



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE QUÍMICA – ARARAQUARA



Jessica Bortoletto

Síntese, caracterização e investigação da atividade tuberculostática de complexos de prata contendo ligantes 2,2'-diimínicos e imidazolidina-2-tiona.



Araraquara
2017

Jessica Bortoletto

Síntese, caracterização e investigação da atividade tuberculostática de complexos de prata contendo ligantes 2,2'-diimínicos e imidazolidina-2-tiona.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Dr. Daniel Segura Fonseca

Araraquara
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

B739s Bortoletto, Jessica
Síntese, caracterização e investigação da atividade
tuberculostática de complexos de prata contendo ligantes 2,2'-
diimínicos e imidazolidina-2-tiona / Jessica Bortoletto. –
Araraquara : [s.n.], 2017
68 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Daniel Fonseca Segura

1. Prata. 2. Compostos bioativos. 3. Espectroscopia de
ressonância nuclear. 4. Espectroscopia de infravermelho.
5. Tuberculose. I. Título.

Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

JESSICA BORTOLETTO

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

Araraquara, 07 de abril de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Drª Patricia Bento da Silva
Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNESP / Araraquara - SP



Profª Drª Carolina Valério Barra
Instituto Federal de São Paulo / IFSP / Araraquara - SP

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Jessica Bortoletto

Data de Nascimento: 08/12/1991

Naturalidade: Descalvado - SP

Nacionalidade: Brasileira

Filiação:

Pai – Marcos Rogério Bortoletto

Mãe – Silvana Aparecida Teodoro Bortoletto

Endereço para correspondência:

Rua: XV de Novembro, nº 1304

Bairro: Centro – CEP: 13690-000

Descalvado – SP

e-mail: jessica.bortoletto@hotmail.com ou jessica.bortoletto@icloud.com

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2010-2015 Bacharelado Tecnológico em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP
Araraquara

Título: Controle de Qualidade em análise de solos

Orientador: Gilberto Batista de Souza

BOLSAS:

Bolsa de iniciação científica sob o tema “Síntese, caracterização e investigação da atividade antituberculostática de complexos de prata”, concedida pela CNPq entre 05/2013 a 07/2015

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR:

Minicurso intitulado "Química Medicinal", realizado na 43ª Semana da Química do IQ UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

Minicurso intitulado "Os compostos químicos dos alimentos: uma relação de saúde UNESP", realizado na 40ª Semana da Química do IQ UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

Minicurso intitulado "As atividades de um profissional de Química Inserido no contexto de Perfuração e Complementação de Poço de Petróleo", realizado na 40ª Semana da Química do IQ UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

Minicurso intitulado "Química cosmética: Aplicações e atuação profissional", realizado na 41ª Semana da Química do IQ UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

Minicurso intitulado "Bebidas Alcoólicas com ênfase em cachaça e whisky", realizado na 41ª Semana da Química do IQ UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

ESTÁGIOS:

Embrapa Pecuária Sudeste – São Carlos, SP

AGRADECIMENTOS

À todos os seres de luz que me proporcionaram calma e serenidade para conclusão desse trabalho.

Aos meus orientadores Adelino e Daniel pela orientação, paciência e por acreditarem que tudo isso seria possível.

Um agradecimento mais do que especial aos meus grandes amigos Thales e Rafael, por serem meu apoio sempre que recorri à vocês.

À minha família, Silvana, Rogério, Mauricio, Ana, Arlindo, Célia, Osvaldo, Daniela e Camila, pelo incentivo, força e aconchego.

Ao meu namorado Carlos, por ser meu espelho e inspiração, além do apoio e carinho.

Aos meus amigos, Carol Telatin, Marcela Ruy, Marcela Wolf, Carla, Ariane, Luisa, Gabriela, Rafael, Karine, Carol Ravazi, Carol Sápia, Marcela Zaffalon, Cristiane, Thiago, André e todos os outros que estou esquecendo, pela descontração e incentivo.

Ào Nivaldo, Lucinéia, Patricia, Bianca pelos experimentos realizados.

Minha eterna gratidão à todos os envolvidos direta ou indiretamente nesse trabalho.

Sem vocês nada seria possível.

“Seja quem você for, seja qual a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna (*in memoriam*)

RESUMO

Os efeitos antimicrobianos e a baixa toxicidade da prata em seres humanos continuam a despertar o interesse científico. A associação entre íons prata e ligantes biologicamente ativos é uma estratégia bem sucedida para obter complexos com efeitos mais potentes contra microorganismos patogênicos. Dessa forma, o planejamento de compostos de coordenação que possuam ligantes sulfurados e nitrogenados, em específico, visa obter drogas mais eficazes frente à *Mycobacterium tuberculosis* visto que o surgimento de casos de Tuberculose multi-droga-resistente faz com que o tratamento atual seja ineficaz. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi sintetizar e caracterizar novos complexos de prata (I) do tipo $[Ag(phen)_n(imt)]X$ e $[Ag(dppz)(imt)]X$, onde phen= 1,10-fenantrolina, n = 1, 2; dppz = dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, imt= imidazolidina-2-tiona e X= BF_4^- , $CF_3SO_3^-$, NO_3^- . Os complexos foram caracterizados pelas técnicas de condutância molar, espectroscopia vibracional na região do IV, ressonância magnética nuclear (1H), análise elementar e espectrometria de massas. A atividade biológica *in vitro* dos compostos $[Ag(phen)(imt)]NO_3$ (1), $[Ag(phen)_2(imt)]BF_4$ (2), $[Ag(phen)(imt)]CF_3SO_3$ (3), $[Ag(dppz)(imt)]NO_3$ (4), $[Ag(dppz)(imt)]BF_4$ (5), $[Ag(dppz)(imt)]CF_3SO_3$ (6) foi avaliada frente ao patógeno *Mycobacterium tuberculosis* e os resultados obtidos indicaram que a variação do ligante quelante nitrogenado afeta a atividade biológica. Os compostos contendo a dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina mostraram-se inativos enquanto que os compostos contendo 1,10-fenantrolina apresentaram resultados de MIC menores que $10 \mu g.mL^{-1}$. Além disso, verificou-se que a substituição da tiouréia por imidazolidina-2-tiona e a alteração dos contra-íons não resultou em uma potencialização do efeito tuberculostático. Os complexos sintetizados nesse trabalho foram tóxicos frente às células de fibroblasto pulmonar MCR5, refletindo em índices de seletividades (SI) desfavoráveis.

Palavras- chave: Prata (I). Atividade biológica. Dipirido[3,2-a:2',3'-c]. 1,10-fenantrolina.

ABSTRACT

The antimicrobial effects of silver ion together with its low toxicity in the human body have attracted considerable attention. Combining silver ions with biologically active ligands represents a well-succeeded strategy to afford complexes with enhanced effects towards pathogenic microorganisms. Therefore, the design of new coordination compounds bearing nitrogen/sulfur-based ligands aims at obtain more active agents against *Mycobacterium tuberculosis* since the outbreak of multidrug resistant tuberculosis is currently hampered by the lack of available treatments. In this work novel silver complexes of the type $[\text{Ag}(\text{phen})_n(\text{imt})]\text{X}$ and $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{X}$ (phen= 1,10-phenantroline, $n = 1, 2$; dppz = dipirido[3,2-a:2',3'-c]phenazine, imt= imidazolidine-2-thione; $\text{X} = \text{BF}_4^-, \text{CF}_3\text{SO}_3^-, \text{NO}_3^-$) have been synthesized and characterized. The complexes have been characterized by infrared spectroscopy, ^1H nuclear magnetic resonance, elemental analysis, conductance measurements and mass spectrometry techniques. The *in vitro* biological activity of the compounds $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{NO}_3$ (1), $[\text{Ag}(\text{phen})_2(\text{imt})]\text{BF}_4$ (2), $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (3), $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{NO}_3$ (4), $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{BF}_4$ (5) and $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (6) has been evaluated against foram estudadas frente *Mycobacterium tuberculosis* and the obtained results suggest that the nature of chelating ligand affects the biological activity. Compounds bearing the dipirido[3,2-a:2',3'-c]phenazine demonstrated to be inactive whereas those containing 1,10-phenantroline exhibited MIC values less than $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Besides that, it was verified that the replacement of thiourea by imidazolidine-2-thione did not result in any increase of the tuberculostatic activity. The complexes were cytotoxic towards pulmonar fibroblast cells MCR5, resulting in unfavorable Selectivity Indexes (SI).

Keywords: Silver (I). Biological activity. Dipirido[3,2-a:2',3'-c]phenazine. 1,10-phenantroline.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TB= Tuberculose
BK= Bacilo de Kock
SM= Estreptomicina
INH= Isoniazida,
RPM= Rifampicina,
BEM= Etambutol
PZA= Pirazinamida
PAS= Ácido p-aminosalicílico
PHEN= 1,10-fenantrolina
DPPZ= dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.
BPY = 2,2'-bipiridina
IMT= Imidazolidina-2-tiona
PPh₃= Trifenilfosfina
TU= Tiouréia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dados globais referentes às doenças que causaram mais mortes no mundo em 2012.	18
Figura 2 - Dados globais referentes à estimativa da taxa de incidência da TB no período de 2016 a 2020.....	19
Figura 3 - Primeiro antibióticos eficaz no combate à tuberculose: Estreptomicina.....	20
Figura 4 – Principais fármacos mais utilizados no tratamento da Tuberculose.....	20
Figura 5 - Fármacos de segunda escolha utilizados no tratamento da Tuberculose.....	21
Figura 6 - Possíveis mecanismos de ação dos íons prata como agente microbiano.....	23
Figura 7 - Estrutura da 1,10-fenantrolina e a dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.....	24
Figura 8 - Estrutura da imidazolidina-2-tiona.....	25
Figura 9 - Esquema dos complexos sintetizados no trabalho de SEGURA et.al. (2014).....	26
Figura 10 - Estrutura cristalina do composto $[Ag(bpy)(\mu-tu)]_2(NO_3)_2$, apresentando a coordenação do ligante bipyridina ao átomo de prata via átomos de nitrogênio.	27
Figura 11 - Modificação proposta para os compostos do presente trabalho.	28
Figura 12 - Esquema de síntese dos compostos 1, 2 e 3.	37
Figura 13 - Espectro vibracional no infravermelho da 1,10-fenantrolina.	39
Figura 14 - Imidazolidina-2-tiona e suas estruturas de ressonância.....	40
Figura 15 - Espectro vibracional no infravermelho do ligante imidazolidina-2-tiona.	40
Figura 16 - Tautomerismo da imidazolidina-2-tiona.	42
Figura 17 - Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os ligantes phen e imt e os complexos 1- 3 na região de 4000- 400 cm^{-1}	43
Figura 18 - Espectro de RMN de 1H do ligante phen.....	46
Figura 19 - Espectro de RMN de 1H do ligante imt.	46
Figura 20 - Espectros de RMN de 1H dos composto 1-3.....	47
Figura 21 - Esquema de numeração dos ligantes.....	48
Figura 22 - Espectro de massas calculado para o íon molecular dos compostos 1 e 3.	50
Figura 23 - Espectro de massas obtido para o composto 1.	50
Figura 24 - Espectro de massas obtido para o composto 3.	50
Figura 25 - Espectro de massas obtido para o composto 2.	51
Figura 26 - Extensão do pico molecular ($m/z = 467,10$) do espectro de massas obtido para o composto 2.....	51
Figura 27 - Espectro de massas calculado para o íon molecular do composto 2	51
Figura 28 - Estrutura proposta para os complexos 1 e 3.	52
Figura 29 - Estrutura binuclear proposta para os complexos 1 e 3 em analogia ao composto $[Ag(bpy)(\mu-tu)]_2(NO_3)_2$ (bpy = 2,2'-bipiridina; tu = tiouréia).....	53
Figura 30 - Esquema de síntese dos compostos 4, 5 e 6.	53

Figura 31 - Espectro vibracional no infravermelho do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.	55
Figura 32 - Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os ligantes dppz e imt e os complexos 4- 6 na região de 4000- 400 cm ⁻¹	56
Figura 33 - Espectros de RMN de ¹ H do ligante dppz.	58
Figura 34 - Esquema de numeração dos ligantes.	58
Figura 35 - Espectro de RMN de ¹ H do composto [Ag(dppz)(imt)]BF ₄ (5).....	59
Figura 36 - Espectro de RMN de ¹ H do composto [Ag(dppz)(imt)]CF ₃ SO ₃ (6).	60
Figura 37 - Espectro de massas obtido para o composto 5.	61
Figura 38 - Espectro de massas obtido para o composto 6.	62
Figura 39 - Espectro de massas calculado para o íon molecular do composto 5 e 6.....	62
Figura 40 - Estrutura proposta para os complexos 4, 5 e 6.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Procedência de solventes e reagentes.....	30
Tabela 2 - Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar dos compostos 1, 2 e 3.	38
Tabela 3 - Condutância molar em dmso 1×10^{-3} mol/L dos complexos 1-3.....	38
Tabela 4 - Frequências no IV (cm^{-1}) referentes à imidazolidina-2-tiona e suas respectivas atribuições.	41
Tabela 5 - Principais bandas (cm^{-1}) observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes livres phen e imt e dos complexos 1-3 e suas respectivas atribuições.	45
Tabela 6 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^1H dos compostos.	48
Tabela 7 - Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar dos compostos 4, 5 e 6.	54
Tabela 8 - Condutância molar em dmso dos complexos 4 e 5.	54
Tabela 9 - Principais absorções observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes livres dppz e imt e dos complexos 4- 6 e suas respectivas atribuições.	57
Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H para os compostos 4 e 5.	61
Tabela 11 - Atividade inibitória frente a <i>M. tuberculosis</i> H37Rv (MIC), efeito citotóxico frente às células MCR-5 (IC_{50}) e índice de seletividade (SI) para os compostos 1- 6 e os ligantes precursores.	64

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Tuberculose: a doença	17
1.1	Fármacos no combate à tuberculose	19
1.2	Novos rumos no planejamento de fármacos antibacterianos	22
1.3	A prata	22
1.4	Os ligantes	24
1.4.1	2,2'-diiminas	24
1.4.2	Imidazolidina-2-tiona	25
1.5	Compostos de prata contendo ligantes 2,2'-diimínicos e/ou tiouréicos	25
1.6	Princípios norteadores usados no planejamento de novos compostos de coordenação	28
2	OBJETIVOS	29
2.1	Objetivo Geral	29
2.2	Objetivos específicos	29
3	PARTE EXPERIMENTAL	30
3.1	Procedência de solventes e reagentes	30
3.2	Síntese dos ligantes	30
3.2.1	1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd)	30
3.2.2	Dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina (dppz)	31
3.3	Síntese dos Compostos	31
3.3.1	Síntese do [Ag(phen)(imt)]NO₃ (composto 1)	31
3.3.2	Síntese do [Ag(phen)₂(imt)]BF₄ (composto 2)	32
3.3.3	Síntese do [Ag(phen)(imt)]CF₃SO₃ (composto 3)	32
3.3.4	Síntese do [Ag(dppz)(imt)]NO₃ (composto 4)	32
3.3.5	Síntese do [Ag(dppz)(imt)]BF₄ (composto 5)	33
3.3.6	Síntese do [Ag(dppz)(imt)]CF₃SO₃ (composto 6)	33
3.4	Métodos Instrumentais:	34
3.4.1	Análise Elementar	34
3.4.2	Espectroscopia Vibracional na região do infravermelho	34
3.4.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	34
3.4.4	Medidas de condutividade	34
3.4.5	Espectrometria de massas	34
3.5	Testes biológicos	35
3.5.1	Ensaio antimicobacteriano	35
3.5.2	Ensaio de toxicidade frente à linhagem MRC-5 (ATCC CCL-171)	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37

4.1	Complexos de fórmula geral [Ag(phen)_n(imt)]X (phen = 1,10-fenantrolina; X = CF₃SO₃, NO₃, BF₄; n = 1, 2).....	37
	Considerações Iniciais	37
4.1.1	Análise Elementar	37
4.1.2	Condutividade Molar.....	38
4.1.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	38
4.1.4	Espectroscopia de RMN de ¹H.....	45
4.1.5	Espectrometria de Massas	48
4.1.6	Proposição Estrutural	52
4.2	Complexos de fórmula geral [Ag(dppz)(imt)]X (dppz = dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina; X = BF₄, CF₃SO₃, NO₃)	53
4.2.1	Análise Elementar	54
4.2.2	Condutividade Molar.....	54
4.2.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	55
4.2.4	Espectroscopia de RMN de ¹H.....	58
4.2.5	Espectrometria de Massas	61
4.2.6	Proposição Estrutural	62
4.2.7	Ensaio Biológico	63
5	CONCLUSÃO	66
	REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 Tuberculose: a doença

A tuberculose (TB) é uma doença contagiosa grave, com relatos de médicos na Grécia e na Roma antiga e, atualmente, acredita-se que esta doença já era conhecida também no antigo Egito, já que pesquisadores encontraram lesões de tuberculose em múmias. No entanto, somente em 1882 a bactéria responsável pela doença, a *Mycobacterium tuberculosis*, foi isolada pelo cientista alemão Robert Koch; em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK) (SOUZA, 2005). A TB é transmitida basicamente pelo ar e pode atingir todos os órgãos do corpo, porém como o BK se reproduz e se desenvolve rapidamente em áreas do corpo com muito oxigênio e, por isso, o pulmão é o principal órgão atingido pela doença. O espirro ou tosse de uma pessoa infectada joga no ar cerca de dois milhões de bacilos que permanecem em suspensão durante horas. Os sintomas da tuberculose, geralmente, são tosse crônica, febre, suor noturno, dor no tórax, anorexia (perda de apetite) e adinamia (falta de disposição) (SOUZA, 2005). Os pacientes infectados com TB não mostram necessariamente sintomas da doença, mas a associação da tuberculose com a Imunodeficiência humana (HIV) ou sua presença em pacientes com doenças relacionadas com certas deficiências no sistema imunológico, representam um alto risco de reativação da TB (AVALOS-ALANÍS, 2017).

Mesmo tendo diagnóstico simples, tratamento e vacina BCG para recém-nascidos, a tuberculose ainda permanece como um desafio para as políticas públicas de saúde. É a doença infectocontagiosa mais letal do mundo, atinge todas as faixas etárias e é agravada por condições sociais e econômicas precárias (CECILIO et. al., 2013). Segundo a World Health (2016), dentre as doenças que mais mataram em 2012, destaca-se a TB que acometeu cerca de 1,3 milhões de pessoas (Figura 1).

