



RELATÓRIO

NOVOS COMPLEXOS DE Mn (II), Co(II) e Au(III) COM LIGANTES DO GRUPO DAS FLUORQUINOLONAS: ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS

Aluno: Daniela Roditi Lachter (PUC-RIO)

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Queiroz Aucélio (PUC-RIO)

Co-orientação: Leticia Regina Teixeira (UFMG)

Agosto de 2009

Sumário

1 Introdução	pag
2 Objetivos	6
3 Materiais e métodos	6
4 Resultados e discussão	10
5 Conclusão	27
6 Referências Bibliográficas	28

1. Introdução

Novos de complexos metálicos podem trazer opções interessantes no arsenal terapêutico contra microorganismos (antibióticos) e para minimizar o crescimento rápido de tecidos, característico dos tumores (antitumorais). Em muitos casos, um fármaco tradicional (ligante) complexado com um metal pode apresentar maior atividade e espectro de ação mais amplo que o do fármaco não complexado. Essa sinergia entre o ligante e metal pode também produzir efeitos colaterais mais brandos.

A descoberta dos antibióticos representou o maior avanço na farmacoterapia nos últimos 50 anos, já que possibilitou o controle efetivo de muitos micróbios patogênicos que causam incapacitação prolongada ou a morte de seres humanos. A era da quimioterapia antimicrobiana iniciou-se em 1936 com a introdução, na clínica, das sulfonamidas. Em 1941, a introdução da penicilina foi um marco histórico na medicina por revolucionar os princípios terapêuticos até então usados nas doenças infecciosas. São conhecidos, atualmente, centenas de antibióticos e todos os anos esta lista aumenta [1].

A partir da descoberta, das propriedades antitumorais do composto cis[(diaminodicloro)platina(II)], $\text{cis}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, chamado “cisplatina”, feita pelo físico Barnett Rosenberg em 1965, outros estudos se seguiram para se desenvolver metalofármacos antitumorais. O uso clínico da cisplatina, que se iniciou em 1978, reduziu o número de mortes de homens por tumor de testículo em cerca de 80% [2]. Esse resultado abriu os olhos da comunidade científica que tomou consciência das inúmeras possibilidades para a exploração das propriedades terapêuticas dos complexos metálicos. Assim sendo, novos estudos relacionados às propriedades farmacológicas e à investigação de mecanismos de ação de complexos metálicos vêm sendo realizados na tentativa de melhorar a atividade de drogas (ligantes orgânicos) tradicionais [1]. Alguns compostos metálicos que fazem parte do arsenal terapêutico atual são [3,4]: (i) os de platina, empregados como agentes anticancerígenos, (ii) o nitrato de gálio, empregado no tratamento de alguns tumores, (iii) agentes antimicrobianos contendo prata, (iv) alguns complexos de ouro, como a auronofina [(2,3,4,6-tetra-*o*-acetil- β -1-D-tiopiranosato-*S*)ouro(I)], usados contra a artrite, (v) compostos de bismuto, empregados contra úlcera, (vi) compostos de antimônio, usados contra *Leishmania*, (vii) o nitroprussiato, um complexo de ferro usado nas emergências hipertensivas, entre outros

Atualmente, uma importante classe de antibióticos sintéticos, conhecidos como fluorquinolonas, tem sido objeto de intensos estudos. A história das fluorquinolonas está diretamente relacionada ao ácido nalidíxico (Figura 1), uma quinolona com interessante atividade antibacteriana, que foi sintetizada e patenteada em 1962 por Lescher e colaboradores [5].

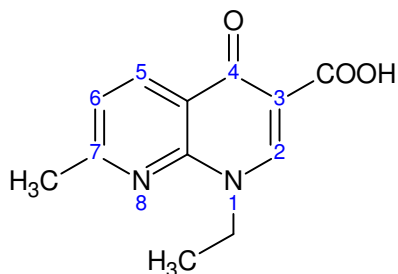


Figura 1: Estrutura do ácido nalidíxico.

As fortes indicações de que esta classe de compostos poderia ser empregada no combate a infecções bacterianas aumentou o número de estudos com esta molécula. Esta indicação foi confirmada no final da década de 1970, quando se identificou que a introdução de um átomo de flúor em posição C-6 e um grupo piperazila em posição C-7 conferiam um amplo e potente espectro de atividade antibacteriana.

Esta classe de compostos, pouco importante nas últimas duas décadas, tem atualmente destacada importância no combate a diferentes tipos de bactéria sendo os únicos agentes antimicrobianos sintéticos a competirem com as β -lactamas em uso clínico [6].

As fluorquinolonas vêm sendo estudadas devido à sua capacidade quelante e suas aplicações como agentes antimicrobianos, antituberculose e antitumorais [7,8]. As fluorquinolonas são usadas no tratamento de bronquite crônica, pneumonia, infecções do trato urinário, sinusite, tuberculose, dentre outras. Além disso, são agentes alternativos no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (DST), como a blenorragia ou gonorréia, a mais comum das DST [7].

As fluorquinolonas podem combater as infecções bacterianas, já que são capazes de inibir a DNA girase, uma enzima essencial envolvida na replicação, transcrição e reparação do DNA bacteriano. A DNA girase bacteriana é um tetrâmero, composto de duas

subunidades A e duas subunidades B. Os antibióticos fluorquinolônicos ligam-se especificamente com as subunidades A. A habilidade de penetração em diferentes espécies de bactérias, bem como de se ligar à DNA girase, são processos determinantes no espectro de atividade de um agente antimicrobiano [1]. A resistência bacteriana associada às fluorquinolonas está relacionada com mutações na subunidade A da DNA girase bacteriana. Os fatores principais que predispõem o desenvolvimento de resistência incluem concentrações subinibitórias da droga e terapia prolongada [9].

Sabe-se que a complexação a metais pode levar a uma significativa redução da resistência celular já que os mecanismos de resistência que reconhecem um composto orgânico podem não reconhecê-lo quando complexado a um cátion metálico [2]. A complexação também pode levar a um aumento da atividade das fluorquinolonas provavelmente devido a um aumento da lipofilia que leva a um maior acúmulo intracelular. Sendo assim, no caso específico das quinolonas, as interações com cátions metálicos têm sido estudadas intensamente devido ao interesse biológico e químico em suas propriedades farmacológicas, principalmente como agentes antibacterianos. Vários estudos sobre a interação entre as fluorquinolonas e cátions metálicos vem sendo relatadas na literatura:

Gao e colaboradores [10] mostraram que complexos de Co(II), Fe(III) e Zn(II) da norfloxacin, do tipo $[\text{Co}(\text{NOR})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Fe}(\text{NOR})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Zn}(\text{NOR})_2]\text{Cl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ são mais ativos que a norfloxacin livre contra cepas de *Escherichia coli* e *Bacillus dysenteriae*.

Turel e colaboradores [11,12] prepararam complexos de Bi(III) da ciprofloxacina, do tipo $(\text{CIPRO})_2[\text{Bi}_2\text{Cl}_{10}] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e mostraram que os complexos são capazes de inibir o crescimento de *Helicobacter pylori*, *Streptococcus viridans*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus haemolyticus G*.

Shaikh e colaboradores [13] prepararam um complexo de Bi(III) com a norfloxacin e mostraram que o complexo é mais ativo que o ligante livre na inibição do crescimento de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilis* e *Staphylococcus epidermidis*.

Desse modo, pode-se dizer que a procura por complexos metálicos pode propiciar um aumento do número e da qualidade do arsenal terapêutico disponível para o tratamento

de doenças importantes (mal de chagas, infecções bacterianas, etc.), A disponibilização destas séries de complexos permite a realização eficiente de estudos de relações estrutura-atividade. Tais estudos de interação física e/ou química, com uma abordagem bioquímica, como os propostos neste trabalho poderão fornecer informações valiosas sobre estas novas moléculas.

Esse trabalho compreendeu a obtenção de sete novos complexos com ligantes do grupo das fluorquinolonas, a partir dos íons metálicos $MnCl_2$, $CoCl_2$ e $NaAuCl_4$. Os complexos foram caracterizados através de seus pontos de fusão, medidas de condutimetria, análise elementar, espectroscopia na região do infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de 1H e ^{13}C e ressonância paramagnética eletrônica. As propriedades luminescentes das fluorquinolonas e de seus complexos de $Mn(II)$ e $Co(II)$ foram estudadas como estratégia para identificar e monitorar a presença dessas espécies no meio biológico.

