



RAPHAEL ENOQUE FERRAZ DE PAIVA

**COMPLEXOS METÁLICOS COM NIMESULIDA:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÕES EM
QUÍMICA BIOINORGÂNICA MEDICINAL**

Campinas

- 2014 -



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

RAPHAEL ENOQUE FERRAZ DE PAIVA

**COMPLEXOS METÁLICOS COM NIMESULIDA:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÕES EM
QUÍMICA BIOINORGÂNICA MEDICINAL**

ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO PAULO CORBI

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

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR
RAPHAEL ENOQUE FERRAZ DE PAIVA, SOB ORIENTAÇÃO DO PROF. DR. PEDRO PAULO CORBI.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS
- 2014 -

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

P166c Paiva, Raphael Enoque Ferraz de, 1989-
Complexos metálicos com nimesulida : síntese, caracterização e aplicações em química bioinorgânica medicinal / Raphael Enoque Ferraz de Paiva. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Pedro Paulo Corbi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Nimesulida. 2. Complexos metálicos. 3. Química bioinorgânica. 4. Agentes antibacterianos. 5. Compostos antitumorais. I. Corbi, Pedro Paulo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Metal complexes with nimesulide : synthesis, characterization and applications in bioinorganic medicinal chemistry

Palavras-chave em inglês:

Nimesulide

Metal complex

Bioinorganic chemistry

Antibacterial agent

Antitumoral compound

Área de concentração: Química Inorgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Inorgânica

Banca examinadora:

Pedro Paulo Corbi [Orientador]

Inez Valeria Pagotto Yoshida

Wilton Rogério Lustru

Data de defesa: 19-02-2014

Programa de Pós-Graduação: Química

Dedico este trabalho

aos meus pais

Ana Maria Ferraz de Paiva e Aldinês Batista de Paiva

por, mesmo com todas as dificuldades, terem me incentivado e apoiado,

e a todos os meus professores

que, em diferentes momentos de minha vida, acreditaram em mim e me incentivaram a prosseguir.

*I have held many things in my hands, and I have lost them all; but
whatever I have placed in God's hands, that I still possess*

—Martin Luther King Jr.

*One of the greatest tragedies of our time is this impression that has
been created that science and religion have to be at war*

—Francis Collins, Diretor do projeto Genoma Humano

Certa vez me disseram que, se eu realmente optasse por seguir o
caminho da ciência, eu provavelmente deixaria de acreditar em Deus.
Posso dizer que a Química, com sua incrível faculdade de manipulação
da matéria, se tornou um dos argumentos mais fortes que sustentam
minha fé.

Agradecimentos

Agradeço a *Deus* por me dar forças e me guiar. E por, ao longo desse caminho, eu ter encontrado a *ciência*.

Ao vivenciar o ambiente da pesquisa científica, é fácil perceber que o conhecimento não é criado imediatamente, de uma hora para a outra. Ele é construído, passo a passo. Não posso deixar de agradecer a todos aqueles que contribuíram para a minha formação. Agradeço a todos os professores das escolas: EMEI Rosa Vassalo Secomandi (1993-1996), EMEFM Prefeito José Lozano Araújo (1997-2000), EE Dr. Francisco de Araújo Mascarenhas (2001-2004) e Escola Técnica de Paulínia (2005-2007). Agradeço também a todos os professores do Instituto de Química da UNICAMP que participaram de minha formação acadêmica (2008-2012).

Com relação à minha carreira acadêmica, agradeço a 4 pessoas em particular, sem as quais minha vida científica teria tomado rumos completamente diferentes: à Prof.^a Dr.^a Inez Valéria Pagotto Yoshida, minha primeira orientadora de IC, por ter sido a responsável pela minha vinda à Química Inorgânica e pelo meu primeiro contato com a Pesquisa; ao Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi, por toda dedicação como orientador, pela liberdade criativa durante a execução deste projeto e pela amizade; ao Prof. Dr. André Luiz Barboza Formiga, pela oportunidade que me foi dada de trabalhar com cálculos teóricos; e à Camilla Abbehausen, por toda a discussão científica, colaboração, convívio e amizade.

Agradeço a todos os colegas contemporâneos de pós-graduação do LQBM: Fernando Bergamini, Suelen Sucena, Marcos Carvalho e Julia Nunes; aos alunos de IC do LQBM: Juliana Castro, Andressa Barbosa, Ana Fiori,

Bárbara Souza, Carlos Manzano e Vivian Cardoso; aos colegas contemporâneos de pós-graduação do LQC: Daniel Profirio, Ricardo Ferreira, Stella Gonsales, Sérgio Januzzi, Pedro Rollo, Helen Meneses, Eduardo Arruda, Sabrina Santos, Paula Lima, Irlene Silva; e aos colegas contemporâneos de pós-graduação do LMF: Fabiana Corbi e Lanousse Petiote; pelo convívio agradável e discussões científicas. Agradeço à técnica Cíntia Saito pela ajuda em manter em bom funcionamento nosso laboratório.

Em particular, agradeço a todos os colaboradores: Camilla Abbehausen, Daniel Profirio, Fernando Bergamini, Julia Nunes, Suelen Sucena, Marcos Alberto e Irlene Silva, por terem me dado a oportunidade de trabalhar com vocês e de investigar diversos temas de grande interesse para a Química (Bio)Inorgânica.

Ao Leandro Shiroma, agradeço pela amizade e também pela colaboração com as medidas eletroquímicas.

Por fim, agradeço a todos os técnicos das salas institucionais de equipamentos, em especial à Cláudia Martelli (UV-Vis), Márcia Antonelli (IV), Fabiana Favoretto (Análises térmicas), Anderson Pedrosa (RMN), Sônia Fanelli (RMN) e Gustavo Shimamoto (RMN), aos técnicos do ensino Eraldo Lehmann, Daniel e Vanilda Nilsen e também às bibliotecárias Simone de Oliveira e Rosemary Firmino. Estendo meu agradecimento a todos os funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, por manterem em bom funcionamento nosso instituto.

Curriculum Vitae

DADOS PESSOAIS

Nome Raphael Enoque Ferraz de Paiva
Filiação Aldinês Batista de Paiva e Ana Maria Ferraz de Paiva
Nascimento 09/12/1989 - Campinas/SP - Brasil

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

- 2012** Mestrado em Química.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
Título: Complexos metálicos com nimesulida: síntese, caracterização e aplicações em Química Bioinorgânica Medicinal
Orientador: Pedro Paulo Corbi
Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2008 - 2012** Graduação em Bacharelado em Química.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
- 2005 - 2007** Ensino Profissional de nível técnico.
Escola Técnica de Paulínia, ETEP, Brasil
- 2005 - 2007** Ensino Médio (2º grau).
Escola Técnica de Paulínia, ETEP, Brasil
-

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- 2012** Método Lógico para a Escrita Científica (8h)
Ministrado por Gilson Volpato (UNESP/Botucatu)
-

PRÊMIOS E TÍTULOS

- 2013** Artigos mais baixados (*top 20*: abril a junho de 2013): J. Mol. Struct. 1031 (2013) 125-131, Elsevier.

- 2013** Artigos mais baixados (top 20: abril a junho de 2012): Polyhedron 36 (2012) 112-119, Elsevier.
- 2012** Menção Honrosa ao pôster “A novel platinum(II) complex with nimesulide: synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antitumoral assays”, XIV BIMIC / III LABIC, Florianópolis, Brasil.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. Carvalho, M. A., Shishido, S. M., Souza, B. C., **Paiva, R. E. F.**, Gomes, A. F., Gozzo, F. C., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.
A new platinum complex with tryptophan: synthesis, structural characterization, DFT studies and biological assays *in vitro* over human tumorigenic cells. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 122 (2014) 209 - 215.
2. Silva, I. M. P., Profirio, D. M., **Paiva, R. E. F.**, Lancellotti, M., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.
A silver complex with ibuprofen: synthesis, solid state characterization, DFT calculations and antibacterial assays. *Journal of Molecular Structure* 1049 (2013) 1 - 6.
3. Abbehausen, C., Peterson, E. J., **Paiva, R. E. F.**, Corbi, P. P., Formiga, A. L. B., Qu, Y., Farrell, N. P.
Gold(I)-Phosphine-N-Heterocycles: Biological Activity and Specific (Ligand) Interactions on the C-Terminal HIVNCp7 Zinc Finger. *Inorganic Chemistry* 52 (2013) 11280 - 11287.
4. Kaneko, M. L. Q. A., Romero, R. B., **Paiva, R. E. F.**, Felisberti, M. I., Gonçalves, M. C., Yoshida, I. V. P.
Improvement of toughness in polypropylene nanocomposite with the addition of organoclay/silicone copolymer masterbatch. *Polymer Composites* 34 (2013) 194 - 203.
5. **Paiva, R. E. F.**, Abbehausen, C., Bergamini, F. R. G., Thompson, A. L., Alves, D. A., Lancellotti, M., Corbi, P. P.
Investigating the inclusion of the Ag(I)-nimesulide complex into β -

cyclodextrin: studies in solution and in the solid state. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* (2014, *in press*).

6. Carvalho, M. A., Souza, B.C., **Paiva, R. E. F.**, 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. *Journal of Coordination Chemistry* 65 (2012) 1700 - 1711.

7. Bergamini, F. R. G., Ferreira, 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 Advances* 2 (2012) 10372 - 10379.

8. Carvalho, M. A., **Paiva, R. E. F.**, Bergamini, F. R. G., 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*. *Journal of Molecular Structure* 1031 (2012) 125 – 131.

9. Sucena, S. F., **Paiva, R. E. F.**, Abbehausen, C., Mattos, I. B., Lancellotti, M., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Chemical, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial activities *in vitro* of a new gold(I) complex with rimantadine. *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 89 (2012) 114 – 118.

10. Abbehausen, C., **Paiva, R. E. F.**, Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Studies of the tautomeric equilibrium of 1,3-thiazolidine-2-thione: theoretical and experimental approaches. *Chemical Physics* 408 (2012) 62 - 68.

11. **Paiva, R. E. F.**, Abbehausen, C., Gomes, A. F., Gozzo, F. C., Lustri, W. R., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antibacterial assays of a novel silver(I) complex with the anti-inflammatory nimesulide. *Polyhedron* 36 (2012) 112 – 119.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. Kaneko, M. L. Q. A., Romero, R. B., **Paiva, R. E. F.**, Gonçalves, M. C., Yoshida, I. V. P.

Effect of PDMS-PEO clay masterbatch on the morphology and mechanical performance of PP based composite In: *14th European Conference On Composite Materials - ECCM14, 2010, Budapest, Hungary.*

Proceeding of 14th European Conference on Composite Materials, 2010.
v.1. p.1 - 9

2. Kaneko, M. L. Q. A., Lourenco, E., **Paiva, R. E. F.**, Felisberti, M. I., Yoshida, I. V. P.

Compósitos e/ou nanocompósitos ternários e quaternários de poliestireno, SBS, argila e sílica-poliéster In: *10º Congresso Brasileiro de Polímeros - CBPol, 2009, Foz do Iguaçu.*

Caderno de resumos do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2009.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. Silva, I. M. P., **Paiva, R. E. F.**, Profirio, D. M., Lancellotti, M., Corbi, P. P., Formiga, A. L. B.

A novel silver(I) complex with Ibuprofen: synthesis, spectroscopic characterization in the solid-state and preliminary antibacterial assays. In: *12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, 2013, Punta del Este.*

Abstracts and Proceedings of the 12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, 2013.

2. **Paiva, R.E.F.**, Bergamini, F. R. G., Abbehausen, C., Thompson, A. L., Alves, D. A., Lancellotti, M., Corbi, P. P.

Ag(I)-nimesulide-cyclodextrin inclusion systems: studies in solution and in the solid state. In: *XII Encontro da SBPMat, 2013, Campos do Jordão.*

Anais do XII Encontro da SBPMat, 2013.

3. Abbehausen, C., Peterson, E. J., **Paiva, R. E. F.**, Corbi, P. P., Formiga, A. L. B., Qu, Y., Farrell, N. P.

Gold(I)-Phosphine-N-heterocycles. Biological Activity and Specific (Ligand) Interactions on the C-terminal HIVNCp7 Zinc Finger. In: *XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013, Grenoble.*

XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013.

4. **Paiva, R. E. F.**, Shiroma, L. Y., Shishido, S. M., Hollanda, L. M., Siqueira, M., Kubota, L. T., Lancellotti, M., Catharino, R. R., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Platinum(II)-Nimesulide: Novel structural and biological studies and investigation of its mechanism of action. In: *XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013, Grenoble*.

XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013.

5. **Paiva, R.E.F.**, Shishido, S. M., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Silver(I) and Platinum(II) Metal Complexes with Nimesulide. In: *5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine, 2013, Ilhabela*.

5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine, 2013.

6. Nunes, J. H. B., **Paiva, R. E. F.**, Corbi, P. P.

Sulfonamidas como precursores para bases de Schiff. In: *XXI Congresso Interno de Iniciação Científica, 2013, Campinas*.

Caderno de resumos do XXI Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 2013

7. Profirio, D. M., **Paiva, R. E. F.**, Abbehausen, C., Lustri, W. R., Corbi, P. P., Formiga, A. L. B.

Synthesis, characterization and antibacterial assays of a bis(pyrrolyl-imine) gold(III) Schiff base complex. In: *XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013, Grenoble*.

XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2013.

8. Sucena, S. F., **Paiva, R. E. F.**, Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Synthesis, Spectroscopic Characterization and DFT studies of a Novel Pd(II) Complex with Rimantadine. In: *12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, 2013, Punta del Este*.

Abstracts and Proceedings of the 12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, 2013.

9. **Paiva, R. E. F.**, Shishido, S. M., Ferreira, C. V., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

A Novel Platinum(II) Complex with Nimesulide: Synthesis, Spectroscopic Characterization, DFT Studies and Antitumoral Assays In: *XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / III Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2012, Florianópolis*.

XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / III Latin American

Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2012.

10. Souza, B. C., Carvalho, M. A., **Paiva, R. E. F.**, Bergamini, F. R. G., Gomes, A. F., Gozzo, F. C., Lustri, W. R., Formiga, A. L. B., Shishido, S. M., Ferreira, C. V., Corbi, P. P.

Síntese, Caracterização Espectroscópica, Estudos por DFT e Atividades Biológicas de um Complexo de Ag(I) com Triptofano. In: *XX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 2012, Campinas.*

Caderno de Resumos do XX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 2012.

11. **Paiva, R. E. F.**, Shishido, S. M., Ferreira, C. V., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Síntese, Caracterização, Estudos Teóricos por DFT e Atividades Antibacteriana e Antitumoral de um Complexo Inédito de Pt(II) com Nimesulida In: *XX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 2012.*

Caderno de Resumos do XX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp, 2012.

12. Thompson, A. L., **Paiva, R. E. F.**, Abbehausen, C., Bergamini, F. R. G., Corbi, P. P.

Study of the inclusion of a Ag(I)-Nimesulide complex into the cavity of β -cyclodextrin In: *243rd ACS National Meeting & Exposition, 2012, San Diego, CA, United States.*

Abstracts of Papers - 243rd ACS National Meeting & Exposition, 2012.

13. Sucena, S. F., **Paiva, R. E. F.**, Hollanda, L. M., Lancellotti, M., Corbi, P. P. Synthesis, Characterization and Biological Studies of a Silver(I) Complex with Rimantadine. In: *XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / III Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2012, Florianópolis.*

XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / III Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, 2012.

14. Sucena, S. F., Mattos, I. B., Camargo, D. D., Paiva, R. E. F., Lancellotti, M., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Characterization and Antibacterial Assays of a Gold(I) Complex with Rimantadine. In: *Workshop on Synthetic Inorganic Chemistry - WQIS, 2011, Bento Gonçalves, RS, Brazil.*

Workshop on Synthetic Inorganic Chemistry - WQIS, 2011.

15. Paiva, R. E. F., Lustri, W. R., Corbi, P. P.
Complexos Metálicos de Ag(I) e Au(I) com Nimesulida e Ampicilina: Síntese, Caracterização e Estudos Biológicos. In: *XIX Congresso Interno de Iniciação Científica, 2011, Campinas.*

Caderno de Resumos do XIX Congresso Interno de Iniciação Científica, 2011.

16. Barbosa, A. C., **Paiva, R. E. F.**, Corbi, P. P.
Síntese, Caracterização e Aplicações Farmacológicas de Novos Complexos Metálicos de Platina(II), Paládio(II), Ouro(I) e Prata(I) com Vitaminas do Complexo B. In: *XXI Congresso Interno de Iniciação Científica, 2013, Campinas.*

Caderno de resumos do XXI Congresso Interno de Iniciação Científica, 2011.

17. Sucena, S. F., Mattos, I. B., Camargo, D. D., **Paiva, R. E. F.**, Lancellotti, M., Formiga, A. L. B., Corbi, P. P.

Synthesis, Spectroscopic Characterization and Antibacterial Assays of a novel Gold(I) Complex with Rimantadine. In: *8th International Congress of Pharmaceutical Sciences - CIFARP, 2011, Ribeirão Preto.*

8th CIFARP - Open Abstracts Media, 2011.

18. **Paiva, R. E. F.**, Yoshida, I. V. P.

Compósitos e Nanocompósitos de Borrachas Termoplásticas de poli(estireno-*b*-butadieno-*b*-estireno) e Argila Montmorilonita. In: *XVIII Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP, 2010, Campinas.*

Caderno de resumos do XVIII Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP, 2010.

19. Kaneko, M. L. Q. A., **Paiva, R. E. F.**, Felisberti, M. I., Gonçalves, M. C., Yoshida, I. V. P.

Utilização de Copolímero de Silicona na Dispersão de Argilas em Matrizes Poliméricas Hidrofóbicas. In: *Encontro Nacional de Materiais e Estruturas Compósitas - ENMEC, 2010, Porto.*

Encontro Nacional de Materiais e Estruturas Compósitas – ENMEC, 2010.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- 2013** 1. XVIth International Conference on Bioinorganic Chemistry. Grenoble, França;
- 12th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine. Punta del Este, Uruguai;
- 5th Symposium on Biological Chemistry, Health and Medicine. Ilhabela, Brasil.
- 2012** XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / III Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry. Florianópolis, Brasil;
- XX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp. Campinas, Brasil.
- 2011** XIX Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp. Campinas, Brasil.
- 2010** XVIII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp. Campinas, Brasil;
- 10º Congresso Brasileiro de Polímeros - CBPol. Foz do Iguaçu, Brasil.

ORIENTAÇÕES DE ALUNOS DE IC

Julia Helena Bormio Nunes

Título do Projeto: Complexos metálicos com iminas derivadas na nimesulida.

Período: 08/2012 – 08/2013

Andressa Costa Barbosa

Título do Projeto: Complexos metálicos com vitaminas do complexo B

Período: 08/2012 – 02/2013

MONITORIA

QI 543 – Química Inorgânica Experimental II, Curso 50 (Bacharelado em Química Tecnológica, turma de 2009 (1s/2013)).

Resumo

COMPLEXOS METÁLICOS COM NIMESULIDA: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÕES EM QUÍMICA BIOINORGÂNICA MEDICINAL. Complexos metálicos têm sido estudados quanto as suas propriedades medicinais há décadas. Neste trabalho, dois complexos inéditos de Ag(I) e Pt(II) foram sintetizados com o anti-inflamatório nimesulida (NMS), e avaliados como agentes antibacterianos e antitumorais. O complexo Ag-NMS ($\text{AgC}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$) apresenta o ligante em uma coordenação bidentada à prata pelos átomos de N e O do grupo sulfonamida. A estrutura proposta foi confirmada por DFT. Devido à baixa solubilidade em água, foi preparado um complexo de inclusão de Ag-NMS em β -CD, pelo método de co-evaporação. Utilizando o método de Scatchard, foi determinado o valor de $K_a = 370 \pm 2 \text{ L mol}^{-1}$. Estudos de RMN por correlação ^1H - ^1H através do espaço mostram que a inclusão ocorre pelo grupo fenoxi da NMS. Já o complexo Pt-NMS ($\text{PtC}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}_2$) apresenta dois ligantes, coordenados pelos átomos de N e O do grupo sulfonamida, para cada Pt(II). A DFT indica que o isômero N, O trans é o mais estável. O complexo Ag-NMS apresentou valores de MIC na faixa de $15,0$ - $120 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O CE -[(Ag-NMS)- β -CD], embora mais solúvel em água do que o Ag-NMS, não apresentou atividade antibacteriana nas concentrações testadas. Os complexos Ag-NMS e Pt-NMS mostraram-se citotóxicos sobre células normais (Balb/c 3T3) e tumorais (SK-Mel 103 e Panc-1), porém o Pt-NMS foi significativamente mais seletivo contra as linhagens tumorais. Os ensaios de intercalação com EtBr e a avaliação da estrutura do DNA por dicroísmo circular indicam que o DNA não é um alvo biológico para o complexo Pt-NMS, indicando um mecanismo de ação diferente da cisplatina.

Abstract

METAL COMPLEXES WITH NIMESULIDE: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS IN BIOINORGANIC MEDICINAL CHEMISTRY. Metal complexes have been studied regarding its medicinal properties for decades. In this work, novel complexes of Ag(I) and Pt(II) with the anti-inflammatory nimesulide were synthesized and evaluated regarding their antibacterial and antitumoral properties. The Ag-NMS complex ($\text{AgC}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$) shows the ligand in a bidentate coordination mode, bound to silver through the N and O atoms of the sulfonamide group. The proposed structure was confirmed by DFT. Due to its poor solubility in water, the Ag-NMS complex was included in β -CD, by co-evaporation. The $K_a = 370 \pm 2 \text{ L mol}^{-1}$ was determined using the Scatchard method. Studies by ^1H - ^1H NMR correlation through space shows the inclusion of NMS by the fenoxi group. The Pt-NMS complex ($\text{PtC}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}_2$) contain two ligands, coordinated through the N and O atoms of the sulfonamide group, for each Pt(II). DFT studies indicate that the N,O trans isomer is the most stable. The Ag-NMS complex presents MIC values in the range $15.0\text{-}120 \mu\text{mol L}^{-1}$ over *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. The inclusion complex **CE**-[(Ag-NMS) $\cdot\beta$ -CD], although more soluble in water than Ag-NMS, shows no antibacterial activity in the tested concentrations. Both complexes were cytotoxic against normal (Balb/c 3T3) and tumor (SK-Mel 103 and Panc-1) cells, but the Pt-NMS complex was significantly more selective against tumor cells. The EtBr competitive intercalation assay and the evaluation of CT-DNA structure using circular dichroism show that DNA is not a biological target for the Pt-NMS complex, indicating a mechanism of action different of the cisplatin one.

Sumário

A apresentação que acompanha esta dissertação está disponível online em <http://prezi.com/nzeazkpo3msl/defesa-mestrado>

Abreviaturas, Acrônimos e Símbolos	xxix
Lista de Figuras	xxxiii
Lista de Tabelas	xxxix

Capítulo 1. Introdução

1.1 ASPECTOS GERAIS	3
1.2 METALOFÁRMACOS	5
1.2.1. A Platina(II) e o Câncer	7
1.2.1.1. <i>A descoberta da cisplatina</i>	8
1.2.1.2. <i>Interação da cisplatina com o DNA</i>	9
1.2.1.3. <i>Estrutura eletrônica e reatividade</i>	10
1.2.1.4. <i>Outros complexos com ação antitumoral</i>	11
1.2.2. O Ouro(I) e a Artrite Reumatoide	13
1.2.3. A Prata(I) e Infecções Bacterianas	15
1.2.3.1. <i>Histórico do uso da prata(I)</i>	15
1.2.3.2. <i>A resistência bacteriana</i>	16
1.2.3.3. <i>Estrutura eletrônica e reatividade da Ag(I)</i>	18
1.3 SULFONAMIDAS	19
1.3.1. Histórico	19
1.3.2. Nimesulida	20
1.3.3. Complexos metálicos com sulfonamidas	23
1.3.3.1. <i>Complexos de Ag(I)</i>	23
1.3.3.2. <i>Complexos de Pt(II)</i>	24

Capítulo 2 . Objetivos

2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	27
2.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS	27

Capítulo 3 . Materiais e métodos

3.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO	31
3.1.1. Reagentes Empregados na Síntese e Caracterização dos Complexos	31
3.1.2. Síntese dos Complexos	31
3.1.2.1. Método de síntese do complexo Ag-NMS	31
3.1.2.2. Método de síntese do complexo Pt-NMS	32
3.1.3. Equipamentos	32
3.1.4. Outros Equipamentos Utilizados na Caracterização do Complexo Ag-NMS	33
3.1.5. Outros Equipamentos Utilizados na Caracterização do Complexo Pt-NMS	34
3.1.6. Modelagem Molecular	35
3.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO EM β-CICLODEXTRINA	36
3.2.1. Preparação do Complexo de Inclusão por Co-Evaporação	36
3.2.2. Determinação das Constantes de Associação em Solução	36
3.2.3. Caracterização dos Complexos de Inclusão em Solução	37
3.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS	38
3.2.1. Ensaios Antibacterianos	38
3.2.1.1. Método de difusão em disco	38
3.2.1.2. Minimal Inhibitory Concentration (MIC)	39

3.2.2. Cultura Celular e Ensaio de Citotoxicidade	40
3.2.3. Ensaio Biofísico	40
3.2.3.1. <i>Diálise do CT-DNA</i>	40
3.2.3.2. <i>Intercalação competitiva com brometo de etídio</i>	41
3.2.3.3. <i>Dicroísmo circular</i>	41

Capítulo 4 . Resultados e discussão

4.1. CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Ag-NMS	45
4.1.1. Análise Térmica	45
4.1.2. Espectrometria de Massas (ESI-QTOF-MS)	46
4.1.3. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis	48
4.1.4. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (IV)	49
4.1.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	51
4.1.5.1. <i>RMN de 1H</i>	51
4.1.5.2. <i>RMN de ^{13}C</i>	53
4.1.5.3. <i>Espectroscopia de RMN bidimensional: HMBC [1H-^{15}N]</i>	55
4.1.6. Modelagem Molecular	56
4.1.6.1. <i>Otimização de Geometria</i>	56
4.1.6.2. <i>Espectros vibracionais</i>	60
4.1.6.3. <i>Espectros eletrônicos</i>	63
4.1.7. Inclusão do Complexo Ag-NMS em β-ciclodextrina	65
4.1.7.1. <i>Espectroscopia no UV-Visível</i>	65
4.1.7.2. <i>Determinação da constante de associação em solução</i>	67
4.1.7.3. <i>RMN de 1H</i>	69
4.1.7.4. <i>Espectroscopia Diferencial usando Efeito Nuclear Overhauser (NOESY) – Proximidade 1H-1H através do espaço</i>	72
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Pt-NMS	74
4.2.1. Análise Térmica	74
4.2.2. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (IV)	75

4.2.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	77
4.2.3.1. RMN de ^1H	78
4.2.3.2. RMN de ^{13}C	80
4.2.3.3. Correlação [^1H - ^{15}N] por HMBC.	82
4.2.4. Titulação Espectroscópica	83
4.2.5. Titulação Potenciométrica	84
4.2.6. Cálculos por Teoria do Funcional de Densidade	86
4.2.6.1. Geometria	86
4.2.6.2. Espectros vibracionais	88
4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS	89
4.3.1. Ensaio Antibacterianos	89
4.3.1.1. Difusão em disco	89
4.3.1.2. Minimal Inhibitory Concentration (MIC)	91
4.3.2. Ensaio Antitumorais	91
4.3.2.1. Complexo Ag-NMS	91
4.3.2.2. Complexo Pt-NMS	92
4.3.3. Ensaio Biofísicos	94
4.3.3.1. Intercalação competitiva com brometo de etídio	94
4.3.3.2. Dicroísmo circular	96

Capítulo 5 . Conclusões

5.1. COMPLEXO Ag-NMS	101
5.2. COMPLEXO Pt-NMS	102

Abreviaturas, Acrônimos e Símbolos

Ag-NMS	Complexo de prata(I) com nimesulida
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i> , Coleção de Culturas
B3LYP	<i>Beck 3-parameter [exchange], Lee, Yang and Parr functional</i> , funcional híbrido de Lee, Yang e Parr com 3 parâmetros de troca de Becke.
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> , Infusão de cérebro e coração
$CE-[(Ag-NMS)\cdot\beta-CD]$	Complexo de inclusão preparado por co-evaporação para o complexo Ag-NMS, em β -ciclodextrina
$CE-[(NMS)\cdot\beta-CD]$	Complexo de inclusão preparado por co-evaporação para o ligante NMS, em β -ciclodextrina
CFU	<i>Colony-forming units</i> , unidades formadoras de colônia
COX	Ciclooxigenase
CT-DNA	<i>Calf Thymus DNA</i> , DNA de timo de bezerro
DC	Espectroscopia de dicroísmo circular
DFT	<i>Density function theory</i> , teoria do funcional de densidade
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle Medium</i> , meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco
DNA	Acido desoxirribonucleico

EI	Energia de Ionização
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ESI-QTOF-MS	Espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i> e analisador quadrupolo - tempo de voo
EtBr	Brometo de etídio
FBS	<i>Fetal bovine serum</i> , soro fetal bovino
GAMESS	<i>Genertal Atomic and Molecular Electronic System</i> , Sistema Geral de Estrutural Eletrônica e Molecular (<i>Software</i>)
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i> , correlação heteronuclear a múltiplas ligações
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> , correlação heteronuclear a uma ligação
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50 %</i> , Concentração necessária para inibir 50% do crescimento bacteriano
IV	Espectroscopia vibracional no infravermelho
LANL2DZ	<i>Los Alamos Nation Laboratory 2 - double zeta</i> , conjunto de bases do Laboratório Nacional de Los Alamos, com 2 funções zeta
MH	Ágar Mueller-Hinton
MIC	<i>Minimal Inhibitory Concentration</i> , concentração inibitória mínima

MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazol
NMS	Nimesulida
NOESY	<i>Nuclear Overhauser effect spectroscopy</i> - correlação ^1H - ^1H através do espaço
PBE0	<i>Perdew–Burke–Ernzerhof exchange-correlation functional</i> , funcional híbrido de Perdew-Burz-Ernzerhof
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i> , modelo do contínuo polarizável
Pt-NMS	Complexo de platina(II) com nimesulida
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
SFD	Sulfadiazina
TD-DFT	<i>Time Dependent DFT</i> , DFT dependente do tempo
TMS	tetrametilsilano
ZF	<i>Zinc Finger</i> , domínios proteicos do tipo dedos de zinco
β -CD	β -ciclodextrina
δ	Deslocamento químico
$\Delta\delta$	Variação de deslocamento químico
ν_{as}	Estiramento assimétrico
ν_{s}	estiramento simétrico

Lista de Figuras

- Figura 1.** Tabela periódica dos elementos de importância biológica.¹ _____ 3
- Figura 2.** Áreas de interesse dentro da química Bioinorgânica. _____ 5
- Figura 3.** Diagrama de Bertrand, mostrando o efeito fisiológico de compostos tóxicos, essenciais e terapêuticos² _____ 6
- Figura 4.** Compostos de coordenação que passaram por testes clínicos como agentes antitumorais. Adaptado de *Biological Inorganic Chemistry*¹ _____ 8
- Figura 5.** Estrutura cristalina do olinucleotídeo cis-[Pt(NH₃)₂{d(pGpG)}].⁷ 10
- Figura 6.** Outros compostos de coordenação com pronunciada ação antitumoral. _____ 12
- Figura 7.** Compostos de Au(I) utilizados como antiartríticos. Adaptado de *Biological Inorganic Chemistry*¹ _____ 14
- Figura 8.** À esquerda, o azo-corante Prontosil. À direita, a sulfanilamida. _ 20
- Figura 9.** Fórmula estrutural da nimesulida. _____ 21
- Figura 10.** Estrutura polimérica da sulfadiazina de prata.⁴⁴ _____ 23
- Figura 11.** Curva termogravimétrica e análise térmica diferencial do complexo Ag-NMS. _____ 45
- Figura 12.** (A) ESI-QTOF-MS do complexo Ag-NMS, (B) Padrão isotópico experimental e teórico e (C) Espectro de fragmentação iônica para a espécie monoprotonada [AgNMS+H]⁺ de m/z 414,95 _____ 47

- Figura 13.** Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis **(A)** para o complexo Ag-NMS e **(B)** ligante. As linhas tracejadas marcam os valores de energia das transições calculadas por TD-DFT e altura das linhas indica a força do oscilador associada à transição. Para mais detalhes sobre o cálculo de TD-DFT, veja a seção 4.1.6.3. _____ 48
- Figura 14.** **(A)** Espectros vibracionais no infravermelho do ligante NMS e do complexo Ag-NMS de 4000 – 400 cm^{-1} . **(B)** Espectros vibracionais no infravermelho do ligante NMS e do complexo Ag-NMS na região de 2000 – 400 cm^{-1} . _____ 50
- Figura 15.** NMS, com numeração de carbonos. _____ 51
- Figura 16.** Espectros de RMN de ^1H para a NMS (em preto) e para o complexo Ag-NMS (em vermelho). A região aromática em mostrada em destaque em **(B)**. _____ 52
- Figura 17.** Espectros de RMN de ^{13}C da NMS e do complexo Ag-NMS. ____ 54
- Figura 18.** [^1H - ^{15}N] HMBC **(A)** do ligante NMS e **(B)** do complexo Ag-NMS. _____ 56
- Figura 19.** Geometria otimizada da NMS, utilizando B3LYP/6-31G(d,p). Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C e branco para H. _____ 57
- Figura 20.** Geometria otimizada do complexo Ag-NMS utilizando B3LYP/6-31G(d,p) e LANL2DZ. Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C, branco para H e cinza claro para Ag. _____ 59

- Figura 21.** Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para a NMS. _____ 61
- Figura 22.** Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para o complexo Ag-NMS. _____ 62
- Figura 23.** Orbitais de Kohn-Sham de fronteira (A) para a NMS e (B) para o complexo Ag-NMS. _____ 63
- Figura 24.** Espectro eletrônico no UV-Vis (A) das soluções de NMS e concentrações crescentes de β -CD e (B) Espectro eletrônico no UV-Vis das soluções de Ag-NMS e concentrações crescentes de β -CD (concentrações descritas na Tabela 1). _____ 66
- Figura 25.** Curvas utilizadas para a determinação das constantes de associação entre (A) NMS e (B) Ag-NMS com β -CD. _____ 68
- Figura 26.** Estrutura de repetição da glicopiranosose (para a β -CD, n=7), e ênfase na estrutura toroidal da β -CD, onde são indicados os hidrogênios internos e externos à cavidade. _____ 69
- Figura 27.** Espectros de RMN de ^1H NMR para (A) Ag-NMS, (B) β -CD e (C) CE-[(Ag-NMS)· β -CD] nas regiões 2,5 – 4,0 ppm e 6,0 – 8,0 ppm. _____ 70
- Figura 28.** Espectro NOESY do complexo CE-[(Ag-NMS)· β -CD] em D_2O à temperatura ambiente, com *mixing time* de 800 ms. A - espectro completo; B - sinais de NOE que demonstram correlação entre os hidrogênio 3, 5 e 6 da β -CD com hidrogênios do Ag-NMS. _____ 73
- Figura 29.** Curva termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA) do complexo Pt-NMS. _____ 74

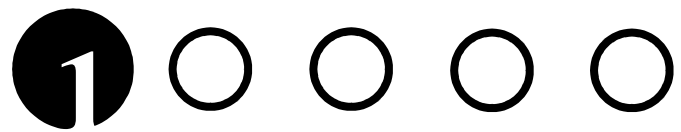
- Figura 30.** (A) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Pt-NMS de 4000 – 400 cm^{-1} . (B) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Pt-NMS na região de 2000 – 400 cm^{-1} . _____ 76
- Figura 31.** Espectro vibracional no IV de baixa região para o complexo Pt-NMS e para o $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ _____ 77
- Figura 32.** Espectros de RMN de ^1H para a NMS (em preto) e para o complexo Pt-NMS (em vermelho). A região aromática em mostrada em destaque em B. _____ 78
- Figura 33.** Espectros de RMN de ^{13}C para a NMS e para o complexo Pt-NMS. _____ 81
- Figura 34.** Espectro de correlação HMBC [^1H - ^{15}N] para (A) a NMS e (B) o complexo Pt-NMS. _____ 82
- Figura 35.** Espectro eletrônico no UV-Vis do complexo Pt-NMS em função do pH. A linha verde em destaque mostra o espectro do complexo sem ajuste de pH _____ 83
- Figura 36.** Curva de titulação potenciométrica do complexo Pt-NMS. _____ 85
- Figura 37.** Diagrama de distribuição de espécies para o complexo Pt-NMS, em função do pH. _____ 85
- Figura 38.** Geometrias otimizadas do complexo Pt-NMS utilizando B3LYP/6-31G(d,p) e LANL2DZ. Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C, branco para H e cinza claro para Pt. _____ 87

- Figura 39.** Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para o complexo Pt-NMS. _____ 88
- Figura 40.** Sensibilidade das cepas bacterianas (A) *E. coli*, (B) *P. aeruginosa* e (C) *S. aureus*, em relação ao complexo Ag-NMS. As posições indicam 1. NMS, 2. AgNO₃, 3. Ag-NMS, 4. Ceftriaxona, 5. Gentamicina e 6. EtOH. _____ 90
- Figura 41.** Avaliação da citotoxicidade do complexo Ag-NMS. Os resultados são apresentados com relação às células não tratadas, tomadas como 100%. Média e desvio padrão obtidos de quatro experimentos independentes. __ 92
- Figura 42.** Avaliação da citotoxicidade do complexo Pt-NMS. Os resultados são apresentados com relação às células não tratadas, tomadas como 100%. Os valores representam a média e o desvio padrão resultantes de quatro experimentos independentes. _____ 93
- Figura 43.** Estrutura do brometo de etídio e modo de intercalação entre dois pares Adenina-Timina. _____ 95
- Figura 44.** Intensidade de fluorescência em função da razão molar de EtBr para os diferentes compostos testados. _____ 95
- Figura 45.** Perfis dos espectros de dicroísmo circular para o DNA em suas formas A, B e Z.⁸⁰ _____ 97
- Figura 46.** Titulação de CT-DTA com (A) NMS e (B) Pt-NMS acompanhada por DC. _____ 98

Lista de tabelas

- Tabela 1.* Soluções utilizadas na determinação das constantes de inclusão da NMS e do complexo Ag-NMS em β -CD _____ 37
- Tabela 2.* Atribuições, deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN de ^1H da NMS e do complexo Ag-NMS – $\Delta\delta$ representa a diferença entre o deslocamento químico de um sinal no complexo e no ligante livre. _____ 53
- Tabela 3.* Atribuições dos sinais de RMN de ^{13}C NMR e deslocamentos químicos para a NMS e para o complexo Ag-NMS. _____ 55
- Tabela 4.* Distâncias e ângulos de ligação obtidos por cálculo DFT (B3LYP/6-31G(d,p)) para a NMS e comparação com valores experimentais obtidos por difração de raios X de monocristal.⁷¹ _____ 58
- Tabela 5.* Distâncias e ângulos de ligação obtidos pela otimização de geometria do complexo Ag-NMS e variação das distâncias e ângulos em relação ao ligante livre (Δd e $\Delta\angle$, respectivamente). _____ 60
- Tabela 6.* Transições eletrônicas calculadas por TD-DFT para a NMS e para o complexo Ag-NMS. A força do oscilador é representada por f_0 . _____ 64
- Tabela 7.* Atribuições dos sinais de RMN de ^1H , deslocamentos químicos e multiplicidade para os compostos Ag-NMS, β -CD e CE- $[\beta\text{-CD}\cdot(\text{NMS})]$. $\Delta\delta$ é a diferença (em ppm) entre o deslocamento químico de um determinado sinal no complexo de inclusão e este mesmo sinal no Ag-NMS ou na β -CD livres. _____ 71

<i>Tabela 8.</i> Atribuições, deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN de ^1H da NMS e do complexo Pt-NMS – $\Delta\delta$ representa a diferença entre o deslocamento químico de um sinal no complexo e no ligante livre. _____	79
<i>Tabela 9.</i> Atribuições para os sinais de RMN de ^{13}C NMR e deslocamentos químicos para a NMS e para o complexo Pt-NMS. _____	81
<i>Tabela 10.</i> Halos de inibição ($\pm 0,1$ mm) para os compostos testados. _____	90
<i>Tabela 11.</i> Concentrações inibitórias mínimas obtidas para os compostos Ag-NMS, CE -[(Ag-NMS) $\cdot\beta$ -CD] e CE -[(NMS) $\cdot\beta$ -CD]. O cloranfenicol e a vancomicina foram utilizados como controles positivos para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente. _____	91



Introdução

1.1 ASPECTOS GERAIS

Onze elementos da tabela periódica são necessário para *todas* as formas de vida e outros treze elementos adicionais são necessários para a maior parte dos seres vivos. Outros sete elementos são especializados, requeridos apenas por algumas espécies. A tabela periódica dos elementos de importância biológica é apresentada na **Figura 1**. Esta tabela destaca os 30 elementos necessários para a diversidade de vida na Terra.

