

UFMG/ICEx/IQ.820^a
T. 348^a

LUCIANO JOSÉ NOGUEIRA

**SÍNTESE DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO BINUCLEARES
COM LIGANTES DITIOCARBAMATOS E AVALIAÇÃO *IN
VITRO* DA CITOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA
CONTRA FUNGOS DE INTERESSE CLÍNICO**

**Tese apresentada ao Departamento
de Química do Instituto de Ciências
Exatas da Universidade Federal de
Minas Gerais como requisito parcial
para a obtenção do grau de Doutor
em Ciências – Química**

**Belo Horizonte
2010**

Nogueira, Luciano José

N778s Síntese de complexos de rutênio binucleares com
2010 ligantes ditiocarbamatos e avaliação *in vitro* da
T citotoxicidade e atividade antifúngica contra fungos de
interesse clínico / Luciano José Nogueira. 2010.

xii, 152 f. : il.

Orientador: Claudio Luis Donnici.

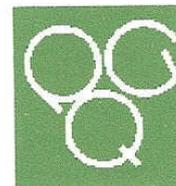
Coorientadora: Maria Aparecida de Resende Stoianoff

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais. Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses 2. Complexos - Teses 3.
Doenças transmissíveis - Teses 4. Fungos patogênicos -
Teses I. Donnici, Claudio Luis, Orientador. II.
Stoianoff, Maria Aparecida de Resende, Coorientadora
III. Título

CDU 043



"Síntese de Complexos de Rutênio Binucleares com Ligantes Ditiocarbamatos e Avaliação In Vitro da Citotoxicidade e Atividade Antifúngica Contra Fungos de Interesse Clínico"

Luciano José Nogueira

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Claudio Luis Donnici - Orientador
UFMG

Prof. Maria Aparecida de Resende Stoianoff - Co-Orientadora
UFMG

Prof. Viviane Martins Rebello dos Santos
UFOP

Prof. Walclée de Carvalho Melo
UFLA

Prof. Rodinei Augusti
UFMG

Prof. Lucienir Pains Duarte
UFMG

Belo Horizonte, 14 de junho de 2010.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente as principais pessoas que me incentivaram: minha mãe Maria Zélia, Prof. Claudio Luis Donnici, Profa. Lucienir Pains Duarte e meu amigo Ricardo Wagner.

Aos professores: Maria Aparecida de Resende (Dpto. de Microbiologia/UFMG), Ana Maria Ferreira (Dpto. de Química/USP), Maria Helena de Araújo (Dpto. de Química/UFMG), Cleide Viviane Buzanello Martins (Centro das Engenharias e Ciências Exatas/UNIOESTE) e Miriam Teresa Paz Lopes (Dpto. de Farmacologia e Bioquímica/UFMG).

A todos os colegas de laboratórios do Departamento de Química-ICEx/UFMG e os Departamentos de Microbiologia e Farmacologia/Bioquímica-ICB/UFMG. Em especial: Sheila Rodrigues de Oliveira pela ajuda constante, Marcos Roberto de Abreu pelo auxílio nos estudos eletroquímicos, Láuris Lúcia da Silva pelo auxílio nos estudos de condutimetria, Isolda Maria de Castro Mendes pelo auxílio nos estudos de susceptibilidade magnética, Layza Miranda Gonçalves pelo auxílio nos estudos de espectroscopia de massas, Thaís Furtado Ferreira Magalhães pelo auxílio nos estudos antifúngicos e Ana Cândida Araujo e Silva pelo auxílio nos estudos de citotoxicidade.

A todos os meus amigos, em especial: Nana, Sassá, Cida, Patrik e Clézio. E aos meus irmãos Leandro e Lucimar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Processo Número: 141238/2006-2 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais FAPEMIG (CEX APQ-4911-5.02/07; EDT 479/07 e CEX 817/06).

“EMBORA NINGUÉM POSSA VOLTAR ATRÁS E FAZER UM NOVO COMEÇO, QUALQUER UM PODE COMEÇAR AGORA E FAZER UM NOVO FIM”

CHICO XAVIER

SUMÁRIO GERAL

ÍNDICES.....	II
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	VI
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
APRESENTAÇÃO.....	XI
I. INTRODUÇÃO & CONTEXTUALIZAÇÃO.....	1
II. OBJETIVOS & JUSTIFICATIVAS.....	42
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	44
IV. RESULTADOS & DISCUSSÃO.....	62
V. CONCLUSÕES.....	119
VI. PUBLICAÇÕES & TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS.....	123
VII. APÊNDICE.....	142

ÍNDICES

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

<i>Equação 1 Equação geral da reação química de obtenção e representação da estrutura química dos ligantes ditiocarbamatos.</i>	48
<i>Equação 2 Equação geral da reação química de obtenção e representação da estrutura química dos complexos de rutênio.</i>	50
<i>Equação 3 Equação da reação de obtenção do complexo de rutênio C6B.</i>	52

ÍNDICE DE ESQUEMAS

<i>Esquema 1 Mecanismo de fragmentação para o complexo C1.</i>	82
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 Número de ocorrências de DIEs em humanos por década com relação à resistência aos fármacos antimicrobianos.</i>	5
<i>Figura 2 Mapa geográfico global mostrando as origens das DIEs no período de 1940-2004. Nessa representação consideram-se todas as espécies patogênicas e a área do círculo e proporcional ao número de DIEs.</i>	6
<i>Figura 3 Número de ocorrências de DIEs em humanos por década com relação ao tipo de patógeno.</i>	7
<i>Figura 4 Distribuição global de risco relativo às DIEs, regiões em vermelho são as mais susceptíveis, seguido pelas regiões destacadas em amarelo.</i>	9
<i>Figura 5 Estruturas químicas dos principais agentes antifúngicos listados na Tabela 5.</i>	23
<i>Figura 6 Estrutura química da oxaplatina (A) e da carboplatina (B).</i>	24
<i>Figura 7 Estrutura química da iodo-povidona (PVPI).</i>	26
<i>Figura 8 Representação da Tabela Periódica (IUPAC) com respectivos átomos que na forma de complexos inorgânicos exercem atividade antifúngica.</i>	27
<i>Figura 9 Representação esquemática da captação seletiva da transferrina por células cancerígenas (esq.) e células saudáveis (dir.).</i>	36
<i>Figura 10 Estrutura química dos complexos [trans-RuCl₄(1H-indazol)₂]: KP1019 (esq.) e [trans-RuCl₄(1H-imidazol)(dimetilsulfóxido-S)]: NAMI-A (dir.).</i>	38
<i>Figura 11 Estrutura química do complexo DW12.</i>	39
<i>Figura 12 Estrutura química do complexo [PyrRu₂¹²].</i>	39
<i>Figura 13 Representação esquemática mostrando os eletrodos no recipiente voltamétrico.</i>	46
<i>Figura 14 Modelo ilustrativo de uma placa Elisa, sendo a fileira A o controle negativo, as fileiras C1 a C10 as concentrações testadas e a fileira B o controle positivo.</i>	53
<i>Figura 15 Esquema ilustrativo da diluição seriada dos compostos.</i>	55
<i>Figura 16 Redução do MTT e do XTT a formazana.</i>	59
<i>Figura 17 Modelos de coordenação mais comum dos ligantes ditiocarbamatos: (A) bidentado simétrico, (B) bidentado assimétrico e (C) monodentado.</i>	62
<i>Figura 18 Estrutura química dos ligantes ditiocarbamatos.</i>	63
<i>Figura 19 Espectro de RMN de ¹H de L2 (δ, 200 MHz, D₂O).</i>	64

Figura 20 Espectro de RMN de ^{13}C de L3 (δ , 50 MHz, D_2O).	65
Figura 21 Subespectro de DEPT 135 de L3 (δ , 50 MHz, D_2O).	65
Figura 22 Espectro de RMN de ^1H de L5 (δ , 200 MHz, D_2O).	66
Figura 23 Espectro de RMN de ^{13}C de L6 (δ , 50 MHz, D_2O).	68
Figura 24 Subespectro de DEPT 135 de L7 (δ , 50 MHz, D_2O).	69
Figura 25 Espectro de RMN de ^1H de L8 (δ , 200 MHz, D_2O).	69
Figura 26 Espectro de RMN de ^{13}C de L9 (δ , 50 MHz, D_2O).	70
Figura 27 Subespectro de DEPT 135 de L9 (δ , 200 MHz, D_2O).	70
Figura 28 Estrutura geral mostrando o modo de coordenação dos ligantes ditiocarbamatos ao centro metálico: complexo de rutênio mononuclear tri-coordenado (esq.), complexo de rutênio α -dinuclear penta-coordenado (meio) e complexo de rutênio β -dinuclear penta-coordenado (dir.).	71
Figura 29 Espectro no IV para o complexo C4 na região $700\text{-}150\text{ cm}^{-1}$.	75
Figura 30 Espectro de massas por ESI-MS do complexo C1.	79
Figura 31 Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C6.	80
Figura 32 Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C7.	80
Figura 33 Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C9.	81
Figura 34 Espectros de massas das fragmentações obtidos para o complexo C1 – A: fragmentação do íon m/z 803; B: fragmentação do íon m/z 715; C: fragmentação do íon m/z 683 e D: fragmentação do íon m/z 595.	83
Figura 35 Voltamograma cíclico do complexo β - $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CNMe}_2)_5][\text{BF}_4]$; em acetona e NEt_4ClO_4 .	88
Figura 36 Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CNMe}_2)_5][\text{Cl}]$; em CH_2Cl_2 e NBu_4PF_6 .	89
Figura 37 Voltamograma cíclico do complexo C1 e do ligante L1.	90
Figura 38 Voltamograma cíclico do complexo C1 na região baixa (-0,6 a -1,4 V); em destaque a reversibilidade dos potenciais.	91
Figura 39 Voltamograma cíclico dos complexos C6 e C6B.	92
Figura 40 Voltamograma do complexo C6 em várias velocidades de varreduras.	93
Figura 41 Voltamogramas cíclicos dos complexos C1, C6, C8 e C9.	94
Figura 42 Distribuição eletrônica dos elétrons de valência do Ru(III).	95
Figura 43 Espectro de EPR do complexo $[\text{Ru}(\text{DMDT})_3]$ em CH_2Cl_2 ; $0,01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $T = 80\text{ K}$.	97
Figura 44 Espectros de EPR dos complexos C1 (A), C2 (B), C3 (C) e C9 (D), realizados na forma sólida com frequência de 9,62 GHz.	97
Figura 45 Espectro de EPR dos complexos C6 e C6B realizados na forma sólida com frequência de 9,62 GHz.	98
Figura 46 Estruturas químicas dos complexos de rutênio estudados.	99
Figura 47 Imagem da placa Elisa mostrando o resultado obtido com o complexo C2 contra a linhagem MDA-MB-231.	116
Figura 48 Imagem da placa Elisa mostrando o resultado obtido com o complexo C5 contra a linhagem MCF-7.	117

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Evolução do número de publicações por ano de artigos relacionados a complexos ou compostos de coordenação e atividade antifúngica.	26
Gráfico 2 Relação do número de vezes que determinados metais são constituintes de complexos inorgânicos com atividade antifúngica.	27
Gráfico 3 Relação do número de citações das espécies fúngicas comparando a susceptibilidade aos complexos inorgânicos.	31

Gráfico 4 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra amostras de <i>Candida albicans</i> .	102
Gráfico 5 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. tropicalis</i> .	102
Gráfico 6 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra as amostras clínicas CD22, CD23, CD25, CD27 e CD29 da espécie de <i>C. dubliniensis</i> .	103
Gráfico 7 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra <i>Candida dubliniensis</i> amostra clínica CD28.	104
Gráfico 8 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra <i>Aspergillus spp.</i>	107
Gráfico 9 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra amostras clínicas de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .	110
Gráfico 10 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra <i>Cryptococcus neoformans</i> .	111
Gráfico 11 Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra <i>Sporothrix schenckii</i> .	112
Gráfico 12 Percentual da capacidade de adesão celular a 50 células epiteliais bucais.	115
Gráfico 13 Gráfico viabilidade celular vs Log da concentração do complexo C2 sobre células MDA-MB-231.	116
Gráfico 14 Gráfico viabilidade celular vs Log da concentração do complexo C5 sobre células MCF-7.	117
Gráfico 15 Atividade citotóxica (-LOG IC ₅₀) dos compostos estudados contra linhagens saudáveis e tumorais.	118

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Agentes de micoses oportunistas	15
Tabela 2 Incidência de IFIs em pacientes transplantados	16
Tabela 3 Partes/locais do corpo colonizada por <i>Candida spp.</i> em pacientes que decorreram por transplantes (receptores de rim)	16
Tabela 4 Classificação dos agentes antifúngicos pelo mecanismo de ação	20
Tabela 5 Principais agentes antifúngicos	21
Tabela 6 Informações complementares dos antifúngicos listados na Tabela 5	22
Tabela 7 Artigos que mostram o estudo de vários compostos de coordenação de diversos metais com variados ligantes e a atividade antifúngica dos mesmos	28
Tabela 8 Algumas propriedades medicinais dos principais metais de transição constituintes de novos agentes bioinorgânicos ^a	34
Tabela 9 Resumo dos artigos com complexos de rutênio com atividade antifúngica publicados em 2009	41
Tabela 10 Relação dos principais reagentes comerciais utilizados diretamente nas sínteses	44
Tabela 11 Dados complementares na síntese dos ligantes ditiocarbamatos	48
Tabela 12 Dados de identificação dos ligantes ditiocarbamatos sintetizados	49
Tabela 13 Dados complementares ao procedimento geral na síntese dos complexos de rutênio sintetizados	51
Tabela 14 Dados de identificação dos complexos de rutênio sintetizados	52
Tabela 15 Deslocamentos químicos da série de ligantes ditiocarbamatos alifáticos obtidos por espectrometria de RMN	63
Tabela 16 Deslocamentos químicos da série de ligantes ditiocarbamatos cíclicos obtidos por espectrometria de RMN	66

<i>Tabela 17</i> Complexos de rutênio tipo C1-C9 já publicados _____	72
<i>Tabela 18</i> Frequências do estiramento (cm^{-1}) das principais ligações dos ligantes (L1-L9) e dos complexos de rutênio sintetizados (C1-C9) _____	74
<i>Tabela 19</i> Dados da determinação do Momento Magnético de Bohr para os complexos C1, C2, C3 e C8. _____	76
<i>Tabela 20</i> Valores teóricos e experimentais de m/z (D_a) para os complexos _____	79
<i>Tabela 21</i> Valores de m/z para perda dos principais fragmentos comuns a todos os complexos de rutênio C1-C9 _____	83
<i>Tabela 22</i> Tabela com valores de potencias redox de complexos de rutênio _____	86
<i>Tabela 23</i> Valores dos potencias de oxirredução dos complexos de rutênio _____	94
<i>Tabela 24</i> CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra <i>Candida spp.</i> _____	100
<i>Tabela 25</i> CIM dos complexos de rutênio (C1 e C2) e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra amostras clínicas de <i>C. dubliniensis</i> _____	101
<i>Tabela 26</i> CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra a amostra clínica de <i>C. dubliniensis</i> CD28 _____	101
<i>Tabela 27</i> CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-5} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra <i>Aspergillus spp.</i> _____	106
<i>Tabela 28</i> CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra isolados clínicos de <i>Paracoccidioides</i> _____	109
<i>Tabela 29</i> CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra <i>Cryptococcus sp.</i> _____	110
<i>Tabela 30</i> CIM dos complexos de rutênio (C1-C5) e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) contra <i>Sporothrix sp.</i> _____	112
<i>Tabela 31</i> Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) utilizada como concentração de referência para o ensaio de inibição da capacidade de adesão _____	113
<i>Tabela 32</i> Números de leveduras aderidas a 50 células epiteliais bucais (CEB) _____	114
<i>Tabela 33</i> Percentual de adesão celular a 50 células epiteliais bucais. _____	114
<i>Tabela 34</i> Concentração Inibitória de 50% da população celular (IC_{50}) de complexos de rutênio ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) _____	117
<i>Tabela 35</i> Complexos inorgânicos com atividade antifúngica _____	143
<i>Tabela 36</i> Estrutura química de alguns ligantes listados na Tabela 35 _____	150

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – Porcento / Porcentagem

μ – Microns

[K] – Configuração eletrônica do átomo criptônio

Δ^{14} – Inibição do esteroide delta 14-reductase

$\Delta^{8\rightarrow7}$ – Inibição do esteroide delta 8-delta7-isomerase

ΔE_p – Diferença de potencial

\approx – Aproximado

$^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius

5FC – Flucitosina

A – Média aritmética da densidade óptica do controle

A549 – Células epiteliais de carcinoma de pulmão humano

AIDS – *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

AMB – Anfotericina B

ANI – Anidulafungina

ARPI – *Antimicrobial Resistance Prevention Initiative*

ASD – *Ágar Sabouraud Destroxe*

ATCC – *American Type Culture Collection*

B – Densidade óptica

B16F10 – Melanoma de alto potencial metastático murino

BDA – *Batata Dextrose Agar*

BHK11 – Epitélio de rim de hamster

C – Complexo

C6B – α -pentaquis(N-tetrametileno ditiocarbamato)dirutênio

Ca. – Cerca

CAS – Caspofungina

CCF – Cromatografia Camada Fina

CDC – *Centers for Diseases Control and Prevention*

CEB – Células Epiteliais Buciais

CFM – Concentração Fungicida Mínima

CHN – Análise elementar de Carbono, hidrogênio e Nitrogênio

CHO – Epitélio de ovário de hamster chinês

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*

cm – Centímetro

Co. – *Company*

CTZ – Clotrimazol

d – Duplo

dC – Depois de Cristo

dec – Fusão com decomposição

DIEs – Doenças Infecciosas Emergentes

dir. – Direita

DMF – Dimetilformamida

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

DPPH – α - α' -difênil- β -picril-hidrazil

DSM – *The Life Sciences and Materials Sciences Company*

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

E_{pa} – Potencial de pico anódico

E_{pc} – Potencial de pico catódico

EPR – *Electron Paramagnetic Resonance*

ESI-MS – *Electrospray ionization mass spectrometry*

esq. – Esquerda

et al. – E colaboradores

EUA – Estados Unidos da América

FLC – Fluconazol

FM – Fórmula Molecular

FMUSP – Faculdade de Medicina da USP

g – Fator de desdobramento espectroscópico

g – Grama
GHz – Gigahertz
GSK-3 – Enzima regulatória: Glicogênio Sintase Kinase-3
h – Hora
H1N1 – Variação do vírus, H significa Hemaglutinina e N, Neuraminidase
HC – Hospital das Clínicas
HIV – *Human Immunodeficiency Virus*
http – *HyperText Transfer Protocol*
Hz – Hertz
IAM – *Immobilized Artificial Membrane*
IC – Isolado Clínico
IC₅₀ – Concentração Inibitória de 50% da população celular
IFIs – Infecções Fúngicas Invasivas
IPA – Aspergilose Pulmonar Invasiva
I_{pa} – Corrente de pico anódico
I_{pc} – Corrente de pico catódico
ITC – Itraconazol
IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*
IV – Infravermelho
J – Constante de acoplamento
K – Grau Kelvin
kHz – Quilohertz
Km² – Quilômetro quadrado
KP1019 – [*trans*-RuCl₄(1*H*-indazol)₂]
KTC – Cetoconazol
L – Litro
LAMPAC – Laboratório de Materiais e Pilhas a Combustível
LASELORG-QUIM – Laboratório de Síntese e Eletrossíntese Orgânica e Química Medicinal
LOG – Logaritmo
m – Metro
m/z – Razão massa/carga
MS – *Mass Spectrometry*
MCF-7 – Adenocarcinoma mamário estrógeno-dependente humano
MDA-MB-231 – Adenocarcinoma mamário humano
Mewo – Melanoma humano
MFG – Micafungina
mg – Miligrama
MHz – Megahertz
MI – Estado americano de Michigan
mL – Mililitro
MM – Massa Molecular
mm – Milímetro
mmol – Milimol
MO – Estado americano de Missouri
MOPS – Ácido-2-(*N*-morfolino)-propanosulfônico
MTT – Brometo de 3-(4', 5'-dimetiltiazol-2'-ila)-2,5-difeniltetrazol
mV – Milivolts
mW – Megawatt
NAMI-A – [*trans*-RuCl₄(1*H*-imidazol)(dimetil sulfóxido-*S*)]
NCCLS – *National Committee for Clinical Laboratory Standards*
NCI – *National Cancer Institute*
NEQUIM – Núcleo de Estudos em Química Medicinal
NIEAMBAV – Núcleo Interdisciplinar de Estudos Ambientais Avançados
nm – Nanomolar
NYT – Nistatina
O139 – Sorotipo da bactéria do gênero *Vibrio*
O157:H7 – Sorotipo da bactéria *Escherichia coli*
p. – Página
P450-14DM – Enzima 14α-demetilase do citocromo P450
PBS-EDTA – *Phosphate Buffered Saline-EDTA*
PE – Ponto de Ebulição
PF – Ponto de Fusão
Pim-1 – Enzima proto-oncogênica

ppm – Partes por milhão
PPR – Potencial Padrão Redox
PSZ – Posaconazol
PVP – Povidona-iodo
PVPI – Polivinilpirrolidona
QSAR – *Quantitative Structure Activity Relation*
R\$ – Real, moeda corrente no Brasil
RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze
RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ³¹P – Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo trinta e um
RNA – *Ribonucleic Acid*
RPMI – *Roswell Park Memorial Institute*
RuAl – Alumineto de rutênio
RX – Raios X
s – Simpleto
S – Uso sistêmico
S.A. – Sociedade Anônima
s⁻¹ – Segundos⁻¹
SAR – *Structure-Activity Relationships*
SD – *Sabouraud Dextrose*
SFB – Soro Fetal Bovino
sp. – Espécie
spp. – Espécies
t – Tripleto
T – Uso tópico.
TCC – Teoria do Campo Cristalino
TG – Termogravimétrica
TMS – Tetrametilsilano
UDP – Ribonucleotídeo de uracila difosfatado ligado a uma glicose cíclica
ufc – Unidades Formadoras de Colônias
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
UK – *United Kingdom*
US – *United States*
US\$ – Dólar americano, moeda oficial dos Estados Unidos da América
USA – *United States of America*
USP – Universidade de São Paulo
UV – Ultravioleta
V – Volts
v/v – Volume por volume
VC – Voltametria Cíclica
VCZ – Voriconazol
vs – Versus
xg – Vezes a foça centrífuga
XTT – {2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino)carbonil]-2H-tetrazolio hidróxido}
δ – Deslocamento químico
η – Número de coordenação do ligante com o metal
μ_{eff} – Momento Magnético de Bohr
μL – Microlitros
μmol – Micromol
v – Frequência de radiação
Ω – Condutimetria
Ω⁻¹ – Ohm⁻¹

