UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE QUÍMICA - Araraquara

Tese de Doutorado

Síntese, caracterização e estudo de atividade biológica de complexos de prata(I) contendo ligantes baseados na 1,10-fenantrolina e tiouréia

Daniel Fonseca Segura

Araraquara
2014

DANIEL FONSECA SEGURA

Síntese, caracterização e estudo de atividade biológica de complexos de prata(I) contendo ligantes baseados na 1,10-fenantrolina e tiouréia

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

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem

Araraquara
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Segura, Daniel Fonseca
S456s Síntese, caracterização e estudo de atividade biológica de complexos de prata(I) contendo ligantes baseados na 1,10-fenantrolina e tiouréia / Daniel Fonseca Segura. – Araraquara : [s.n], 2014
135 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Regina Celia Galvao Frem

1. Química inorgânica. 2. Leishmania. 3. Tuberculose. 4. Fungos. 5. Bactérias. I. Título.

Elaboração: Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DANIEL FONSECA SEGURA

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

Araraquara, 06 de junho de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara

Profª. Drª. VANIA MARTINS NOGUEIRA
Instituto de Química / UNESP / Araraquara

Prof. Dr. ANTONIO EDUARDO MAURO
Instituto de Química / UNESP / Araraquara

Prof. Dr. ALEXANDRE CUIN
Instituto de Ciências Exatas / UFJF / Juiz de Fora

Prof. Dr. ADRIANO BOF DE OLIVEIRA
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia / UFS / São Cristovão

DADOS CURRICULARES

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2008-2010 Mestrado em Química
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - IQ-UNESP
Título: Estudos preliminares da preparação de fibras ópticas plásticas e híbridos orgânicos-inorgânicos luminescentes a partir de poli(metacrilato de metila) comercial.
Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro

2003-2007 Bacharelado em Química
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - IQ-UNESP
Título: Preparação e caracterização de filmes de cristais coloidais de látex e sua utilização para preenchimento de colunas capilares.
Orientador: Prof. Dr. Sidney José Lima Ribeiro
Co-orientador: Younès Messaddeq

PUBLICAÇÕES

SEGURA, D. F.; NETTO, A. V.; FREM, R. C.; MAURO, A. E.; SILVA, P. B. DA; FERNANDES, J. A.; PAZ, F. A.; DIAS, A. L.; SILVA, N. C.; ALMEIDA, E. T. DE; MARQUES, M. J.; ALMEIDA, L. DE; ALVES, K. F.; PAVAN, F. R.; SOUZA, P. C. DE; BARROS, H. B. DE; LEITE, C. Q. Synthesis and biological evaluation of ternary silver compounds bearing N,N-chelating ligands and thiourea: X-ray structure of $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (bpy = 2,2'-bipyridine; tu = thiourea). **Polyhedron**, *in press*, 2014.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

1. SEGURA, D. F. ; Netto, A. V. G. ; FREM, R. C. G. ; Mauro, A.E. ; SILVA, P. B. ; FERNANDES, J. A. ; PAZ, F. A. A. ; DIAS, A. L. ; SILVA, N. C. ; ALMEIDA, E. T. ; MARQUES, M. J. ; Almeida, L. ; ALVES, K. F. ; PAVAN, F. R. ; SOUZA, P. C. ; BARROS, H. B. ; LEITE, C. Q. F. . Synthesis and Biological Evaluation of new dimeric silver compounds with N,N-chelating ligands. In: 5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine Frontier and New Prespectives,

2. SEGURA, D. F. ; RODRIGUES, C. ; NOGUEIRA, V. M. ; ALMEIDA, E. T. ; Adelino Vieira de Godoy Netto ; FREM, R. C. G. ; Mauro, A.E. . Síntese e caracterização de novos ligantes fenantrolínicos. In: 36a Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Quimica, 2013, Aguas de Lindoia.

3. SEGURA, D. F.; Adelino Vieira de Godoy Netto ; NOGUEIRA, V. M. ; FREM, R. C. G. . Síntese e caracterização de compostos de prata (I) contendo 1,10-fenantrolina e tiouréia. In: 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis / SC.

4. SEGURA, D. F. ; Ferminio C. Polachini ; Eduardo M. Teixeira ; Yuri A. P. de Andrade ; Luiz H. L. Pires ; Sidney J. L. Ribeiro ; Younès Messaddeq . Preparation and Characterization of PMMA Based Optical Fibers. In: XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry (BMIC2008), 2008, Foz do Iguaçú.

5. Mateus Geraldo Schiaveto ; SEGURA, D. F. ; POLACHINI, F. C. ; Sidney J. L. Ribeiro . PREPARAÇÃO DE CRISTAIS COLOIDAIS DE ESFERAS DE LÁTEX E SUA UTILIZAÇÃO EM CROMATOGRAFIA ÓPTICA. In: 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Aguas de Lindoia.

6. SEGURA, D. F. ; Ferminio C. Polachini ; Sidney J. L. Ribeiro ; Younès Messaddeq . CONFECÇÃO DE TUBOS CAPILARES PARA ELETROFORESE CAPILAR. In: 16º Encontro da SBQ - Regional, 2007, Franca.

7. SEGURA, D. F. ; Mateus Geraldo Schiaveto ; Roberto Bertholdo ; Sidney J. L. Ribeiro ; Younès Messaddeq . Preparação de Cristais Fotônicos 3D a partir de esferas monodispersas de látex. In: SBQ Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, 2007, Franca.

8. SEGURA, D. F. ; POLACHINI, F. C. ; Sidney J. L. Ribeiro ; Younès Messaddeq . Confection of Capillary Tubes for Capillary Electrophoresis. In: IV International Symposium on Non-Crystalline Solids, 2007, Aracaju / SE.

9. SEGURA, D. F. ; Mateus Geraldo Schiaveto ; Roberto Bertholdo ; Sidney J. L. Ribeiro ; Younès Messaddeq . Preparation of Colloidal Crystals Three-Dimensional Films Starting Monodispersed Latex Spheres. In: IV International Symposium on Non-Crystalline Solids, 2007, Aracaju / SE.

ESTÁGIOS

• Estágio de doutorado no exterior realizado na “University of Nottingham”, em Nottingham (Inglaterra) sob supervisão do Dr. Neil R. Champness no período de 01/02/2013 a 31/07/2013. Bolsa PDSE.

• Estágio-docência realizado junto à disciplina Química Inorgânica: Estruturas e Propriedades, oferecida aos alunos do 3º ano do curso de Bacharelado em Química da UNESP de Araraquara, período diurno, durante o 2º semestre do ano letivo de 2010 e ministrada pelos professores Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, Dra. Vânia Martins Nogueira e Dra. Elizabeth Berwerth Stucchi. A carga horária do estágio foi de 6 horas semanais.

• Estágio-docência realizado junto à disciplina Fundamentos de Química, oferecida aos alunos do 1º ano do curso de Farmácia e Bioquímica da UNESP de Araraquara, período noturno, durante o 1º semestre do ano letivo de 2009 e ministrada pelo professor Dr. Sidney José Lima Ribeiro. A carga horária do estágio foi de 4 horas semanais.

ORIENTAÇÕES

Coautoria do projeto para chamada: Universal 14/2012 - Faixa A, processo: 487092/2012-0, com o título: Síntese, caracterização e investigação da atividade antituberculostática de complexos de prata.

ORIENTAÇÕES

Iniciação científica: Cássio Rodrigues. Síntese, Caracterização e Investigação da Atividade Antituberculostática de Complexos de Prata. 2012. Bolsa CNPq.

Iniciação científica: Jéssica Bortoletto. Síntese, Caracterização e Investigação da Atividade Antituberculostática de Complexos de Prata. 2013. Bolsa CNPq.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Adelino, por me aceitar de braços abertos no grupo, pela sua dedicação, paciência e boa vontade, estando sempre disposto a ajudar até mesmo na bancada de laboratório. Mais que um orientador, um exemplo de como deve ser a relação entre professor e aluno.

À Prof. Dra. Regina, pelo carinho, incentivo e os bons papos no café. Itens fundamentais para o desenrolar do trabalho.

Ao Prof. Neil Champness e todo o seu grupo de pesquisa, por me aceitarem em seu laboratório e me proporcionarem uma experiência fantástica durante meu estágio no exterior.

A todos os professores do Dpto. de Química Geral e Inorgânica por todas as conversas, conselhos e momentos agradáveis.

Ao Dr. Nivaldo, pela obtenção e dicas com os espectros de RMN.

À Dr. Bianca, pela prontidão e grande ajuda na obtenção dos espectros de massas.

Ao Grupo do Prof. Dr. Eduarto Tonon da Universidade Federal de Alfenas pelos dados de Análise Elementar e os estudos biológicos de fungos, bactérias e leishmania.

Ao grupo do Prof. Dr. Fernando R. Pavan pelos estudos de atividade antituberculostaticas.

Ao grupo do Prof. Dr. José Fernandes da Universidade de Aveiro pelos resultados cristalográficos dos compostos.

Aos técnicos Rafael, Irene e Sérgio por toda a ajuda na obtenção dos espectros de IV e na manutenção diária do laboratório.

À todos os funcionários do IQ que, direta ou indiretamente, participaram na elaboração desse trabalho.

Aos colegas de grupo por todas as conversar, lamentações e amizade durante esses quatro anos.

A todos os amigos, de dentro e de fora da vida acadêmica, que nos ajudam a esquecer um pouquinho dos nossos problemas.

Aos meus pais, que me abriram caminho e me deram oportunidade de chegar até aqui.

À Thaís, por tudo que ela significa e pelo que conseguimos conquistar juntos. Sem ela nada disso seria possível!

À CAPES pela bolsa concedida.

"Não ganhe o mundo e perca sua alma; sabedoria é melhor que prata e ouro."

Bob Marley

RESUMO

Apesar de não ser um elemento biológico essencial, a prata metálica e seus derivados (ex. $AgNO_3$ e complexos) têm apresentado várias aplicações medicinais como na purificação da água, tratamento de ferimentos, recobrimentos anti-infecção de instrumentos médicos, no tratamento de queimaduras pois possuem propriedades anti-microbianas potentes com baixa toxicidade em seres humanos. Sua utilização como agente antimicrobiano nos remete ao inicio da história humana, sendo muito utilizada na preservação de água potável durante anos, recurso primordial em conflitos militares.

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados novos complexos de prata(I) do tipo Ag(NN)(tu)X, onde NN = 2,2'-bipiridina (bpy), 1,10-fenantrolina (phen), dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz) e 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd); tu = tiouréia e X = NO_3^-, $CF_3SO_3^-$, BF_4^- e SO_4^{2-}. Os complexos foram caracterizados pelas técnicas de espectroscopia na região do IV, ressonância magnética nuclear (^1H), análise elementar e espectrometria de massas. As estruturas moleculares dos complexos $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1) e $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ (D2) foram determinadas por difração de raios-X de monocristal, indicando um sistema binuclear com os centros de prata(I) conectados em ponte pelo atomo de enxofre da molécula de tiouréia.

A atividade biológica *in vitro* dos compostos $[Ag_2(bpy)_2(tu)_2](NO_3)_2$ (A1), $[Ag_2(phen)_2(tu)_2](NO_3)_2$ (B1) e $[Ag_2(phen)_2(tu)_2](CF_3SO_3)_2$ (B2) foram estudadas frente a fungos (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*), bactérias (*S. aureus*, *E. coli* e *P. aureginosa*), *M. tuberculosis* e formas amastigota e promastigota da *L. amazonensis*. Mesmo sendo um estudo bastante reduzido, tendo em vista a quantidade de microorganismos e de compostos estudados, foi possível averiguar algumas varições no comportamente biológico com a alteração tanto do ligante quelante NN quanto do contra-íon. Com resultados promissores, os estudos de atividade leishmanicidas do composto B2 mostrou um índice de seletividade (SI) com valores de 13,8-15,5, muito superiores aos observados para o fármaco padrão utilizado AmpB (5,5-5,83).

ABSTRACT

Even Ag^0, and its derivates, being not an essential element, they have presented medicinal applications such as water purification, injuries treatment, antiinfection recovery of medical instruments, burn treatment as they have powerful antimicrobial properties and low human toxicity. Silver compounds have been used as antimicrobial agent since the beginning of human history when it was added to potable water for preservation as a primary resource in military conflicts.

In the present work novel silver complexes (I) of Ag(NN)(tu)X type in which X = 2,2-bipiridine (bpy), 1,10-phenantroline (phen), dipirido[3,2-a:2',3'-c]phenazine (dppz) and 1,10- phenantroline-5,6-dione (phd); tu= thiourea and X=NO_3^-, $CF_3SO_3^-$, BF_4^- and SO_4^{2-} have been synthesized and characterized. The complexes had been characterised by infrared spectroscopy, ^1H nuclear magnetic resonance, elementary analysis and mass spectroscopy techniques. The crystal structures of [{Ag(bpy)(μ-tu)}$_2$]$(NO_3)_2$ (A1) and [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$]$(CF_3SO_3)_2$ (D2) were determined by single crystal X-ray diffraction indicating a binuclear system with silver(I) centers bridge-bonded by sulphur atoms of thiourea molecule.

The *in vitro* biological activity of $[Ag_2(bpy)_2(tu)_2](NO_3)_2$ (A1), $[Ag_2(phen)_2(tu)_2](NO_3)_2$ (B1) e $[Ag_2(phen)_2(tu)_2](CF_3SO_3)_2$ (B2) compounds had been studied for fungi (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*), bacteria (*S. aureus*, *E. coli* e *P. aureginosa*), *M. tuberculosis* and amastigote and promastigote forms of *L. amazonensis*. Although a reduced study has been performed in view of the microorganisms and compounds quantities it was possible to evaluate some changes on biological behavior by both chelant ligand NN and counterion modification. Promising results were obtained on the antileishmanial activity for B2 compound which have showed a selectivity index (SI) of 13,8-15,5 values much higher than the observed for AmpB, the standard drug (5,5-5,83).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modos de coordenação mais comuns para complexos contendo o íon de prata(I) como centro metálico. 22

Figura 2: Estrutura cristalográfica do composto dimérico de prata sintetizado por Isab e colaboradores (2010). 23

Figura 3: Possíveis mecanismos de atuação dos íons prata como agente antimicrobiano. 1 - inibição da respiração celular; 2 - mudança na estrutura de enzimas; 3 - interação com DNA. 25

Figura 4: Morfologia interna e externa da bactéria S. aureus antes e após o tratamento com soluções de íons de prata eletroquimicamente gerados. 26

Figura 5: Isômeros meta, orto e para da fenantrolina. 29

Figura 6: Células de C. albicans sem tratamento, tratada com phd e tratada com o composto $[Ag(phd)_2]ClO_4$. 32

Figura 7: Formas flageladas (a) e aflageladas (b) da Leishmania. 33

Figura 8: Ciclo biológico da Leishmania. 34

Figura 9: Complexo de Sb(V) com o ribonucleosídeo adenosina. 36

Figura 10: Streptomicina: primeiro antibiótico capaz de atuar sobre a tuberculose. 38

Figura 11: Fármacos comumente utilizados para o tratamento da tuberculose. 39

Figura 12: Infecções de Candida albicans na língua (a) e nos dedos (b). 41

Figura 13: Imagens de microscopia eletrônica de bastonetes de *E. coli*. 43

Figura 14: Células de *S. aureus* (a); e sua infecção na perna (b). 43

Figura 15: Esquema de síntese dos compostos obtidos nesse trabalho; estruturas dos ligantes e numeração adotada para a nomenclatura dos compostos. 60

Figura 16: Espectro na região do infravermelho dos compostos A1-3 e dos ligantes bpy e tu. 62

Figura 17: Estrutura canônica polar favorecida após a coordenação S → Ag. 63

Figura 18: Esquema de numeração dos ligantes e espectro de ^1H RMN dos compostos contendo bpy e tu. 65

Figura 19: Espectros de ^1H RMN do composto A1 em diferentes tempos de análises. (a) 0 h; (b) 24 h e (c) 48 h. 67

Figura 20: Padrões isotópicos calculados para compostos monoméricos (esquerda) e diméricos (direita) para os compostos contendo a bpy. 68

Figura 21: Espectro de massas do composto A1 com destaque para o padrão isotópico em 338,9 m/z. 69

Figura 22: Espectro de massas para o composto A3 (a) e A4 (b). 70

Figura 23: Unidade assimétrica do composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1). A desordem do íon nitrato foi omitida. 72

Figura 24: Centro binuclear assimétrico do cristal $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ com destaque para as ligações da tu e da bpy aos íons de prata(I). 73

Figura 25: Representação esquemática das ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1), sendo essas interações destacadas

pelas linhas pontilhadas. As moléculas da bpy foram suprimidas para melhor visualização das interações. 75

Figura 26: Empilhamento π-π entre os ligantes piridínicos adjacentes sendo suas interações destacadas em azul. 75

Figura 27: Empacotamento cristalino do composto A1 observado pela perspectiva da direção [100] da cela unitária, com destaque para os íons nitrato que se encontram desordenados. 77

Figura 28: Espectro na região do infravermelho dos compostos B1-4 e dos ligantes phen e tu. 79

Figura 29: Esquema de numeração dos ligantes e espectro de ^{1}H RMN dos compostos contendo phen e tu. 82

Figura 30: Espectros de ^{1}H RMN do composto B1 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 84

Figura 31: Espectros de ^{1}H RMN do composto B2 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 84

Figura 32: Espectros de ^{1}H RMN do composto B3 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 85

Figura 33: Espectros de ^{1}H RMN do composto B4 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 86

Figura 34: Padrão isotópico calculado para o composto $[Ag(phen)(tu)]^{+}$. 87

Figura 35: Espectro de massas do composto B1 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z. 88

Figura 36: Espectro de massas do composto B2 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z. 88

Figura 37: Espectro de massas do composto B3 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z. 89

Figura 38: Espectro de massas do composto B4 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z. 89

Figura 39: Espectro na região do infravermelho dos compostos C1-4 e dos ligantes dppz e tu. 92

Figura 40: Esquema de numeração do ligante e espectro de ^{1}H RMN dos compostos contendo dppz e tu. 94

Figura 41: Espectros de ^{1}H RMN do composto C1 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 96

Figura 42: Espectros de ^{1}H RMN do composto C2 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 96

Figura 43: Espectros de ^{1}H RMN do composto C3 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 97

Figura 44: Espectros de ^{1}H RMN do composto C4 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h. 97

Figura 45: Espectro de massas calculado para o fragmento $[Ag(dppz)(tu)]^{+}$. 98

Figura 46: Espectro de massas do composto C1 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z. 99

Figura 47: Espectro de massas do composto C2 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z. 99

Figura 48: Espectro de massas do composto C3 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z. 100

Figura 49: Espectro de massas do composto C4 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z. 100

Figura 50: Espectros na região do infravermelho dos compostos D1, D2 e dos ligantes phd e tu. 103

Figura 51: Espectros de ^{1}H RMN do ligante phd e dos compostos D1 e D2, estruturas dos ligantes utilizados e estrutura do subproduto obtido em D2. 105

Figura 52: Espectros de 1H RMN em 0 e 24h para o composto D1 106

Figura 53: Espectros de ^{1}H RMN em 0, 24 e 48h para o composto D2. 106

Figura 54: Padrão isotópico calculado para o composto $[Ag(phd)(tu)]^{+}$. 107

Figura 55: Espectro de massas do composto D1 com destaque para o padrão isotópico em 108

Figura 56: Espectro de massas do composto D2 com destaque para o padrão isotópico em 108

Figura 57: Espectro de massas do composto D1 de 200 - 600 m/z. 109

Figura 58: Espectro de massas do composto D2 de 250 - 550 m/z 110

Figura 59: Unidade simétrica do composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ (D2). 111

Figura 60: Centro binuclear simétrico do cristal $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ com destaque para as ligações da tu e da phd aos íons de prata(I). 112

Figura 61: Visão paralela ao plano formado pelas moléculas de phd do composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$. Os átomos de hidrogênio e os contra-íon foram omitidos para facilitar a visualização. 113

Figura 62: Visão paralela ao plano formado pelas moléculas de phd do composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ com destaque para os planos formados pelos contra-íons. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para facilitar a visualização. 114

Figura 63: Plano formado pelas moléculas de tu monodentada no composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$. Os átomos referentes às moléculas de phd foram omitidos para facilitar a visualização. 115

Figura 64: Estrutura cristalina obtidas nesse trabalho. 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: resultados de MIC (µg/mL) dos compostos obtidos por Cuin et al (2007); SSD = sulfadiazina de prata; Glyc = ácido glicólico; Mal = ácido málico; Tart = ácido tartárico e Mand = ácido mandélico. 28

Tabela 2: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos A1, A3 e A4. ..64

Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN de 1H para os compostos bpy, A1, A3 e A4...66

Tabela 4: Resultados de análise elementar dos compostos contendo o ligante bpy. 71

Tabela 5: Comprimentos e ângulos de ligação para o núcleo dimérico $\{Ag_2N_4S_2\}$ encontrado no composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1) 74

Tabela 6: Dados da geometria das interações de hidrogênio presentes no cristal de A1. (distância internuclear em Å e ângulos em graus) 76

Tabela 7: Principais dados cristalográficos do complexos $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1). 77

Tabela 8: Atribuição dos sinais de espectroscopia na região do IV para dos ligantes livres (phen e tu) e para os compostos B1-4.....81

Tabela 9: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H para os compostos B1-4. 83

Tabela 10: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos B1-4.....90

Tabela 11: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos C1-4 e dos ligantes dppz e tu. 93

Tabela 12: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H para o ligante dppz e para os compostos C1-4. 95

Tabela 13: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos C1-4. .101

Tabela 14: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos D1, D2 e dos ligantes phd e tu. 104

Tabela 15: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos D1 e D2 110

Tabela 16: Comprimentos e ângulos de ligação para o núcleo dimérico $\{Ag_2N_4S_4\}$ encontrado no composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ (D2). 113

Tabela 17: Atividade antibacteriana (MIC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e da droga de referência frente as bactérias *S. aureus, E. coli*, *P. aeruginosa*. 117

Tabela 18: Atividade antifúngica (MIC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e da droga de referência frente aos fungos *C. albicans, C. tropicalis, C. krusei.* 117

Tabela 19: Atividade inibitória frente a *M. tuberculosis* $H_{37}Rv$ (MIC), efeito citotóxico frente aos macrófagos J774 (IC_{50}) e índice de seletividade (SI) para os compostos A1, B1, B2 e os reagentes precursores. 119

Tabela 20: Atividade leishmanicida frente as formas promastigota e amastigotas da *Leishmania (L.) amazonensis* e efeito citotóxico frente aos macrófagos peritoniais murinos (CC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e a droga de referência AmpB. Os resultados estão descritos em $\mu g\ mL^{-1}$ e μM. 121

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19
1.1 A química da prata 20
1.1.1 Complexos de prata(I) 21
1.2 Prata como agente antimicrobiano 23
1.2.1 Mecanismo celular de ação dos íons de prata 24
1.3 Complexos de prata como agente antimicrobiano 27
1.4 Atividade biológica da 1,10-fenantrolina e seus derivados 29
1.5 Complexos de Prata com derivados da 1,10-fenantrolina 31
1.6 Leishmaniose 33
1.7 Tuberculose 37
1.8 Fungos 40
1.9 Bactérias 42
2 OBJETIVO 44
3 PARTE EXPERIMENTAL 44
3.1 Síntese dos ligantes 44
3.1.1 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd) 44
3.1.2 dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz) 45
3.2 Síntese dos complexos 45
3.2.1 Composto A1 46
3.2.2 Composto A3 46
3.2.3 Composto A4 47
3.2.4 Composto B1 47
3.2.5 Composto B2 48
3.2.6 Composto B3 48
3.2.7 Composto B4 49
3.2.8 Composto C1 49
3.2.9 Composto C2 50
3.2.10 Composto C3 50
3.2.11 Composto C4 50
3.2.12 Composto D1 51
3.2.13 Composto D2 51
3.3 Materiais e métodos de análise 52
3.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear 52
3.3.2 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho 52
3.3.3 Análise Elementar 52
3.3.4 Difração de raios X de monocristal 52
3.3.5 Análises biológicas 53

3.3.5.1 Avaliação Antimicobacteriana 53
3.3.5.2 Ensaio de citotoxicidade frente a macrófagos J774 54
3.3.5.3 Ensaios frente a Fungos e Bactérias 55
3.3.5.4 Cultura da *Leishmania* e ensaio *in vitro* 56
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 58
4.1 Planejamento racional dos quelatos de prata(I) 58
4.2 Síntese e caracterização dos complexos 60
4.2.1 Compostos contendo 2,2'-bipiridina 61
4.2.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho 61
4.2.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 65
4.2.1.3 Espectrometria de Massas 67
4.2.1.4 Análise elementar 71
4.2.1.5 Descrição do cristal $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ - A1 72
4.2.1.6 Considerações finais sobre os compostos A1-3 78
4.2.2 Compostos contendo 1,10-fenantrolina 78
4.2.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho 78
4.2.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 81
4.2.2.3 Espectrometria de Massas 86
4.2.2.4 Análise elementar 90
4.2.2.5 Considerações finais sobre os compostos B1-4 90
4.2.3 Compostos contendo dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina 91
4.2.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho 91
4.2.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 94
4.2.3.3 Espectrometria de Massas 98
4.2.3.4 Análise elementar 101
4.2.3.5 Considerações finais sobre os compostos C1-4 101
4.2.4 Compostos contendo 1,10-fenantrolina-5,6-diona 102
4.2.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho 102
4.2.4.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio 104
4.2.4.3 Espectrometria de Massas 107
4.2.4.4 Análise elementar 110
4.2.4.5 Descrição do cristal $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ - D2 111
4.2.4.6 Considerações finais sobre os compostos D1-2 116
4.3 Resultados Biológicos 117
4.3.1 Fungos e Bactérias 117
4.3.2 Tuberculose 119
4.3.3 Leishmania 120
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 122
6 REFERÊNCIAS 125

1 INTRODUÇÃO

A essência da Química Inorgânica Medicinal envolve a introdução acidental ou intencional de um íon metálico em um sistema biológico. Após uma introdução acidental, a Química Inorgânica Medicinal busca métodos de quelar o metal para retirá-lo do sistema biológico com o intuito de evitar os efeitos de um excesso de metal essencial ou de um envenenamento por um excesso de metal tóxico. Já a introdução intencional de um metal em um sistema biológico visa fins terapêuticos ou de diagnóstico. Os metálo-fármacos (por exemplo, os agentes antitumorais, antimicrobianos, antiartríticos, etc.) e os radio-fármacos (emissores β para radioterapia seletiva) são alguns objetivos de estudo da Química Inorgânica Medicinal Terapêutica (ORVIG; ABRAMS, 1999). A descoberta das propriedades antitumorais do cis-diamindicloroplatina(II), cis-[$PtCl_2(NH_3)_2$], por Rosenberg (1969), constituiu um marco na história da Química Inorgânica Medicinal. Desde então, os estudos se voltam para a busca por novos alvos e novas oportunidades de intervenção da Química de Coordenação na Química Medicinal.

Apesar de não ser um elemento biológico essencial, a prata metálica e seus derivados (ex. $AgNO_3$ e complexos) têm apresentado várias aplicações medicinais como na purificação da água, tratamento de ferimentos, recobrimentos anti-infecção de instrumentos médicos, no tratamento de queimaduras pois possuem propriedades anti-microbianas potentes com baixa toxicidade em seres humanos (FARRELL, 2004; GUO; SADLER, 1999). Sua utilização como agente antimicrobiano nos remete ao inicio da história humana, sendo muito utilizada na preservação de água potável durante anos, recurso primordial em conflitos militares (ALEXANDER, 2009). A prática de esterilizar os olhos de bebês com solução 1% de $AgNO_3$ imediatamente após o nascimento é ainda muito comum no Brasil para a profilaxia da oftalmia neonatal gonocócica. A sulfadizina de prata, obtida a partir da reação entre Ag(I) e sulfadiazina de sódio, é usada clinicamente como agente antimicrobiano e antifúngico (GUO; SADLER, 1999). A prata é conhecida por impor efeitos múltiplos nas bactérias como, por exemplo, ao reagir com os grupos tióis nas proteínas, interagir com DNA e a parede celular e interferir nos processos de transporte de elétrons (RUSSELL; HUGO, 1994). Particularmente, os complexos de prata são muito interessantes uma vez que a atividade antimicrobiana e outras propriedades desejáveis podem ser manipuladas variando-se o número e o tipo de

ligantes coordenados ao íon metálico, sendo essa uma das principais estratégias empregadas no planejamento de novos metalo-fármacos. 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 potencializadas mediante a coordenação a um centro metálico.

1.1 A química da prata

A prata encontra-se entre os três primeiros metais descobertos pelo Homem, juntamente com o ouro e o cobre sendo conhecidos também como metais de cunhagem, tendo seus primeiros indícios datados de aproximadamente 4000 a.C. e sua primeira utilização como moeda em 700 a.C. na Ásia. Uma das maiores utilizações de prata metálica na história da humanidade foi durante a 2ª Guerra Mundial, quando foi empregada como eletrodos no processo de purificação de urânio devido a sua maior condutividade elétrica dentre todos os metais. Sua obtenção é possível através de extração direta, através de minérios como a Argentita (Ag_2S) e a Cloroargirita (AgCl) e também como subproduto do refinamento de metais como Au, Cu, Ni e Zn. Possui a configuração eletrônica [Kr] $4d^{10}$ $5s^1$, peso atômico de 107,86 g mol^{-1} e uma abundancia isotópica de aproximadamente 1:1 com seu isótopo de massa 109 (ATKINS; JONES, 2005).

Prata(I) é de longe o estado de oxidação mais importante e o mais comum, possuindo a configuração eletrônica [Kr] $4d^{10}$. Seus compostos têm a tendência de possuir a 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 2, como por exemplo $[Ag(NH_3)_2]^+$ e $[Ag(CN)_2]^-$ em uma forma linear. Entretanto também são observados complexos com número de coordenação igual a 3, 4, 5 ou 6, e com estruturas trigonal planar, quadrado planar, tetraédrica e octaédrica.

O íon prata(II) possuí configuração eletrônica [Kr] $4d^9$, seus principais complexos encontrados na literatura são formados a partir da oxidação de uma solução de prata(I) em uma solução contendo o ligante e persulfato de potássio. Estes complexos são normalmente quadráticos planos e paramagnéticos, formando

espécies catiônicas e estáveis com ligantes da família da piridina como $[Ag(piridina)_4]^{2+}$, $[Ag(bipiridina)_2]^{2+}$ e $[Ag(\textit{orto}\text{- fenantrolina})_2]^{2+}$.

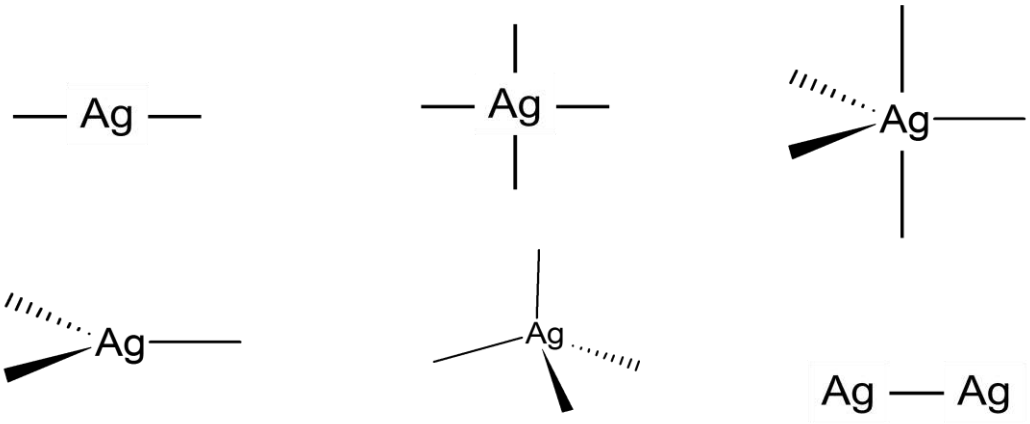
Mais raro, o estado de oxidação Ag(III) pode ser encontrado após a fluoração de uma mistura fundida de haleto de metal alcalino com o haleto de prata gerando $M^+[Ag^{III}F_4]^-$ ou a partir da oxidação eletrolítica de prata(I) gerando Ag_2O_3 (BAILAR; TROTMAN-DICKENSON, 1975; LEE, 1996).

As distâncias internucleares nos compostos são baixas elevando a densidade. Os compostos envolvendo a prata têm energias reticulares elevadas e muitos deles tendem a ser pouco solúveis em água. A prata metálica é muito utilizada em ligas, em particular com o cobre, que forma a 'prata de Sterling' (92,5% Ag e 7,5% Cu). Soluções contendo cianeto ou amônio alcalinizadas e com agentes oxidantes como a água oxigenada, por exemplo, são bons solventes para a prata, pois formam os íons $[Ag(CN)_2]^-$ e $[Ag(NH_3)_2]^+$ respectivamente (COTTON; WILKINSON, 1988).

1.1.1 Complexos de prata(I)

A prata(I) possui uma química de coordenação rica e ainda com muito a ser explorada. Na literatura é possível encontrar compostos com diversos modos de coordenação e geometrias. Dentre as geometrias mais comuns, destacam-se a geometria linear (número de coordenação = 2), trigonal planar (número de coordenação = 3), tetraédricas (número de coordenação = 4) e octaédricas (número de coordenação = 6). Tem a tendência de complexar-se com ligantes nitrogenados, sulfurados e íons haletos como doadores, sendo essa característica explicada pela teoria de ácidos e bases de Pearson (HUHEEY et al, 1993; ATKINS, 2010). Outros números de coordenação, geometrias muito distorcidas, poliméricas e contendo ligações Ag-Ag também são encontrados na literatura. Alguns exemplos dos modos de coordenação dos complexos de prata(I) são apresentados na **Figura 1**.

Figura 1: Modos de coordenação mais comuns para complexos contendo o íon de prata(I) como centro metálico.

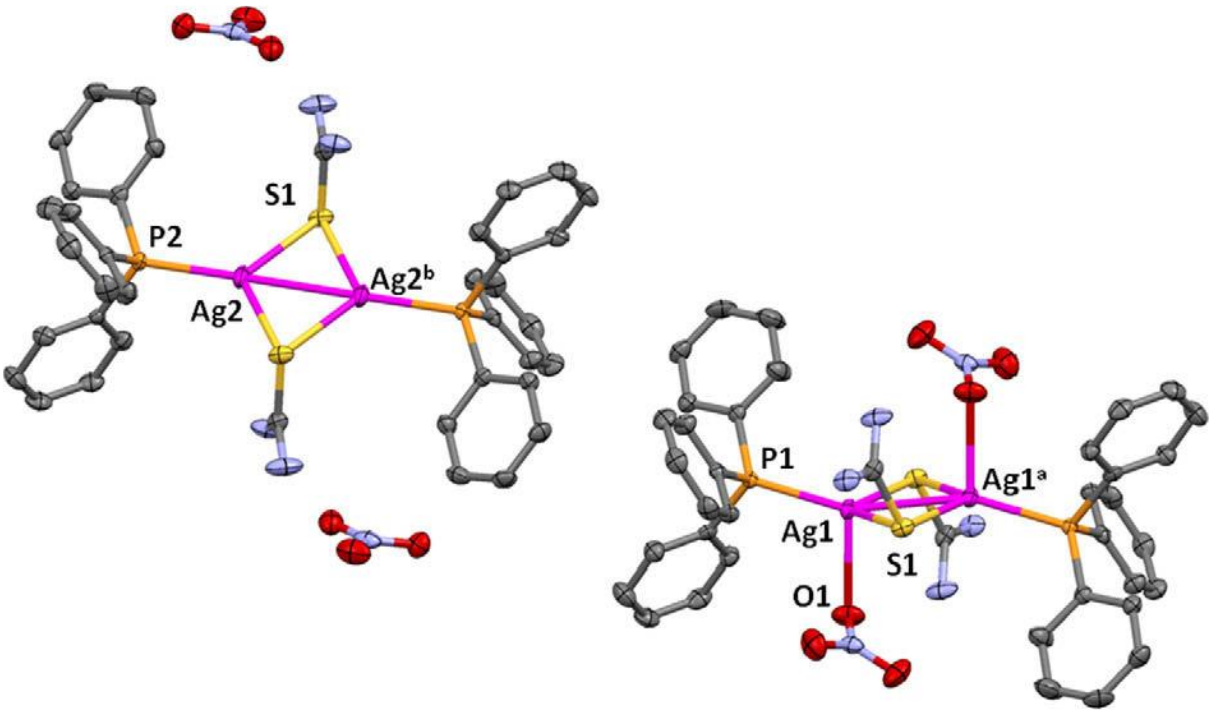


Fonte: autor

A escolha adequada dos ligantes utilizados na coordenação com a prata torna sua diversidade ainda maior, onde mínimas variações na estrutura do ligante, em suas proporções relativas durante a síntese ou o contra-íon escolhido, torna possível a obtenção de estruturas em forma de clusters metálicos (DAÍ et al, 2009), polímeros de coordenação (KHLOBYSTOV et al, 2001; ZHANG et al, 2014) ou unidades discretas (LOBANA et al, 2013; SERPE et al, 2011), podendo ter como contribuição interações argentofílicas para a estabilização da estrutura do complexo (CHU; SWENSON; MACGILLIVRAY, 2005; BARREIRO, 2014).

No trabalho de Isab e colaboradores (2010) foi sintetizado um composto de fórmula mínima $[Ag(PPh_3)(tiouréia)]NO_3$ que possuía a característica de cristalizar com duas estruturas diméricas diferentes em um mesmo cristal. Ambos os dímeros simétricos eram sustentados pela presença de duas moléculas de tiouréia em ponte e pela interação argentofílica entre os íons de prata(I) (**Figura 2**). A principal diferença entre os dímeros está na coordenação do contra-íon NO_3^- ao centro metálico de apenas um dos dímeros, enquanto no outro dímero esse íon não se encontra coordenado.

Figura 2: Estrutura cristalográfica do composto dimérico de prata sintetizado por Isab e colaboradores (2010).



Fonte: ISAB et al, 2010.

1.2 Prata como agente antimicrobiano

Antes mesmo da descoberta da existência de atividade microbiana, utensílios confeccionados a base de prata foram utilizados empiricamente na conservação de produtos como água e leite, como no combate e até mesmo a cura de algumas condições médicas (ALEXANDER, 2009). A prata na sua forma metálica e seus sais têm sido utilizados por décadas como agente antimicrobiano em curativos e em cuidados preventivos, como no tratamento de úlceras crônicas, queimaduras e ferimentos (KLASEN, 2000a, 2000b). Os íons Ag^+ são normalmente o componente ativo da ação antimicrobiana, sendo muito eficaz contra bactérias gram positivas e gram negativas (JUNG et al, 2008), além de possuir ação antiproliferativa contra fungos e vírus (RUSSEL; HUGO, 1994; THURMANN; GERBA, 1989). Por volta de 1880, soluções de nitrato de prata já eram muito utilizadas como antisséptico e para prevenir a oftalmia neonatal, sendo a solução mais utilizada com 2% em massa. A oftalmia neonatal pode causar sérios problemas em recém-nascidos e é consequência de uma infecção conjuntiva provocada por *gonococci*, sendo que seu

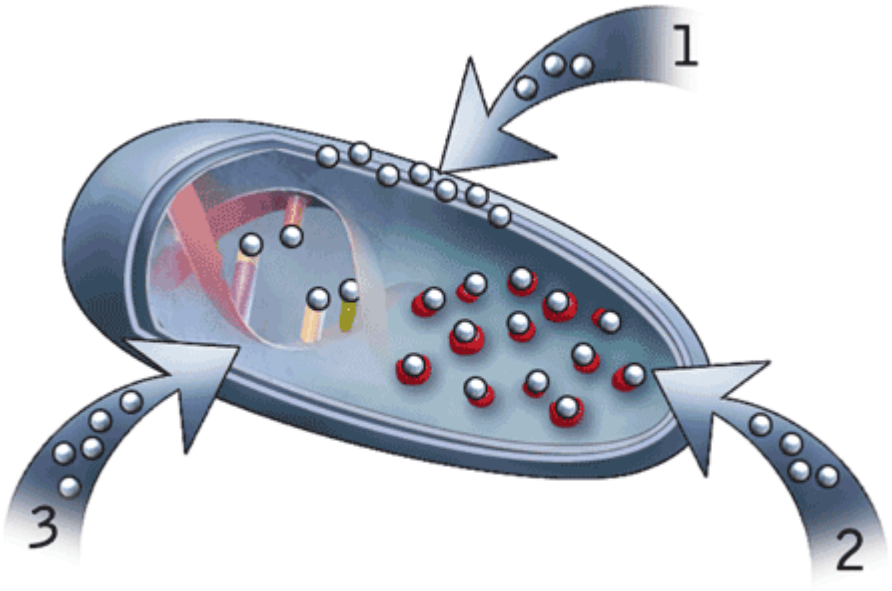
o uso reduziu a incidência da oftalmia de 13,6% para 0,5% (MIJNENDONCKX et al, 2013).

A prata exibe uma baixa toxicidade em humanos, sendo considerado mínimo o risco de intoxicação por inalação, ingestão, absorção pela pele e ferimentos ou mesmo por aplicação intravenosa. A exposição crônica pela ingestão ou inalação, principalmente de prata coloidal, pode levar a deposição de partículas de prata metálica e de Ag_2S principalmente na pele (argiria), olhos (argirose) e em outros órgãos. Essas condições podem não causar risco de morte, mas são cosmeticamente indesejáveis (DRAKE; HAZELWOOD, 2005; BRANDT et al, 2005). A prata absorvida no corpo humano entra no sistema circulatório complexada com proteínas sendo eliminada principalmente pelos rins e pelo fígado (LANSDOWN, 2006; HADRUP; LAM, 2014). Estudos recentes demonstram alguma preocupação quanto ao uso crescente de compostos e materiais a base de prata devido a possuir níveis de citotoxicidade semelhante para algumas células humanas e de bactérias, embora essa toxicidade seja demonstrada apenas in vitro (GREULICH et al, 2012; MIJNENDONCKX et al, 2013).

1.2.1 Mecanismo celular de ação dos íons de prata

O mecanismo celular de ação dos íons prata ainda não é completamente entendido, sendo sua ação atribuída por interferir no crescimento da célula por três métodos diferentes: 1 - inibição das funções de transporte na parede celular (respiração), 2 - interrupção do metabolismo da célula (mudança na estrutura das enzimas) e 3 - inibição da divisão celular (interação com DNA) (**Figura 3**). Essa ação diversificada, que ocorre em baixas concentrações, é única para os íons de prata e tendem a reduzir o desenvolvimento de organismos resistentes (MCDONNELL; RUSSELL, 1999; PERCIVAL et al, 2005).

Figura 3: Possíveis mecanismos de atuação dos íons prata como agente antimicrobiano. 1 - inibição da respiração celular; 2 - mudança na estrutura de enzimas; 3 - interação com DNA.

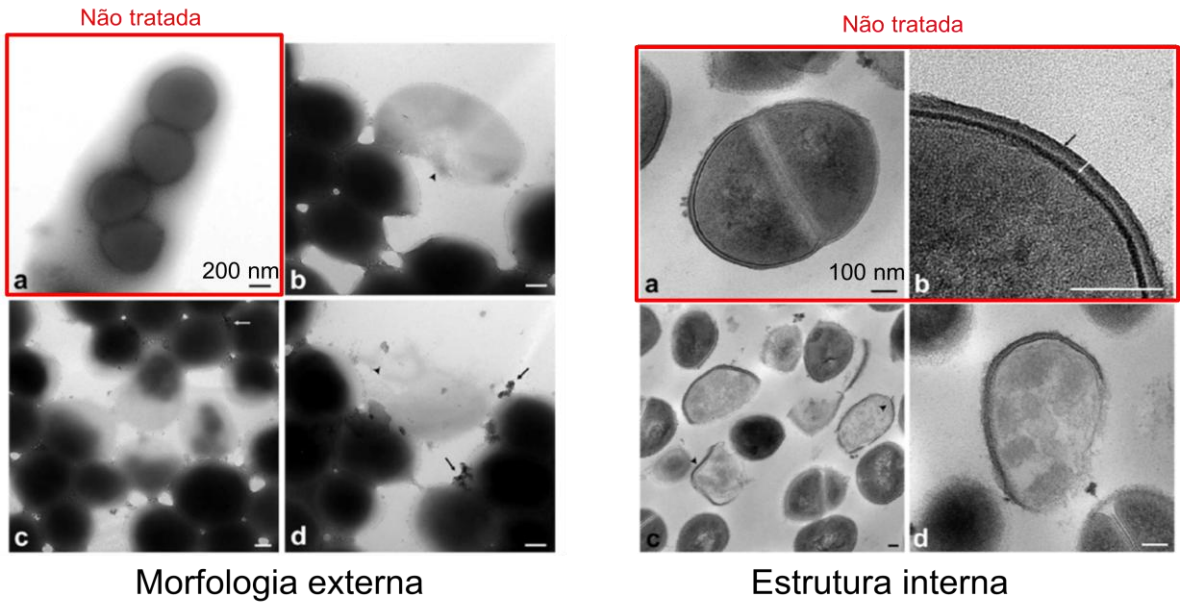


Fonte: DIXIT (2010, p. 13)

Feng et al (2000) estudaram o mecanismo de inibição dos íons de prata em duas espécies de bactérias, *S. aureus* e *E. coli*. Ambas as bactérias foram inoculadas com uma solução de 10 μg mL^{-1} de nitrato de prata e, após um período de aproximadamente 12 horas de incubação, a biomassa obtida foi estudada por microscopia eletrônica de transmissão e micro análise de raios X com o intuito de verificar mudanças morfológicas nas células após o tratamento. Mudanças significativas foram observadas na membrana citoplasmática e na parede celular com a presença de partículas compostas de prata e enxofre, podendo assim assumir a interação entre os íons prata e os componentes celulares sulfurados. Pela comparação entre o comportamento das duas bactérias após o tratamento com nitrato de prata, os autores sugerem que o possível mecanismo de ação seja pela penetração dos íons através da parede celular e reagindo com as proteínas que possuem grupos tiol resultando na morte celular. No trabalho de Jung e colaboradores (2008) o efeito bactericida de íons Ag^{+} gerados eletroquimicamente também foi investigado em culturas de *S. aureus* e *E. coli*, sendo estudado o crescimento, a morfologia e a estrutura celular dessas bactérias antes e após o tratamento com prata. A **Figura 4** representa a morfologia celular externa e interna da bactéria *S. aureus* antes e depois do tratamento com solução 0,2 ppm durante 90

min. Antes do tratamento é possível observar a estrutura celular bem definida tanto externamente como em sua parede celular, após o tratamento verificou-se um rompimento da parece celular e a liberação do conteúdo intracelular causando a morte da bactéria.