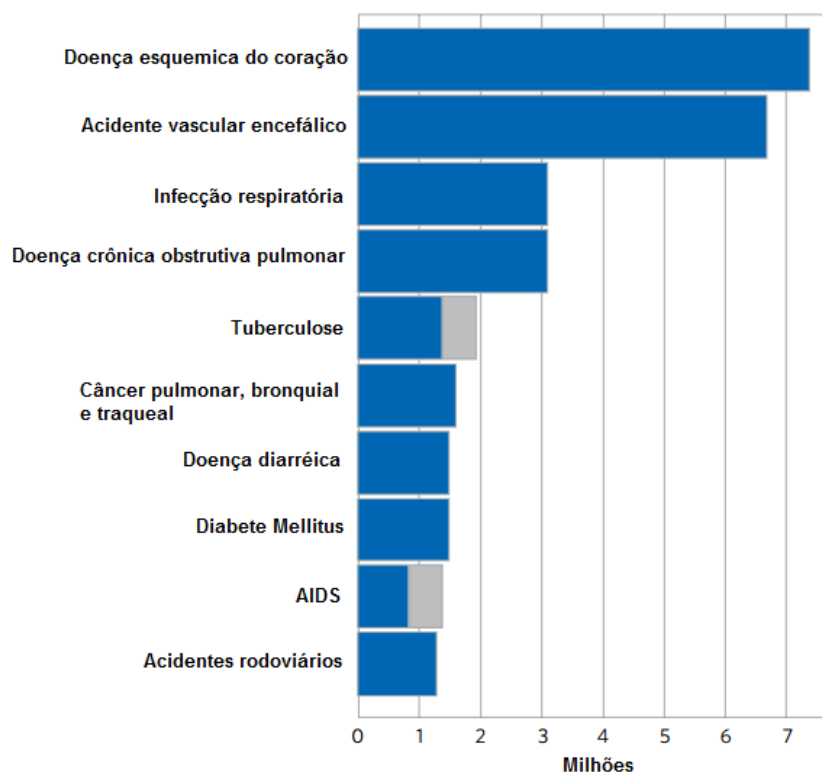


Figura 1 - Dados globais referentes às doenças que causaram mais mortes no mundo em 2012.

Fonte: adaptado de World Health Organization (2016).

Estima-se que no período 2016 a 2020, o número de casos incidentes de TB serão próximos a 10,5 milhões, o equivalente a 142 casos a cada 100.000 pessoas. A maioria dos casos ocorrerão na Ásia (61%) e região Africana (26%), e menores proporções na região Mediterrânea Oriental (7%), Europa (3%) e nas Américas (3%). Dentre os 30 países que serão responsáveis por aproximadamente 87% dos 9,6 milhões de novos casos da doença (WHO, 2016), 10 países Africanos representam as maiores taxas de incidência per capita, sendo eles Camboja, Papua Nova Guiné, Serra Leoa, Zambia, Zimbabue, República Central Africana, Congo, Libéria, Namíbia e Lesoto (WHO, 2016), como pode ser observado na Figura 2.

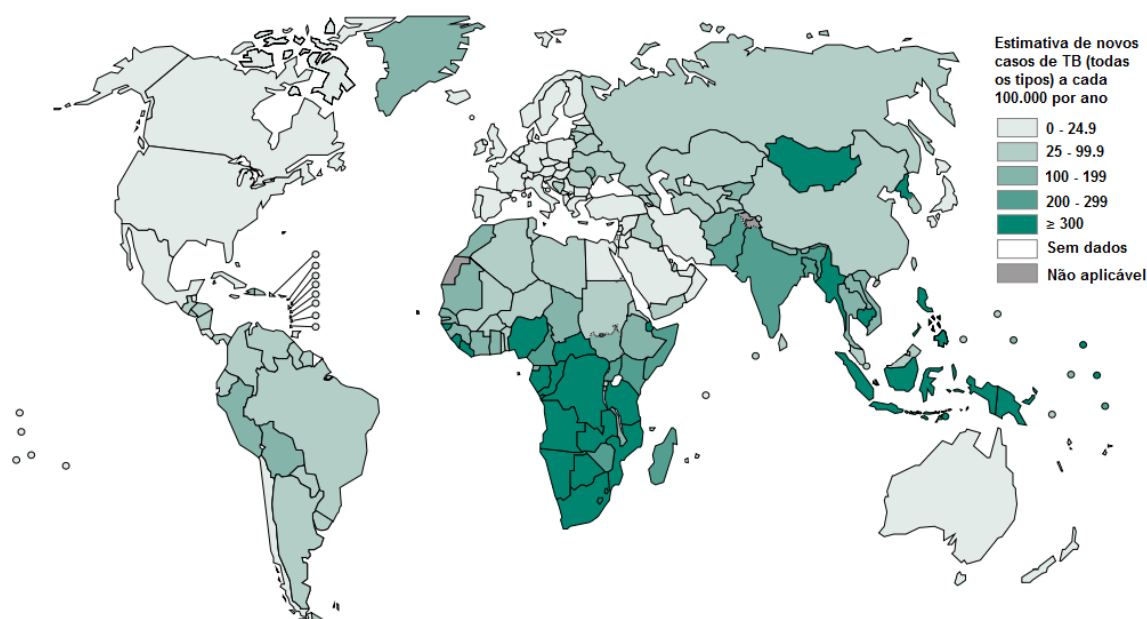


Figura 2 - Dados globais referentes à estimativa da taxa de incidência da TB no período de 2016 a 2020.

Fonte: adaptado de World Health Organization (2016).

Dessa forma, a tuberculose constitui um importante problema mundial, especialmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, face à desigualdade social, aos aglomerados populacionais, aos movimentos migratórios, e ao aparecimento de cepas de bacilos resistentes aos fármacos conhecidos (SEGURA, 2014). Por ser uma doença considerada negligenciada, a tuberculose tem recebido pouca atenção por parte das multinacionais e centros de pesquisa na busca e produção de novos medicamentos. Por isto, faz-se necessária a busca de novos fármacos capazes de apresentarem menores efeitos indesejados, maior eficácia, menor tempo de tratamento e custo reduzido. (SOUZA, 2005; SEGURA, 2014).

1.1 Fármacos no combate à tuberculose

A descoberta dos antibióticos representa um dos mais importantes marcos da medicina moderna. A introdução das sulfonamidas em 1930 e da penicilina na década posterior provocaram um grande avanço no tratamento de doenças infecciosas, causando uma drástica diminuição nas taxas de mortalidade e uma enorme sensação de bem-estar. O sucesso dos primeiros antibióticos na cura de doenças até então consideradas letais acarretou uma intensa busca por novos fármacos (ROCHA, 2011).

Apesar da penicilina ser um fármaco extremamente eficaz contra diversas doenças, e a primeira defesa real contra infecções causadas por bactérias, mostrou-se

curiosamente ineficaz contra a tuberculose (SOUZA, 2005). Quinze anos após a importante descoberta da penicilina, Selman Waksman descobriu, em 1944, a estreptomicina (SM) (Figura 3), produzida pela bactéria *Streptomyces griseus*, que foi o primeiro antibiótico capaz de atuar de maneira eficaz no combate à tuberculose (SOUZA, 2005).

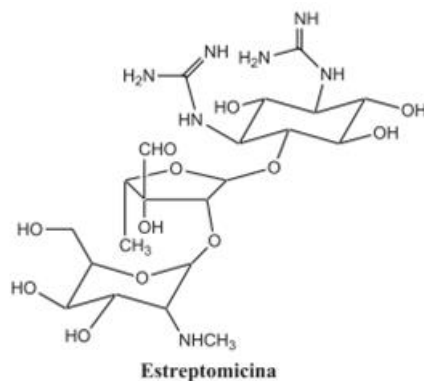


Figura 3 - Primeiro antibiótico eficaz no combate à tuberculose: Estreptomicina.
Fonte: adaptado de Souza (2005).

Após a descoberta da SM, novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a isoniazida (INH), em 1952; a rifampicina (RPM), em 1965; o etambutol (EMB), sintetizado em 1960, empregado somente em 1968 e a pirazinamida (PZA), sintetizada em 1936, porém só utilizada em 1970 (Figura 4) (SOUZA, 2005).

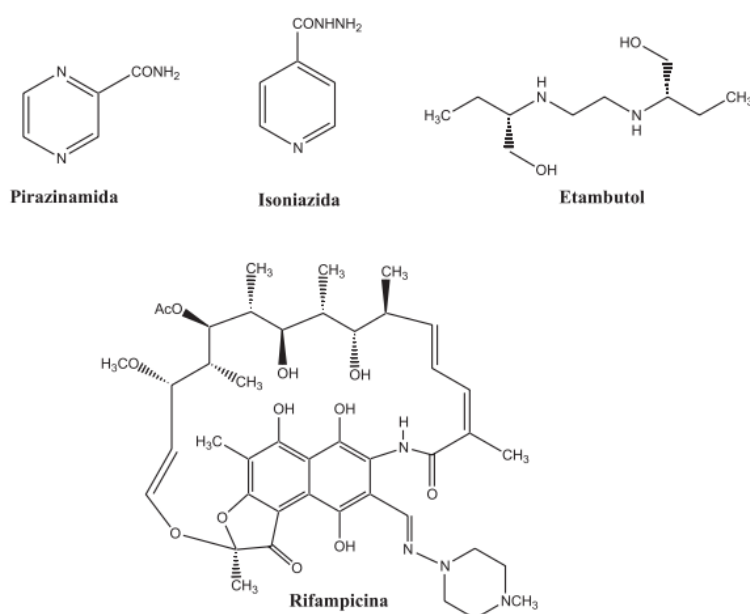


Figura 4 – Principais fármacos mais utilizados no tratamento da Tuberculose.
Fonte: adaptado de Souza (2005).

Os fármacos comumente chamados de primeira escolha são a primeira opção no tratamento, podendo ser empregados com sucesso na grande maioria dos pacientes e incluem a INH, RPM, PZA e EMB. Em caso de falência aos fármacos de primeira escolha, administrando-se a SM e a etionamida, ou devido à resistência do bacilo, emprega-se diferentes tipos de canamicinas, isoladas de *Streptomyces kanamyceticus*, cicloserina, ácido p-aminosalicílico (PAS), amicacina, etionamida, tioacetazona, clorofazimina e terizidona (Figura 5) (SOUZA, 2005).

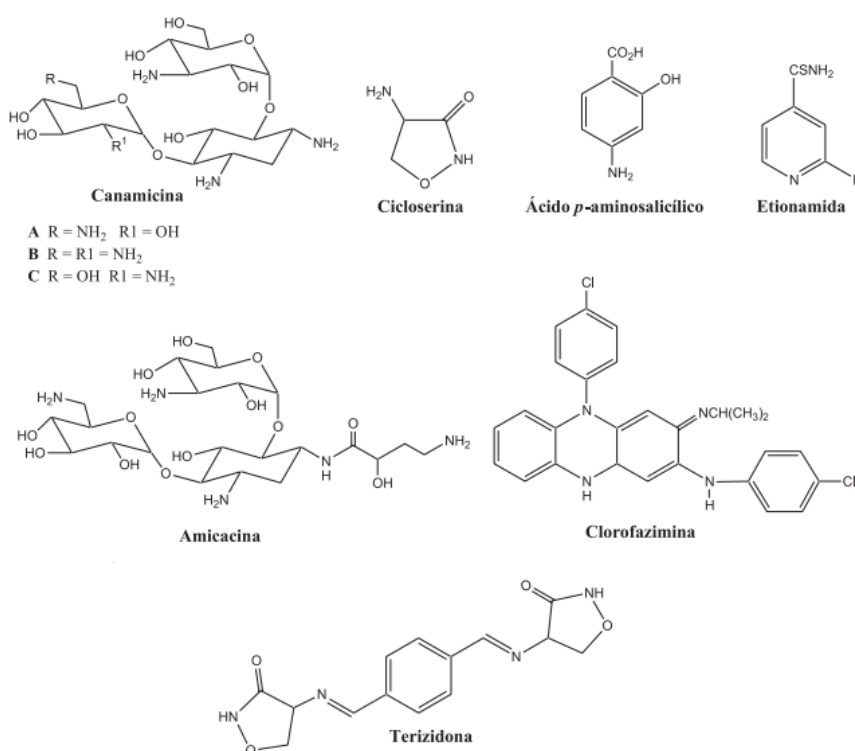


Figura 5 - Fármacos de segunda escolha utilizados no tratamento da Tuberculose.
Fonte: adaptado de Souza (2005).

Todavia, um grande problema na utilização destes fármacos é a duração do tratamento, de seis a doze meses, o número de doses e efeitos colaterais como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira. Outro grande problema na utilização de tais fármacos são os pacientes portadores de bacilos multirresistentes, cada vez mais frequentes, consequência de poucos e antigos medicamentos disponíveis no mercado e dos fracassos na cura da doença, seja por abandono ou erros na administração dos medicamentos. Devido a estes e outros problemas como infecções oportunistas causadas por micobactérias ou vírus, é necessário buscar novos fármacos mais eficazes, capazes

de serem administrados em intervalos de tempo mais longos entre as doses e com menores efeitos colaterais (SOUZA, 2005).

1.2 Novos rumos no planejamento de fármacos antibacterianos

À medida que o número de espécies microbianas resistentes aumenta, a procura de novos compostos antibacterianos e antifúngicos está se tornando uma questão permanente na química medicinal. Dessa forma, é necessário desenvolver novos antibióticos, de preferência com novos mecanismos de ação, que não sejam reconhecidos pelas bactérias (ROCHA, 2011).

Algumas estratégias utilizadas por vários grupos de pesquisas para contornar o mecanismo da resistência é a complexação de metais a sulfonamidas, tetraciclinas, quinolonas e fluorquinolonas, pois são frequentemente mais ativos que o fármaco livre (ROCHA, 2011).

A coordenação de metais a fármacos representa um potencial considerável para aumentar o arsenal de fármacos disponíveis para tratamento de uma série de enfermidades. A interação entre um íon metálico e um ligante nos dá a possibilidade de obter compostos com ampla variedade de números de coordenação, estados de oxidação e geometrias. Além disso, o conhecimento prévio das características intrínsecas (ex. magnetismo, propriedades ópticas) e da labilidade, nos permite planejar complexos metálicos dotados de propriedades físico-químicas únicas.

1.3 A prata

A prata na sua forma metálica e seus sais tem sido utilizada por décadas como agente antimicrobiano antes mesmo da descoberta da existência da atividade microbiana. Utensílios à base de prata eram utilizados na conservação de alimentos, bem como agente de cura e prevenção de úlceras crônicas, queimaduras e ferimentos (KLASEN, 2000). Isso deve-se ao íon prata ser o componente ativo eficaz contra bactérias gram positivas e gram negativas (JUNG, 2008), além de possuir ação antiproliferativa contra fungos e vírus (THURMANN, 1989) e baixa toxicidade em humanos.

O íon Ag^+ é o estado de oxidação mais importante e o mais comum, possuindo a configuração eletrônica $[\text{Kr}] 4d^{10}$. Seus compostos têm tendência de possuir cor branca

ou amarelo pálido. O íon Ag^+ pode formar uma grande variedade de complexos que, quando coordenados a ligantes simples, tendem a possuir número de coordenação igual a 2 como, por exemplo, nos íons $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ e $[\text{Ag}(\text{CN})_2]^-$ em uma geometria linear. Entretanto também são observados complexos com número de coordenação igual a 3, 4, 5 ou 6, e com estruturas trigonal planar, quadrática plana, tetraédrica e octaédrica (BAILAR, 1975; LEE, 1999).

O íon Ag^+ tem a tendência a complexar com ligantes contendo átomos doadores polarizáveis, sendo essa característica explicada pela teoria de ácidos e bases de Pearson (HUHEEY, 1993; ATKINS, 2010).

A prata é conhecida por impor efeitos múltiplos nas bactérias como, por exemplo, ao reagir com os grupos tióis de proteínas, interagir com o DNA e/ou frente a parede celular bem como interferir nos processos de transporte de elétrons, como pode ser observado na Figura 6 (MCDONNELL, 1999).

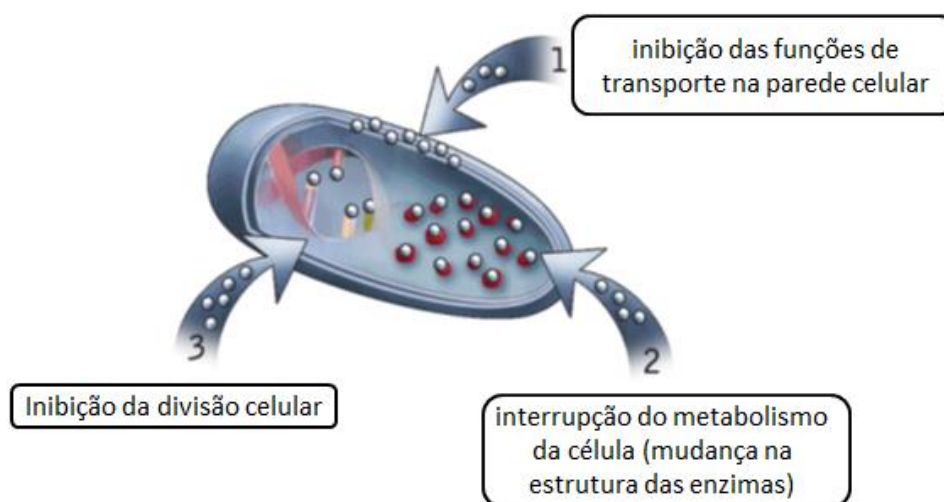


Figura 6 - Possíveis mecanismos de ação dos íons prata como agente microbiano.

Fonte: adaptado de Dixit (2010).

Considerando o sucesso de compostos de prata como fármacos, consideramos que a síntese de novos complexos metálicos contendo antibióticos e, porque não, outras classes de ligantes podem ser utilizadas como estratégia para produção de novos compostos ativos contra bactérias resistentes. (ROCHA, 2011).

A utilização de ligantes biologicamente ativos pode promover ainda mais a eficiência e/ou a seletividade de um agente terapêutico, pois esse também pode ter suas características iniciais alteradas mediante a coordenação a um centro metálico. Dentre

os compostos de coordenação de prata descritos na literatura com atividade biológicas relevante, destacam-se os complexos contendo ligantes *N,N*- ou *S*- doadores.

1.4 Os ligantes

No presente trabalho, foram utilizados ligantes 2,2'-diíminicos (1,10-fenantrolina e dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina e imidazolidina-2-tiona na síntese dos complexos.

1.4.1 2,2'-diiminas

A 1,10-fenantrolina e a dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, estruturas representadas pela Figura 7, são heterociclos poli condensados, planares e rígidos. Em geral, com a extensão da planaridade no esqueleto estrutural da fenantrolina aumenta-se a força de interação dos compostos e de seus respectivos complexos com o DNA (MIRANDA, 2008), porém o modo pelo qual esses quelatos exercem seus efeitos biológicos depende, em grande parte, da natureza do metal.