RESUMO

Nove complexos de rutênio com ligantes ditiocarbamatos do tipo pentaquis (ditiocarbamato)dirutênio [Ru₂L₅] (**C1-C9**) foram sintetizados (**C1**: N,N-dimetil-; **C2**: N,N-dietil-; **C3**: N-mono-*terc*-butil-; **C4**: N-mono-*iso*-propil-; **C5**: N,N-di-*iso*-propil-; **C6**: N-pirrolidinil; **C7**: N-piperidinil; **C8**: N-morfolinil e **C9**: N,N-dibenzil-ditiocarbamatos) sendo que os complexos **C3**, **C4**, **C5**, **C7** e **C8** são inéditos na literatura. A caracterização espectrométrica na região do IV de baixa frequência confirmou a obtenção de compostos de coordenação dinucleares e penta-coordenados ($\nu_{\text{Ru-Ru}}$ em 204 cm⁻¹ e $\nu_{\text{S-Ru-S}}$ em 280 cm⁻¹). A análise dos complexos por espectrometria de massas por ionização *electrospray* (ESI-MS) mostrou os íons-moleculares (M⁺) e fragmentações correspondentes às estruturas propostas. A análise por Voltametria Cíclica (VC) mostrou perfis voltamétricos similares aos observados na literatura, confirmando a obtenção dos complexos dinucleares penta-coordenados, sendo que por VC também se sugeriu a obtenção distinta de isômeros *alfa* e *beta*, no caso de **C6**, conforme ordem de adição dos reagentes na reação. Medidas de susceptibilidade magnética mostraram que pode existir mistura de Ru(III)/Ru(III) e Ru(III)/Ru(II) e com forte aproximação entre os dois elétrons desemparelhados do sistema Ru(III)/Ru(III). A análise dos espectros de ressonância paramagnética eletrônica mostrou que os resultados apresentam similaridade com os descritos na literatura característicos de um sistema de compostos de coordenação tipo [Ru₂L₅] com Ru(III)/Ru(III) e paramagnético. Os dados de condutimetria mostraram valores mais baixos do que os usuais, mas similares aos da literatura. Todos os complexos (**C1-C9**) tiveram sua atividade antifúngica avaliada por testes *in vitro* (Concentração Inibitória Mínima) contra fungos de interesse clínico relacionados a Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs) e Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs). A ordem decrescente de atividade antifúngica (com CIM de 10⁻⁶ g.mL⁻¹ ou 10⁻⁸ mol.mL⁻¹) conforme a espécie estudada foi: *Candida* spp. **C6**, **C7**, **C1**, **C2**, **C9**, **C5**, **C8**, **C4** e **C3**; *Aspergillus* spp. **C6**, **C5**, **C9**, **C2**, **C1**, **C8**, **C3** e **C4**; *Paracoccidioides brasiliensis* **C2**, **C7**, **C6**, **C1**, **C5**, **C3**, **C9**, **C4** e **C8**; *Cryptococcus neoformans* **C9**, **C5**, **C7**, **C2**, **C6**, **C1**, **C8**, **C4** e **C3**; *Sporothrix schenckii* **C2**, **C1**, **C4**, **C3** e **C5**. Estudos de relações estrutura-atividade mostraram influência de fatores estéricos e lipofílicos sobre a atividade antifúngica. Ensaio de atividade citotóxica mostraram que os complexos estudados são pouco tóxicos e assim se confirma a potencialidade dos complexos de rutênio dinucleares penta-coordenados, com ligantes ditiocarbamatos tipo [Ru₂L₅], como novos agentes antifúngicos de alta potência e baixa toxicidade para o desenvolvimento de novos fármacos para enfrentar o grave problema de saúde pública das DIEs e IFIs.

ABSTRACT

The coordination reaction between ruthenium (III) and nine dithiocarbamate ligands afforded nine complexes of the type pentakis (dithiocarbamate)diruthenium [Ru₂L₅] (**C1-C9**) (**C1**: N,N-dimethyl-; **C2**: N,N-diethyl-; **C3**: N-mono-*terc*-buthyl-; **C4**: N-mono-*iso*-propyl-; **C5**: N,N-di-*iso*-propyl-; **C6**: N-pyrrolidinyl; **C7**: N-piperidinyl; **C8**: N-morpholinyl and **C9**: N,N-dibenzyl-dithiocarbamates); the complexes **C3**, **C4**, **C7** and **C8** are novel. The spectrometric characterization by IR confirmed the synthesis of dinuclear and pentacoordinated complexes ($\nu_{\text{Ru-Ru}}$: 205 cm⁻¹ and $\nu_{\text{S-Ru-S}}$: 280 cm⁻¹). The analysis of the ESI-MS spectra showed all expected fragments and molecular ions and corroborated the obtaining of pentakis (dithiocarbamate) diruthenium complexes. The cyclic voltammetry (CV) analysis presented voltammograms similar to those ones in the literature and the obtaining of dinuclear and pentacoordinated complexes can also be confirmed; the generation of different *alfa*- and *beta*- isomers depending on the addition order in the complexation reaction was suggested by the detailed analysis by CV. Magnetic susceptibility measurements showed that it can exist a Ru(III)/Ru(III) e Ru(III)/Ru(II) mixture and it might exist a strong approximation between the unpaired electrons of the Ru(III)/Ru(II). The EPR spectra from the complexes showed results similar to the literature ones which are characteristic from paramagnetic coordination compounds with Ru(III)/Ru(III) and [Ru₂L₅]-lyke. The condumetric measurements presented low values than usual, but these results are in according with the literature. All synthesized complexes (**C1-C9**) were submitted to *in vivo* tests against some fungi with clinical interest and related to emerging infectious diseases (EIDs) and invasive fungal infections (IFIs). The decreasing antifungal activity order (MIC in 10⁻⁶ g.mL⁻¹ or 10⁻⁸ mol.mL⁻¹) in relation to the studied species were: *Candida* spp. **C6**, **C7**, **C1**, **C2**, **C9**, **C5**, **C8**, **C4** and **C3**; *Aspergillus* spp. **C6**, **C5**, **C9**, **C2**, **C1**, **C8**, **C3** and **C4**; *Paracoccidioides brasiliensis* **C2**, **C7**, **C6**, **C1**, **C5**, **C3**, **C9**, **C4** and **C8**; *Cryptococcus neoformans* **C9**, **C5**, **C7**, **C2**, **C6**, **C1**, **C8**, **C4** and **C3**; *Sporothrix schenckii* **C2**, **C1**, **C4**, **C3** and **C5**. Preliminary structure-activity relations (SAR) can be suggested and it can be noticed a strong influence from steric and lipophylic parameters in the antifungal activity. Cytotoxic assays (IC₅₀) showed that the complexes are not so toxic (IC₅₀ values are much higher than CIM values). Finally, it can be concluded that ruthenium dinuclear dithiocarbamate-pentacoordinated complexes can be considered as potential novel antifungal agents with high potency and low citotoxicity for the development of new drugs to attack the terrible worldwide health problem of emerging infectious diseases and invasive fungal infections.

APRESENTAÇÃO

A presente Tese mostra os resultados obtidos durante a execução do projeto de doutorado intitulado “**SÍNTESE DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO BINUCLEARES COM LIGANTES DITIOCARBAMATOS E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CITOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA FUNGOS DE INTERESSE CLÍNICO**”. Cabe ressaltar que este trabalho está inserido no projeto de pesquisa inter- e trans-disciplinar entre o Departamento de Química-ICEx/UFMG e os Departamentos de Microbiologia, Farmacologia e Bioquímica-ICB/UFMG intitulado “*Síntese de novos compostos com Atividade Antitumoral e Antimicrobiana para Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs)*”, que visa à pesquisa multidisciplinar (Química, Farmacologia, Microbiologia e Bioquímica) para o desenvolvimento de novos agentes quimioterapêuticos para tratamento de doenças infecciosas emergentes, problema de saúde pública com grande relevância nos últimos tempos. A parte experimental do trabalho foi desenvolvida dentro dos laboratórios do grupo **LASELORG-QUIM (LABoratório de Síntese e ELetrossíntese ORgânica e QUímica Medicinal)** e do **NIEAMBAV (Núcleo Interdisciplinar de Estudos AMBientais AVançados)** do Departamento de Química da UFMG, e nos Laboratórios de **MICOLOGIA** e de **SUBSTÂNCIAS ANTITUMORAIS** do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Este estudo mostra a síntese e investigação da atividade antifúngica contra espécies do gênero *Candida*, *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Cryptococcus*, *Sporothrix*, *Paracoccidioides* de uma série de nove complexos de coordenação formados entre rutênio e ditiocarbamatos (**C1**: α -pentaquis(N,N-dimetilditiocarbamato)dirutênio; **C2**: α -pentaquis(N,N-dietilditiocarbamato)dirutênio; **C3**: α -pentaquis(N-*terc*-butilditiocarbamato)dirutênio; **C4**: α -pentaquis(N-*iso*-propilditiocarbamato)dirutênio; **C5**: α -pentaquis(N,N-di-*iso*-propilditiocarbamato)dirutênio; **C6**: α -pentaquis(N-tetrametileno-ditiocarbamato)dirutênio; **C7**: α -pentaquis(N-pentametileno-ditiocarbamato)dirutênio; **C8**: α -pentaquis(N-oxidietileno-ditiocarbamato)dirutênio; **C9**: α -pentaquis(N,N-dibenzilditiocarbamato)dirutênio).

Assim, como esta Tese trata de projeto multidisciplinar mostrar-se-á no Capítulo I, uma introdução sobre cada uma das sub-partes do trabalho. Inicialmente, traz-se um texto com uma revisão bibliográfica sobre as Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs) e Infecções

Fúngicas Invasivas (IFIs), seguindo-se com texto sobre os agentes antifúngicos bioinorgânicos e sobre complexos de rutênio na medicina.

No capítulo II os objetivos, a justificativa e a relevância do trabalho são apresentados.

No Capítulo III apresenta-se a parte experimental relativa a todos os estudos sintéticos, eletroquímicos e biológicos (ensaios antifúngicos e citotóxicos), bem como a descrição dos equipamentos e metodologias analíticas utilizadas.

No capítulo IV traz-se a discussão dos estudos e dos resultados obtidos, como a seguir:

A.1 – Resultados e caracterização usual (espectrometria na região do Infravermelho médio (4000 – 600 cm^{-1}); RMN de ^1H e de ^{13}C) dos nove ligantes ditiocarbamatos sintetizados (**L1-L9**) utilizados para obtenção dos compostos de coordenação correspondentes **C1 a C9**.

A.2 – Resultados e caracterização físico-química dos complexos de rutênio por: espectrometria na região do Infravermelho médio (4000 – 600 cm^{-1}) e na baixa frequência (600 – 200 cm^{-1}); medida da Susceptibilidade Magnética; espectrometria de Ressonância; espectrometria de massas por ionização *eletrospray* (ESI-MS); medida da condutimetria; estudo eletroquímico por voltametria cíclica; espectrometria de Ressonância Paramagnética (EPR).

B – Estudos da atividade biológica dos complexos sintetizados.

B.1: Atividade antifúngica pela determinação da concentração inibitória mínima contra *Candida spp.*; *Aspergillus spp.*; *Cryptococcus neoformans*; *Sporothrix schenckii*; e *Paracoccidioides brasiliensis*.

B.2: Atividade antifúngica pelo teste de inibição da capacidade de adesão.

B.3: Estudo da atividade citotóxica pela determinação da concentração inibitória de 50% da população celular.

No capítulo V trazem-se as conclusões gerais obtidas.

E finalmente, as publicações e trabalhos apresentados até o momento em congressos conseguidos com os resultados do presente trabalho.

I. INTRODUÇÃO & CONTEXTUALIZAÇÃO

A. DOENÇAS INFECCIOSAS EMERGENTES E INFEÇÕES FÚNGICAS INVASIVAS

Doença é uma condição anormal de funcionamento de um organismo ou de funções corporais gerais, associada a sintomas e sinais específicos de cada tipo. No ser humano, a doença é geralmente relacionada a qualquer condição que cause dor, disfunção, estresse, problemas sociais e/ou morte à pessoa afligida, ou problemas similares àqueles em contato com esta pessoa. As doenças podem ser causadas por fatores externos, tais como as doenças infecciosas ou causadas por disfunções internas, como as conhecidas doenças auto-imunes. Na medicina o estudo específico de doenças é efetuado por patologistas (do grego “*pathos*” = doença e “*logy*” = estudo, tratado). As doenças infecciosas são causadas por patógenos (os agentes causadores das doenças) tais como bactérias, vírus, fungos ou parasitas que apesar de serem microrganismos comumente encontrados em nosso organismo podem ser patogênicos.^{1,2} Quando ocorre uma doença infecciosa o patógeno invade um hospedeiro susceptível, uma pessoa ou um animal, e nesse processo, ao menos uma parte do ciclo vital do patógeno acontece dentro do hospedeiro e, como resultado, a doença frequentemente ocorre e usualmente essas doenças são tratáveis pela quimioterapia usual.³ Contudo, a gravidade da situação atual das doenças infecciosas, de crescente importância com agentes patogênicos resistentes aos tratamentos usuais, voltou a colocar os sistemas de saúde de países desenvolvidos e em desenvolvimento frente a frente com uma série de incertezas e riscos de grande magnitude, pois a comunicação entre os povos está em escala irreversivelmente crescente, destacando-se hoje o conceito de “Saúde Internacional”.⁴ O conceito de Saúde Internacional passou ao longo desse século por modificações significativas, as quais são decorrentes, a nosso ver, da evolução do próprio conceito de saúde. “*Saúde Internacional é resultante da dinâmica social, cultural, econômica e da política internacional entre diferentes populações. Em função disso, saúde internacional*

¹ Rubin E, Farber JL. *Patologia*. Rio de Janeiro: 1990 (1ª ed.).

² Emson HE. Health, disease and illness: Matters for definition. *Can Med Assoc J* 1987; **136**: 811-3.

³ Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. Porto Alegre: 2000 (6ª ed.).

⁴ Marques MB. Emerging infectious diseases in the realm of complexity: Implications for scientific and technological policies. *Cad Saúde Públ Rio de Janeiro* 1995; **2**: 361-88.

*deve ser considerada como parte das Relações Exteriores em que saúde e doença produzem repercussões que transcendem políticas nacionais e fronteiras nacionais”.*⁵

A primeira Conferência Internacional de Saúde realizou-se em 1851, produzindo resultados significativos, uma vez que possibilitou a convenção de uma série de normas na busca de um código sanitário internacional referente à quarentena, à notificação da cólera, da peste e da febre amarela. Também resultou desse evento medidas legais, no sentido da não interferência, nas soberanias dos países. A cooperação sanitária internacional em saúde *“nasce da compreensão cada vez maior de que, em um mundo por mais de cem anos vem diminuindo de tamanho em virtude de uma independência econômica e política cada vez mais complexa – a presença de doenças em uma área se constituía em perigo contínuo para muitos outros”.*⁶ Em 1991, por ocasião do estudo da cólera no Peru, foram revisadas e analisadas tendências básicas no campo da Saúde Internacional, as quais perpassam a compreensão das diferentes instituições que atuam no campo da saúde internacional. Dentre essas tendências, a principal defende o pressuposto que: *“Germes Não Respeitam Fronteiras”*, argumentando que, cada vez mais, as doenças infecciosas e outros perigos, tal como poluição ambiental, desafiam as fronteiras internacionais.⁴

De fato, endemias regionais e globais de doenças infecciosas têm origem histórica bem anterior, como por exemplo, pandemia da peste bubônica de 1348 e a epidemia da gripe espanhola em 1918. Mais recentemente, e sucessivamente, vêm sendo descritos novos episódios de infecções, como:⁴

- ✓ A pandemia global do HIV/AIDS;
- ✓ A contínua disseminação dos vírus da dengue;
- ✓ O frequente aparecimento de doenças previamente não reconhecidas como as febres hemorrágicas;
- ✓ O ressurgimento da tuberculose e da cólera, em novas formas;
- ✓ Nos Estados Unidos: cryptosporidiose; coccidioomicose; doença pneumocócica resistente a múltiplos fármacos; infecções enterocócicas resistentes à vancomicina; Influenza A e infecções por hantavirus⁷;

⁵ Villa TCS, Weiller TH, Palha PF *et al.* Saúde internacional: Alguns aspectos conceituais contemporâneos. *Rev Lat Am Enfermagem* 2001; **9**: 101-5.

⁶ Castello IR, Costa H, Hansen I *et al.* *Práticas de integração nas fronteiras: Temas para o Mercosul.* Porto Alegre: **1995.**

⁷ Gellert AG. Preparing for emerging infections. *Nature* 1994; **370**: 409-10.

- ✓ Cólera, na América Latina; febre Amarela, no Kenya; vibrio cholerae O139, na Ásia; *E. coli* O157:H7, na África do Sul e na Suíça; febre do Rift Valley, no Egito; *Shigella dysenteriae* resistente a múltiplas fármacos, em Burundi; dengue na Costa Rica e difteria, na Rússia;
- ✓ No Brasil: recrudescimento da malária em áreas de garimpo,⁸ surgimento do vírus da hepatite E e síndrome pulmonar por hantivírus na década de 90.^{3,9}

Surtos de doenças, de origem infecciosa como essas, desconhecidas ou não, que passam a ter uma incidência crescente em seres humanos, em um período de tempo recente e que apresentam riscos de aumento progressivo no futuro próximo, introduzem o conceito de doenças emergentes e re-emergentes, também denominadas de novas doenças infecciosas.^{3,10} Porém, apesar do comum controle atual de muitas doenças vários incidentes no mundo chamam a atenção para o fato de que as doenças infecciosas não estão desaparecendo, mas estão ressurgindo e aumentando e, além do mais, novas doenças ou modificações de doenças já existentes, surgindo o conceito de: Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs)¹¹. Além do óbito de centenas de milhares de vidas, essas doenças causam enorme dor, sofrimento e incapacidade, e incluem uma sensação constante de medo e pânico nas sociedades, como no caso recente da Gripe tipo A, causada pelo vírus H1N1. No entanto, com a descoberta de fármacos antimicrobianos nos últimos séculos e considerando o ritmo atual de rápida evolução biomédica, apareceu um alívio no combate das doenças infecciosas no século XX. Contudo, infelizmente, uma análise da situação atual registra o contrário e apesar dos avanços notáveis na luta contra as doenças infecciosas, incluindo o desenvolvimento de agentes antimicrobianos, nas últimas duas décadas, a tendência de queda na incidência de algumas doenças infecciosas é oposta à realidade¹² e as DIEs realmente representam uma crescente e significativa ameaça à saúde global.^{13,14}

⁸ FAS (Federation of American Scientists). *Public Interest Report* 1993; **46**: November/December.