Figura 4: Morfologia interna e externa da bactéria S. aureus antes e após o tratamento com soluções de íons de prata eletroquimicamente gerados.



Fonte: JUNG et al, 2008

O mecanismo de ação da prata está relacionado com sua interação com compostos que contem grupos sulfurados presentes enzimas responsáveis pela respiração celular. A prata se liga com a parede celular e as membranas celulares inibindo o processo de respiração. Agentes biológicos simples como íons Ag^+ possuem geralmente atuação bactericida vasta devido aos seus vários modos de atuação e sua habilidade de penetrar nas paredes externas em uma grande quantidade de micro-organismos. Apesar de atuar em varias frentes, os sais de prata já tem sido identificada e reportada por McHuge (1975) sendo importante a busca por novos compostos a base de prata que possam tomar proveito de sua baixa toxicidade e o seu amplo espectro de atuação.

A prata e seus compostos também têm encontrado aplicações como materiais de uso médico como cateteres intravasculares prevenindo o crescimento de patógenos relacionados utilização desses dispositivos diretamente na corrente sanguínea, muito comum em unidades de tratamento intensivo (COYLE et al, 2004).

1.3 Complexos de prata como agente antimicrobiano

Por volta de 1940, surgiu a sulfadiazina de prata (SSD), que consiste na reação entre a sulfadiazina de sódio e o nitrato de prata em solução. O produto desta reação é pouco solúvel em água, mas a utilização na forma de cremes torna possível sua utilização para o tratamento de queimaduras. Portanto, a AgSD foi uma alternativa de agente bactericida de uso tópico para queimaduras que, apesar da resistência bacteriana à AgSD ter aumentado, ainda é amplamente utilizada na medicina. Sua ação é essencialmente pela combinação de dois agentes antimicrobianos, Ag^+ e a sulfadiazina (SD), entretanto seu efeito bactericida é muito maior que em ambos separadamente (McDONNELL; RUSSEL, 1999).

A atividade biológica de complexos de prata tem sido bastante explorada, podendo ser encontrado exemplos na literatura com ligantes variados como carboxilatos e fenantrolinas ativos contra *P. aeruginosa* na formação de biofilmes (SULLIVAN et al, 2014), com nano lipídios com atividade antimicrobiana *in vivo* (KECK et al, 2014) e complexos com atividade antifúngica e ativo contra células cancerígenas (McCANN et al, 2004). Atividade antifúngica de complexos de prata(I) contendo o fluconazol como ligante (MIC_{80}), droga fungicida padrão utilizada no tratamento de infecções, se mostraram mais potentes contra uma série de fungos do que o fluconazol livre. Em alguns casos o complexo de prata mostrou-se ativo a linhagens que o fluconazol livre era inativo (ZHANG; LING; DU, 2007).

Juntamente com a atividade antifúngica, muitos complexos de prata possuem também atividade bactericida comparáveis com a sulfadiazina de prata (KALINOWSKA-LIS et al, 2014), sendo ativos contra linhagens gram-positivas e gram-negativas (ALTAF et al, 2013). Indo além de suas características antimicrobianas, complexos de prata podem interagir diretamente com o DNA (EL-ASMY et al, 2014) possuindo atividade citotóxica para mais de uma linhagem de células cancerígenas e baixa toxicidade para células normais (YILMAZ et al, 2014; BARREIRO et al, 2014).

A atividade inibitória de complexos de prata frente ao bacilo de Koch já vem sendo objeto de pesquisa científica. No trabalho de Cuin *et al* (2007) foram sintetizados uma série de complexos com ácidos α-hidroxicarboxilicos que possuíam atividade similar ou superior de medicamentos como a isoniaziada e a pirazinamida, utilizados como padrão para testes de ação inibitória da TB. Os resultados de MIC

para esses compostos, juntamente com os dados obtidos com a isoniazida (droga padrão contra TB) e a sulfadiazina de prata (utilizada topicamente como bactericida), estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1: resultados de MIC (µg/mL) dos compostos obtidos por Cuin et al (2007); SSD = sulfadiazina de prata; Glyc = ácido glicólico; Mal = ácido málico; Tart = ácido tartárico e Mand = ácido mandélico.

Composto	**Espécies de Micobactéria**		
	M. avium	***M. tuberculosis***	***M. kansasii***
$AgNO_3$	3,1	12	6,2
SSD	---	7,8	---
Isoniazida	32,0	0,030	---
AgGlyc	5,0	10,0	5,0
AgMal	5,0	10,0	10,0
AgTart	2,0	8,0	4,0
AgMand	4,0	16,0	8,0

Fonte: CUIN et al, 2007

Esses compostos apresentaram resultados promissores *in vitro* no combate ao bacilo de Koch, chegando a valores de MIC compatíveis com a sulfadiazina de prata (SSD), e sendo mais eficiente contra linhagens de *M. Tuberculosis*. Apesar de não apresentarem um MIC semelhante à isoniazida (0,030 mg mL^{-1}), seus compostos apresentaram MIC menor que a pirazinamida (25 µg mL^{-1}), fármaco empregado contra linhagens resistentes a isoniazida.

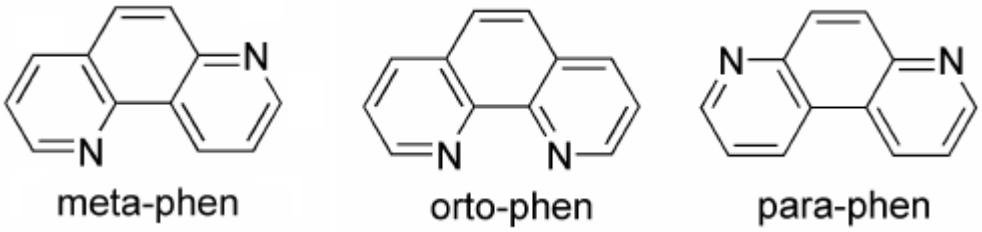
Vale ressaltar que existem poucos trabalhos na literatura utilizando compostos a base de prata como agente leishmanicida. No trabalho de Jebali e Kazemi (2013), nanoparticulas de diversos metais foram estudadas o frente a *L. major* e as nanoparticulas de prata foram mais ativas dentre os metais estudados. Baiocco e colaboradores (2011) estudaram nanoparticulas de prata frente *a L. infantum* e indicaram a sua atividade frente à Trypanothione reductase, enzima importante no metabolismo do parasita.

1.4 Atividade biológica da 1,10-fenantrolina e seus derivados

Uma das estratégias empregadas no planejamento de metalo-fármacos envolve a combinação entre um íon metálico e ligantes biologicamente ativos, uma vez que a eficiência de um agente terapêutico pode ser potencializada mediante a coordenação a um centro metálico.

A 1,10-fenantrolina é um heterocíclico policondensado, planar e rígido. Faz parte da importante classe de agentes quelantes pertencente à família dos ligantes α,α'-diiminas, que englobam a 2,2'-bipiridina (bpy) e biquinolina (biq). As fenantrolinas mais comuns são os isômeros 1,7-, 1,10- e 4,7-, freqüentemente chamados *meta*-, *orto*- e *para*-fenantrolinas, respectivamente (**Figura 5**). 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; CHOW, 1992).

Figura 5: Isômeros meta, orto e para da fenantrolina.



Fonte: autor

É bem estabelecido na literatura que uma variedade de quelatos de metais de transição contendo 1,10-fenantrolina ou seus derivados são muito ativos frente a muitas bactérias patogênicas, fungos e protozoários (DWYER et al., 1969). Além disso, o efeito bactericida mostrou ser dependente tanto do tipo do íon metálico como do ligante orgânico (BUTLER et al, 1969). Organismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, e *Erysipelothrix rhusiopathiae* não desenvolvem resistência significativa aos quelatos de fenantrolina, e a susceptibilidade da *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* demonstrou ser independente ao perfil de resistência à antibióticos do microorganismo (BRANDT et

al., 1954). Recentemente no trabalho de Dolan e colaboradores (2014) complexos de estanho foram estudados frente a *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, que possuíam as suas atividades biológicas moduladas com a variação dos ligantes 1,10-fenantrolina (phen), 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd) e dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz).

Os usos profiláticos e terapêuticos dos bis-/tris-quelatos de Mn, Cu e Ni contendo a 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina (tmp) no tratamento de infecções tópicas bacterianas ou micóticas em humanos já foram descritas na literatura (BUTLER et al., 1970). A administração parental desses compostos não tinha sido até então bem sucedida no tratamento de infecções em animais uma vez que esses quelatos apresentavam atividade bloqueadora neuromuscular significativa (DWYER et al. 1957). Cade *et al.* (1970) investigaram a ação dos complexos $[NiX_2(tmp)_2]$ (X = acetato, salicilato) no tratamento de infecções de peles crônicas e seus resultados demostraram que os quelatos foram comparavelmente ativos em relação à buclosamida ou à uma combinação de dequalinium, neomicina, bacitracina e polimixina B. Resultados promissores também foram obtidos a partir do emprego de quelatos de níquel(II) e cobre(II) no tratamento da infecção crônica da unha e tecidos moles adjacentes por monilíase, no controle de infecções secundárias em adolescentes acometidos por *Acne vulgaris* de longa duração e no alívio dos sintomas em pacientes com vaginite crônica. Esses quelatos não apresentaram nenhum efeito tóxico aos pacientes em todos os testes.

O modo pelo qual esses quelatos exercem seus efeitos biológicos depende, em grande parte, da natureza do metal. Por exemplo, o $[Ni(tmp)_3]^{2+}$ é termodinamicamente estável e cineticamente inerte, e todas as evidências indicam que seu modo de ação é atribuído somente às propriedades físico-químicas do cátion quelato como um todo e não à qualquer produto ou componente derivado dele. Consequentemente, o quelato deve agir a partir da alteração da estrutura ou da organização funcional dos alvos farmacológicos via interações coulômbicas e forças de curto alcance (DWYER et al., 1965). A presença de três ligantes fenantrolinas permite ao quelato se acumular nas interfaces biológicas e penetrar nas células. Por outro lado, os quelatos de Mn(II) e Cu(II) devem se dissociar em íon e ligante ou formas parcialmente coordenadas no meio biológico, deixando assim sítios de coordenação disponíveis para ligação com biomoléculas. Os quelatos do tipo $[Mn(tmp)_3]^{2+}$ e $[Cu(tmp)_2]^{2+}$ são bactericidas contra *S. aureus*,

enquanto que os íons livres são inativos no mesmo intervalo de concentração. Apesar da 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina (tmp) ser bactericida em baixas concentrações, ela se torna menos ativa em concentrações maiores. Essas diferenças sugerem que o quelato e o ligante provavelmente não atuam da mesma forma (SHULMAN e WHITE, 1973; FARNWORTH et al, 1977).

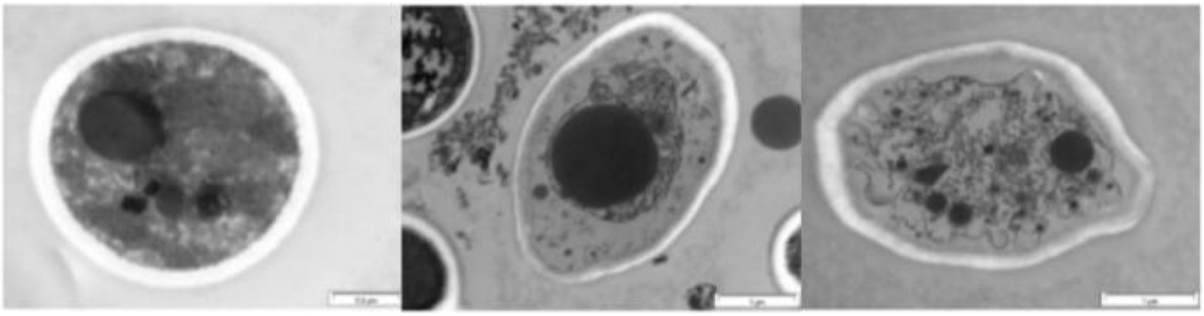
Por apresentarem anéis planares ricos em elétrons π, os quelatos metálicos da 1,10-fenantrolina e derivados têm uma grande tendência em interagir com o DNA por intercalação, a qual é definida como a inserção de uma molécula aromática entre os pares de bases consecutivos do DNA. As ligações de hidrogênio, 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. A inserção de um intercalador 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. Os ângulos de torção envolvendo os grupos açúcar-fosfato são alterados para acomodar o composto aromático, causando a separação dos pares de bases no sítio de intercalação a partir de um alongamento da dupla hélice (de 2,0 a 3,7 Å) e um decréscimo do diâmetro da hélice. Sugere-se que todas as modificações provocadas pelo agente intercalador na estrutura secundária do DNA previnem a replicação do DNA e, consequentemente, inibem o crescimento de cânceres e de microorganismos (MARVERTI, 2008; STORR, 2006; KEMP, 2008; PALANICHAMY; ONTKO, 2006).

1.5 Complexos de Prata com derivados da 1,10-fenantrolina

A utilização da prata (I) juntamente com ligantes derivados da phen tem aparecido cada vez mais na literatura e com resultados promissores contra diversos tipos de culturas microbianas. McCann e colaboradores (2012) sintetizaram compostos de Cu(II) e Ag(I) contendo ligantes da família da phen que possuíam um amplo espectro de atuação, sendo os compostos $[Cu(phd)_3](ClO_4)_2$ e $[Ag(phd)_2]ClO_4$ ativos *in vivo* frente a diversas células cancerígenas e normais, fungos e insetos,

mas infelizmente com pouca citoseletividade. Células de *C. albicans* foram micrografadas após exposição ao composto $[Ag(phd)_2]ClO_4$ e o ligante livre phd. Na **Figura 6** é possivel observar o controle (célula sem tratamento), uma célula tratada somente com a phd e outra tratada com o composto $[Ag(phd)_2]ClO_4$. Comparando as figuras nota-se uma maior desorganização do meio celular com o tratamento feito com o complexo de prata. Estes complexos de prata também podem ser combinados com drogas comumente usadas no tratamento de infecções como a Anfotericina B e o Miconazol para aumentar a sua atividade (ESHWIKA et al, 2004).

Figura 6: Células de C. albicans sem tratamento, tratada com phd e tratada com o composto $[Ag(phd)_2]ClO_4$.



Controle phd $[Ag(phd)_2]ClO_4$

Fonte: McCann et al, 2004

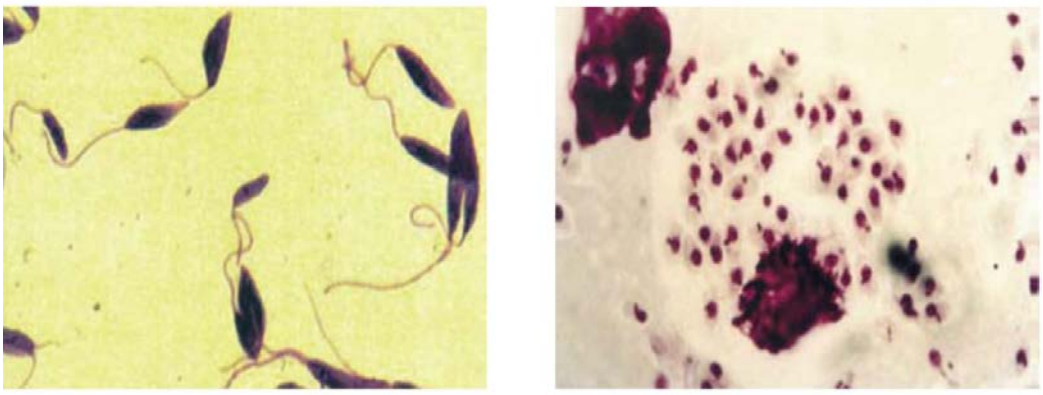
No trabalho de Thati e colaboradores (2007) foi apresentado a síntese, caracterização e estudo do modo de atuação de uma série de complexos de prata(I) contendo 1,10-fenantrolina e derivados da cumarina (óleo natural presente na estrutura de diversos antibióticos). A avaliação biológica consistiu em obter o MIC_{80} (concentração mínima para inibir 80% do crescimento do fungo em relação ao controle), consumo de oxigênio celular após tratamento, quantificação do esterol (presente na membrana celular), permeabilidade e microscopia eletrônica de transmissão. Seus resultados indicaram que os compostos obtidos tinham sua atividade frente a *C. albicans* modulados de acordo com os ligantes utilizados, sendo o composto $[Ag(phen)_2(hnc)]$ (hnc = hidroxínitrocumarina) o mais ativo dentre os estudados com um MIC_{80} de 4,6 μM, enquanto o composto [Ag(hnc)] apresentou um valor muito maior (222,0 μM). O modo de atuação dos complexos obtidos foi pela

interrupção da função respiratória e a indução a apoptose com um mecanismo de atuação diferente dos fármacos convencionais.

1.6 Leishmaniose

A *leishmaniose* é um conjunto de doenças causadas por cerca de 20 espécies de parasitas do gênero *Leishmania* patogénicas para o homem (CATORZE, 2005) que são encontradas especialmente em países tropicais e regiões de clima temperado. A *leishmaniose* é considerada a segunda protozoose mais importante do mundo, depois da malária segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), pois a cada dia o número de pessoas infectadas com a doença é maior (RODRIGUES). Esse aumento nos casos de *Leishmaniose* se deve a alguns fatores relacionados ao homem, como condições de moradia inadequadas e a imunodeficiência causada pela AIDS e quimioterapia. De fato o risco de incidência da coinfecção AIDS-Leshimaniose tem aumentado, mudando a expressão da doença, proporcionando assim a disseminação do parasita (MORENO et al, 2000). A *leishmania* é um protozoário com duas formas principais, a flagelada ou promastigota e a aflagelada ou amastigota (BRASIL, 2014a). A forma flagelada (**Figura 7a**) é encontrada no trato digestivo de hospedeiros invertebrados pertencentes à família *Psychodidae* de insetos hematófagos e a forma aflagelada (**Figura 7b**) é observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados, como roedores, canídeos e primatas.

Figura 7: Formas flageladas (a) e aflageladas (b) da Leishmania.

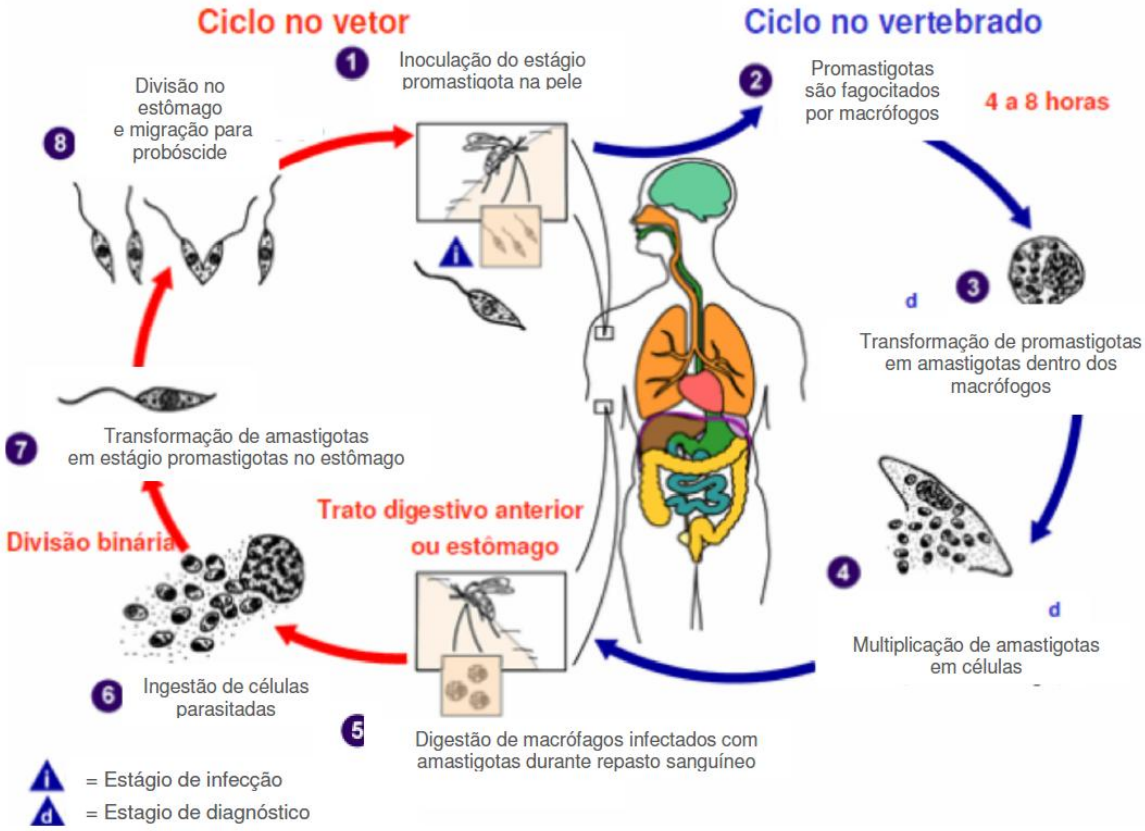


Fonte: BRASIL, 2014a

O ciclo de vida da Leishmania envolve primeiramente a transmissão do parasita na forma promastigota para o hospedeiro vertebrado, quando o hospedeiro invertebrado alimenta-se do sangue do mamífero, inoculando junto com sua saliva as formas infectantes promastigotas metaciclicas presentes na probóscide.

Os parasitos que são então fagocitado perdem o flagelo passando para a forma amastigota (EL-FADILI et al, 2010) logo depois são fagocitados por macrófagos, onde são internalizados no fagossoma que em seguida sofre fusão com os lisossomos, formando o vacúolo fagolisossomal (CUNNINGHAM, 2002). Dentro das células a Leishmania é capaz de inibir vários mecanismos de defesa, mesmo em ambientes hostis e multiplicar-se até a lise da célula infectada e liberar formas amastigotas que são fagocitadas por outros macrófagos (PETERS et al, 2008). A **Figura 8** apresenta o ciclo biológico da Leishmania nos seus hospedeiros vertebrados e invertebrados (UNITED STATES OF AMERICA, 2014).

Figura 8: Ciclo biológico da Leishmania.



Fonte: UNITED STATES OF AMERICA, 2014

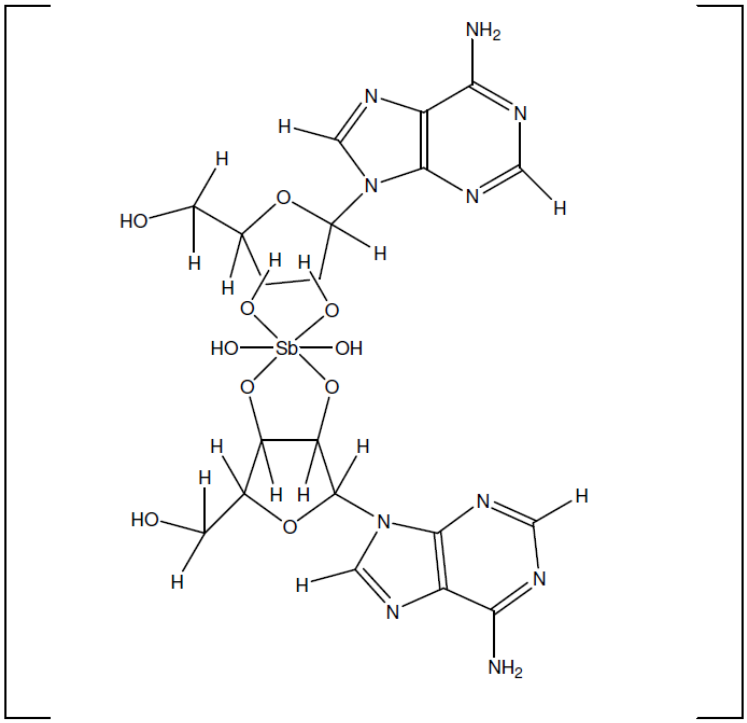
Como é de conhecimento, os ciclos de transmissão da Leishmaniose variam de acordo com a região geográfica, envolvendo uma diversidade de espécies de parasito, vetores, reservatórios e hospedeiros.

A Leishmaniose pode apresentar dois tipos distintos de infecção, tegumentar e visceral (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994). A Leishmaniose tegumentar (LT) é uma doença infecciosa que acometem lesões cutâneas e mucocutâneas. Ela é transmitida por vários parasitos, sendo que no Brasil os três principais são a *L. (V.) brasiliensis*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (L.) amazonenses*, duas pertencentes ao subgênero Viannia e uma ao subgênero Leishmania, respectivamente (BRASIL, 2014). A LT é conhecida por seu amplo espectro clínico variando de infecções assintomáticas com cura espontânea até graves doenças. As lesões causadas pela LT na pele são denominadas de Leishmaniose cutânea (LC). A LC é a forma mais frequente da doença, caracterizada pela formação de úlceras indolores em áreas expostas da pele que podem melhorar espontaneamente. As lesões encontradas nas regiões mucocutâneas são denominadas de Leishmaniose mucosa (LM). Clinicamente, a LM é caracterizada por lesões destrutivas nas mucosas de vias aéreas e estima-se que 3 a 5% dos casos de LC evoluam para LM (COVAS et al, 2012). A leishmaniose visceral (LV) é a mais grave forma de leishmaniose e quando não tratada leva a óbito em mais de 90% dos casos. A LV é uma zoonose caracterizada pela evolução crônica e comprometimento sistêmico. Nesta forma da doença, os parasitos apresentam tropismo pelo sistema fagocítico mononuclear de órgãos como baço, fígado, medula óssea e tecidos linfoides (DINIZ et al, 2010). Os principais sintomas da LV são febre, esplenomegalia e hepatomegalia, perda de peso, fadiga, sangramento, anemia e infecções bacterianas. A LV que primeiramente foi conhecida como doença rural agora vem se expandido para áreas urbanas de médio e grande porte. No Brasil, duas espécies, até o momento, estão relacionadas com a transmissão da LV, *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, onde a primeira é considerada a principal espécie transmissora da *L. (L) chagasi* (BRASIL, 2014b).

O composto antimonial trivalente (Sb(III)), tártaro emético foi usado pela primeira vez no tratamento da leishmaniose pelo médico brasileiro Gaspar Vianna em 1913. Porém esses compostos apresentavam vários efeitos colaterais e logo foram substituídos pelos complexos pentavalentes de antimônio (Sb(V)), pois estes são menos tóxicos quando comparados à Sb(III). Primeiramente foi proposto que o

Sb(V) seria reduzido a SbIII por tióis no organismo, sendo esta a forma ativa e tóxica do antimônio. Posteriormente foi demonstrado que o Sb(V) interage com ribonocleosídeios formando complexos (**Figura 9**) que poderiam ter implicações com o mecanismo de ação dos medicamentos antimoniais (DEMICHELI; FRÉZARD, 2005). O mecanismo de ação dos compostos antimoniais pentavalentes ainda não foi completamente elucidado.

Figura 9: Complexo de Sb(V) com o ribonucleosídeo adenosina.



Fonte: DEMICHELI; FRÉZARD, 2005

No Brasil emprega-se como segunda escolha no tratamento da Leishmaniose, a anfotericina B, um antibiótico antifúngico, utilizado apenas no tratamento de pacientes em estado grave, gestantes, reincidentes e nos casos de falha terapêutica. Ainda podem ser empregados outros fármacos como pentamidina e paramomicina (FRANCO et al, 2013). Atualmente os medicamentos antimoniais continuam sendo empregados para a leishmaniose, entretanto, a resistência do parasita a esta classe de drogas é crescente, o que indica que em pouco tempo esse tratamento poderá ser obsoleto. Há relatos de resistência também para as drogas de segunda linha, como no caso da pentamidina (HERWALDT, 1999), o que

evidencia a urgência e a importância das pesquisas de novos fármacos e alvos de atuação para o tratamento da Leishmaniose. A dedução de que associação entre Ag(I) e ligantes diimínicos poderia conduzir a formação de compostos inéditos com potencial capacidade de interagir com grupos tióis existentes nos alvos farmacológicos (ex. cisteína proteases) e, consequentemente, com atividade promissora frente ao protozoário do gênero *Leishmania*, foi um ponto importante no planejamento desta pesquisa.

1.7 Tuberculose

A tuberculose (TB) e 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, o *Mycobacterium tuberculosis*, foi isolada pelo cientista alemão Robert Koch; e em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK) (SOUZA; VASCONCELOS, 2005).

Essa doença infectocontagiosa causada por uma bactéria, afeta principalmente os pulmões, mas também pode ocorrer em outros órgãos do corpo, como ossos, rins e meninges. Esta doença esta associada a fatores comportamentais, como alcoolismo e fumo, que podem causar vulnerabilidade ao organismo, além de ser um risco para pacientes com o vírus HIV, pois estes apresentam o sistema de defesa imunológico debilitado. Ela é transmitida pelo ar, pelo contato próximo com as gotículas de saliva de uma pessoa infectada. Os sintomas incluem tosse prolongada, dor no peito e escarro, que pode ter sangue. Normalmente, 90% das pessoas que carregam o bacilo em seu organismo nunca irão desenvolver a tuberculose, tampouco serão capazes de transmiti-la pelo ar (UNITED STATES OF AMERICA, 2014).

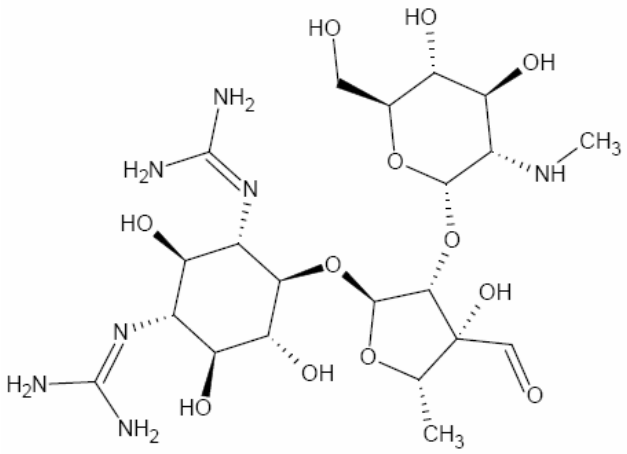
A tuberculose (TB) constitui um importante problema mundial, especialmente em países em desenvolvimento, face a desigualdade social, aos aglomerados populacionais, aos movimentos migratórios, o aparecimento de cepas de bacilos resistentes (multi-droga resistentes) aos fármacos conhecidos e ao surgimento da

AIDS na década de 80. Atualmente acarreta a morte de aproximadamente 1,6 milhões de pessoas a cada ano.

Estima-se que 1/3 da população mundial esteja infectada com o bacilo da tuberculose. A Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que em vinte anos, trinta milhões de pessoas estejam infectadas (SRIRAM et al, 2006). A cada ano surgem aproximadamente oito milhões de novos casos e dois milhões de mortes (PAULI et al, 2005). A mortalidade por tuberculose apresenta tendência de redução das ultimas décadas, sendo alcançada em 2012 as metas estabelecidas pela organização mundial de saúde (OMS). No período de 2003 a 2012 foram registrados em media 4.700 mortes por ano relativas à TB (BRASIL, 2014c).

Em 1944, Selman Waksman, descobriu a estreptomicina (SM) (**Figura 10**), produzida por um microorganismo, a bactéria *Streptomyces griseus*, sendo o primeiro antibiótico capaz de atuar de maneira eficaz no combate a tuberculose.

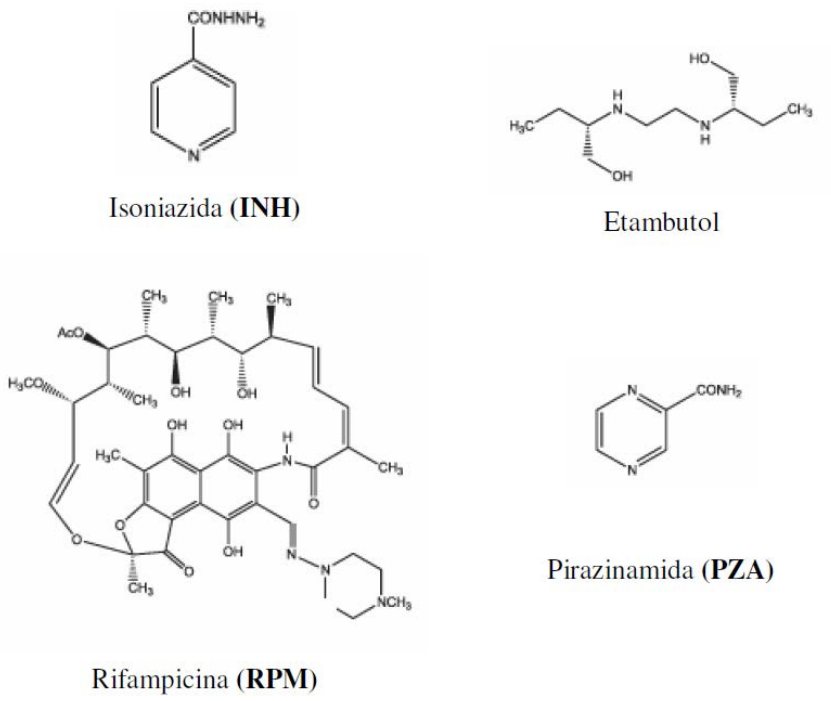
Figura 10: Streptomicina: primeiro antibiótico capaz de atuar sobre a tuberculose.



Fonte: autor

Após a descoberta da estreptomicina, novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a isoniazida (INH) em 1952, a rifampicina (RPM) em 1965; o etambutol (EMB), sintetizado em 1960, porem só empregado em 1968 e a pirazinamida (PZA) sintetizada em 1936 e só utilizada em 1970 (**Figura 11**) (SOUZA; VASCONCELOS, 2005).

Figura 11: Fármacos comumente utilizados para o tratamento da tuberculose.



Fonte: autor

O mecanismo de ação de algumas drogas contra a tuberculose foi proposto no final dos anos 90. O fármaco interfere na síntese dos ácidos micólicos, uma das vias químicas responsáveis pela produção das paredes celulares do bacilo de Koch e, assim, interrompem a formação plena dessa estrutura rígida, essencial para a proteção das células do patógeno. Consequentemente, o fármaco não deixa a bactéria se multiplicar, levando-a a morte (PIVETTA, 2004).

A pirazinamida (PZA) é um importante fármaco de primeira linha usada para o tratamento da tuberculose. Juntamente com a isoniazida (INH), rifampicina (RPM) e o etambutol, e responsável por matar os bacilos resistentes da tuberculose durante a fase inicial da quimioterapia (ZHANG; MITCHISON, 2003; SOMOSKOVI et al, 2004). A pirazinamida (HIGUCHI et al, 2008) foi a chave para diminuir o tempo de tratamento de 9-12 meses para 6 meses. No entanto, a pirazinamida não tem atividade em pH neutro, porém em meio acido, elimina mais de 76% dos bacilos. A Concentração Mínima Inibitória (MIC) e a concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano em mais de 90%, e a pirazinamida em pH 5.5–6.0, apresenta CIM na faixa de 50-100 mg L^{-1} (SOMOSKOVI et al, 2004).

Fármacos seletivos e refinados, que ataquem mais o bacilo e menos o homem, podem levar a uma redução considerável no tempo necessário para tratamento da tuberculose, hoje de seis meses, durante os quais quatro distintos medicamentos são ministrados aos pacientes. A terapia e longa e, devido aos efeitos colaterais da quimioterapia (náuseas, vômitos e mais raramente a icterícia), uma parte considerável dos pacientes não completa o longo tratamento (PIVETTA, 2004). Por estes e outros problemas como infecções oportunistas causadas por micobactérias ou vírus, se faz necessário buscar novos fármacos sintéticos, mais eficazes e menos toxicas, reduzindo o tempo de tratamento e os efeitos colaterais.

Apesar da melhoria na quimioterapia, o controle da tuberculose é gravemente afetado pela resistência do *Mycobacterium tuberculosis* as drogas desenvolvidas. Por isso, se faz necessário produzir ou encontrar novos fármacos capazes de reduzirem os casos de tuberculose (HIGUCHI et al, 2008). O grande número de relatos na literatura sobre a atividade de complexos de prata(I) contra o bacilo de Koch nos impulsionou a investigar as potencialidades de aplicação dos compostos de prata contendo diiminas como agentes tuberculostáticos (CUIN et al, 2011; PAIVA et al, 2013; SILVA et al, 2014).

1.8 Fungos

Fungos são organismos eucarióticos, distintos de plantas e animais. Em sua maioria são multicelulares diferenciando dos outros organismos eucarióticos no seu modo nutricional, organização estrutural, crescimento e reprodução. Muitos fungos são parasitas em plantas e animais, causando condições que podem variar de leves infecções até risco de morte enquanto outros possuem relações simbióticas com seus hospedeiros. Fungos também são muito utilizados farmacologicamente como fonte de princípios ativos de algumas drogas como, por exemplo, a penicilina, sendo também muito utilizado na indústria alimentícia (BERMAN; SUDBERY, 2002).

O gênero *Candida* compreende aproximadamente 200 linhagens diferentes de fungos, dentre esses 12 são associados a humanos. *Candida albicans* é a espécie mais associada a infecções em humanos, um fungo patogênico oportunista que usualmente reside harmonicamente em hospedeiros humanos e animais, sendo

carregado inócuamente em uma grande parte da população em suas superfícies epiteliais da boca, trato gastro-intestinal, vagina e pele (PFALLER et al, 1998).

Infecções de *Candida* podem ocorrer em praticamente todos os tecidos do corpo humano, sendo mais comuns as lesões na boca e na vagina, a **Figura 12** mostra infecções sérias de *C. albicans* na língua e nos dedos. É capaz de causar uma grande variedade de infecções sendo particularmente problemático para pacientes com o sistema imunológico comprometido como os HIV positivos, em recuperação de transplantes, em tratamento de câncer, que sofreram queimaduras e prematuros (KONTOYIANNIS et al, 2001). O uso inapropriado de uma larga gama de antibióticos também pode levar a infecções por *Candida* por matar outras bactérias que a mantém sob controle (CURRAN, 2009).

Figura 12: Infecções de Candida albicans na língua (a) e nos dedos (b).

Fonte: CURRAN, 2009.

O desenvolvimento de novos fármacos especifica para células de fungos é desafiadora devido a algumas similaridades entre os fungos e as células de mamíferos. A quantidade disponível de agentes antifúngicos aumentou em 30% desde o ano de 2000, mas mesmo assim existem somente 15 agentes aprovados para uso clinico (THOMPSON et al, 2009). Os fármacos utilizados atualmente contra infecções de fungos são polienos e azóis, mas não satisfazem as necessidades médicas completamente, existindo fraquezas no espectro de atuação, potência, segurança, propriedades farmacocinéticas e o aparecimento de linhagens resistentes, sendo urgente a busca por novas alternativas (OROZCO et al, 1998).

1.9 Bactérias

Bactérias são células procarióticas essenciais para a vida na Terra, habitam todos os lugares do planeta, desde o solo mais quente até as profundezas da crosta terrestre, com diferentes funções tanto no meio ambiente como em nossos corpos. São capazes de decompor a matéria orgânica devolvendo nutrientes vitais para a terra e viver simbioticamente em seus hospedeiros mantendo em ordem o aparecimento de organismos patogênicos. Em sua maioria, as bactérias são benéficas para o ambiente, porém em alguns casos podem causar doenças em animais ou plantas (CURRAN, 2009).

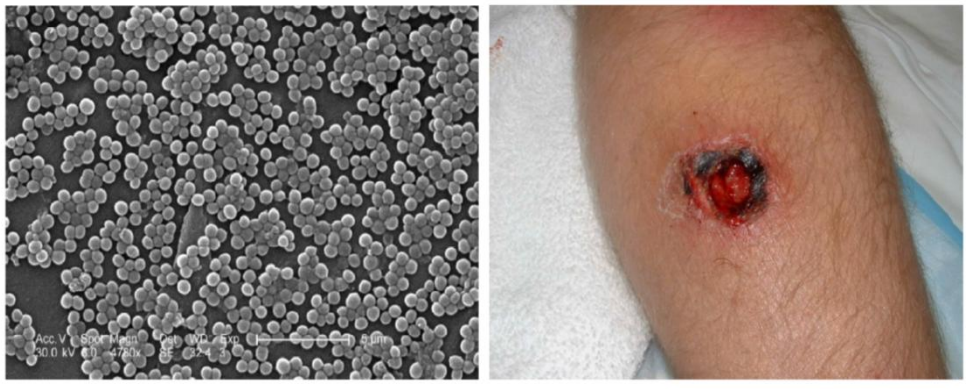
A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa (**Figura 13**) encontrada normalmente no intestino de humanos e animais de sangue quente, sendo parte da flora gastrointestinal. Possuem a capacidade de se mover devido à presença de flagelos, além de serem benéficas ao hospedeiro pela produção de vitamina K e prevenindo o crescimento de outras bactérias indesejadas. Embora em sua maioria sejam inofensivas, algumas linhagens podem causar problemas severos além de ser muito difícil a distinção entre as linhagens inofensivas das patogênicas (BEOVIĆ, 2006). A transmissão da *E. coli* é via contato fecal-oral (usualmente pela ingestão de comida ou água), sendo sua presença um indicador de contaminação por dejetos fecais. Ela produz toxinas que podem atacar tanto o intestino como outros órgãos, causam diarréia, infecção do trato urinário, meningite, infecção em ferimentos e pneumonia. Linhagens resistentes a antibióticos de amplo espectro tem aparecido nos últimos anos, principalmente em ambientes hospitalares (CURRAN, 2009; ROSSI et al, 2014).

Figura 13: Imagens de microscopia eletrônica de bastonetes de *E. coli*.

Fonte: CURRAN, 2009.

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva esférica muito comum na região nasal, faringe e pele (**Figura 14**). Pode causar infecções que variam de pequenos abscessos na pele até doenças muito serias como meningite, endocardite e septicemia, podendo também ser encontradas formas resistentes a fármacos padrão no tratamento (ROLINSON; GEDDES, 2007), muitas vezes denominados como superbactérias.

Figura 14: Células de *S. aureus* (a); e sua infecção na perna (b).



Fonte: CURRAN, 2009.

A atividade de complexos de prata contra fungos e bactérias vem sendo investigada por vários grupos de pesquisa em razão da potencial aplicação desses compostos no combate desses patógenos. Tal fato também nos motivou significativamente na proposição dessa pesquisa.

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização de novos complexos de prata(I) contendo tiouréia e derivados da 1,10-fenantrolina e o estudo da atividade biológica frente a fungos (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*), bactérias (*S. aureus*, *E. coli* e *P. aureginosa*), *M. tuberculosis* e formas amastigota e promastigota da *L. amazonensis*.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Síntese dos ligantes

3.1.1 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd)

Para o preparo da 1,10-fenantrolina-5,6-diona foi utilizado uma adaptação do método descrito na literatura (MIRANDA, 2008), que consistiu em: 2,500 g de 1,10-fenantrolina (12,62 mmol) e 2,500 g de KBr (21 mmol) foram refluxados em uma solução contendo 12,5 mL de HNO_3 concentrado e 25 mL de H_2SO_4 concentrado durante 4 horas. Após o resfriamento foram adicionados 50 mL de água gelada e então neutralizado utilizando primeiramente Na_2CO_3 e com $NaHCO_3$ após o pH atingir 3,0. O sólido amarelo foi separado por filtração simples, lavado com grande quantidade de H_2O gelada e então recristalizado em clorofórmio. O rendimento obtido foi de aproximadamente 80%. ^{1}H 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).