2. Objetivos

O trabalho teve como objetivo sintetizar e caracterizar novos complexos de $Mn(II)$ e $Co(II)$ da esparfloxacina e da norfloxacina, e complexos de $Au(III)$ da levofloxacina, da norfloxacina e da esparfloxacina.

3. Materiais e métodos

3.1. Reagentes

Os solventes orgânicos utilizados neste trabalho são de procedência Merck, Vetec ou Synth. As fluorquinolonas esparfloxacina (ESPAR), norfloxacina (NOR) e levofloxacina (LEVO) são de procedência Sigma. Os sais dos metais utilizados são de procedência Aldrich.

3.2. Equipamentos de pequeno porte

As pesagens foram feitas em uma balança eletrônica modelo FA-2104N, Bioprecisa e para evaporação de solvente, utilizou-se um aparelho evaporador rotatório da Fisotom modelo 550. As faixas de fusão de ligantes e complexos foram medidas utilizando-se o equipamento digital modelo MQAPF- 302. Experimentos de condutimetria foram efetuadas, à temperatura ambiente, utilizando-se o equipamento TecnoPON modelo mCA-150. As soluções dos complexos foram preparadas, nos respectivos solventes, na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

3.3. Técnicas usadas (equipamentos e condições de uso)

- **Análise Elementar** - a determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas em um Analisador Elementar (CHNS-O), modelo EA 1110, da CE Instruments. As amostras foram pesadas (2 – 2,5 mg) em balança analítica com precisão de $1,0 \times 10^{-4} \text{ g}$ em cápsulas de estanho. Os elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio foram analisados simultaneamente, mediante curva de calibração obtida com padrões secos e de alta pureza, com tempo de queima de 600 segundos, sob temperatura de 1000°C e fluxo de gás hélio. As análises foram realizadas em duplicata.
- **Espectroscopia vibracional de absorção na região do IV** – os espectros na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro modelo 2000 Ft-IR da Perkin Elmer. Os dados foram coletados em intervalos de $0,5 \text{ cm}^{-1}$. Os espectros foram registrados em duas regiões: na região de frequência entre 4000 e 370 cm^{-1} , foram preparadas pastilhas de brometo de potássio (KBr) com amostra a ser analisada e, na região entre 710 e 30 cm^{-1} , foram preparadas pastilhas de polietileno com a amostra a ser analisada.
- **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear** - Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C foram obtidos no Departamento de Química da UFRJ, em colaboração com a **Profa. Rosane A. S. San Gil**, utilizando-se um espectrômetro Bruker DPX-200 (200 MHz) e Bruker DRX-400 Avance (400 MHz) e trimetilsilano (TMS $\delta = 0$) como referência interna.

- **Ressonância Paramagnética Eletrônica** – Os espectros de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) foram obtidos no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) em colaboração com a **Profa. Sônia R. Louro**, do Departamento de Física da PUC-Rio e a Professora **Elaine Waiberj**. Utilizou-se um espectrômetro da Bruker ESP300E, com frequência de modulação de 100 KHz operando em 1,1 mT. As amostras, no estado sólido e em solução congelada de metanol, foram medidas utilizando-se tubos de quartzo de diâmetro interno de 3 mm, em temperatura de N₂ líquido.
- **Luminescência** - A luminescência dos complexos foi estudada em substrato sólido e em solução de acetona (Merck). Os espectros de excitação e emissão fosforescentes foram obtidos em um espectrômetro de luminescência comercial da Perkin Elmer modelo LS 55 (Perkin Elmer, EUA). O equipamento tem como fonte de excitação uma lâmpada pulsátil do tipo descarga de xenônio de 20 kW com 8µs de duração de pulso. O detector é um tubo fotomultiplicador R928 com resposta modificada S5 sensível para detectar radiação até em torno de 900 nm. Monocromadores do tipo Monk-Gillieson cobrem as faixas espectrais de 200-800 nm para excitação e 200-900 nm para emissão. Entre os vários acessórios que o equipamento possui, para realizar as medições de fosforescência em substrato sólido, foi utilizado o aparato de medição em superfície sólida que é acoplado no compartimento de amostra do espectrômetro de luminescência.

3.4. Síntese dos complexos de Mn(II) E Co(II) de Norfloxacin e Esparfloxacin

Os complexos de Mn(II) e Co(II) foram obtidos dissolvendo-se 0,25 mmol dos ligantes NOR e ESPAR, em aproximadamente 40 mL de acetona e diclorometano, respectivamente. Após a dissolução dos ligantes 0,25 mmol de MnCl₂.4H₂O ou CoCl₂.4H₂O foram adicionados. A mistura permaneceu sob refluxo e agitação por aproximadamente 24 h. Os precipitados formados foram filtrados a vácuo, lavados com éter etílico e secos. Quatro novos complexos foram obtidos, dois de Mn(II) e dois de Co(II): [Mn(NOR)Cl₂] (**1**), [Mn(ESPAR)Cl₂] (**2**), [Co(NOR)Cl₂] (**3**), [Co(ESPAR)Cl₂] (**4**). Os complexos foram caracterizados por seus pontos de fusão, medidas de condutividade, análise elementar, espectros na região do infravermelho, ressonância paramagnética eletrônica (RPE), no caso

dos complexos de Mn(II). Na Tabela 1 são apresentadas as cores e as faixas de fusão para os complexos de Mn(II) e Co(II) de NOR e ESPAR. Nas Figuras 2 e 3 são mostradas as equações que indicam as reações para a obtenção dos complexos.

Tabela 1. Cor e faixa de decomposição ($^{\circ}\text{C}$) para os complexos de Mn(II) e Co(II) de Norfloxacin e Esparfloxacin

Composto	Cor	Faixa de decomposição ($^{\circ}\text{C}$)
[Mn(NOR)Cl ₂] (1)	Amarelo claro	293
[Mn(ESPAR)Cl ₂] (2)	Amarelo	278
[Co(NOR)Cl ₂] (3)	Azul	269
[Co(ESPAR)Cl ₂] (4)	Verde	295

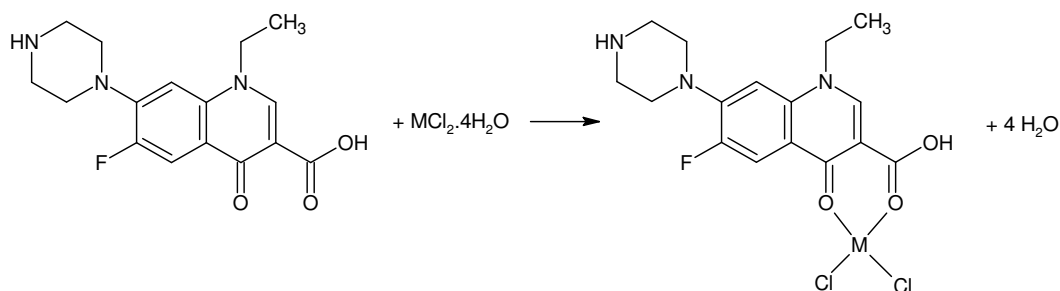


Figura 2. Equação de obtenção dos complexos de Mn(II) e Co(II) de norfloxacin (NOR).

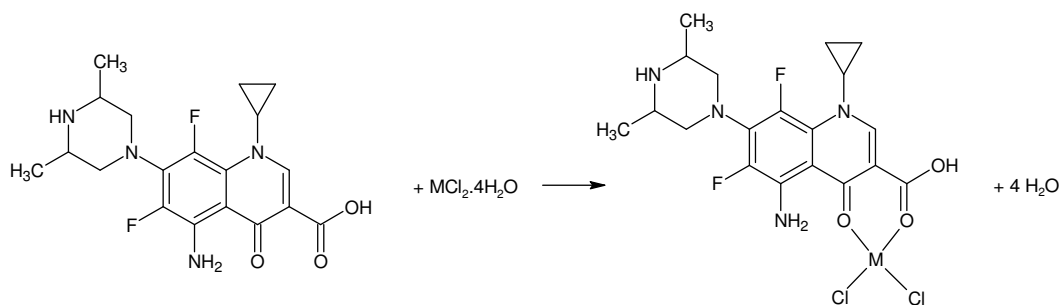


Figura 3. Equação de obtenção dos complexos de Mn(II) e Co(II) de esparfloxacin (ESPAR).