⁹ Pang L, Alencar F, Cerutti C *et al.* Hepatitis E in the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 1995; **52**: 347-8.

¹⁰ CDC (Centres for Disease Control and Prevention). *Addressing emerging infectious disease threats: A prevention strategy for the United States*. Atlanta: **1994**.

¹¹ Fauci AS. Emerging infectious diseases: A clear and present danger to humanity. *J Am Med Assoc* 2004; **292**: 1887-8.

¹² Kombe GC, Darrow DM. Revisiting emerging infectious diseases: the unfinished agenda. *J Community Health* 2001; **26**: 113-22.

¹³ Weiss RA, McMichael AJ. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. *Nature Med* 2004; **10**: S70-6.

¹⁴ King DA, Peckham C, Waage JK *et al.* Infectious diseases: Preparing for the future. *Science* 2006; **313**: 1392-3.

A concepção de que as doenças infecciosas emergem e reemergem não é nova, nem tampouco a busca por suas causas. As doenças infecciosas vêm emergindo pelo menos desde que os humanos habitam a Terra.¹⁵ O conceito de doenças emergentes, por exemplo, veio substituir na historiografia a noção mais restrita de doença “nova”. De fato, são identificadas¹⁶ cinco situações em que uma doença pode ser considerada emergente:

- ✓ Existência prévia, mas ocultada pela impossibilidade de sua conceitualização no passado;
- ✓ Mudanças qualitativas ou quantitativas que as tornam mais perceptíveis;
- ✓ Introdução a partir de outras regiões;
- ✓ Presença anterior restrita aos animais;
- ✓ Radicalidade da emergência no sentido em que os agentes ou as condições para sua existência não existiam antes de suas primeiras manifestações clínicas.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (*Centers for Diseases Control and Prevention – CDC*)⁹ considera que as novas doenças infecciosas, tanto podem ser o resultado de mudanças evolutivas nos microorganismos existentes, como podem resultar da disseminação de doenças conhecidas para novas áreas geográficas ou novas populações humanas.¹⁷ Destaca-se como outro importante fator, para essas infecções, o aumento da exposição humana a novos e incomuns agentes infecciosos^{18,19,20} em áreas que estão sofrendo modificações ecológicas, apresentando acelerado e abrupto desenvolvimento de mudanças, gerando um cenário ecoepidemiológico, tais como desflorestamento e construções.³ A re-emergência de doenças infecciosas também é associada ao desenvolvimento de resistência^{21,22} aos agentes terapêuticos conhecidos e à interrupção de medidas previamente disponíveis para o controle de infecções. Considerando essa

¹⁵ Drotman P. Emerging infectious diseases: A brief biographical heritage. *Emerg Infect Dis* 1988; **4**: July/Setember.

¹⁶ Grmek MD. Le concept de maladie émergente. *Hist Philos Life Sci* 1993; **15**: 281-96.

¹⁷ Walsh JF, Molyneaux DH, Birley MH. Deforestation: Effects on vectorborne disease. *Parasitology* 1993; **106**: S55-75.

¹⁸ Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1995; **1**: 7-15.

¹⁹ Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. *Science* 2000; **287**: 443-9.

²⁰ Patz JA. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* 2004; **112**: 1092-8.

²¹ Rex JH, Pfaller MA, Rinaldi MG. Antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 1993; **6**: 367-81.

²² Hemaiswaryaa S, Kruthiventib AK, Doblea M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* 2008; **15**: 639-52.

resistência, na década de 1980, as DIEs causadas por microorganismos resistentes a medicamentos representaram cerca de 20% (Figura 1).^{23,24} Em 1997, as doenças infecciosas eram a principal causa de mortalidade no mundo, respondendo por 33% dos óbitos (diarréias, infecções respiratórias agudas, tuberculose, malária, HIV/AIDS, infecções por clamídia, hepatite B e infecções gonocócicas).¹¹ Entre outras causas do aumento das DIEs, as antropomórficas são as principais, tais como:^{25,26}

- ✓ O uso extensivo e inadequado de antibióticos pelos médicos;
- ✓ O uso de antibióticos em pacientes imunodeprimidos para prevenção de infecções;
- ✓ O uso de antibióticos em pacientes com resfriados e gripes;
- ✓ A dificuldade dos pacientes em seguirem o tratamento prescrito;
- ✓ Os tratamentos longos, utilizando doses baixas de antibióticos;
- ✓ O uso de antibióticos na nutrição animal.

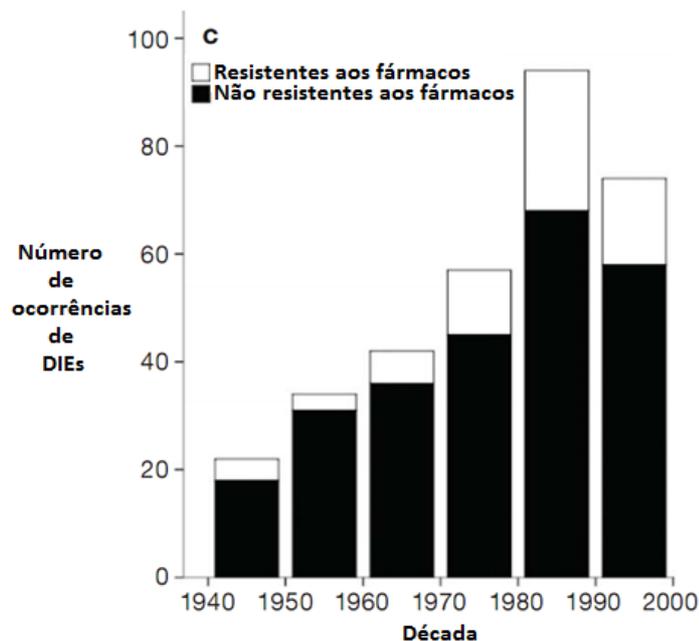


Figura 1 | Número de ocorrências de DIEs em humanos por década com relação à resistência aos fármacos antimicrobianos.²³

²³ Jones KE, Patel NG, Levy MA *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 2008; **451**: 990-4.

²⁴ Jones K. India hotspot for new infections diseases. *Times India* 2008; **95**: TNN 22 February.

²⁵ Nogueira LJ. Dissertação de Mestrado: Síntese, avaliação da atividade antifúngica e determinação do log P de precursores dendriméricos. Departamento de Química da UFMG: **2006**. Silva LL. Dissertação de Mestrado: Estudo da síntese e interação de precursores dendriméricos com DNA e avaliação atividade antifúngica. Departamento de Química da UFMG: **2006**

²⁶ Dryden MS, Cooke J, Davey P. Antibiotic stewardship-more education and regulation not more availability? *J Antimicrob Chemother* 2009; **64**: 885-8.

Deve-se destacar que esse aumento, particularmente, no uso de fármacos antimicrobianos acontece nos países desenvolvidos.^{12,27} Os dados mostram o aumento de espécies patogênicas nos países acima da linha do equador, podendo ser relacionado com o padrão de distribuição de riqueza no nosso planeta (**Figura 2**).²³ A maior concentração de DIES por área (km²) foi encontrada entre 30 e 60 graus a norte e entre 30 e 40 graus a sul, com os principais focos no nordeste dos Estados Unidos, Europa Ocidental, Japão e sudeste da Austrália. A alta densidade de população e o uso exagerado e inadequado de fármacos antibióticos são os principais determinantes dessa distribuição espacial das DIES.

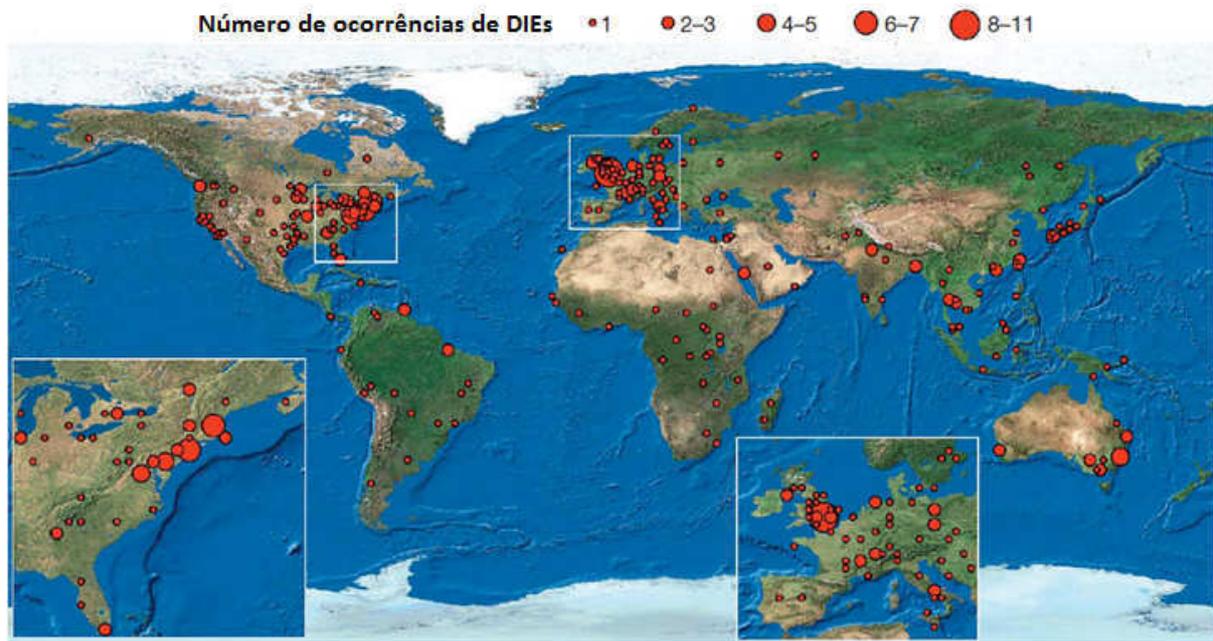


Figura 2 | Mapa geográfico global mostrando as origens das DIES no período de 1940-2004. Nessa representação consideram-se todas as espécies patogênicas e a área do círculo e proporcional ao número de DIES.²³

A emergência de novas doenças infecciosas é um processo evolucionário complexo, no qual interagem diversos fatores.^{23,28,29}

- ✓ Fatores demográficos e econômicos;
- ✓ Fatores sociais e políticos;
- ✓ Fatores ambientais e ecológicos;
- ✓ Fatores relacionados ao desempenho do setor saúde;
- ✓ Fatores relacionados às mudanças e adaptação dos microrganismos;

²⁷ Cohen ML. Changing patterns of infectious disease. *Nature* 2000; **406**: 762-7.

²⁸ Levins R, Tamara A, Brinkmann U *et al*. The emergency of new diseases. *Am Sci* 1994; **82**: 52-60.

²⁹ Luna EJA. The emergence of emerging diseases and emerging and reemerging infectious diseases in Brazil. *Rev Bras Epidemiol* 2002; **5**: 229-43.

- ✓ Manipulação de microrganismos com vistas ao desenvolvimento de armas biológicas.

Fatores climáticos, como por exemplo, a alta temperatura de países tropicais (Brasil), influenciam, de modo impresumível, na transmissão desses novos agentes infecciosos.^{30,31}

Até 2004, aproximadamente 54% das novas DIES eram causadas por microorganismos, refletindo um grande número de micróbios resistentes a medicamentos usuais, principalmente bactérias; porém, desde 2004 relatava-se que cerca de 7% das DIES causadas por fungos, o que não indica o menor risco das infecções fúngicas, mas que estas continuam sendo quase as mesmas desde 1980. A incidência de DIES tem aumentado desde 1940 (**Figura 3**), com o seu pico de incidência (susceptibilidade às infecções em maior proporção) na década de 80, concomitante com a pandemia do HIV.^{23,32,33}

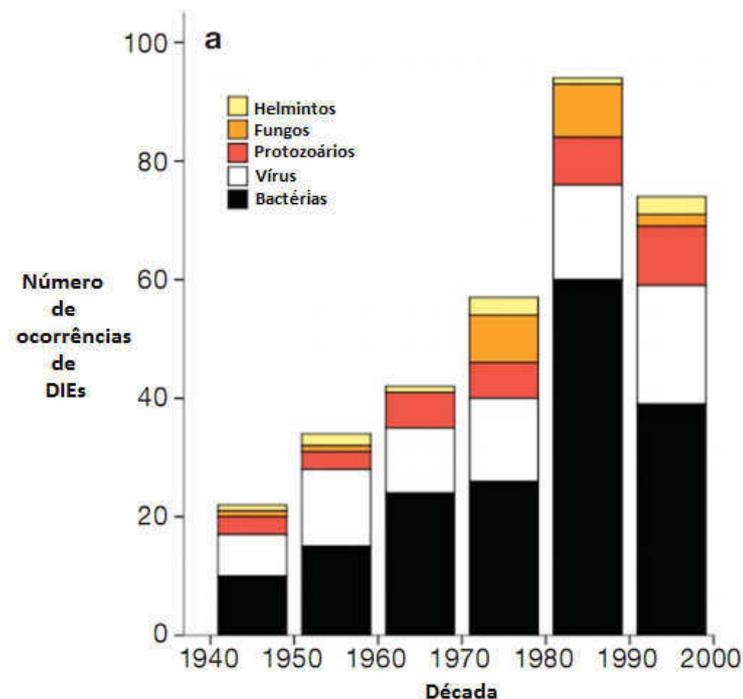


Figura 3 | Número de ocorrências de DIES em humanos por década com relação ao tipo de patógeno.²³

Porém, um dos maiores obstáculos a uma ação efetiva contra as DIES, além da inércia e do conservadorismo, é o limite de recursos à saúde pública, pois as DIES exoram um peso

³⁰ Guernier V, Hochberg ME, Guegan JFO. Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. *PLoS Biol* 2004; **2**: 740-6.

³¹ Grenyer R, Orme CDL, Jackson SF *et al.* Global distribution and conservation of rare and threatened vertebrates. *Nature* 2006; **444**: 93-6.

³² Taylor LH, Latham SM, Woolhouse MEJ. Risk factors for human disease emergence. *Phil Trans R Soc Lond B* 2001; **356**: 983-9.

³³ Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis* 2005; **11**: 1842-7.

significativo nas economias mundiais.^{34,35} Desta forma, as políticas públicas necessariamente priorizam os problemas prementes presentes e os previsíveis, relegando, via de regra, a segundo plano aqueles com os quais não nos deparamos de imediato. Além disso, há uma natural resistência em aceitar evidências ainda frágeis de alterações epidemiológicas (principalmente com fungos). Assim, gera-se uma crise global e as doenças infecciosas têm apresentado um risco significativo para a saúde da população do mundo ao longo da história. Elas continuarão a crescer, a menos que a comunidade global promova uma ação agressiva. Isto requer a cooperação local, nacional e internacional e abordagens inovadoras, tais como:¹¹

- ✓ Intensificação das campanhas educacionais para promover o uso correto dos antibióticos existentes;
- ✓ Incremento dos esforços para o desenvolvimento de novos antibióticos paralelamente a uma distribuição equitativa dos esforços de prevenção;
- ✓ Melhoria do nível sócio-econômico;
- ✓ Fortalecimento dos sistemas de saúde e expansão dos esforços de educação e formação de novos profissionais.

Existe um maior grau de informação sobre as DIEs, refletindo uma maior vigilância, investigação e esforço nos países mais ricos como: os países desenvolvidos da Europa, América do Norte, Austrália e algumas partes da Ásia. Um estudo de risco das DIEs mostra maior risco em países de baixa latitude, em países em desenvolvimento: África tropical, América Latina e Ásia (**Figura 4, p. 9**).²³ Existe uma má distribuição de recursos para prevenção e combate das DIEs, assim como baixa vigilância e investigação.^{36,37} Desta forma, impreterivelmente, devemos planejar essas abordagens principalmente no Brasil.

Apesar de que as doenças causadas por vírus e bactérias sejam as mais conhecidas, as Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs)³⁸ investigadas pela Micologia (área da ciência que estuda

³⁴ Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and reemerging infectious diseases. *Nature* 2004; **430**: 242-9.

³⁵ Binder S, Levitt AM, Sacks JJ *et al.* Emerging infectious diseases: Public health issues for the 21st century. *Science* 1999, **284**: 1311-13.

³⁶ Rogers DJ, Randolph SE. Studying the global distribution of infectious diseases using GIS and RS. *Nat Rev. Microbiol* 2003, **1**: 231-7.

³⁷ Ferguson NM, Cummings DAT, Cauchemez S *et al.* Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 2005, **437**: 209-14.

³⁸ Rüping MJGT, Vehreschild JJ, Cornely OA. Patients at high risk of invasive fungal infections when and how to treat. *Drugs* 2008; **68**: 1941-62.

os fungos) são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos. No entanto, ainda há muita incerteza e controvérsia a respeito dos melhores métodos para estabelecer o diagnóstico. O diagnóstico depende da suspeita clínica e muitas dessas incertezas mostram que seus resultados não podem ser utilizados para generalizações sobre a causa, epidemiologia, prognóstico, tratamento ou prevenção.^{39,40,41,42}

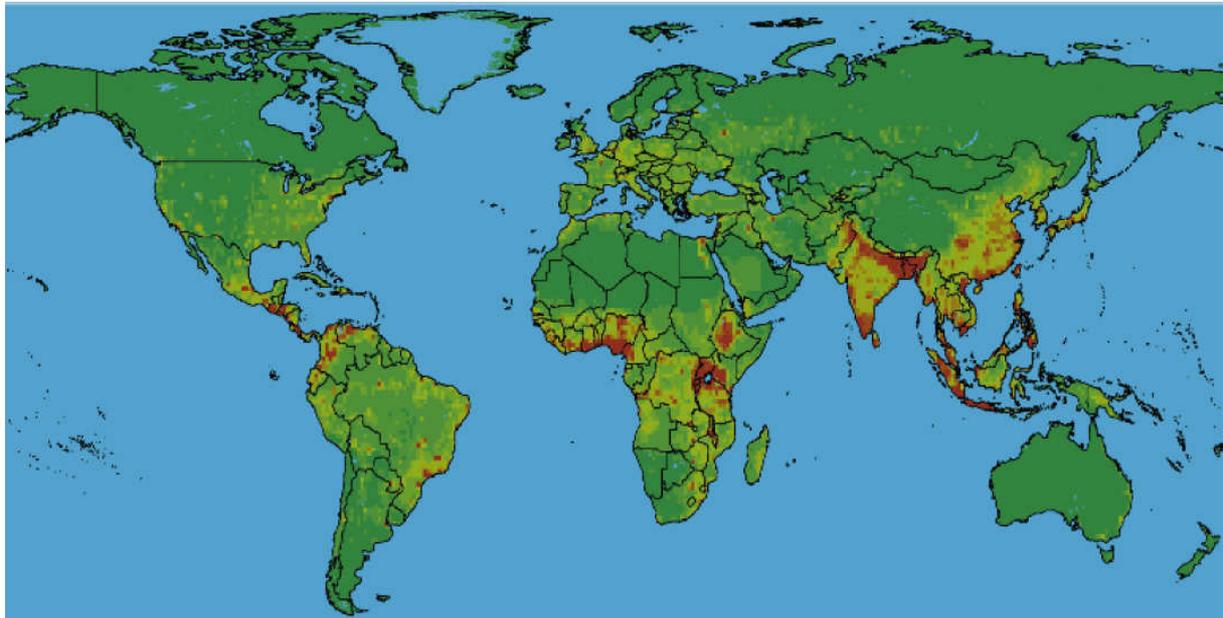


Figura 4 | Distribuição global de risco relativo às DIES, regiões em vermelho são as mais suscetíveis, seguido pelas regiões destacadas em amarelo.²³

Apesar de existirem padrões de referência para o diagnóstico das IFIs, estas normalmente envolvem o uso de procedimentos invasivos para obtenção de amostras de tecido para cultura e exame histológico. Além disso, os critérios de diagnóstico, com sensibilidade e especificidade perfeitas não existem para quaisquer IFIs ou, de fato, para muitas outras doenças.^{43,44} Cabe lembrar que as doenças infecciosas fúngicas têm

³⁹ Ascoglu S, Rex JH, Pauw B *et al.* Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 7-14.

⁴⁰ Hyams KC. Developing case definitions for symptom-based conditions: The problem of specificity. *Epidemiol Rev* 1998; **20**: 148-56.

⁴¹ Lai CC, Tan CK, Huang YT. Current challenges in the management of invasive fungal infections. *J Infect Chemother* 2008; **14**: 77-85.

⁴² Jones BL, McLintock LA. Impact of diagnostic markers on early antifungal therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2003; **16**: 521-26.

