imagens MEV do composto **3** com aumento de 500 vezes (a) e 3000 vezes (b)**(a)****(b)****Fonte:** Autora**Figura 41** - Imagens MEV do composto **4** com aumento de 150 vezes (a) e 1500 vezes (b)**(a)****(b)****Fonte:** Autora

Figura 42 - Imagens MEV do composto **5** com aumento de 700 vezes (a) e 2000 vezes (b)



Fonte: Autora

Observa-se nas fotomicrografias do composto **3** uma tendência de cristalização na forma de paralelepípedos, ou seja, há uniformidade na morfologia das partículas, mas, não de tamanho, pois é possível observar que as partículas apresentam tamanho entre 10-15 μm .

Nas micrografias do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) observa-se que o material obtido é composto de partículas de formato irregular e com tamanhos maiores que 100 μm . Na imagem de maior magnificação (Figura 41-b) pode-se notar que estas partículas maiores são formadas a partir da agregação de partículas esféricas micrométricas, formando um material poroso.

Já para o composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), observa-se que as estruturas formadas não possuem forma bem definida. Na imagem de maior magnificação observa-se que as estruturas são porosas.

Informações sobre a textura porosa dessas amostras foram obtidas através de experimentos de adsorção-dessorção de nitrogênio (via técnica ASAP).

IV.1.2.5 Experimentos de adsorção de nitrogênio (ASAP)

Ao colocar um sólido finamente dividido em contato com um gás ocorre uma diminuição progressiva da pressão parcial do gás e um aumento da massa do sólido, desde que a substância apresente canais ou cavidades para adsorvê-lo. Esse fenômeno, denominado adsorção, resulta de interações físicas ou químicas entre as moléculas do gás (adsorbato) e os átomos da superfície do sólido (adsorvente). Materiais porosos são definidos por suas propriedades de adsorção [168].

O conceito de adsorção relacionado a uma área de superfície exposta foi desenvolvido por Irving

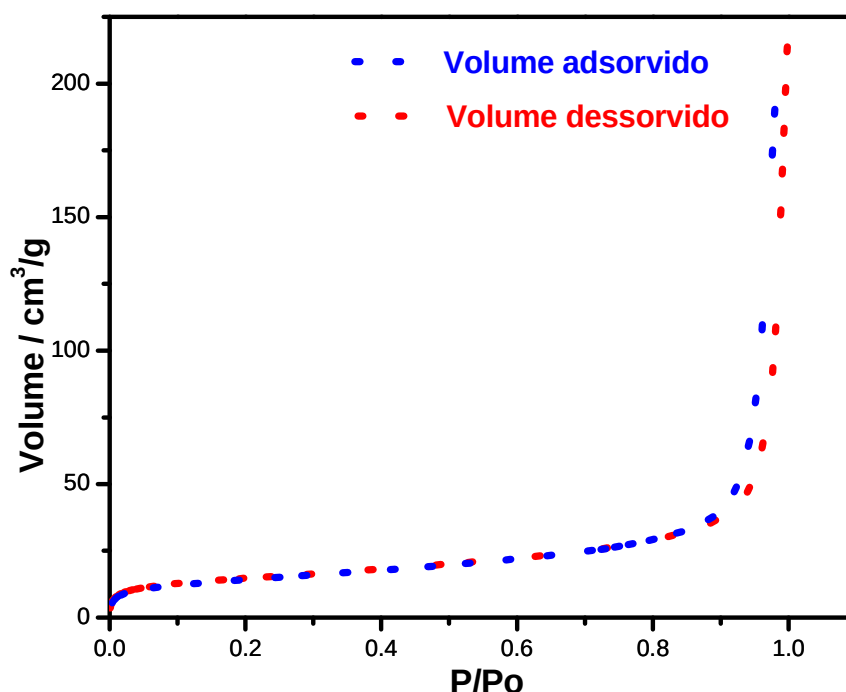
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Langmuir [169-171] em seu trabalho envolvendo a condensação de gases em superfícies. Destes estudos emergiu o conceito de adsorção como um equilíbrio dinâmico entre um gás e um sólido, que conduziu ao tratamento de Brunauer, Emmett e Teller (BET) de adsorção [172].

Baseado na hipótese de que poderia-se, neste trabalho, ter obtido sólidos de coordenação porosos, foram efetuados experimentos de adsorção de nitrogênio para os compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**).

As Figuras 43 e 44 ilustram as isotermas de adsorção/dessorção obtidas para os compostos **4** e **5**, respectivamente, cujos resultados obtidos estão compilados na Tabela 6.

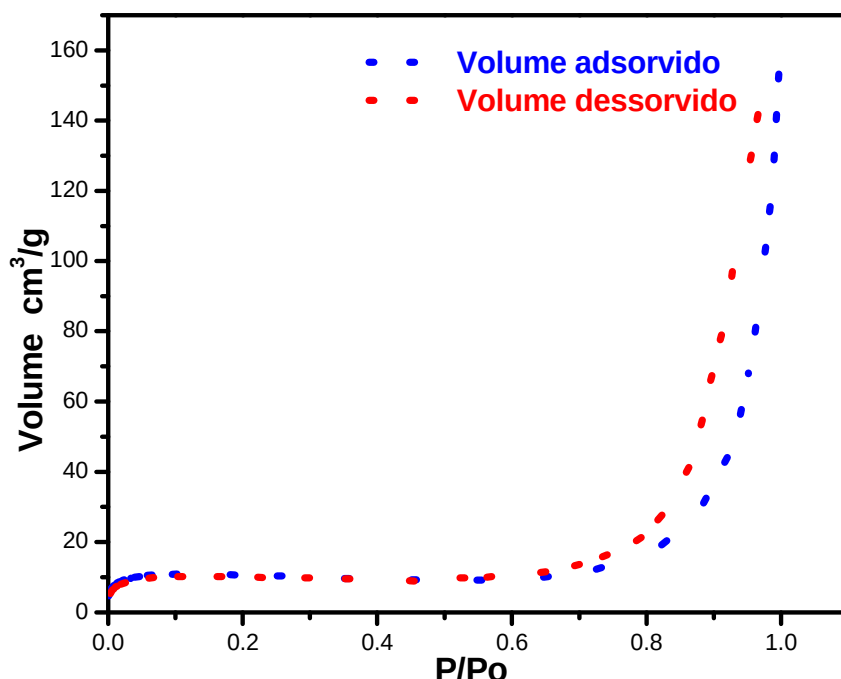
Figura 43 - Isoterma de adsorção do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**)



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 44 - Isoterma de adsorção do composto $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)



Fonte: Autora

Tabela 6 - Dados da avaliação textural dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)

Composto	$[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)	$[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)
Área específica de BET (m^2/g)	51	36
Área específica de Langmuir (m^2/g)	77	45
Volume de poros total de um único ponto (cm^3/g)	0,051	0,039
Volume de poros cumulativo de adsorção de BJH (cm^3/g)	0,32	0,23
Diâmetro médio de poro (4V/A por BET) (Å)	39	48

Fonte: Autora

As isotermas de adsorção de nitrogênio, obtidas a 77 K para ambos os compostos, mostram comportamento do tipo IV, típico de adsorbentes mesoporosos. A principal característica dessa isoterma é que exibe uma proeminente região na qual a pressão relativa varia pouco e o volume aumenta bruscamente. A pequena histerese observada nas isotermas de nitrogênio é provavelmente por causa da captura cinética das moléculas de gás adsorvidas nas cavidades sendo a abertura do poro levemente menor do que o diâmetro cinético da molécula de nitrogênio [173].

Os mesoporos das amostras estão na ordem de 3,9-4,8 nanômetros (39-48 Å). Isotermas do tipo IV e histereses do tipo H1 estão relacionadas aos materiais com poros de seção transversal constante

RESULTADOS E DISCUSSÃO

(cilíndrico com duas extremidades abertas). Nos poros cilíndricos com duas extremidades abertas, a condensação começa nas paredes do cilindro gerando um menisco também cilíndrico e prossegue até o preenchimento total do poro. O processo de evaporação se inicia a partir das duas extremidades onde o menisco apresenta, agora, o formato hemisférico. Portanto, os dois processos não serão reversíveis entre si e observa-se uma isoterma com histerese, como observado nas isotermas obtidas nesse trabalho [174].

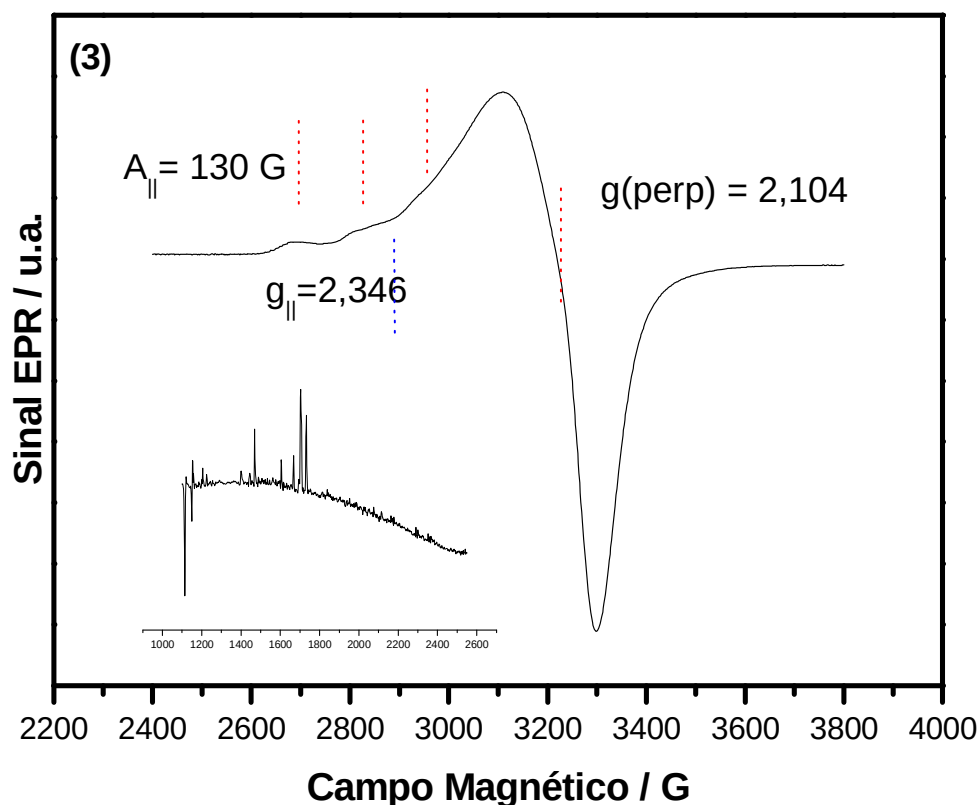
Os compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) apresentam diâmetro médio de poro diferentes, embora essa diferença não seja significativa. Embora o complexo $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) é o que apresenta maior diâmetro médio de poro (48 Å), não é o que apresenta a maior área específica tanto de Langmuir quanto BET. Isto pode sugerir que o composto contendo o íon cianato (**5**) apresenta poros mais largos e rasos do que o composto contendo o íon tiocianato (**4**) e, conseqüentemente um menor número de poros [174].

IV.1.2.6 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos 3-5

É bem sabido que os espectros de EPR podem auxiliar no diagnóstico da geometria de coordenação de sistemas paramagnéticos bem como elucidar a natureza das distorções das simetrias ideais [175]. O cobre (^{63}Cu ou ^{65}Cu) tem spin nuclear $I = 3/2$, o qual dá origem ao desdobramento hiperfino entre o elétron desemparelhado e o próprio núcleo. Assim, um espectro de EPR de complexos de $\text{Cu}(\text{II})$ consiste de quatro linhas largas $\{(2I + 1) = 2(3/2) + 1 = 4\}$. Mas, para muitos compostos, os elétrons d estão deslocalizados em uma considerável extensão por sobre os ligantes e, assim, se os átomos dos ligantes tiverem eles mesmos um spin nuclear, então se pode esperar por padrões de desdobramento superhiperfino sobrepostos a estas linhas [176, 177].

O espectro EPR obtido a 77 K para o complexo **3** está ilustrado na Figura 45.

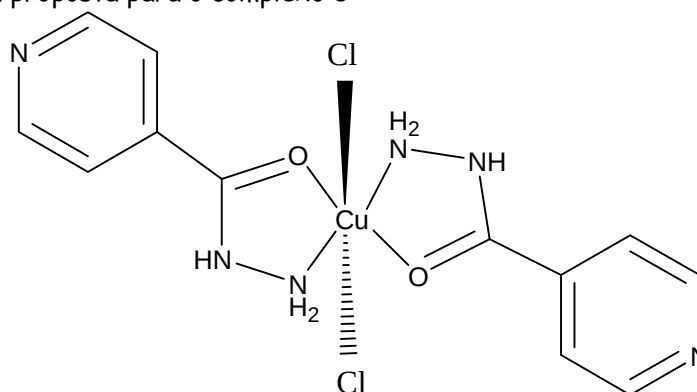
Figura 45 - Espectro de EPR do complexo **3**, em solução congelada de DMSO, a 77 K



Fonte: Autora

O espectro de EPR do composto **3** permite sugerir a presença de íons Cu(II) octaédricamente coordenados, com o octaedro alongado na direção axial, uma vez que nenhum dos dois valores de g , é igual a 2,00 [178]. De fato, a literatura tem reportado que espectros de EPR de espécies de cobre divalente, obtidos em solução e temperatura de 77 K, que apresentam $g_{||} > g_{\perp} > g_0$ são típicos de Cu (II) (d^9) em simetria axial com o elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$ [179].

Desse modo, sugere-se para o complexo **3** um ambiente octaédrico ao redor do íon cobre com forte distorção tetragonal devido ao efeito Jahn Teller, com seus sítios de coordenação ocupados por dois átomos de cloro nas posições axiais e por duas moléculas de isoniazida no plano equatorial via átomo de nitrogênio do grupo $-NH_2$ e átomo de oxigênio da carbonila, formando anéis quelatos de cinco membros (Figura 46).

Figura 46 - Estrutura proposta para o complexo **3****Fonte:** Autora

Para os complexos **4** e **5**, sugere-se que os compostos consistam de espécies monoméricas, nas quais o íon cobre encontra-se em um ambiente octaédrico tetragonalmente distorcido. Como mostra as Figuras 47 e 48, sugere-se que a esfera de coordenação dos compostos, cuja fórmula mínima é $[\text{CuX}_2(\text{INH})_2]$ ($\text{X} = \text{SNC}^-$ (**4**) e NCO^- (**5**)), seja constituída por dois ligantes isoniazida coordenados pelo átomo de nitrogênio do grupo $-\text{NH}_2$ e pelo oxigênio da carbonila, formando um anel de cinco membros e dois grupos pseudo-haletos. No composto **4** os dois grupos tiocianato devem provavelmente estar coordenados terminalmente pelos átomos de enxofre, enquanto no composto **5** os pseudo-haletos cianato estão ligados terminalmente pelos átomos de nitrogênio.

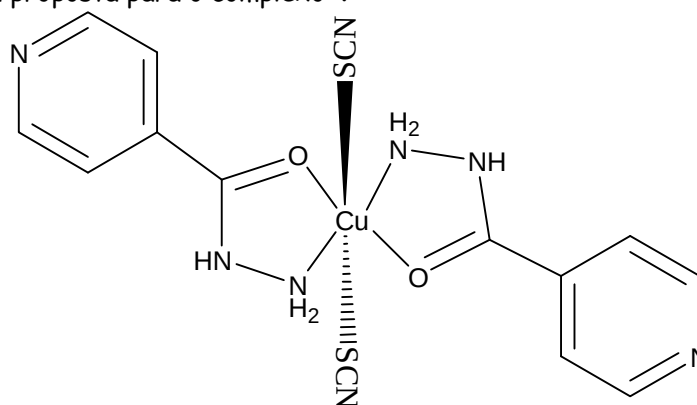
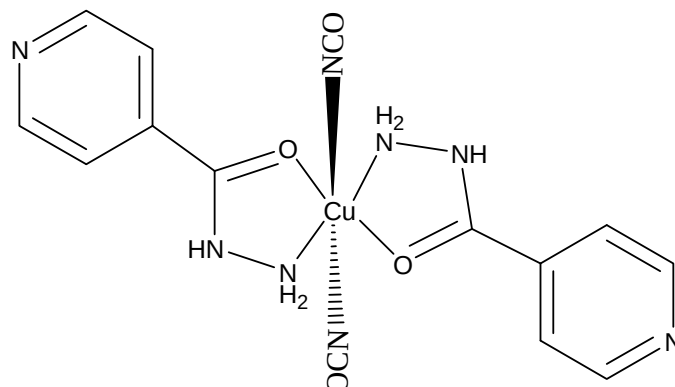
Figura 47 - Estrutura proposta para o complexo **4****Fonte:** Autora

Figura 48 - Estrutura proposta para o complexo **5**

Fonte: Autora

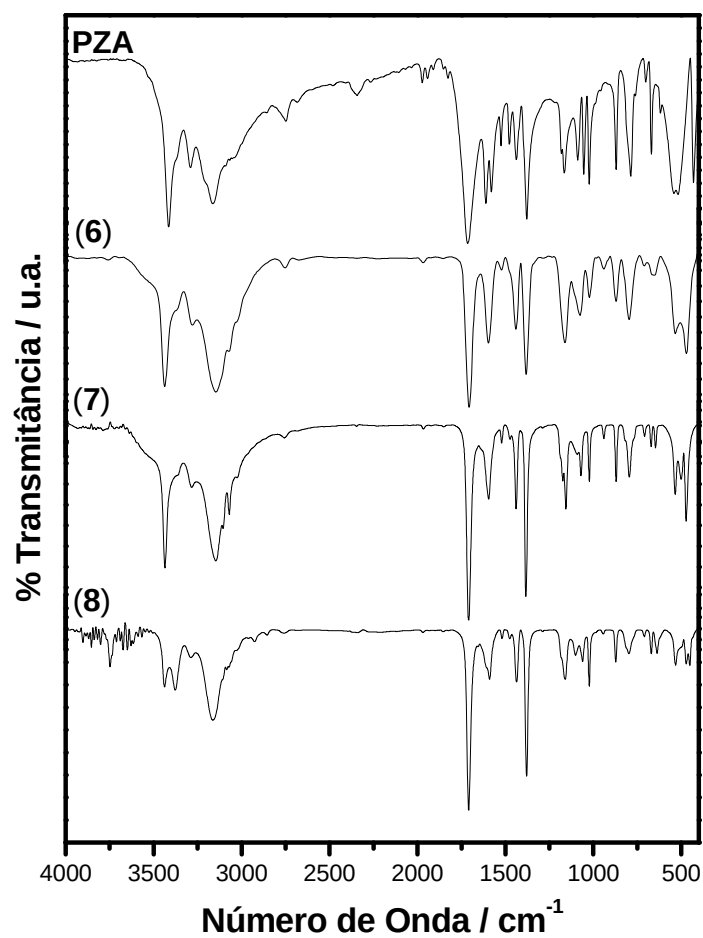
IV.1.3 Compostos Contendo o Ligante Pirazinamida (PZA)

IV.1.3.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A pirazinamida (PZA) pode se coordenar pelos nitrogênios do anel da pirazina, pelo oxigênio do grupo C=O e/ou pelo grupo NH₂. Quando o nitrogênio do anel aromático está envolvido na formação do complexo, as bandas relativas a certos modos vibracionais do anel, particularmente o modo respiração do anel e dois modos de estiramento em torno de 1400-1600 cm⁻¹, deslocam-se para frequências mais altas devido ao acoplamento com a vibração M – N (ligante) [180-182]. Quando o nitrogênio do grupo NH₂ está envolvido na coordenação, ocorrem mudanças drásticas nos números de ondas das vibrações envolvendo o grupo amina [180-184], e quando ocorre a coordenação através do oxigênio do grupo carbonila, observa-se um deslocamento positivo do modo vibracional $\nu(\text{C=O})$ ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [185].

A Figura 49 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e dos complexos **6-8** cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 7.

Figura 49 - Espectros vibracionais no IV do ligante livre pirazinamida (PZA) e dos complexos 6-8



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 7 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e os complexos **6-8** e suas respectivas atribuições

Composto				Atribuição
PZA	6	7	8	
3294 <i>m</i>	3278 <i>f</i>	3286 <i>f</i>	3378 <i>m</i>	$\nu_{\text{as}}\text{NH}$
3164 <i>m</i>	3148 <i>m</i>	3148 <i>m</i>	3164 <i>m</i>	$\nu_{\text{s}}\text{NH}$
3028 <i>om</i>	3022 <i>om</i>	3025 <i>f</i>	3031 <i>om</i>	νCH
1714 <i>F</i>	1707 <i>F</i>	1709 <i>F</i>	1708 <i>F</i>	$\nu(\text{C}=\text{O})$, amida I
1608 <i>m</i>	1595 <i>m</i>	1595 <i>m</i>	1590 <i>m</i>	δNH_2
1524 <i>m</i>	1522 <i>f</i>	1521 <i>f</i>	1519 <i>f</i>	ν_{anel}
1475 <i>f</i>	-	1473 <i>om</i>	1475 <i>om</i>	ν_{anel}
1437 <i>m</i>	1439 <i>m</i>	1439 <i>m</i>	1436 <i>m</i>	ν_{anel}
1377 <i>F</i>	1383 <i>F</i>	1383 <i>F</i>	1379 <i>F</i>	νCN
1165 <i>m</i>	1161 <i>m</i>	1156 <i>m</i>	1160 <i>m</i>	ν_{anel}
1089 <i>m</i>	1074 <i>m</i>	1091 <i>f</i>	-	Twisting NH_2
1051 <i>m</i>	-	-	1061 <i>f</i>	δCH
1023 <i>m</i>	1023 <i>f</i>	1023 <i>f</i>	1023 <i>m</i>	ϕ (Respiração do anel)
-	943 <i>f</i>	940 <i>f</i>	-	γCH
870 <i>m</i>	870 <i>m</i>	870 <i>f</i>	872 <i>f</i>	δ_{anel}
791 <i>m</i>	795 <i>m</i>	795 <i>f</i>	798 <i>f</i>	γCH
706 <i>om</i>	712 <i>f</i>	709 <i>f</i>	710 <i>f</i>	γ_{anel}
667 <i>m</i>	652 <i>f</i>	646 <i>f</i>	670 <i>f</i> , 637 <i>f</i>	Wagging NH_2
532 <i>F</i>	532 <i>m</i>	534 <i>m</i>	532 <i>f</i>	δ_{anel}
430 <i>F</i>	471 <i>F</i>	472 <i>m</i>	471 <i>f</i> , 452 <i>f</i>	$\nu\text{C-NH}_2$

Fonte: Autora

A análise dos espectros no IV do ligante livre e dos compostos **6-8** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante pirazinamida (PZA) ao centro metálico. Nos espectros no IV dos complexos **6-8**, nota-se um deslocamento para frequências mais baixas da banda associada ao modo vibracional $\nu\text{C}=\text{O}$ ($1707\text{-}1709\text{ cm}^{-1}$) quando comparada a do ligante livre (1714 cm^{-1}), sugerindo que a carbonila participa da coordenação. De fato, Akyuz *et al.* [186] relata valores de $\nu\text{C}=\text{O}$ muito próximos àqueles encontrados no nosso trabalho ($1707\text{-}1709\text{ cm}^{-1}$), para complexos de outros metais da primeira série de transição, nos quais a coordenação da pirazinamida ocorre através do átomo de oxigênio do grupo carbonila. Observa-se, ainda, que as bandas δNH_2 e $\nu\text{C-NH}_2$ apresentam deslocamentos de 1608 (ligante livre) para o intervalo de $1595\text{-}1590\text{ cm}^{-1}$ ($\Delta\bar{\nu} = +13\text{-}10\text{ cm}^{-1}$), e de 430

para 471 cm^{-1} em ambos os complexos ($\Delta\bar{\nu} = -43\text{ cm}^{-1}$), respectivamente, sendo que essas alterações são típicas da coordenação do metal ao átomo de nitrogênio do grupo amino [184]. As absorções no IV associadas às vibrações ϕ (respiração do anel) e γ_{anel} do anel da pirazinamida não sofrem modificações após a coordenação (1023 cm^{-1}) quando comparada ao ligante livre (1023 cm^{-1}). Este fato sugere que o nitrogênio do anel heterocíclico próximo ao grupo $-\text{CONH}_2$ não deva estar interagindo com o metal (Figura 59).

IV.1.3.2 Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa

A técnica de espectroscopia eletrônica de absorção com medida de reflectância difusa foi utilizada uma vez que os compostos **6-8** são pouco solúveis nos solventes testados.

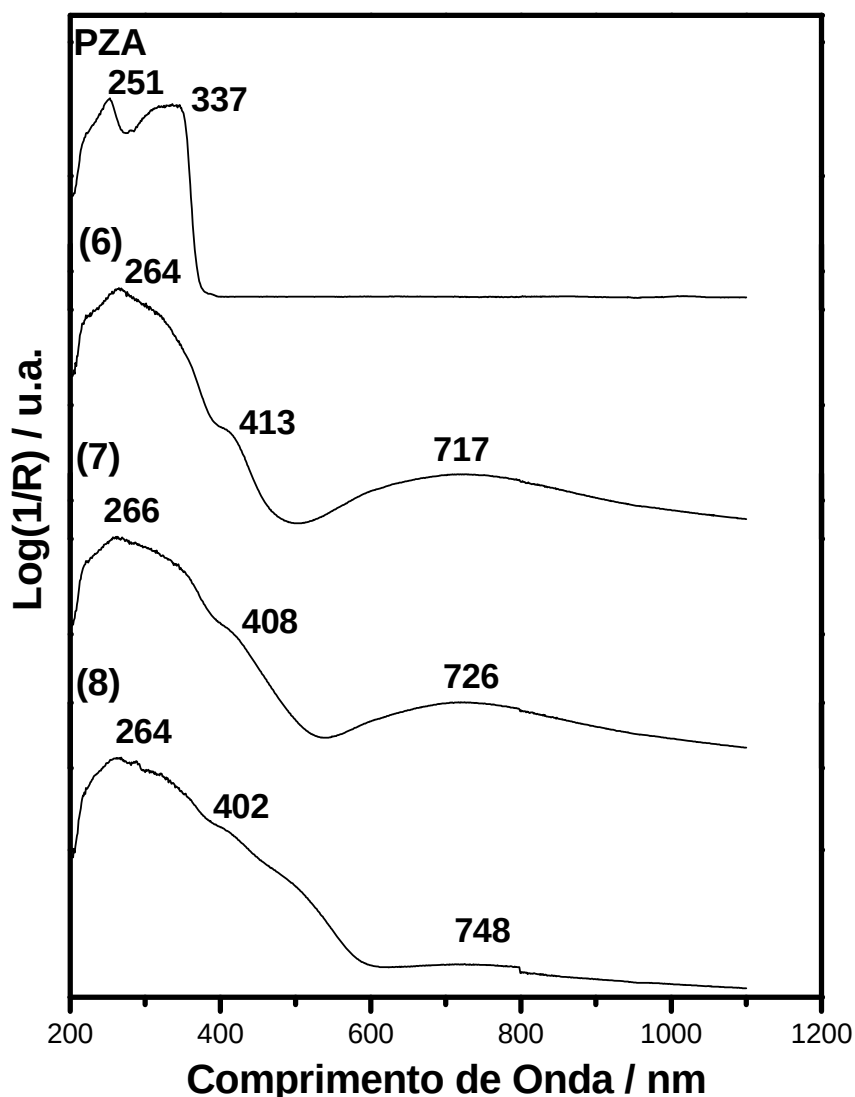
Os espectros de absorção com medida de reflectância difusa ($\log 1/R$) para o ligante livre PZA e para os compostos **6-8** estão representados na Figura 50.

No espectro eletrônico do composto **6** observa-se uma banda intensa e alargada em 264 nm atribuída à transição IL, que aparece deslocada em relação ao ligante livre PZA (251 nm) por efeito de coordenação. Pode ser observada, ainda, a presença de um ombro em 413 nm , atribuído à transição LMCT do tipo $\text{Cl}^- \rightarrow \text{Cu}$, e uma banda em 717 nm atribuída à transição de campo ligante [159].

Do mesmo modo, o sólido verde $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**) apresenta em seu espectro eletrônico bandas em 266 nm , correspondente à transição eletrônica interna do ligante, um ombro em 408 nm gerado pela transição LMCT do tipo $\text{Br}^- \rightarrow \text{Cu}$ e uma banda em 726 nm resultante das transições $d-d$ do cobre(II) [159].

Por outro lado, quando analisa-se o espectro eletrônico do complexo **8**, verifica-se uma predominância da banda de transferência de carga, observada na região do azul, quando comparada com a transição CL que aparece com muito baixa intensidade em cerca de 750 nm . Por essa razão, esse composto apresenta-se como um sólido de coloração laranja amarronzada, tendo sido portanto verificado nesta série, como esperado, um deslocamento da banda de transferência de carga LMCT, na qual um elétron do par isolado do ligante haleto é promovido para um orbital predominantemente do metal, para energia maior na ordem $\text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ [187].

Figura 50 - Espectros eletrônicos dos compostos 6-8 (reflectância difusa)



Fonte: Autora

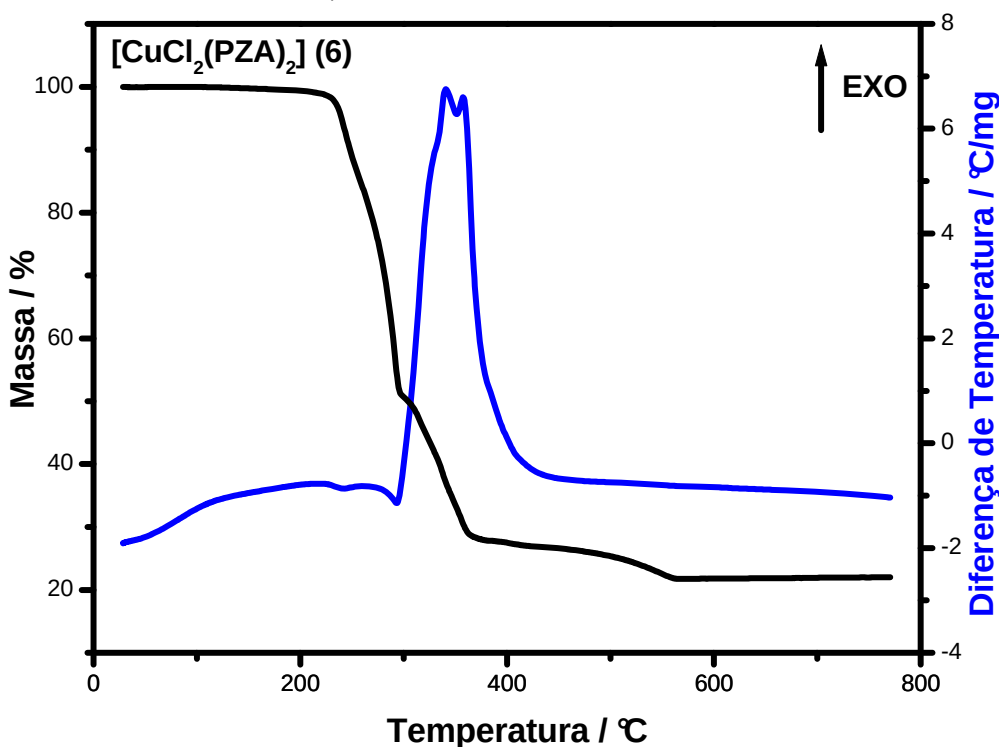
IV.1.3.3 Análise térmica (TGA e DTA)

A Figura 51 apresenta as curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6), o qual decompõe-se em três etapas. Observa-se na curva DTA um pico exotérmico em 73 °C que pode ser atribuído a uma transição cristalina. O composto é termicamente estável até 150 °C, a partir desta temperatura, observa-se, a primeira perda de massa de 14,92 %, correspondendo na curva DTA a um pico endotérmico de pequena intensidade. Na segunda e terceira perdas de massas (265-600 °C) ocorrem a decomposição térmica do composto com a oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA observa-se uma endoterma em 293 °C atribuída à fusão [188] e uma exoterma com picos próximos de 340 e 357 °C. A 600 °C o resíduo final é constituído de CuO, como comprovado por

RESULTADOS E DISCUSSÃO

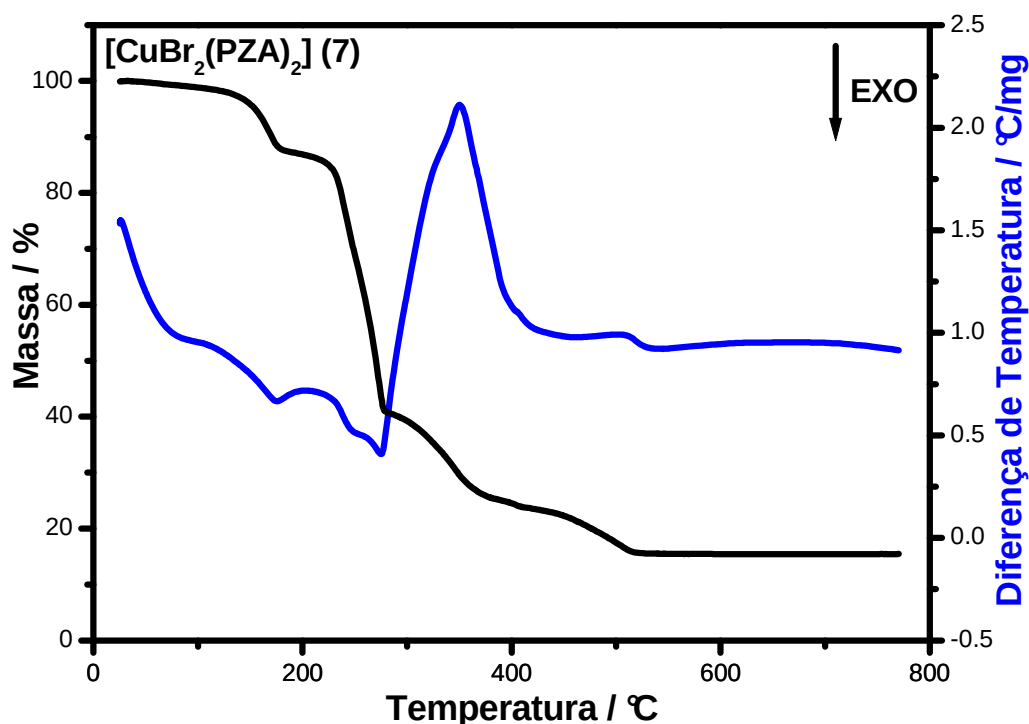
difratometria de raios X de pó (Figura 54). Os dados termoanalíticos obtidos para esse composto estão de acordo com os obtidos por Simon *et al.* [188]. A Tabela 8 mostra os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6).