3.5 Síntese dos complexos de Au(III) de NOR, ESPAR e LEVO

Os complexos de Au (III) foram obtidos dissolvendo-se 0,25 mmol dos ligantes LEVO, NOR) e ESPAR, em aproximadamente 40 mL de metanol. Após a dissolução dos ligantes, 0,25 mmol de HAuCl₄ foram adicionados, solubilizado previamente em metanol. A mistura permaneceu sob refluxo e agitação por aproximadamente 24 h. Os precipitados formados foram filtrados a vácuo e posteriormente secos. Três novos complexos foram obtidos: [AuCl₂(LEVO)]Cl (5), [AuCl₂(NOR)]Cl (6), [AuCl₂(ESPAR)]Cl (7).

Os complexos foram caracterizados por seus pontos de fusão, medições de condutividade, análise elementar, espectros na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear (RMN). Na Tabela 1 são apresentadas cor e faixa de fusão para os complexos de Au (III) de LEVO, NOR e ESPAR.

Tabela 1. Cor e faixa de decomposição (°C) para os complexos de Au (III) de LEVO, NOR e ESPAR.

Composto	Cor	Faixa de decomposição (°C)
[AuCl ₂ (LEVO)]Cl (1)	Bege escuro	190 - 210
[AuCl ₂ (NOR)]Cl (2)	Marrom claro	150 - 200
[AuCl ₂ (ESPAR)]Cl (3)	Marrom escuro	330*

*Não foi observada mudança na cor pois o complexo é muito escuro.

4. Resultados e discussão

Sete novos complexos de Mn(II), Co(II) e Au(III) com as fluorquinolonas, do tipo [Mn(NOR)Cl₂] (1), [Mn(ESPAR)Cl₂] (2), [Co(NOR)Cl₂] (3), [Co(ESPAR)Cl₂] (4), [AuCl₂(LEVO)]Cl (5), [AuCl₂(NOR)]Cl (6), [AuCl₂(ESPAR)]Cl (7) foram obtidos e caracterizados por meio de diversas técnicas. A seguir esses estudos são descritos em etapas, de acordo com os metais e ligantes envolvidos.

4.1. Complexos de Mn(II) e Co(II) de norfloxacin (NOR) e de esparfloxacin (ESPAR)

A reação de cloreto de manganês(II) e cloreto de cobalto(II) com as fluorquinolonas norfloxacin (NOR) e esparfloxacin (ESPAR) levou à obtenção de quatro complexos inéditos. Os produtos obtidos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade, espectroscopias na região do infravermelho, espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE), no caso dos complexos de manganês, e análise termogravimétrica. Estudos das propriedades luminescentes de ligantes e complexos também foram feitos.

4.1.1. Microanálises e condutimetria.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados da análise elementar e de condutividade para os complexos de Mn(II) e Co(II). As percentagens em massa dos elementos C, H e N foram obtidas por análise elementar de CHN e seus valores sugerem a formação de complexos neutros do tipo $[MCl_2(NOR)(H_2O)_2]$ e $[MCl_2(ESPAR)(H_2O)_2]$, onde M = Mn(II) ou Co(II). NOR e ESPAR representam os ligantes norfloxacin e esparfloxacin coordenados aos íons metálicos de forma neutra.

Os valores relativamente elevados para a condutividade dos complexos em DMF indicaram que o solvente está deslocando parte dos cloretos presentes na estrutura dos complexos. A presença de água na estrutura dos complexos foi confirmada pelas bandas características dessa espécie nos espectros de infravermelho e pela perda de água nos termogramas TG/DTG (ver mais adiante).

Tabela 3. Cor, análise elementar (valores calculados entre parênteses) e condutividade (Λ , $\mu S\ cm^{-1}$) para os complexos (1)-(4)

Complexos	%C	%H	%N	Λ^*
$[MnCl_2(NOR)(H_2O)_2]$ (1)	38,7 (39,9)	4,6 (4,6)	8,4 (8,7)	62,3
$[CoCl_2(NOR)(H_2O)_2]$ (2)	39,8 (39,6)	4,7 (4,6)	8,8 (8,7)	39,5
$[MnCl_2(ESPAR)(H_2O)_2]$ (3)	40,0 (41,2)	4,6 (4,7)	9,6 (10,1)	48,3
$[CoCl_2(ESPAR)(H_2O)_2]$ (4)	40,4 (40,9)	4,7 (4,7)	9,9 (10,0)	41,4

*Condutividade: $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em DMF

4.1.1. Espectroscopia na região do infravermelho

As frequências características das bandas dos espectros do infravermelho que são mais úteis na determinação do modo de coordenação das fluorquinolonas ao centro metálico são indicadas na Tabela 4 para os ligantes livres e os complexos de Mn(II) e Co(II).

Tabela 4. Principais frequências vibracionais (cm^{-1}) e atribuições de bandas na região do infravermelho dos complexos de Mn(II) e Co(II) da norfloxacin e da esparfloxacin

	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{COOH})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu_{\text{ass}}(\text{COO}^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$
Norfloxacin (NOR)	-	1732 m	1619 F	-	-
$[\text{MnCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (1)	3390 F	-	1566 F	1630 F	1393 m
$[\text{CoCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (3)	3396 F	-	1573 F	1630 F	1393 m
Esparfloxacin (ESPAR)	-	1716 m	1638 F	-	-
$[\text{MnCl}_2(\text{ESPAR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (2)	3415 F	-	1560 F	1630 F	1381m
$[\text{CoCl}_2(\text{ESPAR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (4)	3419 F	-	1568 F	1633 F	1386 m

Os espectros na região do infravermelho dos complexos (1)-(4) são bastante semelhantes e, em todos os casos, observou-se uma banda alargada em torno de 3420 cm^{-1} indicando a presença de moléculas de água [14].

Os espectros da NOR e da ESPAR livres mostraram bandas de absorção em 1730 e 1716 cm^{-1} , respectivamente, atribuídas à vibração de estiramento do grupo carboxílico, $\nu(\text{COOH})$ [15,16]. Essas bandas estão ausentes nos espectros dos complexos indicando o envolvimento do grupo carboxílico na interação com os íons metálicos. Na Figura 4 isso é exemplificado na comparação dos espectros da NOR e seu complexo com Mn(II).

A banda atribuída ao estiramento $\nu(\text{C=O})$ de cetona aparece em 1621 e 1638 cm^{-1} nos espectros da NOR e da ESPAR, respectivamente [15,16]. Nos espectros dos

complexos, essa banda encontra-se deslocada para a região entre 1560 - 1573 cm^{-1} indicando a coordenação da carbonila cetônica aos íons metálicos.

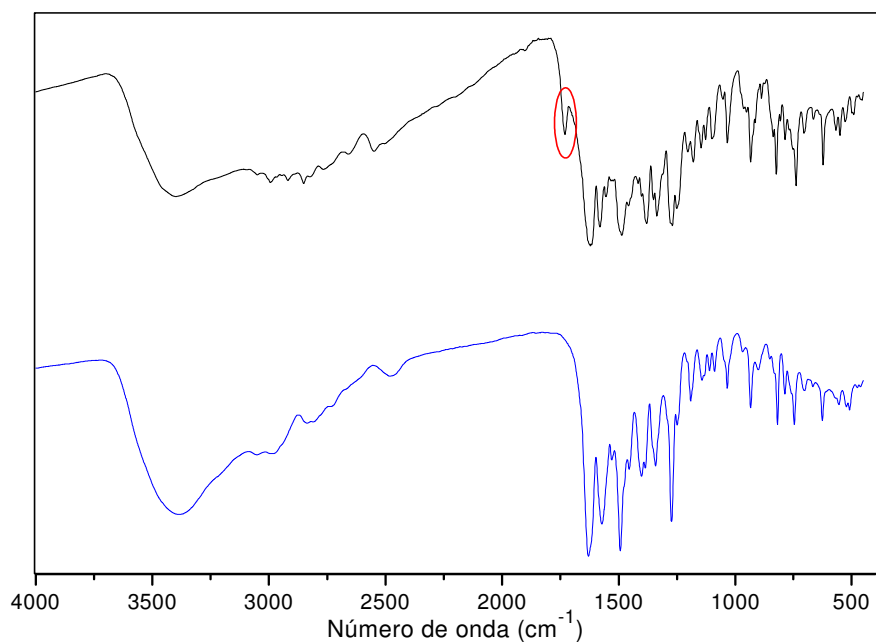


Figura 4. Espectros de infravermelho da NOR (—) e do complexo $[\text{MnCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**1**) (—). O círculo vermelho destaca o estiramento $\nu(\text{COOH})$ em 1732 cm^{-1}

As bandas em torno de 1630 cm^{-1} , nos espectros dos complexos, podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico do grupo carboxilato coordenado ao metal $\nu_{\text{ass}}(\text{COO}^-)$ e, as bandas em torno de 1390 cm^{-1} , ao estiramento simétrico do grupo carboxilato $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$ [15,16]. Essas bandas não são observadas nos espectros das fluorquinolonas livres.