⁴³ White E. The effect of misclassification of disease status in follow-up studies: implications for selecting disease classification criteria. *Am J Epidemiol* 1986; **124**: 816-25.

⁴⁴ Moskowitz AJ, Kuipers BJ, Kassier JP. Dealing with uncertainty, risks, and tradeoffs in clinical decisions: A cognitive science approach. *Ann Intern Med* 1988; **108**: 435-49.

apresentado um risco significativo para a saúde da população do mundo ao longo da história e realmente a frequência de micoses invasivas devido a fungos oportunistas tem aumentado significativamente nas últimas duas décadas.^{45,46}

O campo da Micologia Médica tornou-se um estudo, extremamente difícil, de infecções causadas por uma ampla e diversificada gama de taxonomia de fungos oportunistas. Relata-se que qualquer fungo pode causar uma infecção letal em um paciente imunocomprometido. Dadas as diversas e crescentes variedades de fungos, as micoses oportunistas apresentam consideráveis desafios diagnósticos e terapêuticos. Isolamento e identificação dos organismos de contaminação são extremamente importantes para a boa gestão das infecções causadas por fungos oportunistas menos comuns.⁴⁷ Cabe ressaltar que qualquer infecção de origem fúngica é chamada de micose, expressão utilizada pela primeira vez, em 1856, por Rudolf Virchow (1821-1902) o qual foi o pioneiro na detecção de aspergilose pulmonar.⁴⁸

As micoses são geralmente infecções crônicas (longa duração) porque os fungos crescem lentamente. As micoses são classificadas em cinco grupos de acordo com o grau de envolvimento no tecido e modo de entrada no hospedeiro: sistêmica, subcutânea, cutânea, superficial ou oportunista. As micoses sistêmicas, são as mais graves e são infecções fúngicas profundas no interior do corpo; normalmente, causadas por fungos que vivem no solo, não são restritas a nenhuma região particular do corpo, mas podendo afetar vários tecidos e órgãos.^{49,50,51}

A inalação dos esporos é a rota da transmissão; estas infecções normalmente se iniciam nos pulmões e difundem-se para outros tecidos do corpo, não sendo contagiosas de um

⁴⁵ Pfaller MA, Diekema J. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: Concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 4419-31.

⁴⁶ Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA *et al.* *In vitro* susceptibilities of rare *Candida* bloodstream isolates to ravuconazole and three comparative antifungal agents. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004, **48**: 101-5.

⁴⁷ Walsh TJ, Groll A, Hiemenz J *et al.* Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. *Clin Microbiol Infect* 2004; **10 Suppl.1**: 48-66.

⁴⁸ Lacaz CS, Porto E, Martins JEC *et al.* *Tratado de micologia médica Lacaz*, São Paulo: **2001**.

⁴⁹ Sandhu GS, Aleff RA, Kline BC *et al.* Molecular detection and identification on *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Clin Microbiol* 1997; **35**: 1894-6.

⁵⁰ Arango ACM, Sánchez JGB, Galviz LAB. Productos Naturales com actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap* 2004; **17**: 325-31.

⁵¹ Magaldi S, Mata-Essayag S, Capriles CH *et al.* Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Int J Infect Dis* 2004; **8**: 39-45.

animal para os homens ou entre indivíduos. Exemplos de micoses sistêmicas são histoplasmose e coccidioidomicose. Micoses subcutâneas são infecções fúngicas localizadas abaixo da pele causadas por fungos saprofíticos que vivem no solo e na vegetação, nestes casos a infecção ocorre por implantação direta dos esporos ou fragmentos de micélio em uma ferida na pele. Os fungos que infectam apenas a epiderme, o cabelo e as unhas são chamados de dermatófitos, e suas infecções são chamadas de dermatomicoses ou micoses cutâneas ou queratites⁵². Estes dermatófitos secretam queratinases, enzimas que degradam queratina, proteína encontrada no cabelo, na pele e nas unhas. Com estes fungos a infecção é transmitida a partir de um indivíduo para outro ou a partir de um animal para o homem por contato direto ou por contato com cabelo infectado e células epidérmicas (como a tesoura do cabeleireiro ou pisos de banheiros). Os fungos que causam micoses superficiais estão localizados ao longo dos fios de cabelo e em células epidérmicas superficiais e são prevalentes de climas tropicais.

O aumento de infecções é associado com morbidade e mortalidade excessiva^{53,54,55} e está diretamente relacionada ao aumento da população de doentes em risco para o desenvolvimento de infecções fúngicas graves. É digno de nota que um patógeno oportunista é geralmente inofensivo (sapróbios ou saprófitas) em seu habitat normal, mas, pode tornar-se patogênico em um hospedeiro tributo às infecções oportunistas como:^{56,57,58}

- ✓ Portadores de neoplasias, hemopatias e de todas as doenças que levam à imunodepressão (sarcoidose, cirrose hepática, mieloma múltiplo, timoma, lupo eritematoso disseminado ou sistêmico);

⁵² Nicoletti, M. *Curcuma zedoaria* (Christ.) roscoe, uma possibilidade terapêutica como antifúngico de uso tópico. *Infarma* 2002; **14**: 62-5.

⁵³ Gudlaugsson OS, Gillespie K, Lee J *et al.* Attributable mortality of candidemia, revisited. *Clin Infect Dis* 2003; **37**: 1172-7.

⁵⁴ Lin S, Schranz J, Teutsch S. Aspergillosis case-fatality rate: systemic review of the literature. *Clin Infect Dis* 2001; **32**: 358-66.

⁵⁵ Wilson LS, Reyes CM, Stolpman M *et al.* The direct cost and incidence of systemic fungal infections. *Value Health* 2002; **5**: 26-34.

⁵⁶ Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM *et al.* Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: The NEMIS prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 2001; **33**: 177-86.

⁵⁷ Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH *et al.* Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and *in vitro* susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 1519-27.

⁵⁸ Sullivan DJ, Moran GP, Pinjon E *et al.* Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res* 2004; **4**: 369-76.

- ✓ Pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos, de sangue e transplante de medula óssea;
- ✓ Pacientes submetidos a próteses cardíacas;
- ✓ Crianças desnutridas e idosos debilitados por doenças orgânicas ou mentais;
- ✓ Portadores de diabetes ou de qualquer outra endocrinopatia;
- ✓ Pacientes politraumatizados, necessitando para seu tratamento do emprego de sondas, catéteres e máscaras de reanimação;
- ✓ Doentes submetidos, durante longo período, a antibioticoterapia, ao emprego de corticosteróides e de fármacos antitumorais;
- ✓ Pacientes queimados ou com traumas (oculares, cutâneos, mucosos);
- ✓ Pacientes tuberculosos e portadores de abscesso ou carcinoma de pulmão;
- ✓ Pacientes com AIDS;
- ✓ Pacientes decorridos de parto prematuro.

Realmente, os fungos, entre os agentes oportunistas, são aqueles de maior distribuição na natureza. Estão presentes no ar, nas superfícies inanimadas de hospitais e dos domicílios, nas plantas, no solo, na água, nos alimentos e nos animais domésticos; colonizam a pele, mucosas do trato gastrointestinal, genitais e também do trato respiratório no hospedeiro humano. Sendo assim, é esperado que pacientes portadores de imunodeficiências adquiridas ou induzidas apresentem alto risco para o desenvolvimento de infecções fúngicas invasivas, localizadas ou disseminadas.⁵⁹ Descrições relatam, por exemplo, que cerca de 90% de pacientes infectados com HIV desenvolvem candidíase oral.⁶⁰

Nos últimos 30 anos têm-se observado um aumento muito significativo da ocorrência de micoses oportunistas em hospitais do mundo todo. A frequência dessas infecções por fungos emergiu com as principais causas de doenças humanas e de gestão dessas condições. Importante observar que, além do aumento de infecções oportunistas envolvendo diferentes órgãos e sistemas, houve uma ampliação muito substancial do número de gêneros e de espécies de fungos capazes de se adaptarem e infectarem o hospedeiro humano imunocomprometido, submetido a múltiplos procedimentos médicos invasivos.

⁵⁹ Colombo AL. Diagnóstico de doenças fúngicas oportunistas: o grande desafio para os centros médicos de atendimento terciário. *Hosp Pract* 2007; **52**: 50-5.

⁶⁰ Dorocka-Bobkowska B, Konopka K, Düzgünes N. Influence of antifungal polyenes on the adhesion of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to human epithelial cells *in vitro*. *Arch Oral Biol* 2003; **48**: 805-14.

Infecções graves e fatais estão sendo relatadas com um leque cada vez maior de agentes patogênicos. Constituem o principal elenco de patógenos causadores de doenças fúngicas sistêmicas:^{37,44,61-67}

- ✓ Leveduras isoladas do gênero *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Pichia* spp.
- ✓ Fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* spp., *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Scedosporium* spp., *Paecilomyces* spp., *Scopulariopsis* spp., *Alternaria* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp., *Dactylaria* spp., *Exophilaria* spp., *Phialophora* spp. e *Wangiella* spp.
- ✓ Outros fungos de grande interesse na área médica, como *Absidia* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Rhizomucor* spp., *Cunninghamella* spp. e *Saksenaea* spp.
- ✓ Agentes causadores de micoses endêmicas que podem também causar doença em pacientes imunodeprimidos, particularmente representados no Brasil por *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii* e *Paracoccidioides brasiliensis*.

De fato, ao longo dos últimos dez anos, a incidência de infecções importantes causadas por fungos tem aumentado. Dentre as infecções fúngicas mais sérias e particularmente entre as IFIs destaca-se a candidíase, causada pelo conhecidíssimo fungo patógeno do gênero *Candida*, com uma incidência de quase 400% nos anos 80, em hospitais americanos. As infecções por leveduras, ou candidíase, são frequentemente causadas por *Candida albicans* e podem ocorrer como candidíase vulvovaginal.⁶⁸

⁶¹ Alexander BD, Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Clin Infect Dis* 2006; **43**: S15-S27.

⁶² Hope W, Walsh T, Denning D. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2005; **5**: 609-22.

⁶³ Revankar SG, Sutton DA, Rinaldi MG. Primary central nervous system phaeohyphomycosis: A review of 101 cases. *Clin Infect Dis* 2004; **38**: 206-16.

⁶⁴ Martins CVB, da Silva DL, Neres ATM *et al.* Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. *J Antimicrob Chemother* 2009; **63**: 337-9.

⁶⁵ Pfaller MA, Diekema DJ. Twelve years of fluconazole in clinical practice: Global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 2004; **10 Suppl. 1**: 11-23.

⁶⁶ Nocchi M, Marr KA, Queiroz-Telles F *et al.* *Fusarium* infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2004; **38**: 1237-42.

⁶⁷ Bouza E, Munoz P. Invasive infection caused by *Blastoschizomyces capitatus* and *Scedosporium* spp. *Clin Microbiol Infect* 2004; **10 Suppl.1**: 76-85.

⁶⁸ Wingard JR, Leather H. A new era of antifungal therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; **10**: 73-90.

A situação da saúde pública por causa das IFIs tornou-se alarmante, também, devido ao aumento de espécies de fungos resistentes, causada principalmente pelo uso generalizado de amplo espectro de agentes antibacterianos e do aumento de mutações genéticas que levam a espécies com resistência sobre um novo mecanismo de ação.

Realmente, diante deste grave problema mundial das DIES, o governo americano inclusive estabeleceu uma comissão nacional para estudo e prevenção das doenças microbianas resistentes – *Antimicrobial Resistance Prevention Initiative (ARPI)* – cuja meta principal é auxiliar no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos mais eficientes.^{44,70,69,70} É digno de nota, que o problema das IFIs é tão grave nos EUA que se tem estabelecido protocolos nacionais de diagnóstico e tratamento com o Comitê Nacional de Padronizações para Clínica Laboratorial - *NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)* para estes casos.^{71,72} No caso do Brasil, a problemática também já foi constatada há tempos e já existem iniciativas para o estudo das implicações sociais, científicas e tecnológicas para o tratamento das DIES.³

As principais IFIs são: candidíase,^{73,74,75} aspergilose,^{76,77,78} esporotricose^{79,80,81} e

⁶⁹ Gurgui M, Munoz P. Infection in heart transplantation. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; **25**: 587-97.

⁷⁰ Del Palacio A, Alhambra A, Cuetara MS *et al.* Early diagnosis of invasive fungal infections caused by *Aspergillus* and other emerging mycelial fungi. *Rev Iberoam Micol* 2007; **24**: 187-97.

⁷¹ Moellering Júnior RC, Graybill JR, McGowan JE *et al.* Antimicrobial resistance prevention initiative - an update: Proceedings of an expert panel on resistance. *Am J Med* 2007; **120**: S4-25.

⁷² Carrillo-Munoz AJ, Quindos G, Lopez-Ribot JL. Current developments in anti-fungal agents. *Curr Med Chem Anti-Infect Agents* 2004; **3**: 297-323.

⁷³ Colombo AL, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; **36**: 599-607.

⁷⁴ Resende JCP, Resende MA, Salida JL. Prevalence of *Candida* spp. in hospitalized patients and their risk factors. *Mycoses* 2002; **45**: 306-12.

⁷⁵ Álvares CA, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Vulvovaginal candidiasis: Susceptibility factors of the host and virulence of the yeasts. *J Bras Patol Med Lab* 2007; **43**: 319-27.

⁷⁶ Nuño CG, Alfonso PPP, Várquez JCR *et al.* Aspergilosis pulmonar: Un nuevo enfoque em La reemergencia. *Acta Med* 2009; **9**: 67-72.

⁷⁷ Pianetti-Filho G, Pedroso ERP, Giannetti AV *et al.* Cerebral *Aspergillus* abscess in immunocompetent patient. *Arq Neuropsiquiatr* 2005; **63**: 1094-8.

⁷⁸ Maertens J, Theunissen K, Boogaerts M. Invasive aspergillosis: Focus on new approaches and new therapeutic agents. *Curr Med Chem Anti-Infect Agents* 2002; **1**: 65-81.

⁷⁹ Marques SA, Franco SRVS, Camargo RMP *et al.* Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): Transmissão humana. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1993; **35**: 327-30.

⁸⁰ Neto RJP, Machado AA, Castro G *et al.* Acquired immunodeficiency syndrome presenting as disseminated cutaneous sporotrichosis – case report. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; **32**: 57-61.

⁸¹ Kosinski RM, Axelrod P, Rex JH *et al.* *Sporothrix schenckii* fungemia without disseminated sporotrichosis. *J Clin Microbiol* 1992; **30**: 501-3.

paracoccidiodomicose.^{82,83,84} A maioria das mortes relacionadas com micoses é associada com infecções por: *Candida* spp., *Aspergillus* spp. e *Cryptococcus* spp.^{44,85,86,87} (Tabela 1).

Tabela 1 | Agentes de micoses oportunistas⁸⁸

FUNGOS	NÚMEROS DE CASOS (MILHÕES/ANO)	CASO/TAXA DE FATALIDADE (%)
<i>Candida</i> spp.	72,8	33,9
<i>Cryptococcus</i> spp.	65,5	12,7
<i>Aspergillus</i> spp.	12,4	23,3
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	1,0	0

Contudo, em todas estas doenças micóticas há agravantes gerais dependendo das condições clínicas dos pacientes infectados. O risco de impetrar uma IFI nos pacientes de transplantes de órgãos (grupo de pacientes susceptível citado anteriormente) depende da interação de três fatores: exposição, grau de imunossupressão e presença de alterações anatômicas secundárias ao procedimento cirúrgico que comprometam a integridade das superfícies mucocutâneas. A prevalência das IFIs por fungos patogênicos, em geral, varia de 5% a 50% em transplantes de rim e de fígado,⁸⁹ e em pacientes neutropênicos estas infecções são as principais causas de morbidade e mortalidade.⁹⁰ Como em outros grupos de pacientes, *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. são responsáveis por mais de 80% de todas as infecções fúngicas em órgãos sólidos receptores de transplantes (Tabela 2, p. 16).⁹¹

⁸² Palmeiro M, Cherubini K, Yurgel LS. Paracoccidiodomycosis – literature review. *Sci Med Ital* 2005; **15**: 274-8.

⁸³ Fagundes-Pereyra WJ, Carvalho JTC, Góes AM *et al.* Paracoccidiodomicose do sistema nervoso central. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; **64**: 269-76.

⁸⁴ Yasuda MAS. Pharmacological management of paracoccidiodomycosis. *Expert Opin Pharmacother* 2005; **6**: 385-97.

⁸⁵ Sundriyal S, Sharma RK, Jain R. Current advances in antifungal targets and drug development. *Curr Med Chem* 2006; **13**: 1321-35.

⁸⁶ Vargas J, Rigó K, Tóth B *et al.* Evolutionary relationships among *Aspergillus* species producing economically important mycotoxins. *Food Technol Biotechnol* 2003; **41**: 29-36.

⁸⁷ Walsh TJ, Petraitis V, Petraitiene R *et al.* Experimental pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: Pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant to amphotericin B. *J Infect Dis* 2003; **188**: 305-19.

⁸⁸ Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; **20**: 133-63.

⁸⁹ Dictar MO, Maiolo E, Alexander B *et al.* Mycoses in the transplanted patient. *Med Mycol* 2000; **38**: 251-8.

⁹⁰ Patterson TF. New agents for treatment of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2002; **35**: 367-9.

⁹¹ García-Ruiz JC, Amutio E, Pontón J. Invasive fungal infection in immunocompromised patients. *Rev Iberoam Micol* 2004; **21**: 55-62.

Tabela 2| Incidência de IFIs em pacientes transplantados

TRANSPLANTE	FUNGO	INCIDÊNCIA
	<i>Candida</i> spp.	> 75% ^a
Hepático	<i>Aspergillus</i> spp.	2,7%
	<i>Cryptococcus</i> spp.	0,3-2%
Renal	<i>Candida</i> spp.	> 90%
Cardíaco	<i>Aspergillus</i> spp.	2,3%
Pulmonar	<i>Aspergillus</i> spp.	3-50%

^a Podendo chegar a 91% dos casos.⁹²

Um recente estudo com mais de 300 pacientes,⁹² a maioria submetida a transplantes num período de seis meses, mostrou que 57,4% apresentaram colonização por *Candida* spp. em diferentes regiões de seus corpos (Tabela 3).

Tabela 3| Partes/locais do corpo colonizada por *Candida* spp. em pacientes que decorreram por transplantes (receptores de rim)

SÍTIOS DE ISOLAMENTO	FREQUÊNCIA	(%)
Boca	109	35,2
Vagina	8	2,6
Urina	3	0,9
Boca/Vagina	29	9,4
Boca/Reto	18	5,8
Boca/Urina	1	0,3
Boca/Vagina/Reto	10	3,2
Sem colonização	132	42,6

Nessa pesquisa observou-se uma correlação significativa entre o tempo de internação e ocorrência de IFIs, sendo que 65% dos óbitos tiveram IFIs. Cabe ressaltar que dos fungos isoladas a predominância foi *C. albicans* (57,6%), *A. flavus* (24,2%), *A. fumigatus* (6,1%), *Mucor* sp. (3,0%) e *Alternaria* spp. (9,1%).

No que tange a terapêutica para neoplasias hematológicas e corticoterapia em longo prazo tem-se observado que as espécies do gênero *Aspergillus* tornaram-se cada vez mais reconhecidas como causa de doenças invasivas e a mortalidade por aspergilose pulmonar invasiva (IPA) permanece acima de 50%, atingindo 95% em determinadas situações.⁹³

⁹² Badiee P, Kordbacheh P, Alborzi A et al. Study on invasive fungal infections in immunocompromised patients to present a suitable early diagnostic procedure. *Int J Infect Dis* 2009; **13**: 97-102.

⁹³ Balloy V, Chignard M. The innate immune response to *Aspergillus fumigatus*. *Microbes Infect* 2009; **11**: 919-27.