3.1.2 dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz)

1,6 g de 1,2-diaminobenzeno·HCl foram solubilizados em 100 mL de etanol, sendo o pH elevado até 7,0 com o gotejamento de uma solução de NaOH (0,010 M). Então 2,0 g de phd 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 a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 9,46 (dd, J=8,1, 1,8 Hz, 1 H), 9,18 (dd, J=4,5, 1,8 Hz, 1 H), 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, 1 H).

3.2 Síntese dos complexos

Todos os reagentes e solventes utilizados nesse trabalho estão disponíveis comercialmente, possuindo pureza analítica e sendo utilizados sem qualquer tipo de purificação prévia. Para a síntese dos complexos foram utilizados nesse trabalho os seguintes compostos de prata como precursor metálico: $AgNO_3$, $AgCF_3SO_3$, $AgBF_4$ e Ag_2SO_4. Em soluções desses sais foram adicionados os ligantes NN (bpy, phen, phd e dppz) e tiouréia solubilizados separadamente em metanol. No caso do $AgBF_4$ e do Ag_2SO_4 esses compostos foram obtidos a partir da dissolução do Ag_2O com seus respectivos ácidos.

Os contra-íons utilizados nesse trabalho possuem a tendência de serem pouco coordenantes com a prata(I) quando comparados com ligantes quelantes aromáticos. O íon NO_3^- é o que possui menor volume quando comparado com os outros íons utilizados, é um íon planar e tem a capacidade de coordenar a centros metálicos de modo monodentado, quelante e em ponte pelos seus átomos de oxigênio. Dentre os contra-íons utilizados, o BF_4^- é o que apresenta a característica de ser menos coordenante, a qual é bastante explorada na síntese de compostos de coordenação. O $CF_3SO_3^-$ é o contra-íon de maior volume dentre os utilizados possuindo apenas uma carga negativa em sua estrutura, mesmo possuindo exemplos de complexos coordenados a esse íon, o seu tamanho torna um fator decisivo tanto para a sua coordenação como para a cristalização dos compostos. O SO_4^{2-} destaca-se entre os outros contra-íons por ser com íon bivalente e formar um sal com dois íons de prata(I). Semelhantemente ao nitrato, os íons sulfato podem

formar compostos de coordenação monodentado, quelante e em ponte pelos seus átomos de oxigênio (NAKAMOTO, 1986).

Segue abaixo a descrição detalhada da obtenção de cada composto individualmente. Todos os reagentes utilizados foram adquiridos de fontes comerciais

3.2.1 Composto A1

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 50 mg de $AgNO_3$ (0,3 mM) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 46 mg de bipiridina (0,3 mM) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período 10 mL de metanol contendo dessa vez 45 mg de tiouréia (0,6 mM) foram adicionados e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido branco cristalino. O composto obtido foi lavado com éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 60 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 499 MHz): δ = 8,70 (d, *J*=4,7 Hz, 1 H), 8,40 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H), 8,13 (br. s., 2 H), 7,96 (td, *J*=7,7, 1,8 Hz, 1 H), 7,66 (br. s., 2 H), 7,47 ppm (ddd, *J*=7,4, 4,8, 1,0 Hz, 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{22}H_{24}Ag_2N_{10}O_6S_2$) C: 32,85 %, H: 3,01 %, N: 17,41%; Obt. C: 32,76 %, H: 2,86 %, N: 16,92 %.

3.2.2 Composto A3

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 50 mg de Ag_2O (0,2 mM ou 0,4 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma solução diluída de HBF_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 62 mg de bipiridina (0,4 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período 10 mL de metanol contendo dessa vez 60 mg de tiouréia (0,8 mmol) foram adicionados e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido rosa cristalino. O composto obtido foi lavado com éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 70 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 8,74 (d, *J*=4,7 Hz, 1 H), 8,45 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H), 8,18 (br. s., 1 H), 8,08 (td, *J*=7,8, 1,7 Hz, 1

H), 7,68 (br. s., 1 H), 7,58 ppm (ddd, *J*=7,5, 4,9, 0.9 Hz, 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{12}H_{16}AgBF_4N_6S_2$) C: 28,65 %, H: 3,21 %, N: 16,70 %; Obt. C: 26,87 %, H: 3,23 %, N: 15,62 %.

3.2.3 Composto A4

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 50 mg de Ag_2O (0,2 mmol ou 0,4 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma solução diluída de H_2SO_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 62 mg de bipiridina (0,4 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período 10 mL de metanol contendo dessa vez 60 mg de tiouréia (0,8 mmol) foram adicionados e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido branco. O composto obtido foi lavado com éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 8,75 (d, *J*=4,8 Hz, 1 H), 8,46 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H), 8,32 (br. s., 6 H), 8,08 (td, *J*=7,8, 1,7 Hz, 1 H), 7,90 (br. s., 6 H), 7,60 ppm (dd, *J*=7,2, 5,3 Hz, 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{16}H_{32}Ag_8N_{14}O_{16}S_{10}$) C: 10,33 %, H: 1,73 %, N: 10,54 %; Obt. C: 8,93 %, H: 2,77 %, N: 12,56 %.

3.2.4 Composto B1

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgNO_3$ (0,6 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 117 mg de 1,10-fenantrolina (0,6 mmol) formando um sólido claro e deixado em agitação por 20 min. Após esse período 10 mL de metanol contendo dessa vez 90 mg de tiouréia (1,2 mmol) foram adicionados e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido amarelo pálido. O composto obtido foi lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 499MHz): δ = 9,11 (dd, *J*=4,5, 1,6 Hz, 1 H), 8,71 (dd, *J*=8,1, 1,6 Hz, 1 H), 8,20 (br. s., 2 H), 8,15 (s,

1 H), 7,98 (dd, *J*=8,1, 4,5 Hz, 1 H), 7,70 ppm (br. s., 2 H); Análise Elementar: Calc. ($C_{26}H_{24}Ag_2N_{10}O_6S_2$) C: 36,64 %, H: 2,84 %, N: 16,43 %; Obt. C: 37,03 %, H: 2,75 %, N 16,52 %.

3.2.5 Composto B2

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgCF_3SO_3$ (0,4 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 80 mg de 1,10-fenantrolina (0,4 mmol) formando um sólido claro e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 65 mg de tiouréia (0,8 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido amarelo pálido. O composto obtido foi lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 70 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 499 MHz): δ = 9,07 (dd, *J*=4,4, 1,7 Hz, 1 H), 8,53 (dd, *J*=8,1, 1,7 Hz, 1 H), 7,99 (s, 1 H), 7,83 (dd, *J*=8,1, 4,4 Hz, 1 H), 7,78 (br. s., 2 H), 7,54 ppm (br. s., 2 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{14}H_{12}AgF_3N_4O_3S_2$) C: 32,76 %, H: 2,36 %, N: 10,92 %; Obt. C: 33,76 %, H: 2,36 %, N 11,92 %.

3.2.6 Composto B3

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 100 mg de Ag_2O (0,4 mmol ou 0,8 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma solução diluída de HBF_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 160 mg de 1,10-fenantrolina (0,8 mmol) formando um sólido claro e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 130 mg de tiouréia (1,6 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido branco cristalino. O composto obtido foi lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo.

Rendimento 65 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 9,10 (d, *J*=3,8 Hz, 1 H), 8,72 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H), 8,26 (br. s., 1 H), 8,14 (s, 1 H), 7,97 (dd, *J*=8,0, 4,5 Hz, 1 H), 7,74 ppm (br. s., 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{13}H_{12}AgN_4SBF_4$) C: 34,62 %, H: 2,68 %, N: 12,42 %; Obt. C: 34,62 %, H: 2,79 %, N: 12,37 %.

3.2.7 Composto B4

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 100 mg de Ag_2O (0,4 mmol ou 0,8 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma solução diluída de H_2SO_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 160 mg de 1,10-fenantrolina (0,8 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 130 mg de tiouréia (1,6 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido branco. O composto obtido foi lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 70 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 300MHz): δ = 9,07 (d, *J*=3,6 Hz, 1 H), 8,75 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H), 8,36 (br. s., 1 H), 8,12 (s, 1 H), 8,03 (br. s., 1 H), 7,98 ppm (dd, *J*=8,1, 4,7 Hz, 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{13}H_{12}Ag_2N_4O_4S_2$) C: 27,48 %, H 2,13 %, N 9,86 %; Obt. C 28,37 %, H 2,68 %, N 10,27 %.

3.2.8 Composto C1

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgNO_3$ (0,6 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 166 mg de dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (0,6 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 90 mg de tiouréia (1,2 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. O sólido amarelo claro obtido foi filtrado, lavado com metanol, éter e seco a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H RMN (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 9,59 (dd, J=7,9, 1,4 Hz, 1 H), 9,23 (dd, J=4,2, 1,2 Hz, 1 H), 8,41 (dd, J=6,2, 3,4 Hz, 1 H), 8,05 - 8,11 (m, 2 H), 8,01 (dd, J=7,9, 4,5 Hz, 2 H), 7,57 ppm (br. s., 2 H). Análise

Elementar: Calc. ($C_{19}H_{14}AgN_{12}O_3S$) C: 43,20 %, H: 2,67 %, N: 18,56 %; Obt. C: 43,89 %, H: 3,08 %, N: 17,78 %.

3.2.9 Composto C2

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgCF_3SO_3$ (0,4 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 110 mg de dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (0,4 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 65 mg de tiouréia (0,8 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. O sólido amarelo claro obtido foi filtrado, lavado com metanol, éter e seco a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 9,57 (br. s., 1 H), 9,21 (br. s., 1 H), 8,38 (br. s., 1 H), 8,12 (br. s., 3 H), 7,62 ppm (br. s., 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{20}H_{14}AgF_3N_6O_3S_2$) C: 39,04 %, H: 2,29 %, N: 13,66 %; Obt. C: 45,77 %, H: 2,71 %, N: 14,75 %.

3.2.10 Composto C3

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 100 mg de Ag_2O (0,4 mmol ou 0,8 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma solução diluída de HBF_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 220 mg de dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (0,8 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 130 mg de tiouréia (1,6 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. O sólido amarelo claro obtido foi filtrado, lavado com metanol, éter e seco a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300MHz): δ = 9,59 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H), 9,22 (d, *J*=3,2 Hz, 1 H), 8,39 (dd, *J*=6,4, 3,2 Hz, 1 H), 8,18 (br. s., 1 H), 8,06 - 8,12 (m, 1 H), 8,03 (d, *J*=7,5 Hz, 1 H), 7,67 ppm (br. s., 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{19}H_{14}AgBF_4N_6S$) C: 41,26 %, H: 2,55 %, N: 15,19 %; Obt. C: 47,10 %, H: 2,83 %, N: 14,97 %.

3.2.11 Composto C4

Sob agitação e proteção da luz, a uma suspensão em acetonitrila (20 mL) de 100 mg de Ag_2O (0,4 mmol ou 0,8 mmol de Ag^+) foi adicionado gota a gota uma

solução diluída de HBF_4 (0,010 M) também em acetonitrila até que todo o sólido fosse dissolvido. Na solução formada, ainda sob agitação e proteção da luz, foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 220 mg de dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (0,8 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 130 mg de tiouréia (1,6 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. O sólido amarelo claro obtido foi filtrado, lavado com metanol, éter e seco a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6 ,300MHz): δ = 9,79 (d, *J*=7,5 Hz, 1 H), 9,32 (d, *J*=3,4 Hz, 1 H), 8,46 (dd, *J*=6,6, 3,5 Hz, 1 H), 8,23 (dd, *J*=8,3, 5,0 Hz, 1 H), 8,11 - 8,18 (m, 1 H), 7,98 (br. s., 2 H), 7,56 ppm (br. s., 2 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{20}H_{18}Ag_2N_8O_4S_3$) C: 32,19 %, H: 2,43 %, N: 15,01 %; Obt. C: 31,67 %, H: 2,75 %, N: 14,94 %.

3.2.12 Composto D1

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgNO_3$ (0,6 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 123 mg de 1,10-fenantrolina-5,6-diona (0,6 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 90 mg de tiouréia (1,2 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. O precipitado amarelo formado foi filtrado, lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 80 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 8,98 (dd, J=4,7, 1,8 Hz, 1 H), 8,41 (dd, J=7,9, 1,8 Hz, 1 H), 8,06 (br. s., 2 H), 7,69 (dd, J=7,8, 4,7 Hz, 1 H), 7,57 ppm (br. s., 2 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{14}H_{14}AgN_7O_5S_2$) C: 31,59 %, H: 2,65 %, N: 18,42 %; Obt. C: 34,03 %, H: 2,38 %, N: 17,44 %.

3.2.13 Composto D2

Sob agitação e proteção da luz, a uma solução de acetonitrila (20 mL) contendo 100 mg de $AgCF_3SO_3$ (0,4 mmol) foram adicionados lentamente 10 mL de metanol contendo 83 mg de 1,10-fenantrolina-5,6-diona (0,4 mmol) e deixado em agitação por 20 min. Após esse período, foram adicionados 10 mL de metanol contendo dessa vez 65 mg de tiouréia (0,8 mmol) e deixado novamente sob agitação por mais 20 min. A solução obtida foi submetida a evaporação lenta do solvente sob proteção da luz, com a redução do volume do solvente foi possível obter um sólido

vermelho cristalino. O composto obtido foi lavado com metanol, éter e submetido à secagem a vácuo. Rendimento 60 %. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 300 MHz): δ = 8,99 (dd, J=4,7, 1,8 Hz, 1 H), 8,44 (dd, J=7,8, 1,8 Hz, 1 H), 8,14 (br. s., 2 H), 7,73 (dd, J=7,8, 4,7 Hz, 2 H), 7,64 ppm (br. s., 1 H). Análise Elementar: Calc. ($C_{15}H_{14}AgF_3N_6O_5S_3$) C: 29,09 %, H: 2,28 %, N: 13,57 %; Obt. C: 29,28 %, H: 1,98 %, N: 13,69 %.

3.3 Materiais e métodos de análise

3.3.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{1}H foram registrados no Espectrômetro multinuclear *VARIAN*, modelo *INOVA 500* e Espectrômetro Bruker AVANCE 300. Utilizou-se DMSO-d_6 no preparo das amostras, sendo os deslocamentos químicos obtidos referenciados pelo sinal do solvente. O campo magnético utilizado foi de 11,7 T.

3.3.2 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no Espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific, em um intervalo de número de onda entre 4000 - 400 cm^{-1}, usando pastilhas de KBr.

3.3.3 Análise Elementar

As análises quantitativas dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio foram efetuadas no analisador automático da Perkin-Elmer, modelo 240, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da USP - São Paulo.

3.3.4 Difração de raios X de monocristal

Monocristais de tamanhos adequados dos compostos A1 e D2 foram selecionados manualmente diretamente da saturação da solução reacional. Os dados foram coletados em um difratômetro modelo Bruker APEX-II, instalado no CICECO na Universidade de Aveiro - Portugal sob a supervisão do Prof. Dr. José A. Fernandes. As medidas foram realizadas usando radiação Kα de Mo monocromada por grafite, λ = 0,7107 Å. Os dados foram corrigidos através de efeitos de

polarização de Lorentz e correções empíricas de absorção usando o SCALE3 ABSPACK. A estrutura foi resolvida por métodos diretos utilizando-se o programa SHELXS e refinada com o SHELXS-97 (SHELDRICK, 1997). O programa MERCURY (BRUNO et al, 2002) foi utilizado para gerar as imagens.

3.3.5 Espectrometria de massas

Os espectros de massas dos compostos foram obtidos em um espectrômetro 3200 QTRAP AB SCiex, com ionização por eletron spray (3500 V) e sendo analizado o seu modo positivo.

3.3.6 Análises biológicas

3.3.6.1 Avaliação Antimicobacteriana

Em colaboração com a Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e com o Prof. Dr. Fernando R. Pavan, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, foram realizados ensaios microbiológicos envolvendo os complexos sintetizados nesse trabalho e seus respectivos ligantes, com o objetivo de determinar a capacidade de inibir a reprodução do *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo causador da tuberculose.

A solução reveladora foi preparada a partir de uma mistura 1:1 (v/v) contendo Azul de Alamar (Accumed International) e solução de Tween 80 (Interlab) a 10%. Esta mistura foi preparada imediatamente antes da adição aos orifícios da microplaca.

Uma alçada de bactérias, provenientes do meio de LJ, fora transferida para um tubo de ensaio contendo esferas de vidro e 0,50 mL de água destilada estéril (120 ºC em autoclave). Após agitação para a desagregação da massa celular, foi adicionado um volume 2,0 - 3,0 mL de água estéril. Após nova agitação, gotas desta suspensão foram transferidas para outro tubo contendo água, até turvação equivalente à escala McFarland nº 1. A partir desta suspensão, foram feitas diluições sucessivas: para diluição igual a 10^{-1}, um volume de 0,50 mL desta suspensão foi transferido para um tubo contendo 4,50 mL de água estéril; para uma diluição igual a 10^{-2}, foi transferido um volume de 0,50 mL da suspensão obtida anteriormente para

outro tubo contendo 4,5 mL de água estéril e assim sucessivamente até obtenção das diferentes diluições da suspensão (SATO, 2003).

A determinação da MIC frente às cepas padrões do Mycobacterium tuberculosis H37Rv foi realizada segundo técnica proposta por Franzblau (FRANZBLAU, 1998). Em uma microplaca estéril Becton Dickinson de 96 orifícios, distribuídos em oito fileiras horizontais e doze verticais, foram depositados 200 µL de água destilada estéril em todos os orifícios da periferia da microplaca, para evitar a evaporação durante a incubação na estufa. Cada orifício recebeu um volume total igual a 200 µL entre o meio 7H9, o complexo sólido e a suspensão bacteriana. Os orifícios restantes foram usados para os controles necessários: controle do meio (200 µL de meio 7H9, sem bactérias), controle positivo (100 µL de meio 7H9 + 100 µL de suspensão bacteriana) e controle da droga (150 µL de meio $7H_9$ + 50 µL da droga a ser testada). As placas foram, então, seladas com parafilme e incubadas a 37 ºC, e após o 5º dia de incubação, foram adicionados 25 µL do indicador Azul de Alamar em alguns dos orifícios que continham o controle positivo. No dia seguinte, após a constatação da reação positiva nesses orifícios, adicionou-se o corante Azul de Alamar nos demais orifícios e após 24 h fez-se a leitura. O MIC foi definido como a menor concentração que inibe 90% do crescimento da M. tuberculosis. Como padrão foi utilizado a isoniazida que possui um MIC de 0,015 a 0,05 $\mu g \cdot mL^{-1}$ (AHMED et al, 1994; PAVAN et al, 2010).

3.3.6.2 Ensaio de citotoxicidade frente a macrófagos J774

Ensaios *in vitro* de citotoxicidade (IC_{50}) frente à linhagem celular J774 (ATCC TIB-67), como descrito na literatura (AHMED et al, 1994; PAVAN et al, 2010). As células são rotineiramente mantidas em meio de cultura (RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado por calor, 100 U/mL de penicilina e 100 µg mL^{-1} de streptomicina),a 37 ºC em atmosfera de CO_2 com 5% de umidade. Após alcançada a confluência, as células foram desprendidas e contadas. Para o ensaio, 200 µL do meio de cultura contendo $1x10^5$ celulas mL^{-1} foram acondicionados em uma placa de 96 cavidades, as placas então foram incubadas por 24 h. Os compostos estudados foram solubilizados em DMSO e obtida diferentes concentrações por diluição entre 1250 e 3,9 $\mu g \cdot mL^{-1}$. As células foram expostas a varias concentrações dos compostos por um período de 24 h, uma solução de

resazurin foi adicionada as culturas de células e incubada por mais 6 h. a respiração celular foi utilizada como indicador da viabilidade das células e foi detectada pela redução do resazurin a resorufin, qual possui coloração rosa e fluorescência que indicam a viabilidade das células. A manutenção da coloração azul do resazurin é um indicador da morte da célula. As medidas de fluorescência (530 nm de excitação e 590 para emissão) foram obtidas em um SPECTRAfluor Plus (Tecan) microfluorimetro. O valor de IC_{50} foi definido como a maior contração onde 50% das células se encontram viáveis relativas ao controle. O índice de seletividade (SI) foi calculado pela razão entre o IC_{50} e o MIC.

3.3.6.3 Ensaios frente a Fungos e Bactérias

Ensaios fungicidas e bactericidas foram conduzidos na UNIFAL, Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Parasitologia/Biologia Molecular de Microrganismos, pela menstranda Naiara Chaves Silva com a supervisão da Profa. Amanda Latercia Tranches Dias e do Prof Eduardo Tonon de Almeida.

Foram avaliadas as concentrações inibitórias de 50% do crescimento (IC_{50}) e 100% (IC_{100}). As determinações do perfil de sensibilidade foram realizadas de acordo com a metodologia de microdiluição para leveduras conforme documento M27A3 (CLSI, 2008) e para bactérias conforme documento M7A6 (CLSI, 2003). As substâncias foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO). As soluções em DMSO foram diluídas 100x no meio de cultura utilizado no ensaio, reduzindo a concentração final do solvente para 1%. O DMSO, nesta concentração, e sem os derivados foi utilizado no ensaio como controle da diluição e não apresentou atividade. Os extratos foram testados em 10 concentrações ($\mu g\ mL^{-1}$): 100; 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,468; 0,23; 0,06.

Os ensaios foram realizados sobre fungos e bactérias padrões *American Type Culture Collection* (ATCC).

- ✓ **Fungos**: Leveduras do gênero *Candida: Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida krusei* (ATCC 6258), *Candida tropicalis* (ATCC 750).
- ✓ **Bactérias Gram positivas**: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).
- ✓ **Bactérias Gram negativas**: *Escherichia coli* (ATCC 25922); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

As amostras de bactérias foram mantidas em agar BHI e os fungos, em agar Sabouraud, a 8°C, até o momento de realização dos testes.

O meio de cultura caldo Mueller Hinton acrescido de DMSO nas mesmas concentrações finais propostas para os derivados foram utilizados como controle negativo. Os fármacos padrões utilizados como controle positivo no teste foram o antifúngico Fluconazol (nas concentrações em μg/mL: 64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125) e o antibiótico Cloranfenicol (nas concentrações em μg mL^{-1}: 125; 62,5; 31,2; 15,6; 3,9; 1,95; 0,975; 0,487; 0,122; 0,06). Os ensaios foram realizados em duplicata.

3.3.6.4 Cultura da *Leishmania* e ensaio *in vitro*

Ensaios antileishmanicidas, foram conduzidos na UNIFAL, Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Parasitologia/Biologia Molecular de Microrganismos, pela mestranda Letícia de Almeida e supervisão do Prof. Dr. Marcos José Marques.

Formas Promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* (MHOM/BR/71973/M2269) foram cultivadas em uma placa com 24 cavidades em meio Drosophila de Schneider (Sigma, USA) suplementado com 10% (v/v) soro fetal bovino, previamente inativado por calor e 1% de penicilina / estreptomicina (10 mg/mL) (Sigma, USA). As células foram coletadas na fase exponencial de crescimento, resuspendidas em meio fresco, contadas na câmara de Neubauer e a ajustadas a uma concentração de $1x10^6$ células/mL. Os compostos 1, 2, 3, 4 e 5 foram adicionados às culturas promastigotas, $1x10^6$ células/mL, solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) (a concentração usada foi 0.6%, v/v em todos os poços) e incubados a 25 ºC. Depois de 72 horas de incubação, a sobrevivência dos parasitas foi contada na câmara de Neubauer e comparada com os controles e DMSO em uma concentração de 0.6% v/v, para a determinação de 50.0% concentração inibitória de crescimento (IC_{50}). Todos os testes foram realizados em triplicata e Anfotericina B (Eurofarma) foi usada como o fármaco de referência (PEREIRA et al, 2010).

Para avaliação da atividade amastigota, macrófagos peritoniais murinos em uma concentração de $8x10^5$ células mL^{-1}, foram cultivados em placas de 24

cavidades em laminas de vidro de 13 mm (NUNC, USA). Após 30 min para adesão, as células foram infectadas com *L. (L.) amazonensis* promastigotas a uma taxa de infecção de 10:1 (parasita/macrófago), encubas por mais 24h e então as espécies promastigotas não fagocitadas foram retiradas por lavagem. Os compostos estudados foram adicionados em concentrações de 0,10 a 40,00 μg mL^{-1} em cada placa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Planejamento racional dos quelatos de prata(I)

O princípio utilizado no planejamento dos compostos quelatos de Ag(I) partiu de uma análise das estruturas moleculares dos complexos fenantrolínicos ativos frente a microorganismos patogênicos. A partir desse ponto, foram sintetizados compostos cujas estruturas apresentavam pequenas variações em relação ao composto original, buscando assim descobrir quais partes da molécula são importantes para atividade antiproliferativa e quais não são.

As modificações propostas na estrutura dos ligantes diimínicos foram fundamentadas pelas evidências experimentais preliminares frente ao bacilo da tuberculose. É bem estabelecido que um dos grandes desafios a serem superados no design de novos fármacos anti-TB está relacionado à dificuldade de se obter novos agentes capazes de penetrar a parede celular altamente impermeável da micobactéria. Nesse contexto, a formação de produtos quelatos derivados da 1,10-fenantrolina também é muito importante do ponto de vista de absorção celular dessas espécies, pois a quelação reduz a polaridade da molécula como um todo, quando comparado ao íon metálico e ligante(s), a partir do compartilhamento parcial de suas cargas ao longo do arcabouço molecular do complexo, favorecendo sua permeação pela bicamada lipídica da membrana celular. Assim, as modificações nas estruturas das diimínas tiveram como finalidade aumentar a área superficial dos ligantes para potencializar as interações de van der Waals entre o quelato e uma superfície plana do receptor. Se a molécula do DNA for um alvo em potencial, essa modificação favorecerá a inserção da região aromática do quelato entre os pares de bases consecutivas do DNA (intercalação).

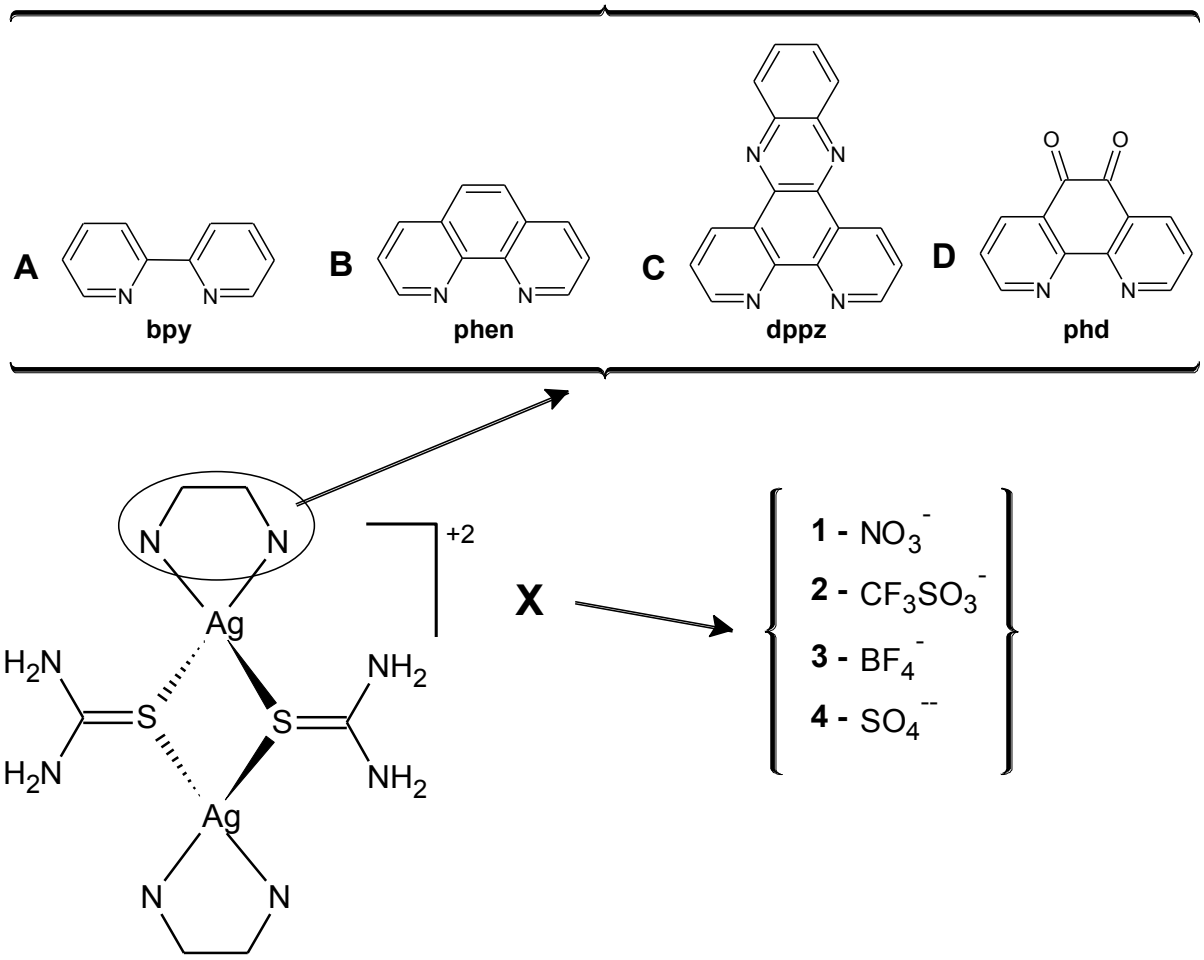
A tiouréia foi escolhida como co-ligante uma vez que enxofre estabelece ligações fortes com o Ag(I), dificultando assim sua labilização. Particularmente, nosso grupo tem utilizado as tiouréias como ligantes L por apresentarem grupos $-NH_2$ capazes de estabelecer ligações de H com outros grupos existentes no receptor. Além disso, a interação entre íons Ag(I) e tiouréias conduz normalmente à formação de espécies polinucleares. Tal fato é importante já que uma das estratégias bastante utilizadas para potencializar a atividade de complexos metálicos contra células tumorais e patógenos envolve a síntese de complexos bimetálicos. O

mecanismo de ação de complexos binucleares é consideravelmente diferente dos seus análogos mononucleares, abrindo novas oportunidades de desenvolvimento de potenciais candidatos a metalo-fármacos (WHEATE; COLLINS, 2003; CHEN et al, 2013b). Testes preliminares utilizando o $AgNO_3$, a phen e derivados da tu (metil-tiouréia, dimetil-tiouréia, fenil-tiouréia e difenil-tiouréia) não formavam compostos, sendo formado somente o composto $Ag(phen)_2NO_3$. O contra-íon também desempenha um papel importante na atividade biológica dos complexos. Alterando-se o ânion NO_3^- para $CF_3SO_3^-$ nos complexos de prata, verificou-se um aumento relevante no Índice de Seletividade (IS). Assim, pretendeu-se investigar também a influência da natureza de outros ânions como BF_4^- e SO_4^{-2} na atividade dos compostos.

A atividade apresentada pelos complexos de prata(I) nos primeiros estudos contra o bacilo de Koch nos motivou a realizar ensaios frente a outros patógenos, como bactérias gram negativas e positivas (*S. aureus, E. coli*, *P. aeruginosa*), fungos (*C. albicans, C. tropicalis, C. krusei*) e as formas promastigota e amastigota da *Leishmania (L.) amazonensis*.

Tendo em vista as observações acima citadas, foram propostas as seguintes variações na estrutura dos compostos (**Figura 15**), juntamente com a numeração adotada na nomenclatura dos compostos obtidos.

Figura 15: Esquema de síntese dos compostos obtidos nesse trabalho; estruturas dos ligantes e numeração adotada para a nomenclatura dos compostos.



Fonte: autor

4.2 Síntese e caracterização dos complexos

A proposta de síntese desse trabalho focou a obtenção de complexos do tipo $[Ag(NN)(tu)_n]X$, onde NN são os seguintes ligantes polipiridínicos: 2,2'-bipiridina (bpy), 1,10-fenantrolina (phen), 1,10-fenantrolina-5,6-diona (phd) e a dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz), tu = tiouréia e X corresponde aos contra-íons proveniente dos sais de prata $AgNO_3$, $AgCF_3SO_3$, $AgBF_4$ e Ag_2SO_4, sendo os dois últimos obtidos *in situ* pela reação de Ag_2O com os correspondentes ácidos.

A síntese desses complexos ocorreu primeiramente pela solubilização do sal de prata em acetonitrila (20 mL) e, sob agitação constante e proteção da luz, foram adicionados lentamente os ligantes dissolvidos em metanol (10 mL cada), sendo primeiramente adicionados 1 equivalente do ligantes NN e após 20 min foram

adicionados 2 equivalente da tu. Em alguns casos houve a formação imediata de precipitado, o qual foi separado por filtração simples, lavado com metanol e éter e seco a vácuo. Tanto as soluções que não obtiveram precipitados inicialmente e aquelas resultante da filtração, foram submetidas à evaporação lenta do solvente para o crescimento monocristais. O sólido obtido após a evaporação do solvente foi lavado com éter e submetido à secagem a vácuo.

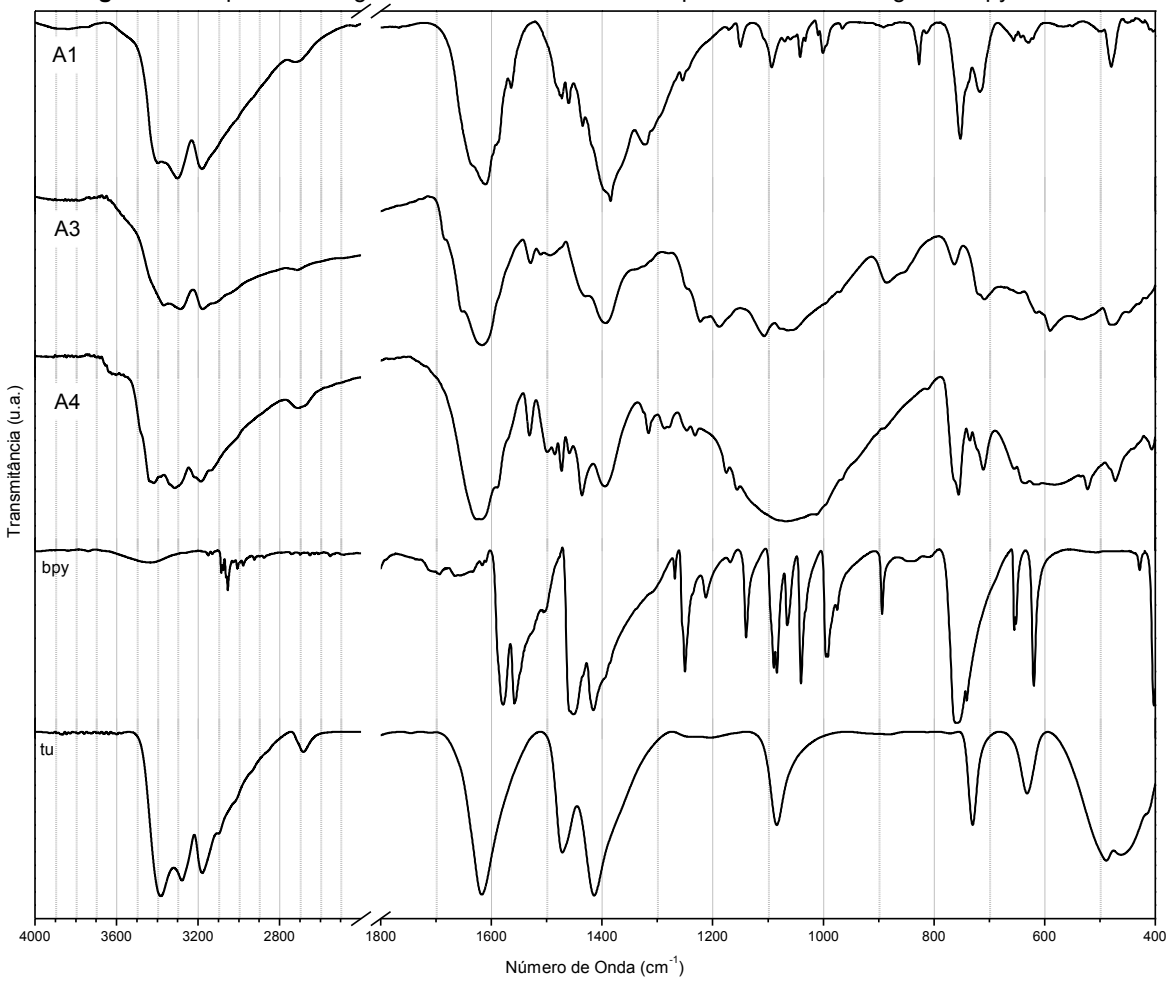
4.2.1 Compostos contendo 2,2'-bipiridina

As reações utilizando a bpy tiveram como característica de formarem soluções transparentes sem a precipitação de sólidos durante o tempo de reação. Para obtenção desses compostos foi necessária a evaporação do solvente para então iniciar o surgiento de sólidos cristalinos com tom rosa claro. Na reação utilizando o $AgCF_3SO_3$, mesmo com a proteção da luz e evaporação rápida do solvente, não foi possível obter um composto estável, sendo a prata reduzida ($Ag^+ \rightarrow Ag^0$) com formação de prata metálica na vidraria utilizada.

4.2.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho contribuíram para confirmar a presença dos ligantes e verificar mais indícios sobre os seus modos de coordenação. Além de confirmar a presença dos ligantes, o espectro de infravermelho contribuiu para verificar a presença dos contra-íons utilizados. Os espectros dos compostos obtidos com a bpy e tu podem ser observados na **Figura 16**.

Figura 16: Espectro na região do infravermelho dos compostos A1-3 e dos ligantes bpy e tu.

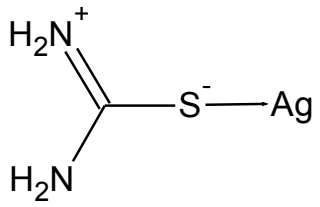


Fonte: autor

No espectro no IV da tu, observa-se a presença de um conjunto de bandas intensas na região de 3350-3000 cm^{-1}, atribuídas aos modos de estiramento νNH_2. Nos espectros dos compostos obtidos, as bandas que ocorrem entre 3450 a 3100 cm^{-1} são atribuídas aos mesmos modos de estiramento νNH_2. A mudança no perfil dessas bandas, tanto como seu deslocamento para regiões de menor frequência, indicam a coordenação da tu. A banda intensa observada em 1634 cm^{-1} no espectro da tu é associada ao modo de deformação angular "tesoura" do NH_2 e pode ser atribuída nos compostos obtidos a banda intensa em 1610 cm^{-1} para A1, 1620 cm^{-1} para A3 e 1619 cm^{-1} para A4. A banda $\nu C{=}S$ observada em 730 cm^{-1} na tu livre, encontra-se levemente deslocada para regiões de menores frequências com o enfraquecimento da ligação C=S após a complexação (ISAB et al, 2010), sendo atribuídas em 717 cm^{-1} para A1, 707 cm^{-1} para A3 e 711 cm^{-1} para A4. A formação da ligação S-Ag resulta em maior contribuição da estrutura altamente polar (**Figura**

17) na molécula de tu, conferindo no aumento da ordem de ligação CN e no enfraquecimento da ligação C=S. Essas informações mostram-se consistentes com a coordenação da tu pelo átomo de enxofre nos compostos obtidos (HENDERSON et al, 2002; BOWMAKER, 2010, EL-BAHY, 2003).

Figura 17: Estrutura canônica polar favorecida após a coordenação S → Ag.



Fonte: autor

As bandas na região de 1600-1400 cm^{-1} correspondem aos modos de vibração vCC e vCN da bpy e são sensíveis a coordenação. No ligante livre essas bandas se encontram em 1556, 1452 e 1414 cm^{-1} enquanto são observadas deslocadas para regiões de maiores frequências para A1 (1564, 1464 e 1435 cm^{-1}) e para menores frequências para A3 (1533, 1436 e 1395 cm^{-1}) e A4 (1564, 1464 e 1435 cm^{-1}). Outra banda que indica a presença da bpy nos compostos é a atribuída à respiração do anel em 757 cm^{-1} que se encontra na mesma posição para os complexos (BOUDALIS et al, 2001; SLETTEN et al, 1990).

Para o composto A1 que possui o íon nitrato, foi possível verificar as bandas atribuídas aos modos vibracionais νNO_2 e νNO, característicos de sua forma livre (D_{3h}), em 1385, 1324, 826 cm^{-1}. O ion BF_4^- presente no composto A3, possui apenas um modo de vibração ativo no infravermelho em 1060 cm^{-1} (HENRIQUES et al, 1998; SHARMA et al, 2005), sendo possível verificar uma banda na mesma região descrita na literatura no espectro de A3. No caso do íon sulfato, presente no composto A4, é possível encontrar diferentes modos de coordenação na literatura possuindo modos iônicos, monodentados, bidentado e em ponte (GÁL; GOGGIN; MINK, 1992), mas que infelizmente as bandas que podem indicar o modo de coordenação do SO_4^{2-} estão sobrepostas por uma banda larga (1200-900 cm^{-1}) no espectro de A4. (SILVERSTEIN, 1991; NAKAMOTO, 1986). No trabalho de Bowmaker (2009; 2010) foram analisados diferentes sais de prata complexados com

tiouréia, e em todos os casos os compostos formados com oxiânions, esse era encontrado fora da esfera de coordenação da prata, mantendo sua forma livre. Até mesmo compostos obtidos a partir de sais notavelmente pouco solúveis de prata como o AgCl reagem com a tiouréia em condições relativamente brandas.

A **Tabela 2** resume os principais modos vibracionais utilizados na caracterização dos complexos e as atribuições dos seus ligantes.

Tabela 2: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos A1, A3 e A4.

Atribuições	bpy	tu	A1	A3	A4
bpy					
νCC e νCN	1556	-	1564	1533	1533
	1452	-	1464	1436	1434
	1414	-	1435	1395	1395
	1250	-	1250	1250	1250
$\nu CH_{(ar)}$	1138	-	1149	-	1157
Respiração do anel	757	-	757	757	757
tiouréia					
$\nu_s NH_2$	-	3384	3403	3370	3422
$\nu_{as} NH_2$	-	3282	3299	3278	3307
νNH	-	3180	3184	3181	3188
δNH_2 tesoura	-	1617	1610	1620	1619
νNCN	-	1471	1478	1488	1478
$\rho NH_2 + \nu$NCN + νCS	-	1414	1392	1392	1392
νC=S	-	730	717	707	711
nitrato					
NO_3^-	-	-	1385	-	-
	-	-	1324	-	-
	-	-	826	-	-
tetrafluoroborato					
BF_4^-	-	-	-	1053	-
sulfato					
SO_4^{2-}	-	-	-	-	1200-950

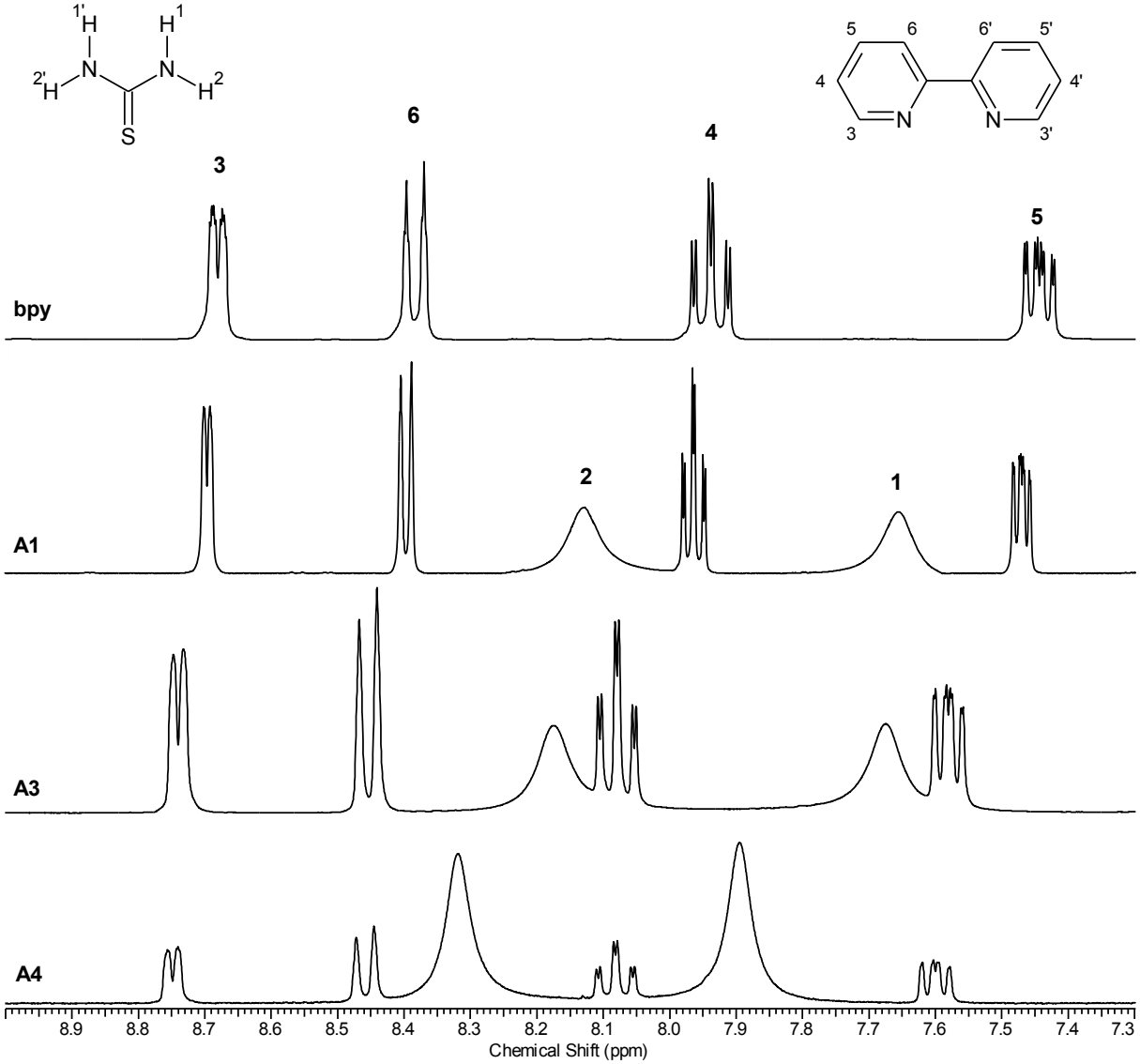
Fonte: autor

As análises espectroscópicas na região do IV para os compostos A1-3 nos indicaram a coordenação tanto da bpy como da tu. No caso da tu, observou-se ainda o deslocamento da banda referente à ligação C=S para regiões de menor frequência do espectro apontando para a coordenação da tu pelo seu átomo de enxofre. Sugere-se também que os contra-íons utilizados não se encontram coordenados ao metal.