O grupo carboxilato pode coordenar-se aos íons metálicos de modo monodentado, bidentado ou em ponte. A frequência de separação entre os modos vibracionais simétrico e assimétrico desse grupo $[\Delta\nu = \nu_{\text{ass}}(\text{COO}^-) - \nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)]$ pode ser usada para distinguir entre os diferentes modos de coordenação [15,17]. Deacon e Phillips [18] investigaram as frequências de estiramento simétrico e assimétrico de um grande número de complexos carboxilatos, cujas estruturas cristalográficas são conhecidas, e concluíram que o modo de coordenação desse grupo pode ser distinguido da seguinte forma:

- (i) $\Delta\nu < 100 \text{ cm}^{-1}$, o grupo carboxilato está coordenado de modo bidentado;
- (ii) $\Delta\nu \sim 150 \text{ cm}^{-1}$, o grupo carboxilato está coordenado em ponte;

(iii) $\Delta\nu > 200 \text{ cm}^{-1}$, o grupo carboxilato está coordenado de modo monodentado.

Os valores de $\Delta\nu$ observados nesse trabalho para os complexos (1)-(4) são 237, 237, 249 e 247 cm^{-1} , respectivamente, o que sugere a coordenação do grupo carboxilato de forma monodentada.

Portanto, os dados dos espectros de infravermelho indicam que a NOR e a ESPAR estão coordenadas aos íons Mn(II) e Co(II) de modo bidentado através do grupo carboxilato e da carbonila cetônica. No entanto, a coordenação pode ocorrer de duas maneiras: com as fluorquinolonas na forma neutra ou na forma zwitterionica, como indicado na Figura 5 no caso da NOR.

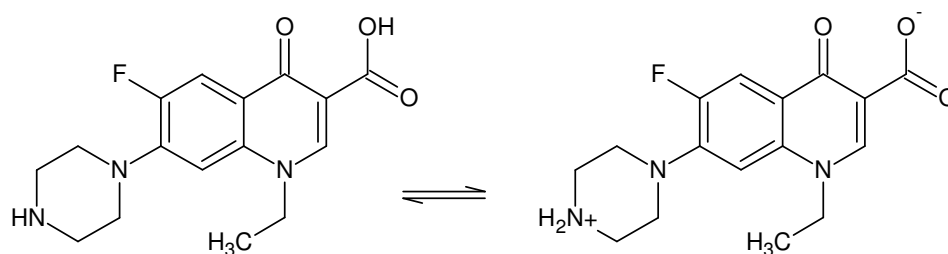


Figura 5. Estruturas da NOR na forma neutra e na forma zwitterionica.

Portanto, existem igualmente duas possíveis estruturas para os complexos estudados no presente trabalho. As estruturas são mostradas nas Figuras 6 e 7.

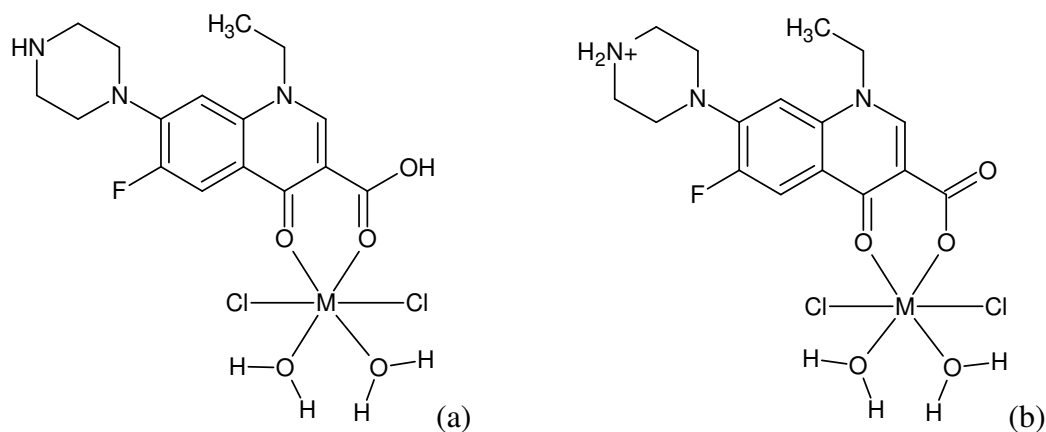


Figura 6. Estruturas prováveis para os complexos da NOR (M = Mn ou Co).

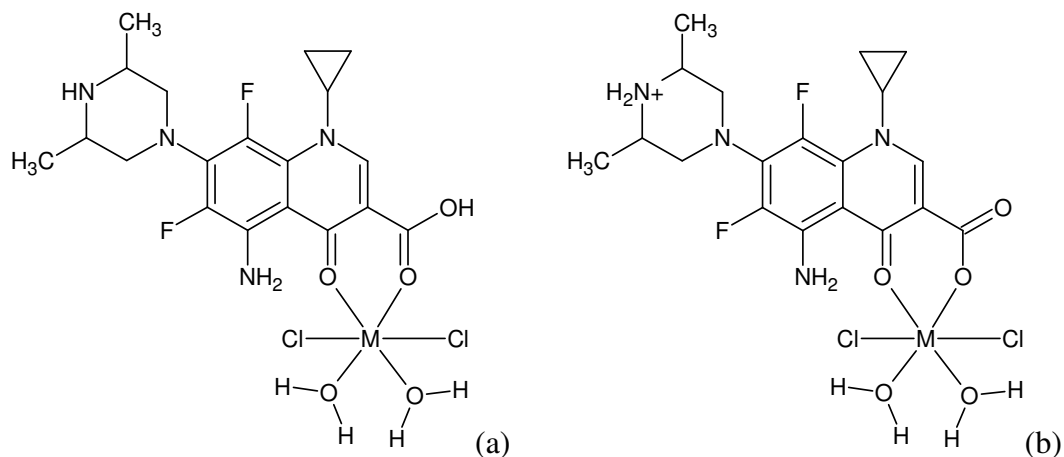


Figura 7. Estruturas prováveis para os complexos da ESPAR (M = Mn ou Co).

4.1.3 Ressonância Paramagnética Eletrônica para os complexos de Mn(II)

Não foi possível obter espectros satisfatórios para os complexos de Co(II) na temperatura ambiente e utilizando nitrogênio líquido. As análises serão repetidas, futuramente, em hélio líquido. Os espectros de RPE para os complexos de Mn(II) (**1** e **2**) foram obtidos no estado sólido na temperatura ambiente. Os espectros dos complexos em solução aquosa foram obtidos na temperatura ambiente e a 77 K.

Tanto no estado sólido quanto em solução congelada a 77 K (Figura 8), os espectros RPE de (**1**) e (**2**) apresentaram-se muito alargados (35 a 60 mT). Os espectros sugerem Mn(II) baixo spin, já que os valores de g não se desviam muito de 2.

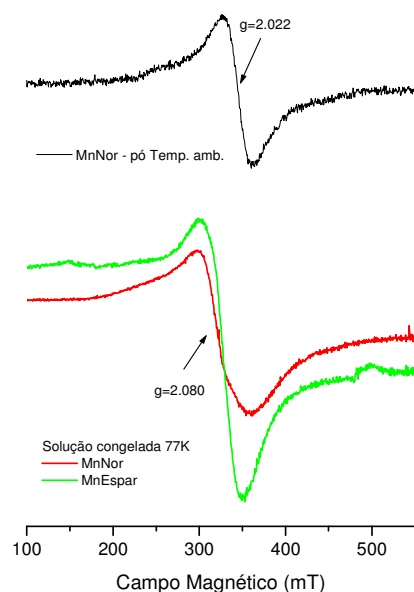


Figura 8. Espectros de RPE para o complexo (1), no estado sólido à temperatura ambiente e para os complexos (1) e (2) em solução aquosa congelada a 77K.

Já em solução aquosa na temperatura ambiente (Figura 9), as seis linhas hiperfinas características da interação com o núcleo de ^{55}Mn aparecem bem resolvidas. A largura das linhas é bem menor do que nas amostras em pó ou solução congelada (2,3 mT). Isso indica que o manganês tem um movimento rápido de rotação, que provoca estreitamento das linhas pelo movimento (motional narrowing). O fator g isotrópico é muito próximo ao do elétron livre, $g = 2,0022$, e a constante de interação hiperfina é $A = 9,3$ mT.