Considerando as infecções por IPA, *Aspergillus fumigatus* é a espécie responsável na maioria dos casos de mortalidade (85% a 90%), seguida por *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans* e *A. niger* e apesar dos progressos recentes, ainda leva a uma taxa de mortalidade elevada, variando de 30% a 90%.^{44,94,95}

Para o tratamento das IFIs usam-se diversos fármacos, dentre os agentes quimioterápicos conhecidos: as substâncias químicas produzidas naturalmente por bactérias ou fungos, para atuar contra outros microorganismos, são chamados antibióticos. O primeiro antibiótico foi descoberto por acidente por Alexander Fleming, um médico e bacteriologista escocês, quando estava descartando algumas culturas em placas, que haviam sido contaminadas por mofo e de onde se descobriu a penicilina.⁴⁷ Assim, desde a primeira descoberta dos antibióticos, um dos grandes triunfos da ciência médica, muitos fármacos antimicrobianos foram estudados, mas são muito tóxicos para os seres humanos (matam os micróbios patogênicos, mas também prejudicam o hospedeiro infectado). Alguns antibióticos são utilizados comercialmente para outros fins, que não o tratamento de doenças (por exemplo, como suplemento na alimentação de animais) e muitos antibióticos são tóxicos para humanos ou não apresentam vantagens em relação aqueles já em uso. É relativamente fácil encontrar ou desenvolver fármacos que são efetivos contra células procarióticas (bactérias) e que não afetem as células eucarióticas humanas, porém o problema é mais complicado quando o patógeno é uma célula eucariótica, tal como um fungo, pois a nível celular, estes organismos assemelham-se à célula humana mais do que à célula bacteriana.^{2,24,96} Assim, o arsenal terapêutico contra fungos patógenos é mais limitado do que o de fármacos antibacterianos. Alguns fármacos possuem um largo espectro de atividade microbiana, isto, em relação ao número de espécies diferentes que eles afetam, a vantagem dessa condição é a economia de tempo, mas em oposição, sua desvantagem é que uma grande parte da microbiota normal do hospedeiro é destruída pela ação deste tipo de fármaco. Se determinados organismos na microbiota normal não são destruídos pelo antibiótico, mas seus competidores são, os sobreviventes podem aumentar suas populações e tornarem-se patógenos oportunistas. Um exemplo que acontece às vezes é o

⁹⁴ Berthet N, Faure O, Bakri A *et al.* *In vitro* susceptibility of *Aspergillus* spp. clinical isolates to albendazole. *J Antimicrob Chemother* 2003; **51**: 1419-22.

⁹⁵ Maschmeyer G, Haas A, Cornely OA. Invasive aspergillosis: epidemiology, diagnosis and management in immunocompromised patients. *Drugs* 2007; **67**: 1567-601.

⁹⁶ Sugita T. Fight against serious fungal infection. *Farumashia* 2008; **44**: 27-31.

super crescimento do fungo *Candida albicans*, o qual não é sensível aos antibióticos bacterianos. Este super crescimento é denominado superinfecção, um termo que também é aplicado ao crescimento de patógenos-alvo que desenvolvem resistência ao antibiótico. O interesse mais urgente é com o mal uso de antibióticos, que aumenta na mesma proporção que o surgimento de linhagens de patógenos resistentes, o que levou o problema da resistência aos antibióticos a alcançar um ponto crítico.^{76,97,98,99}

O quadro epidemiológico torna-se ainda pior pelo fato de que o tratamento destas IFIs oportunistas permanece ainda insatisfatório com o uso da maior parte dos agentes antifúngicos usuais (principalmente com a disseminação de fungos resistentes em pacientes imunossuprimidos). Podemos citar um estudo com o voriconazol, no qual se relatou que em 47 a 68% dos pacientes não houve eficácia terapêutica.¹⁰⁰

Separando-se os agentes patogênicos têm-se os seguintes valores de ineficiência terapêutica: 43,7% para aspergilose, 57,5% para candidíase, 38,9% para cryptococose, 45,5% for fusariose e 30% para scedosporiose.^{101,101}

Como já citado, o número de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas provocadas por vários fungos patogênicos é limitado. Vários fatores determinam o resultado para um tratamento eficaz contra micoses invasivas, como:¹⁰²

- ✓ O estado imunológico do hospedeiro;
- ✓ O tipo de patógeno, incluindo variáveis de sensibilidade aos antifúngicos;
- ✓ A localização da infecção;
- ✓ O tempo de diagnóstico em relação ao início da terapia antifúngica;
- ✓ A gestão da fonte da infecção (por exemplo, cirurgia ou a remoção do cateter vascular);
- ✓ A administração eficaz e a dose adequada do mais potente e seguro antifúngico.

⁹⁷ Lajiness MS, Vieth M, Erickson J. Molecular properties that influence oral drug-like behavior. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2004; **7**: 470-7.

⁹⁸ Hof F, Diederich F. Medicinal chemistry in academia: Molecular recognition with biological receptors. *Chem Commun* 2004; **5**: 477-80.

⁹⁹ Kubinyi H. Drug research: Myths, hype and reality. *Nat Rev Drug Discov* 2003; **2**: 665-8.

¹⁰⁰ Perfect JR, Marr KA, Walsh TJ *et al.* Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. *Clin Infect Dis* 2003; **36**: 1122-31.

¹⁰¹ Espinel-Ingroff A. *In vitro* fungicidal activities of voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against opportunistic moniliaceous and dematiaceous fungi. *J Clin Microbiol* 2001; **39**: 954-8.

¹⁰² Andes D, Pascual A, Marchetti O. Antifungal therapeutic drug monitoring: Established and emerging indications. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; **53**: 24-34.

No passado a medicina era anatematizada pela penúria dos recursos terapêuticos, pois antes de 1950 não existia um tratamento confiável ou seguro para infecções profundas causadas por fungos e o tratamento de infecções superficiais dependia de preparações tópicas de modo empírico, como por exemplo, o uso de iodo, ácido salicílico, ácido benzóico e iodeto de potássio.⁴⁷ Existe a descrição de vários agentes antifúngicos, atualmente esses agentes são descritos em poucas classes de compostos químicos e podem ser classificados em cinco principais grupos de compostos baseados no mecanismo de ação.^{103,104}

- ✓ Inibição da síntese de macromoléculas (intracelular);
- ✓ Impermeabilização da membrana celular causando uma barreira funcional;
- ✓ Inibição da biossíntese do ergosterol (membrana celular);
- ✓ Interação com microtúbulos (intramolecular);
- ✓ Inibição da biossíntese de glucanas (parede celular).

Assim, baseando-se no mecanismo de ação, que se refere a uma interação bioquímica específica através do qual um fármaco produz efeitos farmacológicos (que geralmente inclui alvos moleculares específicos), a **Tabela 4 (p. 20)**^{50,75,105,106,107} apresenta os principais agentes antifúngicos de acordo com a classe química.

Destaca-se entre os recentes avanços na terapêutica antifúngica, a descoberta das equinocandinas,¹⁰⁸ uma classe relativamente nova de antifúngicos, semi-sintéticos derivados de antibióticos hexapeptídeos cíclicos acilados, administrados por via parenteral que têm sido desenvolvidos para o tratamento de graves infecções fúngicas sistêmicas.¹⁰⁹ A introdução das equinocandinas representa uma oportunidade de desenvolvimento de novos

¹⁰³ Vanden BH, Marichal P, Odds FC. Molecular mechanisms of drug resistance in fungi. *Trends Microbiol* 1994; **2**: 393-400.

¹⁰⁴ Bachmann SP, Patterson TF, López-Ribot JL. *In vitro* activity of caspofungin against *Candida albicans* clinical isolates displaying different mechanisms of azole resistance. *J Clin Microbiol* 2002; **40**: 2228-30.

¹⁰⁵ Bossche HV, Mechanisms of antifungal resistance. *Rev Iberoam* 1997, **14**: 44-9.

¹⁰⁶ Thomas R *et al.* Fungal Guide. http://en.wikipedia.org/wiki/Antifungal_drug acessado em 27 de novembro de 2009.

¹⁰⁷ Khan ZK, Jain P. Antifungal agents and immunomodulators in systemic mycosis. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2000; **42**: 345-55.

¹⁰⁸ Cappelletty D, Eiselstein-McKittrick K. The Echinocandins. *Pharmacotherapy* 2007; **27**: 369-88.

¹⁰⁹ Damle BD, Dowell JA, Walsky RL *et al.* *In vitro* and *in vivo* studies to characterize the clearance mechanism and potential cytochrome P450 interactions of Anidulafungin. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; **53**: 1149-56.

Tabela 4 | Classificação dos agentes antifúngicos pelo mecanismo de ação

ALVO (INTRACELULAR E PAREDE/MEMBRANA CELULAR)		CLASSE QUÍMICA	AGENTE
Síntese de DNA e RNA	Inibidores da enzima timidilato-sintase	Pirimidina	Flucitosina
Barreira funcional na membrana	Interação com ergosterol	Polienos	Anfotericina B ^S
			Natamicina ^T
			Nistatina ^T
	Inibidores da enzima esqualeno epoxidase	Alilaminas	Amorolfina ^T
			Butenafina ^T
			Naftifina ^T
			Terbinafina ^S
		Tiocarbamato	Tolnaftato
			Bifonazol
			Cetoconazol
			Clomidazol
			Clotrimazol
			Croconazol
			Econazol
Biossíntese do ergosterol	Inibidores da enzima Lanosterol 14 α -Demetilase (citocromo P450-14DM)	Azóis	Imidazóis ^T
			Fenticonazol
			Isoconazol
			Miconazol
			Neticonazol
			Oxiconazol
			Sertaconazol
			Sulconazol
			Tioconazol
			Fosfluconazol ^T
			Itraconazol ^S
			Posaconazol ^S
			Ravuconazol ^S
			Terconazol ^T
			Voriconazol ^S
			Tiabendazol ^T
			Albendazol
	Δ^{14} -Redutase e $\Delta^{8\rightarrow7}$ Isomerase	Morfolinas	Fenpropimorfina
Inibidores Mitóticos	Interação com microtúbulos	Derivado: Benzofurano	Griseofulvina
	Inibidores da síntese de β -glucanas	Equinocandinas	Anidulafungina
			Caspofungina
			Micafungina

T: uso tópico. S: uso sistêmico

agentes antifúngicos com um novo modo de ação.^{110,111} Estes novos antifúngicos inibem a enzima β -1,3-glucano sintase, que catalisa a polimerização da glicose-uridina-difosfato (UDP-glicose) em β -1,3-glucano. Quando a síntese deste polímero é inibida, ocorre o extravasamento de componentes da célula (lise celular), como resposta à alta pressão osmótica exercida sobre a membrana enfraquecida (parede celular). A 1,3- β -glucana é o principal componente da parede celular dos fungos, que transmite força e forma à parede celular, estabilidade osmótica e desempenha um papel importante na divisão celular e crescimento celular.¹¹² A 1,3- β -glucana não existe em células de mamíferos, portanto, o uso de equinocandinas resulta em menor toxicidade para o ser humano. A inibição da síntese de 1,3- β -glucana produz um efeito duplo, tanto fungistático quanto fungicida. Os resultados fungistáticos são efeitos de bloqueio da síntese da parede celular, reduzindo o crescimento dos fungos. Os resultados fungicidas são efeitos de uma alteração na integridade da parede celular, que perde a sua resistência mecânica e se torna incapaz de resistir à pressão osmótica intracelular, levando, em última instância, a destruição da célula fúngica. Este mecanismo de ação difere dos outros antifúngicos, que atuam sobre na membrana celular (Polienos: por exemplo, a AMB e azóis: por exemplo, o posaconazol) ou que atuam no DNA e inibem a síntese protéica (flucitosina).¹¹³ Diante dos dados para terapêutica das IFIs as **Tabela 5 e 6 (p. 22)** destacam os antifúngicos usados comumente e os antifúngicos descobertos recentemente.

Tabela 5 | Principais agentes antifúngicos

GRUPO	ANTIFÚNGICOS		NOMES COMERCIAIS	
	USUAIS	MODERNOS		
Pirimidina	Flucitosina (5FC)	-	Ancobon	
Poliênicos	Anfotericina B (AMB)	-	Anfotericin B	
	Nistatina (NYT)	-	Dermodox	
Imidazóis	Cetoconazol (KTC)	-	Nizoral	
	Clotrimazol (CTZ)	-	Canesten	
Triazóis	Fluconazol (FLC)	Voriconazol (VCZ)	Zoltec	Vfend
	Itraconazol (ITC)	Posaconazol (PSZ)	Sporanox	Noxafil
Equinocandinas	-	Caspofungina (CAS)	Cancidas	
	-	Micafungina (MFG)	Mycamine	
	-	Anidulafungina (ANI)	Eraxis	

¹¹⁰ Pacheco AD. Nuevos antifúngicos: Las equinocandinas. *Rev Chil Infect* 2004; **21**: 89-101.

¹¹¹ Romero M, Cantón E, Pemán J *et al.* Antifúngicos inhibidores de la síntesis del glucano. *Rev Esp Quimioterap* 2005; **18**: 281-99.

¹¹² Kurtz MB, Douglas CM. Lipopeptide inhibitors of fungal glucan synthase. *J Med Vet Mycol* 1997; **35**: 79-86.

¹¹³ Jimmy B, Jose J, Saravu K *et al.* Caspofungin: A novel broad-spectrum antifungal agent. *Pharmacol Online* 2007; **2**: 73-84.

Tabela 6 | Informações complementares dos antifúngicos listados na Tabela 5

ANTIFÚNGICO	FABRICANTE OU FORNECEDOR	PREÇO
Ancobon	Valeant Pharmaceuticals International	US\$ 355,32 (500mg / 30 comprimidos) ^a
Anfotericin B ^b	Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda ^c	US\$ 34,99 (50mg / 1 ampola) ^d
Dermodex	Bristol-Myers Squibb Farmacêutica S.A. ^c	R\$ 35,18 (60g / pomada) ^e
Nizoral	Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda ^c	R\$ 81,30 (200mg / 30 comprimidos) ^e
Canesten	Bayer Schering Pharma ^c	R\$ 37,20 (500mg / 1 comprimido) ^e
Zoltec	Laboratórios Pfizer Ltda ^c	R\$ 42,64 (150mg / 1 cápsula) ^e
Sporanox	Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda ^c	R\$ 169,15 (100mg / 28 cápsulas) ^e
Vfend	DSM Pharmaceuticals / Laboratórios Pfizer Ltda ^c	US\$ 1.134,42 (200mg / 30 comprimidos) ^a
Noxafil	Merck & Co. / Schering-Plough	US\$ 567,63 (200mg / 5 mL) ^a
Candidas	Merck Sharp & Dohme	US\$ 421,87 (70mg / 1 ampola) ^a
Mycamine	Astellas Pharma US	US\$ 149,86 (50mg / 1 frasco) ^a
Eraxis	Pfizer	US\$ 146,28 (50mg / 1 frasco) ^a

^a <http://www.zipdrugs.com> (acessado em 14 de fevereiro de 2010).

^b Formulações lipídicas: AmBisome, fabricado por Gilead Sciences (importado por United Medical Ltda) - US\$ 363,99 (50mg / 1 ampola)^d. Abelcet, fabricado por Enzon Pharmaceuticals (importado por Laboratórios Bagó Ltda) - US\$ 255,04 (5mg / 1 mL)^d.

^c <http://www.anvisa.gov.br> (acessado em 14 de fevereiro de 2010).

^d <http://www.pharmacyescrow.com> (acessado em 14 de fevereiro de 2010).

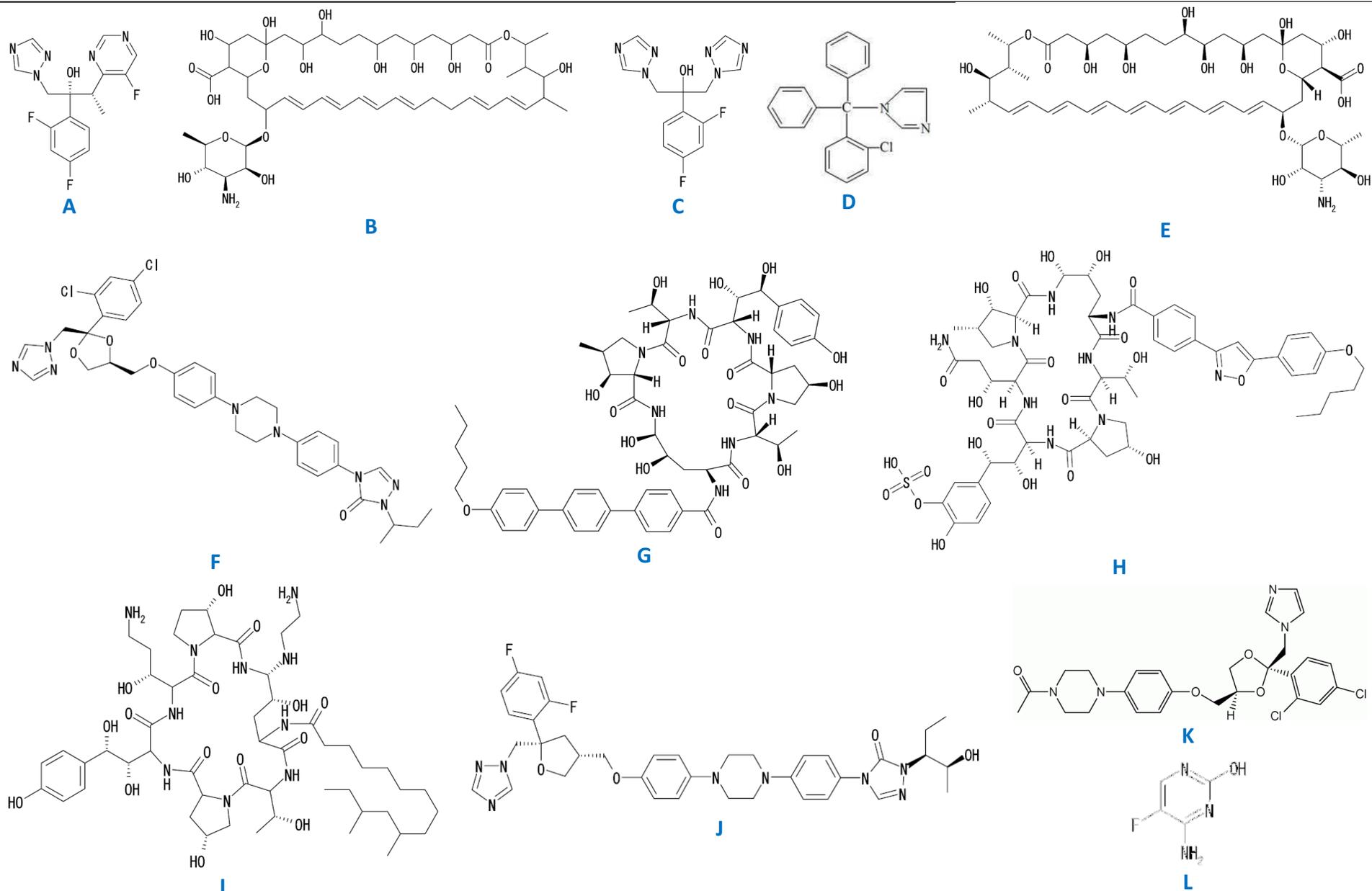
^e <http://www.araujo.com.br> (acessado em 14 de fevereiro de 2010).

As estruturas químicas^{114,115,116} dos antifúngicos mais conhecidos, estão descritas na **Figura 5 (p. 23)**, sendo que os nomes correspondentes estão citados como notas de rodapé.

¹¹⁴ Matsumoto S, Hatano K, Maki K. New advances in antifungal agents. *Folia Pharmacol Jpn* 2007; **130**: 45-51.

¹¹⁵ Cupp-Vickery JR, Garcia C, Hofacre A *et al.* Ketoconazole-induced conformational changes in the active site of cytochrome P450eryF. *J Mol Biol* 2001; **311**: 101-10.

¹¹⁶ Burgess MA, Bodey GP. Clotrimazole (Bay b 5097): *In vitro* and clinical pharmacological studies. *Antimicrob Agents Chemother* 1972; **2**: 423-6.



A – Voriconazol; B – Nistatina; C – Fluconazol; D – Clotrimazol; E – Anfotericina B; F – Itraconazol; G – Anidulafungina; H – Micafungina; I – Caspofungina; J – Posaconazol; K – Cetoconazol; L – Flucitosa.

Figura 5 | Estruturas químicas dos principais agentes antifúngicos listados na Tabela 5.

