

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

Silvioneey Augusto da Silva

Síntese, caracterização e avaliação da atividade antituberculose de complexos de prata e zinco com a base de Schiff *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina

Juiz de Fora
2014

Silvioneey Augusto da Silva

Síntese, caracterização e avaliação da atividade antituberculose de complexos de prata e zinco com a base de Schiff *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Cuin

Juiz de Fora

2014

Silvioney Augusto da Silva

Síntese, caracterização e avaliação da atividade antituberculose de complexos de prata e zinco com a base de Schiff *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica

Aprovada em 24 de janeiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Cuin – Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi

Universidade Estadual de Campinas

Emanoel de Castro Antunes Felício

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico esta dissertação a minha esposa Ana
Eliza, a minha mãe Amália e aos meus irmãos
Sidney, Sidclay e Sandra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar minha mãe Dona Amália, não por este trabalho, mas por tudo que ela me ensinou e representa para mim nesta vida, se não por palavras às vezes por exemplos de vida, uma verdadeira *guerreira*.

Em primeiro lugar também agradeço minha esposa e grande amor da minha vida *Ana Eliza*, companheira e grande incentivadora do meu crescimento intelectual, que sempre esteve e estará ao meu lado, proporcionando-me momentos inesquecíveis e impossíveis de transformá-los em palavras.

Agradeço a vida pela oportunidade de ser irmão dos meus outros três amores desta minha adorável jornada, Sidney (e família), Sidclay (e família) e Sandra (nossa eterna menininha), pelos momentos que proporcionaram a este caçulinha aqui.

Agradeço meu pai que sem saber, me mostrou o que devo e não devo fazer para ser um grande homem.

Agradeço a Patrícia, que juntamente comigo passou bons e maus momentos na graduação em química.

Agradeço a minha família paranaense, Sr. Odair, Daiane & Ezzo, a todos mesmo, principalmente minha sogra Dona Lulu, pessoa boa e de bom coração, não tem igual.

Agradeço ao cara que comprou esta ideia, e que em tão pouco tempo me passou grandes ensinamentos, incentivou muito o meu senso crítico, e me mostrou que na pesquisa também há espaço para seres humanos. Obrigado Alexandre Cuin.

Agradeço aos professores do Departamento de Química / UFJF, em especial, Mara Rúbia Costa Couri, que por tantas vezes me ajudou nesta pós-graduação, sempre solícita e paciente, Mauro V.Almeida e a Ana Paula S.Fontes, pelos conselhos salutares na minha qualificação, e ao Gustavo F.S.Andrade por ter aceitado ser meu responsável perante à Pós-Graduação na ausência de meu Orientador – Alexandre Cuin.

Gostaria de agradecer ao professor Pedro Paulo Corbi do Laboratório de Química Bioinorgânica e Medicinal / UNICAMP, Campinas-SP, e seu orientado Fernando Bergamini, pela grande ajuda prestada.

Gostaria de agradecer ao professor Fernando R. Pavan do Laboratório de micobacteriologia “Prof. Dr. Hugo David” da UNESP / Araraquara-SP, pela colaboração nos ensaios biológicos.

Gostaria de agradecer a amiga Aline Filgueiras, por tudo o que ela me ajudou neste mestrado. Agradeço também aos amigos Douglas e Betinho, também pela ajuda e grandes prosas na hora do almoço.

Não poderia esquecer os alunos do meu grupo LQBIn (Laboratório de Química BioInorgânica), aos hoje mestres Guilherme e Vinícius e aos I.C’s Diego, Isabela, Jéssica, Pâmela, Paulo Victor, Thaeny, e a todos que já passaram por aqui.

Agradeço os colegas da graduação e hoje pós-graduandos Weberton (Fininho), Márcia e Renatinha. Agradeço os amigos Lippy, Felipe (do NEEM), Harlem, Linus Pauling, Flavinha (de Ubá), Fábio (da orgânica), Balbino, Mathias, Joana, Gilson, Camila, Bianca, Tamires e a todos os alunos de I.C. dos professores Antônio Carlos e Gustavo, que dividimos o laboratório por tanto tempo.

Agradeço a todos os professores do Departamento de Biologia / ICB, pelo incentivo desde a graduação até o mestrado.

*“Através do esforço, da atenção, da disciplina e
do autocontrole, o sábio constrói para si uma
ilha que nenhuma inundação pode dominar.”*

Dhammapada

RESUMO

No presente trabalho a base de Schiff, *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina (BNH), foi obtida a partir da reação de condensação entre etilenodiamina (en) e 2-tiofenocarboxaldeído (TCA) usando a proporção molar 1:2 (en:TCA). Dois novos complexos de prata(I) com BNH foram preparados reagindo BNH:AgNO₃. Quando a proporção molar de 1:1 (M:L) foi usada, o complexo polimérico [Ag(BNH)NO₃]_n foi obtido, onde os íons Ag(I) são coordenados por 2 N (grupo imina) de dois ligantes diferentes e um oxigênio do grupo nitrato. Quando a proporção molar de 1:2 (M:L) foi usada um complexo monomérico e quelato - [Ag(BNH)₂]NO₃ foi obtido. Neste complexo os íons prata(I) são coordenados por 4 N (grupo imina) de dois ligantes. Da mesma forma, complexos de zinco(II) também foram testados, mas as reações entre o BNH e ZnCl₂ em 1:1 ou 1:2 (M:L) resultam no mesmo complexo formulado como [Zn(Cl)₂(BNH)], onde o BNH se coordena ao íon Zn(II) pelos átomos de N (imina) e dois íons cloro completam a tetracoordenação em torno do íon zinco(II). Os compostos foram caracterizados por análises elementar (C, H, N) e térmica (TG/DTA), técnicas espectroscópicas de IV, Raman, Ressonância Magnética Nuclear e difração de raios X por monocristal e policristais. Além dos dados estruturais, analíticos, e espectroscópicos, foram realizados estudos biológicos. As propriedades antibacterianas e citotóxicos do BNH e de seus três complexos metálicos foram testadas com base na atividade *Anti-MBT* e IC₅₀ utilizando células VERO. Além disso, dois ligantes – *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)-etano-1,2-diamina (obtido pela redução do BNH) e seu derivado cloridrato, foram sintetizados e parcialmente caracterizados. Um sal de ouro(III) também foi obtido e caracterizado por simples reação entre o cloridrato da diamina e o sal K[AuCl₄].

Palavras-chave: Base de Schiff. 2-Tiofenocarboxaldeído. Tuberculose. Complexos de prata e zinco.

ABSTRACT

In the present work the Schiff base, *N,N'*-bis(thiophenyl-2-methylidene) ethane-1,2-diamine (BNH), was obtained from condensation reaction between ethylenediamine (en) and 2- thiophenecarboxaldehyde (TCA) using molar ratio 1:2 (en:TCA). Two new silver(I) complexes with BNH were prepared by reacting BNH:AgNO₃. When 1:1 molar ratio (M:L) was used, the polymeric complex [Ag(BNH)NO₃]_n is obtained where Ag(I) ions are coordinated by 2 N (imine group) from two different ligands and one oxygen from nitrate group. When 1:2 molar ratio (M:L) is used a monomeric and chelated complex – [Ag(BNH)₂]₂NO₃ was obtained. In this complex silver(I) ions are surrounded by 4 N (imine group) from two ligands. In the same way, the zinc(II) complexes were also tested, but the reactions between the BNH and ZnCl₂ in 1:1 or 1:2 (M:L) result in the same complex formulated as [Zn(Cl)₂(BNH)], where BNH is coordinated to Zn(II) ions by N (imine) and two chlorine ions complete the tetracoordination around zinc(II) ions. The compounds were characterized by elemental (C, H, N) and thermal analyzes (TG/DTA), IR, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance spectroscopic techniques and X rays diffraction - monocrystal and powder. Besides the analytical, spectroscopic and structural data, the biological studies were performed. The antibacterial and cytotoxic properties of BNH and its three metal complexes were tested based on the activity *Anti-MBT* and IC₅₀ using VERO cells. In addition, two ligands – *N,N'*-bis(thiophenyl-2-methyl)ethane-1,2-diamine (obtained by BNH reduction) and its hydrochloric derivative were synthesized and partially characterized. A gold(III) salt was also obtained and characterized by simple reaction between the diamine's hydrochloride and K[AuCl₄] salt.

Keywords: Schiff base. 2-Thiophenecarboxaldehyde. Tuberculosis. Silver and zinc complexes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura da anidrase carbônica e geometria do seu sítio de zinco.....	18
Figura 2 - Estruturas dos fármacos Auranofina, SSD e Carboplatina.....	18
Figura 3 - Estruturas de iminas e de enaminas a partir da reação entre cetona ou aldeído com aminas primária e secundária.....	19
Figura 4 - Mecanismo de formação de iminas.....	20
Figura 5 - Estruturas do Furanoglioxaldeído, <i>p</i> -Toluidina, Lisina e Salicilideno. ...	20
Figura 6 - Estrutura do composto Salen.	23
Figura 7 - Incidência de novos casos da TB globalmente.....	24
Figura 8 - Prevalência de casos de TB coinfectados com o HIV.	24
Figura 9 - Estrutura da estreptomicina (SM).....	25
Figura 10 - Estrutura dos compostos da 1ª linha no tratamento da TB, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida.....	26
Figura 11 - Esquema da reação de formação da base de Schiff diimínica – BNH...	30
Figura 12 - Esquema da reação de formação e proposta estrutural do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	31
Figura 13 - Esquema da reação de formação e proposta estrutural do complexo AgBNH	32
Figura 14 - Esquema da reação de formação e estrutura proposta do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	33
Figura 15 - Esquema da reação de formação e estrutura proposta do complexo ZnBNH	34
Figura 16 - Esquema da reação de formação e estrutura proposta do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	35
Figura 17 - Estrutura do ligante BNH projetada no ORTEP-3.	36
Figura 18 - Espectro no IV do ligante BNH.	38
Figura 19 - Espectro Raman do ligante BNH.	39
Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do ligante BNH.	40
Figura 21 - Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do ligante BNH.	41
Figura 22 - Espectro de RMN DEPT 135° em DMSO_{d6} do ligante BNH.	42
Figura 23 - Espectro de RMN NOESY em DMSO_{d6} do ligante BNH.	43
Figura 24 - Espectro de RMN ^1H - ^{15}N HMBC em DMSO_{d6} do ligante BNH.	43

Figura 25 - Espectro no IV do composto BNH_{red}	44
Figura 26 - Espectro no IV do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	44
Figura 27 - Espectro de RMN de ^1H em D_2O do ligante $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	45
Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C em D_2O do ligante $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	46
Figura 29 - Curvas TG / DTA do complexo AgBNH	47
Figura 30 - Diagrama da possível decomposição térmica do AgBNH	48
Figura 31 - Estrutura cristalina do AgBNH	49
Figura 32 - Estrutura cristalina do polímero AgBNH	50
Figura 33 - Espectro no IV do complexo AgBNH	51
Figura 34 - Espectro Raman do complexo AgBNH	52
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do complexo AgBNH	53
Figura 36 - Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do complexo AgBNH	54
Figura 37 - Estrutura cristalina do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	57
Figura 38 - Curvas TG / DTA do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	58
Figura 39 - Diagrama da possível decomposição térmica do $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	58
Figura 40 - Espectro no IV do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	59
Figura 41 - Espectro Raman do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	60
Figura 42 - Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	61
Figura 43 - Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	62
Figura 44 - Curva termogravimétrica do complexo ZnBNH	63
Figura 45 - Estrutura cristalina do complexo ZnBNH	65
Figura 46 - Espectro no IV do complexo ZnBNH	65
Figura 47 - Espectro Raman do complexo ZnBNH	66
Figura 48 - Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do complexo ZnBNH	67
Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do complexo ZnBNH	68
Figura 50 - Estrutura cristalina do $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	70
Figura 51 - Difrátograma inicial do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	80
Figura 52 - Novo difratograma do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	80
Figura 53 - Molécula de BNH e ângulos de torção utilizados para simulação da estrutura cristalina.....	81
Figura 54 - Gráfico final obtido após o refinamento da estrutura cristalina do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ pelo método de Rietveld.....	81
Figura 55 - Ligante BNH , descrito somente metade da molécula, posição xyz do <i>dummy atom</i> , íon de $\text{Ag}(\text{I})$ e íon de nitrato.....	83

Figura 56 - Metade simétrica do ligante BNH e ligações passíveis de rotações	83
Figura 57 - Complexo AgBNH: Padrões de difração experimental e calculado.....	84
Figura 58 - Complexo ZnBNH: Padrões de difração experimental e calculado	85
Figura 59 - Difratoograma do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	86
Figura 60 - Composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$: Padrões de difração experimental e calculado ...	86
Figura 61 - Estrutura cristalina do complexo CuBNH^*	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados analíticos do composto BNH	30
Tabela 2 - Dados analíticos do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	32
Tabela 3 - Dados analíticos do composto AgBNH	32
Tabela 4 - Dados analíticos do composto $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	33
Tabela 5 - Dados analíticos do composto ZnBNH	34
Tabela 6 - Dados analíticos do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	35
Tabela 7 - Dados cristalográficos do ligante BNH	37
Tabela 8 - Distâncias e ângulos das ligações do ligante BNH	37
Tabela 9 - Bandas observadas nos espectros IV e Raman com suas respectivas atribuições para o BNH	39
Tabela 10 - Sinais observados no espectro de RMN de ^1H do ligante BNH	40
Tabela 11 - Sinais observados no espectro de RMN de ^1H do ligante $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	45
Tabela 12 - Sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C do ligante $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	46
Tabela 13 - Dados da termogravimetria para o complexo AgBNH	48
Tabela 14 - Parâmetros cristalinos do complexo AgBNH	49
Tabela 15 - Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo AgBNH	50
Tabela 16 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^1H do complexo AgBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições	54
Tabela 17 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C do complexo AgBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições	55
Tabela 18 - Parâmetros cristalinos do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	56
Tabela 19 - Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	56
Tabela 20 - Dados da termogravimetria para o complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	58
Tabela 21 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^1H do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ e do ligante BNH com as respectivas atribuições	61
Tabela 22 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ e do ligante BNH com as respectivas atribuições	62
Tabela 23 - Parâmetros cristalinos do complexo ZnBNH	64
Tabela 24 - Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo ZnBNH	64
Tabela 25 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^1H do complexo ZnBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições	67

Tabela 26 - Sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C do complexo ZnBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições	68
Tabela 27 - Parâmetros cristalinos do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	69
Tabela 28 - Principais distâncias e ângulos de ligações do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	70
Tabela 29 - Resultados da CIM, IC_{50} e IS para os compostos testados.....	71
Tabela 30 - Resultados de análises elementares do complexo CuBNH^*	87

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ar	aromático
CIM	concentração inibitória mínima
CO ₂	dióxido de carbono
D ₂ O	água deuterada
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
DMSO _{d6}	dimetilsulfóxido deuterado
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> ou ácido etilenodiamino tetra-acético
en	etilenodiamina
EtOH	álcool etílico
FF	faixa de fusão
FT	<i>Fourier-Transformation</i> ou Transformada de Fourier
HCl	ácido clorídrico
HCO ₃ ⁻	íon bicarbonato
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
IC ₅₀	<i>half maximal inhibitory concentration</i>
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IR	<i>infrared</i>
ISO-OH	álcool isopropílico
IV	infravermelho
MBT	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MeOH	álcool metílico
MM	massa molar
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.F	ponto de fusão
ppm	partes por milhão
RMN	ressonância magnética nuclear

RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute medium</i>
SSD	<i>Silver SulfaDiazine</i> ou sulfadiazina de prata
T.A.	temperatura ambiente
TB	tuberculose
TB-MDR	tuberculose multidroga resistente
TB-XDR	tuberculose extensivamente resistente a drogas
TCA	2-tiofenocarboxaldeído
TG/DTA	análises termogravimétrica / diferencial
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
WHO	<i>World Health Organization</i>
Δm	variação de massa
δ	deformação angular e deslocamento químico
V_{assim}	estiramento axial assimétrico
V_{sim}	estiramento axial simétrico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	17
1.2	BASES DE SCHIFF.....	19
1.3	PRATA.....	21
1.4	ZINCO.....	22
1.5	TUBERCULOSE	23
2	OBJETIVO	27
2.1	OBJETIVO GERAL.....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	METODOLOGIA	28
3.1	REAGENTES.....	28
3.2	EQUIPAMENTOS E MÉTODOS	28
3.3	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
3.3.1	Síntese da Base de Schiff diimínica e de seus derivados	30
3.3.2	Síntese dos complexos de prata	32
3.3.3	Síntese do complexo de zinco	33
3.3.4	Síntese do sal de ouro(III)	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE BNH	36
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$	44
4.3	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO AgBNH	47
4.4	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO $\text{Ag}(\text{BNH})_2$	55
4.5	CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO ZnBNH	63
4.6	CARACTERIZAÇÃO DO SAL DE OURO (III) $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$	68
4.7	RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS	71
5	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS	75
	ANEXOS	78

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Paracelso, grande difusor da iatroquímica (iatro do grego significa médico), no século XVI dizia que a alquimia devia ser posta a serviço da medicina para produzir fármacos específicos com a finalidade de tratar moléstias e doenças específicas (STRATHERN, 2002). Atualmente, o uso da química em prol da medicina está ligado, predominantemente, a duas áreas, química bioinorgânica e química medicinal (FARRELL, 1999).

A química medicinal tem como principal objetivo a concepção e descoberta de novos compostos que possam ser utilizados como fármacos, estudando sua síntese, método de administração, desenvolvendo testes e procedimentos para estabelecer como o composto opera no organismo. Este processo envolve uma gama de profissionais de diversas áreas como a química, bioquímica, biologia e medicina (THOMAS, 2007).

A química bioinorgânica é a área contida na interface entre a química e a biologia (LIPPARD & BERG, 1994), e tem como objetivo compreender os aspectos das funções dos íons metálicos em sistemas biológicos (FARRELL, 1999), seja estudando os elementos inorgânicos de ocorrência natural em sistemas biológicos, seja estudando a introdução de metais nesses sistemas (LIPPARD & BERG, 1994).

Alguns íons metálicos estão presentes em importantes processos biológicos, como por exemplo, íons Na^+ e K^+ que atuam no equilíbrio osmótico celular e no potencial de membrana da célula; o íon Fe^{2+} que atua no transporte e armazenamento de O_2 ; o íon Zn^{2+} que está envolvido em muitos processos enzimáticos, como por exemplo, este íon é componente essencial da enzima anidrase carbônica (Figura 1), que catalisa a conversão de H_2O e CO_2 em H_2CO_3 que se dissocia em HCO_3^- e H^+ e vice-versa; outros exemplos de metaloenzimas são a urease e a hidrogenase, que contêm $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ e $\text{Ni}^{2+}/\text{Fe}^{2+}$ em suas estruturas como centros metálicos ativos, respectivamente (LIPPARD & BERG, 1994).

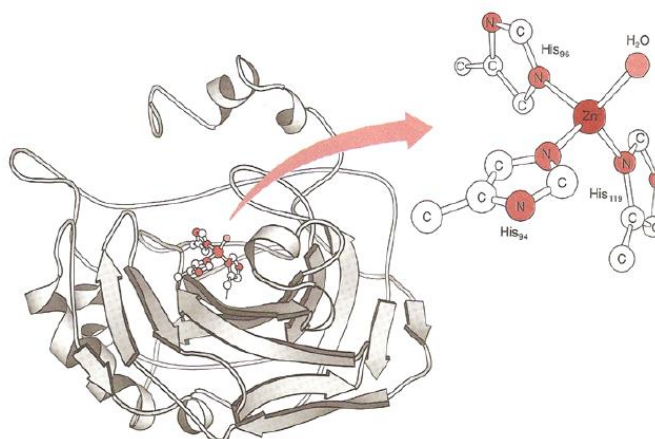


Figura 1: Estrutura da anidrase carbônica e geometria do seu sítio de zinco. Adaptado de LIPPARD & BERG, 1994.

Certos íons metálicos como platina(II), prata(I) e ouro(I) apresentam atividades biológicas e são utilizados com sucesso no tratamento de diversas enfermidades. Compostos de ouro(I), por exemplo, apresentam atividade anti-artrite, sendo a auranofina um fármaco de administração oral, que pertence à segunda geração de fármacos no tratamento da artrite reumatoide (NAVARRO, 2009). Compostos de prata apresentam atividade antibacteriana, como por exemplo a sulfadiazina de prata (SSD), um fármaco de uso tópico utilizado como bactericida em feridas de queimaduras de segundo e terceiro grau (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012). Compostos de platina(II) são utilizados no tratamento de neoplasias, como por exemplo, a carboplatina que é utilizada principalmente no tratamento de câncer do ovário, pulmão e cérebro (MONNERET, 2011). Na Figura 2, são apresentadas as estruturas moleculares de alguns compostos contendo os íons Pt(II), Ag(I) e Au(I) com reconhecida atividade biológica.

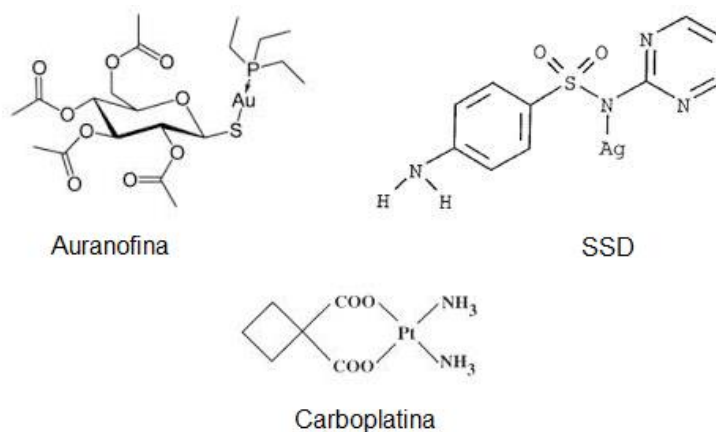


Figura 2: Estruturas dos fármacos Auranofina, SSD e Carboplatina.

1.2 – BASES DE SCHIFF

As aminas reagem com compostos carbonílicos formando iminas e enaminas a partir de reações de condensação, partindo-se de aminas primárias e secundárias respectivamente (Figura 3). As iminas são caracterizadas pela dupla ligação entre os átomos de carbono e de nitrogênio, ou grupo azometino (-HC=N-). As enaminas são caracterizadas pela dupla ligação entre átomos de carbono ligado ao átomo de nitrogênio (-RC=CR-NR-). Tanto a formação de iminas quanto a de enaminas são exemplos típicos de reação de adição nucleofílica (MCMURRY, 2005).

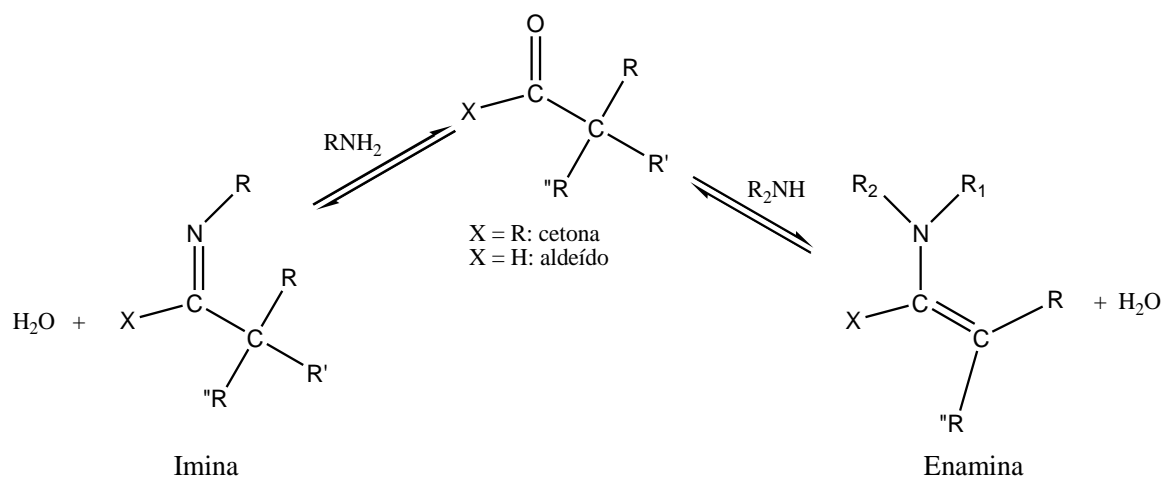


Figura 3: Estruturas de iminas e de enaminas a partir da reação entre cetona ou aldeído com aminas primária e secundária.

As iminas são formadas em um processo reversível, normalmente catalisado pela adição de ácido. A formação de imina é lenta tanto em pH alto quanto baixo, porém alcança uma taxa máxima em pH fracamente ácido em torno de quatro e cinco (MCMURRY, 2005).

A dependência da formação da imina com o pH do meio reacional deve-se ao fato da necessidade da protonação da hidroxila do amino álcool formado, convertendo a hidroxila em um melhor grupo abandonador, *via* catalisador ácido. Se não houver ácido o suficiente a reação será muito lenta; do contrário, se a concentração de ácido estiver muito alta, haverá protonação da amina dificultando a etapa de adição nucleofílica ao grupo carbonila, tornando a primeira etapa da reação muito lenta também (MCMURRY, 2005). O possível mecanismo de formação de uma imina está demonstrado na Figura 4.

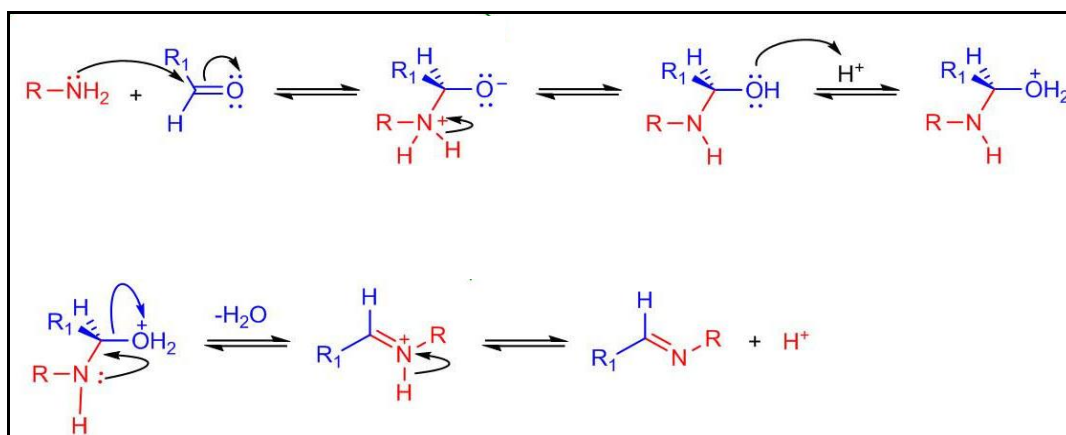


Figura 4: Mecanismo de formação de iminas. Adaptado de WIETHAUS, 2010.