Figura 51 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6)



Fonte: Autora

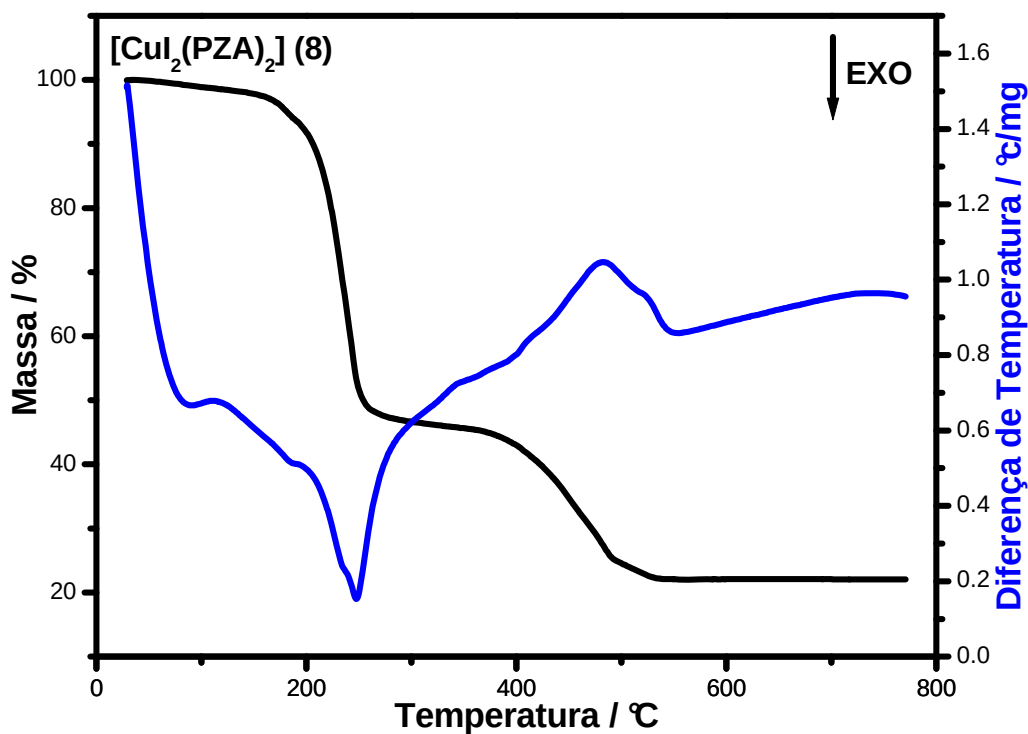
As curvas TGA-DTA evidenciam que a decomposição térmica do composto $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7), Figura 52, se faz em quatro etapas. Na primeira etapa 30-189 °C, provavelmente ocorre uma pequena perda de umidade uma vez que a temperatura inicial é muito baixa e inicia-se a eliminação dos ligantes nas próximas três etapas e a consequentemente formação de CuO como resíduo final, que foi identificado por difratometria de raios X, pelo método do pó. De acordo com a curva DTA, essas etapas estão associadas a uma endoterma com picos em 350 e 504 °C e uma exoterma com picos em 175, 250 e 275 °C. Os dados termoanalíticos obtidos a partir das curvas TGA-DTA do composto 7 estão compilados na Tabela 8.

Figura 52 - Curvas TGA-DTA do $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7)

Fonte: Autora

Como se pode notar as curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8) (Figura 53), sua decomposição ocorrem em duas etapas, com formação de óxido de cobre(II). Na primeira etapa (30-286 °C), observa-se uma perda de massa de 52,90 %, correspondendo na curva DTA a picos exotérmicos em 90, 186 e 247 °C. Na segunda perda de massa (286-600 °C) ocorrem a decomposição térmica do composto com a oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA observa-se uma endoterma em 481 °C. A 600 °C o resíduo final é constituído de CuO . A Tabela 8 apresenta os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 53 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8)

Fonte: Autora

Tabela 8 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (6), $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7) e $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (8)

Composto	Etapas	$T_{\text{inicial}} - T_{\text{final}}$ (°C)	Δm (%)		DTA/°C	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
6	Decomposição térmica	150-265	14,92	14,89	241	
	Decomposição térmica	265-300	34,62	34,54	293	
	Decomposição térmica	300-600	28,81	28,91		340 e 357
	Resíduo	-	21,55	21,12	-	
7	Decomposição térmica	30-189	12,62	12,89		175
	Decomposição térmica	189-290	47,20	47,96		250 e 275
	Decomposição térmica	290-415	16,40	17,01	350	
	Decomposição térmica	415-600	8,29	7,74	504	
	Resíduo	-	15,46	16,94	-	
8	Decomposição térmica	30-286	52,90	52,57		90, 186 e 247
	Decomposição térmica	286-600	25,00	26,00	481	
	Resíduo	-	22,10	21,42	-	

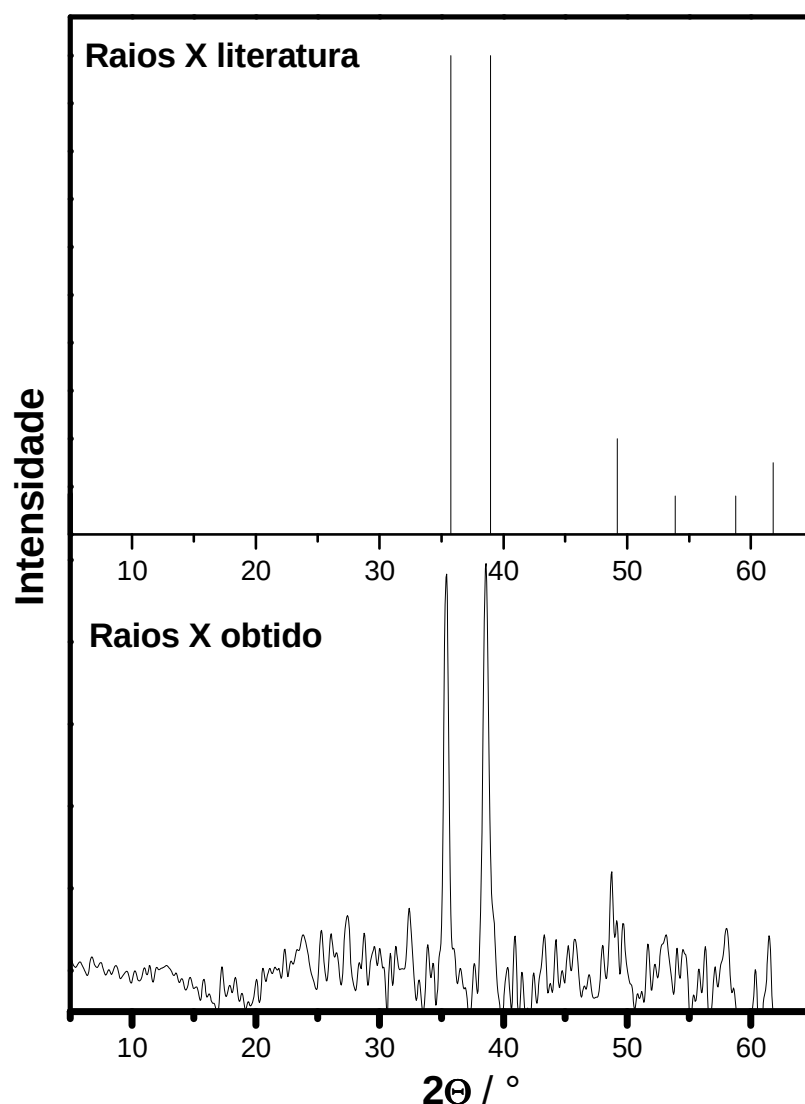
Fonte: Autora

O resíduo final obtido a 600 °C na decomposição térmica dos compostos 6-8 foi identificado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

como óxido de cobre(II) e esta identificação foi feita utilizando a difração de raios X pelo método do pó. A título de ilustração, a Figura 54 mostra o difratograma de raios X de pó do resíduo final da termodecomposição do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**6**) [167].

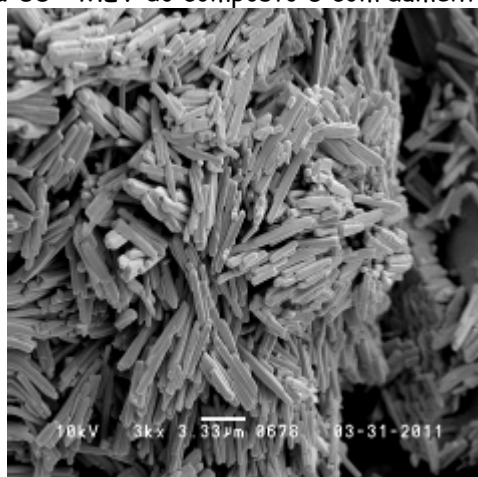
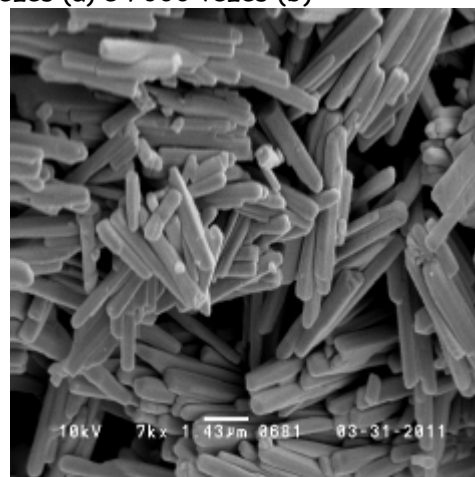
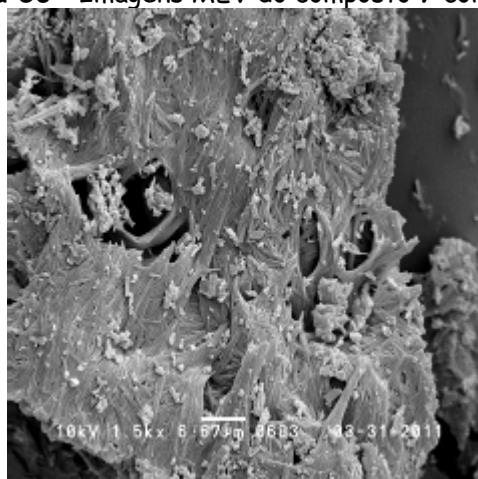
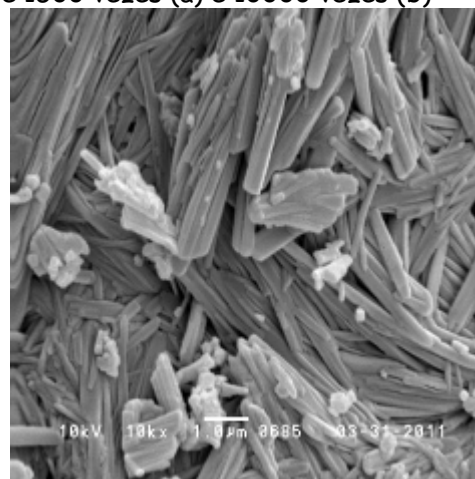
Figura 54 - Difratograma de raios X, método do pó, do resíduo obtido a 600 °C na termodecomposição do composto **6** comparado com o da literatura



Fonte: Autora

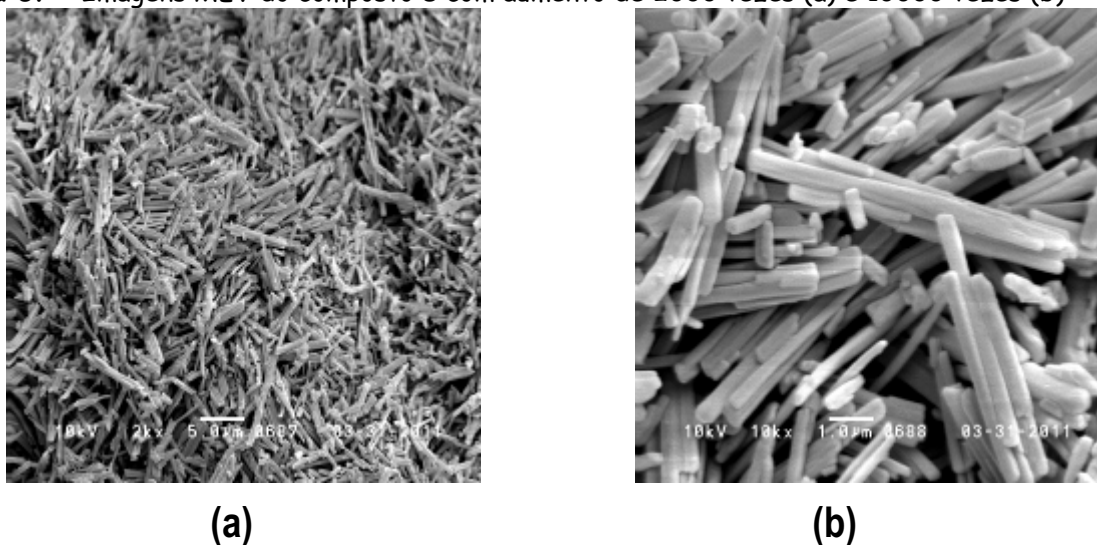
IV.1.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 55-57 ilustram as fotomicrografias dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**6**), $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**) e $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (**8**), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO**Figura 55** - MEV do composto 6 com aumento de 3000 vezes (a) e 7000 vezes (b)**(a)****(b)****Fonte:** Autora**Figura 56** - Imagens MEV do composto 7 com aumento de 1500 vezes (a) e 10000 vezes (b)**(a)****(b)****Fonte:** Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 57 - Imagens MEV do composto **8** com aumento de 2000 vezes (a) e 10000 vezes (b)



Fonte: Autora

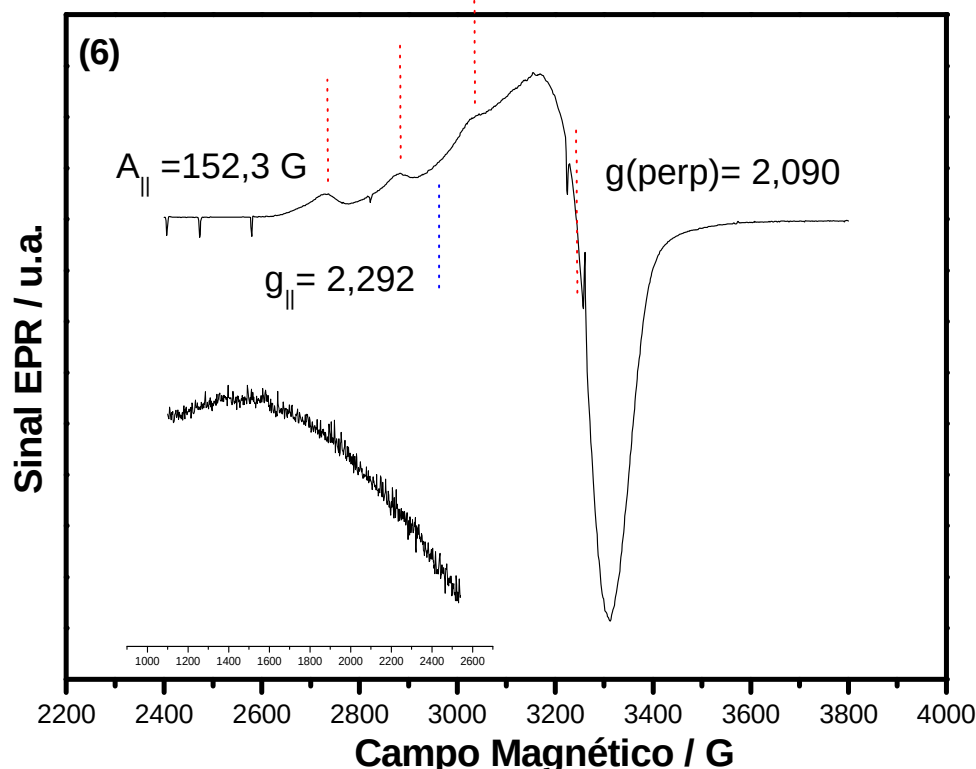
Analisando-se as micrografias dos compostos **6-8**, pode ser observado uma alta ordem de cristalinidade para esses sistemas, com a formação de monocristais na forma de bastão. No entanto, embora sejam cristais muito bem formados, apresentando também uniformidade de tamanho, eles são muito pequenos para determinação estrutural via DRX de monocristal, cujo tamanho adequado encontra-se no intervalo entre 50 e 100 μm .

Por essa razão, em parceria com os Profs. Drs. Fábio Furlan Ferreira da UFABC e Carlos Paiva deste Instituto, estudos estão sendo realizados na tentativa de determinar essas estruturas pelo método de Rietveld.

IV.1.3.5 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos **6-8**

O espectro EPR em banda X do complexo **6** contendo a molécula biologicamente ativa PZA, obtido em solução congelada de DMSO a 77 K, está representado na Figura 58.

Figura 58 - Espectro EPR do complexo **6**, em solução congelada de DMSO, a 77 K



Fonte: Autora

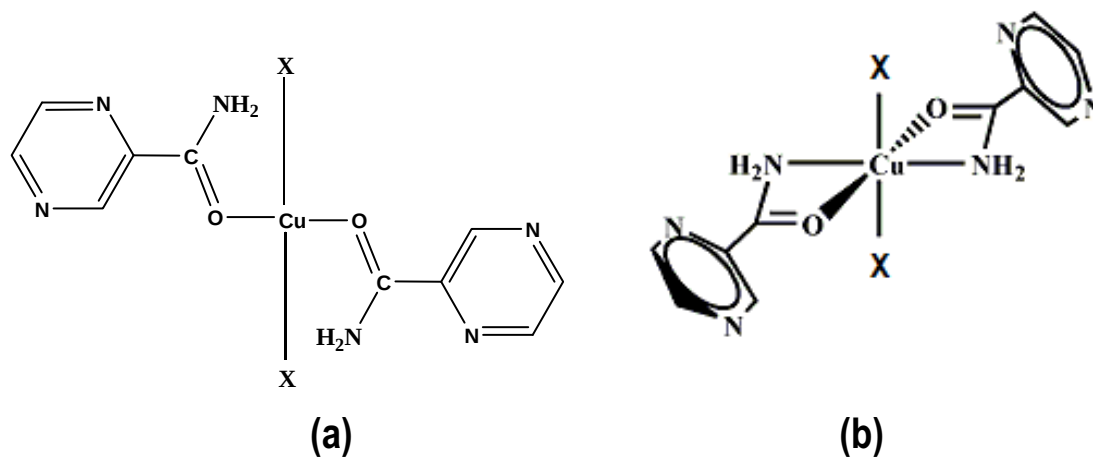
De um modo geral, o espectro do complexo **6** permite sugerir a presença de íons Cu(II) octaédricamente coordenados, com o octaedro alongado na direção axial, uma vez que nenhum dos dois valores de g , é igual a $g = 2,00$ [178]. Espécies de cobre divalente, obtidos em solução e a temperatura de 77 K, que apresentam $g_{||} > g_{\perp} > g_0$ são típicos de Cu (II) (d^9) em simetria axial com o elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$ [179]. O espectro de EPR obtido para o composto **6** apresentou $g_{||} > g_{\perp}$ que sugere estrutura octaédrica com uma forte distorção tetragonal devido ao efeito de distorção Jahn Teller dos íons Cu(II) de configuração d^9 [179].

Nenhuma banda correspondente às transições $\Delta M_s = \pm 2$ (em campo ~ 1500 G) foi observada no espectro, sugerindo que não há interação Cu...Cu na amostra. Em outras palavras, o complexo **6** deve tratar-se de uma espécie monomérica [189].

Os compostos **6-8** foram preparados segundo adaptação do método descrito na literatura [142], mas de acordo com os dados de análise elementar bem como evidências espectroscópicas obtidas neste trabalho, não se confirma a estrutura proposta pelo grupo de Allan *et al.* [142] (ver Figura 59-a). A proposição desta Tese é que tenham sido obtidos compostos com geometria octaédrica distorcida nos quais dois anéis quelatos foram formados pela coordenação da PZA através dos átomos de oxigênio e

nitrogênio do grupo amino, e os haletos ocupam as posições axiais. A Figura 59-b ilustra a estrutura proposta, corroborada também por um outro grupo de pesquisadores [143].

Figura 59 - Estruturas propostas para os complexos contendo PZA: X = Cl⁻ (6), Br⁻ (7) e I⁻ (8): (a) estrutura proposta por Allan *et al.* [142] e (b) estrutura proposta neste trabalho



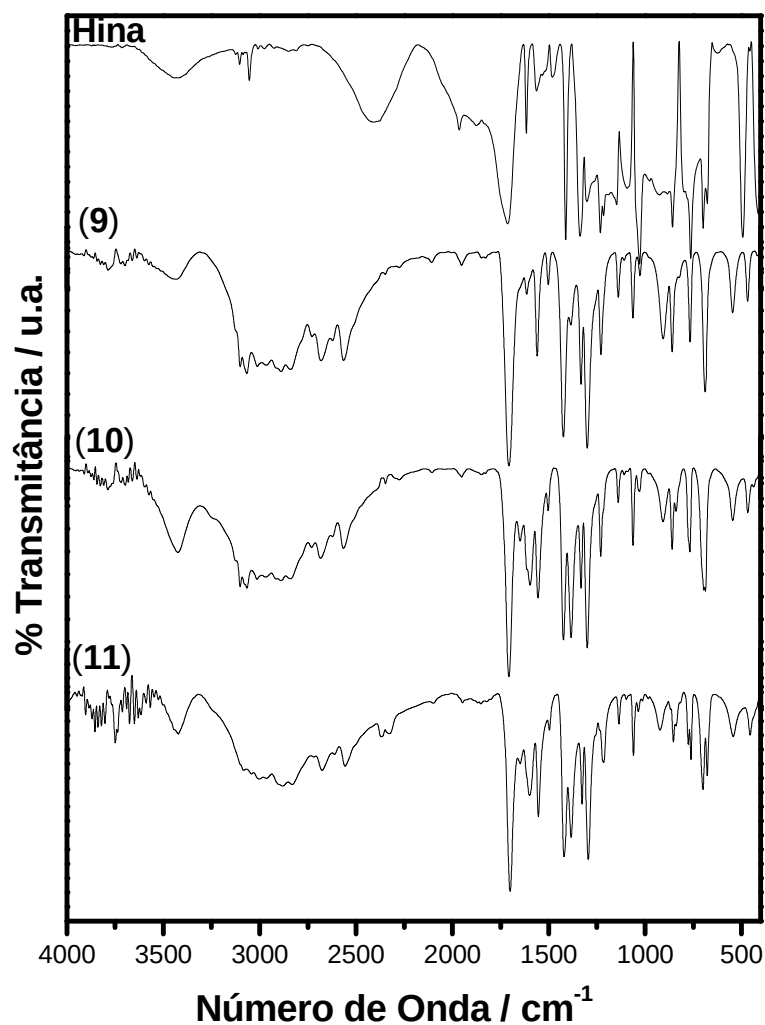
Fonte: Autora

IV.1.4 Compostos contendo o ligante ácido isonicotínico (Hina)

IV.1.4.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 60 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e dos complexos 9-11 cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 9.

Figura 60 - Espectros vibracionais no IV para o ligante livre ácido isonicotínico (Hina) e os complexos 9-11



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 9 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos **9-11** e suas respectivas atribuições

Composto				Atribuição
Hina	9	10	11	
3442-3422 <i>m</i>	3434 <i>m</i> , 3101-2567 <i>F</i>	3431 <i>m</i> , 3105-2567 <i>F</i>	3423 <i>m</i> , 3097-2543 <i>F</i>	νOH
1713 <i>F</i>	1707 <i>F</i>	1709 <i>F</i> , 1648 <i>F</i>	1700 <i>F</i> , 1648 <i>m</i>	$\nu\text{C}=\text{O}$
1616 <i>m</i>	1610 <i>m</i>	1597 <i>m</i>	1600 <i>m</i>	$\nu\text{py}(\text{CC} + \text{CN})$
1563 <i>f</i>	1560 <i>m</i>	1556 <i>m</i>	1554 <i>m</i>	$\nu\text{py}(\text{CC} + \text{CN})$
1482 <i>f</i>	1503 <i>f</i>	1503 <i>f</i>	1497 <i>f</i>	$\delta_{\text{Car}}\text{C}-\text{O}$
1412 <i>F</i>	1424 <i>F</i>	1424 <i>F</i>	1421 <i>F</i> , 1384 <i>F</i>	$\delta_{\text{Car}}\text{C}-\text{O}$
1337 <i>F</i>	1333 <i>m</i>	1333 <i>m</i>	1327 <i>m</i>	νCO
1302 <i>m</i>	1301 <i>F</i>	1301 <i>F</i>	1295 <i>F</i>	ΓCOO
1231 <i>F</i>	1229 <i>m</i>	1230 <i>m</i>	1235 <i>om</i>	ΓCOH
1215 <i>F</i>	-	-	1216 <i>m</i>	<i>Rocking</i> CH + ΓCOH
1148 <i>F</i>	1139 <i>f</i>	1140 <i>f</i>	1136 <i>f</i>	$\nu\text{C}_{\text{py}}\text{C}_{\text{COOH}}$
1094 <i>F</i>	1104 <i>f</i>	1108 <i>f</i>	1098 <i>om</i>	νCO
-	-	1063 <i>m</i>	1061 <i>m</i>	$\nu\text{CC} + \nu\text{CO}$
1029 <i>F</i>	1026 <i>f</i>	1028 <i>f</i>	1035 <i>f</i>	δ_{anel}
977 <i>m</i>	984 <i>om</i>	985 <i>om</i>	985 <i>om</i>	ϕ
925 <i>m</i> , 885 <i>m</i>	906 <i>m</i>	907 <i>f</i>	923 <i>f</i>	γCH
857 <i>F</i>	860 <i>m</i>	860 <i>m</i>	868 <i>om</i> , 853 <i>f</i>	<i>Rocking</i> CH
764 <i>F</i>	767 <i>m</i>	768 <i>m</i>	776 <i>m</i> , 762 <i>m</i>	δ_{anel}
698 <i>F</i>	-	695 <i>m</i>	700 <i>m</i>	γCOOH
677 <i>m</i>	688 <i>F</i>	687 <i>m</i>	678 <i>m</i>	δ_{anel}
549	546 <i>m</i>	545 <i>f</i>	543 <i>m</i>	γOH
494 <i>F</i>	468 <i>m</i>	467 <i>f</i>	455 <i>f</i>	γOCO
413 <i>F</i>	415 <i>f</i>	437 <i>f</i>	-	$\gamma_{\text{anel}} + \delta\text{COOH}$

Fonte: Autora

O ligante ácido isonicotínico (Hina) pode se coordenar a um centro metálico através do grupo carboxilato e/ou através do átomo de nitrogênio do anel piridínico. A espectroscopia vibracional na região do infravermelho nos permite diagnosticar o modo de coordenação do ligante ao centro metálico. Os modos vibracionais mais importantes são, portanto, aqueles associados ao estiramento $\nu\text{C}=\text{O}$ e as vibrações do anel da piridina. Se a coordenação ocorre através do átomo de oxigênio da carbonila, espera-se um forte deslocamento para regiões de menor frequência no modo vibracional $\nu\text{C}=\text{O}$. Por outro lado, esperam-se deslocamentos negativos nos modos vibracionais do anel piridínico, quando a

RESULTADOS E DISCUSSÃO

coordenação ocorre através do átomo de nitrogênio do anel piridínico [190].

Uma análise comparativa entre os espectros no IV do ligante livre e dos compostos **9-11** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante ácido isonicotínico (Hina) ao centro metálico.

Nos espectros dos complexos **9-11**, observa-se um deslocamento para frequências mais baixas da banda associada ao modo vibracional νOH ($3434, 3105\text{-}2543\text{ cm}^{-1}$) bem como o alargamento da mesma, quando comparada a do ligante livre ($3442\text{-}3422\text{ cm}^{-1}$), sugerindo a formação de ligações de hidrogênio nesses compostos. Esse fato é corroborado com a análise da região $\nu\text{C=O}$ que mostra um pequeno deslocamento para frequências mais baixas após a coordenação, acompanhado de um desdobramento da banda associada a esse modo vibracional.

Com relação às duas bandas associadas a modos vibracionais característicos do anel piridínico, νPy ($\text{CC} + \text{CN}$), elas apresentam deslocamentos de 1616 e 1563 cm^{-1} (ligante livre) para 1610 e 1560 cm^{-1} (composto **9**), 1597 e 1556 cm^{-1} (composto **10**) e 1600 e 1554 cm^{-1} (composto **11**), sendo que essas alterações são típicas da coordenação do metal ao átomo de nitrogênio do anel heterocíclico.

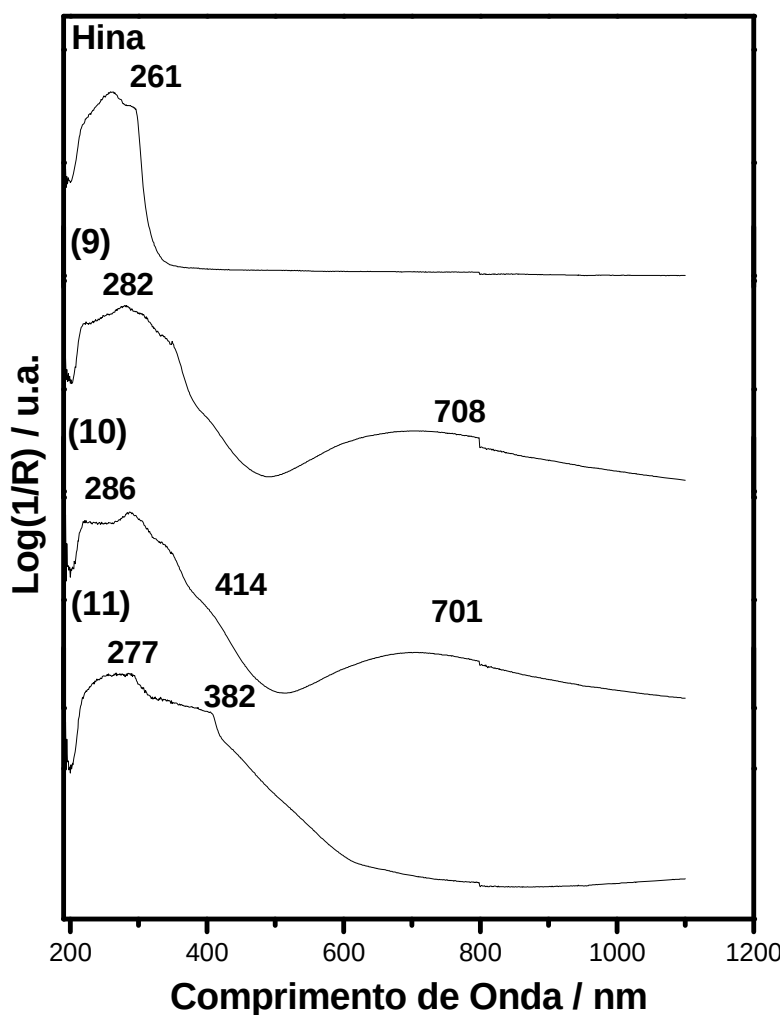
Portanto, esses resultados espectroscópicos revelam, e também em consonância com dados da literatura [144], que o íon cobre(II) nesta série de compostos deve estar coordenado a um par de halogênios e a átomos de nitrogênio de dois anéis piridínicos. Esses monômeros, por sua vez, interagem entre si, via ligações de hidrogênio entre grupos carboxilatos adjacentes, formando um composto supramolecular unidimensional (Figura 69).

IV.1.4.2 Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa

A técnica de espectroscopia eletrônica de absorção com medida de reflectância difusa foi utilizada uma vez que os compostos **9-11** são pouco solúveis nos solventes testados.

Os espectros de absorção com medida de reflectância difusa ($\log 1/R$) para o ligante livre Hina e para os compostos **9-11** estão representados na Figura 61.

Figura 61 - Espectros eletrônicos dos compostos 9-11 (reflectância difusa)



Fonte: Autora

Observa-se no espectro eletrônico do composto azul claro **9** uma banda intensa e alargada em 282 nm atribuída à transição IL, que aparece deslocada em relação ao ligante livre Hina (261 nm) por efeito de coordenação. Pode ser observada, ainda, uma banda em 708 nm atribuída à transição de campo ligante [159].

Do mesmo modo, o sólido verde $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (**10**) apresenta em seu espectro eletrônico bandas em 286 nm, correspondente à transição eletrônica interna do ligante, uma tendência ombro em 414 nm gerado pela transição LMCT do tipo $\text{Br}^- \rightarrow \text{Cu}$ e uma banda em 701 nm resultante das transições *d-d* do cobre(II) [159].

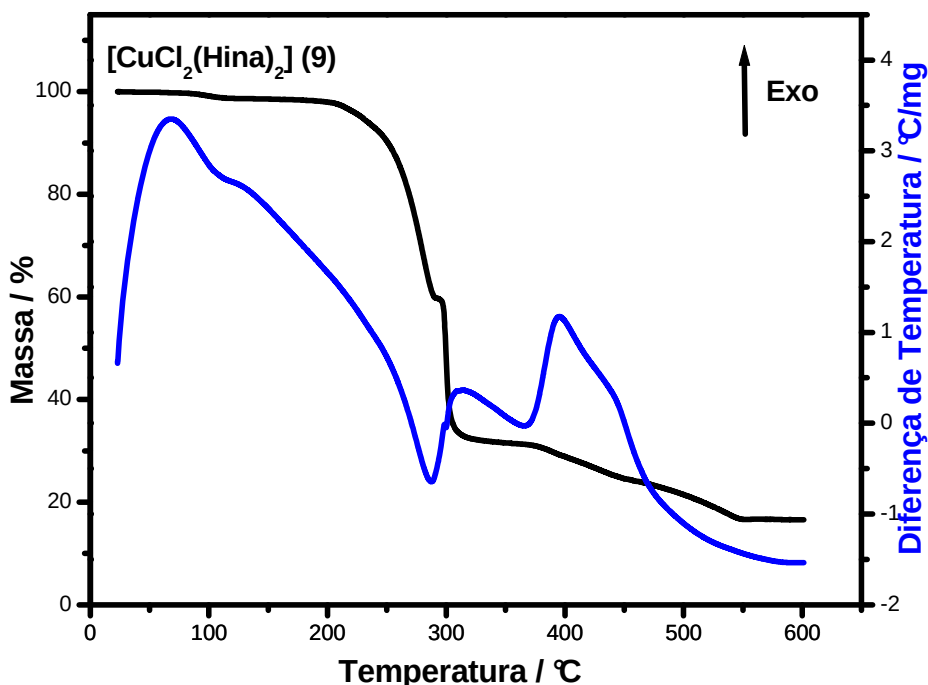
Quando analisa-se o espectro eletrônico do complexo **11**, verifica-se uma banda em 277 nm atribuída à transição IL, e observa-se uma predominância da banda de transferência de carga, na região do azul, quando comparada com a transição CL que aparece com muito baixa intensidade, e adjacente ao final da banda anterior, sendo até difícil atribuir um valor para a mesma. Por razão, esse

composto apresenta-se como um sólido de cor laranja amarronzada, tendo sido, portanto verificado nesta série, assim como nos compostos contendo a molécula bioativa PZA, um deslocamento da banda de transferência de carga LMCT, na qual um elétron do par isolado do ligante haleto é promovido para um orbital predominantemente do metal, para energia maior na ordem $I^- > Br^- > Cl^-$ [187].