4.2.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Os espectros de RMN de ^{1}H dos compostos foram estudados com o objetivo de verificar a coordenação dos ligantes bpy e da tu ao centro metálico de prata em solução. O esquema de numeração utilizado para atribuição dos sinais pode ser observado na **Figura 18** juntamente com os espectros da bpy e dos compostos A1-3, suas atribuições estão presentes na **Tabela 3**.

Figura 18: Esquema de numeração dos ligantes e espectro de ^{1}H RMN dos compostos contendo bpy e tu.



Fonte: autor

Devido à equivalência dos hidrogênios de cada lado da bpy, observam-se quatro sinais correspondentes aos hidrogênios H3/3', H4/4', H5/5' e H6/6' em seu

espectro. Quando comparado com os compostos obtidos é possível observar um deslocamento de todos os sinais para regiões de campo mais baixo, compatível com a coordenação da bpy ao íon prata. Os maiores deslocamentos registrados ($\Delta\delta = \Delta\delta_{complexo} - \Delta\delta_{ligante}$) foram para os sinais referentes a H4 (0,03 ppm para A1 e 0,15 ppm para A3 e A4) e H5 (0,03 ppm para A1, 0,14 ppm para A3 e 0,16 ppm para A4). Os sinais referentes a H3 e H6 obtiveram o menor deslocamento, sendo para esse deslocamento de aproximadamente 0,03 ppm para H3 em todos os compostos e de 0,05 ppm para H6 (PAZDERSKI et al, 2007).

Foi possível também verificar os sinais alargados característicos de átomos de H presentes em grupos tioamida em duas regiões diferentes do espectro, indicando a presença da tu nos compostos obtidos e compatíveis para compostos contendo a tu coordenada (ISAB et al, 2010). Esses sinais mostraram-se bastante sensíveis à mudança do ânion utilizado, atribui-se esse fato a possibilidade de diferentes modos de interação intermolecular por ligações de hidrogênio entre os grupos amina do ligante e o contra-íon. Uma discussão mais detalhada sobre as interações de intermoleculares em fase solida pode ser verificada na discussão cristalográfica sobre o cristal obtido do composto A1 (item 4.2.1.4).

Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN de 1H para os compostos bpy, A1, A3 e A4.

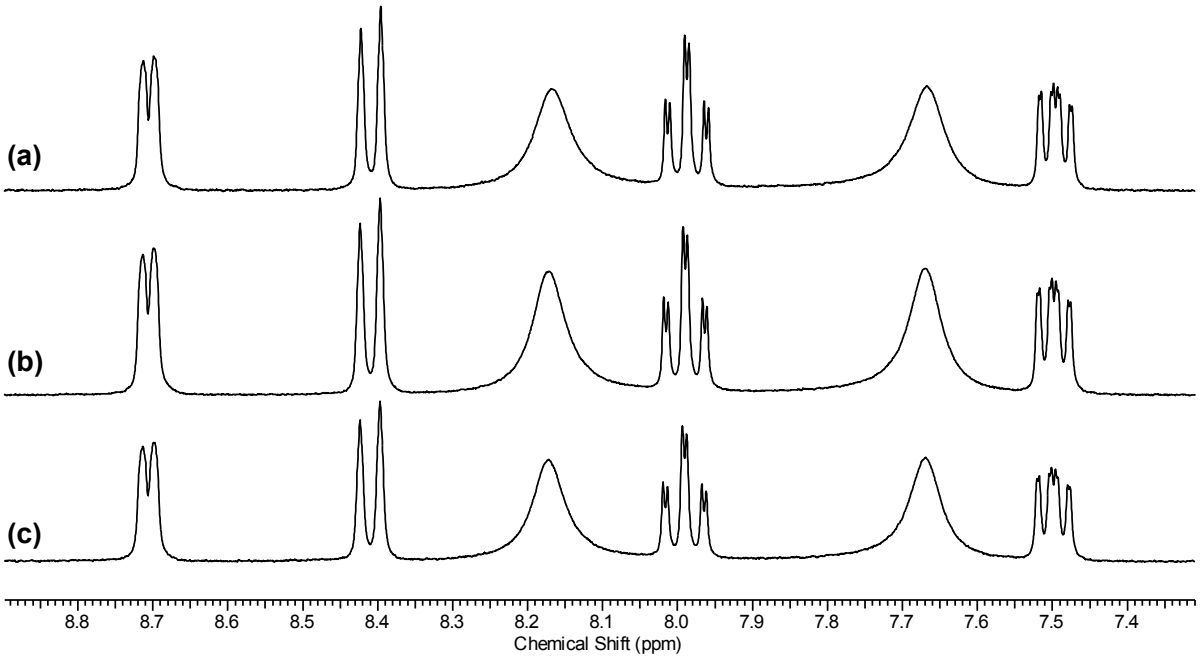
	bpy	**A1**	**A3**	**A4**
1/1'	--	7,66 (br. s., 2 H)	7,68 (br. s., 1 H)	7,90 (br. s., 6 H)
2/2'	--	8,13 (br. s., 2 H)	8,18 (br. s., 1 H)	8,32 (br. s., 6 H)
3/3'	8,68 (m, 1H)	8,70 (d, *J*=4,7 Hz, 1 H)	8,74 (d, *J*=4,7 Hz, 1 H)	8,75 (d, *J*=4,8 Hz, 1 H)
4/4'	7,93 (m, 1H)	7,96 (td, *J*=7,7, 1,8 Hz, 1 H)	8,08 (td, *J*=7,8, 1,7 Hz, 1 H)	8,08 (td, *J*=7,8, 1,7 Hz, 1 H)
5/5'	7,44 (m, 1H)	7,47 (ddd, *J*=7,4, 4,8, 1,0 Hz, 1 H)	7,58 (ddd, *J*=7,5, 4,9, 0,9 Hz, 1 H)	7,60 (dd, *J*=7,2, 5,3 Hz, 1 H)
6/6'	8,38 (m, 1H)	8,40 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H)	8,45 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H)	8,46 (d, *J*=8,0 Hz, 1 H)

Fonte: autor

Além do estudo da coordenação dos compostos obtidos, a espectroscopia de ^{1}H RMN contribuiu para o estudo de estabilidade em solução dos complexos, com o objetivo de evidenciar a estabilidade dos compostos nos ensaios biológicos efetuados. Para isso somente o composto A1 foi submetido a análises sequenciais

em 0, 24 e 48 horas após a sua solubilização em DMSO, os espectros obtidos estão representados na **Figura 19**, e mesmo após 48 horas não houve alteração dos espectros de RMN, sugerindo que a estrutura molecular da espécie em solução se mantém intacta em DMSO.

Figura 19: Espectros de ^{1}H RMN do composto A1 em diferentes tempos de análises. (a) 0 h; (b) 24 h e (c) 48 h.



Fonte: autor

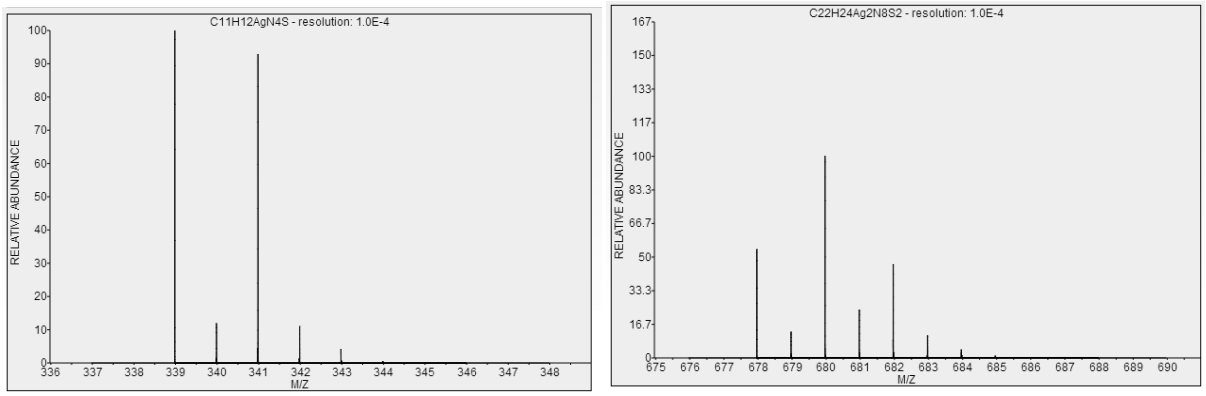
Esses resultados indicaram tanto a presença da bpy e como da tu nos compostos obtidos, bem como a sua estabilidade em solução representada por A1.

4.2.1.3 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 (BALASANMUGAM; DAY; HERCULES, 1985), é possível distinguir entre um sistema monomérico ou dimérico 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. Com o auxilio do software desenvolvido por Patiny e Borel (2013), foi possível calcular esses padrões e comparar o espectro teórico com o obtido nas análises. 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. (WAŁĘSA-CHORAB et al, 2012;SMITH, 2005; SILVERSTEIN, 2006). A **Figura 20** representa os espectros de massa calculados a partir do software desenvolvido por Patiny (2011).

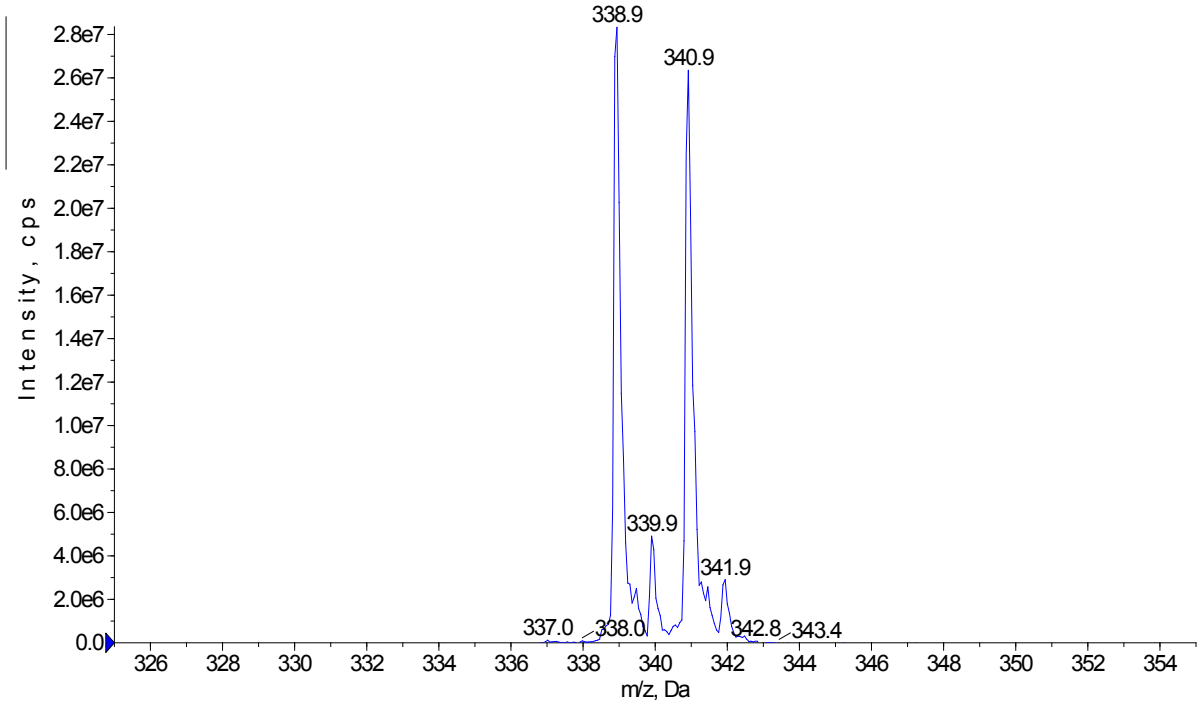
Figura 20: Padrões isotópicos calculados para compostos monoméricos (esquerda) e diméricos (direita) para os compostos contendo a bpy.



Fonte: Patiny (2011)

Para o composto A1 foi observado somente um conjunto de sinais que podem ser atribuídos a um complexo contendo prata. Quando observado o padrão isotópico do sinal adquirido pode-se inferir um comportamento monomérico para o composto em solução com dois sinais de intensidade semelhante em 338,9 e 340,9 m/z e compatíveis com os espectros calculados para o cátion $[Ag(bpy)(tu)]^+$. A **Figura 21** ilustra o espectro de massas obtido para o composto A1.

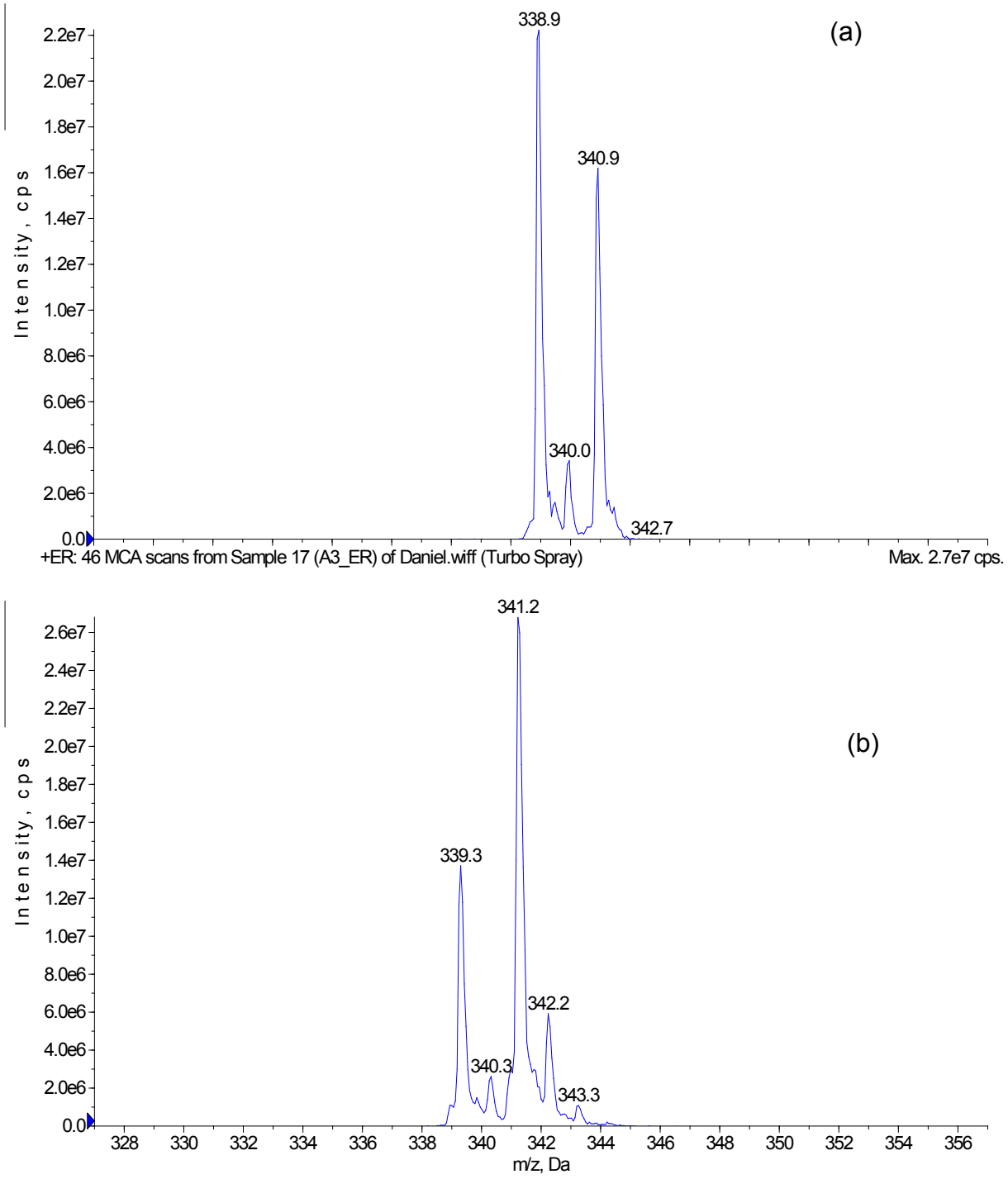
Figura 21: Espectro de massas do composto A1 com destaque para o padrão isotópico em 338,9 m/z.



Fonte: autor

Os compostos A3 e A4 seguiram o mesmo comportamento do composto A1 e em ambos foram encontrados os sinais correspondentes ao complexo $[Ag(bpy)(tu)]^+$ em 338,9 e 340,9 m/z. A **Figura 22** representa os espectros de massas dos compostos A3 e A4. Embora diferente, o perfil do composto A4 não indica a formação de um dímero, evidenciado pela diferença de duas unidades de massas entre os sinais obtidos. No caso de formação de dímero é esperada uma diferença de apenas 1 unidade de massa.

Figura 22: Espectro de massas para o composto A3 (a) e A4 (b).



Fonte: autor

4.2.1.4 Análise elementar

Apesar do modo de preparo e os resultados espectroscópicos serem muito semelhantes, os resultados de análise elementar mostraram características diferentes entre os compostos. Para o composto A1 os dados apontam para um composto de fórmula mínima $[Ag(bpy)(tu)]NO_3$ contendo a proporção entre o metal e os ligantes de 1:1:1. Já para o composto A3 os dados indicam a formação de composto contendo dois ligantes tu coordenados apontando para a fórmula mínima $[Ag(bpy)(tu)_2]BF_4$, sendo nesse caso a proporção entre o metal e os ligantes de 1:1:2 (Ag : phen : tu). Os resultados do composto A4 sugerem um comportamento estrutural em estado sólido mais complexo do que os encontrados para os compostos A1 e A3. Estruturas poliméricas em compostos de coordenação formados por ligantes mistos são comuns na literatura (CHEN et al, 2013b; WANG et al, 2013), não sendo descartada essa hipótese para o composto A4. Apesar das dificuldades encontradas, uma proporção entre o metal e os ligantes foi calculada para o composto A4 sugerindo uma fórmula mínima correspondente a $[Ag_8(bpy)(tu)_6](SO_4)_4$.

A **Tabela 4** resume os cálculos teóricos e os resultados obtidos para os compostos A1-3.

Tabela 4: Resultados de análise elementar dos compostos contendo o ligante bpy.

	% C		**% H**		**% N**	
	calculado	*obtido*	*calculado*	*obtido*	*calculado*	*obtido*
A1	32,85	32,76	3,01	2,86	17,41	16,92
A3	28,65	26,87	3,21	3,23	16,70	15,62
A4	10,33	8,93	1,73	2,77	10,54	12,56

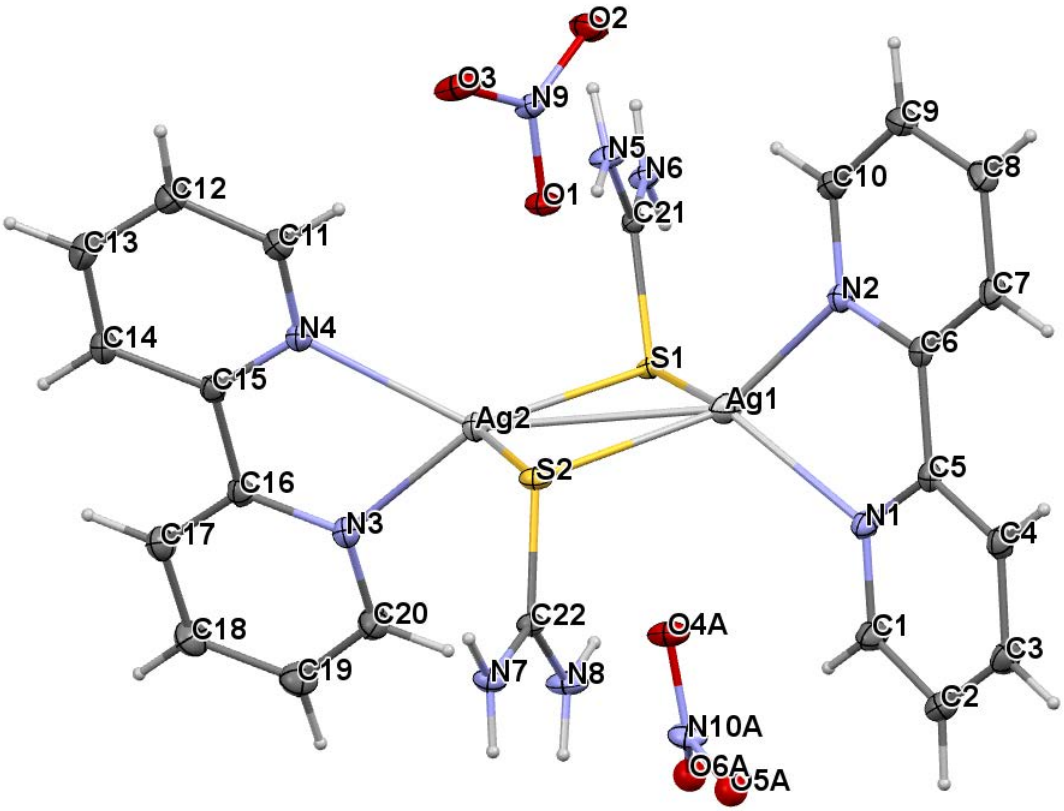
Fonte: autor

As análises elementares dos complexos A1-3 evidenciaram que existe um comportamento diferenciado entre os compostos quando em estado sólido em função do contra-íon.

4.2.1.5 Descrição do cristal [{Ag(bpy)(μ-tu)}$_2$](NO$_3$)$_2$ - A1

A cristalização do composto A1 pela evaporação lenta do solvente utilizado no meio reacional resultou em cristais adequados para a análise estrutural por difração de raios-X de monocristal. Sua cristalização ocorreu com a formação de um dímero composto por duas unidades de [Ag(bpy)(tu)]$^+$ cristalograficamente independentes em um sistema triclínico centrosimétrico (grupo espacial P-1), a formação desse dímero iônico bivalente é estabilizada pela presença de dois íons nitrato balanceando essa carga. Na sua esfera de coordenação cada íon de prata(I) tem uma bpy coordenada de modo quelante e sua estrutura dimérica é sustentada pela presença das moléculas de tu em ponte. A **Figura 23** representa a estrutura cristalina do composto [{Ag(bpy)(μ-tu)}$_2$](NO$_3$)$_2$.

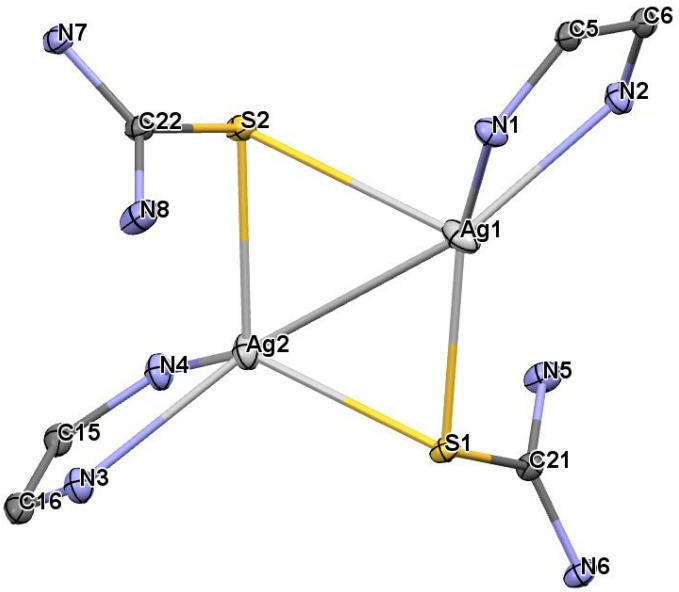
Figura 23: Unidade assimétrica do composto [{Ag(bpy)(μ-tu)}$_2$](NO$_3$)$_2$ (A1). A desordem do íon nitrato foi omitida.



Fonte: autor

Ambos os centros apresentam uma coordenação tetraédrica bastante distorcida, que pode ser observado com clareza tanto pela variação da distância de ligação Ag-N, entre 2,315(3) a 2,351(3) Å, e Ag-S, entre 2,4611(8) a 2,8140(9) Å, condizentes com outros complexos de prata dimérico contendo a tu em ponte pelo átomo de enxofre (BOWMAKER; SKELTON; WHITE, 2009; ALTAF et al, 2013), como também pela análise da variação dos ângulos do tetraedro formado entre os centros de Ag(I) e os átomos de S da tu e de N da bpy, que variam de 70,88(10)º a 137,33(7)º. Com uma distância de 3,0910(4) Å para Ag1-Ag2, foi possível atribuir a existência de uma interação argetofílica moderada entre os dois centros de prata que contribuiu para a estabilização do dímero em seu estado sólido (SERPE et al, 2011; WANG et al, 2013). O plano médio formado pela bpy é praticamente perpendicular ao plano formado pelo íon de prata(I) e os átomos S1 e S2, sendo a moléculas de tu situadas em posições opostas ao plano formado por {Ag1-S1-Ag2-S2} com ângulos C–S···S de 108,66(12) e 110,60(11)º. A **Figura 24** representa o centro binuclear assimétrico de prata do composto A1, com destaque para as posições da molécula de tu e dos N quelantes presentes na bpy.

Figura 24: Centro binuclear assimétrico do cristal $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ com destaque para as ligações da tu e da bpy aos íons de prata(I).



Fonte: autor

A **Tabela 5** contem uma descrição mais detalhada das distâncias e ângulos observados para o composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1).

Tabela 5: Comprimentos e ângulos de ligação para o núcleo dimérico $\{Ag_2N_4S_2\}$ encontrado no composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1)

Distância (Å)			
Ag1–N1	2,333(3)	Ag2–N3	2,351(3)
Ag1–N2	2,315(3)	Ag2–N4	2,334(3)
Ag1–S1	2,4611(8)	Ag2–S1	2,5573(8)
Ag1–S2	2,8140(9)	Ag2–S2	2,5554(8)
Ag1···Ag2	3,0910(4)		
Ângulo (º)			
N1–Ag1–N2	71,43(10)	N3–Ag2–N4	70,88(10)
N1–Ag1–S1	137,33(7)	N3–Ag2–S1	112,24(8)
N1–Ag1–S2	100,16(7)	N3–Ag2–S2	124,32(8)
N2–Ag1–S1	129,56(7)	N4–Ag2–S1	127,00(7)
N2–Ag1–S2	108,85(7)	N4–Ag2–S2	109,69(8)
S1–Ag1–S2	104,40(3)	S1–Ag2–S2	109,45(3)

Fonte: autor

As ligações de hidrogênio no cristal de A1 estão dispostas muito próximas ao plano (022) da cela unitária do cristal. Este plano também se encontra muito próximo aquele formado pelos ligantes tu e passa através dos íons nitrato. Essas interações destacaram-se por possuírem diferentes padrões e modos de interação, observou-se ligações de hidrogênio entre os grupos amina e o enxofre da tu adjacente como também interações variadas entre os grupos amina da tu e o íon nitrato (**Figura 25**). Outra interação supramolecular presente no cristal é um empilhamento π-π fraco, com uma distancia entre os anéis piridínicos de 3.919(2) e 4.025(3) Å. (**Figura 26**). Uma descrição mais detalhada das distâncias e ângulos formados pela rede de ligações de hidrogênios está listada na **Tabela 6**.

Figura 25: Representação esquemática das ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1), sendo essas interações destacadas pelas linhas pontilhadas. As moléculas da bpy foram suprimidas para melhor visualização das interações.

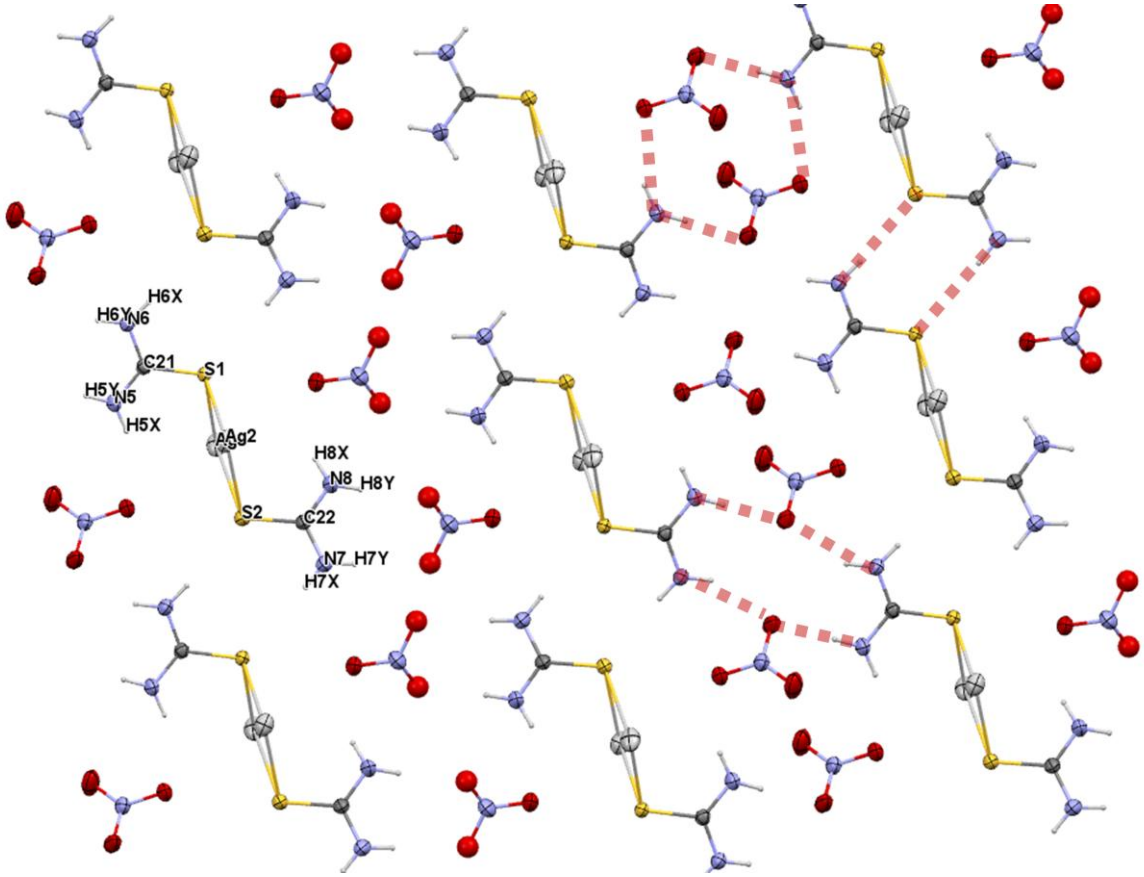
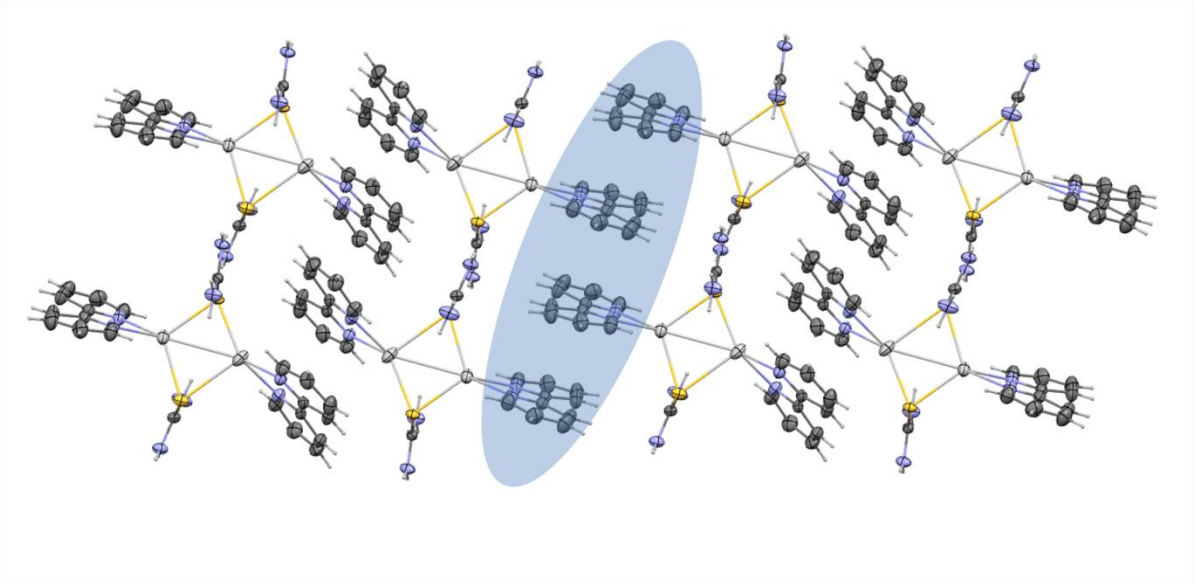


Figura 26: Empilhamento π-π entre os ligantes piridínicos adjacentes sendo suas interações destacadas em azul.



Fonte: autor

Tabela 6: Dados da geometria das interações de hidrogênio presentes no cristal de A1. (distância internuclear em Å e ângulos em graus)

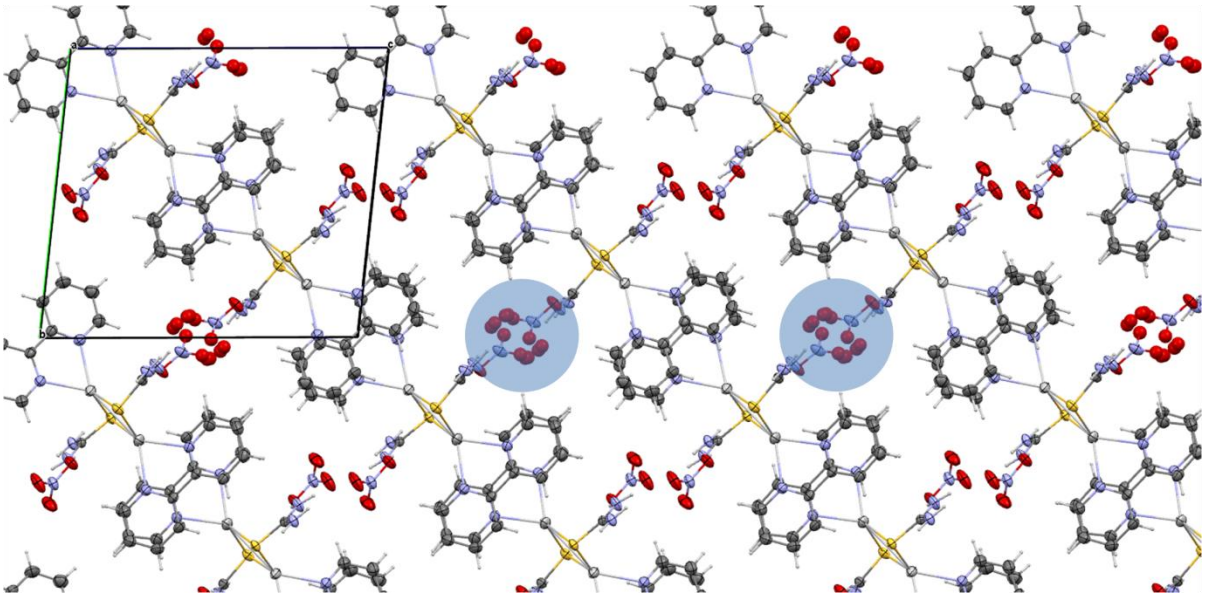
D–H···A	$d_{D\cdots A}$	D–H···A
N5–H5X···O1	2,968(4) Å	155 º
N5–H5Y···O3^{i}	2,905(4) Å	168 º
N6–H6X···S2^{ii}	3,366(3) Å	171 º
N6–H6Y···O3^{ii}	2,869(3) Å	147 º
N7–H7X···S1^{iii}	3,506(3) Å	172 º
N7–H7Y···O6A^{iii}	3,044(8) Å	137 º
N8–H8X···O4	2,932(4) Å	148 º
N8–H8Y···O5A^{iv}	2,773(11) Å	177 º

Operações de simetria utilizadas para gerar os átomos equivalentes: (i) 1-*x*, 1-*y*, 2-*z*; (ii) 1+*x*, *y*, *z*; (iii) -1+*x*, *y*, *z*; (iv)1-*x*, 2-*y*, 1-*z*.

Fonte: autor

A maioria dos átomos do cristal do composto A1 foram devidamente localizados e refinados anisotropicamente, com exceção do íon nitrato contendo N10 que se encontra altamente desordenado. Diferentes métodos de refinamento de dados foram utilizados para definir a posição correta desse íon, mas nenhuma convergiu para um resultado estável. Para isso três diferentes posições foram atribuídas arbitrariamente em valores muito próximos aos que foram obtidos nos refinamentos (**Figura 27**). A **Tabela 7** resume os principais dados cristalográficos obtidos para o cristal do composto A1.

Figura 27: Empacotamento cristalino do composto A1 observado pela perspectiva da direção [100] da cela unitária, com destaque para os íons nitrato que se encontram desordenados.



Fonte: autor

Tabela 7: Principais dados cristalográficos do complexos $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ (A1).

	$[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$
Fórmula Empírica	$C_{22}H_{24}Ag_2N_8S_2$, $2(NO_3)$
Nome	Nitrato de bis-[N,N'-fenantrolina-μ-(tiouréia-S,S)-prata(I)]
Massa molecular (g mol^{-1})	804,35
Sistema Cristalino	triclínico
Grupo espacial	P -1
a (Å)	8,0435(5)
b (Å)	13,5107(9)
c (Å)	14,3983(8)
α (º)	92,937(3)
β (º)	100,246(2)
γ (º)	106,444(2)
V ($Å^3$)	1468.2
Z (cela unitária)	2
d_{calc} (g cm^{-3})	1,819
μ(Mo-Kα) (mm^{-1})	1,532
Tamanho (mm)	0,09 x 0,09 x 0,009
h, k, l máx.	10, 18, 19
Reflexões [I>2σ(I)]	*R*1 = 0,0409
	*wR*2 = 0,0829

Fonte: autor

4.2.1.6 Considerações finais sobre os compostos A1-3

Os compostos obtidos com a bpy se mostraram estáveis e solúveis em metanol, água e DMSO, todos eles possuíam uma coloração rosa, sendo o A1 o mais claro e o A3 o mais intenso. Os resultados espectroscópicos indicaram com clareza a coordenação tanto da bpy como da tu em todos os compostos obtidos. Os resultados obtidos em solução indicaram a formação de um cátion monovalente $[Ag(bpy)(tu)]^{+}$, não havendo sinal da formação do dímero bivalente $[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2]^{2+}$, aferido pela análise do padrão isotópico no espectro de massas. Contudo, no estado sólido, supõe-se que esses compostos formem dímeros iônicos conectados pelo átomo de enxofre da tu, possuindo a bpy coordenada de uma maneira quelante e com a carga balanceada por contra-íons não coordenados.

4.2.2 Compostos contendo 1,10-fenantrolina

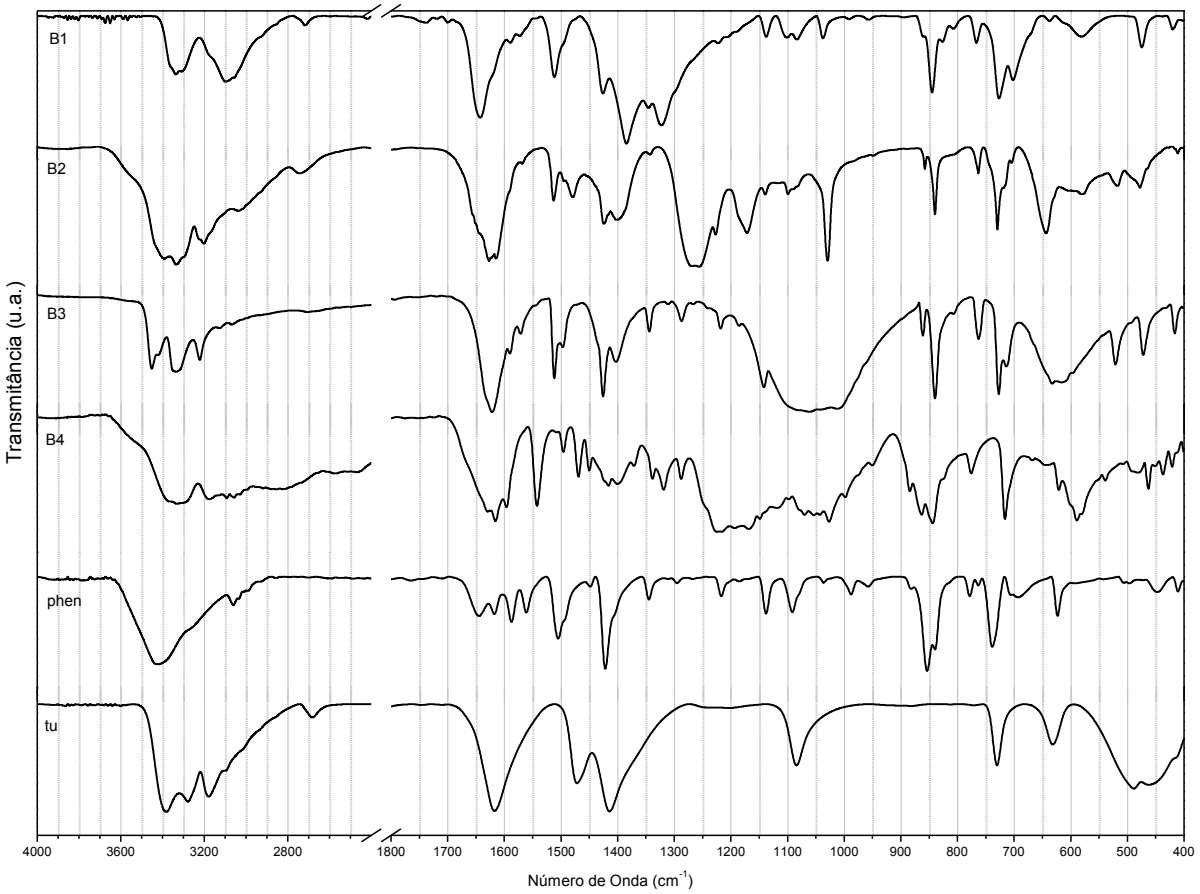
As reações utilizando a phen tiveram como característica de formarem rapidamente um sólido ao misturar as soluções de phen e do sal de prata. No caso do composto B2 e B4 tiveram a característica de terem esse precipitado solubilizado com a adição da tu, enquanto os compostos B1 e B3 não foram solubilizados com a adição da solução contendo tu. As reações que possuíam precipitados foram filtradas e estes lavados com metanol e éter e secos a vácuo. No caso das reações que não possuíam sólidos, estas foram deixadas para evaporação lenta do solvente com o intuito separar o composto solúvel e o crescimento de cristais, sendo então o sólido formado lavado com éter e seco a vácuo. Os compostos obtidos possuíam coloração leve em alguns casos, sendo de brancos a amarelo pálido e com tendências cristalinas.

4.2.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Muito semelhante ao que foi discutido com as análises espectroscópicas na região do infravermelho dos compostos contendo a bpy, a phen possui como principais bandas provenientes das ligações C-C, C-N e aromáticas. A atribuição das bandas provenientes da tu seguiram buscando evidenciar a ligação C=S e as

vibrações características dos grupos NH_2. Os grupos aniônicos presente nos compostos também foram observados nos espectros no IV obtidos. A **Figura 28** contem os espectros para os compostos obtidos com a phen e tu.