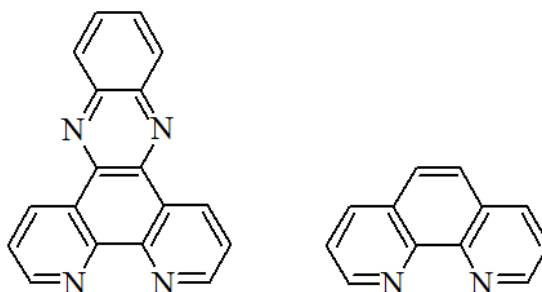


Figura 7 - Estrutura da 1,10-fenantrolina e a dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.

Fonte: autor.

É bem estabelecido na literatura que uma variedade de metais de transição contendo 1,10-fenantrolina ou seus derivados é muito ativa frente a bactérias patogênicas, fungos e protozoários (DWYER, 1969). Por apresentarem anéis planares ricos em elétrons π , os quelatos metálicos da 1,10-fenantrolina e derivados têm uma tendência em interagir com o DNA por intercalação, a qual é definida como a inserção de uma molécula aromática entre os pares de bases consecutivos do DNA. As ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas e hidrofóbicas e, principalmente, interações de empilhamento π entre os grupos aromáticos heterocíclicos dos pares de bases e as

estruturas aromáticas do agente intercalador contribuem para a estabilização do complexo intercalador- DNA. Essa inserção entre os pares de bases resulta em uma mudança substancial na estrutura do DNA, provocando alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla hélice do DNA. Como resultado da intercalação, o esqueleto do DNA passa a apresentar uma perda da estrutura helicoidal regular. Sugere-se então, que todas as modificações provocadas pelo agente intercalador na estrutura secundária do DNA previnem a replicação do DNA e, conseqüentemente, iniba o crescimento de cânceres e de microorganismos (MARVERTI, 2008; STORR, 2006; KEMP, 2008; PALANICHAMY, 2006).

1.4.2 Imidazolidina-2-tiona

A imidazolidina-2-tiona, também chamada de etilenotioureia, tem fórmula $C_3H_6N_2S$ e massa molar de $102,2 \text{ g mol}^{-1}$. A imidazolidina-2-tiona é um cristal branco ou branco cinzento, apresenta uma densidade relativa de $2,00 \text{ g cm}^{-3}$. Solúvel em metanol, etanol e na maioria dos álcoois, pouco solúvel em água e estável ao ar na temperatura ambiente, decompõe-se quando exposto diretamente a luz do sol ou em aquecimento. Sua estrutura está representada pela Figura 8.

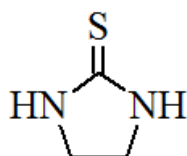


Figura 8 - Estrutura da imidazolidina-2-tiona
.Fonte: autor.

Vale ressaltar que compostos derivados da imidazolidina-2-tiona apresentam grande potencial farmacológico visto que alguns trabalhos mostram que os compostos que contém o esqueleto da tiouréia apresentam principalmente atividade tuberculostática e antitumoral, dentre outras (CESARINI, 2009).

1.5 Compostos de prata contendo ligantes 2,2'-diíminicos e/ou tiouréicos

Nas últimas décadas, compostos de prata têm atraído muita atenção como potenciais agentes antimicrobianos (FARRELL, 2004). A combinação de sais de prata e ligantes orgânicos, os quais também possuem propriedades antimicrobianas, podem

resultar na obtenção de complexos mais específicos. A sulfadiazina de prata, por exemplo, utilizada clinicamente como agente antimicrobiano e antifúngico é formada por dois componentes de ação antibacteriana: um grupo sulfamida e íons prata e é amplamente utilizada no tratamento de queimaduras, feridas e infecções agudas. Porém, seu uso tem algumas limitações como a resistência bacteriana, efeitos colaterais, entre outros (LIS, 2015).

Aslam *et al.* (2016) sintetizaram o complexo $[Ag(phen)_2]NO_3$, que apresentou notável atividade contra bactérias gram-negativa *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium citrinum* e moderada atividade contra leveduras *Candida albicans* e *Sacharomyces cerevisiae*. Devido à atividade combinada da Ag(I) e do ligante, esse composto demonstra maior efetividade que o antibiótico Amoxil, utilizado como fármaco padrão no estudo. Assim como no trabalho de Nawaz (2011), o complexo de fórmula $[Ag(PPh_3)(Imt)_2]NO_3$ (imt = imidazolidina-2-tiona, PPh_3 = trifenilfosfina) também apresentou atividade contra *P. aeruginosa* apresentando um MIC igual à $70 \mu g mL^{-1}$.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu a síntese, caracterização e estudo da atividade biológica dos complexos $[Ag(phen)(\mu-tu)]_2(NO_3)_2$, $[Ag(phen)(\mu-tu)]_2(CF_3SO_3)_2$, $[Ag(bpy)(\mu-tu)]_2(NO_3)_2$ (phen = 1,10-fenatrolina; bpy = 2,2'-bipiridina; tu = tiouréia) a partir da reação entre o sal AgX ($X^- = NO_3^-, CF_3SO_3^-$), o ligante *N,N*-diimínico (phen ou bpy) e tiourea sob a razão molar de 1:1:2 (SEGURA, 2014), respectivamente (Figura 9).

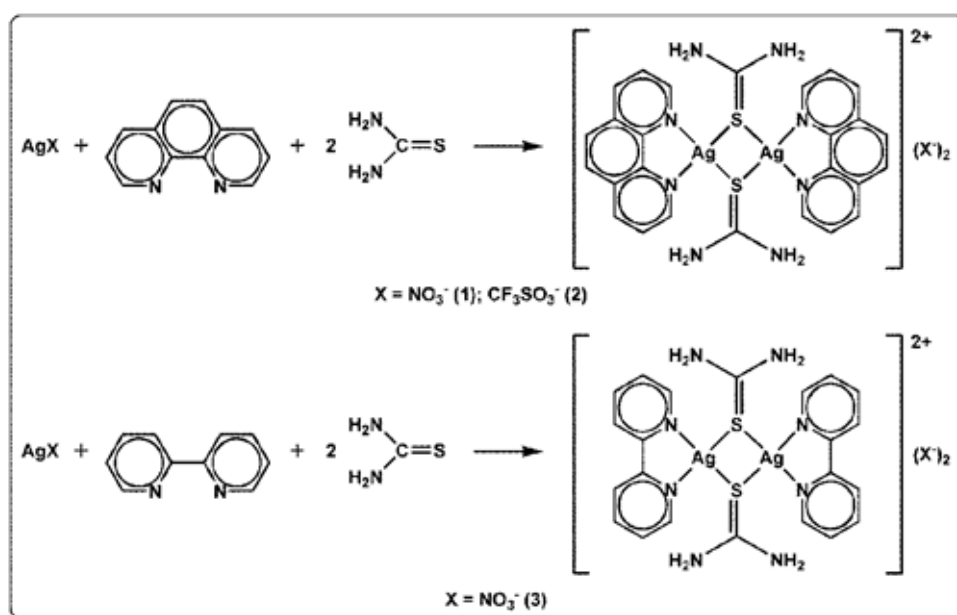


Figura 9 - Esquema dos complexos sintetizados no trabalho de SEGURA *et al.* (2014).

Fonte: Adaptado de Segura *et al.* (2014).

A atividade antimicrobiana desses três complexos foi avaliada frente aos microrganismos patogênicos *M. tuberculosis*, *Leishmania (L.) amazonensis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*. Nos ensaios fungicidas e bactericidas, os compostos $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{X})_2$ mostraram atividade superior à apresentada pelos precursores puros, mas inferior ao fármaco padrão utilizada para cada cultura. O efeito da alteração do contra-íon também foi notado na atividade biológica dos compostos, sendo o composto $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{NO}_3)_2$ mais ativo que o $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$.

Os ensaios tuberculostáticos dos compostos $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{X})_2$ apresentaram resultados interessantes, seus valores de MIC estavam abaixo de $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, valor indicativo para a sequência das análises sendo esses averiguados contra os macrófagos J774. A substituição do íon nitrato pelo trifluorometanossulfonato nos compostos $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{X})_2$ diminuíram significativamente a citotoxicidade frente aos macrófagos, sugerindo que os grupos aniônicos interferem na toxicidade nessa classe de compostos. Apesar da baixa toxicidade contra os macrófagos *in vitro*, o composto $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-tu})]_2(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ apresentou um índice de seletividade (IS) desfavorável (4,48- 6,69). É importante salientar que, para ser considerado promissor, um candidato a fármaco deve possuir o $\text{IS} > 10$. Assim, foi possível observar que a associação entre o íon prata (I), a 1,10-fenantrolina e ligantes tiocarbonilados poderiam conduzir a formação de compostos inéditos e ativos na destruição efetiva de microrganismos patogênicos foi um ponto importante no planejamento desta pesquisa, visto as potencialidades terapêuticas dos compostos de prata (I). Além disso, foi obtido o composto $[\text{Ag}(\text{bpy})(\mu\text{-tu})]_2(\text{NO}_3)_2$ onde foi possível determinar sua estrutura via difração de raio X, como ilustrado na Figura 10.

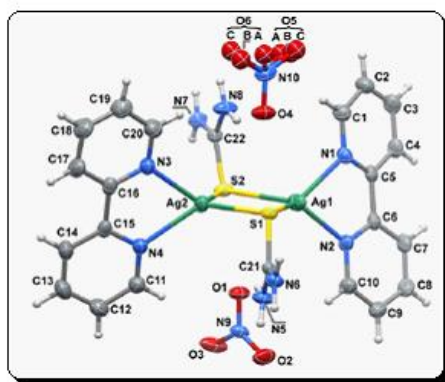


Figura 10 - Estrutura cristalina do composto $[\text{Ag}(\text{bpy})(\mu\text{-tu})]_2(\text{NO}_3)_2$, apresentando a coordenação do ligante bipyridina ao íon de prata.

Fonte: Adaptado de Segura et. al. (2014).

1.6 Princípios norteadores usados no planejamento de novos compostos de coordenação

O principal objetivo no desenvolvimento de novos fármacos tuberculostáticos consiste em obter compostos mais seletivos. Motivado pelos resultados obtidos pelo nosso grupo (SEGURA, 2013) e com base nas potencialidades biológicas dos complexos de prata (I) deduziu-se que a substituição da tiouréia (tu) no composto protótipo $[Ag(phen)(\mu-tu)]_2X_2$ por imidazolidina-2-tiona (imt) poderia acarretar um efeito sinérgico na atividade no produto obtido, resultando em compostos de prata mais ativos (Figura 11 – modificação i).

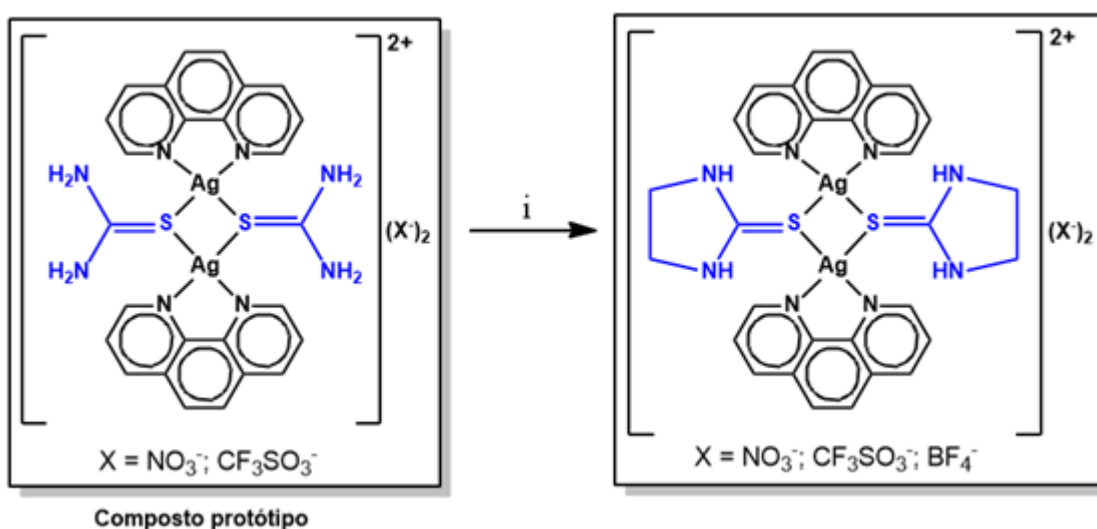


Figura 11 - Modificação proposta para os compostos do presente trabalho.

Fonte: Autor.

Assim, o objetivo central desse trabalho envolve a síntese, caracterização e avaliação da atividade tuberculostática de novos complexos de prata (I) associado aos ligantes imidazolidina-2-tiona e as 2,2'-diiminas: 1,10-fenantrolina e a dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade tuberculostática de novos complexos de prata (I) contendo 2,2'-diiminas (1,10-fenantrolina, dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina) e imidazolidina-2-tiona como ligantes.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar e caracterizar complexos inéditos de prata (I) contendo 2,2'-diiminas (1,10-fenantrolina, dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina) e imidazolidina-2-tiona;
- Determinar a CIM frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294);
- Determinar a citotoxicidade (IC₅₀) em macrófagos J774A.1 (ATCC TIB-67);
- Comparar o efeito antimicrobiano dos compostos obtidos com relação aos protótipos;

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Procedência de solventes e reagentes

Foram utilizados reagentes de padrão analítico, sem purificação prévia e armazenados em frascos de vidro âmbar. A Tabela 1 apresenta a procedência dos solventes e reagentes empregados nesse trabalho.

Tabela 1 - Procedência de solventes e reagentes.

Reagentes	Procedência	Função
Acetonitrila	Merck	SC
Álcool Metílico	Merck	SC
Nitrato de Prata	Sigma-Aldrich	SC
Tetrafluorborato de prata	Sigma-Aldrich	SC
Trifluormetanosulfonato de prata	Sigma-Aldrich	SC
Sulfato de prata	Sigma-Aldrich	SC
1,10 - fenantrolina	Sigma-Aldrich	SC
Imidazolidina-2-tiona	Aldrich	SC
Dimetilsulfóxido (DMSO)- d ₆	Aldrich	RMN
Álcool Metílico	Merck	E
Clorofórmio	Tedia	E
Éter etílico	Mallinckrodt	E

Fonte: autor.

“SC”: utilizado na etapa de síntese do complexo; “RMN”: utilizado como solvente na técnica de ressonância magnética nuclear; “E”: utilizado para ensaios e/ou dados de solubilidade dos produtos.

3.2 Síntese dos ligantes

3.2.1 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd)

A síntese da phd foi realizada conforme descrição na literatura (MIRANDA, 2008). Foram refluxados 2,500 g de 1,10-fenantrolina (12,62 mmol) e 2,500 g de KBr (21 mmol) em uma solução contendo 12,5 mL de HNO₃ concentrado e 25 mL de H₂SO₄ concentrado durante 4 horas. Após o resfriamento foram adicionados 50 mL de água gelada e então neutralizado utilizando primeiramente Na₂CO₃ e com NaHCO₃ após o pH atingir 3,0. O sólido amarelo foi separado por filtração simples, lavado com grande quantidade de H₂O gelada e então recristalizado em clorofórmio. O rendimento obtido

foi de aproximadamente 80%. ^1H NMR (499 MHz, DMSO) δ = 8,99 (dd, J = 4,6, 1,8 Hz, 1H), 8,39 (dd, J = 7,8, 1,8 Hz, 1H), 7,68 (dd, J = 7,8, 4,7 Hz, 1H).

3.2.2 Dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina (dppz)

A síntese da phd foi realizada conforme descrição na literatura (MIRANDA, 2008). Foram solubilizados 1,6 g de 1,2- diaminobenzeno·HCl em 100 mL de etanol sendo o pH elevado até 7,0 com gotejamento de uma solução de NaOH bem diluída. Então 2,0 g de 1,10-fenantrolina-5,6-diona foram adicionados e a mistura foi refluxada por 2 horas. Após o resfriamento foi possível obter um sólido amarelo claro que foi filtrado, lavado com metanol, éter e seco à vácuo. Rendimento 80%. ^1H RMN (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ = 9,46 (dd, J =8,1, 1,8 Hz, 1H), 9,18 (dd, J = 4,5, 1,8 Hz, 1H), 8,34 (dd, J = 6,6, 3,4 Hz, 1 H), 8,03 (dd, J = 6,6, 3,4 Hz, 1 H), 7,91 ppm (dd, J = 8,1, 4,4 Hz, 1H).

3.3 Síntese dos Compostos

3.3.1 Síntese do $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{NO}_3$ (composto 1)

Pesou-se 63,5 mg (0,374 mmol) de nitrato de prata (AgNO_3) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 67,6 mg (0,376 mmol) do ligante 1,10-fenantrolina, previamente solubilizado em 10 mL de acetonitrila, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão amarela. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por cerca de 10 minutos. Em seguida foi gotejada uma solução contendo 38,2 mg (0,373 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL de acetonitrila. Nenhuma mudança foi observada. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com metanol gelado porém houve dissolução de parte do precipitado. A massa foi recuperada, lavada com clorofórmio gelado e posteriormente seca sob vácuo. O composto é solúvel em dmsO e metanol. Rendimento: 28%.

3.3.2 Síntese do $[\text{Ag}(\text{phen})_2(\text{imt})]\text{BF}_4$ (composto 2)

Pesou-se 106,2 mg (0,546 mmol) de tetrafluorborato de prata (AgBF_4) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 94,8 mg (0,526 mmol) do ligante 1,10-fenantrolina, previamente solubilizado em 10 mL de acetonitrila, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão amarela. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por 10 minutos. Em seguida foi gotejada uma solução contendo 53,2 mg (0,521 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL acetonitrila. Nenhuma mudança foi observada. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com metanol gelado e seco sob vácuo. O composto é solúvel em dmsu. Rendimento: 29%.

3.3.3 Síntese do $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (composto 3)

Pesou-se 116,5 mg (0,453 mmol) de trifluormetanosulfonato de prata (AgCF_3SO_3) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 70,3 mg (0,390 mmol) do ligante 1,10-fenantrolina, previamente solubilizado em 10 mL de acetonitrila, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão branca. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por 10 minutos. Em seguida foi gotejada uma solução contendo 42 mg (0,411 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL acetonitrila. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com metanol gelado e seco sob vácuo. O composto é solúvel em dmsu. Rendimento: 76%.

3.3.4 Síntese do $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{NO}_3$ (composto 4)

Pesou-se 101,1 mg (0,596 mmol) de nitrato de prata (AgNO_3) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 167,0 mg (0,587 mmol) do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, previamente suspenso em 10 mL de metanol, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão amarelada. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por 10 minutos. Em seguida foi gotejada

uma solução contendo 61,1 mg (0,598 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL metanol. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com clorofórmio e seco sob vácuo. O composto é solúvel em dmsu. Rendimento: 81%.