IV.1.4.3 Análise térmica (TGA e DTA)

Observando-se as curvas TGA-DTA do composto $[CuCl_2(Hina)_2]$ (**9**) (Figura 62), verifica-se que a decomposição a cobre metálico ocorre em três etapas, mas não foi possível obter o resíduo para esse composto. O complexo é termicamente estável até 160 °C, quando sofre, em seguida, a eliminação dos ligantes em três etapas e a conseqüente formação de Cu^0 . De acordo com a curva DTA, essas etapas estão associadas com um pico endotérmico em 287 °C e uma exoterma com picos em 311 e 396 °C. Os dados termoanalíticos obtidos a partir das curvas TGA-DTA do composto **9** estão compilados na Tabela 10.

Figura 62 - Curvas TGA-DTA do composto $[CuCl_2(Hina)_2]$ (**9**)



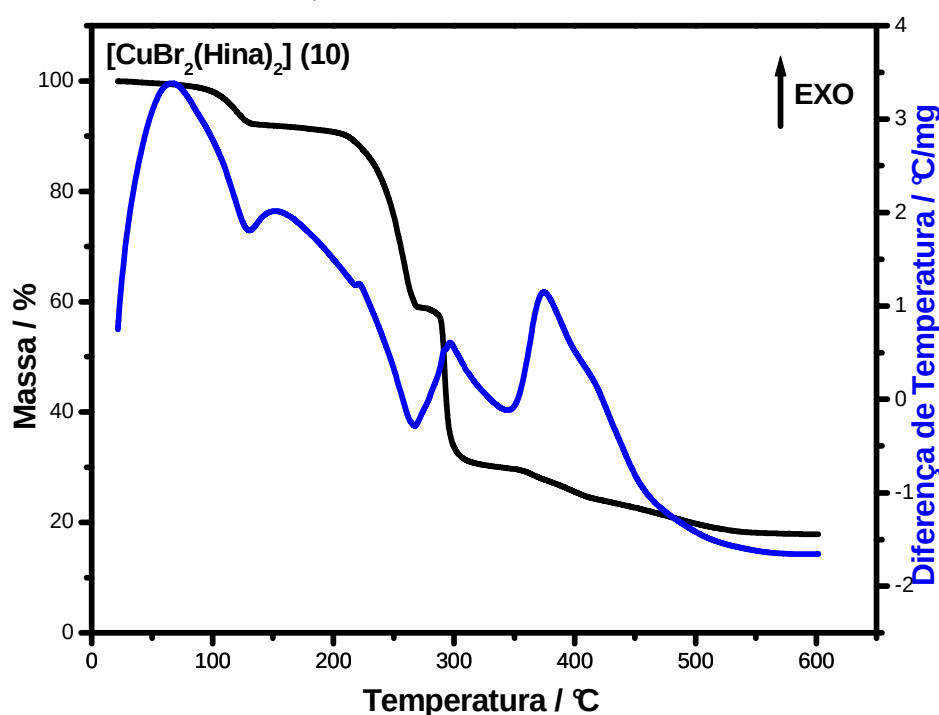
Fonte: Autora

A Figura 63 apresenta as curvas TGA-DTA do composto $[CuBr_2(Hina)_2]$ (**10**), o qual decompõe-se em quatro etapas. A primeira perda de massa inicia-se em 21,0 °C, provavelmente com uma

RESULTADOS E DISCUSSÃO

pequena perda de umidade devido a baixa temperatura e o início da decomposição térmica do composto com uma primeira perda de massa 7,935 %, correspondendo na curva DTA a um pico endotérmico em 130 °C. Da segunda a quarta perda de massas (138-600 °C) ocorre à decomposição térmica do composto com oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA observa-se um pico endotérmico em 267 °C e uma exoterma com picos próximos de 298 e 374 °C. A 600 °C o resíduo final é constituído de CuO, como comprovado por difratometria de Raios X, método do pó, Figura 65. Os principais dados termoanalíticos são mostrados na Tabela 10.

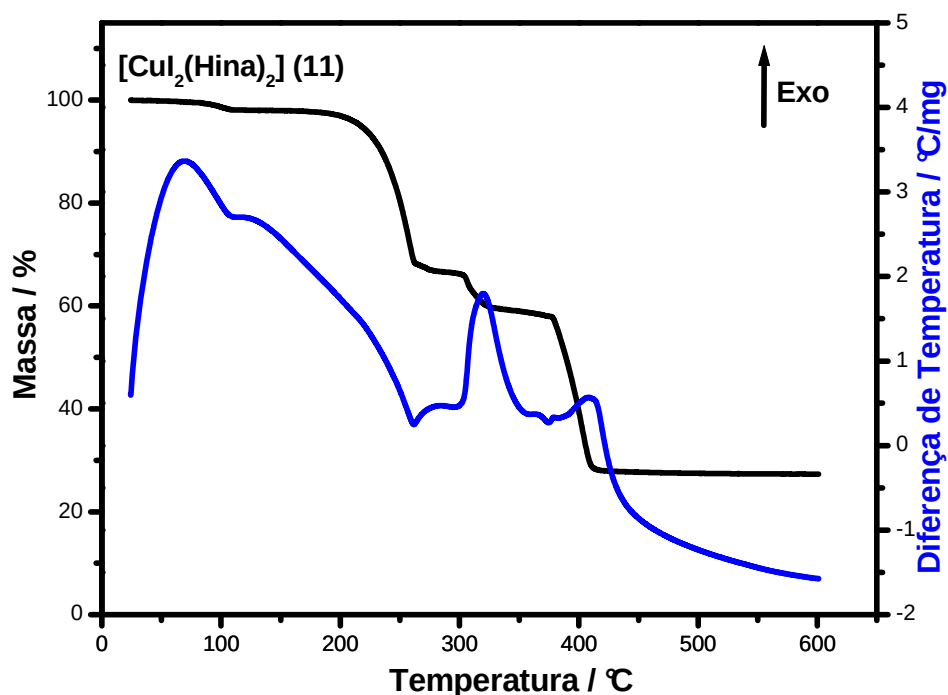
Figura 63 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (**10**)



Fonte: Autora

As curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (**11**) (Figura 64) mostram três etapas de termodecomposição. A decomposição do composto **11** é semelhante ao composto **10** que também contém o ligante ácido isonicotínico. O composto começa a se decompor em 126 °C, eliminando os ligantes em três etapas e na curva DTA, essas etapas estão associadas a um pico endotérmico em 263 °C e uma exoterma com dois picos em 320 e 408 °C. A 600 °C o resíduo é constituído por óxido de cobre(II). A Tabela 10, mostra os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (**11**).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 64 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11)

Fonte: Autora

Tabela 10 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (9), $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (10) e $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (11)

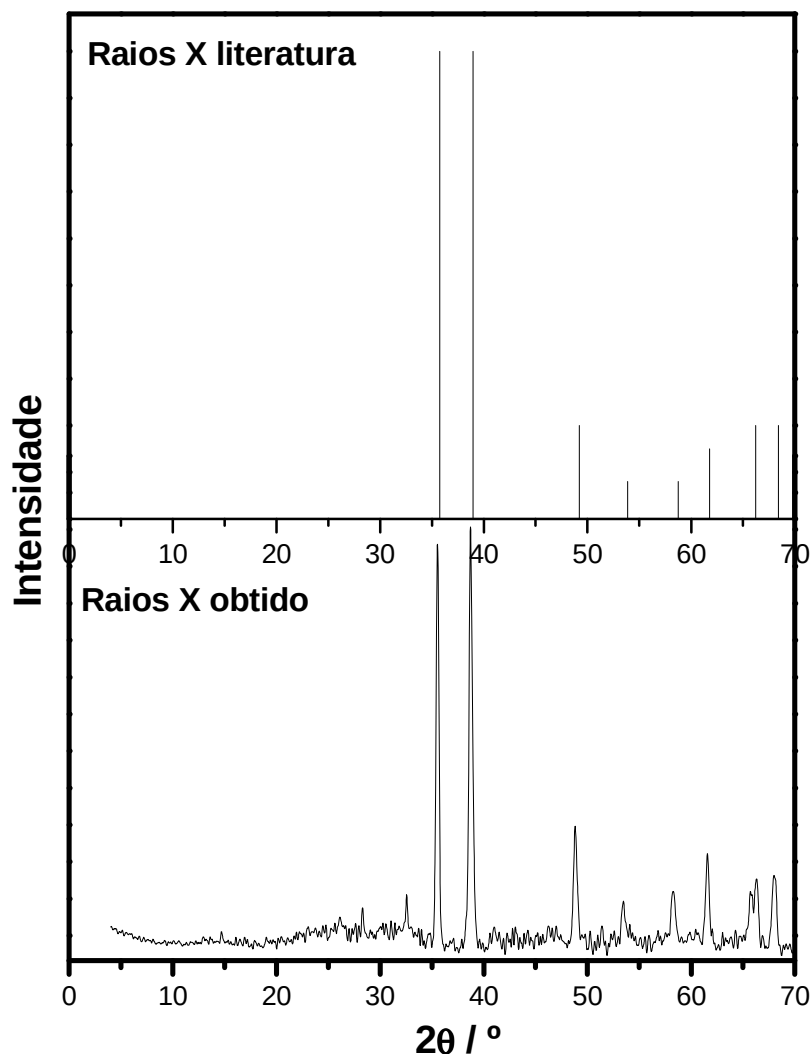
Composto	Etapas	$T_{\text{inicial}} - T_{\text{final}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta m (\%)$		DTA/ $^{\circ}\text{C}$	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
9	Decomposição térmica	160-290	38,78	37,41	287	
	Decomposição térmica	290-350	27,48	25,63		311
	Decomposição térmica	350-600	17,35	18,45		396
	Resíduo	-	16,57	16,70		-
10	Decomposição térmica	21,0-138	7,94	8,74	130	
	Decomposição térmica	138-275	33,18	34,49	267	
	Decomposição térmica	275-316	28,04	25,78		298
	Decomposição térmica	316-600	12,96	14,07		374
	Resíduo	-	17,88	16,94		-
11	Decomposição térmica	126-291	31,50	31,48	263	
	Decomposição térmica	291-345	7,423	7,408		320
	Decomposição térmica	345-600	31,79	31,74		408
	Resíduo	-	27,32	27,26		-

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação do resíduo final das termodecomposições como óxido de cobre(II) foi realizada através da difração de raios X pelo método do pó. A Figura 65 mostra o difratograma de raios X de pó do resíduo final da decomposição térmica do composto $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (**10**), sendo esta figura representativa também para o resíduo formado pelo composto **11** [167].

Figura 65 - Difratograma de raios X, método do pó, do resíduo obtido (CuO) na termodecomposição a $600\text{ }^\circ\text{C}$ do composto **10** comparado com o da literatura

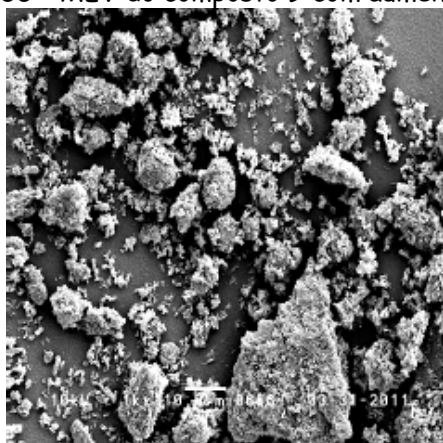


Fonte: Autora

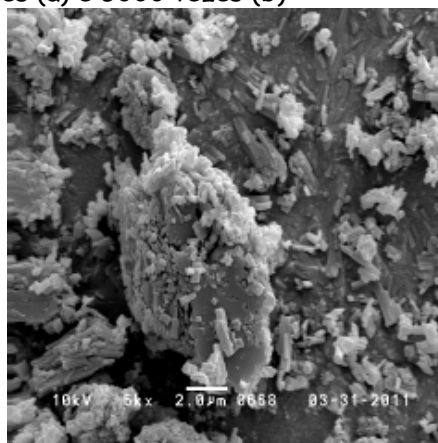
IV.1.4.4 Microscopia eletrônica de varredura

As fotomicrografias analisadas por MEV das superfícies dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (**9**), $[\text{CuBr}_2(\text{Hina})_2]$ (**10**) e $[\text{CuI}_2(\text{Hina})_2]$ (**11**) estão apresentadas nas Figuras 66-68, respectivamente.

Figura 66 - MEV do composto 9 com aumento de 1000 vezes (a) e 5000 vezes (b)



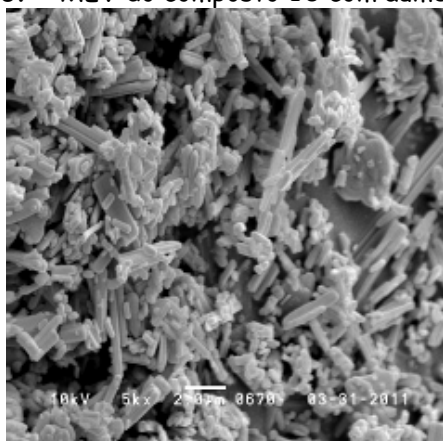
(a)



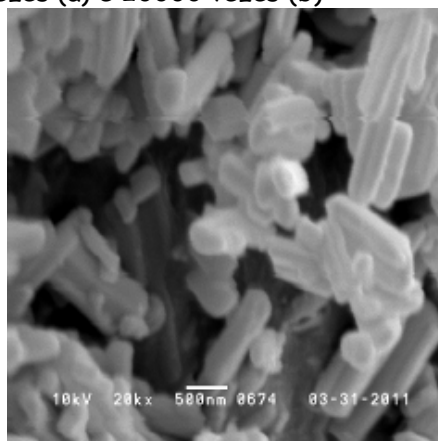
(b)

Fonte: Autora

Figura 67 - MEV do composto 10 com aumento de 5000 vezes (a) e 20000 vezes (b)



(a)

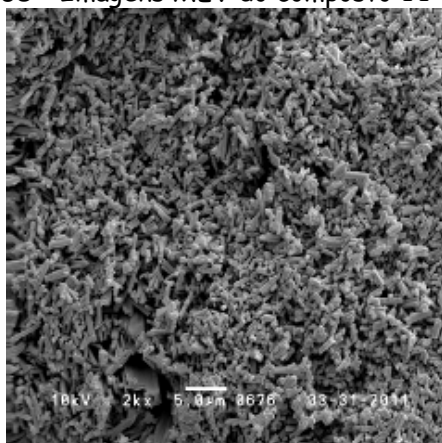


(b)

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 68 - Imagens MEV do composto **11** com aumento de 2000 vezes (a) e 5000 vezes (b)



(a)



(b)

Fonte: Autora

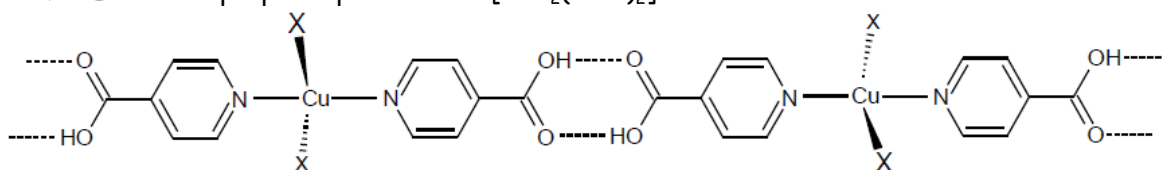
As fotomicrografias dos compostos **9-11** mostram que os complexos possuem uma tendência em formar monocristais na forma de bastões de dimensão nanométrica (300-600 nm), sendo que as partículas estão menos organizadas no composto **9** (Figura 66), onde podem ser observada ainda a presença de aglomerados não cristalinos.

IV.1.4.5 Proposição estrutural para os complexos 9-11

Sugere-se que a série de complexos **9-11** seja isoestrutural, consistindo de arranjos supramoleculares com interações não covalentes do tipo ligações de hidrogênio.

Como mostra a Figura 69, sugere-se que a esfera de coordenação dos compostos, cuja fórmula mínima é $[\text{CuX}_2(\text{Hina})_2]$, seja constituída por dois ligantes isonicotínicos coordenados através dos átomos de nitrogênio do anel piridínico e dois íons haleto ligados terminalmente em posições axiais.

Os grupos carboxilatos do ligante nitrogenado interagem entre si via ligações de hidrogênio do tipo O-H...O entre monômeros adjacentes, formando uma fita 1D supramolecular também mostrada na Figura 69.

Figura 69 - Estrutura proposta para a série $[\text{CuX}_2(\text{Hina})_2]$ 

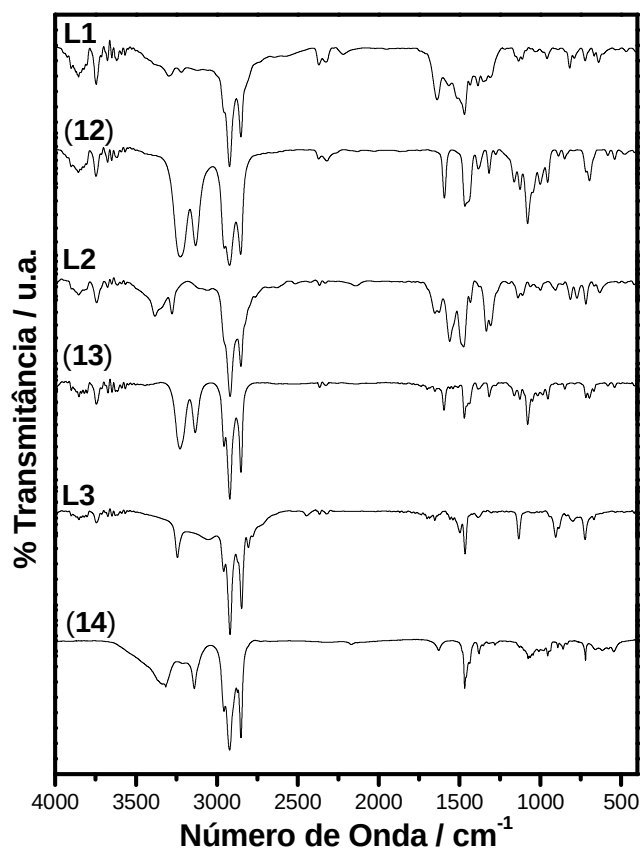
Fonte: Autora

IV.1.5 Compostos contendo derivados da 1,2-etanodiamina

IV.1.5.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 70 apresenta os espectros vibracionais no IV dos ligantes livres *N*-dodecil-1,2-etanodiamina (L1), *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (L2) e *N, N'*-bisdodecil-1,2-etanodiamina (L3) e dos complexos $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13) e $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 11.

Figura 70 - Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 12-14 (em KBr)



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 11 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) dos ligantes livres e complexos **12-14** e suas respectivas atribuições

Composto						Atribuição
L1	12	L2	13	L3	14	
-	3400 <i>f</i>	-	-	-	3317 <i>m</i>	νOH
3297 <i>f</i> , 3220 <i>f</i>	3226 <i>F</i> , 3132 <i>F</i>	3384 <i>m</i> , 3278 <i>m</i>	3227 <i>F</i> , 3134 <i>m</i>	3244 <i>m</i>	3140 <i>m</i>	νNH
2922 <i>F</i> , 2852 <i>F</i>	2923 <i>F</i> , 2853 <i>F</i>	2919 <i>F</i> , 2852 <i>F</i>	2954 <i>F</i> , 2919 <i>F</i> , 2871 <i>m</i> , 2850 <i>F</i>	2957 <i>m</i> , 2919 <i>F</i> , 2848 <i>F</i> , 2806 <i>m</i>	2955 <i>F</i> , 2922 <i>F</i> , 2873 <i>m</i> , 2852 <i>F</i>	νCH
1638 <i>m</i>	1594 <i>m</i>	1653 <i>f</i> , 1626 <i>f</i>	1596 <i>m</i>	1654 <i>f</i>	1628 <i>f</i>	δNH_2
1565 <i>m</i> , 1514 <i>m</i>	-	1560 <i>m</i>	-	1561 <i>f</i>		Scissoring CH_2
1470 <i>m</i>	1467 <i>m</i>	1475 <i>m</i>	1471 <i>m</i>	1466 <i>m</i>	1468 <i>m</i>	δNH , Wagging $\text{CH}_2 + \nu\text{CN}$
1434 <i>m</i>	-	1433 <i>f</i>	1437 <i>f</i>		1436 <i>f</i>	δCH_3 umbrella
1386 <i>m</i>	1383 <i>f</i>	1378 <i>f</i>	1388 <i>f</i>	1378 <i>m</i>	1379 <i>f</i>	Wagging CH_2
1135 <i>f</i>	1126 <i>m</i>	1139 <i>f</i>	1126 <i>f</i>	1134 <i>f</i>		$\nu\text{CC} + \delta\text{NH} +$ νCN
959 <i>f</i>	1079 <i>F</i> , 955 <i>f</i>		1080 <i>m</i> , 953 <i>f</i>		1076 <i>f</i> , 955 <i>f</i>	Twisting $\text{CH}_2 +$ δNH
723 <i>f</i>	718 <i>f</i> , 696 <i>f</i>	719 <i>f</i>	719 <i>f</i> , 697 <i>f</i>	724 <i>f</i>	721 <i>f</i>	ρCH_2

Fonte: Autora

A análise dos espectros no IV dos ligantes livres e dos compostos **12-14** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação dos ligantes derivados da 1,2-etanodiamina ao centro metálico. Nos espectros dos complexos **12-14**, observa-se um deslocamento para frequências mais baixas da banda associada ao modo vibracional νNH ($3227\text{-}3132\text{ cm}^{-1}$) bem como o aumento da intensidade dessa banda quando comparada a do ligante livre ($3384\text{-}3220\text{ cm}^{-1}$), sendo que essas alterações são típicas da coordenação do metal ao átomo de nitrogênio do grupo NH_2 dos ligantes [154]. Esse fato é corroborado com a análise da região δNH_2 que também mostra um deslocamento para frequências mais baixas (Tabela 11) após a coordenação.

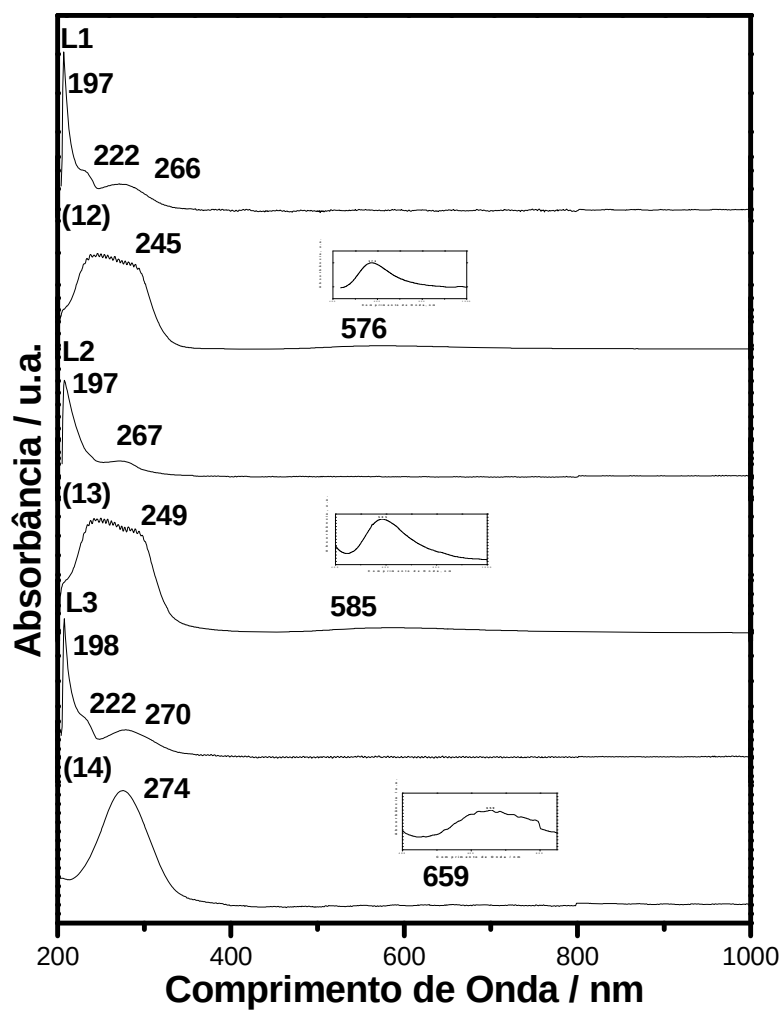
As bandas referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos CH_2 e CH_3 são observadas em 2957, 2923, 2872 e 2850 cm^{-1} . Na região de 700 cm^{-1} , observa-se a banda associada ao modo vibracional ρCH_2 , característica de cadeias carbônicas longas. Cabe mencionar que a presença de água de hidratação nos compostos **12** e **14** foi confirmada pelo aparecimento de uma banda em 3400 e 3317 cm^{-1} (νOH), respectivamente.

IV.1.5.2 Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível

Os espectros no UV/Vis dos ligantes livres e dos compostos **12-14** estão apresentados na Figura 71 e os dados de absortividade molar estão compilados na Tabela 12.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 71 - Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis dos ligantes livres L1, L2 e L3 e dos compostos 12-14



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 12 - Valores de absorvidade molar dos ligantes livres L1-L3 e dos compostos 12-14 em metanol

Composto - λ_{max} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ cm ⁻¹)
L1	
197	400
222	100
266	64
12	
245	2980
576	110
L2	
197	800
267	120
13	
249	2890
585	130
L3	
198	540
222	150
270	100
14	
274	620
659	1

Fonte: Autora

O composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**) quando dissolvido em metanol forma uma solução de cor lilás. Em seu espectro eletrônico, é observada uma banda intensa em 245 nm, atribuída a transição intraligante, que aparece deslocada em relação ao ligante livre. Observa-se, ainda, uma banda de baixa intensidade em 576 nm, que pode ser atribuída à transição *d-d* do cobre(II) [159].

O composto **13** mantém sua cor lilás quando dissolvido em metanol. No espectro eletrônico desse composto (Figura 71), observa-se um deslocamento da banda associada à transição IL (249 nm) quando comparada a do ligante livre, sugerindo a coordenação do ligante ao centro metálico. Está presente, também, a banda *d-d*, de baixa intensidade, cujo máximo está centrado em 585 nm [159].

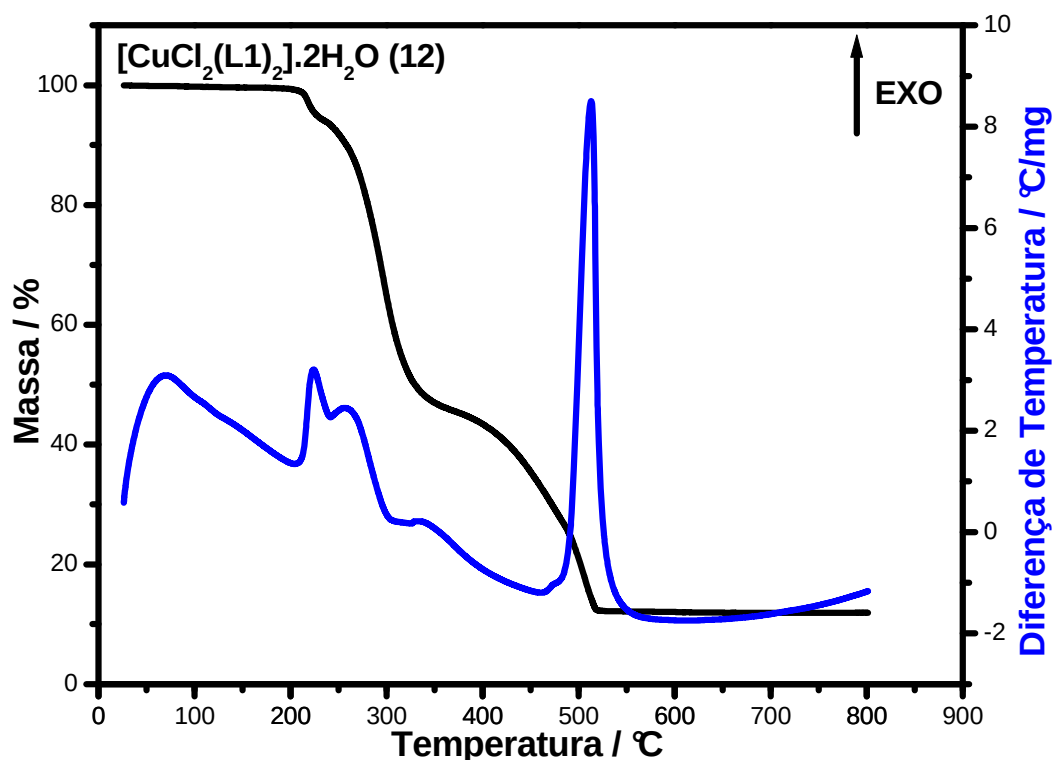
A posição das bandas atribuídas à transição *d-d* dos compostos **12** e **13** sugerem geometria tetragonal ou octaédrica com distorções [159] ao redor do centro metálico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por outro lado, o complexo $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**) quando dissolvido em metanol forma uma solução clara de cor verde-azulada. No espectro eletrônico foi possível visualizar duas bandas, uma intensa em 274 nm atribuída à transição intraligante e outra pouco intensa em 659 nm atribuída à excitações *d-d*, sugerindo as seguintes possibilidades de geometria ao redor do centro metálico: tetraédrica, piramidal de base quadrada ou octaédrica [159]. De qualquer modo, a observação da banda CL em energia menor para esse composto, quando comparado aos outros dois dessa série, revela uma força de campo menor para o ligante L3, o que pode ser justificado pela substituição dos átomos de hidrogênio sobre o grupo NH_2 pela cadeia carbônica na molécula desse ligante. Esse fato se reflete inclusive na menor temperatura de decomposição (47 °C) observado para esse composto quando comparado aos compostos análogos **12** e **13**, cujo início da decomposição térmica ocorre por volta de 88 °C.

IV.1.5.3 Análise térmica (TGA e DTA)

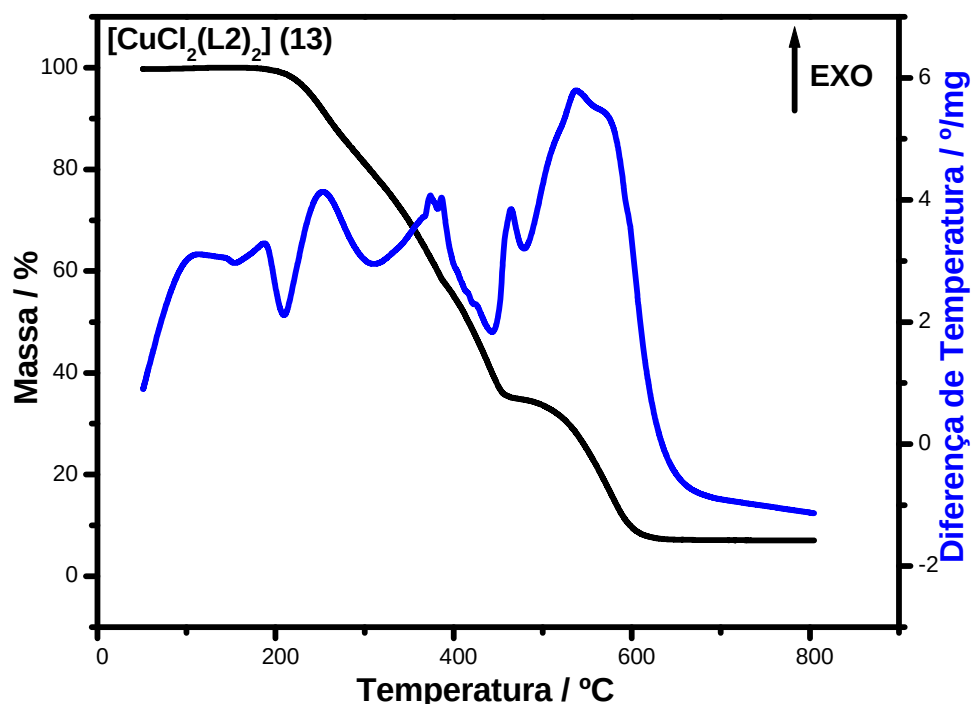
A Figura 72 apresenta as curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**), o qual decompõe-se em três etapas. Na primeira (65-236 °C), observa-se a eliminação de duas moléculas de água de hidratação associada a um pico endotérmico em 207 °C na curva DTA. Na segunda e terceira perda de massas (236-800 °C) ocorrem à decomposição térmica do composto com a oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA observa-se uma exoterma com picos próximos de 224, 258, 339 e 513 °C. A 800 °C o resíduo final é constituído de CuO, como comprovado por difratometria de raios X de pó (Figura 75) [167]. Os dados termoanalíticos obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo **12** estão compilados na Tabela 13.

Figura 72 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12)

Fonte: Autora

As curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2\text{L}_2]$ (13), Figura 73, mostram que sua decomposição térmica até 800 °C ocorre em duas etapas. O composto é termicamente estável até 89 °C, onde se inicia a eliminação dos ligantes com a oxidação da matéria orgânica até a formação de cobre metálico. Não foi possível realizar o difratograma de raios X do resíduo devido o mesmo ficar impregnado no cadinho. Na curva DTA observa-se uma endoterma com picos em 210, 378 e 441 °C, e uma exoterma com picos entre 254 e 573 °C. A Tabela 13 apresenta os dados obtidos das curvas TGA-DTA do composto 13.

