



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

FERNANDO RODRIGUES GOULART BERGAMINI

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E
ENSAIOS ANTIBACTERIANOS DE NOVOS COMPLEXOS DE Ag(I)
COM LIGANTES BIOLOGICAMENTE ATIVOS**

CAMPINAS

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

FERNANDO RODRIGUES GOULART BERGAMINI

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E
ENSAIOS ANTIBACTERIANOS DE NOVOS COMPLEXOS DE Ag(I)
COM LIGANTES BIOLOGICAMENTE ATIVOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
QUÍMICA NA ÁREA DE QUÍMICA INORGÂNICA.**

ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO PAULO CORBI

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
POR FERNANDO RODRIGUES GOULART BERGAMINI, E ORIENTADA PELO
PROF. DR. PEDRO PAULO CORBI.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2013

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

B452s Bergamini, Fernando Rodrigues Goulart (1988-).
Síntese, caracterização, modelagem molecular e
ensaio antibacterianos de novos complexos de Ag(I)
com ligantes biologicamente ativos / Fernando Rodrigues
Goulart Bergamini. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Pedro Paulo Corbi.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Complexos de prata. 2. Ligantes biologicamente
ativos. 3. Ensaio antibacterianos. I. Corbi, Pedro Paulo.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Synthesis, characterization, molecular modeling and antibacterial assays
of new Ag(I) complexes with biologically active ligands

Palavras-chave em inglês:

Silver complexes

Biologically active ligands

Antibacterial assays

Área de concentração: Química Inorgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Inorgânica

Banca examinadora:

Pedro Paulo Corbi [Orientador]

Fernando Aparecido Sígoli

Alexandre Cuin

Data de defesa: 20/02/2013

Programa de pós-graduação: Química

“O trabalho é a escada luminosa para outras esferas, onde nos reencontraremos como pássaros que, depois de se perderem uns dos outros, sob as rajadas do inverno, se reagrupam de novo ao Sol abençoado da primavera...” [Emmanuel; Ave Cristo, Psicografado por Francisco C. Xavier]

Ao meus queridos pais, Adacir Bergamini e Solange Rodrigues Goulart Bergamini, ao irmão, Felipe Rodrigues Goulart Bergamini e à minha querida avó, Marina José de Mello Goulart, pelo apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de auto-aprimoramento, permitindo-me aprender ciência e ser uma mínima parcela em seu desenvolvimento. Agradeço ao meu orientador pelo imenso apoio e estímulo durante as diversas fases de construção deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos e companheiros do LQBM e LQC: ao Marcos A. Ferreira Jr., pelo empenho e auxílio direto no desenvolvimento do trabalho, à Camilla Abbehausen e ao Raphael E. F. Paiva pelas valiosas e incontáveis discussões científicas, ao Marcos Carvalho, Sergio Januzzi, Ricardo Ferreira, Irlene Silva, Daniel Profirio, Bárbara Comunian, Suelen Sucena, Sabrina dos Santos, Stella Gonsales, e Paula Aragão pelo interesse, companheirismo e apoio.

Agradeço aos colaboradores, Danilo Antonini, Alexandre Gomes e aos professores André L. B. Formiga e Marcelo Lancellotti pela supervisão e aprendizado.

Agradeço também às minhas grandes amigas Flávia Vitor Longo, Alessandra Gomes, Ana Ravena, Paula Guissi, Laura Bissoli, Tamires Lambert, Mariana Galhardo e Juliana Magalhães pelo apoio incondicional.

Por fim mas não menos importante, agradeço à técnica Cíntia Saito, pelo grande auxílio.

Curriculum vitae

Formação acadêmica

2006-2010 Bacharelado em Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP - Brazil

Experiência acadêmica

2009-2010

Iniciação científica

Orientador Prof. Dr. Li Li Min, Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

Co-orientador Prof. Dr. Fernando Galembeck, Instituto de Química/Unicamp; Dr.^a Vera Lúcia Covolan, Università degli Studi di Pisa, Pisa, Italy.

Projeto Nanopartículas de Óxido de Ferro para Aplicações Biomédicas.

Bolsa SAE – Unicamp.

2010-2011

Iniciação científica

Orientador Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi

Co-orientador Ms. Camilla Abbehausen

Projeto Síntese e caracterização de um novo complexo de paládio(II) com 2-mercaptotiazolina.

2012

Auxiliar didático – Programa de Auxiliar didático (PED)

Disciplina Interações químicas – QI 145

Local Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas

Recentes trabalhos em congressos

2011

34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

Título	Síntese e caracterização de um complexo de Pd(II) com 2-mercaptotiazolina.
Autores	Fernando R. G. Bergamini , Camilla Abbehausen, Wilton R. Lustri, A. Magalhães, Pedro P. Corbi.
Local	Florianópolis – SC, Brasil.
2012	American Chemical Society National Meeting and Exposition
Título	Study of the inclusion of a Ag(I)-Nimesulide complex into the cavity of b-cyclodextrin.
Autores	Andre L. Thompson, Raphael E. F. Paiva, Camilla Abbehausen, Fernando R. G. Bergamini , Pedro P. Corbi.
Local	San Diego, California - USA
35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química	
Título	Estudos de síntese e caracterização de um novo complexo de Ag(I) com sulfadoxina.
Autores	Nina T. Zanvettor, Camilla Abbehausen, Fernando R. G. Bergamini , Marcelo Lancellotti, Pedro P. Corbi.
Local	Águas de Lindóia, SP.
35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química	
Título	Síntese e caracterização de um complexo dinuclear de Ag(I) com L-butionina sulfoximina.
Autores	Fernando R. G. Bergamini , Alexandre F. Gomes, Fábio C. Gozzo, André L. B. Formiga, Danilo A. Alves, Marcelo Lancellotti, Pedro P. Corbi.
Local	Águas de Lindóia, SP.

Formação Complementar

2012	Estrutura Eletrônica de Compostos de Coordenação
Carga Horária	30h
Coordenador	Prof. Dr. André Luiz Barbosa Formiga
Local	Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil

Artigos publicados

- 1. Bergamini, F.R.G.;** Abbehausen, C.; Magalhães, A.; Lustri, W.R.; Gomes, A.F.; Gozzo, F.C.; Corbi, P.P. *Synthesis, spectroscopic studies, and preliminary antibacterial assays of a palladium(II) complex with 2-mercaptothiazoline*. **J. Coord. Chem.**, 64 (2011) 3092-3101.
- 2. Carvalho, M.A.;** Souza, B. C.; Paiva, R.E.; **Bergamini, F.R.G.;** Gomes, A.F.; Gozzo, F.C.; Lustri, W.R.; Formiga, A.L.B.; Rigatto, G.; Corbi, P.P. *Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and initial antibacterial assays in vitro of a new palladium(II) complex with tryptophan*. **J. Coord. Chem.**, 65(2012) 1700-1711.
- 3. Carvalho, M. A.;** **Bergamini, F.R.G.;** Paiva, R. E. F.; Gomes, A. F.; Gozzo, F. C.; Lustri, W. R.; Formiga, A. L. B.; Shishido, S. M.; Ferreira, C. V.; Corbi, P. P. *A silver complex with tryptophan: synthesis, structural characterization, DFT studies and antibacterial and antitumor assays in vitro*. **J. Mol. Struct.**, 1031(2013) 125-131.

4. Bergamini, F. R. G. ; Ferreira Jr., M. A. ; Paiva, R. E. F. ; Gomes, A.F. ; Gozzo, F.C. ; Formiga, A. L. B. ; CORBI, F. C. A. ; MAZALI, I. O. ; Alves, D. A. ; Lancellotti, M. ; Corbi, P.P. . *A binuclear silver complex with L-buthionine sulfoximine: Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial assays.* **RSC Adv.**, 2(2012) 10372-10379.

5. Mota, V. Z. ; Carvalho, G. S. ; Corbi, P.P. ; **Bergamini, F. R. G. ;** Formiga, A. L. B. ; Diniz, R. ; Freitas, M. C. R. ; Silva, A. D. ; Cuin, A. *Crystal structure and theoretical studies of the keto-enol isomerism of N,N'-bis(salicylidene)-o-phenylenediamine(salophen).* **Spectrochim. Acta A**, 99(2012) 110-115.

RESUMO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, MODELAGEM MOLECULAR E ENSAIOS ANTIBACTERIANOS DE NOVOS COMPLEXOS DE Ag(I) COM LIGANTES BIOLOGICAMENTE ATIVOS. Neste trabalho, são descritas a síntese e a caracterização de três complexos inéditos de prata com os ligantes L-butionina sulfoximina (BSO), ácido 2-tiazolidina carboxílico (2-TC) e ácido 4-tiazolidina carboxílico (4-TC). O complexo de prata com BSO foi caracterizado por um conjunto de análises químicas e espectroscópicas, a saber: análise elementar, análise térmica, espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectroscopia Raman, espectroscopia de ressonância magnética no estado sólido de ^{13}C (^{13}C -RMN), estudos por DFT e ensaios biológicos. Os complexos de prata(I) com 2-TC e 4-TC, por sua vez, foram caracterizados por análise elementar, análise térmica, espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância magnética no estado sólido de ^{13}C -RMN e ^{15}N -RMN, estudos por DFT e ensaios biológicos. O complexo de prata com BSO, $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, apresenta uma composição 2:1 metal/ligante, sendo que a coordenação do ligante a um dos átomos de prata ocorre através dos grupamentos amino e carboxilato, enquanto que a coordenação ao segundo átomo de prata ocorre através do nitrogênio da sulfoximina. Os complexos de prata com 2-TC e 4-TC também apresentam proporção 2:1 metal/ligante, com um átomo de prata coordenado através do nitrogênio e o segundo átomo de prata coordenado através do carboxilato. As análises biológicas revelaram que os complexos $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ são efetivos sobre cepas patogênicas Gram-positivas de *Staphylococcus aureus*, e cepas Gram-negativas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, MOLECULAR MODELING AND ANTIBACTERIAL ASSAYS OF NEW Ag(I) COMPLEXES WITH BIOLOGICALLY ACTIVE LIGANDS. This work deals with the synthesis and characterization of three new silver(I) complexes with the ligands L-buthionine sulfoximine (BSO), thiazolidine-2 carboxylic acid (2-TC) and thiazolidine-4 carboxylic acid (4-TC). The silver complex with BSO was characterized by elemental and thermal analyses, infrared and Raman spectroscopies, ^{13}C nuclear magnetic resonance in the solid-state (^{13}C -NMR), DFT studies and biological assays. The silver(I) complexes with 2-TC and 4-TC were characterized by elemental and thermal analyses, infrared spectroscopy, ^{13}C and ^{15}N nuclear magnetic resonance in the solid-state, DFT studies and biological assays. The silver-BSO complex, $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, presents a 2:1 metal/ligand ratio. One of the silver(I) ion was shown to be coordinated through the amine nitrogen atom and the oxygen of carboxylate, while the second ion was shown to be coordinated through the nitrogen atom of the sulfoximine group. The silver(I) complexes with 2-TC and 4-TC also presented a 2:1 metal/ligand ratio, and are coordinated by the nitrogen and the oxygen atom of the carboxylate group. The biological assays revealed that the $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ and $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ complexes are active against Gram-positive pathogenic strains of *Staphylococcus aureus* and Gram-negative pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

SUMÁRIO

Abreviaturas, Acrônimos e Símbolos.....	xxiii
Lista de Tabelas.....	xvii
Lista de Figuras.....	xxix
1. Introdução.....	1
1.1. Metais em medicina: Aspectos gerais.....	1
1.2. Infecções bacterianas em queimaduras.....	2
1.3. A prata e seus compostos: uma alternativa no tratamento de doenças infecciosas.....	5
1.3.1. Complexos de prata e seus possíveis mecanismos de ação frente a cepas bacterianas.....	9
1.4. Os ligantes.....	11
1.4.1. L-butionina sulfoximina.....	11
1.4.2. Ácido 2-tiazolidina carboxílico e ácido 4-tiazolidina carboxílico.....	15
2. Objetivos.....	21
3. Procedimento experimental.....	23
3.1. Síntese do complexo de prata com BSO: $[Ag_2(BSO)]$	23
3.2. Síntese dos sais de potássio de 2-TC e 4-TC: K(2-TC) e K(4-TC).....	24

3.3.	Síntese dos complexos de prata com 2-TC e 4-TC: [Ag ₂ (2-TC)] e [Ag ₂ (4-TC)].....	24
3.4.	Materiais e métodos.....	25
3.4.1.	Análise elementar.....	25
3.4.2.	Análise termogravimétrica.....	25
3.4.3.	Espectroscopia no infravermelho.....	26
3.4.4.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	26
3.4.4.1.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear em solução.....	26
3.4.4.2.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear no estado sólido.....	27
3.4.5.	Espectroscopia Raman.....	27
3.4.6.	Espectrometria de massas.....	28
3.4.7.	Modelagem molecular.....	29
3.4.8.	Ensaaios antibacterianos.....	30
4.	Caracterização espectrométrica e espectroscópica.....	33
4.1.	Resultados e discussão.....	33
4.1.1.	Complexo [Ag ₂ (BSO)].....	33
4.1.1.1.	Análise elementar.....	33
4.1.1.2.	Análise térmica.....	33
4.1.1.3.	Espectroscopia no infravermelho.....	35

4.1.1.4.	Atribuição dos sinais de ^{13}C a partir das análises de RMN em solução.....	38
4.1.1.5.	Espectroscopia de ^{13}C -RMN no estado sólido.....	41
4.1.1.6.	Medidas por espectroscopia Raman.....	44
4.1.1.7.	Espectrometria de massas.....	45
4.1.2.	Complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$.....	48
4.1.2.1.	Análise elementar.....	48
4.1.2.2.	Análise térmica.....	48
4.1.2.3.	Espectroscopia no infravermelho.....	51
4.1.2.4.	Espectroscopia de ^{13}C -RMN no estado sólido.....	54
4.1.2.5.	Espectroscopia de ^{15}N -RMN no estado sólido.....	58
5.	Modelagem molecular.....	61
5.1.	Estrutura otimizada do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$	61
5.2.	Estudo preliminar dos possíveis modos de coordenação de $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$	65
6.	Ensaio de atividade antibacteriana.....	73
6.1.	Complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$	73
6.2.	Complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$	74

CONCLUSÕES.....	77
PERSPECTIVAS.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
A. Figuras suplementares.....	97
B. Tabelas suplementares.....	100

ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SÍMBOLOS

aa	Aminoácido
[Ag₂(BSO)]	Complexo de Ag(I) com L-butionina sulfoximina
Ag-NAC	Complexo de Ag(I) com N-acetil-cisteína
Ag-NMS	Complexo de Ag(I) com nimesulida
[Ag₂(2-TC)]	Complexo de Ag(I) com ácido-2-tiazolidina carboxílico
[Ag₂(4-TC)]	Complexo de Ag(I) com ácido-4-tiazolidina carboxílico
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
ATCC	<i>American type culture collection</i>
BEC	<i>Brazilian epidemic clone</i>
BSO	L-butionina sulfoximina
B3LYP	<i>Becke 3-parameter Lee Young Parr</i>
CCD	Dispositivo de carga-acoplada, <i>Charge-coupled device</i>
CLSI	Instituto de Padrões Laboratoriais e Clínicos, <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
Cisplatina	<i>cis</i> -diaminodicloroplatina(II)
¹³C-RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono
Cys	Cisteína

CP/MAS	Polarização cruzada, desacoplamento de próton e rotação no ângulo mágico, <i>Cross-Coupling/ Magic-angle spinning</i>
DEPT	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DFT	Teoria do funcional de densidade, <i>Density functional theory</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>En</i>	Energia
ESI-QTOF-MS	Espectrometria de massas utilizando ionização por electrospray e separação de íons por tempo de voo com um quadrupolo
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> , EUA
GCS	γ -glutamilcisteína sintetase
γ-Glu	γ -Glutamil
γ-Glu-aa	transportador γ -Glutamil aminoácido
GSH	Glutationa, L- γ -glutamil-L-cisteína-glicina
GSHS	Glutationa sintetase
GSSG	Glutationas em ponte dissulfeto
[^1H-^{13}C]-HMBC	Correlação heteronuclear a múltiplas ligações carbono-hidrogênio
[^1H-^{15}N]-HMBC	Correlação heteronuclear a múltiplas ligações nitrogênio-hidrogênio
[^1H-^{13}C]-HSQC	Correlação heteronuclear a uma ligação carbono-hidrogênio

¹H-RMN	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
IV	Infravermelho
K(2-TC)	Sal de potássio derivado do ácido-2-tiazolidina carboxílico
K(4-TC)	Sal de potássio derivado do ácido-4-tiazolidina carboxílico
MP	6-mercaptopurina
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> metilicina-resistente
m/z	Razão massa/carga
¹⁵N-RMN	Ressonância magnética de ¹⁵ N- ¹ H}
31NM	Cepa 31, Não mucoide
LANL2DZ	<i>Los Alamos National Laboratory 2-Double Zeta</i>
L-Hacmet	N-acetil-L-metionina
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PCM	Modelo de polarização contínua, <i>polarizable continuum model</i>
PES	Superfície de potencial, <i>Potential energy surface</i>
Rib1	Cepa proveniente de Ribeirão Preto 1
RLs	Radicais livres
SSD	Sulfadiazina de prata (<i>Silver sulfadiazine</i>)
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
2-TC	Ácido tiazolidina-2-carboxílico
4-TC	Ácido tiazolidina-4-carboxílico

TMS	Tetrametilsilano
u.a.	Unidade atômica
UFC	Unidades formadoras de colônia
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> vancomicina-resistente
v_{sim}	Modo de estiramento vibracional simétrico
v_{as}	Modo de estiramento vibracional assimétrico
δ	Modo de deformação vibracional

LISTA DE TABELAS

1.	Atribuição de ^{13}C -RMN para BSO e do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ com os respectivos $\Delta\delta$	43
2.	Concentração inibitória mínima do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. Para as cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas foram utilizados, respectivamente, cloranfenicol e vancomicina como controle positivo.....	74
3.	Concentração inibitória mínima dos complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$. Para as cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas foram utilizados, respectivamente, cloranfenicol e vancomicina como controles positivos.....	75
B1.	Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da BSO e do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$	100
B2.	Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da 2-TC e do possíveis modos de coordenação do complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$	101
B3.	Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da 4-TC e do possível modo de coordenação do complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$	103

LISTA DE FIGURAS

1.	Estrutura da sulfadiazina de prata.....	7
2.	Interação da prata com células bacterianas. Adaptado da referência 59.	10
3.	Estrutura da BSO com os átomos de carbono e hidrogênio numerados.	11
4.	Estrutura da GSH.	12
5.	Etapas referentes à síntese de GSH	12
6.	Bioquímica geral da GSH. Adaptado da referência [83]. Alguns mecanismos moleculares onde GSH desempenha um papel regulatório chave dentro da mitocôndria, núcleo e retículo endoplasmático. As abreviações aa, GSSG e RLs correspondem, respectivamente a, aminoácidos, glutations em ponte de dissulfeto e radicais livres. Os números referem-se a (1) γ -Glutamil transpeptidase, (2) transportador γ -Glutamil aminoácido (γ -Glu-aa), (3) dipeptidases, (4) transportadores de cisteína/cistina, (5) γ -Glu-ciclotransferase, (6) 5-oxoprolinase, (7) GCS, (8) GSHS, (9) Glutathione peroxidase, (10) glutathionadissulfeto redutases, (11) transhidrogenases, (12) glutathione-S-transferases.....	14

7.	Estruturas esquemáticas do (A) ácido 2-tiazolidina carboxílico e do (B) ácido 4-tiazolidina carboxílico.....	15
8.	Análise termogravimétrica do complexo $[Ag_2(BSO)]$	34
9.	Espectro no infravermelho de $[Ag_2(BSO)]$ e BSO.....	36
10.	Ampliação do espectro no infravermelho da região espectral onde se pode encontrar as bandas referentes ao grupamento sulfoximina ($O=S=N$).....	37
11.	Espectro de $[^1H-^{13}C]$ HSQC RMN da BSO em D_2O	40
12.	Espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido de $[Ag_2(BSO)]$ e BSO.....	42
13.	Espectro Raman do complexo $[Ag_2(BSO)]$	44
14.	Espectros de massas do complexo $[Ag_2(BSO)]$. (A) Espectro de massas ESI(+)-QTOF de 150 a 800 m/z . O termo BSO-H se refere ao ligante BSO menos um hidrogênio ($C_8H_{17}N_2O_3S$, 221,0960 Da). (B) Comparação entre padrão isotópico experimental e teórico do íon $[Ag_2BSO-H]^+$ de 434,90 m/z . O erro em massa foi de -2.0 ppm para $[Ag_2BSO-H]^+$ ($[C_8H_{17}Ag_2N_2O_3S]^+$, calc. m/z 434,9062, exp. m/z 434,9053), considerando um íon monoisotópico da composição.....	46
15.	Espectro de massas de fragmentação iônica (dissociação induzida por colisão) para (A) ligante BSO monoprotonado,	

[BSO+H] ⁺ de 223,11 <i>m/z</i> . Energia de colisão da célula <i>Trap</i> foi 14 eV. (B) [AgBSO] ⁺ de 329,00 <i>m/z</i> . Energia de colisão da célula <i>Trap</i> foi 14 eV. (C) [Ag ₂ BSO–H] ⁺ de 436,91 <i>m/z</i> . Energia de colisão da célula <i>Trap</i> foi 20 eV.	47
16. Análise termogravimétrica do complexo [Ag ₂ (2-TC)].	49
17. Análise termogravimétrica do complexo [Ag ₂ (4-TC)].....	50
18. Espectros no infravermelho de (A) 2-TC, (B) [K(2-TC)] e (D) [Ag ₂ (2-TC)].....	52
19. Espectros no infravermelho de (A) 4-TC, (B) [K(4-TC)] e (D) [Ag ₂ (4-TC)].	53
20. Espectros ¹³ C- RMN no estado sólido de K(2-TC) e [Ag ₂ (2-TC)]	55
21. Espectros ¹³ C- RMN no estado sólido de K(4-TC) e [Ag ₂ (4-TC)]	57
22. Espectro de ¹⁵ N-RMN no estado sólido de (A) 2-TC e (B) [Ag ₂ (2-TC)].	59
23. Proposição dos modos de coordenação para o complexo [Ag ₂ (2-TC)].	59
24. Espectro de ¹⁵ N-RMN no estado sólido de (A) 4-TC e (B) [Ag ₂ (4-TC)].....	60

25.	Proposição dos modos de coordenação para o complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$	60
26.	Estrutura otimizada do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ obtida através de B3LYP/DFT utilizando LANL2DZ(Ag) e 6-31(d). O modelo de PCM foi utilizado de modo a similar o efeito da água da otimização geométrica.....	63
27.	Espectros no infravermelho simulados de (A) BSO e do (C) complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. Os espectros experimentais de (B) BSO e do (D) complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ são apresentados para comparação.....	64
28.	Possíveis modos de coordenação dentro do sólido, simulados para o complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$. A insaturação do carboxilato foi omitida.....	67
29.	Possíveis modos de coordenação dentro do sólido, simulados para o complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$. A insaturação do carboxilato foi omitida.....	68
30.	Estruturas otimizadas de 2-TC e dos possíveis modos de coordenação (A) e (B)	70
31.	Estruturas otimizadas de 2-TC e do possível modo de coordenação (A)	71

A1.	Espectros de (A) ^1H -RMN e (B) ^{13}C -RMN do ligante BSO em D_2O	97
A2.	Espectros de $[^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HMBC RMN e DEPT 135 RMN (caixa) de BSO em D_2O	98
A3.	Espectros no infravermelho simulados para $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ e BSO....	99

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1. Metais em medicina: Aspectos gerais

A utilização de metais para fins terapêuticos é descrita há longo tempo na história da humanidade [1]. A aquisição de conhecimento referente às suas propriedades tóxicas e de supressão de determinados processos biológicos, entretanto, parece ter sido o fator determinante para o uso de compostos metálicos no tratamento de doenças [2].

Há aproximadamente 5000 anos, árabes e chineses usavam o zinco para promover a cura de ferimentos enquanto que os egípcios utilizavam cobre para esterilizar água. Na era do Renascimento, os europeus utilizavam cloreto de mercúrio como diurético e descobriram o valor nutricional do ferro [1]. Outros exemplos históricos são formulações contendo Au(I) como revigorantes e para o tratamento de tuberculose, seguido do uso de compostos de antimônio, um semi-metal, contra Leishmaniose e o uso de nitrato de prata sólido ou em solução no tratamento de infecções decorrentes de queimaduras e abscessos [1, 3].

Atualmente, a diversidade de íons metálicos abrange uma vasta gama de aplicações. Complexos de ouro(I), por exemplo, são utilizados no tratamento de artrite, com destaque para a auranofina [4], complexos de prata(I) são usados no tratamento de infecções bacterianas [5], com destaque para a sulfadiazina de prata, e complexos contendo platina(II) e platina(IV), como o

cis-diaminodicloroplatina(II) (cisplatina), no tratamento do câncer [6]. Além disso, novos complexos metálicos de paládio(II), rutênio(II) e ouro(I) têm sido pesquisados e descritos como potenciais agentes antitumorais [7]. Outras aplicações incluem complexos de ^{99m}Tc e gadolínio(III) como agentes de contraste, compostos de vanádio(V) e vanádio(IV) para o tratamento do diabetes, complexos de ferro como anti-hipertensivos [1] e complexos à base de lítio em psiquiatria com destaque para o tratamento de distúrbios maníaco-depressivos [8].

A Química Inorgânica Medicinal, a qual pode ser considerada uma ciência multidisciplinar que relaciona a química inorgânica, a bioquímica e a medicina, trata do desenvolvimento e da aplicação de complexos metálicos no tratamento de inúmeras enfermidades.

Neste contexto, um número crescente de compostos inorgânicos tem sido avaliado com relação aos seus efeitos farmacológicos na esperança de se encontrar a cura para uma grande variedade de doenças [2].

1.2. Infecções bacterianas em queimaduras

Ferimentos de pele frequentemente são ambientes propícios para a colonização de microrganismos [9, 10]. No sentido de se aumentar a oportunidade de cura do ferimento, é importante criar condições desfavoráveis para os microrganismos e, portanto, favoráveis aos mecanismos de reparo do hospedeiro.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), doenças infecciosas e parasitárias são responsáveis pela maioria dos casos de enfermidades no mundo [11].

A introdução clínica das sulfonamidas em 1930, a descoberta da penicilina em 1929 e sua utilização em larga escala na década posterior [12,13] se caracterizaram como um marco no tratamento de infecções bacterianas, o que impulsionou a busca e o desenvolvimento de novos fármacos, muitos deles, semi-sintéticos, derivados destes primeiros [14,15].

Apesar do grande desenvolvimento, nas últimas décadas houve um grande declínio no número de antibióticos aprovados anualmente pela FDA (Food and Drug Administration, EUA) e entre os anos de 1996 a 2006, por exemplo, somente 22 fármacos antibacterianos foram lançados no mercado para aplicação clínica [16].

Uma das mais sérias complicações em queimaduras, por exemplo, são as possíveis infecções que podem aparecer após a ocorrência do ferimento [17-19].

A pele se caracteriza como uma barreira natural à invasão microbiana. Desta forma, a infecção bacteriana que ocorre nos tecidos lesionados por queimaduras pode gerar infecções locais ou sistêmicas dependendo do tamanho da queimadura [20, 21].

Em queimaduras severas, nas quais o paciente apresenta uma percentagem igual ou maior a 40 % em área do corpo queimado, a maior parte das mortes está relacionada ao surgimento de infecções e/ou a ferimentos gerados em função da inalação de fumaça [22 - 27].

De maneira geral, os organismos patogênicos relacionados às infecções podem ter origem endógena (flora cutânea, gastrointestinal e respiratória do próprio paciente) ou exógena (ambiente e cuidado com a saúde pessoal) [17].

As bactérias Gram-positivas tipicamente são as primeiras a colonizar o ferimento causado pela queimadura (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) por serem provenientes da flora cutânea [28].

Estas bactérias, por sua vez, são rapidamente substituídas por bactérias Gram-negativas, sendo as cepas *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) originárias da flora gastrointestinal do paciente a fonte mais comum de causa de infecções em pacientes queimados [28]. Estes ferimentos, por sua vez, podem ser colonizados por organismos resistentes, dificultando o tratamento.

Atualmente, há cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) metilicina-resistente (MRSA), *S. aureus* vancomicina-resistente (VRSA), *Escherichia coli* (*E. coli*) e *P. aeruginosa* multirresistentes, que não respondem ao tratamento com os mais diversos antibióticos desenvolvidos, sendo a causa de morte de muitos pacientes [29,30].