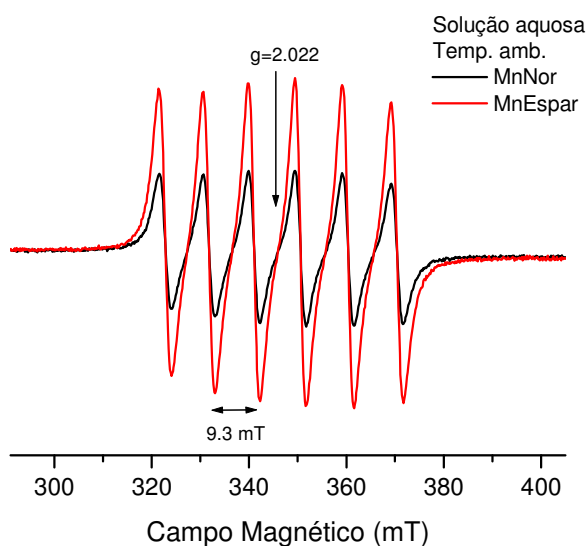


Figura 9. Espectros de RPE para os complexos (1) e (2), em solução aquosa à temperatura ambiente.

4.1.4 Estudos de Luminescência

Estudos de fluorescência foram realizados com ligantes e complexos de Mn(II) e de Co(II) no estado sólido e em solução. No estado sólido, o espectro de fluorescência da NOR mostrou uma banda de excitação em 371 nm e a respectiva banda de emissão em 436 nm. Já o espectro de fluorescência da ESPAR mostrou uma banda de excitação em 430 nm e a respectiva banda de emissão em 476 nm. A intensidade do sinal fluorescente foi similar para a NOR e para a ESPAR. Em ambos os casos, observou-se a eliminação do sinal fluorescente após a complexação das fluorquinolonas com os íons Co(II) e Mn(II) (Tabela 5). Esse fenômeno poderia ser explicado devido ao efeito interno do átomo pesado, onde o metal presente na estrutura do complexo força a mudança da natureza do estado excitado singleto para tripleto causando supressão do sinal fluorescente. Em condições experimentais mais favoráveis (em atmosfera inerte, por exemplo) possivelmente poderia ser observada fosforescência desses complexos.

Tabela 5. Comprimentos de onda de excitação e emissão e intensidade (sinal líquido) das bandas de fluorescência para a NOR, a ESPAR e os complexos (1)-(4), no estado sólido

Composto	$\lambda_{\text{excitação}}$ (nm)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	Intensidade
NOR	371	436	788
[MnCl ₂ (NOR)(H ₂ O) ₂] (1)	355	420	43
[CoCl ₂ (NOR)(H ₂ O) ₂] (3)	372	422	67
ESPAR	430	476	723
[MnCl ₂ (ESPAR)(H ₂ O) ₂] (2)	425	476	9
[CoCl ₂ (ESPAR)(H ₂ O) ₂] (4)	430	476	56

As Figuras 10 e 11 mostram os espectros de fluorescência no estado sólido da norfloxacin, da esparfloxacin e de seus complexos de Mn(II) e Co(II).

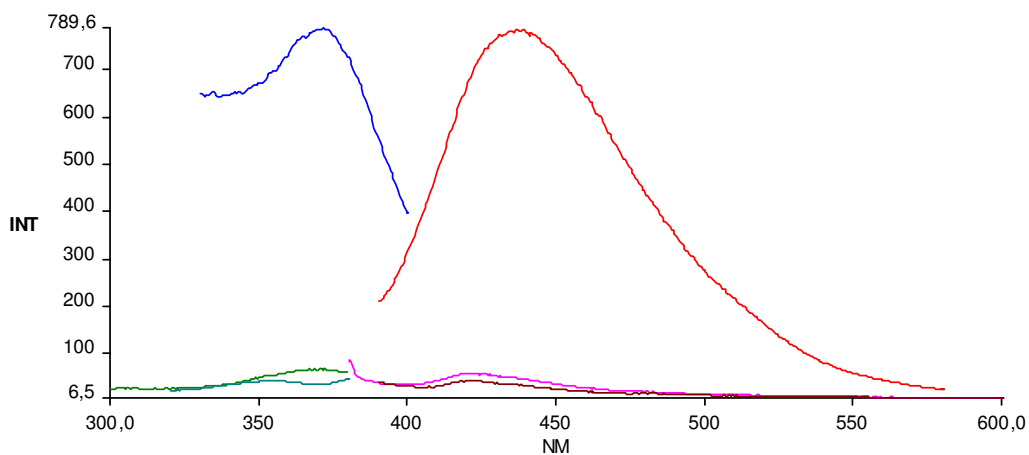


Figura 10. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos no estado sólido para a NOR (■ ex, ■ em) e os complexos (1) e (3).

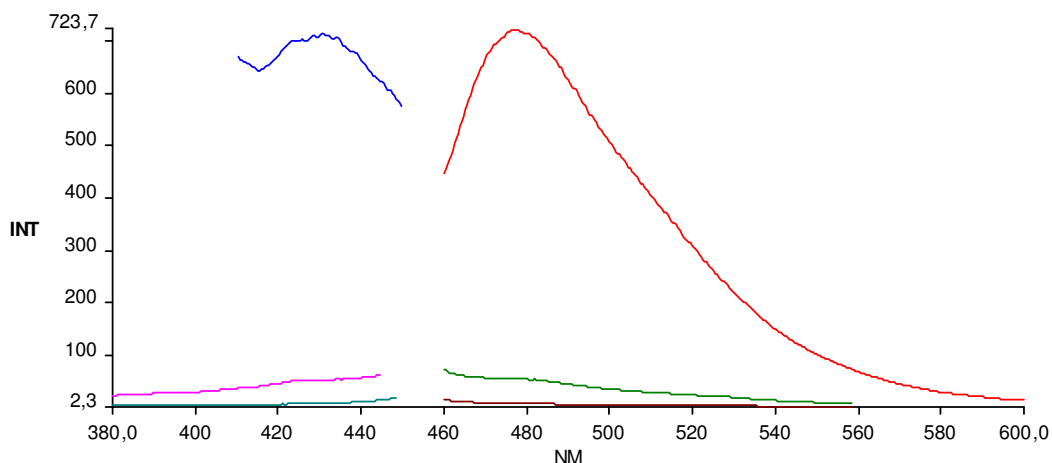


Figura 11. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos no estado sólido para a esparfloxacina (■ ex, ■ em) e os complexos (2) e (4).

Em solução aquosa, os valores de $\lambda_{\text{excitação}}$ para a NOR e para a ESPAR foram observados em 260 e 302 nm, respectivamente. Esses valores estão bem abaixo daqueles observados para esses compostos no estado sólido. Como as propriedades luminescentes de uma substância são muito dependentes do meio onde a mesma se encontra, a diferença na energia relativa do estado excitado em relação ao estado fundamental pode ser explicada por algum efeito de solvatação das espécies em solução. Na Tabela 6 são resumidos os dados espectrais para a NOR, a ESPAR e seus complexos de Mn(II) e Co(II).

Tabela 6. Comprimentos de onda de excitação e emissão e intensidade das bandas de fluorescência para a norfloxacina, a esparfloxacina e os complexos (1)-(4), em solução aquosa

Composto	$\lambda_{\text{excitação}}$ (nm)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	Intensidade
Norfloxacina	260	444	654
[MnCl ₂ (NOR)(H ₂ O) ₂] (1)	259	426	312
[CoCl ₂ (NOR)(H ₂ O) ₂] (3)	261	442	495
Esparfloxacina	302	520	47*
[MnCl ₂ (ESPAR)(H ₂ O) ₂] (2)	342	520	98*
[CoCl ₂ (ESPAR)(H ₂ O) ₂] (4)	344	523	31*

*Valores obtidos após descontar a intensidade do branco (34 nm). Nos demais casos o sinal do branco aparece em diferentes comprimentos de onda

Nos espectros dos complexos (1) e (3) observa-se as bandas características da NOR livre. A coordenação aos metais não levou a grandes mudanças espectrais (Figura 12). Não

foram observadas diferenças significativas nos comprimentos de onda máximos de excitação dos complexos em relação aos da NOR livre. No entanto, o comprimento de onda máximo de emissão do complexo $[\text{MnCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**1**) sofreu um deslocamento hipsocrômico de 16 nm em relação ao sinal da NOR livre.