Elementos de relevância biológica

1 H hydrogen (1.007, 1406)																	2 He helium 4.003															
3 Li lithium (6.938, 6.997)	4 Be beryllium 9.012											5 B boron (10.80, 10.83)	6 C carbon (12.00, 12.02)	7 N nitrogen (14.00, 14.01)	8 O oxygen (15.99, 16.00)	9 F fluorine 19.00	10 Ne neon 20.18															
11 Na sodium 22.99	12 Mg magnesium (24.30, 24.31)											13 Al aluminum 26.98	14 Si silicon (28.08, 28.09)	15 P phosphorus 30.97	16 S sulfur (32.06, 32.08)	17 Cl chlorine (35.44, 35.46)	18 Ar argon 39.95															
19 K potassium 39.10	20 Ca calcium 40.08	21 Sc scandium 44.96	22 Ti titanium 47.87	23 V vanadium 50.94	24 Cr chromium 52.00	25 Mn manganese 54.94	26 Fe iron 55.85	27 Co cobalt 58.93	28 Ni nickel 58.69	29 Cu copper 63.55	30 Zn zinc 65.38(2)	31 Ga gallium 69.72	32 Ge germanium 72.63	33 As arsenic 74.92	34 Se selenium 78.96(2)	35 Br bromine (79.90, 79.91)	36 Kr krypton 83.80															
37 Rb rubidium 85.47	38 Sr strontium 87.62	39 Y yttrium 88.91	40 Zr zirconium 91.22	41 Nb niobium 92.91	42 Mo molybdenum 95.96(2)	43 Tc technetium 101.1	44 Ru ruthenium 101.1	45 Rh rhodium 106.4	46 Pd palladium 106.4	47 Ag silver 107.9	48 Cd cadmium 112.4	49 In indium 114.8	50 Sn tin 118.7	51 Sb antimony 121.8	52 Te tellurium 127.6	53 I iodine 126.9	54 Xe xenon 131.3															
55 Cs caesium 132.9	56 Ba barium 137.3	57-71 lanthanoids	72 Hf hafnium 178.5	73 Ta tantalum 180.9	74 W tungsten 183.8	75 Re rhenium 186.2	76 Os osmium 196.2	77 Ir iridium 192.2	78 Pt platinum 195.1	79 Au gold 197.0	80 Hg mercury 200.6	81 Tl thallium (204.3, 204.4)	82 Pb lead 207.2	83 Bi bismuth 208.6	84 Po polonium	85 At astatine	86 Rn radon															
87 Fr francium	88 Ra radium	89-103 actinoids	104 Rf rutherfordium	105 Db dubnium	106 Sg seaborgium	107 Bh bohrium	108 Hs hassium	109 Mt meitnerium	110 Ds darmstadtium	111 Rg roentgenium	112 Cn copernicium			114 Fl flerovium			116 Lv livermorium															
																		57 La lanthanum 138.9	58 Ce cerium 140.1	59 Pr praseodymium 140.9	60 Nd neodymium 144.2	61 Pm promethium	62 Sm samarium 150.4	63 Eu europium 152.0	64 Gd gadolinium 157.3	65 Tb terbium 158.9	66 Dy dysprosium 162.5	67 Ho holmium 164.9	68 Er erbium 167.3	69 Tm thulium 168.9	70 Yb ytterbium 173.1	71 Lu lutetium 175.0
																		89 Ac actinium	90 Th thorium 232.0	91 Pa protactinium 231.0	92 U uranium 238.0	93 Np neptunium	94 Pu plutonium	95 Am americium	96 Cm curium	97 Bk berkelium	98 Cf californium	99 Es einsteinium	100 Fm fermium	101 Md mendelevium	102 No nobelium	103 Lr lawrencium

Elementos essenciais para todos os seres vivos

Elementos essenciais para uma ampla variedade de bactérias, plantas e/ou animais

Elementos essenciais para algumas espécies

Figura 1. Tabela periódica dos elementos de importância biológica.¹

Os elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo e enxofre fornecem os blocos de construção para os principais componentes celulares, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, lipídios e polissacarídeos. Entretanto, apesar da enorme diversidade de compostos orgânicos, a vida não

consegue se sustentar apenas com estes elementos. Entender as funções dos elementos diferentes de C, H, N, O, P e S nos sistemas biológicos é o objetivo da química bioinorgânica.

Muitos metais desempenham papéis fundamentais em processos vitais de sistemas vivos. É na forma catiônica, solúvel em fluidos biológicos, que estes elementos participam de inúmeros processos biológicos. Embora tais metais se apresentem em uma forma deficiente de elétrons, a maior parte das biomoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, possuem elementos doadores de densidade eletrônica. Surge, com isso, a tendência de metais aparecerem ligados ou interagindo a biomoléculas em sistemas vivos.¹

O mesmo princípio pode ser empregado para entender a afinidade de metais por pequenas moléculas essenciais para a vida, como o O₂. Dado este amplo escopo de interações possíveis entre metais e biomoléculas, não é surpreendente a participação de uma grande variedade de metais em processos biológicos essenciais para a vida. A hemoglobina, por exemplo, é uma metaloproteína de ferro. A coordenação do O₂ ao ferro desempenha papel fundamental no transporte e distribuição deste gás pelo organismo. O zinco, por sua vez, desempenha função estrutural. Sem ele, proteínas com domínios do tipo dedo de zinco (*zinc finger*, ZF) não adquirem a conformação necessária para o reconhecimento de sequências específicas de DNA ou RNA. Além disso, o zinco também faz parte da estrutura da anidrase carbônica, metaloenzima que participa do transporte de CO₂ e controle do pH sanguíneo. A plastocianina é uma metaloproteína de cobre que participa do transporte de elétrons na fotossíntese. Além dela, a citocromo c oxidase é outro exemplo de metaloproteína de cobre e participa da etapa final de transferência eletrônica na respiração celular. Outro exemplo interessante é a superóxido dismutase,

metaloenzima de cobre e zinco responsável por combater o estresse oxidativo causado por espécies reativas de oxigênio.¹

O entendimento das diversas funções de metais nos sistemas biológicos tem estimulado a busca por compostos de coordenação que possam ainda ser utilizados com finalidade terapêutica ou no diagnóstico de diversas doenças.

1.2 METALOFÁRMACOS

Compostos inorgânicos têm sido utilizados em medicina há séculos mas, por muito tempo, foram utilizados de maneira puramente empírica, com pouco ou nenhum esforço voltado ao entendimento de seus mecanismos de ação. A maior parte dos compostos desenvolvidos com finalidades medicinais compreende metais exógenos, ou seja, que não fazem parte e não são necessários para os organismos vivos.



Figura 2. Áreas de interesse dentro da Química Bioinorgânica.

A **Figura 2** mostra áreas de destaque no design de compostos metálicos biologicamente ativos. De maneira central, independentemente da aplicação, busca-se o controle da toxicidade (efeitos adversos) e o direcionamento do composto a células, tecidos ou órgãos específicos. A toxicidade de um determinado composto de coordenação não depende apenas do metal em si e de seu estado de oxidação, mas também do número e da natureza dos ligantes, assim como da dose e modo de administração. Além disso, o efeito de um determinado elemento pode depender da presença ou disponibilidade de outro.

Dentro deste contexto, costumam ser aplicados os termos *tóxico* e *não-tóxico* para descrever um determinado elemento químico, ou um composto preparado a partir deste elemento. Mesmo compostos ditos *tóxicos* podem ser tolerados em baixas doses, podendo apresentar efeitos terapêuticos dentro de uma faixa estreita de concentração. Por outro lado, elementos bioquimicamente essenciais podem se tornar tóxicos em altas doses. O diagrama de Bertrand (**Figura 3**) resume o que foi descrito.

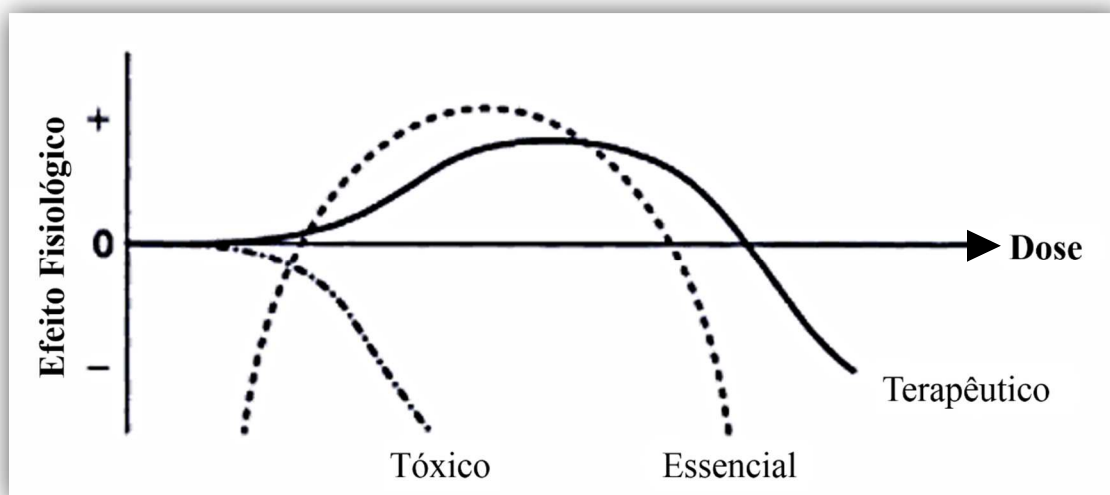


Figura 3. Diagrama de Bertrand, mostrando o efeito fisiológico de compostos tóxicos, essenciais e terapêuticos²

1.2.1. A Platina(II) e o Câncer

O câncer se tornou um grande problema de saúde pública em muitas partes do mundo. Nos Estados Unidos, uma em cada quatro mortes é causada pelo câncer. Segundo estatísticas recentes divulgadas pela *American Cancer Society*, o câncer já é a segunda causa mais incidente de mortes na população norte-americana em ambos os sexos, ficando atrás apenas de doenças cardíacas.³

Câncer é um termo usado para descrever um conjunto de doenças nas quais células se dividem de maneira anormal, descontrolada, podendo invadir tecidos diferentes daquele no qual tiveram origem. As células cancerosas podem se espalhar para outras partes do corpo através do sangue e do sistema linfático.⁴ Segundo o *National Cancer Institute*, integrante do *National Institute of Health* (NIH) do governo norte-americano, existem mais de 100 tipos diferentes de câncer, nomeados de acordo com o órgão ou tipo de célula nos quais tiveram início.⁴ De um modo geral, os mais de 100 tipos podem ser divididos em 5 grandes categorias:

- *Carcinoma* – câncer que se inicia na pele ou em tecidos que revestem outros órgãos.
- *Sarcoma* – câncer que se inicia nos ossos, cartilagem, tecido adiposo, músculos, vasos sanguíneos ou outros tecidos conectivos ou de suporte.
- *Leucemia* – câncer que se inicia na medula.
- *Linfoma e mieloma* – câncer que se inicia no sistema imune.
- *Câncer do sistema nervoso central* – se inicia em tecidos do cérebro e da coluna vertebral.

Tendo em vista a amplitude tomada pela doença, um esforço contínuo da comunidade científica é dedicado a busca por novos compostos com ação

antitumoral. Dentro deste contexto, são inúmeros os exemplos de metalofármacos antitumorais que entraram em testes clínicos nos últimos anos. A **Figura 4** mostra alguns exemplos.

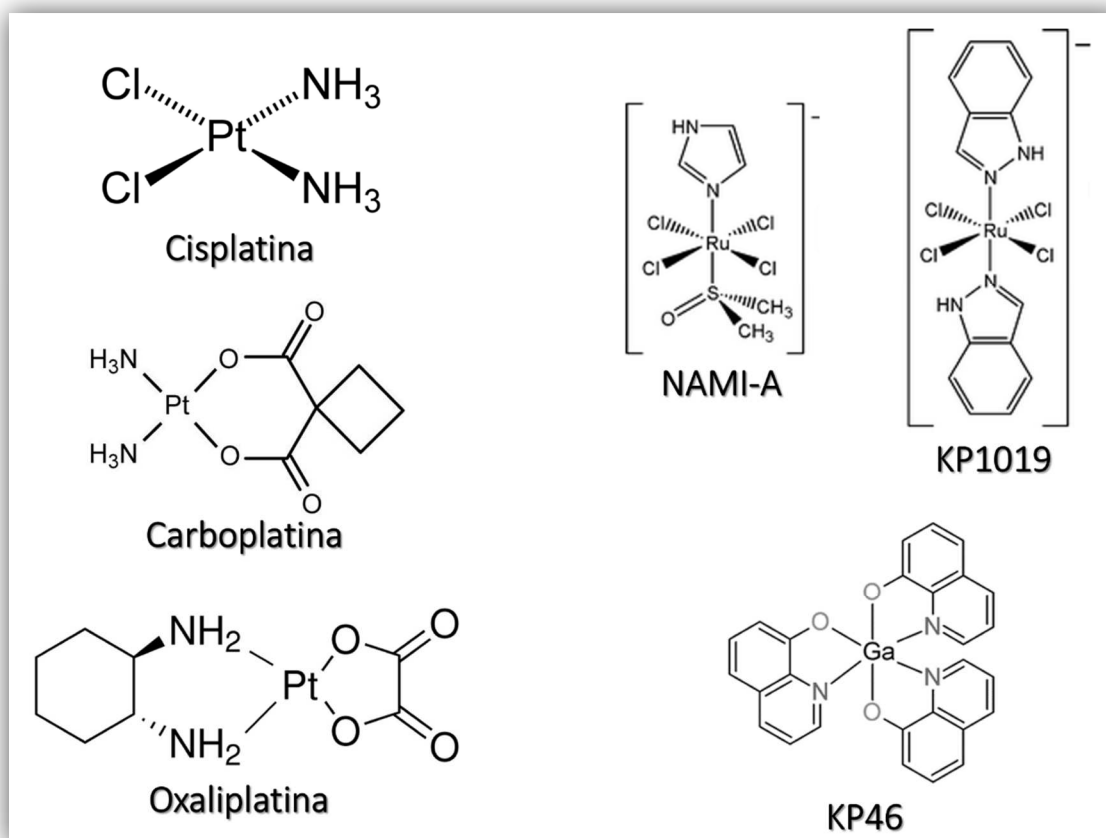


Figura 4. Compostos de coordenação que passaram por testes clínicos como agentes antitumorais. Adaptado de *Biological Inorganic Chemistry*¹

1.2.1.1. A descoberta da cisplatina

A cisplatina, ou *cis*-diaminodicloroplatina(II), é um dos metalofármacos antitumorais mais utilizados para o tratamento de câncer de testículo e ovário. A cisplatina foi aprovada pela FDA para o tratamento de tumores do sistema geniturinário em 1978, e é geralmente utilizada em combinação com até quatro fármacos orgânicos, como 5-fluorouracil, ciclofosfamida e gencitabina.¹ A atividade antitumoral da cisplatina foi descoberta por Barnett Rosenberg, um biofísico vinculado à Michigan State University, em 1965.⁵

Com a cisplatina, o prognóstico de cura para pacientes acometidos por câncer de testículo e ovário chegou a 86%. Entretanto, alguns efeitos colaterais eram observados, como nefro-, oto- e neurotoxicidades. Visando contornar estes problemas, fármacos de segunda e terceira gerações foram desenvolvidos por meio da modulação da labilidade dos ligantes.¹

1.2.1.2. Interação da cisplatina com o DNA

A cisplatina apresenta como principal alvo biológico o DNA, formando fortes ligações Pt(II)-N com as nucleobases guanina e adenina. Na conformação *cis*, há majoritariamente a formação de *cross-links* 1,2-intrafita.⁶ Este *cross-link* pode ser visto na estrutura cristalina (**Figura 5**), resolvida por difração de raios X, para o oligonucleotídeo platinado *cis*-[Pt(NH₃)₂{d(pGpG)}]. A formação do *cross-link* promove mudanças conformacionais na estrutura do DNA, além de formar um ambiente hidrofóbico que promove uma melhor interação da região platinada do DNA com proteínas do tipo *high mobility group*. Estas proteínas “ocultam” a lesão no DNA, e impedem que mecanismos de reparo funcionem de maneira eficiente.⁷ Como consequência, impedem a transcrição gênica e síntese proteica, o que leva à morte celular.

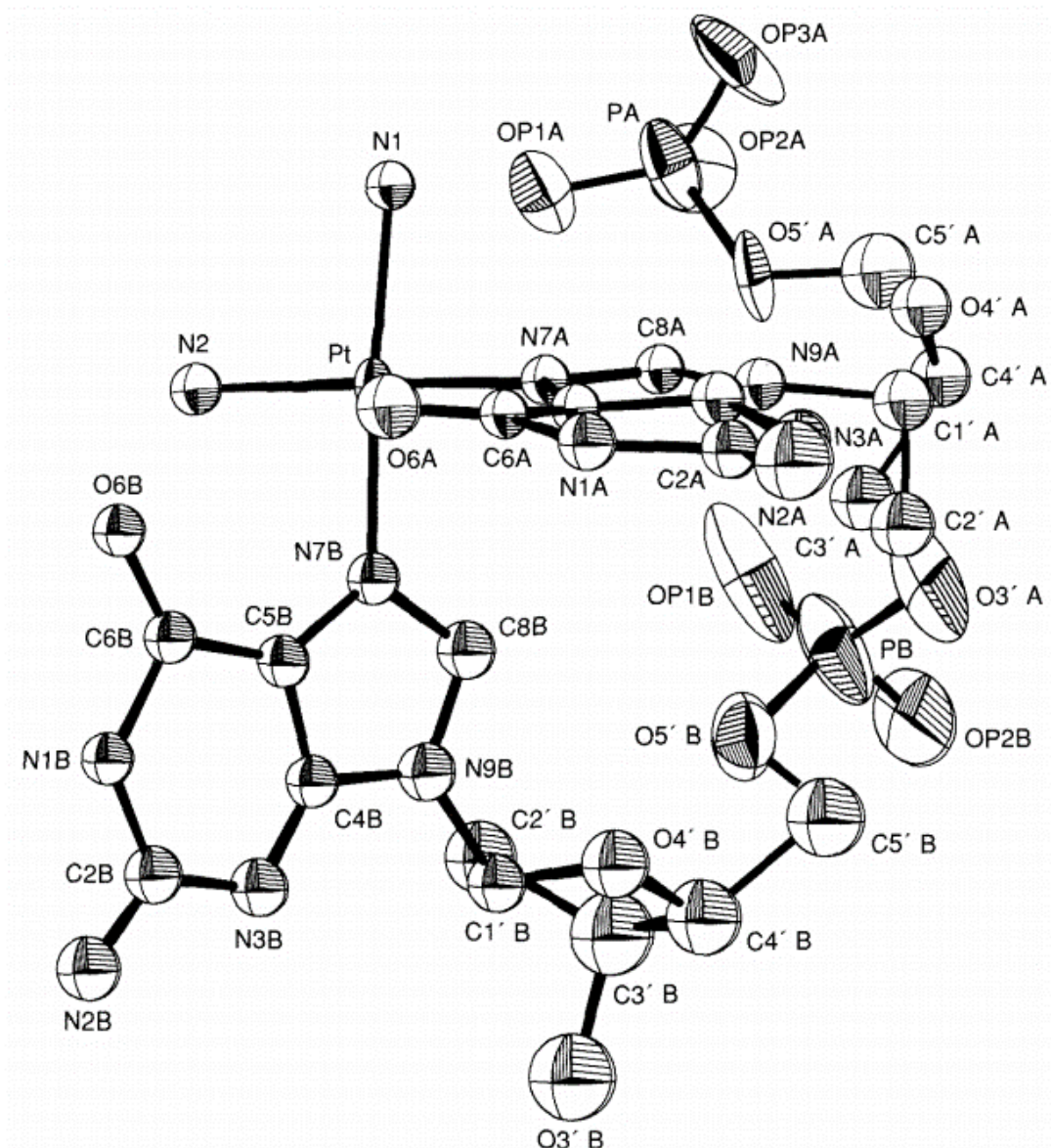


Figura 5. Estrutura cristalina do olinucleotídeo $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\{\text{d}(\text{pGpG})\}]$.⁸

1.2.1.3. Estrutura eletrônica e reatividade

Complexos de Pd(II) também despertaram interesse, devido à similaridade estrutural entre complexos de Pd(II) e seus análogos de Pt(II). No entanto, complexos de Pd(II) são $10^4 - 10^5$ vezes mais reativos frente a reações de substituição do que os análogos de Pt(II).¹ Desta maneira, complexos de Pt(II) acabam sendo os mais estudados.

Há também um argumento termodinâmico: Pt(II) e Pd(II) possuem, ambos, configuração eletrônica d^8 . No entanto, a diferença de energia entre os orbitais de fronteira na Pt(II) é maior do que no Pd(II), por estar um período abaixo na tabela periódica. Desta maneira, os orbitais moleculares de natureza ligante formados num complexo de Pd(II) possuem energia mais alta do que num complexo análogo de Pt(II), o que atribui uma menor estabilidade termodinâmica às ligações.⁹ A cinética lenta dos complexos de Pt(II) permitiu o estudo extensivo de isomeria geométrica e reações de substituição em complexos quadrados.

1.2.1.4. Outros complexos com ação antitumoral

Alguns complexos de Ru(III) que conseguem vencer a barreira da insolubilidade também apresentaram efeitos antitumorais promissores. Complexos octaédricos de Ru(III) com ligantes N-heterocíclicos indazol ou imidazol entraram em testes clínicos contra carcinoma de cólon e como agente antimetastático, respectivamente.¹⁰

Compostos de Ga(III) interferem drasticamente na bioquímica do Fe, uma vez que boa parte do Ga(III), quando livre no sangue, é capturado pela transferrina.¹ Também é relatado na literatura que células tumorais requerem quantidades de ferro maiores do que células normais.¹¹ O complexo [Ga(8-hidroxiquinolina)₃] (KP46)¹² entrou em testes clínicos em 2003, como um fármaco antitumoral de uso oral.

Outras classes de agentes antitumorais, mas que ainda não alcançaram a etapa de testes clínicos, também merecem destaque. A **Figura 6** mostra alguns destes compostos. Casiopeínas¹³ são complexos de Cu(II) de ligantes mistos,

1.2.2. O Ouro(I) e a Artrite Reumatoide

Desde os tempos antigos, o homem associou a cor e o brilho do ouro ao sol. Em todas as culturas que cultuavam o sol, o ouro representava sua forma terrena. Seu uso, associado a propriedades mágico-religiosas, é tão antigo quanto a civilização egípcia,¹⁸ onde os faraós eram vistos como descendentes de Rá, a divindade associada ao sol. Nesta época, o ouro era usado em sua forma metálica, na forma de amuletos, por curandeiros. As propriedades místicas do ouro atravessaram a antiguidade clássica, e foram descritas por Plínio no século I d.C., que descreve o uso de peças do metal para proteção contra “poções mágicas”.¹⁹ Já no século XIX, o ouro foi considerado uma panaceia (composto capaz de curar qualquer doença). Os alquimistas descobriram que o ouro metálico era solúvel em água régia e que este podia ser trazido de volta a ouro metálico na forma de um coloide estável, de cor variável entre azul (partículas maiores) e roxo escuro (partículas menores). O coloide neutralizado, *aurum potabile*, foi amplamente utilizado na terapia durante a Idade Média,¹ mas sua real utilidade permanece contestável.

O uso racional do ouro na medicina teve seu início no século XIX, quando o bacteriologista Robert Koch descobriu que o $K[Au(CN)_2]$ era capaz de matar a bactéria causadora da tuberculose.²⁰ Como muitos complexos de Au(I), o $[Au(CN)_2]^-$ é linear. O ouro(I) é um ácido de Pearson mole e, como consequência, tem maior afinidade por ligantes mais moles. O ouro(I) tem ainda seu estado de oxidação estabilizado por ligantes π -aceptores. Em sistemas bioquímicos, seus ligantes preferidos são tiolatos de resíduos de cisteína em proteínas. A afinidade do Au(I) por DNA é muito baixa, justamente por sua preferência por S, em relação a N e O. Ao contrário do Cu, que também pertence ao grupo 11, o Au(II) é instável. Por outro lado, complexos quadrados de

Au(III) são facilmente preparados, mas tendem a ser reduzidos em condições fisiológicas.

Durante o início do século XX, o $K[Au(CN)_2]$ foi substituído por complexos de Au(I) menos tóxicos, os tiolatos de ouro, no tratamento da tuberculose. No início da década de 1930, o médico francês Jacques Forestier foi o primeiro a utilizar os tiolatos de ouro no tratamento da artrite reumatoide,²¹ quadro clínico que ele acreditava estar associado à tuberculose. Os principais fármacos de Au(I) injetáveis utilizadas no tratamento da artrite são os complexos solúveis em água aurotiomalato (miocrisina), aurotioglicose (solgonal), Au(I)-bis(tiosulfato) de sódio e Au(I)-tiopropanolsulfonato de sódio.

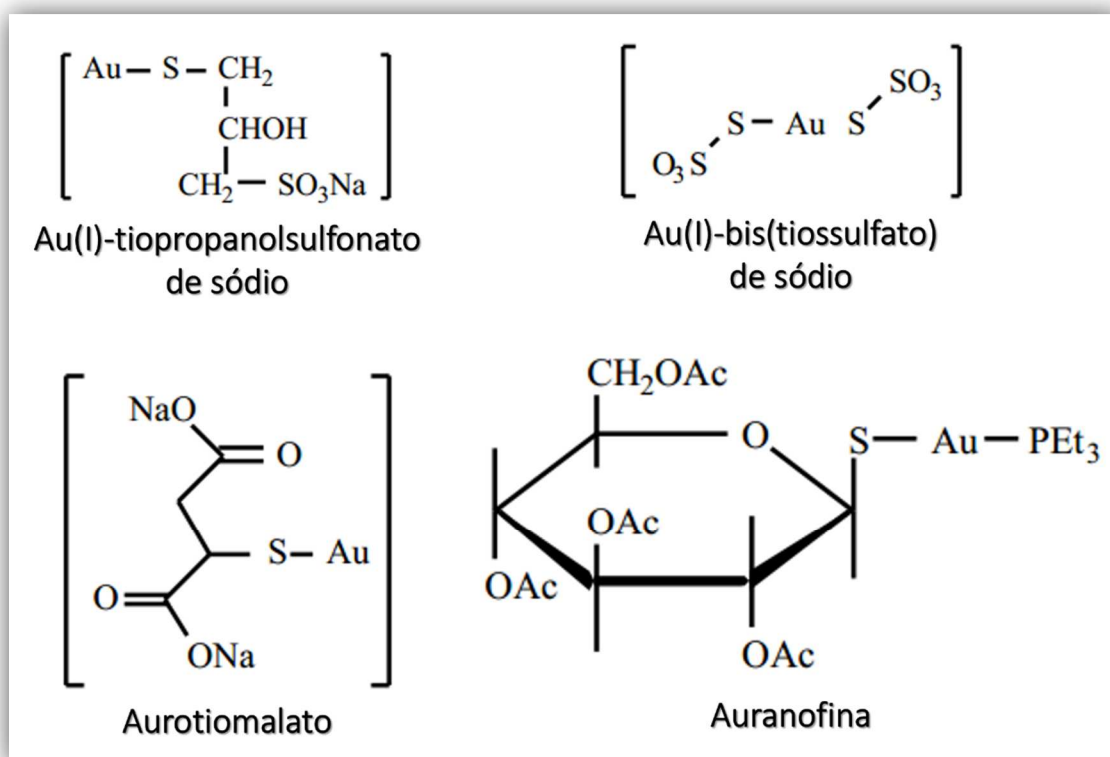


Figura 7. Compostos de Au(I) utilizados como antiartríticos. Adaptado de *Biological Inorganic Chemistry*¹

Os tiolatos de Au(I) antiartríticos são sintetizados numa estequiometria 1:1 metal/ligante, mas formam redes no estado sólido. O ouro(I) deve ter, no mínimo, NC=2 e o enxofre do tiolato pode funcionar como um ligante em ponte entre dois centros metálicos.

O fármaco de administração oral auranofina (comercializado sob a marca Ridaura) é monomérico, com o Au(I) numa geometria de coordenação linear, entre o enxofre do ligante tioglicosetetracetato e o fósforo da trietilfosfina. É abundantemente solúvel em solventes orgânicos, mas pouco solúvel em água.

Estes compostos são vistos como pró-fármacos, uma vez que reações de substituição de ligantes são importantes em complexos de Au(I). Estas reações possuem baixa energia de ativação e passam por um intermediário tri-coordenado.

1.2.3. A Prata(I) e Infecções Bacterianas

1.2.3.1. Histórico do uso da prata(I)

Heródoto, o pai da História, relata que nenhum rei da Pérsia beberia água que não tivesse sido armazenada em containers de prata, o que “mantinha a água fresca por anos”.²² Hipócrates, frequentemente referido como o pai da Medicina, utilizava preparações de prata para o tratamento de úlceras de pele e para promover a cicatrização de ferimentos. Muito provavelmente o nitrato de prata também era usado medicinalmente, uma vez que ele é mencionado na farmacopeia publicada em Roma em 69 a.C.²³ O alquimista Paracelso propôs o uso do nitrato de prata para o tratamento de lesões de pele, e também propôs um procedimento de síntese, pelo tratamento de Ag metálica com a *aqua fortis* (ácido nítrico). Devido a sua ação cáustica, o nitrato de prata ficou conhecido

como *Lapis Infernalis*, com nomes equivalentes em muitos locais do mundo, como *Lunar Caustic*, *Pierre infernale*, *Höllenstein*, dentre outros.²⁴

Durante o século XVII surgiu a expressão “*born with a silver spoon in the mouth*” para se referir aos nobres ingleses, uma vez que as famílias mais ricas utilizavam talheres e utensílios de cozinha feitos de prata e apresentavam mortalidade reduzida durante períodos de epidemias.²⁴ Um livro texto de Heister publicado em 1724 recomenda o uso do *lapis infernalis* para o tratamento de verrugas. Evidências da indicação do nitrato de prata para o tratamento de doenças venéreas surgiram também nesta época. O famoso cirurgião escocês John Hunter (conhecido por introduzir o método científico na cirurgia) indicou, em 1786, o uso do *lapis infernalis* para o tratamento de cancro mole.²⁵ Em 1852, o médico J. Marison Sims propôs o uso de suturas de prata, como forma de contornar os problemas de fístulas vesico-vaginais que surgiam após o parto.²⁶ Na década de 1880, o médico Carl Siegmund Franz Credè, obstetra alemão, foi pioneiro na indicação do uso de colírios contendo nitrato de prata para prevenção de oftalmia neonatal.²⁷ B. C. Crede, cirurgião, foi o primeiro a empregar prata coloidal como antisséptico para o tratamento de feridas em 1891.^{22,23}

Em 1968, a sulfadiazina de prata, um complexo de prata(I) contendo uma sulfonamida, foi introduzido clinicamente para o tratamento de queimaduras e lesões na pele. Por apresentar grande eficiência, a sulfadiazina de prata tem sido utilizada em medicina desde então.

1.2.3.2. *A resistência bacteriana*

Era “pós-antibióticos”. Este é o termo que tem sido utilizado para descrever a situação atual, onde os agentes antimicrobianos têm perdido seu efeito, devido à resistência adquirida pelos micro-organismos. Na verdade, a

resistência bacteriana é um problema apontado já por Sir Alexander Fleming, responsável pela descoberta da penicilina, em seu discurso ao receber o Nobel em 1945:

“It is not difficult to make microbes resistant to penicillin in the laboratory by exposing them to concentrations not sufficient to kill them... There is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.”

Sem a proteção oferecida pelos antibióticos, inúmeros procedimentos da prática médica teriam que ser totalmente repensados. Muitos tratamentos necessitam de supressão do sistema imune como, por exemplo, no tratamento do câncer ou ainda para tornar o transplante de órgãos viável. Esta supressão obviamente deixa o paciente vulnerável a infecções. Antibióticos reduzem os riscos. Sem eles, quimio- e radioterapias seriam tão perigosas quanto o câncer que tentam curar. Da mesma maneira, queimaduras severas são altamente susceptíveis a infecções. Inúmeros procedimentos médicos invasivos estão associados a riscos altíssimos de infecção, e também se tornariam inviáveis sem antibióticos eficientes como, por exemplo, o uso de cateteres ou ainda a diálise. Todos os procedimentos cirúrgicos, em particular aqueles realizados em regiões que contem grandes quantidade de bactérias, como os intestinos e o trato urinário, também representariam um risco.^{28,29}

Visando-se contornar o problema da resistência bacteriana, várias abordagens têm sido empregadas.^{30,31} Dentre elas, a coordenação de metais a antibióticos aparece como uma estratégia de reversão da resistência e como uma plataforma para a produção de novos fármacos.