As infecções geradas por bactérias Gram-negativas, especialmente cepas bacterianas de *P. aeruginosa* têm sido reportadas como as maiores causas de mortalidade em pacientes com ferimentos gerados por queimaduras [31].

A resistência intrínseca ou adquirida de algumas cepas bacterianas, sendo esta última muitas vezes decorrente do uso indiscriminado de antibióticos, faz com que seja necessário o desenvolvimento de novos fármacos [15]. Uma das estratégias para superar a resistência seria, então, a coordenação de fármacos ou moléculas de atividade biológica conhecida a íons metálicos, com o intuito de se obter um efeito sinérgico entre o fármaco e a capacidade antibacteriana do íon metálico [32].

Por apresentarem uma gama de características desejáveis como, por exemplo, baixa toxicidade e indução de resistência, complexos de prata têm

sido estudados e mostrados como uma possível alternativa frente à multirresistência bacteriana [33,34].

1.3. A prata e seus compostos: uma alternativa no tratamento de doenças infecciosas

A prata é um metal de configuração eletrônica $[\text{Kr}]4d^{10}5s^1$. Quando na forma sais ou complexos, possui mais comumente o número de oxidação +1, Ag(I) , o qual possui camada eletrônica fechada. Esta configuração permite que o centro metálico, no caso dos complexos, adote diversos números de coordenação (1 a 8), sem nenhuma preferência energética relevante para qualquer geometria em particular [35,36].

No que se relaciona às aplicações biológicas, compostos à base de prata têm sido considerados por séculos no tratamento de doenças infecciosas [37]. O nitrato de prata modificado, preparado a partir da fusão do nitrato de prata com ácido clorídrico, cloreto de sódio ou nitrato de potássio, na forma de um sólido cristalino branco era moldado na forma de lápis ou cones, contendo 94,5 % de AgNO_3 [37]. Este composto era aplicado topicamente depois de mergulhados em água em procedimentos cirúrgicos. Há relatos da utilização deste composto desde o século XVII como agente contra infecções e no século XIX, os lápis de AgNO_3 fazia parte do equipamento padrão de todo cirurgião.

Soluções iônicas de prata são altamente bactericidas, com nenhuma resistência reportada, induzindo também o decréscimo da inflamação na superfície do ferimento [38]. Apesar de eficiente sobre vários microrganismos, a utilização de sais de prata em altas concentrações para o tratamento de infecções bacterianas leva a efeitos adversos locais e sistêmicos. A liberação rápida e não controlada do íon metálico, e sua posterior acumulação em

órgãos como o fígado e rins, são provavelmente as maiores causas de intoxicação causada por prata [39].

Os íons nitrato presentes na solução são também tóxicos para o organismo [38]. A redução de nitrato a nitrito parece ser um grande problema por causar danos celulares induzidos por oxidação. Estes efeitos são provavelmente o motivo da diminuição na razão de crescimento de epitélio nos ferimentos. Vale ressaltar também que estas soluções contendo íons Ag(I) são muitas vezes instáveis quando expostas à luz, o que torna sua utilização pouco prática [38].

Como já relatado, a introdução clínica das sulfonamidas na década de 30 do século passado e a descoberta ocasional da penicilina por Alexander Fleming podem ser considerados marcos no tratamento de doenças infecciosas. Estas descobertas levaram ao desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos orgânicos sintéticos e semissintéticos [12-14]. Como resultado, a aplicação clínica de compostos contendo prata foi drasticamente reduzida [37].

O nitrato de prata teve sua aplicação clínica reconsiderada na década de 1960, quando Moyer e colaboradores propuseram que uma solução aquosa contendo 0,5% de nitrato de prata poderia eficientemente ser usada em queimaduras, inibindo a proliferação de cepas de *S. aureus*. De acordo com os autores, o uso de nitrato de prata nessa concentração não interferiria na proliferação da epiderme [3].

Este ressurgimento foi acompanhado de perto pela síntese de um novo fármaco antibacteriano contendo prata: a sulfadiazina de prata (*Silver sulfadiazine*, $[\text{Ag}(\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S})]_n$, SSD)[5,40].

A SSD, um fármaco apresentado em 1968, continua a ser utilizado até os

dias atuais em medicina, apresentando considerável atividade antibacteriana sobre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com reduzidos efeitos adversos, se comparado ao nitrato de prata [5,40].

Apesar do efeito antibacteriano da sulfadiazina livre, estudos utilizando prata e SSD radioativas (^{110}Ag e $[\text{Ag}(\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2^{35}\text{S})]_n$, respectivamente) indicam que a atividade da sulfadiazina de prata se dá exclusivamente em função do íon Ag(I) , uma vez que somente tais íons foram encontrados no interior das células bacterianas mortas após tratamento com SSD [40].

A sulfadiazina proporciona a liberação lenta e controlada do íon metálico, o que evita a depleção rápida e extensiva de íons cloreto que acontece nos casos em que soluções de AgNO_3 são utilizadas. Desta forma, o consumo sistêmico de eletrólitos é evitado [5, 33, 40-42]. A estrutura da SSD é apresentada na Figura 1.

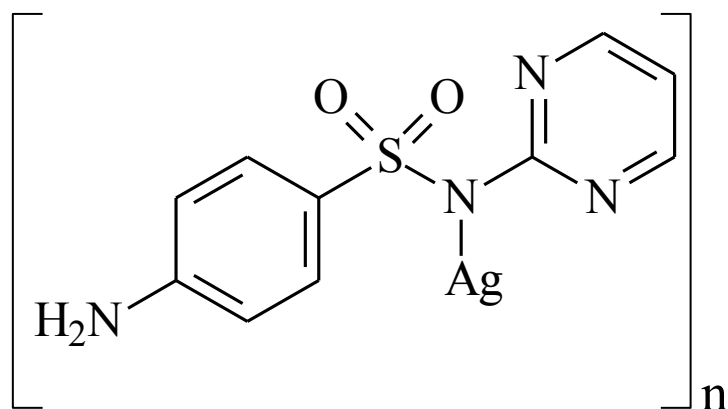


Fig. 1 Estrutura da sulfadiazina de prata(I).

Os resultados significativos apresentados pela sulfadiazina de prata(I) no tratamento de queimaduras estimularam a pesquisa na procura por novos complexos de prata, uma vez que materiais antissépticos contendo este metal possuem menor propensão a induzir resistência bacteriana, quando comparados aos antibióticos comuns [33].

A resistência adquirida ou intrínseca de certas cepas bacterianas frente aos antibióticos comerciais sustenta a busca contínua por novos agentes antibacterianos na tentativa de superar tal multirresistência [15,43-45].

Uma das possíveis abordagens contra a multirresistência é a combinação de compostos bioativos a íons metálicos os quais apresentem atividade antibacteriana [32,46]. A coordenação de moléculas que apresentam ação antibacteriana ou de inibição enzimática a íons metálicos como prata e ouro também é desejável devido à possibilidade de se atuar em diferentes fases do crescimento bacteriano [47,48].

Além disso, a prata(I) também apresenta toxicidade mais baixa frente a outros metais pesados utilizados para a mesma aplicação como, por exemplo, o ouro(I) e a platina(II) [33,34,49].

Dois complexos de Ag(I) derivados de N-acetil-L-metionina (L-Hacmet) e N-acetil-DL-metionina (DL-Hacmet), $\{[Ag(L-acmet)]\}_n$ e $\{[Ag_2(D-acmet)(L-acmet)]\}_n$, foram reportados recentemente na literatura, tendo apresentado amplo espectro de ação antimicrobiana sobre cepas bacterianas Gram-negativas de *E. coli* e *P. aeruginosa*, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) de $15,7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, e leveduras como *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* [50].

Cuin e colaboradores recentemente reportaram a síntese de um complexo de Ag(I) com 6-mercaptopurina (MP) [51]. O complexo Ag(I)-MP apresentou boa atividade sobre *Mycobacterium tuberculosis*, bactéria responsável pela tuberculose.

Em nosso grupo de pesquisas, foram sintetizados e caracterizados dois novos complexos de Ag(I) com N-acetil-cisteína (Ag-NAC) e nimesulida (Ag-NMS). A N-acetil-cisteína é um aminoácido muito utilizado na clínica

médica como mucolítico no tratamento de gripes e pneumonias, enquanto que a nimesulida é um anti-inflamatório não esteroideal utilizado no tratamento de inflamações do trato respiratório superior [52,53]. No caso do complexo Ag-NAC, a coordenação do ligante ocorreu através do átomo de enxofre, ao passo que no complexo Ag-NMS a coordenação ocorreu através dos átomos de nitrogênio e do oxigênio do grupo sulfonamida. Tais compostos foram testados como agentes antibacterianos utilizando o método de difusão em disco, tendo apresentado atividade sobre cepas de *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*.

1.3.1. Complexos de prata e seus possíveis mecanismos de ação frente a cepas bacterianas

Apesar do pouco conhecimento dos mecanismos pelo qual a ação antibacteriana de Ag(I) ocorre, é possível descrever algumas propostas descritas na literatura. Os íons Ag(I) podem interagir eletrostaticamente com a parede bacteriana devido à presença de peptidoglicanos negativamente carregados [54 - 58]. Esta interação leva à perda da rigidez e da forma da bactéria, levando à lise celular, conforme descrito por Jung e colaboradores [59]. Na Figura 2, é apresentado este tipo de interação.

Os íons Ag(I) podem também, atravessar a membrana citoplasmática, e interagir com organelas celulares [60,61].

No que concerne às proteínas e enzimas celulares bacterianas, a prata é capaz de se ligar a grupos tiol (-SH) em enzimas levando à sua inativação e eventualmente à morte bacteriana [57-62].

O íon Ag(I) também é conhecido por inibir enzimas oxidativas tais quais álcool desidrogenase de leveduras [63], interferindo com a replicação de ácido desoxirribonucleico (DNA) [64].

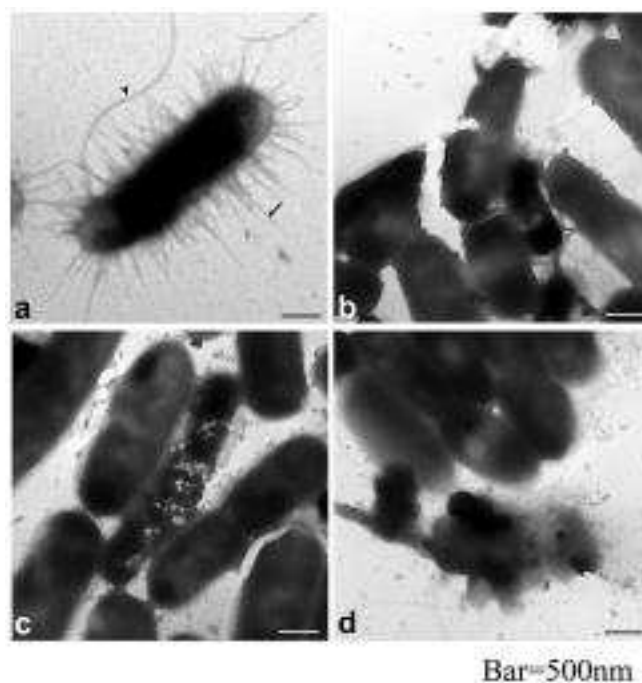


Fig.2. Morfologia externa de *E. coli* observada por microscopia eletrônica de transmissão. (a) Bactéria não tratada. (b, c e d) Bactéria tratada com solução de prata (0,2 ppm). Adaptado da referência 59.

Eles podem se ligar ao DNA desestabilizando a estrutura helicoidal por quebra das ligações de hidrogênio entre nitrogênios adjacentes de bases púricas e pirimidínicas, desencadeando um processo de apoptose celular [57,65,66].

1.4. Os ligantes

Neste projeto foram escolhidos três ligantes para coordenação com íons Ag(I). Estes ligantes são a L-butionina sulfoximina, o ácido tiazolidina-2-carboxílico e o ácido tiazolidina-4-carboxílico.

1.4.1. L-Butionina sulfoximina

A L-butionina sulfoximina (BSO, $C_8H_{18}N_2O_3S$, M.M. 222,31 g.mol⁻¹, Figura 3), é um inibidor potente e específico da enzima γ -glutamylcisteína sintetase (GCS), a qual, desta forma, reduz o nível de glutathiona em células eucarióticas e grande parte das células procarióticas [67-70].

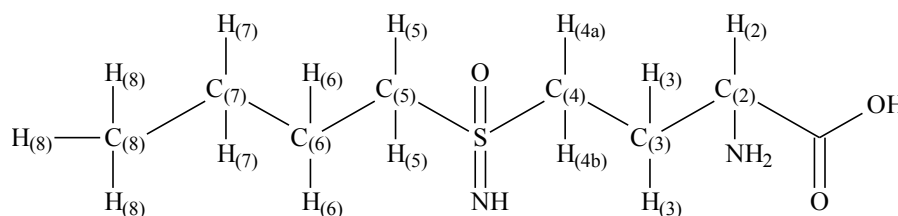


Fig. 3. Estrutura da BSO com os átomos de carbono e hidrogênio numerados

A glutathiona (L- γ -glutamyl-L-cisteína-glicina, GSH, Figura 4) é um peptídeo de baixa massa molar de maior abundância nas células eucarióticas é um dos mais importantes antioxidantes intracelulares com múltiplas funções biológicas, desempenhando um importante papel na desintoxicação gerada por vários compostos de origem exógena (xenobióticos) ou endógena [71,72-75]. Ela é capaz de capturar radicais livres, tais quais, radicais lipídicos, peróxil, peroxinitritos, peróxido de hidrogênio, tanto de maneira direta como indireta, através de reações enzimáticas, protegendo deste modo, as proteínas celulares e membranas contra a oxidação [76,77].

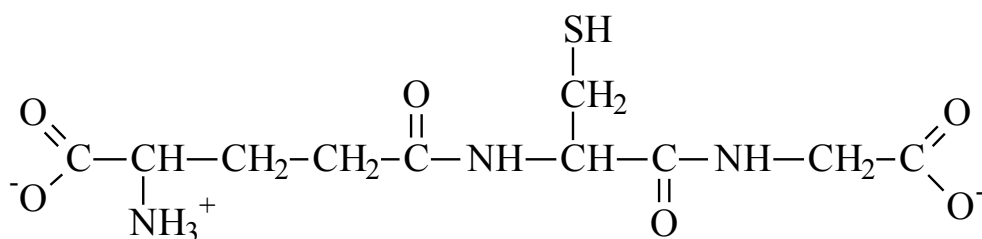


Fig. 4. Estrutura da GSH

A GSH desempenha, deste modo, um grande papel na regulação do ciclo celular, sendo também um reservatório fisiológico de cisteína. Além disto, ela modula as funções dos linfócitos e as respostas imunológicas e participa de mecanismos mitocondriais que se relacionam à morte celular [78-82].

Sendo constituída de três resíduos aminoácidos, sua síntese é realizada no citossol através de duas etapas dependentes de ATP (Figura 5) [83,84].

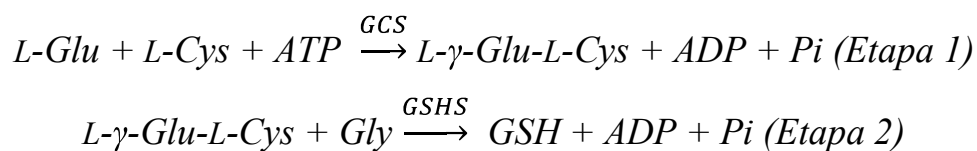


Fig. 5. Etapas referentes à síntese de GSH.

O primeiro passo e também o passo limitante para a síntese de GSH refere-se à ligação amídica da cisteína (Cys) ao carboxilato do grupo γ -glutamil (γ -Glu), o qual é catalisado pela enzima GCS [83-85]. O segundo passo, é a ligação peptídica da glicina através da ação da enzima glutathione sintetase (GSHS). Um esquema simplificado do metabolismo e catabolismo da GSH é apresentado na Figura 6 [84].

A GSH apresenta, entretanto, o aspecto negativo de estar diretamente relacionada ao desenvolvimento de resistência por vários tipos de tumores frente a fármacos anticancer [86-90].

De modo a superar esta resistência, a BSO é usada como adjuvante no tratamento com metalofármacos como, por exemplo, a cisplatina [91-93].

Em células procariotas, a GSH parece também possuir um importante papel na proteção celular contra xenobióticos [94], sendo encontrada principalmente em bactérias Gram-negativas como, por exemplo, *E. coli* [95,96].

Algumas bactérias Gram-positivas, entretanto, possuem também a capacidade de sintetizar GSH ou consumi-la a partir do meio de cultura [97,98].

Apesar de a GSH também ser sintetizada através de duas reações sequenciais, as enzimas GCS e GSHS apresentam diferenças estruturais das enzimas encontradas em células eucariotas [99,100]. Possivelmente em razão destas diferenças, a inibição da GCS de *E. coli* pela BSO é menos pronunciada e mais vagarosa do que observado para GCS provenientes de ratos ou de humanos [101].

Além de suas propriedades biológicas, a BSO é um ligante polifuncional devido à presença de dois nitrogênios básicos, o oxigênio do grupo sulfoximina e a função ácido carboxílico em sua estrutura.

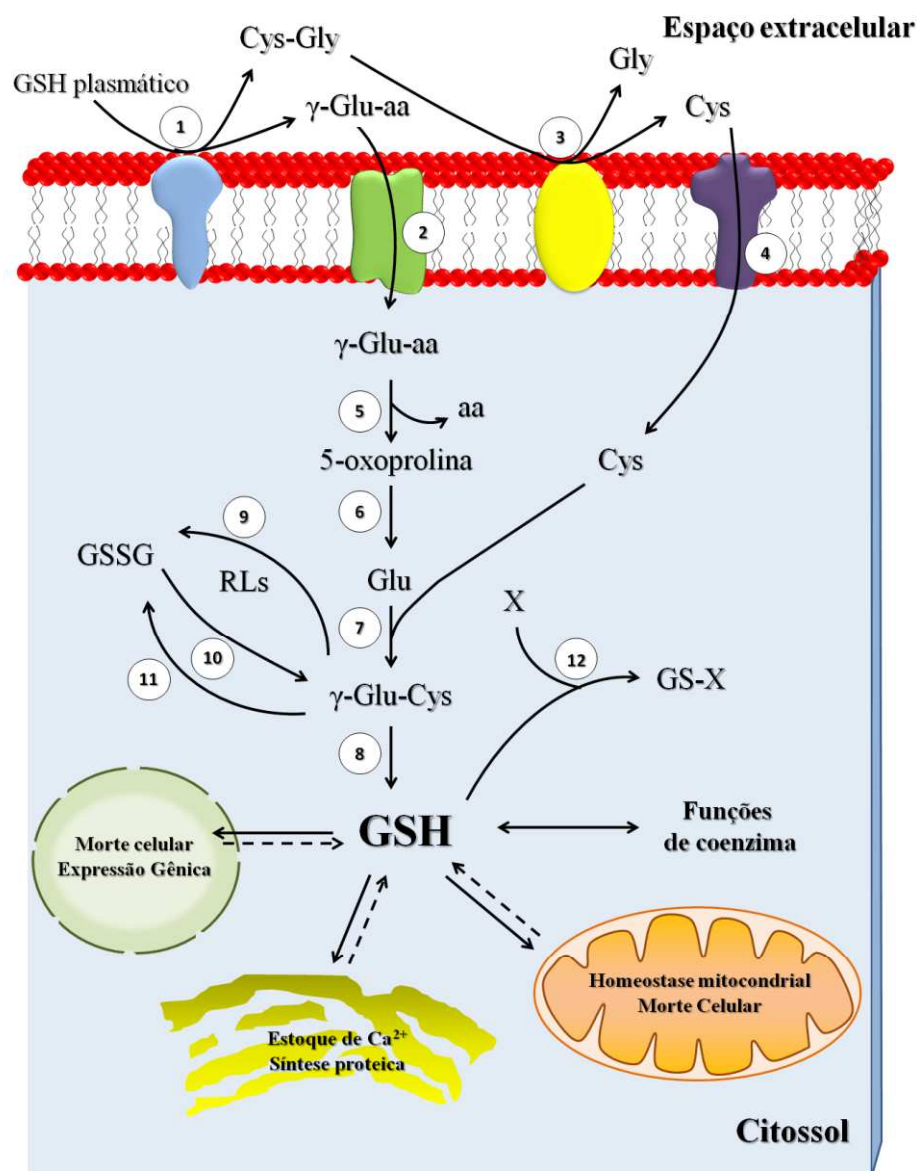


Fig. 6. – Bioquímica geral da GSH. Adaptado da referência [83]. Alguns mecanismos moleculares onde GSH desempenha um papel regulatório chave dentro da mitocôndria, núcleo e retículo endoplasmático. As abreviações aa, GSSG e RLs correspondem, respectivamente a, aminoácidos, glutathionas em ponte de dissulfeto e radicais livres. Os números referem-se a (1) γ -Glutamyl transpeptidase, (2) transportador γ -Glutamyl aminoácido (γ -Glu-aa), (3) dipeptidases, (4) transportadores de cisteína/cistina, (5) γ -Glu-ciclotransferase, (6) 5-oxoprolinase, (7) GCS, (8) GSXS, (9) Glutathione peroxidase, (10) glutathionadissulfeto redutases, (11) transhidrogenases, (12) glutathione-S-transferases.

1.4.2. Ácido 2-tiazolidina carboxílico e ácido 4-tiazolidina carboxílico

As tiazolidinas, os tiazóis e os seus derivados atuam como eletrodoadores frente a íons metálicos, coordenando-se a eles através dos átomos de nitrogênio e/ou enxofre, presentes em suas estruturas [102,103].

A tioprolina ou ácido tiazolidina-4-carboxílico (4-TC, $C_4H_7NO_2S$, M.M. 133,6 $g \cdot mol^{-1}$, Figura 7) é aminoácido cíclico derivado da cisteína, de estrutura análoga ao aminoácido prolina (oxoprolina) [104].

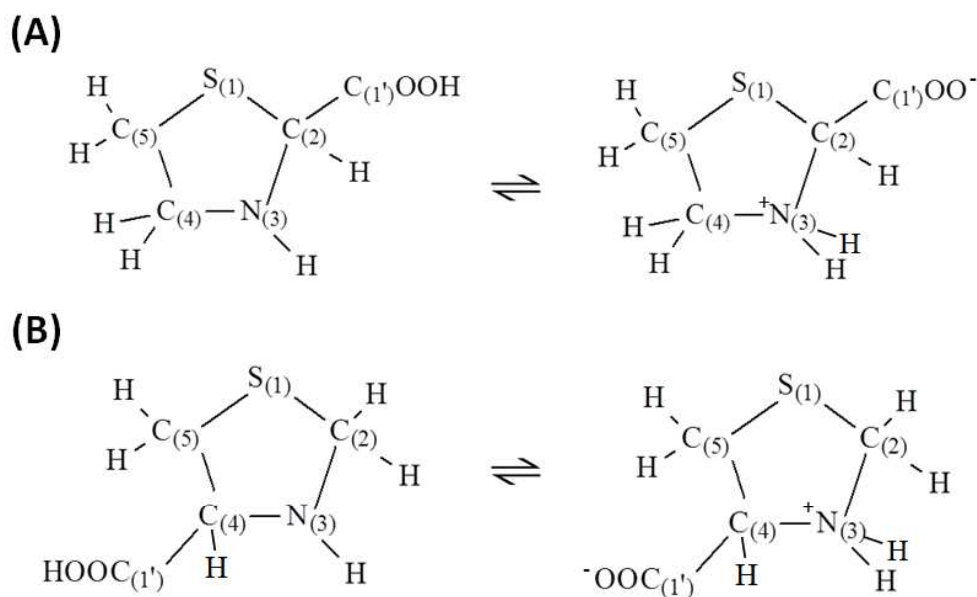


Fig. 7. Estruturas esquemáticas do (A) ácido 2-tiazolidina carboxílico e do (B) ácido 4-tiazolidina carboxílico.

A 4-TC é um composto que possui atividade antitumoral considerável, sendo seu mecanismo de ação relacionado à indução da transformação reversa das células tumorais. Esta transformação faz com o tecido canceroso perca as características de tumor, assumindo morfologia próxima à das células

saudáveis [105]. Com esta transformação reversa, o tecido canceroso retoma também a capacidade de inibição por contato, isto é, a capacidade de cessar seu crescimento e multiplicação ao entrar em contato com a membrana celular das células vizinhas.ⁱ Para que este mecanismo ocorra, entretanto, a interação da tioprolina com íons metálicos endógenos parece ser determinante [102,105,106].

A transformação reversa possibilita a diferenciação entre células tumorais e células normais, o que possui um tremendo potencial para quimioterapia anti-cancer não tóxica [107].

A tioprolina também desempenha outros papéis biológicos como, por exemplo, a participação na síntese de *N*-formilcisteína na mitocôndria [108,109], havendo também evidências de que ingerida, a 4-TC pode atuar como antioxidante intracelular de grupos sulfidril e como sequestrante de radicais livres, protegendo a membrana celular e outras estruturas passíveis de oxidação na célula [104].

Um sal de lítio da 4-TC, de composição, $\text{LiC}_4\text{H}_6\text{NSO}_2$ foi sintetizado e caracterizado espectroscopicamente [110]. Sua atividade antitumoral foi determinada contra células HeLa não apresentando, entretanto, atividade contra este tipo celular. De acordo com os pesquisadores, estudos posteriores serão realizados de modo a determinar a atividade biológica do composto em diferentes organismos como bactérias e fungos.

ⁱ Em tecidos, as células proliferam e ocupam o espaço permitido a elas, cessando a proliferação quando entram em contato com outras células ou com a matriz extracelular densa. Este processo é chamado de inibição do crescimento por contato. [R.W. Holley, *Control of growth of mammalian cells in cell culture*, Nature. 258 (1975) 487-490]

A estrutura cristalográfica de um complexo de Zn(II) com 4-TC foi reportada em 1984 por Tatarowski e colaboradores [111]. O complexo apresentado possui proporção 1:2 metal/4-TC e geometria octaédrica, com o centro metálico coordenado através dos átomos de nitrogênio dos ligantes 4-TC e de maneira monodentada através cada carboxilato. Duas moléculas de água completam os sítios de coordenação restantes.

A síntese e os ensaios antitumorais de complexos de Pt(II), Pd(II), Pt(IV), Au(III) e Rh(III) com 4-TC também foram reportados [112]. Todos os complexos, entretanto, foram somente analisados através de espectroscopia no infravermelho e somente os complexos de Pt(II) e Pt(IV) apresentaram atividade antitumoral frente as linhagens celulares testadas.

Corbi e colaboradores, recentemente reportaram a síntese, caracterização e modelagem molecular de um novo complexo de platina(II) com 4-TC. As análises espectroscópicas indicaram coordenação através do nitrogênio e do enxofre de 4-TC e os estudos de otimização geométrica, por sua vez, mostraram que a estrutura mais provável para o complexo seja a estrutura tetramérica [113].

O ácido-2-tiazolidina carboxílico (2-TC, $C_4H_7NO_2S$, M.M. 133,6 $g \cdot mol^{-1}$, Figura 7) apresenta propriedades antioxidantes e foi escolhido como ligante por ser um isômero estrutural do ácido 4-tiazolidina carboxílico de modo a avaliar possíveis diferenças de coordenação e de atividade biológica frente ao seu isômero 4-TC [114].

Complexos de prata(I) com ligantes similares a 2-TC e 4-TC também foram reportados na literatura. Nomiya e colaboradores relataram a síntese e caracterização de complexos de prata oligoméricos com o aminoácido L-histidina (H_2L-his) e com o ácido (S)-(-)-2-pirrolidona-5-carboxílico

(H₂pyrrld): {[Ag(Hhis)]·0,2EtOH}₂, [Ag(Hhis)]₂, [Ag(Hhis)]_n, [Ag(Hpyrrld)]₂ [115]. Suas estruturas foram resolvidas a partir de difração de raios X de monocristal; os complexos [Ag(Hhis)]₂ e [Ag(Hhis)]_n, apresentaram estrutura estendida com os íons Ag(I) possuindo número de coordenação 2. Cada íon se mostrou coordenado por um átomo de nitrogênio do grupo imidazol e um átomo de nitrogênio do grupamento amina da histidina seguinte. Os íons prata no complexo [Ag(Hpyrrld)]₂ por sua vez, se mostraram coordenados em ponte através dos grupamentos carboxilato [115].

O complexo de prata com aminopiridina (apy) e tereftalato (tp) também apresenta estrutura cristalina na qual a prata é coordenada pelo nitrogênio do grupamento amina, neste caso, proveniente de apy e pelos átomos de oxigênio dos grupos carboxilato de ligantes tp [116]. A coordenação aos átomos de oxigênio se dá de maneira monodentada em ponte.