3.3.5 Síntese do $[Ag(dppz)(imt)]BF_4$ (composto 5)

Pesou-se 108,5 mg (0,557 mmol) de tetrafluorborato de prata ($AgBF_4$) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 147,1 mg (0,571 mmol) do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, previamente suspenso em 10 mL de acetonitrila/ metanol, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão branca. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por 10 minutos. Em seguida foi gotejada uma solução contendo 53,3 mg (0,522 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL acetonitrila. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com clorofórmio e seco sob vácuo. O composto é solúvel em dmsu. Rendimento: 65%.

3.3.6 Síntese do $[Ag(dppz)(imt)]CF_3SO_3$ (composto 6)

Pesou-se 100,6 mg (0,392 mmol) de trifluormetanosulfonato de prata ($AgCF_3SO_3$) em um erlenmeyer de 50 mL e solubilizado em 10 mL de acetonitrila sob constante agitação e protegido da luz. Em seguida, 111,6 mg (0,393 mmol) do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, previamente suspenso em 10 mL de metanol, foi adicionado sob a solução inicial gota a gota. Observou-se a formação de uma suspensão amarelada. O meio reacional foi mantido sob constante agitação por 10 minutos. Em seguida foi gotejada uma solução contendo 40,1 mg (0,393 mmol) de imidazolidina-2-tiona solubilizado em 10 mL metanol. A suspensão foi mantida sob constante agitação por mais 15 minutos. A mesma foi filtrada e o sólido obtido foi lavado com clorofórmio e seco sob vácuo. O composto é solúvel em dmsu. Rendimento: 58%.

3.4 Métodos Instrumentais:

3.4.1 Análise Elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no analisador Leco Instruments LTDA - TruSpec CHNS., pertencente ao Departamento de Ciências Exatas, UNIFAL, Alfenas MG.

3.4.2 Espectroscopia Vibracional na região do infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific, atuando na região de 4000-400 cm^{-1} , utilizando-se pastilhas de KBr.

3.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram registrados nos Espectrômetros multinuclear Bruker, modelos Fourier 300 (7.0 T, Sonda: Easy Probe Dul 300MHz S1 5mm z Gradient) e Avance III 600 HD (14,1 T, Sonda: Triple Inverse TCI Cryoprobehead), localizados no IQ-UNESP de Araraquara. Utilizou-se $\text{dms}\text{-d}_6$ para dissolução das amostras. Os deslocamentos químicos obtidos foram referenciados pelos solventes. Software para aquisição: TopSpin v.3.2.

3.4.4 Medidas de condutividade

As medidas de condutividade foram realizadas pelo condutivímetro DM 31 Digimed. Utilizou-se soluções de dmso em concentração do composto de $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

3.4.5 Espectrometria de massas

Para espectrometria de massas foi utilizado o espectrômetro modelo 3200 QTRAP LC/MS/MS contendo analisador híbrido triplo quadrupolo/armadilha de íons linear (LIT), localizado no IQ – UNESP de Araraquara. A análise foi feita por infusão

direta MS/MS utilizando-se metanol padrão LC-MS como solvente no modo positivo de ionização por electrospray. Parâmetros: IonSpray (IS): 5000 V, DP: 20 V, EP: 10 V. Experimentos: varredura de íons (200 – 1000) e enhanced resolution (ER). As amostras foram preparadas dissolvendo-se 1 mg de analito em metanol padrão HPLC-MS e posteriormente diluído a concentrações adequadas para o experimentos.

3.5 Testes biológicos

3.5.1 Ensaio antimicobacteriano

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada empregando o ensaio *Resazurin Microtiter Assay* (REMA), conforme Palomino et al (2002). As soluções estoque dos complexos de cobre(II) incorporados nos CLNs foram preparadas a 500 µg/mL e diluídas em meio de cultura Middlebrook 7H9 suplementado com OADC, afim de se obter diferentes concentrações de cada composto (125,00 à 0,48 µg/mL). A partir de um cultivo em meio Middlebrook 7H9 suplementado com OADC, uma alíquota da cultura de *M. tuberculosis* H₃₇Rv foi adicionada a microplaca de 96 orifícios junto dos compostos permitindo um volume final de 200 µL com 5x10⁵ UFC/mL e incubada com 5% CO₂ a 37 °C por 7 dias. No sétimo dia de ensaio, foram colocados em cada orifício 30 µL de Resazurina na concentração de 0,01% e incubado por 24 h. Para se determinar a fluorescência e a CIM no qual deve resultar em uma inibição ≥ 90% da multiplicação microbiana, foi utilizada o leitor de microplacas Cytation (Biotek®; filtros: 530nm de excitação e 590nm de emissão). Como controles, em cada ensaio foram determinados os CIM de RIF. Os ensaios foram realizados em 3 estudos independentes (SATO, 2016).

3.5.2 Ensaio de toxicidade frente à linhagem MRC-5 (ATCC CCL-171)

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados no Laboratório de Micobacteriologia, em colaboração com a aluna de pós doutorado Isabel Cristiane da Silva, sob supervisão do Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan (Departamento de Ciências Biológicas) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP. Os ensaios in vitro para a determinação da viabilidade celular foram realizados frente à linhagem MRC-5 (ATCC CCL-171), uma linhagem humana de fibroblasto pulmonar.

Até o momento do uso, a linhagem foi mantida congelada (-80 °C) em tubos criogênicos (alíquota) contendo soro fetal bovino (SFB) (Vitrocell®) e 5 % de DMSO.

Para realização do teste, as amostras foram descongeladas e cultivadas em garrafas (12,50 cm²) na presença de 10 mL de meio RPMI (Vitrocell®) enriquecido com 10 % de soro fetal bovino, sulfato de gentamicina (50 mg/L) e anfotericina B (2 mg/L). As garrafas foram incubadas a 35 °C com 5 % de CO₂ até atingir a confluência celular. A partir deste estágio as células foram removidas utilizando tripsina (Vitrocell®), com posterior centrifugação a 2000 rpm durante 5 minutos. As células foram contadas em câmara de Neubauer e a concentração foi ajustada para 1x10⁵ cels/mL em meio DMEM. A partir desta suspensão, foram depositados 200 µL em cada orifício da microplaca (96 poços) e as microplacas foram incubadas (37 °C) em atmosfera de 5 % de CO₂ para permitir a aderência celular à microplaca. Após 24 horas de incubação, o meio foi removido e as amostras a serem testadas, previamente diluídas nas concentrações de 1000 a 3,9 µg/mL, foram adicionadas aos poços da microplacas (100 µL), as quais foram novamente incubadas por mais 24 horas. Após adição do revelador resazurina (30 µL) nos poços da microplaca e incubação durante 6 horas, os resultados foram avaliados através da leitura realizada no leitor de microplacas SpectraFluor Plus, onde foram utilizados filtros de excitação (530 nm) e emissão (590 nm). O IC₅₀ foi definido como a maior concentração dos extratos capaz de permitir a viabilidade de pelo menos 50 % das células.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Complexos de fórmula geral $[Ag(\text{phen})_n(\text{imt})]X$ (phen = 1,10-fenantrolina; X = CF_3SO_3 , NO_3 , BF_4 ; n = 1, 2)

Considerações Iniciais

Os complexos foram preparados a partir da reação entre os respectivos sais de prata ($AgNO_3$, $AgBF_4$ e $AgCF_3SO_3$) e os ligantes 1,10- fenantrolina e imidazolidina-2-tiona, na proporção 1:1:1 em acetonitrila, com a solubilização da imt em metanol, à temperatura ambiente e proteção constante da luz devido à fotosensibilidade da prata.

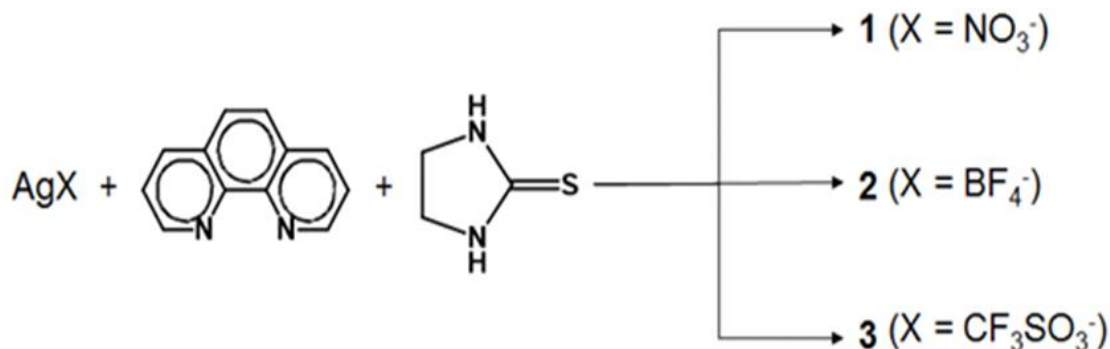


Figura 12 - Esquema de síntese dos compostos 1, 2 e 3.

Fonte: autor.

Os compostos inéditos 1, 2 e 3 são sólidos, de coloração entre amarela (compostos 1 e 2) e branca (composto 3), estáveis às condições ambientes, solúveis em dmso. O composto 1 é também solúvel em metanol e insolúvel em clorofórmio. Os compostos 2 e 3 são insolúveis em metanol.

4.1.1 Análise Elementar

As análises elementares dos compostos contribuíram para indicar a proporção entre o metal e os ligantes e os resultados mostraram características diferentes entre os compostos. Para os compostos 1 e 3 observou-se a proporção 1:1:1 entre o centro metálico e os ligantes (Ag: phen: imt) com um contra-íon balanceando a carga da molécula, indicando fórmula mínima para os compostos de $[Ag(\text{phen})(\text{imt})]X$, onde X é NO_3 e CF_3SO_3 , respectivo dos compostos 1 e 3. No composto 2 foi observada a proporção 1:2:1, sugerindo a formação de um composto de fórmula mínima

[Ag(phen)₂(imt)]BF₄. Os teores dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas experimentalmente e calculadas encontram-se listadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar dos compostos 1, 2 e 3.

Composto	%C		%H		%N	
	Calculado	Obtido	Calculado	Obtido	Calculado	Obtido
1	39,84	36,45	3,12	3,20	15,49	14,96
2	49,34	48,33	3,37	3,17	12,79	10,71
3	35,63	32,82	2,62	2,55	10,39	9,14

Fonte: autor.

4.1.2 Condutividade Molar

As condutividades molares dos complexos 1-3 foram obtidas em soluções de dmso e são apresentadas na Tabela 3. Os resultados encontrados estão entre 30,0 e 45,27 $\mu\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$. De acordo com os estudos de condutividade de complexos na literatura, os valores encontrados para os compostos 1, 2 e 3 são típicos de compostos eletrólitos 1:1 compreendendo o intervalo de 20 a 62,8 $\mu\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$ para soluções em dmso 1×10^{-3} mol/L (VELHO, 2006).

Tabela 3 - Condutância molar em dmso 1×10^{-3} mol/L dos complexos 1-3.

Composto	$\mu\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$
1	30,0
2	36,1
3	45,3

Fonte: autor.

4.1.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Considerações espectroscópicas sobre os ligantes utilizados:

1,10-fenantrolina

As bandas na região $1630\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ correspondem aos modos de vibração νCC e νCN da phen e são sensíveis à coordenação. No ligante livre essas bandas se encontram em 1422 , 1503 e 1586 cm^{-1} . Outras bandas que indicam a presença da phen nos compostos são atribuídas à respiração do anel em 778 cm^{-1} e νCH fora do plano em 852 e 740 cm^{-1} (BOUDALIS, 2001). A banda larga observada em 3382 cm^{-1} refere-se à vibração de estiramento O-H devido à hidratação do ligante.

Os principais modos vibracionais da 1,10-fenantrolina estão representados no espectro de IV do ligante, como segue na Figura 13.

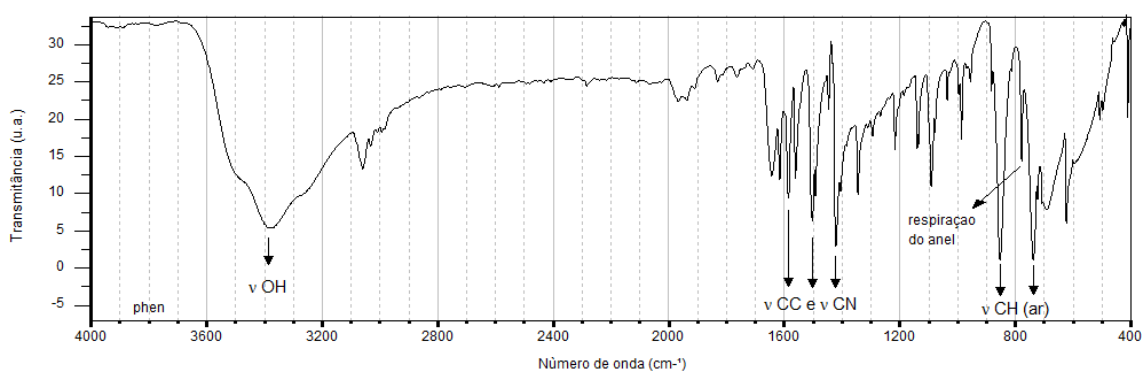


Figura 13 - Espectro vibracional no infravermelho da 1,10-fenantrolina.

Fonte: autor.

Imidazolidina-2-tiona

As tioamidas heterocíclicas apresentam vários modos de coordenação, conduzindo à formação de complexos com uma grande variedade estrutural. A espectroscopia no IV é considerada uma das técnicas mais importantes na investigação estrutural de complexos contendo tioamidas heterocíclicas. Compostos orgânicos portadores do grupo tioamida (HNCS) dão origem a quatro bandas características no espectro no IV, conhecidas como “bandas tioamidas” (SINGH, 1974). Os espectros no IV desses compostos mostram a banda tioamida I em aproximadamente 1500 cm^{-1} com contribuições dos modos vibracionais δNH e $\nu\text{C}=\text{N}$. A banda tioamida II aparece na região de $1300\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ e apresenta importantes contribuições dos modos vibracionais $\nu\text{C}=\text{N} + \delta\text{NH} + \delta\text{CH}$. Na região de 1000 cm^{-1} é esperado o aparecimento da banda

tioamida III com significativa contribuição dos modos vibracionais $\nu\text{C}=\text{N} + \nu\text{C}=\text{S}$. A banda tioamida IV, com forte contribuição do modo $\nu\text{C}=\text{S}$, é encontrada no intervalo espectral de $850\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ (SINGH, 1974). A imidazolidina-2-tiona é uma das tioamidas heterocíclicas conhecidas mais simples. De acordo com Popović et al. (1999), as formas canônicas zwitteriônicas da imidazolidina-2-tiona devem ser levadas em consideração para uma descrição estrutural de moléculas reais (Figura 14):

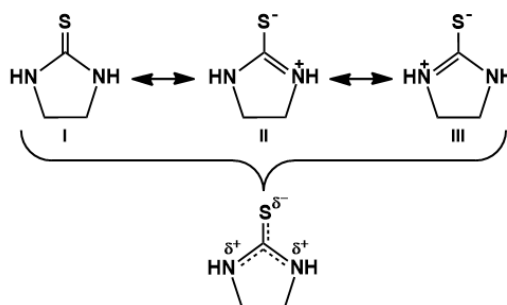


Figura 14 - Imidazolidina-2-tiona e suas estruturas de ressonância.
Fonte: Adaptado de Popović et. al. (1999).

Considerando a Figura 14, se a coordenação ocorre via átomo de enxofre, as contribuições das estruturas polares (II) e (III) aumentam, devido à doação do par de elétrons do enxofre ao metal. Isto provoca um enfraquecimento da ligação CS e um deslocamento da densidade eletrônica do carbono para os átomos de nitrogênio, produzindo um caráter parcial de ligação dupla na ligação CN. Conseqüentemente, há um decréscimo na frequência das bandas com contribuição do modo νCS , e um aumento na frequência das absorções com contribuição do modo νCN . O espectro na região do IV da imidazolidina-2-tiona está ilustrado na Figura 15 e seus principais modos vibracionais estão inseridos na Tabela 4.

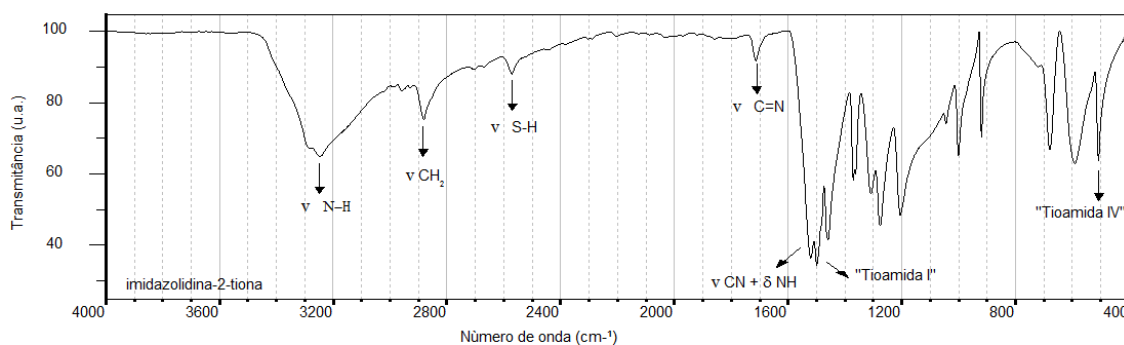


Figura 15 - Espectro vibracional no infravermelho do ligante imidazolidina-2-tiona.
Fonte: autor.

Tabela 4 - Frequências no IV (cm^{-1}) referentes à imidazolidina-2-tiona e suas respectivas atribuições.

Atribuições	Imidazolina-2-tiona
ν NH	3247 F
ν CH ₂	2882 m
ν CN + δ NH	1522 F
ν CN (Tioamida I)	1499 F
δ CH ₂	1460 F
δ NH	1368 m
t CH ₂	1308 F
w CH ₂ + ν CC	1276 F
w CH ₂ + δ NH	1204 F
ν CC + ν CN	1114 al
ν CN	1045 m
ν CN + ν CC	999 F
r CH ₂	918 m
δ_{anel} + γ NH	679 F
γ NH	590 F
ν CS + δ_{anel} (Tioamida IV)	512 F

Fonte: autor.

ν = estiramento; δ = deformação angular no plano; r = rocking; w = wagging; t = twisting; γ = deformação angular fora-do-plano. Intensidades: F = forte, f = fraca, m = média e al = alargada.