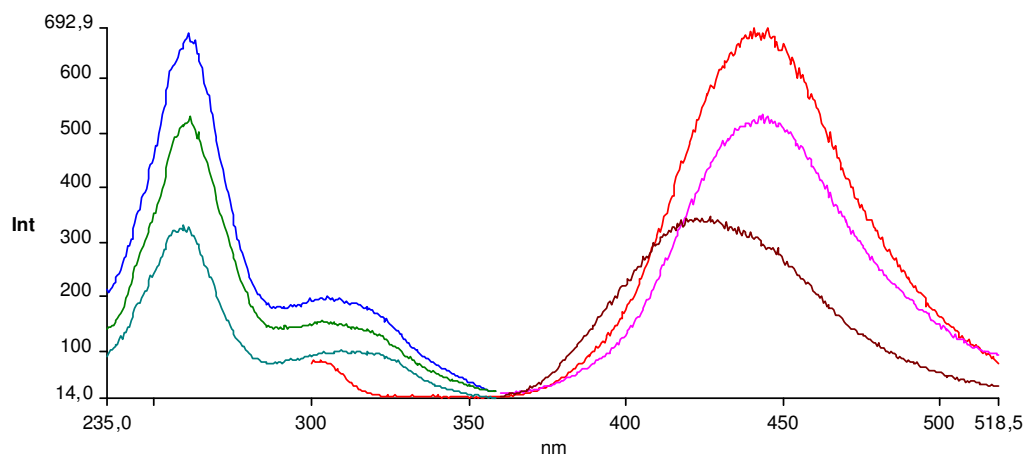


Figura 12. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos em solução aquosa para a NOR (■ ex, ■ em), $[\text{MnCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**1**) (■ ex, ■ em) e $[\text{CoCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**3**) (■ ex, ■ em).

Os espectros dos complexos (**2**) e (**4**) são igualmente semelhantes ao espectro da ESPAR livre (Figura 13). No entanto, nesse caso, foram observadas pequenas diferenças no formato das bandas de excitação dos complexos em relação ao da ESPAR livre. Já os comprimentos de onda máximos de emissão não sofreram mudanças significativas. É interessante verificar um aumento de sinal do complexo com Mn(II) em relação ao do ligante livre. Esse fenômeno poderia ser explicado pela presença do Mn(II) na estrutura do complexo (o que seria discordante com o observado nos estudos em estado sólido) ou na mudança do pH da solução aquosa após a formação do complexo. O sinal luminescente das fluorquinolonas é muito sensível às alterações de pH, que afetam, principalmente, os grupos carboxílicos da molécula, que por sua vez influenciam a densidade eletrônica do grupo cromóforo. Como não foi avaliada a variação do pH da solução do complexo em relação à solução do ligante, essa afirmativa fica apenas no campo da especulação. Porém, o importante é que sinais fluorescentes dos complexos podem ser identificados em solução, propiciando seu monitoramento, por exemplo, nos casos de controle de dose, estudos farmacocinéticos e outros.

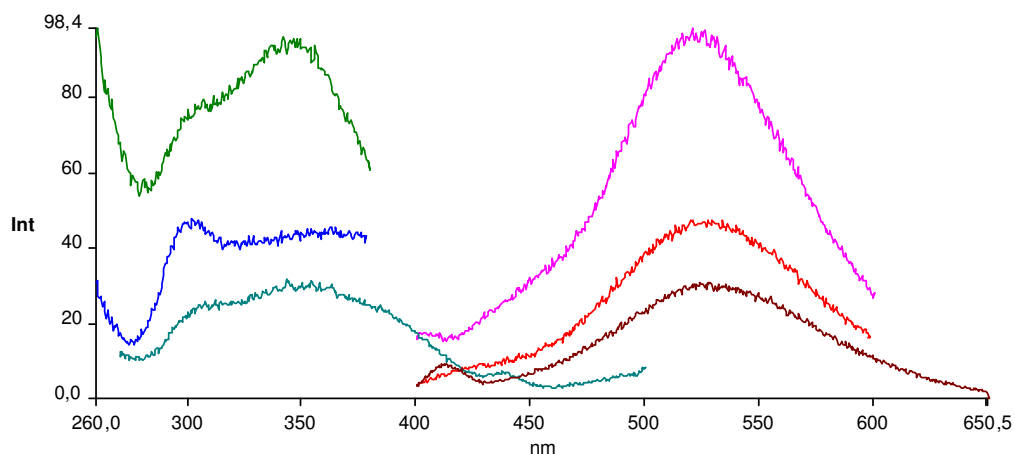


Figura 13. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos em solução aquosa para a ESPAR (■ ex, ■ em), $[\text{MnCl}_2(\text{ESPAR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**9**) (■ ex, ■ em) e $[\text{CoCl}_2(\text{ESPAR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (**10**) (■ ex, ■ em).

4.2. Complexos de Au(III) de antibióticos da classe das fluorquinolonas: sínteses e estudos espectroscópicos

Agora, descrevemos as caracterizações feitas para os três novos complexos de Au(III) contendo levofloxacina (LEVO), NOR ou ESPAR obtidos no presente trabalho.

4.2.1. Microanálises e condutimetria

Os resultados de microanálises, sugerem que em todos os complexos a relação metal:ligante é de 1:1 e que na estrutura há três átomos de cloro. Isso pode ser corroborado pelas percentagens de C, H e N obtidos na análise elementar. As medições de condutividade em dimetilformamida (DMF) indicam que os complexos obtidos são eletrólitos 1:1. Portanto, pode-se sugerir que os complexos são do tipo $[\text{AuCl}_2(\text{L})]\text{Cl}$, onde L representa o ligante LEVO, NOR ou ESPAR coordenado de forma neutra ao ouro. Os dados de microanálises e de condutividade são listados na Tabela 7.

Tabela 7. Dados de microanálises (valores calculados entre parênteses) e condutividade (Λ , $\mu\text{S cm}^{-1}$) para os complexos de Au(III) de LEVO, NOR, ESPAR.

	%C	%H	%N	Λ^*
[AuCl ₂ (LEVO)]Cl	31,05 (32,52)	2,95 (3,03)	5,96 (6,32)	89
[AuCl ₂ (NOR)]Cl	29,02 (30,86)	3,14 (2,91)	6,16 (6,75)	102
[AuCl ₂ (ESPAR)]Cl	30,99 (32,80)	3,07 (3,19)	7,51 (8,05)	94

*Condutividade ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) medida em DMF

4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Nos espectros de infravermelho das fluorquinolonas livres, as bandas observadas na região entre 1719 e 1731 cm^{-1} , foram atribuídas ao estiramento do ácido carboxílico livre [15,16]. Essa banda permanece nos espectros dos complexos, indicando que o ácido carboxílico não estaria coordenado ao Au(III). O modo vibracional $\nu(\text{C}=\text{O})$, observado entre 1616 e 1634 cm^{-1} , no espectro das fluorquinolonas livres [15,16], não se desloca significativamente nos espectros de seus respectivos complexos de ouro, indicando que esse grupo também não estaria participando da coordenação.

A Tabela 8 lista as atribuições das principais bandas do espectro de infravermelho das fluorquinolonas e de seus complexos de Au(III) e a Figura 14 mostra os espectros obtidos para a LEVO e seu complexo.

Tabela 8. Principais bandas do espectro de infravermelho das fluorquinolonas e de seus complexos de Au(III).

	$\nu(\text{COOH})$	$\nu(\text{C}=\text{O})$
Levofloxacina	1727 F	1620 F
[AuCl ₂ (LEVO)]Cl	1693 F	1618 F
Norfloxacina	1731 F	1616 F
[AuCl ₂ (NOR)]Cl	1705 F	1624 F
Esparfloxacina	1719 F	1634 F
[AuCl ₂ (LEVO)]Cl	1676 F	1624 F

Legenda: F: forte; m: média; f: fraca.