O complexo oligomérico [Ag₂(D-Hhis)(L-Hhis)]_n (D-H₂his = D-histidina), sintetizado a partir da difusão vagarosa em meio aquoso dos complexos [Ag₂(L-Hhis)] e [Ag₂(D-Hhis)], foi reportado recentemente por Kasuga e colaboradores [117]. A resolução de sua estrutura cristalina mostrou que cada íon prata possui número de coordenação 3, sendo coordenado de maneira monodentada pelo oxigênio do carboxilato e pelo átomo de nitrogênio do grupo amina referentes a uma mesma histidina. O número de coordenação se completa com a coordenação do nitrogênio do grupo imidazol da histidina adjacente ao íon Ag(I) [117].

Neste trabalho, são descritas a síntese e a caracterização de três complexos binucleares inéditos de prata com os ligantes BSO, 2-TC e 4-TC, denominados [Ag₂(BSO)], [Ag₂(2-TC)] e [Ag₂(4-TC)] respectivamente. Embora a síntese de um complexo de Ag(I) com o ácido tiazolidina-4-

carboxílico já tenha sido reportada na literatura [118], sua caracterização foi feita utilizando-se somente a espectroscopia no infravermelho e análise elementar, apresentando fórmula mínima $\text{AgC}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}_3$ com a proporção metal:ligante igual a 1:3.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram sintetizar, caracterizar química e espectroscopicamente, e avaliar as atividades antibacterianas de três complexos inéditos de prata(I), com os seguintes ligantes: L-butionina sulfoximina, ácido-2-tiazolidina carboxílico e ácido-4-tiazolidina carboxílico. Estudos por modelagem molecular foram também objeto de interesse nesta dissertação, para a proposição das estruturas energeticamente mais favoráveis para os complexos sintetizados.

CAPÍTULO 3

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Síntese do complexo de prata com BSO: $[Ag_2(BSO)]$

O complexo de prata com BSO foi sintetizado através da reação entre 2,0 mL de uma solução aquosa de nitrato de prata ($9,0 \cdot 10^{-4}$ mol) e 6,0 mL de uma solução aquosa de BSO contendo $4,5 \cdot 10^{-4}$ mol do ligante. A solução aquosa de $AgNO_3$ foi adicionada à solução de BSO sob agitação magnética à temperatura ambiente, seguida da adição de 1,0 mL de solução contendo $9,0 \cdot 10^{-4}$ mol de KOH. A precipitação de um sólido branco foi imediata. Para garantir maior rendimento, a mistura de reação foi mantida sob agitação por mais 40 minutos, ao abrigo de luz. Após o referido tempo, o sólido foi separado por filtração à vácuo, lavado com água gelada e seco em dessecador sob P_2O_5 por 2 dias. O sólido foi triturado com almofariz e pistilo de ágata e seco por mais 1 dia em dessecador também sob P_2O_5 . O rendimento foi aproximadamente 80%.

O complexo é insolúvel em água, metanol, dimetilsulfóxido, acetonitrila, clorofórmio, acetona e hexano. Ele é muito pouco solúvel em uma mistura de água e acetonitrila (50:50 v/v). Não foi possível a obtenção de monocristais, mesmo após várias tentativas, no sentido de se determinar a estrutura via difração de raios X de monocristal.

3.2. Síntese dos sais de potássio de 2-TC e 4-TC: K(2-TC) e K(4-TC)

As sínteses dos sais de potássio a partir dos ligantes 2-TC e 4-TC foram realizadas seguindo o procedimento relatado previamente na literatura [119]. A 2,0 mL de uma solução aquosa contendo $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol de ligante, foram adicionados à temperatura ambiente 1,0 mL de uma solução aquosa de KOH ($1,0 \cdot 10^{-3}$ mol). Após 30 minutos de agitação, a solução foi levada a um dessecador contendo P_2O_5 por 3 dias. Sólidos brancos foram obtidos, a saber, K(2-TC) e K(4-TC). Estes sólidos foram triturados com almofariz e pistilo de ágata e secos por mais um dia, sob P_2O_5 . Tais sais foram preparados com o objetivo de se comparar os resultados das análises espectroscópicas no infravermelho e de ^{13}C -RMN e ^{15}N -RMN no estado sólido, obtidas para os complexos metálicos, os quais foram preparados em meio básico, com os ligantes também em suas formas aniônicas.

3.3. Síntese dos complexos de prata com 2-TC e 4-TC: [Ag₂(2-TC)] e [Ag₂(4-TC)]

Os complexos de prata com os ligantes 2-TC e 4-TC foram sintetizados de acordo com o seguinte procedimento: A 5,0 mL de uma solução aquosa contendo $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol de ligante, foram adicionados, sob agitação magnética constante, 2,0 mL de uma solução aquosa contendo $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol de KOH e, posteriormente, 5,0 mL de uma solução aquosa contendo $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol de nitrato de prata, gota-a-gota. A precipitação de sólidos branco-amarelados foi imediata. Para garantir um maior rendimento, as misturas reacionais foram agitadas magneticamente por mais 40 minutos, ao abrigo de luz. Após este

período, os sólidos foram separados por filtração a vácuo, lavados com água gelada e secos em dessecador sob P_2O_5 por 2 dias. Os sólidos foram então triturados com almofariz e pistilo de ágata e secos por mais 1 dia em dessecador também sob P_2O_5 . Os rendimentos médios das reações para os complexos de prata com 2-TC e com 4-TC foram de, aproximadamente, 60% e 65 %, respectivamente.

Os complexos $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ são insolúveis em água, metanol, dimetilsulfóxido, acetonitrila, clorofórmio, acetona e hexano. Não foi possível a obtenção de monocristais, mesmo após várias tentativas, no sentido de se determinar a estrutura via difração de raios X.

3.4. Materiais e métodos

Os ligantes L-butionina sulfoximina (98 %), ácido 2-tiazolidina carboxílico (97 %), ácido 4-tiazolidina carboxílico (98 %), nitrato de prata ($AgNO_3$, 98%) e o hidróxido de potássio (KOH, 98 %) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados sem tratamento prévio.

3.4.1. Análise elementar

As análises elementares de carbono, de hidrogênio e de nitrogênio dos ligantes BSO, 2-TC e 4-TC e dos referidos complexos $[Ag_2(BSO)]$, $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ foram realizadas utilizando o analisador CHN Perkin Elmer 2400.

3.4.2. Análise termogravimétrica

As análises térmicas dos complexos $[Ag_2(BSO)]$, $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ foram realizadas em um analisador térmico SEIKO EXSTAR 6000 de

análise TGA/DTA simultânea nas seguintes condições: ar sintético, fluxo de $50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ de 25°C a $1100 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.4.3. Espectroscopia no infravermelho

Os espectros no infravermelho (IV) dos ligantes BSO, 2-TC e 4-TC, dos sais de potássio K(2-TC) e K(4-TC) e dos complexos $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ foram obtidos na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} em um espectrofotômetro ABB Bomen MB Series FT-IR. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção 1:100 m/m amostra:KBr.

3.4.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

3.4.4.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear em solução

Os espectros de ressonância magnética de hidrogênio (^1H -RMN) e de carbono (^{13}C -RMN) em solução do ligante livre BSO e os espectros de correlação heteronuclear a uma ligação carbono-hidrogênio, $[\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HSQC, e a múltiplas ligações carbono-hidrogênio, $[\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HMBC, do mesmo ligante foram obtidos a 303 K em um espectrômetro AVANCE III 400 MHz (9,395 T), utilizando tubos com 5 mm de diâmetro. Os valores dos deslocamentos químicos foram referenciados a partir dos valores de deslocamento químico de ^1H e ^{13}C do tetrametilsilano (TMS, $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$). O deslocamento químico do átomo de nitrogênio da BSO foi indiretamente detectado através do experimento de acoplamento a múltiplas ligações ^1H - ^{15}N .

(heteronuclear $[^1\text{H}-^{15}\text{N}]$ multiple bond coherence, HMBC) no mesmo espectrômetro.

3.4.4.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear no estado sólido

Os espectros de $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ RMN no estado sólido (^{13}C -RMN) da BSO, dos sais K(2-TC) e K(4-TC) e dos complexos $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ foram obtidos em um espectrômetro Bruker AVANCE II 400 MHz (9,395 T) operando a 100 MHz, utilizando-se uma combinação de polarização cruzada, desacoplamento de próton e rotação no ângulo mágico (*Cross-Coupling/ Magic-Angle Spinning*, CP/MAS) a 10 KHz. A intensidade do campo de radio-frequência de ^1H foi ajustada para um pulso de 90° . O tempo de contato e de *delay* foram, respectivamente, 4 ms e 1 s. Os deslocamentos químicos foram referenciados ao valor de deslocamento dos núcleos de ^{13}C do adamantano.

Os espectros de $^{15}\text{N}\{-^1\text{H}\}$ no estado sólido (^{15}N -RMN) para os sais K(2-TC) e K(4-TC) foram obtidos em um espectrômetro Bruker 300 MHz ao passo que os espectros de ^{15}N -RMN no estado sólido dos complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ foram obtidos em um espectrômetro Bruker 400 MHz, utilizando desacoplamento de próton e CP/MAS à frequência 10 KHz. Os valores de deslocamento químico foram referenciados ao valor de deslocamento químico do átomo de nitrogênio do cloreto de amônio, NH_4Cl .

3.4.5. Espectroscopia Raman

O espectro Raman do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi obtido utilizando-se um espectrofotômetro Jobin-Yvon T64000 equipado com um microscópio

confocal e um detector constituído de um dispositivo de carga-acoplada (*charge-coupled device*, CCD) resfriado com nitrogênio. O espectro foi obtido utilizando-se uma linha laser de He/Ne (632,8 nm, 1,5 mW) à temperatura ambiente. A amostra foi analisada no estado sólido.

3.4.6. Espectrometria de massas

As medidas por espectrometria de massas do complexo [Ag₂(BSO)] utilizando-se ionização por *electrospray* e separação de íons por tempo de voo com um quadrupolo (*Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry*, ESI-QTOF-MS) foram realizadas utilizando um espectrômetro Waters Synapt HDMS instrument (Manchester, UK).

Para a análise, uma amostra de [Ag₂(BSO)] foi dispersa em uma solução 50:50 H₂O/Acetonitrila (0,1 % de ácido fórmico v/v) a uma quantidade de 4 mg·mL⁻¹. A amostra foi centrifugada e a solução sobrenadante foi ressolubilizada no mesmo solvente a uma concentração de 1:100 v/v e imediatamente analisada.

A análise foi realizada aplicando a solução resultante por infusão direta na fonte ESI do instrumento, a uma razão de fluxo de 15 µL·min⁻¹. As condições de aquisição dos espectros foram: voltagem de capilar de 3 KV, voltagem de cone de 20 V, temperatura da fonte de 100 °C, temperatura de dessolvatação de 200 °C, fluxo de gás do cone de 30 L·h⁻¹ e fluxo do gás de dessolvatação de 900 L·h⁻¹. Antes de todas as análises, o instrumento foi calibrado externamente com oligômeros de ácido fosfórico (H₃PO₄ 0.05 % v/v in 50:50 H₂O/Acetonitrila) com uma razão massa/carga (m/z) na extensão de 99 to 980.

3.4.7. Modelagem molecular

As otimizações de geometria das moléculas dos ligantes e dos complexos foram realizadas utilizando-se o software GAMESS com critério de convergência de 10^{-6} u.a. em um algoritmo gradiente conjugado [120].

O potencial de caroço efetivo LANL2DZ [121] foi utilizado para prata e o conjunto de bases de átomos 6-31G (d) [122] foi utilizado para todos os demais átomos. Os cálculos realizados através da teoria de DFT foram realizados para os ligantes BSO, 2-TC e 4-TC, para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, bem como para os possíveis modos de coordenação dos complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$. Estes cálculos foram realizados utilizando o funcional de gradiente corrigido e híbrido, B3LYP [123] para se resolver as equações de Kohn-Sham com um critério de convergência de 10^{-5} para a densidade de carga. Para todas as otimizações o modelo de polarizabilidade contínua [124] (*Polarizable Continuum Model*, PCM) foi utilizado para simular o efeito da água na otimização geométrica.

Para BSO e $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ as geometrias finais foram confirmadas como geometrias de mínimo de superfície de energia potencial (*Potential Energy Surface*, PES) através do cálculo das Hessianas. As frequências e as intensidades dos harmônicos vibracionais utilizando o mesmo rigor teórico pela avaliação analítica das segundas derivadas da energia como uma função das coordenadas atômicas. As intensidades calculadas foram usadas para se gerar o espectro teórico. As frequências foram ajustadas por um fator de correção igual a 0,9614, como recomendado por Scott e Radom [125].

Os espectros vibracionais simulados foram obtidos a partir da soma das funções Lorentzianas com 20 cm^{-1} de meias-bandas, usando o software MOLDEN 4.7. [126].

As intensidades do Raman teórico para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foram simuladas pelo procedimento de diferenciação numérica, aplicando um campo elétrico de $2 \cdot 10^{-3}$ u.a., como previamente reportado por Bonacin e colaboradores [127]. As frequências foram escaladas por um fator de 1,0013, como recomendado por Scott e Radom para vibrações em baixas frequências [125].

3.4.8. Ensaios antibacterianos

A atividade antibacteriana do ligante livre BSO e do seu respectivo complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi determinada frente a seis cepas bacterianas patogênicas: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* 31NM, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* BEC9393 e *Staphylococcus aureus* Rib1.

Para os ensaios, foram preparadas soluções aquosas estoque de BSO e AgNO_3 , ambas de concentração $10,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, e 2,0 mL de uma suspensão aquosa contendo 20,0 mg do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. As cepas bacterianas foram cultivadas em placas contendo meio de cultura Müller-Hinton sólido por 24 h. Então, uma quantidade suficiente de meio de cultura até que a turbidez atingisse o índice de 0,5 McFarland ($\sim 1,5 \cdot 10^8$ unidades formadoras de colônia, UFC). Após este procedimento, 100 μL das soluções de BSO e de AgNO_3 e 100 μL da suspensão contendo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foram adicionados a uma placa de 24 poços e as cepas bacterianas foram inoculadas. O controle negativo foi obtido deixando-se um dos poços de cada bactéria sem adição de nenhum dos compostos considerados.

A concentração inibitória mínima (CIM), referente à inibição de crescimento de 100 % das cepas bacterianas, do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi

estimada como recomendado pelo Instituto de Padrões Laboratoriais e Clínicos (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI) [128].

Neste caso, o complexo $[Ag_2(BSO)]$ foi submetido a diluições seriadas (1:1) em uma placa de 96 poços com 100 μ L da suspensão do composto em meio Müller-Hinton líquido. As cepas bacterianas (0,5 McFarland) foram transferidas às placas contendo as sete concentrações decrescentes do composto.

Os controles positivos foram obtidos através da utilização de antibióticos comerciais. Para tanto, determinou-se a CIM do antibiótico cloranfenicol frente às cepas Gram-negativas testadas e a CIM da vancomicina frente às cepas Gram-positivas.

Para a determinação da atividade antibacteriana dos ligantes livres 2-TC e 4-TC e dos seus respectivos complexos $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ foram selecionadas 5 cepas bacterianas patogênicas: *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* Rib 1 e *S. aureus* BEC, *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* 31NM. O mesmo método utilizado para BSO e $[Ag_2(BSO)]$ foi utilizado no caso das tiazolidinas e seus respectivos complexos para obter-se a CIM frente às cepas bacterianas selecionadas.

CAPÍTULO 4

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ESPECTROMÉTRICA E ESPECTROSCÓPICA

4.1. Resultados e Discussão

4.1.1. Complexo [Ag₂(BSO)]

4.1.1.1. Análise elementar

A análise elementar permitiu propor a seguinte composição para o complexo: Ag₂C₈H₁₆N₂O₃S. Os valores calculados para Ag₂C₈H₁₆N₂O₃S (%) são: C 22,0; H 3,70; N 6,42; os valores experimentais (%): C 22,9; H 3,34; N 6,60. A composição do complexo apresenta uma razão molar de 2:1 metal/ligante.

4.1.1.2. Análise térmica

A análise termogravimétrica foi realizada para verificar o comportamento térmico e também para confirmar a proporção metal/ligante do complexo de prata com BSO. A perda de massa em função da temperatura para o complexo [Ag₂(BSO)] é apresentada na Figura 8.

Como pode ser observado na curva termogravimétrica, a decomposição do ligante começa em 170 °C, ocorrendo em duas etapas e levando à formação de um resíduo (Ag⁰) decorrente do tratamento térmico em 550 °C. A perda de massa calculada referente à parcela orgânica, isto é, da parcela correspondente à BSO, é de 53,6 %. Para a composição Ag₂C₈H₁₆N₂O₃S, o valor calculado para a perda de massa orgânica é de 48,5 %.

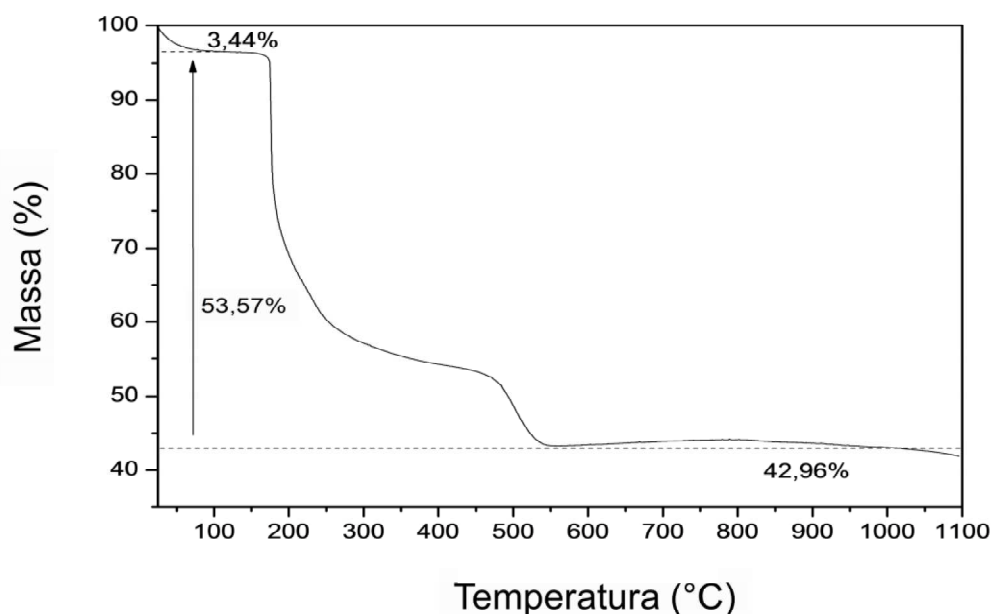


Fig. 8. Análise termogravimétrica do complexo $[Ag_2(BSO)]$.

O resíduo obtido após $550^{\circ}C$ é consistente com a formação de prata metálica 43,0 %, sendo o valor calculado de 47,7 %. Estudos adicionais através de difratometria de raios X, método do pó, do produto final da decomposição térmica serão realizados de modo a confirmar a identidade da espécie formada após $550^{\circ}C$. A água presente no sólido é perdida até a temperatura de $100^{\circ}C$, sendo decorrente provavelmente da absorção de água do ambiente, durante o manuseio da amostra, ou mesmo de um resquício proveniente da síntese em meio aquoso.

Estes resultados concordam com os resultados obtidos através da análise elementar de carbono, de hidrogênio e de nitrogênio, confirmando assim a proporção 2:1 metal/ligante.

4.1.1.3. Espectroscopia no infravermelho

O espectro no infravermelho do $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi analisado em comparação com o espectro da BSO livre. Os referidos espectros são apresentados na Figura 9.

No espectro do ligante livre podem-se observar duas bandas atribuídas aos estiramentos assimétrico e simétrico de NH_2 em, respectivamente, 3230 cm^{-1} e 3144 cm^{-1} . A banda de deformação $\delta(\text{NH}_2)$, por sua vez, é observada em 1516 cm^{-1} . O espectro do ligante também apresenta uma banda fraca com um máximo em 2095 cm^{-1} , sendo esta banda atribuída à combinação da deformação assimétrica de NH_3^+ com a oscilação torcional do mesmo grupo, o que indica que a BSO se apresenta na forma zwitteriônica no estado sólido [129].

Os modos de estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato na BSO livre são observados em 1618 cm^{-1} e 1447 cm^{-1} , respectivamente. A diferença de energia entre $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ e $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$, Δ , é 171 cm^{-1} . Esta diferença é usada como um parâmetro de avaliação no modo de coordenação do grupo carboxilato [130,131]. Além disso, outra banda referente ao grupamento NH_3^+ é também observada no espectro no IV do ligante a 1582 cm^{-1} , o que reforça a existência do ligante na forma zwitteriônica no estado sólido.

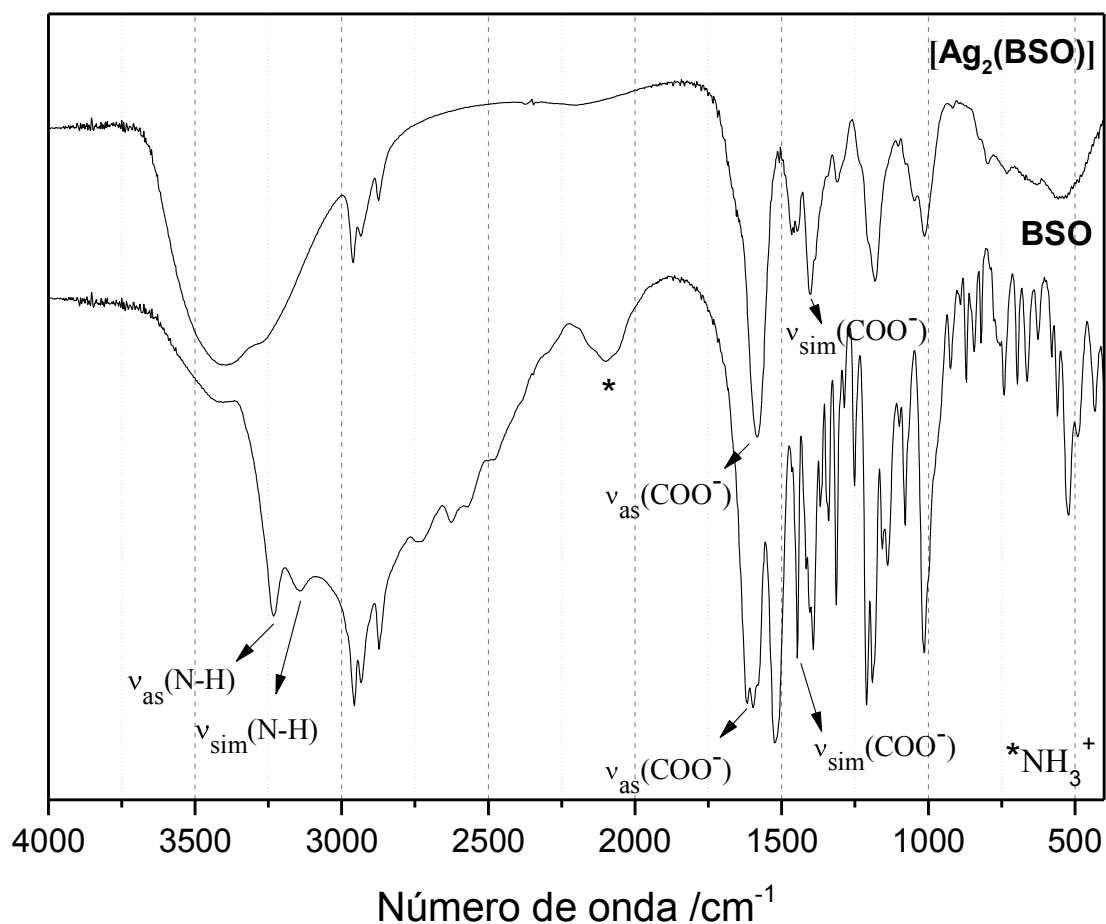


Fig. 9. Espectro no infravermelho de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ e BSO.

As bandas características do grupo sulfoximina ($\text{HN}=\text{S}=\text{O}$) são observadas no espectro da BSO em 1210 cm^{-1} , e 1012 cm^{-1} , sendo atribuídas, respectivamente, às vibrações de estiramento $\text{N}=\text{S}$ e $\text{S}=\text{O}$ [132]. A combinação entre a deformação $\text{S}=\text{N}-\text{H}$ e os modos de estiramento $\text{S}=\text{O}$ e $\text{N}=\text{S}$ é observada em 1139 cm^{-1} . Para facilitar a visualização, uma ampliação da região referente às bandas da sulfoximina é apresentada na Figura 10. Outras bandas características são as bandas de estiramento assimétrico e simétrico do grupo CH_2 , observadas respectivamente em 2962 e 2930 cm^{-1} .

No espectro do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, o estiramento assimétrico do

grupo carboxilato aparece em 1582 cm^{-1} , enquanto a banda referente ao estiramento simétrico é observada em 1390 cm^{-1} . Desta forma, a diferença de energia (Δ) entre $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ e $\nu_{\text{sim}}(\text{COO}^-)$, neste caso, é de 192 cm^{-1} . De acordo com a literatura, um maior valor de Δ para o complexo, quando comparado ao ligante, sugere uma coordenação de forma monodentada do grupo carboxilato ao metal [131].

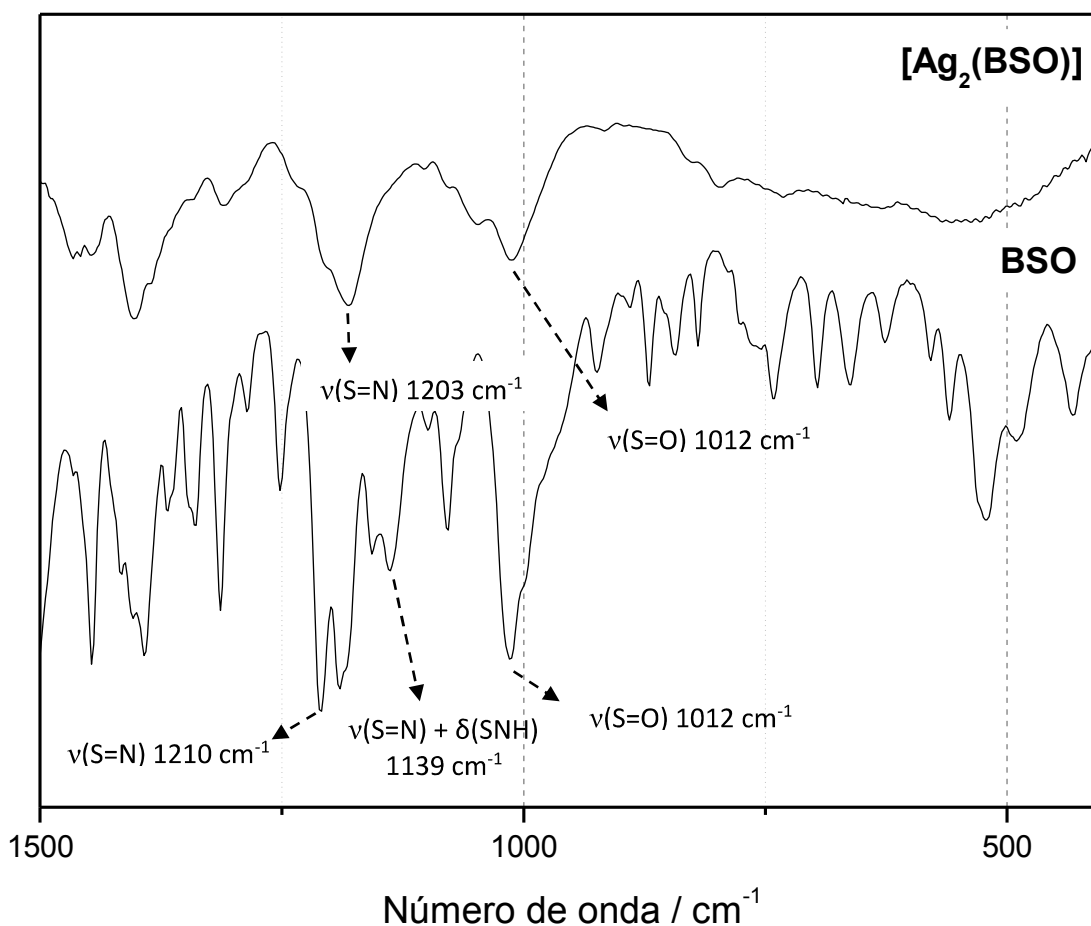


Fig. 10. Ampliação do espectro no infravermelho da região espectral onde se pode encontrar as bandas referentes ao grupamento sulfoximina ($\text{O}=\text{S}=\text{N}$).