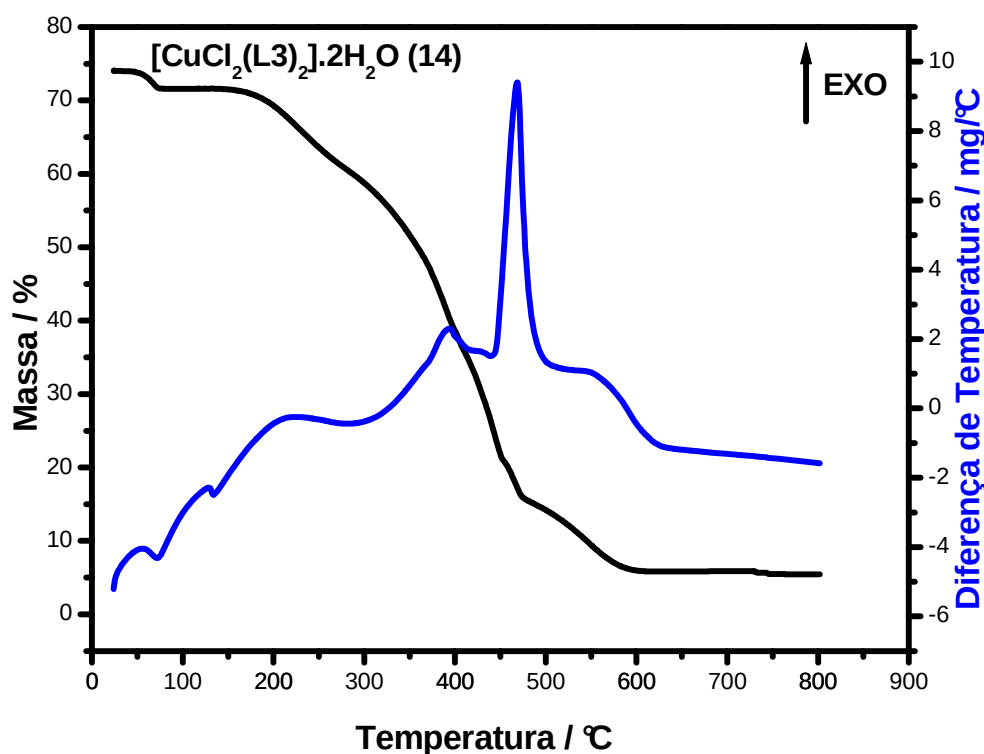
Figura 73 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**)



Fonte: Autora

Observando-se as curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**) (Figura 74), verifica-se que a decomposição a óxido de cobre(II) ocorre após várias etapas sucessivas, formando apenas, na primeira etapa, um intermediário estável. Na primeira etapa (47-81 °C) observa-se uma perda de massa atribuída à eliminação de duas moléculas de água de hidratação associada a um sinal endotérmico em 73 °C. As demais perdas de massas (81-800 °C) são atribuídas à eliminação dos ligantes apresentando picos exotérmicos na curva DTA no mesmo intervalo de temperatura. Os dados provenientes das curvas TGA-DTA do composto **14** estão contidos na Tabela 13.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 74 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)

Fonte: Autora

Tabela 13 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (13) e $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (14)

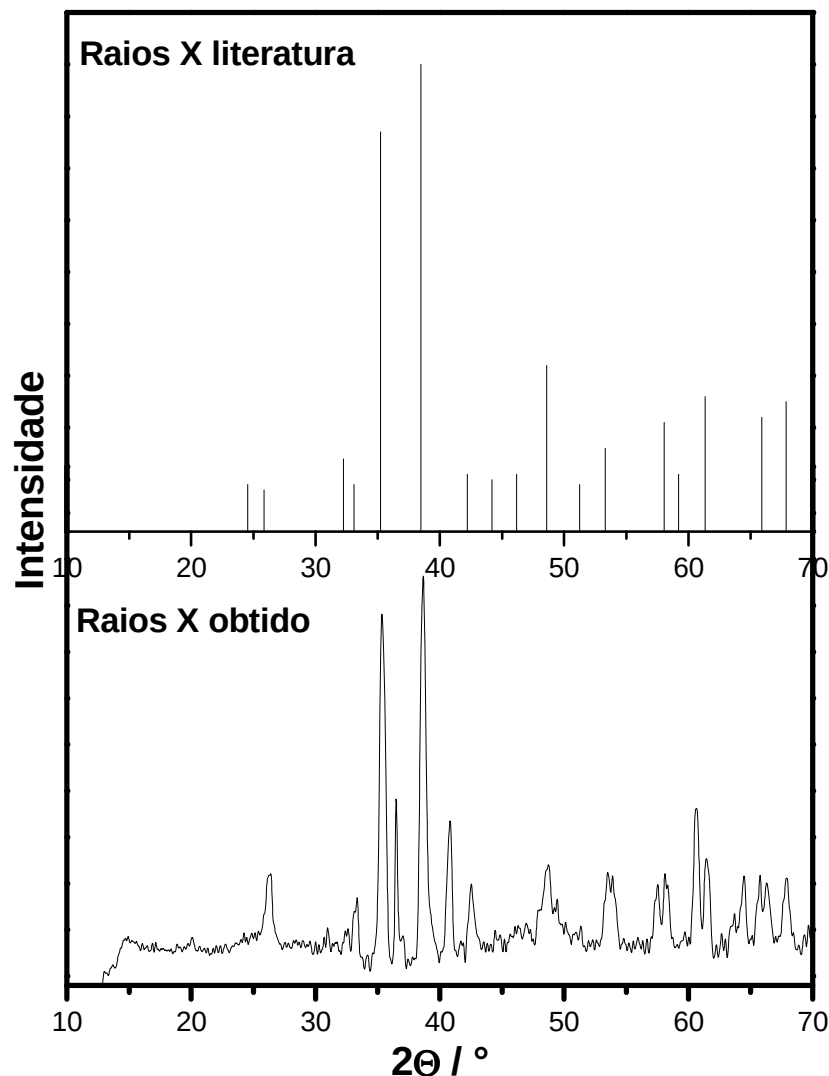
Composto	Etapas	$T_{\text{inicial}} - T_{\text{final}} (^{\circ}\text{C})$	Δm (%)		DTA/ $^{\circ}\text{C}$	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
12	Desidratação	86-235	5,894	5,742	207	
	Decomposição térmica	235-355	47,53	49,00		224, 258 e 339
	Decomposição térmica	355-800	34,65	35,04		513
	Resíduo	-	11,93	12,68		-
13	Decomposição térmica	89-475	65,61	64,00	210, 378 e 441	254 e 464
	Decomposição térmica	475-800	28,10	26,16		539 e 573
	Resíduo	-	7,154	9,810		-
14	Desidratação	47-82	3,279	3,735	73	
	Decomposição térmica	82-800	89,36	89,67	136	211, 392, 468 e 561
	Resíduo	-	7,348	8,252		-

Fonte: Autora

A identificação do resíduo final das termodecomposições como óxido de cobre(II) foi realizada através da difração de raios X pelo método do pó. A Figura 75 mostra o difratograma de raios X de pó do resíduo final da decomposição térmica do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (12), sendo esta figura

representativa também para o resíduo formado pelo composto **14** [167].

Figura 75 - Difratoograma de raios X, método do pó, CuO, obtido a 800 °C na termodecomposição do composto **12** comparado com o da literatura



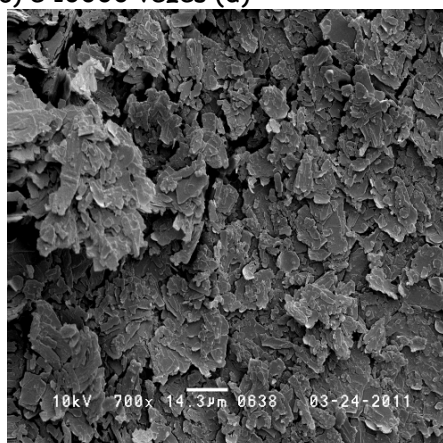
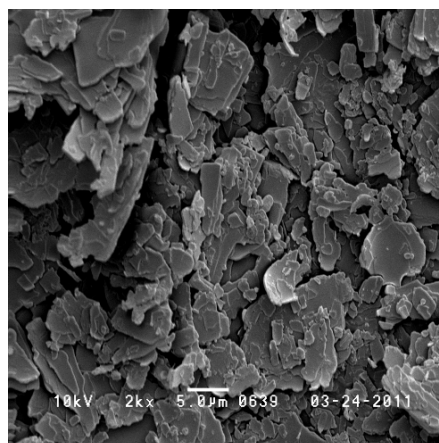
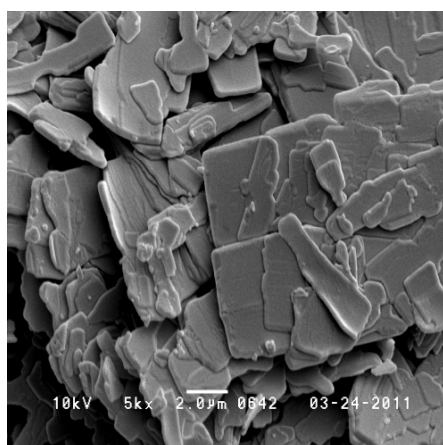
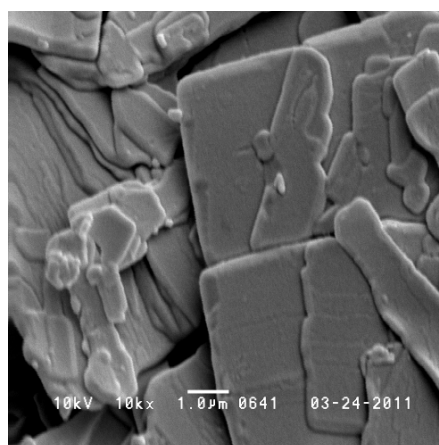
Fonte: Autora

IV.1.5.4 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 76-78 ilustram as fotomicrografias dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**), respectivamente.

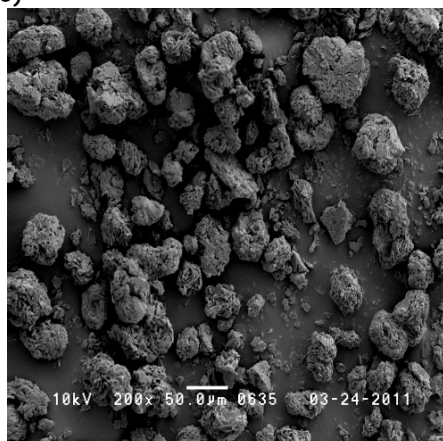
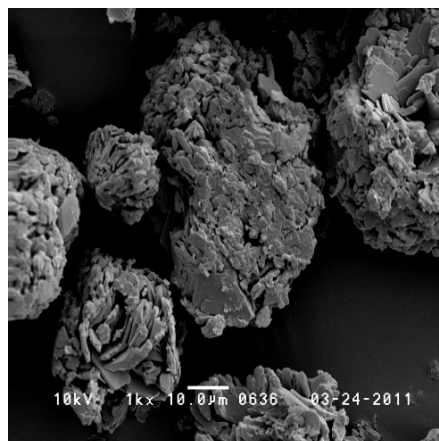
RESULTADOS E DISCUSSÃO

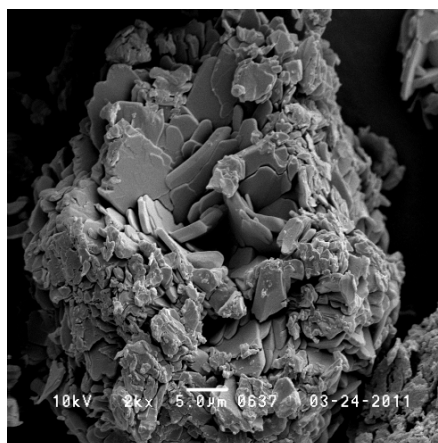
Figura 76 - Micrografias do composto **12** com aumento de 700 vezes (a), 2000 vezes (b), 5000 vezes (c) e 10000 vezes (d)

**(a)****(b)****(c)****(d)**

Fonte: Autora

Figura 77 - Imagens MEV do composto **13** com aumento de 200 vezes (a), 1000 vezes (b) e 2000 vezes (c)

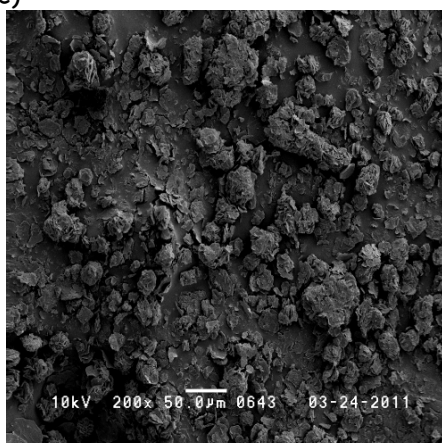
**(a)****(b)**



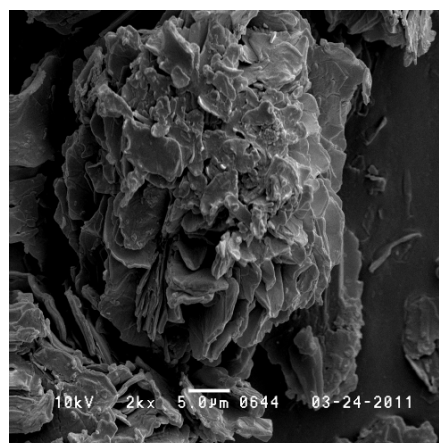
(c)

Fonte: Autora

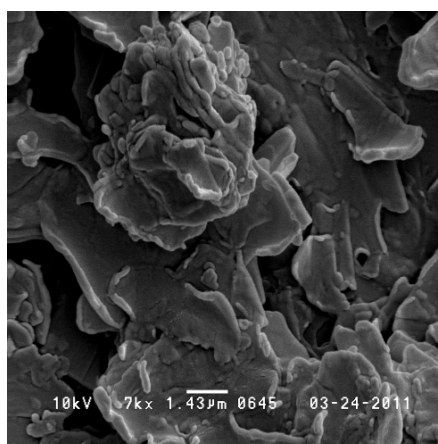
Figura 78 - Micrografias do composto **14** com aumento de 200 vezes (a), 2000 vezes (b) e 7000 vezes (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

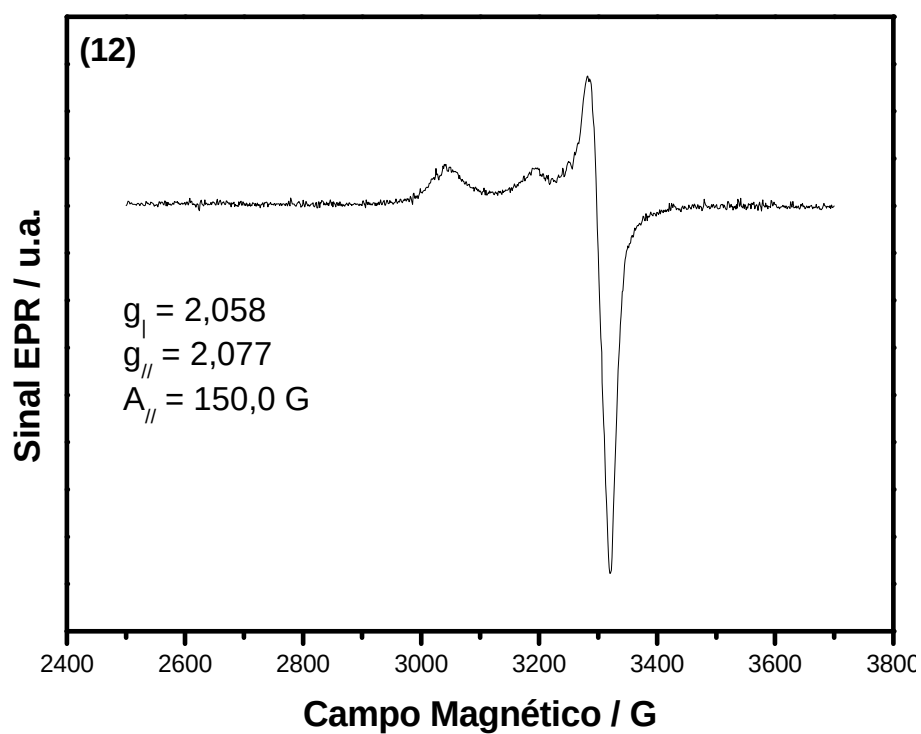
Na Figura 76 são apresentadas imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do pó obtido após a síntese do composto **12**. Nota-se que o material é composto por placas de formato irregular, que se aglomeraram formando um filme sobre a fita de carbono. Uma análise mais detalhada das imagens (Figura 76-c e 76-d) revela que muitas placas crescem em camadas e possuem facetas retangulares. As superfícies das placas são lisas e homogêneas, mas nem sempre as camadas crescem orientadas com o substrato utilizado para seu crescimento, ainda que a estrutura resultante pareça ser densamente empacotada.

As Figuras 77 e 78 apresentam imagens MEV dos compostos **13** e **14**, respectivamente. Observa-se que estes sistemas apresentam aglomerados quase esféricos. Um estudo mais aprofundado dessas “esferas” mostra que elas são altamente porosas e que são constituídas a partir da agregação de placas, que explica esta alta porosidade, haja visto que as placas estão aleatoriamente distribuídas ao longo das esferas. Como cada placa constituinte dessas esferas se assemelha às presentes no composto **12**, acredita-se que elas também podem ser monocristalinas, implicando que as esferas deverão apresentar um padrão de difração de elétrons de policristal.

IV.1.5.5 Ressonância paramagnética eletrônica e proposição estrutural para os complexos 12-14

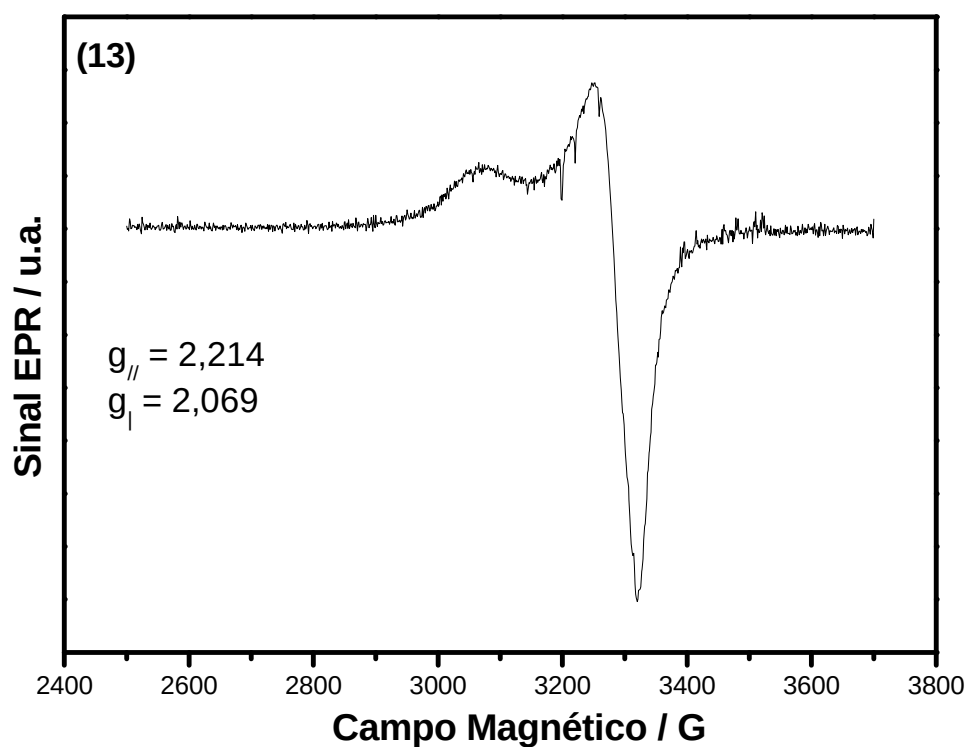
As Figuras 79 e 80 apresentam os espectros de ressonância paramagnética eletrônica para os compostos **12** e **13**, respectivamente, no estado sólido.

Figura 79 - Espectro de EPR do composto 12, no estado sólido a 77 K



Fonte: Autora

Figura 80 - Espectro de EPR do complexo 13, no estado sólido a 77 K



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de EPR dos compostos **12** e **13** no estado sólido a 77 K indicam uma simetria axial, ou seja, o ambiente ao redor do íon Cu(II) no eixo z é diferente do ambiente nos eixos xy, que são iguais, e o parâmetro $g_{\parallel}$ tem valor maior do que o $g_{\perp}$ [179]. Sendo assim, obteve-se a relação $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2$ para os compostos **12** e **13**, sugerindo um sítio de coordenação com geometria tetragonal distorcida.

A partir da razão $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ é possível estimar o grau de distorção das espécies quadrado planares de cobre(II). Os valores de $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ entre 110-120 cm são típicos de complexos planares, enquanto que o intervalo de 130-150 cm é característico de pequena para moderada distorção, e de 180-250 cm indica considerável distorção tetraédrica [191]. Para o complexo **12** obteve-se um valor de 138 cm, sugerindo que a geometria ao redor do íon é quase quadrado planar. Entretanto, para o composto **13** não foi possível obter a constante hiperfina impossibilitando o cálculo da sua razão $g_{\parallel} / A$.

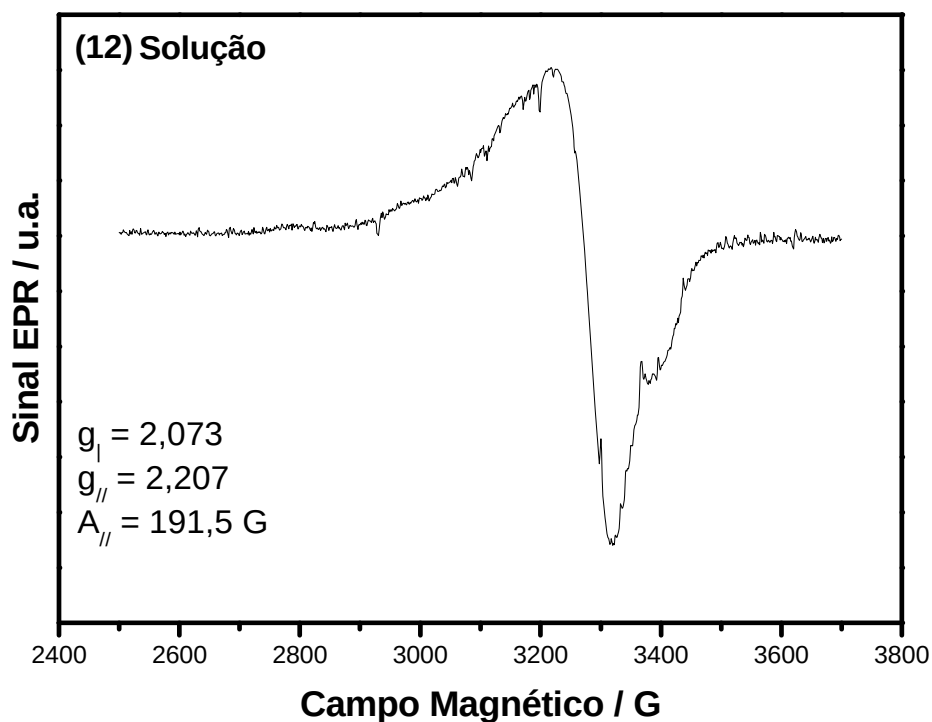
Cabe dizer, ainda, que o espectro de EPR pode ajudar também a elucidar o número de espécies presentes em solução. Sendo assim, as Figuras 81 e 82 apresentam os espectros de EPR para os compostos **12** e **13**, respectivamente, em solução de metanol a 77 K.

Analisando-se o espectro do composto **12** em solução metanólica observa-se a formação de uma única espécie. A relação $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2$ é mantida, ou seja, sugere-se uma simetria axial e o valor de 116 cm obtido para a razão $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ indica a formação de um complexo planar. Desso modo, pode-se afirmar que o composto no estado sólido permanece praticamente inalterado quando em solução de metanol.

Por outro lado, o composto **13** em solução apresentou dois valores de $A_{\parallel}$ referentes a dois conjuntos de quatro linhas de diferentes intensidades. Isto indica que o cobre está ligado a dois sítios diferentes, e provavelmente correspondem a uma mistura de duas espécies. Uma das estruturas do composto **13** apresentou valor de 119 cm (quadrado planar), entretanto a outra estrutura apresentou um valor maior (138 cm), indicando geometria com distorções ao redor do íon cobre, possibilitando uma geometria mais tetraédrica.

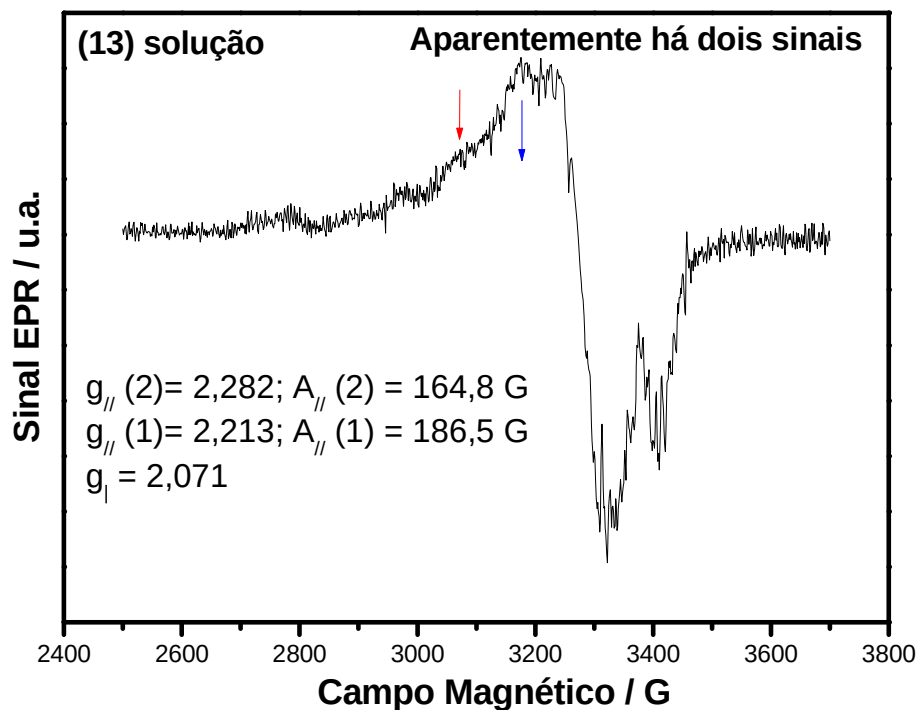
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 81 - Espectro de EPR do complexo 12, em solução de metanol a 77 K



Fonte: Autora

Figura 82 - Espectro de EPR do complexo 13, em solução de metanol a 77 K

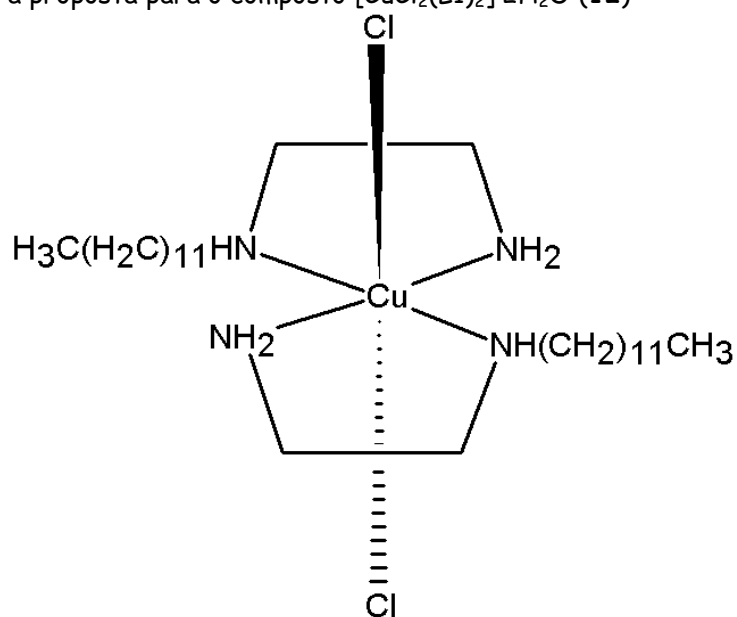


Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

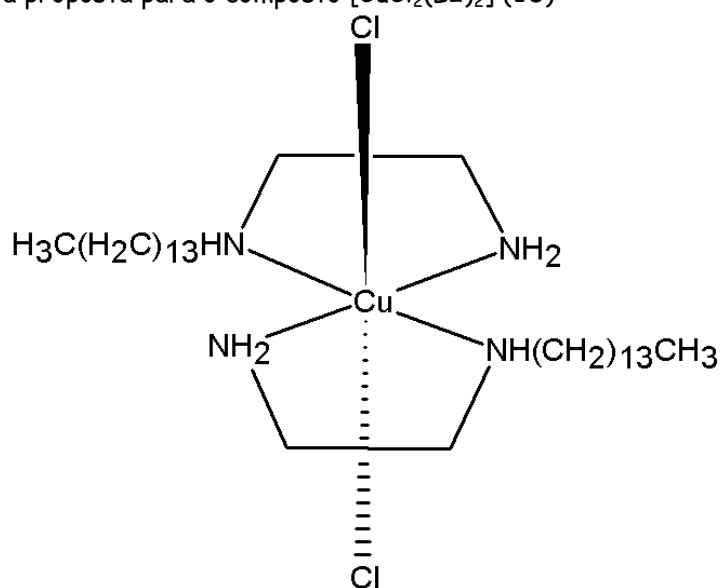
Com base nas informações obtidas a partir dos espectros de EPR, dados de espectroscopia vibracional na região do IV, UV/Vis, análise elementar e análises termogravimétricas sugere-se que os compostos **12** e **13** no estado sólido consistam de monômeros nos quais o íon cobre encontra-se em um ambiente octaédrico tetragonalmente distorcido, conforme mostram as Figuras 83 e 84.

Figura 83 - Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**)



Fonte: Autora

Figura 84 - Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**)



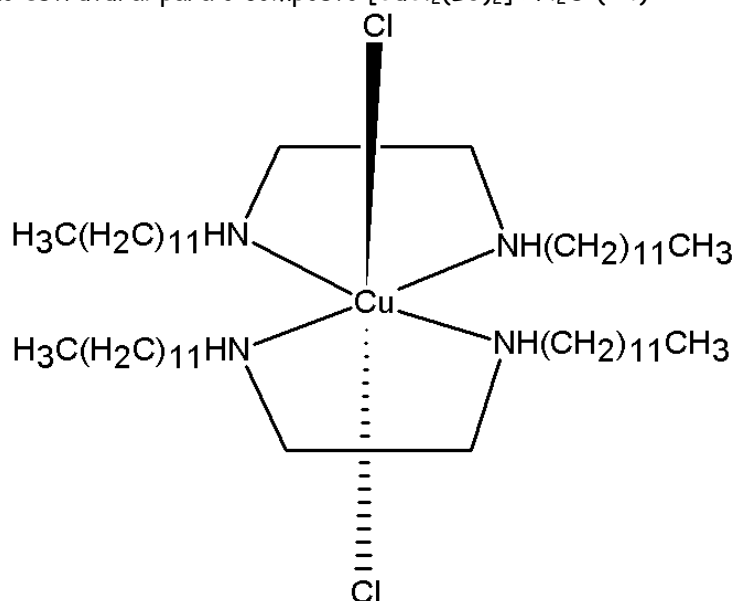
Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como mostram as Figuras 83 e 84, sugere-se que as esferas de coordenação dos compostos **12** e **13**, cujas fórmulas mínimas são $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2]$ e $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$, respectivamente, sejam constituídas por dois ligantes derivados da 1,2-etanodiamina {*N*-dodecil-1,2-etanodiamina (**12**) e *N*-tetradecil-1,2-etanodiamina (**13**)} coordenados pelos átomos de nitrogênio, formando dois anéis quelatos de cinco membros no plano equatorial e por dois átomos de cloro nas posições axiais.

Uma estrutura análoga, no estado sólido, é proposta para o composto **14**, conforme ilustra a Figura 85.

Figura 85 - Proposição estrutural para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**)



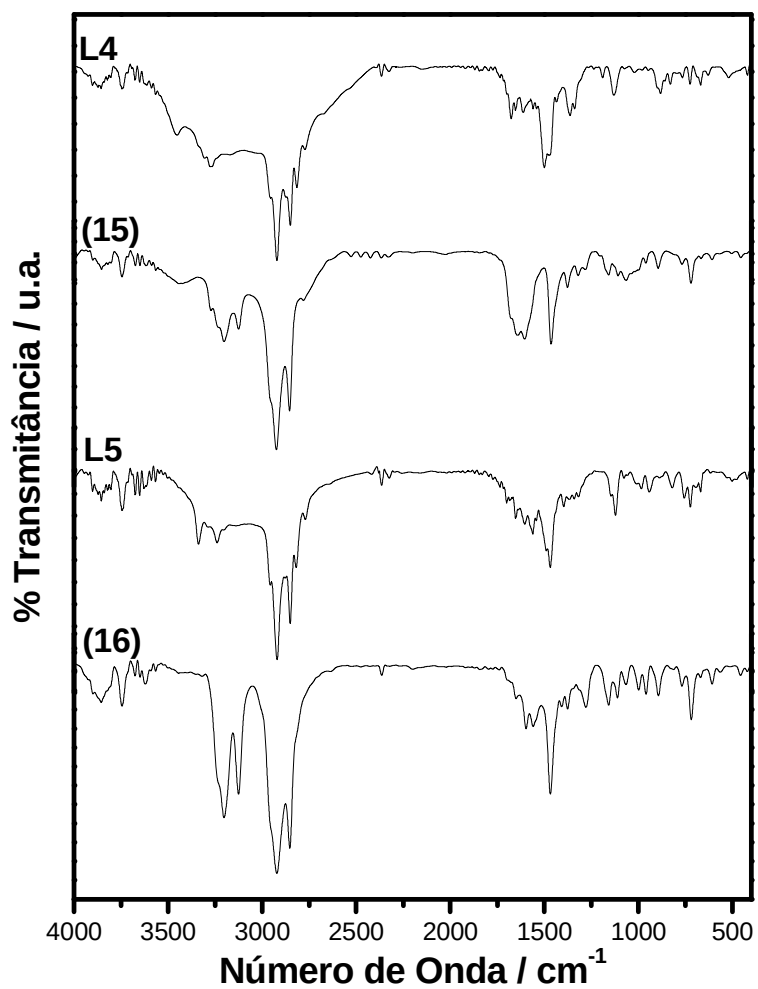
Fonte: Autora

IV.1.6 Compostos contendo derivados da 1,3-propanodiamina

IV.1.6.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 86 apresenta os espectros vibracionais no IV dos ligantes livres *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (L4) e *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (L5) e dos complexos $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 14.

Figura 86 - Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 15 e 16 (em KBr)



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 14 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente aos ligantes livres e complexos **15** e **16** e suas respectivas atribuições

Composto				Atribuição
L4	15	L5	16	
-	3442 <i>m</i>	-	3430 <i>f</i>	νOH
3305 <i>m</i> , 3226 <i>m</i>	3272 <i>m</i>	3338 <i>m</i> , 3239 <i>m</i>	3202 <i>F</i> , 3125 <i>F</i>	νNH
2955 <i>F</i> , 2921 <i>F</i> , 2850 <i>F</i> , 2815 <i>F</i>	2924 <i>F</i> , 2854 <i>F</i>	2957 <i>F</i> , 2920 <i>F</i> , 2851 <i>F</i> , 2819 <i>m</i>	2921 <i>F</i> , 2853 <i>F</i>	νCH
1653 <i>f</i>	1644 <i>m</i>	1653 <i>f</i>	1636 <i>f</i>	δNH_2
-	1611 <i>m</i>	-	1624 <i>f</i>	δHOH
1473 <i>m</i>	1464 <i>m</i>	1468 <i>m</i>	1468 <i>F</i>	$\delta\text{NH} + \text{Wagging CH}_2$ + νCN
1435 <i>f</i>	-	-	1437 <i>om</i>	δCH_3 <i>umbrella</i>
1395 <i>m</i>	1377 <i>f</i>	1397 <i>f</i>	1376 <i>f</i>	<i>Wagging CH}_2</i>
1130 <i>f</i>	1108 <i>f</i>	1145 <i>f</i> , 1121 <i>f</i>	1111 <i>f</i>	$\nu\text{CC} + \delta\text{NH} + \nu\text{CN}$
981 <i>f</i> , 897 <i>f</i>	960 <i>f</i> , 895 <i>f</i>	984 <i>f</i> , 942 <i>f</i>	958 <i>f</i> , 893 <i>f</i>	<i>Twisting CH}_2 + \delta\text{NH}</i>
721 <i>f</i>	720 <i>f</i>	756 <i>f</i> , 724 <i>f</i>	719 <i>f</i>	ρCH_2

Fonte: Autora

Uma análise comparativa entre os espectros no IV dos ligantes livres e dos compostos **15** e **16** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação dos ligantes derivados da 1,3-propanodiamina ao centro metálico.