A atividade biológica das bases de Schiff vem sendo investigada por diversos grupos de pesquisas em todo o mundo. Alguns exemplos são apresentados na Figura 5. As bases de Schiff derivadas de Furanogloxaldeído e *p*-Toluidina, por exemplo, apresentam atividade antibacteriana frente à *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*; bases de Schiff derivadas de lisina e seus respectivos complexos com os íons La(III), Co(II) e Fe(II) apresentam atividade bacteriostática frente às bactérias citadas acima. Derivados do salicilideno e seus complexos metálicos apresentam atividade contra *S. aureus*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *B. subtilis*, *Kelbsiella pneumoniae*. Complexos de Zn(II), Cd(II), Ni(II) e Cu(II) com bases de Schiff do tipo furfuralideno diamina apresentam atividade antibacteriana. Além da atividade antibacteriana, outros complexos metálicos de bases de Schiff apresentam atividade antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral, analgésica, dentre outras propriedades (KUMAR *et al.*, 2009), que os tornam alvos interessantíssimos na busca por novos fármacos.

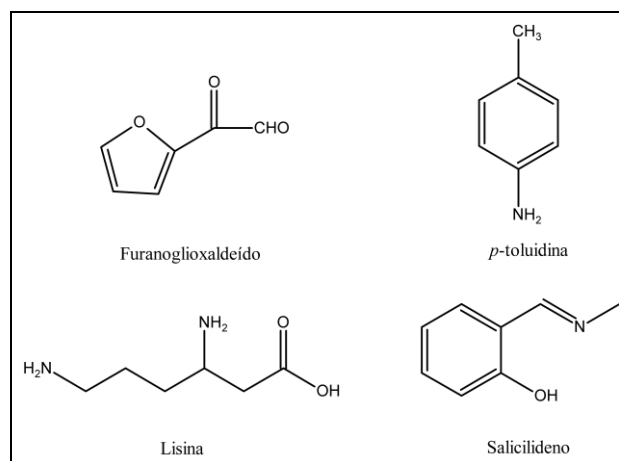


Figura 5: Estruturas do Furanogloxaldeído, *p*-Toluidina, Lisina e Salicilideno.

1.3 – PRATA

A prata é um metal da segunda série de transição, comumente apresenta número de oxidação +1 (d^{10}), número de coordenação dois (geometria linear) e quatro (geometria tetraédrica distorcida), porém números de coordenação 3, 5 e 6 bem como número de oxidação dois (d^9) e três (d^8) podem ocorrer. A prata forma numerosos complexos com ligantes *O*-, *N*-, *S*-doadores. Alguns importantes ligantes *S*-doadores para a Ag(I) são os tiolatos, ditiocarbamatos, tiouréia e tioéteres. O íon Ag(I) se liga a peptídeos e proteínas, preferencialmente por sítios –SR e imidazólicos (COTTON *et al.*, 1999).

As propriedades terapêuticas da prata e/ou seus compostos vêm sendo exploradas há bastante tempo. Acredita-se que a primeira aplicação de compostos de prata tenha sido de uso tópico utilizando-se o nitrato de prata ainda na idade média para o tratamento de feridas crônicas ou úlcera; porém, seu uso no tratamento de queimaduras foi difundido somente no século XIX (KLASEN, 2000).

Billroth parece ter sido o primeiro a demonstrar as propriedades bactericidas da prata em 1874 (KLASEN, 2000). No final do século XIX, a solução de nitrato de prata 2% (m/v) foi utilizada na prevenção da oftalmia neonatal, uma doença que é consequência de uma infecção conjuntiva provocada pela bactéria do gênero *Gonococci* (KLASEN, 2000). Um importante complexo de prata, a sulfadiazina de prata vem sendo usada com sucesso no combate a infecções em queimaduras da pele desde a década de 1940 (ORVIG & ABRAMS, 1999).

A atividade bactericida do íon Ag(I) deve-se ao fato destes íons reagirem com resíduos de aminoácidos em proteínas bacterianas e se anexarem a grupos amino, imidazol, fosfato, carboxilato e tiol da membrana bacteriana, levando à desnaturação da proteína e conseqüentemente à morte celular (PATRA & GOLDBERG, 2003).

À prata também foi proposto atuar em ligação a grupos funcionais de enzimas. O plasma bacteriano e a membrana citoplasmática, os quais estão associados com muitas enzimas, são importantes alvos para os íons de prata. Estes íons são depositados em vacúolos e na parede celular na forma de grânulos, eles interagem também com os ácidos nucléicos, preferencialmente com as bases do DNA, causando inibição da

divisão celular e conseqüentemente inibindo o crescimento bacteriano. A interação entre a prata e os constituintes da membrana bacteriana causa mudanças estruturais e danos à membrana e a atividade metabólica intracelular, que pode ser a causa da morte celular (JUNG *et al.*,2008).

1.4 – ZINCO

O zinco é um metal da primeira série de transição, apresenta número de oxidação +2 (d^{10}) e número de coordenação comumente quatro, porém números de coordenação 5 e 6 também são descritos (COTTON *et al.*, 1999).

Este elemento apresenta pouca abundância na natureza, aproximadamente 10^{-6} % da crosta terrestre é composta por zinco juntamente com cádmio. No entanto, o íon Zn^{2+} é reconhecido como essencial a diversas formas de vida. Um grande número de doenças e desordens congênitas tem sido atribuído à deficiência de zinco (COTTON *et al.*, 1999).

Nos anos de 1940 a 1955 a anidrase carbônica e a carboxipeptidase foram demonstradas serem enzimas contendo zinco, ou seja, metaloenzimas. Desde então, demais metaloenzimas de zinco foram relatadas, funcionalmente elas são de vários tipos, como álcool desidrogenases, aldolases, peptidases, proteases, fosfatases, DNA- e RNA-polimerases, entre outras (COTTON *et al.*, 1999).

Nos últimos anos os compostos metálicos do grupo 12, têm recebido muita atenção nas áreas de química inorgânica, bioquímica e química ambiental, devido à configuração eletrônica estável $(n-1) d^{10} ns^0$ dos íons deste do grupo (PRAKASH *et al.*, 2010).

O Zn(II) apresenta alta afinidade com ligantes *N*- e *S*- doadores (ANCIN *et al.*, 2002). O interesse na atividade biológica de compostos contendo zinco tem aumentado nas últimas décadas. Complexos de Zn(II) com bases de Schiff derivadas de acil-hidrazina e triazol apresentam atividade bactericida (CHOHAN & FAROOQ, 2001), e atividades antibacteriana e antifúngica respectivamente (CHOHAN & HANIF, 2013). Compostos de Zn(II) com ligantes do tipo Salen, Figura 6, apresentam alta atividade

contra as bactérias Gram-negativas, *Klebsiella mobilis* e *Aeromonas aquariorum* (INBA *et al.*, 2013).

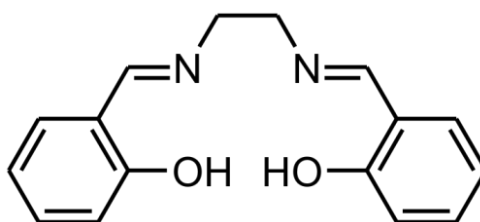


Figura 6: Estrutura do composto Salen.

1.5 – TUBERCULOSE

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada por espécies do gênero *Mycobacterium* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*), que têm como principal patógeno o *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) (WHO, 2012). A TB é transmitida através do ar e afeta geralmente os pulmões, sendo que três quartos dos casos leva à infecção pulmonar; enquanto um quarto dos casos pode afetar as meninges, o sistema linfático, os ossos, a pleura e as articulações. Os principais sintomas de uma pessoa com tuberculose são tosse com sangue, dor no peito, perda de peso, suor noturno excessivo, febre e calafrios (BEENA & RAWAT, 2012). Os exames usados na tentativa de diagnosticar a TB são a baciloscopia do escarro, a radiologia do tórax e o teste tuberculínico (SOUZA & VAZCONCELOS, 2005).

A TB é uma das mais antigas moléstias que afetam a humanidade. Há relatos médicos de casos de TB na Grécia e Roma antigas; acredita-se que a doença era conhecida também no antigo Egito, uma vez que pesquisadores encontraram lesões de TB em múmias. No entanto, foi somente em 1882 que o cientista alemão Robert Koch conseguiu isolar o MBT. Em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido, também, como bacilo de Koch (SOUZA & VAZCONCELOS, 2005).

Embora a TB seja uma doença curável e prevenível, o longo período de tratamento e a constatação de que a vacina BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) ou vacina contra a tuberculose evita as formas graves apenas nas crianças, observou-se que não ocorreu interrupção do processo de transmissão e propagação da doença nas últimas

décadas (SOUZA, 2010). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2011, em todo mundo, aproximadamente 1,4 milhões de pessoas morreram vítimas da doença, surgindo 8,7 milhões de novos casos, sendo 13% coinfetados com o HIV (*human immunodeficiency virus*) ou vírus da imunodeficiência humana, havendo 60 mil novos casos de tuberculose multidroga resistente (TB-MDR). Estima-se que no mesmo período no Brasil havia mais de 80 mil pessoas infectadas com a TB, e mais de 5500 pessoas morreram vítimas da doença, dando uma estatística de um óbito a cada noventa e cinco minutos (WHO, 2012). A incidência da doença e a prevalência com o HIV podem ser vistos nas Figura 7 e 8, respectivamente.

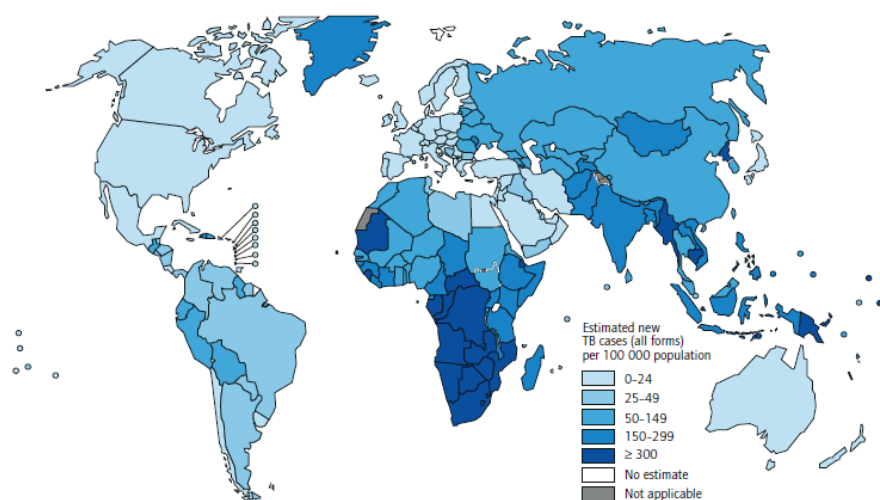


Figura 7: Incidência de novos casos da TB globalmente. Adaptado de WHO, 2012.

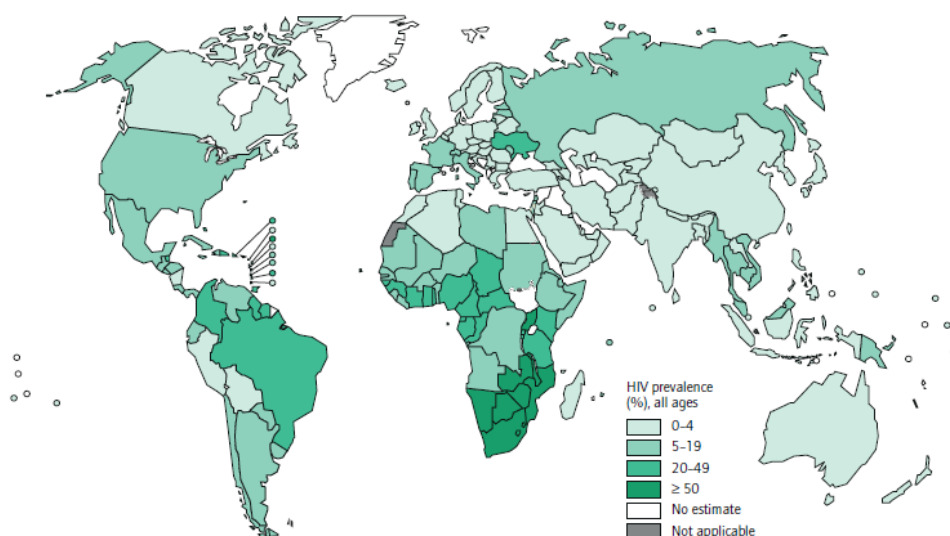


Figura 8: Prevalência de casos de TB coinfetados com o HIV. Adaptado de WHO, 2012.

O primeiro antibiótico eficaz no combate à tuberculose foi a estreptomicina (SM) (Figura 9), descoberta pelo pesquisador ucraniano Selman Waksman, em 1944. Após a descoberta de Waksman, outros fármacos com atividade antituberculose foram descobertos, a isoniazida (INH), em 1952, a rifampicina (RFP), em 1965, o etambutol (EMB), sintetizado em 1960, mas somente em 1968 começou a ser utilizado no tratamento da TB e a pirazinamida (PZA), sintetizada em 1936, sendo utilizada no tratamento da TB somente a partir de 1970. Estes compostos compõem a primeira linha ou primeira escolha para o tratamento da TB, suas estruturas estão apresentadas na Figura 10 (SOUZA & VAZCONCELOS, 2005).

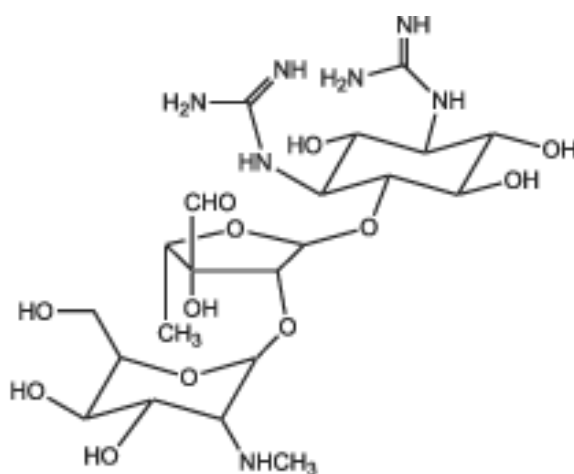


Figura 9: Estrutura da estreptomicina (SM).

No caso de falência no tratamento com os fármacos de primeira escolha ou devido à resistência do bacilo, são utilizados os fármacos conhecidos como de segunda escolha, os quais são a SM, etionamida, capreomicina, canamicina, amicacina, cicloserina, ácido *p*-aminosalicílico (PAS), tiocetazona, clorofazimina e terizidona (SOUZA & VAZCONCELOS, 2005).

A procura por novos fármacos para combater a TB faz-se necessário, visto o grande aumento do número de casos de TB-MDR, que é definida como a resistência aos fármacos INH e RFP (SOUZA & VAZCONCELOS, 2005), e aos casos de TB extensivamente resistente a drogas (TB-XDR), que além da resistência à INH e RFP caracteriza-se pela resistência a qualquer um dos fármacos fluoroquinolonas (ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, ofloxacina) e ao menos a uma das três

drogas injetáveis da segunda linha, capreomicina, canamicina, e amicacina (SOUZA, 2010).

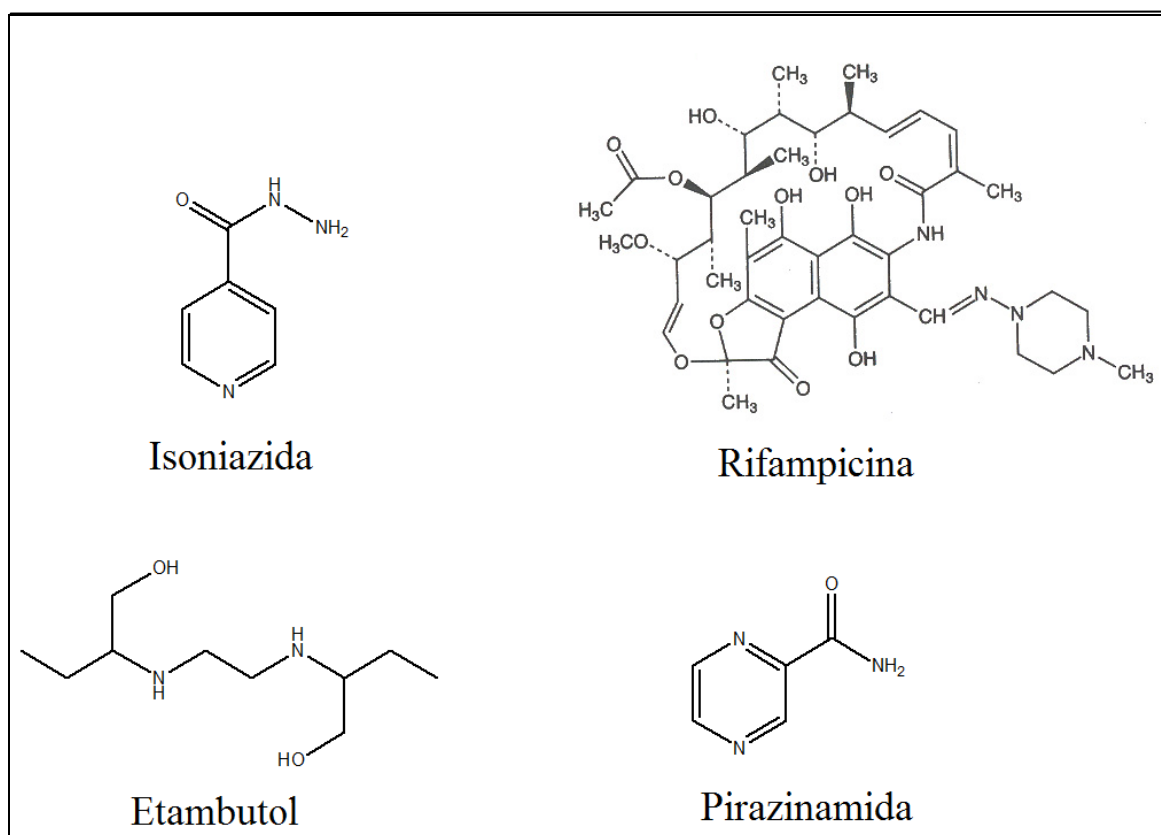


Figura 10: Estrutura dos compostos da 1ª linha no tratamento da TB, isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida.

2 – OBJETIVO

2.1 – OBJETIVO GERAL

O trabalho teve como objetivos a síntese, a caracterização e a avaliação da atividade antituberculose de complexos de Ag(I) e Zn(II) obtidos com a base de Schiff *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese e caracterização do ligante diimínico, obtido a partir dos materiais de partida, etilenodiamina e 2-tiofenocarboxaldeído, e de seus derivados.

- Síntese, caracterização e avaliação da atividade antituberculose dos complexos de Ag(I) e Zn(II) com o ligante diimínico obtido.

- Síntese e caracterização estrutural do composto de ouro(III).

3 – METODOLOGIA

3.1 – REAGENTES

Todos os reagentes químicos utilizados são de grau analítico e foram utilizados sem prévia purificação. Etilenodiamina 99,5% e nitrato de prata 99% foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Trifenilfosfina 95,0%, cloreto de zinco 99,9% e os solventes *n*-hexano 65%, acetato de etila 99,5% e diclorometano 99,5% foram adquiridos da Vetec. 2-Tiofenocarboxaldeído 98%, álcool metílico 99,98% e álcool isopropílico 99,8% foram adquiridos da Aldrich, Ecibra e Proquímios, respectivamente.

3.2 – EQUIPAMENTOS E MÉTODOS

As medidas de temperatura de fusão foram realizadas utilizando-se o equipamento Micro Química, MQAPF-301, aparelho digital de ponto de fusão limite 360°C, do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora.

As curvas de análise térmica – TG/DTA foram obtidas em um termoanalisador *SEIKO EXSTAR*, do Instituto de Química da UNICAMP, usando as seguintes condições: atmosfera dinâmica de ar sintético, razão de fluxo de gás de purga 50 cm³ min⁻¹, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ na faixa de temperatura entre 25–1000 °C.

As análises elementares para carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas num equipamento *Perkin Elmer 2400 CHNS/O Analyzer*, do Instituto de Química da UNICAMP.

Os espectros no infravermelho foram registrados em um FT-IR espectrofotômetro *Bruker*, modelo *Alpha*, com resolução espectral de 4 cm⁻¹, do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFJF, na faixa entre 4000 – 400 cm⁻¹. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr.

Os espectros Raman foram obtidos em um FT-Raman espectrofotômetro *Bruker*, modelo RFS 100, com laser de Nd³⁺ / YAG operando em 1064 nm e com resolução

espectral de 2 cm^{-1} , do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFJF.

Os seguintes métodos em RMN foram utilizados: ^1H , ^{13}C , ^1H - ^{15}N HMBC, DEPT 135° e NOESY. Todos os experimentos foram realizados utilizando-se DMSO_{d6} como solvente. Os espectros foram obtidos utilizando-se os equipamentos *Bruker Avance III 9,4 T*, com frequência de 400,18 MHz para ^1H , 100,63 MHz para ^{13}C e 40,55 MHz para ^{15}N , à temperatura de 298,16 K e *Bruker Avance III 11,7 T* com frequência de 125,70 MHz para o ^{13}C . Ambos os aparelhos pertencem ao Instituto de Química da UNICAMP. O equipamento *Bruker 300MHz*, do Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora, também foi utilizado e com este equipamento obteve-se espectros de RMN de ^{13}C e de ^1H para o composto $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$ utilizando-se D_2O como solvente.

Os dados de difração de raios X por monocristal foram obtidos no difratômetro *Enraf-Nonius Kappa-CCD*, do Instituto de Física da USP/São Carlos. O método direto com SHELXS-97 [Sheldrick, G.M. SHELXS97, Program for Crystal Structure Analysis; University of Gottingen, Gottingen, Germany, 1997] e o método de refinamento *Full-matrix least-squares on F^2* foram utilizados. A projeção estrutural foi obtida utilizando-se o ORTEP-3 para Windows (FARRUGIA, 1997).

Os dados de difração de raios X – método policristalino foram obtidos com o difratômetro *Bruker AXS D8 Advance*, equipado com detector *linear Lynxeye position-sensitive (PSD)*, radiação de $\text{CuK}\alpha$, filtro de Ni, proteção completa da radiação excessiva (*full blade*) do *Dipartimento di Scienza e Alta Tecnologia, Università degli Studi dell'Insubria, Como*, Itália. O tratamento dos dados obtidos foi realizado em colaboração com o Professor *Norberto Masciocchi*, também do *Dip. Scienza e Alta Tecnologia, Univ Insubria, Como*, Itália. Informações adicionais sobre a obtenção e tratamento destes dados estão contidas no Anexo I desta dissertação.

Os ensaios biológicos foram realizados em parceria com o professor Fernando R. Pavan do Laboratório de micobacteriologia “Prof. Dr. Hugo David”, UNESP, Araraquara-SP. Detalhes da rotina para a determinação da IC_{50} e dos valores de concentração inibitória mínima (CIM) estão contidos no Anexo II desta dissertação.

3.3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1 – Síntese da Base de Schiff diimínica e de seus derivados

- Síntese do *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina – BNH

Em 20 mL de metanol foram adicionados 2,80 mL de etilenodiamina (41,79 mmol), e a esta solução foram adicionados 8,0 mL de 2-tiofenocarboxaldeído (87,24 mmol). O meio reacional ficou em refluxo por seis horas. A solução foi concentrada em rotavapor e ao sólido resultante foi adicionado *n*-hexano, ficando sob agitação constante com aquecimento a 60 °C por 30 minutos. O precipitado amarelo claro formou-se ao resfriar a solução. Rendimento de 97%, valor superior aos 80% descritos na literatura. Faixa de fusão (FF): 89 a 90 °C e pela literatura, o composto se funde na faixa de temperatura entre 91 a 93°C (PATRA & GOLDBERG, 2003).

O esquema da reação desta síntese está apresentado na Figura 11.

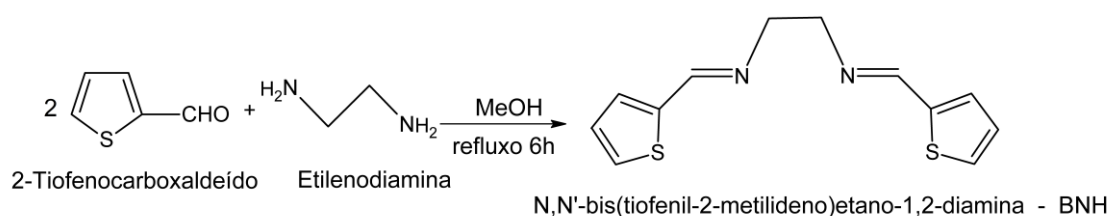


Figura 11: Esquema da reação de formação da base de Schiff diimínica – BNH.

Alguns dados analíticos da base de Schiff denominada BNH estão reunidos e descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Dados analíticos do composto BNH

Fórmula (MM, g.mol ⁻¹)	Rend %	Cor	FF, °C	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
C ₁₂ H ₁₂ N ₂ S ₂ (248,36)	97	amarelo	89-90	57,8 (58,0)	4,87 (4,87)	11,1 (11,3)

- Síntese do *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)etano-1,2-diamina – BNH_{red} e seu respectivo cloridrato de *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)etano-1,2-diamina – $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$

Foram solubilizados em 15 mL de metanol 0,500 g do ligante BNH (2,01 mmol), sob agitação constante e em banho de gelo. Posteriormente 0,309 g de boridreto de sódio (NaBH_4) (8,16 mmol) foram solubilizados em uma mistura de 0,5 mL de água e 5 mL de metanol. A solução de NaBH_4 foi adicionada à solução de BNH, ficando sob agitação constante e em banho de gelo por 8h. A solução ficou em repouso sob refrigeração por 16 horas. Na sequência, foi realizada a cromatografia por placa usando acetato de etila como eluente, constatando-se a total redução da imina (BNH) à amina, aqui denominada BNH_{red} . A solução de BNH_{red} foi concentrada em rotavapor, havendo a formação de um óleo amarelo. Deste óleo foram feitas cinco extrações com hexano:água (5:1). A fase orgânica foi coletada e concentrada em rotavapor, havendo a formação novamente do óleo de coloração amarela.

O óleo denominado BNH_{red} mostrou-se ser imiscível em água, no entanto, foi possível total solubilização do óleo em 20 mL de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A solução ficou sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Na sequência, a solução foi concentrada em rotavapor para aproximadamente 5 mL. A solução ficou em repouso à temperatura ambiente por outras 24 horas, havendo a formação de um precipitado cristalino branco, aqui denominado $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$, com rendimento de 27%. O esquema da reação desta síntese está apresentado na Figura 12. Os dados analíticos do $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ são descritos na Tabela 2.