B. AGENTES ANTIFÚNGICOS BIOINORGÂNICOS

A primeira utilização descrita de um composto inorgânico contra microorganismo foi citada por Paracelsus, em 1526, chamado por ele de “zink”, para o elemento zinco. Vários compostos inorgânicos dos mais simples vêm mostrando atividade farmacológica, como o carbonato de lítio que tem sido usado como fármaco no tratamento de depressão bipolar e o nitrato de prata que é muito usado para tratamento de conjuntivite neonatal. Entretanto, além dos sais inorgânicos comuns, há os compostos ditos de coordenação ou complexos metálicos (compostos com um átomo metálico ou íon central rodeado por um conjunto de ligantes). Estes compostos vêm sendo, cada vez mais, estudados quanto à sua aplicação farmacológica, na área conhecida como bioinorgânica, como se verá a seguir.¹¹⁷

Historicamente, é digno de destaque, o composto conhecido como cisplatina (*cis*-diaminodicloroplatina(II)), descoberto como agente antitumoral por Barnett Rosenberg no final dos anos 60,¹¹⁸ e que foi durante muitos anos a droga mais amplamente utilizada na quimioterapia antineoplásica, com um mercado mundial estimado em cerca de milhões de dólares. Após esta descoberta, mais de 3000 complexos de platina foram sintetizados e testados a fim de torná-lo mais potente, com maior espectro de atividade antitumoral ou reduzir os efeitos colaterais (toxicidade), tornando os compostos de coordenação alvos importantes como potenciais novos fármacos. Atualmente, no entanto, apenas dois complexos de platina (além da cisplatina) entraram na terapêutica clínica: carboplatina e oxaliplatina (**Figura 6**).¹¹⁹

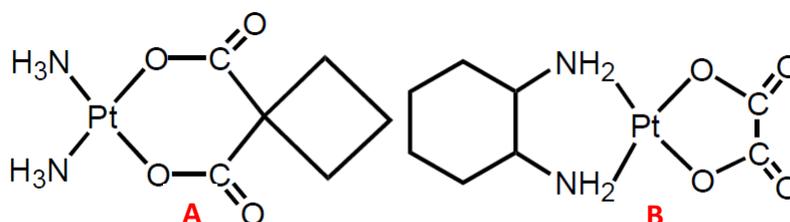


Figura 6 | Estrutura química da oxaliplatina (A) e da carboplatina (B).

O uso de compostos de coordenação como promissores agentes farmacológicos é alvo crescente de interesse científico.¹¹⁸ O estudo da complexação de ligantes com metais,

¹¹⁷ Thompson KT, Orvig C. Boon and bane of metal ions in medicine. *Science* 2003; **300**: 936-9.

¹¹⁸ Rosenberg B. Platinum complexes for the treatment of cancer. *Interdiscip Sci Rev* 1978; **3**: 134-47.

¹¹⁹ Hartinger CG, Zorbas-Seifried S, Jakupec MA *et al.* From bench to bedside – preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). *J Inorg Biochem* 2006; **100**: 891-904.

com atividade farmacológica, visa no geral o aumento da biodisponibilidade e da potência do fármaco. Isto pode ocorrer por vários fatores:^{118,120}

- ✓ A lipofilia modifica-se pela coordenação;
- ✓ O complexo pode ser mais ativo do que o ligante livre;
- ✓ Pela complexação, efeitos colaterais podem diminuir;
- ✓ O mecanismo de ação pode envolver ligação a um metal *in vivo*;
- ✓ O complexo metálico pode ser um veículo para a ativação do ligante (agente citotóxico);
- ✓ A coordenação pode levar a uma significativa redução da resistência celular.

No que tange o arsenal quimioterapêutico antifúngico, até 1950 o tratamento mais usual de infecções superficiais dependia de preparações tópicas de compostos inorgânicos iodados, como o iodo e o iodeto de potássio.⁴⁸ Na verdade, o iodo é um dos mais antigos e eficientes agentes antimicrobianos, já tendo sido reconhecido pela Farmacopéia Norte Americana desde o início de 1830 como útil para tratar ferimentos durante a guerra civil americana, sendo tradicionalmente utilizado como um agente anti-séptico na forma de tintura. O iodo é um dos melhores anti-sépticos universais, atuando contra bactérias, fungos, protozoários e vírus. O iodo puro é um elemento cristalino preto-azulado com brilho metálico, que é pouco solúvel em água pura, porém altamente solúvel em álcool etílico e em solução aquosa de iodeto de potássio (KI) ou iodeto de sódio (NaI). Como também já citado, os ácidos salicílico e benzóico também eram usados como antimicrobianos até 1950 e hoje em dia também são usadas soluções iodo-salicílicas para o tratamento de várias micoses.⁴⁸ Atualmente, utiliza-se a iodo-povidona (**Figura 7, p. 26**), ou povidona-iodo (PVPI), que é um complexo químico solúvel em água de iodo com polivinilpirrolidona (PVP), com conteúdo de 9% a 12% de iodo ativo, calculado sobre base seca. A solução comercialmente mais conhecida da iodopovidona é o Betadine®, que se utiliza para a desinfecção de pequenos ferimentos. Também se usa para preparar a pele antes de uma operação cirúrgica por sua forte capacidade microbicida tópica de amplo espectro. A maioria dos produtos similares comercializados sem prescrição são soluções de 10% de PVPI, às vezes na forma de sabões líquidos pela adição de componentes tensoativos.¹²¹

¹²⁰ Beraldo H, Gambino D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. *Mini Rev Med Chem* 2004; **4**: 31-9.

¹²¹ Philippines M. Clinical application of povidone-iodine oral antiseptic 1% (Betadine® Mouthwash) and povidone-iodine skin antiseptic 10% (Betadine® Solution) for the management of odontogenic and deep fascial space infection. *Dermatology* 2006; **212 (Suppl. 1)**: 112-4.

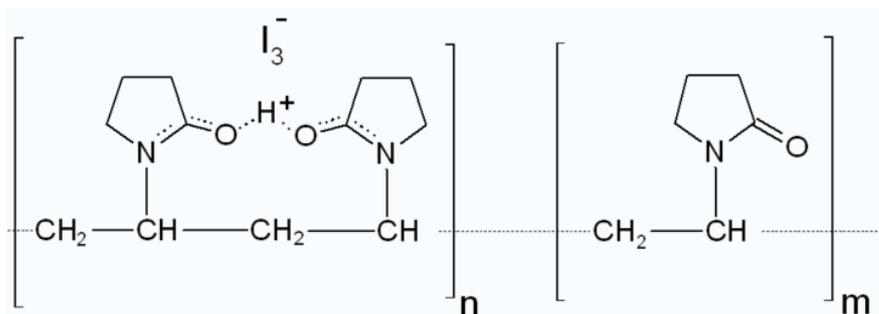


Figura 7 | Estrutura química da iodo-povidona (PVPI).

Outros complexos, mas na forma de compostos inorgânicos, ou compostos de coordenação, têm sido investigados na busca de novos fármacos para o tratamento de infecções fúngicas invasivas, pois tais iniciativas são necessárias para lidar com a emergência dos fungos patogênicos resistentes¹²² e por isto reportar-se-á uma investigação preliminar da literatura sobre a pesquisa de compostos de coordenação como novos agentes antifúngicos bioinorgânicos. Em análise efetuada com palavras-chave correlacionadas (**Gráfico 1**), através de banco de dados virtual (*SciFinder Scholar*®), observa-se o grande crescimento da pesquisa da aplicabilidade de compostos de coordenação como agentes antifúngicos, o que ressalta a grande potencialidade destes compostos de coordenação para o desenvolvimento de possíveis novos fármacos com atividade antifúngica.

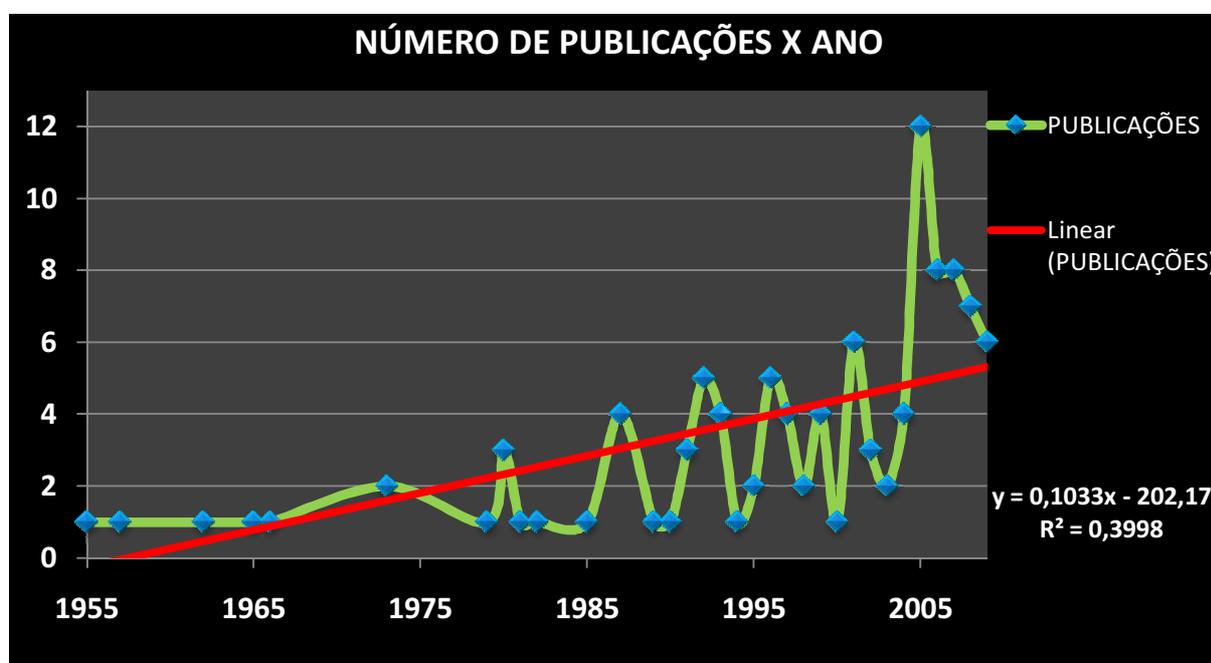


Gráfico 1 | Evolução do número de publicações por ano de artigos relacionados a complexos ou compostos de coordenação e atividade antifúngica.

¹²² Pócsi I, Sámi L, Leiter E *et al.* Searching for new-type antifungal drugs (An outline for possible new strategies). *Acta Microbiol Immunol Hung* 2005; **48**: 533-43.

Tabela 1 | Artigos que mostram o estudo de vários compostos de coordenação de diversos metais com variados ligantes e a atividade antifúngica dos mesmos

- ¹²⁴ Klöpping HL, Van Der Kerk GJM. Investigations on organic fungicides. *Rec Trav Chim Pays-Bas* 1951; **70**: 917-39.
- ¹²⁵ Sijpesteijn AK, Janssen MJ, Van Der Kerk GJM. Organic fungicides. XI. Role of metals and chelating agents in the fungitoxic action of sodium dimethyldithiocarbamate. *Biochim Biophys Acta* 1957; **23**: 550-7.
- ¹²⁶ Fungicidal manganese complexes. *Chemische Werke Albert* 1962; 8pp. **CODEN: Belg. 593,153. BE 613461 19620806.**
- ¹²⁷ Jackson CR, Coastal G. Laboratory evaluation of fungicides for control of some fungi found on peanuts. *Plant Dis Rep* 1965; **49**: 928-31.
- ¹²⁸ El-Nawawy AS, Ashry MA, Hassan S *et al.* Relation between chemical structure and biological activity. XVI. Inversion phenomenon and effect of different concentrations of copper sulfate on relative toxicities of sodium and several s-alkylisothiuronium N,N-dimethyldithiocarbamates. *J Microbiol U Arab Repub* 1966; **1**: 243-54.
- ¹²⁹ Ortner G, Grewe F, Kaspers H *et al.* Fungicidal and microbicidal transition metal alkylguanidine dithiocarbamate complexes. *Ger Offen* 1973; **Baye A-Gr**: 38pp.
- ¹³⁰ Miller VL, Gould CJ, Csonka E *et al.* Metal coordination compounds of thiabendazole. *J Agric Food Chem* 1973; **21**: 931-2.
- ¹³¹ Swami MP, Gupta D, Mohan M *et al.* Magnetospectral studies of cobalt(II) and nickel(II) complexes of furfural thiosemicarbazone and evaluation of their fungicidal activity. *Proc Natl Acad Sci India A Phys Sci* 1980; **50**: 176-80.
- ¹³² Srivastava RS. Studies on complexes of 4-(5'-phenyl-1'-3'-4'-oxadiazole-2'-yl)thiosemicarbazide with some first transition series metal ions. *Inorg Chim Acta* 1980; **46**: L43-5.
- ¹³³ Matolcsy G, Kovacs M, Tuske M *et al.* Metal complexes of ethylene-1,2-bis-(dithiocarbamic acid) and 8-hydroxyquinoline and fungicidal and bactericidal compositions containing them. *Belg* 1982; 14pp. **CODEN: BEXXAL BE 892314 A1 19820901.**
- ¹³⁴ Boehland H. Synthesis and interactions of new fungicides based on the principle of intramolecular synergism. *Tagungsbericht – Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der Deutschen Demokratischen* 1987; **253(Syst Fungic antifungal Compd.)**: 205-9.
- ¹³⁵ Boehland H. Mixed ligand coordination compounds of dichlorans as fungicides. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Paedagogischen Hochschule Karl Liebknecht Potsdam* 1987; **31**: 61-6.
- ¹³⁶ Swamy B, Swamy JR. Antifungal activity of acid hydrazones of 2-aminonicotinaldehyde and their copper(II) complexes. *Natl Acad Sci Lett (India)* 1990; **13**: 447-8.
- ¹³⁷ Rao MJ. Antifungal potential of binary and mixed-ligand complexes of N,2'-diphenylacetohydroxamic acid. *J Inorg Biochem* 1992; **46**: 207-14.
- ¹³⁸ Hueso-Ureña F, Moreno-Carretero MN, Salas-Peregrín JM *et al.* Silver(I), palladium(II), platinum(II) and platinum(IV) complexes with isoorotate and 2-thioisoorotate ligands: synthesis, i.r. and n.m.r. spectra, thermal behavior and antimicrobial activity. *Transition Met Chem* 1995; **20**: 262-9.
- ¹³⁹ Fahmi N, Saxena C, Singh RV. Spectroscopic characterization and biological potential of palladium(II) complexes of benzylidenehydrazinecarboxamide or -carbothiamide. *Bull Chem Soc Jpn* 1996; **69**: 963-9.
- ¹⁴⁰ Kobashi T, Furukawa I. Antifungal effects of chitosan-metal salts. *Bokin Bobai* 1996; **24**: 191-3.
- ¹⁴¹ Elsome AM, Hamilton-Miller JMT, Brumfitt W *et al.* Antimicrobial activities *in vitro* and *in vivo* of transition elements complexes containing gold(I) and osmium(VI). *J Antimicrob Chemother* 1996; **37**: 911-8.
- ¹⁴² Matolcsy G, Andriská V, Oros G *et al.* Transition metal dithiocarbamate derivative fungicides. *PCT Int Appl* 1996; **WO9615107**: 60pp.
- ¹⁴³ Mishra L, Jha A, Yadav AK. Synthesis, spectroscopic and antifungal studies of transition metal trinuclear/polynuclear complexes with azolo-2,4-pentanedione: Part III. *Transition Met Chem* 1997; **22**: 406-10.
- ¹⁴⁴ Guran C, Barboiu M, Diaconescu P *et al.* Synthesis and antifungal activity of metal complexes containing dichloro-tetramorpholinocyclophosphazatriene. *Metal-Based Drugs* 1998; **5**: 287-94.
- ¹⁴⁵ Yamaguchi H, Okuda K. Chemically modified tannin and tannin-copper complexes as wood preservatives. *Holzforschung* 1998; **52**: 596-602.
- ¹⁴⁶ Singh R, Sharma K, Fahmi N. Divalent manganese and palladium complexes of the phenylmethyl ester of hydrazinecarbodithioic acid. *Transition Met Chem* 1999; **24**: 562-5.
- ¹⁴⁷ Barboiu M, Supuran CT, Scozzafava A *et al.* Functionalized derivatives of benzo-crown ethers. Part 4. Antifungal macrocyclic supramolecular complexes of transition metal ions acting as lanosterol-14- α -demethylase inhibitors. *Metal-Based Drugs* 1999; **6**: 101-10.

Continuação Tabela 7

- ¹⁴⁸ Singh N, Sangwan NK, Dhindsa KS. Synthesis of novel coordination compounds of 5-aryl-3-(2-hydroxyphenyl)-4,5-dihidropirazoles as potential fungicides. *Synth Reactivity Inorg Metal-Org Chem* 1999; **29**: 673-85.
- ¹⁴⁹ Sharma K, Fahmi N, Singh R. Synthesis characterization and toxicity of new heterobimetálicos complexos of platínum(II) and paládíum(II). *Appl Organomet Chem* 2001; **15**: 221-6.
- ¹⁵⁰ Singh HL, Varshney AK. Synthesis and characterization of coordination compounds of organotín(IV) with nitrogen and sulfur donor ligands. *Appl Organometal Chem* 2001; **15**: 762-8.
- ¹⁵¹ Nomiya K, Oda M. Silver complexos and their use in antibacterial and antifungal agents. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 2001; 9pp. **CODEN: JKXXAF JP 2001335405 A 20011204.**
- ¹⁵² Zidan ASA. Studies on some transition metal mixed ligands complexos glycinílditíocarbamate and 8-hídroxyquinolína moiety. *J Therm Anal Calorimetry* 2002; **68**: 1045-59.
- ¹⁵³ Dostál L, Růžička A, Jambor R *et al.* Synthesis, *in vitro* antifungal and antitumour activity of some triorganotín(IV) N,C,N-chelates. *Metal-Based Drugs* 2002; **9**: 91-6.
- ¹⁵⁴ Arora A, Dheeraj S, Sharma JR *et al.* Transition metal dialquílditíocarbamates and their antifungal activity. *Asian J chem* 2003; **15**: 715-9.
- ¹⁵⁵ Arora C, Kaushik RD. Antifungal activity of some transition metal ferrocianídeos. *Asian J Chem* 2003; **15**: 1828-30.
- ¹⁵⁶ Murafuji T, Miyoshi Y, Ishibashi M *et al.* Antifungal activity of organobismuth complexos against the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: structure-activity relationship. *J Inorg Biochem* 2004; **98**: 547-52.
- ¹⁵⁷ Navarro M, Colmenares I, Correia H *et al.* *In vitro* activities of transition metal derivatives of ketoconazole and clotrimazole against a wild type strain of *Saccharomyces cerevisiae* in absence or presence of human neutrophils. *Arzneimittelforschung* 2004; **54**: 746-51.
- ¹⁵⁸ Chohan ZH, Pervez H, Khan KM *et al.* Antifungal cobalt(II), copper(II), níquel(II) and zinco(II) complexos of furanyl-, tíiofenílo-, pírrólo-, salicílo- and píridílo-derivado cephalaxíns. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2004; **19**: 85-90.
- ¹⁵⁹ Sheikh C, Hossain MS, Easnin MS *et al.* Evaluation of *in vitro* antimicrobial and *in vivo* citotóxico properties of some novel títanio-based coordination complexos. *Biol Pharm Bull* 2004; **27**: 710-3.
- ¹⁶⁰ Menezes a DC, Vieira FT, de Lima GA *et al.* Tin(IV) complexos of pírrolílditíocarbamate: Synthesis, characterisation and antifungal activity. *Eur J Med Chem* 2005; **40**: 1277-82.
- ¹⁶¹ Agh-Atabay NM, Dulger B, Gućin F. Structural characterization and antimicrobial activity of 1,3-bis(2-benzimidazílo)-2-tíiopropána ligand and its Pd(II) and Zn(II) halídeo complexos. *Eur J Med Chem* 2005; **40**: 1096-1102.
- ¹⁶² Bourque TA, Nelles ME, Gullon TJ *et al.* Late metal salicíloaldímína complexos derivado from 5-aminosalicíloácido — Molecular structure of a zwitteríonico mono Schiff base zinco complex. *Can J Chem* 2005; **83**: 1063-70.
- ¹⁶³ Coombs RR, Ringer MK, Blacquiere JM *et al.* Paládíum(II) Schiff base complexos derivado from sulfanílamídeos and aminobenzotíiozóis. *Transition Met Chem* 2005; **30**: 411-8.
- ¹⁶⁴ Zhang H, Norman DW, Wentzell TM *et al.* Paládíum salicíloaldímína complexos containing boronate ésteros. *Transition Met Chem* 2005; **30**: 63-8.
- ¹⁶⁵ Agarwal RK, Prasad S. Synthesis, spectroscópico and físicoquímico characterization and biological activity of Co(II) and Ni(II) coordination complexos with 4-aminoantipiríno tíiosemicarbazona. *Bioinorg Chem Appl* 2005; **3**: 271-88.
- ¹⁶⁶ Rodríguez-Fernández E, Manzano JL, Benito JJ *et al.* Tíioúrea, tríazolína and tíioadíazína complexos and their metal complexos as antifungal agents. *J Inorg Biochem* 2005; **99**: 1558-72.
- ¹⁶⁷ Singh RV, Nagpal P. Novel biológicamente potentes díorganosílo(IV) complexos of índole-2,3-díono derivatives. *Bioinorg Chem Appl* 2005; **3**: 255-70.
- ¹⁶⁸ Chohan ZH, Pervez H, Hhan KM *et al.* Organometálico-based antibacterial and antifungal complexos: Transition metal complexos of 1,1'-díacetíloferrocéno-derivado tíiocarbóhidrazóna, carbóhidrazóna, tíiosemicarbazona and semicarbazona. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2005; **20**: 81-8.
- ¹⁶⁹ Singh RV, Fahmi N, Biyala MK. Coordination behavior and biopotency of N and S/O donor ligands with their paládíum(II) and platínum(II) complexos. *J Iranian Chem Soc* 2005; **2**: 40-6.