No espectro no IV da imidazolidina-2-tiona (Figura 15), observa-se a presença de uma forte absorção centrada em 3247 cm^{-1} , atribuída ao modo de estiramento ν NH. No intervalo de $1550\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$, são observadas bandas que podem fornecer importantes informações sobre a coordenação da imidazolidina-2-tiona. A banda observada em 1522 cm^{-1} possui forte contribuição dos modos ν CN + δ NH enquanto que a absorção localizada em 1499 cm^{-1} é atribuída à banda “tioamida I”. Considerando que essas bandas apresentam contribuição importante do modo ν CN, elas são muito informativas no que diz respeito ao modo de coordenação da imidazolidina-2-tiona. Se a coordenação ocorrer pelo átomo de enxofre, essas bandas deverão sofrer deslocamentos para frequências mais altas. A absorção com forte contribuição do modo ν CS, a banda tioamida IV, está localizada em 512 cm^{-1} . A região espectral na qual essa banda é encontrada no espectro no IV de complexos metálicos contendo a imidazolidina-2-tiona

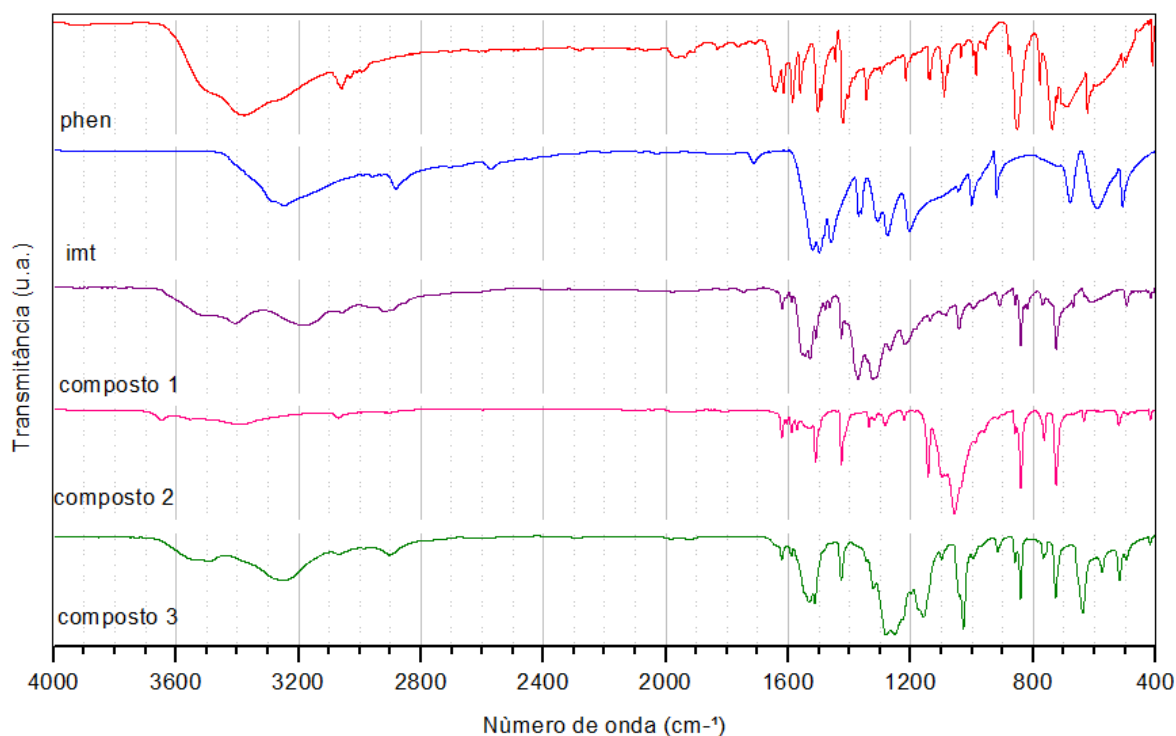


Figura 17 - Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os ligantes phen e imt e os complexos 1- 3 na região de 4000- 400 cm^{-1} .

Fonte: autor.

Através dos espectros vibracionais do ligante phen e dos complexos 1-3 é possível verificar que as bandas correspondentes ao modo de vibração ν_{CC} e ν_{CN} da phen não sofreram deslocamentos como pode ser evidenciado no espectro dos compostos 1 (1427 cm^{-1} e 1590 cm^{-1}), composto 2 (1426 cm^{-1} , 1510 cm^{-1} e 1590 cm^{-1}) e composto 3 (1426 cm^{-1} e 1590 cm^{-1}). Porém a banda atribuída à respiração do anel em 778 cm^{-1} (ligante livre) desloca-se para 770 cm^{-1} , 764 cm^{-1} e 767 cm^{-1} nos compostos 1, 2 e 3, respectivamente. Outra evidência importante da coordenação trata-se do deslocamento da banda δ_{CH} fora do plano em 852 cm^{-1} e 740 cm^{-1} (ligante livre) para 840 e 726 cm^{-1} (1), 840 e 725 cm^{-1} (2), 840 e 726 cm^{-1} (3). As mudanças citadas indicam a coordenação do metal à phen, visto que a coordenação retira densidade eletrônica dos anéis aromáticos, causando enfraquecimento das ligações C-H e respiração do anel e deslocando as bandas para menores números de onda. É possível evidenciar a coordenação do ligante imt via átomo de enxofre devido à presença de suas bandas características na região de 1522 cm^{-1} ($\nu_{\text{CN}} + \delta \text{ NH}$), 1499 cm^{-1} (ν_{CN} – “Tioamida I”). Nos complexos, tais bandas apresentaram-se deslocadas para maiores números de onda que no ligante livre devido ao deslocamento de densidade eletrônica do carbono para o nitrogênio, aumenta-se o caráter de ligação dupla CN e conseqüentemente aumenta-se a

frequência das bandas. A banda “Tioamida IV” ($\nu_{\text{CS}} + \delta_{\text{anel}}$) aparece deslocada para menores números de onda em relação ao ligante livre, devido à retirada de densidade eletrônica do enxofre quando coordenado. Os contra-íons presentes nos complexos foram encontrados em sua forma iônica. A presença do nitrato iônico no composto 1 foi diagnosticado pelo aparecimento das suas bandas típicas ν_{NO} em 1372 cm^{-1} e 818 cm^{-1} . No espectro do composto 2, observam-se as bandas ν_{BF} em 1056 cm^{-1} e 522 cm^{-1} , evidenciando que o íon não participa da coordenação. Já no espectro do composto 3 as absorções do trifluormetanossulfonato iônico foram detectadas em 1254 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} e ν_{CF_3} em 1225 cm^{-1} e 1170 cm^{-1} .

Tabela 5 - Principais bandas (cm^{-1}) observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes livres phen e imt e dos complexos 1-3 e suas respectivas atribuições.

Atribuições	phen	imt	1	2	3
1,10-fenantrolina					
vOH	3382	-	-	3393	-
vCC e vCN	1586	-	1590	1590	1590
	1503	-	-	1510	-
	1422	-	1427	1426	1426
$\delta\text{CH}(\text{ar})$	852	-	840	840	840
	740	-	726	725	726
Respiração do anel	778	-	770	764	767
Imidazolidina-2-tiona					
v N-H	-	3247	3189	-	3250
v CH ₂	-	2882	2897	-	2901
v S-H	-	2572	-	-	-
v CN + δ NH	-	1522	1550	1545	1534
v CN (Tioamida I)	-	1499	1509	-	1513
v CS + δ anel (Tioamida IV)	-	512	496	518	498
Trifluormetanosulfonato					
vSO ₃	-	-	-	-	1254
vSO ₃	-	-	-	-	1028
vCF ₃	-	-	-	-	1225
vCF ₃	-	-	-	-	1170
Tetrafluorborato					
vBF	-	-	-	1056	-
	-	-	-	522	-
Nitrato					
vNO	-	-	1372	-	-
	-	-	818	-	-

Fonte: autor.

4.1.4 Espectroscopia de RMN de ¹H

O espectro de RMN de ¹H dos ligantes phen e imt e dos complexos 1-3 estão representados pela Figura 18, 19 e 20, respectivamente. Todos os espectros foram obtidos usando dms_o-d₆ como solvente.

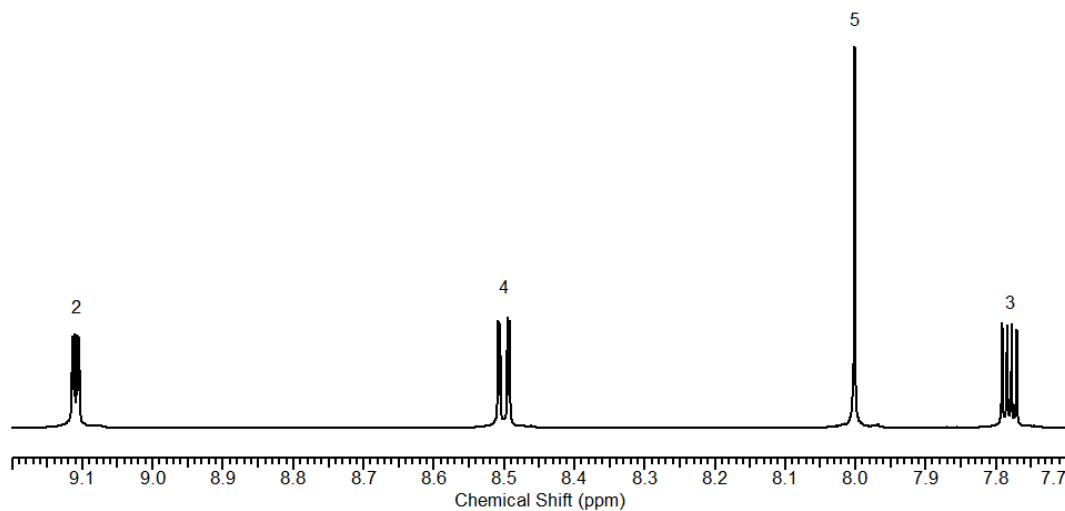


Figura 18 - Espectro de RMN de ^1H do ligante phen.
Fonte: autor.

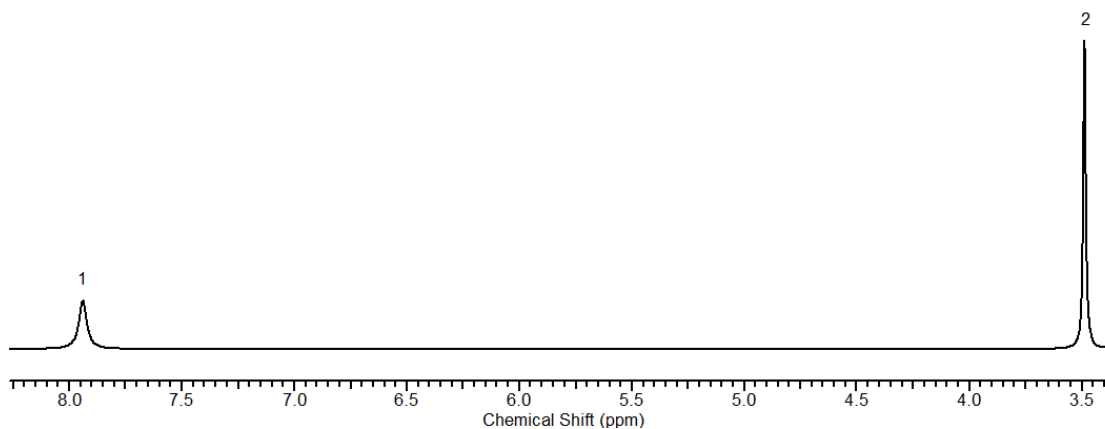


Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H do ligante imt.
Fonte: autor.

Devido à equivalência dos hidrogênios da phen, observam-se quatro sinais correspondentes aos hidrogênios $\text{H}_{2/2'}$, $\text{H}_{3/3'}$, $\text{H}_{4/4'}$ e $\text{H}_{5/5'}$ em seu espectro. Os sinais presentes em 9,11 ppm, 7,79 ppm e 8,50 ppm correspondem aos hidrogênios metínicos $\text{H}_{2/2'}$, $\text{H}_{3/3'}$ e $\text{H}_{4/4'}$ respectivamente, tais picos são observados como dubleto de dubletos. O sinal em 8,0 ppm correspondente a $\text{H}_{5/5'}$ é observado como um singlete. No espectro da imt livre é observado dois sinais correspondentes aos hidrogênios $\text{H}_{1/1'}$ e $\text{H}_{2/2'}$, em que os núcleos $\text{H}_{1/1'}$ estão associados ao sinal alargado em 7,95 ppm. Já o singlete em 3,49 ppm é atribuído aos hidrogênios metilênicos $\text{H}_{2/2'}$.

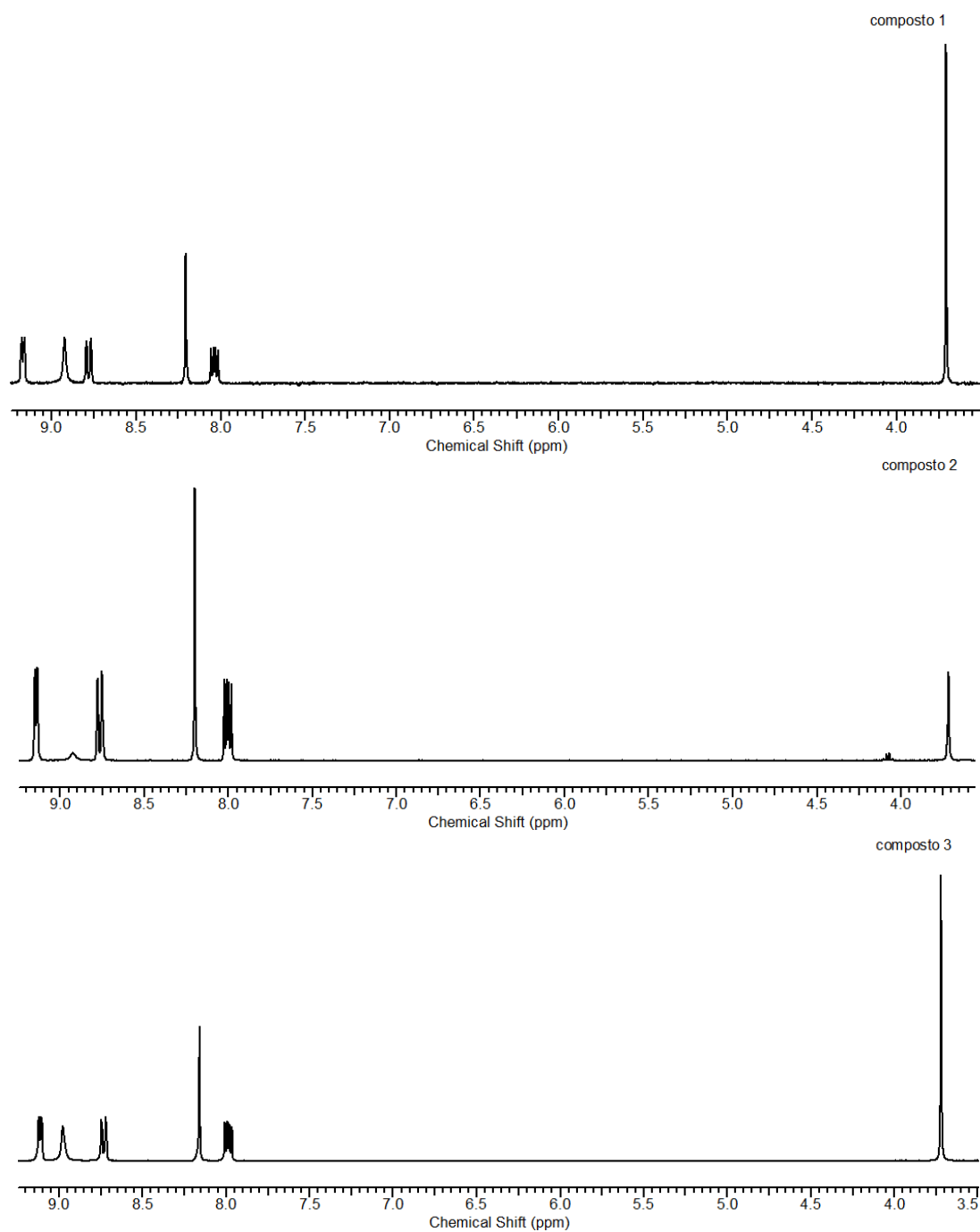


Figura 20 - Espectros de RMN de ^1H dos composto 1-3.

Fonte: autor.

Para melhor identificação dos sinais de RMN de ^1H foram utilizadas as seguintes identificações numéricas para facilitar a compreensão dos resultados obtidos (Figura 21).

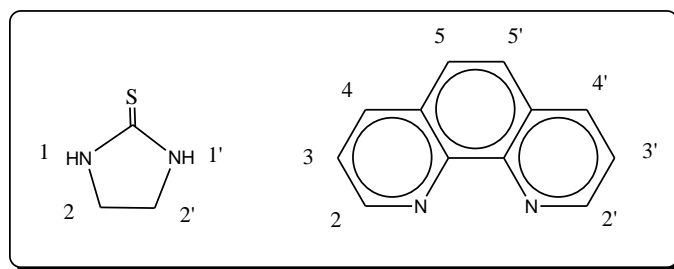


Figura 21 - Esquema de numeração dos ligantes.

Fonte: autor.

Comparando-se os sinais dos ligantes livres com os sinais dos compostos 1-3 é possível observar um deslocamento de todos os sinais para regiões de campo mais desprotegidas indicando a coordenação dos ligantes ao centro metálico. Além disso, a partir da comparação das integrais referentes aos núcleos de ^1H do phen e da imt, observa-se, para os compostos 1 e 3, uma proporção 1:1, corroborando com a estequiometria $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X}: \text{NO}_3^- \text{ e } \text{CF}_3\text{SO}_3^-\}$. No composto 2 foi observada a proporção 2:1 entre o ligante phen e imt, respectivamente, indicando a formação de um composto de estequiometria $[\text{Ag}(\text{phen})_2(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X}: \text{BF}_4^-\}$. A Tabela 6 contém os deslocamentos químicos de RMN de ^1H obtidos para os composto 1-3. Os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^1H estão contidos na Tabela 6.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN de ^1H dos compostos.