Com relação à banda associada ao modo vibracional característico do grupo NH_2 , νNH , ela apresenta um aumento na intensidade, bem como um deslocamento de 3305 e 3226 cm^{-1} (ligante livre) para 3272 cm^{-1} (composto **15**) e de 3338 e 3239 (ligante livre) para 3202 e 3125 cm^{-1} (composto **16**), sendo que essas alterações são típicas da coordenação do metal ao átomo de nitrogênio do grupo NH_2 [154, 192]. Observa-se ainda um deslocamento da banda atribuída ao modo vibracional δNH_2 de 1653 cm^{-1} (ligante livre) para 1644 e 1636 cm^{-1} para os compostos **15** e **16**, respectivamente, corroborando mais uma vez de que a coordenação do íon Cu(II) aos ligantes *N*-dodecil-1,3-propanodiamina (composto **15**) e *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina (composto **16**) ocorre via átomo de nitrogênio do grupo NH_2 .

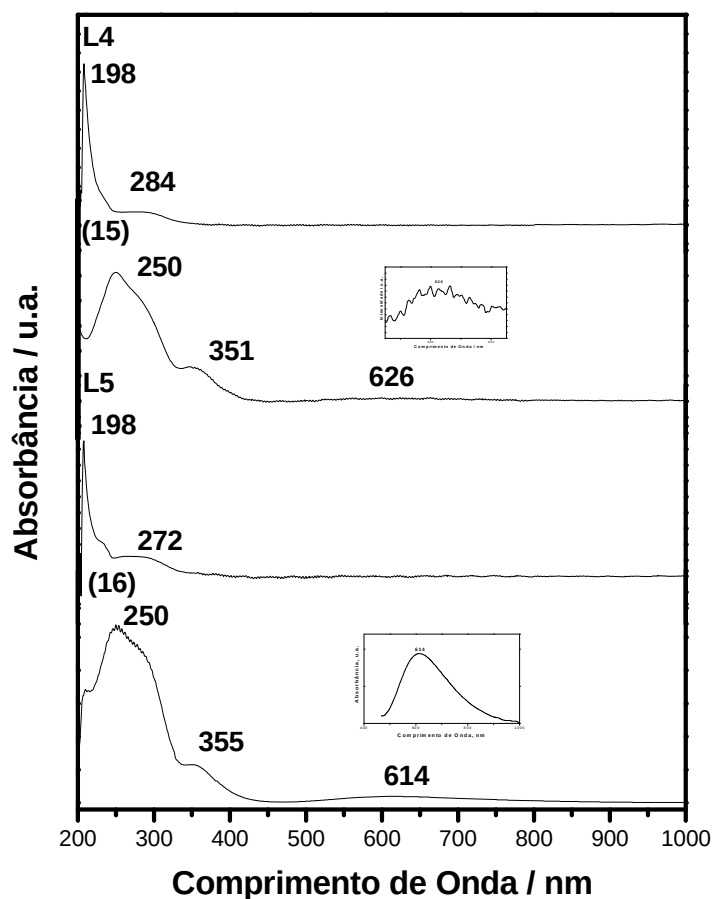
As aminas coordenadas também são evidenciadas pela presença das bandas na região de 2924-2854 cm^{-1} (composto **15**) e 2957-2819 cm^{-1} (composto **16**) atribuídas ao modo vibracional νCH dos grupos CH_2 e CH_3 .

A presença das bandas em 3442 e 1611 cm^{-1} para o composto **15** e em 3430 cm^{-1} e 1624 cm^{-1} para o composto **16**, atribuídas aos modos vibracionais νOH e δHOH , respectivamente, indica a presença de moléculas de água de hidratação.

IV.1.6.2 Espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível

Os espectros no UV/Vis para os ligantes livres L4 e L5 e para os compostos **15** e **16** estão apresentados na Figura 87, cujos valores de absortividade molar estão compilados na Tabela 15.

Figura 87 - Espectros de absorção eletrônica no UV/Vis dos ligantes livres e dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**).



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 15 - Valores de absorvidade molar dos ligantes L4 e L5, e dos compostos **15** e **16** em metanol

Composto - λ_{max} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
L4	
198	840
284	67
15	
250	500
351	130
626	11
L5	
198	420
272	63
16	
250	2690
355	580
614	130

Fonte: Autora

O composto **15** mantém sua cor azul quando dissolvido em metanol. No espectro eletrônico desse complexo observa-se uma banda em 250 nm atribuída à transição IL que aparece deslocada quando comparada ao ligante livre, sugerindo a coordenação desse ligante ao centro metálico. Uma banda de baixa intensidade centrada em 351 nm está presente no espectro e pode ser atribuída a transição de transferência de carga LMCT do tipo Cl⁻ → Cu. Pode ser observada também, a banda *d-d*, de baixa intensidade, cujo máximo está centrado em 626 nm [159].

O composto [CuCl₂(L5)₂].H₂O (**16**) é um sólido azul claro que, quando solubilizado em metanol, gera uma solução de mesma cor. No espectro, observa-se uma banda intensa em 250 nm, atribuída a uma transição intraligante, que aparece deslocada em relação àquela do ligante livre (198 nm) por efeito de coordenação. Observa-se, ainda, uma banda de baixa intensidade em 355 nm, atribuída à transição de transferência de carga LMCT do tipo Cl⁻ → Cu e outra banda, pouca intensa, centrada em 614 nm, que pode ser atribuída à transição de campo ligante [159].

Devido à plasticidade de coordenação do íon cobre (II), a observação das bandas CL em 626 e 614 nm nos compostos **15** e **16**, respectivamente, sugerem as seguintes geometrias ao redor do íon Cu(II): pirâmide de base quadrada, tetragonal e octaédrica com distorções. Essas informações serão

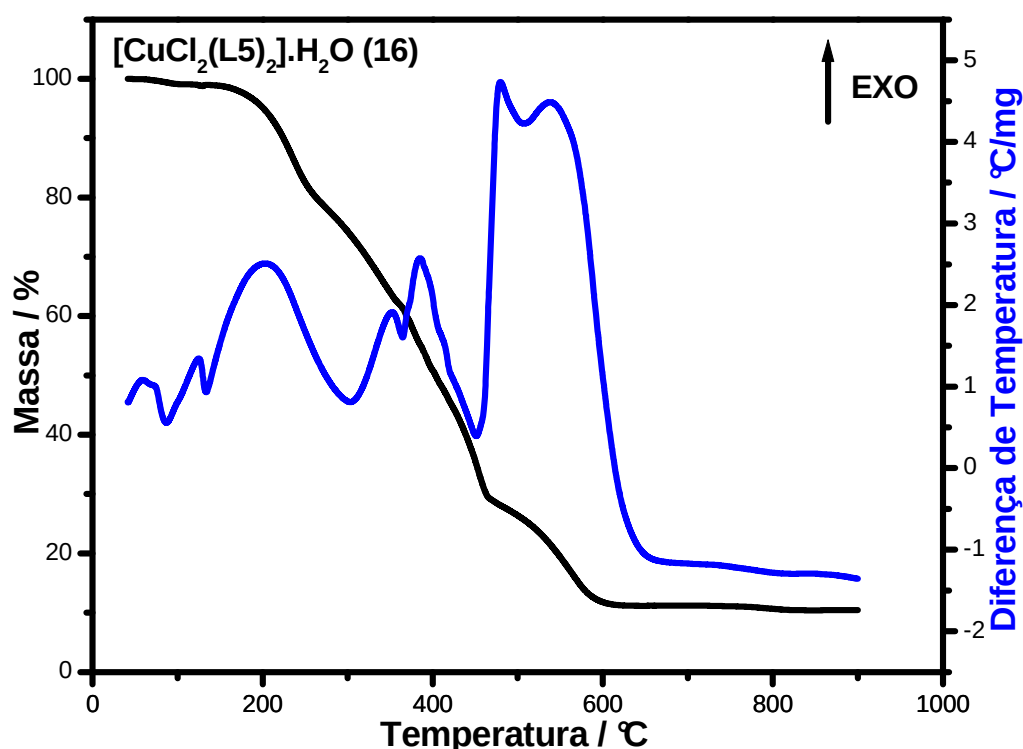
de suma importância no item IV.1.6.6 para propor a provável estrutura para o composto **16**.

IV.1.6.3 Análise térmica (TGA e DTA)

Não foi possível realizar o experimento de termogravimetria e análise térmica diferencial para o composto **15**.

As curvas TGA-DTA, Figura 88, mostram decomposições térmicas em etapas consecutivas do composto **16**. A termodecomposição inicia-se em 41 °C com a desidratação do composto e o início da oxidação dos ligantes, e é acompanhada de um sinal endotérmico e um exotérmico na DTA em 87 e 205 °C, respectivamente. A eliminação dos ligantes com a oxidação da matéria orgânica até óxido de cobre(II) como resíduo final ocorre a 700 °C e pode ser comprovado pelo difratograma de raios X pelo método do pó, Figura 89 [167]. Na curva DTA observa-se ainda uma exoterma com picos em 352, 384, 480 e 537 °C. A Tabela 16 mostra os dados provenientes das curvas TGA-DTA do composto **16**.

Figura 88 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**)



Fonte: Autora

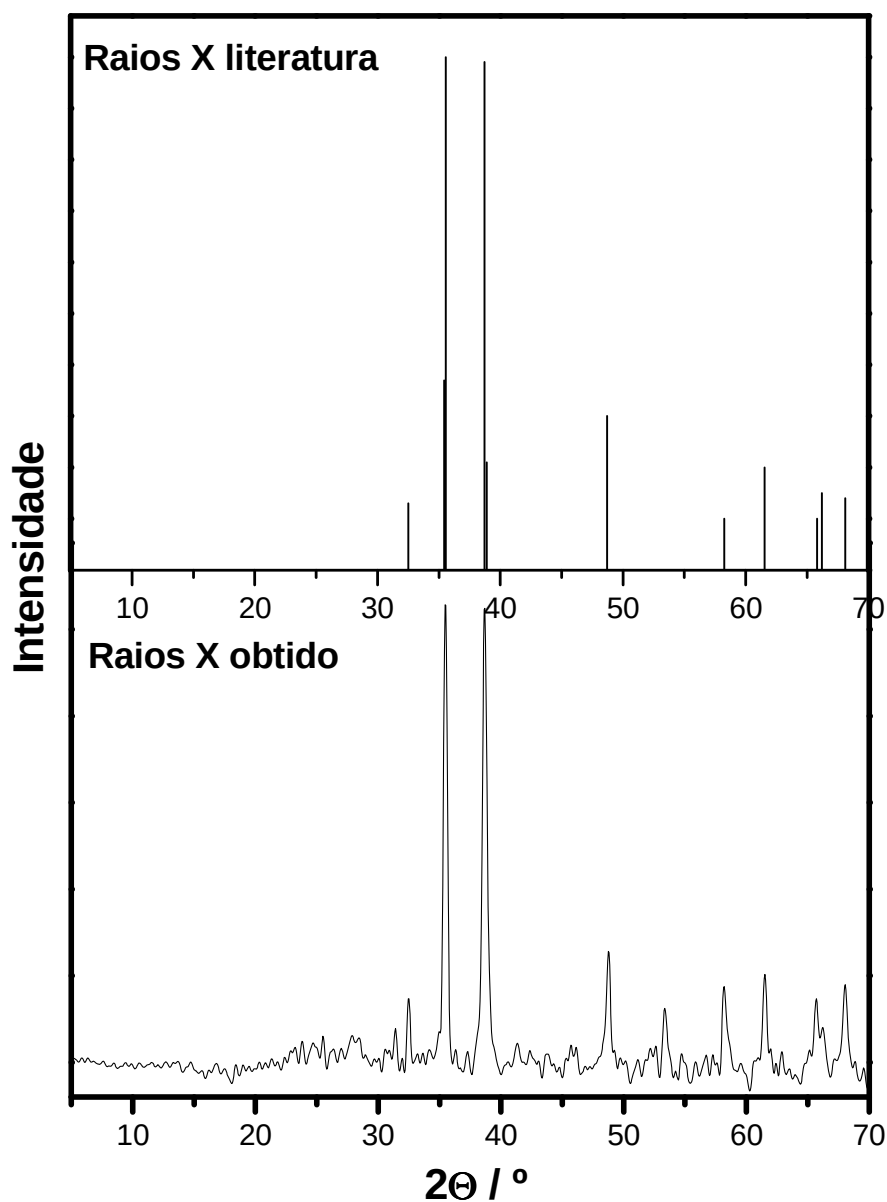
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 16 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**)

Composto	Etapas	T _{inicial} - T _{final} (°C)	Δm (%)		DTA/°C	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
16	Desidratação e decomposição térmica	41-268	20,80	21,23	87	205
	Decomposição térmica	268-478	50,68	51,18		352 e 384
	Decomposição térmica	478-700	17,00	18,35		480 e 537
	Resíduo	-	11,13	11,47		

Fonte: Autora

Figura 89 - Difratoograma de raios X, método do pó, do resíduo final a 700 °C da termodecomposição do composto **16** comparado com o da literatura

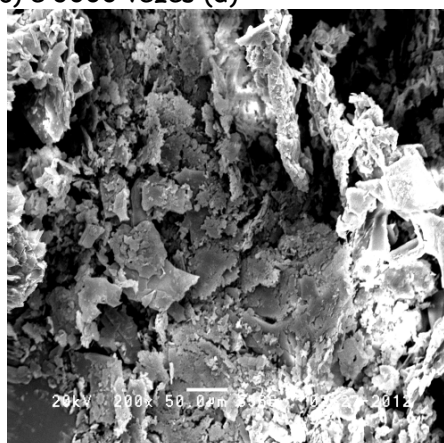


Fonte: Autora

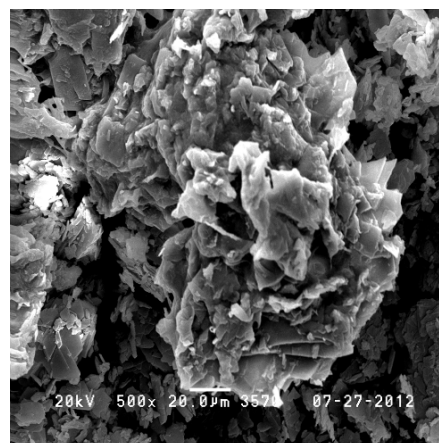
IV.1.6.4 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 90 e 91 ilustram as fotomicrografias dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**), respectivamente.

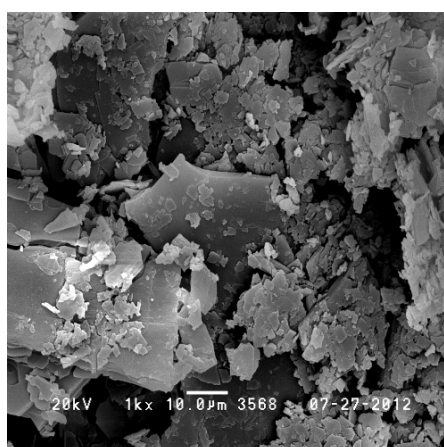
Figura 90 - Imagens MEV do composto **15** com aumento de 200 vezes (a), 500 vezes (b), 1000 vezes (c) e 3000 vezes (d)



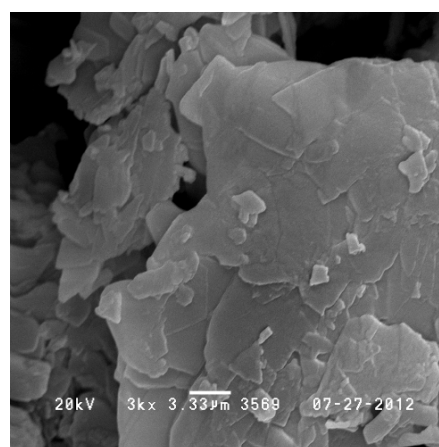
(a)



(b)



(c)

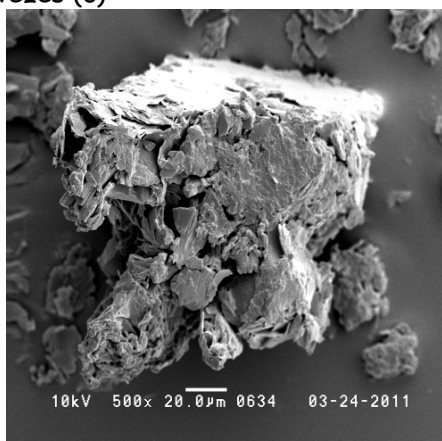


(d)

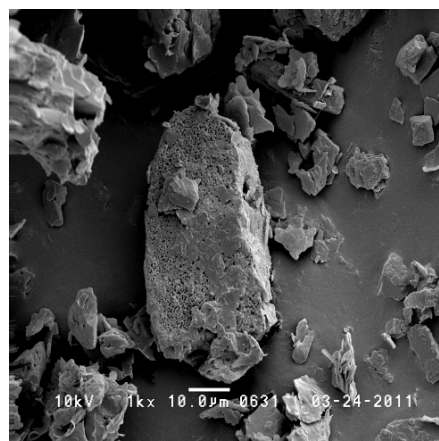
Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

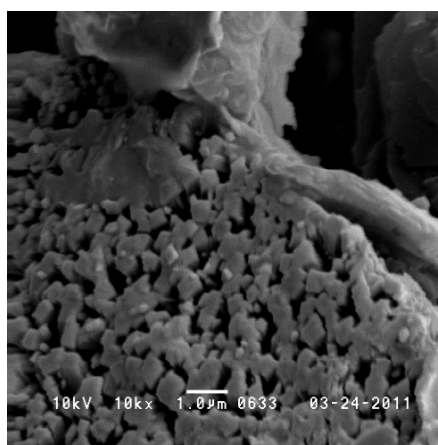
Figura 91 - Fotomicrografias do composto **16** com aumento de 500 vezes (a), 1000 vezes (b) e 10000 vezes (c)



(a)



(b)



(c)

Fonte: Autora

Na Figura 90 são apresentadas imagens MEV do **pó** obtido na síntese do composto **15**. Observa-se que o material é composto por pequenas placas de formato irregular, que se aglomeram umas sobre as outras, formando às vezes camadas. Na imagem de maior magnificação (Figura 90-d) é possível observar que as superfícies das placas são lisas, mas não homogêneas, e que crescem de maneira desorientada.

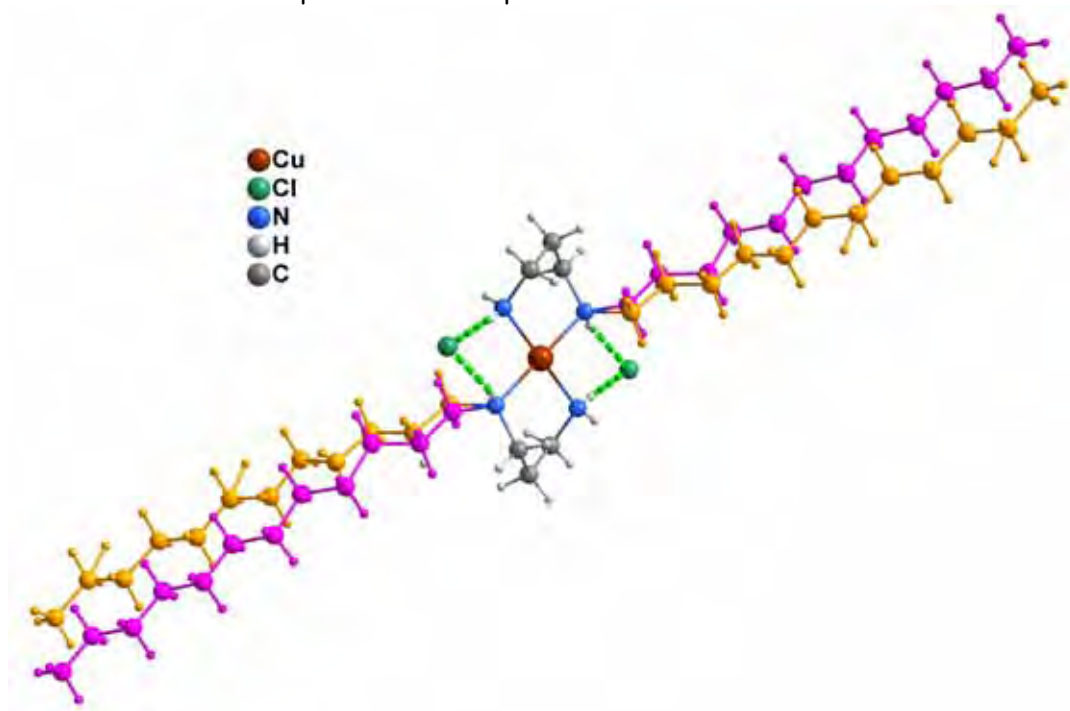
A observação das imagens MEV do composto **16** revela que este apresenta pelo menos dois tipos de estruturas diferentes, umas menores e formadas pela agregação de placas e outras maiores e formadas por um agregado de partículas sub-micrométricas quadradas formando um arranjo poroso. É interessante notar que estas estruturas porosas também tendem a serem recobertas por placas de outro material. Ainda não está clara a razão de formação de diferentes estruturas a partir dos mesmos materiais de partida, mas isto deverá ser investigado em breve.

IV.1.6.5 Difração por raios X de monocristal do composto 15

Monocristais adequados para a resolução estrutural foram obtidos para o composto **15** e analisados cristalograficamente na Universidade de Aveiro-Portugal pelo Dr. José Alberto Pires Fernandes.

O diagrama ORTEP representando a estrutura do composto está ilustrado na Figura 92.

Figura 92 - Estrutura do composto **15** obtido por difratometria de raios X de monocristal



Fonte: José Alberto Pires Fernandes

O composto cristalizou-se no sistema triclinico no grupo espacial $P\bar{1}$, com os parâmetros de célula: $a = 6,2181(5) \text{ \AA}$; $b = 6,8343(5) \text{ \AA}$; $c = 22,3144(13) \text{ \AA}$; $\alpha = 91,665(4)^\circ$; $\beta = 97,493(4)^\circ$; $\gamma = 106,035(5)^\circ$.

O íon cobre(II) está localizado em um centro de inversão e cada unidade assimétrica é composta por metade da molécula, ou seja, a molécula é centrossimétrica.

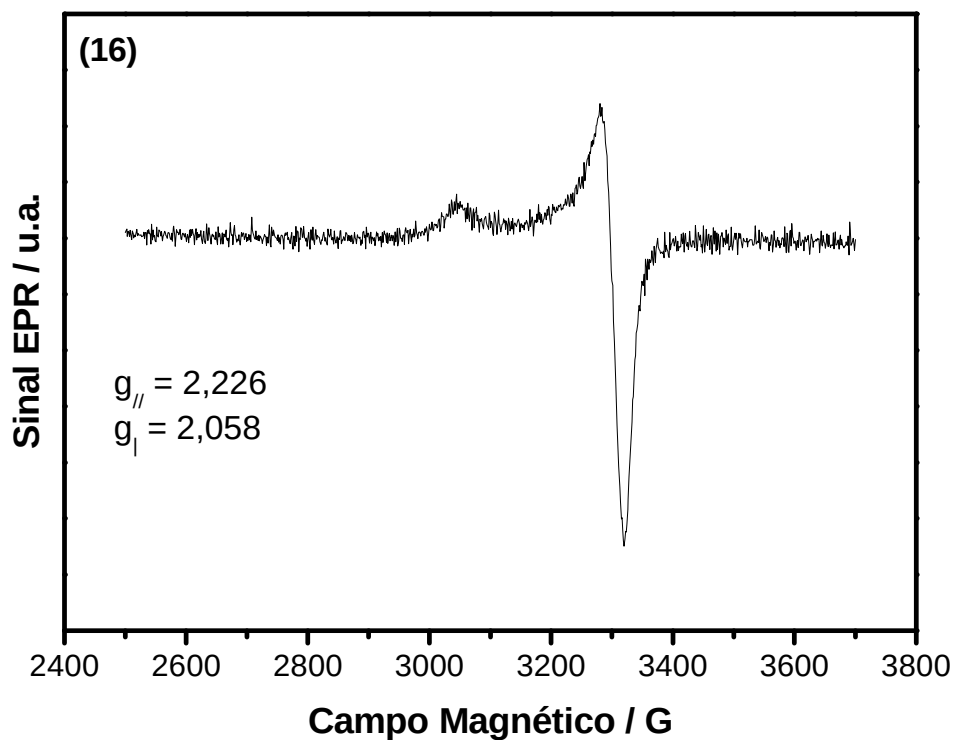
Os átomos de carbono da cadeia alquílica estão desordenados em duas localizações distintas, ambas com um fator de ocupação igual a 1/2, representadas na Figura 92 pelas cores rosa e amarelo.

Observa-se que os íons cloretos não estão coordenados ao átomo de cobre e sim, interagindo por ligações de hidrogênio com os átomos dos grupos NH. Desse modo, pode-se dizer que o íon cobre(II) apresenta neste composto uma geometria de coordenação quadrado planar.

IV.1.6.6 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural do complexo **16**

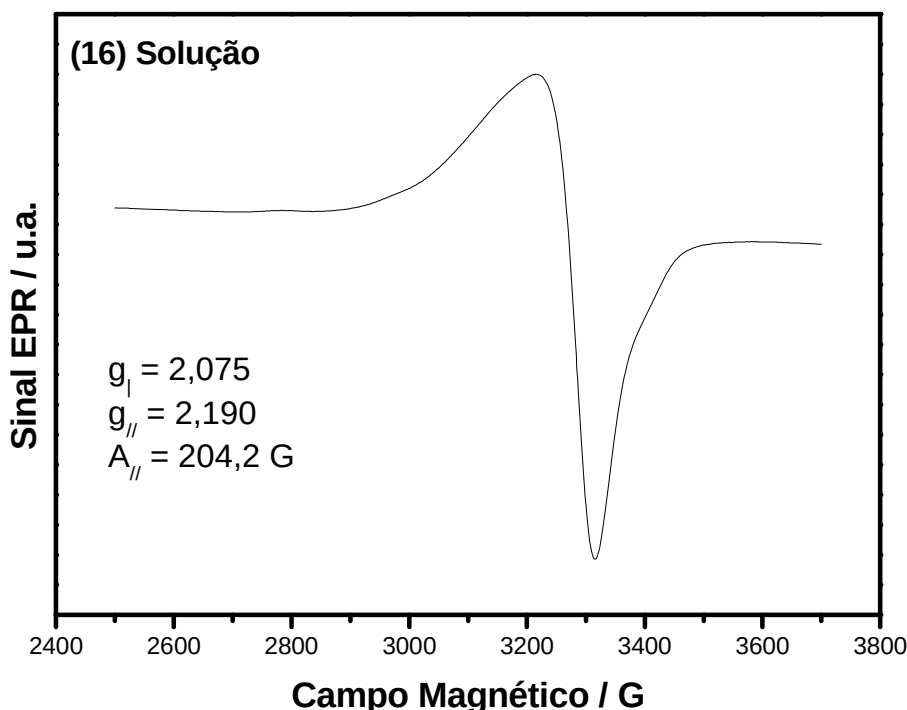
As Figuras 93 e 94 apresentam os espectros de EPR, em banda X, do composto **16** no estado sólido e em solução metanólica, respectivamente.

Figura 93 - Espectro de EPR do composto **16** no estado sólido a 77 K



Fonte: Autora

O espectro de EPR no estado sólido do composto **16** apresentado na Figura 93 é anisotrópico, ou seja, os parâmetros $g_{||}$ e $g_{\perp}$ são bem definidos, indicando que o íon cobre(II) se encontra em sítio com simetria axial.

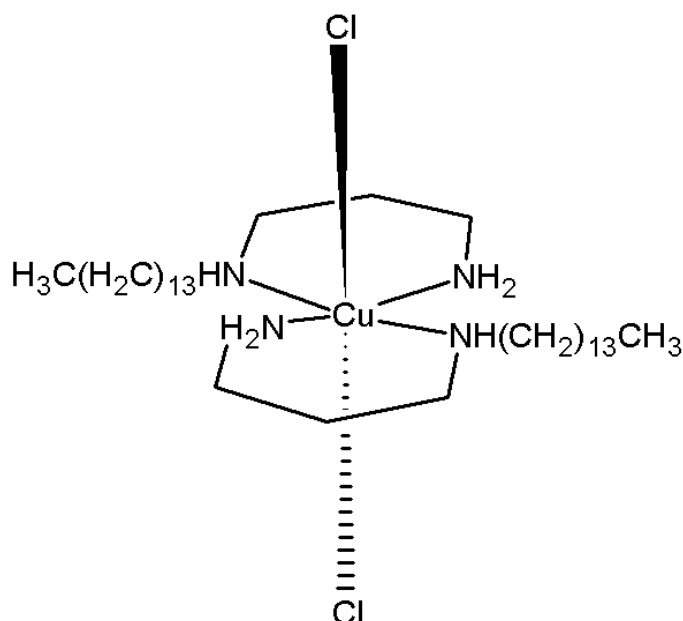
Figura 94 - Espectro de EPR do composto **16** em solução metanólica a 77 K

Fonte: Autora

Analisando-se a Figura 94, observa-se no espectro de EPR em solução metanólica um perfil característico de um ambiente axial ao redor do centro metálico, com o tensor $g_{\parallel} > g_{\perp}$. A razão empírica $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ igual a 107 cm, sugere que a geometria ao redor do íon Cu(II) em solução é quadrado planar, com o elétron desemparelhado no orbital dx^2-y^2 [191]. Além disso, o composto apresentou apenas um valor $A_{\parallel}$ referente a um único conjunto de quatro linhas, indicando que provavelmente só há uma espécie em solução.

A estrutura proposta para o complexo **16** concorda com os dados obtidos na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Vis, ressonância paramagnética eletrônica, análise termogravimétrica e análise elementar. Sugere-se que o íon Cu(II) esteja coordenado a dois átomos de cloro nas posições axiais e a dois ligantes *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina no plano equatorial coordenados via átomos de nitrogênio (Figura 95).

Figura 95 - Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**)



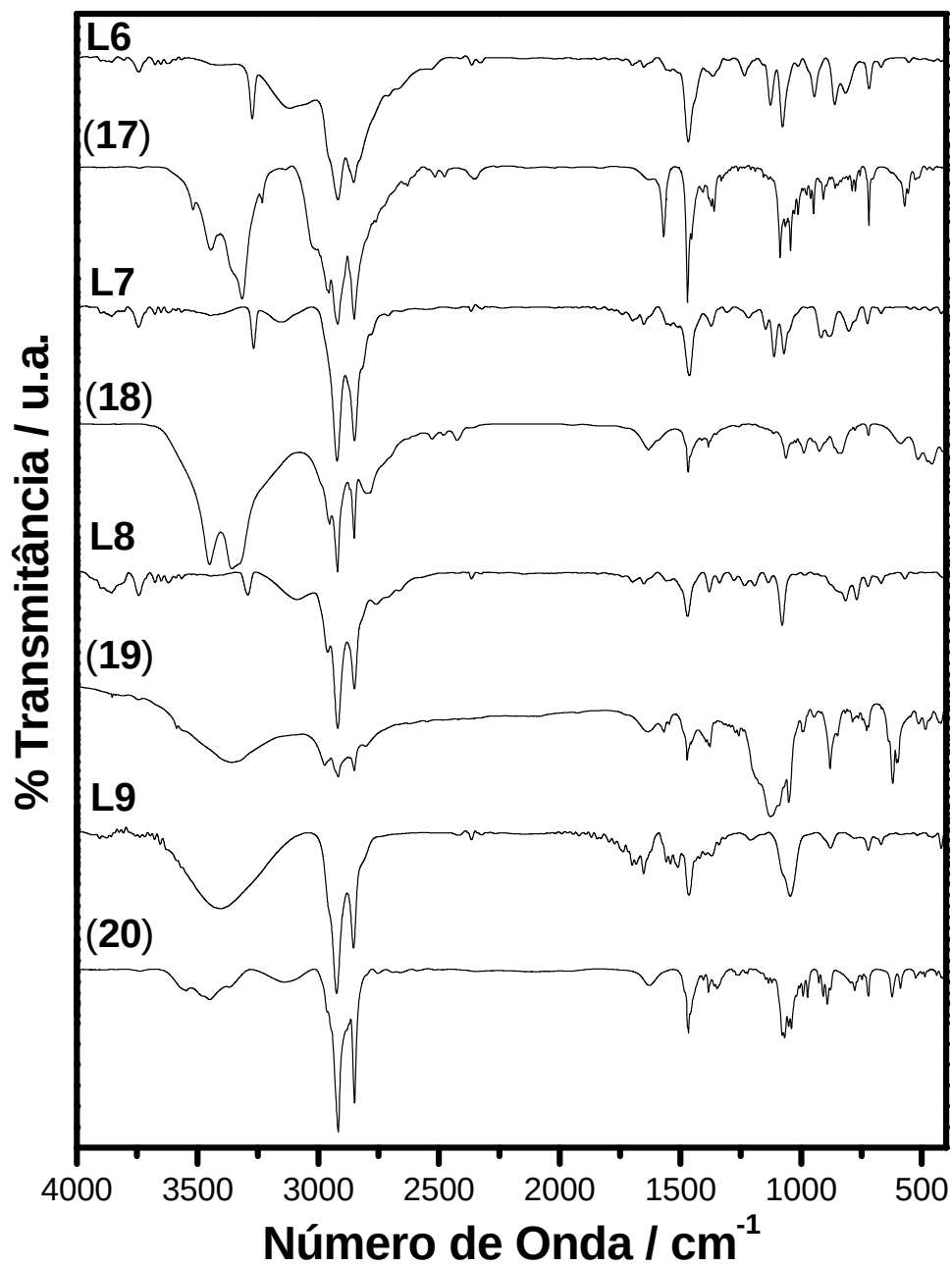
Fonte: Autora

IV.1.7 Compostos contendo aminoálcoois

IV.1.7.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 96 apresenta os espectros vibracionais no IV dos ligantes livres *N*-tetradecil-2-amino-etanol (**L6**), *N*-tetradecil-2-amino-propanol (**L7**), 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol (**L8**) e *N*-tetradecildietanolamino (**L9**) e dos complexos $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (**17**), $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**18**), $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**19**) e $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (**20**), cujas frequências e atribuições estão contidas nas Tabelas 17 e 18.