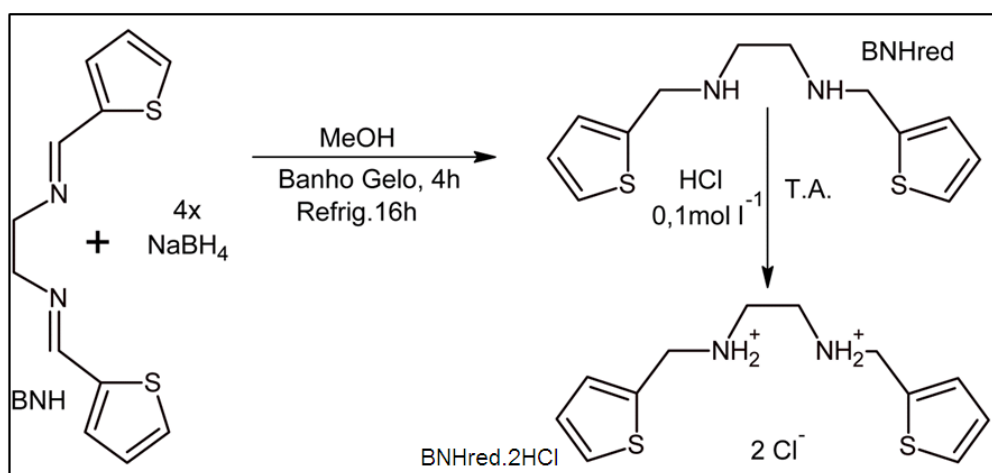


Figura 12: Esquema da reação de formação e proposta estrutural do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$.

Tabela 2: Dados analíticos do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$

Fórmula (MM, $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Rend %	Cor	FF, °C	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{S}_2\text{Cl}_2$ (325,32)	27	branco	257-259	44,1 (44,3)	5,42 (5,58)	8,62 (8,61)

3.3.2 – Síntese dos complexos de prata

- Síntese do catena- $\{[N,N'$ -bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamino]- N -nitrato- κO -prata(I)} $\}_n$ – $[\text{Ag}(\text{NO}_3)(\text{BNH})]_n$ – AgBNH

Foram solubilizados em 15 mL de isopropanol 0,249 g do ligante BNH (1,00 mmol). Em 0,5 mL de água foram solubilizados 0,170 g de nitrato de prata (AgNO_3) (1,00 mmol), e esta solução foi adicionada à solução de BNH. O meio reacional ficou sob agitação constante com aquecimento a 30 °C por 1 hora, havendo formação de precipitado, com rendimento de 47%. O esquema da reação desta síntese está apresentado Figura 13. Alguns dados analíticos do AgBNH são descritos na Tabela 3.

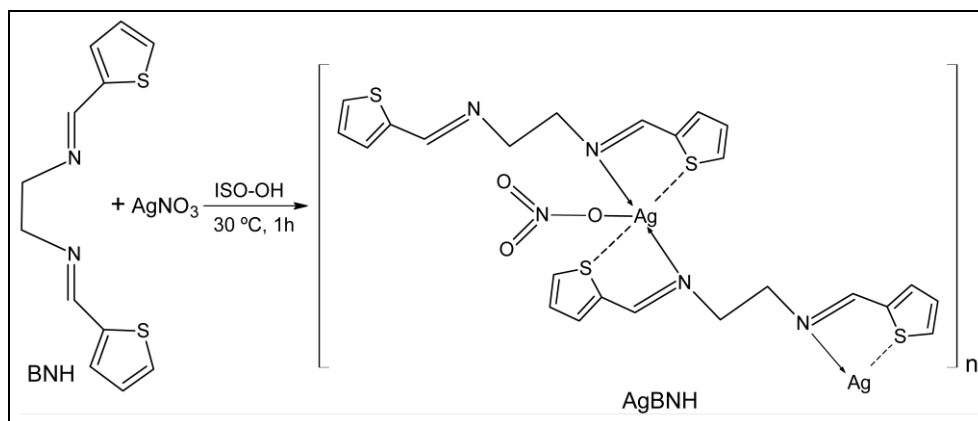


Figura 13: Esquema da reação de formação e proposta estrutural do complexo AgBNH .

Tabela 3: Dados analíticos do composto AgBNH

Fórmula (MM, $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Rend %	Cor	PF, °C	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{AgN}_3\text{O}_3\text{S}_2$ (418,24)	47	branco	237,6	34,3 (34,4)	2,68 (3,01)	10,7 (10,0)

- Síntese do nitrato de di[*N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamino- κ^2N,N']prata(I) – [Ag(BNH)₂]⁺NO₃⁻ – Ag(BNH)₂

Foram solubilizados em 15 mL de isopropanol 0,248 g do ligante BNH (1,00 mmol). Em 0,5 mL de água foram solubilizados 0,085 g de AgNO₃ (0,50 mmol), e esta solução foi adicionada à solução de BNH. O meio reacional ficou sob agitação constante com aquecimento a 30 °C por 1 hora, havendo formação de precipitado, com rendimento de 41%. O esquema da reação desta síntese está apresentado na Figura 14. Os dados analíticos do Ag(BNH)₂ são descritos na Tabela 4.

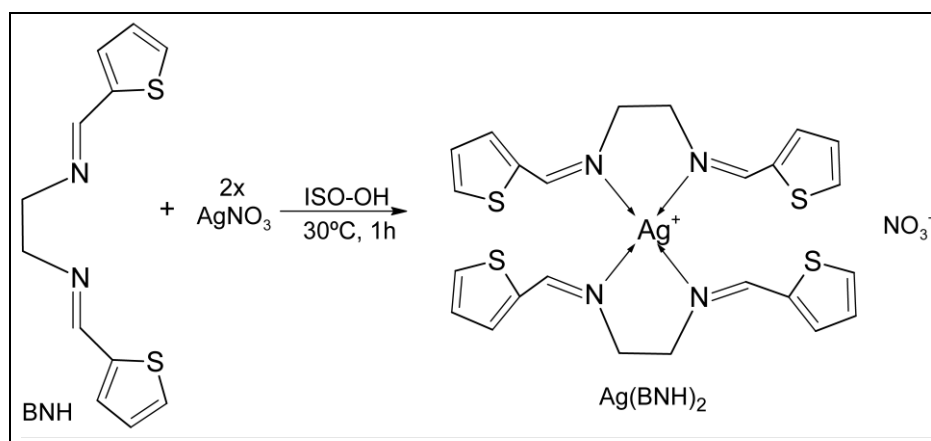


Figura 14: Esquema da reação de formação e estrutura proposta do complexo Ag(BNH)₂.

Tabela 4: Dados analíticos do composto Ag(BNH)₂

Fórmula (MM, g.mol ⁻¹)	Rend %	Cor	PF, °C	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
C ₂₄ H ₂₄ AgN ₅ O ₃ S ₄ (666,60)	41	branco	188,3	42,2 (43,2)	3,51 (3,63)	10,4 (10,5)

3.3.3 – Síntese do complexo de zinco

- Síntese do di(cloro)-*N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamino- κ^2N,N' -zinco(II) - [Zn(Cl)₂(BNH)] – ZnBNH

Foram solubilizados em 5 mL de etanol 0,251 g do ligante BNH (1,01mmol). Em 5 mL de etanol foram solubilizados 0,136 g de cloreto de zinco (ZnCl_2) (1,00 mmol) e esta solução foi adicionada à solução de BNH. O meio reacional ficou sob agitação constante à temperatura ambiente por 1 hora, havendo formação de precipitado branco com rendimento de 86%. O esquema da reação desta síntese está apresentado na Figura 15. Os dados analíticos do ZnBNH são descritos na Tabela 5.

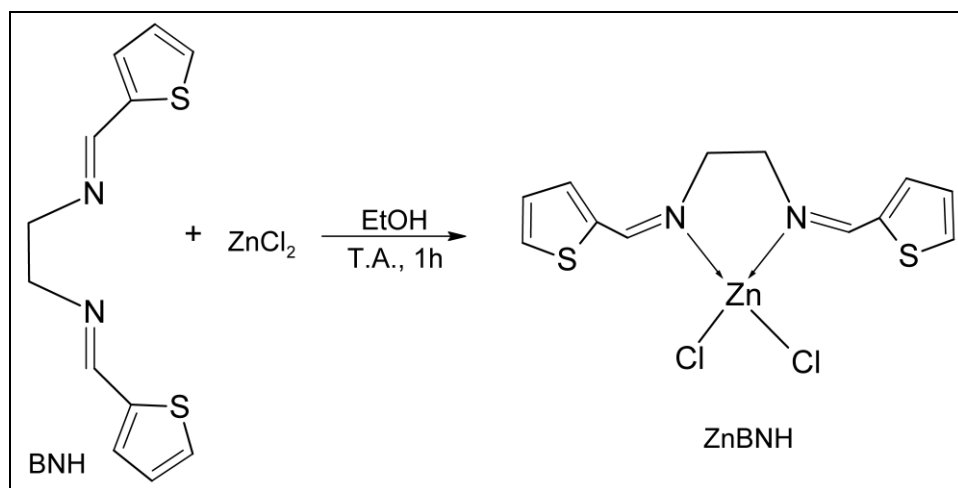


Figura 15: Esquema da reação de formação e estrutura proposta do complexo ZnBNH.

Tabela 5: Dados analíticos do composto ZnBNH

Fórmula (MM, $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Rend %	Cor	PF, °C	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{S}_2\text{Zn}$ (384,68)	86	branco	256,6	37,5 (37,5)	3,27 (3,14)	7,41 (7,28)

3.3.4 – Síntese do sal de ouro(III)

– Síntese do tetracloroaurato(III) de *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)etano-1,2-diamino –
 $[(\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{H})[\text{AuCl}_4]_2 - \text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

Foram solubilizados em 3 mL de água 0,190 g de tetracloroaurato(III) de potássio (0,50 mmol). Em 6 mL de água foram solubilizados 0,162 g do ligante $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$ (0,50 mmol). Sob agitação constante, a solução do ligante foi adicionada sobre a solução de ouro(III), havendo, de imediato, a formação de precipitado amarelo.

O meio reacional ficou sob agitação à temperatura ambiente por 10 minutos. O composto foi filtrado em papel de filtro e mantido em dessecador, apresentando rendimento de 41%. O esquema da reação desta síntese está apresentado na Figura 16. Os dados analíticos do $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$ são descritos na Tabela 6.

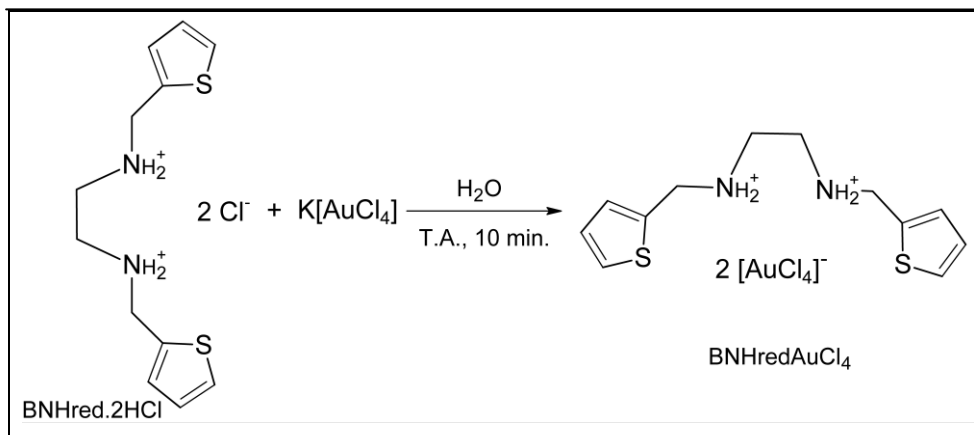


Figura 16: Esquema da reação de formação e estrutura proposta do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$.

Tabela 6: Dados analíticos do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

Fórmula (MM, $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Rend %	Cor	PF, $^{\circ}\text{C}$	Análise Elementar		
				Experimental (Calculado), %		
				C	H	N
$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Au}_2\text{Cl}_8\text{N}_2\text{S}_2$ (931,97)	41	Amarelo	173	15,6 (15,5)	2,31 (1,95)	2,91 (3,01)

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE BNH

O ligante descrito como BNH foi caracterizado por análise elementar (C,H,N), (vide Tabela 1), espectroscopias IV, Raman e de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , de ^{13}C e de ^{15}N (HMBC), e por difratometria de raios X de monocristal.

4.1.1 – Difração de raios X por monocristal

O monocristal obtido do ligante teve a sua estrutura resolvida e refinada a partir do método monocristal. A estrutura do BNH está ilustrada na Figura 17. O ligante apresenta isomeria *trans* e configuração *E,E*. Esta estrutura está em concordância com a estrutura previamente publicada por Wang e colaboradores em 2007 (WANG *et al.*, 2007). Os principais dados cristalográficos deste ligante estão descritos na Tabela 7 enquanto as distâncias e ângulos das ligações são descritos na Tabela 8.

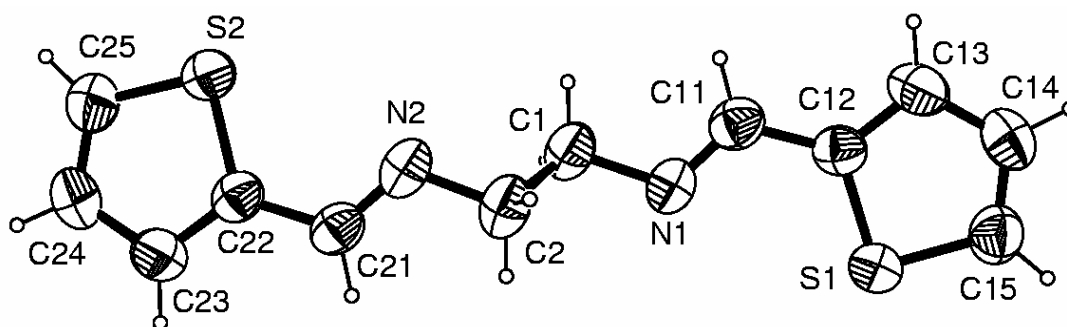


Figura 17: Estrutura do ligante BNH projetada no ORTEP-3.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 7: Dados cristalográficos do ligante BNH

Formula Molecular	$C_{12}H_{12}N_2S_2$	
Massa Molar	248,36 g.mol ⁻¹	
Temperatura	296(2) K	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	P21	
Parâmetros de Cella	$a = 6,4932(3) \text{ \AA}$	
	$b = 7,4207(5) \text{ \AA}$	$\beta = 101,543(4)^\circ$
	$c = 13,1216(9) \text{ \AA}$	
Volume	619,46(7) Å ³	
Z	2	
Densidade (calculado)	1,331 g/cm ³	

Tabela 8: Distâncias e ângulos das ligações do ligante BNH

Distâncias, Å			
S(1)-C(12)	1,704(4)	C(11)-C(12)	1,455(5)
S(1)-C(15)	1,707(4)	C(12)-C(13)	1,360(5)
S(2)-C(25)	1,695(4)	C(13)-C(14)	1,404(6)
S(2)-C(22)	1,711(4)	C(14)-C(15)	1,325(6)
N(1)-C(11)	1,249(5)	C(21)-C(22)	1,448(5)
N(1)-C(1)	1,476(5)	C(22)-C(23)	1,371(5)
N(2)-C(21)	1,259(5)	C(23)-C(24)	1,414(6)
N(2)-C(2)	1,453(4)	C(24)-C(25)	1,330(6)
C(1)-C(2)	1,499(6)		
Ângulos, °			
C(12)-S(1)-C(15)	91,21(19)	C(12)-C(13)-C(14)	112,7(4)
C(25)-S(2)-C(22)	91,2(2)	C(15)-C(14)-C(13)	112,4(3)
C(11)-N(1)-C(1)	117,7(3)	C(14)-C(15)-S(1)	122,1(3)
C(21)-N(2)-C(2)	118,3(3)	N(2)-C(21)-C(22)	127,3(4)
N(1)-C(1)-C(2)	110,6(3)	C(23)-C(22)-C(21)	111,3(3)
N(2)-C(2)-C(1)	109,3(3)	C(23)-C(22)-S(2)	121,2(3)
N(1)-C(11)-C(12)	121,9(4)	C(21)-C(22)-S(2)	111,7(4)
C(13)-C(12)-C(11)	127,2(4)	C(22)-C(23)-C(24)	112,7(4)
C(13)-C(12)-S(1)	111,1(3)	C(25)-C(24)-C(23)	113,1(3)
C(11)-C(12)-S(1)	121,7(3)	C(24)-C(25)-S(2)	112,7(4)

4.1.2 – Espectroscopia Vibracional de Absorção na região do Infravermelho e espalhamento Raman

O espectro de absorção na região do IV do BNH e algumas de suas respectivas bandas de absorção estão apresentados na Figura 18, que apresenta frequências típicas do grupo imínico, indicando que houve a formação do ligante proposto.

A banda em 3099 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C-H do anel tiofênico (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012), a banda em 2926 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C-H alifático (ESMELINDRO *et al.*, 2006), a banda em 2848 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C-H de imina (NAKAMOTO, 2009), a banda em 1630 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C=N (NAKAMOTO, 2009), a banda em 1457 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial C=C do anel tiofênico (AZARIFAR, 2010 e NAKAMOTO, 2009), a banda em 1215 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C-N alifático (ESMELINDRO *et al.*, 2006), a banda em 954 cm^{-1} corresponde a deformação angular de C-H aromático no plano (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012), a banda em 859 cm^{-1} corresponde ao estiramento axial de C-S (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012), e a banda em 714 cm^{-1} corresponde a deformação angular de C-H aromático fora do plano (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012).

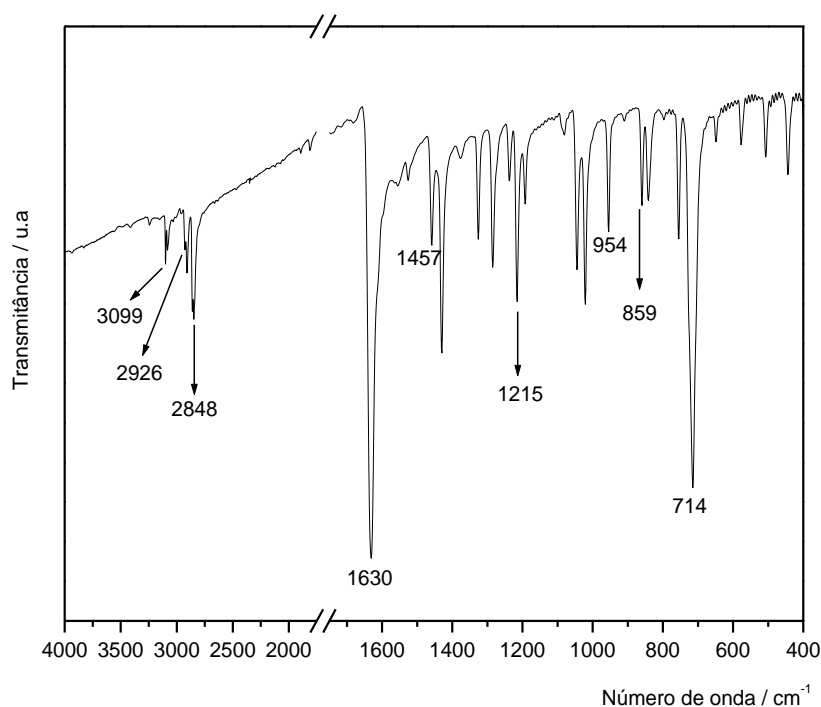


Figura 18: Espectro no IV do ligante BNH.

O espectro Raman do BNH com suas respectivas bandas está representado na Figura 19, e na Tabela 9 estão apresentadas as bandas observadas nos espectros IV e Raman, com suas respectivas propostas de atribuições.

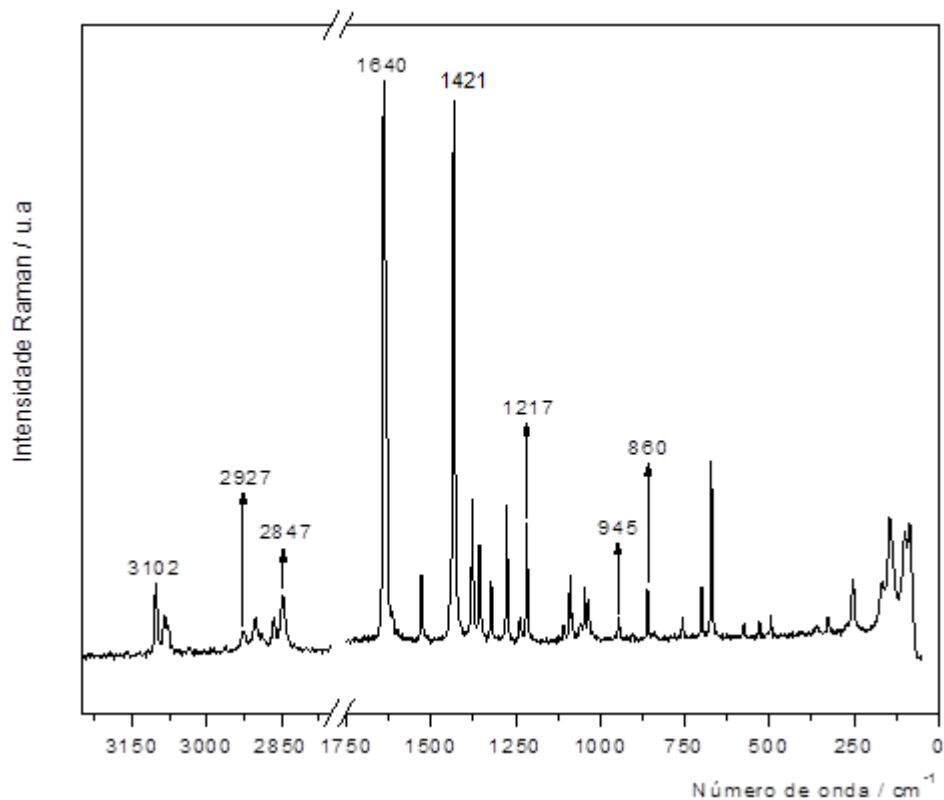


Figura 19: Espectro Raman do ligante BNH.

Tabela 9: Bandas observadas nos espectros IV e Raman com suas respectivas atribuições para o BNH

IV, cm^{-1}	Raman, cm^{-1}	Atribuição
3099	3102	$\nu\text{C-H Ar}$
2926	2927	$\nu\text{C-H alifático}$
2848	2847	$\nu\text{C-H imina}$
1630	1640	$\nu\text{C=N}$
1457	1421	$\nu\text{C=CAr}$
1215	1217	$\nu\text{C-N alifático}$
954	945	$\delta\text{C-H Ar no plano}$
859	860	$\nu\text{C-S}$
714		$\delta\text{C-H Ar fora do plano}$

4.1.3 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H e os dados dos hidrogênios estão apresentados na Figura 20 e na Tabela 10 respectivamente.

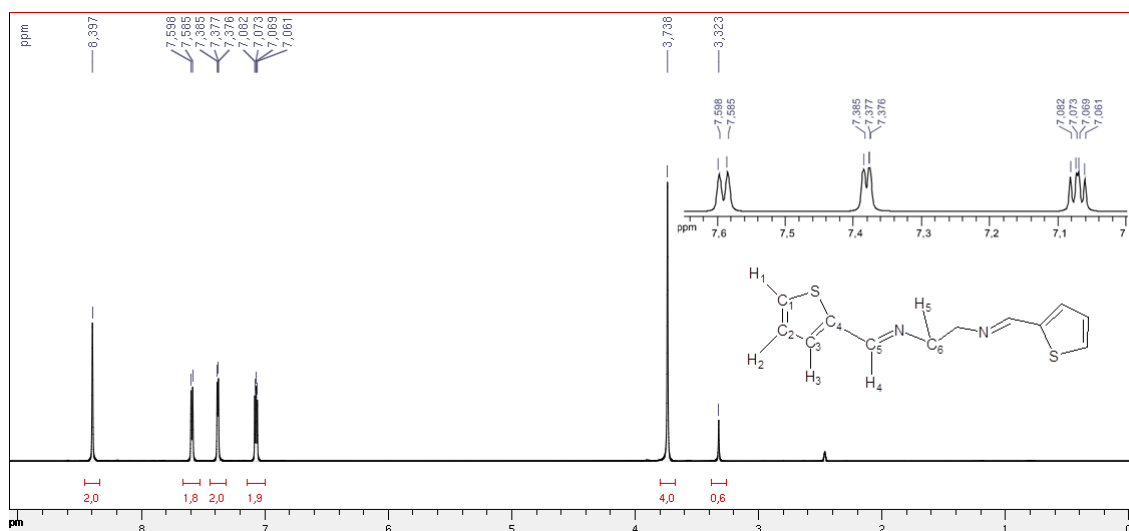


Figura 20: Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do ligante BNH.

Tabela 10: Sinais observados no espectro de RMN de ^1H do ligante BNH

δ , ppm	Hidrogênio	Multiplicidade	Integral
8,40	H ₄	Simpleto	2,0
7,59	H ₃	Dupleto	1,8
7,38	H ₁	Dupleto	2,0
7,07	H ₂	dupleto duplo	1,9
3,73	H ₅	Simpleto	4,0

δ : deslocamento químico

O hidrogênio ligado ao átomo de carbono imínico (H₄), por ser o hidrogênio menos blindado, apresenta-se com maior deslocamento químico, por sua vez os hidrogênios ligados ao átomo de carbono alifático (H₅) apresentam-se com menor deslocamento químico, uma vez que são mais blindados. Os hidrogênios aromáticos (H₁, H₂ e H₃) apresentam-se na região característica de aromáticos (7,0 – 7,6 ppm).

RMN de ^{13}C

O espectro de RMN de ^{13}C do BNH está representado na Figura 21. O espectro apresenta seis átomos de carbono quimicamente diferentes, sendo que o carbono imínico (C_5) apresenta maior deslocamento químico (155,6 ppm). O carbono aromático desprotonado (C_4) apresenta-se com δ de 142,2 ppm, os demais átomos de carbono aromáticos (C_1 , C_2 e C_3) apresentam δ na região característica de aromáticos (131,2 – 127,7 ppm), o carbono alifático (C_6) por ser o átomo de carbono mais blindado apresenta menor deslocamento químico, na ordem de 60,4 ppm.

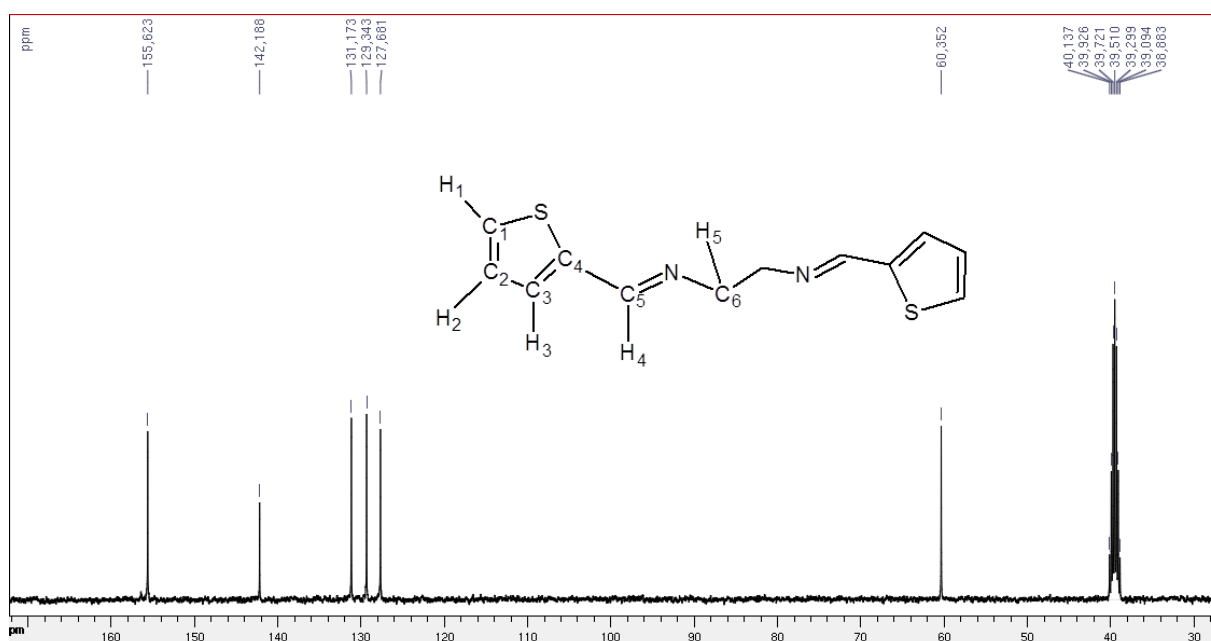


Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C em $\text{DMSO-}d_6$ do ligante BNH.