Composto	1	2	3
NH1/1'	8,92 (s, 1 H)	8,92 (s, 1H)	8,98 (s, 1H)
CH2/2'	3,71 (s, 2H)	3,72 (s, 1H)	3,72 (s, 2H)
2/2'	9,17 (dd, J=4.5, 1.4 Hz, 1H)	9,14 (dd, J=4.5, 1,5 Hz, 2H)	9,11 (dd, J=4.5, 1.5 Hz, 1H)
3/3'	8,04 (dd, J=8.1, 4.5 Hz, 1H)	8,00 (dd, J=8.1, 4.6 Hz, 2H)	7,99 (dd, J=8.2, 4.6 Hz, 1H)
4/4'	8.78 (dd, J= 8.1, 1.4 Hz, 1H)	8,76 (dd, J=8.1, 1.4 Hz, 2H)	8,73 (J=8.2, 1.5 Hz, 1H)
5/5'	8,20 (s, 1H)	8,20 (s, 2 H)	8,16 (s, 1H)

Fonte: autor

4.1.5 Espectrometria de Massas

Os resultados de análise de massas dos compostos obtidos foram de fundamental importância para compreender o comportamento dos complexos obtidos em solução. Tendo em foco o centro metálico de prata e a sua distribuição isotópica de aproximadamente 50% entre os isótopos de massa 107 e 109 é possível distinguir entre

um sistema monomérico ou dimérico em solução pela análise do padrão isotópico dos sinais obtidos. Em compostos formados por um sistema monomérico é observado dois sinais com a diferença de 2 unidades de massa em uma proporção de 1:1, enquanto nos compostos diméricos os três principais sinais possuem também uma diferença de 2 unidades de massa e uma proporção entre os sinais de 1:2:1, sendo ambos intercalados com os sinais referentes ao ^{13}C com a diferença de 1 unidade de massa, um padrão mais complexo do que os que seriam observados em um sistema monomérico. Vale ressaltar que além do padrão isotópico, a formação do dímero gera uma carga 2^+ fazendo com que todos os sinais relativos ao dímero sejam observados em valores que seriam a metade da massa calculada para os compostos monovalentes, respeitando o padrão isotópico, mas com uma diferença de 1,0 m/z entre os sinais atribuídos ao padrão da prata. (SEGURA, 2013). A figura 22 representa o espectro de massa calculado a partir do software desenvolvido por Manura (1996).

A formação de complexos de prata de estequiometria $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})\text{X}]^+$ {X: NO_3^- (1) e CF_3SO_3^- (3)} foi confirmada via espectrometria de massas (Figura 23 e 24). Evidencia-se os picos em m/z = 388,98 e 390,96 para o composto 1 e m/z = 388,98 e 391,02 para o composto 3, contendo a distribuição isotópica prevista referente ao espectro de massas calculado para o íon molecular (M^+) utilizando como fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{AgN}_4\text{S}$, $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]^+$ (Figura 23). O padrão isotópico dos picos sugerem que os compostos 1 e 3 apresentam um comportamento monomérico em solução.

Um comportamento diferente foi observado para o complexo 2. As Figuras 25 e 26 representam o espectro de massas obtido do composto 2. De acordo com os cálculos simulados para a composição $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{AgN}_6\text{S}$, o pico referente ao íon molecular $[\text{Ag}(\text{phen})_2(\text{imt})]^+$ (M^+) seria observado em m/z = 570 (Figura 27). Entretanto o íon molecular não foi detectado no experimento, sendo observado os fragmentos $[\text{Ag}(\text{phen})]^2+$ (m/z = 467,10) e $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]^+$ (m/z = 391,10). Nesse caso, especula-se que o íon molecular esperado não seja suficientemente estável para ser empregado nas condições testadas empregadas. Futuras tentativas deverão ser realizadas para sua detecção.

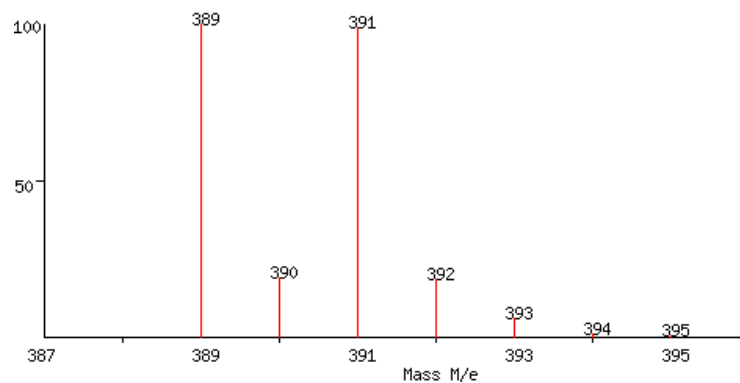


Figura 22 - Espectro de massas calculado para o íon molecular dos compostos 1 e 3.

Fonte: autor.

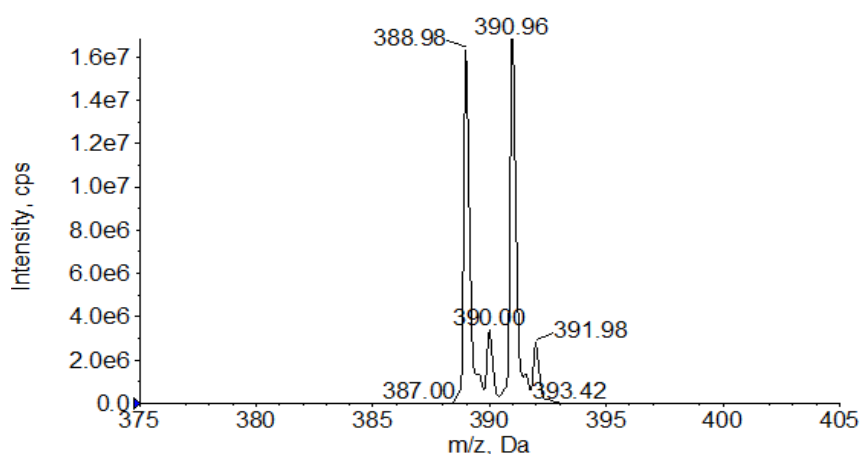


Figura 23 - Extensão do espectro de massas obtido para o composto 1.

Fonte: autor.

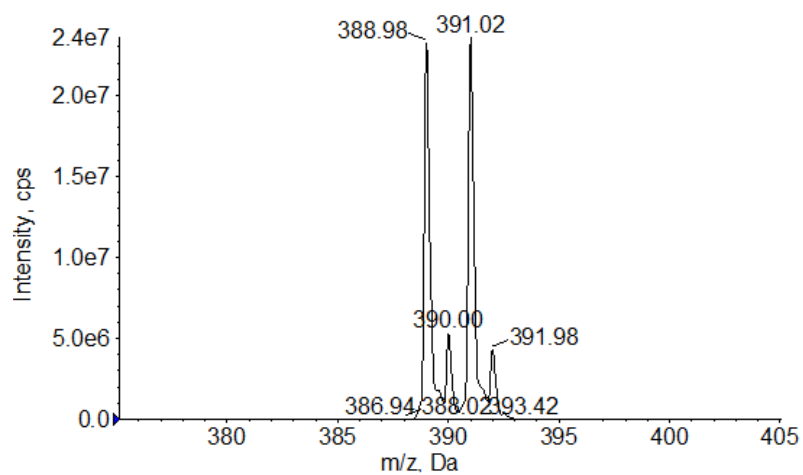


Figura 24 - Extensão do espectro de massas obtido para o composto 3.

Fonte: autor.

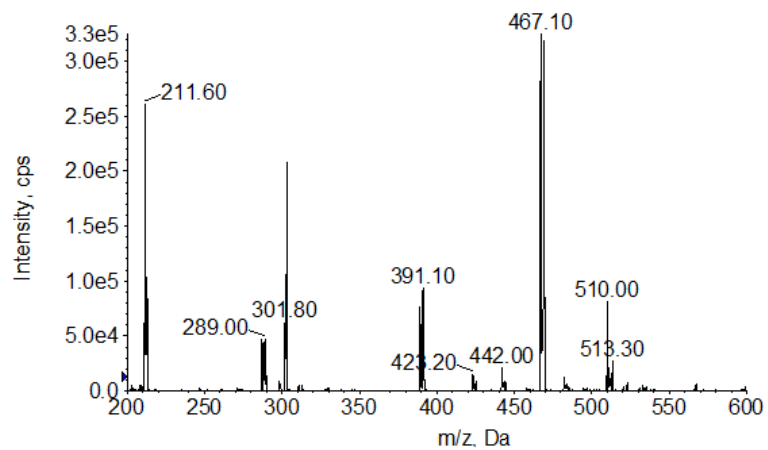
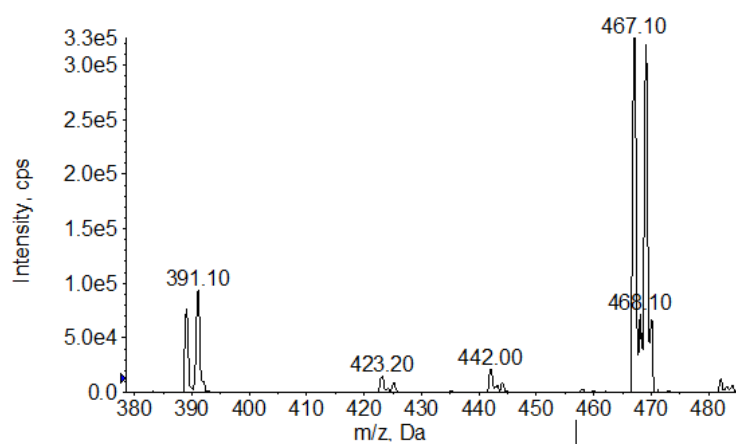


Figura 25 - Espectro de massas obtido para o composto 2.

Fonte: autor.



composto 2.

Figura 26 - Extensão do espectro de massas obtido para o composto 2.

Fonte: autor.

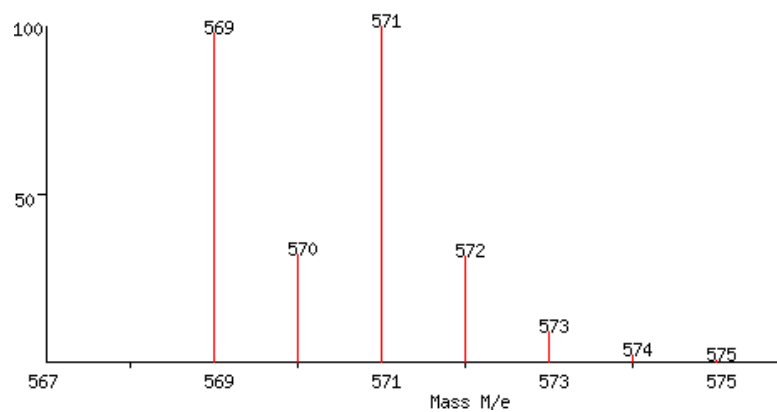


Figura 27 - Espectro de massas calculado para o íon molecular do composto 2.

Fonte: autor.

4.1.6 Proposição Estrutural

Seguindo os resultados obtidos a partir dos resultados de espectroscopias no infravermelho e RMN, em concordância com os resultados de análise elementar, sugerem as seguintes estruturas para os compostos 1, 2 e 3 (Figura 28).

Espera-se uma geometria trigonal planar ao redor do átomo de prata, com seus sítios de coordenação ocupados por dois átomos de nitrogênio da molécula de 1,10-fenantrolina e um átomo de enxofre proveniente da imidazolidina-2-tiona. Os íons NO_3^- (1) e CF_3SO_3^- (3) encontram-se na forma iônica em ambos os compostos (Figura 30).

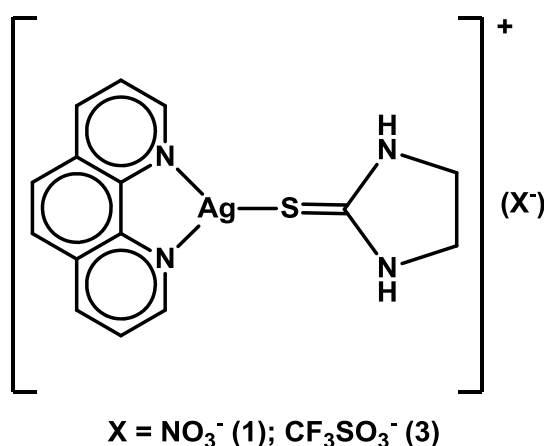


Figura 28 - Estrutura proposta para os complexos 1 e 3.

Fonte: autor

Para o composto 2 serão realizados mais estudos para propor uma estrutura, visto que apresenta uma estrutura diferente em relação aos compostos 1 e 3.

No estado sólido, existe a possibilidade desses compostos existirem na forma de dímeros de fórmula $[\text{Ag}(\text{phen})(\mu\text{-imt})_2(\text{X})_2]$ nos quais o átomo de prata encontra-se tetracoordenado. No trabalho de Segura et. al. (2014), resultados provenientes da determinação estrutural via difração de raios X de monocristal revelaram a formação do dímero $[\text{Ag}(\text{bpy})(\mu\text{-tu})_2(\text{NO}_3)_2]$ (bpy = 2,2'-bipiridina; tu = tiouréia). Por analogia, seria plausível esperar para os compostos 1 e 3 uma estrutura de um dímero catiônico bivalente, estabilizada pela presença de dois íons nitrato (1) e trifluormetanosulfonato (3) balanceando essa carga (Figura 29). Cada unidade $\text{Ag}(\text{phen})$ seria unida por duas moléculas de imidazolidina-2-tiona em ponte, resultando uma estrutura binuclear.

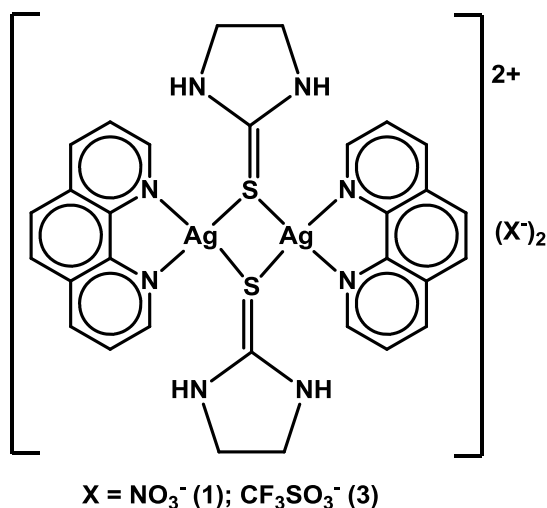


Figura 29 - Estrutura binuclear proposta para os complexos 1 e 3 em analogia ao composto $[\text{Ag}(\text{bpy})(\mu\text{-tu})_2(\text{NO}_3)_2]$ (bpy = 2,2'-bipiridina; tu = tiouréia).

Fonte: autor

4.2 Complexos de fórmula geral $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{X}$ (dppz = dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina; $\text{X} = \text{BF}_4, \text{CF}_3\text{SO}_3, \text{NO}_3$)

Os complexos foram preparados a partir da reação entre os respectivos sais de prata ($\text{AgBF}_4, \text{AgCF}_3\text{SO}_3$ e AgNO_3) e os ligantes dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina e imidazolidina-2-tiona, na proporção 1:1:1 em acetonitrila e/ou metanol, com a solubilização da imt em metanol, à temperatura ambiente e proteção constante da luz devido à fotosensibilidade da prata.

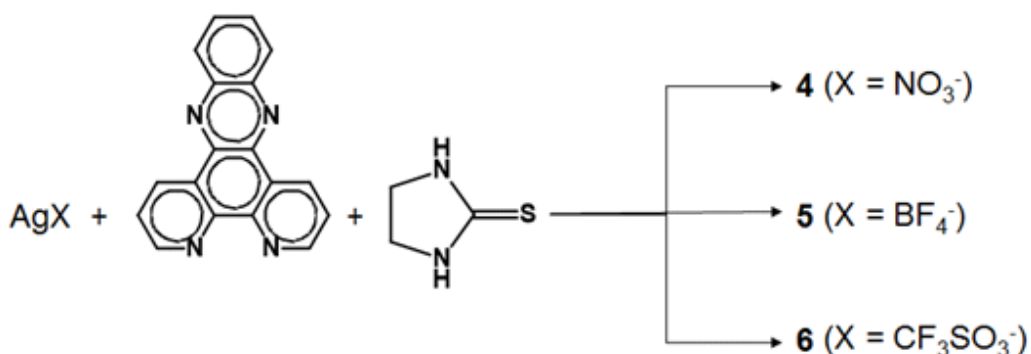


Figura 30 - Esquema de síntese dos compostos 4, 5 e 6.

Fonte: autor.

Os compostos inéditos 4, 5 e 6 são sólidos, de coloração amarelo claro, estáveis às condições ambientes, solúveis em dmsu. O composto 5 é também insolúvel em pentano, clorofórmio e acetona. Os compostos 4 e 6 são pouco solúveis em clorofórmio, dmf e dmsu.

4.2.1 Análise Elementar

As análises elementares dos compostos contribuíram para indicar a proporção entre o metal e os ligantes e os resultados mostraram características diferentes entre os compostos. Para os compostos 4, 5 e 6 observou-se a proporção 1:1:1 entre o centro metálico e os ligantes (Ag: dppz: imt) com um contra-íon balanceando a carga da molécula, indicando fórmula mínima para os compostos de $[Ag(dppz)(imt)]X$, onde X é NO_3^- , BF_4^- e $CF_3SO_3^-$, respectivamente. Os teores dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidos experimentalmente e calculadas encontram-se listadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar dos compostos 4, 5 e 6.

Composto	%C		%H		%N	
	Calculado	Obtido	Calculado	Obtido	Calculado	obtido
4	45,50	40,16	2,91	2,75	17,69	16,00
5	43,55	44,15	2,78	2,56	14,51	13,79
6	41,20	44,28	2,51	2,50	13,10	12,93

Fonte: autor.

4.2.2 Condutividade Molar

As condutividades molares dos complexos 5 e 6 foram obtidas em soluções de dmso e são apresentadas na Tabela 8. De acordo com os estudos de condutividade de complexos na literatura (VELHO, 2006) os valores encontrados para o composto 5 e 6 são típicos de compostos eletrólitos 1:1.

Tabela 8 - Condutância molar em dmso dos complexos 5 e 6.

Composto	$\mu S cm^2 mol^{-1}$
4	-
5	23,1
6	20,0

Fonte: autor.

Não foi possível medir a condutividade do composto 4 devido à impossibilidade de solubilização em diversos solventes.

4.2.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Considerações espectroscópicas sobre o ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina

Semelhante à phen, a dppz possui como principais bandas ν_{CC} e ν_{CN} , ν_{CH} (ar) e respiração do anel, assim como banda ν_{OH} proveniente da hidratação do ligante. Os principais modos vibracionais da dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina estão representados no espectro de IV do ligante, como segue na Figura 32.