Antissépticos à base de prata(I) têm mostrado possuir menor propensão a induzir resistência antimicrobiana do que outros antimicrobianos e,

simultaneamente, a prata(I) possui toxicidade notavelmente baixa quando comparada a outros íons de metais pesados. Tais propriedades são desejáveis para agentes antimicrobianos. São relatados três possíveis mecanismos de inibição de crescimento bacteriano por íons Ag(I): (a) interferência na cadeia transportadora de elétrons, (b) ligação ao DNA e (c) interação com as membranas celulares.³²

1.2.3.3. *Estrutura eletrônica e reatividade da Ag(I)*

Por muitos anos, acreditou-se que a química da prata e do ouro era muito mais similar do que realmente é. Na tríade Cu-Ag-Au, a estabilidade dos estados de oxidação não segue a tendência usual de aumento de estabilidade de estados de oxidação mais elevados conforme se desce no grupo. Para o cobre, o estado de oxidação 2+ é o mais importante. Para a prata, por outro lado, o estado 1+ é o mais representativo. O ouro apresenta predominantemente os estados de oxidação 1+ e 3+.

Uma possível razão para as estabilidades relativas dos estados de oxidação no grupo 11 reside nos valores de energia de ionização (EI). O valor de EI₁ é menor para a prata do que para o cobre, como esperado, mas o valor de EI₂ é maior (este segundo elétron é removido de um orbital 4d na Ag, e 3d no Cu). EI₃ é novamente menor para a prata, o que se correlaciona com a maior estabilidade do estado de oxidação Ag(III) e à tendência de desproporcionamento dos íons Ag(II). O elevado valor de EI₁ do ouro se deve à contração relativística da camada 6s (da qual o primeiro elétron é removido), enquanto o baixo valor de EI₃ vai ao encontro com a estabilidade do estado de oxidação Au(III) e é reforçado pelo grande desdobramento de campo para o íon 5d⁸.³³

Por possuir sua camada d fechada, não há uma vantagem energética associada a nenhuma geometria específica para o íon Ag(I). Desta maneira, inúmeras estruturas são observadas para complexos de Ag(I). Uma das geometrias de coordenação mais comuns apresentadas pela Ag(I) é a linear, como nos complexos $[Ag(CN)_2]^-$ e $[Ag(NH_3)_2]^+$. Alguns exemplos interessantes de outras geometrias de coordenação da Ag(I) são reportados na literatura. Muito ainda se discute com relação à estrutura do aquaíon $[Ag(H_2O)_n]^+$, tendo sido aceita a estrutura $[Ag(H_2O)_4]^+$ tetraédrica por muito tempo, evidenciada por medidas de ressonância paramagnética eletrônica, por exemplo.³⁴ Estudos mais recentes por LAXS e EXAFS apontam para a existência de duas moléculas de água ligadas a curta distância, 2,32 Å, e pelo menos duas moléculas mais distantes, a cerca de 2,5 Å, num arranjo tetraédrico altamente distorcido.³⁵ O DMSO também se coordena à Ag(I) pelo oxigênio, e não pelo enxofre, na espécie $[Ag(DMSO)_2]^+$.³⁵ O complexo linear $[Ag(NH_3)_2]^+$, quando dissolvido em amônia líquida, forma a espécie tetraédrica $[Ag(NH_3)_4]^+$, segundo resultados de espectroscopia Raman em solução.³⁶ O complexo de Ag(I) com o ligante difosfino eppe $[Ag(eppe)_2]NO_3$ (eppe = $Et_2PCH_2CH_2PPh_2$) também apresenta geometria de coordenação tetraédrica.³⁷

1.3 SULFONAMIDAS

1.3.1. Histórico

Em 25 de dezembro de 1932, a empresa química alemã I.G. *Farbenindustrie* depositou uma patente descrevendo um azo-corante vermelho que apresentava grande habilidade de curar certos tipos de infecções bacterianas em ratos. Dois anos depois, agora sob o nome comercial de Prontosil, verificou-se que o corante apresentava as mesmas propriedades antibacterianas também

em humanos. Após publicação em um periódico médico alemão, o Prontosil se tornou o primeiro composto sintético disponível na clínica médica, em abril de 1935.³⁸ Posteriormente, ainda em 1935, trabalhos do Instituto Pasteur mostraram que o Prontosil era metabolizado para sulfanilamida (*Figura 8*). Desta maneira, o prontosil foi redefinido como um pró-fármaco.

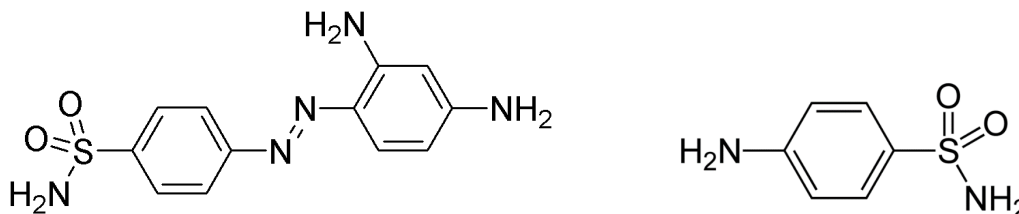


Figura 8. À esquerda, o azo-corante Prontosil. À direita, a sulfanilamida.

A introdução do Prontosil na clínica médica se tornou um marco na história da medicina. Como o primeiro composto da classes das sulfonamidas, ele iniciou uma revolução na terapia de infecções bacterianas. Doenças temidas, como pneumonia, meningite, disenteria e gonorreia ganharam novas e mais eficientes possibilidades de tratamento com a quimioterapia. Posteriormente, as sulfonamidas se tornaram extremamente versáteis após modificações químicas. Novos compostos apresentaram aplicações além do controle de infecções, sendo também eficientes no tratamento da hanseníase, diabetes, hipertireoidismo, doenças cardíacas e hipertensão. A variedade de aplicações das sulfonamidas se estendeu além da saúde humana, alcançando a medicina veterinária e também o controle de pragas agrícolas.³⁸

1.3.2. Nimesulida

A nimesulida (N-(4-Nitro-2-fenoxifenil)metanossulfonamida, NMS, C₁₃H₁₂N₂O₅S, MM = 308,325 g mol⁻¹) é uma sulfonamida, entretanto não exerce função antimicrobiana. Foi desenvolvida em 1971, numa pesquisa coordenada

por George Moore nos laboratórios Riker (posteriormente adquirido pela 3M). Na década de 1960, foi descoberta a participação de radicais livres em doenças inflamatórias crônicas. Desta maneira, a nimesulida foi concebida a partir da ideia de que, se um composto apresentasse propriedades de *scavenging* desses radicais livres, ele provavelmente apresentaria novos mecanismos de ação anti-inflamatória. As pesquisas voltaram-se para as propriedades farmacológicas das sulfonamidas que, na década de 1940, foram estudadas com relação às suas propriedades anti-reumáticas.³⁹

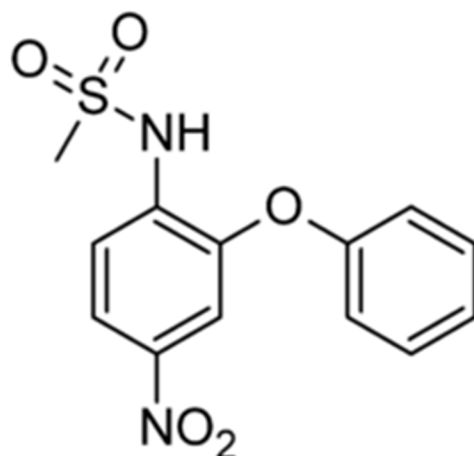


Figura 9. Fórmula estrutural da nimesulida.

Apesar de ser uma sulfonamida, a NMS não apresenta atividade antibacteriana. Ela pertence à classe dos fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais (FAINES), sendo comumente utilizada em processos inflamatórios agudos ou crônicos, tais como inflamações do trato respiratório e da cavidade oral, e em situações inflamatórias associadas à tendinite e artrite reumatoide. A nimesulida também apresenta efeitos analgésico e antipirético.³⁹ Por sua similaridade estrutural com a sulfadiazina, a síntese de complexos de Ag(I) com NMS se torna de grande interesse.

Inúmeros estudos clínicos na área da reumatologia⁴⁰⁻⁴² relatam o uso da NMS como um potente fármaco anti-inflamatório. Tal atividade também está associada sua ação antioxidante, já que é capaz de reduzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs).⁴³ Essa é uma atividade de grande interesse, já que a produção de radicais livres, além de promover o efeito de inflamação e da dor, pode causar danos aos tecidos. No organismo, a NMS apresenta inibição seletiva da ciclooxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é constitutivamente expressa em muitos tecidos, incluindo o estômago, fígado e células epiteliais do trato gastrointestinal, e sua não-inibição é uma vantagem apresentada pela nimesulida quando comparada a outros anti-inflamatórios que inibem as duas enzimas. Já a COX-2 é uma enzima induzida pelo processo inflamatório, causando aumento da formação de prostaglandinas em sítios de inflamação.

A capacidade antioxidante da nimesulida foi testada, por exemplo, com relação à sua capacidade de inibir a reação de Fenton ($R-COOH + Fe(II) \rightarrow RO\cdot + Fe(III) + OH\cdot$). Verificou-se que a atividade antioxidante e de *scavenging* de radicais livres está principalmente associada ao metabólito 4-hidroxinimesulida.⁴³

Bennett⁴⁴ verificou que tecidos cancerosos do cólon humano apresentam uma produção aumentada de prostaglandina E₂ (PGE₂). Neste contexto, surgiu a possibilidade de que FAINES pudessem reduzir o crescimento e proliferação de diferentes tipos de câncer. Desta maneira, a síntese de complexos de Pt(II), com potencial ação antitumoral, utilizando a NMS como ligante, representa uma promissora combinação de propriedades.

1.3.3. Complexos metálicos com sulfonamidas

1.3.3.1. Complexos de Ag(I)

O complexo de Ag(I) com uma sulfonamida mais conhecido é, muito provavelmente, a sulfadiazina de prata. Introduzida em 1968 por Fox,⁴⁵ foi desde o princípio pensada para o tratamento tópico da pele em casos de queimaduras, já que o composto é polimérico e insolúvel (**Figura 10**) Trata-se de um composto de amplo espectro antibacteriano, que também apresenta ação antiviral e antifúngica.⁴⁶

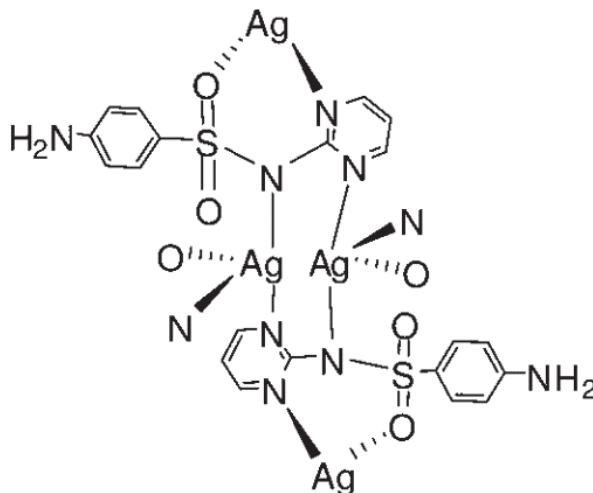


Figura 10. Estrutura polimérica da sulfadiazina de prata.⁴⁶

Inúmeros outros compostos de prata com sulfonamidas foram sintetizados posteriormente, como os compostos com benzenosulfonamida, 2-(benzenosulfonamida)pirina, 2-(benzenosulfonamida)tiazol, sulfanilamida, sulfanilamidobenzeno, sulfatiazol, sulfapiridina, sulfacetamida,⁴⁷ e sulfametazina.⁴⁸ Técnicas espectroscópicas como RMN de ¹H e ¹³C além de espectroscopia no infravermelho são comumente utilizadas, sendo que a avaliação dos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo O=S=O,

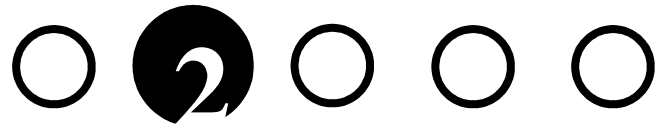
$\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ e $\nu_s(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, fornecem informações importantes sobre a coordenação de sulfonamidas aos metais.

1.3.3.2. Complexos de Pt(II)

O modo de coordenação mais observado para sulfonamidas em complexos de Pt(II) é o monodentado, com a coordenação pelo átomo de nitrogênio da sulfonamida. Este modo de coordenação aparece em geral quando a síntese é feita em meio alcalino, o que leva à desprotonação deste mesmo nitrogênio. Compostos do tipo bis(sulfonamida)^{49,50} apresentam este mesmo modo de coordenação.

O complexo de Pt(II) com sulfamerazina apresenta uma coordenação bidentada, pelo nitrogênio da sulfonamida e também por um dos nitrogênios do anel pirimidínico.⁵¹

O modo de coordenação N,O bidentado, envolvendo apenas o grupo sulfonamida, foi relatado por Pasini e colaboradores,⁵² para um complexo de Pt(II) com sulfadiazina (SFD). Neste composto, de fórmula mínima $\text{K}[\text{PtCl}_2(\text{SFD})]$, a SFD apresenta coordenação bidentada pelo grupo sulfonamida, apontada por evidências espectroscópicas. Em particular, o espectro vibracional no infravermelho foi imprescindível como evidência do modo de coordenação.



Objetivos

Para este trabalho foram traçados os seguintes objetivos:

2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

- Síntese dos complexos de Ag(I) e Pt(II) com nimesulida (Ag-NMS), em meio aquoso;
- Caracterização dos complexos obtidos, com o auxílio de várias técnicas instrumentais, como análise elementar, análise térmica (TG), espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C e ^{15}N e técnicas de correlação;
- Otimização das estruturas propostas para os complexos com o auxílio do método computacional DFT, realizando a análise vibracional pela resolução das Hessianas para avaliação dos espectros vibracionais e o TD-DFT para avaliação dos espectros eletrônicos, quando necessário;
- Síntese e caracterização de complexos de inclusão com NMS e Ag-NMS em β -ciclodextrina, determinação das constantes de associação utilizando o método de Scatchard e determinação do modo de inclusão utilizando espectroscopia de RMN de ^1H e NOESY.

2.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS

- Avaliação das propriedades antibacterianas do complexo Ag-NMS, bem como o efeito da inclusão em β -CD sobre esta atividade;
- Avaliação as atividades antitumorais dos complexos Ag-NMS e Pt-NMS;
- Estudo da interação do complexo Pt-NMS com DNA, um possível alvo biológico, por meio do ensaio de intercalação competitiva com brometo de etídio e por dicroísmo circular.



Materiais e métodos

3.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO

3.1.1. Reagentes Empregados na Síntese e Caracterização dos Complexos

Foram utilizados os seguintes materiais de partida: nimesulida 99% de procedência Sigma; nitrato de prata 99% de procedência Sigma; tetracloroplatinato(II) de potássio 99%, de procedência Sigma; hidróxido de potássio de procedência Fluka e solventes deuterados DMSO-d₆ (99,8% D) e D₂O (99,9% D) de procedência Aldrich.

3.1.2. Síntese dos Complexos

3.1.2.1. Método de síntese do complexo Ag-NMS

A síntese do complexo Ag-NMS foi feita da seguinte maneira: dissolveu-se 0,80 mmol de NMS e 0,88 mmol de hidróxido de potássio (KOH) em 10,0 mL de água destilada. A esta solução, foram adicionados 0,88 mmol de nitrato de prata (AgNO₃) dissolvidos em 2 mL de água destilada. O sistema foi mantido sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 1 hora. Por fim, o sólido amarelo obtido foi isolado por filtração, lavado com água destilada fria e posteriormente seco em dessecador sob P₄O₁₀ por 24 horas.

A análise elementar permitiu propor a seguinte composição para o complexo: AgC₁₃H₁₁N₂O₅S. Valores calculados para AgC₁₃H₁₁N₂O₅S (%): C 37,6; H 2,7; N 6,7. Valores Experimentais (%): C 37,8; H 2,4; N 6,7. Essa composição evidencia a razão 1:1 metal/ligante. Considerando esta fórmula mínima, o complexo foi obtido com um rendimento de 89%. O complexo Ag-NMS se mostrou solúvel em metanol, etanol, dimetilsulfóxido e acetonitrila, parcialmente solúvel em água e insolúvel em hexano.

3.1.2.2. Método de síntese do complexo Pt-NMS

A síntese do complexo Pt-NMS foi feita da seguinte maneira: dissolveu-se 1,00 mmol de NMS e 1,10 mmol de hidróxido de potássio (KOH) em 10,0 mL de água destilada. A esta solução, foram adicionados 0,50 mmol de $K_2[PtCl_4]$, dissolvidos em 2 mL de água destilada. O sistema foi mantido sob agitação, à temperatura ambiente, por 24 horas. Obteve-se então um sólido amarelo, que foi isolado por filtração e seco em dessecador sob P_4O_{10} por 24 horas.

A análise elementar permitiu propor a seguinte composição para o complexo: $PtC_{26}H_{22}N_4O_{10}S_2$. Valores calculados para $PtC_{26}H_{22}N_4O_{10}S_2$ (%): C 38,6; H 2,74; N 6,92. Valores Experimentais (%): C 38,1; H 2,79; N 6,77. Com a fórmula mínima definida, o rendimento obtido foi de 38%. A composição obtida evidencia a razão 1:2 metal/ligante no complexo obtido. O complexo Pt-NMS se mostrou solúvel em metanol, etanol e dimetilsulfóxido e parcialmente solúvel em água.

3.1.3. Equipamentos

A análise elementar para C, H e N foi realizada em um equipamento Perkin Elmer 2400 CHNS/O. As análises termogravimétricas foram realizadas em um termoanalisador TGA/DTA simultâneo *SEIKO EXSTAR 6000*, nas seguintes condições: ar sintético, razão de fluxo de ar de $50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, na faixa de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a $1100 \text{ }^\circ\text{C}$. Os espectros vibracionais no infravermelho (IV) foram obtidos em pastilhas de KBr, em um espectrômetro Bomem MB-Series B100 FT-IR na região de $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ com resolução de 4 cm^{-1} . Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e de correlação [$^1\text{H}\text{-}^{15}\text{N}$] foram adquiridos num equipamento Bruker Avance III

400 MHz (9,395T), em solução. Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos em 400,1 MHz, enquanto os espectros de $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ foram obtidos em 100,0 MHz. As amostras foram analisadas em dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO- d_6) e os deslocamentos químicos são dados em relação ao tetrametilsilano (TMS).

3.1.4. Outros Equipamentos Utilizados na Caracterização do Complexo Ag-NMS

Os espectros eletrônicos no UV-Vis foram obtidos com soluções aquosas ($1,67 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) do analito, em cubetas de quartzo de 10,00 mm, em um espectrofotômetro Hewlett-Packard 8453, com detector de arranjo de diodos. Medidas de espectrometria de massas com ionização por *electrospray* e analisador por tempo de voo (ESI-QTOF-MS) foram realizadas em um equipamento Waters Synapt HDMS (Manchester, UK). O complexo foi dissolvido em metanol, e a solução resultante foi diretamente injetada na fonte ESI do equipamento, sob fluxo de $15 \mu\text{L min}^{-1}$. Condições de aquisição típicas foram utilizadas, com voltagem no capilar de 3 kV, voltagem do cone de amostragem 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} , fluxo do gás de dessolvatação de 900 L h^{-1} , e energias de aprisionamento e de transferência de energia de 6 e 4 eV, respectivamente. Os espectros de massa ESI(+) (fullscans) e os espectros de fragmentação para os íons isolados pelo quadrupolo (QTOF-MS/MS) foram adquiridos com *reflectrons* em modo V, a uma taxa de varredura de 1 Hz. Para o experimento de fragmentação, o íon desejado foi isolado no quadrupolo e então a energia de colisão da cela foi aumentada até que se observasse fragmentação suficiente. Anteriormente à análise, o equipamento foi

calibrado com oligômeros de ácido fosfórico (H_3PO_4 0,05% em $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 50:50).

3.1.5. Outros Equipamentos Utilizados na Caracterização do Complexo Pt-NMS

A medida de titulação potenciométrica foi realizada utilizando o titulador automático Titrino Plus 848, com dosador de 10.000 passos. As medidas foram realizadas no modo dinâmico, e as curvas de titulação potenciométrica foram analisadas com a planilha CurTiPot 3.6.1⁵³ para a obtenção dos valores de pK_a . A amostra do complexo Pt-NMS foi preparada em solução de DMSO/ H_2O 80% v/v, com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e força iônica ajustada com KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Uma solução de NaOH $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, padronizada com biftalato de potássio, foi utilizada como titulante. As amostras utilizadas na titulação espectroscópica foram preparadas utilizando o titulador automático Titrino Plus 848. A amostra inicial, preparada pela dissolução do complexo Pt-NMS na solução de DMSO/ H_2O 80% v/v ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) apresentou pH 6,67. Foram preparadas amostras com os pH 3,10; 4,05; 5,00; 6,04; 6,97; 8,11; 9,04; 10,01 e 11,11. O pH foi reduzido com quantidade adequadas de HCl $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ou aumentado com quantidades adequadas de NaOH $0,3 \text{ mol L}^{-1}$. Imediatamente após a preparação, as amostras tiveram seus espectros eletrônicos medidos em um espectrofotômetro Hewlett-Packard 8453A, com detector do tipo arranjo de diodos e utilizando uma cubeta de quartzo.

3.1.6. Modelagem Molecular

Otimizações de geometria foram realizadas com o software GAMESS,⁵⁴ com um critério de convergência de 10^{-4} a.u. O potencial efetivo de caroço LANL2DZ⁵⁵ foi empregado para os átomos de prata e platina e o conjunto de bases atômicas 6-31G (d, p)⁵⁶⁻⁵⁹ foi utilizado para os demais átomos. Cálculos de Teoria do Funcional de Densidade (DFT) foram realizados utilizando o funcional híbrido B3LYP^{60,61} para resolver as equações de Kohn-Sham, com um critério de convergência de 10^{-5} a.u. para a densidade de carga. As geometrias finais foram confirmadas como mínimos na superfície de energia potencial através do cálculo das Hessianas.

As frequências harmônicas de vibração, juntamente com as respectivas intensidades, foram calculadas no mesmo nível de teoria, avaliando-se as derivadas segundas da energia em função das coordenadas atômicas. As frequências foram ajustadas com um fator de escala de 0,9614, conforme recomendado por Scott e Radom.⁶² Os espectros vibracionais simulados foram obtidos pela soma de funções Lorentzianas com largura à meia-altura de 20 cm^{-1} utilizando o software Molden 4.7.⁶³

Cálculos por DFT dependente do tempo (TD-DFT) foram empregados para avaliar as transições eletrônicas no UV-Vis do complexo Ag-NMS. O Modelo do Contínuo Polarizável (PCM)⁶⁴ foi empregado para simular o efeito da água (solvente utilizado nas medidas experimentais) nas transições eletrônicas.

3.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO EM β -CICLODEXTRINA

3.2.1. Preparação do Complexo de Inclusão por Co-Evaporação (CE)

Os complexos de inclusão de NMS ($CE-[(NMS)\cdot\beta-CD]$) e Ag-NMS ($CE-[(NMS)\cdot\beta-CD]$) em β -CD foram preparados por co-evaporação pela adição de $6,0 \times 10^{-5}$ mol de β -CD e $6,0 \times 10^{-5}$ mol de NMS ou Ag-NMS em 10,0 mL de uma mistura água/etanol 1:1 v/v. As misturas resultantes foram mantidas sob agitação por 48 horas e evaporadas à secura em evaporador rotativo com banho a 45 °C. O sólido obtido foi então triturado e encaminhado para as análises.

3.2.2. Determinação das Constantes de Associação em Solução

As constantes de associação dos compostos $[(NMS)\cdot\beta-CD]$ e $[(Ag-NMS)\cdot\beta-CD]$ foram determinadas utilizando quantidades fixas de NMS ou Ag-NMS e quantidades crescentes de β -CD, conforme descrito na *Tabela 1*. As amostras foram preparadas suspendendo-se β -CD e NMS ou Ag-NMS em 10,0 mL de água, numa série de frascos Erlenmeyer de capacidade de 125 mL. As misturas foram então mantidas sob agitação em um banho com agitação termostaticado a $25,0 \pm 0,1$ °C. Depois de 48 horas de agitação, alíquotas de 2,0 mL foram retiradas e as absorvâncias foram medidas em 397 nm em um espectrofotômetro Hewlett-Packard 8453A, com detector do tipo arranjo de diodos. Amostras contendo as quantidades correspondentes de β -CD livres foram utilizadas como branco para as medidas de absorvância.

Tabela 1. Soluções utilizadas na determinação das constantes de inclusão da NMS e do complexo Ag-NMS em β -CD

Solução	Guest	β -CD /g
N1		—
N2	NMS $2,7 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0083 g)	$7,5 \cdot 10^{-6}$ mol (0,0093 g)
N3		$3,5 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0405 g)
N4		$6,4 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0723 g)
N5		$9,1 \cdot 10^{-5}$ mol (0,1036 g)
C1		—
C2	Ag-NMS $2,7 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0083 g)	$7,5 \cdot 10^{-6}$ mol (0,0093 g)
C3		$3,5 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0405 g)
C4		$6,4 \cdot 10^{-5}$ mol (0,0723 g)

3.2.3. Caracterização dos Complexos de Inclusão em Solução

Espectros de RMN de ^1H foram adquiridos para o complexo Ag-NMS, para a β -CD e para o complexo de inclusão $CE-[(\text{NMS})\cdot\beta\text{-CD}]$ e $CE-[(\text{NMS})\cdot\beta\text{-CD}]$ em um espectrômetro Bruker Avance III (400 MHz, 9,395 T), utilizando uma sonda de 5 mm a 25 °C e aplicando-se um pulso de excitação a 90° com duração de 8,40 μs , largura espectral de 3,3 kHz, tempo de aquisição de 4,59 s e tempo de relaxação T1 de 1 s. A espectroscopia Diferencial usando Efeito Nuclear Overhauser (NOESY) foi utilizada para avaliar a correlação ^1H - ^1H através do espaço. Os espectros de NOESY foram adquiridos para as amostras $CE-[(\text{NMS})\cdot\beta\text{-CD}]$ e $CE-[(\text{NMS})\cdot\beta\text{-CD}]$, no mesmo equipamento utilizado na aquisição dos espectros de ^1H , aplicando-se um pulso de excitação a 90° de 8,40 μs e um pulso a 180° de 16,80 μs , com *mixing time* de 800 ns e tempo de relaxação T1 de 1 s. Todas as amostras foram preparadas em D_2O , com concentrações de 10,0 mg mL^{-1} , exceto a amostra Ag-NMS, que foi preparada com a máxima concentração possível de 2,0 mg mL^{-1} .

3.3 **ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS**

3.2.1. **Ensaio Antibacterianos**

3.2.1.1. *Método de difusão em disco*

Três diferentes cepas bacterianas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) foram empregadas neste estudo. Os ensaios foram realizados pelo método de difusão em disco (antibiograma).^{65,66} O complexo Ag-NMS foi testado em placas de ágar Mueller-Hilton (MH). Os micro-organismos (*E. coli*, *P. aeruginosa* *S. aureus*) foram transferidos para tubos de ensaio separados contendo 5,0 mL do meio de cultura BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubados por 18 h a 35-37°C. Quantidades suficientes dos inóculos foram adicionadas a novos tubos até se obter a turbidez de 0,5 McFarland ($\sim 1,5 \times 10^8$ CFU mL⁻¹). Os inóculos diluídos em BHI foram uniformemente semeados em placas de Petri estéreis contendo ágar MH, com o auxílio de hastes de algodão.

Discos de papel de filtro estéreis de 10 mm de diâmetro foram assepticamente impregnados com 800 µg de Ag-NMS de acordo com o seguinte procedimento: 20 mg do complexo Ag-NMS foram diluídos em 1,0 mL de etanol absoluto. Em seguida, 40 µL da solução foram transferidos com o auxílio de uma micropipeta para os discos de papel. Discos estéreis impregnados com 800 µg de NMS, utilizados como controle negativo, foram preparados da seguinte maneira: 20 mg de NMS foram dissolvidos em 1,0 mL de água e 40 µL da solução homogeneizada foram transferidos para os discos de papel. Três controles positivos foram utilizados: os antibióticos comerciais ceftriaxona e gentamicina, além do nitrato de prata (AgNO₃).

Discos impregnados com Ag-NMS, NMS e com os controles positivos foram secos e esterilizados em um fluxo laminar vertical sob radiação UV por 45 minutos anteriormente ao experimento. Todos os discos impregnados foram

colocados na superfície de ágar sólido. As placas foram incubadas por 18 h a 35-37 °C e examinadas posteriormente. Os halos de inibição que se formaram ao redor dos discos foram medidos e a sensibilidade dos micro-organismos frente aos compostos testados foi determinada com base no diâmetro dos halos de inibição (mm). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.2.1.2. *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)*

Cinco cepas bacterianas foram selecionadas: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* BEC9393 e *S. aureus* Rib1. Soluções estoque (10,0 mg mL⁻¹) dos complexos de inclusão *CE*-[(NMS)·β-CD] e *CE*-[(Ag-NMS)·β-CD] foram preparadas em água, enquanto a solução estoque de Ag-NMS foi preparada dissolvendo-se previamente o composto em 500 μL de EtOH 70% e então diluindo-se em 4,5 mL de água, obtendo-se também a concentração final de 10,0 mg mL⁻¹.

Os ensaios foram realizados seguindo-se as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.⁶⁵ As bactérias foram cultivadas em caldo Mueller-Hinton a 37 °C por 18 horas e, em seguida, diluídas em solução de caldo Mueller-Hinton até atingir a escala turbidimétrica 1 McFarland (3,0 x 10⁸ UFC/mL). Na primeira linha de poços de uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 50 μL de suspensão bacteriana e 50 μL de solução estoque dos compostos testados, alcançando-se assim uma turbidez de 0,5 McFarland (1,5 x 10⁸ UFC/mL). Nos poços seguintes, foram utilizados 50 μL da suspensão bacteriana e 50 μL da solução contida no poço anterior, até um total de sete diluições para cada composto testado. Vancomicina e cloranfenicol foram utilizados como controles positivos das cepas Gram-positivas e Gram-negativas, respectivamente. Os experimentos foram realizados em triplicata.

3.2.2. Cultura Celular e Ensaio de Citotoxicidade

As células foram rotineiramente crescidas em DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) e antibióticos (100 $\mu\text{g cm}^{-3}$ de penicilina, 10 $\mu\text{g cm}^{-3}$ de estreptomicina) em um incubador umidificado contendo 5% de CO_2 a 37 °C. Os valores de concentração que levaram a uma redução de 50% na viabilidade celular (IC_{50}) foram usados como um parâmetro de comparação para a citotoxicidade. A cisplatina foi usada como controle positivo para as células testadas SK-mel-103 (melanoma humano), Panc-1 (carcinoma pancreático humano) e Balb/c 3T3 (fibroblasto de rato), com valores de $\text{IC}_{50} = 7,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ para células SK-mel-103, $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para células Panc-1 e $20,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para células Balb/c 3T3. O solvente DMSO (0,10%) foi usado como controle negativo. As células ($\sim 1,0 \times 10^5$ células mL^{-1}) foram colocadas em placas de 96 poços, e 24 horas depois foram expostas a soluções de Ag-NMS e Pt-NMS ($20\text{-}300 \mu\text{mol L}^{-1}$). Depois de 48 horas, as soluções foram removidas e 100 μL de solução MTT (0,50 mg mL^{-1} em meio de cultura FBS livre) foram adicionados a cada poço. Após incubação por 2 horas a 37 °C, os sobrenadantes das soluções MTT foram removidos e os cristais de formazan, resultantes da redução do MTT, foram solubilizados em 100 μL de etanol. A placa foi agitada por 5 min em agitador apropriado e os valores de absorvância foram medidos em 570 nm, num leitor de microplacas (Synergy HT, BioTek).⁶⁷

3.2.3. Ensaio Biofísico

3.2.3.1. Diálise do CT-DNA

A solução estoque de DNA foi preparada pela dissolução de DNA de timo de bezerro (*calf thymus* DNA, CT-DNA com 42% de pares de base GC)

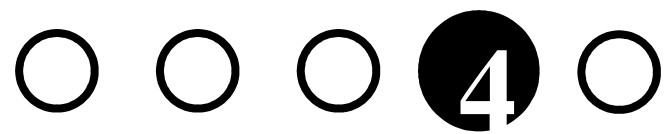
em tampão NaClO_4 $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Esta solução foi então dialisada por 48h contra NaClO_4 $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$, utilizando membrana de diálise Sigma com corte de massa molar de 14.000 Da . A concentração final de DNA foi determinada espectrofotometricamente em termos de concentração de nucleotídeos, considerando-se o coeficiente de extinção molar $\epsilon_{260} = 6600 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$.⁶⁸

3.2.3.2. *Intercalação competitiva com brometo de etídio*

Amostras de CT-DNA com concentração de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ foram incubadas com a NMS ($r_i=0,1$) e com o complexo Pt-NMS ($r_i=0,1$ e $0,2$) por 24h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. O termo r_i representa a razão molar composto/nucleotídeo. Uma solução tampão de NaClO_4 10 mmol L^{-1} foi utilizada para a diluição da solução estoque de CT-DNA. Após o período de incubação, as amostras foram transferidas para uma cubeta de quartzo com 4 faces polidas, e quantidades crescentes de brometo de etídio foram adicionadas (r_i entre $0,0$ e $0,14$) a cada amostras de CT-DNA incubado com NMS e Pt-NMS, monitorando-se a emissão em 600 nm ($\lambda_{\text{excitação}} = 525 \text{ nm}$) em um espectrofotômetro de fluorescência Varian Cary Eclipse, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.2.3.3. *Dicroísmo circular*

Amostras de CT-DNA de concentração de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ foram incubadas com a NMS ($r_i=0,1, 0,2$ e $0,3$) e com o complexo Pt-NMS ($r_i=0,1, 0,15, 0,2, 0,25$ e $0,3$) por 24h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$. O termo r_i representa a razão molar composto/nucleotídeo. Uma solução tampão de NaClO_4 10 mmol L^{-1} foi utilizada para a diluição da solução estoque de CT-DNA. Após o período de incubação, as amostras foram transferidas para uma cubeta de quartzo e analisadas em um espectropolarímetro Jasco J720 a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.



Resultados e discussão

4.1. CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Ag-NMS

4.1.1. Análise Térmica

A curva referente à análise termogravimétrica do complexo Ag-NMS é apresentada na *Figura 11*. É possível observar que a decomposição da parte orgânica da molécula se inicia em 190 °C, passando por duas etapas de perda de massa, levando à formação de um resíduo a 475 °C. A perda de massa esperada para um ligante NMS corresponde a 74,0 %. Experimentalmente, a perda observada foi de 69,9 %. Um resíduo de prata metálica corresponderia a 26,0 % da massa inicial. A massa final do resíduo, obtida experimentalmente, foi de 28,3 %. Estes resultados são consistentes com a composição do complexo Ag-NMS inicialmente proposta por análise elementar, e demonstram a estabilidade térmica do composto até 190 °C.

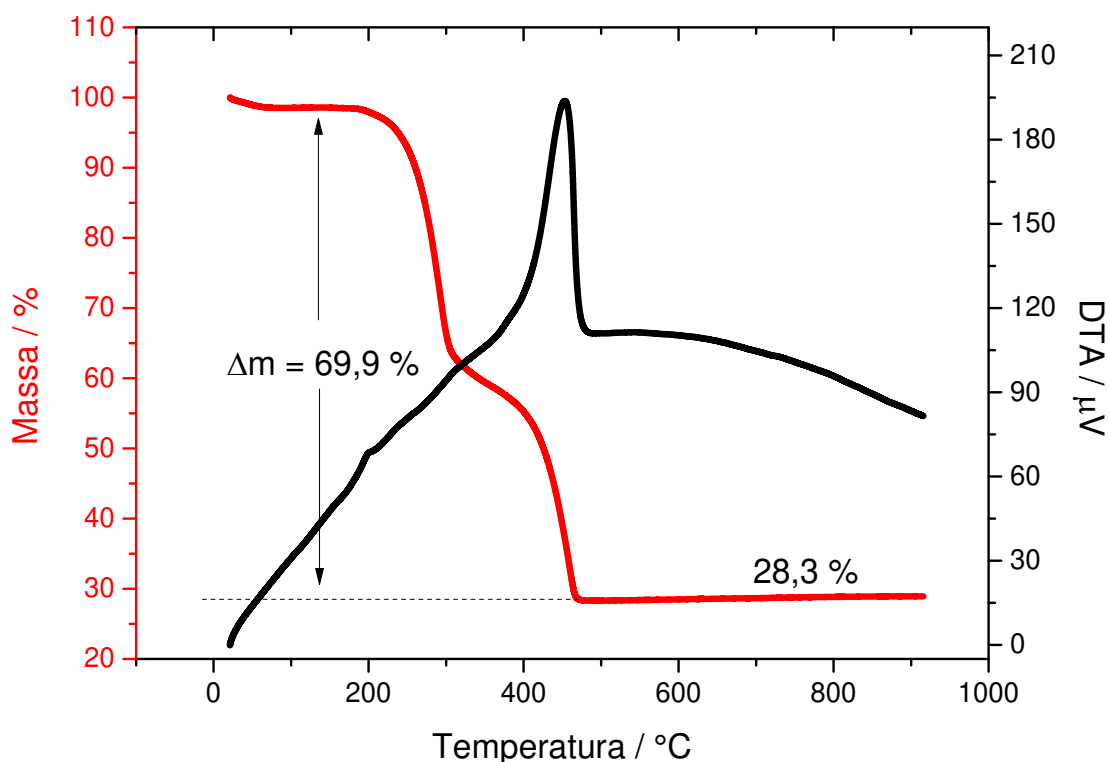


Figura 11. Curva termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA) do complexo Ag-NMS.