Figura 28: Espectro na região do infravermelho dos compostos B1-4 e dos ligantes phen e tu.



Fonte: autor

O espectro da tu já foi discutido anteriormente com os complexos contendo bpy. Os principais indícios de sua coordenação estão nos estiramentos νNH_2 presentes na tu (3350-3000 cm^{-1}), os quais nos complexos B1-4 aparecem com perfis diferentes do ligante livre e em regiões de menores frequências, a posição dessas bandas como também das outras atribuições estão presentes na **Tabela 8**. Outra banda muito importante no espectro dos compostos é a referente à ligação C=S enfraquecida após a coordenação, na tu essa banda é observada em 730 cm^{-1} enquanto nos compostos obtidos esta foi observada em 702 cm^{-1} para B1, 716 cm^{-1} para B2, 714 cm^{-1} para B3 e 715 cm^{-1} para B4, indicando a coordenação da tu pelo

seu átomo de enxofre (ISAB et al, 2010; HENDERSON et al, 2002; BOWMAKER, 2010, EL-BAHY, 2003).

No espectro da phen observou-se uma banda larga atribuída as vibrações devido à presença de agua de hidratação no ligante, enquanto nos complexos é observado as bandas referentes a tu. As bandas atribuídas as vibrações provenientes do esqueleto carbônico da phen sofreram um deslocamento leve quando comparado com o ligante livre, sendo que não houve nenhuma alteração em algumas bandas, como a encontrada em 1422 cm^{-1} tanto no ligante como nos complexos.

Os contra-íons presentes nos complexos foram encontrados em sua forma livre B1-3, sendo sua presença indicada em B1 pelos sinais do nitrato em 1385, 1324 e 826 em B2 pelas absorções do trifluorometanossulfonato em 1268, 1226 e 1171 cm^{-1} e no composto B3 pelo tetrafluoroborato em 1060 cm^{-1}. Já o composto B4, com o anion SO_4^{2-}, possui uma grande quantidade de bandas na região entre 1200-950 cm^{-1}, contudo essas bandas são bem diferentes das encontradas no composto A4, análogo com a bpy e sulfato, podendo ser um indicativo de coordenação desse íon com o íon de prata(I) (HENRIQUES et al, 1998; SHARMA et al, 2005; (GÁL; GOGGIN; MINK, 1992; SILVERSTEIN, 1991; NAKAMOTO, 1986; BERNARDO et al, 1993).

Tabela 8: Atribuição dos sinais de espectroscopia na região do IV para dos ligantes livres (phen e tu) e para os compostos B1-4.

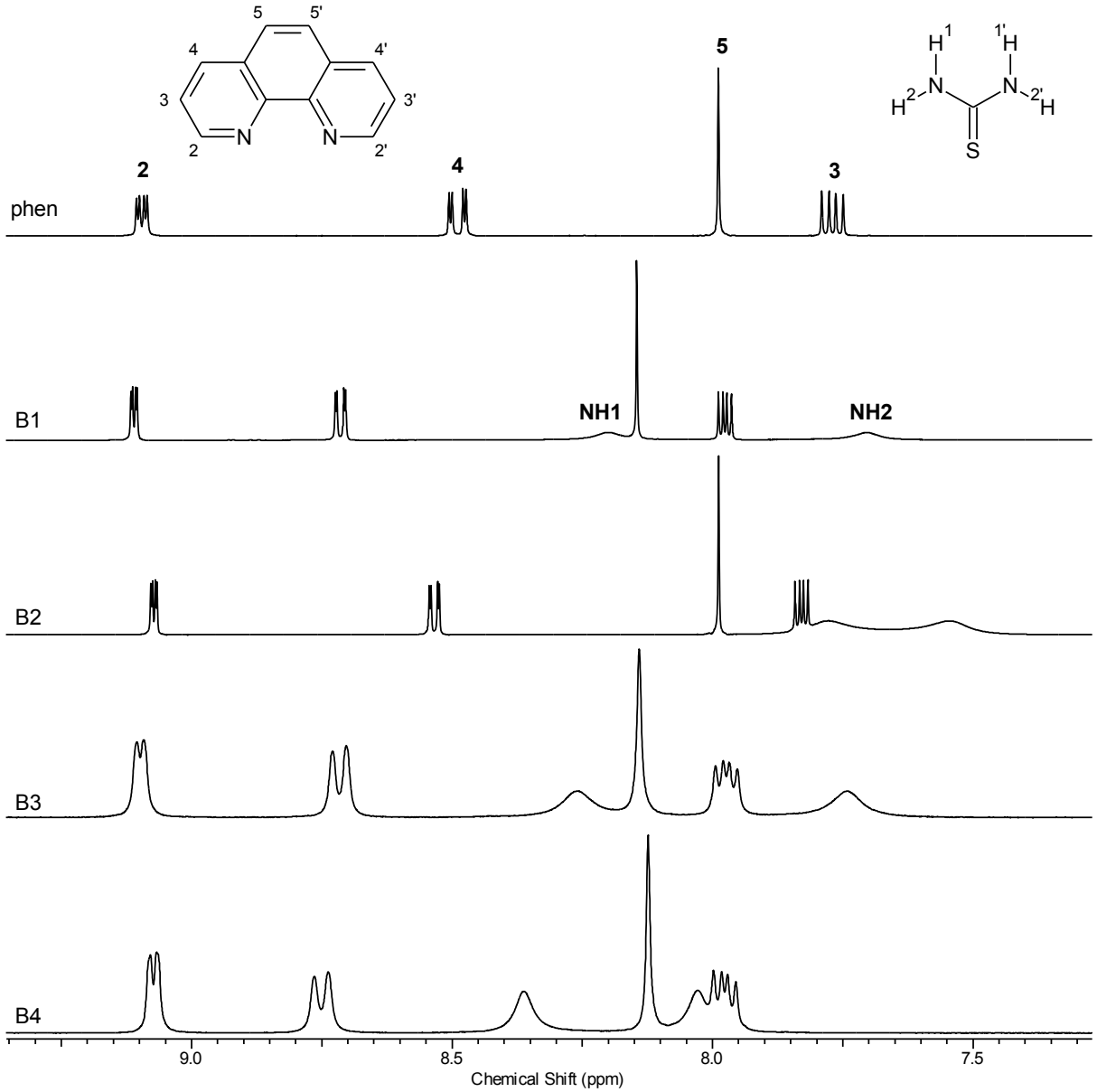
Atribuições	phen	tu	B1	B2	B3	B4
fenantrolina						
νOH	3424	-	-	-	-	-
νCC e νCN	1589 1507 1422	- - -	1590 1512 1422	1589 1513 1422	1590 1511 1422	1596 1595 1422
$\nu CH_{(ar)}$	839	-	845	840	840	843
Respiração do anel	778	-	766	763	763	777
tiouréia						
$\nu_s NH_2$	-	3384	-	3397	3453	-
$\nu_{as} NH_2$	-	3282	3339	3329	3229	3229
νNH	-	3180	3095	3200	3219	3177
δNH_2 tesoura	-	1617	1643	1628	1620	1615
νCN	-	1471	1494	1479	1494	1494
$\rho NH_2 + \nu$NCN + νCS	-	1414	-	1397	1401	1397
νC=S	-	730	702	716	714	715
nitrato						
NO_3^-	- - -	- - -	1385 1324 826	- - -	- - -	- - -
tetrafluoroborato						
BF_4^-	-	-	-	1060	-	-
sulfato						
SO_4^{2-}	-	-	-	-	-	1200-950
trifluorometanossulfonato						
$CF_3SO_3^-$	- - -	- - -	- - -	- - -	1268 1226 1171	- - -

Fonte: autor

4.2.2.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Semelhante a bpy, no espectro da phen é observado um conjunto com quatro sinais atribuídos aos seus núcleos de H de 2 a 5 devido a simetria da molécula. A grande diferença quando comparado com o espectro da bpy pode ser observada no singleto referente a H5, que não possui hidrogênios adjacentes na phen, enquanto os H2-4 se apresentam na forma de duplos dubletos. Os valores encontrados para a phen livre são de 9,11 ppm para H2, 7,79 ppm para H3, 8,50 ppm para H4 e 8,00 ppm para H5. A **Figura 29** possui o esquema de numeração adotado para os compostos B1-4 e para os ligantes phen e tu.

Figura 29: Esquema de numeração dos ligantes e espectro de ^{1}H RMN dos compostos contendo phen e tu.



Fonte: autor

Os sinais da phen nos complexos foram comparados com outros compostos de coordenação formados com a phen, os resultados obtidos estão muito próximos àqueles obtidos na literatura, podendo assim indicar a coordenação da phen nos compostos B1-4 (PAZDERSKI et al, 2007). A presença da tu foi observada novamente pelos dois sinais alargados referentes à NH1 e NH2, como esses grupos participam diretamente das ligações de hidrogênio com os contra-íons, seus sinais foram observados em posições bem diferentes de composto para composto (ISAB et

al, 2010). A **Tabela 9** contém os deslocamentos químicos de RMN de ^{1}H obtidos para os compostos B1-4.

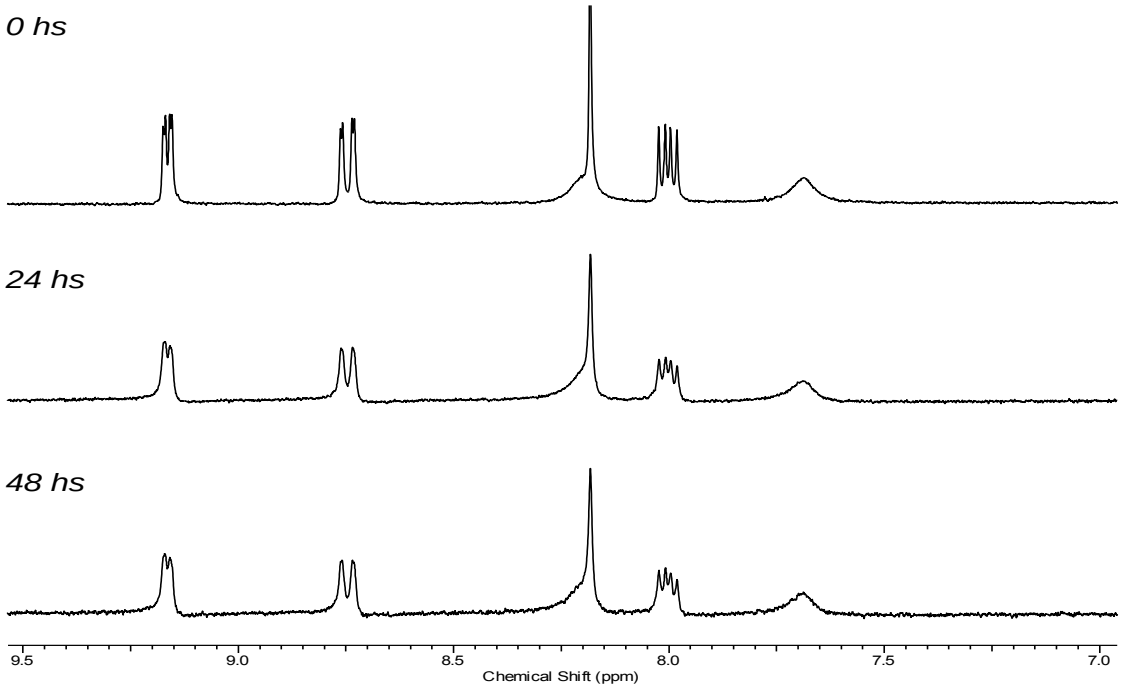
Tabela 9: Deslocamentos químicos de RMN de ^{1}H para os compostos B1-4.

	B1	**B2**
NH1/1'	8,20 (br. s., 2 H)	7,78 (br. s., 2 H)
NH2/2'	7,70 (br. s., 2 H)	7,54 (br. s., 2 H)
2/2'	9,11 (dd, *J*=4,5, 1,6 Hz, 1 H)	9,07 (dd, *J*=4,4, 1,7 Hz, 1 H)
3/3'	7,98 (dd, *J*=8,1, 4,5 Hz, 1 H)	7,83 (dd, *J*=8,1, 4,4 Hz, 1 H)
4/4'	8,71 (dd, *J*=8,1, 1,6 Hz, 1 H)	8,53 (dd, *J*=8,1, 1,7 Hz, 1 H)
5/5'	8,15 (s, 1 H)	7,99 (s, 1 H)
	B3	**B4**
NH1/1'	8,26 (br. s., 1 H)	8,36 (br. s., 1 H)
NH2/2'	7,74 (br. s., 1 H)	8,03 (br. s., 1 H)
2/2'	9,10 (d, *J*=3,8 Hz, 1 H)	9,07 (d, *J*=3,6 Hz, 1 H)
3/3'	7,97 (dd, *J*=8,0, 4,5 Hz, 1 H)	7,98 (dd, *J*=8,1, 4,7 Hz, 1 H)
4/4'	8,72 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H)	8,75 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H)
5/5'	8,14 (s, 1 H)	8,12 (s, 1 H)

Fonte: autor

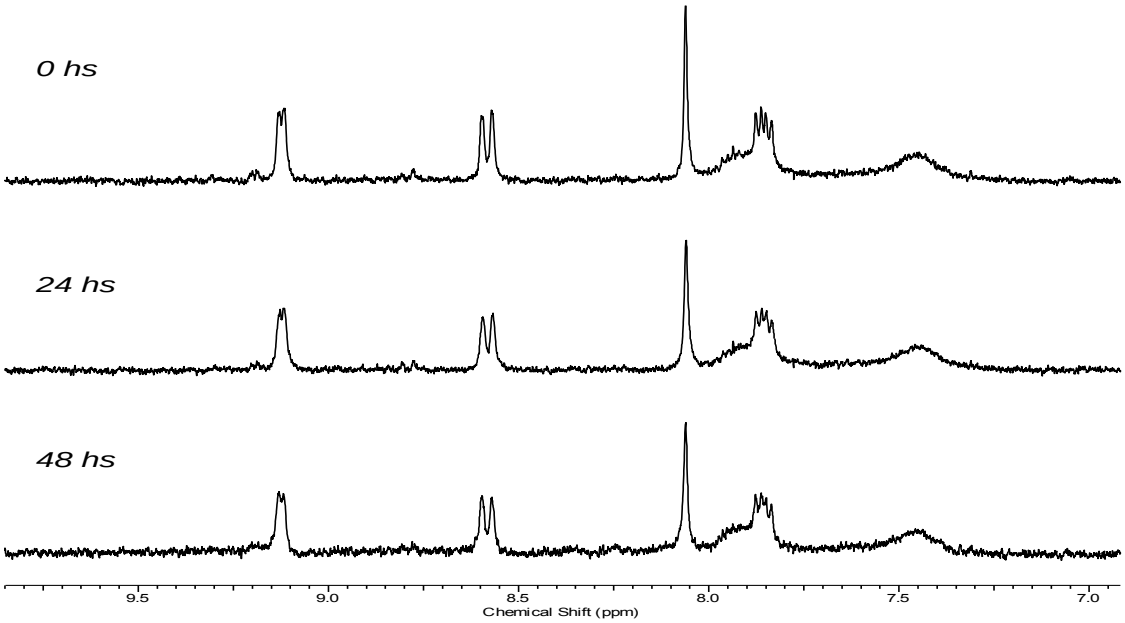
Os compostos B1-4 também tiveram sua estabilidade em solução estudada por RMN de ^{1}H. Nenhuma mudança foi observada nos perfis dos espectros dos compostos B1-3, sendo observado o mesmo espectro após 48 horas. Nas **Figuras Figura 30**-**Figura 32** estão representados os espectros para os compostos B1-3 em 0, 24 e 48 horas.

Figura 30: Espectros de ^{1}H RMN do composto B1 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



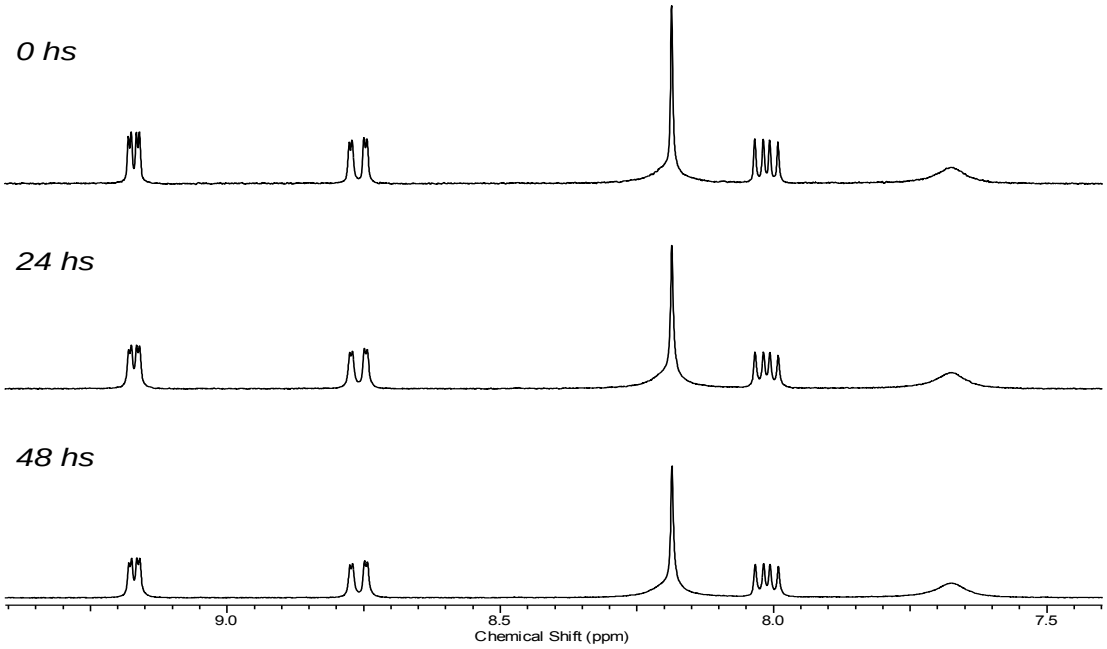
Fonte: autor

Figura 31: Espectros de ^{1}H RMN do composto B2 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



Fonte: autor

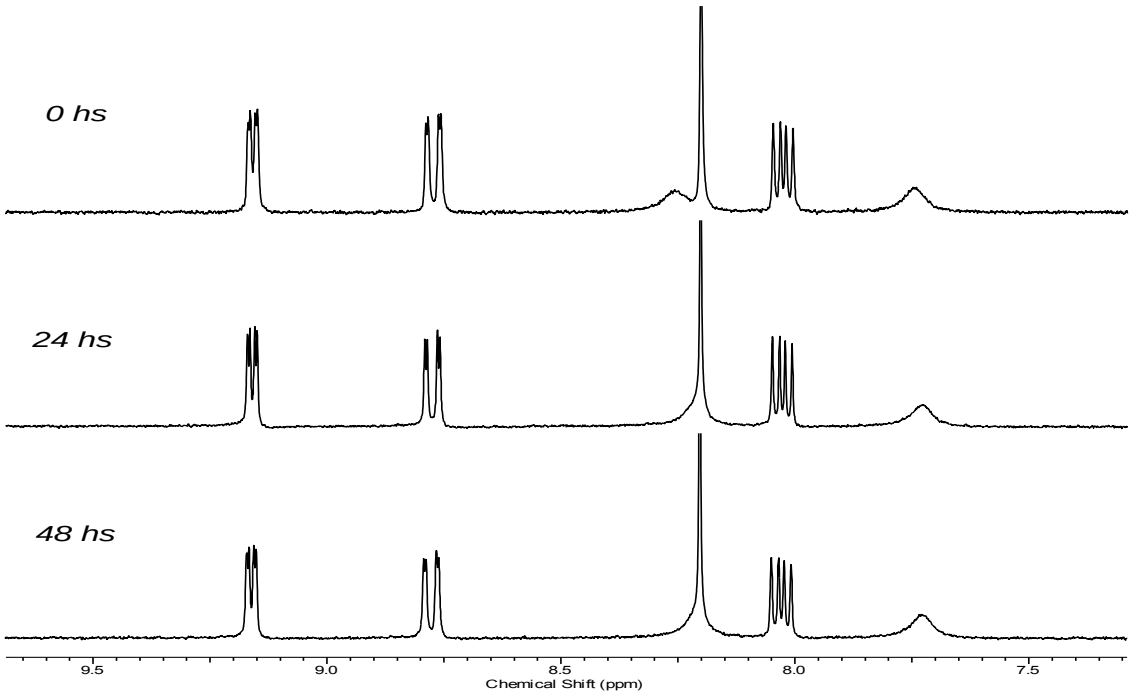
Figura 32: Espectros de ^{1}H RMN do composto B3 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



Fonte: autor

O único composto dessa família que não obteve o mesmo espectro após 48 horas foi o composto B4. No espectro obtido prontamente após a solubilização do composto em DMSO-d^6 foi possível observar os dois sinais atribuídos aos grupos tioamidas da tu, mas após 24 horas o sinal em 8,26 ppm não foi mais observado nessa posição, podendo ainda ser observado como um pequeno ombro na base do sinal referente a H4 da phen. A presença da tu do no composto ainda é evidenciada pela permanência do sinal do outro grupo amino da tu em 7,75 ppm na mesma posição após as 48 horas. Essa mudança não indica necessariamente uma decomposição do composto.

Figura 33: Espectros de ^{1}H RMN do composto B4 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.

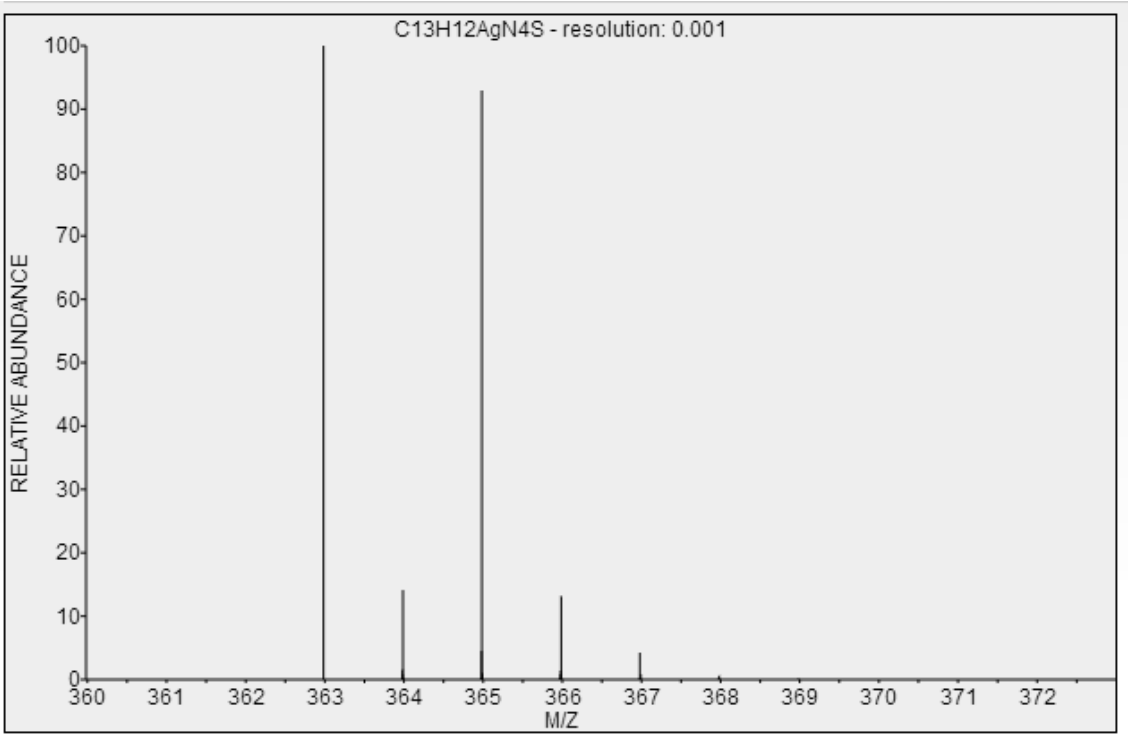


Fonte: autor

4.2.2.3 Espectrometria de Massas

Como já discutido anteriormente nos compostos contendo a bpy, o espectro de massas de compostos contendo a prata pode ser usado para prever o comportamento em solução dos complexos obtidos. Cálculos para determicação do padrão isotópico esperadado para o monomérico de prata para os compostos B1-4 estão indicados na **Figura 34**.

Figura 34: Padrão isotópico calculado para o composto $[Ag(phen)(tu)]^+$.

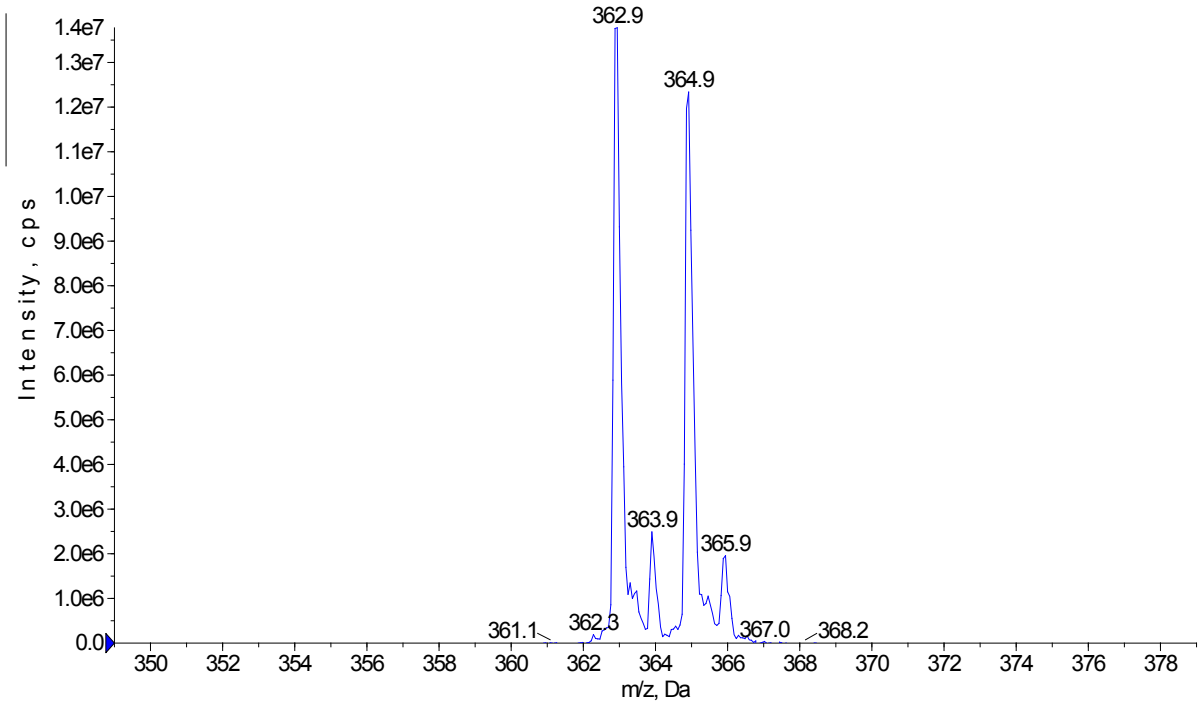


Fonte: (PATINY, 2011)

No caso dos compostos B1-4 foi possível observar em todas as análises os sinais em 362,9 e 364,9 m/z atribuídos ao fragmento $[Ag(phen)tu]^+$ possuindo o padrão isotópico calculado para complexos monoméricos de prata. Em nenhum dos casos foi observado nos respectivos espectros a presença de um fragmento de massa correspondente ao dímero ou com o seu respectivo padrão isotópico (BALASANMUGAM; DAY; HERCULES, 1985; PATINY; BOREL, 2013; WAŁĘSA-CHORAB et al, 2012; SMITH, 2005; SILVERSTEIN, 2006; PATINY, 2011). As **Figura 35**-**Figura 38** representam os espectros de massas obtidos para os compostos

B1-4 respectivamente.

Figura 35: Espectro de massas do composto B1 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z.



Fonte: autor

Figura 36: Espectro de massas do composto B2 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z.

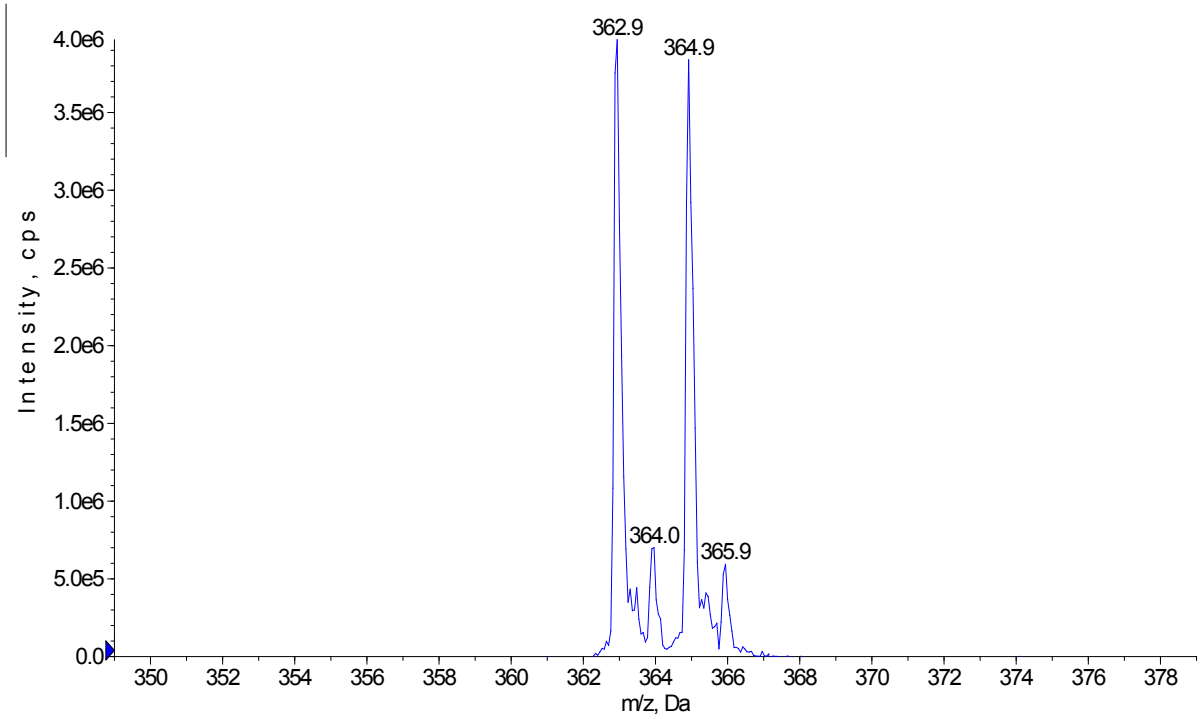
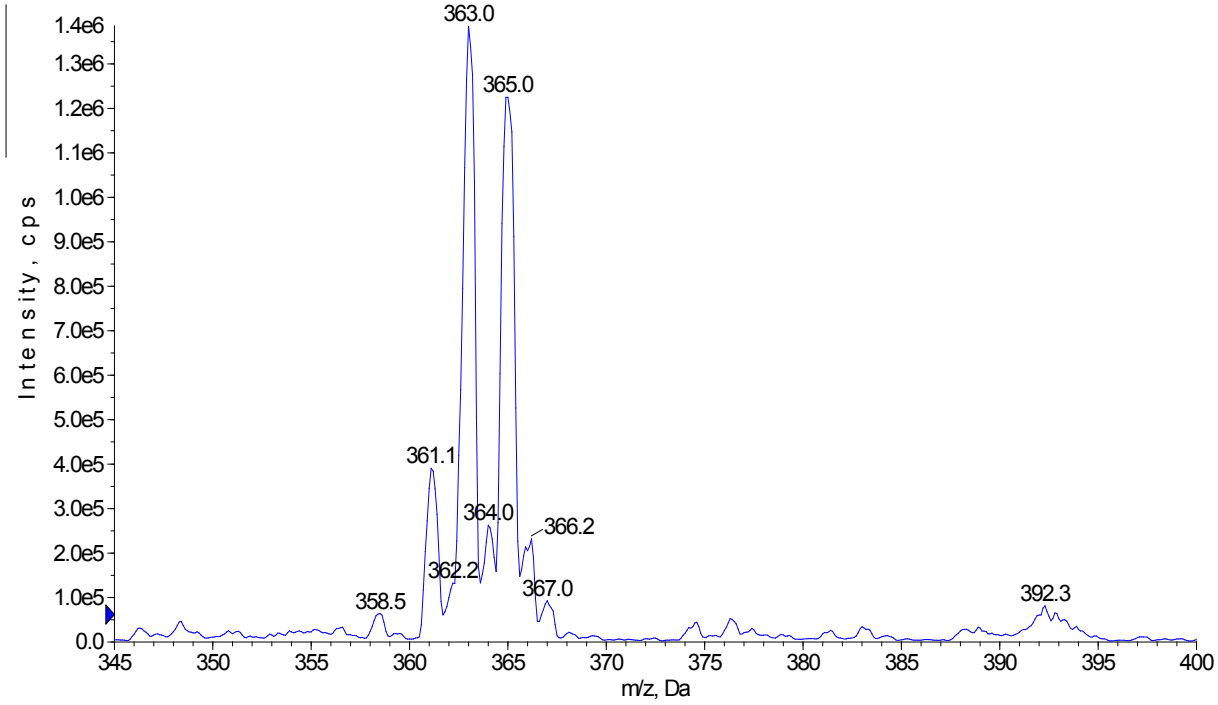
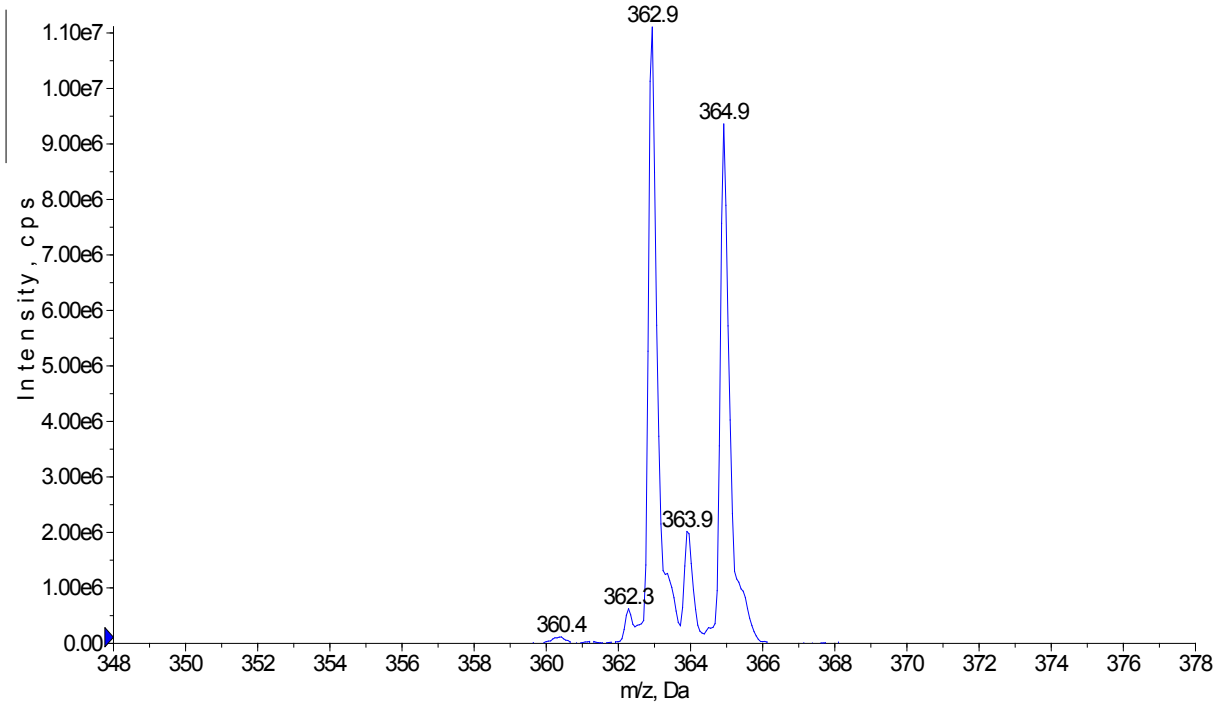


Figura 37: Espectro de massas do composto B3 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z.



Fonte: autor

Figura 38: Espectro de massas do composto B4 com destaque para o padrão isotópico em 362,9 m/z.



Fonte: autor

4.2.2.4 Análise elementar

A análise elementar dos compostos contendo a phen contribuiu para indicar a proporção entre o metal e os ligantes. Nos compostos B1, B2 e B3 observou-se a proporção 1:1:1 entre o centro metálico e os ligantes (Ag : phen : tu) com um contra-íon balanceando a carga da íon complexo, indicando uma formula mínima para os compostos de [Ag(phen)(tu)]X, onde X é o contra-íon respectivos dos compostos B1, B2 e B3. Já no composto B4 foi observada uma proporção 2:1:1 entre o íon de prata e os ligantes sugerindo a formação de um composto de formula geral $Ag_2(phen)(tu)SO_4$.

Tabela 10: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos B1-4.

	% C		**% H**		**% N**	
	calculado	*obtido*	*calculado*	*obtido*	*calculado*	*obtido*
B1	36,64	37,03	2,84	2,75	16,43	16,52
B2	32,76	33,76	2,36	2,36	10,92	11,92
B3	34,62	34,62	2,68	2,79	12,42	12,37
B4	27,48	28,37	2,13	2,68	9,86	10,27

Fonte: autor

4.2.2.5 Considerações finais sobre os compostos B1-4

Os compostos da família B obtidos com a phen mostraram-se estáveis tanto em solução como em seu estado sólido, solúveis em DMSO e levemente solúveis em metanol e água. Os resultados obtidos em solução indicam a formação de uma unidade mononuclear de carga +1 e de fórmula geral $[Ag(phen)(tu)]^+$. Em nenhum caso foi observado em solução os sinais referentes à formação de dímeros ou da coordenação dos contra-íons utilizados. Apesar dos dados espectroscópicos indicarem a formação da espécie monomérica, a análise elementar do composto B4, que contém o íon sulfato, indica a formação da espécie de fórmula geral $Ag_2(phen)(tu)SO_4$ no estado sólido.

Cristais passíveis de análise de raios-X de monocristal foram obtidos para com os compostos B1 e B2 pela evaporação lenta do solvente utilizado no meio reacional. Os resultados da determinação estrutural estão sendo aguardados.

4.2.3 Compostos contendo dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina

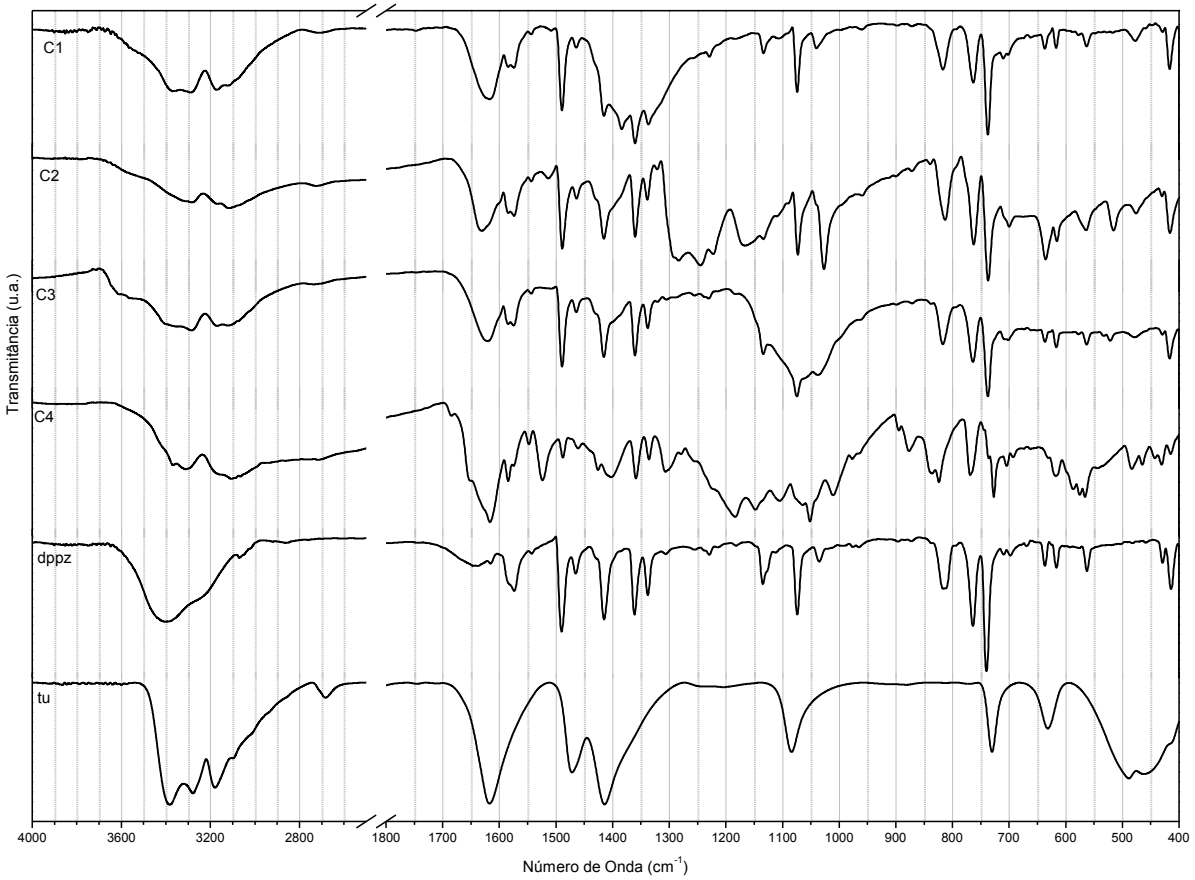
O esquema de síntese dos complexos contendo a dppz foi similar à obtenção dos compostos contendo bpy e phen, a diferença entre os processos está na solubilidade da dppz nos solventes utilizados. Diferentemente da bpy e da phen, a dppz possui baixa solubilidade nos solventes utilizados, sendo a reação efetuada em uma suspensão do ligante em metanol, a qual foi adicionada sobre uma solução contendo o sal de prata adequado. Após aproximadamente 30 min de reação, uma solução contendo a tu foi adicionada sobre o meio reacional ainda sob agitação, e então aguardado mais 30 min antes da filtração e lavagem do precipitado obtido com metanol e éter etílico. Os compostos obtidos foram secos utilizando sistema de secagem a vácuo.

As soluções restantes após a filtração foram armazenadas para evaporação lenta do solvente. No entando, ainda não foi possível obter cristais adequados para análise de raios-X de monocristal.

4.2.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Semelhante a bpy e a phen, a dppz possui como principais bandas provenientes das ligações C-C, C-N e aromáticas. A atribuição das bandas provenientes da tu seguiram buscando evidenciar a ligação C=S e as vibrações características dos grupos NH_2. Os grupos aniônicos presente nos compostos também foram observados nos espectros no IV obtidos. A **Figura 39** contem os espectros para os compostos C1-4.

Figura 39: Espectro na região do infravermelho dos compostos C1-4 e dos ligantes dppz e tu.



Fonte: autor

Os principais indícios da coordenação da tu nos compostos C1-4 estão nos estiramentos νNH_2 presentes na tu (3350-3000 cm^{-1}), os quais nos complexos C1-4 aparecem com perfis diferentes do ligante livre e em regiões de menores frequências, a posição dessas bandas como também das outras atribuições estão presentes na **Tabela 11**. Outra banda muito importante no espectro dos compostos é a referente à ligação C=S enfraquecida após a coordenação, na tu essa banda é observada em 730 cm^{-1} enquanto nos compostos obtidos esta foi observada em 708 cm^{-1} para C1, 700 cm^{-1} para C2, 704 cm^{-1} para C3 e 703 cm^{-1} para C4, indicando a coordenação da tu pelo seu átomo de enxofre (ISAB et al, 2010; HENDERSON et al, 2002; BOWMAKER, 2010, EL-BAHY, 2003).

No espectro da dppz observou-se uma banda larga atribuída as vibrações devido à hidratação do ligante, enquanto nos complexos é observado as bandas referentes a tu na mesma posição. As bandas atribuídas as vibrações provenientes do esqueleto carbônico da dppz sofreram um deslocamento leve quando comparado

com o ligante livre, sendo que não houve alteração em algumas bandas, como a encontrada em 815 cm^{-1}, atribuída a vibração do CH aromática, presente tanto no ligante como nos complexos.