RMN DEPT 135°

O espectro de RMN DEPT 135° do BNH está representado na Figura 22.

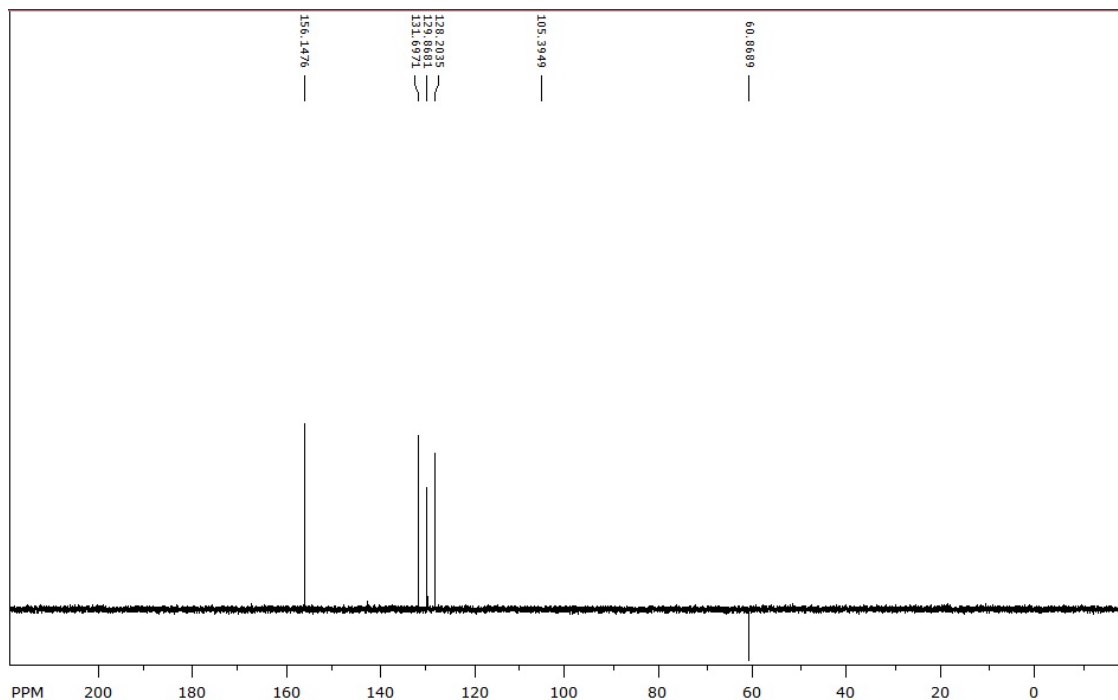


Figura 22: Espectro de RMN DEPT 135° em DMSO_{d6} do ligante BNH.

Com esta técnica foi possível comprovar que o sinal em 142,2 ppm (RMN de ^{13}C) é referente ao carbono aromático desprotonado (C_4), uma vez que não há sinal nesta região do espectro. O sinal invertido na região de 60 ppm é referente ao carbono alifático ligado a dois átomos de hidrogênio.

RMN NOESY

O espectro de RMN NOESY do ligante BNH está representado na Figura 23. Os dados da correlação espacial dos núcleos de ^1H - ^1H mostram que todos os prótons estão correlacionados espacialmente entre si.

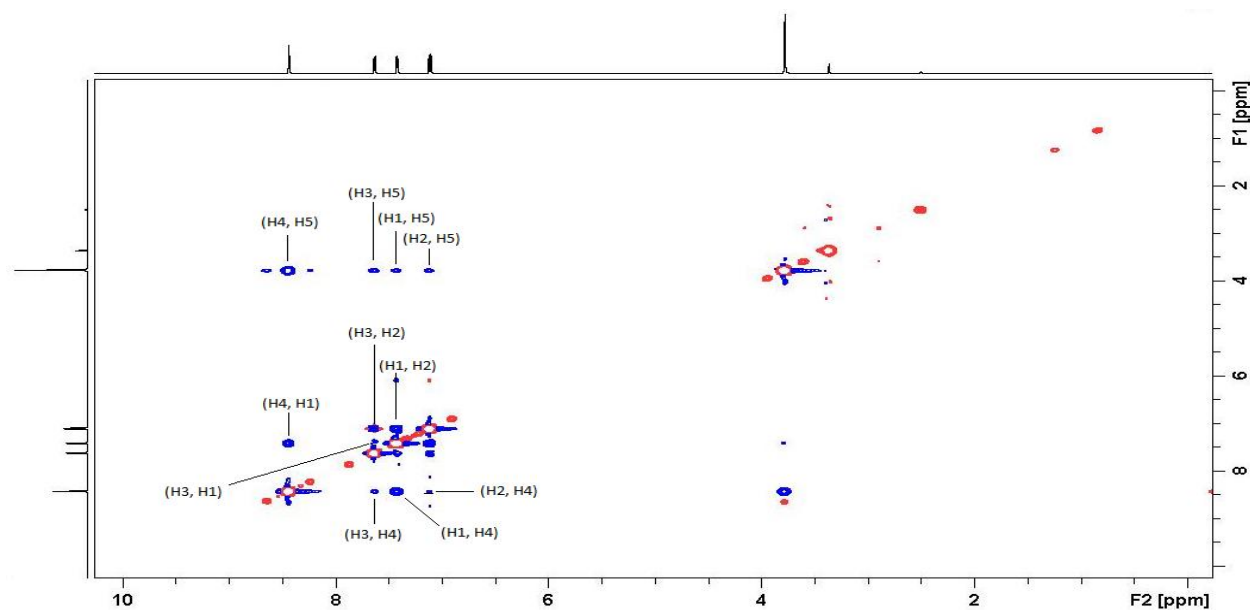


Figura 23: Espectro de RMN NOESY em DMSO_{d6} do ligante BNH.

RMN de ^1H - ^{15}N HMBC

O espectro de ^1H - ^{15}N HMBC do ligante BNH está representado na Figura 24. Com os dados obtidos com esta técnica, verificou-se a correlação dos átomos de hidrogênio H_4 ($\delta \sim 8,4$ ppm) e H_5 ($\delta \sim 3,7$ ppm) com o átomo de nitrogênio, onde o mesmo apresentou δ de 323,8 ppm.

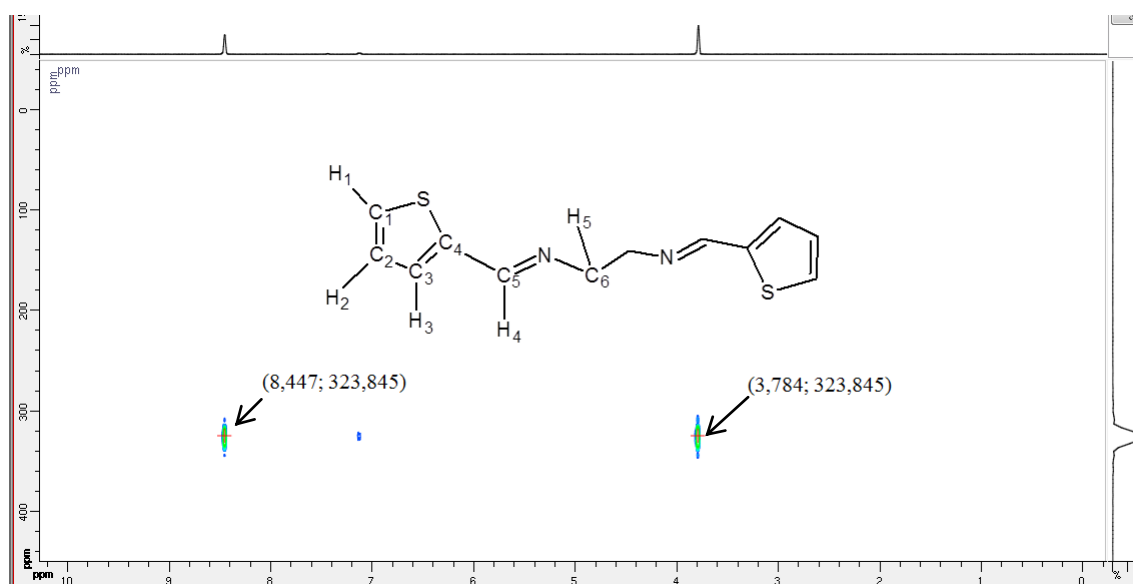


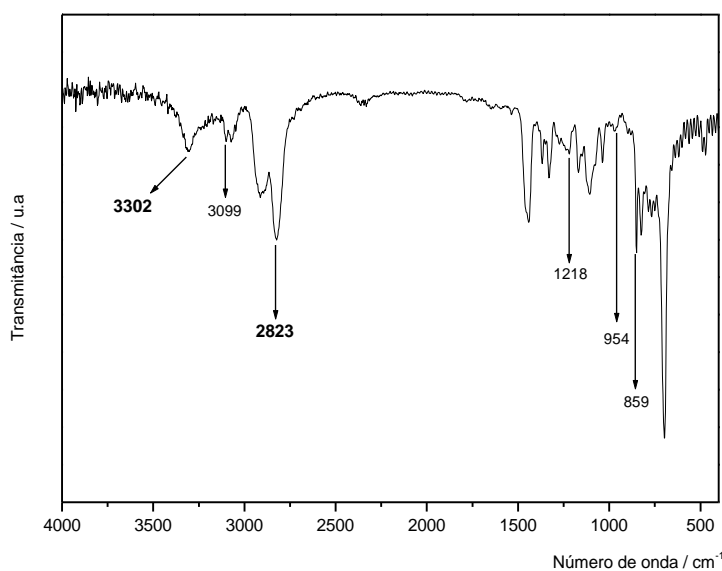
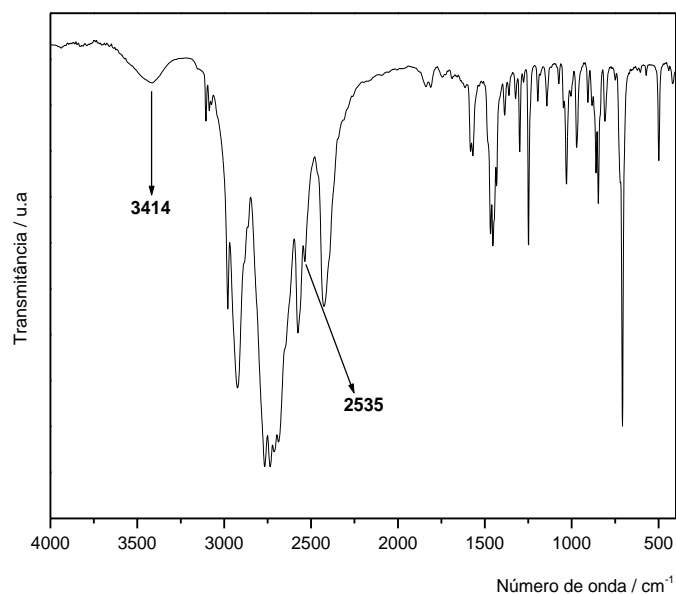
Figura 24: Espectro de RMN ^1H - ^{15}N HMBC em DMSO_{d6} do ligante BNH.

4.2 – CARACTERIZAÇÃO DO LIGANTE $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$

O composto descrito como $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ foi caracterizado por análise elementar (C,H,N) (vide Tabela 2) e espectroscopias IV e de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .

4.2.1 - Espectroscopia Vibracional de Absorção na região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do IV dos compostos BNH_{red} e $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ estão representados nas Figuras 25 e 26, respectivamente.

Figura 25: Espectro no IV do composto BNH_{red} .Figura 26: Espectro no IV do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$.

Há de se destacar nos dois espectros a ausência de banda na região de 1630 cm^{-1} , referente ao grupo imínico. Destacam-se também as bandas em 3302 cm^{-1} e 3414 cm^{-1} referentes ao estiramento de N-H nos espectros de BNH_{red} e $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$, respectivamente. No espectro da Figura 26 destacam-se as bandas na região entre 2400 e 2900 cm^{-1} , principalmente a banda em 2535 cm^{-1} referente ao estiramento de NH_2^+ indicando formação do cloridrato (RODRIGUES *et al.*, 2013).

4.2.2 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H do ligante $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$ e suas atribuições estão representados na Figura 27 e na Tabela 11.

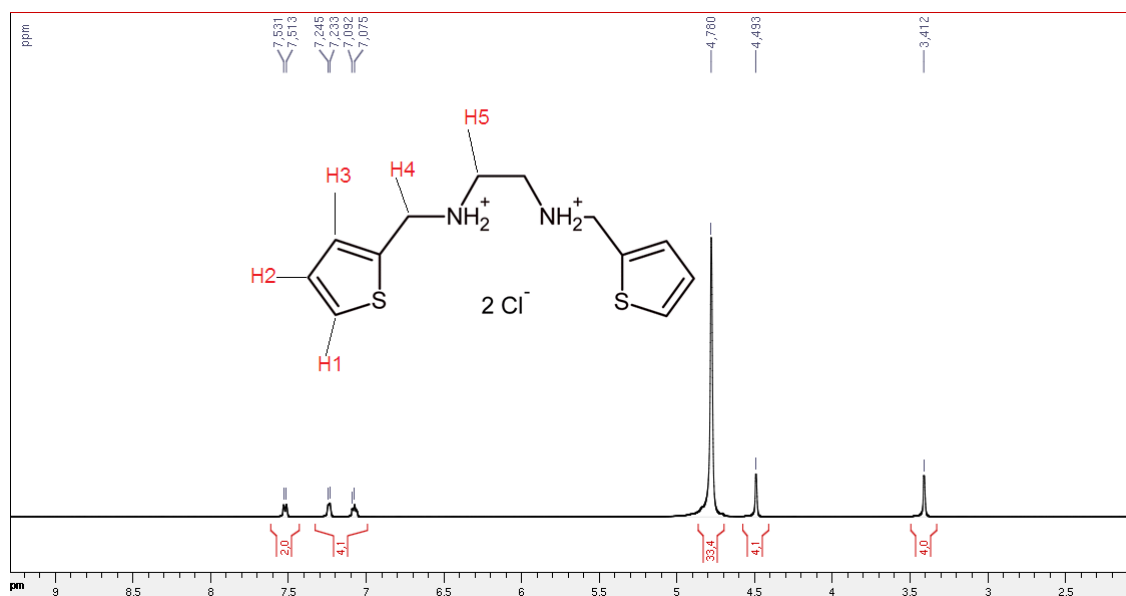


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H em D_2O do ligante $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$.

Tabela 11: Sinais observados no espectro de RMN de ^1H do ligante $\text{BNH}_{\text{red}}\cdot 2\text{HCl}$

δ , ppm	Próton
7,52	H ₃
7,24	H ₁
7,08	H ₂
4,49	H ₄
3,41	H ₅

δ : deslocamento químico

Comparando-se o deslocamento químico do sinal do H₄ entre os ligantes BNH e BNH_{red}·2HCl, mesmo que em solventes diferentes, observa-se que o H₄ teve deslocamento expressivo, passando de 8,39 ppm (Tabela 10) na imina para 4,49 ppm (Tabela 11) no cloridrato, indicando que houve a redução da imina inicial.

RMN de ¹³C

O espectro de RMN de ¹³C do ligante BNH_{red}·2HCl e suas atribuições estão representados na Figura 28 e na Tabela 12, respectivamente.

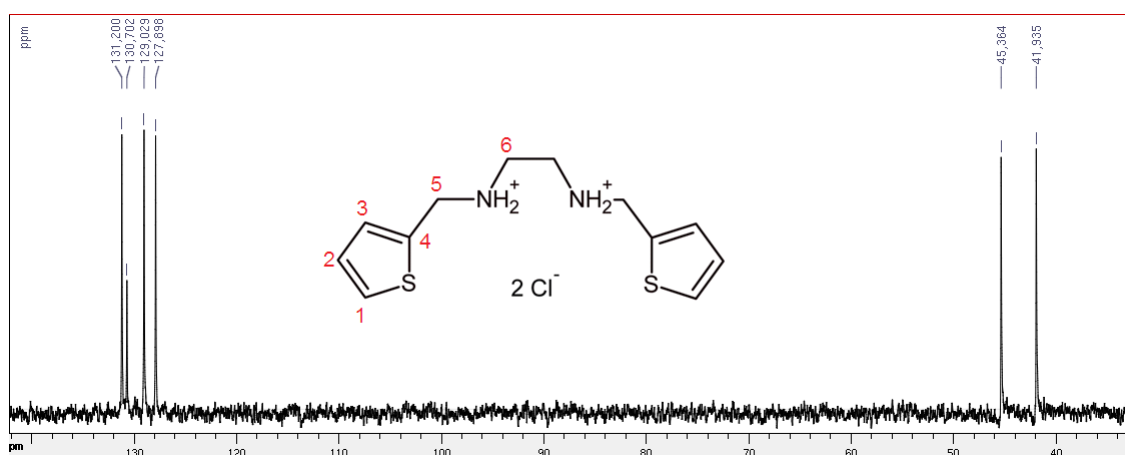


Figura 28: Espectro de RMN de ¹³C em D₂O do ligante BNH_{red}·2HCl.

Tabela 12: Sinais observados no espectro de RMN de ¹³C do ligante BNH_{red}·2HCl

δ , ppm	Carbono
130,7	C4
131,2	C1
45,36	C5
41,93	C6
129,9, 127,9	C2, C3

δ : deslocamento químico

Comparando-se o deslocamento químico do sinal do C₅ entre os ligantes BNH e BNH_{red}·2HCl, observa-se que o mesmo deslocou de 155,6 ppm na imina (Figura 21) para 45,3 ppm no cloridrato. A grande variação do sinal deste carbono (C₅), mesmo que em diferentes solventes, confirma que houve a redução da imina inicial.

4.3 – CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO AgBNH

O complexo descrito como AgBNH foi caracterizado por análises elementar (C,H,N) (vide Tabela 3) e térmica (TG/DTA), espectroscopias IV, Raman e de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C e sua estrutura cristalina foi determinada e refinada a partir de dados de difratometria de raios X do composto em sua forma policristalina.

4.3.1 – Análise Térmica – Termogravimétrica e Diferencial – TG / DTA

O composto apresentou três perdas de massa distintas, na qual seus intervalos de temperatura e variação de massa (Δm) estão apresentados na figura 29 e Tabela 13.

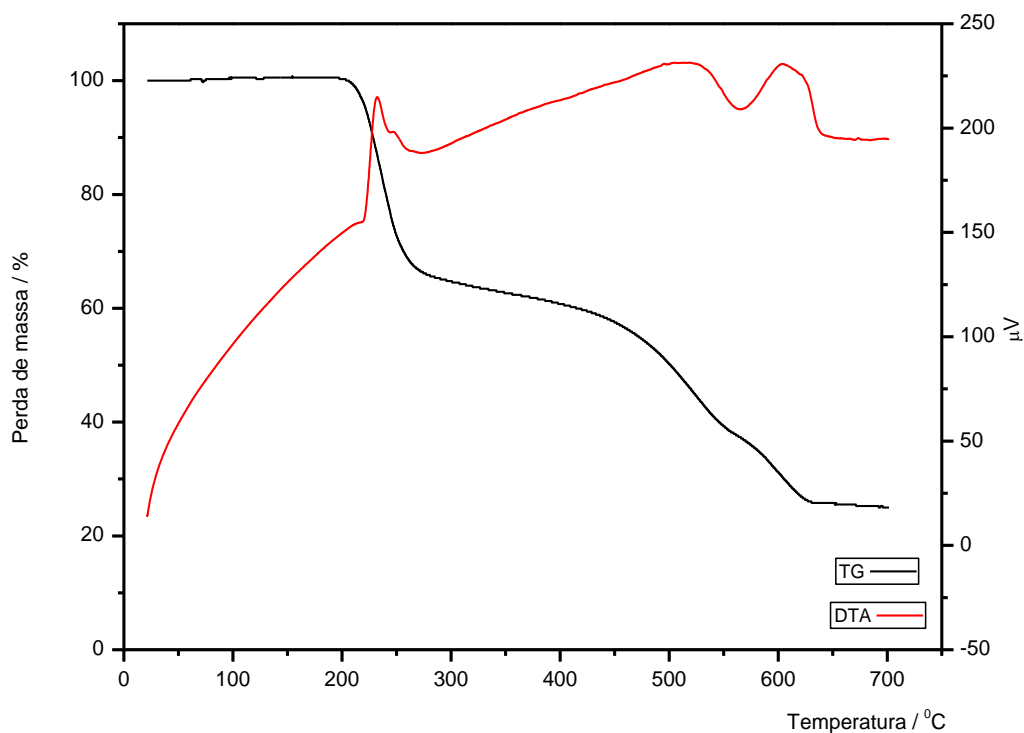


Figura 29: Curvas TG / DTA do complexo AgBNH.

Tabela 13: Dados da termogravimetria para o complexo AgBNH

Intervalo de temperatura / °C	Δm / %
201 – 287	- 34,6
287 – 554	- 26,7
554 – 701	- 13,6
Resíduo final experimental	25,1
Resíduo final calculado como sendo Ag^0	25,8

A possível decomposição térmica do AgBNH – $[Ag(NO_3)(C_{12}H_{12}N_2S_2)]$ está representada no diagrama da Figura 30.

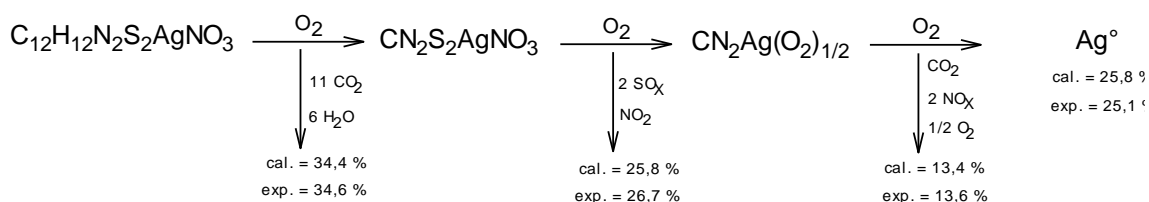


Figura 30: Diagrama da possível decomposição térmica do AgBNH.

A maior perda de massa do composto, 61% em um total de 75%, ocorreu no intervalo de temperatura entre 201 – 554 °C, neste intervalo de temperatura a curva DTA apresenta comportamento exotérmico, que pode corresponder à degradação oxidativa da parte orgânica do composto, com dois picos exotérmicos distintos, um em 232 °C e o outro em 247 °C. Na curva DTA há um pico endotérmico em 565 °C, que pode ser referente à redução da Ag^+ à Ag^0 .

4.3.2 – Estrutura cristalina do AgBNH

O complexo AgBNH cristaliza-se em um sistema monoclinico, com grupo espacial $P2_1/c$. Os parâmetros de rede cristalina estão descrito na Tabela 2314 e as principais distâncias e ângulos das ligações são descritas na

Tabela 2415. A estrutura do complexo AgBHN é descrita na Figura 3231.

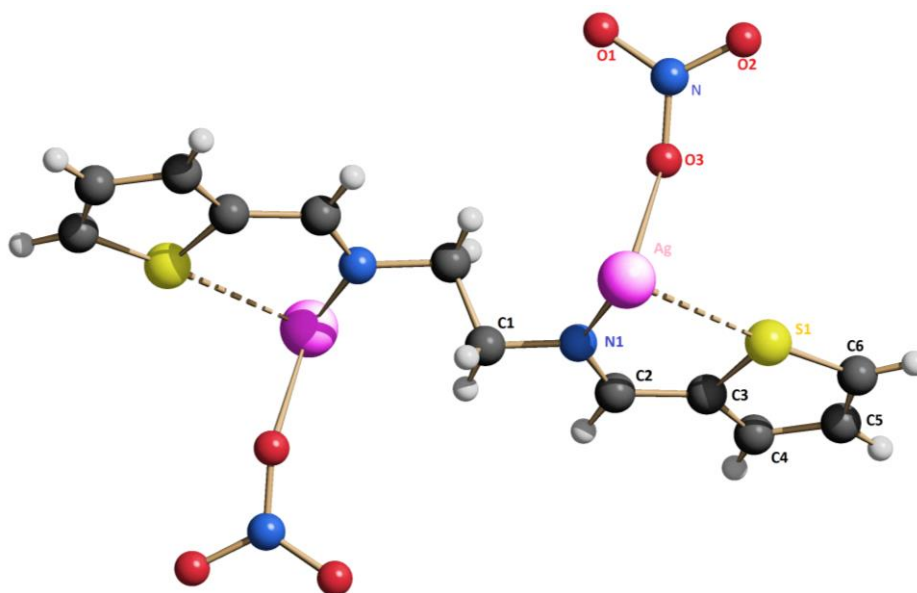


Figura 31: Estrutura cristalina do AgBNH onde os átomos da unidade assimétrica foram nomeados. A desordem do íon nitrato não é descrita. Os átomos de hidrogênio, em cinza-claro, não estão nomeados. Projeção obtida com o programa Schakal (KELLER, 1986).

Tabela 14: Parâmetros cristalinos do complexo AgBNH

Fórmula Molecular	$C_{12}H_{12}AgN_3O_3S_2$
Massa Molar	418,24 g.mol ⁻¹
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	P2 ₁ /c
$a(\text{Å})$	15,6580(7)
$b(\text{Å})$	7,2110(3)
$c(\text{Å})$	6,4972(3)
$\beta(^{\circ})$	92,757(3)
$V(\text{Å}^3)$	732,75(6)
Z	2
$d(\text{calc})(\text{g}/\text{cm}^3)$	1,896
$\mu (\text{mm}^{-1})$	13,88
Número de Parâmetros	34
R_w, R_{wp}	4,683 / 9,895
Goodness-on-fit (GOF)	12,710

Tabela 15: Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo AgBNH

Ag	O3	2,4776	N1	C2	1,2490
Ag	N1	2,2173	C6	S1	1,7070
Ag	S1	2,9190	S1	C3	1,6968
N	O1 (O2 ou O3)	1,3184	S1	Ag	2,9190
C1	N1	1,4760			
N1 -- Ag -- S1		70,5°	C -- S -- C		91,2°
N1 -- Ag -- O3		87,3°			

A estrutura cristalina do complexo polimérico AgBNH está descrita na Figura 32. Nota-se que a coordenação do ligante BNH ao íon metálico não ocorre de forma trivial. Inicialmente, se pensou que os dois átomos de nitrogênio imínicos presentes no BNH estariam coordenados ao mesmo íon de prata(I), formando um complexo quelato. No entanto, os dois nitrogênios imínicos presentes coordenam-se a diferentes íons Ag(I), dando origem a um polímero.