Figura 96 - Espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos compostos 17-20 (KBr)



Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 17 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente aos ligantes livres L6-L8 e complexos 17-19 e suas respectivas atribuições

Composto						Atribuição
L6	17	L7	18	L8	19	
-	3519 <i>f</i> , 3447 <i>m</i> , 3315 <i>F</i>	-	3450 <i>F</i> , 3359-3326 <i>F</i>	-	3369-3342 <i>m</i>	$\nu\text{NH} + \nu\text{OH}$
3273 <i>m</i>	-	3267 <i>f</i>	-	3291 <i>f</i>	-	νNH
3118 <i>m</i>	-	3153 <i>f</i>	-	3087 <i>f</i>	-	νOH
2919 <i>F</i> , 2853 <i>F</i>	2956 <i>F</i> , 2929 <i>F</i> , 2851 <i>F</i>	2922 <i>F</i> , 2850 <i>F</i>	2953 <i>m</i> , 2920 <i>F</i> , 2851 <i>m</i> , 2780 <i>m</i>	2960 <i>m</i> , 2919 <i>F</i> , 2850 <i>F</i>	2974 <i>F</i> , 2918 <i>F</i> , 2850 <i>F</i> , 2804 <i>f</i>	νCH
-	-	-	1632 <i>f</i>	-	1634 <i>m</i>	δHOH
1467 <i>m</i>	1570 <i>m</i> , 1454 <i>m</i>	1463 <i>m</i>	1467 <i>m</i>	1470 <i>m</i>	1472 <i>m</i> , 1453 <i>f</i>	<i>Scissoring</i> $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$
1365 <i>f</i>	1360 <i>f</i>	1373 <i>f</i>	1384	1381 <i>f</i>	1374 <i>m</i>	<i>Wagging</i> CH_2
1235 <i>f</i>	-	1219 <i>f</i>	-	1235 <i>f</i>	-	$\delta\text{NH} + \delta\text{CH}$
-	-	-	-	-	1127 <i>F</i>	SO_4^{2-}
1127 <i>m</i> , 1077 <i>m</i>	1087 <i>m</i> , 1044 <i>m</i>	1112 <i>m</i> , 1071 <i>m</i>	1063 <i>f</i> , 1036 <i>f</i>	1136 <i>f</i> , 1078 <i>m</i>	1091 <i>F</i> , 1051 <i>F</i>	$\nu\text{CC} + \delta\text{NH} + \nu\text{CN} + \nu\text{CO}$
945 <i>f</i>	948 <i>m</i>		925 <i>f</i>	943 <i>om</i>	880 <i>F</i>	<i>Twisting</i> $\text{CH}_2 + \delta\text{NH}$
861 <i>m</i> , 816 <i>f</i>	-	881 <i>f</i>	846 <i>f</i> , 832 <i>f</i>	838 <i>f</i> , 816 <i>f</i>	813 <i>f</i> , 787 <i>f</i>	<i>Wagging</i> NH
719 <i>f</i>	720 <i>f</i>	726 <i>f</i>	722 <i>f</i>	769 <i>f</i> , 723 <i>f</i>	720 <i>m</i>	ρCH_2
-	-	-	-	-	621 <i>F</i>	SO_4^{2-}

Fonte: Autora

Tabela 18 - Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre L9 e o complexo 20 e suas respectivas atribuições

Composto		Atribuição
L9	20	
3402 <i>m</i>	3545-3369 <i>m</i>	νOH
2924 <i>F</i> , 2852 <i>F</i>	2918 <i>F</i> , 2849 <i>F</i>	νCH
1465 <i>m</i>	1466 <i>m</i>	<i>Scissoring</i> CH_2
1396 <i>f</i> , 1372 <i>f</i>	1384 <i>f</i> , 1333 <i>f</i>	<i>Wagging</i> CH_2
1045 <i>m</i>	1051 <i>f</i> , 1040 <i>f</i>	$\nu\text{CC} + \nu\text{CN} + \nu\text{CO}$
-	973 <i>f</i>	<i>Twisting</i> CH_2
722 <i>f</i>	723 <i>f</i>	ρCH_2

Fonte: Autora

A análise dos espectros no IV dos aminoálcoois livres e dos compostos 17-20 permitiu confirmar a coordenação desses ligantes ao centro metálico nos respectivos complexos sintetizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos espectros dos ligantes livres L6, L7 e L8 observam-se duas bandas na região de 3291-3273 e 3153-3087 cm^{-1} atribuídas aos modos vibracionais νNH e νOH , respectivamente. Já nos espectros dos complexos **17-19** observa-se que houve uma combinação desses modos vibracionais (νOH e νNH) em uma única banda de alta intensidade e larga na região de 3519-3326 cm^{-1} , sendo esse um indício de que a coordenação dos aminoálcoois ocorreu via átomos de nitrogênio e oxigênio. Esse fato é corroborado com a análise da banda atribuída ao conjunto de modos vibracionais $\nu\text{CC} + \delta\text{NH} + \nu\text{CN} + \nu\text{CO}$ que também mostra um deslocamento para frequências mais baixas (Tabela 17) após a coordenação.

A presença da cadeia carbônica dos aminoálcoois é verificada pelas bandas referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos CH_2 e CH_3 na região de 2974-2780 cm^{-1} e a banda associada ao modo vibracional ρCH_2 na região de 700 cm^{-1} .

No espectro do composto **19** observou-se ainda duas bandas em 1127 e 621 cm^{-1} que estão associadas aos modos vibracionais ν_3 e ν_4 , respectivamente, do íon sulfato.

Cabe mencionar que a presença de água de hidratação nos compostos **18** e **19** foi verificada pelo aparecimento de uma banda em 1632 e 1634 cm^{-1} (δHOH), respectivamente.

No que diz respeito à coordenação do ligante *N*-tetradecildietanolamina (L9) ao íon cobre(II), observa-se um deslocamento e um alargamento da banda atribuída ao modo vibracional νOH de 3402 cm^{-1} (L9) para 3545-3369 cm^{-1} (composto **20**), sendo esse um indício de que a coordenação ocorreu via átomo de oxigênio. A banda que corrobora para esse fato está associada aos modos vibracionais $\nu\text{CC} + \nu\text{CN} + \nu\text{CO}$ que sofre um pequeno deslocamento após a coordenação, mas é acompanhado de um desdobramento (Tabela 18).

A presença do aminoálcool no composto **20** também é evidenciada pela observação das bandas em 2918 e 2849 cm^{-1} atribuídas ao modo vibracional νCH dos grupos CH_2 e CH_3 , respectivamente.

Através da espectroscopia vibracional no IV pode-se inferir que os aminoálcoois L6-L9 se coordenaram ao centro metálico via átomo de oxigênio e nitrogênio, e que está de acordo com dados da literatura [193].

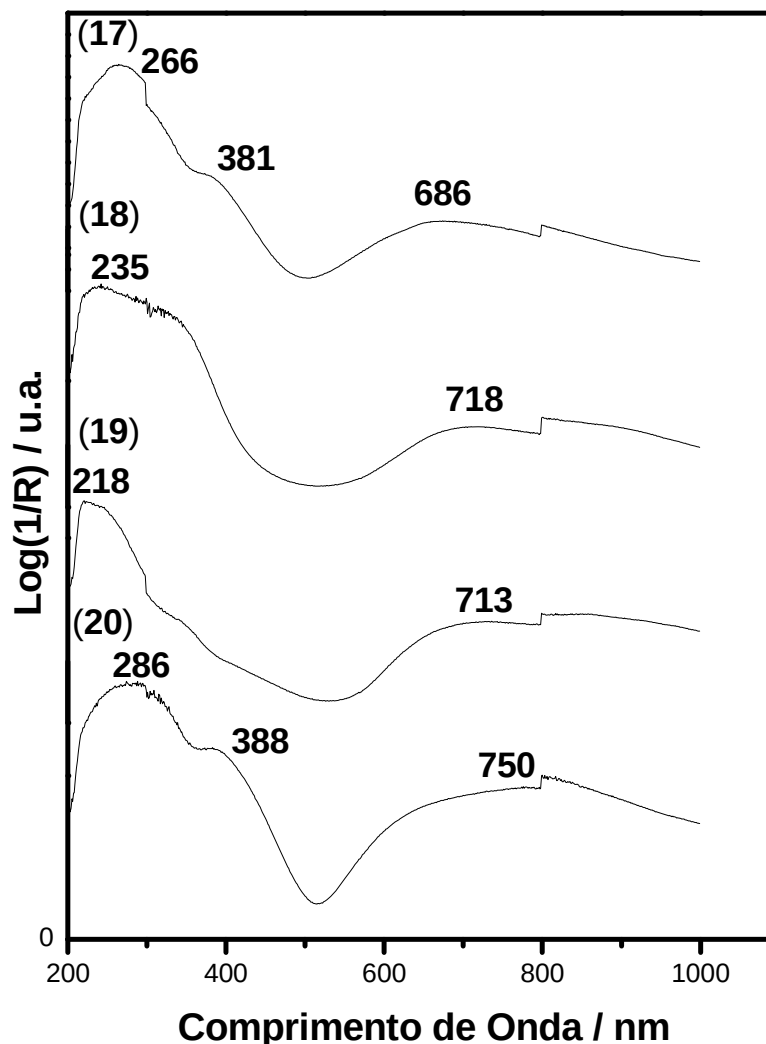
IV.1.7.2 Espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa

A técnica de espectroscopia de absorção eletrônica com medida de reflectância difusa foi utilizada para os compostos **17-20** devido à baixa solubilidade nos solventes testados.

Os espectros de absorção com medida de reflectância difusa ($\log 1/R$) para os compostos **17-20**

estão representados na Figura 97.

Figura 97 - Espectros eletrônicos dos compostos **17-20** (reflectância difusa)



Fonte: Autora

Observa-se na Figura 97 uma banda de alta intensidade na região do UV atribuída às transições do tipo IL. Por outro lado, as bandas que aparecem no visível em 686, 718, 713 e 750 nm nos espectros dos compostos **17-20**, respectivamente, podem ser atribuídas às transições de campo ligante. A posição dessas bandas sugere as seguintes geometrias ao redor do centro metálico: tetraédrica, pirâmide de base quadrada e octaédrica com distorções para o composto **17**. Para os demais compostos (**18-20**) além das três geometrias observadas para o complexo **19**, sugere-se também a bipirâmide trigonal [159].

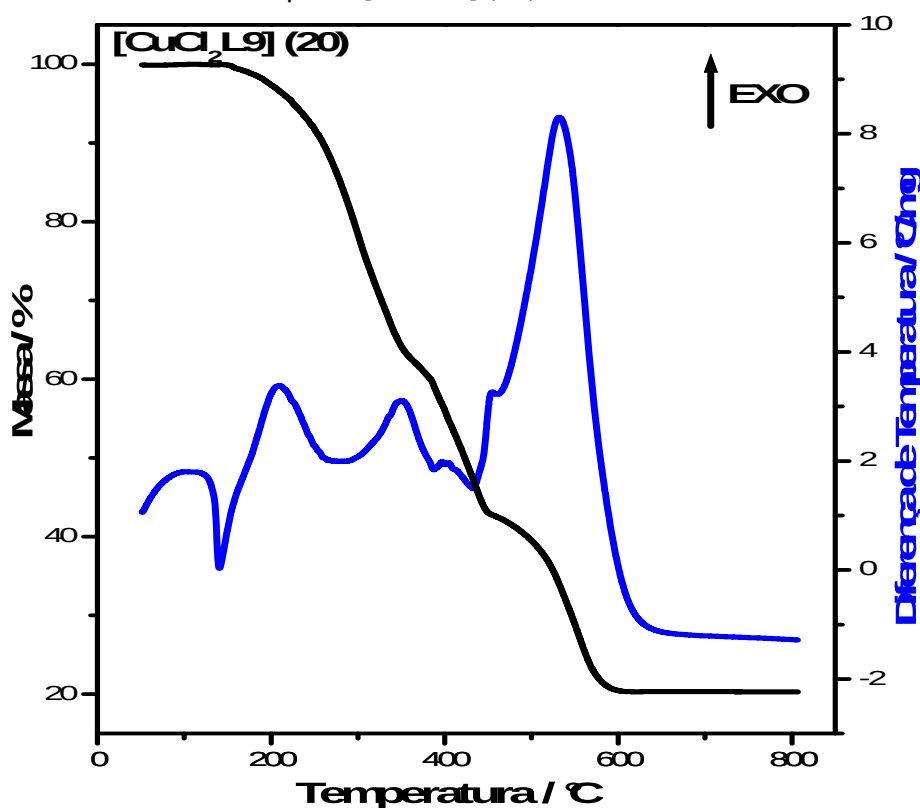
Para os compostos **17** e **20** observa-se, ainda, um ombro em 381 e 388 nm, respectivamente, atribuído à transição de transferência de carga LMCT do tipo $\text{Cl}^- \rightarrow \text{Cu}$.

IV.1.7.3 Análise térmica (TGA e DTA)

Para os compostos contendo aminoálcoois até o momento só foi possível obter as curvas TGA-DTA para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20). Para os demais complexos aguardam-se os resultados.

A Figura 98 apresenta as curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20), o qual decompõe-se em três etapas. Observa-se na curva DTA um pico endotérmico em 140 °C que pode ser atribuído à fusão do composto, pois observou-se que o mesmo funde entre 128-140 °C. O composto é, portanto, termicamente estável até 128 °C; a partir desta temperatura, observa-se a fusão e a primeira perda de massa de 36,63 %, correspondendo na curva DTA a dois picos exotérmicos. Na segunda e terceira perda de massas (356-800 °C) ocorre a decomposição térmica do composto com a oxidação da matéria orgânica correspondente. Na curva DTA, observa-se uma endoterma em 431 °C e uma exoterma em 532 °C. A 800 °C o resíduo final é constituído de CuO, como comprovado por difratometria de raios X de pó (Figura 99). A Tabela 19 mostra os dados obtidos a partir das curvas TGA-DTA do complexo $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20).

Figura 98 - Curvas TGA-DTA do composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)



Fonte: Autora

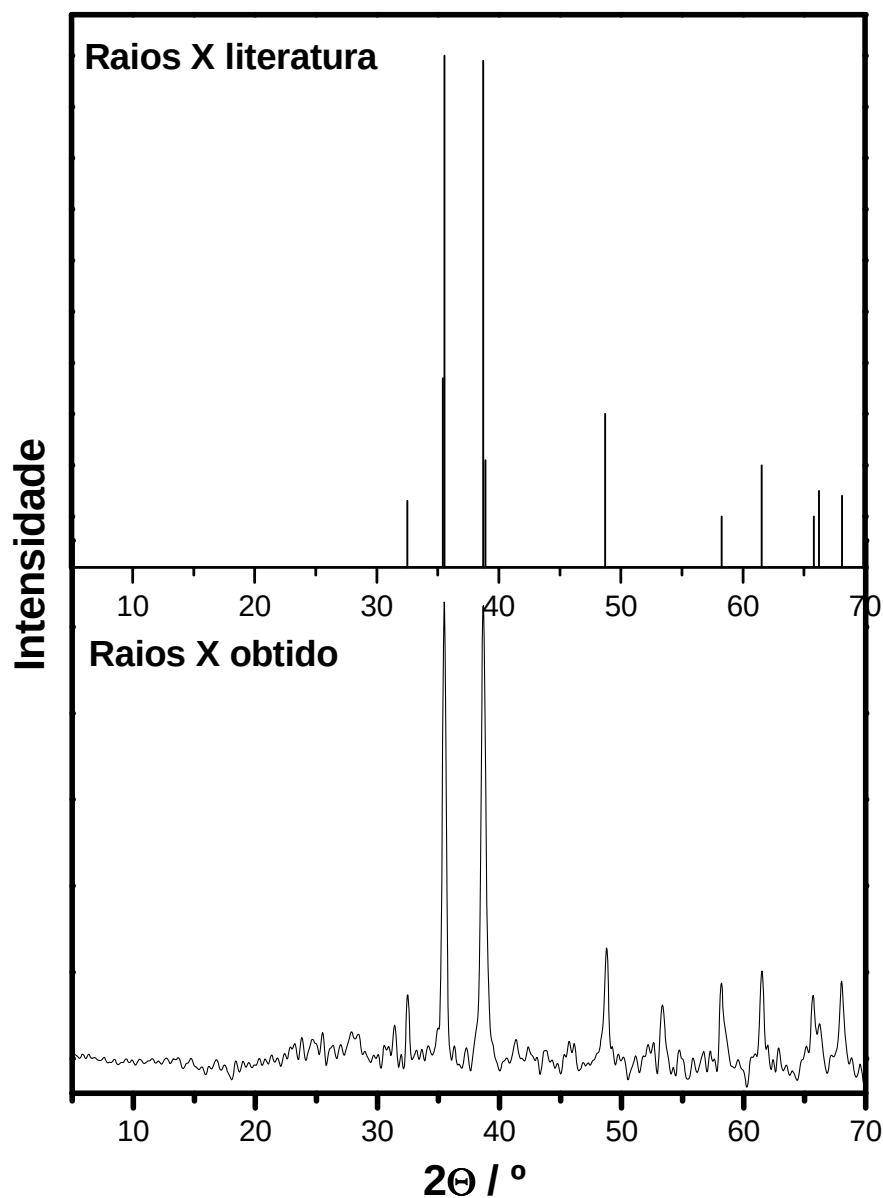
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 19 - Etapas de decomposição térmica dos compostos $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)

Composto	Etapas	$T_{\text{inicial}} - T_{\text{final}} (^{\circ}\text{C})$	Δm (%)		DTA/ $^{\circ}\text{C}$	
			Exp.	Calc.	Endo	Exo
20	Decomposição térmica	128-356	36,63	36,93	140	210 e 350
	Decomposição térmica	356-457	20,86	20,91	431	
	Decomposição térmica	457-800	22,17	24,36		532
	Resíduo	-	20,31	18,24	-	

Fonte: Autora

Figura 99 - Difratoograma de raios X, método do pó, do resíduo final a 800°C da termodecomposição do composto 20 comparado com o da literatura

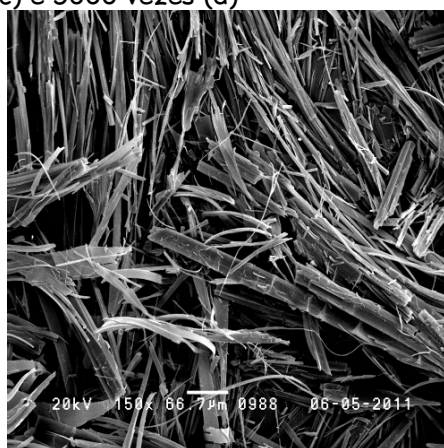


Fonte: Autora

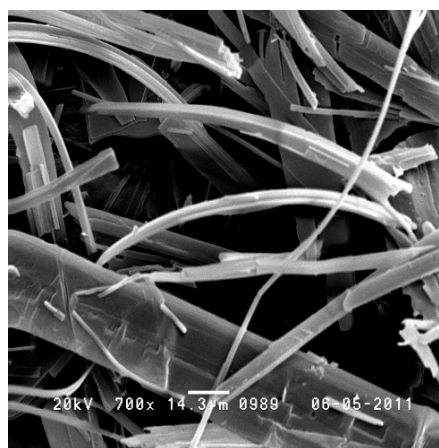
IV.1.7.4 Microscopia eletrônica de varredura

As fotomicrografias analisadas por MEV das superfícies dos compostos $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (17), $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (18), $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (19) e $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20) estão apresentadas nas Figuras 100-103, respectivamente.

Figura 100 - Imagens MEV do composto 17 com aumento de 150 vezes (a), 700 vezes (b), 1500 vezes (c) e 5000 vezes (d)



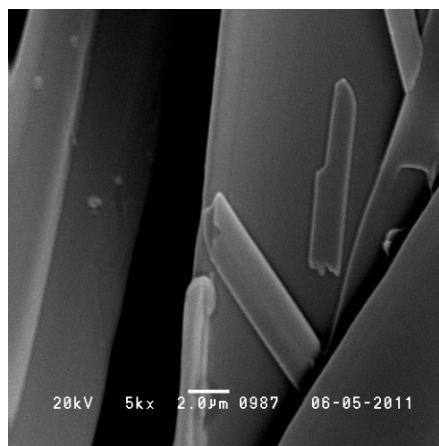
(a)



(b)



(c)

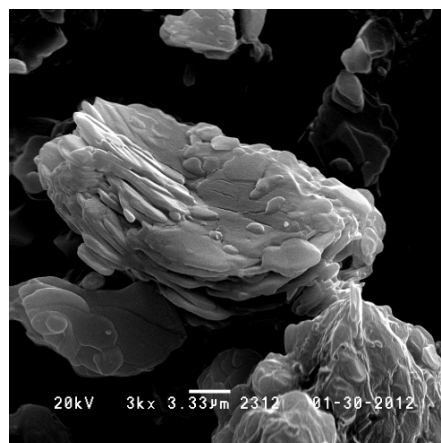
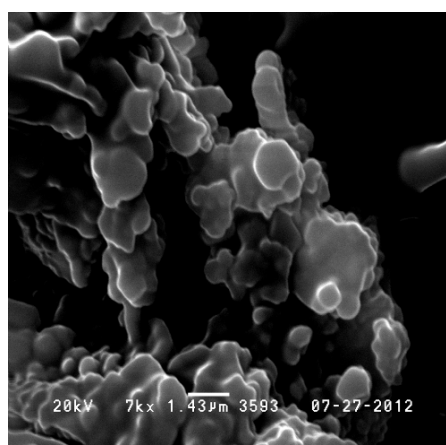
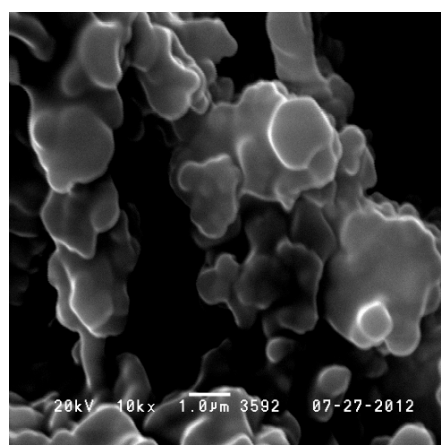


(d)

Fonte: Autora

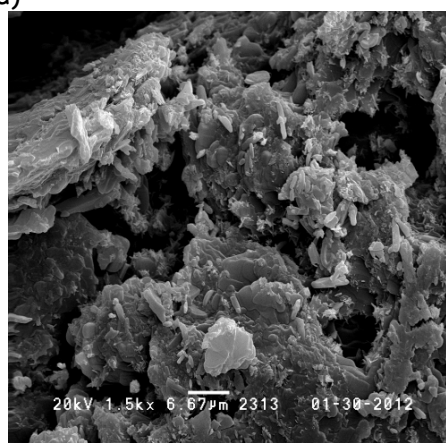
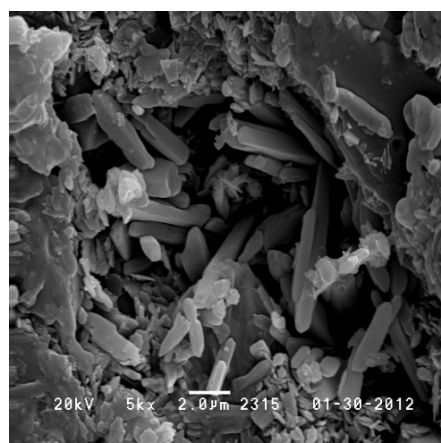
RESULTADOS E DISCUSSÃO

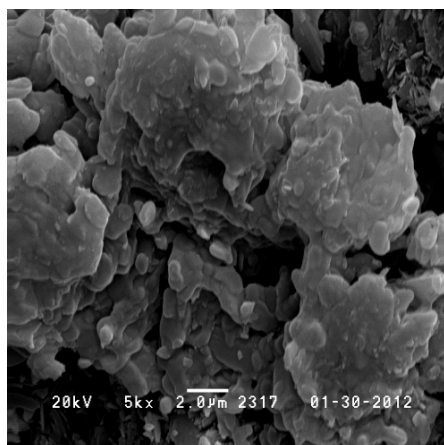
Figura 101 - Imagens MEV do composto **18** com aumento de 3000 vezes (a) e (b), 7000 vezes (c) e 10000 (d)

**(a)****(b)****(c)****(d)**

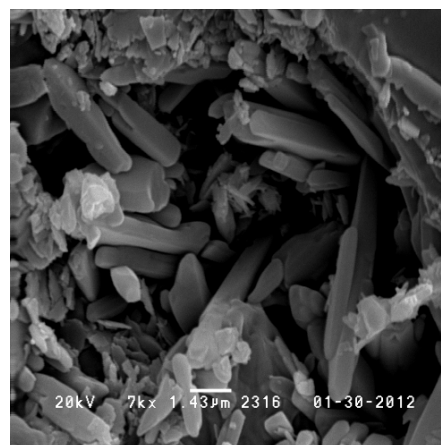
Fonte: Autora

Figura 102 - Imagens MEV do composto **19** com aumento de 1500 vezes (a), 5000 (b) e (c) e 7000 (d)

**(a)****(b)**



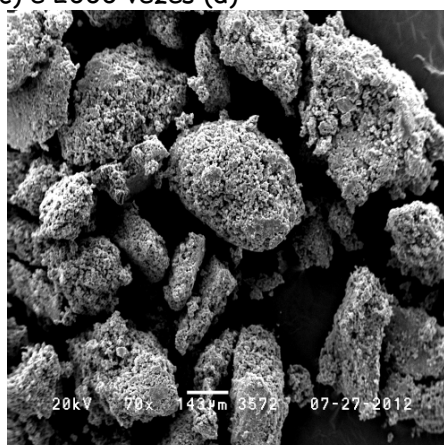
(c)



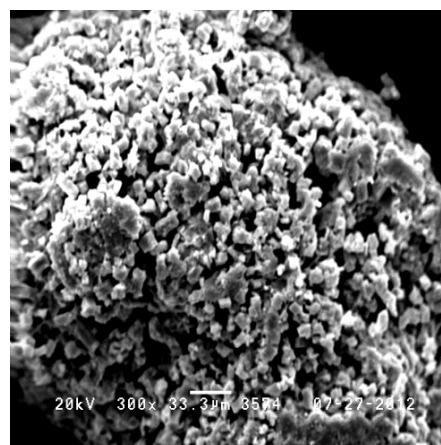
(d)

Fonte: Autora

Figura 103 - Imagens MEV do composto **20** com aumento de 70 vezes (a), 300 vezes (b), 1500 vezes (c) e 2000 vezes (d)



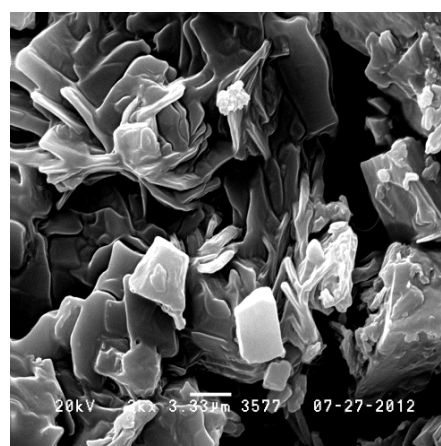
(a)



(b)



(c)



(d)

Fonte: Autora

Para o composto **17**, as fotomicrografias mostram que o complexo é constituído por partículas com forma alongada, do tipo fibra. Analisando a Figura 100-c, observa-se que as fibras crescem em camadas, mas não apresentam uniformidade no tamanho das fibras formadas, principalmente na largura. As superfícies das placas são lisas e homogêneas.

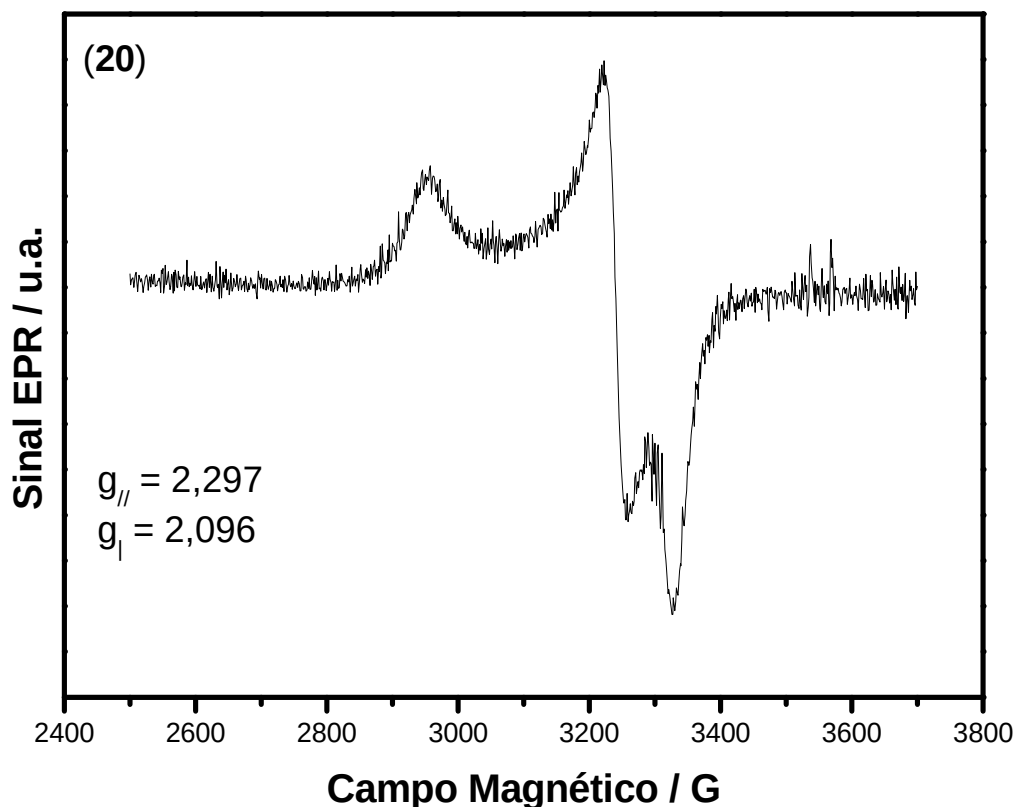
A observação das imagens MEV do composto **18** mostra que o material é composto por pequenas partículas de formato e tamanho irregulares, que se aglomeram umas sobre as outras, formando as vezes placas. É interessante notar na Figura 101-c, que as pequenas partículas parecem coalescer formando um agregado maior.

Na Figura 102 são apresentadas imagens MEV do pó obtido na síntese do composto **19**. Analisando as imagens, observa-se pelo menos dois tipos de estruturas diferentes, umas menores que são formadas pela agregação de pequenas placas de formato irregular; e uma estrutura que cresce na forma de bastão com tamanho irregular; no entanto, as superfícies são lisas nesse caso, ao contrário do primeiro tipo de estrutura.

A Figura 103 apresenta as imagens MEV do composto **20**. Observa-se que este sistema é formado por partículas quase esféricas e que parecem ser porosas. Analisando as imagens de maior magnificação (Figura 103-c e 103-d), verifica-se que aglomerados de pequenas placas constituem essas esferas, o que explica a porosidade desse composto. As superfícies das pequenas placas são lisas, porém não tem uniformidade de forma e tamanho, e se agregam aleatoriamente formando as esferas.

IV.1.7.5 Ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e proposição estrutural para os complexos 17-20

Para o composto **20** foi possível obter o espectro de ressonância paramagnética eletrônica no estado sólido a 77 K, que está apresentado na Figura 104.

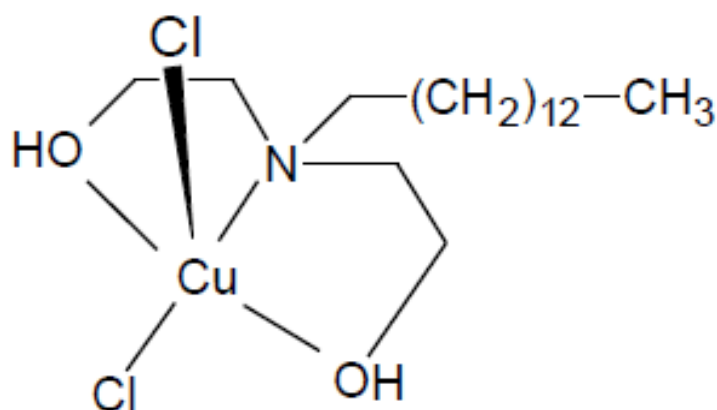
Figura 104 - Espectro de EPR do composto **20** no estado sólido a 77 K

Fonte: Autora

O espectro de EPR do composto **20** apresenta simetria axial, $g_{||} > g_{\perp} > 2$ o que é sugestivo de uma geometria tetragonal distorcida, piramidal quadrada ou quadrado planar [178]. Além disso, nenhuma banda correspondente às transições $\Delta M_s = \pm 2$ (em campo ~ 1500 G) foi observada no espectro, sugerindo que não haja interação Cu-Cu [189].

Sugere-se que no estado sólido o composto **20** consista de um monômero com geometria ao redor do cobre piramidal de base quadrada. A molécula do ligante *N*-tetradecildietanolamina (L9) coordena-se de forma quelante ao cobre, ocupando três sítios de coordenação e os outros dois são ocupados por grupos cloro completando a esfera de coordenação. Assim, propõe-se a estrutura mostrada na Figura 105 para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (**20**).

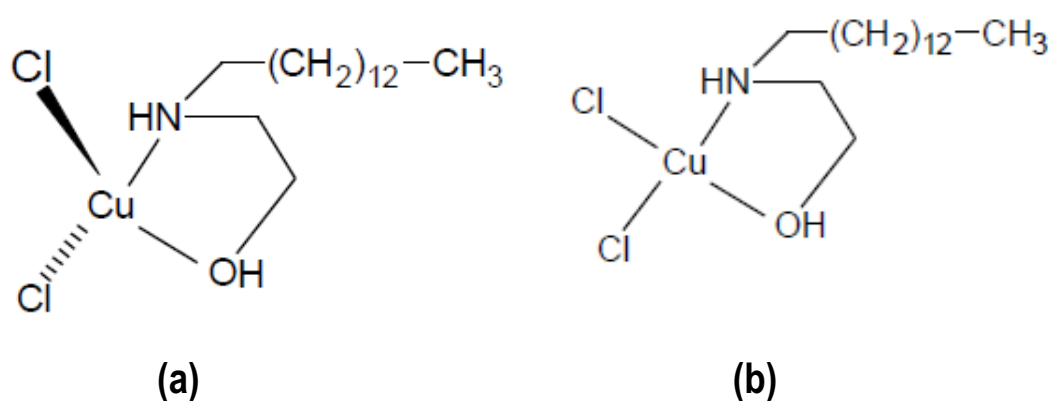
Figura 105 - Estrutura proposta para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (20)



Fonte: Autora

Para o composto **17**, propõe-se que o complexo seja um monômero no qual o aminoálcool atua como um ligante quelante coordenado pelos átomos de oxigênio e nitrogênio (Figura 106), formando um anel de cinco membros. Dois grupos cloro também estão coordenados ao centro metálico, sugerindo desse modo uma geometria tetraédrica ou quadrado planar ao redor do íon Cu(II) , Figura 106.