Continuação Tabela 7

- ¹⁷⁰ Chauhan HPS, Shaik NM, Singh UP. Synthesis, spectroscopic and antimicrobial studies of bis(dialkyldithiocarbamato) diorganodithiophosphatobismuth(III) complexes. *Appl Organometal Chem* 2005; **19**: 1132-9.
- ¹⁷¹ Chauhan HPS, Shaik NM, Singh UP. Synthesis, spectroscopic characterization and *in vitro* studies of antimicrobial activity of bis(diorganodithiocarbamato) organodithiocarbonatobismuth (III) complexes. *Appl Organometal Chem* 2006; **20**: 142-8.
- ¹⁷² Radulovic V, Bacchi A, Pelizzi G *et al.* Synthesis, structure, and antimicrobial activity of complexes of Pt(II), Pd(II), and Ni(II) with the condensation product of 2-(diphenylphosphino)benzaldehyde and semioxamazide. *Monatsh Chem* 2006; **137**: 681-91.
- ¹⁷³ Zhang H, Enman JE, Conrad ML *et al.* Palladium(II) pyridinecarboxaldimine complexes derived from unsaturated amines. *Transition Met Chem* 2006; **31**: 13-8.
- ¹⁷⁴ Chakraborty J, Mayer-Figge H, Sheldrick WS *et al.* Structure and property of unsymmetrical binuclear [(3,5-dimethylpyrazole)₂Pd₂(μ-3,5-dimethylpyrazolate)₂-(2,6-dipicolinate)] and mononuclear [Na₂(H₂O)₄Pd-(2,6-dipicolinate)₂] complexes. *Polyhedron* 2006; **25**: 3138-44.
- ¹⁷⁵ Kumar R, Singh R. Coordination chemistry of copper(II) complexes with N₄, N₄S₂, and N₄O₂ donor macrocyclic ligands: Biological aspects antifungal, synthesis, spectral studies, and magnetic moments. *Russ J Coord Chem* 2006; **32**: 192-8.
- ¹⁷⁶ Sharma VK, Srivastava A, Srivastava S. Synthetic, structural and antifungal studies of coordination compounds of Ru(III), Rh(III) and Ir(III) with tetradentate Schiff bases. *J Serb Chem Soc* 2006; **71**: 917-28.
- ¹⁷⁷ Rathore HS, Varshney G, Mojumdar SC *et al.* Synthesis, characterization and fungicidal activity of zinc diethyldithiocarbamate and phosphate. *J Therm Anal Calorimetry* 2007; **90**: 681-6.
- ¹⁷⁸ Mishra AK, Mishra SB, Manav N *et al.* Thermal and spectral studies of palladium(II) complexes. *J Therm Anal Calorimetry* 2007; **90**: 509-15.
- ¹⁷⁹ Mishra AK, Mishra SB, Kaushik NK. Palladium(II) thiohydrazone complexes: synthesis, spectral characterization and antifungal study. *J Coord Chem* 2007; **60**: 1691-700.
- ¹⁸⁰ Aghatabay NM, Somer M, Senel M *et al.* Raman, FT-IR, NMR spectroscopic data and antimicrobial activity of bis[μ₂-(benzimidazol-2-yl)-2-ethanethiolato-N,S,S-chloro-palladium(II)] dimer, [(μ₂-CH₂CH₂NHNCC₆H₄)PdCl]₂.C₂H₅OH complex. *Eur J Med Chem* 2007; **42**: 1069-75.
- ¹⁸¹ Chohan ZH, Naseer MM. Organometallic based biologically active compounds: synthesis of mono- and di-ethanolamine derived ferrocenes with antibacterial, antifungal and citotoxic properties. *Appl Organometal Chem* 2007; **21**: 1005-12.
- ¹⁸² Al-Bari MAA, Khan A, Rahman BM *et al.* *In vitro* antimicrobial properties and citotoxic activities chromium complexes. *Res J Agri Biol Sci* 2007; **3**: 599-604.
- ¹⁸³ Zhang L, Ling Y, Du M. Synthesis, crystal structures and *in vitro* anti-fungal activities of two silver(I) coordination polymers with fluconazole. *Inorg Chim Acta* 2007; **360**: 3182-8.
- ¹⁸⁴ Rathore HS, Ishratullah K, Varshney C *et al.* Fungicidal and bactericidal activity of metal diethyldithiocarbamate fungicides. *J Therm Anal Calorimetry* 2008; **94**: 75-81.
- ¹⁸⁵ Kurtoğlu M, Ispir E, Kurtoğlu N *et al.* Novel *vic*-dioximes: Synthesis, complexation with transition metal ions, spectral studies and biological activity. *Dyes and Pigments* 2008; **77**: 75-80.
- ¹⁸⁶ Anthonysamy A, Balasubramanian S, Shanmugaiah V *et al.* Synthesis, characterization and electrochemistry of 4'-functionalized 2,2':6',2''-terpyridine ruthenium(II) complexes and their biological activity. *Dalton Trans* 2008; **16**: 2136-43.
- ¹⁸⁷ Kannan S, Sivagamasundari M, Ramesh R *et al.* Ruthenium(II) carbonyl complexes of dehydroacetic acid thiosemicarbazone: synthesis, structure, light emission and biological activity. *J Organometallic Chem* 2008; **693**: 2251-57.
- ¹⁸⁸ Menezes DC, Vieira FT, de Lima GM *et al.* The *in vitro* antifungal activity of some dithiocarbamate organotin(IV) compounds on *Candida albicans* – a model for biological interaction of organotin complexes. *Appl Organometallic Chem* 2008; **22**: 221-6.
- ¹⁸⁹ Abdallah SM, Mohamed GG, Zayed MA *et al.* Spectroscopic study of molecular structures of novel Schiff base derived from o-phthaldehyde and 2-aminophenol and its coordination compounds together with their biological activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2009; **73A**: 833-40.
- ¹⁹⁰ Chohan ZH. Metal-based antibacterial and antifungal sulfonamides: Synthesis, characterization, and biological properties. *Transition Met Chem* 2009; **34**: 153-61.
- ¹⁹¹ De Lucca AJ, Boue S, Sien T *et al.* Silver enhances the *in vitro* antifungal activity of the saponin, CAY-1. *US Government USA* 2009; DOI: 10.1111/j.1439-0507.2009.01811.x
- ¹⁹² Garoufis A, Hadjidakou SK, Hadjiliadis N. Palladium coordination compounds a anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coord Chem Rev* 2009; **253**: 1384-97.

Nota-se que os complexos de cobre são os mais descritos, cabendo ressaltar o trabalho publicado recentemente (2009) com o complexo Cu-alkilguanidina ditiocarbamato: $[\text{Cu}(\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_2)(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}^{188}$ que apresenta CIM = 55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ contra *Aspergillus flavus* e CIM = 65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ contra *Aspergillus niger*. No geral, observa-se que realmente existe a descrição de vários ensaios *in vitro* e a descoberta de novos antifúngicos inorgânicos pode ser uma alternativa na terapêutica.

Numa avaliação geral dos fungos estudados nos ensaios, os resultados mostram que a maioria dos estudos são contra fungos fitopatogênicos (**Gráfico 3**), muitas vezes relacionados com a contaminação de plantas produtoras de alimentos usuais como amendoim e batata e que não existe ainda uma especificação de ensaios contra espécies causadoras das IFIs. Entre os quatro principais microorganismos citados (**Gráfico 3**) temos duas espécies do gênero *Aspergillus* causador da aspergillose (*A. niger* e *A. flavus*) e uma espécie do gênero *Candida* causador da candidíase (*C. albicans*). Cabe lembrar, que as espécies desses dois gêneros são referentes à cerca de 95% das IFIs³⁸ e que a mortalidade por aspergilose pulmonar invasiva permanece acima de 50%, atingindo 95% em determinadas situações.

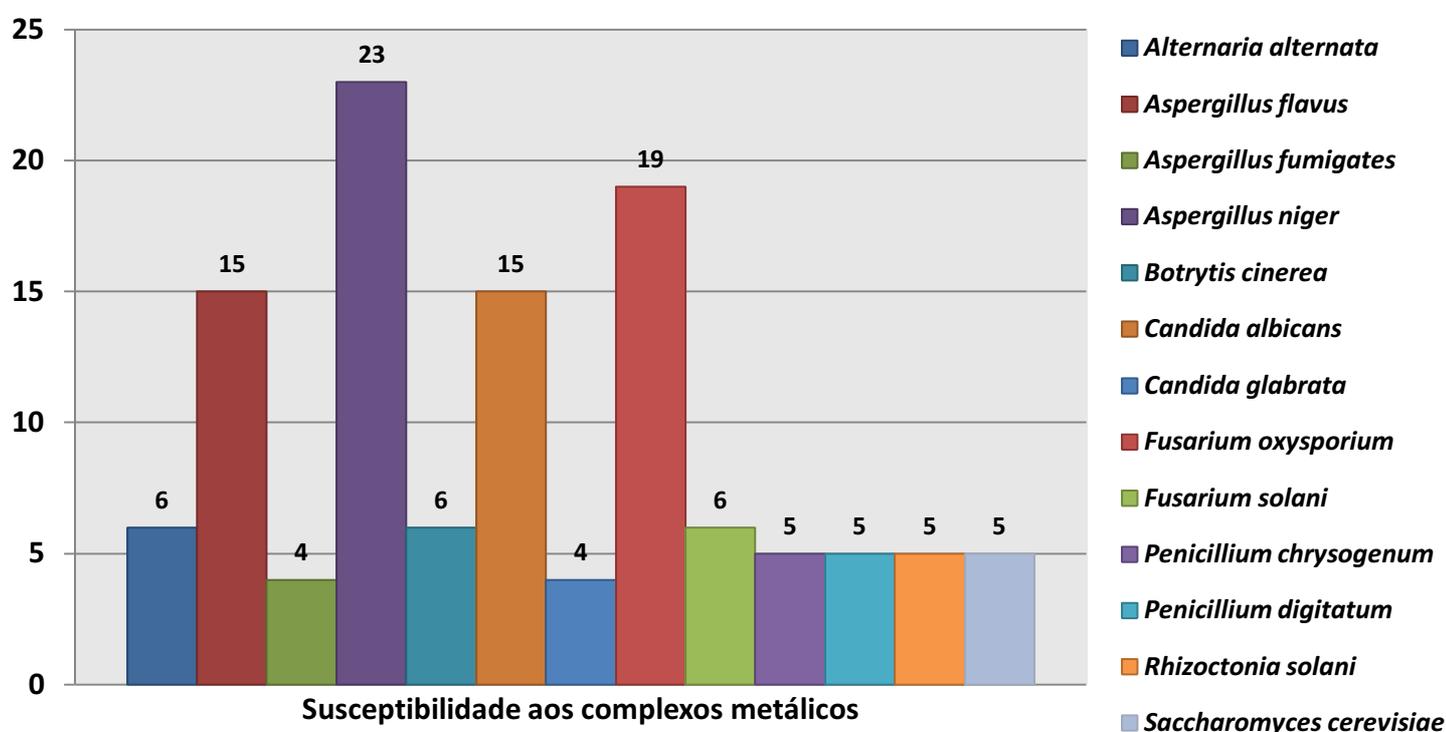


Gráfico 3 | Relação do número de citações das espécies fúngicas comparando a susceptibilidade aos complexos inorgânicos.

C. COMPLEXOS DE RUTÊNIO NA MEDICINA

O rutênio (latim *Ruthenia*, que significa "Rússia") metálico encontra-se no estado sólido à temperatura ambiente e foi descoberto pelo químico russo Karl Klaus em 1844. Atualmente a África do Sul é o maior produtor de rutênio (95% da demanda mundial). A principal aplicação é como catalisador,¹⁹² cabe destacar sua aplicação em outras tecnologias importantes, por exemplo:¹⁹³

- ✓ Desenvolvimento de ligas resistentes à corrosão, por exemplo, adição de rutênio a liga Fe-Cr-Al, usada como substratos para conversores autocatalíticos, elementos de forno e revestimentos térmicos;
- ✓ Carbonetos cimentados para aplicações de perfuração e ferramentas de corte;
- ✓ Compostos intermetálicos e melhorias nas propriedades mecânicas na indústria metal duro;
- ✓ Novos tipos estruturais de ligas metálicas de titânio (por exemplo, a liga 29-4-2 (Ti + Al) apresenta corrosão de 0,23 mm/ano, enquanto uma liga metálica de Ti com Ru apresenta corrosão de 0,001 mm/ano);
- ✓ Revestimentos resistentes ao desgaste, por exemplo, alumineto de rutênio (RuAl);
- ✓ Fabricação de amônia em baixas pressões, com benefícios de custo direto em locais onde o preço da eletricidade é muito alto.

De fato, os metais preciosos foram usados como medicamentos, pelo menos, há 3500 anos, quando os registros mostraram que o ouro foi incluído em uma variedade de compostos medicinais na Arábia e China. Naquele tempo, acreditava-se que os metais preciosos poderiam beneficiar a saúde, por causa da sua raridade.¹⁹⁴ A elucidação de mecanismos de ação de muitos fármacos inorgânicos é ainda desconhecida. Mas os poucos já conhecidos ou até mesmo os alvos biológicos já pesquisados, ajudam na pesquisa racional de novos fármacos inorgânicos.¹⁹⁵

¹⁹² Himeda Y, Onozawa-Komatsuzaki N, Sugihara H *et al.* Transfer hydrogenation of a variety of ketones catalyzed by rhodium complexes in aqueous solution and their application to asymmetric reduction using chiral Schiff base ligands. *J Mol Catal A: Chem* 2003; **195**: 95-100.

¹⁹³ Wolff IM. New applications of ruthenium. *S Afr J Sci* 1999; **95**: 539-42.

¹⁹⁴ Allardyce CS, Dyson PJ. Ruthenium in medicine: Current clinical uses and future prospects. *Platinum Metals Rev* 2001, **45**: 62-9.

Como já citado, o estudo da formação de compostos de coordenação com metais de transição pode conduzir à obtenção de novos fármacos, especialmente quanto o ligante coordenante já apresenta atividade farmacológica, pois pode ocorrer aumento da lipofilia e da potência, diminuição dos efeitos colaterais e da resistência celular.¹²¹

As propriedades medicinais dos metais, de outros grupos além do grupo da platina, estão sendo reconhecidos como, por exemplo, complexos de rutênio como agentes anticancerígenos.¹⁹⁵

A química e bioquímica no estudo da atividade destes novos complexos organometálicos é uma área de pesquisa ativa, enfocando:¹⁹⁵

- ✓ Identificação das espécies formadas no meio fisiológico;^{196,197}
- ✓ A relação entre estrutura e o potencial de redução em termos de atividade biológica;¹⁹⁸
- ✓ Interações com proteínas séricas (em particular a transferrina e a albumina);^{120,199,200}
- ✓ Interações com moléculas intracelulares, tais como nucleotídeos e a glutatona.^{201,202}

Como descrito anteriormente, o primórdio na terapêutica de compostos inorgânicos, ocorreu com os compostos de platina e desde então, tem-se uma grande expansão na pesquisa por busca de novos fármacos inorgânicos. Algumas destas pesquisas são descritas na **Tabela 8 (p. 34)**.^{195,203}

¹⁹⁵ Cetinbas N, Webb MI, Dubland JA *et al.* Serum-protein interactions with anticancer Ru(III) complexes KP1019 and KP418 characterized by EPR. *J Biol Inorg Chem* 2010; **15**: 131-45

¹⁹⁶ Cebrian-Losantos B, Reisner E, Kowol CR *et al.* Synthesis and reactivity of the aquation product of the antitumor complex *trans*-[Ru^{III}Cl₄(indazole)₂]⁻. *Inorg Chem* 2008; **47**: 6513-23.

¹⁹⁷ Groessl M, Reisner E, Hartinger CG *et al.* Structure-Activity relationships for NAMI-A-type complexes (HL) [*trans*-RuCl₄L(S-dmsoruthenate(III))](L=imidazole, indazole, 1,2,4-triazole, 4-amino-1,2,4-triazole, and 1-methyl-1,2,4-triazole): Aquation, redox properties, protein binding, and antiproliferative activity. *J Med Chem* 2007; **50**: 2185-93.

¹⁹⁸ Jakupec MA, Reisner E, Eichinger A *et al.* Redox-Active antineoplastic ruthenium complexes with indazole: Correlation of *in vitro* potency and reduction potential. *J Med Chem* 2005; **48**: 2831-7.

¹⁹⁹ Brindell M, Stawoska I, Supel J *et al.* The reduction of (ImH)[*trans*-Ru^{III}Cl₄(dmsor)(Im)] under physiological conditions: Preferential reaction of the reduced complex with human serum albumin. *J Biol Inorg Chem* 2008; **13**: 909-18.

²⁰⁰ Cabral VLR, Carvalho L, Miszputen SJ. Importância da albumina sérica na avaliação nutricional e de atividade inflamatória em pacientes com doença de Crohn. *Arq Gastroenterol [online]* 2001, **38**: 104-8.

²⁰¹ Groessl M, Hartinger CG, Dyson PJ *et al.* CZE-ICP-MS as a tool for studying the hydrolysis of ruthenium anticancer drug candidates and their reactivity towards the DNA model compound dGMP. *J Inorg Biochem* 2008; **102**: 1060-5.

²⁰² Tan C, Liu J, Li H *et al.* Differences in structure, physiological stability, electrochemistry, cytotoxicity, DNA and protein binding properties between two Ru(III) complexes. *J Inorg Biochem* 2008; **102**: 347-58.

²⁰³ Navarro M. Gold complexes as potential anti-parasitic agents. *Coord Chem Rev* 2009; **253**: 1619-26.

Tabela 9 | Algumas propriedades medicinais dos principais metais de transição constituintes de novos agentes bioinorgânicos^a

METAL DE TRANSIÇÃO	PROPRIEDADES MEDICINAIS
Ag	Antimicrobiana; liga dentária e tratamento antitabagismo.
Au	Antitumoral; antiviral (HIV/AIDS); antimicrobiana (malária); tratamento de asma bronquial e tratamento de artrite reumatóide.
Ir	Utilizado com radioisótopos em tratamento antitumoral.
Os	Antimicrobiana (leishmaniose); liga dentária e tratamento de artrite reumatóide.
Pd	Antiviral (leucemia e HIV); antitumoral e liga dentária.
Pt	Antitumoral; antimicrobiana; antiviral (HIV) e liga dentária.
Rh	Antitumoral; antimicrobiana (malária e leishmaniose); antibacteriana; radiosensitizadores e liga dentária.
Ru	Antitumoral; antimicrobiana (malária e doença de Chagas); imunossupressora; antibiótica; choque séptico e liga dentária.

^a No momento, nem todos os fármacos inorgânicos com esses metais foram aprovados clinicamente.

As vantagens da utilização de rutênio no desenvolvimento de novos fármacos foram bem consideradas em vários artigos. Resumidamente, dentre estas vantagens, pode-se citar:^{121,195,204,205,206}

- ✓ Descrição bem desenvolvida de rotas sintéticas para formação de compostos de coordenação de rutênio, fornecendo rotas confiáveis dos novos compostos;
- ✓ Contribuição de troca de ligante frequentemente comparável ao da platina ou que pode ser ajustada pela coordenação de ligantes auxiliares apropriados;
- ✓ A coordenação geométrica octaédrica, em contraste com a geometria quadrado-planar de complexos de platina(II), implicando numa reatividade e mecanismo de ação diferente da cisplatina;
- ✓ A acessibilidade dos estados de oxidação +2, +3 e +4 em condições fisiológicas, permitindo que o organismo realize reações de oxi-redução;

²⁰⁴ Clarke MJ. Ruthenium Metallopharmaceuticals. *Coord Chem Rev* 2002; **232**: 69-93.

²⁰⁵ Jakupec MA, Galanski M, Arion VB *et al.* Antitumour metal compounds: More than theme and variations. *Dalton Trans* 2008; **Perspective**: 183-94.

²⁰⁶ Reisner E, Arion VB, Keppler BK *et al.* Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs. *Inorg Chim Acta* 2008; 361: 1569-83.

- ✓ Habilidade do rutênio em imitar o átomo de ferro em ligações com biomoléculas, tais como: a transferrina e outras proteínas, o que torna o complexo de rutênio um agente menos tóxico do que fármacos derivados do átomo de platina;
- ✓ Crescente conhecimento sobre os efeitos biológicos de complexos de rutênio;
- ✓ Deslocalização da carga positiva entre parte orgânica e o metal (dependo do tipo de ligante);
- ✓ Menor toxidez, se comparado a outros compostos usados como referência.