4.1.2. Espectrometria de Massas (ESI-QTOF-MS)

A análise por ESI-QTOF-MS do complexo Ag-NMS (*Figura 12A*) mostra a presença da forma monomérica do complexo proposta pelas análises elementar e térmica, aparecendo como o íon $[\text{AgNMS}+\text{H}]^+$ (m/z 414,95) e também sob a forma dos íons $[\text{AgNMS}+\text{Na}]^+$ e $[\text{AgNMS}+\text{K}]^+$ em m/z 436,93 e 444,24 respectivamente. Também se observa, em menor abundância, a espécie dimérica monoprotônica ($[\text{Ag}_2\text{NMS}_2+\text{H}]^+$, m/z 828,91), assim como os respectivos adutos de sódio e potássio. Íons triméricos são observados apenas sob as formas ($[\text{Ag}_3\text{NMS}_3+\text{Na}]^+$ e $[\text{Ag}_3\text{NMS}_3+\text{K}]^+$) em m/z 1264,82 e 1280,80, respectivamente. O ligante livre também é observado, principalmente sob a forma de adutos com sódio e potássio, em m/z 331,04 e 347,01, respectivamente.

O padrão isotópico do íon monoprotônico $[\text{AgNMS}+\text{H}]^+$ mostra grande concordância com a predição teórica (*Figura 12B*). O erro de massa foi de -0,5 ppm (m/z calc. 414,9518, m/z exp. 414,9516).

Para confirmar a composição proposta da espécie $[\text{AgNMS}+\text{H}]^+$, o espectro de fragmentação iônica (*Figura 12C*) foi adquirido para o íon monoprotônico. No espectro de fragmentação, observa-se a perda de CH_3SO_2 (79 Da), seguida pela perda de Ag (107 Da). Também se observa a perda direta do ligante NMS (308 Da). A fragmentação observada confirma a estrutura proposta.

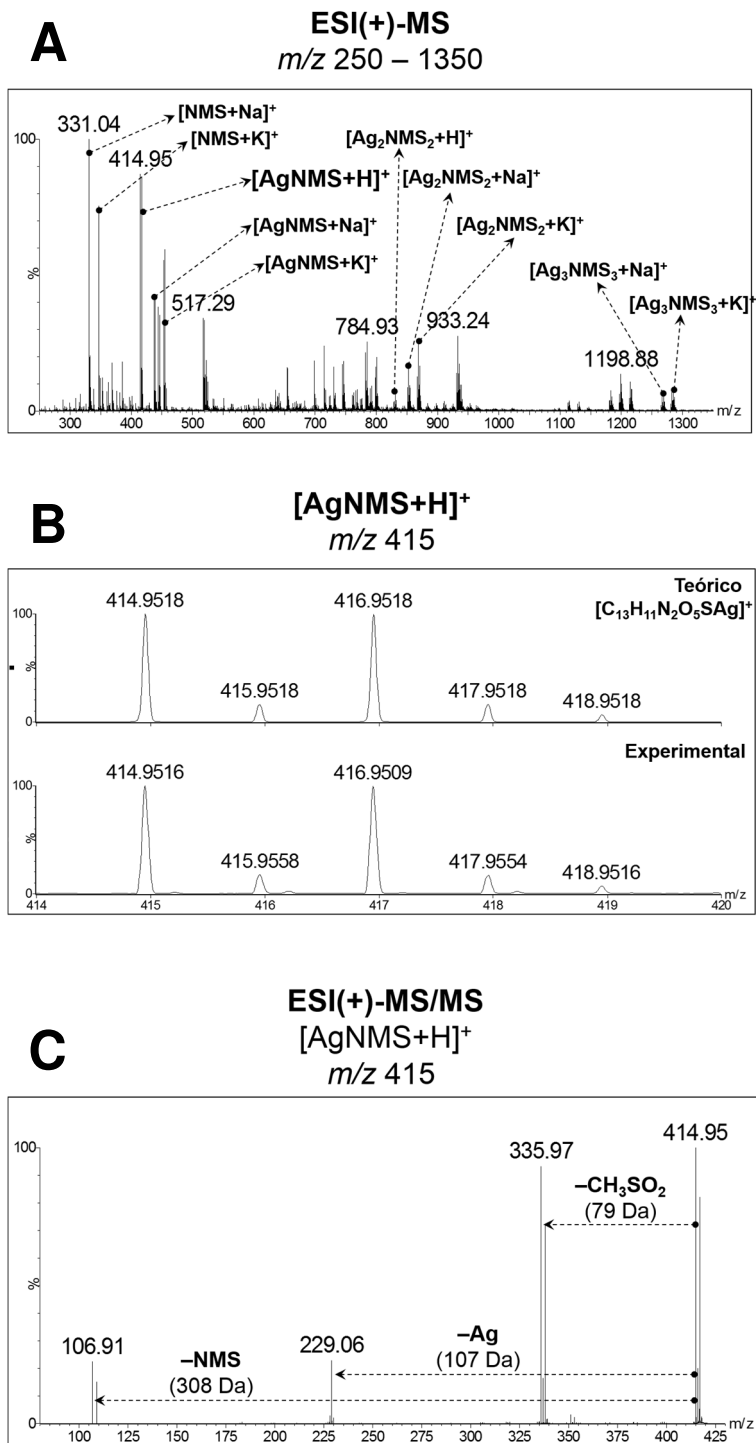


Figura 12. (A) ESI-QTOF-MS do complexo Ag-NMS, (B) Padrão isotópico experimental e teórico e (C) Espectro de fragmentação iônica para a espécie monoprotonada $[AgNMS+H]^+$ de *m/z* 414,95

4.1.3. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis

O espectro eletrônico de absorção no UV-Vis da NMS e do complexo Ag-NMS são mostrados na *Figura 13*.

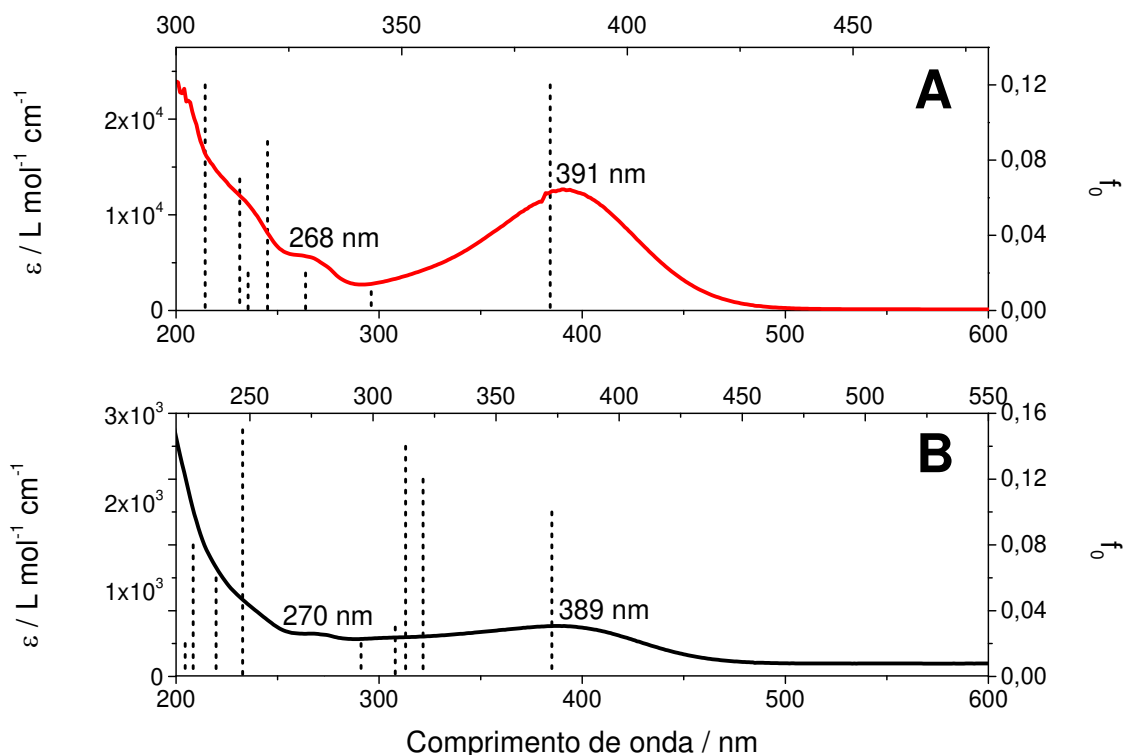


Figura 13. Espectros de absorção eletrônica no UV-Vis (A) para o complexo Ag-NMS e (B) ligante. As linhas tracejadas marcam os valores de energia das transições calculadas por TD-DFT e altura das linhas indica a força do oscilador associada à transição. Para mais detalhes sobre o cálculo de TD-DFT, veja a seção 4.1.6.3.

O espectro do ligante NMS é dominado por transições π - π^* e exibe uma banda com máximo de absorção em 389 nm. Esta banda está relacionada ao grupo nitro-aryl e é deslocada para baixas energias pelo efeito retirador de densidade eletrônica causado pelo grupo NO_2 . Também são observadas pelo menos duas transições pouco intensas na região do UV, em 225 nm e 270 nm. A coordenação da NMS à prata(I) não muda o perfil do espectro, mas as bandas

se tornam mais intensas. Em particular, a banda localizada no visível, responsável pelo cor amarela do complexo Ag-NMS, tem sua intensidade aumentada em 22 vezes (o coeficiente de absorvidade molar desta banda vai de 570 L mol⁻¹ cm⁻¹ na NMS para 12.655 L mol⁻¹ cm⁻¹ no complexo Ag-NMS).

4.1.4. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (IV)

Na **Figura 14** são apresentados os resultados obtidos por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho do ligante e do complexo Ag-NMS. Uma ampliação da região de 2000 cm⁻¹ – 400 cm⁻¹ é mostrada na **Figura 14B**.

Os espectros vibracionais no infravermelho de diferentes sulfonamidas foram bem estudados e reportados na literatura.^{69,70} Para S-metil sulfonamidas, dentre as diferentes vibrações reportadas, destacam-se: $\nu(\text{N-H})$ do grupo sulfonamida, observado entre 3320-3250 cm⁻¹, quatro bandas características do grupo sulfonil, o $\nu_{\text{as}}(\text{O=S=O})$ na região de 1350 cm⁻¹, o $\nu_{\text{s}}(\text{O=S=O})$ em torno de 1160 cm⁻¹ e os modos de deformação *scissoring* e *wagging* em 568-520 e 529-487 cm⁻¹ respectivamente. Por fim, espera-se o $\nu(\text{C-S})$ na região 773-754 cm⁻¹.

A **Figura 14** mostra que todas estas bandas são observadas no espectro da NMS. O estiramento (N-H) aparece como um sinal fino e intenso em 3284 cm⁻¹. Os quatro sinais característicos do grupo sulfonil também aparecem: $\nu_{\text{as}}(\text{O=S=O})$ em 1342 cm⁻¹, $\nu_{\text{s}}(\text{O=S=O})$ em 1153 cm⁻¹, a deformação *scissoring* em 553 cm⁻¹ e a *wagging* em 516 cm⁻¹. São também observados o estiramento (C-S) em 754 cm⁻¹ e as duas bandas características do grupo NO₂: $\nu_{\text{as}}(\text{O=N=O})$ em 1522 cm⁻¹ e $\nu_{\text{s}}(\text{O=N=O})$ em 1317 cm⁻¹.

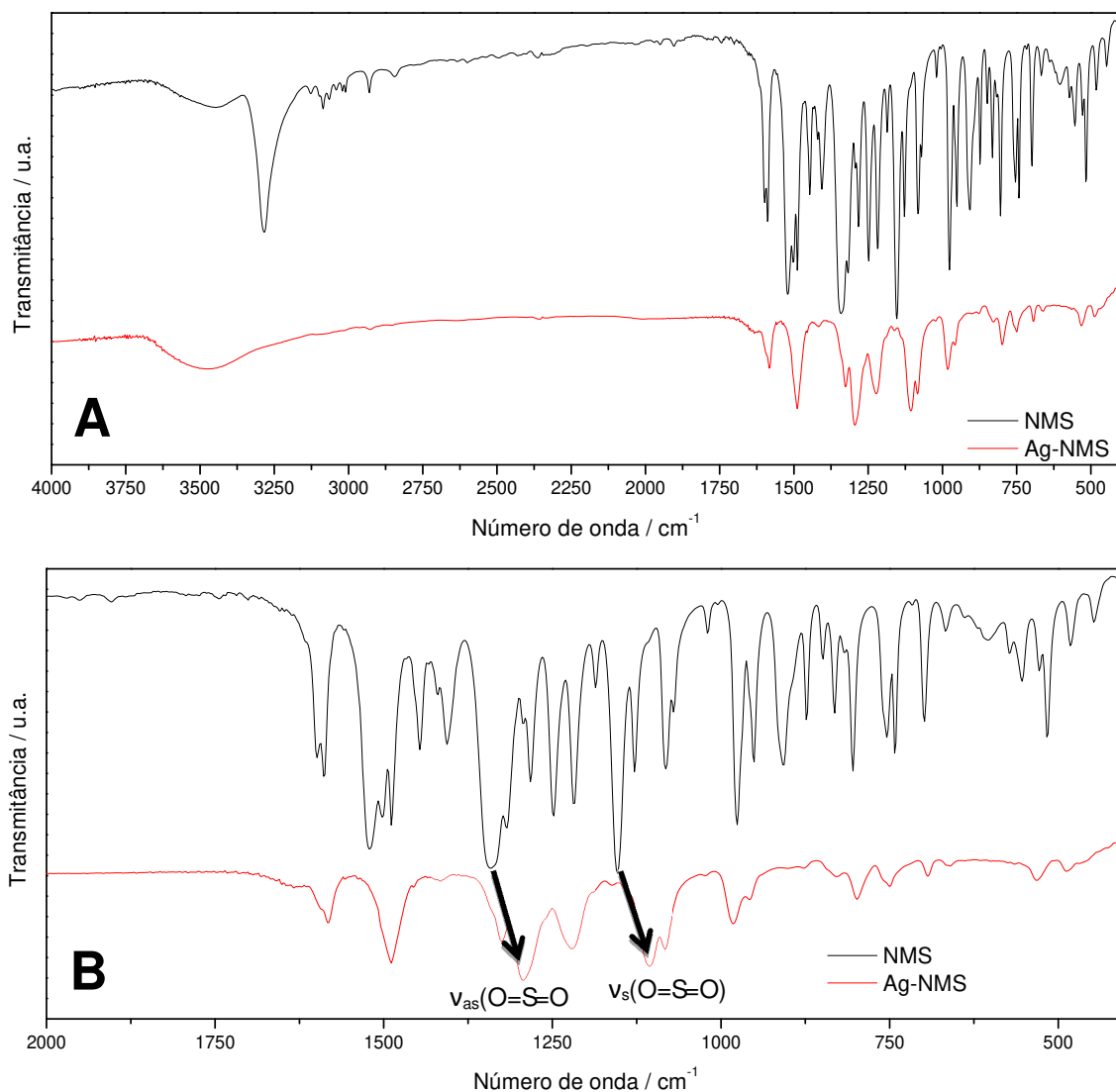


Figura 14. (A) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Ag-NMS de 4000 – 400 cm^{-1} . (B) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Ag-NMS na região de 2000 – 400 cm^{-1} .

O espectro vibracional no IV do complexo Ag-NMS mostrou diversas evidências que comprovam a formação do complexo. A primeira, e mais pronunciada delas, é o desaparecimento da banda referente ao $\nu(\text{N-H})$, demonstrado na **Figura 14A**, devido à perda do hidrogênio, anteriormente ligado ao N do grupo sulfonamida, com a coordenação à prata. Além disso, o deslocamento dos estiramentos $\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ e $\nu_s(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ para menores

energias, representado na **Figura 14B**, é uma primeira evidência de que a coordenação da NMS à Ag(I) não ocorre somente pelo nitrogênio, podendo também haver a participação do grupo (O=S=O).

É importante ressaltar que o deslocamento das bandas associadas aos estiramentos assimétricos e simétricos da sulfonamida para menores energias indica o enfraquecimento da ligação S=O e, conseqüentemente, sugere que a coordenação ocorre pelo O e não pelo S do grupo O=S=O. Se a coordenação ocorresse pelo S seria esperado um deslocamento para maiores energias.⁷¹

4.1.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A **Figura 15** apresenta a estrutura da NMS, com seus átomos de carbono numerados.

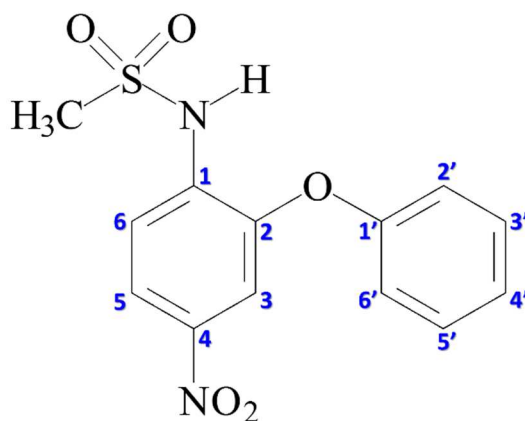


Figura 15. NMS, com numeração de carbonos.

4.1.5.1. RMN de ¹H

A espectroscopia de RMN de ¹H em solução foi utilizada para obter detalhes a respeito dos sítios de coordenação da NMS à Ag(I). Os espectros

obtidos para NMS e Ag-NMS são apresentados na **Figura 16**, enquanto as atribuições e deslocamentos químicos são mostrados na **Tabela 2**.

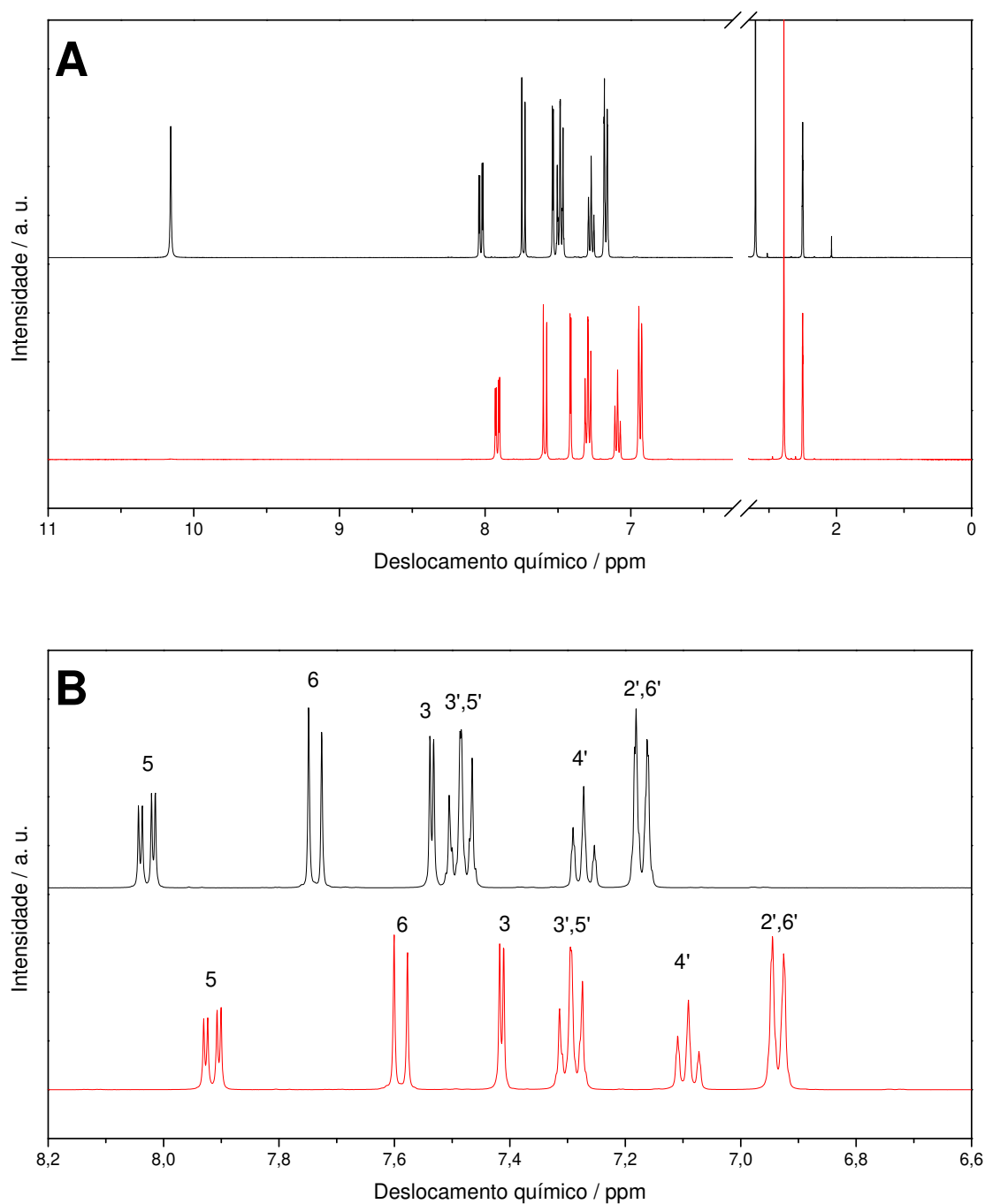


Figura 16. Espectros de RMN de ^1H para a NMS (em preto) e para o complexo Ag-NMS (em vermelho). A região aromática é mostrada em destaque em **(B)**.

Tabela 2. Atribuições, deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN de ^1H da NMS e do complexo Ag-NMS – $\Delta\delta$ representa a diferença entre o deslocamento químico de um sinal no complexo e no ligante livre.

Atribuição ⁷²	NMS δ / ppm	Ag-NMS δ / ppm	$\Delta\delta$ / ppm	Multiplicidade
CH ₃	3,20	2,78	-0,42	s
2',6'	7,16–7,18	6,93 – 6,95	-0,23	d
4'	7,25 – 7,29	7,07 – 7,11	-0,18	t
3', 5'	7,47 – 7,51	7,27 – 7,31	-0,20	t
3	7,53 – 7,54	7,41 – 7,42	-0,12	d
6	7,73 – 7,75	7,58 – 7,60	-0,15	d
5	8,01 – 8,04	7,90 – 7,93	-0,11	dd
NH	10,2	-	-	s

s = simpleto, d = dupletto, dd = duplo dupletto e t = tripletto

Primeiramente, o hidrogênio que aparece como um simpleto em 10,2 ppm no espectro de ^1H da NMS deixa de ser observado no espectro do complexo Ag-NMS. Este sinal é atribuído ao átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo sulfonamida da NMS. Este dado evidencia a perda do H do grupo (O_2SNH), e a coordenação do nitrogênio deste grupo à Ag(I).

Observando também os valores de $\Delta\delta$ apresentados na *Tabela 2*, é possível perceber que todos os hidrogênios são deslocados para campo alto com a coordenação. O deslocamento mais pronunciado (-0,42 ppm) ocorre para os átomos de hidrogênio do grupo metil, que aparece ligado ao átomo de enxofre do grupo sulfonamida.

4.1.5.2. RMN de ^{13}C

A NMS apresenta 13 átomos de carbono em sua estrutura, desta maneira a espectroscopia RMN de ^{13}C é capaz de oferecer detalhes importantes a respeito da variação de densidade eletrônica nestes átomos de carbono com a

coordenação da NMS à Ag(I), oferecendo uma resposta mais completa a respeito dos possíveis sítios de coordenação.

A **Figura 17** mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para a NMS e para o complexo Ag-NMS, em DMSO- d_6 a 25°C . Os deslocamentos químicos e a atribuição de cada sinal do RMN de ^{13}C são mostrados na *Tabela 3*. As atribuições dos sinais de ^{13}C do ligante foram confirmadas por HMBC e HSQC [^1H - ^{13}C] (Apêndice A).

As análises de RMN de ^{13}C do complexo Ag-NMS, em comparação ao ligante livre NMS, mostram um deslocamento para campo alto do sinal atribuído ao CH_3 , com um $\Delta\delta$ de 2,36 ppm. Este dado, somado ao significativo deslocamento químico dos hidrogênios deste mesmo grupo, reforça a proposta de coordenação da prata pelo átomo de O do grupo $\text{O}=\text{S}=\text{O}$, que é vizinho ao grupo metil em questão. O espectro HMBC [^1H - ^{13}C] do complexo Ag-NMS é apresentado no Apêndice B.

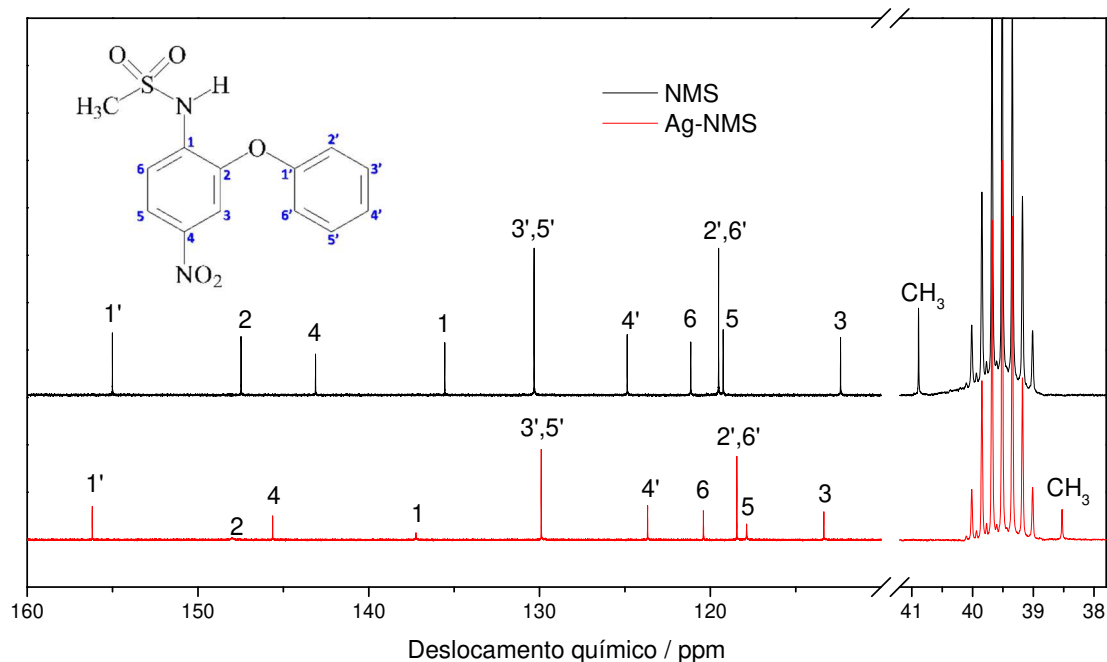


Figura 17. Espectros de RMN de ^{13}C da NMS e do complexo Ag-NMS.

Tabela 3. Atribuições dos sinais de RMN de ^{13}C NMR e deslocamentos químicos para a NMS e para o complexo Ag-NMS.

Atribuição	NMS δ / ppm	Ag-NMS δ / ppm	$\Delta\delta$ / ppm
CH_3	40,89	38,52	-2,37
3	112,4	113,4	1,0
5	119,3	117,9	-1,4
2',6'	119,5	118,4	-1,1
6	121,1	120,4	-0,7
4'	124,9	123,7	-1,2
3',5'	130,3	129,9	-0,4
1	135,6	137,2	1,6
4	143,1	145,6	2,5
2	147,5	140,0	0,5
1'	155,0	156,2	1,2

4.1.5.3. Espectroscopia de RMN bidimensional: HMBC [^1H - ^{15}N]

O complexo Ag-NMS foi estudado por HMBC [^1H - ^{15}N]. Para a obtenção de deslocamento químico de ^{15}N , foi utilizado um método indireto de acoplamentos a longa distância [^1H - ^{15}N] HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*). O espectro do complexo foi analisado em comparação com o espectro do ligante livre. Os espectros bidimensionais [^1H - ^{15}N] HMBC do ligante e do complexo são apresentados na **Figura 18**.

O espectro [^1H - ^{15}N] da NMS mostra o sinal do N pertencente ao grupo sulfonamida com um deslocamento químico de 115,1 ppm. Já no espectro do complexo Ag-NMS, o deslocamento químico do nitrogênio do grupo sulfonamida é observado em campo mais baixo, em 144,3 ppm. O valor observado de $\Delta\delta = 29,2$ ppm ($\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante}}$) é uma resposta definitiva que

assegura a coordenação da Ag(I) pelo átomo de nitrogênio do grupo (N-H) da NMS. Não foi observada variação significativa no deslocamento químico do nitrogênio do grupo NO₂ da molécula da NMS ($\delta = 369,7$ ppm) quando comparada ao complexo Ag-NMS ($\delta = 371,0$ ppm), o que nos mostra que este grupo não participa da coordenação à prata(I).

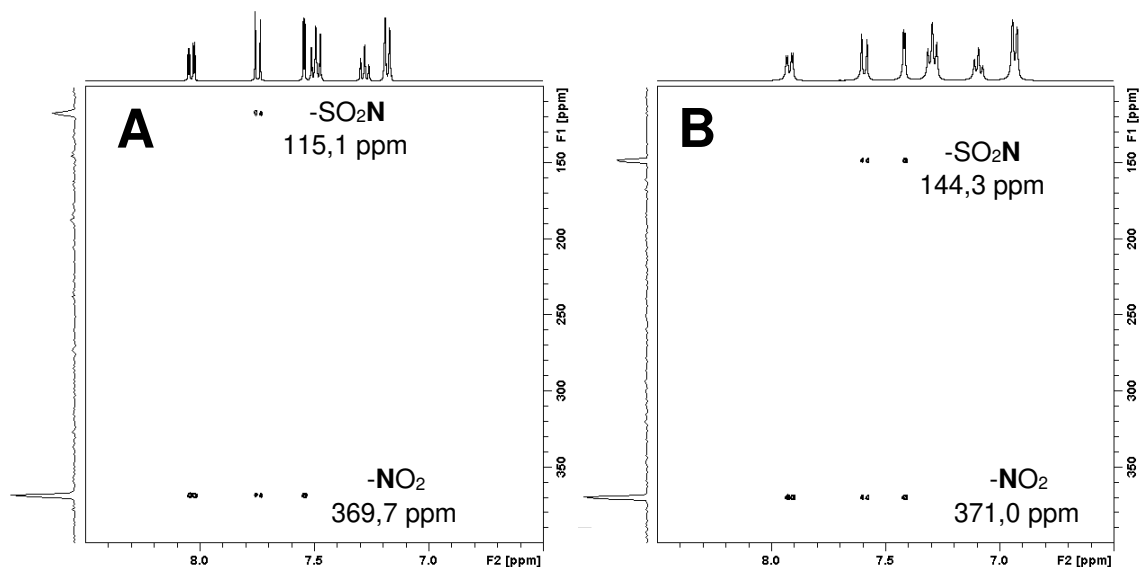


Figura 18. $[^1\text{H}-^{15}\text{N}]$ HMBC (A) da NMS e (B) do complexo Ag-NMS.

4.1.6. Modelagem Molecular

A modelagem molecular foi aplicada à NMS e ao complexo Ag-NMS com o objetivo de se estabelecer, em conjunto com os dados experimentais, a estrutura mais provável do complexo, uma vez que não foi possível se obter um monocristal do complexo Ag-NMS.

4.1.6.1. Otimização de Geometria

Foi feita, inicialmente, a otimização da geometria molecular da NMS. A estrutura obtida foi confirmada como um mínimo de energia por meio da

simulação do espectro no infravermelho, não sendo observadas frequências imaginárias. A **Figura 19** mostra a geometria final obtida como um mínimo de energia potencial.

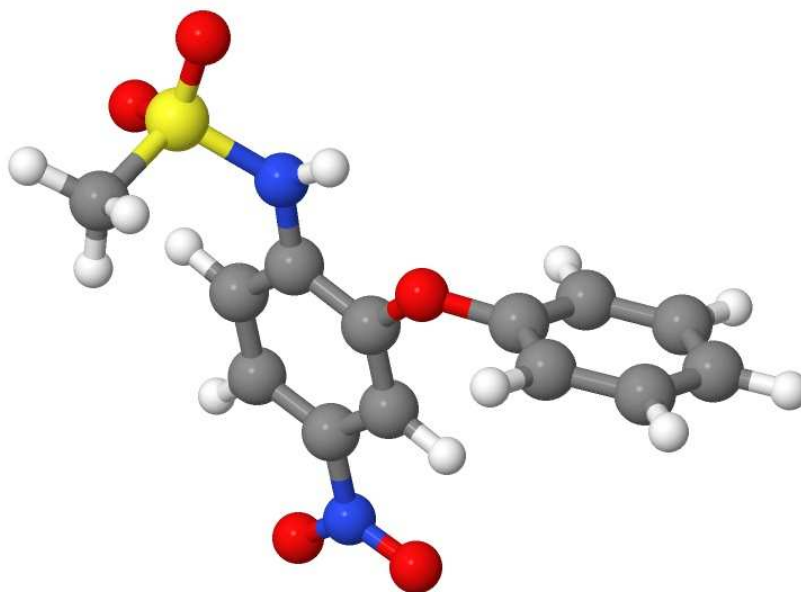


Figura 19. Geometria otimizada da NMS, utilizando B3LYP/6-31G(d,p). Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C e branco para H.

A obtenção da estrutura otimizada permitiu também a determinação de distâncias e ângulos de ligação. Alguns parâmetros geométricos foram selecionados para a NMS e são apresentados na *Tabela 4* juntamente com distâncias e ângulos de ligação obtidos experimentalmente por difração de monocristal, reportados por Dupont e colaboradores.⁷³

As principais distâncias e ângulos de ligação da NMS, obtidos com a otimização de geometria molecular, concordam com boa precisão com os resultados experimentais apresentados na *Tabela 4*. Pequenas diferenças encontradas nos valores experimentais e teóricos podem ser causadas pela presença de ligações de hidrogênio intermoleculares entre N(1)-H...O(5)

descritas pelos autores na análise do monocristal. Os cálculos teóricos consideram a molécula isolada na fase gasosa. Desta maneira, é possível afirmar que a estrutura molecular obtida pelo cálculo teórico possui geometria muito similar da molécula NMS no estado sólido cristalino.

Tabela 4. Distâncias e ângulos de ligação obtidos por cálculo DFT (B3LYP/6-31G(d,p)) para a NMS e comparação com valores experimentais obtidos por difração de raios X de monocristal.⁷³

Ligação	Teórico / Å	Exp. / Å	Ligação	Teórico / Å	Exp. / Å
S—O1	1,406	1,431	C2—O3	1,379	1,377
S—O2	1,462	1,432	C4—N2	1,465	1,464
S—N1	1,693	1,641	N2—O5	1,232	1,217
S—CH3	1,805	1,746	N2—O6	1,233	1,220
N1—C1	1,400	1,409	O3—C1'	1,397	1,400
C1—C2	1,416	1,396	C1'—C2'	1,396	1,369
C2—C3	1,386	1,377	C2'—C3'	1,395	1,376
C3—C4	1,396	1,381	C3'—C4'	1,397	1,361
C4—C5	1,392	1,364	C4'—C5'	1,396	1,364
C5—C6	1,392	1,388	C5'—C6'	1,396	1,362
C6—C1	1,402	1,376	C6'—C1'	1,393	1,364
Ângulo	Teórico / °	Exp. / °	Ângulo	Teórico / °	Exp. / °
S—N1—C1	126,9	124,7	C2—O3—C1'	119,8	119,7

A investigação teórica da coordenação da NMS ao átomo de prata foi realizada a partir da estrutura otimizada da NMS. Duas estruturas iniciais do complexo foram avaliadas, uma delas com NMS monodentada, coordenada à prata(I) apenas pelo átomo de nitrogênio do grupo sulfonamida, e outra onde a NMS se coordena de maneira bidentada, pelos átomos de N e O do grupo sulfonamida. Ambas as estruturas propostas inicialmente convergiram para uma mesma estrutura final, onde a coordenação ocorre pelos átomos de N e O do

grupo sulfonamida. Os cálculos realizados não levam em conta a possibilidade de formação de uma rede estendida para o complexo Ag-NMS, o que também suportaria as evidências experimentais de interações entre o oxigênio e o nitrogênio do grupo sulfonamida com a Ag(I).