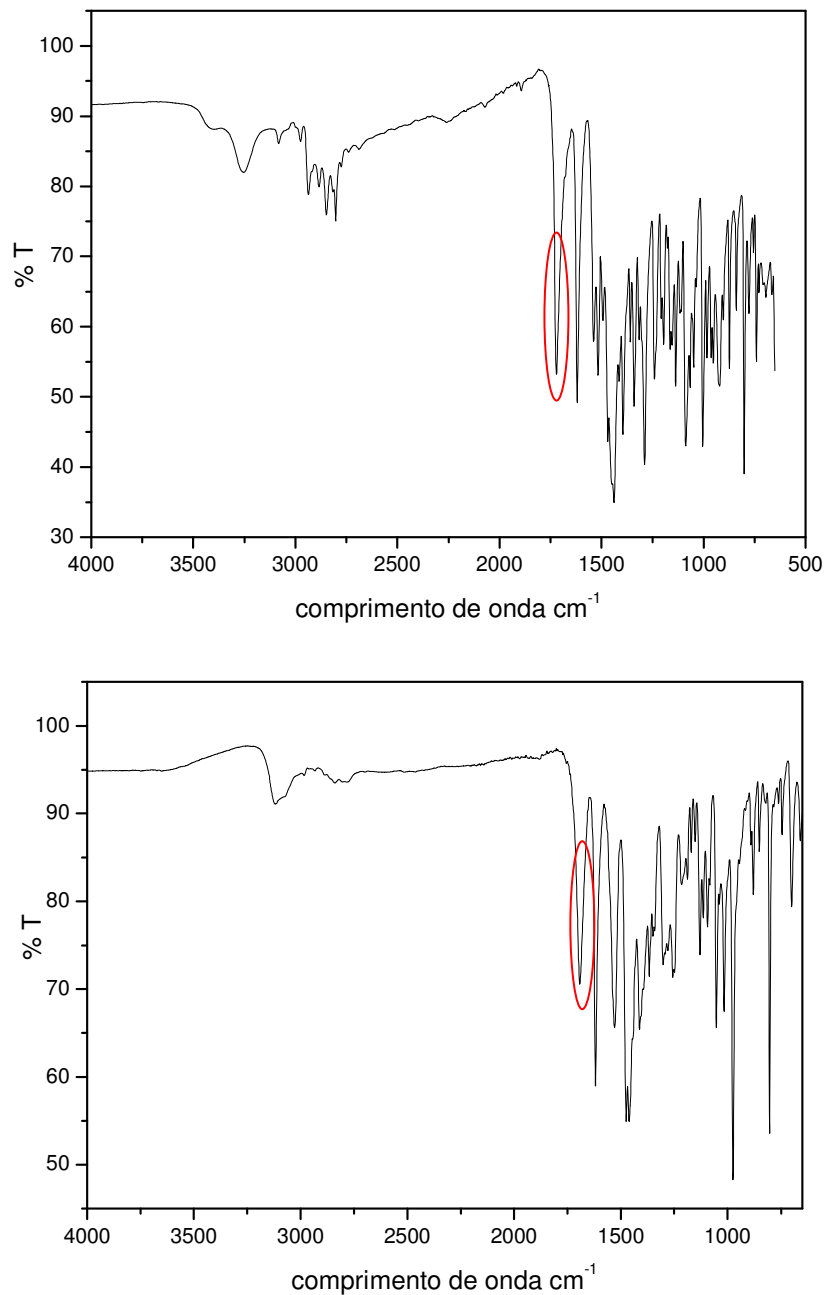


Figura 14. Espectros de IV (a) da LEVO e (b) de seu complexo de Au(III). Os círculos vermelhos destacam o estiramento $\nu(\text{COOH})$.

Usualmente, as fluorquinolonas coordenam-se aos íons metálicos, de modo bidentado, através da carbonila do ácido carboxílico e da carbonila cetônica [19-26]. Outros membros de nosso grupo obtiveram complexos de Mn(II) e Co(II) de NOR e ESPAR, do tipo $[\text{MCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{MCl}_2(\text{ESPAR})(\text{H}_2\text{O})_2]$, nos quais $\text{M} = \text{Mn(II)}$ ou Co(II) e NOR

e ESPAR representam os ligantes coordenados aos íons metálicos de forma neutra [26]. Nesses casos, a ausência da banda atribuída ao estiramento $\nu(\text{COOH})$ nos espectros de infravermelho dos complexos, indica que as fluorquinolonas estão coordenadas aos íons metálicos de modo bidentado através do grupo carboxilato e da carbonila cetônica [15,16]. Na Figura 15 são mostrados, como exemplo, os espectros de infravermelho da NOR e de seu complexo de Mn(II). No entanto, no presente trabalho, tudo indica que a coordenação das fluorquinolonas ao Au(III) deu-se de outro modo, possivelmente através dos nitrogênios do anel piperazina.

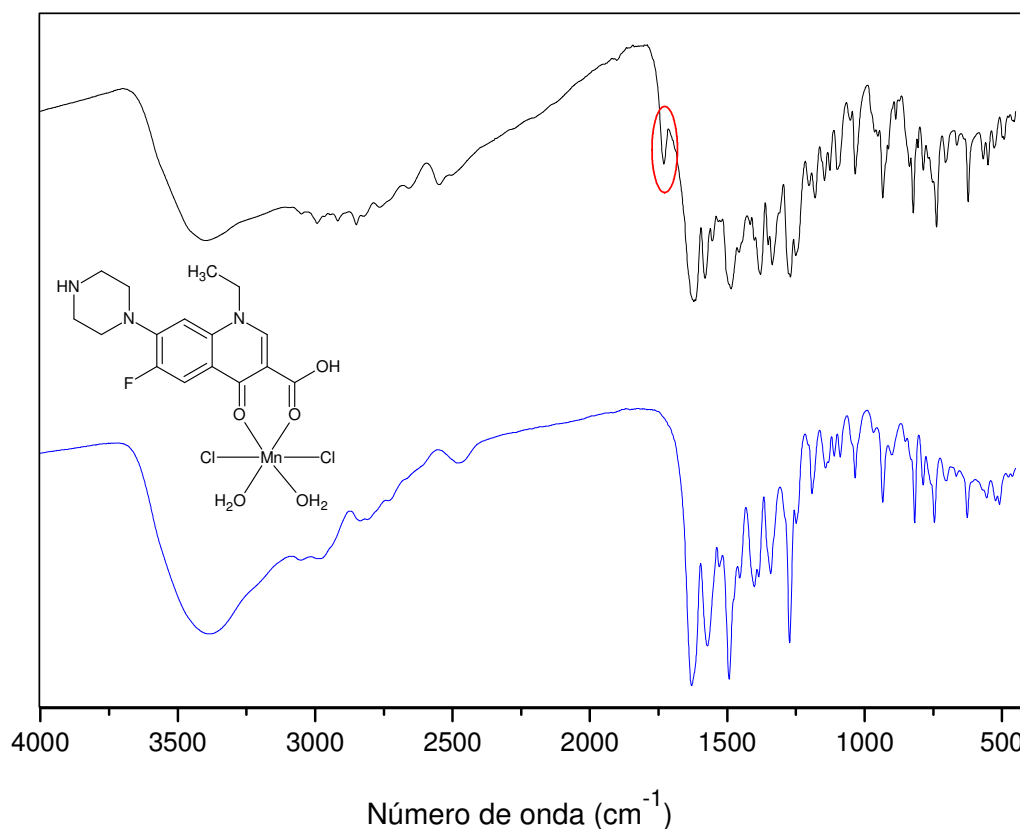


Figura 15. Espectros de IV da NOR (—) e do complexo $[\text{MnCl}_2(\text{NOR})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (—). O círculo vermelho destaca o estiramento $\nu(\text{COOH})$ em 1732 cm^{-1} [19].

4.2.3 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono (RMN de ^1H e ^{13}C)

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos complexos (5)-(7) observou-se deslocamento significativo dos sinais atribuídos ao $\text{CH}_2\text{-N}$ e C_7N , enquanto os sinais atribuídos às carbonilas cetônica ($\text{C}_4=\text{O}$) e do ácido carboxílico (COOH) foram pouco alterados (Tabela 9). Esses resultados, juntamente com os de infravermelho sugerem que as fluorquinolonas estariam coordenadas ao Au(III) , de modo não convencional, preferencialmente através dos nitrogênios do anel piperazina (Figura 16).