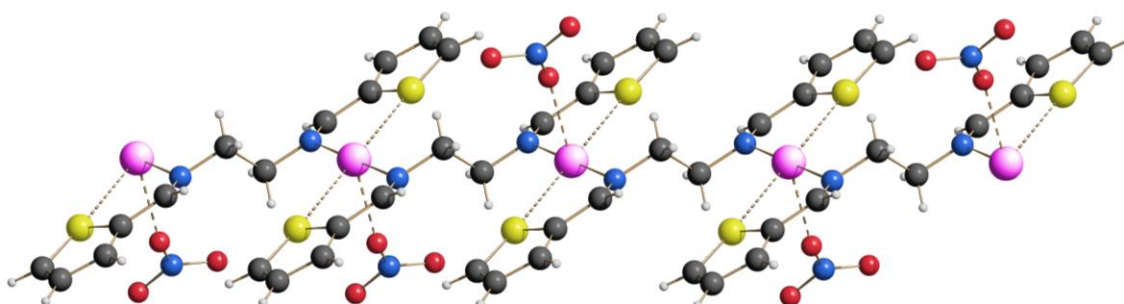


Figura 32: Estrutura cristalina do polímero AgBNH. As cores dos átomos são: C, cinza-escuro, H, cinza-claro, N, azul, S, amarelo, Ag, rosa. Assim como na Figura 31, a desordem no íon nitrato foi omitida. Projeção obtida com o programa Schakal (KELLER, 1986).

A coordenação ao redor do íon de Ag(I) é melhor descrita como tricoordenada, onde cada Ag(I) está coordenado por dois átomos de nitrogênio do grupo imínico de duas moléculas de BNH diferentes e a um oxigênio do grupo nitrato. Outro ponto interessante a ser destacado nesta estrutura é a interação entre os íons de Ag(I) e átomos de enxofre do anel tiofênico. Em um trabalho publicado em 1985, os autores relataram a ligação Ru-S(tiofeno) com distância de 2,408Å (DRAGANJAC, 1985). Com o íon Ag(I) há uma publicação mais recente, de Yu-Bin Dong e colaboradores que relataram a obtenção de complexos de prata(I) hexacoordenada, onde as distâncias Ag-S(tiofeno)

encontradas estão ao redor de 2,9Å (DONG *et al.*, 2006). No complexo AgBNH, a distância Ag(I)-S está em 2,919Å, o que sugere que há uma interação entre o enxofre do grupo tiofeno com o íon de Ag(I), porém esta interação não é considerada por nós como sendo uma ligação S-Ag.

A distância Ag—O—NO₂ no complexo AgBNH foi de 2,478Å, sugerindo que o Nitrato está coordenado ao íon de Ag(I) de forma monodentada. No banco de dados do CSD – *Cambridge Structure Database*, foram encontradas 814 estruturas com a descrição da ligação entre íons de Ag(I) e íons nitrato, através do oxigênio. A média da distância da ligação Ag—O—NO₂ encontrada foi de 2,514Å com desvio padrão de 0,02Å. Portanto, tem-se a convicção de que a distância de 2,478Å para Ag—O—NO₂ pode ser considerada uma ligação típica Ag-O.

4.3.3 - Espectroscopia Vibracional de Absorção na região do Infravermelho e espalhamento Raman

O espectro de absorção na região do IV do complexo AgBNH e algumas de suas respectivas bandas de absorção estão descritos na Figura 33.

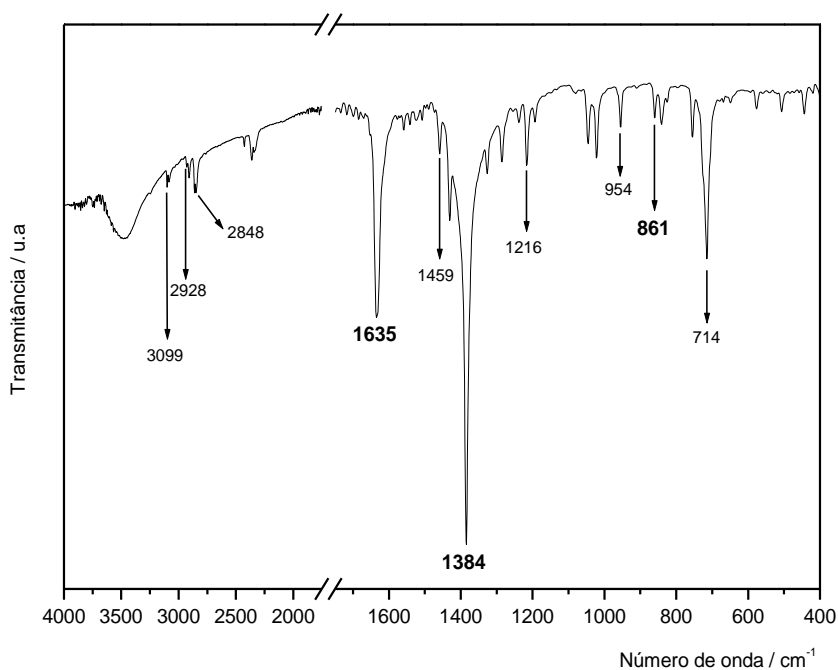


Figura 33: Espectro no IV do complexo AgBNH.

No espectro de IV destaca-se a banda em 1384 cm^{-1} que é referente ao estiramento axial simétrico N-O do íon nitrato (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012), destacam-se também a banda referente ao grupo imínico que foi observada em 1635 cm^{-1} ao invés do observado no ligante BNH em 1630 cm^{-1} , e a banda referente a ligação C-S do anel tiofênico que foi observada em 861 cm^{-1} ao invés do observado no ligante BNH em 859 cm^{-1} . As demais bandas observadas no BNH foram também observadas no complexo AgBNH, porém praticamente com as mesmas absorções.

O espectro Raman do complexo AgBNH está representado na Figura 34.

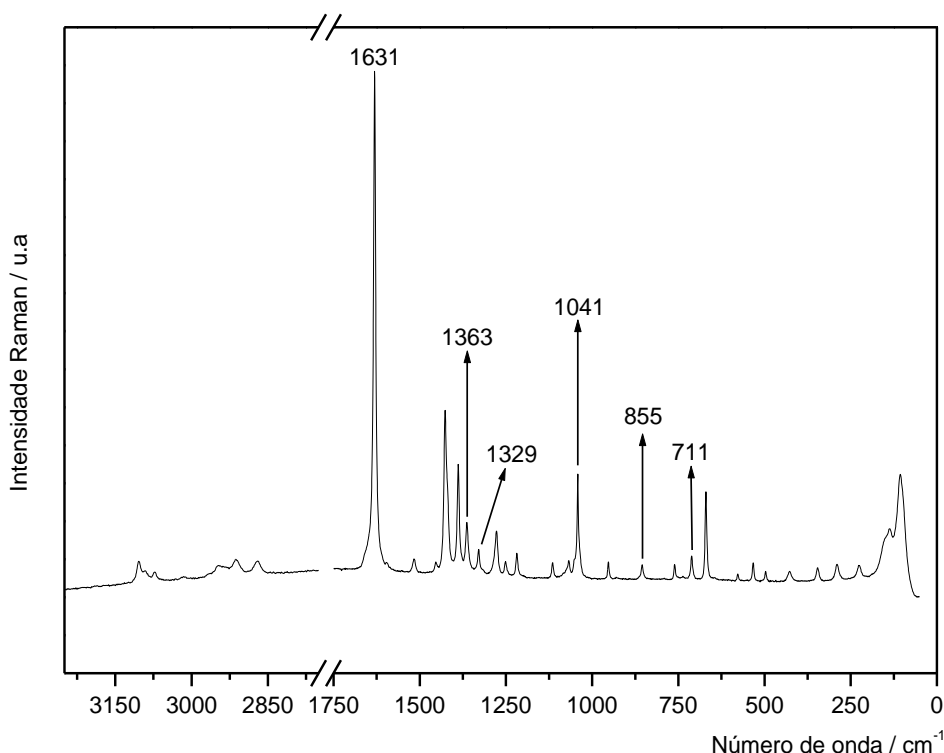


Figura 34: Espectro Raman do complexo AgBNH.

No espectro representado na Figura 34, destacam-se a banda referente ao estiramento do grupo imínico que teve deslocamento de 1640 cm^{-1} para 1631 cm^{-1} , e a banda referente estiramento da ligação C-S do anel tiofênico que teve deslocamento de 860 cm^{-1} para 855 cm^{-1} , dados estes corroboram a estrutura do complexo resolvida, onde o íon metálico interage com os átomos de N imínico e S do tiofeno. Destacam-se também as bandas em 711 cm^{-1} referente à deformação angular fora do plano de ONO_2^- , as bandas em 1041 cm^{-1} e 1363 cm^{-1} referentes ao estiramento axial de ONO_2^- (PEREIRA, D. C. *et al.*, 2006). A banda em 1329 cm^{-1} é referente ao ONO_2^- , que

aparece somente quando há uma grande interação do íon nitrato com uma matriz inorgânica, pois o íon nitrato livre apresenta grupo pontual D_{3h} e representação irreduzível $\Gamma = A_1' + A_2'' + 2E$, porém quando este íon se coordena, a simetria do grupo passa a ser C_{2v} , havendo quebra da degenerescência do modo E. Quando o íon nitrato está monocoordenado a esta matriz inorgânica a banda que apareceria no Raman em $\sim 717 \text{ cm}^{-1}$ (NO_3^- livre) referente a deformação angular fora do plano é dividida em quatro bandas que aparecem na faixa entre 1330 cm^{-1} e 1430 cm^{-1} (PEREIRA, D. C. *et al.*, 2006), fato este é uma evidência de que o íon nitrato está monocoordenado a Ag(I). As demais bandas observadas no espectro Raman do BNH foram também observadas no complexo AgBNH.

4.3.4 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H do complexo AgBNH está representado na Figura 35 enquanto os valores dos sinais com as atribuições estão descritos na Tabela 16.

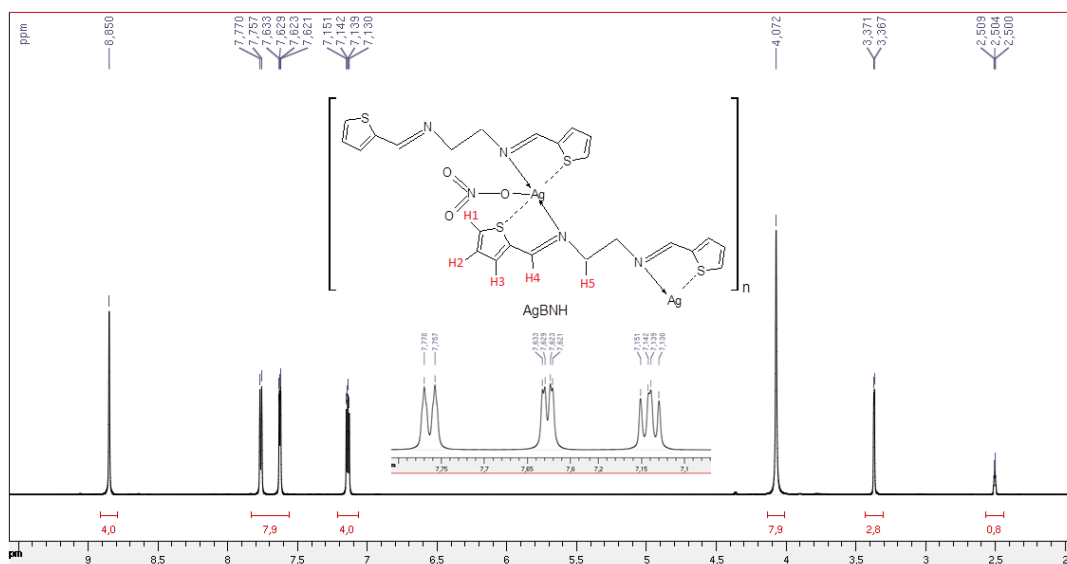


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H em $\text{DMSO-}d_6$ do complexo AgBNH.

Tabela 16: Sinais observados nos espectros de RMN de ^1H do complexo AgBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições

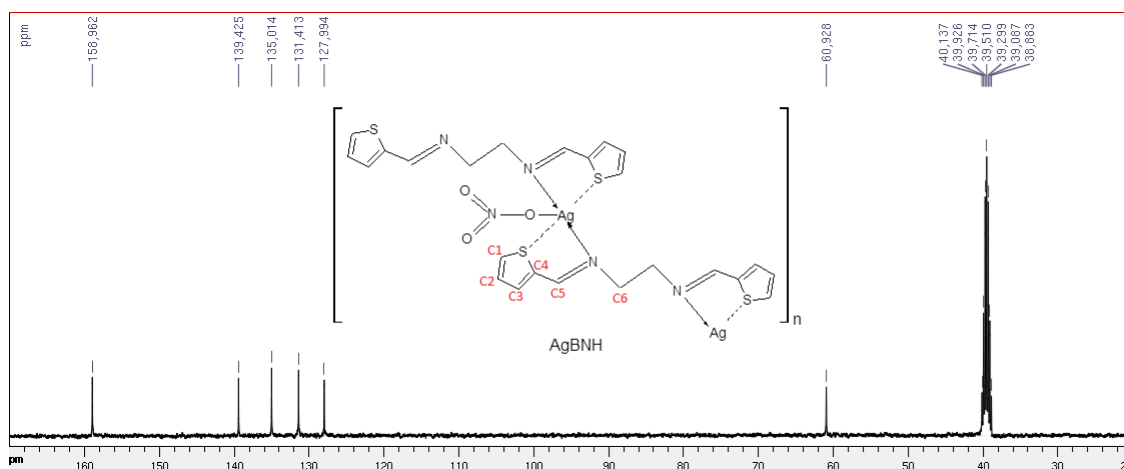
Hidrogênio	AgBNH, δ ppm	BNH, δ ppm	Δ , ppm
H ₄	8,85	8,39	0,46
H ₃	7,76	7,59	0,17
H ₁	7,62	7,38	0,24
H ₂	7,14	7,07	0,07
H ₅	4,07	3,73	0,34

δ : deslocamento químico

As atribuições dos hidrogênios H₄, H₅ e H₂ aos seus respectivos sinais foram feitas sem maiores dificuldades no ligante BNH, porém havia certa dúvida quanto à atribuição dos sinais referentes aos hidrogênios H₁ e H₃. Sabendo-se da coordenação do ligante ao íon metálico através do nitrogênio (N) e da interação com o enxofre (S) no complexo AgBNH, era de se esperar que o H₁, próton ligado ao C _{α} ao átomo de S, apresenta-se maior deslocamento de seu sinal, sendo assim as atribuições dos prótons H₁ e H₃ foram feitas.

RMN ^{13}C

O espectro de RMN de ^{13}C do complexo AgBNH está representado na Figura 36. As atribuições dos carbonos do complexo AgBNH podem ser conferidas na Tabela 17.



As atribuições dos sinais referentes aos carbonos C₄, C₅ e C₆ foram feitas sem grandes dificuldades no ligante BNH. Sabendo-se da estrutura do complexo AgBNH, era de se esperar o C_α ao átomo de S (C₁) apresenta-se maior deslocamento de seu sinal em relação aos C₂ e C₃.

Tabela 17: Sinais observados nos espectros de RMN de ¹³C do complexo AgBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições

Carbono	AgBNH, δppm	BNH, δppm	Δ, ppm
C ₅	158,9	155,6	3,3
C ₄	139,4	142,2	2,8
C ₁	135,0	131,2	3,8
C ₆	60,9	60,3	0,6
C ₂ ,C ₃	131,4; 128,0	129,3; 127,7	2,1; 0,3

4.4 – CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO Ag(BNH)₂

O complexo descrito como Ag(BNH)₂ foi caracterizado por Análises Elementar (C,H,N) (vide Tabela 4) e térmica (TG/DTA), espectroscopias IV, Raman e de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H, de ¹³C e difratometria de raios X – método policristalino.

4.4.1 – Difratometria de raios X por policristais

O complexo Ag(BNH)₂ cristaliza-se em um sistema monoclinico, com grupo espacial Cc. Os parâmetros de rede cristalina estão descrito na Tabela 2318 e as principais distâncias e ângulos das ligações são descritas na

Tabela 2419. A estrutura do complexo Ag(BNH)₂ é descrita na Figura 4537.

Na estrutura do Ag(BNH)₂ o ligante atua de forma bidentada (ou quelato), sendo o íon Ag(I) tetracoordenado pelos átomos de nitrogênio imínicos de duas moléculas de BNH e tendo como contra-íon o íon nitrato. Também é de se ressaltar a distância entre o centro metálico e os átomos de enxofre dos grupos tiofeno, que, na média, é de 3.3Å (para S1, S2 e S3), uma distância pouco maior que a distância Ag--S no complexo

AgBNH, sugerindo que os grupos tiofenos também interagem com o íon Ag(I) através dos átomos de S no complexo Ag(BNH)₂.

Tabela 18: Parâmetros cristalinos do complexo Ag(BNH)₂

Fórmula Molecular	C ₂₄ H ₂₄ AgN ₅ O ₃ S ₄
Massa Molar	666,60 g.mol ⁻¹
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	Cc
<i>a</i> (Å)	13,7494(3)
<i>b</i> (Å)	14,2278(3)
<i>c</i> (Å)	14,4801(3)
<i>β</i> (°)	88,604(2)
<i>V</i> (Å ³)	2831,83(1)
<i>Z</i>	4
<i>d</i> (calc)(g/cm ³)	1,564
<i>μ</i> (mm ⁻¹)	8,79
Número de Parâmetros	43
<i>R_w</i> , <i>R_{wp}</i>	4,396 / 8,151
Goodness-on-fit (GOF)	12,536

Tabela 19: Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo Ag(BNH)₂

N	O1	1,2200	N2	C21	1,2753
C5	N1	1,2734	N2	Ag	2,3901
N1	C6	1,4683	C22	S2	1,7122
N1	Ag	2,5725	C25	S2	1,7034
S1	C1	1,7097	Ag	N3	2,2341
S1	C4	1,7175	Ag	N4	2,0260
C7	N2	1,4718			
N2 --Ag--N3			N1 --Ag--N3		
131,42°			115,28°		
N2 --Ag--N4			N4 --Ag--N3		
129,82°			83,67°		
N2 --Ag--N1			C1 --S1--C4		
70,89°			91,40°		
N1 --Ag--N4			C22--S2—C25		
132,34°			91,75°		

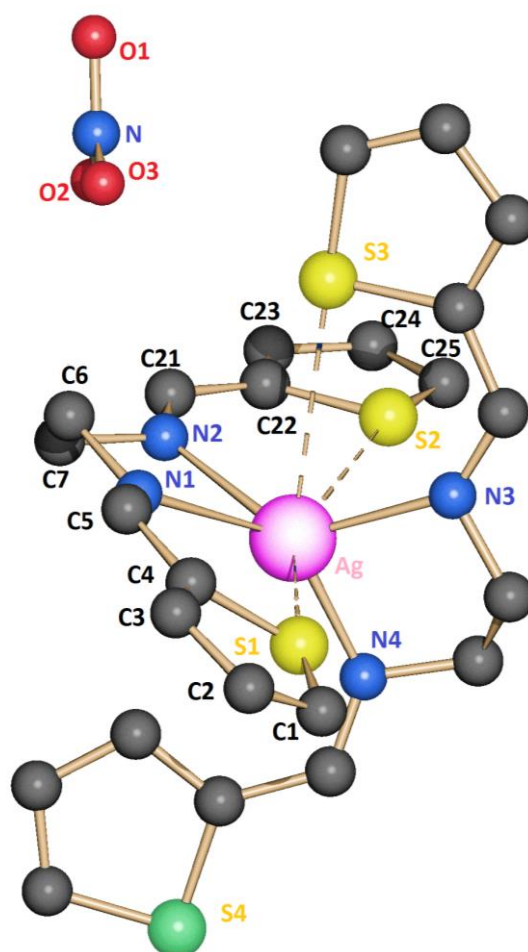


Figura 37: Estrutura cristalina do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhorar a clareza da figura. A desordem do grupo tiofeno destacado (S4, em verde) foi omitida. Projeção obtida com o programa Schakal (KELLER, 1986).

4.4.2 – Análise Térmica – Termogravimétrica e Diferencial – TG / DTA

O composto apresentou quatro perdas de massa distintas. Seus respectivos intervalos de temperatura e variação de massa estão apresentados figura 38 e na Tabela 20. Como se pôde observar, o complexo não estava totalmente seco, apresentando uma pequena porcentagem de isopropanol, solvente utilizado na síntese.

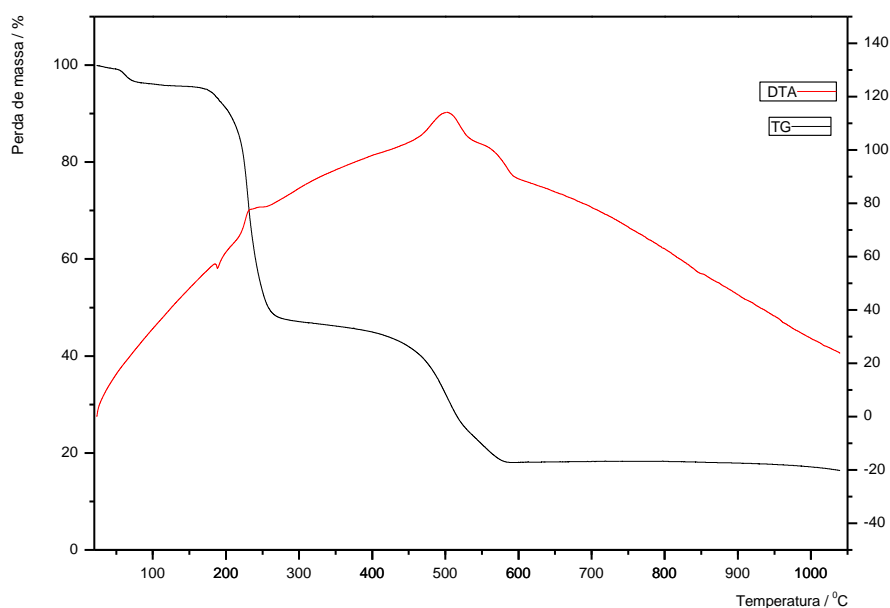


Figura 38: Curvas TG / DTA do complexo Ag(BNH)₂.

Tabela 20: Dados da termogravimetria para o complexo Ag(BNH)₂

Intervalo de temperatura / °C	Δm / %
23 – 174	- 5,0
174 – 326	- 48,3
326 – 522	- 20,5
522 - 1040	- 9,8
Resíduo final experimental	16,4
Resíduo final calculado como sendo Ag ⁰	16,0

A possível decomposição térmica do Ag(BNH)₂ – [Ag(C₁₂H₁₂N₂S₂)₂]NO₃ está representada no diagrama da Figura 39. Como se pode notar, no momento da análise térmica, este composto apresentou resíduo de solvente, no caso o álcool isopropílico, utilizado na síntese desde complexo.

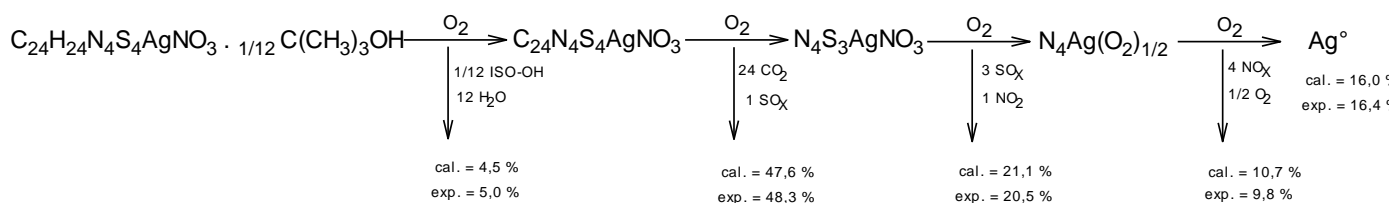


Figura 39: Diagrama da possível decomposição térmica do Ag(BNH)₂.

Na curva DTA há um pico endotérmico em 188 °C referente à fusão do composto. A maior perda de massa do composto ocorreu no intervalo de temperatura entre 23 – 560 °C, neste intervalo de temperatura a curva DTA apresenta comportamento exotérmico, que pode corresponder à degradação oxidativa da parte orgânica do composto, com dois picos exotérmicos distintos, um em 232 °C e outro em 502 °C.

4.4.3 - Espectroscopia Vibracional de Absorção na região do Infravermelho e espalhamento Raman

O espectro de absorção na região do IV do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ e algumas de suas respectivas bandas de absorção estão representados na Figura 40.

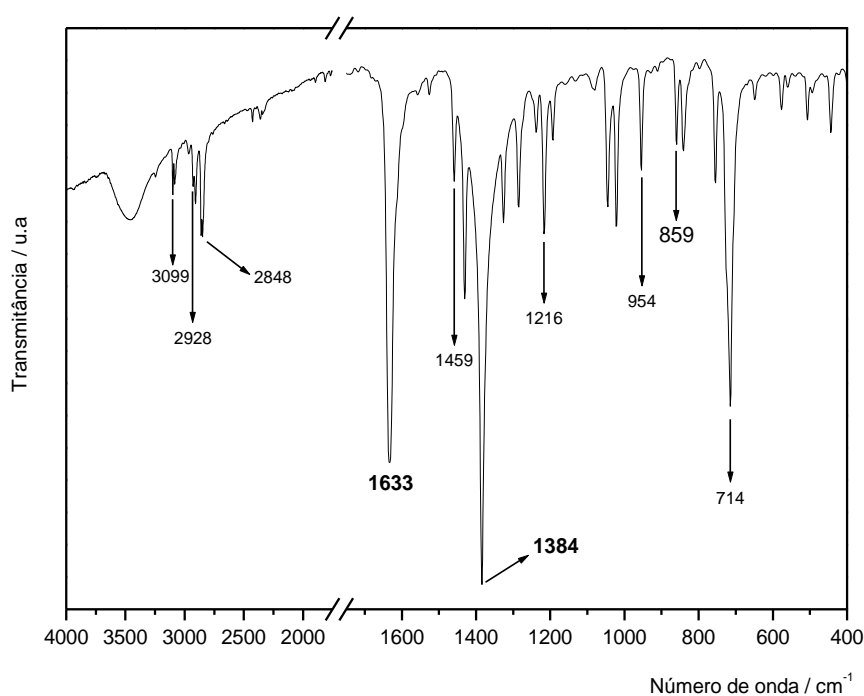


Figura 40: Espectro no IV do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$.