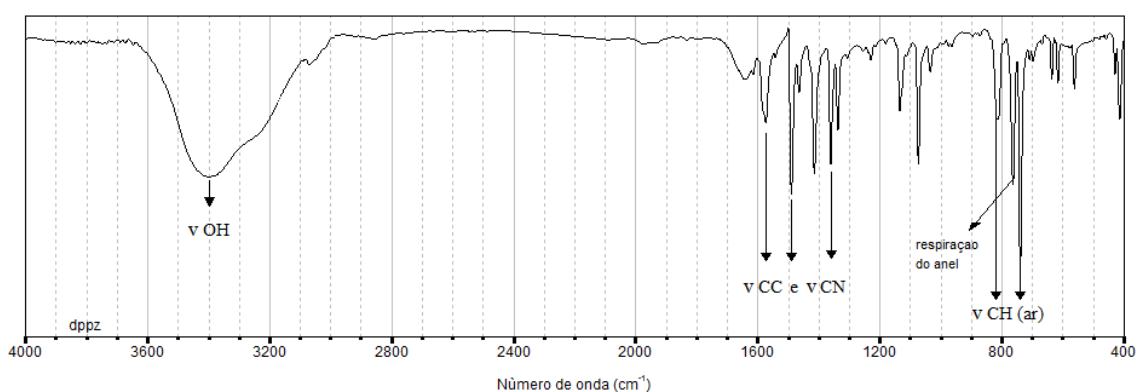


Figura 31 - Espectro vibracional no infravermelho do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.
Fonte: autor.

Espectroscopia vibracional na região do IV dos complexos:

A atribuição das bandas provenientes da imt e dppz seguiu evidenciar a coordenação do S e N ao átomo de prata, assim como observar os grupos aniônicos presentes nos compostos nos espectros de IV obtidos. A Figura 33 representa os espectros no IV dos complexos 4-6 obtidos em comparação aos ligantes dppz e imt. As principais frequências vibracionais presentes nos espectros dos compostos foram atribuídas e encontram-se listadas na Tabela 9.

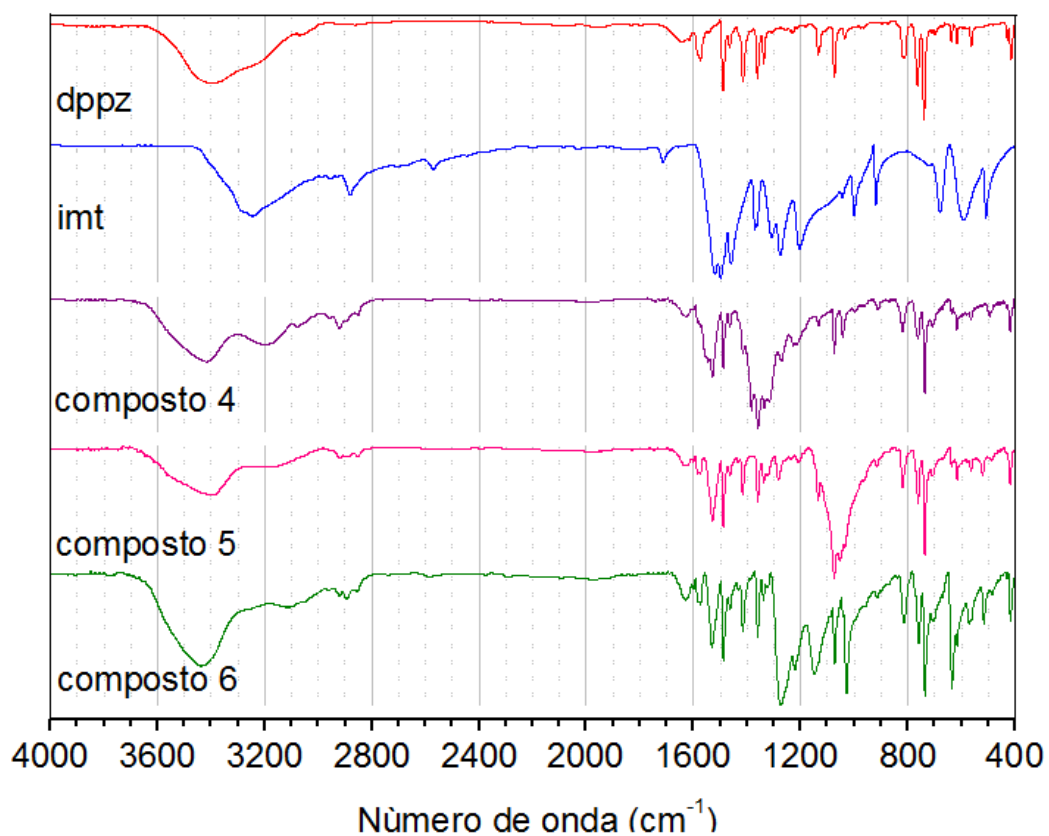


Figura 32 - Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os ligantes dppz e imt e os complexos 4- 6 na região de 4000- 400 cm⁻¹.

Fonte. autor.

As bandas e atribuições referentes aos ligantes e complexos 4-6 estão apresentadas na Tabela 09.

Tabela 9 - Principais absorções observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes livres dppz e imt e dos complexos 4- 6 e suas respectivas atribuições.

Atribuições	dppz	imt	4	5	6
Dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina					
ν OH	3406	-	3407	3412	3415
ν CC e ν CN	1574	-	-	1574	1574
	1488	-	1489	1489	1488
	1361	-	-	1360	1360
δ CH(ar)	815	-	815	820	811
	740	-	740	740	740
Respiração do anel	763	-	762	759	760
Imidazolidina-2-tiona					
ν N-H	-	3247	3189	-	-
ν CH ₂	-	2882	2852	2850	2857
ν S-H	-	2572	-	-	-
ν CN + δ NH	-	1522	1545	1529	1532
ν CN (Tioamida I)	-	1499	1531	-	-
ν CS + δ anel (Tioamida IV)	-	512	494	-	-
Trifluormetanosulfonato					
ν SO ₃	-	-	-	-	1271
ν SO ₃	-	-	-	-	1028
ν CF ₃	-	-	-	-	1223
ν CF ₃	-	-	-	-	1149
Tetrafluorborato					
ν BF	-	-	-	1056	-
	-	-	-	522	-
Nitrato					
ν NO	-	-	1384	-	-
	-	-	-	-	-

Fonte: autor.

Os principais indícios de coordenação da imt nos compostos 4-6 podem ser observados pelos estiramentos ν CH₂, onde a banda nos complexos foi observada deslocada para menores números de onda em relação ao ligante livre (2882 cm⁻¹) que devido à coordenação ao centro metálico retira densidade eletrônica desse grupo e ν CN

+ δ NH que também apresentaram-se deslocadas, porém para maiores números de onda devido ao caráter de ligação dupla entre CN resultante da coordenação ao centro metálico. As bandas atribuídas à dppz não sofreram deslocamentos nos complexos quando comparado ao ligante livre, como pode ser observado nos espectros dos complexos 4-6 e dos ligantes na Figura 32. O contra-íons foram encontrados em sua forma iônica, sendo sua presença indicada no composto 4 pelos sinais do nitrato em 1384 cm^{-1} , no composto 5 pelos sinais do tetrafluorborato em 1056 e 522 cm^{-1} e no composto 6 pelas banda do trifluometanosulfonato em 1271 , 1223 , 1149 e 1028 cm^{-1} .

4.2.4 Espectroscopia de RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H do ligante dppz está representado pela Figura 33. Os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^1H estão contidos na Tabela 10. Todos os espectros foram obtidos usando dmsO-d_6 como solvente. Para melhor identificação dos sinais de RMN de ^1H foram utilizadas as seguintes identificações numéricas para facilitar a compreensão dos resultados obtidos (Figura 34).

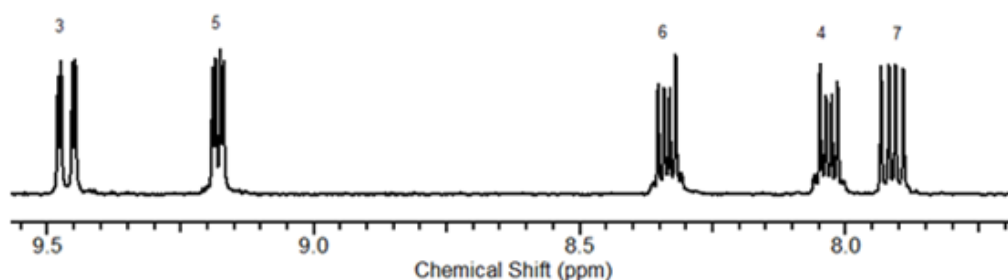


Figura 33 - Espectros de RMN de ^1H do ligante dppz.

Fonte: autor.

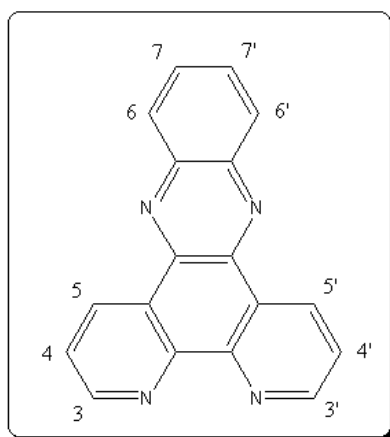


Figura 34 - Esquema de numeração dos ligantes.

Fonte: autor.

Devido à equivalência dos hidrogênios de cada lado da dppz, observam-se cinco sinais correspondentes aos hidrogênios H3/3', H4/4', H5/5', H6/6' e H7/7'. Os sinais presentes em 7,91 ppm, 8,03 ppm, 8,34 ppm, 9,18 ppm e 9,46 ppm correspondem aos hidrogênios metínicos, H7/7', H4/4', H6/6', H5/5' e H3/3', tais picos são observados como dubleto de dubletos. Os sinais da imt já foram descritos anteriormente (Figura 20).

Os espectros dos complexos 5 e 6 estão representados nas Figuras 36 e 37, respectivamente, e suas atribuições estão presentes na Tabela 10. A baixa solubilidade do composto $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{NO}_3$ (4) impossibilitou a obtenção de espectros de RMN.

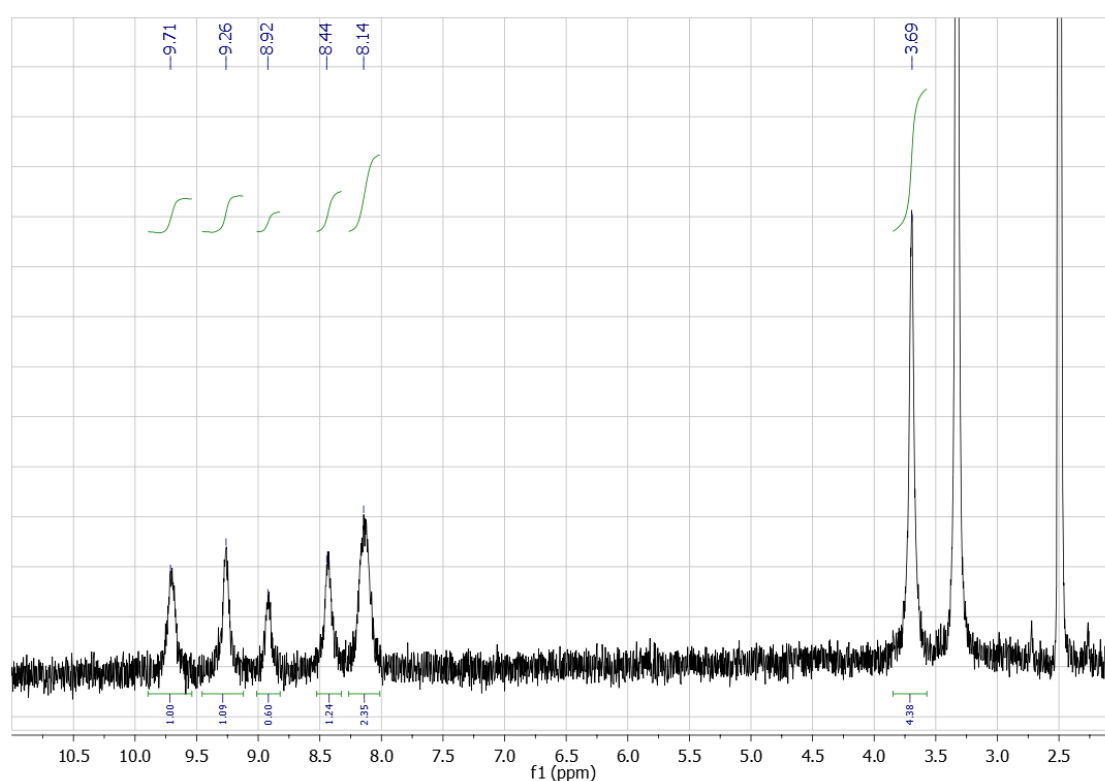


Figura 35 - Espectro de RMN de 1H do composto $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{BF}_4$ (5).

Fonte: autor.

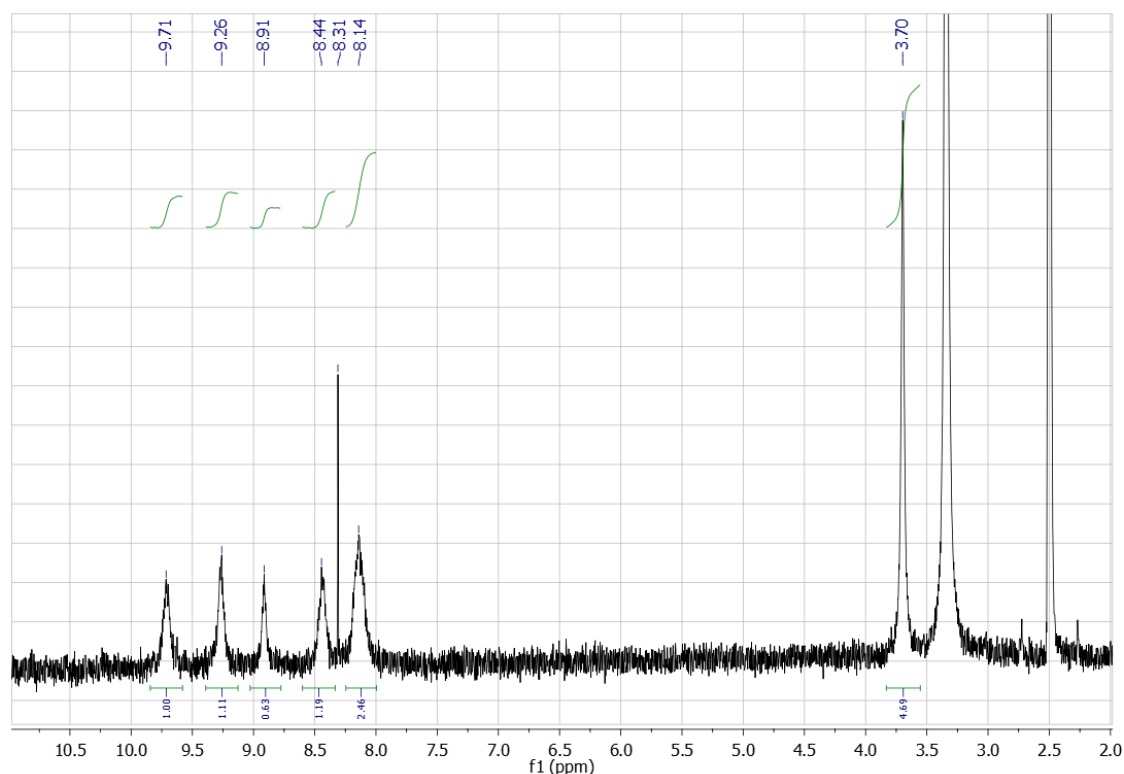


Figura 36 - Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{CF}_3\text{SO}_3$ (6).

Fonte: autor.

A partir da comparação entre os espectros de RMN da dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina e da imt e os dos compostos com os sinais dos compostos obtidos é possível observar um deslocamento de todos os sinais para regiões de campo mais desblindado, sugerindo a coordenação dos ligantes ao centro metálico nos compostos 5 e 6. Os espectros de RMN dos compostos são muito parecidos, o que indica uma similaridade estrutural entre as espécies 5 e 6 em solução. Analisando a integração dos sinais da dppz e da imt, nota-se que esses ligantes obedecem uma relação 1:1, o que concorda com a fórmula $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X}: \text{BF}_4^-, \text{CF}_3\text{SO}_3^-\}$. Na região entre 10-8,0 ppm, observa-se um conjunto de cinco sinais alargados, dos quais quatro correspondem aos núcleos do ligante dppz H7/H7' (9,71 ppm), H6/H6' (9,26 ppm), H5/H5' (8,44 ppm) e H4/H4'+H3/H3' (8,14 ppm). Tal fato indica que a dppz encontra-se em um ambiente simétrico na estrutura de ambos os complexos. O sinal em 8,91 ppm é atribuído ao grupo NH do ligante imt. O sinal associado aos prótons metilênicos do imt é encontrado em torno de 3,70 ppm.

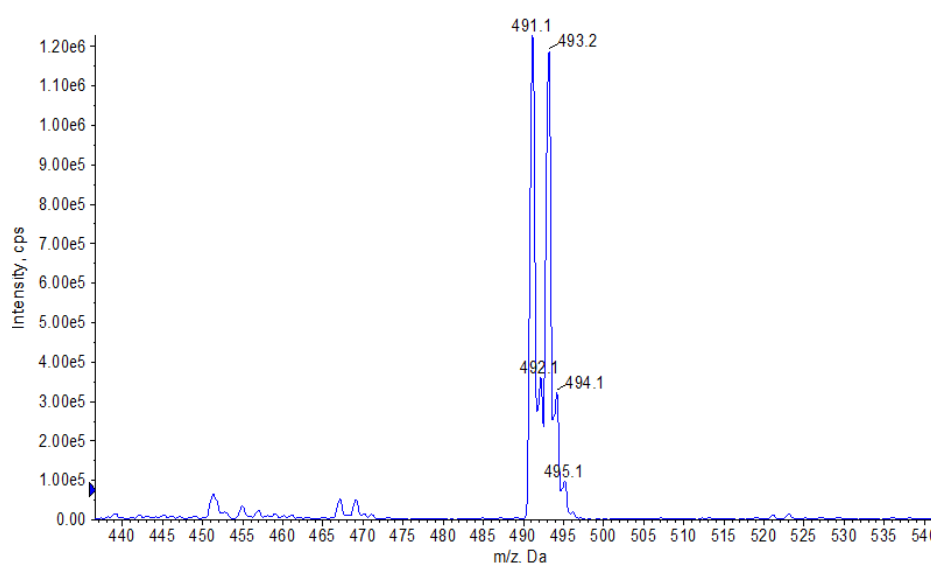
Tabela 10 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H para os compostos 5 e 6.

	4	5	6
NH1/1'	-	8,91 (al., 2H)	8,92 (al., 2H)
CH2/2'	-	3,69 (al., 4H)	3,70 (al., 4H)
3/3', 4/4'	-	8,14 (al., 4H)	8,14 (al., 4H)
5/5'	-	8,44 (al., 2H)	8,44 (al., 2H)
6/6'	-	9,26 (s., 2H)	9,26 (al., 2H)
7/7'	-	9,71 (al., 2H)	9,71 (al., 2H)

Fonte: autor.