Os contra-íons presentes nos complexos C1-3 foram encontrados em sua forma iônica, sendo sua presença indicada em C1 pelos sinais do nitrato em 1385 e 1324 cm^{-1}, em C2 pelos sinais do trifluorometanosulfonato em 1268, 1226 e 1171 cm^{-1} e no composto C3 pelo tetrafluoroborato em 1060 cm^{-1}. Já o composto C4 possui uma grande quantidade de absorções na região entre 1200-950 cm^{-1}, semelhantemente ao composto B4, análogo com a phen, podendo ser um indicativo de coordenação desse íon com ao íon de prata (HENRIQUES et al, 1998; SHARMA et al, 2005; (GÁL; GOGGIN; MINK, 1992; SILVERSTEIN, 1991; NAKAMOTO, 1986; BERNARDO et al, 1993).

Tabela 11: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos C1-4 e dos ligantes dppz e tu.

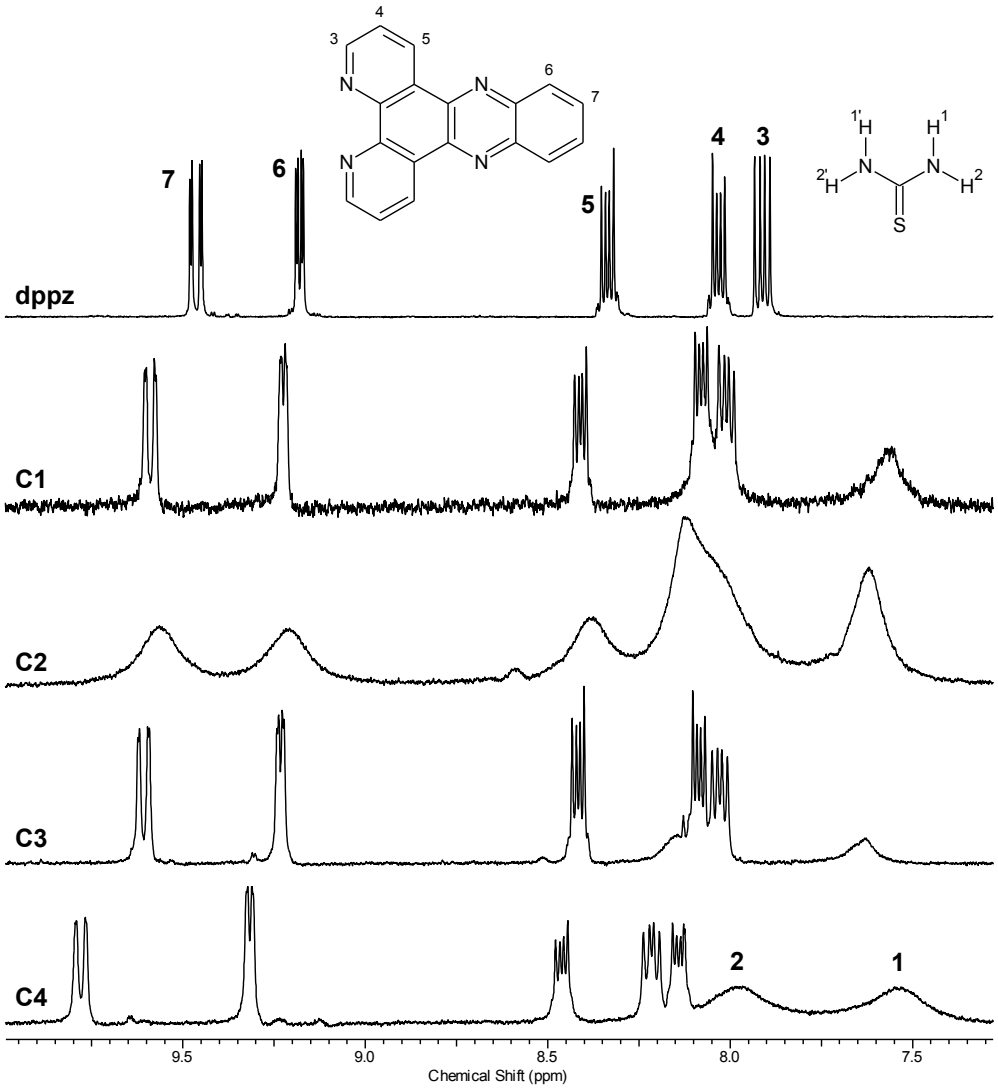
Atribuições	dppz	tu	C1	C2	C3	C4
dppz						
νOH	3400	-	-	-	-	-
νCC e νCN	1574 1490 1361	- - -	1587 1490 1361	1587 1490 1361	1587 1490 1361	1587 1490 1361
$\nu CH_{(ar)}$	815	-	815	815	815	823
Respiração do anel	763	-	763	763	763	769
tiouréia						
$\nu_s NH_2$	-	3384	3379	-	3407	3373
$\nu_{as} NH_2$	-	3282	3285	3279	3281	3307
νNH	-	3180	3175	3109	3177	3109
δNH_2 tesoura	-	1617	1621	1632	1623	1630
νCN	-	1471	-	-	-	-
$\rho NH_2 + \nu$NCN + νCS	-	1414	-	1393	1391	1400
νC=S	-	730	708	700	704	703
nitrato						
NO_3^-	- -	- -	1385 1324	- -	- -	- -
tetrafluoroborato						
BF_4^-	-	-	-	1060	-	-
sulfato						
SO_4^{2-}	-	-	-	-	-	1200-950
trifluorometanosulfonato						
$CF_3SO_3^-$	- - -	- - -	- - -	- - -	1268 1226 1171	- - -

Fonte: autor

4.2.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

O espectro do ligante dppz sintetizado em nosso laboratório foi comparado com dados da literatura e estão adequados aos observados (DOLAN et al, 2014). Semelhante a bpy e a phen, a dppz possui um conjunto de cinco sinais correspondentes aos dez hidrogênios observados em sua estrutura, a presenca da metade dos sinais comparado aos hidrogenios presentes na sua estrutura é explicado pela simetria existente no composto. A **Figura 40** representa os espectros de RMN de 1H do ligante dppz e dos compostos C1-4.

Figura 40: Esquema de numeração do ligante e espectro de ^{1}H RMN dos compostos contendo dppz e tu.



Fonte: autor

No espectro do ligante livre foi possível observar os cinco sinais referentes a H3, H4, H5, H6 e H7. Todos os complexos obtidos apresentaram a mesma quantidade de sinais observados na dppz livre e deslocados para regiões de campo mais baixo após a coordenação. Foi possível observar também os sinais alargados característicos da tu coordenada ao centro de prata igualmente aos compostos anteriormente apresentados. Apesar de possuir a mesma quantidade de sinais, o composto C2 apresentou sinais alargados em seu espectro nos mesmos deslocamentos químico observado para os outros complexos, indicando possivelmente a existência de efeitos dinâmicos em solução em uma escala temporal inferior aquela do experimento de RMN (GIL; GERALDES, 1987).

Tabela 12: Deslocamentos químicos de RMN de ^{1}H para o ligante dppz e para os compostos C1-4.

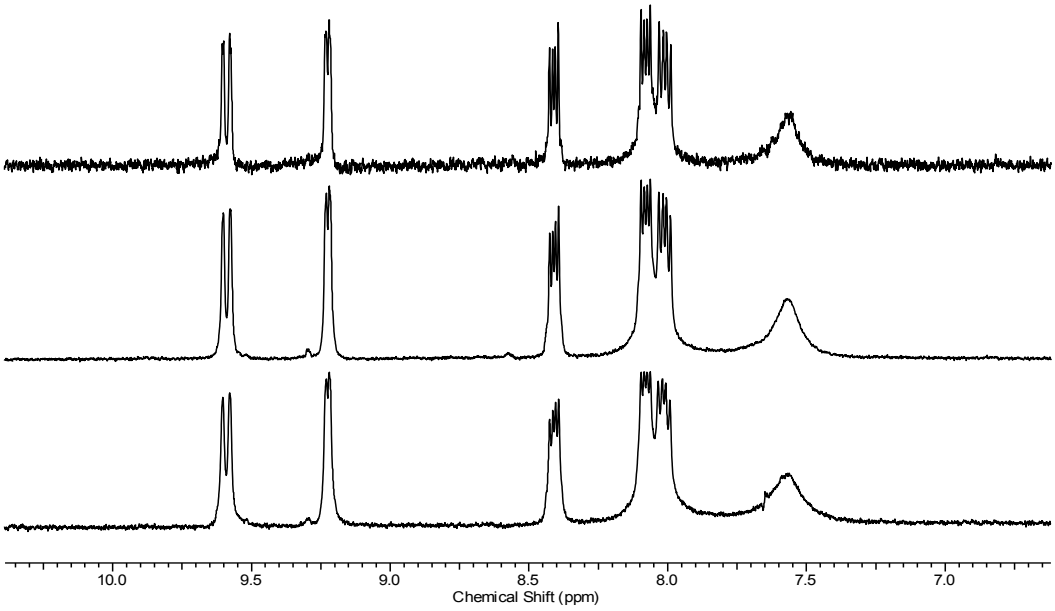
	dppz	**C1**	**C2**
NH1/1'	-	7,57 (br. s., 2 H)	7,62 (br. s., 1 H)
NH2/2'	-	-	-
3/3'	7,91 (dd, J=8,1, 4,4 Hz, 1 H)	8,01 (dd, J=7,9, 4,5 Hz, 2 H)	-
4/4'	8,03 (dd, J=6,6, 3,4 Hz, 1 H)	8,05 - 8,11 (m, 2 H)	8,12 (br. s., 3 H)
5/5'	8,34 (dd, J=6,6, 3,4 Hz, 1 H)	8,41 (dd, J=6,2, 3,4 Hz, 1 H)	8,38 (br. s., 1 H)
6/6'	9,18 (dd, J=4,5, 1,8 Hz, 1 H)	9,23 (dd, J=4,2, 1,2 Hz, 1 H)	9,21 (br. s., 1 H)
7/7'	9,46 (dd, J=8,1, 1,8 Hz, 1 H)	9,59 (dd, J=7,9, 1,4 Hz, 1 H)	9,57 (br. s., 1 H)

	C3	**C4**
NH1/1'	7,67 (br. s., 1 H)	7,56 (br. s., 2 H)
NH2/2'	8,18 (br. s., 1 H)	7,98 (br. s., 2 H)
3/3'	8,03 (d, *J*=7,5 Hz, 1 H)	8,11 - 8,18 (m, 1 H)
4/4'	8,06 - 8,12 (m, 1 H)	8,23 (dd, *J*=8,3, 5,0 Hz, 1 H)
5/5'	8,39 (dd, *J*=6,4, 3,2 Hz, 1 H)	8,46 (dd, *J*=6,6, 3,5 Hz, 1 H)
6/6'	9,22 (d, *J*=3,2 Hz, 1 H)	9,32 (d, *J*=3,4 Hz, 1 H)
7/7'	9,59 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H)	9,79 (d, *J*=7,5 Hz, 1 H)

Fonte: autor

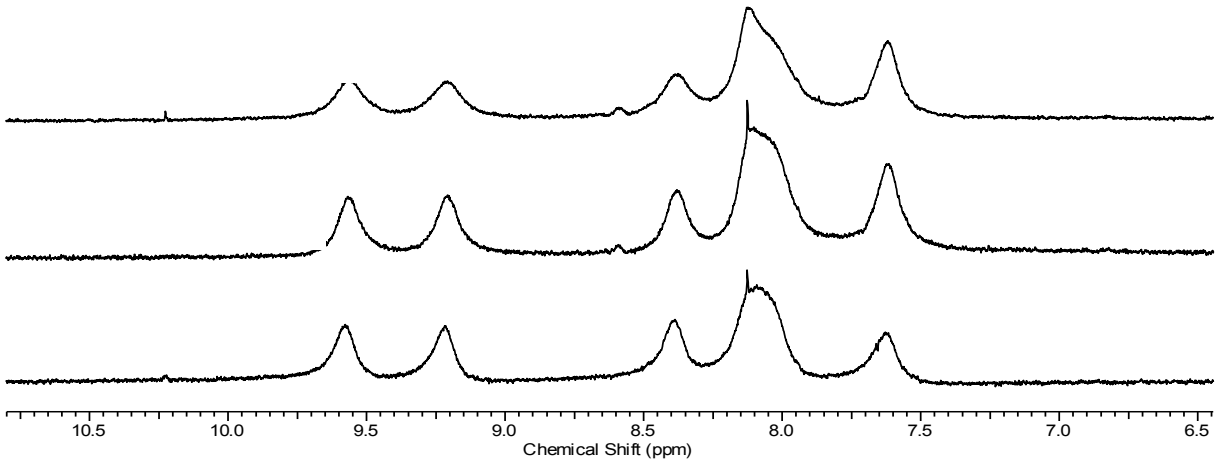
Seguindo os testes de estabilidade em solução, os espectros de 1H RMN foram obtidos em 0, 24 e 48 h para os compostos C1-4, as **Figura 41**-**Figura 44** apresentam os espectros obtidos respectivamente.

Figura 41: Espectros de ^{1}H RMN do composto C1 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



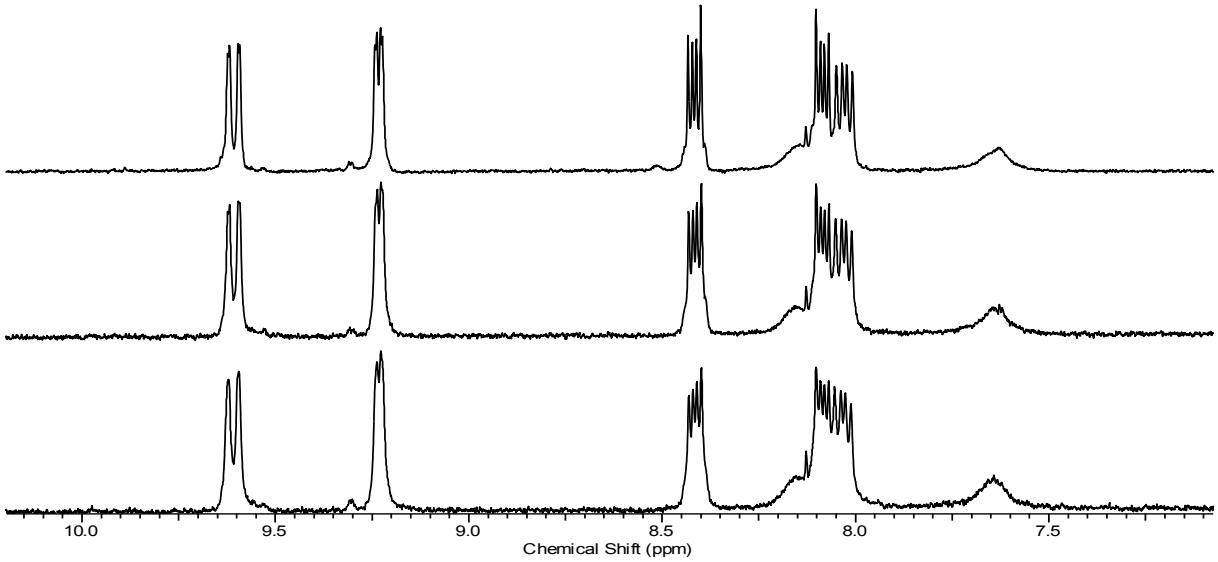
Fonte: autor

Figura 42: Espectros de ^{1}H RMN do composto C2 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



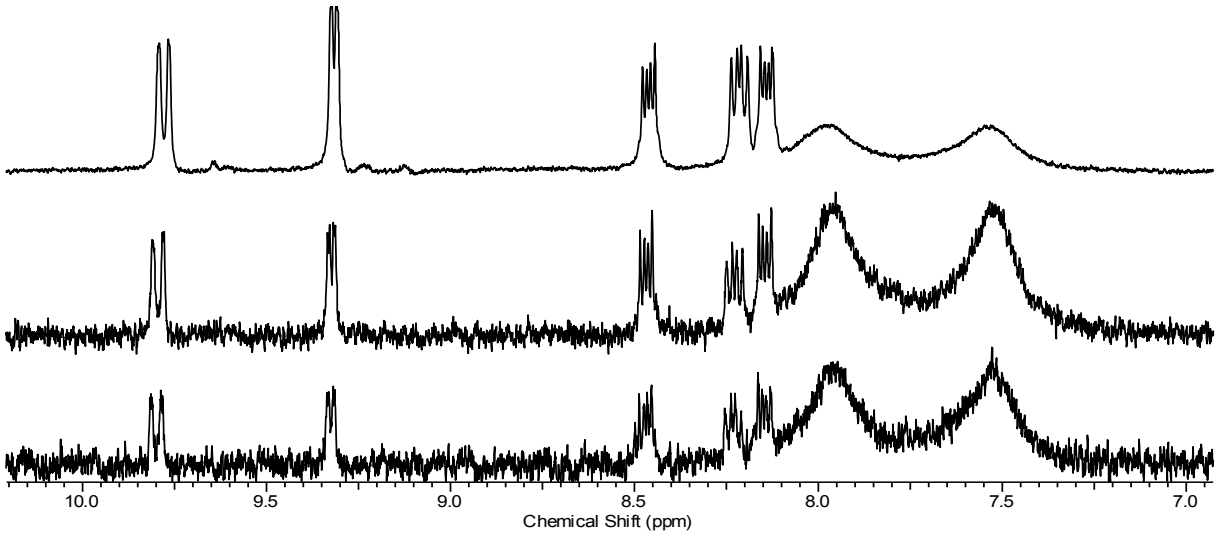
Fonte: autor

Figura 43: Espectros de ^{1}H RMN do composto C3 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



Fonte: autor

Figura 44: Espectros de ^{1}H RMN do composto C4 em diferentes tempos de análises. 0 h; 24 h e 48 h.



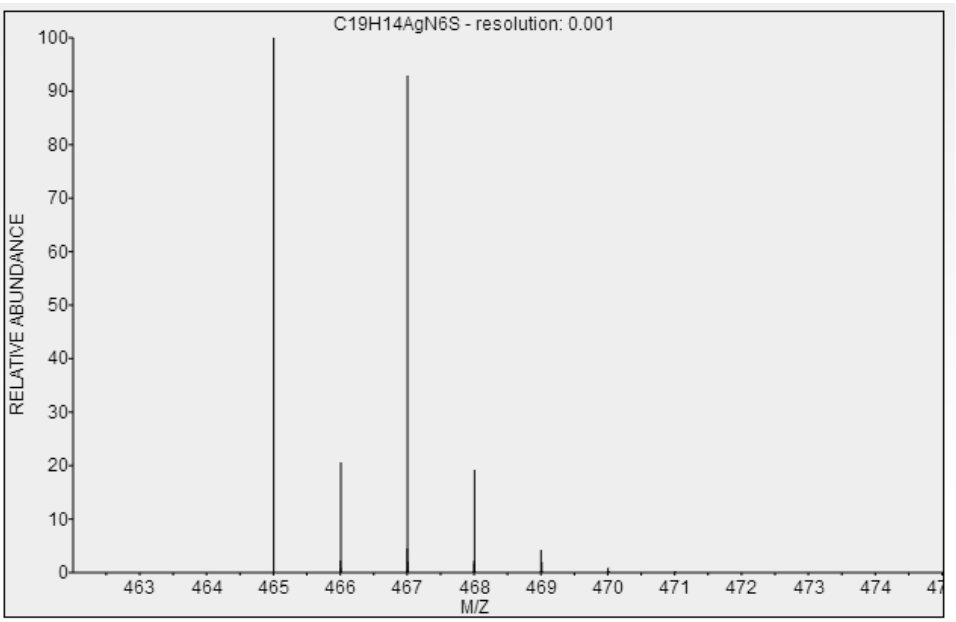
Fonte: autor

Em todos os espectros foi possível observar que a integridade estrutural das espécies em solução é mantida em um período de 48h.

4.2.3.3 Espectrometria de Massas

O espectro de massas para os compostos da família C1-4 foram calculados para a unidade monomérica $[Ag(dppz)(tu)]^+$ utilizando o software desenvolvido por Patiny (2011), sendo esse representado pela **Figura 45**.

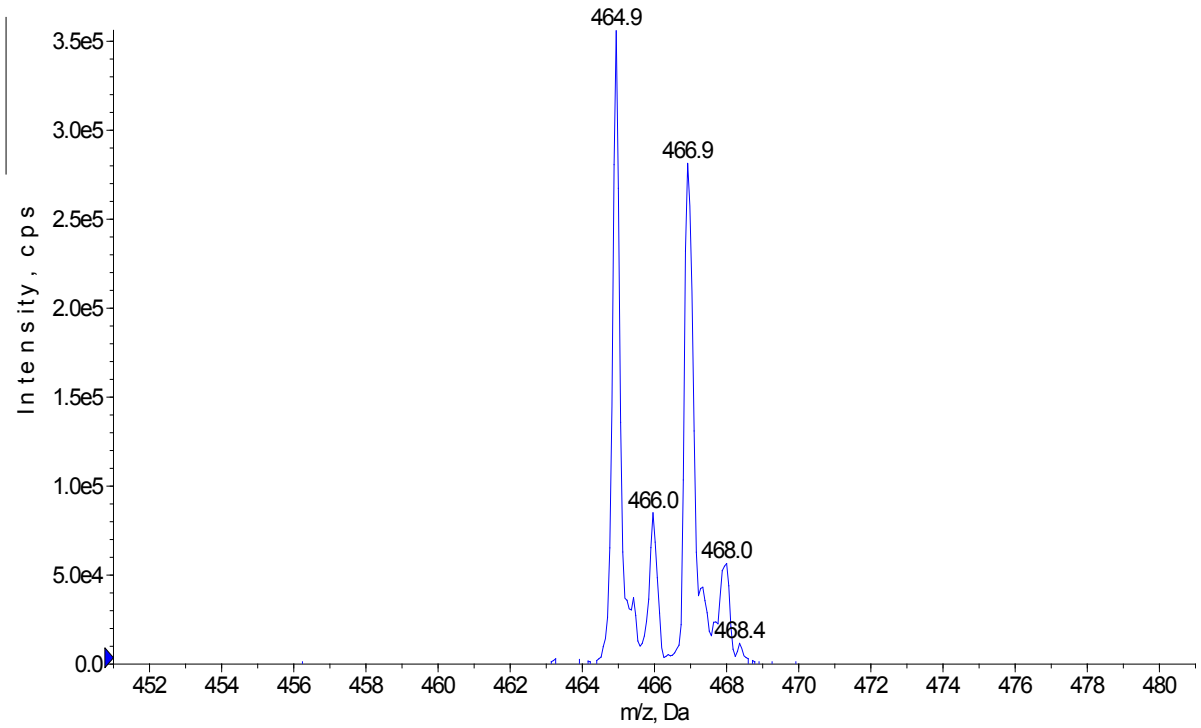
Figura 45: Espectro de massas calculado para o fragmento $[Ag(dppz)(tu)]^+$.



Fonte: Patiny (2011)

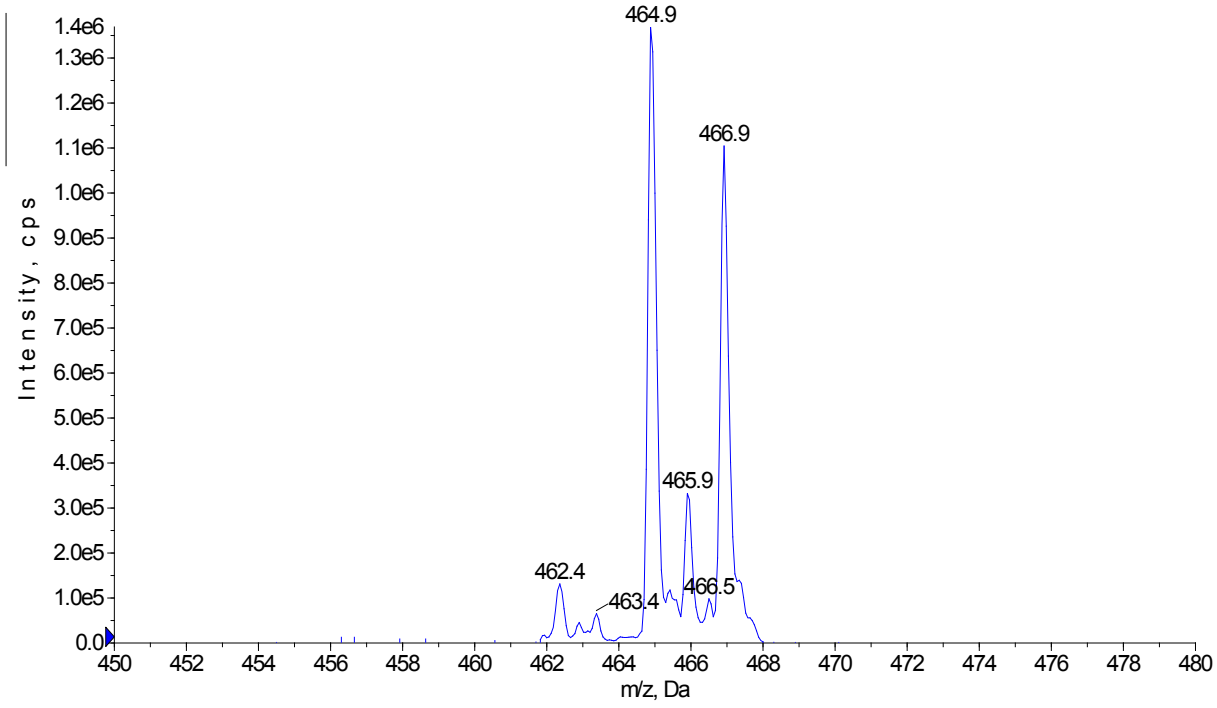
Igualmente aos compostos anteriormente expostos, os resultados das análises de massas para os compostos da família C1-4 apontaram para a formação da unidade monomérica $[Ag(dppz)(tu)]^+$, caracterizada pelo par de sinais referentes aos isótopos de prata em 464,9 e 466,9 m/z, e pela diferença de 2 unidades de massa entre os sinais mais intensos. A formação de dímeros não foi observada em nenhum dos espectros. As **Figura 46**-**Figura 49** representam os espectros de massas dos compostos C1-4, respectivamente.

Figura 46: Espectro de massas do composto C1 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z.



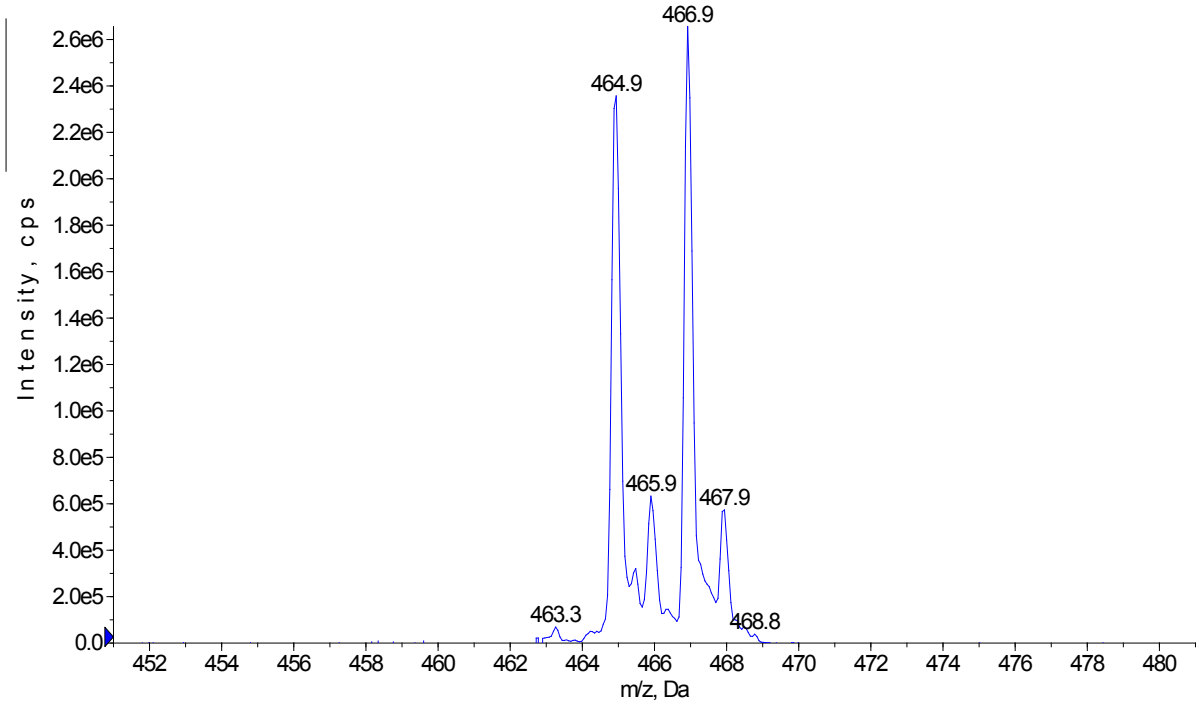
Fonte: autor

Figura 47: Espectro de massas do composto C2 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z.



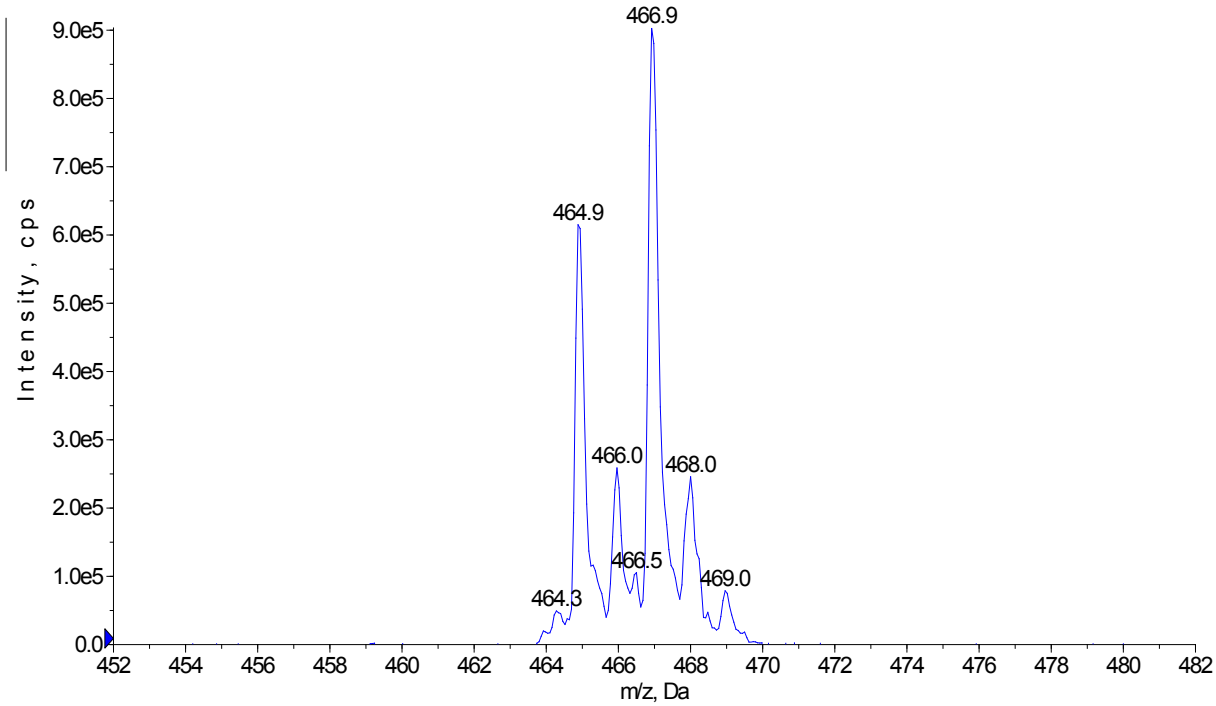
Fonte: autor

Figura 48: Espectro de massas do composto C3 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z.



Fonte: autor

Figura 49: Espectro de massas do composto C4 com destaque para o padrão isotópico em 464,9 m/z.



Fonte: autor

4.2.3.4 Análise elementar

A proporção entre o metal e os ligantes foi obtida para os compostos C1-4 utilizando-se a técnica de análise elementar. Seguindo a tendência dos outros compostos estudados, os compostos contendo a dppz obtiveram proporções entre metal:ligantes diferentes entre si. No caso dos compostos C1, C2 e C3 é proposta a proporção de 1:1:1 (metal : dppz : tu). O composto C4, contendo o íon SO_4^{2-}, é proposto uma proporção 2:1:1, comportamento similar ao observado na família de compostos contendo a phen como ligante. Os valores obtidos e calculados para os compostos C1-4 estão descritos na **Tabela 13**.

Tabela 13: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos C1-4.

	% C		% H		% N	
	calculado	*obtido*	*calculado*	*obtido*	*calculado*	*obtido*
C1	43,20	43,89	2,67	3,08	18,56	17,78
C2	39,04	45,77	2,29	2,71	13,66	14,75
C3	41,26	47,10	2,55	2,83	15,19	14,97
C4	32,19	31,67	2,43	2,75	15,01	14,94

Fonte: autor

4.2.3.5 Considerações finais sobre os compostos C1-4

Seguindo a linha dos compostos contendo a bpy e a phen, os compostos da família C apresentaram um comportamento diferente em solução e em seu estado sólido. Os indícios da coordenação dos ligantes dppz e tu estão presentes tanto nos espectros de RMN e de IV. Na análise de massas não foi observada em nenhum momento a formação de uma unidade dimérica ou correspondente aos resultados de análise elementar, sendo somente observado a presença do fragmento $[Ag(dppz)(tu)]^+$ em 465 m/z. Os compostos C1-3 tiveram a presença dos contra-íons em sua forma livre e não coordenado ao íon metálico metal, já o composto C4 contendo o íon SO_4^{2-} possuí indícios de sua coordenação em estado sólido. Os complexos C2 e C3 apresentaram inconsistências em seus dados de análise elementar quanto a sua proporção de carbono, novas análises estão sendo efetuadas para averiguar o resultados obtidos.

Ainda não foi possível à obtenção de monocristais destes compostos durante o período de trabalho. Novas técnicas de cristalização estão sendo estudadas para o crescimento de cristais passíveis de análise de raios-X de monocristal e um melhor entendimento das estruturas dos compostos.

4.2.4 Compostos contendo 1,10-fenantrolina-5,6-diona

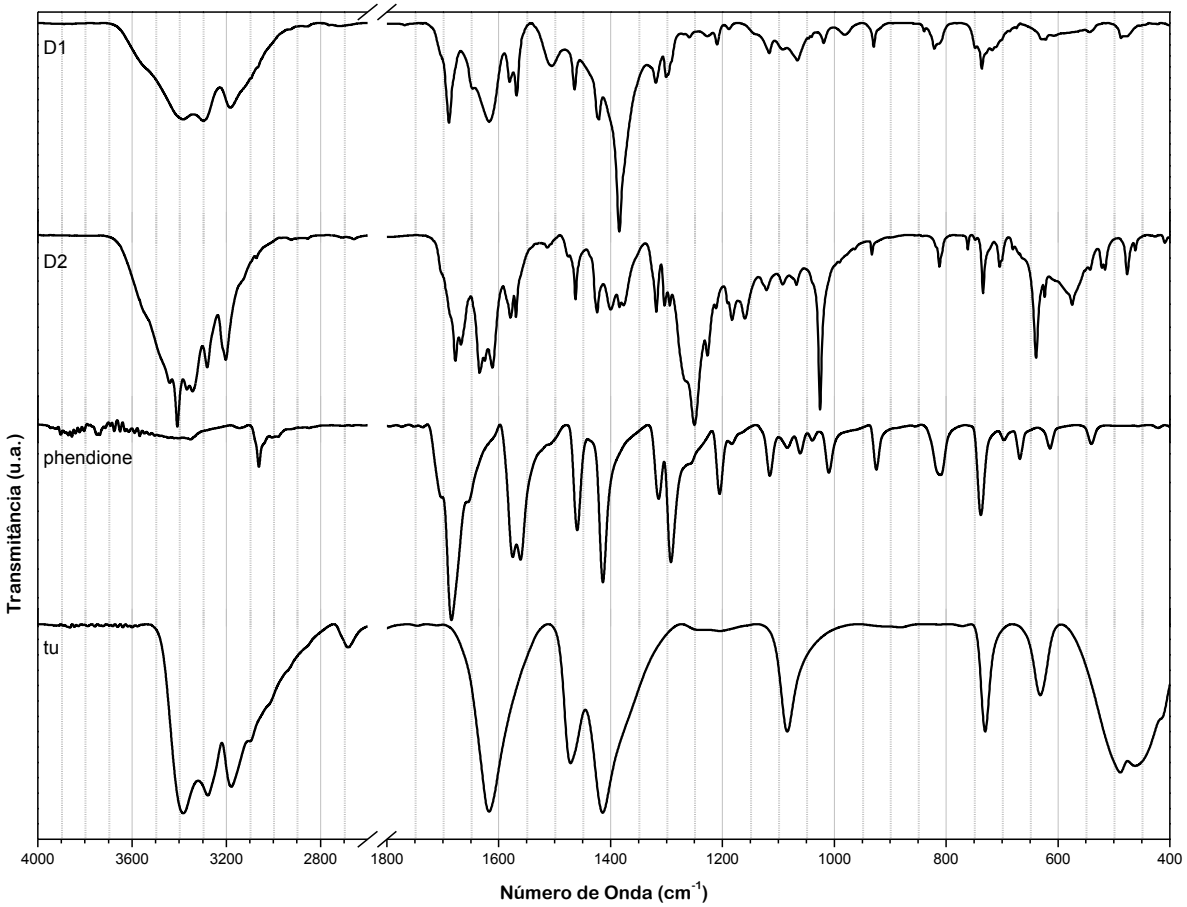
Reações conduzidas com a geração do sal *in situ* a partir do Ag_2O e dos ácidos tetrafluorobórico e sulfúrico não resultaram nos compostos esperados, sendo observada a decomposição da phd em 5,6-dihidroxi-1,10-fenantrolina.

A reação para obtenção dos compostos D1 e D2 ocorreu da mesma forma que os compostos anteriormente apresentados, sendo a phd dissolvida em metanol e adicionada a uma solução do sal de prata em acetonitrila. Após 30 min a adição da tu, sempre sob agitação e proteção da luz. Após a adição da tu os compostos D1 e D2 apresentaram comportamentos diferentes, o composto D1 formou prontamente um precipitado amarelo sendo separado, lavado com metanol, éter e seco a vácuo. O composto D2 permaneceu solúvel após a adição da tu, sendo que ao cessar a agitação do sistema foi possível observar a formação de cristais vermelhos adequados para análise de monocristal, os quais foram separados, lavados com éter e seco a vácuo. Ambos os compostos mostraram-se bastante estáveis à umidade e a luz ambiente.

4.2.4.1 Espectroscopia na região do infravermelho

A grande diferença estrutural entre a phd, quando comparado com os ligantes discutidos anteriormente, está na presença das ligações C=O em sua estrutura, sendo possível uma análise ligeiramente diferente dos outros ligantes. No caso dos compostos D1 e D2 foi possível observar tanto a presença da phd como da tu nos complexos sintetizados. A **Figura 50** apresenta os espectros na região do IV dos ligantes livres e dos complexos D1 e D2.

Figura 50: Espectros na região do infravermelho dos compostos D1, D2 e dos ligantes phd e tu.



Fonte: autor

O espectro da tu já foi discutido anteriormente juntamente com os outros compostos apresentados, sendo que os indícios de sua coordenação também estão presentes nos complexos obtidos com a phd. Na região de 3500-3000 cm^{-1} foi possível observar os estiramentos νNH_2 com perfis diferentes em D1 e D2 quando comparado com o ligante livre e deslocado para regiões de menor frequência, a posição dessas bandas como também das outras atribuições estão presentes na **Tabela 14**. A banda em 730 cm^{-1} atribuida a ligação C=S presente na tu foi observada em 713 e 704 cm^{-1} para D1 e D2 respectivamente, indicadando a coordenação da tu pelo seu átomo de enxofre.

A presença da phd também foi confirmada pelos espectros na região do IV principalmente pelas bandas associadas as vibrações da ligação C=O em 1683 cm^{-1} no ligante livre e de 1689 e 1678 cm^{-1} nos complexos D1 e D2, respectivamente. Como pode ser notado, o sinal referente a ligação C=O sofreu um deslocamento

muito baixo indicando que a coordenação ao centro metálico não ocorreu pelos átomos de oxigênio da phd. As bandas provenientes das vibrações do esqueleto carbônico da phd também estão presentes nos espectros de IV dos complexos D1 e D2. A presença dos íons nitrato e trifluorometanossulfonato foram averiguadas nos espectros, sendo em ambos os casos encontrados em sua forma livre.

Tabela 14: Principais bandas na região do infravermelho para os compostos D1, D2 e dos ligantes phd e tu.

Atribuições	dppz	tu	C1	C2
phd				
νC=O	1683	-	1689	1678
νCC e νCN	1576 1560 1460	- - -	1577 1567 1463	1577 1567 1463
$\nu CH_{(ar)}$	1115	-	1117	1121
Respiração do anel	738	-	734	734
tiouréia				
$\nu_s NH_2$	-	3384	3394	3409
$\nu_{as} NH_2$	-	3282	3295	3276
νNH	-	3180	3176	3205
δNH_2 tesoura	-	1617	1645 1619	1634 1610
νCN	-	1471	1505	1476
ρNH_2 + νNCN + νCS	-	1414	1423	1423
νC=S	-	730	713	704
nitrato				
NO_3^-	-	-	1385	-
trifluorometanosulfonato				
$CF_3SO_3^-$	- - -	- - -	- - -	1250 1226 1182

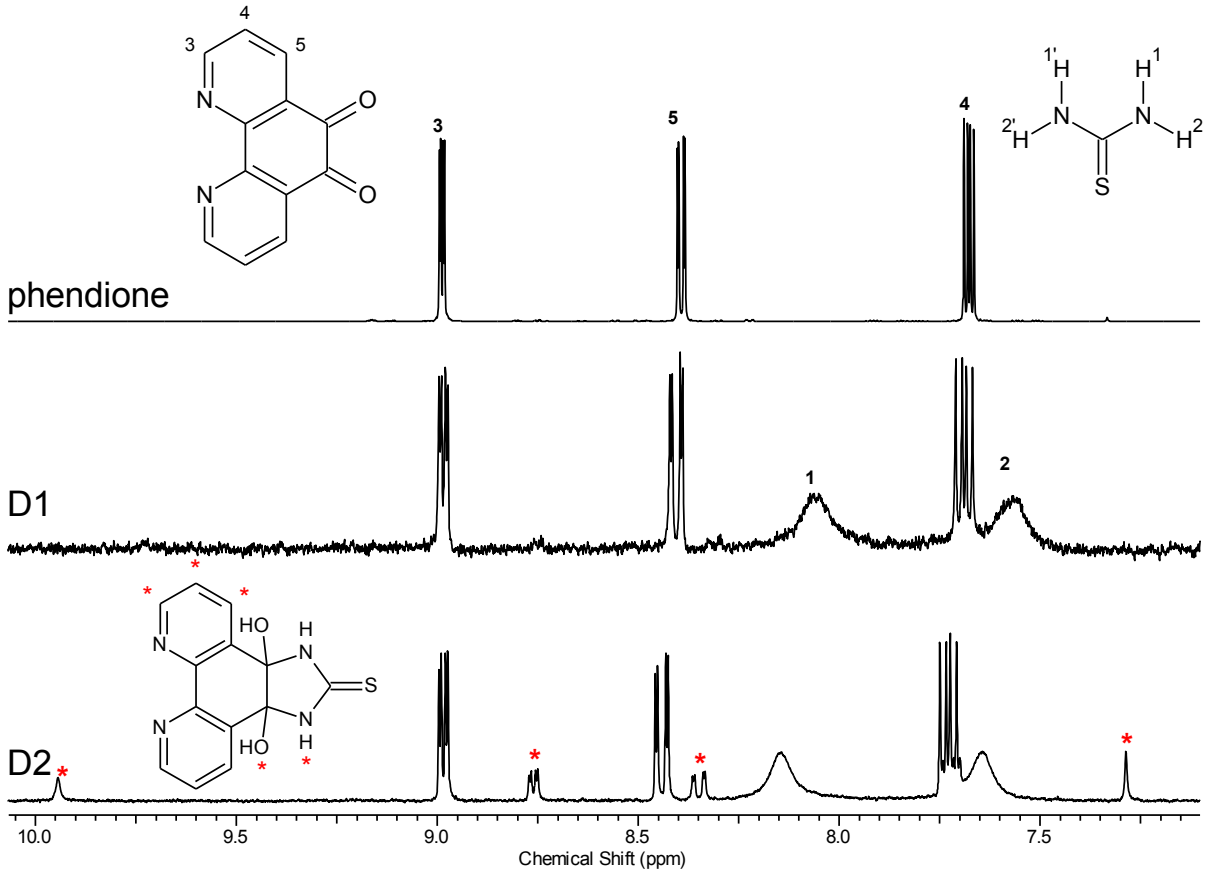
Fonte: autor

4.2.4.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

A **Figura 51** apresenta os espectros de ^{1}H RMN para a phd sintetizada em nosso laboratório e dos complexos D1 e D2. O espectro do ligante livre apresentou um perfil mais simples com apenas três sinais referentes aos hidrogênios aromáticos H3, H4 e H5, em ambos compostos também foi observado os sinais referentes a tu coordenada, semelhante aos compostos discutidos anteriormente. No espectro do composto D2 foi observado também um segundo conjunto de sinais, os quais foram

atribuídos ao produto formado pela reação entre a phd e a tu formando o composto *3a,11b-Dihydroxy-3a,11b-dihydro-1H-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline-2(3H)-thione* em solução (WANG et al, 2012). Cabe mencionar que esses mesmos sinais não foram observados no espectro do composto D1

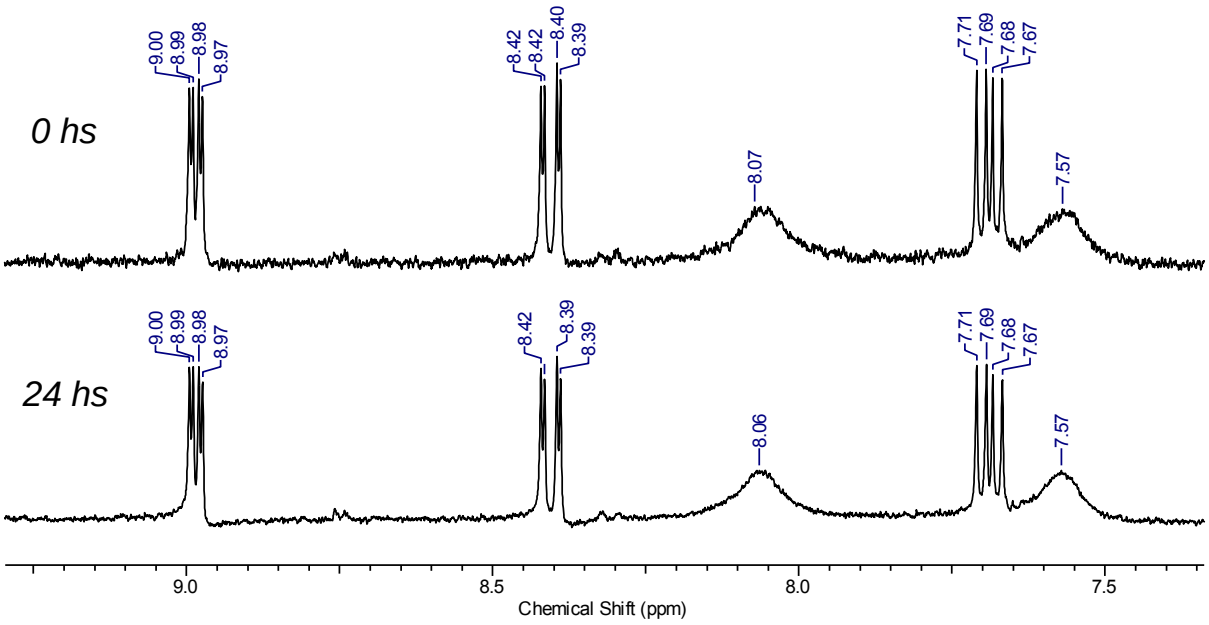
Figura 51: Espectros de ^{1}H RMN do ligante phd e dos compostos D1 e D2, estruturas dos ligantes utilizados e estrutura do subproduto obtido em D2.