No espectro IV destaca-se a banda em 1384 cm^{-1} que é referente ao estiramento axial simétrico N-O do íon nitrato (PEREIRA, G. A. *et al.*, 2012), destaca-se também a banda referente ao grupo imínico que foi observada em 1633 cm^{-1} ao invés do observado no ligante BNH em 1630 cm^{-1} . As demais bandas observadas no BNH foram

também observadas no complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$, porém praticamente com as mesmas absorções.

O espectro Raman do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ está representado na Figura 41.

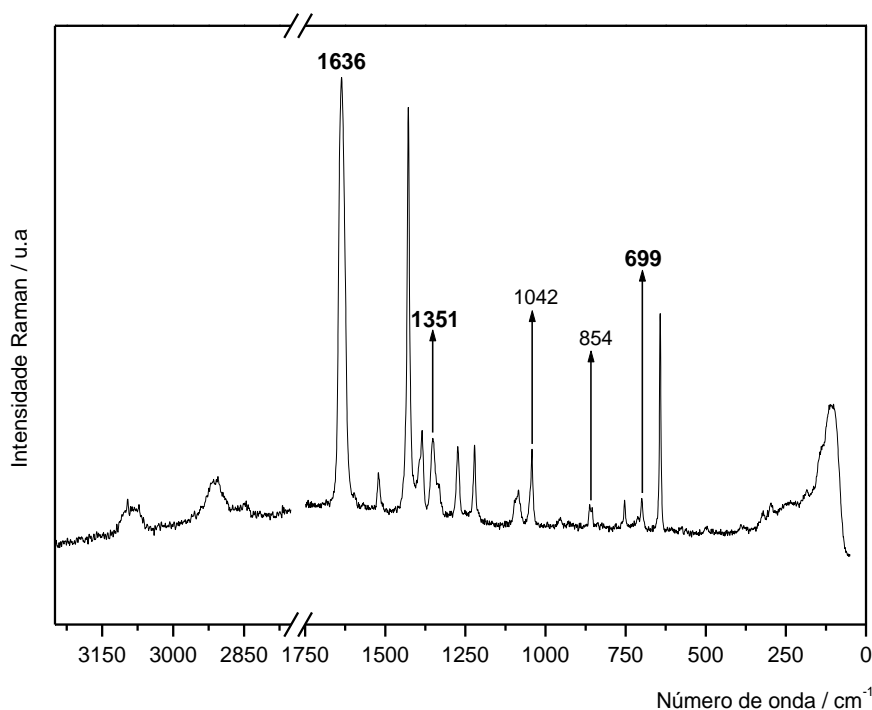


Figura 41: Espectro Raman do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$.

No espectro representado na Figura 41, destaca-se a banda referente ao estiramento do grupo imínico que foi observada em 1636 cm^{-1} ao invés do observado no ligante BNH em 1640 cm^{-1} , sugerindo que o grupo imínico está envolvido na coordenação ao íon de $\text{Ag}(\text{I})$. A banda referente ao estiramento da ligação C-S do anel tiofênico teve deslocamento de 860 cm^{-1} para 854 cm^{-1} , sugerindo que o átomo de S também possui interação com o íon metálico. As bandas características do íon nitrato foram observadas em 699 , 1042 e 1351 cm^{-1} , que por sua vez no complexo AgBNH , onde o íon nitrato está coordenado a prata, foram observadas em 711 , 1041 e 1363 cm^{-1} . A banda característica de nitrato coordenado a matriz inorgânica ($\sim 1329\text{ cm}^{-1}$) não foi observada, este fato e o deslocamento das bandas características do íon nitrato em relação ao complexo AgBNH , evidenciam a possível não coordenação do nitrato a $\text{Ag}(\text{I})$ no complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$.

4.4.4 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ está representado na Figura 42, e as atribuições dos hidrogênios podem ser vistas na Tabela 1721.

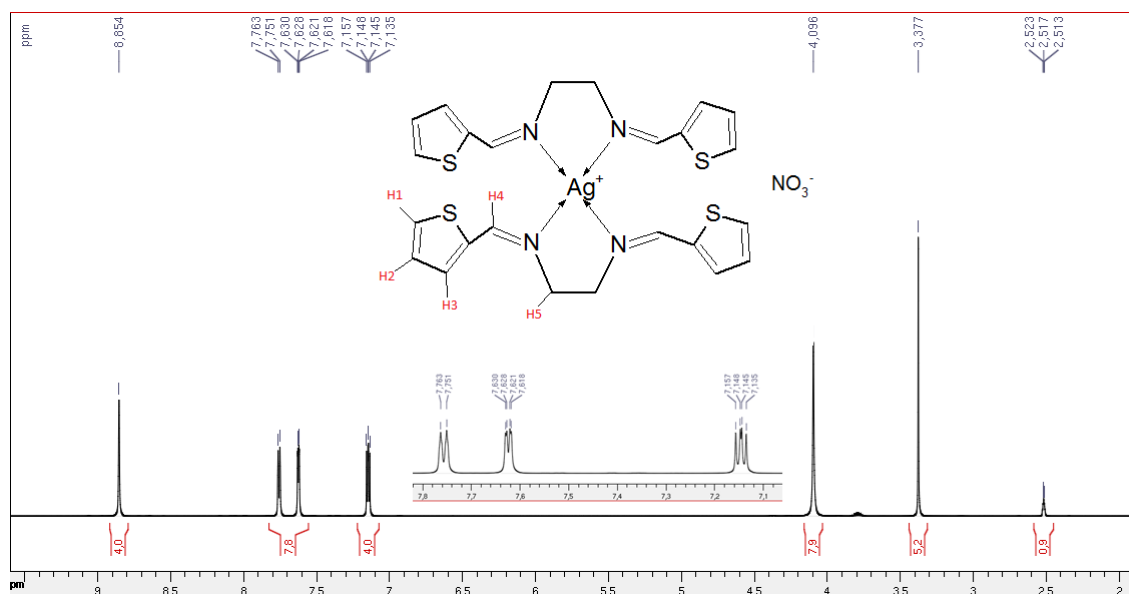


Figura 42: Espectro de RMN de ^1H em DMSO_{d6} do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$.

Tabela 21: Sinais observados nos espectros de RMN de ^1H do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ e do ligante BNH com as respectivas atribuições

Hidrogênio	$\text{Ag}(\text{BNH})_2$, δ ppm	BNH , δ ppm	Δ ppm
H ₄	8,85	8,39	0,46
H ₃	7,76	7,59	0,17
H ₁	7,62	7,38	0,24
H ₂	7,14	7,07	0,07
H ₅	4,09	3,73	0,36

δ : deslocamento químico

O complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ apresentou os mesmos deslocamentos químicos para os sinais de seus hidrogênios, quando comparado com o complexo AgBNH em relação ao ligante BNH , corroborando a evidência já observada na espectroscopia Raman, que a coordenação do ligante à prata ocorre através do N. Também é possível evidenciar que há interação do centro metálico com os átomos de S.

RMN ^{13}C

O espectro de RMN de ^{13}C do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ está representado na Figura 43, e as atribuições dos carbonos do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ podem ser conferidas na Tabela 22.

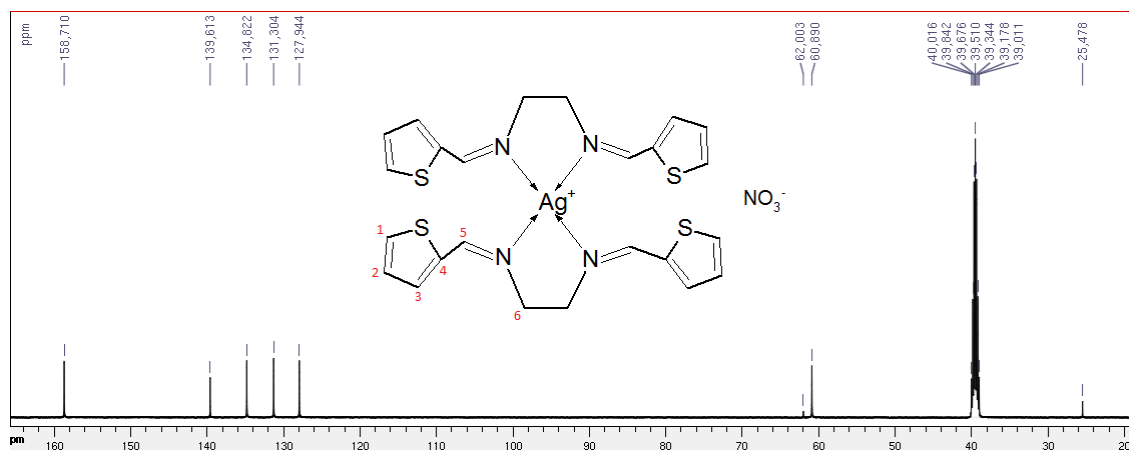


Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$.

Assim como ocorreu no RMN de ^1H , no RMN de ^{13}C os deslocamentos químicos dos sinais do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ foram bem próximos do complexo AgBNH . Porém há dois sinais, um em 25,5 ppm e outro em 62,0 ppm, que podem ser atribuídos a resíduo de isopropanol na estrutura do complexo, uma vez que a síntese do complexo foi realizada neste álcool, referentes aos carbonos metílicos e quaternário respectivamente. Este fato corrobora a fórmula molecular proposta para o cálculo das porcentagens de C, H e N na análise elementar, no item 4.4.1. Demonstrando que estas análises foram efetuadas com o complexo ainda em sua forma não seca.

Tabela 22: Sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C do complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ e do ligante BNH com as respectivas atribuições

Carbono	$\text{Ag}(\text{BNH})_2$, δppm	BNH , δppm	Δ , ppm
C_5	158,7	155,6	3,1
C_4	139,6	142,2	2,6
C_1	134,8	131,2	3,6
C_6	60,9	60,3	0,6
C_2, C_3	131,3; 127,9	129,3; 127,7	2,0; 1,6

4.5 – CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO ZnBNH

O complexo descrito como ZnBNH foi caracterizado por Análises Elementar (C,H,N) (vide Tabela 5) e termogravimétrica (TG), espectroscopias IV, Raman e de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , de ^{13}C e sua estrutura cristalina foi determinada e refinada a partir de dados de difratometria de raios X do composto em sua forma policristalina.

4.5.1 – Análise Termogravimétrica – TG

Considerando uma total oxidação da parte orgânica do complexo, é possível calcular o resíduo final, neste caso o zinco na forma de óxido de zinco (ZnO). O valor experimental do resíduo, 13,5%, ficou muito abaixo do valor calculado, 21,1%, este fato deve-se possivelmente a fácil sublimação que pode ocorrer em haletos de metais do grupo 12B, como o Zn(II), Cd(II) e Hg(II), não havendo como estimar este grau de sublimação, e assim afetando diretamente o cálculo sobre o resultado da análise. A curva TG deste complexo está representada na Figura 44:

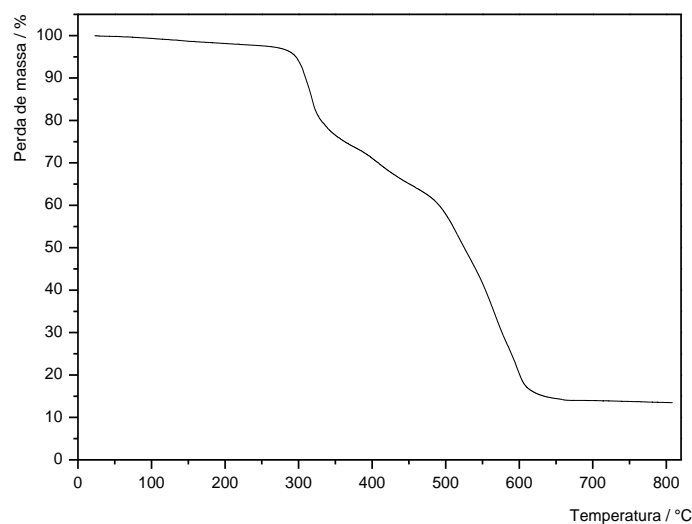


Figura 44: Curva termogravimétrica do complexo ZnBNH.

4.5.2 – Difração de raios X por policristais

A estrutura cristalina do ZnBNH foi obtida através da difração de raios X – método policristalino. O complexo ZnBNH cristaliza-se em um sistema ortorrômbico com grupo espacial $P2_12_12_1$. Os parâmetros de rede cristalina estão descritos na Tabela 23 e as principais distâncias e ângulos das ligações estão relatados na

Tabela 24. A estrutura do complexo ZnBHN é apresentada na Figura 45.

Na estrutura do ZnBNH o ligante atua de forma bidentada (ou quelato) e dois íons cloreto completam a coordenação tetraédrica do íon de zinco(II).

Tabela 23: Parâmetros cristalinos do complexo ZnBNH

Fórmula Molecular	$C_{12}H_{12}Cl_2N_2S_2Zn$
Massa Molar	$384,68 \text{ g.mol}^{-1}$
Sistema Cristalino	Ortorrômbico
Grupo Espacial	$P2_12_12_1$
$a(\text{Å})$	13,5536(4)
$b(\text{Å})$	13,5173(5)
$c(\text{Å})$	8,5386(3)
$V(\text{Å}^3)$	1564,43(9)
Z	4
$d(\text{calc})(\text{g/cm}^3)$	1,633
$\mu (\text{mm}^{-1})$	7,728
Número de Parâmetros	45
R_w, R_{wp}	12,387 / 11,440
Goodness-on-fit (GOF)	11,880

Tabela 24: Principais distâncias e ângulos de ligações do complexo ZnBNH

C6	N1	1,420	C12	S2	1,700
N1	C5	1,280	S2	C9	1,509
C1	S1	1,700	Zn	C11	2,250
S1	C4	1,509	Zn	C12	2,360
C7	N2	1,420	Zn	N1	2,290
N2	C8	1,280	Zn	N2	2,092
Cl1 -- Zn -- Cl2		109,5(6)°	N1 -- Zn -- Cl1		131,6(5)°
N1 -- Zn -- N2		90,0(2)°	N2 -- Zn -- Cl1		113,4(4)°
N1 -- Zn -- Cl2		103,9(4)°	N2 -- Zn -- Cl2		104,5(4)°

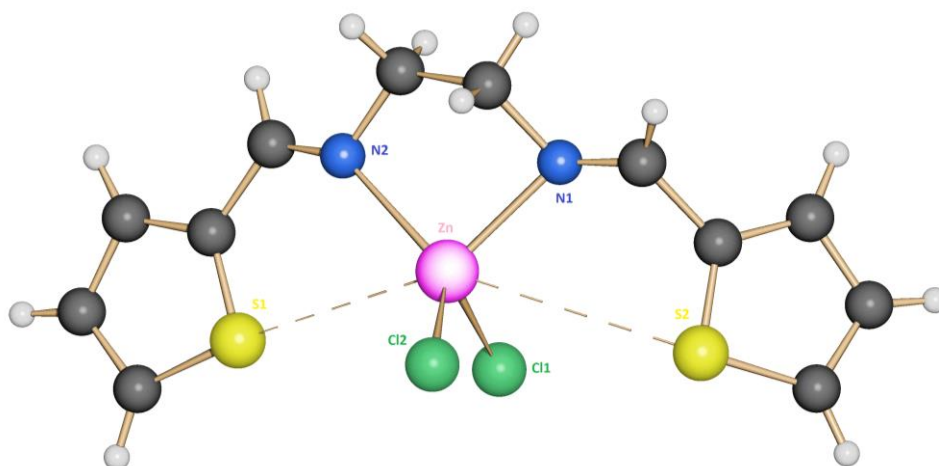


Figura 45: Estrutura cristalina do complexo ZnBNH. Projeção obtida com o programa Schakal (KELLER, 1986). Os átomos de carbono e de hidrogênio estão coloridos em cinza-escuro e em cinza-claro, respectivamente.

4.5.3 - Espectroscopia Vibracional de Absorção na região do Infravermelho e espalhamento Raman

O espectro de absorção na região do IV do complexo ZnBNH com algumas de suas respectivas bandas de absorção está representado na Figura 46.

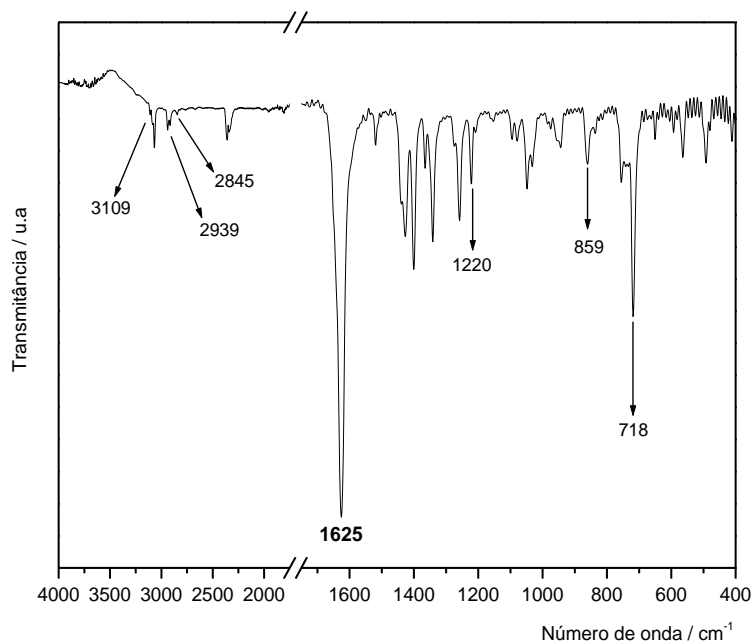


Figura 46: Espectro no IV do complexo ZnBNH.

No espectro representado na Figura 46, destaca-se a banda referente ao grupo imínico que foi observada em 1625 cm^{-1} ao invés do observado no ligante BNH em 1630 cm^{-1} , evidenciando a coordenação do ligante ao íon metálico através dos átomos de N. As demais bandas observadas no ligante BNH, foram observadas no espectro do complexo ZnBNH.

O espectro Raman deste complexo está representado na Figura 47.

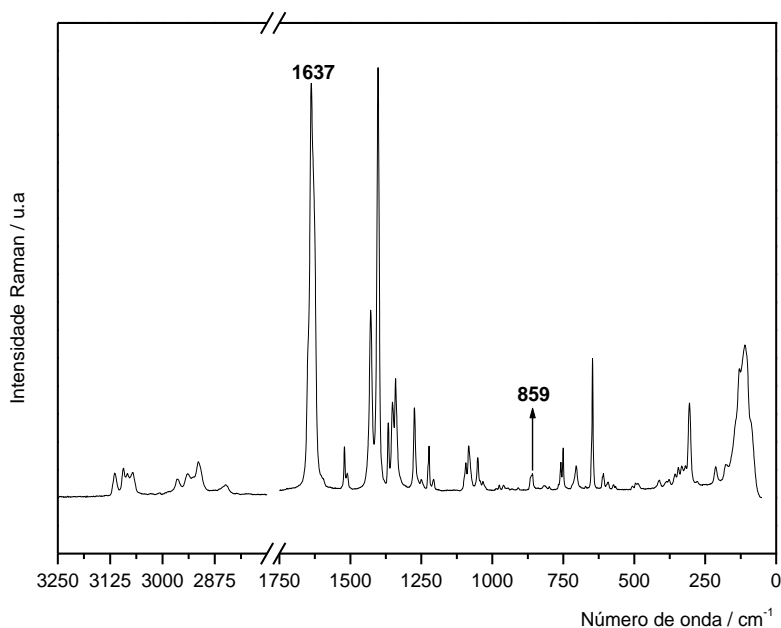


Figura 47: Espectro Raman do complexo ZnBNH.

No espectro apresentado na Figura 47, destacam-se a banda referente ao grupo imínico que deslocou de 1640 cm^{-1} para 1637 cm^{-1} , e a banda referente ao estiramento de C-S, que não apresentou deslocamento considerável, estes fatos evidenciam a coordenação do ligante ao centro metálico somente através dos átomos de N.

4.5.4 - Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

RMN de ^1H

O espectro de RMN de ^1H do complexo ZnBNH está representado na Figura 48, e as atribuições dos hidrogênios podem ser vistas na Tabela 25.

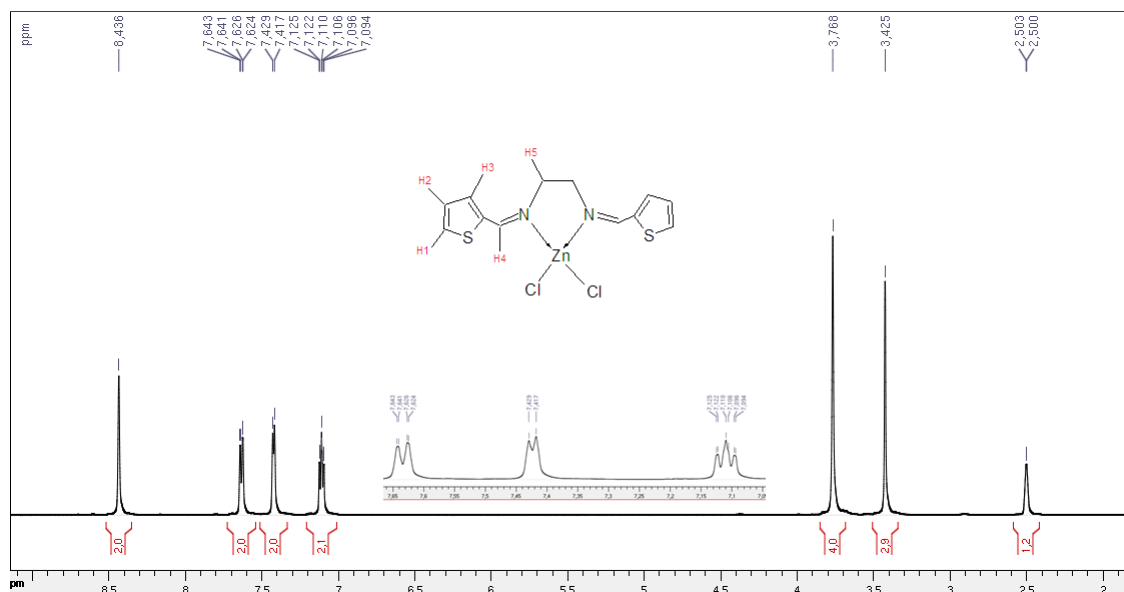


Figura 48: Espectro de RMN de ¹H em DMSO_{d6} do complexo ZnBNH.

Tabela 25: Sinais observados nos espectros de RMN de ¹H do complexo ZnBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições

Hidrogênio	ZnBNH, δppm	BNH, δppm
H ₄	8,43	8,39
H ₃	7,63	7,59
H ₁	7,42	7,38
H ₂	7,11	7,07
H ₅	3,77	3,73

δ: deslocamento químico

Todos os hidrogênios apresentaram pouco deslocamento de seus sinais, quando comparados aos prótons do ligante BNH, como pode ser visto na Tabela 25.

RMN ¹³C

O espectro de RMN de ¹³C do complexo ZnBNH está representado na Figura 49 e as atribuições dos carbonos podem ser vistas na Tabela 26.

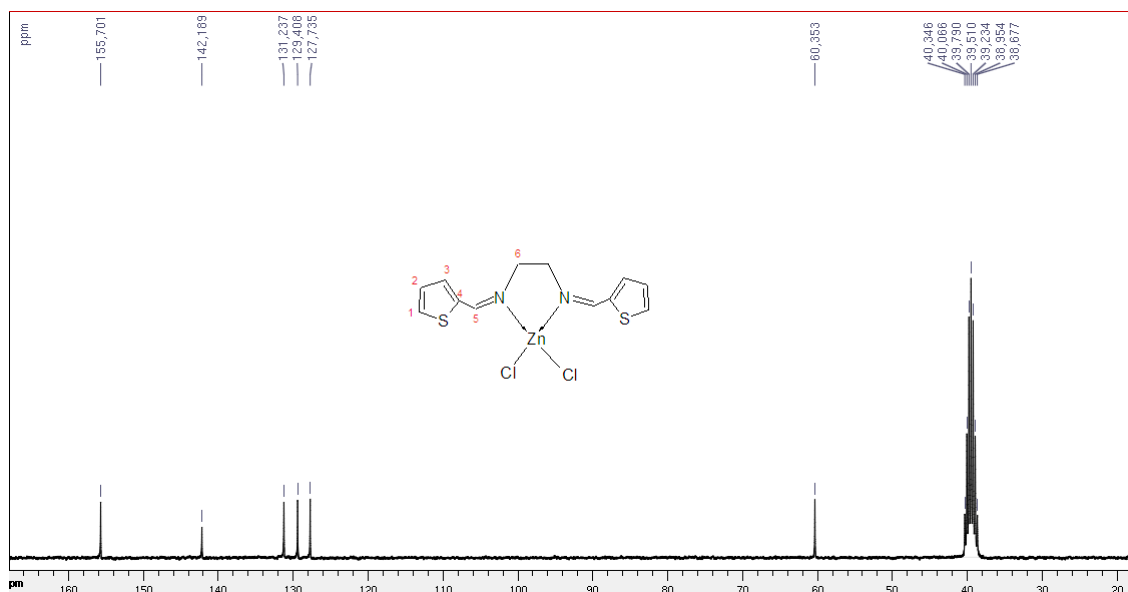


Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C em DMSO_{d6} do complexo ZnBNH.

Tabela 26: Sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C do complexo ZnBNH e do ligante BNH com as respectivas atribuições

Carbono	ZnBNH, δ ppm	BNH, δ ppm
C ₅	155,7	155,6
C ₄	142,2	142,2
C ₁	131,2	131,2
C ₆	60,3	60,3
C ₂ , C ₃	129,4, 127,7	129,3, 127,7

δ : deslocamento químico

Os valores de RMN de carbonos do complexo ZnBNH não apresentaram deslocamento químico perceptíveis de seus sinais em comparação com o ligante livre, como pode ser visto na Tabela 26.

4.6 – CARACTERIZAÇÃO DO SAL DE OURO (III) $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

O composto descrito como $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$ foi caracterizado por análise elemental (C,H,N) (vide Tabela 6) e difratometria de raios X – método policristalino.

4.6.1 - Difração de raios X por policristais

O composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$ cristaliza-se em um sistema monoclinico com grupo espacial $P2_1/c$. Os parâmetros de rede cristalina estão descrito na Tabela 2327 e as principais distâncias e ângulos das ligações são descritos na

Tabela 2428.

Tabela 27: Parâmetros cristalinos do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

Fórmula Molecular	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Au}_2\text{Cl}_8\text{N}_2\text{S}_2$
Massa Molar	931,97 g.mol ⁻¹
T(K)	296(2)
$\lambda(\text{CuK}\alpha)(\text{Å})$	1,5418
Sistema Cristalino	Monoclinico
Grupo Espacial	$P2_1/c$
$a(\text{Å})$	11,0828(2)
$b(\text{Å})$	9,5839(2)
$c(\text{Å})$	11,6053(3)
$\beta(^{\circ})$	75,49(2)
$V(\text{Å}^3)$	1193,55(4)
Z	4
$d(\text{calc})(\text{g}/\text{cm}^3)$	2,593
$\mu(\text{mm}^{-1})$	32,779(1)
F(000)	860**
Número de Parâmetros	28
R_w, R_{wp}	7,996 / 9,262
Goodness-on-fit (GOF)	9,041

Tabela 28: Principais distâncias e ângulos de ligações do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

Au	Cl	2,260
N1	C1	1,476
N1	C2	1,476
C1	C1	1,520
C2	C3	1,455
C3	C4	1,360
C3	S1	1,403
C4	C5	1,304
C5	C6	1,325
C6	S1	1,707
Cl1 -- Au -- Cl2		90°
Cl1 -- Au -- Cl3		180°
C -- S -- C		90,7°

Na estrutura do $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$ o ligante BNH_{red} está duplamente protonado, e há dois íons $[\text{AuCl}_4]^-$ para cada ligante bivalente, onde há uma fraca interação entre os íons cloretos, do grupo $[\text{AuCl}_4]^-$ com os hidrogênios dos carbonos alifáticos e dos nitrogênios amínicos ($-\text{NH}_2^+$).