Figura 106 - Estruturas propostas para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (17), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)

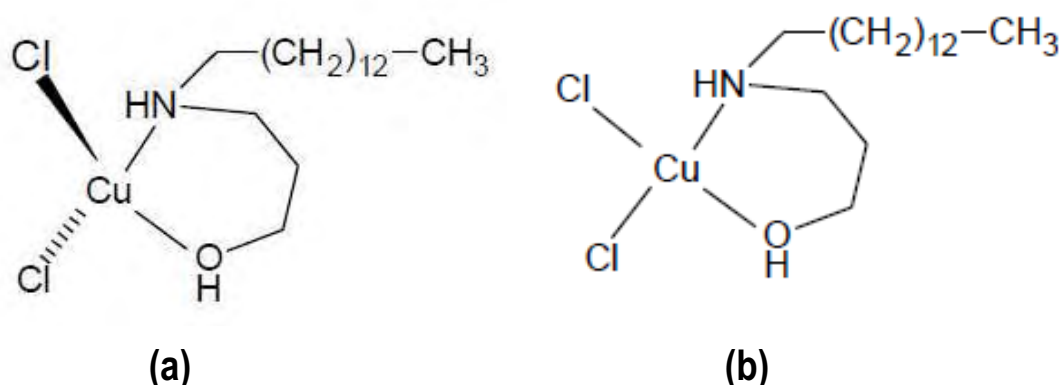


Fonte: Autora

O conjunto de dados obtidos para o complexo **18** sugere que a estrutura seja similar àquela proposta para o composto **17**, como mostra a Figura 107.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

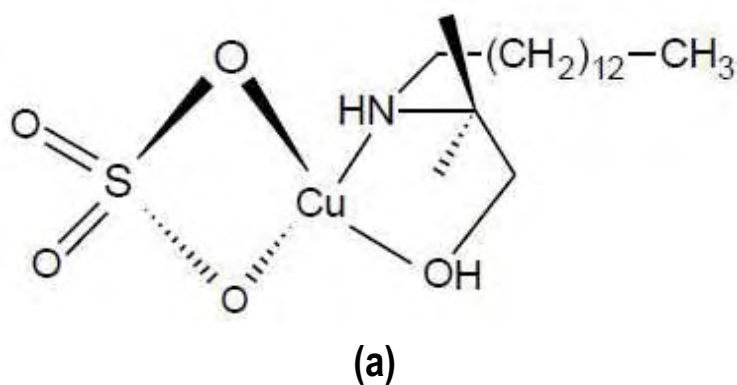
Figura 107 - Estruturas propostas para o composto $[\text{CuCl}_2\text{L7}]$ (**18**), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)

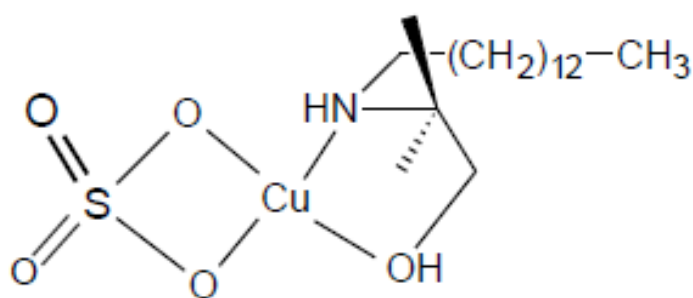


Fonte: Autora

Para o composto **19** sugere-se um ambiente tetraédrico ao redor do íon metálico, onde duas posições são ocupadas por átomos de nitrogênio e oxigênio do ligante 2-(tetradecilamino)-2'-metil-1-propanol, enquanto os outros dois sítios são quelados pelo íon sulfato que está coordenado de modo quelante bidentado (Figura 108). Cabe destacar que essa proposição está embasada em dados publicados na literatura recentemente, conforme mencionado no item IV.1.1.4 [162].

Figura 108 - Estruturas propostas para o composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**19**), tetraédrica (a) e quadrado planar (b)





(b)

Fonte: Autora

IV.2 Atividade Biológica

IV.2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

IV.2.1.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194

Os complexos **1-20** foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do *M. tuberculosis*, linhagem H₃₇Rv ATCC 27194. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima (CIM) representam a menor concentração da droga capaz de impedir a multiplicação da micobactéria e estão apresentados nas Tabelas 20 e 21.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 20 - CIM dos compostos 1-11 frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO

Composto	MM (g/mol)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
[Cu ₂ (SO ₄) ₂ (BEM)] (1)	523,6	12,50	23,87
[Cu ₂ (NCS) ₄ (EMB)] (2)	563,7	12,50	22,18
KNCO	81,11	> 125,0	1541
Etambutol (droga padrão) [146]	204,3	0,940-1,88	4,60-9,20
[CuCl ₂ (INH) ₂ ·H ₂ O] (3)	408,7	10,00	24,46
[Cu(NCS) ₂ (INH) ₂ ·5H ₂ O] (4)	544,1	0,390	0,7168
[Cu(NCO) ₂ (INH) ₂ ·4H ₂ O] (5)	493,9	0,780	1,580
KNCO	81,11	> 125,0	1541
NaSCN	81,10	> 125,0	> 1541
Isoniazida (droga padrão) [146]	137,1	0,0300	0,22
[CuCl ₂ (PZA) ₂] (6)	380,7	6,150	16,15
[CuBr ₂ (PZA) ₂] (7)	469,6	> 25,00	53,24
[CuI ₂ (PZA) ₂] (8)	559,6	> 25,00	44,68
Pirazinamida (droga padrão) [194, 195]	123,1	50,00-100,0	406,1-812,3
[CuCl ₂ (Hina) ₂] (9)	378,7	25,00	66,02
[CuBr ₂ (Hina) ₂] (10)	423,2	25,00	59,07
[CuI ₂ (Hina) ₂] (11)	561,6	25,00	44,52
Ácido isonicotínico	123,1	> 25,00	203,0
CuCl ₂ ·2H ₂ O	170,4	25,00	146,6

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 21 - CIM dos compostos **12-20** frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO

Composto	MM (g/mol)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
[CuCl ₂ (L1) ₂] 2H ₂ O (12)	627,33	10,26	16,35
[CuCl ₂ (L2) ₂] (13)	647,39	22,00	34,00
[CuCl ₂ (L3) ₂] 2H ₂ O (14)	963,96	4,270	4,420
L1 [196]	228,0	6,250	27,41
L2 [196]	256,0	> 25,00	97,65
L3 [196]	397,0	> 25,00	62,97
[CuCl ₂ (L4) ₂] H ₂ O (15)	637,36	> 11,20	17,57
[CuCl ₂ (L5) ₂] H ₂ O (16)	693,47	5,350	7,710
L4 [196]	242,0	25,00	103,3
L5	270,0	*NR	*NR
[CuCl ₂ L6] (17)	391,90	15,02	38,32
[CuCl ₂ L7] 4H ₂ O (18)	477,99	21,81	45,62
[Cu(SO ₄)L8] 4H ₂ O (19)	517,18	> 25,00	> 48,34
[CuCl ₂ L9] (20)	435,96	25,00	57,34
L6 [196]	257,5	12,50	48,54
L7 [196]	271,5	12,50	46,04
L8 [196]	285,5	6,250	21,89
L9 [196]	301,5	12,50	41,46
CuCl ₂ 2H ₂ O	170,4	25,00	146,6

*NR = não realizado

Fonte: Autora

De um modo geral, pode-se observar que os valores de CIM obtidos para os compostos de cobre(II) sintetizados nesse trabalho são muito satisfatórios, uma vez que valores de CIM $\leq 31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados promissores para substâncias sintéticas [197]. Atividades com CIM abaixo de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ são comparáveis a drogas de segunda linha, utilizadas no tratamento da TB, como a etionamida, viomicina, *d*-cicloserina e capreomicina.

Nas Tabelas 20 e 21, os valores de CIM para os compostos [CuBr₂(PZA)₂] (**7**), [Cu₂(PZA)₂] (**8**), [CuCl₂(Hina)₂] (**9**), [CuBr₂(Hina)₂] (**10**), [Cu₂(Hina)₂] (**11**), [Cu(SO₄)L8] 4H₂O (**19**), [CuCl₂L9] (**20**) e para os ligantes ácido isonicotínico, L2, L3, L4, e para o precursor cloreto de cobre, expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$, apresentam valores idênticos. Entretanto, para melhor exprimir os resultados, é pertinente a análise em termos de concentração em $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Analisando-se os valores de CIM obtidos para os compostos [Cu₂(SO₄)₂(EMB)] e

RESULTADOS E DISCUSSÃO

[Cu₂(NCS)₄(EMB)], 23,87 e 22,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, observa-se que não houve uma melhora significativa na ação antimicobacteriana após a coordenação da droga padrão etambutol ao centro metálico.

Já para os compostos **3**, **4** e **5**, que contem o ligante isoniazida e os co-ligantes aniônicos cloreto, tiocianato e cianato, respectivamente, pode-se concluir que quando ocorre a troca do haleto por pseudo-haletos, o valor de CIM melhorou consideravelmente, ou seja, a atividade frente ao *Mycobacterium* foi potencializada. Os valores de CIM para os compostos **4** e **5** são excelentes e comparáveis ao fármaco de primeira linha etambutol. Portanto, com base nesses resultados, esses dois compostos de Cu(II) são candidatos para um aprofundamento nos estudos biológicos envolvendo, por exemplo, cepas resistentes do complexo *M. tuberculosis*.

No grupo dos compostos contendo a molécula bioativa PZA, observa-se que o composto mais ativo foi o **6** (16,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$), que contém o íon cloreto na esfera de coordenação. Entretanto, não foi possível diagnosticar uma possível relação estrutura atividade presente nos complexos.

Para a série de compostos contendo o ligante ácido isonicotínico (Hina), **9-11**, houve uma melhora na atividade antimicobacteriana com a troca do ânion cloreto pelos demais ligantes haletos, na seguinte ordem: Cl < Br < I.

Para os compostos de **12-16**, em geral, o aumento da cadeia carbônica parece contribuir para uma melhor atividade anti-TB. Entretanto, essa comparação se torna válida principalmente quando se compara os compostos **15** (17,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e **16** (7,71 $\mu\text{mol L}^{-1}$), que contém os derivados da 1,3-propanodiamina. Verifica-se que ao acrescentar dois grupos metílenos na cadeia alquílica, a atividade antimicobacteriana do complexo **16** foi 2,3 vezes mais potente em relação ao composto **15**.

Entre todos os compostos dessa série, o **14** é o melhor deles, com CIM igual a 4,42 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Nesse caso, apesar de possuir o ligante derivado da 1,2-etanodiamina com o menor número de átomos de carbono na cadeia, cada diamina quelada ao cobre é dissubstituída com essas cadeias alquílicas. Portanto, parece prevalecer um fator de atividade ligado ao maior volume molecular conferido para este composto.

Por outro lado, o complexo **14** possui a banda atrelada ao campo ligante, observada no UV/Vis, com a menor energia (659 nm), quando comparada aos demais compostos da série (Figura 71). Em outras palavras, as interações dos ligantes ao Cu(II), via ligações químicas, é mais fraca. Esse fato é corroborado pela análise da curva TGA-DTA, pois o composto **14** é o que apresenta a menor estabilidade térmica, com temperatura inicial de decomposição igual a 47 °C (Figuras 72-74).

Os compostos **17-20**, contendo derivados de aminoálcoois, foram menos efetivos que os discutidos anteriormente (**12-16**), e uma relação estrutura-atividade entre eles não é, aparentemente, plausível. O composto **17** foi mais ativo, com CIM = 38,32 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.2.1.2 Determinação da citotoxicidade (IC₅₀) e índice de seletividade (IS)

Na Tabela 22 são apresentados os resultados da atividade biológica dos complexos de cobre(II) contendo o etambutol e a isoniazida.

Tabela 22 - Resultados das avaliações biológicas (CIM e IC₅₀) e determinação do IS dos compostos 1 - 5

Composto	MM (g/mol)	CIM (µg mL ⁻¹)	CIM (µmol L ⁻¹)	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	IC ₅₀ (µmol L ⁻¹)	IS (IC ₅₀ /CIM)
[Cu ₂ (SO ₄) ₂ (EMB)] (1)	523,6	12,50	23,87	312,5	596,8	25
[Cu ₂ (NCS) ₄ (EMB)] (2)	563,7	12,50	22,18	78,13	138,6	6,25
[CuCl ₂ (INH) ₂].H ₂ O (3)	408,7	10,00	24,46	78,20	191,3	7,82
[Cu(NCS) ₂ (INH) ₂].5H ₂ O (4)	544,1	0,390	0,7168	78,13	143,5	200
[Cu(NCO) ₂ (INH) ₂].4H ₂ O (5)	493,9	0,780	1,580	78,13	158,1	100

Fonte: Autora

Quanto à citotoxicidade frente à células sadias, os compostos [Cu₂(NCS)₄(EMB)] (2), [CuCl₂(INH)₂].H₂O (3), [Cu(NCS)₂(INH)₂].5H₂O (4), [Cu(NCO)₂(INH)₂].4H₂O (5), demonstraram ser mais tóxicos do que o complexo [Cu₂(SO₄)₂(EMB)] (1), ou seja, esses complexos provocam a morte de 50 % das células sadias em concentrações menores do que o complexo 1.

O índice de seletividade (IS= IC₅₀/CIM) é um cálculo realizado com a finalidade de selecionar as melhores substâncias para dar continuidade a ensaios e estudos mais aprofundados, uma vez que muitos compostos, tanto sintéticos quanto naturais, são testados frente ao *M. tuberculosis*. Segundo Orme *et al.* [148], uma substância promissora é aquela que possui um IS maior que 10. Consequentemente, levando em conta essas considerações temos, nesse trabalho, três compostos promissores, [Cu₂(SO₄)₂(EMB)] (1), [Cu(NCS)₂(INH)₂].5H₂O (4) e [Cu(NCO)₂(INH)₂].4H₂O (5), cujo os índices de seletividade foram: 25, 200 e 100, respectivamente.

IV.2.1.3 Determinação da atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* dos compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂].5H₂O (4) e [Cu(NCO)₂(INH)₂].4H₂O (5) frente aos 14 isolados clínicos selecionados com perfil de sensibilidade/resistência

Os valores de CIM dos compostos 4 e 5, frente ao painel de isolados clínicos sensíveis, mono e TB-MDR, estão apresentados na Tabela 23.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 23 - Valores de CIM dos complexos **4** e **5** frente aos isolados clínicos sensíveis, mono e TB-MDR

Nº isolado clínico	Fármacos Padrão BACTEC™ MGIT™ 960				Compostos (REMA)	
	INH	RMP	SM	EMB	4 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	5 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
H ₃₇ Rv	S	S	S	S	0,39	0,78
Isolado Sensível						
22	S	S	S	S	7,8	7,8
Isolados Mono-Resistentes						
15	R	S	S	S	> 25	> 25
45	R	S	S	S	12,5	25
74	R	S	S	S	> 25	> 25
98	S	R	S	S	3,9	3,9
Isolados Multi-Drogas-Resistentes (TB-MDR)						
76	R	R	S	S	> 25	> 25
84	R	R	S	S	> 25	> 25
46	R	R	R	S	> 25	> 25
81	R	R	R	S	> 25	> 25
93	R	R	R	S	> 25	> 25
55	R	R	R	R	> 25	> 25
61	R	R	R	R	> 25	> 25
104	R	R	R	R	> 25	> 25
105	R	R	R	R	> 25	25

R = resistente e S = sensível

Fonte: Autora

Dentre os 58 isolados de *M. tuberculosis* que compõem o painel [198], 14 foram selecionados e utilizados para análise, procurando envolver a maior diversidade possível dos perfis de resistência. Assim, 1 isolado era sensível à todos os fármacos, 4 mono resistentes e 9 TB-MDR, segundo a técnica do BACTEC™ MGIT™ 960.

A avaliação de compostos frente a isolados clínicos resistentes pode fornecer dados sobre a possível resistência cruzada dos novos compostos com os fármacos. Segundo o *pipeline* do Laboratório Prof. Dr. Hugo David, da FCFAR/UNESP Araraquara, compostos com atividade inferior ou igual a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, são considerados potenciais agentes anti-TB [149].

Os resultados da atividade dos compostos **4** e **5** frente às micobactérias do painel, foram:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 → Apresentou atividade promissora sobre 2 isolados ($\text{CIM} \leq 10 \mu\text{g mL}^{-1}$), 1 sensível e 1 mono, com CIMs variando entre 3,9 e $7,8 \mu\text{g mL}^{-1}$. Quando resistentes ($\text{CIM} > 10 \mu\text{g mL}^{-1}$), o CIM variou entre 12,5 e $> 25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

5 → Apresentou atividade promissora sobre 2 isolados ($\text{CIM} \leq 10 \mu\text{g mL}^{-1}$), 1 sensível e 1 mono, com CIMs variando entre 3,9 e $7,8 \mu\text{g mL}^{-1}$. Quando resistentes ($\text{CIM} > 10 \mu\text{g mL}^{-1}$), o CIM foi $> 25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Os compostos **4** e **5**, quando testados frente ao isolado clínico sensível, continuaram com uma atividade promissora (CIM abaixo de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$), mas, com valores maiores do que aqueles obtidos na cepa padrão *H₃₇Rv*, devido a sua menor susceptibilidade.

Ao serem testados frente aos isolados mono-resistentes, mais especificamente três resistentes à isoniazida e um à rifampicina, os compostos **4** e **5** apresentaram um $\text{CIM} \leq 10 \mu\text{g mL}^{-1}$ apenas para o isolado 98, resistente à RMP.

Quando os testes foram realizados frente a isolados multi-droga-resistentes, não se obteve nenhum resultado promissor.

Analisando esses resultados é possível inferir que o mecanismo de ação de ambos os compostos provavelmente é o mesmo da isoniazida, descrito no item **I.2.5.1**.

IV.2.1.4 Determinação da atividade extracelular dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) incorporados em microemulsão lipídica frente ao *M. tuberculosis H₃₇Rv ATCC 27194*

A Tabela 24 contempla os dados da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), incorporados na microemulsão lipídica.

Tabela 24 - Valores de CIM dos complexos **4** e **5** incorporados em microemulsão lipídica frente ao *M. tuberculosis H₃₇Rv ATCC 27194*

Composto	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
$[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4)	0,390
$[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5)	0,780
(4) incorporado	0,180
(5) incorporado	0,180
Microemulsão lipídica	Sem atividade

Fonte: Autora

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microemulsão lipídica sintetizada, quando submetida ao ensaio frente à micobactéria, não apresentou atividade, ou seja, não inibiu o crescimento do *M. tuberculosis*, cepa H₃₇Rv ATCC 27194.

Quando os compostos [Cu(NCS)₂(INH)₂]·5H₂O (**4**) e [Cu(NCO)₂(INH)₂]·4H₂O (**5**) foram incorporados, o valor de CIM obtido foi igual a 0,180 µg mL⁻¹, para ambos os compostos. Comparando os dados na tabela, observa-se que o composto **4** mostrou-se duas vezes mais potente quando incorporado na microemulsão. Já o complexo **5**, quatro vezes mais.

Esses dados permitem inferir que a microemulsão propiciou uma melhor permeabilidade dos compostos pela densa membrana da micobactéria, favorecendo assim um contato mais efetivo com os alvos. Desse modo, considera-se que a microemulsão esteja atuando como um carreador altamente eficaz para esses dois compostos.

Portanto, a composição da microemulsão elaborada nesse trabalho pode seguramente ser aplicada a outros compostos futuramente, no intento de se encontrar melhores atividades antimicobacterianas ou, até mesmo, na terapia da tuberculose.

IV.2.2 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* para *S. aureus* e *E. coli*

IV.2.2.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos compostos 1-11

Os valores de CIM e CBM dos ensaios dos compostos 1-11, frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*, estão apresentados na Tabela 25. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima (CIM) representam a menor concentração da droga capaz de impedir a multiplicação da bactéria. E os valores encontrados para a concentração bactericida mínima (CBM) representam a menor concentração do composto capaz de matar a bactéria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 25 - CIM e CBM dos compostos 1-11 frente a *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922, pela técnica de microdiluição em placa, em DMSO

Composto	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>			
	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CBM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
1	2000	3820	> 8000	> 15279	8000	15279	> 8000	15279
2	500	887	2000	3548	500	887	2000	3548
3	1000	2447	2000	4893	2000	4893	8000	19574
4	500	919	2000	3676	2000	3676	4000	7352
5	1000	2025	> 8000	16198	8000	16198	> 8000	16198
6	1000	2627	> 8000	21014	2000	5253	4000	10506
7	2000	4259	8000	17036	2000	4259	4000	8518
8	500	893	4000	7148	2000	3574	2000	3574
9	2000	5281	> 8000	21125	4000	10562	> 8000	21125
10	1000	2363	4000	9452	2000	4726	4000	9452
11	1000	1781	8000	14245	500	890	2000	3561
Ciprofloxacino	0,250	0,754	1	3	0,008	0,024	0,016	0,048

Fonte: Autora

Analisando a Tabela 25, pode-se observar que todos os compostos testados apresentaram atividade antibacteriana frente a *E. coli* e *S. aureus*.

Observa-se que somente dois compostos, $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (2) e $[\text{CuBr}_2(\text{PZA})_2]$ (7), dos onze testados, apresentaram a mesma concentração inibitória mínima, tanto para a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* quanto para a bactéria gram-negativa *Escherichia coli*. O composto mais ativo frente às duas bactérias foi o 2, com CIM igual a $887 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os demais, com exceção do composto $[\text{Cu}_2(\text{Hina})_2]$ (11), foram mais ativos frente à bactéria gram-positiva *S. Aureus* do que frente à *E. coli*.

De um modo geral, os valores de CIM obtidos para os compostos de cobre(II) não são muito satisfatórios, pois todos apresentaram valores maiores do que para o fármaco padrão ciprofloxacino.

Considerando a atividade dos compostos de cobre(II) para CBM, ou seja, para a morte das bactérias, os compostos foram ativos em concentrações muito elevadas tanto frente a *S. aureus* como para a *E. coli*. Tais concentrações foram muito maiores que aquelas apresentadas pelo composto padrão.

Visto que os valores de CIM desses compostos frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27194 foram bem inferiores aos valores das bactérias *S. aureus* e *E. coli*, isso nos mostra uma seletividade para esse tipo de micro-organismo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.2.2.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos 12-20

Na Tabela 26 estão apresentados os resultados de CIM dos compostos **12-20**, dos ligantes livres e dos precursores frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

Tabela 26 - CIM dos compostos **12-20**, ligantes L1-L9 e precursores de Cu(II) frente à *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922, pela técnica de microdiluição em placa, utilizando-se como solvente DMSO

Composto	MM (g/mol)	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
		CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
[CuCl ₂ (L1) ₂ ·2H ₂ O (12)	627,33	> 1000	1594	31,25	49,81
[CuCl ₂ (L2) ₂] (13)	647,39	15,62	24,12	31,25	48,27
[CuCl ₂ (L3) ₂ ·2H ₂ O (14)	963,96	7,81	8,10	7,81	8,10
L1	228,0	7,81	34,25	7,81	34,25
L2	256,0	7,81	30,50	7,81	30,50
L3	397,0	62,5	157,0	125	314,8
[CuCl ₂ (L4) ₂ ·H ₂ O (15)	637,36	62,5	98,06	31,25	49,03
[CuCl ₂ (L5) ₂ ·H ₂ O (16)	693,47	7,81	11,26	15,62	22,52
L4	242,0	7,81	32,27	7,81	32,27
L5	270,0	7,81	28,92	7,81	28,92
[CuCl ₂ L6] (17)	391,90	7,81	19,92	7,81	19,92
[CuCl ₂ L7]·4H ₂ O (18)	477,99	62,5	130,8	7,81	16,34
[Cu(SO ₄)L8]·4H ₂ O (19)	517,18	500	966,8	500	966,8
[CuCl ₂ L9] (20)	435,96	31,25	71,68	31,25	71,68
L6	257,5	7,81	30,33	7,81	30,33
L7	271,5	15,62	57,53	7,81	28,77
L8	285,5	7,81	27,35	7,81	27,35
L9	301,5	7,81	25,90	7,81	25,90
CuCl ₂ ·2H ₂ O	170,4	125	733,6	125	733,6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	251,7	125	496,6	125	496,6
Ampicilina	349,4	9,76	27,93	9,76	27,93

Fonte: Autora

Na Tabela 26, os valores de CIM para os ligantes L1, L2, L4, L5, L6, L8 e L9, expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$, apresentam valores idênticos. Entretanto, para melhor exprimir os resultados, tanto desses

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ligantes como dos compostos obtidos, é pertinente a análise dos resultados em termos de concentração em $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Em geral, os ligantes derivados da 1,2-etanodiamina e os seus respectivos compostos, foram os mais ativos frente à bactéria *S. aureus*. Particularmente os compostos **13** e **14** apresentaram valores de CIM mais baixos que os respectivos ligantes livres, bem como o precursor $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Assim, uma melhora significativa desses ligantes ocorreu após a complexação do cobre(II).

Em termos estruturais, verifica-se que o aumento da cadeia carbônica propiciou uma melhor atividade antibacteriana, frente à *S. aureus* e *E. coli*, para a série envolvendo os compostos **12**, **13** e **14** (vide item **IV.1.5.5**). Certamente esse fator possibilita uma maior permeabilidade nas membranas o que, conseqüentemente, gera ações mais eficazes.

Tratando-se dos compostos **15** e **16**, cuja composição apresenta os ligantes derivados da 1,3-propanodiamina, ambos exibiram melhor atividade antibacteriana que os seus respectivos ligantes livres, tanto para as bactérias gram-positivas e gram-negativas testadas. Levando em conta a toxicidade em termos de CIM, o composto **16** apresentou o melhor resultado.

Para o grupo de compostos contendo os ligantes derivados de aminoálcoois, o complexo **17** foi o único que apresentou um valor de CIM menor do que o seu respectivo ligante livre, bem como do precursor de Cu(II), frente às duas espécies de bactérias. Nota-se que o composto **17**, entre todos, foi o mais ativo para a espécie gram-positiva (*S. aureus*). Já para a bactéria gram-negativa (*E. coli*), o composto **18** apresentou o melhor resultado de CIM. Comparativamente, em termos de tamanho de cadeia, não é possível estabelecer uma explicação plausível para as atividades de cada composto.

Para a bactéria gram-positiva o composto mais ativo foi o que possui em sua estrutura um anel quelato de cinco membros e um grupo OH (**17**). Entretanto para a bactéria gram-negativa observa-se que o mais ativo é o que tem um anel de seis membros (**18**), ou seja, não há uma relação estrutura atividade para essa classe de compostos.

Certamente fatores eletrônicos presentes na composição dos orbitais moleculares dos compostos **17** e **18**, ou, até mesmo, alguma afinidade específica que recai sobre mecanismos bioquímicos envolvendo as bactérias e fatores ligados às suas membranas, podem ser a chave para os resultados obtidos.

Levando-se em conta a ampicilina – fármaco padrão empregado contra *E. coli* –, os compostos mais promissores são o **14** e **16**, que apresentaram valores de CIM respectivamente iguais a 8,10 e 22,52 $\mu\text{mol L}^{-1}$, sendo, portanto, 3,45 e 1,2 vezes mais potentes que a ampicilina (CIM= 27,93 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

V CONCLUSÕES

Foram preparados vinte complexos de cobre(II), quatorze dos quais inéditos: $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_4(\text{EMB})]$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), $[\text{CuI}_2(\text{PZA})_2]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{Hina})_2]$ (**9**), $[\text{CuCl}_2(\text{L1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**12**), $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**), $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**), $[\text{CuCl}_2(\text{L4})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**15**), $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**), $[\text{CuCl}_2\text{L6}]$ (**17**), $[\text{CuCl}_2\text{L7}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**18**), $[\text{Cu}(\text{SO}_4)\text{L8}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**19**) e $[\text{CuCl}_2\text{L9}]$ (**20**). A caracterização deles por análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica no UV/Vis, ressonância paramagnética eletrônica e análise térmica, permitiram suas proposições estruturais, assim como a elucidação da coordenação dos ligantes ao centro metálico.

Com relação às bactérias *S. aureus* e *E. coli*, o composto mais ativo foi o $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**), que contém o derivado da 1,2-etanodiamina na esfera de coordenação do Cu(II). Quanto ao *M. tuberculosis*, os compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**), $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**) foram os mais ativos.

Os compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), quando analisados frente aos isolados clínicos com perfil de sensibilidade/resistência do *M. tuberculosis*, não apresentaram resultados tão bons, e de uma maneira indireta pode-se inferir que o mecanismo de ação desses complexos é o mesmo da isoniazida.

Contudo, a atividade dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**) foi potencializada quando os mesmos foram incorporados em microemulsão lipídica. Portanto, esse sistema de transporte de droga foi extremamente eficiente como carreador dos compostos e abre uma perspectiva de se testar os demais complexos desse trabalho encapsulados, esperando-se obter resultados mais satisfatórios.

Além disso, ao se empregar os compostos **4** e **5** frente aos isolados clínicos, espera-se uma melhora significativa da ação antimicobacteriana, o que geraria amplas possibilidades de se avançar nos estudos para o uso desses dois complexos na terapia contra a tuberculose.

VI PERSPECTIVAS

- Melhor caracterizar os compostos contendo aminoálcoois, **17-20**, para inferir com maior precisão suas estruturas;
- Realizar experimentos de adsorção-dessorção de nitrogênio (técnica de ASAP) para os compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L2})_2]$ (**13**), $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**), para se avaliar a textura porosa;
- Determinar o CIM do ligante L5;
- Determinar o índice de citotoxicidade dos compostos $[\text{CuCl}_2(\text{L3})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**14**) e $[\text{CuCl}_2(\text{L5})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**16**);
- Determinar a atividade anti-*M. Tuberculosis* dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), incorporados em microemulsão lipídica, frente aos 14 isolados clínicos selecionados com perfil de sensibilidade/resistência;
- Determinar o índice de citotoxicidade dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), incorporados em microemulsão lipídica;
- Realizar estudos de liberação controlada dos compostos dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**4**) e $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**5**), incorporados em microemulsão lipídica.

REFERÊNCIAS

- 1 HATHAWAY, B. J. **Comprehensive coordination chemistry**: the synthesis, reaction, properties & applications of coordination compounds. Oxford: Pergamon Press, 1987. v. 5, 634 p.
- 2 WAPNIR, R. Copper absorption and bioavailability. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 67, n. 5, p. S1054-S1060, 1998.
- 3 LINDER, M. C. et al. Copper transport. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 67, n. 5, p. S965-S971, 1998.
- 4 SORENSON, J. Jr. Copper complexes offer a physiological approach to treatment of chronic diseases. **Prog. Med. Chem.**, v. 26, p. 437-568, 1989.
- 5 WEDER, J. E. et al. Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized. **Coord. Chem. Rev.**, v. 232, p. 95-126, 2002.
- 6 EMPRESA BRASILEIRA EM PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Calda bordalesa**: utilidades e preparo. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/242170>>. Acesso em: 29 ago. 2012.
- 7 KUMAR, R. S. et al. DNA binding and biological studies of some novel water-soluble polymer-copper(II)-phenanthroline complexes. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 43, n. 10, p. 2082-2091, 2008.
- 8 LOGINOVA, N. V. et al. Synthesis and biological evaluation of copper(II) complexes of sterically hindered o-aminophenol derivatives as antimicrobial agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 16, p. 5403-5407, 2006.
- 9 EFTHIMIADOU, E. K. et al. Neutral and cationic mononuclear copper(II) complexes with enrofloxacin: structure and biological activity. **J. Inorg. Biochem.**, v. 100, p. 1378-1388, 2006.
- 10 ANGELUSIU, M. V. et al. New Cu(II), Co(II), Ni(II) complexes with aryl-hydrazone based ligand: Synthesis, spectroscopic characterization and *in vitro* antibacterial evaluation. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, n. 5, p. 2055-2062, 2010.
- 11 SOUSA, I. et al. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) levofloxacin ternary complex. **J. Inorg. Biochem.**, v. 110, p. 64-71, 2012.
- 12 XU, D. F. et al. Synthesis, characterization, crystal structure, and biological activity of the copper complex. **Russ. J. Coord. Chem.**, v. 36, n. 6, p. 458-462, 2010.
- 13 PATEL, M. N.; JOSHI, H. H.; PATEL, R. C. Copper(II) complexes with norfloxacin and neutral terpyridines: cytotoxic, antibacterial, superoxide dismutase and DNA-interaction approach. **Polyhedron**, v. 40, p. 159-167, 2012.
- 14 REDDY, P. M. et al. Synthesis, spectral and antibacterial studies of copper(II) tetraaza macrocyclic complexes. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 13, p. 4982-4992, 2012.
- 15 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control 2011**. Geneva, 2011. 258 p.

REFERÊNCIAS

- 16 GOMEZ, J. E.; MCKINNEY, J. D. M. Tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance. **Tuberculosis**, v. 84, n. 1, p. 29-44, 2004.
- 17 MICROBIOLOGY SPRING 2010. **Mycobacteria**: what is the *mycobacterium tuberculosis* complex?. Disponível em: <<http://microbiologyspring2010.wikispaces.com/Mycobacteria>>. Acesso em: 24 ago. 2012.
- 18 GOLDEN, M. P.; VIKRAN, H. R. Extrapulmonary tuberculosis: an overview. **Am. Fam. Physician.**, v. 72, n. 9, p. 1761-1768, 2005.
- 19 DALCOLMO, M. P.; ANDRADE, M. K. N.; PICON, P. D. Multiresistant tuberculosis in Brazil: history and control. **Rev. Saúde Pública**, v. 41, p. 35-36, 2007. Supl. 1.
- 20 MA, Z. et al. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. **Lancet**, v. 375, n. 9731, p. 2100-2109, 2010.
- 21 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): global report on surveillance and response 2010**. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241_599191_eng.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2012.
- 22 MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes**. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_versao_28_de_agosto_v_5_pdf>. Acesso em 10 ago. 2012.
- 23 METCALFE, N. F. Sir Geoffrey Marshall (1887-1982): respiratory physician, catalyst for anaesthesia development, doctor to both prime minister and king, and world war I barge commander. **J. Med. Biogr.**, v. 19, n. 1, p. 10-14, 2011.
- 24 BROACCO INDUSTRIA CHIMICA SOCIETA PER AZIONI (United States). E. Felder; H. Suter. **Schiff base of 4-amino-3-isoxazolidone and terephthalaldehyde**. US 3117122, 14 Jan. 1962, 7 Jan. 1964.
- 25 DAIICHI PHARMACEUTICAL CO. (Tokyo). I. Hayakawa; S. Atarashi; S. Yokohama; M. Imamura; K. Sakano; N. Higashihashi; M. Ohshima. **Optically active pyridobenzoxazine derivatives** EP 0206283, 30 Dec. 1986, 19 Jan. 1994.
- 26 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. **Manual de bacteriologia da tuberculose**. 3. ed. Rio de Janeiro, 2005. 242 p.
- 27 BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília, 2008. 436 p.
- 28 LEMOS, R. N.; SILVA, R. M.; ROSA, L. Perfil de resistência primária do *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes com e sem HIV/AIDS, internados em um hospital de referência. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 33, n. 2, p. 48-51, 2004.
- 29 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. **Tuberculose multirresistente. Guia de vigilância epidemiológica**. Rio de Janeiro, 2007. 94 p.