Fonte: autor

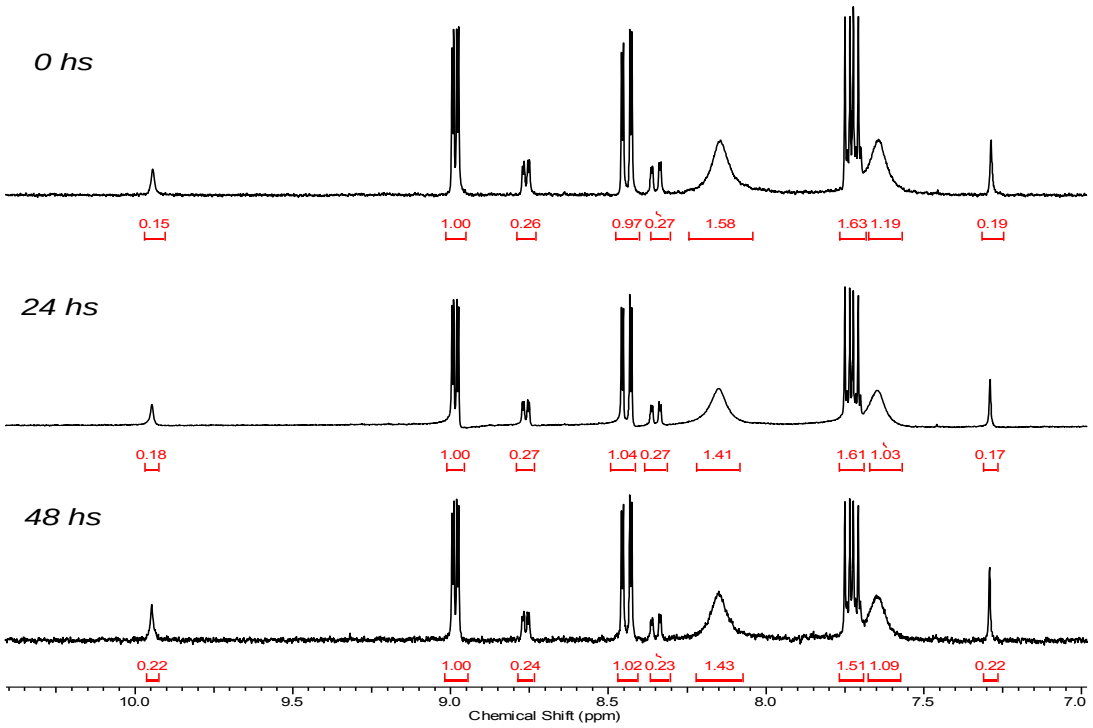
Vale ressaltar que pelo espectro do composto D2 é possível obter uma proporção entre o complexo formado e o subproduto obtido pela razão das integrais de cada um. Quando comparado o sinais, temos uma proporção aproximadamente de 80% para a manutenção do complexo em solução, sendo que essa relação continua estável por 48h (**Figura 53**). No espectro do composto D1 mesmo após 24 h não houve a formação do subproduto observado em D2 (**Figura 52**).

Figura 52: Espectros de 1H RMN em 0 e 24h para o composto D1



Fonte: autor

Figura 53: Espectros de ^{1}H RMN em 0, 24 e 48h para o composto D2.

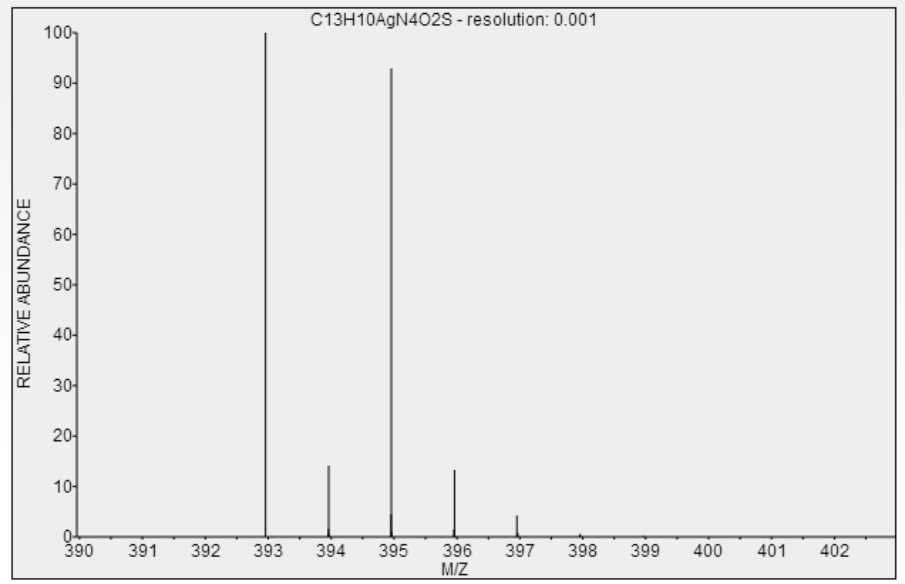


Fonte: autor

4.2.4.3 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas para os compostos D1 e D2 foram calculados para a unidade monomérica $[Ag(phd)(tu)]^+$ utilizando-se o software desenvolvido por Patiny (2011), sendo esse representado pela **Figura 54**.

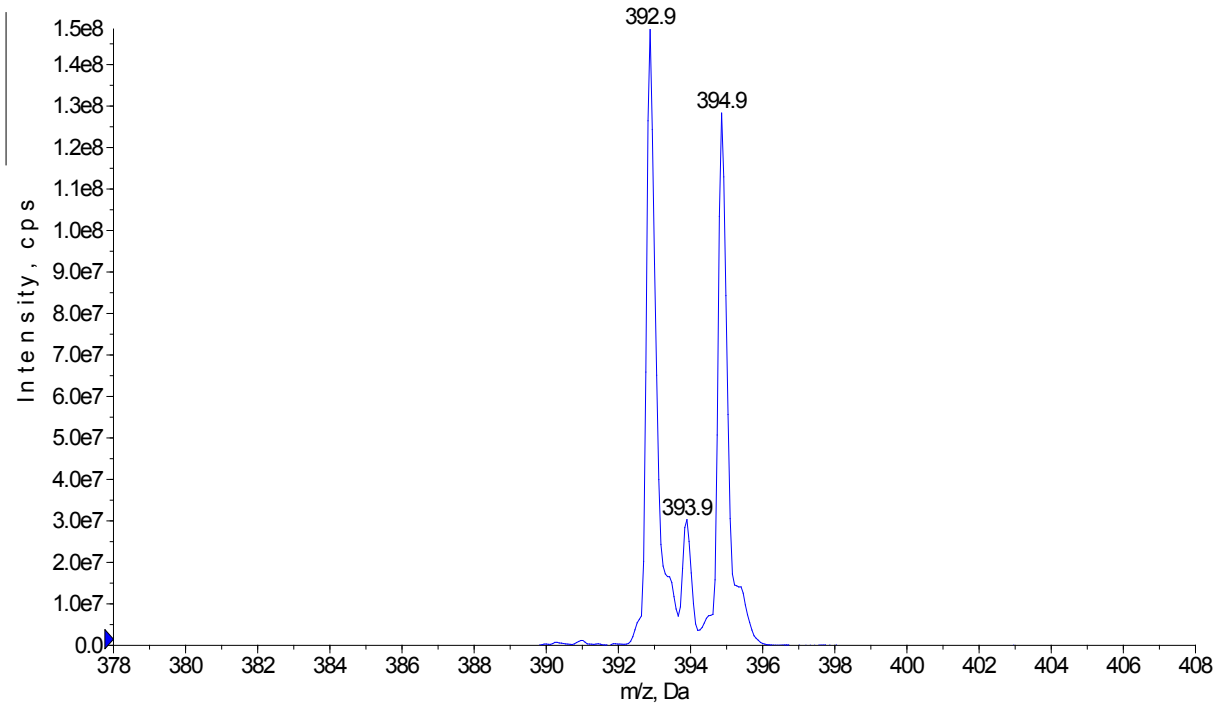
Figura 54: Padrão isotópico calculado para o composto $[Ag(phd)(tu)]^+$.



Fonte: Patiny (2011)

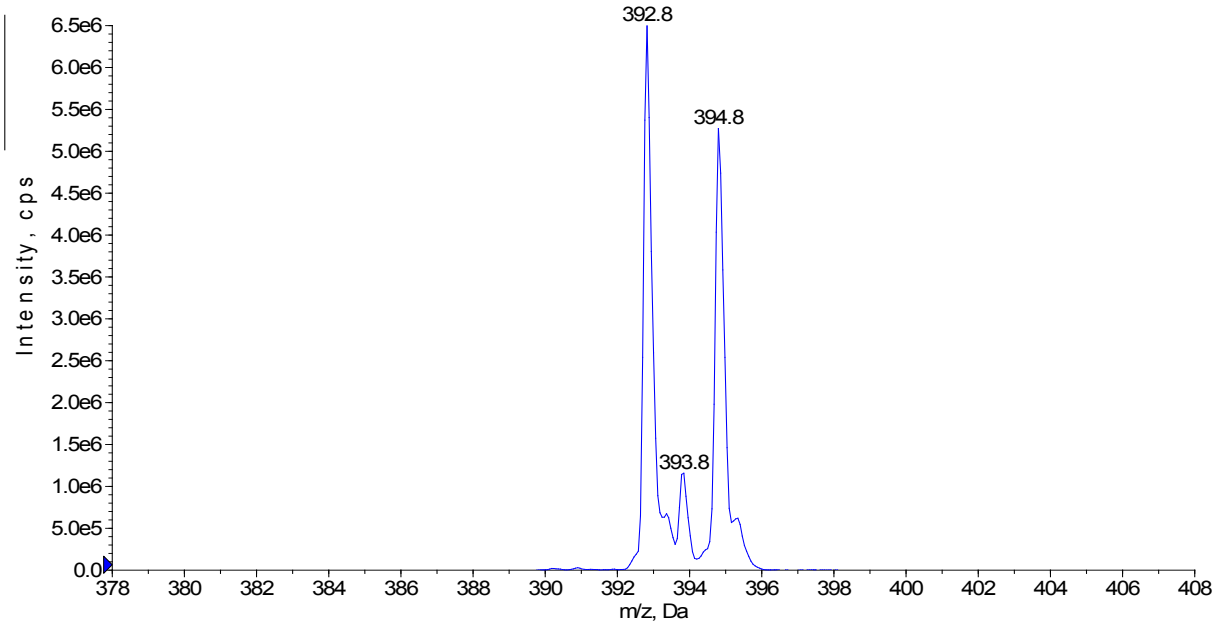
Semelhante aos outros compostos estudados, os complexos D1 e D2 apresentaram os sinais referentes a compostos de prata em sua forma monomérica $[Ag(phd)(tu)]^+$. Em ambos os casos foram observados os sinais 392,9 e 394,9 m/z similar ao calculado. As figuras **Figura 55**-**Figura 56** representam os espectros de massas para os compostos D1 e D2, respectivamente.

Figura 55: Espectro de massas do composto D1 com destaque para o padrão isotópico em 392,9 m/z.



Fonte: autor

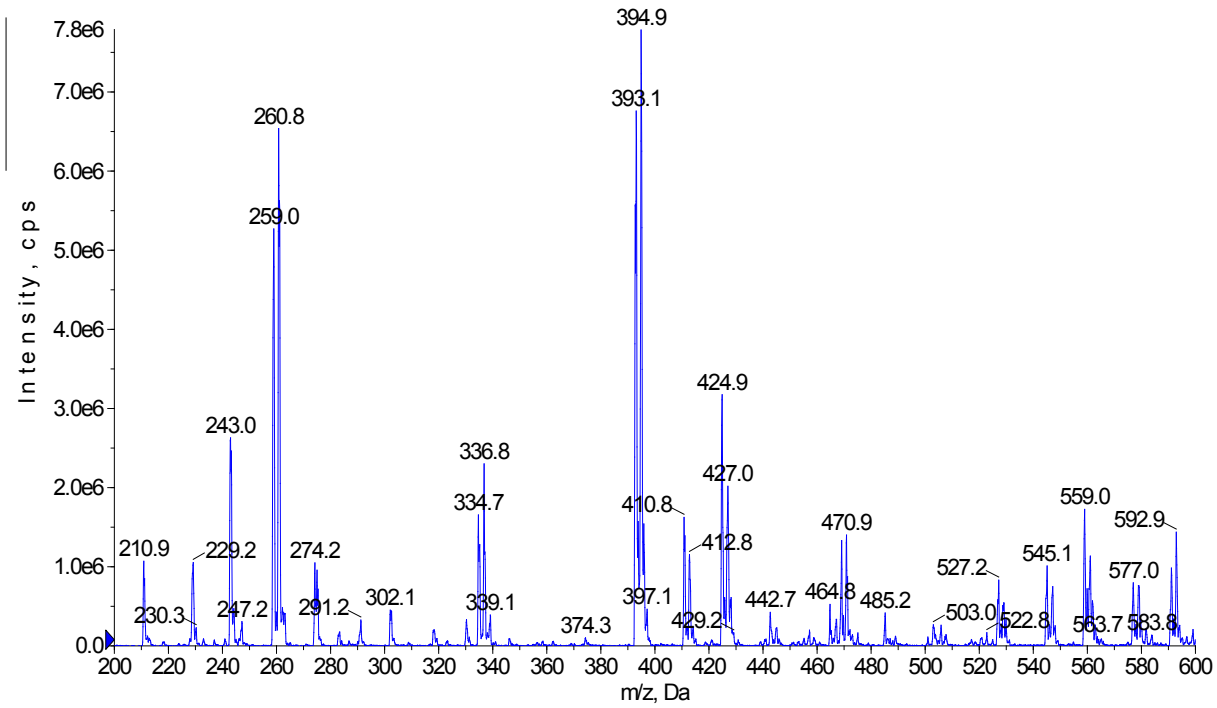
Figura 56: Espectro de massas do composto D2 com destaque para o padrão isotópico em 392,9 m/z.



Fonte: autor

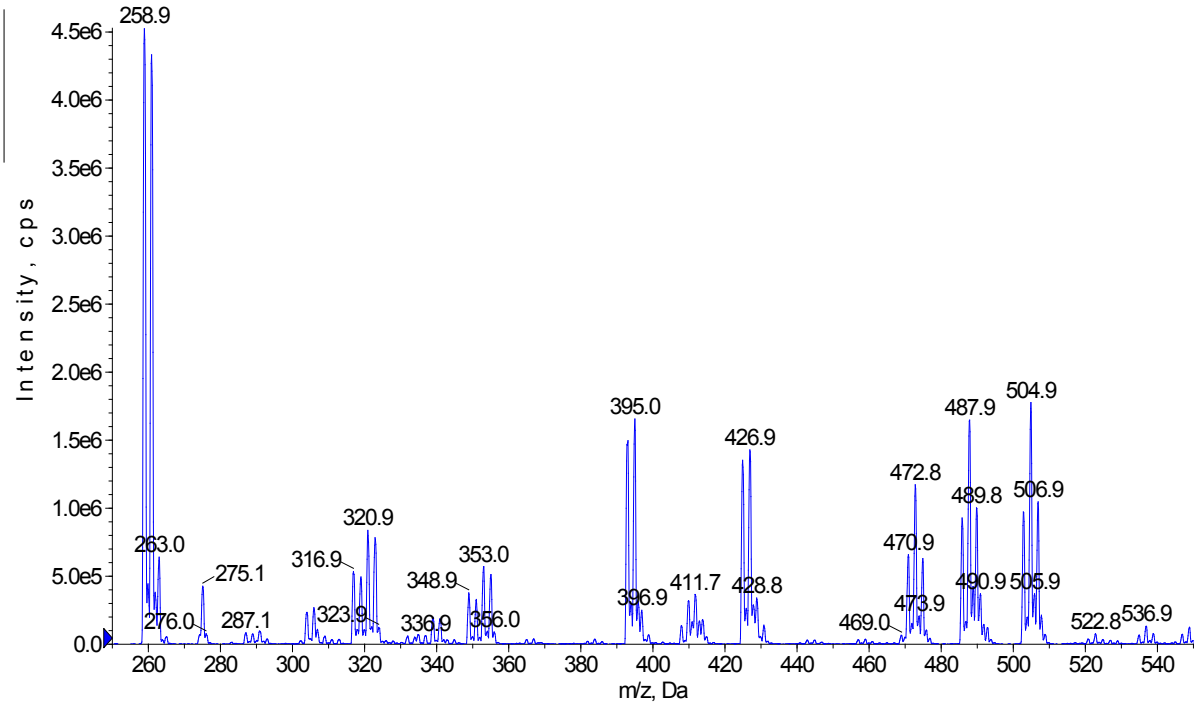
Em consideração aos espectros de ^{1}H RMN dos compostos D1 e D2, algumas outras observações podem ser obtidas pelos seus espectros de massas. O subproduto observado nos espectros de RMN também foi detectado pela espectrometria de massas somente no composto D2 (286 m/z) e em uma pequena proporção quando comparado com o fragmento observado em 393 m/z referente ao complexo de prata(I). Para ambos os compostos foram observados sinais na região de 470 m/z sugerindo o fragmento $[Ag(phd)(tu)_2]^+$. Porém não possuíam o padrão isotópico esperado, impossibilitando afirmar que esse íon esteja presente em solução. As **Figura 57**-**Figura 58** representam os espectros de massas para os compostos D1 e D2, repectivamente, ressaltando os sinais obtidos em uma faixa maior do espectro.

Figura 57: Espectro de massas do composto D1 de 200 - 600 m/z.



Fonte: autor

Figura 58: Espectro de massas do composto D2 de 250 - 550 m/z



Fonte: autor

4.2.4.4 Análise elementar

Ambos os compostos obtidos com a phd obtiveram o mesmo comportamento em seus resultados de análise elementar, sendo ambos calculados para a proporção 1:1:2 (metal : phd : tu). Os resultados obtidos assim como os calculados estão presentes na **Tabela 15**.

Tabela 15: Valores calculados e obtidos nas análises de CHN para os compostos D1 e D2

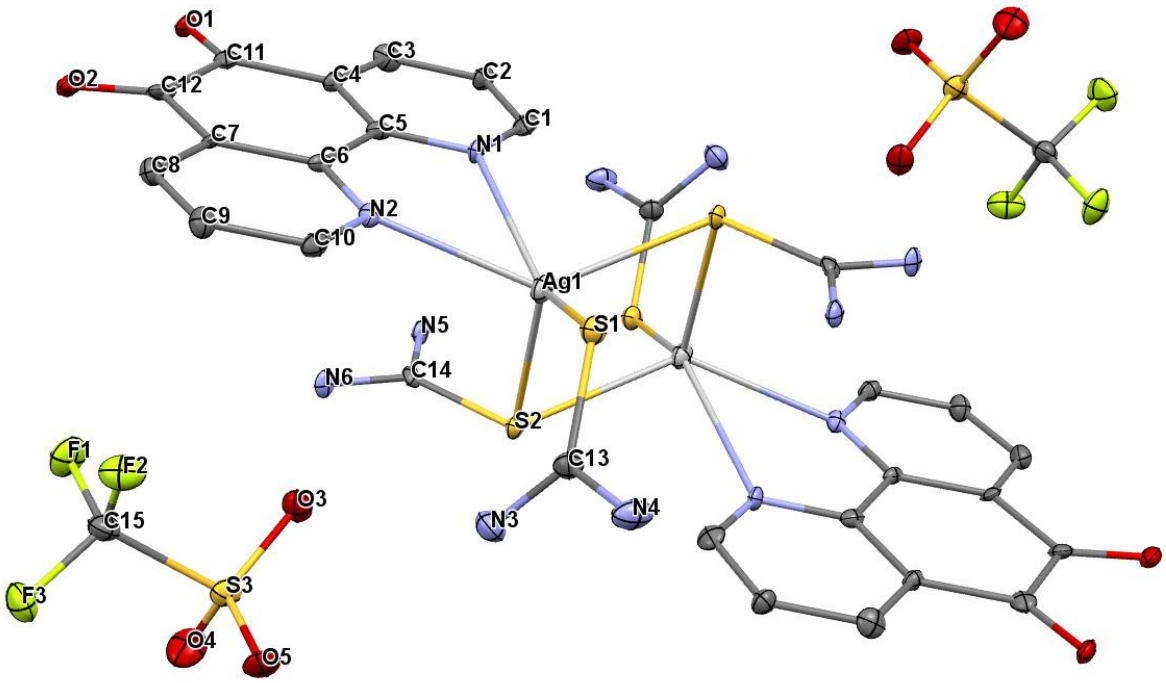
	% C		**% H**		**% N**	
	calculado	*obtido*	*calculado*	*obtido*	*calculado*	*obtido*
D1	31,59	33,93	2,65	2,47	18,42	17,64
D2	29,09	29,12	2,28	2,13	13,57	13,69

Fonte: autor

4.2.4.5 Descrição do cristal [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF$_3$SO$_3$)$_2$ - D2

A cristalização do composto D2 pela evaporação lenta do solvente resultou em cristais adequados para a análise estrutural por difração de raios-X de monocristal. Sua cristalização ocorreu com a formação de um dímero composto por duas unidades de [Ag(phd)(tu)$_2$]$^+$ cristalograficamente idênticas em um sistema triclínico centrossimétrico (grupo espacial P-1), a formação desse dímero iônico bivalente é estabilizada pela presença de dois íons trifluorometanosulfonato balanceando essa carga. Na sua esfera de coordenação cada íon de prata(I) tem uma molécula de phd coordenada de modo quelante formando um anel de 5 membros, uma molécula de tu coordenada de modo monodentado e outra molécula de tu em ponte entre os dois centros de prata sustentando sua estrutura dimérica. A **Figura 59** representa a estrutura cristalina do composto [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF$_3$SO$_3$)$_2$.

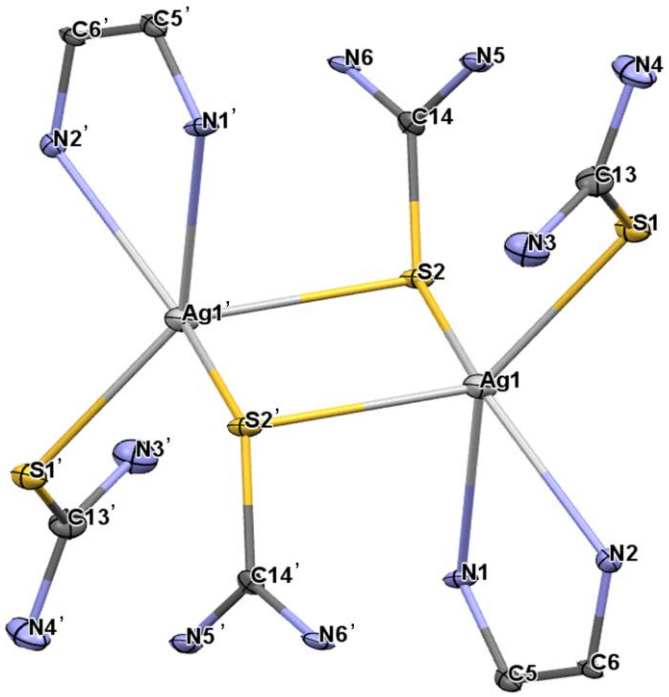
Figura 59: Unidade simétrica do composto [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF$_3$SO$_3$)$_2$ (D2).



Fonte: autor

Ambos os centros de prata são pentacoordenados em uma configuração piramidal de base quadrada distorcida, que pode ser observado tanto pela variação da distância das ligações Ag-N, 2,684(8) e 2,434(8) Å, e Ag-S, sendo 2,567(2) para a tu monodentada e 2,653(3) e 2,644(2) Å para as tu em ponte, resultados condizentes com outros complexos de prata dimérico contendo a tu em ponte pelo átomo de enxofre (BOWMAKER; SKELTON; WHITE, 2009; ALTAF et al, 2013). A variação dos ângulos formados entre os centros de Ag e os átomos coordenados também demonstraram essa distorção, variando de 98,26(2)º a 123,47(8)º para S-Ag-S e 64,11(2) para N1-Ag-N2. A interação argentofílica observada no composto A1 não está presente no compostos D2, pois a distância Ag—Ag foi 3,465(2) Å para Ag1···Ag1' (SERPE et al, 2011; WANG et al, 2013). A **Figura 60** representa o centro binuclear simétrico de prata do composto D2, com destaque para as posições das moléculas de tu e dos N quelantes presentes na phd.

Figura 60: Centro binuclear simétrico do cristal $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ com destaque para as ligações da tu e da phd aos íons de prata(I).



Fonte: autor

A **Tabela 16** contém uma descrição das principais distâncias e ângulos observados para o composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ (D2).

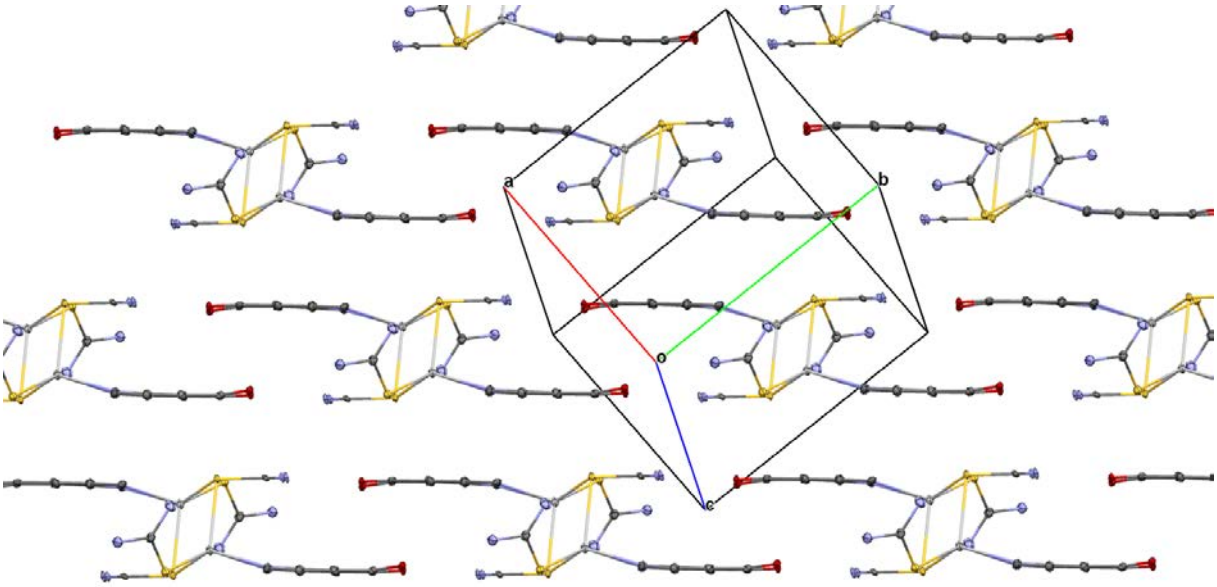
Tabela 16: Comprimentos e ângulos de ligação para o núcleo dimérico $\{Ag_2N_4S_4\}$ encontrado no composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ (D2).

Distância (Å)			
Ag1–N1	2,434(8)	Ag1–S2	2,644(2)
Ag1–N2	2,684(8)	Ag1–S2'	2,653(3)
Ag1–S1	2,567(2)	Ag1···Ag1'	3,465(2)
Ângulo (º)			
N1–Ag1–N2	64,11(2)	S2–Ag1–S2'	98,26(8)
S1–Ag1–S2	123,47(8)	Ag1-S2-Ag1'	81,74(7)
S1–Ag1–S2'	100,61(8)		

Fonte: autor

A **Figura 61** exibe uma visão paralela ao plano formado pelas moléculas de phd, onde é possível observar um empilhamento das moléculas do composto em camadas paralelas sustentadas por interações π-π na direção vertical da figura e por ligações de hidrogênio entre a molécula de phd e a de tu dos compostos adjacentes.

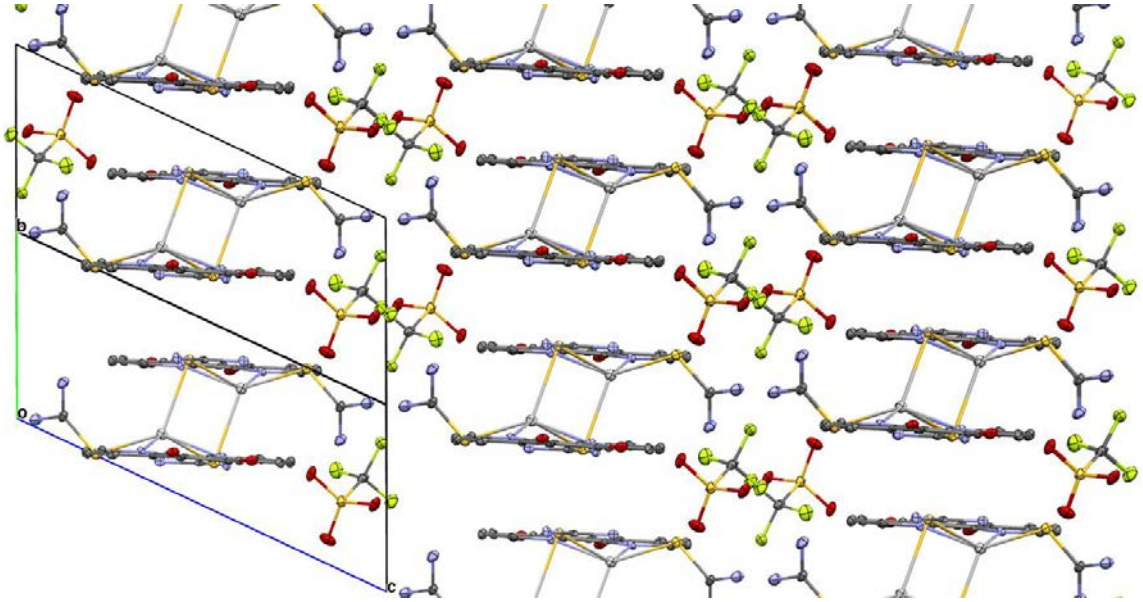
Figura 61: Visão paralela ao plano formado pelas moléculas de phd do composto $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$. Os átomos de hidrogênio e os contra-íon foram omitidos para facilitar a visualização.



Fonte: autor

Com um giro de 90º na **Figura 61**, é possível observar o empilhamento das camadas na estrutura cristalina e o posicionamento dos contra-íons intercalados com as moléculas de tu coordenadas de modo monodentado (**Figura 62**).

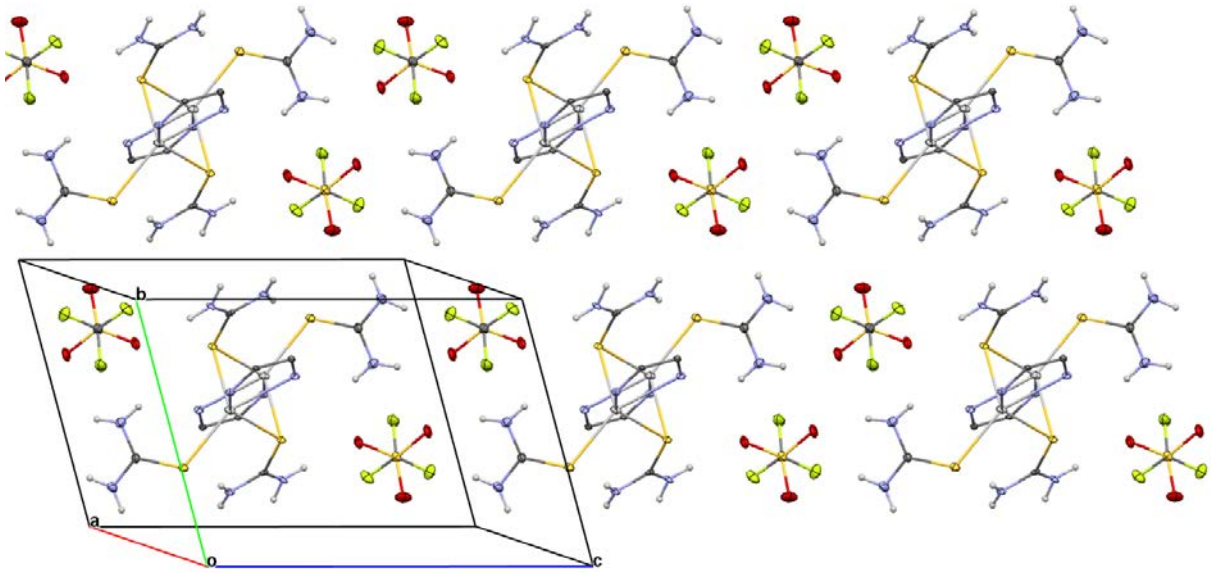
Figura 62: Visão paralela ao plano formado pelas moléculas de phd do composto [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF_3SO_3)$_2$ com destaque para os planos formados pelos contra-íons. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para facilitar a visualização.



Fonte: autor

Na **Figura 63** está representado o plano formado pelas moléculas de tu coordenadas de modo monodentado, esse plano contém também os íons $CF_3SO_3^-$. Na **Figura 63** destaca-se o padrão de intercalação entre os íons e a molécula de tu que sustentam a estrutura do cristal.

Figura 63: Plano formado pelas moléculas de tu monodentada no composto [{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF$_3$SO$_3$)$_2$. Os átomos referentes às moléculas de phd foram omitidos para facilitar a visualização.



Fonte: autor

A **Tabela 7** resume os principais dados cristalográficos obtidos para o cristal do composto A1.

	[{Ag(phd)(μ-tu)(tu)}$_2$](CF$_3$SO$_3$)$_2$
Fórmula Empírica	$C_{28}H_{28}Ag_2N_{12}O_4S_4$, 2($CF_3SO_3$)
Nome	Trifulormetanosulfonato de bis-[N,N'-1,10-fenantrolina-5,6-diona-μ-(tiouréia-S,S)(tiouréia)-prata(I)]
Massa molecular (g mol^{-1})	1238,73
Sistema Cristalino	triclínico
Grupo espacial	P -1
a (Å)	8,2751(14)
b (Å)	10,2843(15)
c (Å)	13,692(2)
α (º)	108,832(8)
β (º)	105,539(9)
γ (º)	93,673(9)
V (Å^3)	1047,97
Z (cela unitária)	2
d_{calc} (g cm^{-3})	1,649
μ(Mo-Kα) (mm^{-1})	1,532

Fonte: autor

4.2.4.6 Considerações finais sobre os compostos D1-2

Acompanhando os resultados dos compostos anteriores, os resultados espectroscópicos indicaram a presença tanto da phd como da tu coordenadas ao centro metálico de prata. A espectrometria de massas indicou a presença em solução dos fragmentos $[Ag(phd)(tu)]^+$ em (393 m/z) e $[Ag(phd)(tu)_2]^+$ (470 m/z), mas somente o sinal em 393 m/z apresentou o perfil isotópico esperado para os complexos de prata. O cruzamento dos resultados de ^1H RMN com os espectros de massas indicam formação do composto [Ag(phd)(tu)]X (X=NO_3^-, $CF_3SO_3^-$).

No composto D2 hpuve indicio da formação do composto *3a,11b-Dihydroxy-3a,11b-dihydro-1Himidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline-2(3H)-thione*, produto da reação entre a phd e a tu. No entanto, a presença desse subproduto só foi observada em DMSO, enquanto nas analises de massas obtidas em metanol/água não apresentaram o fragmento em 286 m/z atribuídos ao subproduto.

Os resultados de analise elementar dos compostos, juntamente com os resultados obtidos pela analise cristalográfica do cristal do composto D2, leva a concluir que ambos os compostos com formula molecular $[Ag(phd)(tu)_2]X$ (X=NO_3^-, $CF_3SO_3^-$). Além da confirmação da formação do dímero $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$ formado com a cristalização do composto D2.

4.3 Resultados Biológicos

4.3.1 Fungos e Bactérias

As atividades fungicida e bactericida dos compostos A1, B1 e B2 juntamente com os reagentes precursores, foram estimadas de acordo com a concentração mínima para inibir 50% do crescimento microbiano (MIC_{50}). Os resultados para esses testes estao listados na **Tabela 17** e **Tabela 18**.

Tabela 17: Atividade antibacteriana (MIC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e da droga de referência frente as bactérias *S. aureus, E. coli*, *P. aeruginosa*.

Compostos	*S. aureus* μg mL^{-1} (μM[a])	*E. coli* μg mL^{-1} (μM[a])	*P. aeruginosa* μg mL^{-1} (μM[a])
$AgNO_3$	7,5 (44)	7,5 (44)	7,5 (44)
$AgCF_3SO_3$	60 (233)	30 (117)	60 (233)
phen	inativo	inativo	inativo
tu	inativo	inativo	inativo
B1	30 (70,4)	7,5 (17,6)	inativo
B2	60 (117)	15 (29,2)	inativo
A1	inativo	inativo	inativo
Chloramphenicol	0,975 (3,0)	0,975 (3,0)	31,2 (96,5)

[a] concentração calculada em mols de [Ag(L)(tu)]X L^{-1}

Fonte: autor

Tabela 18: Atividade antifúngica (MIC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e da droga de referência frente aos fungos *C. albicans, C. tropicalis, C. krusei.*

Compostos	*C. albicans* μg mL^{-1} (μM[a])	*C. tropicalis* μg mL^{-1} (μM[a])	*C. krusei* μg mL^{-1} (μM[a])
$AgNO_3$	7,5 (44)	7,5 (44)	1,9 (11)
$AgCF_3SO_3$	60 (233)	30 (117)	60 (233)
phen	15 (83)	7,5 (41,5)	inativo
tiouréia	inativo	inativo	inativo
B1	30 (70,4)	7,5 (17,6)	inativo
B2	60 (117)	15 (29,2)	inativo
A1	inativo	inativo	inativo
Fluconazol	1,0 (3,3)	1,0 (3,3)	32 (105)

[a] concentração calculada em mols de [Ag(L)(tu)]X L^{-1}

Fonte: autor

Os ligantes tu e bpy não demonstraram nenhuma atividade frente aos fungos e bactérias testados em concentrações maiores que 100 μg mL^{-1}, sendo considerados inativos. Entretanto a phen apresentou resultado significante somente contra *C. tropicalis* (7,5 μg mL^{-1}). Considerando os sais de prata, $AgNO_3$ apresentou atividade frente a *C. krusei* (MIC = 11 μM) e moderada atividade frente aos outros microorganismos (44 μM). Apesar de ativo, o $AgCF_3SO_3$ apresentou baixa atividade frente as culturas estudadas (117 - 233 μM). Vale ressaltar que as drogas de referências são de 3,0 μM para o Chloramphenicol (bactérias) e de 3,3 μM para o Fluconazol (fungos).

Os compostos B1 e B2 apresentaram um amplo espectro de atuação antimicrobiana, sendo ativos contra bactérias Gram-negativas (*E. coli*) e Gram-positivas (*S. aureus*) e contra fungos (*C. albicans* e *C. tropicalis*). O complexo B1 apresentou valores significativos de MIC_{50} frente a *E. coli* e *C. tropicalis* (17,6 μM) e um efeito moderado frente ao crescimento de *S. aureus* e *C. albicans* (70,4 μM). Enquanto o composto B2 apresentou eficácia relevante somente frente a *C. albicans* (29,2 μM). Análogo aos resultados obtidos nos ensaios frente a *M. tuberculosis*, a troca do íon nitrato pelo trifluorometanossulfonato diminuiu a atividade microbiana dos compostos estudados.

Semelhante ao ligante livre, o composto A1 contendo bpy não apresentou atividade antimicrobiana em todas as culturas estudadas. Esse resultado sugere o aumento da estrutura aromática entre a bpy e a phen tende a aumentar a lipofilicidade dos compostos e então a sua capacidade de permear-se na membrana celular.

O mecanismo de atuação dos complexos em sua atividade antimicrobiana dos compostos estudados continua desconhecido. Estudos anteriores sobre a atividade fungicida dos complexos análogos de prata(I) e phen demonstraram um distúrbio na função mitocondrial, atraso na síntese de citocromos B e C e problemas na respiração celular (McCANN et al, 2004). Paralelamente, a exposição de células de fungos a complexos de prata(I) levaram a redução do ergosterol na membrana celular e um subsequente aumento na sua permeabilidade (COYLE et al, 2004; THATI et al, 2007).

4.3.2 Tuberculose

Os compostos A1, B1 e B2 tiveram suas características antiproliferativas (MIC) contra *M. tuberculosis* e ainda avaliados quanto as suas toxicidades (IC_{50}) em macrófagos J774. A concentração mínima inibitória (MIC) e os valores de IC_{50} podem ser encontrados na **Tabela 19**. Para efeito de comparação, a atividade dos ligantes livres (phen, bpy e tu) e dos sais precursores $AgNO_3$ e $AgCF_3SO_3$ também foram analisados nas mesmas condições experimentais.

Tabela 19: Atividade inibitória frente a *M. tuberculosis* $H_{37}Rv$ (MIC), efeito citotóxico frente aos macrófagos J774 (IC_{50}) e índice de seletividade (SI) para os compostos A1, B1, B2 e os reagentes precursores.

Composto	MIC		IC_{50}		SI
	μg mL^{-1}	μM[a]	μg mL^{-1}	μM[a]	(IC_{50}/MIC)
$AgNO_3$	4,60±2,06	27,1±12,1	4,90±0,00	28,8±0,00	0,73-1,92
$AgCF_3SO_3$	8,80±3,93	34,2±15,3	4,90±0,00	19,1±0,00	0,39-1,01
phen	2,30±1,13	12,8±6,27	14,6±6,86	81,0±38,1	6,24-6,56
bpy	18,5±0,00	119±0,00	-	-	-
tu	> 25	-	-	-	-
1	4,70±0,42	11,0±0,99	5,70±3,76	13,4±8,82	0,46-1,85
2	7,30±1,44	14,2±2,81	39,1±0,00	76,2±0,00	4,48-6,69
3	> 25	-	-	-	-

MIC = Concentração inibitória mínima; IC_{50} = concentração que inibe 50% do crescimento dos macrófagos J774; SI = índice de seletividade.
[a] concentração calculada em mols de [Ag(L)(tu)]X L^{-1}

Fonte: autor

Considerando os ligantes livres, a phen apresentou-se a mais ativa com valores de MIC de 13 μM. Tal observação pode ser atribuída à hipótese da bioatividade da phen complexar-se a ions de metais de transição formando complexos metálicos nos organismos, os quais são considerados as espécies ativas na ação da phen. Por outro lado, a bpy que também tem a característica de formar complexos quelantes apresentou um fraco efeito de inibição no *M. tuberculosis* (119 μM). A diferença nos valores de MIC entre a phen e a bpy pode estar atribuída a uma maior natureza hidrofóbica da phen, favorecendo uma penetração mais eficiente na membrana lipídica do bacilo. O efeito antiproliferativo dos sais $AgNO_3$ e $AgCF_3SO_3$ são bastante semelhante, sugerindo que a espécie ativa em ambos é somente o íon Ag^+.