Tabela 9: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais de RMN de ^{13}C das FQs e dos complexos (1)-(3) (DMSO-d_6)

Composto	CH_2N	$=\text{C}_7\text{N}$	$\text{C}_4=\text{O}$	COOH
Norfloxacina	45,4/50,7	146,0	176,1	166,1
$[\text{AuCl}_2(\text{NOR})]\text{Cl}$	42,7/46,5	144,6	176,1	166,0
Levofloxacina	50,7/55,9	132,6	176,9	166,6
$[\text{AuCl}_2(\text{LEVO})]\text{Cl}$	47,5/54,0	130,2	176,3	165,9
Esparfloxacina	63,8	136,8	n.d.	164,8
$[\text{AuCl}_2(\text{ESPAR})]\text{Cl}$	53,1	136,3	179,6	165,3

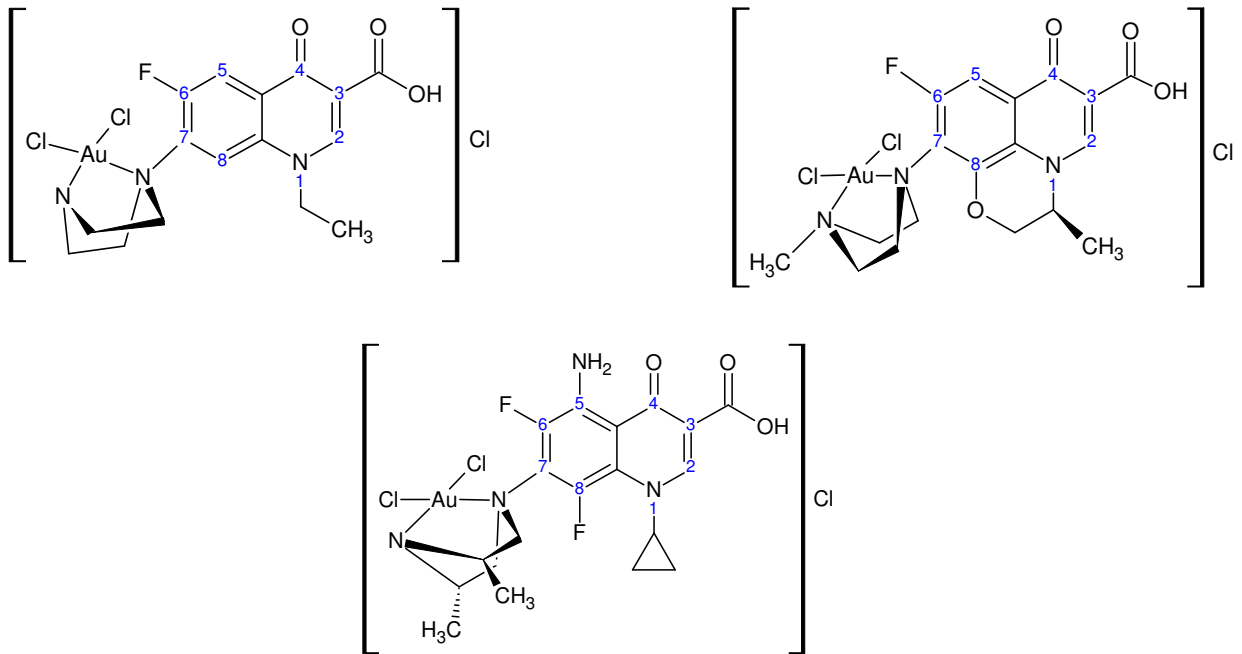


Figura 16: Estruturas propostas para os complexos (5)-(7)

5. Conclusão

Neste trabalho, esforços foram investidos na obtenção de complexos de Mn(II) e de Co(II) com norfloxacin e esparfloxacin. Os resultados sugerem a formação de complexos neutros do tipo $[MCl_2(NOR)(H_2O)_2]$ e $[MCl_2(ESPAR)(H_2O)_2]$, onde M = Mn(II) ou Co(II). NOR e ESPAR representam os ligantes norfloxacin e esparfloxacin coordenados aos íons metálicos de forma neutra. Os espectros de infravermelho indicam que a norfloxacin e a esparfloxacin estão coordenadas aos íons Mn(II) e Co(II) de modo bidentado através do grupo carboxilato e da carbonila cetônica. Os espectros de fluorescência dos complexos de Mn(II) e Co(II), em solução aquosa, apresentam as bandas típicas da norfloxacin (260/444 nm) e da esparfloxacin (302/520 nm) livres, com exceção de $[MnCl_2(NOR)(H_2O)_2]$, que sofreu um deslocamento hipsocrômico de 16 nm. Observa-se uma diminuição do sinal fluorescente pela complexação, provavelmente devido ao efeito interno do átomo pesado, que retira população eletrônica do estado excitado singleto.

Além disso, o projeto possibilitou a obtenção de três novos complexos de Au(III) com levofloxacin, norfloxacin e esparfloxacin. Os complexos obtidos foram do tipo $[AuCl_2(L)]Cl$, onde L é uma das fluorquinolonas. Os espectros de infravermelho sugerem que as carbonilas cetônica e carboxílica não estariam coordenadas ao Au. Estudos de ressonância magnética (RMN de 1H e ^{13}C) confirmaram os dados de infravermelho e sugerem que a coordenação das fluorquinolonas ao Au(III) ocorre através dos nitrogênios do anel piperazina. Parte dos resultados desse trabalho foi apresentada na 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

6. Referências

- [1] M.V.N. de Souza, M.V. de Almeida, A.D. da Silva, M.R.C. Couri, *Rev. Bras. Farm.*, 85 (2004) 13.
- [2] Beraldo, H., “Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal”, *Química Nova na Escola*, n^o6, julho 2005.
- [3] S. Ahmad, A. A. Isab, S. Ali, A.R. Al-Arfaj, *Polyhedron*, 25 (2006) 1633; C. Orvig, M.Abrams, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2201.
- [4] M.J. Clarke, J.G. Gaoul, *Struct. Bonding*, 81 (1993) 148
- [5] P.C. Appelbaum, P. A. Hunter, *Int. J. Antimicrob. Agents* 16 (2000) 5.
- [6] Silva, R. S., “Complexos de Mn(II) e Co(II) de tiossemicarbazonas e fluorquinolonas: síntese, estudos das propriedades espectroscópicas e eletroquímicas e testes de atividade biológica”, Dissertação de Mestrado, PUC-Rio,
- [7] J. Wang, Z. Liu, J. Liu, S. Liu, W. Shen, *Spectrochimica Acta Part A* 69 (2008) 956.
- [8] P.C. Appelbaum, P.A. Hunter, *Int. J. Antimicrob. Agents* 15 (2006) 5.
- [9] D.C. Hooper, *Drug Resist. Update* 2 (1999) 38.
- [10] F. Gao, P. Yang, J. Xie, H. Wang, J. Inorg. Biochem. 60 (1995) 61.
- [11] I. Turel, L. Goli, P. Bukovec, M. Gubina, *J. Inorg. Biochem.* 71 (1998) 53.
- [12] I. Turel, I. Leban, N. Bukovec, *J. Inorg. Biochem.* 66 (1997) 241.
- [13] A.R. Shaikh, R. Giridhar, M.R. Yadav, *Int. J. Pharmac.* 332 (2007) 24.
- [14] K. Nakamoto. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 4th Edit., John Wiley & Sons, New York, **1992**.
- [15] S.A. Sadeek, *J. Molec. Struct.* 753 (2005) 1.
- [16] E.K. Efthimiadou, Y. Sanakis, C.P. Raptopoulou, A. Karaliota, N. Katsarosa, G. Psomasa, *Bioorg. Med. Chem. Letters* 16 (2006) 3864.
- [17] M.S. Refat, *Spectrochimica Acta Part A* 68 (2007) 1393.
- [18] G.B. Deacon, R.J. Phillips, *Coord. Chem. Rev.* 33 (1980) 227.
- [19] F. Hueso-Urena, M.N. Moreno-Carretero, M.A. Romero-Molina, J.M. Salas-Peregrin, M.P. Sanchez-Sanchez, G. Alvarez de Cienfuegos- Lopez, R. Faure, *J. Inorg. Biochem.* 51 (1993) 613–632.

- [20] G. Psomas, C. Dendrinou-Samara, P. Philippakopoulos, V. Tangoulis, C.P. Raptopoulou, E. Samaras, D.P. Kessissoglou, *Inorg. Chim. Acta* 272 (1998) 24–32.
- [21] C. Dendrinou-Samara, G. Psomas, C.P. Raptopoulou, D.P. Kessissoglou, *J. Inorg. Biochem.* 83 (2001) 7–16.
- [22] D. K. Saha et al. / *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14 (2004) 3027–3032.
- [23] E.K. Efthimiadou et al. / *Inorganica Chimica Acta* 360 (2007) 4093–4102.
- [24] *Katsarou et al. Journal of Medicinal Chemistry, 2008 51, 470 – 478,*
- [25] E.K. Efthimiadou et al. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101 (2007) 64–73.
- [26] P. Ruíz et al. / *Journal of Inorganic Biochemistry* 101 (2007) 831–840.
- [27] *Journal of Inorganic Biochemistry* 102 (2008) 910–920.
- [28] Silva, R. S. Complexos de Mn(II) e Co(II) de Tiossemicarbazonas e Fluorquinolonas: Síntese, Estudos das Propriedades Espectroscópicas e Eletroquímicas e Testes de Atividade Biológica. Dissertação de Mestrado. PUC-Rio.