No espectro de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, por sua vez, pode-se observar uma larga banda na região de $3550\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$. Esta banda é atribuída às ligações de

hidrogênio intermoleculares. As ligações de hidrogênio levam a uma baixa resolução das bandas de estiramento simétrico e assimétrico de H-N-H. Como reportado na literatura, o deslocamento do estiramento da ligação N-H no espectro do complexo, quando comparado ao espectro do ligante, pode ser atribuído à coordenação do grupo amino da BSO ao íon Ag(I) [131].

Vale ressaltar também que a banda relacionada à combinação entre a deformação e a oscilação torcional do grupo NH_3^+ , observada no ligante livre, não está presente no espectro de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ o que é também um indicativo da coordenação da BSO à prata através do nitrogênio do grupo amina.

As bandas de estiramento das ligações S=N e S=O são observadas no espectro da $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, respectivamente, em 1203 cm^{-1} e 1012 cm^{-1} . O deslocamento da banda relacionada à ligação S=N sugere a coordenação de BSO a um segundo íon prata através do nitrogênio da sulfoximina. Além disso, a banda referente à deformação S=N-H não está presente no espectro do $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, o que também indica que o nitrogênio do grupo sulfoximina está coordenado à prata. As bandas atribuídas aos estiramentos assimétricos e simétricos do grupo CH_2 são observadas na mesma região que as bandas no espectro de BSO livre.

4.1.1.4. Atribuição dos sinais de ^{13}C a partir das análises de RMN em solução

De modo a atribuir de maneira mais precisa os sinais referentes aos átomos de carbono da BSO livre, foram obtidos espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, espectros de DEPT135-RMN e espectros de correlação heteronuclear a uma ligação carbono-hidrogênio, $[^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HSQC, e a múltiplas ligações carbono-hidrogênio, $[^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HMBC. Tais análises não haviam sido

reportadas na literatura anteriormente, à exceção do espectro de hidrogênio unidimensional. O espectro de [^1H - ^{13}C]-HSQC é apresentado na Figura 11. Os espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN e [^1H - ^{13}C]-HMBC, por sua vez, se encontram no Apêndice A (Fig.A1 e Fig.A2) . A numeração dos carbonos foi feita de acordo com a estrutura esquemática apresentada na Figura 3.

Através da técnica de [^{13}C - ^1H] HSQC RMN é possível observar o acoplamento direto, isto é, a uma ligação entre momentos de átomos de carbono e hidrogênio [133].Como se pode observar no espectro, os hidrogênios H-8 (triplete) em 0,86 ppm acoplam-se ao núcleo de carbono C-8 em 12,7 ppm . Os sinais referentes aos átomos de carbono em campo alto em 20,9 ppm e 23,6 ppm por sua vez, podem ser atribuídos a C-7 e C-6, respectivamente. O átomo de carbono C-7 acopla-se com o hidrogênio H-7 (sexteto), em 1,39 ppm. Ainda, o núcleo do carbono C-6 acopla-se ao aos átomos de hidrogênio H-6 (quinteto), cujo sinal pode ser observado em 1,70 ppm no espectro de ^1H -RMN desacoplado.

Possuindo um valor de deslocamento químico próximo ao valor de C-6, o sinal atribuído ao átomo de carbono C-3 é encontrado em 23,6 ppm. Este sinal acopla-se ao hidrogênios H-3 (quarteto), em 2,43 ppm.

Devido à ligação direta do átomo de carbono C-4 ao centro quiral, os sinais referentes átomos de hidrogênio H-4a e H-4b não apresentam equivalência, e aparecem no espectro como dois quartetos pouco resolvidos, na região de 3,27 – 3,36 ppm.

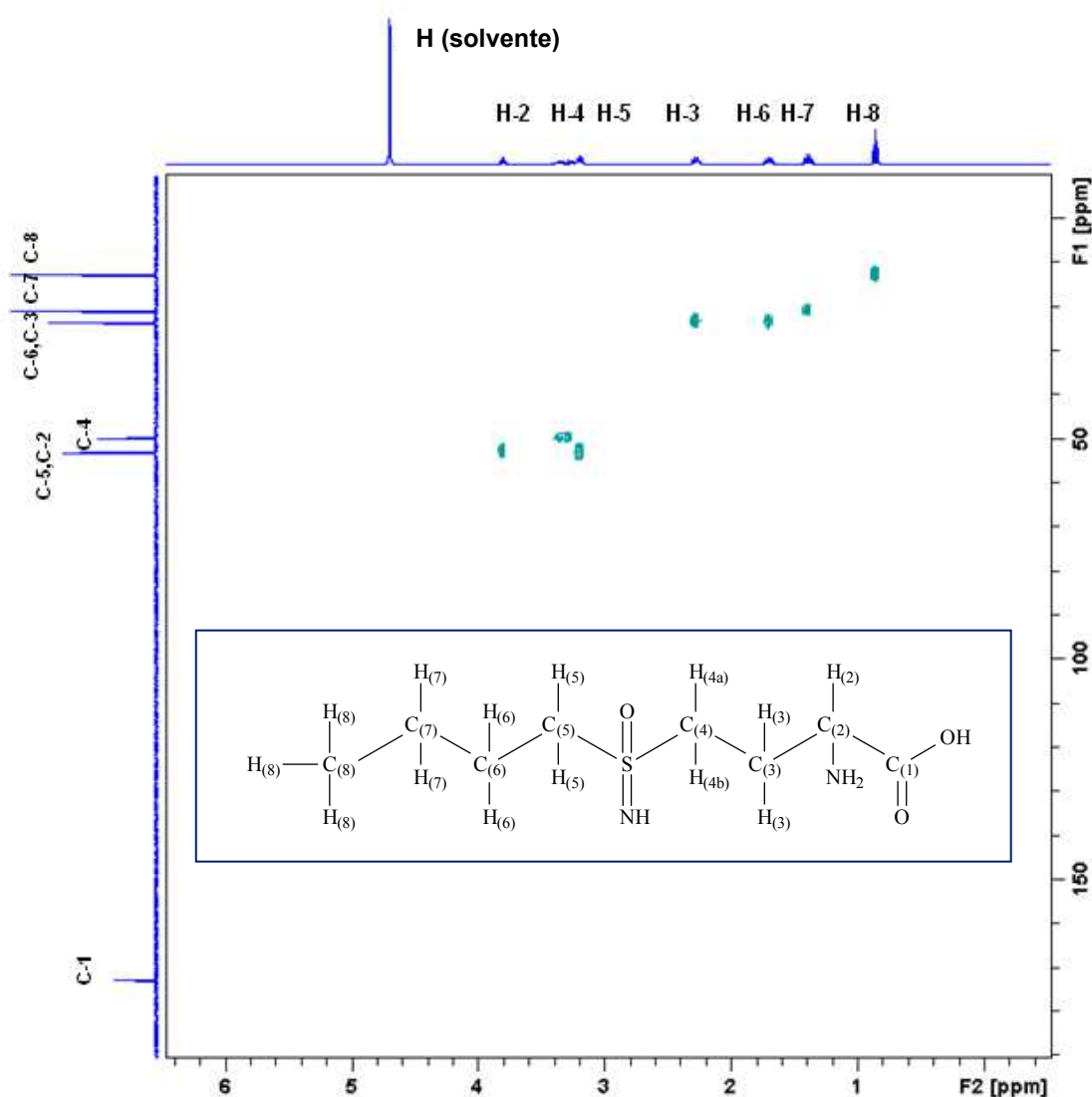


Fig. 11. Espectro de [^1H - ^{13}C] HSQC RMN da BSO em D_2O .

Os átomos de carbono C-2 e C-5 no espectro de ^{13}C -RMN aparecem respectivamente em 53,0 ppm e 53,4 ppm. O sinal referente ao carbono C-2 acopla-se ao hidrogênio H-2 em 3,80 ppm. A posição de C-2 pode ser explicada em função de sua ligação direta a uma amina primária. O átomo de carbono C-5, por sua vez, se acopla ao H-5 em 3,20 ppm.

Por fim, o sinal em 172,9 ppm no espectro de ^{13}C -RMN é atribuído ao átomo de carbono C-1. Os espectros de $[\text{}^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HMBC e $[\text{}^1\text{H}-^{15}\text{N}]$ -HMBC confirmam as atribuições realizadas a partir da técnica de HSQC. Ainda, o experimento DEPT-135 RMN, com o qual é possível determinar os carbonos metilênicos (CH_2) através da mudança de fase dos sinais do espectro, reforçam a atribuição através do espectro de HSQC.

4.1.1.5. Espectroscopia de ^{13}C -RMN no estado sólido

Os espectros de ^{13}C -RMN no estado sólido do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ e do ligante livre são apresentados na Figura 12 com as respectivas atribuições. A numeração dos carbonos foi feita de acordo com a estrutura esquemática apresentada na Figura 3. Para melhor avaliação dos resultados, a estrutura do ligante é novamente apresentada junto aos espectros.

De acordo com os dados experimentais, o deslocamento químico de C-2 no ligante livre e no complexo são observados respectivamente em 53,8 ppm e em 56,6 ppm, com $\Delta\delta$ (δ complexo - δ ligante) de 2,8 ppm.

Os sinais referentes aos átomos de carbono C-6, C-3 e C-5 são observados, respectivamente, em 23,1 ppm, 26,3 ppm e 56,0 ppm no espectro do ligante livre enquanto, para o complexo os mesmos átomos de carbono aparecem em 28,9 ppm, 33,7 ppm e 61,6 ppm.

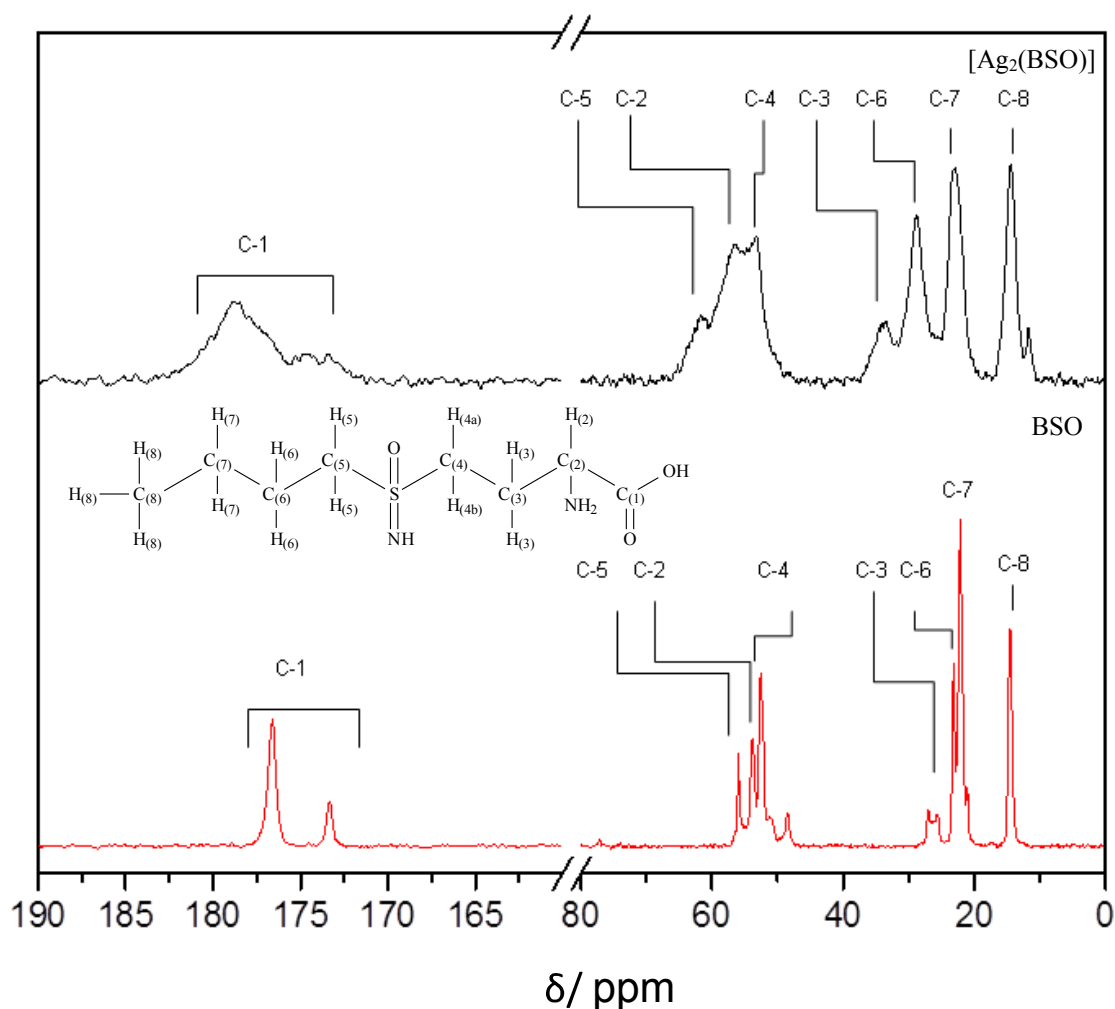


Fig. 12. Espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ e BSO.

As diferenças entre os deslocamentos químicos $\Delta\delta$ dos átomos de carbono C-6, C-3, C-4 e C-5 são 5,8 ppm, 7,4 ppm, 0,7 ppm e 5,6 ppm, respectivamente. Como sugerido através da análise de espectrometria no IV, o RMN reforça a coordenação de BSO a um dos átomos de prata através do nitrogênio da sulfoximina. Tanto no espectro de ^{13}C -RMN da BSO como no espectro referente ao complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, o átomo de carbono C-1 aparece como dois sinais. Este fenômeno pode ser explicado devido à existência de

polimorfismo tanto no ligante livre quanto para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ no estado sólido [134].

O deslocamento químico para C-1 é observado em 176,6 ppm no espectro do ligante livre e em 178,7 ppm no espectro do complexo ($\Delta\delta = 2,1$ ppm). Os sinais que aparecem em 56,0 ppm no espectro de BSO e em 61,3 ppm no espectro de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ podem ser atribuídos ao carbono C-3 ($\Delta\delta = 5,3$ ppm). Não foi observada diferença substancial nos deslocamentos químicos dos carbonos C-7 e C-8 no complexo quando comparados ao ligante livre ($\Delta\delta = 1,0$ ppm e $-0,1$ ppm, respectivamente). As atribuições dos carbonos dos espectros de BSO e do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ com seus respectivos $\Delta\delta$ são listados na Tabela 1.

Tabela 1 Atribuição de ^{13}C -RMN para BSO e para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ com os respectivos $\Delta\delta$

	δ/ppm (BSO)	δ/ppm (Ag_2BSO)	$\Delta\delta/\text{ppm}$
C-1	176,6	178,7	2,1
C-2	53,8	56,6	2,8
C-3	26,3	33,7	7,4
C-4	52,6	53,3	0,7
C-5	56,0	61,6	5,6
C-6	23,1	28,9	5,8
C-7	22,1	23,1	1,0
C-8	14,5	14,4	- 0,1

De acordo com os dados do RMN, pode-se sugerir que um átomo de prata está coordenado ao mesmo tempo pelo nitrogênio do grupo amino e por

um dos átomos de oxigênio do grupo carboxilato, ao passo que o outro átomo de prata está coordenado pelo nitrogênio do grupo sulfoximina.

4.1.1.6. Medidas por espectroscopia Raman

Para que seja confirmada a coordenação dos grupos sulfoximina e amino aos íons prata, o espectro Raman do $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi obtido. O espectro é apresentado na Figura 13.

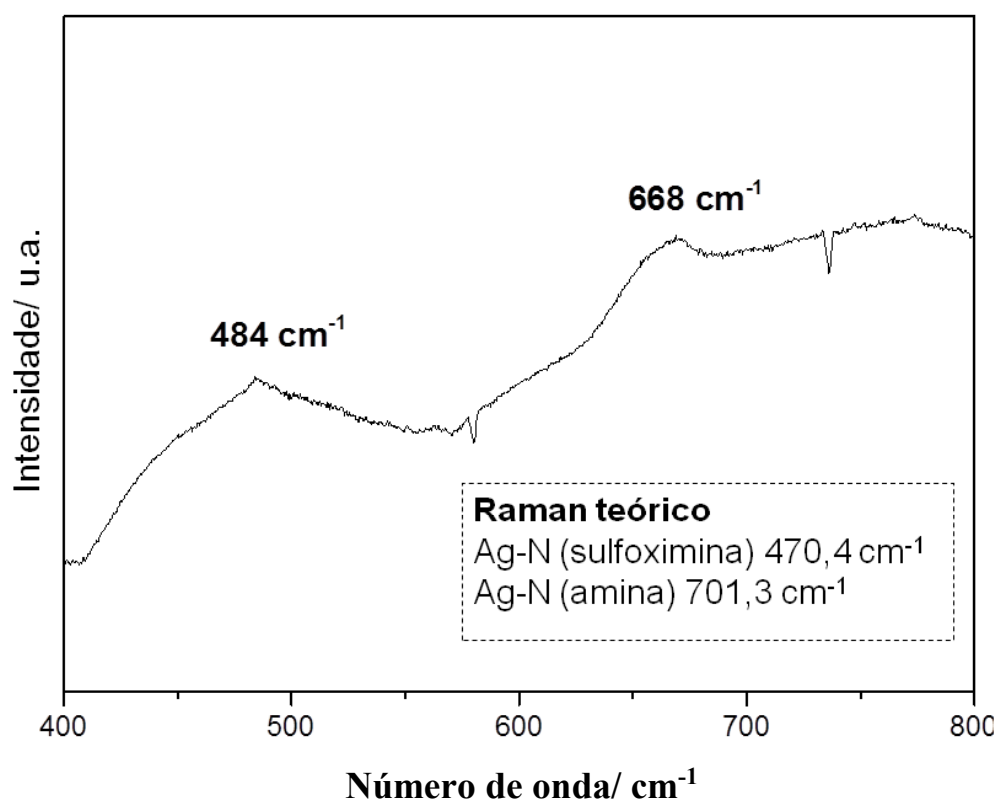


Fig. 13. Espectro Raman do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$.

Como observado, o espectro de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ apresenta duas bandas largas com seus máximos em 484 cm^{-1} e 668 cm^{-1} . De acordo com a literatura, estas bandas podem ser atribuídas aos modos de estiramento Ag-N das ligações $\text{Ag-N}(\text{SO})$ e $\text{Ag-N}(\text{H}_2)$, respectivamente [135].

4.1.1.7. Espectrometria de massas

A composição $\text{Ag}_2\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ referente ao complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi também confirmada por espectrometria de massas (ESI-QTOF-MS). O espectro do $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, apresentado na Figura 14 mostra o íon $[\text{Ag}_2\text{BSO}+\text{H}]^+$ em m/z 436,91, assim como a presença do íon $[\text{AgBSO}]^+$ em m/z 329,00. O espectro também mostra a presença dos íons $[\text{Ag}(\text{BSO})_2]^+$ (m/z 553,11), $[\text{Ag}_2(\text{BSO})_2+\text{H}]^+$ (m/z 659,34) e $[\text{Ag}_3(\text{BSO})_2-2\text{H}]^+$ (m/z 764,86). O padrão isotópico experimental para $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$ foi comparado ao padrão isotópico esperado considerando-se a composição proposta, com um erro de - 2.0 ppm (calc. m/z 434,9062, exp. m/z 434,9053).

A estrutura dos íons observados $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$ e $[\text{AgBSO}]^+$, assim como de $[\text{BSO}+\text{H}]^+$, foram analisados por espectrometria de fragmentação de íons MS/MS (Figura 15). A energia necessária à fragmentação foi 14eV para ambos os íons monoprotonados $[\text{BSO}+\text{H}]^+$ e $[\text{AgBSO}]^+$ e 20 eV para o íon $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$. O espectro MS/MS de $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$ apresenta um sinal em 216,82 m/z o que corresponde a referida espécie menos um fragmento $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$. Este fragmento pode ser atribuído a um ligante BSO com a ausência de dois hidrogênios. O íon Ag^+ também é observado no espectro em 106,90 m/z .

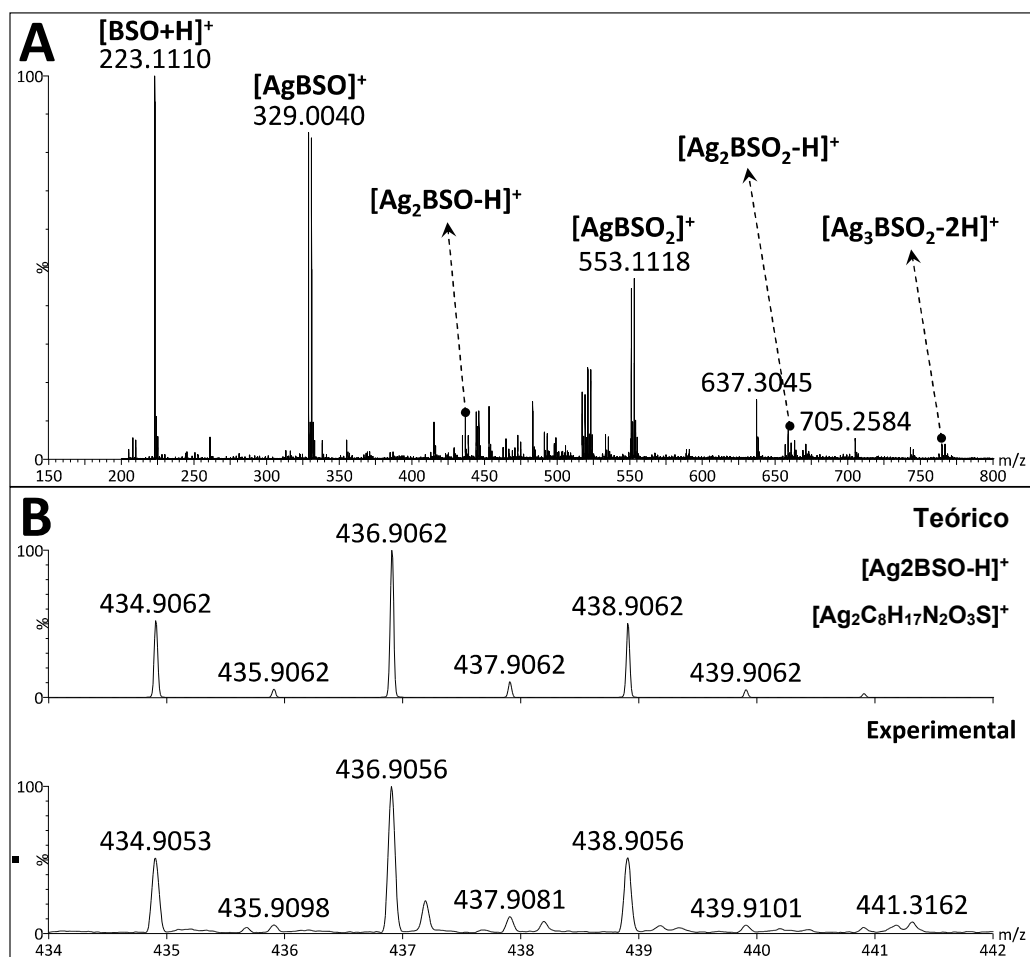


Fig. 14. Espectros de massas do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. **(A)** Espectro de massas ESI(+)-QTOF de 150 a 800 m/z . O termo BSO-H se refere ao ligante BSO menos um hidrogênio ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$, 221,0960 Da). **(B)** Comparação entre padrão isotópico experimental e teórico do íon $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$ de 434,90 m/z . O erro em massa foi de -2.0 ppm para $[\text{Ag}_2\text{BSO}-\text{H}]^+$ ($[\text{C}_8\text{H}_{17}\text{Ag}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S}]^+$, calc. m/z 434,9062, exp. m/z 434,9053), considerando um íon monoisotópico da composição.

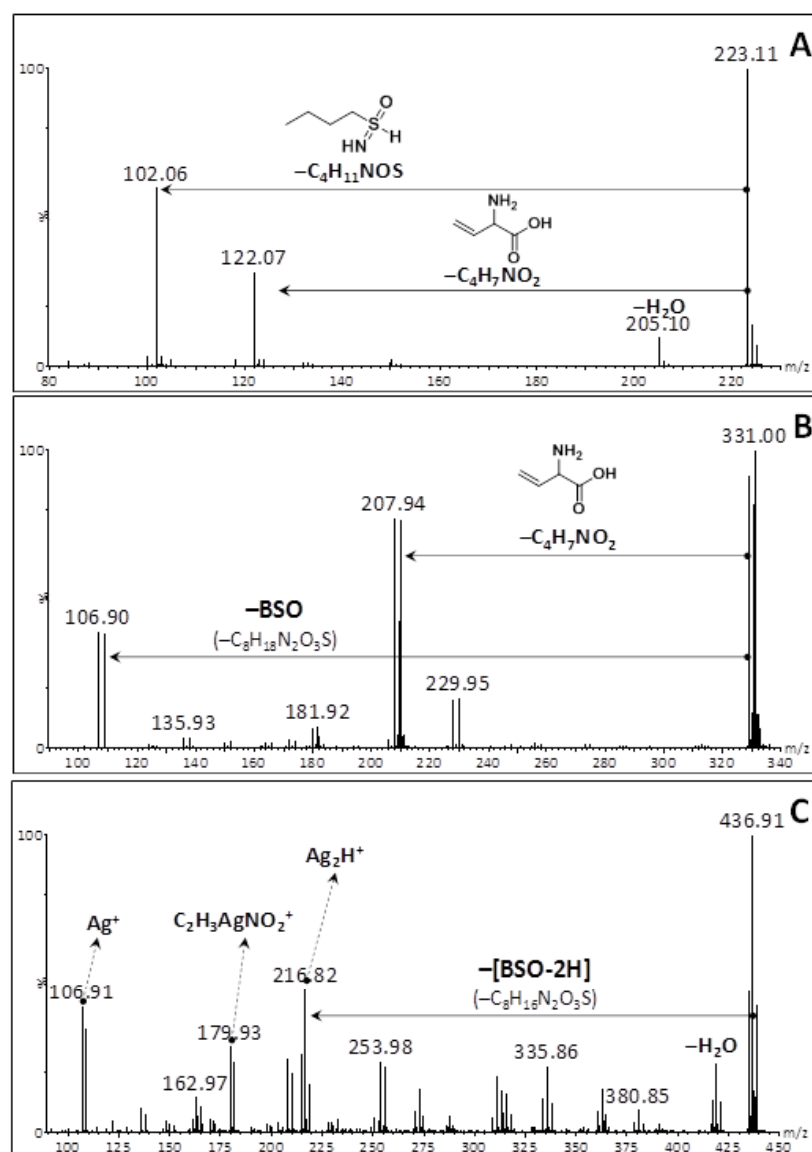


Fig. 15. Espectro de massas de fragmentação iônica (dissociação induzida por colisão) para (A) ligante BSO monoprotonado, $[BSO+H]^+$ de 223,11 m/z . Energia de colisão da célula *Trap* foi 14 eV. (B) $[AgBSO]^+$ de 329,00 m/z . Energia de colisão da célula *Trap* foi 14 eV. (C) $[Ag_2BSO-H]^+$ de 436,91 m/z . Energia de colisão da célula *Trap* foi 20 eV.

4.1.2. Complexos [Ag₂(2-TC)] e [Ag₂(4-TC)]

4.1.2.1. Análise elementar

A análise elementar para o complexo com o ácido tiazolidina-2-carboxílico levou à seguinte composição: Ag₂C₄H₅NO₂S·0,5 H₂O. Os valores calculados para Ag₂C₄H₅NO₂S · 0,5 H₂O (%) foram: C 13,5; H 1,70; N 3,93; os valores experimentais (%): C 13,5; H 2,12; N 4,51. A análise para o complexo sintetizado a partir do ácido tiazolidina-4-carboxílico levou também à composição: Ag₂C₄H₅NO₂S·0,75 H₂O. Os valores calculados para Ag₂C₄H₅NO₂S·0,75 H₂O (%) foram: C 13,3; H 1,82; N 3,89; os valores experimentais (%): C 13,2; H 2,03; N 4,66. A composição de ambos os complexos apresentam razão molar de 2:1 metal/ligante.

4.1.2.2. Análise térmica

A análise termogravimétrica foi realizada para verificar o comportamento térmico dos materiais e também para confirmar a proporção metal/ligante dos complexos de prata com 2-TC e 4-TC. A perda de massa em função da temperatura para o complexo [Ag₂(2-TC)] e para complexo [Ag₂(4-TC)] são apresentados, respectivamente, nas Figuras 16 e 17.