REFERÊNCIAS

-
- 30 VIEIRA, R. C. A. et al. Epidemiological profile of multidrug-resistant tuberculosis cases in Espírito Santo. **Rev. Bras. de Epidemiol.**, v. 10, n. 1, p. 56-65, 2007.
- 31 BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa nacional de controle da tuberculose (PNCT):** tuberculose no Brasil e no mundo. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31109>. Acesso em: 10 ago. 2012.
- 32 BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa nacional de controle da tuberculose (PNCT):** dia mundial da tuberculose. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31110>. Acesso em: 10 ago. 2012.
- 33 ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS. **Grupo de estudos sobre doenças negligenciadas no Brasil:** descrição. Disponível em: <http://www.abc.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=92>. Acesso em: 26 ago. 2012.
- 34 ENVOLVERDE. **Doenças:** tuberculose, doença dos pobres. Disponível em: <<http://envolverde.com.br/saude/doencas-saude/tuberculose-doenca-dos-pobres-2/>>. Acesso em: 26 ago. 2012.
- 35 BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11th ed. New York: McGraw-Hill, 2006. 1821 p.
- 36 WINDER, F. G.; COLLINS, P. B. Inhibition by isoniazid of synthesis of mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. **J. Gen. Microbiol.**, v. 63, p. 41-48, 1970.
- 37 WINDER, F. G.; COLLINS, P. B.; ROONEY, S. A. Effects of isoniazid on mycolic acid synthesis in *Mycobacterium tuberculosis* and on its cell envelope. **Biochem. J.**, v. 117, n. 2, p. 27, 1970.
- 38 TAKAYAMA, K.; WANG, L.; DAVID, H. L. Effects of isoniazid on the *in vivo* mycolic acid synthesis, cell growth, and viability of *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 2, n. 1, p. 29-35, 1972.
- 39 MIDDLEBROOK, G. Sterilization of tubercle bacilli by isonicotinic acid hydrazide and the incidence of variants resistant to the drug *in vitro*. **Am. Rev. Tuberc.**, v. 65, n. 6, p. 765-767, 1952.
- 40 BLANCHARD, J. S. Molecular mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 65, p. 215-239, 1996.
- 41 SLAYDEN, R. A.; BARRY, C. E. The genetics and biochemistry of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Microbes Infect.**, v. 2, n. 6, p. 659-669, 2000.
- 42 ROZWARSKI, D. A. et al. Modification of the NADH of the isoniazid target (InhA) from *Mycobacterium tuberculosis*. **Science**, v. 279, p. 98-102, 1998.
- 43 ANDRADE, C. H. et al. Abordagem racional no planejamento de novos tuberculostáticos: inibidores da InhA, enoil-ACP redutase do *M. tuberculosis*. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 44, n. 2, p. 167-179, 2008.

REFERÊNCIAS

- 44 YENDAPALLY, R.; LEE, R. E. Design, synthesis, and evaluation of novel ethambutol analogues. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 181, n. 5, p. 107-1611, 2008.
- 45 ZHANG, Y.; MITCHINSON, D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 7, n. 1, p. 6-21, 2003.
- 46 SOLOTOROVSKY, M. et al. Pyrazinoic acid amide; an agent active against experimental murine tuberculosis. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 79, n. 4, p. 563-565, 1952.
- 47 KONNO, K.; FELDMANN, F. M.; McDERMONTT, W. Pyrazinamide susceptibility and amidase activity of tubercle bacilli. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 95, n. 3, p. 461-469, 1967.
- 48 KONNO, K.; NAGAYAMA, H.; OKA, S. Nicotinamidase in mycobacteria: a method for distinguishing bovine type tubercle bacilli from other mycobacteria. **Nature**, v. 128, p. 1743-1744, 1959. Suppl. 22.
- 49 SHEEN, P. et al. Effect of pyrazinamidase activity on pyrazinamide resistance in mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 89, n. 2, p. 109-113, 2009.
- 50 SOMOSKOVI, A.; PARSONS, L. M.; SALFINGER, M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. **Respir. Res.**, v. 2, n. 3, p. 164-168, 2001.
- 51 RASTOGI, N.; SENG GOH, K.; DAVID, H. L. Enhancement of drug susceptibility of *Mycobacterium avium* by inhibitors of cell envelope synthesis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 34, n. 5, p. 759-764, 1990.
- 52 BELANGER, A. E. et al. The *embAB* genes of *Mycobacterium avium* encode an arabinosyl transferase involved in cell wall arabin biosynthesis that is the target for the antimicrobial drug ethambutol. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 93, n. 21, p. 11919-11924, 1996.
- 53 ALCAIDE, F.; PFYFFER, G. E.; TELENTI, A. The role of *embB* in natural and acquired resistance to ethambutol in mycobacteria. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 41, n. 10, p. 2270-2273, 1997.
- 54 RAMASWAMY, S. V. et al. Molecular genetic analysis of nucleotide polymorphisms associated with ethambutol resistance in human isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 44, n. 2, p. 326-336, 2000.
- 55 ZHANG, N. et al. The Emb proteins of mycobacteria direct arabinosylation of lipoarabinomannan and arabinogalactan via N-terminal recognition region and C-terminal synthetic region. **Mol. Microbiol.**, v. 50, n. 1, p. 69-76, 2003.
- 56 TAKAIAMA, K.; KILBURN, J. O. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in *Mycobacterium smegmatis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 33, n. 9, p. 1493-1499, 1989.
- 57 DENG, L. et al. Recognition of multiple effects of ethambutol on metabolism of mycobacterial cell envelope. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 39, n. 3, p. 694-701, 1995.
- 58 MIKUSOVÁ, K. et al. Biogenesis of the mycobacterial cell wall and the site of action of ethambutol. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 39, n. 12, p. 2484-2489, 1995.

REFERÊNCIAS

- 59 KHOO, K. H. et al. Truncated structural variants of lipoarabinomannan in ethambutol drug-resistant strains of *Mycobacterium smegmatis*. Inhibition of arabinan biosynthesis by ethambutol. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 45, p. 28682-28690, 1996.
- 60 LEE, R. E. et al. Synthesis of the mycobacterial arabinose donor β -D-arabinofuranosyl-1-monophosphoryldecaprenol, development of a basic arabinosyl-transferase assay, and identification of ethambutol as an arabinosyl transferase inhibitor. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 117, n. 48, p. 11829-11832, 1995.
- 61 TELENTI, A. et al. The *emb* operon, a gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* involved in resistance to ethambutol. **Nat. Med.**, v. 3, n. 5, p. 567-570, 1997.
- 62 RAMASWAMY, S.; MUSSER, J. M. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. **Tuber. Lung. Dis.**, v. 79, n. 1, p. 3-29, 1998.
- 63 ZHANG, Y. The magic bullets and tuberculosis drug targets. **Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, p. 529-564, 2005.
- 64 SANDER, P.; BÖTTGER, E. C. Mycobacteria: genetics of resistance and implications for treatment. **Chemotherapy**, v. 45, n. 2, p. 95-108, 1999.
- 65 ZHANG, Y.; TELENTI, A. Genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In: HARFUL, G. F.; JACOBS, W. R. Jr. (Ed.). **Molecular genetics of mycobacteria**. Washington: ASM Press, 2000. Cap. 15, p. 235-256.
- 66 GINSBURG, A. S.; GROSSET, J. H.; BISHAI, W. R. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. **Lancet Infect Dis.**, v. 3, n. 7, p. 432-442, 2003.
- 67 DI PERRI, G.; BONORA, S. Which agents should we use for the treatment of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 54, n. 3, p. 593-602, 2004.
- 68 MA, Z. K. et al. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. **Lancet**, v. 375, n. 9731, p. 2100-2109, 2010.
- 69 LALLOO, U. G.; AMBARAM, A. New antituberculous drugs in development. **Current HIV/AIDS Reports**, v. 7, n. 3, p. 143-151, 2010.
- 70 LIENHARDT, C.; VERNON, A.; RAVIGLIONE, M. C. New drugs and new regimens for the treatment of tuberculosis: review of the drug development pipeline and implications for national programmes. **Curr. Opin. Pulm. Med.**, v. 16, n. 3, p. 186-193, 2010.
- 71 KOUL, A. et al. The challenge of new drug discovery for tuberculosis. **Nature**, v. 469, n. 7331, p. 483-490, 2011.
- 72 LENVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 663 p.
- 73 KATIYAR, D. et al. Synthesis and antimycobacterial activities of glycosylated amino alcohols and amines. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 40, n. 4, p. 351-360, 2005.

REFERÊNCIAS

- 74 PAVAN, F. R. et al. Ruthenium(II) phosphine/picolinate complexes as antimycobacterial agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, n. 2, p. 598-601, 2010.
- 75 CAVICCHIOLI, M. et al. Pt (II) and Ag (I) complexes with acesulfame: crystal structure and a study of their antitumoral, antimicrobial and antiviral activities. **J. Inorg. Biochem.**, v. 104, n. 5, p. 533-540, 2010.
- 76 MAIA, P. I. S. et al. Palladium(II) complexes with thiosemicarbazones. Syntheses, characterization, cytotoxicity against breast cancer cells and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 7, p. 1177-1186, 2010.
- 77 BOTTARI, B. et al. Isoniazid-related copper (II) and nickel (II) complexes with antimycobacterial *in vitro* activity. Part 9. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 10, n. 7, p. 657-660, 2000.
- 78 MACCARI, R. et al. *In vitro* advanced antimycobacterial screening of cobalt(II) and copper(II) complexes of fluorinated isonicotinoylhydrazones. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 14, n. 23, p. 5731-5733, 2004.
- 79 JOSEPH, J.; NAGASHRI, K.; JANAKI, G. B. Novel metal based anti-tuberculosis agent: synthesis, characterization, catalytic and pharmacological activities of copper complexes. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 49, p. 151-163, 2012.
- 80 MORO, A. C. et al. Binuclear cyclopalladated compounds with antitubercular activity: synthesis and characterization of $[\{Pd(C^2,N-dmba)(X)_2(\mu-bpp)\}]$ (X = Cl, Br, NCO, N₃; bpp = 1,3-bis(4-pyridyl)propane). **J. Coord. Chem.**, v. 65, n. 8, p. 1434-1442, 2012.
- 81 SOUZA, R. A. de et al. Antimycobacterial and antitumor activities of palladium(II) complexes containing isonicotinamide (isn): X-ray structure of *trans*-[Pd(N₃)₂(isn)₂]. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, n. 11, p. 4863-4868, 2010.
- 82 FERREIRA, J. G. et al. Structure and antimycobacterial activity of the novel organometallic [Pd(C-bzan)(SCN)(dppp)] compound. **Inorg. Chem. Commun.**, v. 23, p. 63-66, 2012.
- 83 CUIN, A. et al. 6-Mercaptopurine complexes with silver and gold ions: anti-tuberculosis and anti-cancer. **Biomed. Pharmacother.**, v. 65, n. 5, p. 334-338, 2011.
- 84 TARALLO, M. B. et al. Design of novel iron compounds as potential therapeutic agents against tuberculosis. **J. Inorg. Biochem.**, v. 104, n. 11, p. 1164-1170, 2010.
- 85 SILVA, P. B. et al. Synthesis of Cu(II) and Cd(II) pyrazolyl complexes and their characterization as antitubercular agents. Aceito no **J. Coord. Chem.**
- 86 OLIVEIRA, J. S. et al. Slow-onset inhibition of 2-trans-enoyl-ACP (CoA) reductase from *Mycobacterium tuberculosis* by an inorganic complex. **Curr. Pharm. Des.**, v. 12, n. 19, p. 2409-2424, 2006.

REFERÊNCIAS

- 87 BERNHARDT, P. V. et al. Tuning the antiproliferative activity of biologically active iron chelators: characterization of the coordination chemistry and biological efficacy of 2-acetylpyridine and 2-benzoylpyridine hydrazone ligands. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 13, n. 1, p. 107-119, 2008.
- 88 ZHANG, L. Y. et al. Cisplatin inhibits protein splicing, suggesting inteins as therapeutic targets in mycobacteria. **J. Biol. Chem.**, v. 286, n. 2, p. 1277-1282, 2011.
- 89 BASSO, L. A. et al. An inorganic complex that inhibits *Mycobacterium tuberculosis* enoyl reductase as a prototype of a new class of chemotherapeutic agents to treat tuberculosis. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 7, p. 1384-1389, 2010.
- 90 DHARMARAJ, N.; VISWANATHAMURTHI, P.; NATARAJAN, K. Ruthenium(II) complexes containing bidentate schiff bases and their antifungal activity. **Transition Met. Chem.**, v. 26, n. 1/2, p. 105-109, 2001.
- 91 TWEEDY, B. G.; TURNER, N. Effect of dacthal on soil microorganisms. **Phytopathology**, v. 55, n. 10, p. 1080-1098, 1965.
- 92 NOMIYA, K. et al. Syntheses, crystal structures and antimicrobial activities of monomeric 8-coordinate, and dimeric and monomeric 7-coordinate bismuth(III) complexes with tridentate and pentadentate thiosemicarbazones and pentadentate semicarbazone ligands. **J. Inorg. Biochem.**, v. 98, n. 4, p. 601-615, 2004.
- 93 KUMAR, N. et al. Nanotechnology: a focus on treatment of tuberculosis. **Int. J. Drug Deliv.**, v. 3, n. 1, p. 25-42, 2011.
- 94 FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. Impact of nanotechnology on drug delivery. **ACS Nano.**, v. 3, n. 1, p. 16-20, 2009.
- 95 PARK, K. Nanotechnology: what it can do for drug delivery? **J. Control. Rel.**, v. 120, p. 1-3, 2007.
- 96 STORPIRTIS, S. et al. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 349 p.
- 97 D'CRUZ, J. O.; UCKUN, M. F. Gel-microemulsions as vaginal spermicidal and intravaginal drug delivery vehicles. **Contraception**, v. 64, n. 2, p. 113-123, 2001.
- 98 ACTIS, G. C.; VOPES, R.; RIZZETO, M. Oral microemulsion cyclosporin to reduce steroids rapidly in chronic active ulcerative colitis. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 11, n. 8, p. 905-908, 1999.
- 99 HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. **Nature**, v. 152, p. 102-103, 1943.
- 100 ATTWOOD, D. Microemulsions. In: KREUTER, J. (Ed.). **Colloidal drug delivery system**. New York: Marcel Dekker, 1994. v. 66, cap. 2, p. 31-65.
- 101 MARANHÃO, R. C.; TERYAC, A. M.; REDGRAVE, T. G. Effects of cholesterol content on metabolism of protein-free emulsions models of lipoprotein. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 875, n. 2, p. 247-255, 1986.

- 102 MARANHÃO, R. C. et al. Increased plasma removal of microemulsions resembling the lipid phase of low-density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leukemia: a possible new strategy for treatment of the disease. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, n. 10, p. 1033-1037, 1992.
- 103 RAMAN, I. A.; SUHAIMI, H.; TIDY, G. J. T. Liquid crystals and microemulsions formed by mixtures of a non-ionic surfactant with palm oil and its derivatives. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 106, p. 109-127, 2003.
- 104 LAWRENCE, M. J. Microemulsions as drug delivery vehicles. **Curr. Op. Coll. Int. Sci.**, v. 1, n. 6, p. 826-832, 1996.
- 105 CONSTANTINIDES, P. P. et al. Formulation and intestinal absorption enhancement evaluation of water in oil microemulsions incorporating medium-chain glycerides. **Pharm. Res.**, v. 11, n. 10, p. 1385-1390, 1994.
- 106 OLIVEIRA, A. G. **Efeitos cinéticos e mecanismos de micelas e microemulsões nas reações de decomposição de a-aminofenil penicilinas e cefalosporinas**. 1997. 160 f. Tese (Livro Docência em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
- 107 KEGEL, W. K.; OVERBEEK, J. T. G.; LEKKERKERKER, H. N. W. Thermodynamics of microemulsions I. In: KUMAR, P.; MITTAL, L. K. (Ed.). **Handbook of microemulsion science and technology**. New York: Marcel Dekker, 1999. cap. 1, p. 1-13.
- 108 LUNDBERG, B. B.; MORTIMER, B. C.; REDGRAVE, T. G. Submicron lipid emulsions containing amphipathic polyethylene glycol for use as drug-carriers with prolonged circulation time. **Int. J. Pharm.**, v. 134, p. 119-127, 1996.
- 109 OLIVEIRA, A. G. et al. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 1, p. 131-138, 2004.
- 110 GARTI, N.; ASERIN, A. Pharmaceutical emulsions, double emulsion and microemulsion. In: BENITA, S. (Ed.). **Microencapsulation methods and industrial applications**. New York: Marcel Dekker, 1996. v. 73, cap. 15, p. 412-519.
- 111 SARCIAUX, J. M.; ACAR, L.; SADO, P. A. Using microemulsion formulations for delivery of therapeutic peptides. **Int. J. Pharm.**, v. 120, p. 127-136, 1995.
- 112 GASCO, M. R.; PATARINO, F.; LATTANZI, F. Long-acting delivery systems for peptides: reduced plasma testosterone levels in male rats after a single injection. **Int. J. Pharm.**, v. 62, p. 119-123, 1990.
- 113 WARGAFTIG, T. N. **Desenvolvimento de microemulsões lipídicas estabilizadas com fosfatidilcolina de soja para veiculação de vacina de DNA contra tuberculose**. 2000. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
- 114 ITOH, K. et al. Improvement of physicochemical properties of N-4472. Part II: characterization of N-4472 microemulsion and the enhanced oral absorption. **Int. J. Pharm.**, v. 246, p. 75-83, 2002.

-
- 115 BOSMAN, A. W.; JANSSEN, H. M.; MEIJER, E. W. About dendrimers: structure, physical properties, and applications. **Chem. Rev.**, v. 99, n. 7, p. 1665-1688, 1999.
- 116 KUMAR, P. V. et al. Intracellular macrophage uptake of rifampicin loaded mannosylated dendrimers. **J. Drug. Target.**, v. 14, n. 8, p. 546-556, 2006.
- 117 GREGORIADIS, G. et al. Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. **Lancet.**, v. 303, n. 7870, p. 1313-1316, 1974.
- 118 KLEMENS, S. P. et al. Liposome-encapsulated-gentamicin therapy of *Mycobacterium avium* complex infection in beige mice. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 34, n. 6, p. 967-970, 1990.
- 119 LEITZKE, S. et al. Rationale for and efficacy of prolonged-interval treatment using liposome-encapsulated amikacin in experimental *Mycobacterium avium* infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 42, n. 2, p. 459-461, 1998.
- 120 OH, Y. K.; NIX, D. E.; STRAUBINGER, R. M. Formulation and efficacy of liposome encapsulated antibiotics for therapy of intracellular *Mycobacterium avium* infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 39, n. 9, p. 2104-2111, 1995.
- 121 DÜZGÜNES, H. et al. Treatment of intracellular *Mycobacterium avium* complex infection by free and liposome encapsulated sparfloxacin. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 40, n. 11, p. 2618-2621, 1996.
- 122 DEOL, P.; KHULLER, G. K. Lung specific liposomes: stability, biodistribution and toxicity of liposomal antitubercular drugs in mice. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1334, p. 161-172, 1997.
- 123 KATAOKA, K.; HARADA, A.; NAGASAKI, Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 47, n. 1, p. 113-131, 2001.
- 124 CHIAPPETA, D. A.; SOSNIK, A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymer micelles as drug delivery agents: improved hydrosolubility, stability and bioavailability of drugs. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 66, n. 3, p. 303-317, 2007.
- 125 SILVA, M. et al. Potential tuberculostatic agents: micelle-forming copolymer poly(ethylene glycol)-poly-(aspartic acid) prodrug with isoniazid. **Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.**, v. 334, n. 6, p. 189-193, 2001.
- 126 CONSTANTINIDES, P. P.; CHAUBAL, M. V.; SHORR, R. Advances in lipid nanodispersions for parenteral drug delivery and targeting. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 60, n. 6, p. 757-767, 2008.
- 127 AHMED, M. et al. Potential of nanoemulsions for intravenous delivery of rifampicin. **Pharmazie**, v. 63, n. 11, p. 806-811, 2008.
- 128 CASSETTARI, V. C.; STRABELLI, T.; MEDEIROS, E. A. S. *Staphylococcus aureus* bacteremia: what is the impact of oxacillin resistance on mortality? **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 9, n. 1, p. 70-76, 2005.
- 129 TRABULSI, L. R.; ALTHERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 760 p.

REFERÊNCIAS

- 130 SCIENCE PHOTO LIBRARY. *Staphylococcus aureus*. Disponível em: <<http://www.sciencephoto.com/media/12903/view>>. Acesso em: 27 ago. 2012.
- 131 CARVALHO, C. et al. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. **J. Pediatr.**, v. 81, n. 1, p. 29-33, 2005.
- 132 SOUSA, C. P. *Escherichia coli* as a specialized bacterial pathogen. **Rev. Biol. Cienc. Terr.**, v. 6, n. 2, p. 341-352, 2006.
- 133 SCIENCE PHOTO LIBRARY. *Escherichia coli*. Disponível em: <<http://www.sciencephoto.com/media/412422/view>>. Acesso em: 29 ago. 2012.
- 134 COSTA, C. F. da et al. Preparation and antileishmanial activity of lipophilic N-alkyl diamines. **Biomed. Pharmacotherapy**, v. 63, n. 1, p. 40-42, 2009.
- 135 GIORDANI, R. B. et al. Anti-Trichomonas vaginalis activity of synthetic lipophilic diamine and amino alcohol derivatives. **Biomed. Pharmacotherapy**, v. 63, n. 8, p. 613-617, 2009.
- 136 REIS, E. F. C. et al. Synthesis and immunosuppressive activity of lipophilic amino alcohols and diamines. **Chem. Biol. Drug. Des.**, v. 72, n. 6, p. 596-598, 2008.
- 137 GUPTA, V. K.; PRASAD, R.; KUMAR, A. Preparation of PVC based membrane potentiometric sensor for copper. **Talanta**, v. 60, n. 1, p. 149-160, 2003.
- 138 JIANG, Z.; WANG, H.; LOCKE, D. C. Determination of ethambutol by ion-pair reversed phase liquid chromatography with UV detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 456, n. 2, p. 189-192, 2002.
- 139 FARIA, F. A. et al. Optimization of an electrolyte system for analysis of ethambutol in pharmaceutical formulations by capillary zone electrophoresis using complexation with copper (II). **J. Chromatogr. A**, v. 1202, n. 2, p. 224-228, 2008.
- 140 SILVA, P. B. **Investigação da atividade biológica de complexos de cobre(II) contendo ligantes nitrogenados**. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.
- 141 AFANAS´EVA, G. V. et al. Complexation and ligand exchange in aqueous of Cu(II) and Ni(II) with hydrazides of some aromatic acids. **Russ. J. Gen. Chem.**, v. 76, n. 3, p. 346-355, 2006.
- 142 ALLAN, J. R. et al. Structural and electrical studies of some first row complexes of pyrazinamide. **J. Coord. Chem.**, v. 17, n. 3, p. 255-266, 1988.
- 143 JURCA, T.; MARIAN, E. Scanning electronic microscopy study of new pyrazinamide compounds with metallic ions. **Farmacia**, v. 57, n. 2, p. 247-253, 2009.
- 144 ATAÇ, A.; BARDAK, F. Synthesis and vibrational spectroscopic study of some metal(II) halide and tetracyanonickelate complexes of isonicotinic acid. **Turk. J. Chem.**, v. 30, n. 5, p. 609-618, 2006.

REFERÊNCIAS

- 145 OLIVERIA, C. N.; IONASHIRO, M.; GRANER, C. A. F. Titulação complexométrica e zinco, cobre e cobalto. **Eclet. Quim.**, v. 10, p. 7-10, 1985.
- 146 COLLINS, L. A.; FRANZBLAU, S. G. Microplate alamar blue assay versus BATEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacteriu tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 41, n. 5, p. 1004-1009, 1997.
- 147 AHMED, S. A.; GOGAL, R. M.; WALSH, J. E. A new rapid simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. **J. Immunol. Methods**, v. 170, n. 2, p. 211-214, 1994.
- 148 ORME, I. et al. Search for new drugs for treatment of tuberculosis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 45, n. 7, p. 1943-1946, 2001.
- 149 PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; LEITE, C. Q. F. An approach to the search for new drugs against tuberculosis. In: CARDONAR, P. J. (Ed.). **Understanding tuberculosis – new approaches to fighting against drug resistance**. Rijeka: Intech, 2012. Cap. 5, p. 147-156.
- 150 LUNA-HERRERA, J. et al. Use of receiver operating characteristic curves to assess the performance of a microdilution assay for determination of drug susceptibility of clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2003.
- 151 PALOMINO, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacteriu tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.
- 152 ZWEIG, M. H.; CAMPBELL, G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots - a fundamental evaluation tool in clinical medicine. **Clin. Chem.**, v. 39, n. 4, p. 561-577, 1993.
- 153 CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M07-A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically**; approved standard. 8th ed. Wayne, 2009.
- 154 NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 496 p.
- 155 NORBURY, A. H. Coordination chemistry of cyanate, thiocyanate and selenocyanate ions. **Adv. Inorg. Chem.**, v. 17, p. 231-386, 1975.
- 156 BAILEY, R. A. et al. Infrared spectra of complexes of the thiocyanate and related ions. **Coord. Chem. Rev.**, v. 6, p. 407-445, 1971.
- 157 SERNA, Z. E. et al. Investigation of the CuII/NCS-/dpk reactions system in CH₃OH [dpk = Di(2-pyridyl)ketone: isolation, structural analysis and magnetic properties of a dimer and a 1D polymer with the same empirical formula [Cu(NCS)₂(dpk.CH₃OH)]. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 2001, n. 3, p. 865-872, 2001.
- 158 LACROIX, C. et al. Determination of plasma ethambutol with liquid chromatography and ultraviolet spectrophotometry. **J. Chromatogr.**, v. 415, p. 85-94, 1987.

REFERÊNCIAS

- 159 LEVER, A. B. P. **Inorganic electronic spectroscopy**. 2nd ed. New York: Elsevier, 1986. 420 p.
- 160 DOCKUM, B. W.; REIFF, W. M. Thiocyanate-bridged transition-metal polymers. 1. Structure and low-temperature magnetic behavior of (bipyridyl)iron(II) thiocyanate: $\text{Fe}(2,2'-(\text{bpy})(\text{NCS})_2$. **Inorg. Chem.**, v. 21, p. 391-398, 1982.
- 161 FARIA, A. F. et al. Ethambutol analysis by copper complexation in pharmaceutical formulations: spectrophotometry and crystal structure. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 5, p. 867-874, 2011.
- 162 SINGH, M. et al. Crystallization of copper(II) sulfate based minerals and MOF from solution. **J. Chem. Sci.**, v. 122, n. 5, p. 757-769, 2010.
- 163 YADAV, H. D. S.; SENGUPTA, S. K.; TRIPATHI, S. C. Oxozirconium(IV) complexes of terephthalic acid dihydrazide and their reactions with β -diketones. **Synth. React. Inorg., Met.-Orga. Chem.**, v. 17, p. 115-127, 1987.
- 164 DONIA, A. M.; EL-RAYES, M. Thermochromism of the cobalt(II)-isoniazid complex in the solid state. **Thermochim. Acta**, v. 147, p. 65-70, 1989.
- 165 AKYUZ, S. The FT-IR spectra of pyrazinamide complexes of transition metal(II) tetracyanonickelate. **J. Mol. Struct.**, v. 651-653, p. 541-545, 2003.
- 166 LUCCA NETO, V. A. et al. Síntese e emprego do $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{PPh}_3)]$ em processos catalíticos envolvendo a preparação de derivados da uréia e de alcóxicarbonil complexos. **Eclet. Quim.**, v. 31, n. 3, p. 75-81, 2006.
- 167 INTERNATIONAL CENTER FOR DIFFRACTION DATA. **Powder diffraction file**: release. Newton Square, 1994. PDF n. 28041-0254.
- 168 GREGG, S. J.; SING, K. S. W. **Adsorption, surface area and porosity**. 2nd ed. London: Academic, 1982. 313 p.
- 169 LANGMUIR, I. Chemical reactions at very low pressures. II. The chemical clean-up of nitrogen in a tungsten lamp. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 35, n. 8 p. 931-945, 1913.
- 170 LANGMUIR, I. Chemical reactions at low pressures. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 37, n. 5, p. 1139-1167, 1915.
- 171 LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 40, n. 9, p. 1361-1403, 1918.
- 172 BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 60, n. 2, p. 309-319, 1938.
- 173 ZHAO, X. et al. Hysteretic adsorption and desorption of hydrogen by nanoporous metal-organic frameworks. **Science**, v. 306, p. 1012-1015, 2004.
- 174 TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Quim. Nova**, v. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.

- 175 REEDIJK, J. et al. Pyrazoles and imidazoles as ligands. Part IX. Some adducts formed between Cu(II) salts and substituted pyrazoles. **Recueil**, v. 111, p. 234-251, 1971.
- 176 SIGEL, H. **Metal ions in biological systems**. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 12, p. 1-30.
- 177 PILBROW, J. R. **Transition ion electron paramagnetic resonance**. New York: Oxford, 1990. 717 p.
- 178 VAN OOIJEN, J. A. C.; VAN DER PUT, P. J.; REEDIJK, J. Compressed tetragonal geometry in Cu (II) doped dichlorobis(pyrazole)cadmium. **Chem. Phys. Lett.**, v. 51, n. 2, p. 380-382, 1977.
- 179 CHANDRA, S.; GUPTA, L. K. EPR and electronic spectral studies on Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes with a new tetradentate [N₄] macrocyclic ligand and their biological activity. **Spectrochim. Acta, Part A**, v. 60, p. 1563-1571, 2004.
- 180 AKYUZ, S. et al. An infrared and raman spectroscopic study of some metal pyridine tetracyanonickelate complexes **J. Mol. Struct.**, v. 17, p. 105-125, 1973.
- 181 AKYUZ, T.; AKYUZ, S.; DAVIES, J. E. D. Vibrational spectroscopic studies of three dimensional host lattices formed by pyrazine bridges between tetracyanonickelate layers. **J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.**, v. 9, p. 349-354, 1990.
- 182 EKICI, N.; ZANTARCI, Z.; AKYUZ, S. An infrared and raman spectroscopic study of pyrazinecadmium (II) tetracyanometalate (II) Benzene (1/1) clathrates: Cd(C₄H₄N₂)Cd(CN)₄C₆H₆ and Cd(C₄H₄N₂)Hg(CN)₄C₆H₆. **J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.**, v. 10, p. 9-18, 1991.
- 183 AKYUZ, S. An infrared spectroscopic study of dianiline-metal(II) tetracyanometalate complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 68, p. 41-49, 1980.
- 184 AKALIN, E.; AKYUZ, S. Force field and IR intensity calculations of aniline and transition metal(II) aniline complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 482/483, p. 175-181, 1999.
- 185 AKALIN, E.; AKYUZ, S. Experimental and theoretical study of the vibrational spectra of paraphenylenediamine transition metal(II) complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 563/564, p. 579-586, 2001.
- 186 AKYUZ, S. The FT-IR spectra of pyrazinamide complexes of transition metal(II) tetracyanonickelate. **J. Mol. Struct.**, v. 651/653, p. 541-545, 2003.
- 187 SHRIVER, D. F. et al. **Química inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 848 p.
- 188 SIMON, V.; JURCA, T.; SIMON, S. Transition metal effect on the structure of pyrazinamide complexes. **Int. J. Mod. Phys. B**, v. 18, n. 1, p. 63-70, 2004.
- 189 CHANDRA, S.; GUPTA, L. K.; SHARMA, S. Synthesis and spectral studies of transition metal complexes with 5,7,12,14-tetrametil-1,4,8,11-tetraazacyclotetradeca-4,7,11,14-tetraene, a fourteen membered tetradentate macrocyclic ligand. **Synth. React. Inorg., Met.-Orga. Chem.**, v. 31, n. 7, p. 1205-1215, 2001.

REFERÊNCIAS

- 190 BARDAK, F.; ATAC, A.; KURT, M. Infrared and raman study of some isonicotinic acid metal(II) halide and tetracyanonickelate complexes. **Spectrochim. Acta. Part. A: Mol. Biomol. Spectrosc.**, v. 71, p. 1896-1900, 2009.
- 191 RYBAK-AKIMOVA, E. V. et al. Synthesis, characterization, redox properties, and representative X-ray structures of four- and five-coordinative copper(II) complexes with polydentate aminopyridine ligands. **Inorg. Chim. Acta**, v. 324, p. 1-15, 2001.
- 192 LEGENDRE, A. O. et al. 3D hydrogen-bonded network built from copper(II) complexes of 1,3-propanediamine. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n. 8, p. 1683-1688, 2006.
- 193 RIZKOV, D. et al. β -amino alcohol selectors for enantioselective separation of amino acids by ligand-exchange capillary zone electrophoresis in a low molecular weight organogel. **Electrophoresis**, v. 31, p. 3921-3927, 2010.
- 194 SOMOSKOVI, A. et al. Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 53, p. 192-196, 2004.
- 195 RANKIN, P. W. et al. Quantitative studies of inhibitors of ADP-ribosylation *in vitro* and *in vivo*. **J. Biol. Chem.**, v. 264, n. 8, p. 4312-4317, 1989.
- 196 OR JUNIOR, C. et al. Preparation and antitubercular activity of lipophilic diamines and amino alcohols. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 5, p. 703-705, 2009.
- 197 SATO, D. N. **Avaliação rápida do perfil de sensibilidade do agente da tuberculose às drogas sintéticas ou extratos vegetais empregando *Mycobacteriu tuberculosis* contendo o gene da luciferase**. 2003. 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
- 198 MIYATA, M. et al. Drug resistance in *Mycobacteriu tuberculosis* clinical isolates from Brazil: phenotypic and genotypic methods. **Biomed. Pharmacother.**, v. 65, n. 6, p. 456-459, 2011.