Os compostos B1 e B2 também apresentaram valores semelhantes de MIC, indicando que a substituição do íon nitrato pelo trifluorometanossulfonato não influi na bioatividade dos compostos. Entretanto, a mudança do ligante quelante da bpy

(A1) para a phen (B1) resultou em uma grande diferença na atividade antitubercular entre os compostos. Os compostos B1 e B2 mostraram-se mais ativos que a tioureia é os sais precursores, evidenciando um efeito sinérgico entre o cátion de prata e o ligante phen. Vale resaltar que a ação antiproliferativa do composto B1 (11,0 ± 0,99 μM) e do composto B2 (14,2 ± 2,81 μM) é superior a outros complexos de prata encontrados na literatura, como a [Ag(6-mercaptopurine)]·H_2O (93,2 μM) (CUIN et al, 2007), [Ag(tartarato)] (31 μM) e da sulfadiazina de prata (22 μM) (CUIN et al, 2011). A atividade antiproliferativa dos compostos B1 e B2 também foi maior que a da pirazinamida (406 - 812 μM) que é utilizada no tratamento da tuberculose, mas menos efetivos que a droga de primeira linha isoniazida (0,22 μM) (MORO et al, 2009; SOUZA et al, 2010).

Os compostos com valores de MIC < 10 $\mu g\ mL^{-1}$ (sais precursores, phen, B1 e B2) foram submetidos a avaliações de citotoxicidade frente a macrófagos J774. É importante enfatizar que compostos com MIC < 6,25 $\mu g\ mL^{-1}$ e SI $\geq$ 10 são possíveis candidatos a testes mais avançados com o intuito de investigar a ação antimicobacteriana mais extensivamente (MACCARI et al, 2004). A substituição do íon nitrato pelo trifluorometanossulfonato nos compostos B1 e B2 diminuíu significantemente a citotoxicidade frente aos macrófagos, sugerindo que os grupos aniônicos interferem na toxicidade nessa classe de compostos. Apesar da baixa citotoxicidade contra as células macrófagas *in vitro*, o composto B2 apresentou um índice de seletividade (SI) desfavorável para pesquisas mais avançadas (4,48 - 6,69).

4.3.3 Leishmania

A atividade antileishmania dos compostos A1, B1 e B2 e da Amphotericin B (AmpB) foram avaliadas contra ambas as formas do parasita e estimados pela concentração inibitória do crescimento em 50% (IC_{50}), seus efeitos citotóxicos também foram avalidos contra macrófagos peritoniais murinos (CC_{50}) e ambos estão listados na **Tabela 20**.

Tabela 20: Atividade leishmanicida frente as formas promastigota e amastigotas da *Leishmania (L.) amazonensis* e efeito citotóxico frente aos macrófagos peritoniais murinos (CC_{50}) dos compostos A1, B1, B2 e a droga de referência AmpB. Os resultados estão descritos em $\mu g\ mL^{-1}$ e μM.

Composto	IC_{50} (promastigote)		CC_{50}		IC_{50} (amastigote)		SI[b]
	$\mu g\ mL^{-1}$	μM	$\mu g\ mL^{-1}$	μM	$\mu g\ mL^{-1}$	μM	
B1	2,42 ± 0,06	5,68±0,14[a]	29,11 ± 1,83	68,30±4,30[a]	4,95 ± 0,38	11,6±0,90[a]	5,81-5,98
B2	2,52 ± 0,08	4,91±0,16[a]	45,20 ± 1,64	88,06±3,19[a]	3,10 ± 0,30	6,04±0,58[a]	13,8-15,5
A1	3,97 ± 0,39	9,87±0,97[a]	19,80 ± 0,95	49,23±2,36[a]	8,85 ± 1,31	22,0±3,26[a]	2,04-2,50
AmpB	4,71 ± 0,57	5,10±0,62	25,03 ± 2,45	27,09±2,65	4,41 ± 0,31	4,77±0,33	5,50-5.83

[a] concentração calculada em função de mols de $[Ag(L)(tu)]X\ L^{-1}$.
[b] O índice de seletividade (SI) é a razão entre o CC_{50} e o IC_{50} frente à forma amastigota.

Fonte: autor

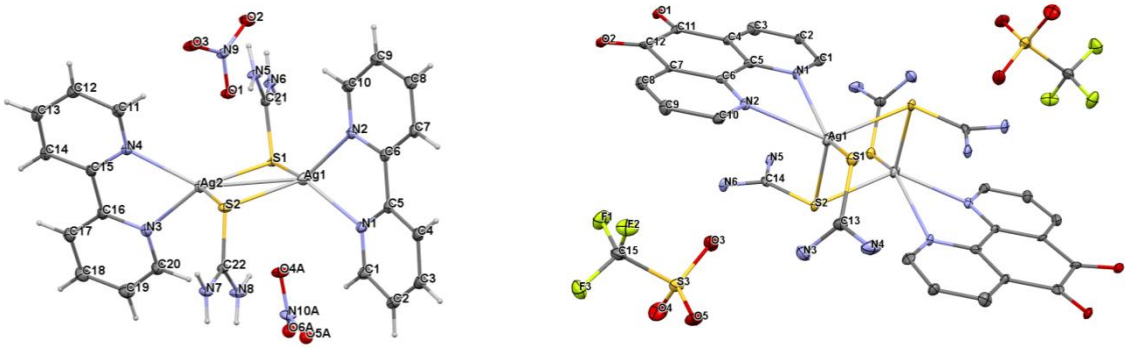
Como observado previamente, a atividade antiproliferativa de compostos de prata(I) contra a forma promastigota do *L. amazonensis* depende diretamente do tipo de ligante quelante NN utilizado. A atividade leishmanicida dos compostos derivados da phen (B1 e B2) foram comparáveis a droga de referência AmpB. Adicionalmente, esses compostos também foram menos tóxicos aos macrófagos peritoniais murinos do que a AmpB. Particularmente, a atividade antiproliferativa do composto B2 frete as linhagens amastigotas do *L. amazonensis* (IC_{50} = 5,81 µM) merecem maiores comentários. De acordo com a literatura, valores de SI > 1 são considerados mais seletivos frente aos parasitas, e valores menores que 1 são mais efetivos contra células normais (MARTIN-QUINTAL et al, 2009). O complexo B2 apresentou não somente um efeito comparável ao observado com a AmpB (IC_{50} = 4,77 µM), mas também apresentou excelente perfil biológico, com um índice de seletividade (SI) entre 15,5-13,8, que é consideravelmente superior as drogas AmpB (SI = 4,40) e a pentamidina (SI = 0,58) (FRANCO et al, 2013). Ao contrario do que foi obtido com o *M. tuberculosis*, o composto B1, contendo nitrato, demonstrou menor atividade leishmanicida quando comparado com o composto B2 contendo o íon triluormetanosulfonato, sendo mais uma indicação que a variação do íon utilizado afeta na atividade biológica dos complexos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados 13 compostos inéditos de prata(I) contendo ligantes NN quelantes e tiouréia em suas estruturas. Os ligantes quelantes utilizados nesse trabalho possuíam a característica serem heterociclos aromáticos baseados na estrutura da 1,10-fenantrolina (bpy, phen, phd e dppz). No caso dos ligantes phd e dppz, as suas sínteses também foram efetuadas em nosso laboratório. Os ligantes foram complexados com os sais de prata(I) $AgNO_3$, $AgCF_3SO_3$, $AgBF_4$ e Ag_2SO_4, sendo esses dois últimos obtidos *in situ* a partir da reação entre Ag_2O e os respectivos ácidos HBF_4 e H_2SO_4 diluídos.

Os complexos obtidos foram estudados tanto em solução como em estado sólido, tendo suas estruturas determinadas pela espectroscopia na região do infravermelho e de ^1H RMN, espectrometria de massas, análise elementar de carbono, nitrogênio e hidrogênio e, nos casos possíveis difração de raios-X de monocristal. Os resultados indicaram que, em solução, os compostos obtidos possuem fórmula molecular representada por [Ag(NN)(tu)]X, sendo NN = bpy, phen, dppz e phd; tu = tiouréia e X os anions NO_3^-, $CF_3SO_3^-$ e BF_4^-. No estado sólido, os complexos obtidos apresentaram algumas variações em sua composição apresentando em alguns casos a fórmula molecular $[Ag(NN)(tu)_2]X$. No caso de compostos obtidos com o íon sulfato, foi observada uma fórmula molecular $[Ag_2(NN)(tu)]SO_4$ nos compostos com phen e dppz em seu estado sólido. Dentre os compostos sintetizados somente a estrutura de dois deles foi determinada via difração de raios X de monocristal, as quais apresentaram uma estrutura cristalina dimérica sustentada por moléculas de tiouréia em ponte (**Figura 64**).

Figura 64: Estrutura cristalina obtidas nesse trabalho.



$[\{Ag(bpy)(\mu\text{-}tu)\}_2](NO_3)_2$ $[\{Ag(phd)(\mu\text{-}tu)(tu)\}_2](CF_3SO_3)_2$

Fonte: autor

Além da caracterização dos complexos, estudos preliminares de atividade biológica frente a diferentes patógenos foram obtidos. Nesse estudo três compostos foram analisados frente a células bacterianas, fungos, *M. tuberculosis*, linhagens promastigota e amastigota de *L. amazonensis*, em conjunto com as suas propriedades citotóxicas frente a células saudáveis. Para análises preliminares apenas três compostos foram selecionados, sendo eles os compostos A1, B1 e B2, contendo bpy e phen. Mesmo sendo um estudo bastante reduzido, tendo em vista a quantidade de microorganismos e de compostos estudados, foi possível averiguar algumas varições no comportamente biológico com a alteração tanto do ligante quelante NN quanto do contra-íon. De um modo geral, o composto A1 contendo a bpy mostrou-se inativo frente a todos os microorgansmos estudados, tendo atividades inferiores ao sal metálico. Nos estudos fungicidas e bactericidas os compostos contendo phen (B1 e B2) mostraram atividade superior à apresentada pelos precursores puros, mas sempre inferior a droga padrão utilizada para cada cultura. O efeito da alteração do contra-íon também pode ser notado na atividade biológica dos compostos, sendo o composto B1 contando nitrato mais ativo que o composto B2 contendo trifluorometanossulfonato.

Os ensaios tuberculostáticos dos compostos B1 e B2 apresentaram resultados interessantes, seus valores de MIC estavam abaixo de 10 $\mu g\ mL^{-1}$, valor indicativo para a sequência das análises sendo esses averiguados contra os macrófagos J774. A substituição do íon nitrato pelo trifluorometanossulfonato nos compostos B1 e B2 diminuíram significantemente a citotoxicidade frente aos macrófagos, sugerindo que os grupos aniônicos interferem na toxicidade nessa classe de compostos. Apesar da baixa citotoxicidade contra as células macrófagas *in vitro*, o composto B2 apresentou um índice de seletividade (SI) desfavorável para pesquisas mais avançadas (4,48 - 6,69).

Com resultados mais promissores, os estudos de atividades leishmanicidas do composto B2 mostrou um índice de seletividade (SI) com valores de 13,8-15,5, muito superiores aos observados para droga padrão utilizada AmpB (5,5-5,83). Os compostos A1 e B1 mostraram-se ativos também contra as formas amastigotas da *L. amazonensis*, apresentando SI semelhante ou inferior a AmpB. Vale ressaltar que as formas amastigotas da Leishmania são de tratamento mais difícil devido a se alojarem no meio intracelular.

Tendo em vista os resultados obtidos, ensaios de atividade tuberculostatica e leishmanicida estão sendo executados com os compostos da família da dppz expostos nesse trabalho como também em compostos contendo outros sais de prata e derivados da phen.

REFERÊNCIAS

AHMAD, S.; ISAB, A. A.; ARNOLD, A. P. Synthesis and spectroscopic characterization of silver(I) complexes of selenones. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 56, p. 539-544, 2003.

AHMED, S. A.; GOGAL, R. M.; WALSH, J. E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [^{3}H]thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 170, p. 211-224, 1994.

ALEXANDER, J. W. History of the medical use of silver. **Surgical Infections**, v. 10, p. 289-292, 2009.

ALTAF, M.; STOECKLI-EVANS, H.; CUIN, A.; SATO, D. N.; PAVAN, F. R.; LEITA, C. Q. F.; AHMAD, S.; BOUAKKA, M.; MIMOUNI, M.; KHARDLI, F. Z.; HADDA, T. B. Synthesis, crystal structures, antimicrobial, antifungal and antituberculosis activities of mixed ligand silver(I) complexes. **Polyhedron**, v. 62, p. 138-147, 2013.

ATKINS, P. **Inorganic chemistry**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2010.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3. ed. São Paulo: Bookman, 2005.

BAILAR, J. C.; TROTMAN-DICKENSON, A. F. **Comprehensive inorganic chemistry**. Oxford: Pergamon Press, 1975.

BAIOCCO, P.; ILARI, A.; CECI, P.; ORSINI, S.; GRAMICCIA, M.; MUCCIO, T. D.; COLOTTI, G. Inhibitory effect of silver nanoparticles on trypanothione reductase activity and *Leishmania infantum* proliferation. **Medicinal Chemistry Letters**, v. 2, p. 230-233, 2011.

BALASANMUGAM, K.; DAY, R. J.; HERCULES, D. M. Characterization of o-phenanthroline and 2,2'-bipyridine complexes by laser mass spectrometry. **Inorganic Chemistry**, v. 24, p. 4471-4483, 1985.

BARREIRO, E.; CASAS, J. S.; COUCE, M. D.; SÁNCHEZ, A.; SORDO, J.; VÁZQUEZ-LÓPEZ, E. M. Heteronuclear gold(i)–silver(i) sulfanylcarboxylates: synthesis, structure and cytotoxic activity against cancer cell lines. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 131, p. 68-75, 2014.

BEOVIĆ, B. The issue of antimicrobial resistance in human medicine. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, p. 280-287, 2006.

BERMAN, J.; SUDBERY, P. E. *Candida albicans*: a molecular revolution built on lessons from budding yeast. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 918-932, 2002.

BLAIR, D. E.; DIEHL, H. Sulfonic acid derivatives of 1,10-phenanthroline. **Analytical Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 867-870, 1961.

BLAU, F. Über neue organische metallverbindungen. **Monatshefte Fur Chemie**, v. 19, p. 647-689, 1898.

BOUDALIS, A. K.; NASTOPOULOS, V.; PERLEPES, S. P.; RAPTOPOULOU, C. P.; TERZIS, A. 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.

BOWMAKER, G. A.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H. Structural and infrared spectroscopic studies of some novel mechanochemically accessed adducts of silver(I) oxoanion salts with thiourea. **Inorganic Chemistry**, v. 48, p. 3185-3197, 2009.

BOWMAKER, G. A.; PAKAWATCHAI, C.; SAITHONG, S.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H. Structural and spectroscopic studies of some adducts of silver(I) halides with thiourea and N-ethyl substituted thioureas. **Dalton Transactions**, v. 39, p. 4391-4404, 2010.

BRANDT, D.; PARK, B.; HOANG, M.; JACOBE, H. T. Argyria secondary to ingestion of homemade silver solution. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 53, p. S105-S107, 2005.

BRANDT, W. W.; DWYER, F. P.; GYARFAS, E. C. Chelate complexes of 1,10-phenanthroline and related compounds. **Chemical Reviews**, v. 54, p. 959-1017, 1954.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar_americana.pdf >. Acesso em: 24 abr. 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose visceral**. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/03_1193_M.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2014b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/abril/10/Boletim-Tuberculose-2014.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2014c.

BRUNO, I. J.; COLE, J. C.; EDGINGTON, P. R.; KESSLER, M.; MacRAE, C. F.; McCABE, P.; PEARSON, J.; TAYLOR, R. New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. **Acta Crystallographica B**, v. 58, p. 389-397, 2002.

BUTLER, H. M.; HURSE, A.; THURSKY, E.; SHULMAN, A. Bactericidal action of selected phenanthroline chelates and related compounds. **The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 47, p. 541-552, 1969.

CADE, G.; COHEN, M.; SHULMAN, A. The action of phenanthroline metal chelates and related substances on erysipelothrix rhusiopathiae and fusiformis nodosus. **Australian Veterinary Journal**, v. 46, p. 387-392, 1970.

CATORZE, M. G. B. Leishmaniose e SIDA. **Medicina Cutánea Ibero-Latino Americana**, v. 33, n. 6, p. 237-250, 2005.

CHEN, S-C.; CAI, X-X.; ZHANG, Z-H.; YAN, Q.; HE, M-Y.; TIAN, F.; GAO, J.; CHEN, Q. Luminescent silver(i) metal-organic framework with new (4,6)-connected topology based on mixed tetrachloroterephthalate and 2,2'-bipyridine ligands. **Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie**, v. 639, p. 1726-1730, 2013a.

CHEN, S-C.; ZHANG, Z-H.; CHEN, Q.; WANG, L-Q.; XU, J.; HE, M-Y.; DU, M.; YANG, X-P.; JONES, R. A. An efficient strategy to achieve hydrophilic polymeric silver(I) materials with exceptional antibacterial activity. **Chemical Communications**, v. 49, p. 1270-1272, 2013b.

CHU, Q.; SWENSON, D. C.; MacGILLIVRAY, L. R. A single-crystal-to-single-crystal transformation mediated by argentophilic forces converts a finite metal complex into an infinite coordination network. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, p. 3569-3572, 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A6**. 6th ed. Wayne, 2003.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard M27-A3**. 3rd ed. Wayne, 2008.

COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced inorganic chemistry**. 5th ed. New York: John Wiley, 1988.

COVAS, C. J. F.; CARDOSO, C. C.; GOMES-SILVA, A.; SANTOS, J. R. O.; CRUZ, A. M.; MORAES, M. O. Candidate gene case-control and functional study showsmacrophage inhibitoryfactor (MIF) polymorphism is associated with cutaneous leishmaniasis. **Cytokine**, v. 61, n. 1, p. 168-172, 2012.

COYLE, B.; KINSELLA, P.; McCANN, M.; DEVEREUX, M.; O'CONNOR, R.; CLYNES, M.; KAVANAGH, K. Induction of apoptosis in yeast and mammalian cells by exposure to 1,10-phenanthroline metal complexes. **Toxicology In Vitro**, v. 18, p. 63-70, 2004.

CUIN, A.; MASSABNI, A. C.; LEITE, C. Q. F.; SATO, D. N.; NEVES, A.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, M. S.; BORTOLUZZI, A. J. Synthesis, X-ray structure and antimycobacterial activity of silver complexes with α-hydroxycarboxylic acids. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 291-296, 2007.

CUIN, A.; MASSABINI, A. C.; PEREIRA, G. A.; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F. R.; SESTICOSTA, R.; HEINRICH, T. A.; COSTA NETO, C. M. 6-Mercaptopurine complexes with silver and gold ions: anti-tuberculosis and anti-cancer activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, p. 334-338, 2011.

CUNNINGHAM, A. C. Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania.* **Experimental and Molecular Pathology**, v. 72, n. 2, p. 132-141, 2002.

CURRAN, R. J. **Silver(I) complexes as antimicrobial and anticancer drugs**. 2009. 120 f. Thesis (Doctor of Philosophy) - Department of Chemistry, National University of Ireland, Maynooth, 2009.

DAI, L.; YOU, W.; WANG, E.; WU, S.; SU, Z.; DU, Q.; ZHAO, Y.; FANG, Y. Two novel one-dimensional α-keggin-based coordination polymers with argentophilic $\{Ag_3\}^{3+}/\{Ag_4\}^{4+}$ clusters. **Crystal Growth & Design**, v. 9, p. 2110-2116, 2009.

DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F. Novas embalagens para medicamentos à base de antimônio usados no tratamento de leishmaniose e esquistossomose. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 24-30, 2005.

DI BERNARDO, P.; CHOPPIN, G. R.; PORTANOVA, R.; ZANONATO, P. L. Lanthanide(III) trifluoromethanesulfonate complexes in anhydrous acetonitrile. **Inorganica Chimica Acta**, v. 207, p. 85-91, 1993.

DICKESON, J. E.; SUMMERS, L. A. Derivatives of 1,10-phenanthroline-5,6-quinone **Australian Journal of Chemistry**, v. 23, n. 5, p. 1023-1027, 1970.

DINIZ, L. M. O.; DUANI, H.; FREITAS, C. R.; FIGUEIREDO, R. M.; XAVIER, C. C. Neurological involvement in visceral leishmaniasis: case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 6, p. 743-745, 2010.

DIXIT, V. **Synthesis, characterisation and antimicrobial activity of novel phosphine stablised silver (I) dicarboxylate complexes**. 2010. 86 f. Thesis (Doctor of Philosophy) - School of Food Science and Environmental Health, Dublin Institute of Technology, Dublin, 2010.

DOLAN, N.; McGINLEY, J.; STEPHENS, J. C.; KAVANAGH, K.; HURLEY, D.; MAHER, N. J. Synthesis, characterisation and antimicrobial studies of organotin(IV) complexes with 1,10-phenanthroline derivatives. **Inorganica Chimica Acta**, v. 409, p. 276-284, 2014.

DRAKE, P. L.; HAZELWOOD, K. J. Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 49, p. 575-585, 2005.

DWYER, F. P.; GYARFAS, E. C.; WRIGHT, R. D.; SHULMAN, A. Effect of inorganic complex ions on transmission at a neuromuscular junction. **Nature**, v. 179, p. 425-426, 1957.

DWYER, F. P.; MAYHEW, E.; ROE, E. M. F.; SHULMAN, A. Inhibition of Landschütz ascites tumour growth by metal chelates derived from 3,4,7,8-tetramethyl-1,10-phenanthroline. **British Journal of Cancer**, v. 19, p. 195-199, 1965.

DWYER, F. P.; REID, I. K.; SHULMAN, A.; LAYCOCK, G. M.; DIXSON, S. The biological actions of 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine hydrochlorides, quaternary salts and metal chelates and related compounds. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, v. 47, p. 203-218, 1969.

ECKHARD, I. F.; SUMMERS, L. A. 4,5-Diazafluoren-9-one from the oxidation of 1,10-phenanthroline by permanganate. **Australian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 12, p. 2727-2728, 1973.

EL-ASMY, H. A.; BUTLER, I. S.; MOUHRI, Z. S.; JEAN-CLAUDE, B. J.; EMMAM, M. S.; MOSTAFA, S. I. Zinc(II), ruthenium(II), rhodium(III), palladium(II), silver(I), platinum(II) and MoO_2^{2+} complexes of 2-(2'-hydroxy-5'-methylphenyl)-benzotriazole as simple or primary ligand and 2,2'-bipyridyl, 9,10-phenanthroline or triphenylphosphine as secondary ligands: structure and anticancer activity. **Journal of Molecular Structure**, v. 1059, p. 193-201, 2014.

EL-BAHY, G. M. S.; EL-SAYED, B. A.; SHABANA, A. A. Vibrational and electronic studies on some metal thiourea complexes. **Vibrational Spectroscopy**, v. 31, p. 101-107, 2003.

EL-FADILI, A. K.; ZANGGER, H.; DESPONDS, C.; GONZALEZ, I. J.; ZALILA, H.; SCHAFF, C.; IVES, A.; MASINA, S.; MOTTRAM, J. C.; FASEL, N. Cathepsin B-like and cell death in the unicellular human pathogen Leishmania. **Cell Death and Disease**, v. 1, n. 9, p. 1-9, 2010.

ESHWIKA, A.; COYLE, B.; DEVEREUX, M.; McCANN, M.; KAVANAGH, K. Metal complexes of 1,10-phenanthroline-5,6-dione alter the susceptibility of the yeast *Candida albicans* to Amphotericin B and Miconazole. **BioMetals**, v. 17, p. 415-422, 2004.

FARNWORTH, P. G.; SHULMAN, A.; CASEY, A. T. Action of 1,10-phenanthroline transition metal chelates and their constituents on the rat isolated diaphragm preparation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 18, p. 289-294, 1977.

FARRELL, N. Metal complexes as drugs and chemotherapeutic agents. **Comprehensive Coordination Chemistry II**, v. 9, p. 809-840, 2004.

FENG, Q. L.; WU, J.; CHEN, G. Q.; CUI, F. Z.; KIM, T. N.; KIM, J. O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 52, p. 662-668, 2000.

FRANCO, L. P.; GÓIS, E. P. de; CODONHO, B. S.; PAVAN, A. L. R.; PEREIRA, I. O.; MARQUES, M. J.; ALMEIDA, E. T. de. Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity *on Leishmania (L.) amazonensis*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, p. 1049-1056, 2013.

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.

GÁL, M.; GOGGIN, P. L.; MINK, J. Vibrational spectroscopic studies of uranyl complexes in aqueous and non-aqueous solutions. **Spectrochimica Acta**, v. 48A, p. 121-132, 1992.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. **Ressonância magnética nuclear**. Coimbra: Fundação Calouste Gulbekian, 1987.

GILLARD, R. D.; HILL, R. E. E.; MASKILL, R. Optically active co-ordination compounds. Part XX. Reactions of 1,10-phenanthroline co-ordinated to cobalt(III). **Journal of the Chemical Society A**: Inorganic Physical Theoretical, v. 9, p. 1447-1451, 1970.

GREULICH, C.; BRAUN, D.; PEETSCH, A.; DIENDOR, J.; SIEBERS, B.; EPPLE, M.; KÖLLER, M. The toxic effect of silver ions and silver nanoparticles towards bacteria and human cells occurs in the same concentration range. **RSC Advances**, v. 2, p. 6981-6987, 2012.

GUO, Z.; SADLER, P. J. Metals in medicine. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, p. 1512-1531, 1999.

HADRUP, N.; LAM, H. R. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – a review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 68, p. 1-7, 2014.

HENDERSON, W.; NICHOLSON, B. K.; DINGER, M. B.; BENNETT, R. L. Thiourea monoanion and dianion complexes of rhodium(III) and ruthenium(II). **Inorganica Chimica Acta**, v. 338, p. 210-215, 2002.

HENRIQUES, R. T.; HERDTWECK, E.; KÜHN, F. E.; LOPES, A. D.; MINK, J.; ROMÃO, C. C. Synthesis, characterization, and reactions of tetrakis(nitrile)chromium(II) tetrafluoroborate complexes. **Journal of Chemical Society, Dalton Transactions**, v. 1998, p. 1293-1297, 1998.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 354, n. 9185, p. 1191-1199, 1999.

HIGUCHI, C. T.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; LEITE, S. R. A.; SACRAMENTO, L. V.; SATO, D. N. Triterpenes and antitubercular activity of *Byrsonima crassa*. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1719-1721, 2008.

HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. **Inorganic chemistry**: principles of structure and reactivity. 4th ed. New York: HarperCollins College Publishers, 1993.

ISAB, A. A.; NAWAZ, S.; SALEEM, M.; ALTAF, M.; MONIM-UL-MEHBOOB, M.; AHMAD, S.; EVANS, H. S. Synthesis, characterization and antimicrobial studies of mixed ligand silver(I) complexes of thioureas and triphenylphosphine; crystal structure of $\{[Ag(PPh_3)(thiourea)(NO_3)]_2 \cdot [Ag(PPh_3)(thiourea)]_2(NO_3)_2\}$. **Polyhedron**, v. 29, p. 1251-1256, 2010.

JEBALI, A.; KAZEMI, B. Nano-based antileishmanial agents: a toxicological study on nanoparticles for future treatment of cutaneous leishmaniasis. **Toxicology in Vitro**, v. 27, p. 1896-1904, 2013.

JUNG, W. K.; KOO, H. C.; KIM, K. W.; SHIN, S.; KIM, S. H.; PARK, Y. H. 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.

KALINOWSKA-LIS, U.; FELCZAK, A.; CHĘCIŃSKA, L.; LISOWSKA, K.; OCHOCKI, J. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of silver(I) complexes of hydrosymethyl derivates of pyridine and benzimidazole. **Journal of Organometallic Chesmitry**, v. 749, p. 394-399, 2014.

KECK, C. M.; ANANTAWORASAKUL, P.; PATEL, M.; OKONOGI, S.; SINGH, K. K.; ROESSNER, D.; SCHERRERS, R.; SCHWABE, K.; RIMPLER , C.; MÜLLER, R. H. A new concept for the treatment of atopic dermatitis: silver–nanolipid complex (sNLC). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 462, p. 44-51, 2014.

KEMP, S.; WHEATE, N. J.; PISANI, M. J.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Degradation of bidentate-coordinated platinum(II)-based DNA intercalators by reduced L-Glutathione. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 2787-2794, 2008.

KHLOBYSTOV, A. N.; BLAKE, A. J.; CHAMPNESS, N. R.; LEMENOVSKII, D. A.; MAJOUGA, A. G.; ZYK, N. V.; SCHRÖDER, M. Supramolecular design of one-dimensional coordination polymers based on silver(I) complexes of aromatic nitrogen-donor ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 222, p. 155-192, 2001.

KLASEN, H. J. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. **Burns**, v. 26, p. 117-130, 2000a.

KLASEN, H. J. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. **Burns**, v. 26, p. 131-138, 2000b.

KONTOYIANNIS, D. P.; VAZIRI, I.; HANNA, H. A.; BOKTOUR, M.; THORNBY, J.; HACHEM, R.; BODEY, G. P.; RAAD, I. I. Risk factors for *Candida tropicalis* fungemia in patients with cancer. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1676-1681, 2001.

LANSDOWN, A. B. G. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. **Current Problems in Dermatology**, v. 33, p. 17-34, 2006.

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

LOBANA, T. S.; SULTANA, R.; BUTCHER, R. J.; JASINSKI, J. P.; GOLEN, J. A.; CASTINEIRAS, A.; PRÖPPER, K.; FERNANDEZ, F. J.; VEJA, M. C. Heterocyclic-2-thione derivatives of silver(I): synthesis, spectroscopy and structures of mono- and di-nuclear silver(I) halide complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 745/746, p. 460-469, 2013.

MacCARI, R.; OTTANA, R.; BOTTARI, B.; ROTONDO, E.; VIGORITA, M. G. *In vitro* advanced antimycobacterial screening of cobalt(II) and copper(II) complexes of fluorinated isonicotinoylhydrazones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 5731-5733, 2004.

MARTIN-QUINTAL, Z.; MOO-PUC, R.; GONZALEZ-SALAZAR, F.; CHAN-BACAB, M. J.; TORRES-TAPIA, L. W.; PERAZA-SANCHEZ, S. R. *In vitro* activity of Tridax procumbens against promastigotes of Leishmania mexicana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, p. 463-467, 2009.

MARVERTI, G.; CUSUMANO, M.; LIGABUE, A.; DI PIETRO, M. L.; VAINIGLIA, P. A.; FERRARI, A.; BERGOMI, M.; MORUZZI, S.; FRASSINETI. C. Studies on the anti-proliferative effects of novel DNA-intercalating bipyridyl–thiourea–Pt(II) complexes against cisplatin-sensitive and -resistant human ovarian cancer cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 699-712, 2008.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. R. Tegumentary and visceral leishmaniases in Brazil - emerging anthropozoonosis and possibilities for their control. **Caderno de Saúde Pública**, v. 10, n. 2, p. 359-375, 1994.

McCANN, M.; COYLE, B.; McKAY, S.; McCORMACK, P.; KAVANAGH, K.; DEVEREUX, M.; McKEE, V.; KINSELLA, P.; O'CONNOR, R.; CLYNES, M. Synthesis and X-ray crystal structure of $[Ag(phendio)_2]ClO_4$ (phendio = 1,10-phenanthroline-5,6-dione) and its effects on fungal and mammalian cells. **BioMetals**, v. 17, p. 635-645, 2004.

McCANN, M.; SANTOS, A. L. S.; SILVA, B. A. da; ROMANOS, M. T. V.; PYRRHO, A. S.; DEVEREUX, M.; KAVANAGH, K.; FICHTNERG, I.; KELLETTH, A. *In vitro* and in vivo studies into the biological activities of 1,10-phenanthroline, 1,10-phenanthroline-5,6-dione and its copper(II) and silver(I) complexes. **Toxicology Research**, v. 1, p. 47-54, 2012.

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

McHUGH, G. L.; MOELLERING, R. C.; HOPKINS, C. C.; SWARTZ, M. N. *Salmonella typhimurium* resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin: a new threat in burn units? **Lancet**, v. 305, p. 235-240, 1975.

MIJNENDONCKX, K.; LEYS, N.; MAHILLON, J.; SILVER, S.; HOUDT, R . V. Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. **Biometals**, v. 26, p. 609-621, 2013.

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.

MOODY, C. J.; REES, C. W.; THOMAS, R. Synthesis of marine alkaloid ascididemin. **Tetrahedron Letters**, v. 31, p. 4375-4376, 1990.

MOODY, C. J.; REES, C. W.; THOMAS, R. The synthesis of ascididemin. **Tetrahedron**, v. 48, p. 3589-3602, 1992.

MORENO, J.; CAÑAVATE, C.; CHAMIZO, C.; LAQUNA, F.; ALVAR, J. HIVLeismania infantum co-infection: humoral and cellular imune responses to the

parasite after chemotherapy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, n. 3, p. 328-332, 2000.

MORO, A. C.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; HÖRNER, M. 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 of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 4611-4615, 2009.

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

NOMIYA, K.; TSUDA, K.; SUDOH, T.; ODA, M. Ag(I)-N bond-containing compound showing wide spectra in effective antimicrobial activities: polymeric silver(I) imidazolate. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 68, p. 39-44, 1997.

OROZCO, A. S.; HIGGINBOTHAM, L. M.; HITCHCOCK, C. A.; PARKINSON, T.; FALCONER, D.; IBRAHIM, A. S.; GHANNOUM, M. A.; FILLER, S. G. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida krusei*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, p. 2645-2649, 1998.

ORVIG, C.; ABRAMS, M. Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2201-2203, 1999.

PAIVA, I. L.; CARVALHO, G. S. G. de; SILVA, A. D. da; CORBI, P. P.; BERGAMINI, F. R.G.; FORMIGA, A. L. B.; DINIZ, R.; CARMO, W. R. do; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F. R.; CUIN, A. Silver(I) complexes with symmetrical Schiff bases: synthesis, structural characterization, DFT studies and antimycobacterial assays. **Polyhedron**, v. 62, p. 104-109, 2013.

PALANICHAMY, K.; ONTKO, A. C. Synthesis, characterization, and aqueous chemistry of cytotoxic Au(III) polypyridyl complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, p. 44-52, 2006.

PANZNER, M. J.; BILINOVICH, S. M.; PARKER, J. A.; BLADHOLM, E. L.; ZIEGLER, C. J.; BERRY, S. M.; LEEPER, T. C. Isomorphic deactivation of a *Pseudomonas aeruginosa* oxidoreductase: the crystal structure of Ag(I) metallated azurin at 1.7 Å. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 128, p. 11-16, 2013.

PATINY, L. **ChemCalc**. Lausanne, 2011. Disponível em: <http://www.chemcalc.org/>. Acesso em: 05 mar. 2014.

PATINY, L.; BOREL, A. ChemCalc: a building block for tomorrow's chemical infrastructure. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, p. 1223-1228, 2013.

PAVAN, F. R.; MAIA, P. I. S.; LEITE, S. R. A.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. F. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: anti – *Mycobacterium tuberculosis* activity and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1898-1905, 2010.

PAZDERSKI, L.; TOUŠEK, J.; SITKOWSK, J.; KOZERSKI, L.; MAREK, R.; SZŁYK, E. ^{1}H, ^{13}C and ^{15}N NMR coordination shifts in gold(III), cobalt(III), rhodium(III) chloride complexes with pyridine, 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline. **Magnetic Resonance In Chemistry**, v. 45, p. 24-36, 2007.

PERCIVAL, S. L.; BOWLER, P. G.; RUSSELL, D. Bacterial resistance to silver in wound care. **Journal of Hospital Infection**, v. 60, p. 1-7, 2005.

PEREIRA, I. O.; MARQUES, M. J.; PAVAN, A. L. R.; CODONHO, B. S.; BARBIÉRI, C. L.; BEIJO, L. A.; DORIGUETTO, A. C.; D'MARTIN, E. C.; SANTOS, M. H. Leishmanicidal activity of benzophenones and extracts from *Garcinia brasiliensis* Mart. fruits. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 339-345, 2010.

PETERS, N. C.; EGEN, J. G.; SECUNDINO, N.; DEBRABANT, A.; KIMBLIN, N.; KAMHAWI, S.; LAWYER, P.; FAY, M. P.; GERMAIN, R. N.; SACKS, D. *In vivo* imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies. **Science**, v. 321, n. 5891, p. 970-974, 2008.

PFALLER, M. A.; JONES, R. N.; MESSER, S. A.; EDMOND, M. B.; WENZEL, R. P. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE program. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 31, p. 327-332, 1998.

PIVETTA, M. Ferro na tuberculose. **Pesquisa FAPESP**, n. 97, p. 32-37, 2004.

RODRIGUES, A. C. E. **Características epidemiológicas e distribuição espacial da enzootia canina de leishmaniose visceral na cidade de Teresina - Piauí, no período de 2003 - 2006**. 2008. 100 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Teresina, 2008.

ROLINSON, G. N.; GEDDES, A. M. The 50th anniversary of the discovery of 6-aminopenicillanic acid (6-APA). **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 29, p. 3-8, 2007.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, p. 385-386, 1969.

ROSSI, F.; DIAZ, L.; WOLLAM, A.; PANESSO, D.; ZHOU, Y.; RINCON, S.; NARECHANIA, A.; XING, G.; DI GIOIA, T. S. R.; DOI, A.; TRAN, T. T.; REYES, J.; MUNITA, J. M.; CARVAJAL, L. P.; HERNANDEZ-ROLDAN, A.; BRANDÃO, D.; VAN DER HEIJDEN, I. M.; MURRAY, B. E.; PLANET, P. J.; WEINSTOCK, G. M.; ARIAS, C. A. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, p. 1524-1531, 2014.

RUSSELL, A. D.; HUGO, W. B. Antimicrobial activity and action of silver. **Progress in Medicinal Chemistry**, v. 31, p. 351-370, 1994.

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.

SERPE, A.; ARTIZZU, F.; MARCHI, L.; MERCURI, M. L.; PILIA, L.; DEPLANO, P. Argentophilic interactions in mono-, di-, and polymeric Ag(I) complexes with N,N'-dimethyl-piperazine-2,3-dithione and iodide. **Crystal Growth & Design**, v. 11, p. 1278-1286, 2011.

SHARMA, R. P.; BALA, R.; SHARMA, R.; VENUGOPALAN, P.; SALAS, J. M.; QUIROS, M. Second sphere coordination in anion binding: synthesis, spectroscopic characterization and single crystal X-ray structure determination of hexaamminecobalt(III) dichloride tetrafluoroborate. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 126, p. 1543-1548, 2005.

SHELDRICK, G. M. **Shelxs-97**: program for crystal structure resolution. PC version. Göttingen: University of Göttingen, 1997.

SHULMAN, A.; WHITE, D. O. Virostatic activity of 1,10-phenanthroline transition metal chelates: a structure-activity analysis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 6, p. 407-413, 1973.

SILVA, S. A. da; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F. R.; MASCIOCCHI, N.; CUIN, A. Coordinative versatility of a schiff base containing thiophene: synthesis, characterization and biological activity of zinc(II) and silver(I) complexes. **Polyhedron**, v. 79, p. 170-177, 2014.

SILVERSTEIN, R. M. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SKRAUP, Z. H.; VORTMANN, G. Über derivate des dipyridyls. **Monatshefte fur Chemie**, v. 3, p. 570-602, 1882.

SLETTEN, J.; SÙRENSEN, A.; JULVE, M.; JOURNAUX, Y. A tetranuclear hydroxo-bridged copper(II) cluster of the cubane type. preparation and structural and magnetic characterization of tetrakis[(2,2'-bipyridyl)(μ-hydroxo)copper(II)] hexafluorophosphate. **Inorganic Chemistry**, v. 29, p. 5054-5058, 1990.

SMITH, G. F.; CAGLE, F. W. The improved synthesis of 5-nitro-1,10-phenanthroline. **Journal of Organic Chemistry**, v. 12, p. 781-784, 1947.

SMITH, S. R. **Understanding mass spectra**: a basic approach. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.

SOMOSKOVI, I.; WADE, M. M.; SUN, Z.; ZHANG, Y. Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, n. 53, p. 192-196, 2004.

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

SOUZA, R. A.; STEVANATO, A.; TREU FILHO, O.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; CASTELLANO, E. E.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Antimycobacterial and antitumor activities of Palladium(II) complexes containing isonicotinamide (isn): X-ray structure of trans-[$Pd(N_3)_2(isn)_2$]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 4863- 4868, 2010.

SRIRAM, D.; YOGEESWARI, P.; DEVAKARAM, R. V. Synthesis, *in vitro* and *in vivo* antimycobacterial activities of diclofenac acid hydrazones and amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 3113-3118, 2006.

STORR, T.; THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Design of targeting ligands in medicinal inorganic chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 534-544, 2006.

SULLIVAN, M.; KIA, A. F-A.; LONG, M.; WALSH, M.; KAVANAGH, K.; McCLEAN, S.; CRAVEN, B. S. Isolation and characterization of silver(I) complexes of substotuted coumarin-4-carboxylates which are effective against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Polyhedron**, v. 67, p. 549-559, 2014.

THATI, B.; NOBLE, A.; ROWAN, R.; CREAVEN, B. S.; WALSH, M.; McCANN, M.; EGAN, D.; KAVANAGH, K. Mechanism of action of coumarin and silver(I)–coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. **Toxicology in Vitro**, v. 21, p. 801-808, 2007.

THOMPSON, G. R.; CADENA, J.; PATTERSON, T. F. Overview of antifungal agents. **Clinics in Chest Medicine**, v. 30, p. 203-215, 2009.

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

UNITED STATES OF AMERICA. Division of Parasitic Diseases and Malaria. Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern. **Leishmaniasis**. 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 24 abr. 2014.

UNITED STATES OF AMERICA. Centers for Disease Control and Prevention. **Tuberculosis**. 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/tb/>. Acesso em: 24 abr. 2014.

WAŁĘSA-CHORAB, M.; PATRONIAK, V.; KUBICKI, M.; KĄDZIOŁKA, G.; PRZEPIÓRSKI, J.; MICHALKIEWICZ, B. Synthesis, structure, and photocatalytic properties of new dinuclear helical complex of silver(I) íons. **Journal of Catalysis**, v. 291, p. 1-8, 2012.

WANG, H.; MEI, P.; CHU, W-Y.; SUN, Z-Z.; HOU, Y-J. 3a,11b-dihydroxy-3a,11b-dihydro-1*H*-imidazo[4,5-*f*][1,10]phenanthroline-2(3*H*)-thione. **Acta Crystallographica Section E**, v. E68, p. o208, 2012.

WANG, J.; CAI, J-M.; WANGA, A-Y.; HUANG, B-F.; XIAO, H-P.; LI, X-H.; MORSALI, A. Synthesis, crystal structures and photoluminescence properties of two silver(I) coordination polymers with nano size channels based on 2-sulfoterephthalic acid ligand. **Inorganica Chimica Acta**, v. 394, p. 466-471, 2013.

WHEATE, N. J.; COLLINS, J. G. Multi-nuclear platinum complexes as anti-cancer drugs. **Coordination Chemitry Reviews**, v. 241, p. 133-145, 2003.

YILMAZ, V. T.; GOCMEN, E.; ICSEL, C.; CENGIZ, M.; SUSLUER, S. Y.; BUYUKGUNGOR, O. Synthesis, crystal structures, *in vitro* DNA binding, antibacterial and cytotoxic activities of new di- and polynuclear silver(I) saccharinate complexes with tertiary monophosphanes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**: Biology, v. 131, p. 31-42, 2014.

ZHANG, L.; LING, Y.; DU, M. Synthesis, crystal structures and *in vitro* anti-fungal activities of two silver(I) coordination polymers with fluconazole. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, p. 3182-3188, 2007.

ZHANG, Q-L.; HU, P.; ZHAO, Y.; FENG, G-W.; ZHANG, Y-Q.; ZHU, B-X.; TAO, Z. Anion-controlled assembly of silver-di(aminophenyl)sulfone coordination polymers: syntheses, crystalstructures, and solid state luminescence. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 210, p. 178-187, 2014.

ZHANG, Y.; MITCHISON, D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 7, n. 1, p. 6-21, 2003.