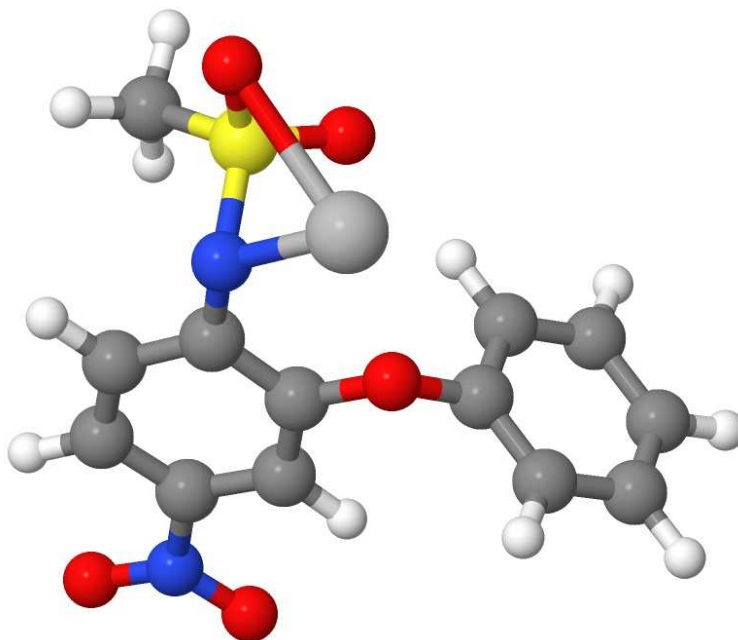


Figura 20. Geometria otimizada do complexo Ag-NMS utilizando B3LYP/6-31G(d,p) e LANL2DZ. Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C, branco para H e cinza claro para Ag.

A *Figura 20* mostra a estrutura obtida, confirmada como um mínimo de energia potencial pelo cálculo das frequências vibracionais, sem apresentar frequências imaginárias. A *Tabela 5* apresenta alguns parâmetros geométricos selecionados para o complexo Ag-NMS, obtidos pela otimização da geometria molecular, bem como a variação das distâncias e ângulos em relação ao ligante livre (Δd e $\Delta \angle$, respectivamente).

A *Tabela 5* mostra que as ligações que têm seus comprimentos mais afetadas pelo estabelecimento da ligação com a Ag(I) são aquelas mais

próximas aos sítios de coordenação, principalmente aquelas que fazem parte do grupo sulfonamida, conforme esperado.

Tabela 5. Distâncias e ângulos de ligação obtidos pela otimização de geometria do complexo Ag-NMS e variação das distâncias e ângulos em relação ao ligante livre (Δd e $\Delta \angle$, respectivamente).

Ligação	Teórico / Å	Δd / Å	Ligação	Teórico / Å	Δd / Å
N1—Ag	1,952	-	C2—O3	1,375	-0,002
S—O1	1,471	0,040	C4—N2	1,468	0,004
S—O2	1,476	0,044	N2—O5	1,232	0,015
S—N1	1,661	0,020	N2—O6	1,232	0,012
S—CH ₃	1,790	0,044	O3—C1'	1,397	-0,003
N1—C1	1,389	-0,020	C1'—C2'	1,395	0,026
C1—C2	1,415	0,019	C2'—C3'	1,395	0,019
C2—C3	1,391	0,014	C3'—C4'	1,398	0,037
C3—C4	1,393	0,012	C4'—C5'	1,396	0,032
C4—C5	1,392	0,028	C5'—C6'	1,397	0,035
C5—C6	1,389	0,001	C6'—C1'	1,393	0,029
C6—C1	1,402	0,026			
Ângulo	Teórico / °	$\Delta \angle$ / °	Ângulo	Teórico / Å	$\Delta \angle$ / °
S—N1—C1	116,2	8,5	C2—O3—C1'	119,1	0,7

4.1.6.2. Espectros vibracionais

Para confirmar que a geometria obtida é de fato uma superfície de mínimo de energia potencial, foram calculadas as Hessianas e não houve o aparecimento de frequências imaginárias. A **Figura 21** mostra a comparação do espectro vibracional teórico com o espectro obtido experimentalmente para a NMS.

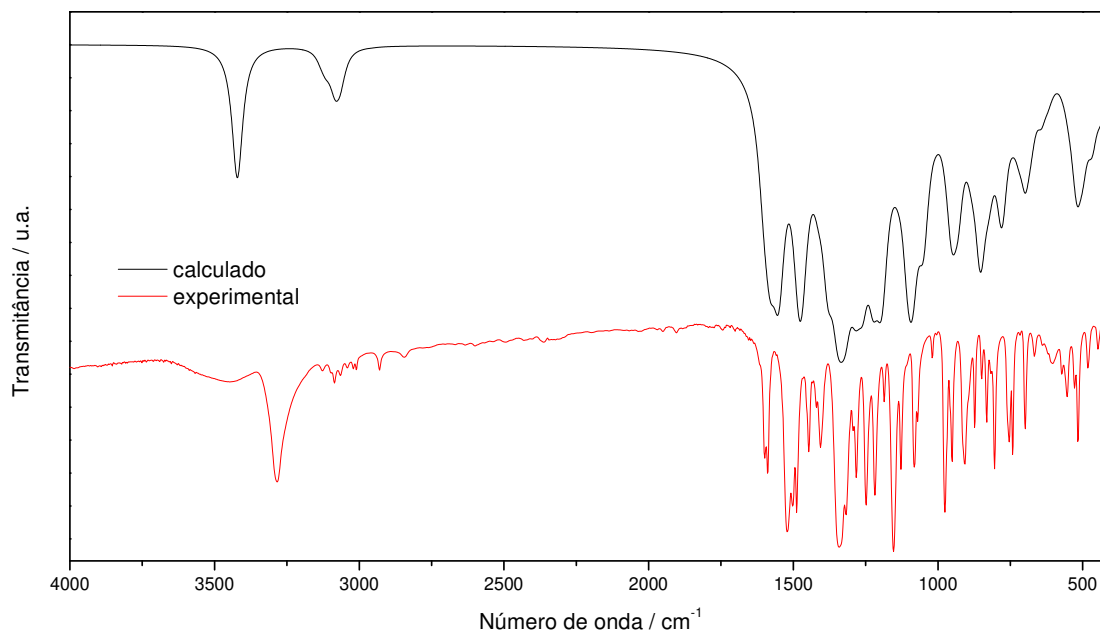


Figura 21. Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para a NMS.

A **Figura 21** mostra que o espectro calculado para o ligante NMS é consistente com o obtido experimentalmente. Como esperado, as vibrações $\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu_s(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu(\text{C}-\text{S})$, $\nu_{as}(\text{O}=\text{N}=\text{O})$ e $\nu_s(\text{O}=\text{N}=\text{O})$, que possuem energias mais baixas, concordam muito bem o resultado experimental. O espectro vibracional calculado também foi útil para assegurar que todas as atribuições dos modos vibracionais feitas para a NMS na seção 4.1.4 estão corretas, uma vez que a análise vibracional fornece a contribuição de cada átomo num determinado modo vibracional.

O cálculo das Hessianas também foi feito para o complexo Ag-NMS, e confirmou que a estrutura obtida é um mínimo na superfície de energia potencial uma vez que não foram observadas frequência imaginarias. Obteve-se com isso o espectro vibracional teórico do complexo Ag-NMS. A **Figura 22** exhibe a comparação deste com o espectro obtido experimentalmente.

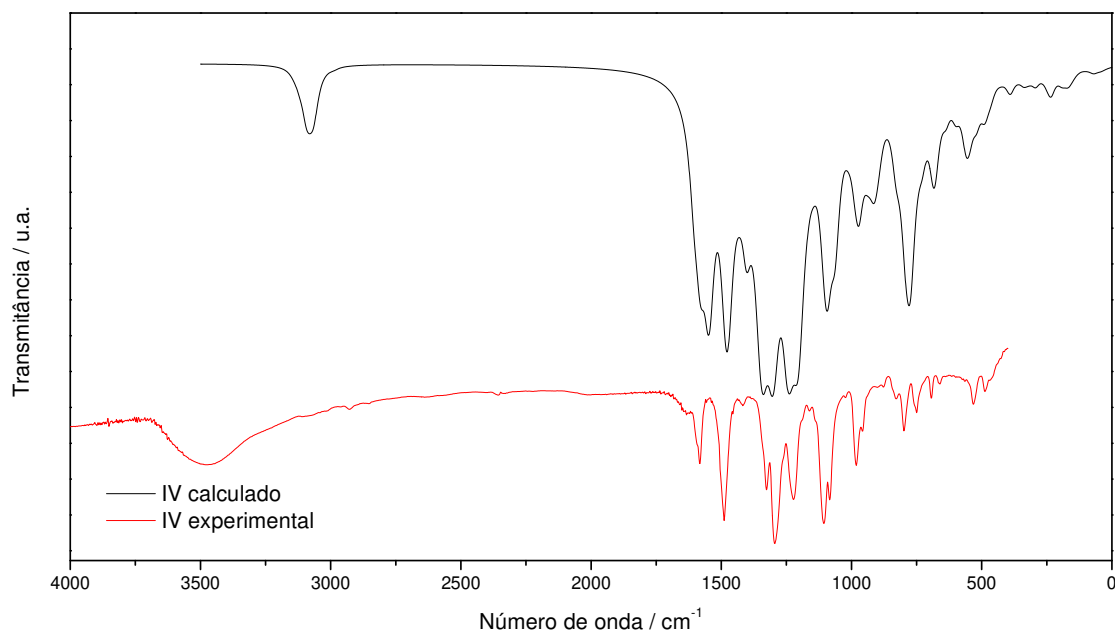


Figura 22. Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para o complexo Ag-NMS.

A **Figura 22** mostra que o espectro calculado para o complexo Ag-NMS concorda com o obtido experimentalmente. As energias calculadas para as vibrações $\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu_s(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu(\text{C}-\text{S})$, $\nu_{as}(\text{O}=\text{N}=\text{O})$ e $\nu_s(\text{O}=\text{N}=\text{O})$ concordam muito bem com o espectro experimental, e o espectro vibracional calculado também foi útil para assegurar que todas as atribuições dos modos vibracionais feitas na seção 4.1.4 para o complexo Ag-NMS estão corretas.

As absorções observadas em 1342 cm^{-1} (calculado: 1378 cm^{-1}) e 1153 cm^{-1} (calculado: 1134 cm^{-1}) no espectro no IV experimental da NMS foram confirmadas pelo espectro simulado como sendo referentes aos estiramentos ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$) assimétrico e simétrico, respectivamente. O espectro experimental do complexo Ag-NMS mostra um deslocamento de 48 cm^{-1} para baixas energias de ambos os modos de estiramento $\text{O}=\text{S}=\text{O}$. Já o espectro calculado mostra que o estiramento assimétrico é deslocado em 86 cm^{-1} para menores energias,

quando comparado com o mesmo modo vibracional calculado para a NMS. Este dado teórico confirma a proposição da participação de um dos oxigênios do grupo sulfonil na coordenação da NMS à Ag(I).

4.1.6.3. Espectros eletrônicos

Cálculos de DFT dependente do tempo (TD-DFT) permitiram compreender a natureza das transições observadas no espectro UV-Vis do ligante e do complexo Ag-NMS.

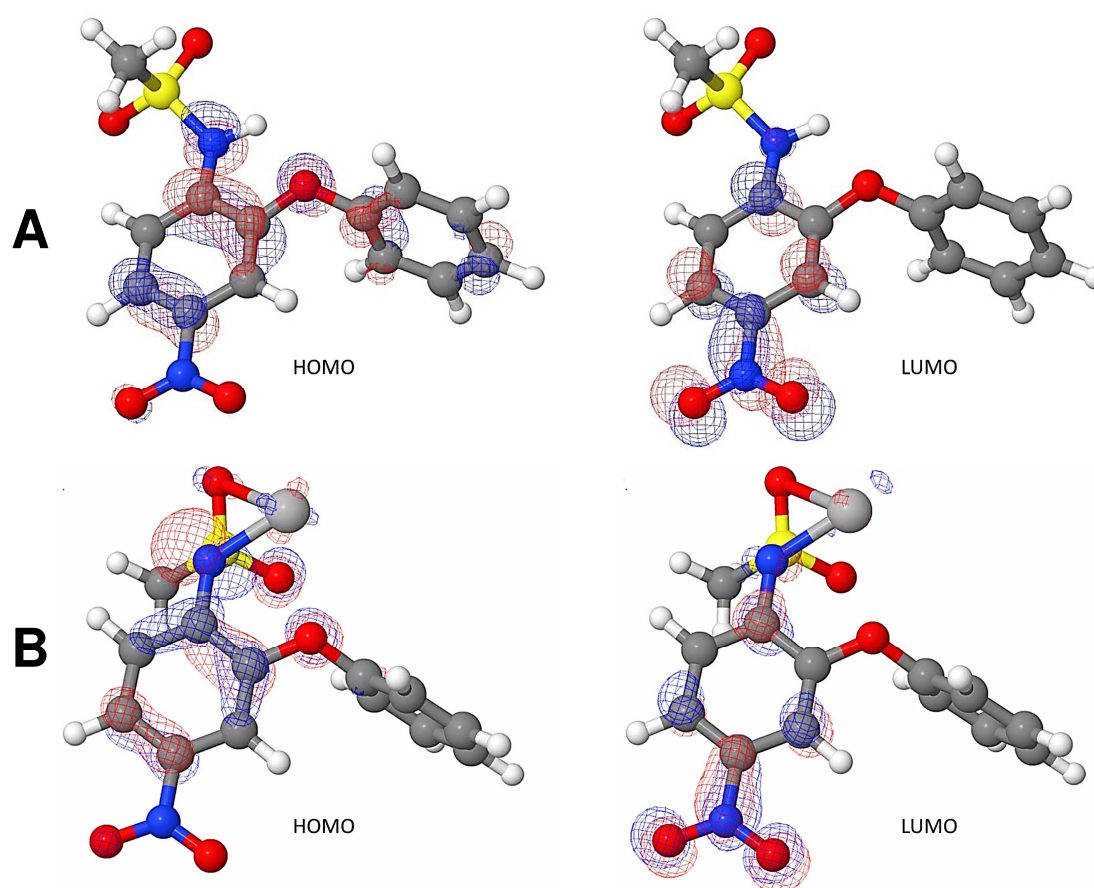


Figura 23. Orbitais de Kohn-Sham de fronteira (A) para a NMS e (B) para o complexo Ag-NMS.

A **Figura 13** apresentada anteriormente mostra as transições eletrônicas calculadas bem como os espectros eletrônicos experimentais da NMS e do complexo Ag-NMS. Todas as bandas observadas são transições π - π^* , e a

HOMO-LUMO é a de mais baixa energia. A **Figura 23** mostra os orbitais de fronteira de Kohn-Sham para a NMS e para o complexo Ag-NMS.

A **Figura 23** mostra que os orbitais HOMO e LUMO de Kohn-Sham estão centrados nos grupos aril, e o LUMO têm grande influência do grupo NO₂, explicando porque esta transição é de baixa energia. Essencialmente, todas as outras transições são do mesmo tipo, já que todas elas tem origem em orbitais π . É possível verificar ainda que os orbitais de fronteira de Kohn-Sham do complexo Ag-NMS são muito similares aos do ligante NMS.

Apesar destas pequenas diferenças, os cálculos confirmam que a coordenação não muda a natureza das transições. A força do oscilador associada à transição eletrônica situada na região do visível é maior para o complexo Ag-NMS, quando comparadas com a NMS. A **Tabela 6** mostra os valores obtidos para cada transição.

Tabela 6. Transições eletrônicas calculadas por TD-DFT para a NMS e para o complexo Ag-NMS. A força do oscilador é representada por f_0 .

NMS				Ag-NMS			
Transição	Energia		f_0	Transição	Energia		f_0
	eV	nm			eV	nm	
1	3,33	373	0,099	1	3,24	383	0,122
2	3,87	320	0,117	2	3,34	371	0,004
3	3,96	313	0,138	3	3,61	343	0,011
4	4,01	309	0,031	4	3,77	329	0,015
5	4,20	295	0,024	5	3,87	320	0,087
6	4,42	280	0,000	6	3,92	316	0,024
7	5,02	247	0,151	7	3,95	314	0,071
8	5,25	236	0,064	8	4,05	306	0,124
9	5,46	227	0,079	9	4,38	283	0,001
10	5,54	224	0,022	10	4,44	279	0,012

4.1.7. Inclusão do Complexo Ag-NMS em β -ciclodextrina

4.1.7.1. Espectroscopia no UV-Visível

A espectroscopia eletrônica no UV-Visível foi utilizada com o objetivo de se determinar o valor das constantes de associação para os sistemas de NMS e Ag-NMS. Os espectros foram adquiridos até 72 horas após o início do experimento, entretanto não foram observadas mudanças após 48 horas. Os dados apresentados a seguir correspondem aos obtidos após 48 horas.

Os espectros eletrônicos da NMS e do complexo Ag-NMS apresentam uma transição em torno de 390 nm. Conforme mencionado na seção 4.1.6.3, esta transição é referente à transição HOMO-LUMO π - π^* . Esta transição foi utilizada para monitorar a inclusão da NMS e do complexo Ag-NMS em β -CD.

Com a inclusão, o espectro eletrônico no UV-Vis mostra dois fenômenos. Primeiro, a transição π - π^* é deslocada para cerca de 400 nm. Como esta transição é atribuída à transição HOMO-LUMO, o deslocamento batocrômico sugere que a inclusão reduz a diferença de energia entre os orbitais de fronteira tanto para a NMS quanto para o Ag-NMS. Além disso, o coeficiente de absorvidade molar da transição HOMO-LUMO é aumentado com a inclusão de ambos os compostos.

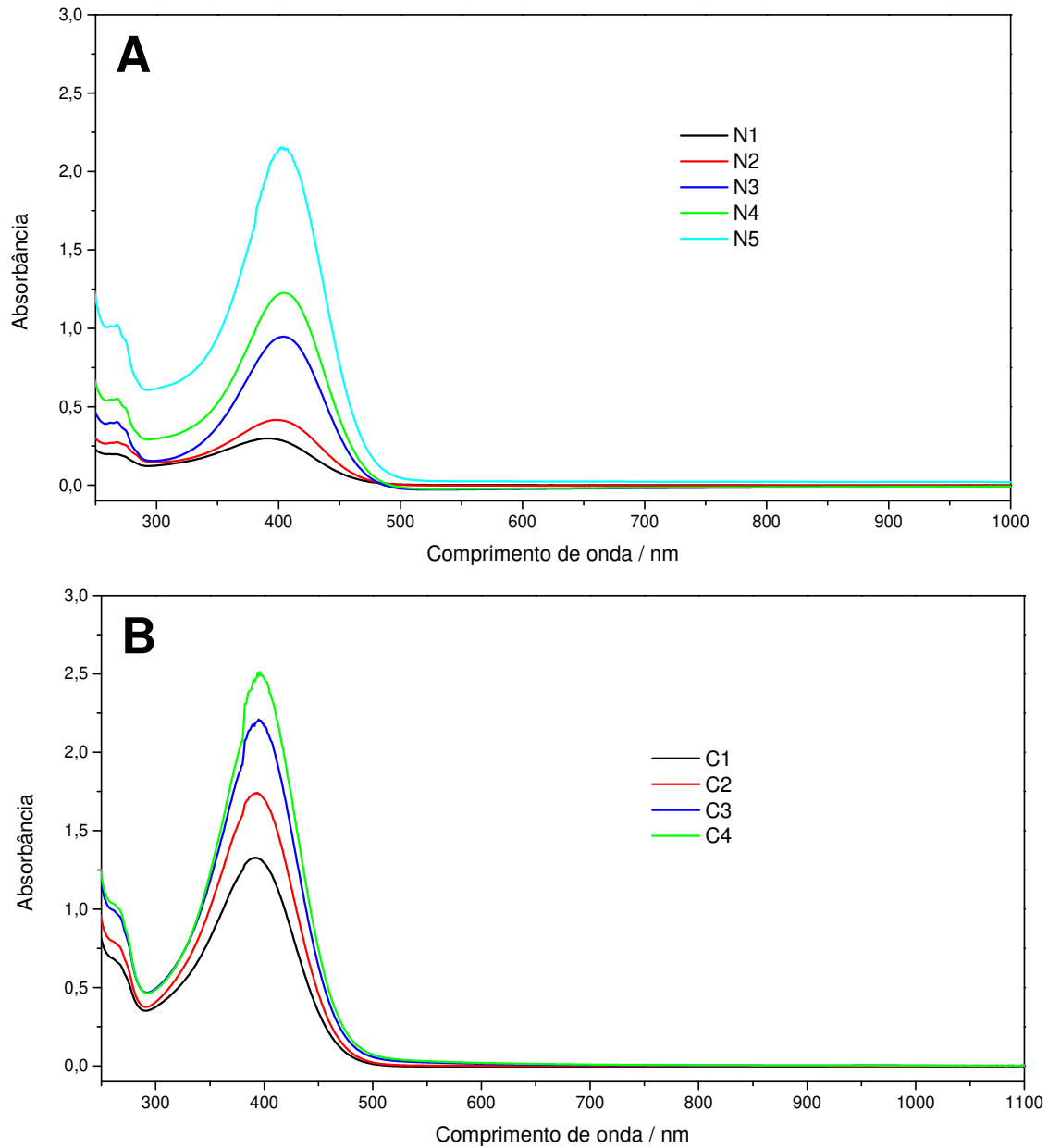


Figura 24. Espectro eletrônico no UV-Vis (**A**) das soluções de NMS e concentrações crescentes de β -CD e (**B**) Espectro eletrônico no UV-Vis das soluções de Ag-NMS e concentrações crescentes de β -CD (concentrações descritas na Tabela 1).

4.1.7.2. Determinação da constante de associação em solução

A constante de associação (K_a) dos sistemas [(NMS)· β -CD] e [(Ag-NMS)· β -CD] foi obtida considerando-se o seguinte equilíbrio:



onde o *host* (H) é a β -CD, o *guest* (G) é NMS ou Ag-NMS e o complexo de inclusão (HG) é [(NMS)· β -CD] ou [(Ag-NMS)· β -CD]. A absorvância no UV-Vis para um sistema que contém as três espécies H, G e HG pode ser escrita como:

$$A = \varepsilon_H b[H] + \varepsilon_G b[G] + \varepsilon_{HG} b[HG] \quad (2)$$

A molécula *guest* (G) está em equilíbrio com o complexo de inclusão HG, o que faz com que [G] e [HG] estejam correlacionadas:

$$A = \varepsilon_G b[H]_0 + \Delta\varepsilon_{HG} b[HG] \quad (3)$$

Onde $\Delta\varepsilon_{HG} = \varepsilon_{HG} - \varepsilon_H - \varepsilon_G$ e $[G]_0$ é a concentração inicial da molécula *guest*. Por fim, combinando (3) com a definição da constante de associação K_a , uma expressão não-linear é obtida:

$$\frac{\Delta A}{b} = \frac{\Delta\varepsilon_{HG} K_a [G][H]_0}{1 + K_a [G]} \quad (4)$$

Uma das abordagens utilizadas para linearizar a equação 4 é o método de Scatchard.⁷⁴ Aqui, este método é utilizado com uma pequena alteração. Os sistemas descritos por Scatchard, assim como muitos dos sistemas de inclusão em β -CD, apresentam valores negativos de ΔA com a inclusão. Entretanto, os sistemas de inclusão com NMS e com Ag-NMS apresentam valores positivos de ΔA . Levando tal informação em conta, a equação de linearização obtida é a seguinte:

$$\frac{\Delta A}{b[G]} = \frac{\Delta A K_a}{b} + \Delta \varepsilon_{HG} K_a [H]_0 \quad (5)$$

Desta maneira, a abordagem apresentada permite obter o valor de K_a como a inclinação da curva de $\Delta A/b[H]$ contra $\Delta A/b$. A **Figura 25** mostra as curvas obtidas para a NMS e para o complexo Ag-NMS.

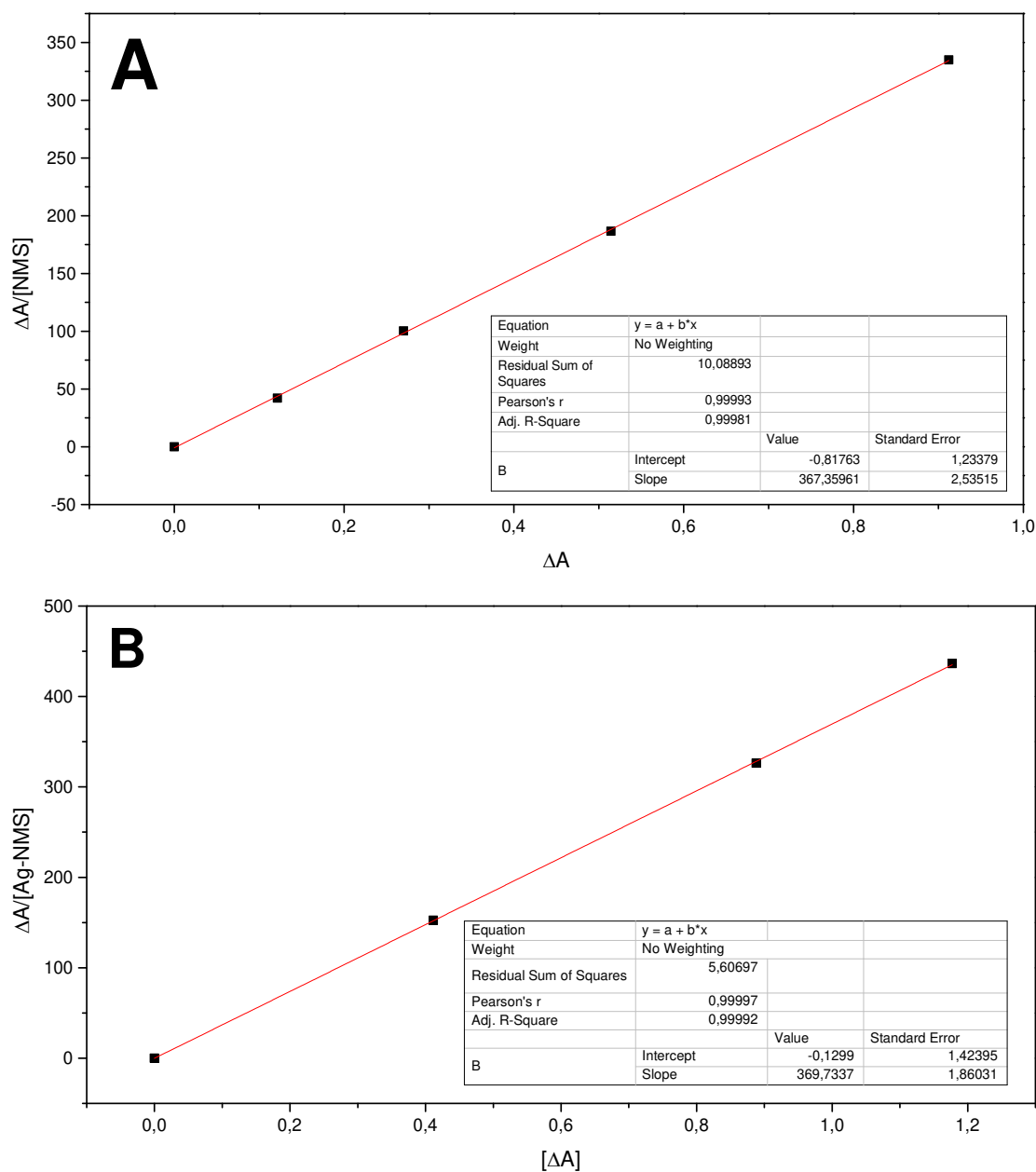


Figura 25. Curvas utilizadas para a determinação das constantes de associação entre (A) NMS e (B) Ag-NMS com β -CD.

Os valores calculados de K_a para a NMS e Ag-NMS pelo método de Scatchard foram de $367 \pm 3 \text{ L mol}^{-1}$ e $370 \pm 2 \text{ L mol}^{-1}$, respectivamente. O comportamento observado para ambos os compostos é bem descrito por uma única regressão linear, o que indica a existência de uma única constante de associação para cada sistema. Para fins comparativos, o complexo de inclusão de nitrobenzeno em β -CD apresenta um $K_a = 154 \text{ L mol}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,0$)⁷⁵ e o complexo de inclusão de para-nitrofenol em β -CD apresenta $K_a = 130 \text{ L mol}^{-1}$ para a espécie neutra.⁷⁶

4.1.7.3. RMN de ^1H

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear provê informações estruturais de sistemas supramoleculares através de uma observação direta. Diferenças entre o deslocamento químico de sinais dos componentes do sistema de inclusão e o complexo de inclusão podem fornecer informações importantes sobre a inclusão em si.

A **Figura 26** mostra a atribuição dos hidrogênios da β -CD. A **Figura 27**, por sua vez mostra os espectros de RMN de ^1H do *guest* livre (Ag-NMS), host livre (β -CD) e o complexo de inclusão $CE-[(\text{Ag-NMS})\cdot\beta\text{-CD}]$.

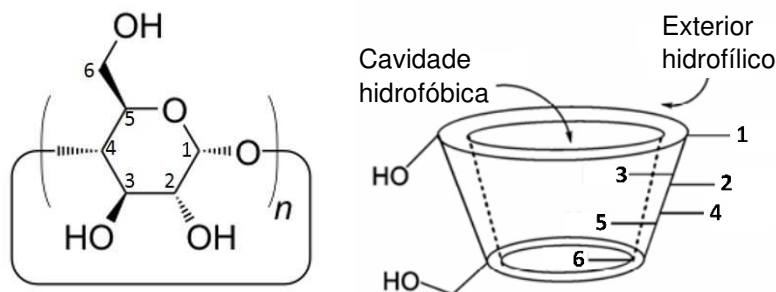


Figura 26. Estrutura de repetição da glicopirranose (para a β -CD, $n=7$), e ênfase na estrutura toroidal da β -CD, onde são indicados os hidrogênios internos e externos à cavidade.

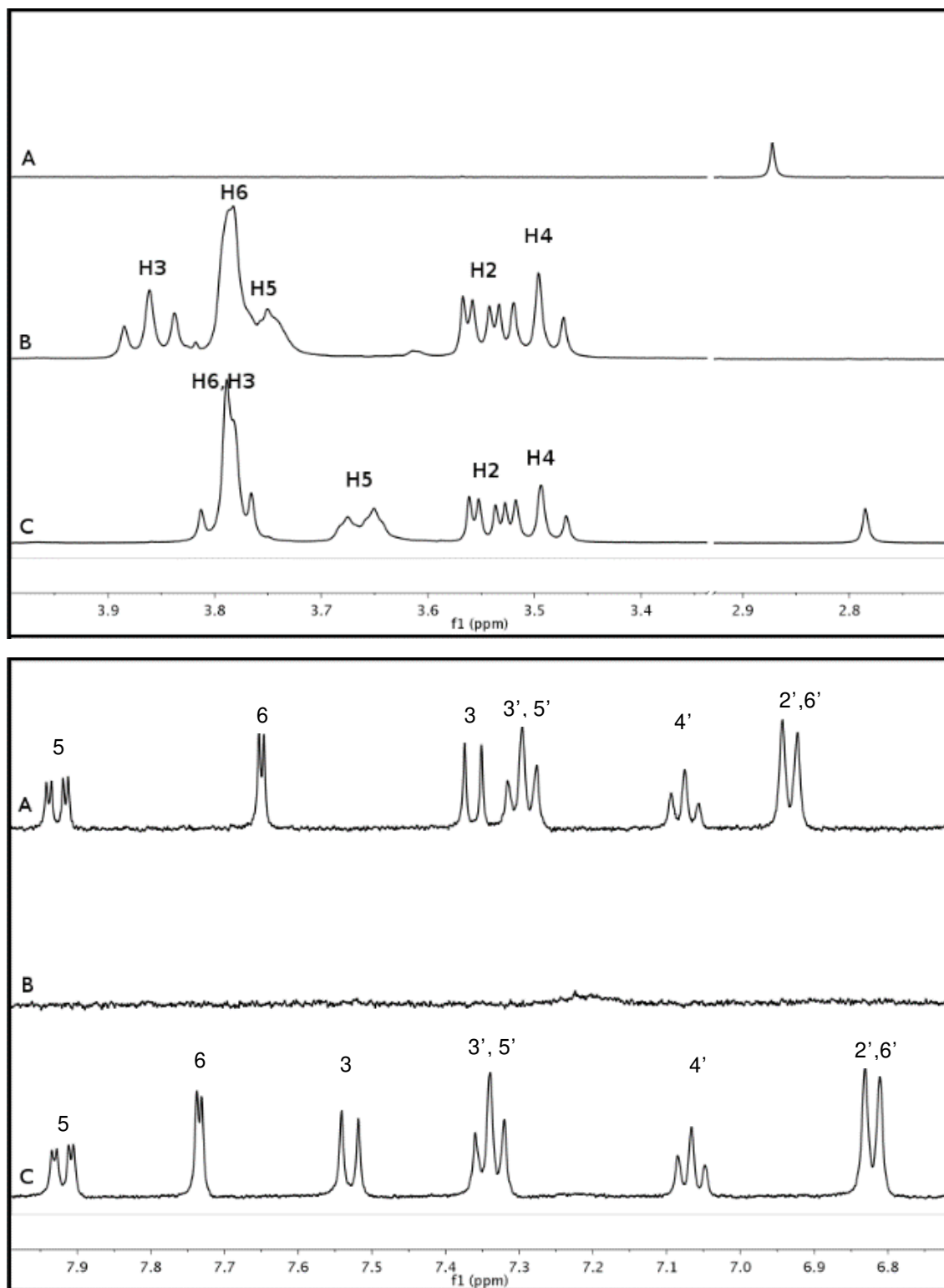


Figura 27. Espectros de RMN de ¹H NMR para (A) Ag-NMS, (B) β-CD e (C) CE-[(Ag-NMS)·β-CD] nas regiões 2,5 – 4,0 ppm e 6,0 – 8,0 ppm.

Observando a **Figura 26**, fica claro que os hidrogênios 3 e 5 são os mais sensíveis à inclusão, por estarem no interior da cavidade. Na **Figura 27**, é possível observar que ambos os hidrogênios 3 e 5 são deslocados para campo alto com a formação do complexo de inclusão, enquanto os hidrogênios externos 2 e 4 permanecem inalterados com a inclusão. Todos os deslocamentos químicos de ^1H são apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Atribuições dos sinais de RMN de ^1H , deslocamentos químicos e multiplicidade para os compostos Ag-NMS, β -CD e CE- $[\beta$ -CD·(NMS)]. $\Delta\delta$ é a diferença (em ppm) entre o deslocamento químico de um determinado sinal no complexo de inclusão e este mesmo sinal no Ag-NMS ou na β -CD livres.

Ag-NMS	Multiplicidade	δ AgNMS / ppm	δ [β -CD·(Ag-NMS)] / ppm	$\Delta\delta$
H5	dd	7,92	7,92	0,00
H6	d	7,59	7,73	0,14
H3	d	7,42	7,53	0,11
H3', H5'	t	7,29	7,34	0,05
H4'	t	7,09	7,07	-0,02
H2', H6'	d	6,94	6,82	-0,12
β -CD	Multiplicidade	δ β -CD / ppm	δ [β -CD·(Ag-NMS)] / ppm	$\Delta\delta$
1	d	4,98	4,97	-0,01
3	t	3,86	3,78	-0,08
6	s	3,78	3,79	0,01
5	dt	3,76	3,66	-0,10
2	dd	3,55	3,55	0,00
4	t	3,50	3,49	-0,01

s = simpleto, d = duplete, dd = duplo duplete, t = tripleto, dt = duplo tripleto

De acordo com Greatbanks e Pickford,⁷⁷ a avaliação do $\Delta\delta$ dos hidrogênios internos da β -CD ($\Delta\delta = \delta$ complexo de inclusão – δ β -CD livre) pode dar informações relevantes sobre a inclusão. Quando $\Delta\delta 3 > \Delta\delta 5$, ocorre uma inclusão parcial do *guest* na cavidade. Por outro lado, $\Delta\delta 3 < \Delta\delta 5$ está

relacionado a uma completa inclusão do *guest* na cavidade da β -CD. Os valores apresentados na *Tabela 7* mostram que $\Delta\delta 3 < \Delta\delta 5$, o que pode indicar uma inclusão total do *guest* na cavidade.