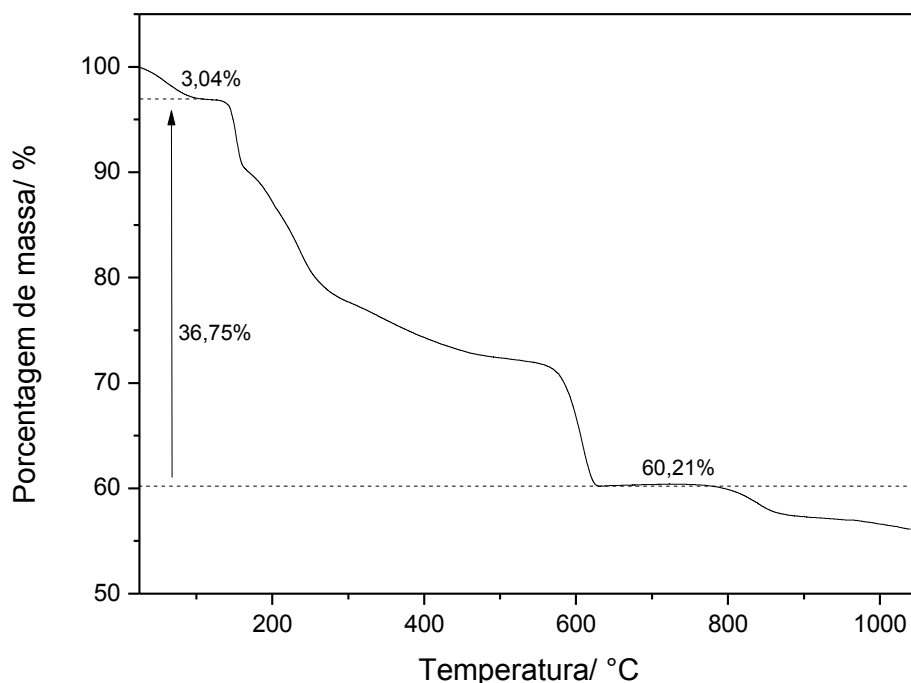


Fig. 16. Análise termogravimétrica do complexo $[Ag_2(2-TC)]$.

Como pode ser observado pela curva termogravimétrica do complexo $[Ag_2(2-TC)]$, até 100 °C, o complexo perde 3,0 % em massa. Esta perda de massa foi atribuída à presença de água no sólido, (valor calculado 2,5 %).

A decomposição do ligante começa em 114 °C, levando à formação de um resíduo em 628 °C. A perda de massa calculada referente à parcela orgânica, isto é, da parcela correspondente à 2-TC, é de 36,9 %. Para a composição $Ag_2C_4H_5NO_2S \cdot 0,5 H_2O$, o valor calculado para a perda de massa orgânica é de 36,8 %. O material obtido após 628°C é consistente com a formação de Ag_2O (60,2 %), sendo o valor esperado igual 65,1 %. Estudos adicionais através de espectroscopia no IV e difratometria de raios X de pó são realizados de modo a confirmar a formação de Ag_2O , ou de outras

espécies resultantes do tratamento térmico. Estes resultados concordam com os resultados obtidos através da análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio, confirmando assim a proporção 2:1 metal/ligante.

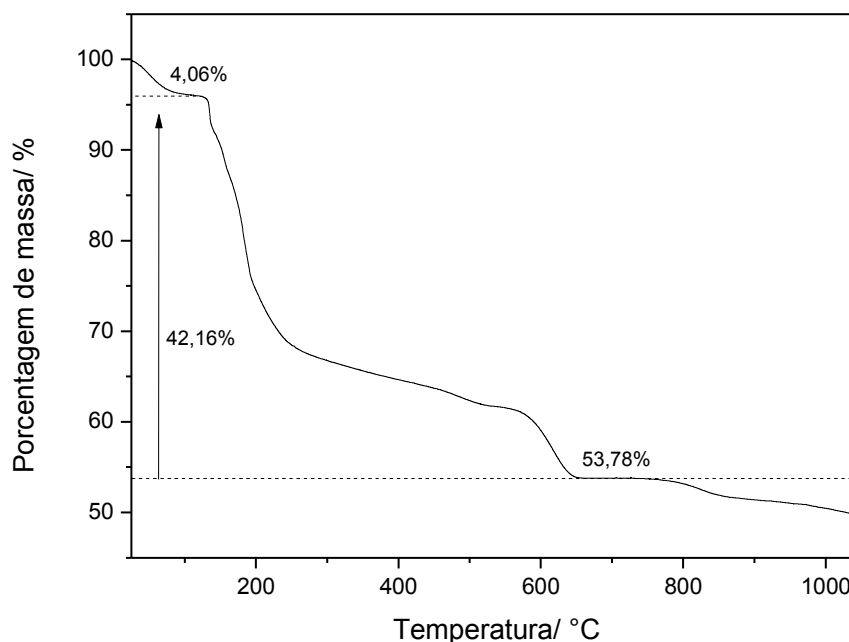


Fig. 17. Análise termogravimétrica do complexo $[Ag_2(4-TC)]$.

A análise termogravimétrica do complexo $[Ag_2(4-TC)]$ apresenta um perfil similar à curva do complexo $[Ag_2(2-TC)]$. A perda de 4,06 % de massa até 100 °C refere-se à presença de água no sólido. O valor calculado para a perda de água na composição $Ag_2C_4H_5NO_2S \cdot 0,75 H_2O$ é de 3,75 %. A perda da parcela orgânica isto é, do 4-TC, é de 42,2 % e se inicia em 107 °C (valor calculado 36,4 %) O material obtido a partir de 658 °C é consistente com a formação de Ag_2O (valor calculado 64,3%; valor experimental 53,8 %). Estudos adicionais através de espectroscopia no IV e difratometria de raios X de pó serão realizados de modo a confirmar a formação de Ag_2O , ou de outras

espécies resultantes do tratamento térmico, conforme sugerido também para o complexo com 2-TC.

Os dados de TGA, portanto, confirmam a proporção 2:1 metal/ligante assim como a presença de água, obtidas através da análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio.

4.1.2.3. Espectroscopia no infravermelho

Os espectros no IV do ligante 2-TC, do seu sal de potássio e do complexo de prata $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ são apresentados na Figura 18. O espectro do $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ foi analisado em comparação com o espectro do ligante livre 2-TC e ao sal de potássio $[\text{K}(2\text{-TC})]$. No espectro da 2-TC pode-se observar uma banda de intensidade média em 3046 cm^{-1} , sendo atribuída ao estiramento da ligação N-H. Esta banda pode ser observada em 3252 cm^{-1} em $[\text{K}(2\text{-TC})]$. No espectro do complexo, esta banda parece perder intensidade, sendo difícil identificá-la, principalmente devido à presença de água no sólido. Isto sugere que o hidrogênio ligado ao nitrogênio é perdido, e o ligante se coordena ao metal pelo átomo de nitrogênio [131].

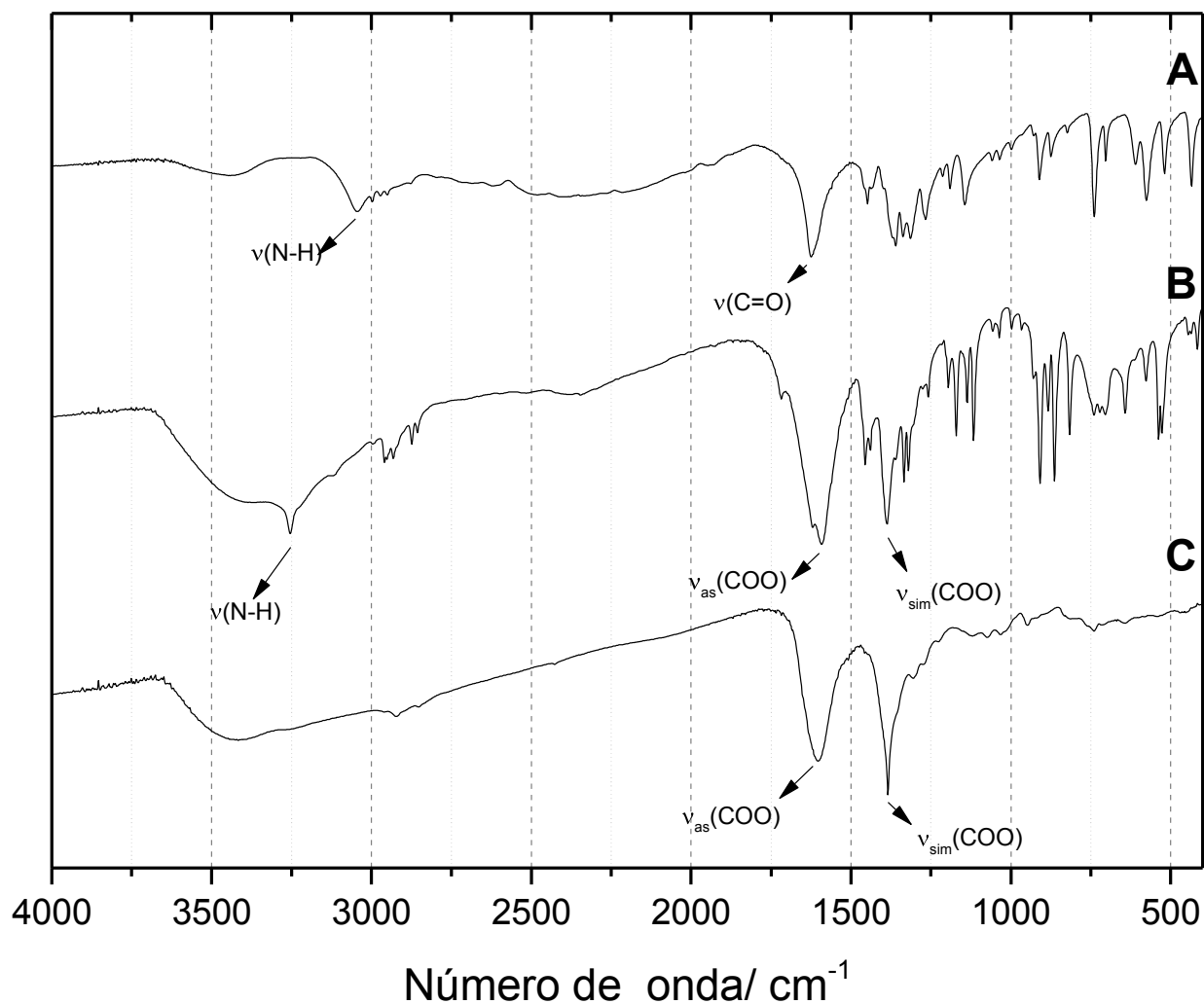


Fig. 18. Espectros no infravermelho de (A) 2-TC, (B) [K(2-TC)] e (D) [Ag₂(2-TC)].

Os espectros do ligante 4-TC, do seu sal de potássio e do complexo [Ag₂(4-TC)] são apresentados na Figura 19. Os estiramentos assimétrico ν_{as}(COO) e simétrico ν_{sim}(COO) do grupo carboxilato no espectro de [K(2-TC)] são observados, respectivamente, 1591 cm⁻¹ e 1387 cm⁻¹ (Δ 204 cm⁻¹). No espectro do complexo [Ag₂(2-TC)] estas bandas podem ser observadas em, respectivamente, 1603 cm⁻¹ e 1382 cm⁻¹ (Δ 221 cm⁻¹). De acordo com a literatura, complexos monodentados apresentam valores de Δ que são maiores que aqueles para compostos iônicos, no caso [K(2-TC)].

Desta forma, sugere-se que o 2-TC esteja coordenado através do grupo carboxilato à prata de maneira monodentada [131].

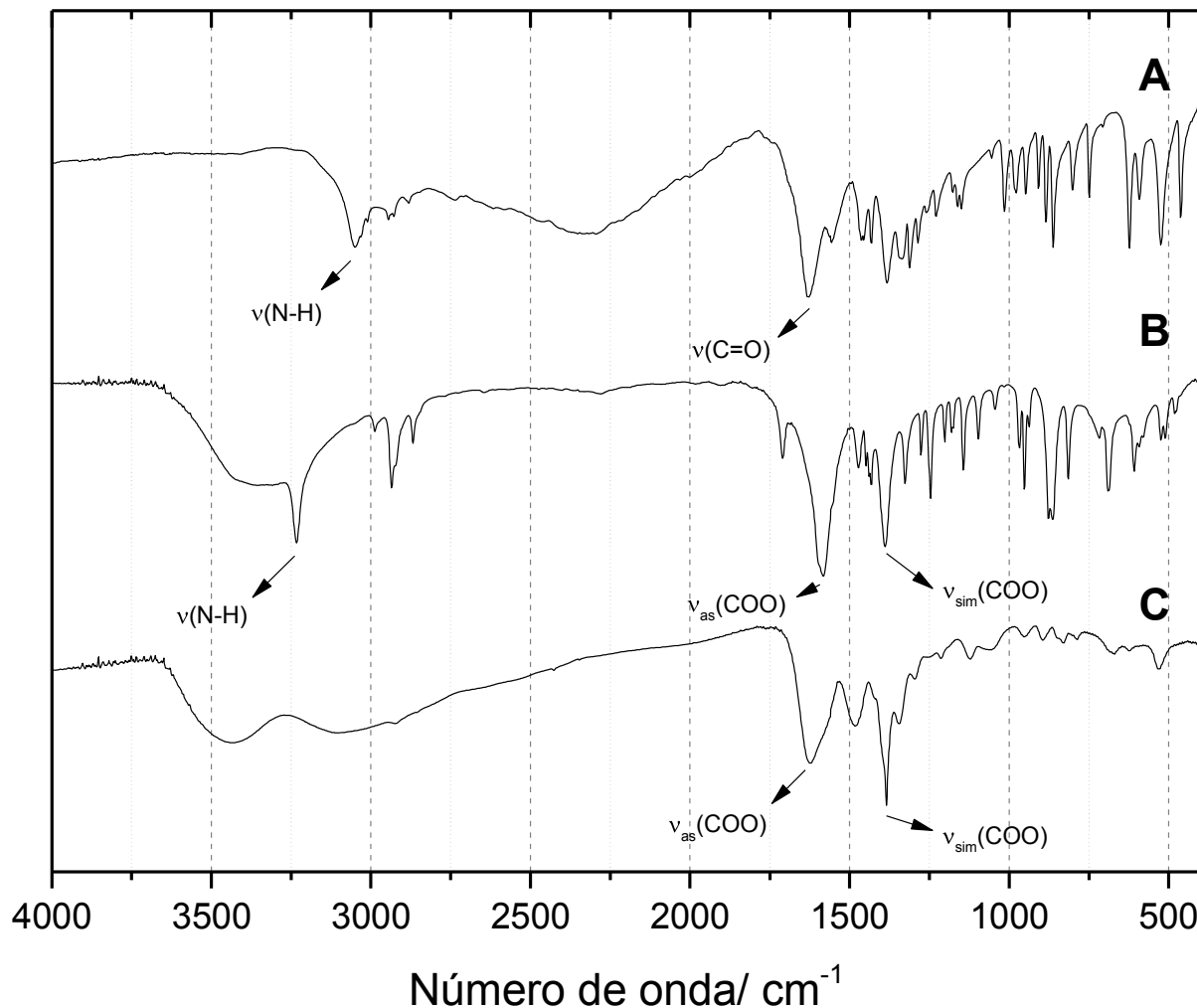


Fig.19. Espectros no infravermelho de (A) 4-TC, (B) [K(4-TC)] e (D) [Ag₂(4-TC)].

Da mesma forma que para [Ag₂(2-TC)], o espectro do [Ag₂(4-TC)] foi analisado em comparação com o espectro do ligante livre do 4-TC e ao sal de potássio [K(4-TC)]. Ao se comparar os espectros observa-se que a banda referente ao estiramento N-H está presente no espectro do ligante e no espectro do sal [K(4-TC)] respectivamente 3052 cm⁻¹ e 3264 cm⁻¹. Assim como observado no caso do complexo [Ag₂(2-TC)], no espectro complexo

[Ag₂(4-TC)], esta banda parece se tornar muito pouco intensa, de difícil atribuição, principalmente devido à presença de água no sólido. Desta forma, sugere-se também neste caso a coordenação do átomo de nitrogênio do 4-TC à prata.

As bandas referentes aos estiramentos $\nu_{\text{ass}}(\text{COO})$ e $\nu_{\text{sim}}(\text{COO})$ são encontradas no sal de potássio do 4-TC em 1583 cm⁻¹ e 1389 cm⁻¹, respectivamente (Δ 194 cm⁻¹), ao passo que para o complexo [Ag₂(4-TC)], estas bandas são encontradas, respectivamente, em 1621 cm⁻¹ e em 1383 cm⁻¹ (Δ 237 cm⁻¹). Como o valor de Δ para o complexo é maior que o valor para o valor de Δ para o composto iônico, pode-se sugerir a coordenação do grupo carboxilato também de maneira monodentada à prata [131].

4.1.2.4. Espectroscopia de ¹³C-RMN no estado sólido

Devido à baixa solubilidade dos complexos [Ag₂(2-TC)] e [Ag₂(4-TC)] tanto em solventes polares como apolares, a técnica de RMN no estado sólido foi utilizada para a caracterização estrutural dos complexos.

Os espectros de ¹³C-RMN no estado sólido do complexo [Ag₂(2-TC)] e do seu respectivo sal de potássio [K(2-TC)] são apresentados na Figura 20, com as respectivas atribuições. A numeração dos carbonos foi realizada de acordo com a estrutura esquemática apresentada na Figura 7.

Como pode ser observado, os espectros de ¹³C-RMN do sal [K(2-TC)] e do complexo [Ag₂(2-TC)] apresentam, cada um, dois sinais referentes ao núcleo de carbono C-1'. A presença destes dois sinais pode ser um indício de polimorfismo na amostra [134]. O sinal de maior intensidade referente ao átomo de carbono C-1' aparece no espectro do sal em 177,8 ppm. No espectro do complexo [Ag₂(2-TC)], por sua vez, o sinal de maior intensidade é

observado em 167,6 ppm, com $\Delta\delta = -10,2$ ppm quando comparado ao sinal de C-1' no sal. Esta diferença entre os deslocamentos químicos no complexo quando comparado ao sinal no espectro do sal, confirmam a coordenação do átomo de oxigênio do grupo carboxilato à prata, conforme já havia sido sugerido pelos estudos por espectroscopia no IV.

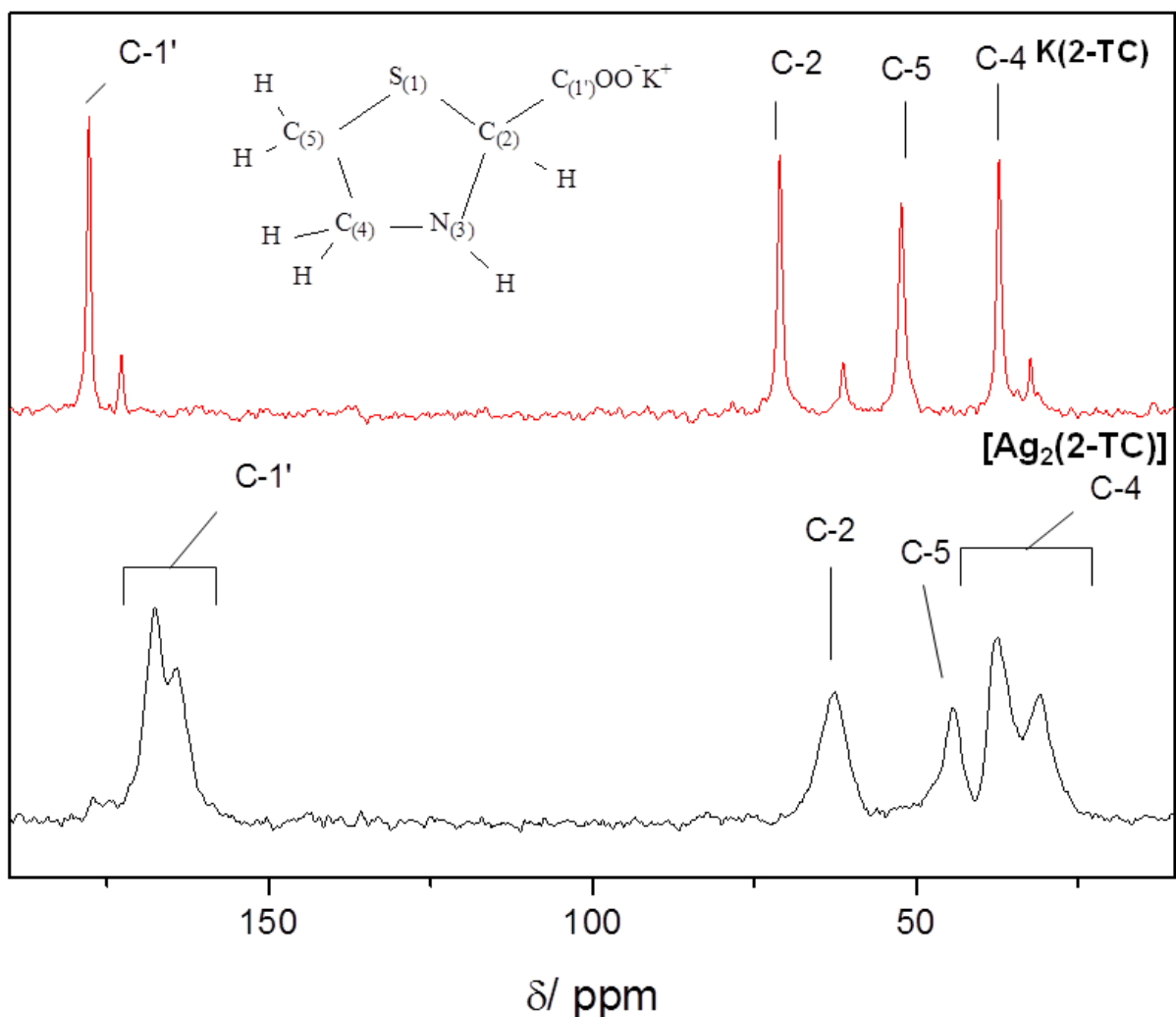


Fig. 20. Espectros ^{13}C -RMN no estado sólido de $\text{K}(2\text{-TC})$ e $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$.

Os átomos de carbono C-2 e C-5 são observados em $[\text{K}(2\text{-TC})]$ em, respectivamente, 71,0 ppm e 52,2 ppm, enquanto que, no complexo

[Ag₂(2-TC)], os sinais referentes aos átomos de carbono C-2 e C-5 são observados respectivamente em 62,7 ppm e 44,1 ppm ($\Delta\delta = -8,3$ ppm e $\Delta\delta = -8,1$ ppm, respectivamente). Estes deslocamentos sugerem a ocorrência de uma interação do ligante a um íon prata através do átomo de nitrogênio.

Pode-se observar também a presença de dois sinais referentes ao átomo de carbono C-4 para o sal de potássio e para o complexo. Os sinais de maior intensidade para K(2-TC) e [Ag₂(2-TC)] são encontrados em 37,2 ppm e 37,5 ppm, respectivamente. A presença destes dois sinais pode ser mais um indício de polimorfismo.

Entretanto, vale ressaltar que a presença de duas espécies de composição [Ag₂(2-TC)], mas com diferentes formas de coordenação do ligante à prata, incluindo a coordenação via átomo de enxofre, não pode ser descartada. Estudos futuros utilizando outras técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia no IV em baixa região, a espectrometria de massas e a espectroscopia Raman poderão auxiliar na proposição estrutural deste complexo.

Os espectros de ¹³C-RMN no estado sólido do complexo [Ag₂(4-TC)] e do sal [K(4-TC)] são apresentados na Figura 21, com as respectivas atribuições. A numeração dos carbonos foi realizada de acordo com a estrutura esquemática apresentada na Figura 7.

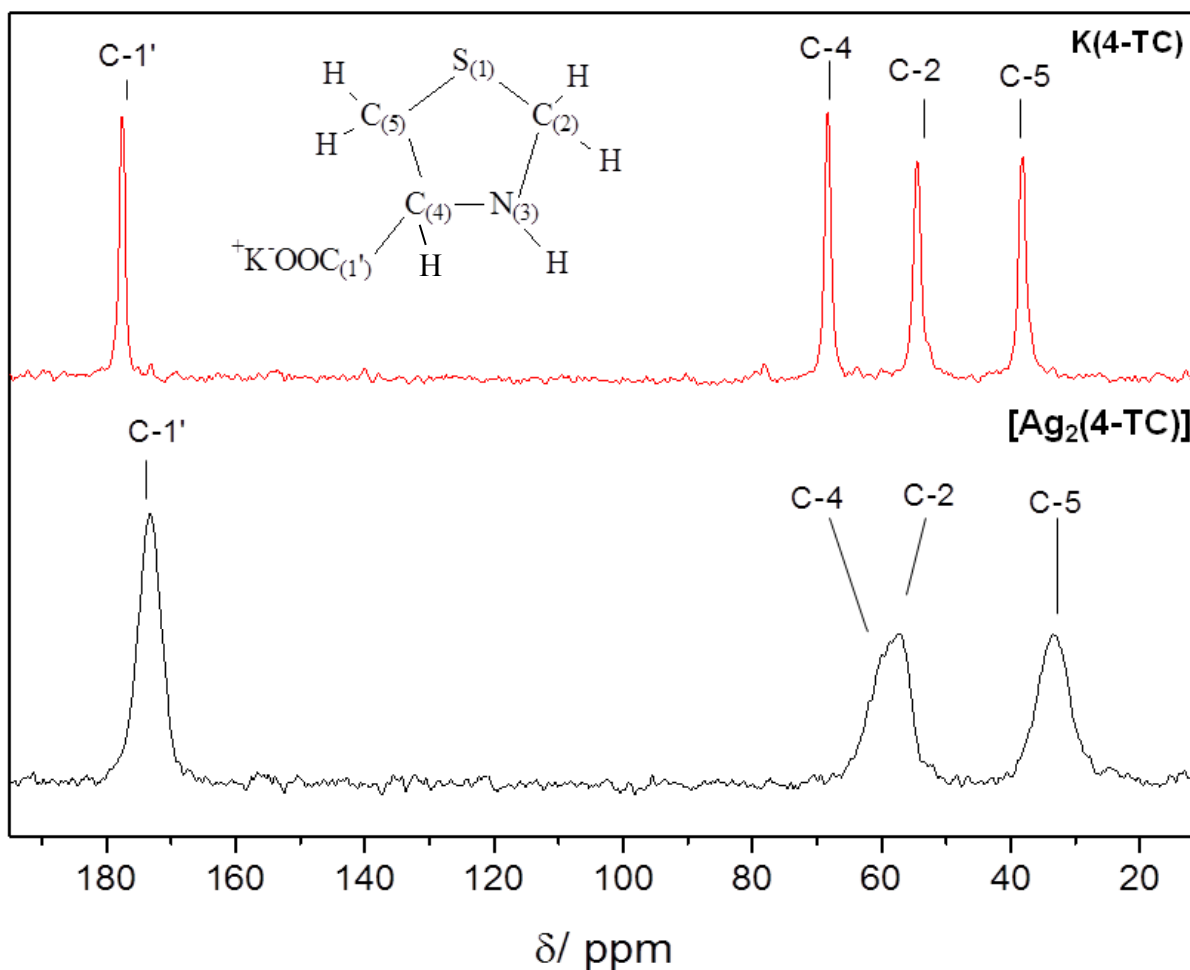


Fig. 21. Espectros ^{13}C -RMN no estado sólido de K(4-TC) e [Ag₂(4-TC)].

De acordo com os dados experimentais, o deslocamento químico do carbono C-1' no sal [K(4-TC)] e no complexo [Ag₂(4-TC)] são observados em, respectivamente 177,5 ppm e 173,3 ppm, com $\Delta\delta = -4,2$ ppm. Este deslocamento no sinal do átomo de carbono C-1' no complexo quando comparado ao sal [K(4-TC)] reforça a coordenação do átomo de oxigênio do grupo carboxilato à prata.

Os sinais referentes aos átomos de carbono C-2, C-4 e C-5 são observados no sal [K(4-TC)] em, respectivamente, 54,5 ppm, 68,3 ppm e 38,1 ppm. No complexo [Ag₂(4-TC)], os sinais referentes aos átomos de carbono

C-4 e C-2 se deslocam, formando um único sinal alargado. Este deslocamento sugere a coordenação de 4-TC via nitrogênio do anel heterocíclico.

Já o carbono C-5 é observado em 33,3 ppm no complexo ($\Delta\delta = -4,8$ ppm). Este deslocamento assim como o deslocamento referente ao carbono C-2 sugerem que possa estar ocorrendo também uma interação do ligante à prata através do átomo de enxofre. Assim como para o complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$, a coordenação do ligante à prata através do átomo de enxofre permanece incerta. Essa ligação poderia ser evidenciada através de espectroscopia vibracional no IV em baixa região se a presença da banda de estiramento Ag-S no espectro for observada.