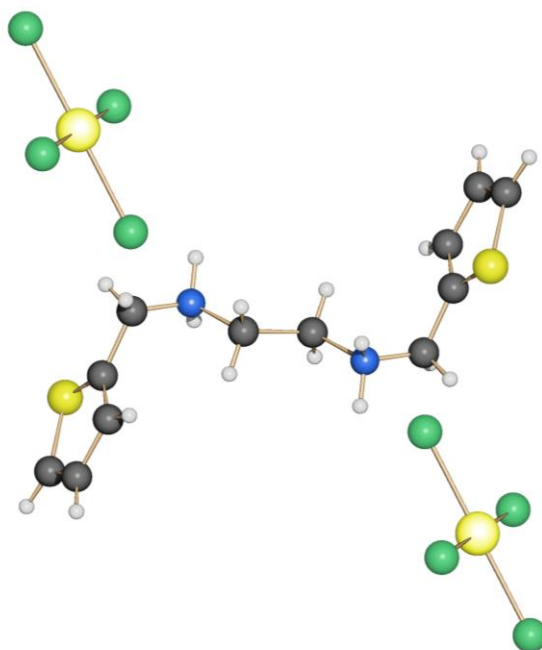


Figura 50: Estrutura cristalina do $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$. Os átomos da unidade assimétrica foram nomeados, excetos os átomos de hidrogênio, marcados em cinza-claro. Schakal (KELLER, 1986).

4.7 - RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS

A Tabela 29 apresenta os resultados da CIM, IC₅₀ e índice de seletividade (IS) para BNH e seus complexos de Ag(I) e de Zn(II). Também na Tabela 29 são descritos os resultados de ensaios biológicos dos compostos SSD (*Silver SulfaDiazine* ou sulfadiazina de prata) e os sais metálicos utilizados.

Tabela 29: Resultados da CIM, IC₅₀ e IS para os compostos testados

Composto	MM / g.mol ⁻¹	% Metal	CIM, mg.L ⁻¹ [mmol.L ⁻¹]	IC ₅₀ , mg.L ⁻¹ [mmol.L ⁻¹]	IS
BNH	248,3	—	> 25	500	
AgBNH	418,2	25,8	12,2 [29,2]	15,6 [37,3]	1,28
Ag(BNH) ₂	666,6	16,2	24,5 [36,7]	31,3 [46,9]	1,28
ZnBNH	384,7	17,0	> 25	250	
SSD	357,1	30,2	7,80 [21,8]		
AgNO ₃	169,8	63,5	12,5 [73,6]		
ZnCl ₂	136,3	48,0	> 25		

Como se pode observar na Tabela 29, o ligante livre não possui atividade contra *M. tuberculosis* (CIM > 25 mg.L⁻¹), por outro lado, também não apresentou-se citotóxico (IC₅₀ 500 mg.L⁻¹), o que, torna este composto seguro de ser utilizado no meio biológico.

Assim como o ligante livre, o complexo obtido com zinco(II) não apresentou atividade contra *M. tuberculosis* (CIM > 25 mg.L⁻¹) mas mostrou-se citotóxico. Portanto, a inclusão do íon metálico, neste caso o zinco(II), não trouxe o resultado planejado.

Os complexos AgBNH e Ag(BNH)₂ demonstraram atividade biológica contra *M. tuberculosis*, evidenciando a atividade anti-MBT do íon Ag⁺. Observando os valores percentuais de Ag⁺ nos complexos e os resultados em mmol.L⁻¹ das CIM e IC₅₀ na tabela 29, conclui-se que o complexo Ag(BNH)₂ embora apresente valor absoluto maior que o complexo AgBNH na CIM, todavia apresenta-se mais eficaz contra o *M. tuberculosis* que o complexo AgBNH, fato este devido a uma possível maior liberação de íons Ag⁺ no complexo Ag(BNH)₂ do que no complexo AgBNH, os resultados da IC₅₀

corroboram este fato, uma vez que embora o complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ apresente valor absoluto maior que o complexo AgBNH na IC_{50} , em relação ao percentual de Ag^+ nos complexos, o complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ apresenta-se mais citotóxico que o complexo AgBNH . Os dois complexos de prata apresentaram baixa seletividade, que curiosamente obtiveram o mesmo valor.

5 – CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram descritos três compostos orgânicos: a) *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)etano-1,2-diamina, nomeado como BNH, b) *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)etano-1,2-diamina, nomeado como BNH_{red}, e c) cloridrato de *N,N'*-bis(tiofenil-2-metil)etano-1,2-diamina, nomeado como BNH_{red}·2HCl. BNH e BNH_{red}·2HCl foram amplamente caracterizados por técnicas analíticas e espectroscópicas e suas respectivas estruturas cristalinas foram descritas por difratometria de Raios X método monocristal, para BNH e método policristalino no caso de BNH_{red}·2HCl. O BNH_{red} foi parcialmente caracterizado por ser um óleo a temperatura ambiente.

Também neste trabalho, foram obtidos três complexos com o ligante BNH, sendo dois complexos com o íon prata(I) e um complexo com o íon zinco(II). Os complexos de prata(I) foram obtidos nas proporções 1:1 e 1:2 (M:L) e formulados como [Ag(NO₃)(BNH)]_n, nomeado como AgBNH e [Ag(BNH)₂]NO₃, nomeado como Ag(BNH)₂. Ambos os complexos foram estudados por técnicas analíticas e espectroscópicas e, também, ambas as estruturas cristalinas foram descritas após o tratamento dos dados obtidos da difratometria de raios X de cada composto. Interessantemente, no complexo AgBNH o ligante não age como um quelato, e sim, forma uma ponte entre os íons de Ag(I) através dos nitrogênios imínicos, onde cada nitrogênio liga-se a diferentes íons de prata(I), formando um polímero unidimensional. Já no Ag(BNH)₂ tem-se os dois ligantes agindo de forma quelato, formando um complexo monomérico catiônico tendo o íon nitrato como contra-íon. No caso do complexo de zinco(II), apesar das tentativas de obtenção do complexo 1:2 (M:L), somente o complexo formulado como [Zn(Cl)₂(BNH)], aqui nomeado ZnBNH, foi obtido. Neste complexo, o íon Zn(II) coordena dois íons cloreto e um ligante BNH através dos átomos de nitrogênio. Além destes três complexos, também foram descritos dados de um sal de ouro com BNH_{red}·2HCl, onde tem-se o ligante BNH_{red} em sua forma protonada – BNH_{red}2H⁺ e 2 íons de [AuCl₄]⁻ como ânions.

Testes biológicos contra *M.tuberculosis* e de citotoxicidade contra células VERO, foram realizados para o BNH e seus complexos e a comparação dos resultados obtidos com os dados de drogas comerciais, como a SSD, demonstraram que o ligante

BNH é uma molécula viável por não apresentar toxicidade, porém o complexo de Zinco(II) não demonstrou ser ativo contra *M.tuberculosis* apesar de ser tóxico para células VERO. No entanto, os complexos de Ag(I) são muito ativos frente aos bacilos da Tuberculose, apesar da baixa seletividade. Dentro deste contexto, o objetivo de um complexo metálico com alto índice de seletividade ainda não foi alcançado.

Outro ponto a ser ressaltado deste trabalho é que os compostos relatados, com exceção do BNH (obtido como monocristal) e BNH_{red} (óleo), foram obtidos somente na forma de pós policristalinos e, neste sentido, foram descritas 6 estruturas cristalinas obtidas através da análise e tratamento de dados obtidos da difração de raios X dos complexos em sua forma policristalina, o que não é convencional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANCIN, N.; IDE, S.; OZTAS, S. G.; TUZUN, M.; SAHIN, E. Spectral and structural studies of Ni(II) and Zn(II) complexes of *N-trans*-cinnamylidene-2-mercaptoaniline. **Journal of Molecular Structure**, v. 608, p. 89-93, 2002

AZARIFAR, D.; PIRHAYATI, M.; MALEKI, B.; SANGINABADI, M.; YAMI, R. N. Acetic acid-promoted condensation of o-phenylenediamine with aldehydes into 2-aryl-1-(arylmethyl)-1H-benzimidazoles under microwave irradiation. **J. Serb. Chem. Soc.**, v.75, p. 1181–1189, 2010.

BEENA; RAWAT, D. S. Antituberculosis Drug Research: A Critical Overview. **Medicinal Research Reviews**, v. 33, p. 693-764, 2013.

CHOHAN, Z. H.; FAROOQ, M. A. Synthesis, characterization, ligational and biological properties of some acylhydrazine derived furanyl and thienyl Schiff bases with Co(II), Cu(II), Ni(II), and Zn(II) metalions. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 31, p. 1853-1871, 2001.

CHOHAN, Z. H.; HANIF, M. Antibacterial and antifungal metal based triazole Schiff bases. **JOURNAL OF ENZYME INHIBITION AND MEDICINAL CHEMISTRY**, v. 28, p. 944-953, 2013.

COTTON, F. ALBERT.; WILKINSON, G.; MURILLO, C. A.; BOCHMANN, M. **Advanced Inorganic Chemistry**. 6. ed. New York: Wiley-Interscience Publication, 1999.

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

DONG, Y. B.; GENG, Y.; MA, J. P.; HUANG, R. Q. Organometallic Silver(I) Coordination Polymers and Supramolecular Complexes Based on Novel Multidentate Thiophene- and Benzenenitrile-Containing Symmetric and Unsymmetric Fulvene Ligands. **Organometallics**, v. 25, p. 447-462, 2006.

DRAGANJAC, M.; RUFFING, C. J.; RAUCHFUSS, T. B. A Model for Thiophene Chemisorption - A Stabilized, ETA-1,S-Thiophene Complex and Its Relationship to ETA-5-Coordination. **Organometallics**, v. 4, n. 10, p. 1909-1911, 1985.

ESMELINDRO, M. C.; OESTREICHER, E. G.; CAOVILO, M.; LESSA, J. A.; FERNANDES, C.; CLÁUDIO DARIVA, C.; SÍLVIA M. EGUES, S. M.; J. BORTOLUZZI, A. J.; ANTUNES, O. A. C. Synthesis, Characterization and Benzene Oxidation Promoted by a New Mononuclear Copper(II) Complex, [Cu(BTMEA)₂Cl]Cl. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n. 8, p. 1551-1557, 2006.

FARRELL, Nicholas P. **Uses of Inorganic Chemistry in Medicine**. 1. ed. Cambridge: Thomas Grahan House, 1999.

FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). **J. Appl. Cryst.**, v. 30, p. 565, 1997.

INBA, P. J. K.; ANNARAJ, B.; THALAMUTHU, S.; NEELAKANTAN, M. A. Cu(II), Ni(II), and Zn(II) Complexes of Salan-Type Ligand Containing Ester Groups: Synthesis, Characterization, Electrochemical Properties, and *In Vitro* Biological Activities. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

JUNG, W. K; KOO, H. C.; KIM, K. W.; SHIN, S.; KIM, S. H; PARK, Y. H. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* and *ESCHERICHIA COLI*. **APPL. ENVIRON. MICROBIOL.**, V. 74, N 7, P. 2171 – 2178, 2008.

KELLER, E. New from Schakal. **Chem Unserer Zeit**, v. 20, p. 178-181, 1986.

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

KUMAR, S.; DHAR, D. N.; SAXENA, P. N. Applications of metal complexes of Schiff bases – A review. **J of Scientific & Industrial Research**, v. 68, p. 181-187, 2009.

LE BAIL, A.; DUROY, H.; FOURQUET, J. L. Ab initio structure determination of LiSbWO₆ by X-ray powder diffraction. **Mater Res Bull**, v. 23 p. 447–452, 1988.

LIPPARD, Stephen J.; BERG, Jeremy M. **Principles of Bioinorganic Chemistry**. 1. ed. Mill Valley: University Science Books, 1994.

MCMURRY, John. **Química Orgânica**. 6. ed. São Paulo: Editora Thomson, 2005.

MONNERET, C. Platinum anticancer drugs. From serendipity to rational design. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 69, p. 286-295, 2011.

NAKAMOTO, Kazuo. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**. 6. ed. Hoboken: John Willey & Sons, 2009.

NAVARRO, M. Gold complexes as potential anti-parasitic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1619–1626, 2009.

ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2201-2203, 1999.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, C.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, v. 46, n 8, p. 2720-2722, 2002.

PATRA, G. K.; GOLDBERG, I. Syntheses and Crystal Structures of Copper and Silver Complexes with New Imine Ligands Air-Stable, Photoluminescent $Cu^I N_4$ Chromophores. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 5, p. 969-977, 2003.

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

PEREIRA, D. C.; FARIA, D. L. A.; CONSTANTINO, V. R. L.. Cu^{II} Hydroxy Salts: Characterization of Layered Compounds by Vibrational Spectroscopy. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n 8, p. 1651-1657, 2006.

PEREIRA, G. A.; MASSABNI, A. C.; CASTELLANO, E. E.; COSTA, L. A. S.; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F. R.; CUIN, A. A broad study of two new promising antimycobacterial drugs: Ag(I) and Au(I) complexes with 2-(2-thienyl)benzothiazole. **Polyhedron**, v. 38, p. 291-296, 2012.

PRAKASH, A.; SINGH, B. K.; BJOJAK, N.; ADHIKARI, D. Synthesis and characterization of bioactive zinc(II) and cádmium(II) complexes with new Schiff bases derived from 4-nitrobenzaldehyde and acetophenone with ethylenediamine. **Spectrochimica Acta part A**, v. 76, p. 356-362, 2010.

RODRIGUES, N. V. S.; CARDOSO, E. M.; ANDRADE, M. V. O.; DONNICIA, C. L.; SENA, M. M. Analysis of Seized Cocaine Samples by using Chemometric Methods and FTIR Spectroscopy. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 24, n. 3, p. 507-517, 2013.

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

SOUZA, W. **Doenças Negligenciadas**. 1. ed. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2010.

STRATHERN, Paul. **O sonho de Mendeleiev: a verdadeira história da química**. 1. ed. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Ed., 2002.

THOMAS, Gareth. **Medicinal Chemistry: An Introduction**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2007.

WHO. Stop TB Department. Global Tuberculosis Report 2012. Geneva, Suiça, 2012. Disponível em <http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/>. Acesso em: 03 jun. 2013.

WIETHAUS, Guilherme. **Síntese e Caracterização de Novas Iminas com Aplicação em Óptica Não-Linear**. 2010. Dissertação (Mestrado Química)–Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

ANEXO A – Difração de raios X – método policristalino

Neste trabalho, os seguintes compostos tiveram suas respectivas estruturas cristalinas determinadas pelo estudo dos dados obtidos pela difração de raios X em amostras policristalinas:

- AgBNH
- Ag(BNH)₂
- ZnBNH
- CuBNH*
- BNH_{red}.2HCl
- BNH_{red}AuCl₄

Em todos os casos, inicialmente, o composto foi levemente macerado em almofariz de ágata até a obtenção de um pó com boa homogeneidade de tamanho/forma de cristalitos. O pó obtido foi colocado no espaço disponível no porta-amostra (PA), que preferencialmente, o porta-amostra de Si (*Single-crystal silicon for simiconductors*, da *Rigaku Co.* com dimensões externas 35(largura)x50(comprimento)x2(altura) mm e internas 20(largura)x 18(comprimento)x0.2(profundidade) mm para *front side* e 5(diametro)x 0.1(profundidade) mm para *back side*). No entanto, o uso de porta-amostra de alumínio (PA-Al) com as mesmas dimensões do PA-Si, também pode ser utilizado. O difratograma de cada composto foi obtido acumulando-se o sinal por 2 a 3 horas na faixa de 3 a 33° 2 θ , com passo de 0,02° (2 θ), com tempo de 0,2s em cada passo. Normalmente, utiliza-se DS (*Divergente Slit*) de 0,6 mm, mas DS=1,0 mm e 0,2 mm também podem ser utilizados. A identificação das reflexões, seguido de indexação e determinação dos parâmetros aproximados da cela unitária foram realizadas através dos métodos disponíveis em TOPAS-Academic (beta version) (TOPAS-R, v.3.0, 2005, Bruker AXS, Karlsruhe, Germany). Após a cela unitária plausível ser encontrada, uma nova medida de raios X da mesma amostra é realizada na faixa de 3 a 105° 2 θ com passo 0,02° e scans que duram uma noite, normalmente, 15-17horas. Com este novo difratograma, procede-se o refinamento dos parâmetros de cela e tentativas de obtenção do grupo espacial pelo método de *Le Bail*, na faixa de 3 a 50° 2 θ . Ainda utilizando-se o

TOPAS, procede-se a processo de *Simulated Annealing*. Se a estrutura proposta for correta e os valores rotacionais, translacionais e ângulos de torções (se existirem) também forem corretos, procede-se a última etapa dos tratamentos dos dados, utilizando-se a metodologia descrita por Rietveld, também disponível em TOPAS-Academic, com os dados de 3 a $105^{\circ} 2\theta$.

De modo geral, a preparação do composto (a amostra) a ser difratado seguiu a rotina descrita acima. Porém, cada composto possui particularidades estruturais e/ou experimentais e o tratamento matemático/estatístico dos dados pode seguir diferentes caminhos de análise. A seguir são descritos detalhes para cada uma das estruturas determinadas.

AgBNH(PPh₃)₂

O complexo Ag(BNH)(PPh₃)₂ foi sintetizado através da reação entre AgNO₃, PPh₃ e BNH, na proporção 1:2:1 em etanol. Este complexo foi preparado com a intenção de melhorar a lipossolubilidade dos complexos de prata(I), e, possivelmente, maior atividade biológica, porém, após os resultados das análises elementar e térmica e espectroscopia IV e de RMN de ¹H e de ¹³C, constatou-se que o complexo formado continha, como contra-íons, os íons NO₃⁻ (a partir do AgNO₃) e CH₃COO⁻ (possivelmente do acetato de etila, utilizado na purificação). O complexo mostrou-se ser cristalino. No entanto, assim como descrito acima, ainda era dúvida se este complexo estava puro, ou seja, as análises analíticas e espectroscópicas indicaram a presença de íons acetato e nitrato em proporção desconhecidas. Após uma análise preliminar dos dados a provável cela unitária plausível não foi encontrada. No entanto, nossos esforços para a elucidação da estrutura molecular e cristalina ainda continuam.

Ag(BNH)₂

Em uma primeira análise, vide Figura 51, este complexo se mostrou cristalino, porém, não foi possível encontrar os parâmetros de cela, havia no composto uma segunda fase cristalina. Inicialmente, os picos da impureza (ou 2ª fase) não eram conhecidos. No entanto, utilizando-se dos dados cristalinos de um composto similar publicado em 2003 – [Ag(BNH₂)]ClO₄ [Eur. J. Inorg. Chem. Pg 969 (2003)] foi possível sugerir que os picos centrados em 11,2; 11,37; 11,85; 13,41; 15,18° 2 θ poderiam pertencer a uma rede cristalina diferenciada.

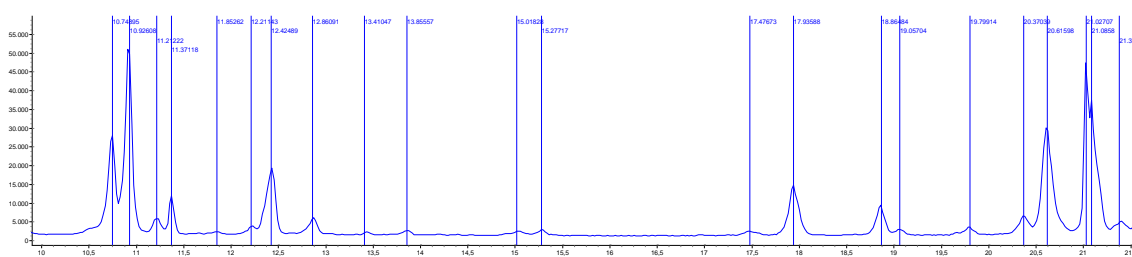


Figura 51: Difratograma inicial do complexo Ag(BNH)₂.

Um modo interessante de identificar a 2ª fase cristalina seria obter o padrão de difração do composto em diferentes temperaturas. Com o estudo térmico, seria possível obter o coeficiente de expansão térmica e, deste modo, identificar quais reflexões pertencem a cada rede cristalina.

Porém, uma nova medida utilizando as mesmas condições foi realizada com a mesma amostra após 6 meses, e para nossa surpresa e satisfação, o difratograma não apresentou a ‘2ª fase’ cristalina, como pode ser evidenciado na Figura 52.

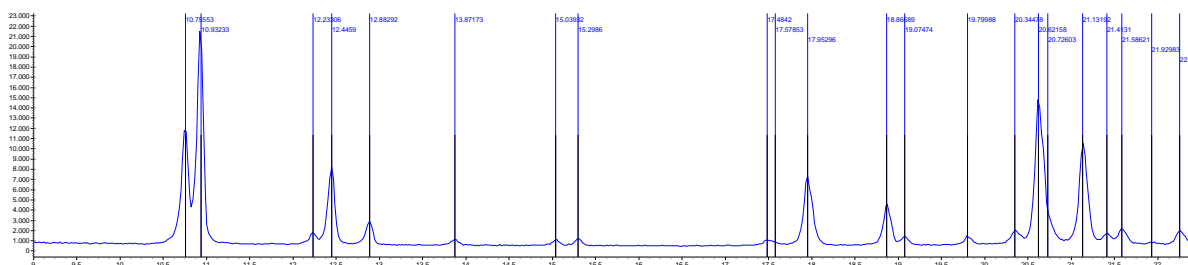


Figura 52: Novo difratograma do complexo Ag(BNH)₂.

Após a indexação dos picos e a análise pelo método *LeBail*, os seguintes parâmetros de rede foram encontrados: $a = 13,747$, $b = 14,226$, $c = 14,480\text{Å}$ e $\beta = 88,60^\circ$ para o grupo Cc e sistema cristalino ortorrômbico.

O complexo $\text{Ag}(\text{BNH})_2$ contém como contra-íon o íon NO_3^- e o complexo publicado (PATRA & GOLDBERG, 2003) contém o ClO_4^- e, portanto, ambos os complexos possuem a mesma fórmula iônica: $[\text{Ag}(\text{BNH})_2]^+$. Para a etapa de *Simulated annealing*, o modelo estrutural utilizado partiu-se do íon Ag^+ com translação (xyz) livre, o íon nitrato escrito como *z_matrix* e definido como *rigid body*, com translação e rotação livres e duas moléculas do BNH escritas como *cartesian coordinates* (valores obtidos do complexo $[\text{Ag}(\text{BNH})_2]\text{ClO}_4$) e definidas como *rigid body* com translação e rotação livres e, também, com ângulos de torção livres, como descrito na Figura 53.

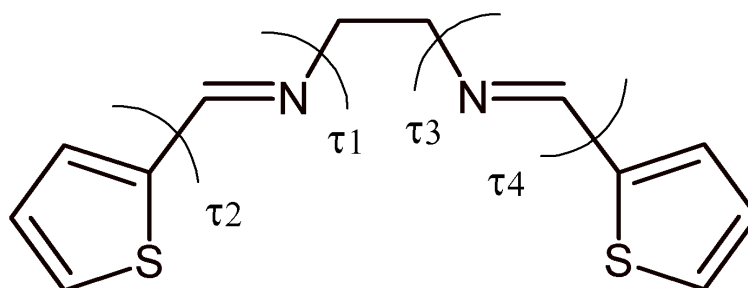


Figura 53: Molécula de BNH e ângulos de torção utilizados para simulação da estrutura cristalina.

O modelo estrutural proposto para o complexo $[\text{Ag}(\text{BNH})_2]\text{NO}_3$ baseando-se em um complexo já publicado foi facilmente encaixado nos dados experimentais de difração de raios X e o índice de Bragg após o refinamento da estrutura pelo método de Rietveld foi de 4,2 ou 0,04%. Na Figura 54 são descritos os padrões de difração experimental (azul) e calculado (vermelho) e em cinza, está a diferença entre os padrões.

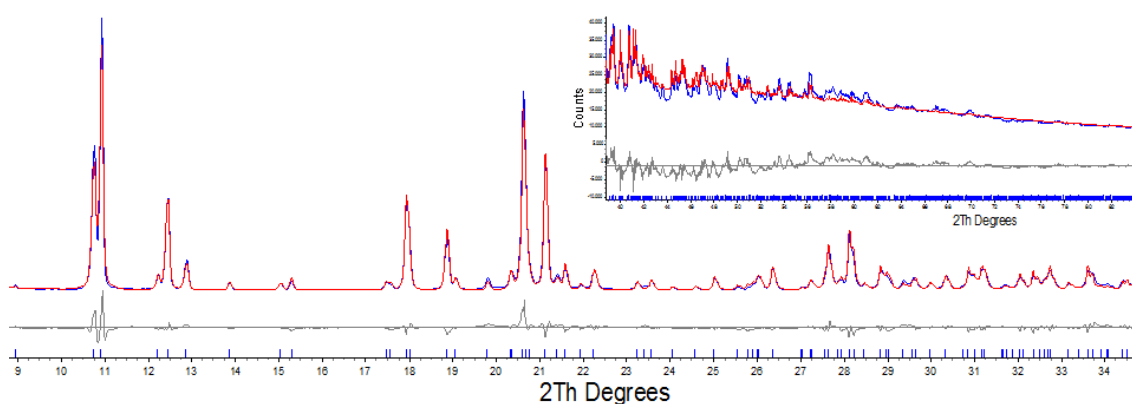


Figura 54: Gráfico final obtido após o refinamento da estrutura cristalina pelo método de Rietveld. Em azul é descrito o padrão de difração experimental e em vermelho tem se o calculado. A diferença entre os padrões está em cinza.

Na Figura 37, o átomo S4 não está direcionado para o íon metálico, pois o grupo tiofeno que contém o S4, na Figura 37, está marcado em verde, demonstrou desordem de 22%.

AgBNH

O complexo AgBNH cristaliza-se no sistema cristalino monoclinico. Inicialmente, o grupo espacial indicado pelo programa 'TOPAS-Academic foi o P2₁. Após, uma análise rigorosa das abstenções sistemáticas, pode-se notar que não estavam presentes no difratograma as reflexões h0l, h00 e 00l quando (h+l) igual a um número par (=2n) e k = 2n para reflexões 0k0. Esta evidencia tornou possível atribuir um grupo espacial de maior simetria, neste caso o P2₁/n, que possui Z=4, onde Z significa o número de moléculas geradas por simetria. No entanto, seguindo a relação empírica:

$$V = Z * 18 * N_{\text{NHA}},$$

V = volume da cela unitária, N_{NHA} é o número de átomos diferentes de hidrogênio na unidade assimétrica.