A presença de dois anéis aromáticos na estrutura da NMS torna possível a formação de complexos de inclusão com estequiometrias de 1:1 ou 1:2 *guest/host*. Por outro lado, um dos anéis é mais substituído do que o outro, o que pode atribuir uma certa preferência à inclusão. Comparando os sinais de ^1H do Ag-NMS livre com o complexo de inclusão, pode-se observar que o maior deslocamento ocorre para os hidrogênios H6 e H3 do anel mais substituído, e para os hidrogênios H2' e H6' do grupo fenoxi. Uma observação importante está relacionada ao não deslocamento do hidrogênio H4' do Ag-NMS, que indica ausência de interação deste hidrogênio com hidrogênios da β -CD, enquanto todos os demais prótons deste anel interagem com a cavidade interna. Este resultado sugere uma completa inclusão do grupo fenoxi da NMS na cavidade da β -CD.

4.1.7.4. Espectroscopia Diferencial usando Efeito Nuclear Overhauser (NOESY) – Proximidade ^1H - ^1H através do espaço

Para melhor avaliar o modo de inclusão no complexo [(Ag-NMS)- β -CD], um experimento NOESY foi realizado e o espectro obtido é mostrado na **Figura 28**. Fica evidente que os hidrogênios internos 3 e 5 da cavidade da ciclodextrina se correlacionam com hidrogênios do grupo fenoxi da nimesulida no complexo Ag-NMS. Também se observa uma interação entre o hidrogênio 5 da β -CD com o hidrogênio H6 do Ag-NMS. A correlação mais intensa é observada entre os hidrogênios H2' e H6' do Ag-NMS com o hidrogênio 3 da β -CD. Nenhuma correlação é observada para o hidrogênio H4' do Ag-NMS, o que reforça a proposta de inclusão total do grupo fenoxi na cavidade da β -CD.

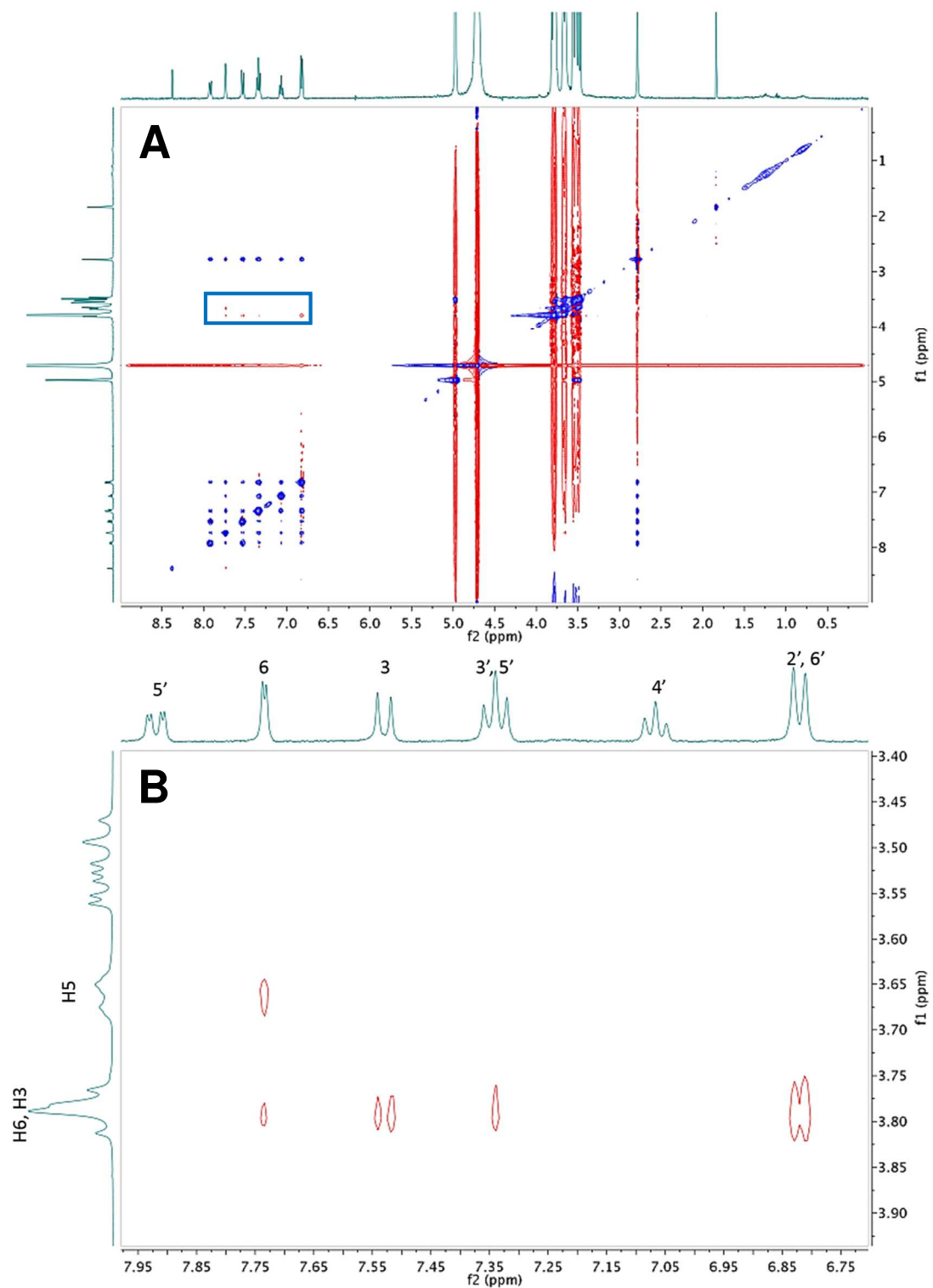


Figura 28. Espectro NOESY do complexo CE-[(Ag-NMS)· β -CD] em D₂O à temperatura ambiente, com *mixing time* de 800 ms. **A** - espectro completo; **B** - sinais de NOE que demonstram correlação entre os hidrogênio 3, 5 e 6 da β -CD com hidrogênios do Ag-NMS.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Pt-NMS

4.2.1. Análise Térmica

A curva referente à análise termogravimétrica do complexo Ag-NMS é apresentada na *Figura 29*.

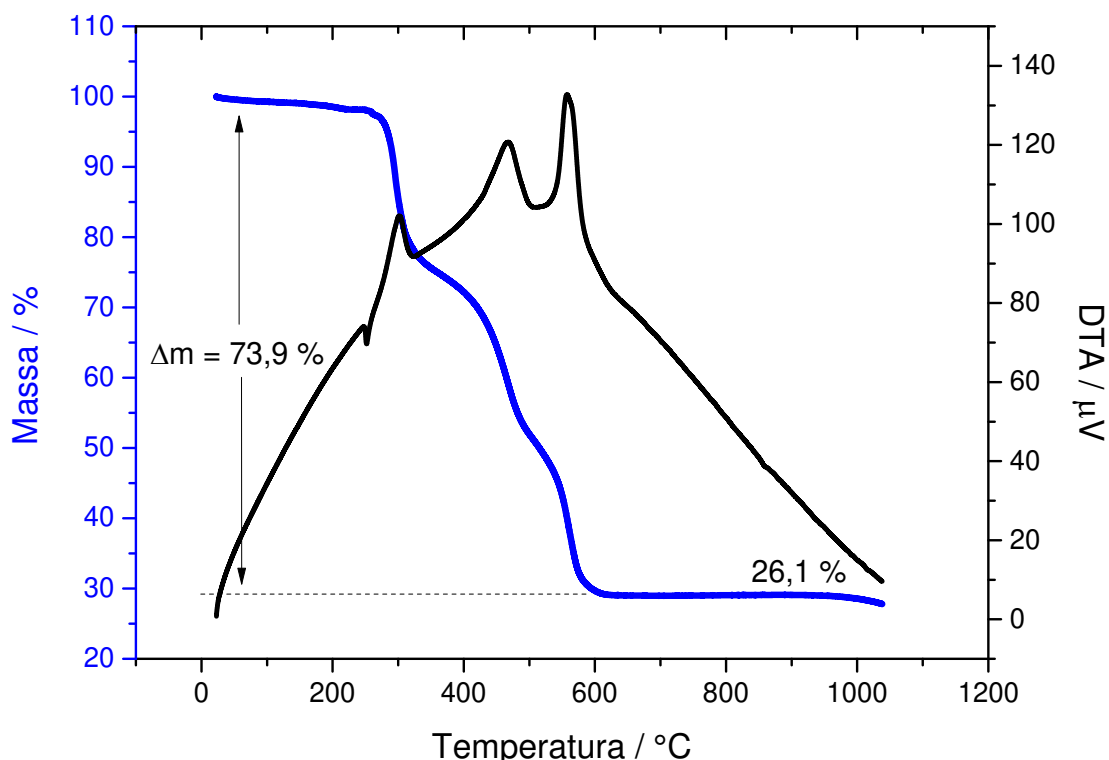


Figura 29. Curva termogravimétrica (TG) e análise térmica diferencial (DTA) do complexo Pt-NMS.

É possível observar que a decomposição da parte orgânica da molécula se inicia em 260 °C, passando por três etapas de perda de massa, levando à formação de um resíduo de massa constante a partir de 600 °C. A perda de massa esperada para dois ligantes NMS corresponderia a 75,9 %. Experimentalmente, a perda observada foi de 73,9 %. Considerando-se um resíduo de óxido de platina, a massa final esperada seria de 24,1 %. A massa final do resíduo, obtida experimentalmente, foi de 26,1 %. Estes resultados são

consistentes com a composição do complexo Pt-NMS inicialmente proposta por análise elementar, e demonstram a estabilidade térmica do composto até 260 °C.

4.2.2. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho (IV)

Na *Figura 30* são apresentados os resultados obtidos por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho da NMS e do complexo Pt-NMS. O espectro vibracional no IV da NMS já foi detalhadamente descrito na seção 4.1.4.

O espectro vibracional no IV do complexo Pt-NMS mostrou diversas evidências que comprovam sua formação. A primeira, e mais pronunciada delas, é o desaparecimento da banda referente ao $\nu(\text{N-H})$, apresentado na *Figura 30A*. Isto ocorre devido à perda do hidrogênio, anteriormente ligado ao N do grupo sulfonamida, com a coordenação da NMS à Pt(II). Além disso, os estiramentos $\nu_{\text{as}}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, que apareciam em 1342 e 1152 cm^{-1} respectivamente, no espectro do ligante, são deslocados para menores energias no espectro do complexo Pt-NMS, aparecendo em 1300 e 1105 cm^{-1} , respectivamente. Esta é uma primeira evidência de que o grupo sulfonil ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$) também está envolvido na coordenação da NMS à Pt(II).

É importante ressaltar o deslocamento das bandas associadas aos estiramentos assimétrico e simétrico da sulfonamida para menores energias, assim como acontece no complexo Ag-NMS, o que indica o enfraquecimento da ligação S=O e, conseqüentemente, sugere que a coordenação ocorre pelo oxigênio e não pelo enxofre do grupo S=O.⁷¹ O complexo $\text{K}[\text{PtCl}_2(\text{SFD})]$, onde SFD representa a sulfadiazina, foi sintetizado por Pasini e Bersanetti.⁵² O deslocamento dos modos vibracionais $\nu_{\text{as}}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$ em -55 cm^{-1} e

-20 cm^{-1} , respectivamente, com a coordenação também foi uma evidência levantada pelos autores para indicar um modo de coordenação bidentado para o ligante.

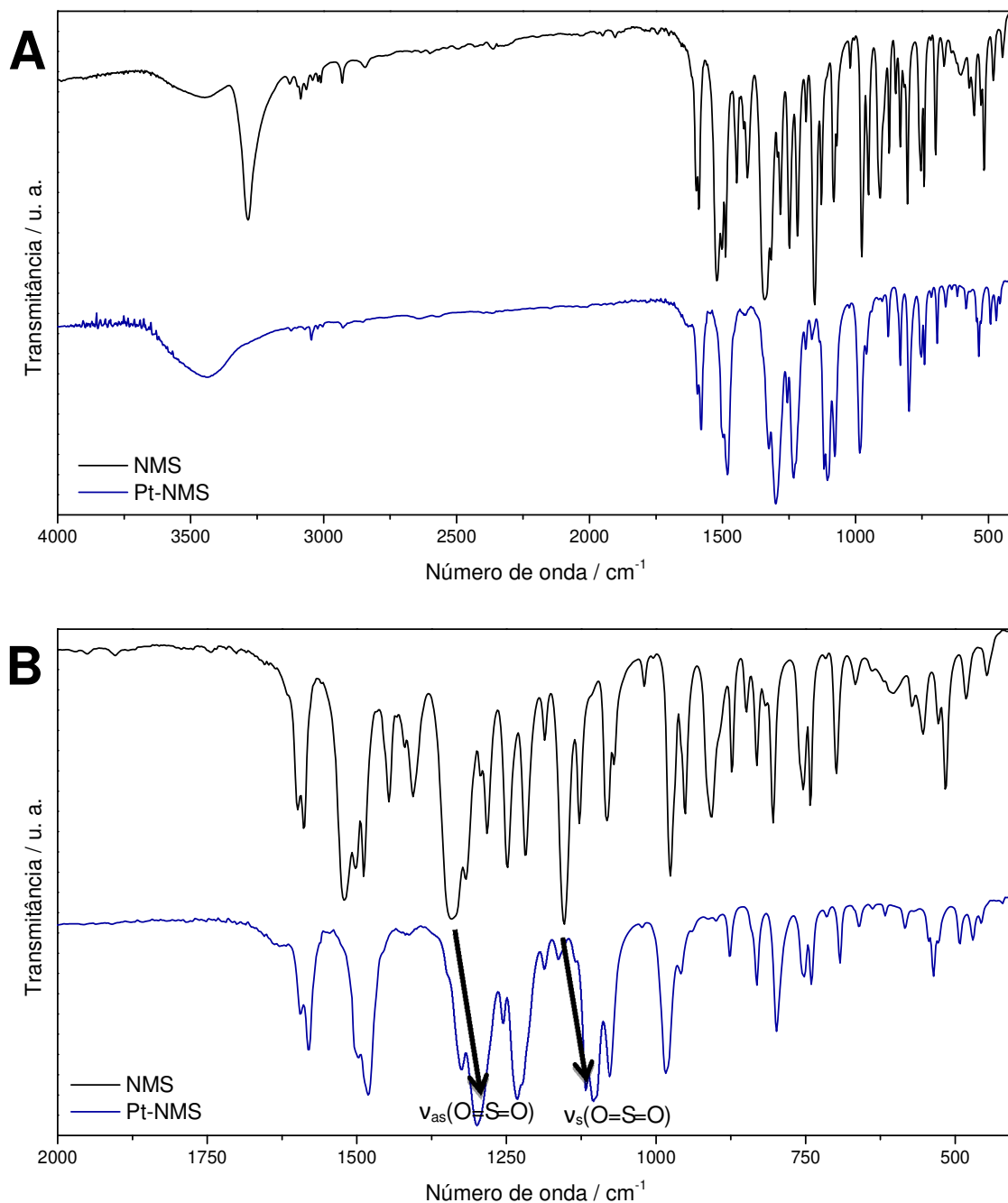


Figura 30. (A) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Pt-NMS de 4000 – 400 cm^{-1} . (B) Espectros vibracionais no infravermelho da NMS e do complexo Pt-NMS na região de 2000 – 400 cm^{-1} .

O espectro vibracional no IV pode ainda ser utilizado para identificar ligações Pt-Cl. Os modos vibracionais característicos desta ligação aparecem no IV em baixa região (abaixo de 400 cm^{-1}). A **Figura 31** mostra o espectro vibracional na região de baixa energia do complexo Pt-NMS e do precursor de Pt(II) utilizado, o $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$.

Analisando a **Figura 31**, é possível perceber que não há nenhum modo vibracional observável na baixa região de $300\text{-}320\text{ cm}^{-1}$ no espectro do complexo Pt-NMS. Desta maneira, confirma-se a ausência de cloretos como ligantes na primeira esfera de coordenação da Pt(II) no complexo Pt-NMS.

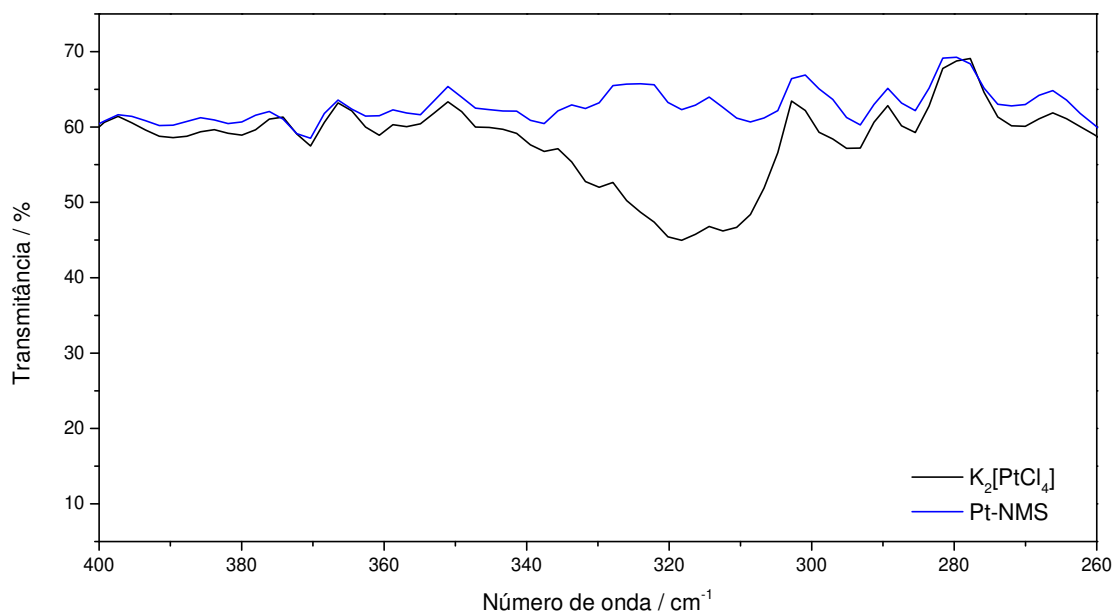


Figura 31. Espectro vibracional no IV de baixa região para o complexo Pt-NMS e para o $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$

4.2.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A análise e atribuição dos sinais nos espectros de RMN seguem novamente a numeração de carbonos da NMS apresentada anteriormente na **Figura 15**.

4.2.3.1. RMN de ^1H

A espectroscopia de RMN de ^1H em solução foi utilizada para obter detalhes a respeito dos sítios de coordenação da NMS à Pt(II). Os espectros obtidos para a NMS e para o complexo Pt-NMS são apresentados na **Figura 32**, enquanto as atribuições e deslocamentos químicos são mostrados na **Tabela 8**.

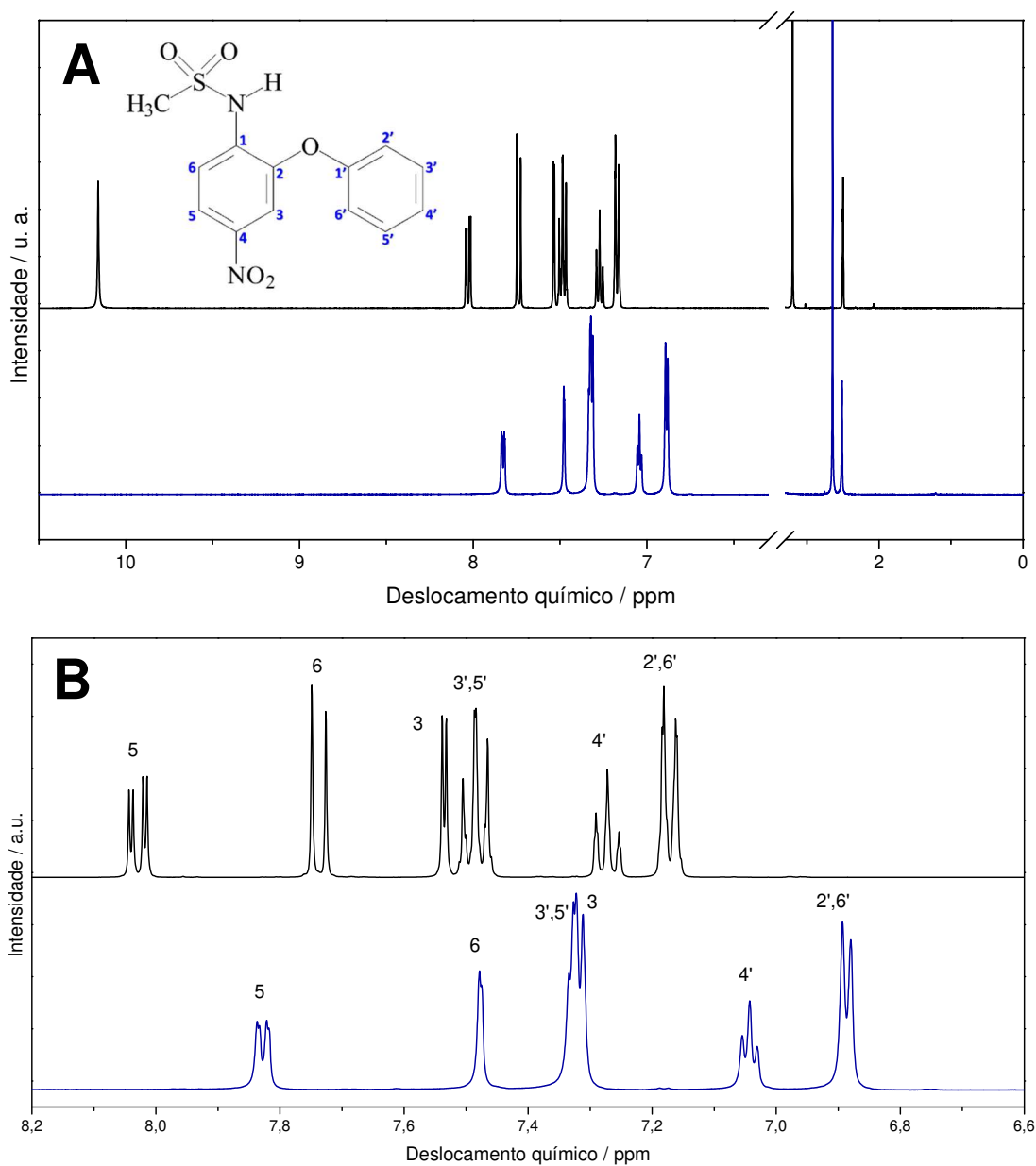


Figura 32. Espectros de RMN de ^1H para a NMS (em preto) e para o complexo Pt-NMS (em vermelho). A região aromática em mostrada em destaque em **B**.

Tabela 8. Atribuições, deslocamentos químicos e multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN de ^1H da NMS e do complexo Pt-NMS – $\Delta\delta$ representa a diferença entre o deslocamento químico de um sinal no complexo e no ligante livre.

Atribuição	NMS δ / ppm	Pt-NMS δ / ppm	$\Delta\delta$ / ppm	Multiplicidade
CH_3	3,20	2,63	- 0,57	s
2',6'	7,16 – 7,18	6,82 – 6,91	- 0,31	d
4'	7,25 – 7,29	6,97 – 7,07	- 0,25	t
3', 5'	7,47 – 7,51	7,23 – 7,34	- 0,21	m
3	7,53 – 7,54	7,23 – 7,34	- 0,25	m
6	7,73 – 7,75	7,42 – 7,51	- 0,28	d
5	8,01 – 8,04	7,76 – 7,86	- 0,22	dd
NH	10,2	-	-	s

s = simpleto, d = duplete, dd = duplo duplete e t = tripleto

A partir dos dados apresentados na **Figura 32** e na *Tabela 8*, é possível tirar conclusões relevantes a respeito da coordenação. Primeiramente, o hidrogênio que aparece como um simpleto em 10,2 ppm no espectro de ^1H da NMS deixa de ser observado no espectro do complexo Pt-NMS. Este sinal é atribuído ao átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo sulfonamida da NMS. Este dado evidencia a perda do hidrogênio do grupo (O_2SNH), e sugere a participação do átomo de nitrogênio deste grupo na coordenação à Pt(II), conforme proposto anteriormente pelos espectros vibracionais no IV.

Observando-se também os valores de $\Delta\delta$ apresentados na *Tabela 8*, é possível perceber que todos os átomos de hidrogênio são deslocados para campo alto com a coordenação. Entretanto, o deslocamento mais pronunciado (-0,57 ppm) ocorre para os átomos de hidrogênio do grupo metil, ligado ao grupo sulfonamida.

Desta maneira, a comparação entre os espectros de RMN de ^1H do ligante livre e do complexo Pt-NMS reafirmam a participação do grupo sulfonamida na coordenação da NMS à Pt(II).

O espectro de RMN de ^1H corresponde a uma amostra recém-preparada, utilizando DMSO- d_6 como solvente. Entretanto, também foram adquiridos espectros em D_2O , numa solução recém preparada e após 24 horas. Não houve diferenças nos deslocamentos químicos nem nos valores das integrais dos sinais observados, o que indica a estabilidade do complexo Pt-NMS em água. Esta informação é importante pois, conforme muito bem descrito para a cisplatina, a primeira modificação que ocorre em complexos de Pt(II) em meio fisiológico é a perda de ligantes lábeis e substituição destes por moléculas de água. Esta observação também confirma a ausência de ligantes lábeis (cloretos, que poderiam ser provenientes do precursor $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$) no complexo Pt-NMS.

4.2.3.2. RMN de ^{13}C

A **Figura 33** mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para a NMS e para o complexo Pt-NMS, em DMSO- d_6 a 25°C . Os deslocamentos químicos, bem como a atribuição de cada sinal do espectro de RMN de ^{13}C são mostrados na **Tabela 9**. As atribuições dos sinais de ^{13}C do complexo Pt-NMS foram confirmadas por correlação HMBC [^1H - ^{13}C] (Apêndice C).

As análises de RMN de ^{13}C do complexo Pt-NMS, em comparação ao ligante livre, mostram que os átomos de carbono mais afetados pela coordenação da NMS à Pt(II) são os carbonos 2, 3 e 4, do anel mais substituído, e 1', do grupo fenoxi. Os sinais referentes a todos estes átomos são deslocados para campo mais baixo com a coordenação.

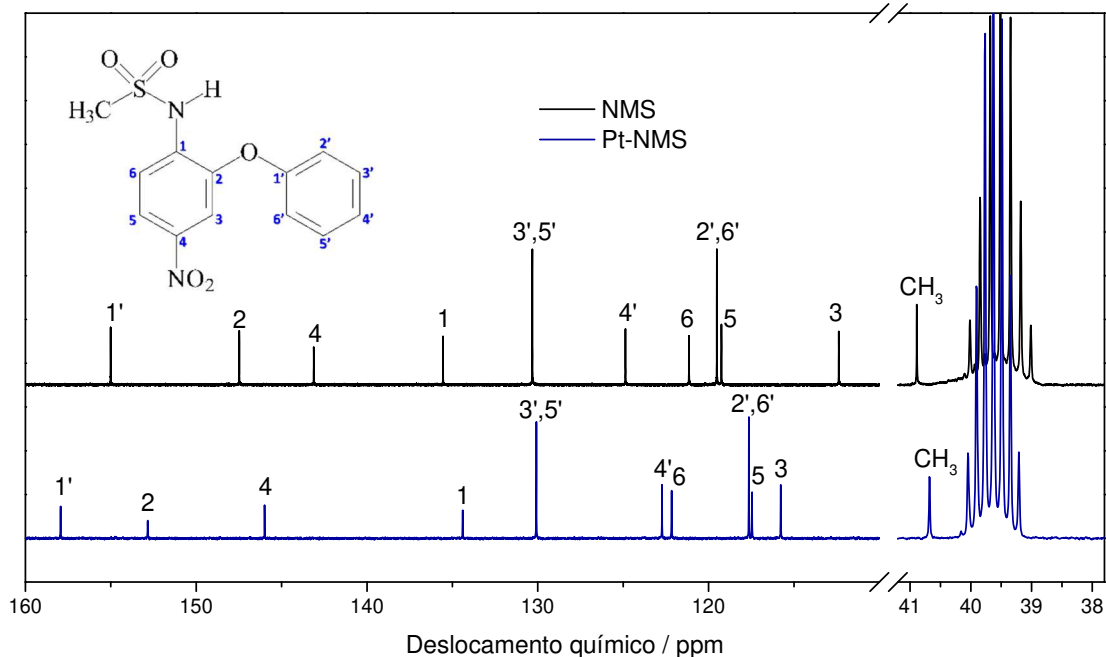


Figura 33. Espectros de RMN de ^{13}C para o ligante NMS e para o complexo Pt-NMS.

Tabela 9. Atribuições para os sinais de RMN de ^{13}C e deslocamentos químicos para a NMS e para o complexo Pt-NMS.

Atribuição	NMS δ / ppm	Pt-NMS δ / ppm	$\Delta\delta$ / ppm
CH ₃	40,89	40,68	-0,21
3	112,4	115,8	3,4
5	119,3	117,5	-1,8
2',6'	119,5	117,6	-1,9
6	121,1	122,2	1,1
4'	124,9	122,7	-2,2
3',5'	130,3	130,1	-0,2
1	135,6	134,4	-1,2
4	143,1	146,0	2,9
2	147,5	152,8	5,3
1'	155,0	157,9	2,9

4.2.3.3. Correlação [^1H - ^{15}N] por HMBC.

O complexo Pt-NMS foi estudado também através da técnica de ressonância magnética nuclear de ^{15}N . Para a obtenção dos valores de deslocamento químico de ^{15}N , foi utilizado um método indireto de acoplamentos a longa distância, o HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*) [^1H - ^{15}N]. O espectro do complexo foi analisado em comparação com o espectro do ligante livre. Os espectros bidimensionais de [^1H - ^{15}N] HMBC para o ligante livre e para o complexo são apresentados na **Figura 34**.

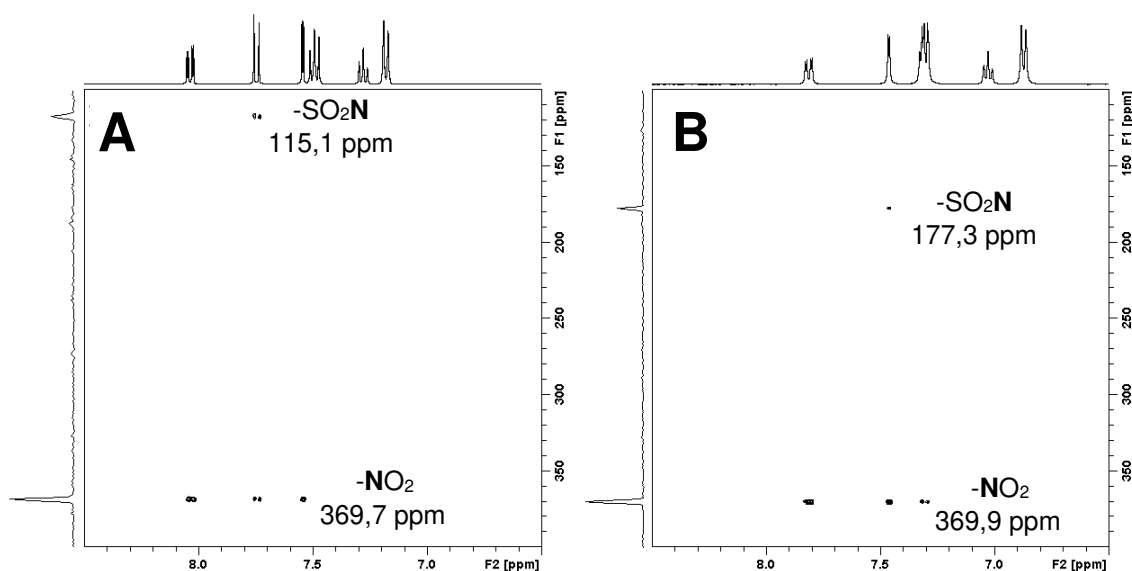


Figura 34. Espectro de correlação HMBC [^1H - ^{15}N] para (A) o ligante NMS e (B) o complexo Pt-NMS.

O espectro [^1H - ^{15}N] da NMS mostra o sinal do N pertencente ao grupo sulfonamida com um deslocamento químico de 115,1 ppm. Já no espectro do complexo Pt-NMS, o deslocamento químico do nitrogênio deste grupo é observado em campo mais baixo, em 177,3 ppm. O valor observado de $\Delta\delta = 62,2$ ppm ($\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante}}$) confirma a coordenação da NMS através do átomo de nitrogênio do grupo sulfonamida à Pt(II). Não foi observada nenhuma

variação significativa no deslocamento químico do nitrogênio do grupo NO₂ da NMS ($\delta = 369,7$ ppm) quando comparada ao complexo Ag-NMS ($\delta = 369,9$ ppm).

4.2.4. Titulação Espectroscópica

Conforme discutido anteriormente na seção 4.1.3, o espectro eletrônico da NMS é dominado por transições $\pi-\pi^*$, e apresenta uma transição deslocada para a região do visível em 389 nm devido à propriedade retirador de densidade eletrônica do grupo NO₂.

O espectro eletrônico de absorção no UV-Vis do complexo Pt-NMS foi acompanhado em função do pH. A *Figura 35* mostra os espectros obtidos.

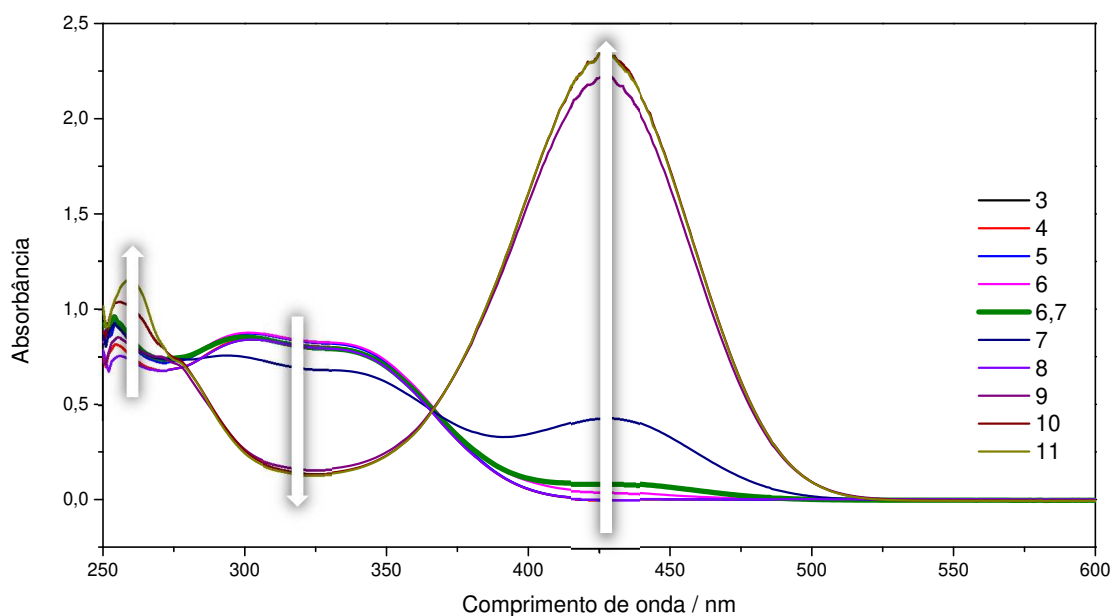


Figura 35. Espectro eletrônico no UV-Vis do complexo Pt-NMS em função do pH. A linha verde em destaque mostra o espectro do complexo sem ajuste de pH

A linha em verde, em destaque na **Figura 35**, mostra o espectro do complexo Pt-NMS sem nenhum ajuste de pH. Nele, é possível observar a existência de duas transições no UV, em 301 e 334 nm, e uma fraca transição no visível, centrada em 429 nm. O aumento do pH provoca um grande aumento na intensidade desta última transição.

Avaliando-se os espectros eletrônicos obtidos em função do pH, é possível perceber claramente a presença de dois pontos isobésticos, o que indica a presença de três espécies em equilíbrio em solução. Como este experimento avalia o equilíbrio de protonação, as espécies envolvidas são o complexo Pt-NMS diprotonado, monoprotonado e neutro. Os possíveis sítios de coordenação são os oxigênios do grupo sulfonamida. Com a diminuição do pH do meio, ou seja, quanto maior o grau de protonação do complexo Pt-NMS, a transição eletrônica no visível desaparece, sendo substituída por duas transições eletrônicas no UV.