4.1.2.5. Espectroscopia de ^{15}N -RMN no estado sólido

Os espectros de ^{15}N -RMN no estado sólido dos complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$, $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ e dos sais correspondentes K(2-TC) e K(4-TC) são apresentados nas Figuras 22 e 24, com as respectivas atribuições.

No espectro do sal K[2-TC], o sinal do átomo de nitrogênio aparece em 70 ppm. Este sinal é observado em -5,5 ppm no complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ ($\Delta\delta_{\text{N}} = 75,5$ ppm) o que confirma a coordenação do nitrogênio presente na estrutura do ligante à prata, conforme já havia sido sugerido pelas análises por espectroscopia no infravermelho e RMN de ^{13}C .

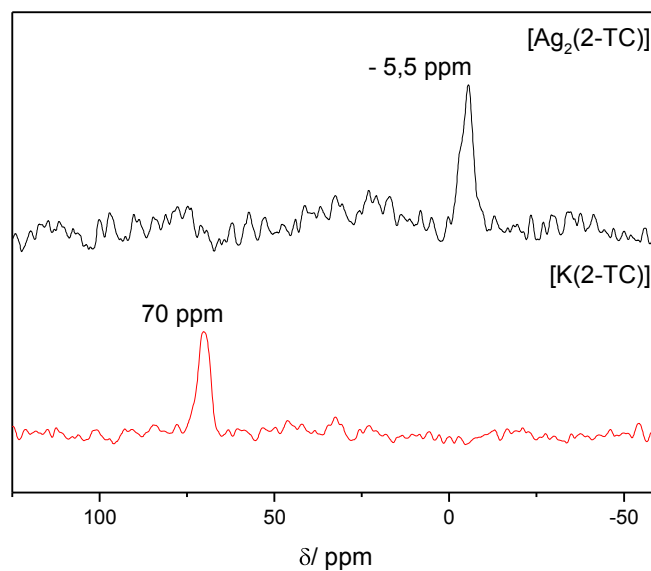


Fig. 22. Espectro de ^{15}N -RMN no estado sólido de (A) TC2 e (B) $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$.

Com base nos resultados obtidos, os seguintes modos de coordenação de TC-2 aos íons prata são apresentados na Figura 23.

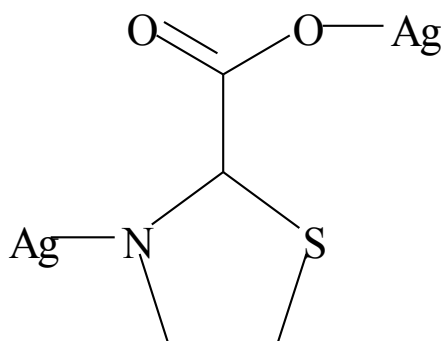


Fig.23. Proposição dos modos de coordenação para o complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$.

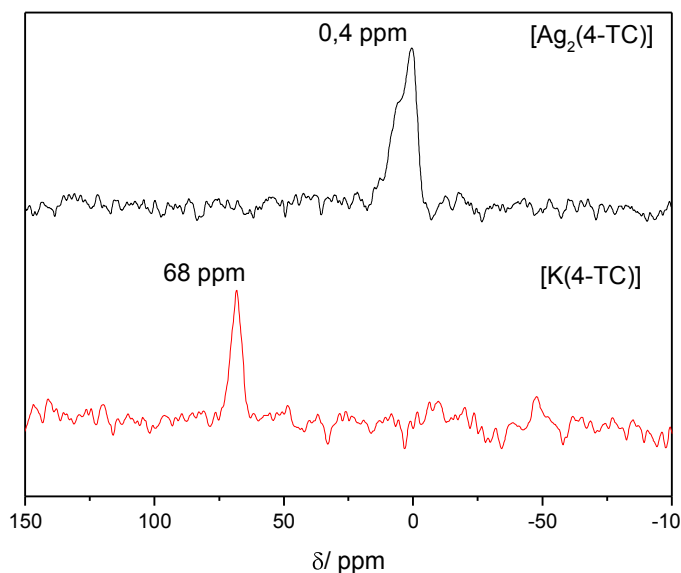


Fig. 24 Espectro de ^{15}N -RMN no estado sólido de (A) TC4 e (B) $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$.

De forma similar ao que foi observado para o complexo de prata com 2-TC, o sinal referente ao átomo de nitrogênio no sal de potássio do 4-TC é observado em 68 ppm ao passo que este sinal é observado em 0,4 ppm no complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ ($\Delta\delta_{\text{N}} - 67,6$ ppm). Esta diferença entre o deslocamento químico do átomo de nitrogênio no ligante e no complexo indica a coordenação através do nitrogênio de 4-TC a um dos íons prata.

Com base nos dados espectroscópicos obtidos, pode-se propor o seguinte modo de coordenação para o complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ apresentada na Figura 25.

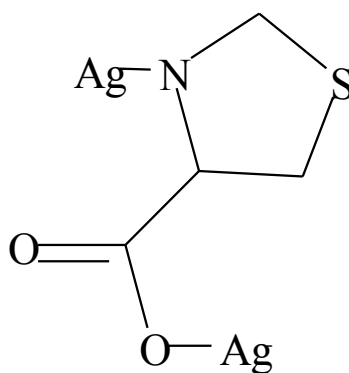


Fig.25. Proposição dos modos de coordenação para o complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$.

CAPÍTULO 5

MODELAGEM MOLECULAR

Os estudos de modelagem molecular foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas em Química de Coordenação, sob a supervisão do Prof. Dr. André Luiz B. Formiga, do Departamento de Química Inorgânica do Instituto de Química – UNICAMP.

Para a obtenção das geometrias otimizadas dos ligantes BSO, 2-TC e 4-TC assim como do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ e dos possíveis modos de coordenação dos complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ foram realizados cálculos teóricos utilizando DFT. Os resultados são apresentados a seguir.

5.1. Estrutura otimizada do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$

A molécula de BSO apresenta estrutura zwitteriônica, típica de aminoácidos [136]. Esta estrutura foi otimizada e a geometria de equilíbrio foi confirmada pela análise vibracional. As distâncias de ligação encontradas para a estrutura de BSO são comparáveis àquelas previamente reportadas na literatura para uma estrutura otimizada utilizando DFT [137].

O espectro no infravermelho teórico foi obtido através do cálculo das Hessianas, não apresentando frequências imaginárias, e foi então comparado com o espectro experimental, confirmando a estrutura de BSO otimizada no estado sólido. Para os cálculos, o modelo de PCM foi utilizado de modo a se considerar o efeito da água na descrição da forma zwitteriônica [138].

Para propósitos comparativos, a estrutura do complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ foi otimizada com o mesmo rigor teórico utilizado na otimização do ligante BSO.

Como observado nas análises térmica e elementar, o complexo apresenta uma proporção de 2:1 metal/ligante, o qual também foi observado pela análise de ESI-QTOF-MS. As técnicas espectroscópicas indicam a coordenação da BSO a um átomo de prata através do carboxilato de modo monodentado, e do nitrogênio do grupamento amina, enquanto que o outro átomo de prata aparece coordenado à sulfoximina. Então, no complexo $[Ag_2(BSO)]$ a estrutura mais estável é obtida considerando-se o número de coordenação 2 para o primeiro íon $Ag(I)$ e o número de coordenação 1 para o segundo íon, o qual está coordenado ao nitrogênio do grupo sulfoximina. A prata pode adotar diferentes números de coordenação, passando por números de coordenação um (monodentado) e dois, a números de coordenação mais altos com geometrias mais complexas, como reportado na literatura para vários complexos de prata [139-142]. Estes dados permitiram propor uma estrutura para o complexo $[Ag_2(BSO)]$, a qual também foi confirmada como o mínimo de energia. A estrutura otimizada para o complexo $[Ag_2(BSO)]$ é apresentada na Figura 26.

As distâncias calculadas para $Ag-N(H_2)$ e $Ag-O$ são respectivamente 2,075 Å e 2,032 Å, enquanto o ângulo $H_2N-Ag-O$ foi 83,0°. As distâncias para $Ag-N$ e $Ag-O$ para o átomo de prata ligado ao nitrogênio da sulfoximina são 1,992 Å e 2,679 Å. O ângulo $N-Ag-O$ é 83,1°. As distâncias de ligação, os ângulos e os ângulos diedrais detalhados são reportados no Apêndice B, Tabela B1. Os espectros simulados e experimentais na região do infravermelho para BSO e $[Ag_2(BSO)]$ são apresentados na Figura 27. Para melhor visualização dos espectros simulados, os mesmos são também apresentados separadamente dos espectros experimentais no Apêndice A, Fig. A3.

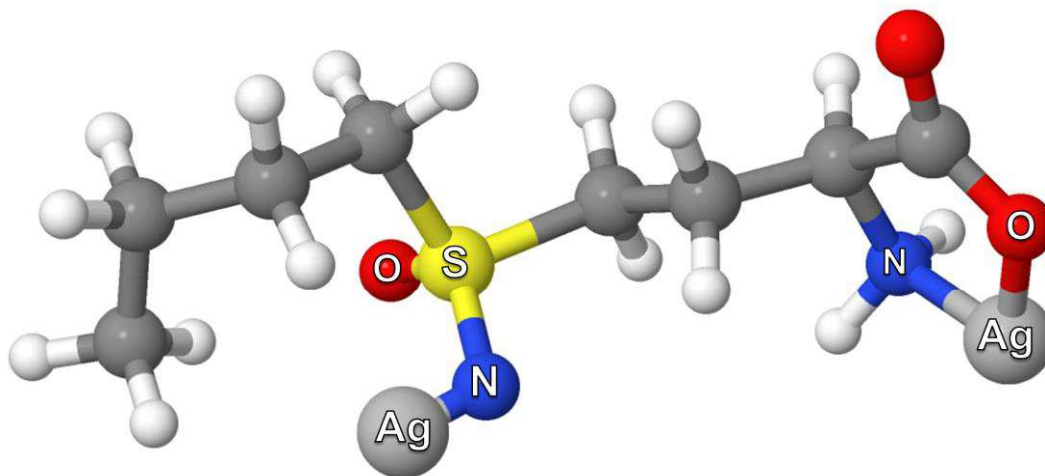


Fig. 26 Estrutura otimizada do complexo $[Ag_2(BSO)]$ obtida através de B3LYP/DFT utilizando LANL2DZ(Ag) e 6-31(d). O modelo de PCM foi utilizado de modo a simular o efeito da água da otimização geométrica.

Pode-se observar que os espectros no IV simulados do complexo $[Ag_2(BSO)]$ e do ligante livre estão em boa concordância com o espectro experimental. Estes espectros foram utilizados de modo a se confirmar as atribuições de bandas dos espectros obtidos experimentalmente. No espectro simulado de BSO pode-se observar as bandas assimétrica e simétrica de estiramento do grupo amina em $\nu_{as}(H-N-H)$ em 3461 cm^{-1} e $\nu_{sim}(H-N-H)$ em 3356 cm^{-1} . A banda de combinação característica referente à deformação assimétrica de NH_3^+ e a oscilação torcional do mesmo grupo aparece em 2562 cm^{-1} . A diferença entre os valores experimentais e simulados para esta banda de combinação é maior que o usual e pode ser atribuída a interações intermoleculares no estado sólido [131]. A banda referente ao estiramento simétrico $\nu(COO^-)$ aparece em um modo de combinação com a deformação $\delta(NH_2)$ em 1345 cm^{-1} . A banda resultante do $\nu(COO^-)$ assimétrico, por sua vez, aparece em 1699 cm^{-1} ao passo que $\delta(NH_2)$ aparece em 1582 cm^{-1} .

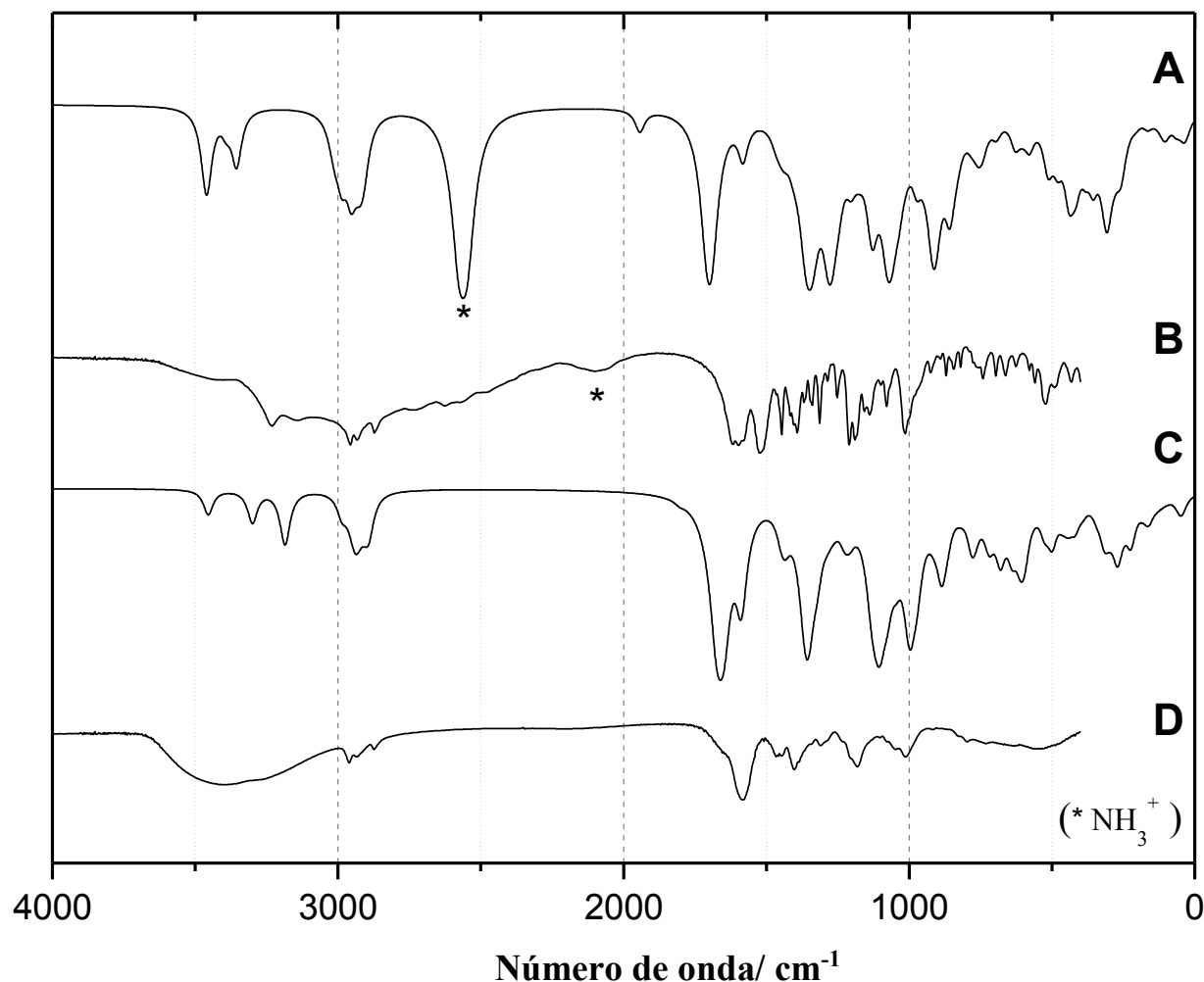


Fig. 27. Espectros no infravermelho simulados de (A) BSO e do (C) complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. Os espectros experimentais de (B) BSO e do (D) complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ são apresentados para comparação.

Os modos vibracionais de combinação compreendendo a deformação S-N-H e os estiramentos S=O e S=N aparecem em 1128 cm^{-1} . O modo $\delta(\text{S-N-H})$ da sulfoximina também contribui para a banda em 1072 cm^{-1} ao passo que o estiramento S=N é observado em 913 cm^{-1} . No espectro simulado de $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$ os modos de estiramento assimétrico e simétrico $\nu_{\text{as}}(\text{H-N-H})$ e $\nu_{\text{sim}}(\text{H-N-H})$ aparecem em 3300 cm^{-1} e 3186 cm^{-1} . As bandas atribuídas ao

modo de combinação referente aos estiramentos S=O e S=N da sulfoximina aparecem em 997 cm^{-1} e 1104 cm^{-1} . Quando comparado ao espectro simulado de BSO livre, estas bandas no complexo estão deslocadas em -24 cm^{-1} e -84 cm^{-1} , respectivamente. A banda $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$ é observada em 1660 cm^{-1} , sendo deslocada em -39 cm^{-1} quando comparada ao ligante livre.

5.2. Estudo preliminar dos possíveis modos de coordenação de $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$

Com o intuito de se determinar os possíveis modos de coordenação de $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ no sólido, as estruturas dos ligantes livres 2-TC e 4-TC foram otimizadas por DFT. Para os cálculos, o modelo de PCM foi utilizado de modo a se considerar o efeito da água na descrição das estruturas [138]. As distâncias de ligação encontradas para a estrutura de 4-TC são comparáveis às distâncias encontradas na estrutura cristalina [143].

Para propósitos comparativos, os possíveis modos de coordenação dos complexos foram otimizados com o mesmo rigor teórico utilizado na otimização dos ligantes 2-TC e 4-TC. Por se tratar de estudos preliminares, o cálculo das Hessianas e a simulação do espectro vibracional não foram realizados até o momento. Estes cálculos serão realizados futuramente e apresentados nas publicações científicas.

De acordo com as análises elementares e termogravimétricas, ambos os complexos de prata com 2-TC e 4-TC apresentam proporção 2:1 metal/ligante. Em ambos os casos, os espectros no infravermelho de $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ indicam a coordenação dos íons prata através dos átomos de nitrogênio e do grupo carboxilato. Os espectros de ^{13}C -RMN e ^{15}N -RMN no estado sólido dos complexos por sua vez, confirmaram os referidos modos de

coordenação. Entretanto, vale ressaltar mais uma vez que a coordenação através dos átomos de enxofre não pode ser totalmente descartada.

De modo a se determinar as possíveis maneiras pelas quais 2-TC e 4-TC estão coordenadas aos íons Ag(I) no sólido, estudos preliminares através de DFT foram realizados. A proposição de modos de coordenação foram baseados nos dados espectroscópicos obtidos para os complexos $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$, bem como em dados estruturais contidos na literatura [111,113,115-117].

Desta forma, os estudos preliminares relativos aos modos de coordenação de $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ no sólido, foram conduzidos a partir das proposições iniciais dos modos de coordenação esquematizados, nas Figuras 28 e 29, respectivamente. Estas proposições foram submetidas à otimização estrutural e os resultados são apresentados a seguir.

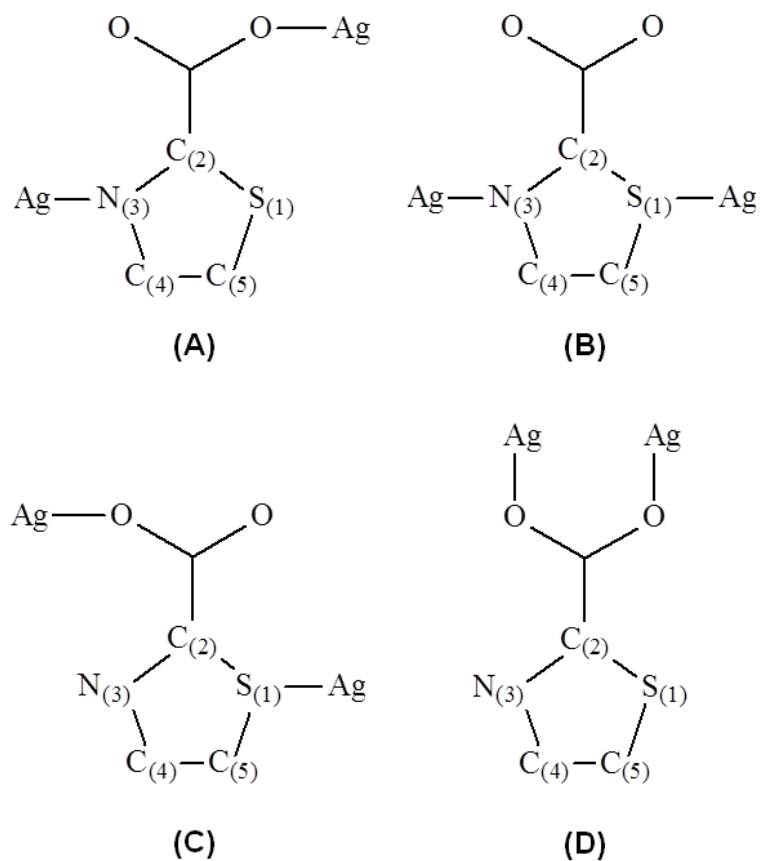


Fig. 28. Possíveis modos de coordenação simulados para o complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$. A insaturação do carboxilato foi omitida.

No que se refere aos possíveis modos de coordenação no sólido de $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$, após a otimização geométrica, somente os modos (A) e (B) mantiveram a integridade estrutural do ligante precursor (Figura 30). Estes dados iniciais sugerem que os demais modos de coordenação - (C) e (D) - apresentam baixa probabilidade de existência no sólido, enquanto na forma monomérica, por serem energeticamente desfavoráveis. As imagens referentes às estruturas finais dos casos (C) e (D) não são apresentadas.

No modo (A) um íon Ag(I) está coordenado através do nitrogênio de 2-TC ao passo o outro íon Ag(I) está coordenado de maneira monodentada através de um oxigênio do carboxilato.

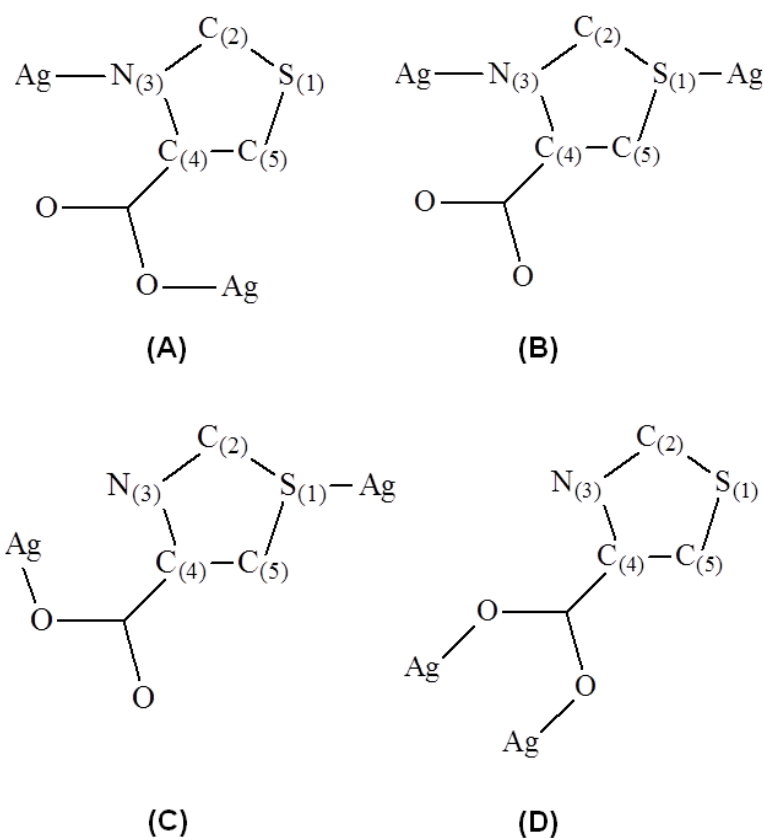


Fig. 29. Possíveis modos de coordenação simulados para o complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$. A insaturação do carboxilato foi omitida.

De maneira interessante, a estrutura referente ao modo (B) convergiu, ao final do tempo de otimização, de modo a formar a mesma estrutura referente ao modo (A), diferindo na conformação do íon Ag(I) ligado ao oxigênio. O cálculo do modo (B) foi submetido de maneira que um íon prata estivesse coordenado através do átomo de enxofre enquanto o outro íon estivesse

coordenado de maneira monodentada através de um átomo de oxigênio do carboxilato. Entretanto, o cálculo convergiu de modo que o íon ligado ao enxofre na geometria de entrada fosse coordenado pelo oxigênio do carboxilato. O outro íon Ag(I) permaneceu coordenado através no nitrogênio do anel heterocíclico.

As distâncias calculadas para Ag-N, Ag-O e Ag-O' para o modo (A) são respectivamente 2,18 Å, 2,60 Å e 2,19 Å. Os ângulos N-Ag-O e C1'-O-Ag e C1'-O'-Ag são 79,6 °, 101,8 ° e 102,3 °, respectivamente.

As distâncias calculadas para Ag-N, Ag-O e Ag-O' para o modo (B) por sua vez são respectivamente, 2,24 Å, 2,38 Å e 2,27 Å. Os ângulos N-Ag-O e C1'-O-Ag e C1'-O'-Ag referentes ao modo (C) são 76,0 °, 115,3 ° e 122,8 °, respectivamente. Os dados detalhados contendo as distâncias de ligação, os ângulos e os ângulos diedrais entre os átomos do modo (A) e (B) são apresentados no Apêndice B, Tabela B2.

As duas geometrias finais (A) e (B) apresentaram a diferença em energia de

$$En(A) - En(B) = + 0,043 \text{ Hartree} = + 26,9 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}.$$

Como esta diferença é maior do que a energia térmica à temperatura ambiente ($En = kT$, onde k é a constante de Boltzman e T é a temperatura), pode-se dizer que a conformação (B) é a conformação mais estável.

Futuramente, o cálculo das Hessianas e a simulação do espectro teórico no infravermelho referente aos modos de coordenação (A) e (B) serão realizados no sentido de se confirmar a prevalência de uma das estruturas no sólido. Vale ressaltar também que a baixa solubilidade do complexo pode ser um indício de formação de estruturas estendidas no sólido. Desta forma,

estruturas contendo um maior número de unidades de repetição também serão otimizadas.

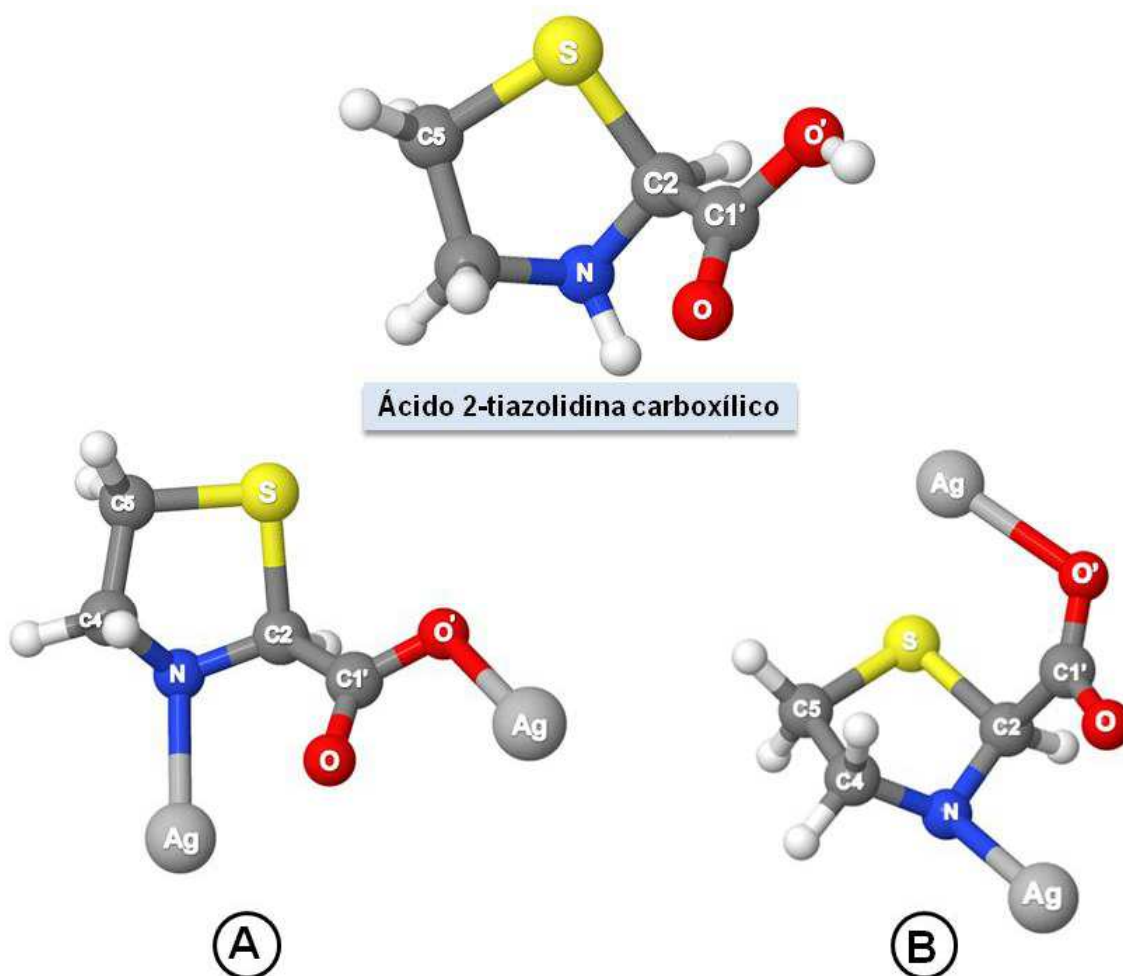


Fig. 30. Estruturas otimizadas de 2-TC e dos possíveis modos de coordenação (A) e (B).