Temos que o BNH, Ag⁺ e NO₃⁻, 16+1+3, totalizando 20 N_{NHA}, e, portanto, o volume da cela unitária esperado para o grupo espacial P2₁/n seria de 1440Å, porém o volume encontrado para a cela unitária foi de apenas 740Å. Neste caso, o número de moléculas geradas por simetria dentro deste grupo espacial pode ser reduzido se os átomos/íons/*rigid body* estiverem posicionados em posições especiais. E, portanto, na etapa de *simulation annealing*, os íons de Ag(I) e de nitrato tiveram suas respectivas posições especiais [ref: International Table of Crystallography – grupo P2₁/n] de translação fixadas em 0,0x; 0,0y; 0,5z e 0,0x; 0,5y; 0,5z; respectivamente, vide Figura 55. O ligante BNH, por sua simetria, foi projetado como sendo apenas 'metade', e deste modo o centro de simetria do ligante BNH foi posicionado na posição especial 0,0x; 0,0y; 0,0z.

Na fase de otimização da estrutura – '*simulated annealing*', os parâmetros de rede foram fixados e somente os grupos Nitrato e BNH (metade, vide Figura 55) tiveram os parâmetros xyz refinados, em outras palavras, através de muitas tentativas, a conformação e a posição do complexo foram encontrados.

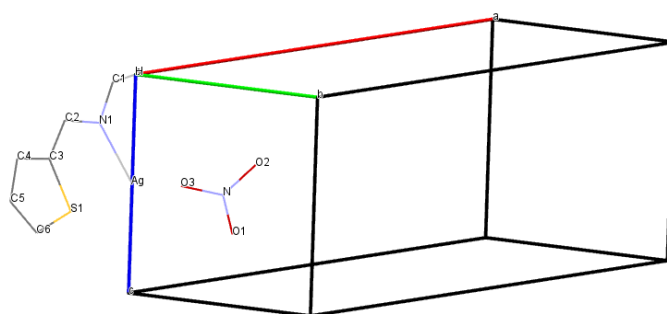


Figura 55: O ligante BNH, descrito somente metade da molécula, onde o *dummy atom* está fixado na posição especial $xyz = 0$, enquanto o íon de Ag(I) está fixado em $xyz=0,0; 0,0; 0,5$ e o íon de nitrato na posição $xyz = 0,0; 0,5; 0,5$. Na imagem acima, a desordem do íon nitrato, provocada pelos átomos de oxigênio não é mostrada assim como os átomos de hidrogênio, exceto o *dummy atom* não estão presentes nesta figura.

Devido à simetria do ligante BNH, para a determinação da estrutura cristalina do AgBNH, utilizou-se o método de matriz Z para o ligante, onde o centro de simetria foi fixado no baricentro da ligação $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, com três ângulos de torção (vide Figura 56) e rotação livre. Também foi necessária nesta etapa livre rotação para os íons de NO_3^- . O íon NO_3^- mostrou grande desordem, e, neste caso cada átomo de oxigênio deste íon teve fator de ocupação reduzido para 50%. Ao final do refinamento, o íon de NO_3^- possui 6 átomos de oxigênio com 50% de ocupação cada.

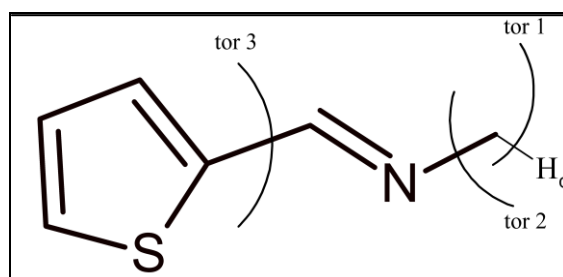


Figura 56: Metade simétrica do ligante BNH. Na molécula, há três ligações passíveis de rotações, designadas como tor 1 ($\text{Hd}-\text{CH}_2$), tor 2 CH_2-N e tor 3 $=\text{C}-\text{Ctienil}$. Hd significa *dummy atom* e possui fator de ocupação nulo.

Após a otimização da estrutura, ou seja, após encontrar a posição e a conformação da molécula, os parâmetros de rede cristalina foram: $a=15,65805(71)\text{Å}$, $b=7,21096(30)\text{Å}$, $c=6,49717(30)\text{Å}$, $\beta=92,7570(37)^\circ$ e $\text{vol. } 732,744\text{Å}^3$. O R_{wp} final foi de 9,877 (ou 0.0988%). Na Figura 57 pode-se constatar que os dados simulados se encaixam bem aos experimentais.

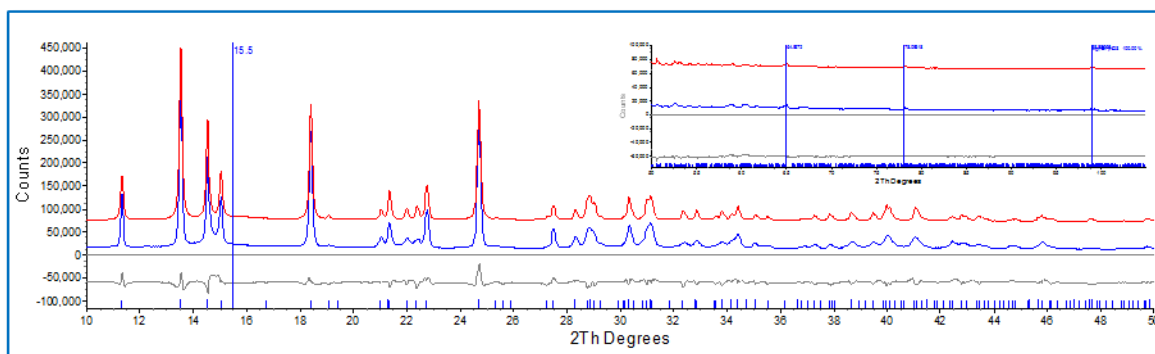


Figura 57: Complexo AgBNH: Padrões de difração experimental (azul) e calculado (vermelho). Em cinza, está a diferença entre os padrões. Os picos marcados em azul em 64,97; 78,09 e em 98,88 (2θ) são referentes aos picos do porta amostras – Alumínio. O pico em 15,5 refere-se a uma pequena fase amorfa.

ZnBNH

O difratograma obtido do complexo ZnBNH é descrito na Figura 58. Inicialmente, o sistema cristalino indicado pela análise computacional foi o sistema cristalino tetragonal e grupo espacial $P4_2cm$ e com parâmetros de cela unitária $a = b = 13,53\text{Å}$ e $c = 17,11\text{Å}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$.

No entanto, no difratograma obtido algumas reflexões possuíam tamanhos de cristalitos bem distintos. Essa diferença de valores de cristalito sugere que o composto possui mais de uma fase cristalina. Uma parte da amostra foi solubilizada em metanol e após parte do solvente ser evaporada, obteve-se novamente o pó do composto. O difratograma obtido para o ZnBNH após o processo de recristalização demonstrou uma diminuição em algumas reflexões. Com uma serie de medidas de 3 a 33° , $0,02^\circ$ e tempo de 0,5s na faixa de temperatura de 30 a 160°C pode-se evidenciar que algumas reflexões tiveram diferentes deslocamentos em relação a outras. Deste modo, pode-se confirmar que o composto ZnBNH realmente possui uma 2ª fase cristalina e quais eram as possíveis reflexões associadas a esta fase.

Partindo-se da prerrogativa de que o complexo ZnBNH possui duas fases cristalinas, procedeu-se a indexação da fase com maior porcentagem e os dados obtidos para a cela unitária foram: $a = b = 13,53\text{Å}$ e $c = 8,56\text{Å}$, num sistema trigonal e grupo espacial $P4_22_12$. Esta cela unitária é, basicamente, metade da primeira cela unitária encontrada. Após 10.000.000 de tentativas, a estrutura obtida não era plausível (nem do ponto vista estatístico e nem químico-estrutural). Porém, ao reduzir-se o grupo espacial

de $P4_22_12$ (trigonal) para $P2_12_12_1$ (ortorrômbico), pseudo trigonal, com parâmetros de rede cristalina iniciais de $a = 13,55\text{\AA}$, $b=8,53\text{\AA}$ e $c=13,52\text{\AA}$, em menos de 5.000 tentativas a estrutura cristalina foi encontrada. Esta estrutura condiz com conceitos químicos, cristalográficos e estatísticos. O difratograma final (Rietveld) está descrito na Figura 58.

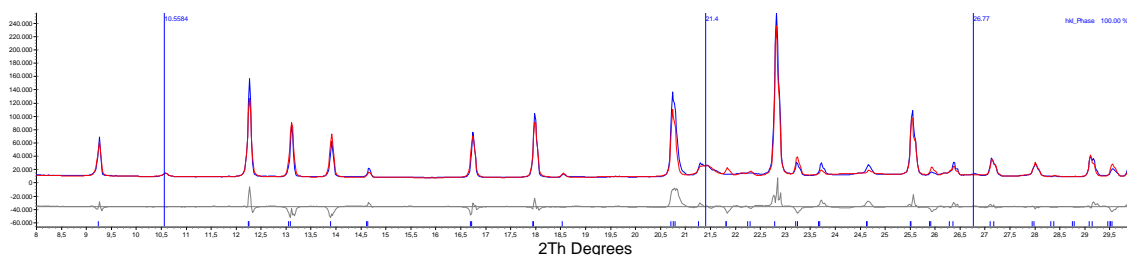


Figura 58: Complexo ZnBNH: Padrões de difração experimental (azul) e calculado (vermelho). Em cinza, está a diferença entre os padrões. Os picos marcados em azul em 10,56; 21,4; 26,8 (2θ) são referentes aos picos da 2ª fase cristalina presente na amostra.

$\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$

O composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ apresentou alta orientação preferencial em hkl 001, em uma simulação, o valor da orientação preferencial ficou acima perto de 0,2 quando o valor ideal é 1,0. A orientação preferencial foi drasticamente diminuída pelo uso de uma mistura Cabosil®+ $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$, na proporção 3:1. A mistura foi feita em almofariz de ágata. A orientação preferencial calculada foi de 0,59. Apesar de, experimentalmente, termos uma diminuição, o valor ainda está fora de ser aceitável (o correto seria 1,0) e novas preparações foram realizadas com o intuito de diminuir ainda mais este fator.

Uma preparação que mostrou a menor orientação preferencial foi a de $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ puro, sem uso de Cabosil®, com o porta-amostra na posição vertical. Para adicionar o composto, foi necessário prender um vidro ao porta-amostra e deixar somente um pequena fresta para introdução da amostra.

Após a árdua etapa de preparação da amostra, seguiu-se para o tratamento dos dados obtidos. A indexação foi relativamente simples e os dados conduziram a parâmetros de cela $a = 29,78\text{\AA}$, $b = 10,09\text{\AA}$ e $c = 5,13\text{\AA}$ em um sistema cristalino ortorrômbico, com grupo espacial I_{222} . Após a análise das abstenções sistemática de reflexões, o grupo espacial sugerido foi o $Icma$, cujo grupo espacial *standart* é definido como $Ibam$. No entanto, o grupo espacial $Ibam$ possui $Z=16$ e seguindo-se a relação V

da cela $=.18\text{NHA} \cdot 18 \cdot Z$ a previsão era de apenas $Z=4$. Portanto, seria necessário um elemento de simetria para reduzir ‘Z’ de 16 para 8 e outro elemento de simetria para reduzir 8 para 4. Na molécula de $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$ há somente um elemento de simetria, e desta forma, o grupo espacial teve que ser novamente revisto. Um grupo espacial que pertence ao sistema ortorrômbico, que possui as mesmas abstenções sistemáticas e com $Z = 8$ é o grupo espacial $\text{Iba}2$.

Partindo-se do grupo espacial $\text{Iba}2$, a estrutura cristalina foi encontrada com rapidez e o difratograma final (Rietveld) é descrito na Figura 59.

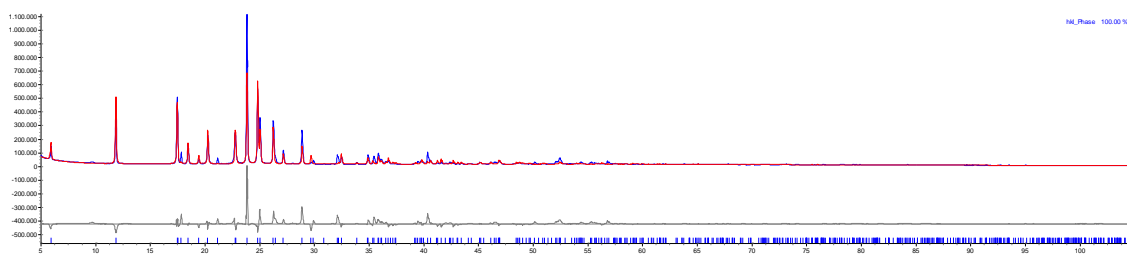


Figura 59: Difratograma do composto $\text{BNH}_{\text{red}} \cdot 2\text{HCl}$. A legenda segue a legenda descrita para Figura 58.

$\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$

Na Figura 60 são descritos difratogramas experimental e calculado do composto $\text{BNH}_{\text{red}}\text{AuCl}_4$. A indexação das 20 primeiras reflexões conduziram a parâmetros de cela $a = 11,08\text{Å}$, $b = 9,58\text{Å}$, $c = 11,60\text{Å}$ e $\beta = 75,50^\circ$ em um sistema cristalino monoclinico, com grupo espacial $\text{P}2_1/\text{c}$.

Partindo-se do princípio que este composto possui um ‘metal pesado’ (um átomo com muitos elétrons), inicialmente, procedeu-se o SA (*simulated annealing*) somente com o íon Au(III) . Combinando-se os resultados de análise elementar e os dados de difração (número de átomos de Au e volume da cela unitária), pode constatar que a estrutura provável seria um ligante $\text{BNH}_{\text{red}}2\text{H}^+$ e dois íons $[\text{AuCl}_4]^-$. Esta proposta de estrutura foi prontamente ajustada aos dados experimentais e a estrutura confirmada.

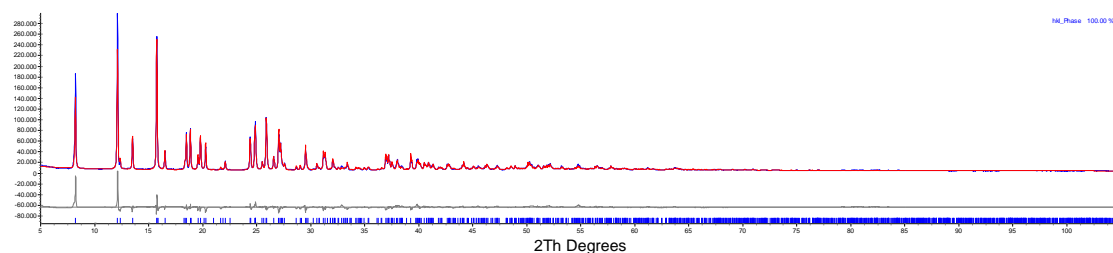


Figura 60: Padrões de difração experimental (azul) e calculado (vermelho). Em cinza, está a diferença entre os padrões.

CuBNH*

O composto intitulado CuBNH não foi, até aqui, descrito e relatado. Porém, este complexo foi sintetizado e sua estrutura cristalina foi determinada a partir de dados de difração de raios X – método policristalino.

A estrutura cristalina do CuBNH* é descrita na Figura 61. Assim como se pode observar pela estrutura cristalina, parte do ligante foi perdida após a reação, quando o composto se encontrava guardado em um frasco.

A análise elementar logo após o composto ficar pronto se ajustaram a um complexo muito próximo da proporção 1:2 (M:L) e depois de alguns dias, uma nova análise elementar foi realizada e os novos dados corroboraram a estrutura descrita na Figura 61. Os resultados das análises elementares são descritas na Tabela 30.

Tabela 30: Resultados de análises elementares do complexo CuBNH*

	[Cu(ClO ₄) ₂ (BNH) ₂]			[Cu(ClO ₄) ₂ (BNH*) ₂]		
	%C	%H	%N	%C	%H	%N
Calc	38,0	3,19	7,38	29,4	3,53	9,81
Exp1	34,7	3,51	7,52			
Exp2				29,7	3,49	9,39

Também é importante relatar que o CuBNH recém preparado apresenta-se na coloração verde e, passa a ser roxo após sofrer a decomposição parcial. Através de outra análise sensorial, foi possível perceber um aroma ‘doce’, que se assemelha muito ao aroma de 2-tiofeno-carboxaldeído.

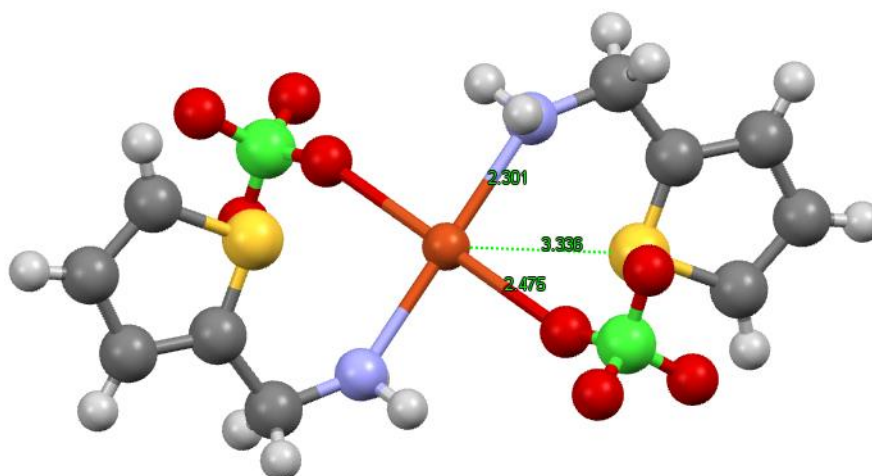


Figura 61: Estrutura cristalina do complexo CuBNH* onde cobre (em marrom) é o centro de simetria da molécula. Os átomos de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e cloro estão nas cores cinza-escuro, cinza-claro, azul, vermelho e verde, respectivamente. Projeção obtida pelo programa Mercury.

ANEXO B – Ensaios biológicos

Neste trabalho, os seguintes compostos tiveram suas respectivas atividades biológicas testadas, determinando a atividade Anti-MTB *in vitro*, citotoxicidade (IC₅₀) e índice de seletividade:

- BNH
- AgBNH
- Ag(BNH)₂
- ZnBNH

AMOSTRAS

As soluções estoque dos compostos de concentração 10.000 µg/mL foram solubilizadas em dimetilsulfóxido.

FÁRMACO DE REFERÊNCIA

Foi utilizada solução estoque de SSD de concentração 10.000 µg/mL como fármaco de referência para a padronização das metodologias.

SOLUÇÃO REVELADORA

A solução reveladora de todos os ensaios foi a resazurina a uma concentração de 0,01% em água estéril. Esta apresenta um potencial redox (óxido-redução), com mudança colorimétrica e propriedade fluorescente em resposta ao metabolismo celular.

CEPA BACTERIANA DE MTB H₃₇Rv ATCC 27294

Foi utilizada a cepa MTB H₃₇Rv – ATCC 27294. Os criotubos contendo a suspensão bacilar em água destilada estéril foram mantidos em freezer a -80°C até o momento de uso.

LINHAGEM CELULAR

- VERO (ATCC CCL81)

Foi utilizada a linhagem celular VERO (ATCC CCL81) - mantida em congelamento (-80°C) até o momento do uso. As células foram congeladas com o respectivo meio de cultura com 5% de DMSO.

METODOLOGIAS

- Preparo das Suspensões Bacilares

A partir de uma alíquota de 800 µL da cepa de MTB H₃₇Rv (ATCC 27294) congelada a -80°C foi realizada a suspensão bacilar em 200 mL de meio *Middlebrook 7H9* (BD[®]) enriquecido com OADC (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase) (BD/BBL[®]) na proporção de 10:1, respectivamente, de maneira a se obter uma grande quantidade de massa bacilar.

Após aproximadamente 10 dias de incubação à 37°C, a suspensão de micobactérias obtida foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos e lavada por 2 vezes com água destilada estéril. O sedimento obtido foi ressuspenso em 10 mL de água destilada estéril. Este foi aliquotado em criotubos (800 µL em cada) que foram congelados a -20°C por duas horas e após este período armazenados a -80°C até o momento de uso.

A avaliação da população bacilar viável foi realizada pelo plaqueamento de uma alíquota da suspensão em meio de *Middlebrook 7H11* (BD[®]) enriquecido com OADC nas seguintes diluições: 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵. Esta contagem é realizada a fim de no momento

do ensaio realizar-se a diluição correta para se obter uma concentração de 10^5 UFC/mL da suspensão bacteriana.

- Determinação da Atividade Anti – MTB *in vitro* utilizando a Resazurina como revelador da reação

A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi determinada empregando a metodologia padronizada por Palomino (Palomino et al., 2002). Em uma microplaca estéril de 96 orifícios foram depositados os seguintes volumes de meio Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC: 150 μ L nos controles dos complexos analisados (coluna 1); 200 μ L na coluna de hidratação (coluna 12); 100 μ L nos controles positivos (poços A, B, C e D da coluna 11); 100 μ L nos controles negativos (poços E, F, G e H da coluna 11) e 100 μ L demais orifícios da placa (colunas 2 à 10). Em seguida foi realizada diluição seriada de maneira a se obter concentrações variáveis de isoniazida (de 1 a 0,01 μ g/mL) e das demais substâncias (de 25 μ g/mL a 0,09 μ g/mL) – na própria placa. A cepa de MTB H₃₇R_V – ATCC 27294 congelada foi diluída até atingir a concentração de 10^5 UFC/mL. A seguir, 100 μ L da suspensão foi inoculada em cada um dos orifícios contendo as soluções de isoniazida, dos complexos e no controle positivo. A microplaca foi selada com parafilme e papel alumínio; sendo incubada à 37°C.

Após sete dias de incubação foi adicionado o volume de 30 μ L da resazurina diluída em água estéril (0,01%) por toda placa, sendo esta reincubada à 37°C por 24 horas.

Após este período, foi realizada a leitura visual e a interpretação da fluorescência no *SpectraFluor Plus* (TECAN®; filtros: 530nm de excitação e 590nm de emissão). A análise foi realizada utilizando uma planilha do Excel - cálculos e gráficos.

O revelador age como indicador da multiplicação celular e/ou viabilidade; que para a resazurina a cor azul representa a ausência de multiplicação/viabilidade celular e a rosa multiplicação ou presença de viabilidade (Palomino *et al.*, 2002). A CIM é, então, definida como a menor concentração do composto capaz de inibir a multiplicação de 90% da cepa de MTB, ou seja, a menor concentração dos compostos capaz de impedir a mudança da cor azul para rosa.

- Determinação da Citotoxicidade (IC₅₀)

A linhagem VERO (epiteliais normais) foi descongelada e cultivada em garrafas com superfície em torno de 12,50 cm² contendo 10 mL de meio DMEM (*Vitrocell*®). O meio, foi enriquecido com 10% de soro fetal bovino, sulfato de gentamicina (50 mg/L) e anfotericina B (2 mg/L). As garrafas foram incubadas à 35°C com 5% de CO₂ até atingir a confluência celular.

Após a confluência celular as células VERO foram retiradas utilizando solução de tripsina/EDTA (*Vitrocell*®) e contadas. Para cada ensaio de IC₅₀, 3,4 x 10⁵ cels/mL (VERO), foram semeadas em microplaca de 96 orifícios permitindo um volume final de 200 µL e incubadas por 24 h à 37°C com 5% CO₂ para permitir a adesão celular antes da análise com os complexos.

Após o período de incubação, as soluções dos compostos em concentrações de 10000µg/mL foram preparadas em DMSO à 5% e submetidas à diluição seriada em meio DMEM ou RPMI (de acordo com a linhagem celular utilizada) com intervalo de 500 à 2,0 µg/mL. As células foram expostas aos compostos nas diferentes concentrações por 24 h.

Após esta segunda incubação foram aplicados 30 µL de resazurina em cada orifício na concentração de 0,01% e incubadas por 6 h; para após este período ser realizada a leitura final.

A leitura final foi baseada na interpretação da fluorescência no SpectraFluor Plus (TECAN®). O valor de IC₅₀ é definido como a maior concentração do composto em que 50% das células permanecem viáveis.

Como controle, o IC₅₀ do DMSO foi determinado em cada ensaio (Pavan *et al.*, 2010).

ANEXO C – Congressos e manuscritos

- Trabalhos apresentados em congresso

Alexandre Cuin, Ionny A. Silva, André K. Henriques, Silvioney A. Silva, Marluce L. Coutinho. Síntese e caracterização de complexos de Ag(I) e Au(I) com 2-mercaptopentotiazol e 2-mercaptopentobenzimidazol. 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Florianópolis - SC. 2011. Apresentação: painel.

Silvioney A.Silva, Gustavo S.M. Costa, Pedro P.Corbi, Camilla Abbehausen, André L.B.Formiga, Wilton R.Lustri, Alexandre Cuin. Complexos de Ag(I) e de Au(I) com Penicilamina: síntese, caracterização espectroscópica e estudos biológicos. 35^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia - SP. 2012. Apresentação: painel.

Silvioney A.Silva, Alexandre Cuin, Fernando R. G. Bergamini, Pedro P. Corbi, Clarice Q. F. Leite, Fernando R. Pavan. Complexos de Ag(I) com o ligante *N,N'*-bis(tiofenil-2-metilideno)-1,2-etanodiamino: síntese, caracterização e atividade antituberculose. 36^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia - SP. 2013. Apresentação: oral e painel.

Silvioney A.Silva, Alexandre Cuin, Fernando R. G. Bergamini, Pedro P. Corbi, Clarice Q. F. Leite, Fernando R. Pavan. Synthesis, Characterization and antimycobacterial activity of Ag(I) complexes with *N,N'*-bis[thiophenil-2-methylidene]-1,2-diamine. XII International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine. Punta del Este – Uruguay. 2013. Apresentação: painel.

Alexandre Cuin, Silvioney A.Silva, Norberto Masciocchi, Clarice Q. F. Leite, Fernando R. Pavan. Coordinative versatility of a Schiff base containing thiophene: X-ray powder diffraction structures of the Zn and Ag complexes. Natta's Seeds Grow. Milano – Italy. 2013. Apresentação: painel.

- Artigos publicados.

Silvioney A. Silva, Norberto Masciocchi, Alexandre Cuin. Crystal Structures of N,N'-bis(thiophen-2-ylmethyl)ethane-1,2-diaminium Hydrochloride and of its $[\text{AuCl}_4]^-$ Salt solved by Powder Diffraction. *Powder Diffraction*, v. 29 (3), p. 300 – 306, 2014.

Silva, S. A.; Leite, C. Q. F.; Pavan, F. R.; Masciochi, N.; Cuin, A. Coordinative versatility of a Schiff base containing thiophene: Synthesis, characterization and biological activity of Zinc(II) and Silver(I) complexes. *Polyhedron*, v. 79, p. 170 -177, 2014.