4.2.5. Titulação Potenciométrica

Conforme indicado pelo experimento de titulação espectroscópica, três espécies estão envolvidas no equilíbrio de protonação do complexo Pt-NMS em solução aquosa. A titulação potenciométrica foi utilizada para determinar os valores dos pK_a aparentes. A **Figura 36** mostra a curva de titulação potenciométrica obtida.

A análise da curva apresentada na **Figura 36** utilizando a planilha CurTiPot⁵³ permitiu obter os valores de $pK_{a1} = 3,97$ e $pK_{a2} = 7,21$. Com estes valores, foi possível construir o diagrama de distribuição de espécies apresentado na **Figura 37**.

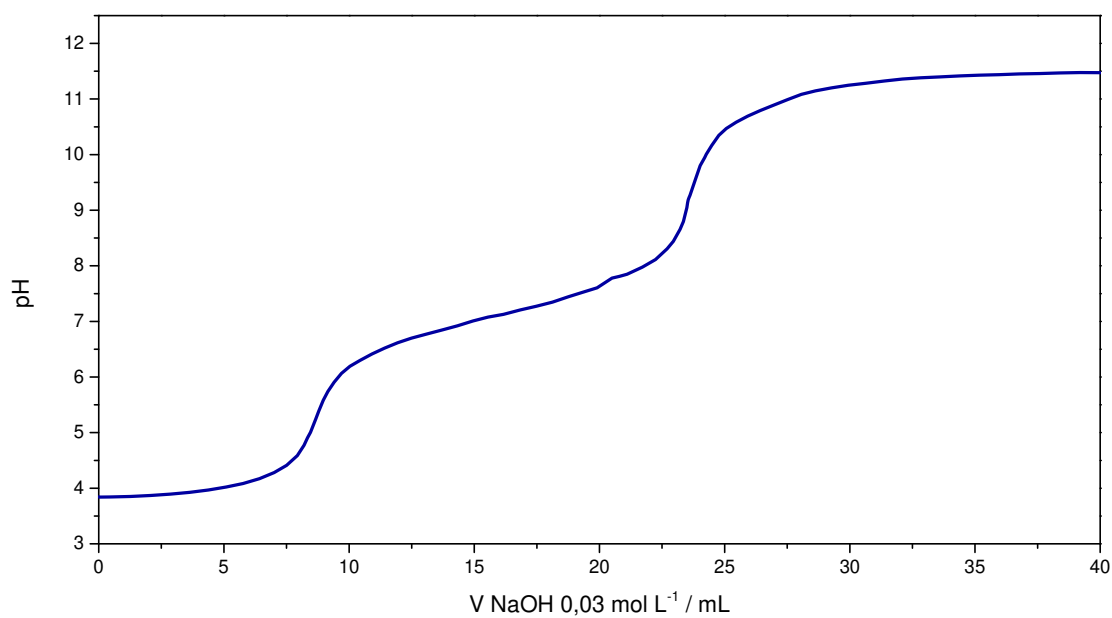


Figura 36. Curva de titulação potenciométrica do complexo Pt-NMS.

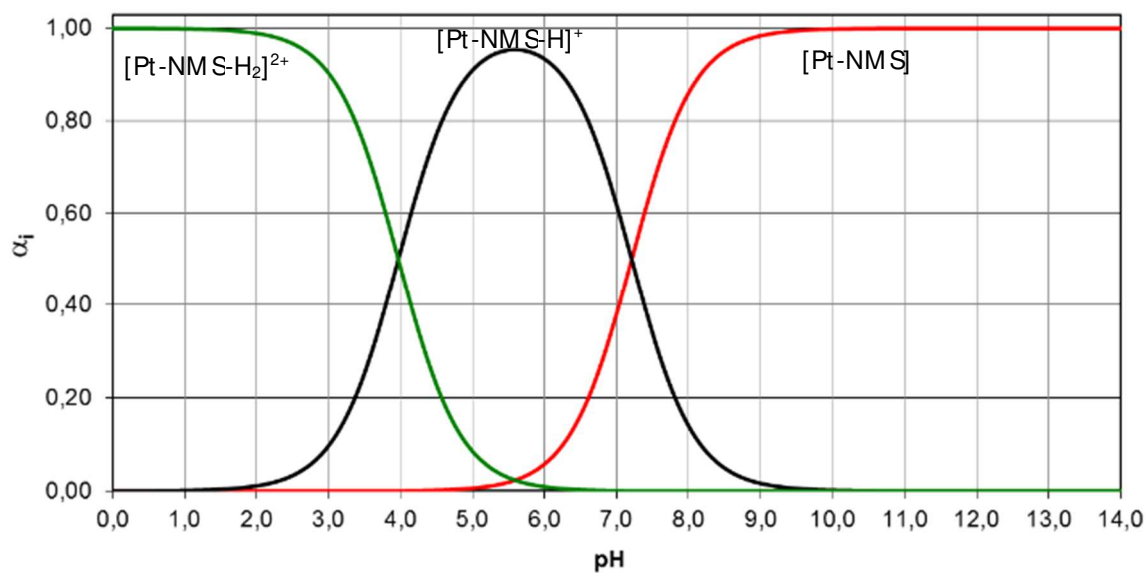


Figura 37. Diagrama de distribuição de espécies para o complexo Pt-NMS, em função do pH.

4.2.6. Cálculos por Teoria do Funcional de Densidade

A análise elementar mostra a composição 1:2 metal/ligante, enquanto a caracterização espectroscópica do complexo obtido mostra a participação do átomo de nitrogênio e de um dos átomos de oxigênio do grupo sulfonamida na coordenação da NMS à Pt(II). Entretanto, duas estruturas ainda são possíveis. Cálculos teóricos por DFT foram aplicados com o objetivo de se estabelecer, em conjunto com os dados experimentais, a estrutura mais estável do complexo.

4.2.6.1. Geometria

A investigação teórica da estrutura do complexo Pt-NMS foi realizada a partir da estrutura obtida como um mínimo de energia para a NMS. Com base nos resultados experimentais, duas estruturas ainda são possíveis, diferenciando-se pela geometria da primeira esfera de coordenação. A estrutura **A** representa um modo de coordenação N,O-*trans*. A estrutura **B** possui ligações N,N-*trans* e O,O-*trans*.

A **Figura 38** mostra as estruturas otimizadas, confirmadas como mínimos de energia potencial pelo cálculo das Hessianas, não apresentando frequências imaginárias.

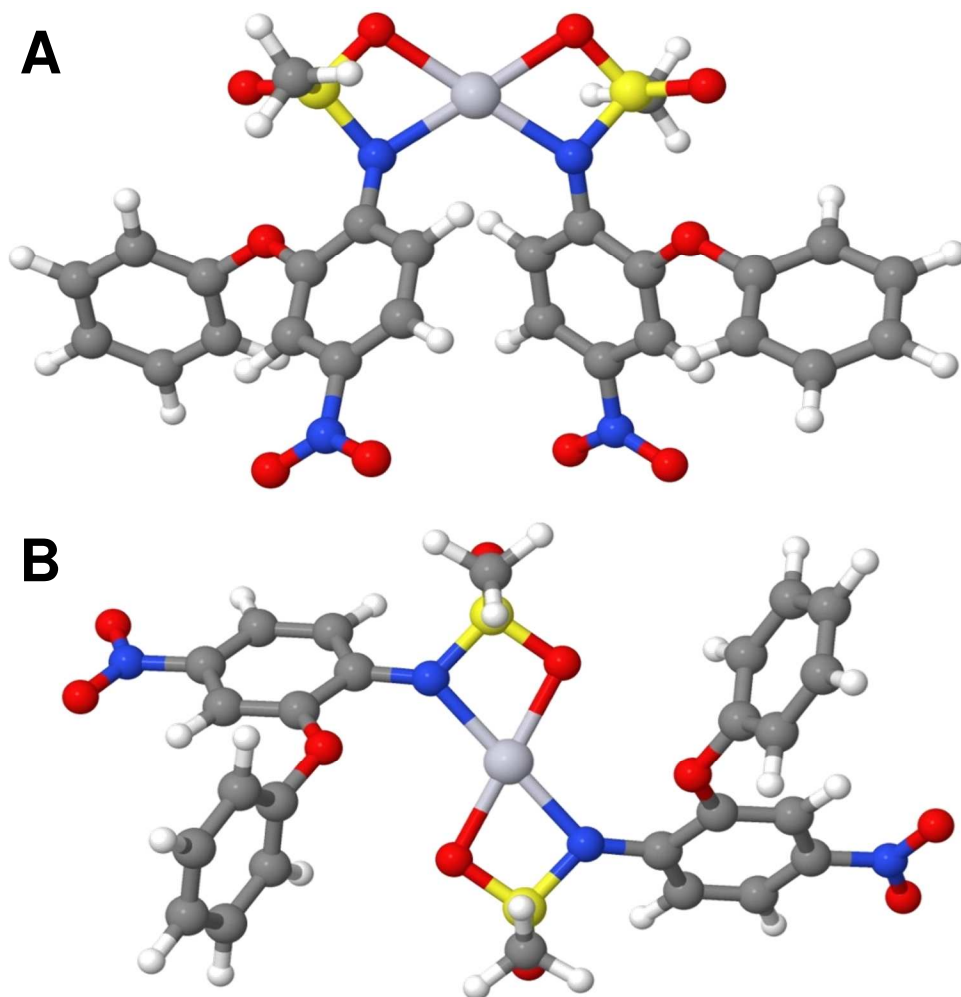


Figura 38. Geometrias otimizadas do complexo Pt-NMS utilizando B3LYP/6-31G(d,p) e LANL2DZ. Código de cores: vermelho para O, azul para N, amarelo para S, cinza escuro para C, branco para H e cinza claro para Pt.

Com relação à estabilidade, a estrutura **B** se mostrou $9,96 \text{ kJ mol}^{-1}$ mais estável do que **A**. Com relação à estrutura, as distâncias Pt-N e Pt-O são significativamente diferentes nas duas estruturas avaliadas. Em **A**, onde ambas as ligações são N,O-*trans*, as distâncias Pt-N ($2,06832 \text{ \AA}$) e Pt-O ($2,12601 \text{ \AA}$) são significativamente diferentes, enquanto na estrutura **B** a diferença entre as distâncias de ligação Pt-N ($2,09083 \text{ \AA}$) e Pt-O ($2,09633 \text{ \AA}$) é muito menos pronunciada.

4.2.6.2. Espectros vibracionais

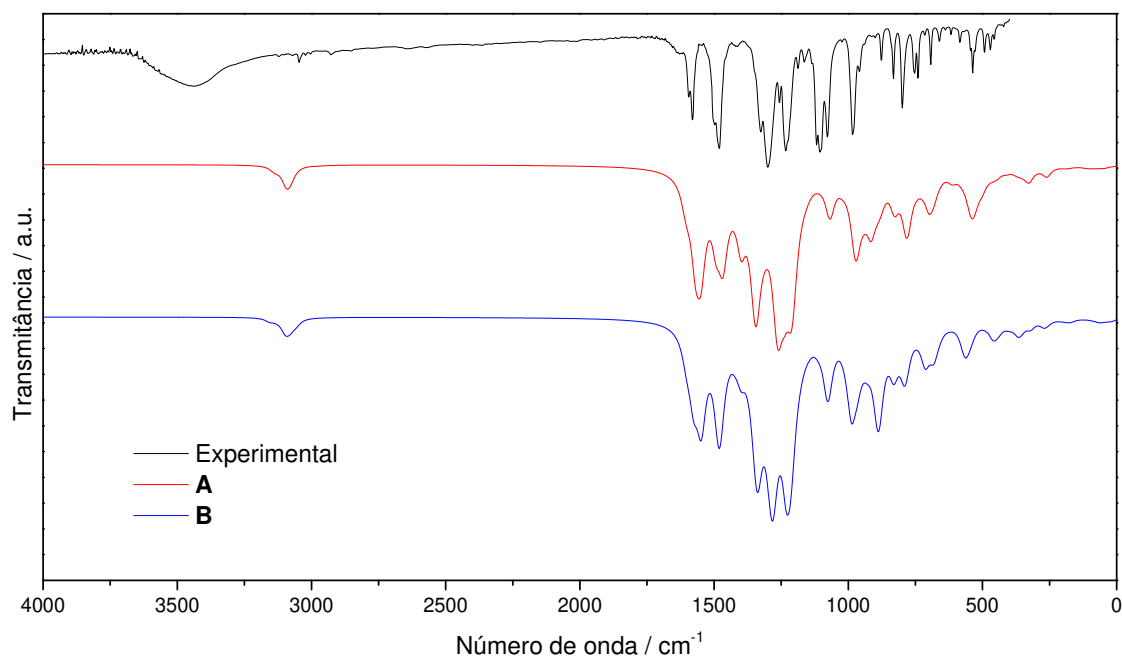


Figura 39. Espectros vibracionais no infravermelho calculado e experimental para o complexo Pt-NMS.

A **Figura 39** mostra que os espectros calculados para as duas possíveis estruturas obtidas para o complexo Pt-NMS concordam com o obtido experimentalmente. As energias calculadas para as vibrações $\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu_s(\text{O}=\text{S}=\text{O})$, $\nu(\text{C}-\text{S})$, $\nu_{as}(\text{O}=\text{N}=\text{O})$ e $\nu_s(\text{O}=\text{N}=\text{O})$ concordam com o espectro experimental, e o espectro vibracional calculado também foi útil para assegurar que todas as atribuições dos modos vibracionais feitas na seção 4.2.2 para o complexo Pt-NMS estão corretas. A absorção observada experimentalmente em 1300 cm^{-1} (calculado: 1243 e 1229 cm^{-1} , para as geometrias A e B, respectivamente) foi confirmada pelo espectro simulado como sendo referente ao modo $\nu_{as}(\text{O}=\text{S}=\text{O})$. A diminuição da energia calculada para este modo vibracional, em relação ao ligante livre, também está de acordo com o fenômeno observado experimentalmente.

4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS E BIOFÍSICOS

4.3.1. Ensaios Antibacterianos

4.3.1.1. Difusão em disco

O ensaio de difusão em disco foi utilizado como ensaio preliminar para avaliar a sensibilidade de diferentes cepas bacterianas em relação ao complexo Ag-NMS e ao ligante livre. A *Tabela 10* apresenta os resultados obtidos para ambos os compostos, bem como para o AgNO_3 e alguns antibióticos comerciais. Na *Figura 40* são apresentados os antibiogramas. O antibiograma mostra a capacidade de um composto em inibir o crescimento bacteriano. Se o crescimento bacteriano é inibido pelo composto testado, ou seja, se o composto é bacteriostático ou bactericida, ocorre o surgimento de um halo de inibição ao redor do disco contendo o composto em questão. Como controles positivos, foram utilizados os antibióticos comerciais gentamicina (GEN) e ceftriaxona (CRO).

Os resultados obtidos comprovam a sensibilidade das bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* em relação ao complexo Ag-NMS assim como ao AgNO_3 . O ligante livre, nas concentrações testadas, não apresentou nenhuma atividade antibacteriana sobre as cepas em estudo. Estes resultados confirmam a potencialidade de aplicação do complexo Ag-NMS como agente antibacteriano, por exemplo, para administração tópica sobre ferimentos e queimaduras.

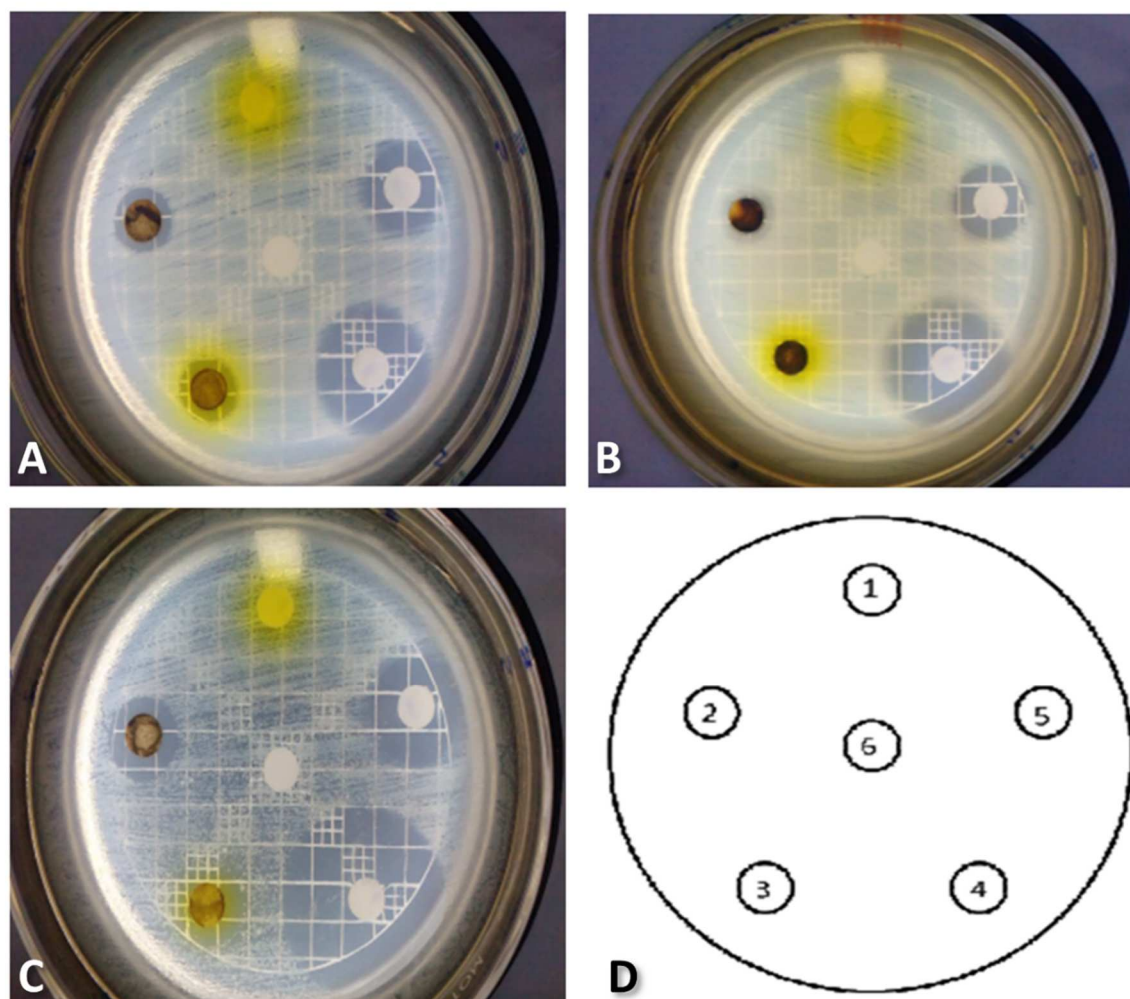


Figura 40. Sensibilidade das cepas bacterianas (A) *E. coli*, (B) *P. aeruginosa* e (C) *S. aureus*, em relação ao complexo Ag-NMS. As posições indicam 1. NMS, 2. AgNO₃, 3. Ag-NMS, 4. Ceftriaxona, 5. Gentamicina e 6. EtOH.

Tabela 10. Halos de inibição ($\pm 0,1$ mm) para os compostos testados.

Amostras	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27835	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922
1 NMS	0	0	0
2 AgNO ₃	20	25	12
3 Ag-NMS	12	18	18
4 CRO	34	>42	30
5 GEN	24	24	20
6 Etanol	0	0	0

4.3.1.2. Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

Foram comparadas as atividades antibacterianas do complexo Ag-NMS e da NMS livres com os complexos de inclusão **CE**-[(Ag-NMS)· β -CD] e **CE**-[(NMS)· β -CD]. A *Tabela 11* mostra os valores de concentração inibitória mínima obtidos para os compostos testados.

Tabela 11. Concentrações inibitórias mínimas obtidas para os compostos Ag-NMS, **CE**-[(Ag-NMS)· β -CD] e **CE**-[(NMS)· β -CD]. O cloranfenicol e a vancomicina foram utilizados como controles positivos para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente.

Amostra	Concentração inibitória mínima / $\mu\text{mol L}^{-1}$				
	Gram-negativas		Gram-positivas		
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> BEC 9393	<i>S. aureus</i> Rib1	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Ag-NMS	60,2	15,0	120	60,2	120
CE -[(Ag-NMS)· β -CD]	*	*	*	*	*
CE -[(NMS)· β -CD]	*	*	*	*	*
Cloranfenicol	155	38,7	-	-	-
Vancomicina	-	-	<6,90	<6,90	<6,90

* não apresenta atividade nas concentrações testadas

O complexo Ag-NMS apresentou valores de MIC significativos, na faixa de 15,0-120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e se mostrou mais ativo sobre cepas Gram-negativas. Por outro lado, apesar de ser mais solúvel em água, o complexo de inclusão **CE**-[(Ag-NMS)· β -CD] não apresentou atividade antibacteriana nas concentrações testadas. Conforme demonstrado pelo teste de difusão em disco, a NMS livre não apresenta atividade antibacteriana. Desta maneira, era esperado que o complexo de inclusão **CE**-[(NMS)· β -CD] também não apresentasse atividade antibacteriana.

4.3.2. Ensaio Antitumorais

4.3.2.1. Complexo Ag-NMS

A citotoxicidade do complexo Ag-NMS foi avaliada pela redução de MTT, sobre linhagens celulares normais (Balb/c 3T3) e tumorais (SK-Mel-103 e Panc-1). Os resultados obtidos são apresentados na *Figura 41*. O complexo Ag-

NMS foi citotóxico sobre células normais e sobre células tumorais. Os valores de IC_{50} obtidos foram de $73 \pm 4 \mu\text{mol L}^{-1}$, $79 \pm 2 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $79 \pm 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre Balb/c 3T3, SK-Mel-103 e Panc-1 respectivamente. Os valores de IC_{50} obtidos mostram que o complexo Ag-NMS não apresenta seletividade para células saudáveis ou tumorais. A NMS também foi testada, e os valores de IC_{50} obtidos para SK-Mel 103 e Panc-1 foram de $183 \pm 8 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $242 \pm 18 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Para as células testadas, a cisplatina apresentou valores de IC_{50} na faixa $7,5\text{-}20 \mu\text{mol L}^{-1}$.

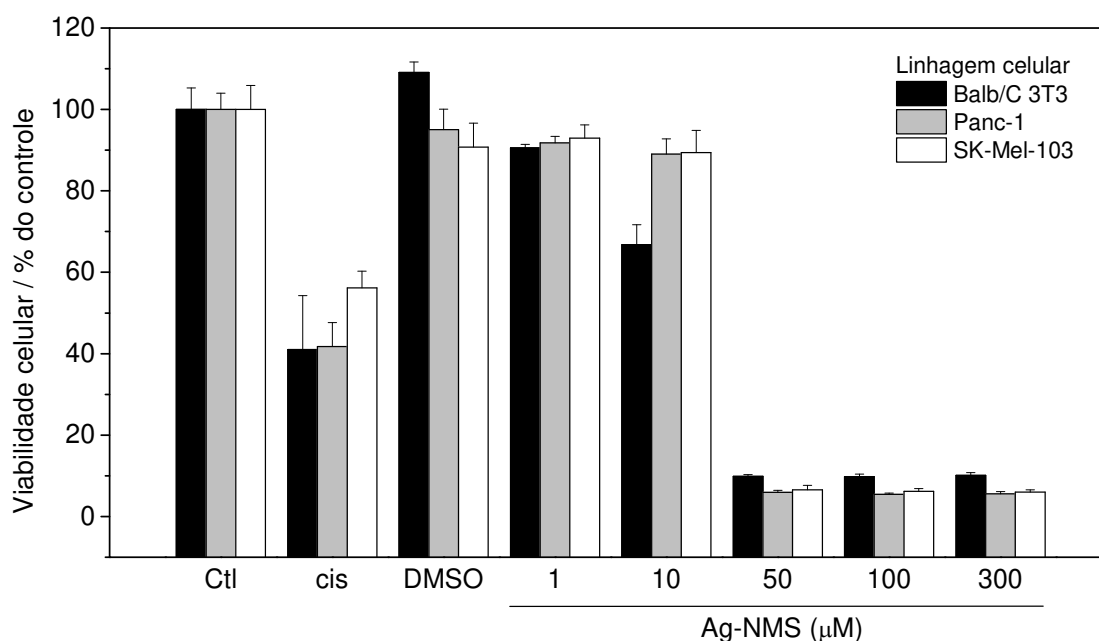


Figura 41. Avaliação da citotoxicidade do complexo Ag-NMS. Os resultados são apresentados com relação às células não tratadas, tomadas como 100%. Média e desvio padrão obtidos de quatro experimentos independentes.

4.3.2.2. Complexo Pt-NMS

A citotoxicidade do complexo Pt-NMS foi avaliada pelo ensaio de redução de MTT, frente às linhagens celulares Balb/c 3T3, SK-Mel-103 e Panc-1. Os resultados obtidos são mostrados na **Figura 42**.

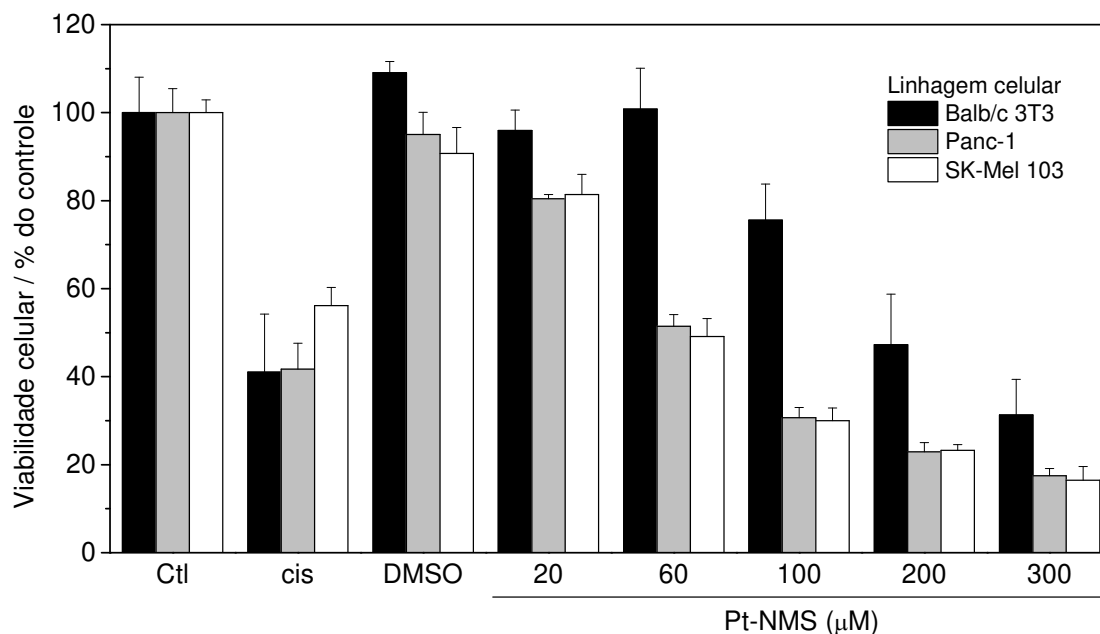


Figura 42. Avaliação da citotoxicidade do complexo Pt-NMS. Os resultados são apresentados com relação às células não tratadas, tomadas como 100%. Os valores representam a média e o desvio padrão resultantes de quatro experimentos independentes.

Conforme observado nos resultados apresentados na **Figura 42**, o complexo Pt-NMS foi citotóxico sobre células normais (Balb/c 3T3) e sobre células tumorais (SK-Mel-103 e Panc-1). Entretanto, o complexo apresenta uma ação seletiva às células tumorais, apresentando valores de IC_{50} de $199 \pm 22 \mu\text{mol L}^{-1}$, $63 \pm 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $60 \pm 6 \mu\text{mol L}^{-1}$ para as linhagens celulares Balb/c 3T3, SK-Mel 103 e Panc-1 respectivamente. A cisplatina, usada como controle positivo, apresenta IC_{50} na faixa de $7,5\text{-}20 \mu\text{mol L}^{-1}$, nas condições testadas.

Lihua⁷⁸ mostrou que a administração de NMS em conjunto com cisplatina tem efeitos sinérgicos na inibição do crescimento de células A549 (carcinoma pulmonar). Em uma concentração de $4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, a cisplatina apresentou uma inibição de 22% do crescimento desta linhagem celular. Nesta mesma concentração, mas em combinação com NMS ($25 \mu\text{mol L}^{-1}$), a cisplatina inibe

33% do crescimento celular. Esta observação foi atribuída às atividade antioxidante e de *scavenging* da nimesulida.

4.3.3. Ensaio Biofísicos

4.3.3.1. Intercalação competitiva com brometo de etídio

Um composto pode interagir com o DNA por meio de ligação covalente, interação eletrostática ou intercalação. Para que um intercalador se posicione entre os pares de bases nitrogenadas, o DNA passa por um processo dinâmico de desenrolamento. O cátion etídio provoca uma torção de 26° na estrutura do DNA.⁷⁹ Como resultado final, a intercalação provoca mudanças estruturais, como alongamento da dupla hélice e torção dos pares de base. Tais mudanças podem resultar em inibição da transcrição, replicação e reparo do DNA, processos que estão associados à morte celular.

O brometo de etídio é uma agente intercalador utilizado como marcador fluorescente para cadeias de ácidos nucleicos. Sua emissão é aumentada em cerca de 20 vezes quando intercalado ao DNA. Verificou-se que, na realidade, quando o cátion etídio encontra-se livre em solução, as moléculas do solvente provocam uma supressão do estado excitado singleto.⁸⁰ Ao se deslocar para o ambiente hidrofóbico na região entre os pares de bases nitrogenadas do DNA, afastando-se das moléculas do solvente, o cátion etídio tem sua fluorescência aumentada. Devido a esta intensificação de fluorescência ao ser intercalado ao DNA, o brometo de etídio pode ser utilizado num experimento de intercalação competitiva, para avaliar a capacidade de intercalação de um composto de interesse. A **Figura 43** mostra a estrutura do brometo de etídio, bem como um exemplo de composto de intercalação formado.

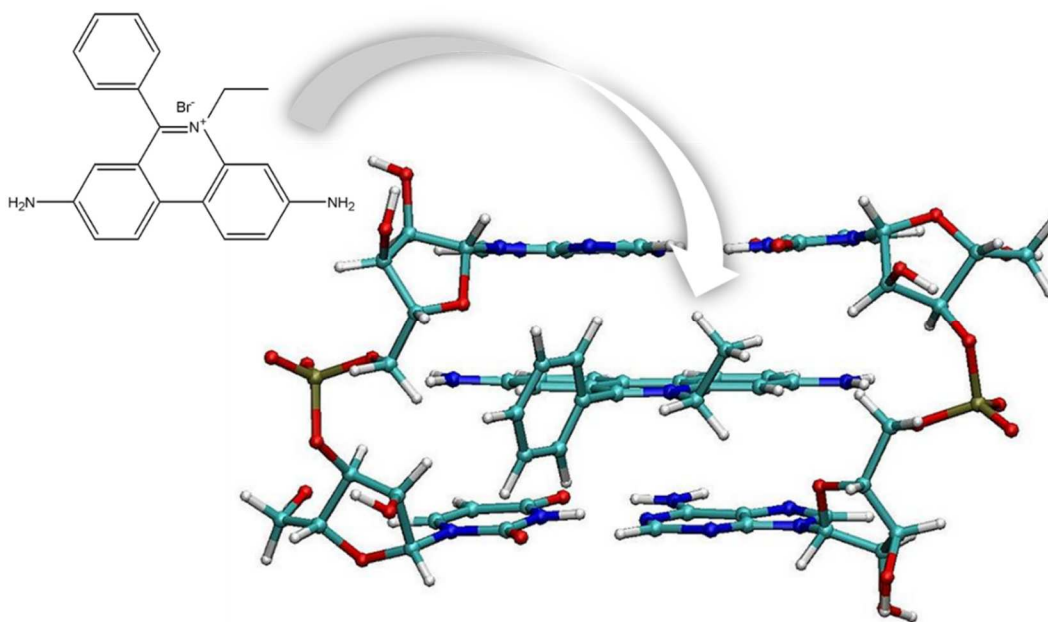


Figura 43. Estrutura do brometo de etídio e modo de intercalação entre dois pares Adenina-Timina.

A Figura mostra a variação da intensidade de fluorescência em 600 nm em função da razão molar de EtBr.

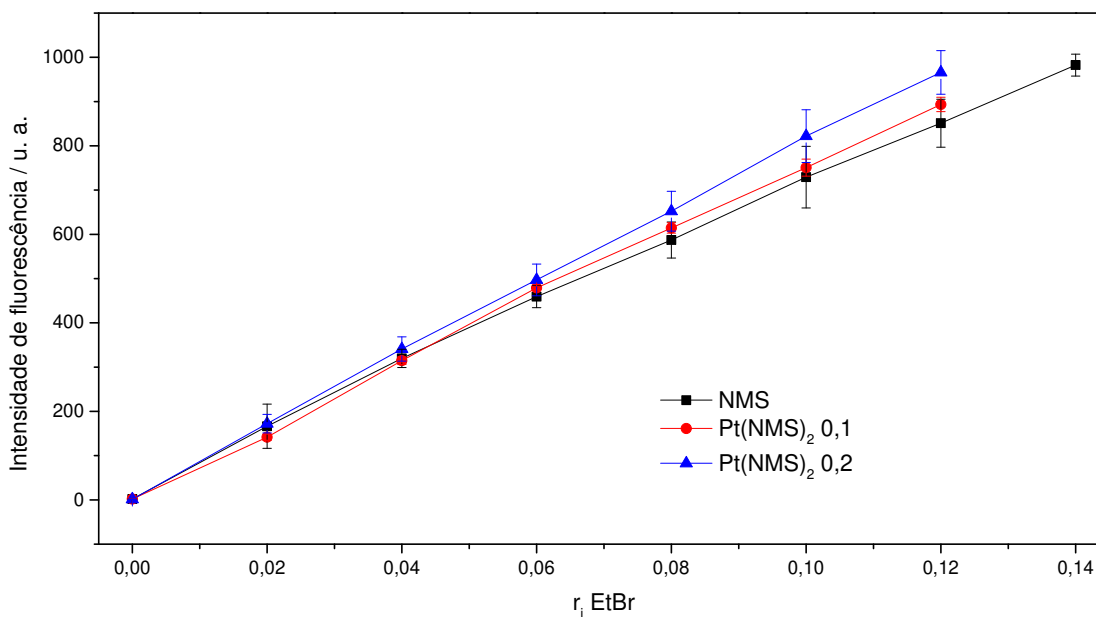


Figura 44. Intensidade de fluorescência em função da razão molar de EtBr para os diferentes compostos testados.

Tanto a NMS quanto o complexo Pt-NMS não apresentam fluorescência na região de emissão monitorada para o EtBr. Desta maneira, caso os compostos tivessem capacidade de intercalação ao DNA, uma diminuição na intensidade de fluorescência do EtBr seria esperada. É possível observar na **Figura 44** que a intensidade de fluorescência segue uma tendência linear, tanto para o ligante quanto para o complexo Pt-NMS em duas razões molares. Esta é uma evidência de que a intercalação não é o mecanismo de ação de tais compostos.

4.3.3.2. *Dicroísmo circular*

A espectroscopia de dicroísmo circular é uma técnica que mede a diferença de absorção entre a luz polarizada circularmente em sentido horário e anti-horário. Desta maneira, o DC é capaz de fornecer informações a respeito de estruturas secundárias e terciárias de macromoléculas. No caso do DNA, o DC é capaz de monitorar polimorfismo conformacional. Por meio dele, é fácil distinguir entre as formas A, B, Z (**Figura 45**) e outras estruturas terciárias resultantes da interação de diferentes compostos com o DNA.

A **Figura 46** mostra os espectros de DC obtidos pela titulação de CT-DNA com quantidades crescentes de NMS e de Pt-NMS. O CT-DNA apresenta o perfil típico do DNA em sua forma B,⁸¹ uma estrutura do tipo dupla hélice dextrogira. É possível perceber que a adição de NMS ou de Pt-NMS ao CT-DNA não provoca qualquer tipo de modificação estrutural. Somado ao resultado do ensaio de intercalação competitiva com brometo de etídio, o dicroísmo circular também mostra que o DNA não é um alvo para o complexo Pt-NMS.