No caso dos possíveis modos de coordenação do complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$, somente o modo (A) manteve a integridade estrutural do ligante precursor. (Figura 31) Estes dados iniciais sugerem que os demais modos de coordenação – (B), (C) e (D) - apresentam baixa probabilidade de existência

no sólido, enquanto na forma monomérica, por serem energeticamente desfavoráveis. As imagens referentes às estruturas finais dos casos (B), (C) e (D) não são apresentadas.

As distâncias calculadas para Ag-N, Ag-O e Ag-O' para o modo (A) por sua vez são respectivamente, 2,14 Å, 2,31 Å e 2,55 Å. Os ângulos Ag-N-O e C1'-O-Ag e C1'-O'-Ag referentes ao modo (C) são 74,8 °, 106,1 ° e 92,8 °, respectivamente. Os dados detalhados contendo as distâncias de ligação, os ângulos e os ângulos diedrais entre os átomos do modo (A) e (C) são apresentados no Apêndice B, Tabela B3.

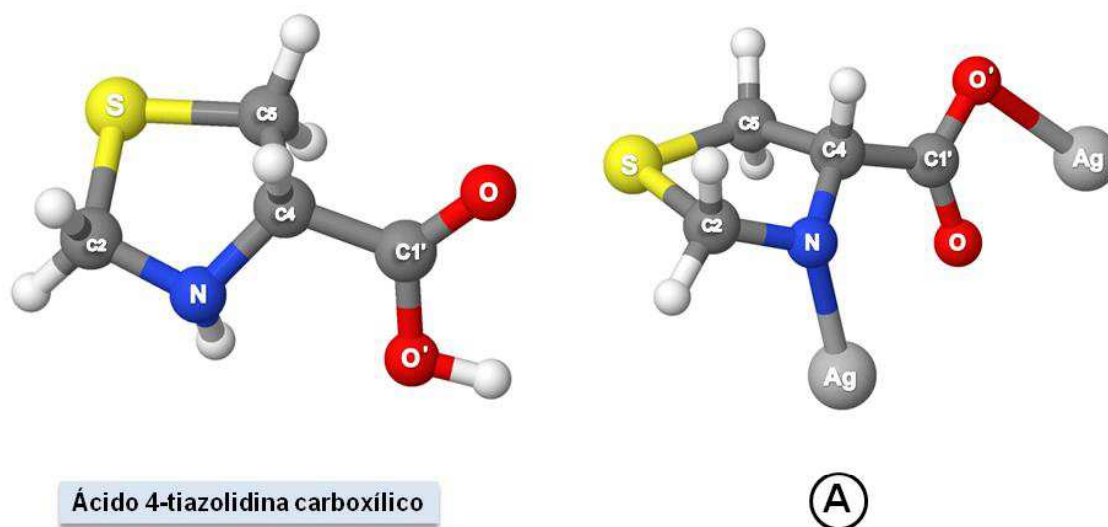


Fig. 31. Estruturas otimizadas de 4-TC e do possível modo de coordenação (A).

Assim como para o complexo $[Ag_2(2-TC)]$, a baixa solubilidade apresentada também no complexo $[Ag_2(4-TC)]$ pode ser um indicio de formação de estruturas estendidas no sólido. Desta forma, estruturas contendo um maior número de unidades de repetição também serão otimizadas.

CAPÍTULO 6

ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os ensaios de avaliação da atividade antibacteriana dos complexos $[Ag_2(BSO)]$, $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisas do Prof. Dr. Marcelo Lancellotti do Instituto de Biologia da UNICAMP. Os resultados são apresentados a seguir.

6.1. Complexo $[Ag_2(BSO)]$

Inicialmente, o complexo foi avaliado através do método de difusão em placa (antibiograma). A atividade do complexo sobre as cepas bacterianas foi confirmada pelos valores estimados de CIM (100 % de inibição de crescimento bacteriano), sendo que o complexo mostrou-se ativo em concentrações variando entre 3,125 – 100,0 $\mu g \cdot mL^{-1}$. Os resultados obtidos mostraram uma elevada atividade antibacteriana do complexo $[Ag_2(BSO)]$ frente às bactérias Gram-negativas, sendo comparável ao efeito inibitório do antibiótico padrão cloranfenicol, usado como controle positivo. O complexo $[Ag_2(BSO)]$ foi menos ativo que o antibiótico padrão vancomicina nos estudos de CIM para as cepas Gram-positivas *S. aureus* BEC9393, *S. aureus* Rib 1 e *S. aureus* ATCC 25923. A BSO livre não apresentou atividade antibacteriana sob as mesmas condições experimentais. Os perfis de sensibilidade aos antibióticos padrões e ao complexo são listados na Tabela 2.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$. Para as cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas foram utilizados, respectivamente, cloranfenicol e vancomicina como controle positivo.

Composto	Concentração inibitória mínima (CIM/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)					
	Gram-negativas			Gram-positivas		
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i> 31NM	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> BEC 9393	<i>S. aureus</i> Rib 1	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
$[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$	3,125	3,125	3,125	100	100	100
Cloranfenicol	50,0	12,5	3,125	-	-	-
Vancomicina	-	-	-	<10,0	<10,0	<10,0

Os resultados observados nos permitem prosseguir nos estudos com este complexo, avaliando agora suas citotoxicidades frente a células saudáveis, com o intuito de se calcular o índice terapêutico destes complexos, visando sua aplicação na forma de cremes ou pomadas em infecções no caso de ulcerações de pele.

6.2. Complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$

Até o momento, os referidos complexos tiveram seus valores de CIM estimados frente às cepas Gram-positivas *S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* Rib 1 e *S. aureus* BEC, bem como sobre cepas Gram-negativas de *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* 31NM. Os perfis de sensibilidade aos antibióticos padrões e aos complexos são listados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração inibitória mínima para os complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$. Para as cepas bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas foram utilizados, respectivamente, cloranfenicol e vancomicina como controles positivos.

Composto	Concentração inibitória mínima (CIM/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				
	Gram-negativas		Gram-positivas		
	<i>P. aeruginosa</i> 31NM	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> BEC 9393	<i>S. aureus</i> <i>Rib 1</i>	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
$[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$	<3,125	>100,0	3,125	3,125	<3,125
$[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$	<3,125	> 100,0	3,125	3,125	<3,125
Cloranfenicol	12,5	3,125	-	-	-
Vancomicina	-	-	<10,0	<10,0	<10,0

Como pode ser observado, os complexos apresentaram concentração inibitória mínima para a cepa Gram-negativa de *P. aeruginosa* 31NM menor do que a concentração do antibiótico padrão cloranfenicol nas mesmas condições experimentais. Para a cepa Gram-negativa *E. coli* ATCC25922, entretanto, o composto não apresentou atividade. Para todas as cepas Gram-positivas de *S. aureus* os complexos apresentaram CIM menor que o antibiótico padrão, sendo também mais efetivos que o mesmo. Os ligantes livres não apresentaram atividade antibacteriana sob as mesmas condições experimentais.

Assim como para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, os resultados observados nos permitem prosseguir nos estudos com este complexo, avaliando agora suas citotoxicidades frente às células saudáveis, com o intuito de calcular o índice terapêutico destes complexos, visando sua aplicação na forma de cremes ou pomadas em infecções no caso de ulcerações de pele.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, três complexos inéditos de prata com os ligantes BSO, 2-TC e 4-TC foram sintetizados e caracterizados.

As análises elementares, termogravimétricas e por espectrometria de massas mostram uma composição 2:1 metal/ligante para o complexo $[\text{Ag}_2(\text{BSO})]$, apresentando fórmula molecular $\text{Ag}_2\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$. Os resultados espectroscópicos de ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ RMN no estado sólido, infravermelho e Raman sugerem a coordenação da BSO a um átomo de prata através dos grupamentos amino e carboxilato, enquanto que o segundo átomo de prata está coordenado pelo nitrogênio da sulfoximina.

Os estudos por DFT suportam a geometria proposta. As análises biológicas revelaram que o complexo é efetivo sobre todas as bactérias testadas, sendo mais efetivo contra as cepas Gram-negativas. Como fruto do trabalho de síntese, caracterização e estudo das atividades antibacterianas deste complexo, um artigo científico foi publicado na revista RSC Advances (F.R.G. Bergamini, M.A. Ferreira Jr., R.E.F. de Paiva, A.F. Gomes, F.C. Gozzo, A.L.B. Formiga, A.F.C. Corbi, I.O. Mazali, D.A. Alves, M. Lancellotti, P.P. Corbi, *A binuclear silver complex with L-buthionine sulfoximine: synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial assays.*, RSC Advances. 2 (2012) 10372–10379. DOI: 10.1039/c2ra21433d).

Já os resultados de análise elementar obtidos para os complexos contendo 2-TC ou seu isômero 4-TC também sugerem uma estrutura binuclear para os mesmos, com fórmulas moleculares $\text{Ag}_2\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_2\text{S}\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Ag}_2\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_2\text{S}\cdot 0,75\text{H}_2\text{O}$, respectivamente.

Os resultados obtidos por espectroscopia no infravermelho, ^{13}C -RMN e ^{15}N -RMN no estado sólido confirmam que um dos pontos de coordenação dos ligantes 2-TC ou 4-TC à prata é o átomo de nitrogênio do anel heterocíclico.

Os resultados obtidos por espectroscopia no infravermelho permitem propor que a coordenação dos ligantes ocorre também através do átomo de oxigênio do grupo carboxilato, de maneira monodentada. Para os complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$, o deslocamento químico do átomo de carbono carboxílico, no espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido, também corrobora com os resultados por espectroscopia no infravermelho quanto à coordenação do átomo de oxigênio deste grupo ao íon metálico. Entretanto, uma possível participação do átomo de enxofre na coordenação do ligante ao metal também não pode ser descartada.

Os estudos preliminares por DFT suportam os modos de coordenação propostos. No caso do complexo $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ os dois modos possíveis apresentam o ligante 2-TC coordenado de maneira monodentada a um íon prata através do carboxilato e ao outro íon prata através do nitrogênio, diferindo-se somente quanto à posição do íon Ag(I) ligado ao oxigênio em relação ao restante da molécula. O modo no qual o íon Ag(I) ligado ao oxigênio está mais próximo ao enxofre da estrutura se mostrou o mais estável.

No caso do complexo $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$, somente o modo de coordenação no qual o nitrogênio do anel tiazolidínico se coordena a um íon prata e o oxigênio do grupo carboxilato de 4-TC se coordena de maneira monodentada ao outro íon se mostrou energeticamente favorável por DFT, e concorda com os dados espectroscópicos obtidos.

Os ensaios antibacterianos indicam que os complexos $[\text{Ag}_2(2\text{-TC})]$ e $[\text{Ag}_2(4\text{-TC})]$ apresentaram pronunciada capacidade de inibição de crescimento

bacteriano frente a cepas Gram-positivas de *S. aureus* e cepas Gram-negativas de *P. aeruginosa*

PERSPECTIVAS

Os modos de coordenação dos complexos $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ foram elucidados através de técnicas espectroscópicas e confirmados por estudos preliminares por DFT. De modo a se determinar a estrutura mais provável para os complexos, análises espectroscópicas adicionais no infravermelho em baixa região ($150 - 400\text{ cm}^{-1}$) e Raman serão realizadas. Os estudos DFT prosseguirão através do cálculo das Hessianas e a simulação dos espectros vibracionais referentes às estruturas já otimizadas assim como novas proposições estruturais considerando um maior número de unidades de repetição serão otimizadas.

Devido à atividade antibacteriana considerável dos três complexos $[Ag_2(BSO)]$, $[Ag_2(2-TC)]$ e $[Ag_2(4-TC)]$ frente às cepas bacterianas testadas, com destaque para as cepas Gram-negativas, serão realizados estudos frente a outras linhagens bacterianas como também estudos *in vitro*, relacionados à citotoxicidade do composto utilizando células epiteliais de modo a determinar viabilidade celular dos mesmos. Em adição, para melhor compreender a ação destes complexos, estudos relativos aos possíveis mecanismos de ação dos íons prata(I) referentes a sua possível ligação ao DNA ou interação membrana celular poderão ser realizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] D. Chen, V. Milacic, M. Frezza, Q.P. Dou, *Metal complexes, their cellular targets and potential for cancer therapy*, Curr. Pharm. Design. 15 (2009) 777–791.
- [2] R. Bakhtiar, E.-I. Ochiai, *Pharmacological applications of inorganic complexes*, Gen. Pharmacol. 32 (1999) 525–540.
- [3] C.A. Moyer, L. Brentano, D.L. Gravens, H.W. Margraf, W.W. Monafo, *Treatment of large human burns with 0.5 % silver nitrate solution*, Arch. Surg. 90 (1965) 812–867.
- [4] I. Ott, *On the medicinal chemistry of gold complexes as anticancer drugs.*, Coord. Chem. Rev. 253 (2009) 1670–1681.
- [5] C.L.J. Fox, *Silver sulfadiazine - a new topical therapy for Pseudomonas in burns. Therapy of Pseudomonas infection in burns*, Arch. Surg. 96 (1968) 184–188
- [6] L. Kelland, *The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy*, Nature Rev. Cancer 7 (2007) 573–584.
- [7] C.G. Hartinger, A.A. Nazarov, S.M. Ashraf, P.J. Dyson, B.K. Keppler, *Carbohydrate-metal complexes and their potential as anticancer agents*, Curr. Med. Chem. 15 (2008) 2574–2591.
- [8] P.S. Klein, D.A. Melton, *A molecular mechanism for the effect of lithium on development*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93 (1996) 8455–8459.
- [9] P.G. Bowler, B. Davies, *The microbiology of infected and noninfected ulcers*, Int. J. Dermatol. 38 (1999) 573–578.
- [10] S.L. Percival, P.G. Bowler, D. Russell, *Bacterial resistance to silver wound care*, J. Hosp. Infect. 60 (2005) 1–7.
- [11] Disponível em <http://www.who.int/> . Consulta em janeiro de 2013.

-
- [12] Drews, J., *Drug discovery: A historical perspective*, Science. 287 (2000) 1960–1964.
- [13] (a) A. Fleming, *The antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae*, British J. Exp. Pathol. 10 (1929) 226–236. (b) I. Chopra, *The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern?*, J. Antimicrob. Chemother. 59 (2007) 587–590.
- [14] R.P. Elander, *Industrial production of β -lactam antibiotics*, App. Microbiol. Biotechnol. 61 (2003) 385–392.
- [15] P.R. Murray, K.S. Rosenthal, M.A. Pfaller, *Microbiologia médica*, 6th ed., Elsevier, 2009.
- [16] M.S. Butler, A.D. Buss, *Natural products - the future scaffolds for novel antibiotics?*, Biochem. Pharmacol. 71 (2006) 919–929.
- [17] K. Rafla, E.E. Tredget, *Infection control in the burn unit*, Burns 37 (2011) 5–15.
- [18] D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, R. Lindsay, *Burn wound infections*, Clin. Microbiol. Rev. 19 (2006) 403–434.
- [19] P. Appelgren, V. Bjornhagen, K. Bragderyd, C.E. Jonsson, U. Ransjo, *A prospective study of infections in burn patients*, Burns. 28 (2002) 39–46.
- [20] R.L. Sheridan, *Evaluating and managing burn wounds*, Dermatol. Nurs. 12 (2000) 17–18.
- [21] J. M. Santaniello, F. A. Luchette, T. J. Esposito, H. Gunawan, R. L. Reed, K. A. Davis, R. L. Gamelli, *Ten year experience of burn, trauma, and combined burn/trauma injuries comparing outcomes*, J. Trauma. 57 (2004) 696–700.
- [22] B.S. Atiyeh, S.W. Gunn, S.N. Hayek, *State of the art in burn treatment*, World J. Surg. 29 (2005) 131–148.
- [23] R.E. Barrow, M. Spies, L.N. Barrow, D.N. Herndon, *Influence of demographics and inhalation injury on burn mortality in children*, Burns 30 (2004) 72–77.

-
- [24] R.L. Bang, P.N. Sharma, S.C. Sanyal, I. al Najjadah, *Septicaemia after burn injury: a comparative study*, Burns 28 (2002) 746–751.
- [25] C.C. Baker, C.L. Miller, D.D. Trunkey, *Predicting fatal sepsis in burn patients*, J. Trauma. 19 (1979) 641–648.
- [26] S.A. Ragheb, S. Qaryoute, H. El-Muhtased, *Mortality of burn injuries in Jordan*, Burns 10 (1984) 439–443.
- [27] R.L. Bang, J.K. Saif, *Mortality from burns in Kuwait*, Burns 15 (1989) 315–321.
- [28] U. Altoparlak, S. Erol, M.N. Akcay, F. Celebi, A. Kadanali, *The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients.*, Burns. 30 (2004) 660–664.
- [29] A.L. Demain, S. Sanchez, *Microbial drug discovery: 80 years of progress*, J. Antibiot. 62 (2009) 5–16.
- [30] K. Nishaminy, *Tigecycline: a new glycylcycline antimicrobial agent*, Am. J. Health-Syst. Pharm. 63 (2006) 1235–1243.
- [31] E.E. Tredget, H.A. Shakowsky, R. Rennie, R.E. Burrell, S. Logsetty, *Pseudomonas infections in the thermally injured patient*, Burns. 30 (2004) 3–26.
- [32] N. Nikolis, C. Methenitis, G. Pneumatikakis, *Studies on the interaction of altromycin B and its platinum(II) and palladium(II) metal complexes with calf thymus DNA and nucleotides*, J. Inorg. Biochem. 95 (2003) 177–193.
- [33] S.A. Jones, P.G. Bowler, M. Walker, D. Parsons, *Controlling wound bioburden with a novel silver-containing hydrofiber dressing*, Wound Repair Regen. 12 (2004) 288–294.
- [34] S.A.S. Shah, M. Nag, T. Kalagara, S. Singh, S.V. Manorama, *Silver on PEG-PU-TiO₂ polymer nanocomposite Films: An excellent system for antibacterial applications*, Chem. Mater. 20 (2008) 2455–2460.
- [35] C. Pettinari, F. Marchetti, G. Lupidi, L. Quassinti, M. Bramucci, D. Petrelli, L. A. Vitali, M. F. C. G. da Silva, L. M. D. R. S. Martins, P.

Smolénski, A. J. L. Pombeiro, *Synthesis, antimicrobial and antiproliferative activity of novel silver(I) tris(pyrazolyl)methanesulfonate and 1,3,5-Triaza-7-phosphadamantane complexes*, Inorg. Chem. 50 (2011) 11173–11183.

[36] H.-J. Hao, D. Sun, Y.-H. Li, R.-B. Huang, L.-S. Zheng, *Effect of different carboxylates on a series of Ag(I) coordination compounds with benzoguanamine ligand*, Cryst. Growth Des. 11 (2011) 3564–3578.

[37] H.J. Klasen, *Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses*, Burns 26 (2000) 117–130.

[38] B.S. Atiyeh, M. Costagliosa, S.N. Hayek, S.A. Dibo, *Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature*, Burns 33 (2007) 139–148.

[39] K.H.O. Pelkonen, H. Heinonen-Tanski, O.O.P. Hanninen, *Accumulation of silver from drinking water into cerebellum and musculus soleus in mice*, Toxicology 186 (2003) 151–157.

[40] C.L. Fox, S.M. Modak, *Mechanism of silver sulfadiazine action on burn wound infections*, Antimicrob. Agents Chemother. 5 (1974) 582–588.

[41] R.S. Ward, J.R. Saffle, *Topical agents in burn and wound care*, Phys. Ther. 75 (1995) 526–538.

[42] C.L.J. Fox, *Silver sulfadiazine - a new topical therapy for Pseudomonas in burns. Therapy of Pseudomonas infection in burns*, Arch. Surg. 96 (1968) 184–188.

[43] R. Mehrotra, S.N. Shukla, P. Gaur, A. Dubey, *Identification of pharmacophore in bioactive metal complexes: Synthesis, spectroscopic characterization and application*, Eur. J. Med. Chem. 50 (2012) 149–153.

[44] E. Chartone-Souza, T.L. Loyola, M. Bucciarelli-Rodriguez, M.A. de B.C. Menezes, N.A. Rey, E.C. Pereira-Maia, *Synthesis and characterization of a tetracycline-platinum (II) complex active against resistant bacteria*, J. Inorg. Biochem. 99 (2005) 1001–1008.

[45] M. Ibrahim, F. Wang, M.-M. Lou, G.-L. Xie, B. Li, Z. Bo, et al., *Copper as an antibacterial agent for human pathogenic multidrug resistant*

Burkholderia cepacia complex bacteria, J. Biosci. Bioeng. 112 (2011) 570–576.

[46] B. Biersack, R. Diestel, C. Jagusch, F. Sasse, R. Schobert, *Metal complexes of natural melophlins and their cytotoxic and antibiotic activities*, J. Inorg. Biochem. 103 (2009) 72–76.

[47] R.G. de Lima, A.B.P. Lever, I.Y. Ito, R.S. da Silva, *Antifungal activity of novel catecholamine ruthenium(III) complexes*, Trans. Met. Chem. 28 (2003) 272–275.

[48] S. Pal, E.J. Yoon, S.H. Park, E.C. Choi, J.M. Song, *Metallopharmaceuticals based on silver(I) and silver(II) polydiguanide complexes: Activity against burn wound pathogens*, J. Antimicrob. Chemother. 65 (2010) 2134–2140.

[49] Y. Li, X. Dong, Y. Gou, Z. Jiang, H.-L. Zhu, *Synthesis, characterization, and antibacterial activity of two silver(I) compounds with 4-dimethylaminopyridine*, J. Coord. Chem. 64 (2011) 1663–1672.

[50] N.C. Kasuga, R. Yoshikawa, Y. Sakai, K. Nomiya, *Syntheses, structures, and antimicrobial activities of remarkably light-stable and water-soluble silver complexes with amino acid derivatives, silver(I) N-acetylmethioninates*, Inorg. Chem. 51 (2012) 1640–1647.

[51] A. Cuin, A.C. Massabni, G.A. Pereira, C.Q.F. Leite, F.R. Pavan, R. Sesti-Costa, T. A. Heinrich, C. M. Costa-Neto, *6-Mercaptopurine complexes with silver and gold ions: Anti-tuberculosis and anti-cancer activities*, Biomed. Pharmacother. 65 (2011) 334–338.

[52] C. Abbehausen, T.A. Heinrich, E.P. Abrão, C.M. Costa-Neto, W.R. Lustri, A.L.B. Formiga, P. P. Corbi, *Chemical, spectroscopic characterization, DFT studies and initial pharmacological assays of a silver(I) complex with N-acetyl-L-cysteine*, Polyhedron 30 (2011) 579–583.

[53] R.E.F. Paiva, C. Abbehausen, A.F. Gomes, F.C. Gozzo, W.R. Lustri, A.L.B. Formiga, P. P. Corbi, *Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial assays of a novel silver(I) complex with the anti-inflammatory nimesulide*, Polyhedron 36 (2012) 112–119.

-
- [54] S. Efrima, B.V. Bronk, *Silver colloids impregnating or coating bacteria*, J. Phys. Chem. B 102 (1998) 5947–5950.
- [55] M. Bellatone, H.D. Williams, L.L. Hench, *Broad-spectrum bactericidal activity of Ag₂O-doped bioactive glass*, Antimicrob. Agents Chemother. 46 (2002) 1940–1945.
- [56] P. A. Goddard, T. A. Bull, *Accumulation of silver by growing and non-growing populations of Citrobacter intermedius B6*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 31 (1989) 314–319.
- [57] R.B. Thurman, C.P. Gerba, *The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses*, CRC Crit. Rev. Environ. Control 18 (1989) 295–315.
- [58] R.M. Slawson, M.I. van Dyke MI, H. Lee , J.T. Trevors, *Germanium and silver resistance, accumulation, and toxicity in microorganisms*, Plasmid 27 (1992) 72–79.
- [59] W.K. Jung, H.C. Koo, K.W. Kim, S. Shin, S.H. Kim, Y.H. Park, *Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli.*, Appl. Environm. Microbiol. 74 (2008) 2171–2178.
- [60] Q.L. Feng, J. Wu, G.Q. Chen, F.Z. Cui, T.N. Kim, J.O. Kim, *A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus*, J. Biomed. Mater. Res. A 52 (2000) 662 - 668.
- [61] I. Zeiri, B.V. Bronk, Y. Shabtai, J. Eichler, S. Efrima, *Surface-enhanced Raman spectroscopy as a tool for probing specific biochemical components in bacteria*, Appl.Spectrosc. 58 (2004) 33 - 40
- [62] S.Y. Liao, D.C. Read, W.J. Pugh , J.R. Furr, A.D. Russell, *Interaction of silver-nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions*, Lett. Appl. Microbiol. 25 (1997) 279–283.
- [63] P.J. Snodgrass, B.I. Valle, F.L. Hoch, *Effects of silver and mercurials on yeast alcohol dehydrogenase*, J. Biol. Chem. 235 (1960) 504–508.
- [64] Russel, A.D. and Hugo, W. B. *Antimicrobial activity and action of silver*. Prog. Med. Chem. 31 (1994) 351–370.

-
- [65] S.M. Modak SM, C. L. Fox Jr., *Binding of silver sulfadiazine to the cellular components of Pseudomonas aeruginosa*, Biochem. Pharmacol. 22 (1973) 2391–2404.
- [66] R.M. Richards, *Antimicrobial action of silver nitrate*, Microbios. 31 (1981) 83–91.
- [67] W.B. Rowe, A. Meister, *Identification of L-methionine-S-sulfoximine as the convulsant isomer of methionine sulfoximine*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 66 (1970) 500–506.
- [68] O.W. Griffith, M.E. Anderson, A. Meister, *Inhibition of glutathione biosynthesis by prothionine sulfoximine (S-n-propyl homocysteine sulfoximine), a selective inhibitor of γ -glutamylcysteine synthetase*, J. Biol. Chem. 254 (1979) 1205–1210.
- [69] O.W. Griffith, A. Meister, *Potent and specific inhibition of glutathione synthesis by buthionine sulfoximine (S-n-butyl homocysteine sulfoximine)*, J. Biol. Chem. 254 (1979) 7558–7560.
- [70] M.E. Anderson, *Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation*, Chem.-Biol. Interact. 111-112 (1998) 1–14.
- [71] H.-M. Shen, C.-F. Yang, J. Liu, C.-H. Ong, *Dual role of glutathione in selenite-induced oxidative stress and apoptosis in human hepatoma cells*, Free Rad. Biol. Med. 28 (2000) 1115–1124.
- [72] A. Meister, M.E. Anderson, *Glutathione*, Annu. Rev. Biochem. 52 (1983) 711–760.
- [73] J.D. Hayes, D.J. Pulford, *The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of isoenzymes to cancer chemoprevention and drug resistance*, Crit. Revs Biochem. Mol. Biol. 30 (1995) 445–600.
- [74] B. Mannervik, *The isoenzymes of glutathione transferase*, Adv. Enzymol. 57 (1985) 357–417.
- [75] J. N. Commandeur, G.J. Stijntjes, N.P.E. Vermeulen, *Enzymes and transport systems involved in the formation and disposition of glutathione S-conjugates*, Pharmacol. Rev. 47 (1995) 271–330.