4.2.5 Espectrometria de Massas

A formação de complexos de prata de estequiometria $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X}: \text{BF}_4^-$ (5) e CF_3SO_3^- (6) $\}$ foi confirmada via espectrometria de massas (Figura 37 e 38). Evidenciam-se os picos em $m/z = 491,1$ e $493,2$ para o composto 5 e $m/z = 491,1$ e $493,1$ para o composto 6, contendo a distribuição isotópica prevista referente ao espectro de massas calculado para o íon molecular (M^+) utilizando como fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{AgN}_6\text{S}$, $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]^+$ (Figura 39). O padrão isotópico dos picos sugere que os compostos 4 e 5 apresentam um comportamento monomérico em solução. Não foi possível obter o espectro de massas do composto 4 em função da sua insolubilidade em diversos solventes.

**Figura 37** - Extensão do espectro de massas obtido para o composto 5.

Fonte: autor.

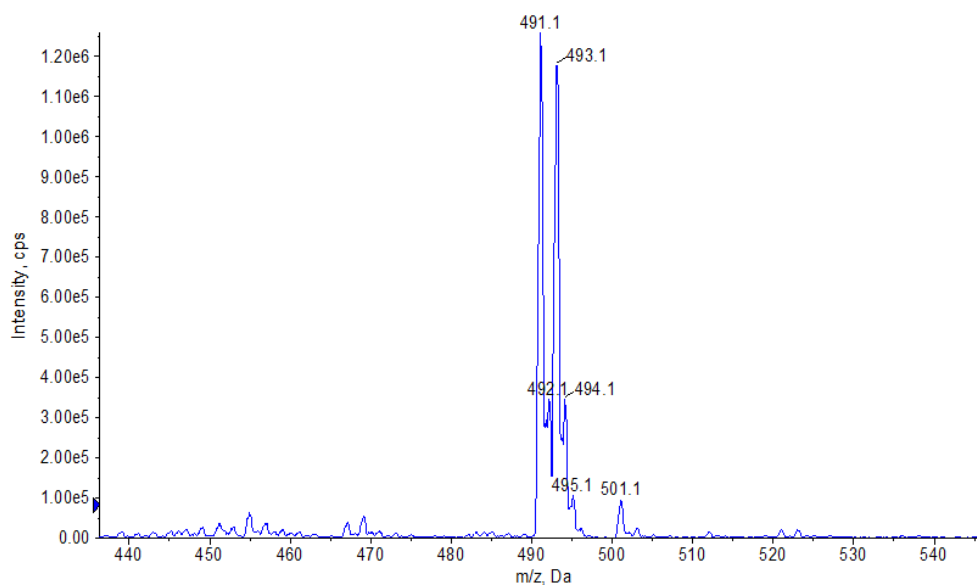


Figura 38 - Extensão do espectro de massas obtido para o composto 6.
Fonte: autor.

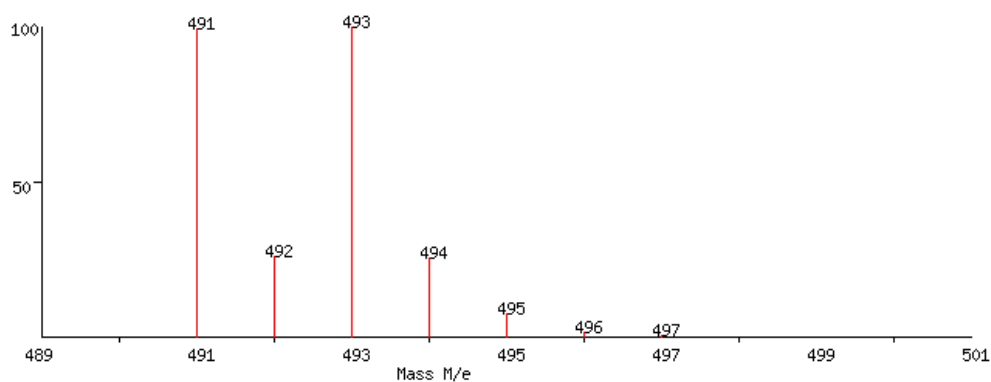


Figura 39 - Espectro de massas calculado para o íon molecular do composto 5 e 6.
Fonte: autor.

4.2.6 Proposição Estrutural

De modo análogo aos compostos contendo a 1,10-fenantrolina, sugere-se a formação de uma espécie mononuclear na qual há uma geometria trigonal planar ao redor do átomo de prata, com seus sítios de coordenação ocupados por dois átomos de nitrogênio da molécula de dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina e um átomo de enxofre proveniente da imidazolidina-2-tiona. Os contra-íons NO_3^- (4), BF_4^- (5) e CF_3SO_3^- (6) completam a composição desses complexos (Figura 40).

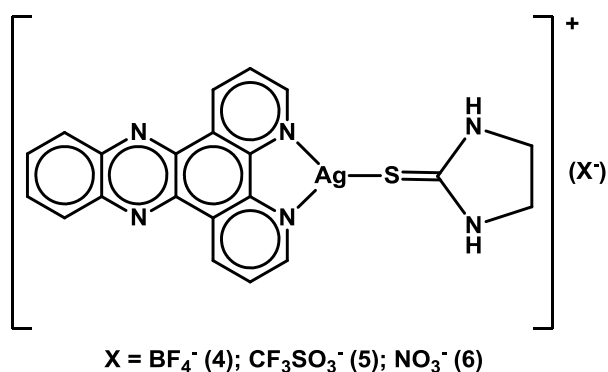


Figura 40 - Estrutura proposta para os complexos 4, 5 e 6.
Fonte: autor.

Cabe mencionar que é plausível que esses compostos existam na forma de dímeros ou espécies multinucleares no estado sólido em que os ligantes imt atuam como ponte via átomo de enxofre entre os centros metálicos tetracoordenados. Novas tentativas de obtenção de monocristais deverão ser realizadas objetivando elucidar a estrutura molecular e cristalina desses compostos.

4.2.7 Ensaio Biológicos

Os resultados de concentração mínima inibitória (CIM), efeito citotóxico frente às células MCR-5 e o índice de seletividade estão apresentados na Tabela 11. Para efeito de comparação, a atividade dos ligantes livres phen e imt também foram analisados nas mesmas condições experimentais.

Tabela 11 - Atividade inibitória frente a *M. tuberculosis* H37Rv (MIC), efeito citotóxico frente às células MCR-5 (IC₅₀) e índice de seletividade (SI) para os compostos 1- 6 e os ligantes precursores.

Compostos	MM	CIM		IC ₅₀		IS
	g/mol	µg/mL	µM ^a	µg/mL	µM ^a	(IC ₅₀ /MIC)
1	452,24	7,02	15,52	5,782	12,78	0,82
2	668,31	5,12 ^b	7,79 ^b	7,318 ^b	10,95	1,40
3	539,30	9,34	17,32	9,324	17,29	0,99
4	584,40	>25,0	-	15,41	26,37	-
5	590,20	>25,0	-	34,65	58,71	-
6	671,46	>25,0	-	37,13	55,56	-
imt	132,23	>25,0	-	*		
phen	180,21	2,30 ^c	12,8 ^c	*		
dppz	282,30	*		*		

Fonte: autor.

MIC: Concentração inibitória mínima.

^a: calculada em mols de [Ag(N,N'-diimina)(imt)]X.

^b: calculada em mols de [Ag(phen)₂(imt)]BF₄.

^c: Segura, 2014

*: aguardam-se os resultados

Considerando os ligantes livres, a phen apresentou-se a mais ativa com valores de MIC de 12,8 µM. Tal observação pode ser atribuída à hipótese da bioatividade da phen sequestrar metais de transição, formando complexos metálicos nos organismos, os quais são considerados as espécies ativas na ação da phen (SEGURA, 2013). Já a imidazolidina-2-tiona demonstrou ser inativa frente a MTB (MIC₉₀ > 25 µg/mL).

Comparando-se os valores de MIC₉₀ dos compostos 1 e 3 e seus análogos contendo tiouréia [Ag(phen)(tu)]NO₃ (11,0 ± 0,99 µM) e [Ag(phen)(tu)]OTf (14,2 ± 2,81 µM) (SEGURA, 2013), verifica-se que a substituição da tiouréia por imidazolidina-2-tiona não resulta em uma potencialização do efeito tuberculostático.

Vale ressaltar que a ação antiproliferativa dos compostos 1, 2 e 3 é superior a outros complexos de prata encontrados na literatura, como a [Ag(6-mercaptopurine)].H₂O (93,2 µM) (PAZDERSKI et. al., 2007), [Ag(tartarato)] (31 µM) e da sulfadiazina de prata (22 µM) (CUIN et. al., 2007). A atividade antiproliferativa dos compostos também foi maior que a da pirazinamida (406 - 812 µM), um dos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose (CUIN et. al., 2011; MORO et. al., 2009). Os

compostos 1, 2 e 3 apresentaram valores semelhantes de MIC, indicando que a substituição dos íons não influencia na bioatividade dos compostos.

Já os compostos 4, 5 e 6 apresentaram valores de MIC $>25,0 \mu\text{g/mL}$, atividade biológica inferior ao ligante phen e seus compostos de prata. Por outro lado, esses compostos demonstraram ser menos citotóxicos frente as células MCR5 quando comparados aos seu análogos contendo 1,10-fenantrolina como ligante.

De uma maneira geral, todos os complexos apresentaram um índice de seletividade (SI) desfavorável para pesquisas mais avançadas. Os resultados de MIC, dos compostos obtidos por Segura (SEGURA, 2013) foram similares aos complexos obtidos com a phen e imt, com exceção do complexo $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{tu})]\text{BF}_4$, que apresentou mínima concentração inibitória $>25,0 \mu\text{g/mL}$. Dessa forma, sugere-se que substituição do ligante sulfurado não influenciou na atividade tuberculostática dos compostos.

5 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram sintetizados e caracterizados 6 compostos inéditos de prata (I) contendo ligante 2,2'-diimínicos e imidazolidina-2-tiona em suas estruturas.

De acordo com os resultados obtidos, pelas técnicas de espectroscopia vibracional na região do infravermelho, de ressonância magnética nuclear de ^1H , análise elementar, espectrometria de massas foi possível inferir as estruturas dos compostos do tipo $[\text{Ag}(\text{phen})(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X} = \text{NO}_3^- , \text{CF}_3\text{SO}_3^-\}$ e $[\text{Ag}(\text{dppz})(\text{imt})]\text{X}$ $\{\text{X} = \text{NO}_3^- , \text{CF}_3\text{SO}_3^- , \text{BF}_4^-\}$. As técnicas espectroscópicas contribuíram para identificar o modo de coordenação dos ligantes phen, dppz e imt, corroborando com resultados de condutividade molar para os compostos. Destacam-se a importância das bandas no IV referentes ao grupo tioamida em todos os complexos sintetizados e δCH fora do plano referente à phen nos compostos 1, 2 e 3 e os sinais deslocados nos RMN de ^1H de todos os complexos na caracterização dos compostos. As análises via espectrometria de massas e análise elementar foram úteis na identificação dos ligantes presentes na esfera de coordenação. Todos os compostos formados corroboram a proporção 1:1:1 de $\text{Ag}^+:\text{phen}/\text{dppz}:\text{imt}$, com exceção do composto 2 que através dos resultados obtidos pelas técnicas de RMN de ^1H , análise elementar e espectrometria de massas indicaram a proporção 1:2:1 de $\text{Ag}^+:\text{phen}:\text{imt}$. Não foi possível determinar a estrutura dos compostos via difração de raios X, porém novas tentativas de obtenção de monocristais serão realizadas.

De um modo geral, os compostos contendo dppz mostraram-se inativos frente a *Mycobacterium tuberculosis*, enquanto que os compostos contendo phen apresentaram resultados de MIC $< 10 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Entretanto, os complexos foram tóxicos frente às células de fibroblasto pulmonar MCR5, refletindo em índices de seletividades (SI) desfavoráveis. Além disso, verificou-se nesse trabalho que substituição da tiouréia por imidazolidina-2-tiona, assim como a troca de contra-íons não resultou em uma potencialização do efeito tuberculostático.

REFERÊNCIAS

- ASLAM, S. et al. Synthesis, spectroscopic characterization, DFT calculations and microbial properties of silver(I) complexes of 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline, **Polyhedron**, v. 115, p. 212-218, 2016.
- ATKINS, P. et al. **Shriver & Atkins inorganic chemistry**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2010.
- AVALOS-ALANÍS, F. G. et al. Synthesis, antimycobacterial and cytotoxic activity of a,b-unsaturated amides and 2,4-disubstituted oxazoline derivatives, **Bioorganic and Medicinal Chemical Letters**, v. 27, n. 4, p. 821-825, 2017.
- BAILAR, J. C.; TROTMAN DICKENSON A. F. **Comprehensive inorganic chemistry**. Oxford: Pergamon Press, 1975.
- BOUDALIS, A. K.; NASTOPOULOS, V.; PERLEPES, S. P. Reactions of 2,2'-bipyridine (bpy) and 1,10-phenanthroline (phen) with yttrium(III) nitrate: preparation, X-ray crystal structures and spectroscopic characterization of the bis-bpy and bis-phen complexes. **Transition Metal Chemistry**, v.26, p. 276-281, 2001.
- CECILIO, H. P. M. et al. Perfil das internações e óbitos hospitalares por tuberculose. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 26, n. 3, p. 250-255, 2013.
- CUIN, A. et. al. Synthesis, X-ray structure and antimycobacterial activity of silver complexes with α -hydroxycarboxylic acid. **Journal Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 291-296, 2007.
- CUIN, A. et. al. 6-Mercaptopurine complexes with silver and gold ions: Anti-tuberculosis and anti-cancer activities. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol. 65, 2011, p. 334-338.
- DIXIT, V. **Synthesis, characterization and antimicrobial activity of novel phosphine stabilised silver (I) dicarboxylate complexes**. 2010. 86 f. Thesis (Doctor Philosophy) - School of Food Science and Environmental Health, Dublin Institute Technology, 2010.
- FRANZBLAU, S. G. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 362-366, 1998.
- HUHEEY, J. E.; KEITER E. A.; KEITER R. L. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**, 4th ed. New York: Harper & Row, 1993.
- JUNG, W. K. et al. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 2171-2178, 2008.
- KLASEN H. J. Historical review of the use of silver in the treatment of burns II. Renewed interest for silver. **Burns**, v. 26, p. 131-138, 2000.

LAWRENCE, G. A. Coordinated trifluoromethanesulfonato and fluorosulfate. **Chemical Reviews**, v. 86, p. 17-33, 1986.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

LIN, J. et. al. Synthesis and characterization of platinum(II) complexes with 2-imidazolidinethione. X-ray crystal structure of tetra(2-imidazolidinethione-S) platinum(II) iodide dimethylsulfoxide solvate monohydrate. **Journal Coordination Chemistry**, v. 61, p. 2457-2469, 2008.

MANURA, J. J.; MANURA, D. J. **Isotope distribution calculator and mass spec ploter**. Rigoes: Scientific Instruments Services. Disponível em: <<http://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>>. Acesso em: 19 dez. 2016.

McDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, p. 147-179, 1999.

MIRANDA, F. S. **Desenvolvimento e estudo teórico de novos ligantes derivados da 1,10-fenantrolina e seus complexos de ferro (II)**. 2008. 187 f. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MORO, A. C. et al. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of [Pd(C2,N-dmba)(Br)(tu)] (dmba = N,N-dimethylbenzylamine, tu = thiourea). **European Journal Medical Chemistry**, vol. 44, p. 4611-4615, 2009.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1986.

NAWAZ, S. et al. Synthesis, characterization and antimicrobial studies of mixed ligand silver (I) complexes of triphenylphosphine and heterocyclic thiones: crystal structure of bis[{(μ₂-diazinane-2-thione)(diazinane-2-thione)(triphenylphosphine)silver(I)nitrate}], **Polyhedron**, v. 30, p. 1502-1506, 2011.

PAZDERSKI, L. et. al. ¹H, ¹³C and ¹⁵N NMR coordination shifts in glod (III), cobalto (III), rhodium (III) chloride complexes with pyridine, 2,2'-pyridine and 1,10-phenanthroline. **Magnetic Resonance Chemistry**, v. 45, p. 24- 36, 2007.

POPOVIC, Z. et al. Mercury(II) compounds with 1,3-imidazole-2-thione and its 1-methyl analogue. Preparative and NMR spectroscopic studies. The crystal structures of di-μ-iodo-bis[iodo(1,3-imidazolium-2-thiolato-S)mercury(II)], bis[bromo(1,3-imidazolium-2-thiolato-S)]mercury(II) and bis[μ-(1-N-methyl-1,3-imidazole-2-thiolato-S)]mercury(II). **Inorganica Chimica Acta**, v. 294, n. 1, p. 35-46, 1999.

RAAB, K. et al. W. Organometallic Lewis acids. XIV. Ethylene-bridged manganese and rhenium carbonyls; low-temperature X-ray structure of the ethylene-bridged rhenium carbonyl (OC)₅ReCH₂CH₂Re(CO)₅. **Zeitschrift fuer Naturforschung, Teil B: Anorganische Chemie, Organische Chemie**, v. 38b, n. 11, 1466-1476, 1983.

ROCHA, D. P. et al. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 111-118, 2011.

SATO, M. R. **Carreadores lipídicos nanoestruturados para incorporação de complexos de cobre(II) aplicáveis no estudo frente ao *Mycobacterium tuberculosis***, 2016. 43 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologias Aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

SATO, D. N. **Avaliação rápida do perfil de sensibilidade do agente da tuberculose às drogas sintéticas ou extratos vegetais empregando *Mycobacterium tuberculosis* contendo o gene da luciferase**. 2003. 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

SEGURA, D. F. **Síntese, caracterização e estudo de atividade biológica de complexos de prata (I) contendo ligantes baseados na 1,10-fenantroline e tiouréia**. 2014. 135 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

SEGURA, D. F. et. al. Synthesis and biological evaluation of ternary compound silver bearing N,N'-chelating ligands and thiourea: x-ray structure of $[{\text{Ag}}(\text{bpy})(\mu\text{-tu})_2](\text{NO}_3)_2$ (bpy = 2,2'-bipyridine, tu= thiourea). **Polyhedron**, v. 79, p. 197-206, 2014.

SINGH, B.; THAKUR, K. P. Thioamide bands and nature of bonding, II. **Journal Inorganic Nuclear Chemistry**, v. 36, p. 1735-1737, 1974.

SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 678-682, 2005

THURMANN, R. B.; GERBA, C. P. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viroses. **Critical Reviews in Environmental Control**, v. 18, p. 295-315, 1989.

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. 170 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2016**. Geneva, 2016. Disponível em:
<<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf?ua=1>>.
Acesso em: 16 dez. 2016.