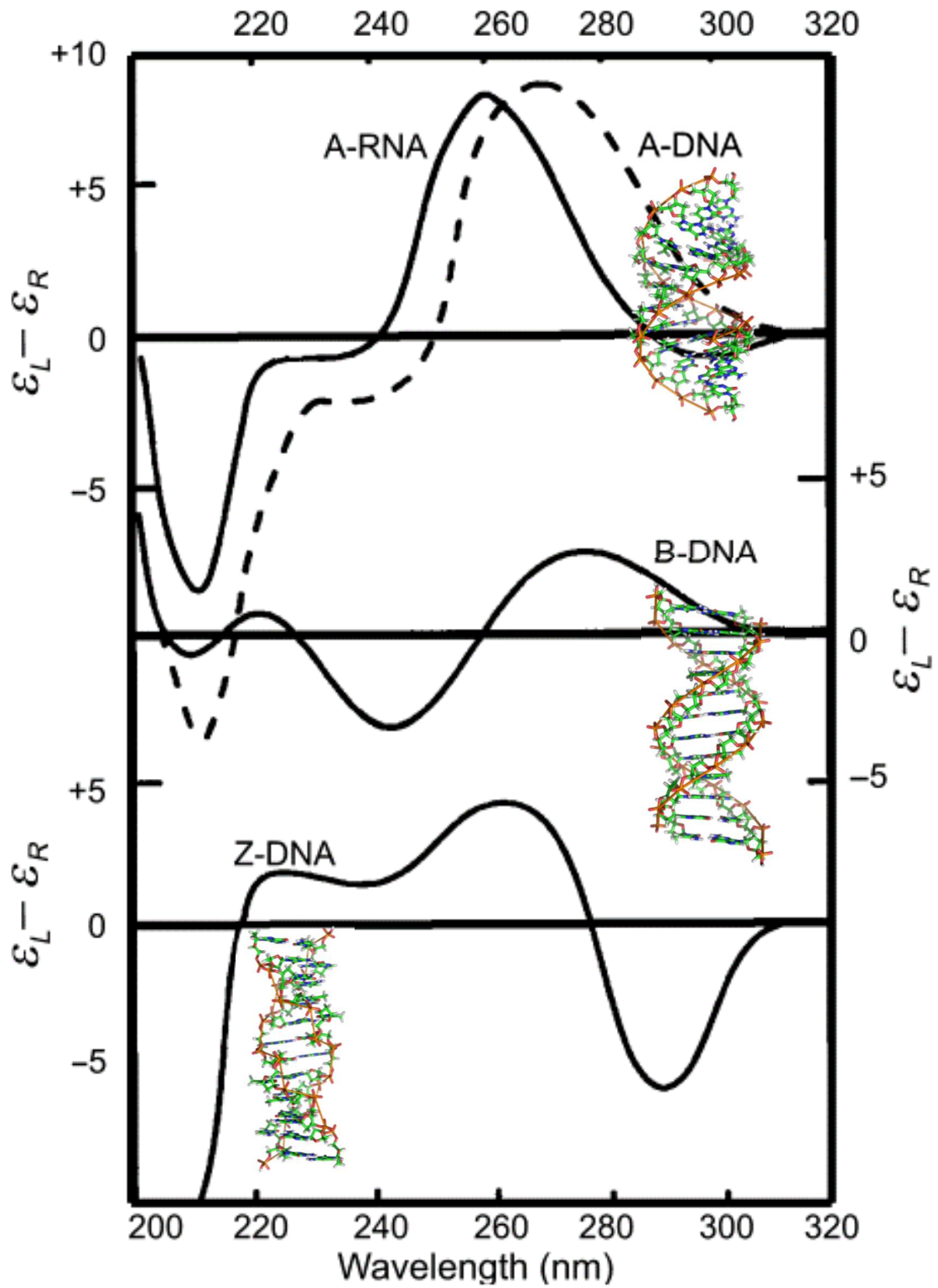


Figura 45. Perfis dos espectros de dicroísmo circular para o DNA em suas formas A, B e Z.⁸²

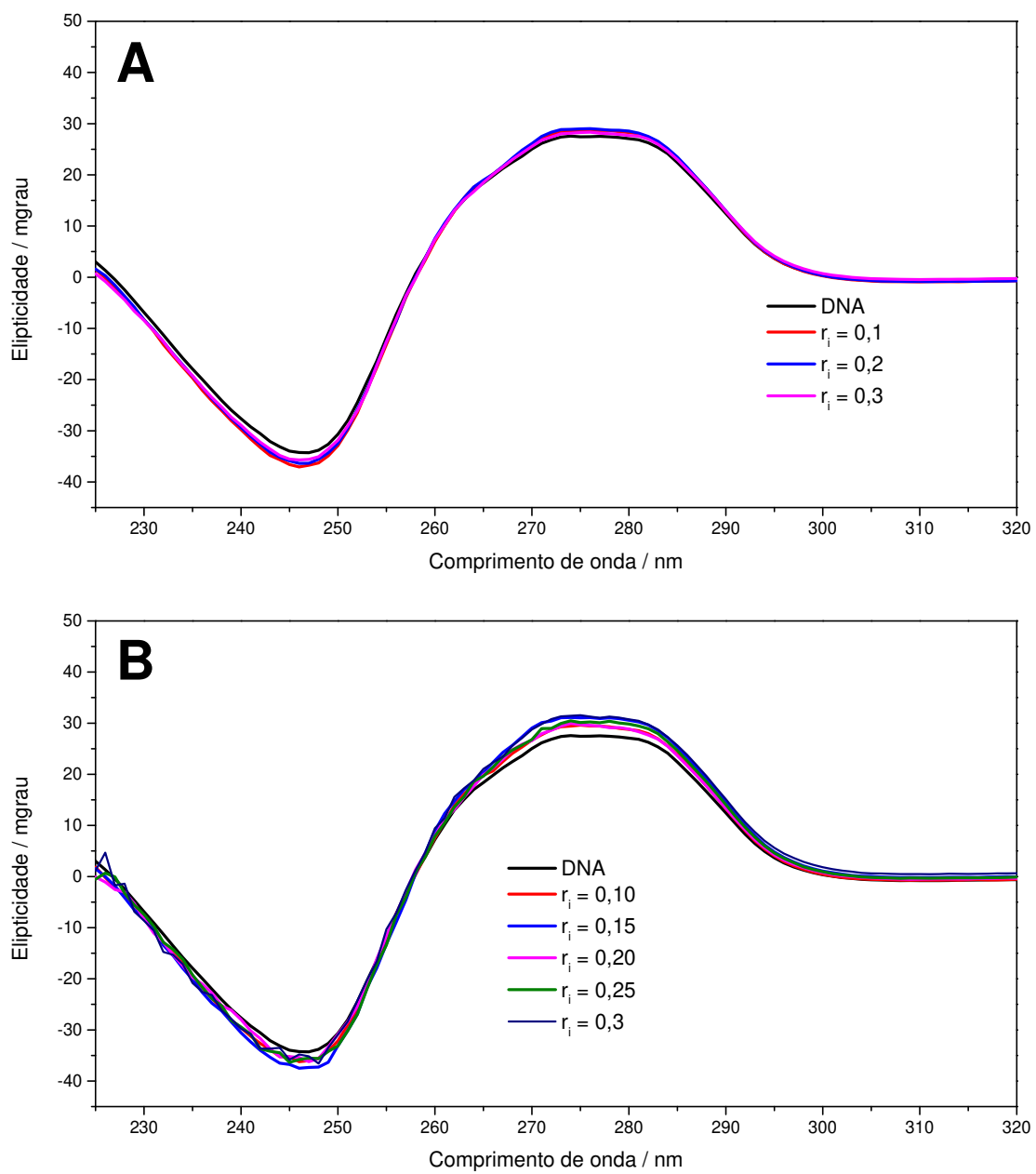
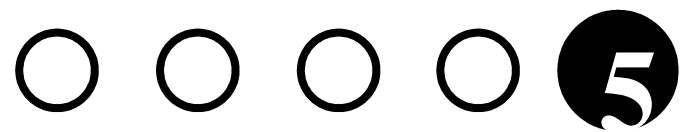


Figura 46. Titulação de CT-DTA com (A) NMS e (B) Pt-NMS acompanhada por DC.



Conclusões

5.1. COMPLEXO Ag-NMS

O complexo Ag-NMS foi sintetizado e analisado por um amplo conjunto de análises químicas, espectroscópicas e biológicas. As análises químicas permitiram propor para este complexo a seguinte composição: $\text{Ag}(\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{S})$. Os estudos por espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{15}N permitiram propor a estrutura apresentada na **Figura 20**. A DFT se mostrou uma técnica útil na análise da estrutura do complexo Ag-NMS. Em particular, a comparação dos espectros no IV calculados fornece uma evidência teórica para a estrutura proposta com base nos resultados experimentais, onde o grupo sulfonamida da NMS se coordena de maneira bidentada à Ag(I).

O complexo Ag-NMS apresentou atividade antibacteriana significativa, particularmente contra cepas Gram-negativas ($60,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ para *P. aeruginosa* e $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para *E. coli*). Apesar de ser solúvel em solventes como EtOH, MeOH e DMSO, o complexo Ag-NMS apresenta baixa solubilidade em água. Desta maneira, utilizou-se uma estratégia preliminar para aumentar a solubilidade do complexo: a inclusão em β -ciclodextrina. A inclusão foi eficiente em relação ao objetivo de melhoria na solubilidade em água, o que garante uma maior variedade de aplicações possíveis em sistemas biológicos. No entanto, não se observou atividade antibacteriana do complexo de inclusão **CE**-[(Ag-NMS)· β -CD] nas concentrações testadas.

A atividade antitumoral do complexo Ag-NMS não foi seletiva frente a células saudáveis ou tumorais, com valores de IC_{50} na faixa de $73\text{-}79 \mu\text{mol L}^{-1}$ para as células SK-Mel-103, Panc-1 e Balb/c 3T3.

Uma aplicação possível para o complexo Ag-NMS seria como medicamento tópico para tratamento de infecções em feridas e queimaduras.

5.2. COMPLEXO Pt-NMS

Um novo complexo de Pt(II) com nimesulida foi sintetizado, apresentando uma proporção metal ligante de 1:2. A análise elementar confirmou a composição $\text{PtC}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}_2$.

Os estudos por espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e HMBC [^1H - ^{15}N] confirmam a coordenação através do nitrogênio da sulfonamida, bem como indicam a participação de um dos oxigênios do grupo sulfonamida na coordenação.

Com base nos resultados experimentais, duas estruturas ainda são possíveis, diferenciando-se pela geometria da primeira esfera de coordenação. A estrutura ilustrada na **Figura 38A** representa um modo de coordenação N,O-*trans*. A estrutura **Figura 38B** possui geometria N,N-*trans* e O,O-*trans*. Uma vez obtidas as estruturas otimizadas, a estrutura **B** se mostrou cerca de 10 kJ mol⁻¹ mais estável do que **A**.

Por fim, a citotoxicidade do complexo Pt-NMS foi avaliada através do método de redução de MTT. O complexo se mostrou citotóxico sobre células normais (Balb/c 3T3) e sobre células tumorais (SK-Mel 103 e Panc-1), porém foi significativamente mais citotóxico sobre as linhagens tumorais. Os ensaios biofísicos de intercalação competitiva com EtBr e avaliação da estrutura do DNA de timo de bezerro por dicroísmo circular indicam que o DNA não é um alvo biológico para o complexo Pt-NMS, o que indica que, possivelmente, ele apresenta um mecanismo de ação diferente da cisplatina. A ação seletiva torna o complexo Pt-NMS um promissor agente antitumoral.

Referências Bibliográficas

- (1) Bertini, I. *Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity*; University Science Books, 2007.
- (2) Bertrand, G. In *Proc. Int. Congr. Appl. Chem.*; New York, 1912; Vol. 28, pp. 30–49.
- (3) Siegel, R.; Naishadham, D.; Jemal, A. *CA: Cancer J. Clin.* **2013**, *63*, 11–30.
- (4) National Institute of Cancer. What Is Cancer? **2013**, <http://www.cancer.gov/cancertopics/cancerlibrary/what-is-cancer>.
- (5) Rosenberg, B. *Platinum Complexes for the Treatment of Cancer: Why the Search Goes On*; Verlag Helvetica Chimica Acta, 2006; pp. 1–27.
- (6) Eastman, A. *Biochemistry* **1983**, *22*, 3927–3933.
- (7) Ohndorf, U. M.; Rould, M. A.; He, Q.; Pabo, C. O.; Lippard, S. J. *Nature* **1999**, *399*, 708–712.
- (8) Flitsch, W.; Krämer, U. *Justus Liebigs Ann. der Chem.* **1970**, *735*, 35–46.
- (9) Greenwood, N. N.; Earnshaw, D. *Chemistry of the Elements*; Elsevier, 1997.
- (10) Clarke, M. J.; Sadler, P. J.; Sava, G.; Alessio, E.; Bergamo, A.; Mestroni, G. In *Topics in Biological Inorganic Chemistry*; Springer Berlin Heidelberg, 1999; Vol. 1, pp. 143–169.
- (11) Chitambar, C. R.; Antholine, W. E. *Antioxidants Redox Signal.* **2013**, *18*, 956–972.
- (12) Shen, A.-Y.; Wu, S.-N.; Chiu, C.-T. *J. Pharm. Pharmacol.* **1999**, *51*, 543–548.
- (13) Ruíz-Azuara, L. Process to obtain new mixed copper aminoactidate complexes from phenylate phenathrolines to be used as anticancerigenic

- agents, United States Patent 5107005, **1997**.
- (14) Galindo-Murillo, R.; Hernandez-Lima, J.; González-Rendón, M.; Cortés-Guzmán, F.; Ruíz-Azuara, L.; Moreno-Esparza, R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 14510–14515.
- (15) Carvallo-Chaigneau, F.; Trejo-Solís, C.; Gómez-Ruiz, C.; Rodríguez-Aguilera, E.; Macías-Rosales, L.; Cortés-Barberena, E.; Cedillo-Peláez, C.; Gracia-Mora, I.; Ruiz-Azuara, L.; Madrid-Marina, V.; Constantino-Casas, F. *BioMetals* **2008**, *21*, 17–28.
- (16) Berners-Price, S. J.; Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Mattern, M. R.; McCabe, F. L.; Faucette, L. F.; Sung, C. M.; Mong, S. M.; Sadler, P. J.; Crooke, S. T. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5486–5493.
- (17) Abbehausen, C.; Peterson, E. J.; Paiva, R. E. F. de; Corbi, P. P.; Formiga, A. L. B.; Qu, Y.; Farrell, N. P. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 11280–11287.
- (18) Higby, G. J. *Gold Bull.* **1982**, *15*, 130–140.
- (19) Bailey, K. C. *The Elder Pliny's Chapters on Chemical Subjects*; E. Arnold & Company: London, 1929; Vol. 1.
- (20) Koch, R. In *X. Internationalen Medicinischen Congresses*; Berlin, 1890.
- (21) Forestier, J. *Bull. Soc. Med. Hop. Paris* **1929**, *53*, 323–237.
- (22) Block, S. S. *Disinfection, Sterilization, and Preservation*; Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- (23) Hill, W. R.; Pillsbury, D. M. *Argyria: The Pharmacology of Silver*; Williams & Wilkins Company, 1939.
- (24) Alexander, J. W. *Surg. Infect.* **2009**, *10*, 289–292.
- (25) Klasen, H. J. *Burns* **2000**, *26*, 117–130.
- (26) Marion Sims, J. *The story of my life*; D. Appleton and Company: New York, 1885.
- (27) Schneider, G. *Can. Med. Assoc. J.* **1984**, *131*, 193–196.

- (28) McKenna, M. When antibiotics stop working, here's what else we'll lose **2013**, <http://www.wired.co.uk/news/archive/2013-11/21/antibiotics>
Acessado em 01/12/13.
- (29) McKenna, M. Imagining the Post-Antibiotics Future **2013**,
<https://medium.com/p/892b57499e77>. Acessado em 01/12/13.
- (30) Wright, G. D.; Sutherland, A. D. *Trends Mol. Med.* **2007**, *13*, 260–267.
- (31) Tan, Y.-T.; Tillett, D. J.; McKay, I. A. *Mol. Med. Today* **2000**, *6*, 309–314.
- (32) Thurman, R. B.; Gerba, C. P.; Bitton, G. *Crit. Rev. Environ. Control.* **1989**, *18*, 295–315.
- (33) Cotton, S. A. *Chemistry of Precious Metals*; Springer Netherlands, 1997.
- (34) Texter, J.; Hastreiter, J. J.; Hall, J. L. *J. Phys. Chem.* **1983**, *87*, 4690–4693.
- (35) Persson, I.; Nilsson, K. B. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 7428–7434.
- (36) Zoldak, G.; Stigler, J.; Pelz, B.; Li, H.; Rief, M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, *110*, 18156–18161.
- (37) Berners-Price, S. J.; Collier, D. C.; Mazid, M. A.; Sadler, P. J.; Sue, R. E.; Wilkie, D. *Met. Drugs* **1995**, *2*, 111–122.
- (38) *The First Miracle Drugs: How the Sulfa Drugs Transformed Medicine*
How the Sulfa Drugs Transformed Medicine; Lesch, J. E., Ed.; Oxford University Press, USA, 2006.
- (39) Rainsford, K. D. *Nimesulide - Actions and Uses*; Birküser Verlag Basel/Switzerland, 2005.
- (40) Dreiser, R. L.; Riebenfeld, D. *Drugs* **1993**, *46*, 191–195.
- (41) Silva, N. A. da; Marczyk, L. R. S. *Acta Ortopédica Bras.* **2001**, *9*.
- (42) Pelletier, J. P.; Martel-Pelletier, J. *Drugs* **1993**, *46 Suppl 1*, 34–39.
- (43) Facino, R. M.; Carini, M.; Aldini, G. *Drugs* **1993**, *46 Suppl 1*, 15–21.

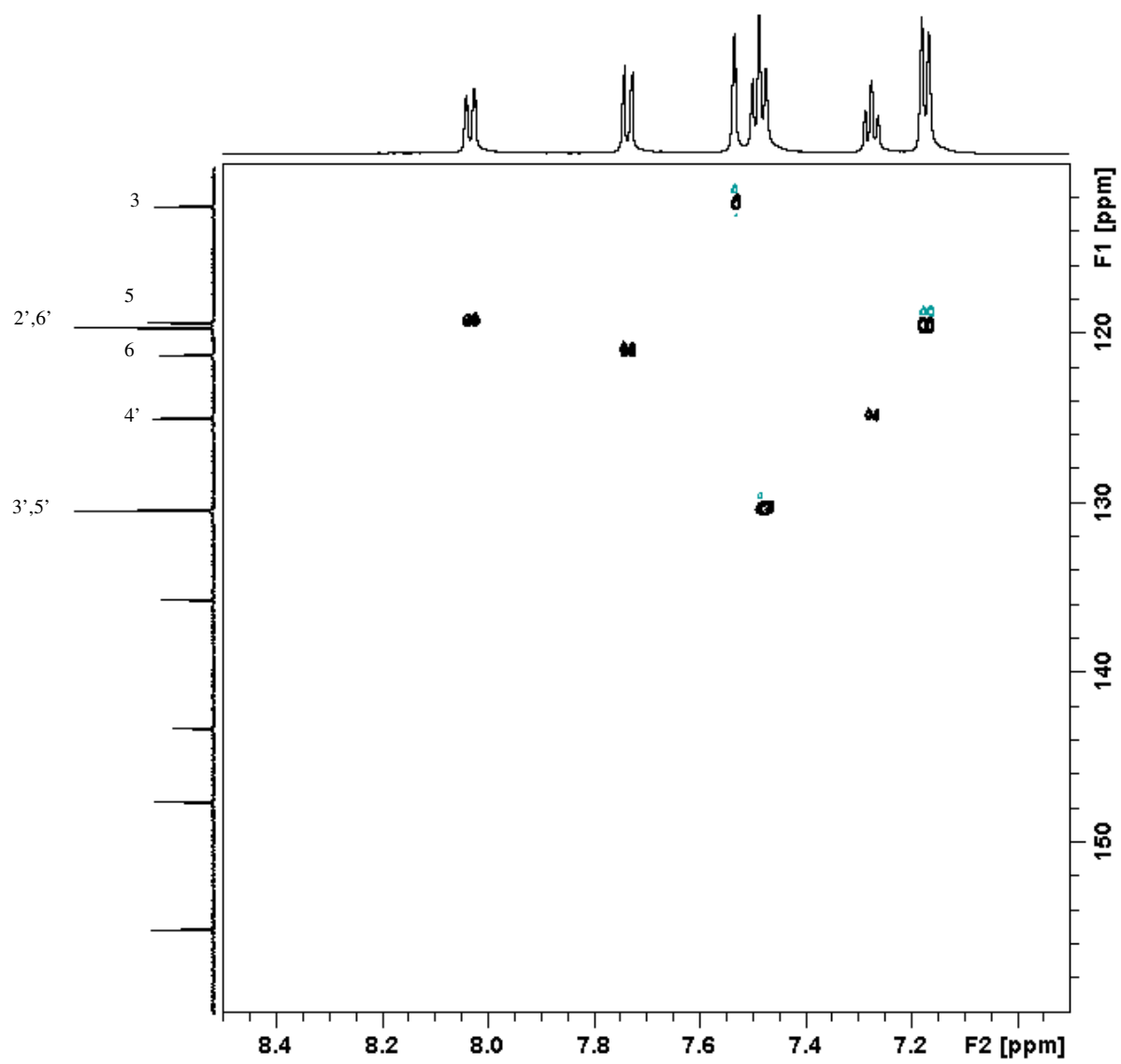
- (44) Bennett, A.; Zebro, T.; Tacca, M. D.; Stamford, I. F. *Br. J. Cancer* **1977**, 35.
- (45) Fox, C. L. *Arch. Surg.* **1968**, 96, 184–188.
- (46) Farrer, N. J.; Sadler, P. J. In *Bioinorganic Medicinal Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011; pp. 1–47.
- (47) Bult, A.; Klasen, H. B. *J. Pharm. Sci.* **1978**, 67, 284–287.
- (48) Sandmann, B. J.; Nesbitt, R. U.; Sandmann, R. A. *J. Pharm. Sci.* **1974**, 63, 948–951.
- (49) Evans, C.; Henderson, W.; Nicholson, B. K. *Inorganica Chim. Acta* **2001**, 314, 42–48.
- (50) Becker, J. J.; White, P. S.; Gagné, M. R. *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 798–801.
- (51) Mansour, A. M. *Inorganica Chim. Acta* **2013**, 394, 436–445.
- (52) Pasini, A.; Bersanetti, E.; Zunino, F.; Savi, G. *Inorganica Chim. Acta* **1983**, 80, 99–102.
- (53) Gutz, I. G. R. <http://www2.iq.usp.br/docente/gutz/Curtipot.html>. Acessado em 01/02/2013.
- (54) Schmidt, M. W.; Baldrige, K. K.; Boatz, J. A.; Elbert, S. T.; Gordon, M. S.; Jensen, J. H.; Koseki, S.; Matsunaga, N.; Nguyen, K. A.; Su, S.; Windus, T. L.; Dupuis, M.; Montgomery, J. A. *J. Comput. Chem.* **1993**, 14, 1347–1363.
- (55) Hay, P. J.; Wadt, W. R. *J. Chem. Phys.* **1985**, 82, 299–311.
- (56) Ditchfield, R.; Hehre, W. J.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1971**, 54, 724–729.
- (57) Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1972**, 56, 2257–2262.
- (58) Francl, M. M.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. S.;

- DeFrees, D. J.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1982**, *77*, 3654–3666.
- (59) Hariharan, P. C.; Pople, J. A. *Theor. Chim. Acta* **1973**, *28*, 213–222.
- (60) Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
- (61) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785–789.
- (62) Scott, A. P.; Radom, L. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 16502–16513.
- (63) Schaftenaar, G.; Noordik, J. H. *J. Comput. Mol. Des.* **2000**, *14*, 123–134.
- (64) Miertuš, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J. *Chem. Phys.* **1981**, *55*, 117–129.
- (65) Wikler, M. A. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007.
- (66) Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C.; Turck, M. *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, *45*, 493–496.
- (67) Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
- (68) Chargaff, E.; Lipshitz, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 3658–3661.
- (69) Willis, J. B.; Cymerman-Craig, J.; Baxter, J. N. *J. Chem. Soc.* **1955**, 669–679.
- (70) Goldstein, M.; Russell, M. A.; Willis, H. A. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Spectrosc.* **1969**, *25*, 1275–1285.
- (71) Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*; John Wiley & Sons, Inc, 2008.
- (72) Singh, A.; Singh, P.; Kapoor, V. K. In *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*; Elsevier, 2001; Vol. 28, pp. 197–249.
- (73) Dupont, L.; Pirotte, B.; Masereel, B.; Delarge, J.; Geczy, J. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1995**, *51*, 507–509.
- (74) Scatchard, G. *Ann. New York Acad. Sci.* **1949**, *51*, 660–672.
- (75) Chen, M.; Diao, G.; Zhang, E. *Chemosphere* **2006**, *63*, 522–529.
- (76) Buvári, A.; Barcza, L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1988**, 543–545.
- (77) Greatbanks, D.; Pickford, R. *Magn. Reson. Chem.* **1987**, *25*, 208–215.

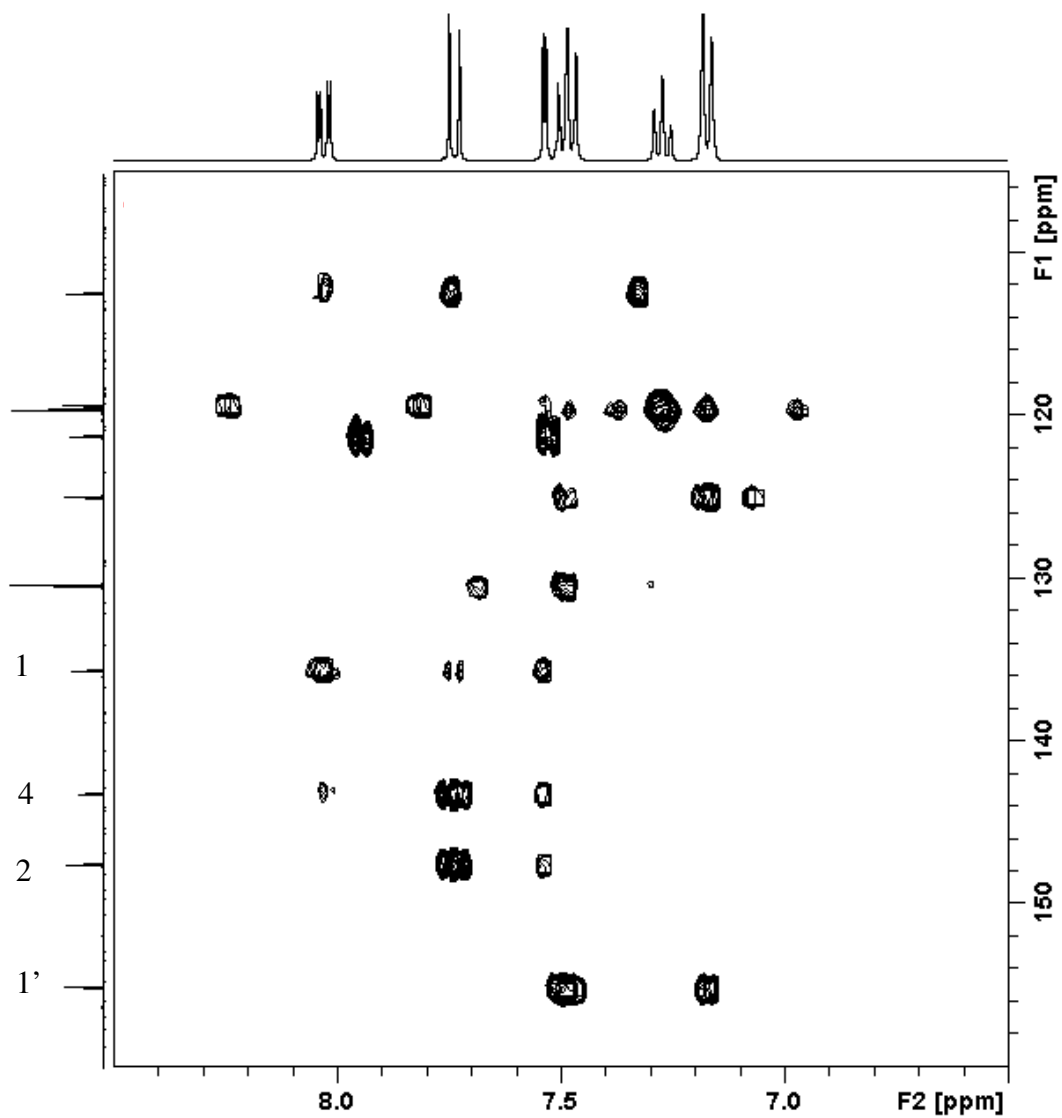
- (78) Lihua, X.; Zhenxiang, Z.; Yongjian, X.; Huilan, Z.; Jianbo, L. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. -- Med. Sci.* -- **2004**, *24*, 120–123.
- (79) Saucier, J. M.; Festy, B.; Le Pecq, J.-B. *Biochimie* **1971**, *53*, 973–980.
- (80) Olmsted, J.; Kearns, D. R. *Biochemistry* **1977**, *16*, 3647–3654.
- (81) Sprecher, C. A.; Baase, W. A.; Johnson, W. C. *Biopolymers* **1979**, *18*, 1009–1019.
- (82) Ranjbar, B.; Gill, P. *Chem. Biol. & Drug Des.* **2009**, *74*, 101–120.

APÊNDICES

APÊNDICE A – NMS

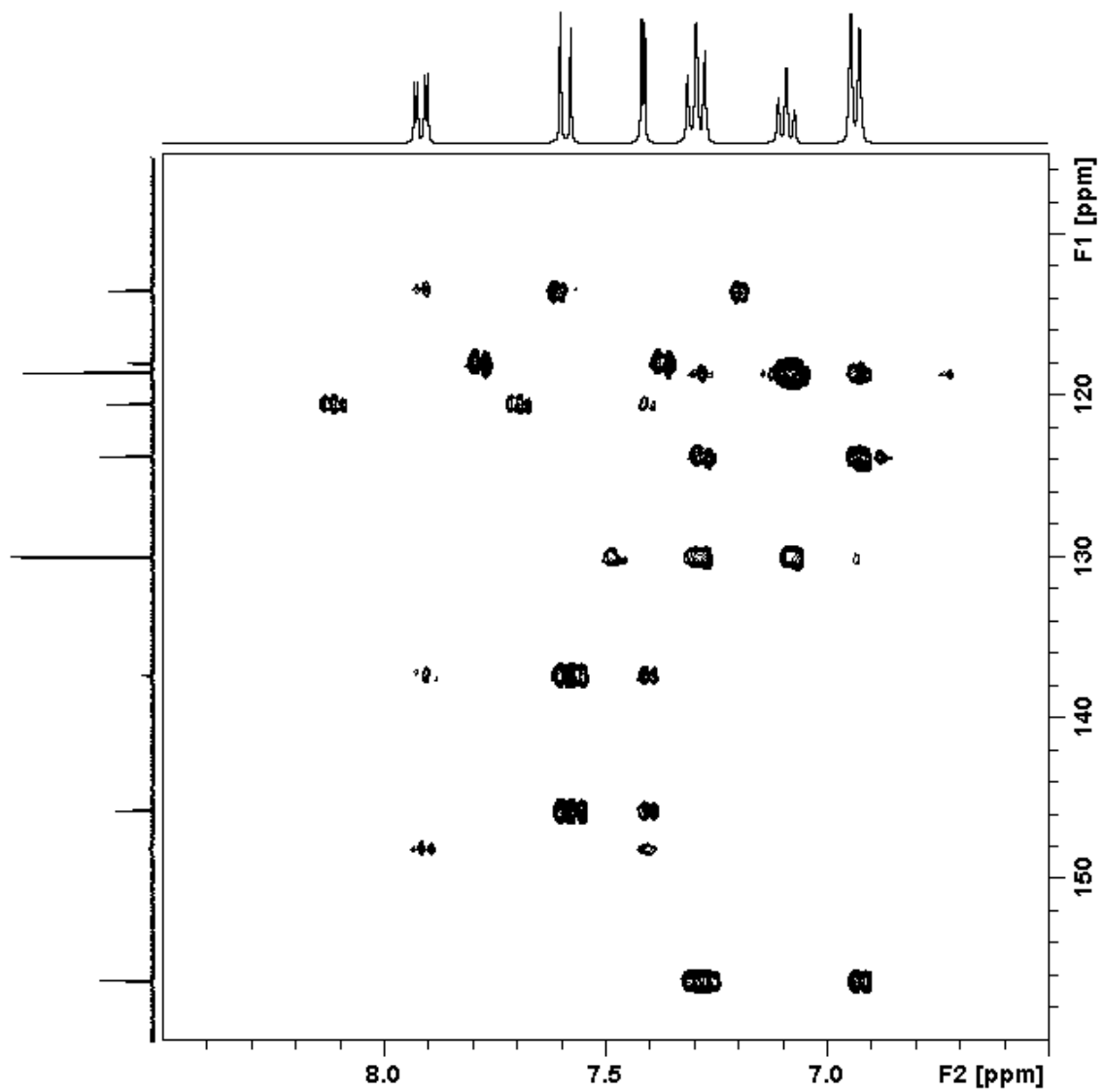


AI. HSQC [^1H - ^{13}C] do ligante NMS



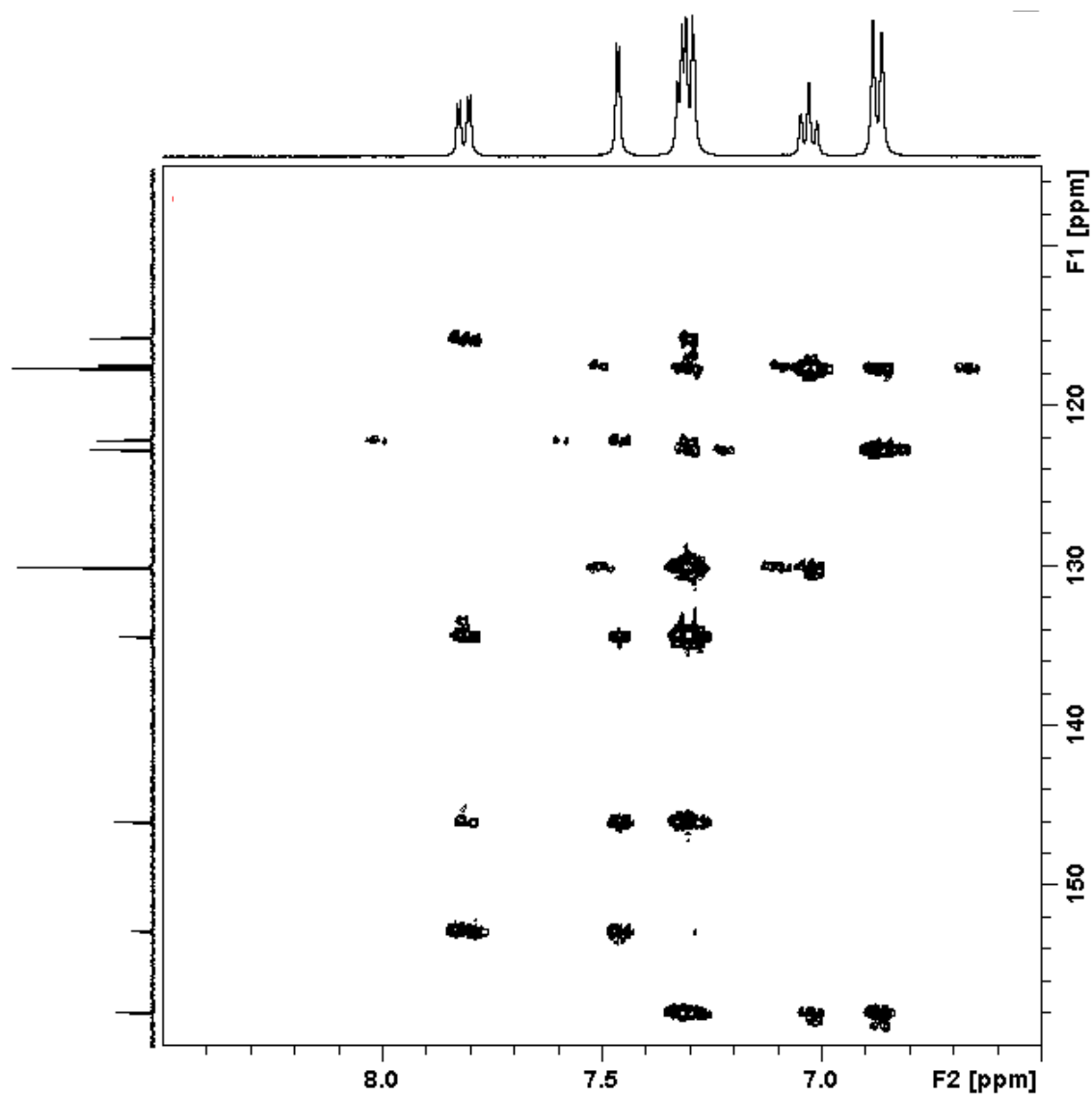
A2. HMBC [^1H - ^{13}C] do ligante NMS

APÊNDICE B – Ag-NMS



B. HMBC [^1H - ^{13}C] do complexo Ag-NMS

APÊNDICE C – Pt-NMS



C. HMBC [^1H - ^{13}C] do complexo Pt-NMS