-
- [76] Anderson, M. E. *Glutathione and glutathione delivery compounds*, Adv. Pharmacol. 38 (1997) 65–78.
- [77] A. Meister, *On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione*. Biochem. Pharmacol, 44 (1992) 1905–1915.
- [78] A. Meister, *Selective modification of glutathione metabolism*. Science 220 (1983) 472–477.
- [79] S. M. Deneke, B.L. Fanburg, *Regulation of cellular glutathione*, Am. J. Physiol. 257 (1989) L163–173.
- [80] G. Wu, Y.Z. Fang, S. Yang, J.R. Lupton, N.D. Turner. *Glutathione metabolism and its implications for health*, J. Nutr. 134 (2004) 489–492.
- [81] A. Rosi, S. Grande, A.M. Luciani, A. Palma, C. Giovannini, L. Guidoni, et al., *Role of glutathione in apoptosis induced by radiation as determined by ¹H NMR spectra of cultured tumor cells*, Rad. Res. 167 (2007) 262–282.
- [82] G. Kroemer, J.C. Reed, *Mitochondrial control of cell death*, Nat. Med. 6 (2000) 513–519.
- [83] M.E. Anderson, *Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation*, Chem.-Biol. Interact. 111-112 (1998) 1–14.
- [84] J.M. Estrela, A. Ortega, E. Obrador, *Glutathione in cancer biology and therapy*, Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 43 (2006) 143–181.
- [85] P.G. Richman, A. Meister, *Regulation of γ -glutamylcysteine synthetase by nonallosteric feedback inhibition of glutathione*, J. Biol. Chem. 250 (1975) 1422–1426.
- [86] G.J. Mulder, S. Ouwerkerk-Mahadevan, *Modulation of glutathione conjugation in vivo: how to decrease glutathione conjugation in vivo or in intact cellular systems in vitro*, Chem.-Biol. Interact. 105 (1997) 17–34.
- [87] Y. Jia, W. Zhang, H. Liu, L. Peng, Z. Yang, J. Lou, *Inhibition of glutathione synthesis reverses Krueppel-like factor 4-mediated cisplatin resistance*, Cancer Chemother. Pharmacol. 69 (2012) 377–385.

-
- [88] B. Stordal, M. Davey, *Understanding cisplatin resistance using cellular models*, IUBMB Life 59 (2007) 696–699.
- [89] Y. Lu, A. Cederbaum, *The mode of cisplatin-induced cell death in CYP2E1-overexpressing HepG2 cells: Modulation by ERK, ROS, glutathione, and thioredoxin*, Free Radical Bio. Med. 59 (2007) 1061–1075.
- [90] H. H. Bailey, *L-S,R-buthionine sulfoximine: historical development and clinical issues*, Chem.-Biol. Interact. 111-112 (1998) 239-254.
- [91] L. Pendyala, R. Perez, A. Weinstein, J. Zdanowicz, P.J. Creaven, *Effect of glutathione depletion on the cytotoxicity of cisplatin and iproplatin in a human melanoma cell line*, Cancer Chemother Pharmacol. 40 (1997) 38–44.
- [92] F.M. Muggia, G. Los, *Platinum Resistance: Laboratory Findings and Clinical Implications*, Stem Cells 11 (1993) 182–193.
- [93] A. Miyajima, J. Nakashima, K. Yoshioka, M. Tachibana, H. Tazaki, M. Murai, *Role of reactive oxygen species in cis-dichlorodiammineplatinum-induced cytotoxicity on bladder cancer cells*, Brit. J. Cancer. 76 (1997) 206–210.
- [94] G.V. Smirnova, O.N. Oktyabrsky, *Glutathione in bacteria*, Biochemistry 70 (2005) 1119–1211.
- [95] R.C. Fahey, W.C. Brown, W.B. Adams, M.B. Worsham, *Occurrence of glutathione in bacteria*, J. Bacteriol. 133 (1978) 1126–1129.
- [96] G.L. Newton, K. Arnold, M.S. Price, C. Sherrill, S.B. delCardayre, Y. Aharonowitz, et al., *Distribution of thiols in microorganisms: Mycothiol is a major thiol in the most actinomycetes*, J. Bacteriol. 178 (1996) 1990–1995.
- [97] C. Sherrill, R.C. and Fahey, *Import and metabolism of Glutathione by Streptococcus mutans*, J. Bacteriol. 180 (1998) 1454–1459.
- [98] B. Vergauwen, F. Pauwels, M. Vaneechoutte, J.J. van Beeumen, *Exogenous glutathione completes the defense against oxidative stress in Haemophilus influenzae*, J. Bacteriol. 185 (2003) 1572–1581.

-
- [99] H. Gushima, T. Miya, K. Murata, A. Kimura, *Purification and characterization of glutathione synthase from Escherichia coli B*, J. Appl. Biochem. 5 (1983) 210–218.
- [100] K. Murata, A. Kimura, *Overproduction of glutathione and its derivates by genetically engineered microbial cells*, Biotechnol. Adv. 8 (1990) 59–96.
- [101] O.W. Griffith, R.T. Mulcahy, *Advances in enzymology and related of molecular biology*, John Wiley & Sons, 1999.
- [102] K. Gielzak-Kóćwin, W. Wojciechowski, *Thiazolidine-4-carboxylic acid and 2-aminothiazoleethanoic acid as ligands. The synthesis, magnetic, e.p.r, and spectral properties of copper(II) complexes*, Trans. Met. Chem. 21 (1996) 312–316.
- [103] F.R.G. Bergamini, C. Abbehausen, A. Magalhães, W.R. Lustri, A.F. Gomes, F. C. Gozzo, P.P. Corbi, *Synthesis, spectroscopic studies, and preliminary antibacterial assays of a palladium(II) complex with 2-mercaptothiazoline*, J. Coord. Chem. 64 (2011) 3092–3101.
- [104] H.U. Weber, J.F. Fleming, J. Miquel, *Thiazolidine-4-carboxylic acid, a physiologic sulfhydryl antioxidant with potential value in geriatric medicine*, Arch. Gerontol. Geriatr. 1 (1982) 299–310.
- [105] M. Gonsalvez, C. Vivero, I. Alvarez, *Restoration of “contact inhibition” in tumor cells in tissue culture by treatment with thiazolidine-4-carboxylic acid*, Biochem. Soc. Trans. 7 (1979) 191–192.
- [106] A. Brugarolas, M. Gosalvez, *Treatment of cancer by and inducer of reverse transformation*, Lancet 1 (1980) 68–70.
- [107] M. Gosalvez, L. Pecci, C. Vivero, *Inhibition of Capping of Surface Immunoglobulins at Femtomolar Concentrations of Adriamycin, Compound ICRF-159 and Tetrodotoxin*, Biochem. Soc. Trans. 6 (1978) 659–661.
- [108] C.G. Mackenzie, J. Harris, *N-Formylcysteine synthesis in mitochondria from formaldehyde and L-cysteine via thiazolidinecarboxylic acid*, J. Biol. Chem. 227 (1957) 393–406.

- [109] H.J. Debey, J.B. Mackenzie, C.G. Mackenzie, *The replacement by thiazolidinecarboxylic acid of exogenous cystine by cysteine*, J. Nutr. 66 (1958) 607–619.
- [110] P.P. Corbi, F.C. Andrade, A.C. Massabni, T.A. Heinrich, P.P.C. Souza, C.M. Costa-Neto, *Lithium thiazolidine-4-carboxylate: Synthesis, spectroscopic characterization and preliminary in vitro cytotoxic studies in human HeLa cells*, Spectrochim. Acta A 71 (2008) 929–931.
- [111] T. Tatarowski, M. Kubiak, T. Glowiak, J.P. Morawiec, H. Kozłowski, *NMR and crystallographic studies of Zn(II) complexes with thiazolidine-4-carboxylic acid and thiazolidine-2carboxylic acid*, Inorg. Chim. Acta. 93 (1984) L3–L7.
- [112] D.G. Craciunescu, A. Doadrio, *Synthesis and antitumour properties of complexes with heavy transition metals and thiaproline*, Inorg. Chim. Acta 67 (1982) L11–L13.
- [113] P.P. Corbi, A.L.B. Formiga, F.A. Bonk, F.A. Quintão, D.K.D. Ferraresi, W.R. Lustri, et al., *Synthesis, spectroscopic characterization and molecular modeling of a tetranuclear platinum(II) complex with thiazolidine-4-carboxylic acid*, J. Mol. Struct. 1019 (2012) 21–26.
- [114] S. Verma, J. George, S. Singh, P. Pardasani, R. Pardasani, *[3 + 2] Cycloaddition reactions of thioisatin with thiazolidine-2-carboxylic acid: a versatile route to new heterocyclic scaffolds*, Org. Med. Chem. Lett. 1 (2011) 1–9.
- [115] K. Nomiya, S. Takahashi, R. Noguchi, S. Nemoto, T. Takayama, M. Oda, *Synthesis and characterization of water-soluble silver(I) complexes with L-histidine (H₂his) and (S)-(-)-2-pyrrolidone-5-carboxylic acid (H₂pyrrld) showing a wide spectrum of effective antibacterial and antifungal activities. Crystal structures of chiral helical polymers [Ag(Hhis)]_n and [Ag(Hpyrrld)]_{2n} in the solid state*, Inorganic Chemistry. 39 (2000) 3301–3311.
- [116] H.-L. Zhu, X.-Y. Liu, X.-J. Wang, F. Yang, A. Usman, H.-K. Fun, *Syntheses and crystal structure of three polymeric silver(I) terephthalate complexes in organic N-donor ligands: [Ag(pren)]₂(tp)·2H₂O, [Ag(en)][Ag(μ₂-tp)]·H₂O, and [Ag₂(μ₄-tp)(apy)₂]*, Z. Anorg. Allg. Chem. 629 (2003) 1986–1990.

- [117] N.C. Kasuga, Y. Takagi, S.-I. Tsuruta, W. Kuwana, R. Yoshikawa, K. Nomiya, *Synthesis, structure and antimicrobial activities of meso silver(I) histidinate $[Ag_2(D-his)(L-his)]_n$ ($Hhis$ = histidine) showing different self-assembly from those of chiral silver(I) histidines*, Inorg. Chim. Acta. 368 (2011) 44–48.
- [118] B.K. Sinha, S.N. Prasad, R. Prasad, M. Srivastava, S.K. Yadav, *Characterisation of some metal complexes of thiazolidine-4-carboxylic acid*, Asian J. Chem. 10 (1998) 291–296.
- [119] P.P. Corbi, F.C. Andrade, A.C. Massabni, T.A. Heinrich, P.P.C. Souza, C.M. Costa-Neto, *Lithium thiazolidine-4-carboxylate: Synthesis, spectroscopic characterization and preliminary in vitro cytotoxic studies in human HeLa cells*, Spectrochim. Acta A. 71 (2008) 929–931.
- [120] M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S.K.N. Matsunaga, K. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, J.A. Montgomery Jr., *General atomic and molecular electronic structure system*, J. Comput. Chem. 14 (1993) 1347–1363.
- [121] P.J. Hay, W.R. Wadt, *Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for potassium to gold including the outermost core orbitals*, J. Chem. Phys. 82 (1985) 299–310.
- [122] (a) R. Ditchfield, W.J. Hehre, J.A. Pople, *Self-consistent molecular-orbital methods. IX. Extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules*, J. Chem. Phys. 54 (1971) 724–728. (b) M.M. Francl, W.J. Pietro, W.J. Hehre, J.S. Binkley, M.S. Gordon, D.J. DeFrees, J. A. Pople, *Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements*, J. Chem. Phys. 77 (1982) 3654–3665. (c) P.C. Hariharan, J.A. Pople, *Influence of polarization functions on MO hydrogenation energies*, Theor. Chim. Acta. 28 (1973) 213–222. (d) W.J. Hehre, R. Ditchfield, J.A. Pople, *Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules*, J. Chem. Phys. 56 (1972) 2257–2261.
- [123] (a) A.D. Becke, *Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange*, J. Chem. Phys. 98 (1993) 5648–5652. (b) C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density*, Phys. Rev. B 37 (1988) 785–789.

-
- [124] S. Miertus, E. Scrocco, J. Tomasi, *Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects*, Chem. Phys. 55 (**1981**) 117–129.
- [125] A.P. Scott, L. Radom, Harmonic Vibrational Frequencies: *An Evaluation of Hartree-Fock, Moeller-Plesset, Quadratic Configuration Interaction, Density Functional Theory, and Semiempirical Scale Factors*, J. Phys. Chem. 100 (**1996**) 16502–16513.
- [126] G. Schaftenaar, J.H. Noordik, *Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures*, J. Comp.-Aided Mol. Des. 14 (**2000**) 123–134.
- [127] J.A. Bonacin, A.L.B. Formiga, V.H.S. De Melo, H.E. Toma, *Vibrational spectra and theoretical studies of tautomerism and hydrogen bonding in the violuric acid and 6-amino-5-nitrosouracil system*, Vibr. Spectr. 44 (**2007**) 133–141.
- [128] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Seventeenth Informational Supplement, Wayne, PA, USA, **2007**.
- [129] R.M. Silverstein, F.X. Webster, D.J. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th ed., John Wiley & Sons, **2005**, p. 102-103.
- [130] P.P. Corbi, M. Cavicchioli, P. Mel'nikov, A.C. Massabni, L.A.A. de Oliveira, *Cobalt(II) and nickel(II) complexes with djenkolic acid*, Russ. J. Coord. Chem. 26 (**2000**) 28–31.
- [131] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 5th ed., John Wiley & Sons, **1997**, p. 59-62.
- [132] C.R. Johnson, R.A. Kirchhoff, H.G. Corkins, *Chemistry of sulfoxides and related compounds. XLIX. Synthesis of optically active sulfoximines from optically active sulfoxides*, J. Org. Chem. 39 (**1974**) 2458–2459.
- [133] J.H. Simpson, *Organic structure determination using 2-D NMR spectroscopy. A problem based approach.*, Academic Press (Elsevier), **2008**.

- [134] M.B.M. Spera, F.A. Quintao, D.K.D. Ferraresi, W.R. Lustri, A. Magalhaes, A.L.B. Formiga, P. P. Corbi, *Palladium(II) complex with S-allyl-L-cysteine: New solid-state NMR spectroscopic measurements, molecular modeling and antibacterial assays*, Spectrochim. Acta A 78 (2011) 313–318.
- [135] B. Morzyk-Ociepa, D. Michalska, *FT-Raman and infrared spectra of silver(I) complexes with glutarimide and 3,3-dimethylglutarimide anions*, Spectrochim. Acta A 55 (1999) 2671–2676.
- [136] D.L. Nelson, M.M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed., W. H. Freeman, 2004, p.81.
- [137] P.S. Kumar, P.V. Bharatam, *Theoretical studies on the S-N interactions in sulfoximine*, Tetrahedron 61 (2005) 5633–5639.
- [138] S. Miertus, E. Scrocco, J. Tomasi, *Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects*, Chem. Phys. 55 (1981) 117–129.
- [139] F. Caruso, M. Camalli, H. Rimml, L.M. Venanzi, *Coordination properties of silver diphosphine complexes. Crystal and molecular structures of $Ag_2X_2(m-PP)_2$ ($X = I, Cl, NO_3$; $m-PP = 1,3-Bis[(diphenylphosphino)methyl]benzene$) and $Ag_2X_2(o-PP)_2$ ($X = I, Cl$; $o-PP = 1,2-Bis[(diphenylphosphino)methyl]benzene$). Synthesis and 1H - and ^{31}P -NMR spectroscopy of silver diphosphine complexes*, Inorg. Chem. 34 (1995) 673–679.
- [140] R. Noguchi, A. Sugie, A. Hara, K. Nomiya, *Synthesis and molecular structures of a novel tetranuclear silver(I) cluster $[Ag_2(Himdc)(PPh_3)_2]_2$ ($H_3imdc = imidazole-4,5-dicarboxylic acid$; (N-O)) and a mononuclear silver(I) complex $[Ag(H_2imdc)(PPh_3)_2]$* , Inorg. Chem. Comm. 9 (2006) 107–110.
- [141] N.C. Kasuga, M. Sato, A. Amano, A. Hara, S. Tsuruta, A. Sugie, A. Nomiya, *Light-stable and antimicrobial active silver(I) complexes composed of triphenylphosphine and amino acid ligands: Synthesis, crystal structure, and antimicrobial activity of silver(I) complexes constructed with hard and soft donor atoms ($n\infty[Ag(L)(PPh_3)]_2$ with $L = \alpha$ -ala- or asn- and $n = 1$ or 2)*, Inorg. Chim. Acta. 361 (2008) 1267–1273.

-
- [142] M.A. Carvalho, R.E.F. de Paiva, F.R.G. Bergamini, A.F. Gomes, F.C. Gozzo, W.R. Lustri, A. L. B. Formiga, S. M. Shishido, C. V. Ferreira, P. P. Corbi, *A silver complex with tryptophan: Synthesis, structural characterization, DFT studies and antibacterial and antitumor assays in vitro.*, J. Mol. Struc. 1031 (**2013**) 125–131.
- [143] J. Loscalzo, R.G. Kallen, D. Voet, *The X Ray structure of thiazolidine-4-carboxylic acid*, Arch. Biochem. Biophys. 157 (**1973**) 426–430.

Apêndices

APÊNDICE A - Figuras

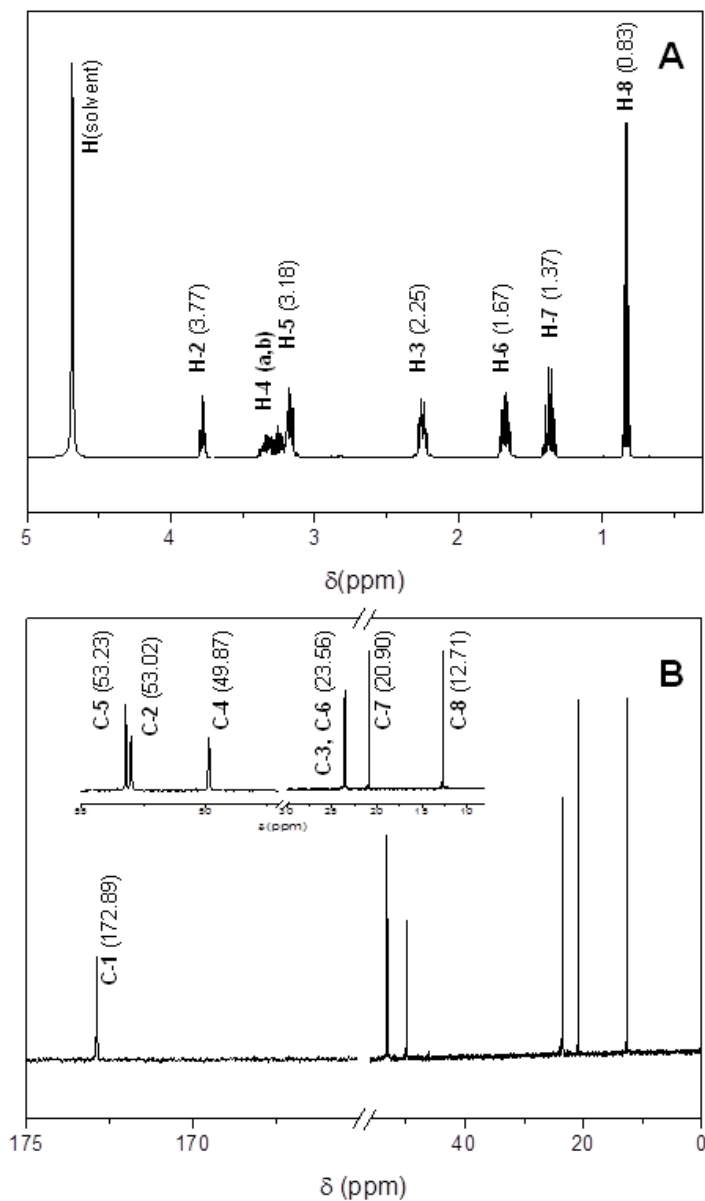


Fig. A1. Espectros de (A) ^1H -RMN e (B) ^{13}C -RMN do ligante BSO em D_2O .

Apêndices

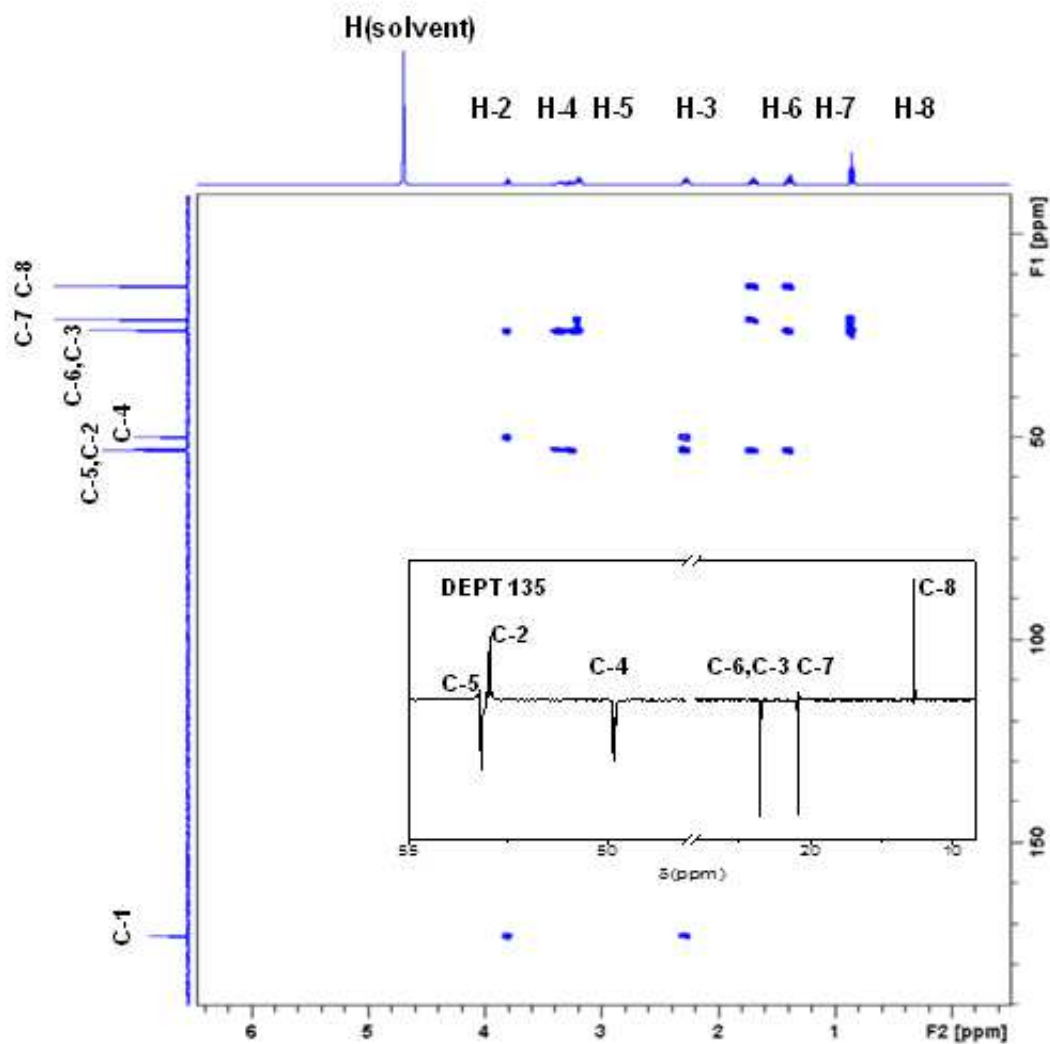


Fig.A2. Espectros de $[\text{}^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ -HMBC RMN e DEPT 135 RMN (caixa) de BSO em D_2O .

Apêndices

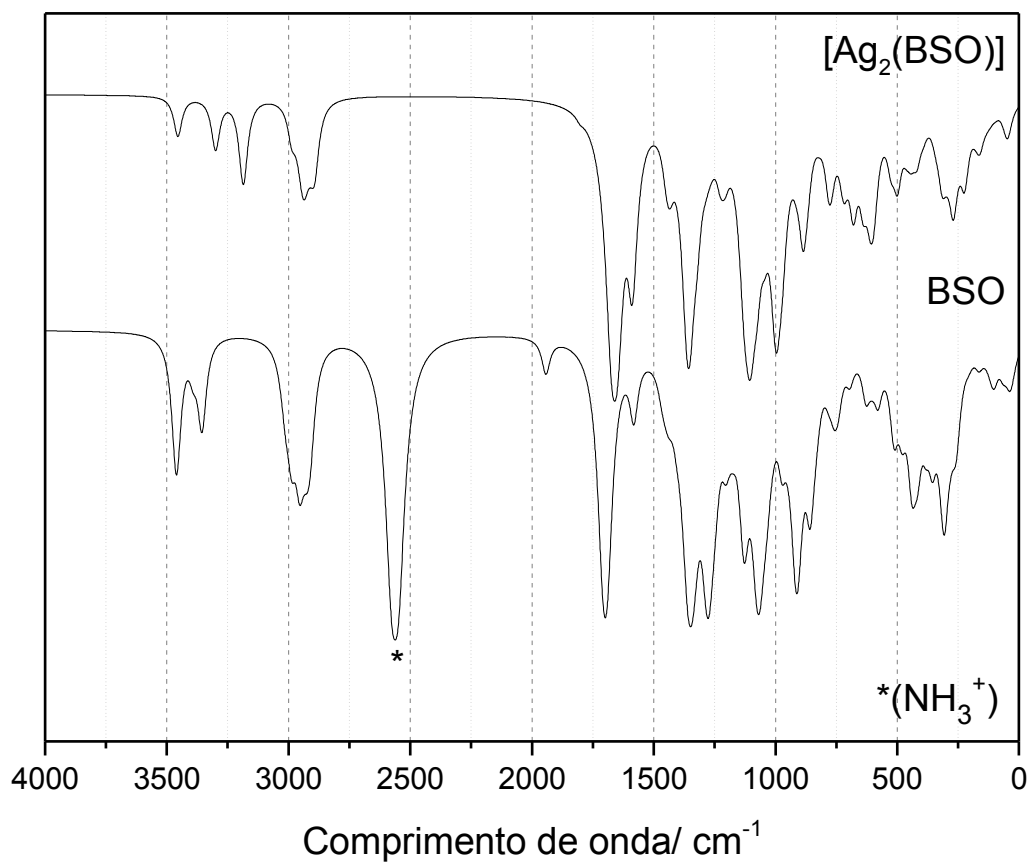


Fig. A3. Espectros no infravermelho simulados para [Ag₂(BSO)] e BSO.

Apêndices

APÊNDICE B - TABELAS

Tabela B1. Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da BSO e do complexo [Ag₂(BSO)]

Distância	BSO / Å	[Ag₂(BSO)] / Å
Ag-NH ₂ (R)	-	2,075
Ag-O(CO)R	-	2,032
Ag-N(SO)R	-	1,992
N-S(O)R	1,557	1,537
O-S(N)R	1,497	2,679
Ângulo	[Ag₂(BSO)] / °	
N-Ag-O	83,1	
Ag-N-C	108,0	
Ag-O-C	116,2	
Ag-N-S	86,9	
Diedral	[Ag₂(BSO)] / °	
C-N-Ag-O	-17,0	
N-Ag-O-C	10,5	
N-C-C-O	-14,2	

Apêndices

Tabela B2. Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da 2-TC e do possíveis modos de coordenação do complexo [Ag₂(2-TC)]

Distância	2-TC/ Å	[Ag ₂ (2-TC)] (A) / Å	[Ag ₂ (2-TC)] (B) / Å
C1'-O	1,22	1,26	1,35
C1'-O'	1,35	1,28	1,22
Ag-N	-	2,18	2,24
Ag-O	-	2,60	2,39
Ag-O'	-	2,20	2,27
Ag-S	-	5,04	2,54
Ângulo	2-TC/ °	[Ag ₂ (2-TC)] (A) / °	[Ag ₂ (2-TC)] (B) / °
C1'-O-H	108,2	-	-
O-C1'-O'	123,8	123,9	122,8
C1'-O'-Ag	-	102,3	115,3
C1'-O-Ag	-	101,8	109,2
C2-N-Ag	-	107,1	102,1

Apêndices

Diedral	2-TC/ °	[Ag ₂ (2-TC)] (A) / °	[Ag ₂ (2-TC)] (B) / °
N-Ag-O-C1'	-	-26,2	-7,5
Ag-O-C1'-C2	-	16,9	-10,2
S-Ag-O'-C1'	-	-65,9	-32,8
Ag-S-C2-C1'	-	8,5	0,5
S-C2-N-C4	-37,6	-36,6	-48,3
N-C4-C5-S	-41,0	-42,9	-39,4

Apêndices

Tabela B3. Distâncias de ligação, ângulos e ângulos diedrais da 4-TC e do possível modo de coordenação do complexo [Ag₂(4-TC)]

Distância	4-TC/ Å	[Ag ₂ (4-TC)] (Å) / Å
C1'-O	1,22	1,27
C1'-O'	1,34	1,27
Ag-N	-	2,15
Ag-O	-	2,31
Ag-O'	-	2,55
Ângulo	4-TC/ °	[Ag ₂ (4-TC)] (°) / °
C1'-O-H	107,9	-
O-C1'-O'	123,9	122,7
C1'-O'-Ag	-	92,8
C1'-O-Ag	-	106,1
C4-N-Ag	-	111,6
N-Ag-O		

Apêndices

Diedral	4-TC/ °	[Ag ₂ (4-TC)] (A) / °
N-Ag-O'-C1'	-	-10,9
Ag-O-C1'-C4	-	-6,4
S-C2-N-C4	38,3	43,6
N-C4-C5-S	33,6	31,0