Dentre as principais propriedades de complexos de rutênio, cabe ressaltar:¹⁹⁵

A cinética de troca de ligantes: vários complexos de rutênio detêm uma efetiva troca de ligantes semelhante aos complexos de platina. A troca de ligante é muito importante para eficaz atividade biológica, pouco complexos inorgânicos atingem os sítios biológicos alvo sem sofrer modificações. Outro fator relacionado é a biodisponibilidade desses ligantes no sítio ativo, onde ocorrem interações com macromoléculas, como, por exemplo, proteínas. Algumas interações são essenciais para induzir as propriedades terapêuticas desejadas.

A imitação do átomo de ferro: a baixa toxicidade de complexos de rutênio acredita-se ser devido à capacidade do átomo de rutênio imitar o átomo de ferro em ligação com muitas biomoléculas, incluindo a transferrina e a albumina. Estas duas proteínas são utilizadas por mamíferos, para dissolver e transportar os átomos de ferro, reduzindo sua toxicidade. Algumas células tumorais têm uma maior exigência de ferro, com isso ocorre um aumento do número de receptores de transferrina localizado na superfície das células (este aumento pode chegar a 12 vezes mais por célula) (**Figura 9, p. 36**). Favorecendo um direcionamento dos complexos para células alvo.

Os estados de oxidação do rutênio: o rutênio é único átomo, além dos átomos do grupo da platina, que possui os estados de oxidação de Ru(II), Ru(III) e Ru(IV) acessíveis em condições fisiológicas. Nestes estados de oxidação o rutênio é, predominantemente, hexacoordenado, essencialmente com geometria octaédrica.

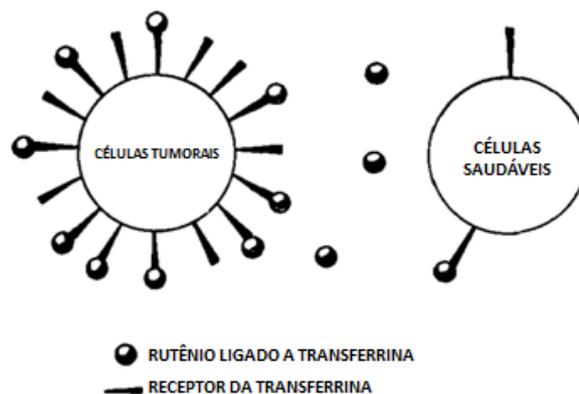


Figura 9 | Representação esquemática da captação seletiva da transferrina por células cancerígenas (esq.) e células saudáveis (dir.).

Os complexos com Ru(III) são menos ativos biologicamente que os complexos Ru(II) e Ru(IV). O potencial redox de um complexo pode ser modificado pela variação dos ligantes. Em sistemas biológicos glutatona, ascorbato e proteínas são capazes de reduzir Ru(III) e Ru(IV); oxigênio molecular e enzimas, como citocromo oxidase, podem oxidar facilmente Ru(II). O potencial redox dos compostos de rutênio pode ser explorado para maior eficácia dos fármacos, por exemplo, um fármaco pode ser administrado, relativamente inerte na forma de um complexo Ru(III) e este ser ativado por redução no tecido alvo (tecidos tumorais, no geral apresentam menor concentração de oxigênio, altos níveis de glutatona e pH baixo em comparação com as células saudáveis). O aumento subsequente na labilidade dos vínculos de rutênio-ligante aumenta a propensão para a coordenação de biomoléculas.^{205,207}

O potencial padrão redox (PPR) de complexos de Ru(III), parece ser crucial para sua atividade antitumoral. Se o PPR for muito baixo, então o complexo não é reduzido e permanece inativo intracelular e se o PPR for muito alto, então o complexo é reduzido muito facilmente e a seletividade para células cancerosas é perdida. A abordagem mais geral para a previsão de PPRs baseia-se em cálculos de química quântica moderna.²⁰⁸ Nos complexos, por exemplo, com ligantes aromáticos, estes ligantes proporcionam estabilidade para o estado de oxidação do rutênio e dá um domínio lipofílico ao complexo, condizente com efetiva potência em condições fisiológicas. Em estudo da relação estrutura-atividade (SAR), os

²⁰⁷ Schluga P, Hartinger CG, Egger A *et al.* Redox behavior of tumor-inhibiting ruthenium(III) complexes and effects of physiological reductants on their binding to GMP. *Dalton Trans* 2006;**14**: 1796-802.

²⁰⁸ Chiorescu I, Deubel DV, Arion VB *et al.* Computational electrochemistry of ruthenium anticancer agents. Unprecedented benchmarking of implicit solvation methods. *J Chem Theory Comput* 2008; **4**: 499-506.

complexos mais ativos apresentam: um ligante coordenativamente N estável (ligante N-quelante), um ligante hidrofóbico e um grupo halogeneto instável.^{209,210}

A aplicabilidade dos complexos organometálicos de rutênio e no geral aplicabilidade dos complexos inorgânicos pode ser especificada em várias áreas da Química e/ou outras ciências, como, por exemplo, em muitos processos catalíticos (metátese de olefinas, hidrogenação, hidroformilação e geração de hidrogênio).²¹¹ Considerando o estudo de atividade antifúngica desta Tese, cabe destacar a aplicabilidade dos complexos de rutênio no desenvolvimento de novos fármacos com atividade biológica. Dentre elas podemos destacar.^{195,212,213}

- a) **Atividade imunossupressora** (complexos: ciclosporina A e *cis*-[Ru(NH₃)₄(Imidazol)₂]);
- b) **Atividade antimicrobiana:** contra malária e doença de Chagas (por exemplo, [RuCl₂(cloroquina)₂] ativo contra *Plasmodium*). A eficácia de medicamentos usuais pode ser potencialmente melhorada através da coordenação com rutênio;
- c) **Atividade antibiótica:** Um bom exemplo é o complexo derivado de Ru(III) com tiossemicarbazonas onde existe 70% de aumento na atividade antibiótica contra bactérias Gram-negativas (*Salmonella typhi* e *Enterobacteria faecalis*);²⁰⁵
- d) **Atividade antitumoral:** complexos organometálicos com metais de transição (principalmente complexos de rutênio) apresentam propriedades anticancerígenas²¹² e estão atraindo uma atenção considerável na química bioorganometálica.^{210,214}

Na busca de novos complexos de rutênio com atividade tumoral pode-se destacar complexos que se ligam ao DNA com ligante tipo: amina, dimetilsulfóxido, imina, poliaminopolicarboxilato e N-heterocíclicos. No entanto, muitos desses compostos são

²⁰⁹ Gras M, Therrien B, Süss-Fink G *et al.* Anticancer activity of new organo-ruthenium, rhodium and iridium complexes containing the 2-(pyridine-2-yl)thiazole N,N-chelating ligand. *J Organometallic Chem* 2010; **695**: 1119-25.

²¹⁰ Aird RE, Cummings J, Ritchie AA *et al.* *In vitro* and *in vivo* activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *J Cancer* 2002; **86**: 1652-7.

²¹¹ Berger I, Hanif M, Nazarov AA *et al.* *In vitro* anticancer activity and biologically relevant metabolism of organometallic ruthenium complexes with carbohydrate-based ligands. *Chem Eur J* 2008; **14**: 9046-57.

²¹² Scolaro C, Bergamo A, Brescacin L *et al.* *In vitro* and *in vivo* evaluation of ruthenium(II)-arene PTA complexes. *J Med Chem* 2005; **48**: 4161-71.

²¹³ Hartinger CG, Casini A, Duhot C *et al.* Stability of an organometallic ruthenium-ubiquitin adduct in the presence of glutathione: Relevance to antitumour activity. *J Inorg Biochem* 2008; **102**: 2136-41.

²¹⁴ Hartinger CG, Dyson PJ. Bioorganometallic chemistry—from teaching paradigms to medicinal applications. *Chem Soc Rev* 2009; **38**: 391-401.

pouco solúveis em solução aquosas, que é necessário para permitir eficaz administração e transporte desses compostos. Entre os compostos mais promissores, após serem bem sucedidos em ensaios clínicos, estão os complexos de rutênio, com geometria octaédrica, KP1019 e NAMI-A (Figura 10).^{206,215} Cabe destacar que em alguns complexos a versatilidade devido à geometria de coordenação ao centro metálico proporciona considerável flexibilidade em termos de funcionalização racional.^{216,217} Estes dois complexos de rutênio completaram com sucesso a Fase 1 de triagem clínica, demonstrando baixos níveis de efeitos colaterais e atividade antitumoral contra células platina-resistentes.^{196,218} Ambos, são administrados por via intravenosa.²⁰⁶

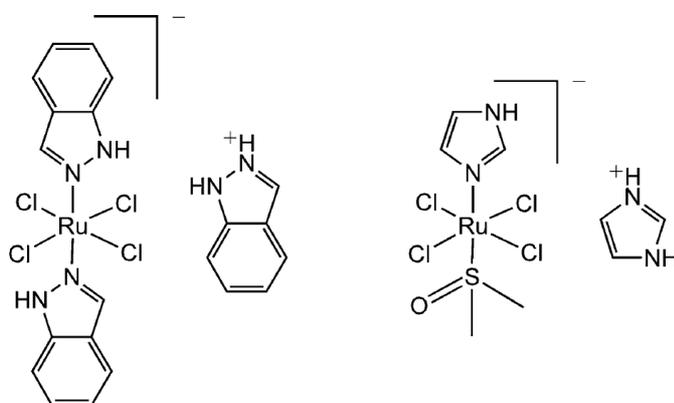


Figura 10| Estrutura química dos complexos [*trans*-RuCl₄(1*H*-indazol)₂]: KP1019 (esq.) e [*trans*-RuCl₄(1*H*-imidazol)(dimetilsulfóxido-*S*)]: NAMI-A (dir.).

Além da possibilidade de ligação ao DNA, que desencadeia o processo de apoptose, o mecanismo de ação do KP1019 envolve a indução de apoptose em células tumorais através da mitocôndria (uma interação direta através da despolarização da membrana mitocondrial) e o NAMI-A interfere com as interações das células tumorais com a matriz extracelular (diminuição da adesão celular, redução da invasividade e migração celular, etc.).

Cabe destacar também o desenvolvimento de inibidores seletivos de enzimas, que é um desafio para bioquímica e química medicinal. Complexos octaédricos em especial mostram ser adequados a seletividade a alvos de sítios ativos, através da criação de formas rígidas. Dentre os compostos antitumorais estudados, cabe destacar o organometálico de

²¹⁵ Harris TV, Szilagyi RK, Holman KL. Electronic structural investigations of ruthenium compounds and anticancer prodrugs. *J Biol Inorg Chem* 2009; **14**: 891-8.

²¹⁶ Maksimoska J, Feng L, Harms K *et al.* Targeting large kinase active site with rigid, bulky octahedral ruthenium complexes. *J Am Chem Soc* 2008; **130**: 15764-5.

²¹⁷ Therrien B. Functionalised η^6 -arene ruthenium complexes. *Coord Chem Rev* 2009; **253**: 493-519.

²¹⁸ Mendoza-Ferri MG, Hartinger CG, Nazarov AA *et al.* Modifying the structure of dinuclear ruthenium complexes with antitumor activity. *Appl Organometal Chem* 2008; **22**: 326-32.

rutênio DW12 (**Figura 11**), que é inibidor muito potente das enzimas GSK-3 e Pim-1 quinases.^{217,219,220,221}

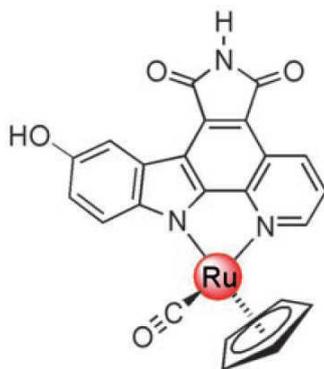


Figura 11| Estrutura química do complexo DW12.

O primeiro complexo de rutênio dinuclear inibidor de células tumorais foi o [PyrRu₂¹²] (**Figura 12**).²¹² Esse complexo apresenta alta atividade antitumoral, com potência de atividade nanomolar, contra uma série de linhagens de células tumorais humanas. Em particular, atividade semelhante à oxaliplatina contra carcinoma coloretal, enquanto complexos mononucleares estão inativos.²¹⁹

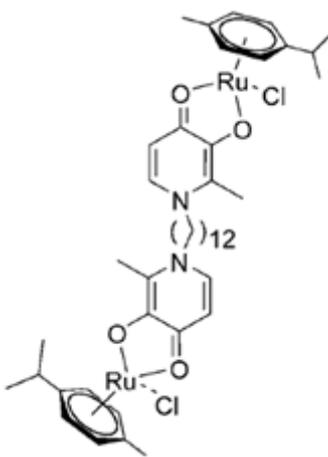


Figura 12| Estrutura química do complexo [PyrRu₂¹²].

e) Atividade antifúngica: considerando as análises dos artigos da **Tabela 7 (p. 28)**, cabe destacar o estudo realizado em 2008¹⁸⁷ de complexos com rutênio com ligante tipo tiossemicarbazona, que foram ativos contra *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

²¹⁹ Bruijninx PCA, Sadler PJ. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Curr Opin Chem Biol* 2008; **12**: 197-206.

²²⁰ Maksimoska J, Williams DS, Atilla-Gokcumen GE *et al.* Similar biological activities of two isostructural ruthenium and osmium complexes. *Chem Eur J* 2008; **14**: 4816-22.

²²¹ Meggers E, Atilla-Gokcumen GE, Gründler K *et al.* Inert ruthenium half-sandwich complexes with anticancer activity. *Dalton Trans* 2009; **48**: 10882-8.

As usuais desvantagem e limitação do uso de complexos de rutênio para a utilização clínica devem-se à baixa solubilidade em meio fisiológico (aquoso) e alta lipofilia para a maioria deles, contudo os antifúngicos mais comuns são muito lipofílicos e pouco hidrossolúveis. Cabe destacar o trabalho de Katritzky e colaboradores²²³ que trata da obtenção de correlações estrutura-atividade quantitativa (QSAR) de 83 antifúngicos, com as variadas classes e estruturas de compostos, no qual se conclui a importância da lipofilia na atividade antifúngica.²²² A **Tabela 9 (p. 41)** mostra os artigos com complexos de rutênio publicados em 2009, que apresentam atividade antifúngica. São dignos de nota:

- ✓ Os dados de sínteses, que são semelhantes a vários artigos da área de química inorgânica; cabe ressaltar que em outros artigos (**Tabela 7, p. 28**), verificando-se a utilização usual de purificação por cromatografia;
- ✓ A caracterização físico-química utilizada (IV, UV, TG, EPR, VC, RX, RMN de ¹H, RMN de ¹³C, RMN de ³¹P, EM, CHN, Ω e μ_{eff});
- ✓ Os resultados de atividade antifúngica, destacando a atividade fungos relacionados à IFIs/DIEs (*Candida ssp.* e *Aspergillus ssp.*).

Podem-se observar também, com os complexos descritos na **Tabela 7, p. 28**, que ligantes tipos ditiocarbamatos (S_2CNR_2) geraram complexos ativos com vários metais, tais como Fe e Zn (contra *Aspergillus niger*)¹²⁴ e complexos com Cu, Cd, Pb, Ni e Zn foram ativos contra *A. niger* e *Candida albicans*.¹⁸⁴ Mais recentemente, complexos de ditiocarbamatos com Sn foram ativos contra *C. albicans* e *C. tropicalis*.¹⁸⁸ Todavia, complexos de rutênio com ditiocarbamatos são ainda inéditos, bem como o seu estudo como possíveis agentes antifúngicos e seria de grande interesse a avaliação do possível sinergismo que poderia ocorrer em complexos de rutênio com ditiocarbamatos para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos mais potentes e eficientes.

²²² Katritzky AR, Slavov SH, Dobchev DA *et al.* QSAR modeling of the antifungal activity against *Candida albicans* for a diverse set of organic compounds. *Bioorg Med Chem* 2008; **16**: 7055-69.

Tabela 10 | Resumo dos artigos com complexos de rutênio com atividade antifúngica publicados em 2009

COMPLEXOS ESTUDADOS	MÉTODO SINTÉTICO	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	REFERÊNCIA
[Ru(L)Cl ₂]; L = HBACHD, BACHD, BPACHD, BNACOD, HBOACTD, HBOACPD, HBPOACTD, HBPOACPD, HBNOACTD, HBNOACPD	As soluções dos ligantes (L) em MeOH e RuCl ₂ (DMSO) ₄ em tolueno, foram misturadas e agitadas a 60°C; a suspensão formada foi refluxada por 1h; cristalização feita com éter dietílico; recristalização com MeOH/ éter dietílico	IV, TG, RMN de ¹ H, RMN de ¹³ C, EM, CHN, Ω, μ _{eff}	<i>Aspergillus flavus</i> (16-25 mm / 500 μg/mL) <i>Fusarium ssp.</i> (18-30 mm / 500 μg/mL)	223
[Ru(hzpy) ₃](PF ₆) ₂ ; [Ru(hzpy) ₂ (aepy)](PF ₆) ₂ ; [Ru(hzpy)(aepy) ₂](PF ₆) ₂ ; [Ru(dpa) ₂](PF ₆) ₂	Os ligantes (hzpy, aepy, dpa) foram misturados ao pré-complexo; atmosfera de N ₂ ; agitação por 1h; recristalização com EtOH e lavado com EtOH e éter etílico	IV, UV, CHN, TG, RMN de ¹ H, μ _{eff}	<i>Candida sp.</i> (16-22 mm)	224
{[RuX ₃ (EPh ₃) ₂ (bis-β-dk)] [X = Cl/Br; E = P/As; bis-β-dk = bis(β-dicetona)]	O ligante (bis-β-dk) foi adicionado à solução contendo um pré-complexo; solvente: benzeno (anidro); refluxo por 6h; cristalização com éter de petróleo; recristalização com CH ₂ Cl ₂ / éter de petróleo	IV, CHN, UV, EPR, VC, RX	<i>Candida albicans</i> (10-13 mm / 1 ppm) <i>Aspergillus niger</i> (10-14 mm / 50 ppm)	225
[RuCl(CO)(EPh ₃)(B)(L)] (E = P or As; B = PPh ₃ , AsPh ₃ or Py; L = 2'-hidroxichalconas)	O ligante (L) foi adicionado à solução contendo um pré-complexo; solvente: benzeno (anidro); refluxo por 6h; cristalização com éter de petróleo; recristalização com CH ₂ Cl ₂ / éter de petróleo	IV, CHN, RMN de ¹ H, ¹³ C e ³¹ P	<i>Aspergillus niger</i> (7-14 mm / 50 ppm) <i>Mucor sp.</i> (8-14 mm / 50 ppm)	226

Hzpy: hidrazinopiridina, aepy: aminoetilpiridina, dpa: dipicolilamina, HBACHD: 7,8,17,18-tetrahidrodibenzo[f,n][1,4,9,12]tetraazaciclohexadecino, BACHD: tetrabenzo[b,f,j,n][1,4,9,12]tetraazaciclohexadecano, BPACHD: dibenzo[f,n]dipirido[2,3-b:3,2-j][1,4,9,12]-tetraazaciclohexadecino, BNACOD: dibenzo[g,p]dinafto-[1,8-bc:1,8-kl][1,5,10,14]-tetraazaciclooctadecino, HBOACTD: 6,7-dihidrotribenzo-[e,i,m][1,4,7,12]-ioxadiazacicotetradecino, HBOACPD: 13,14-dihidro-12H-tribenzo[b,f,j][1,12,4,9]dioxadiazacicotetradecino, HBPOACTD: 6,7-dihidrobenzo[i]dipirido[3,2-e:2,3-m][1,4,7,12]dioxadiazacicotetradecino, HBPOACPD: 13,14-dihidro-12H-benzo-[f]-dipirido-[3,2-b:2,3-j][1,12,4,9]-dioxadiazacicotetradecino, HBNOACTD: 21,22-dihidrobenzo[i]dinafto[2,3-e:2,3-m][1,4,7,12]dioxadiazacicotetradecino, HBNOACPD: 15,16-dihidro-14H-benzo[f]binafto[2,3-b:2,3-j][1,12,4,9]dioxadiazacicotetradecino, IV: infravermelho, TG: análise termogravimétrica, RMN de ¹H: ressonância magnética nuclear de ¹H, RMN de ¹³C: ressonância magnética nuclear de ¹³C, EM: espectrometria de massas, Ω: condutimetria, μ_{eff}: momento magnético de Bohr, UV: ultravioleta, CHN: análise elementar, EPR: ressonância paramagnética eletrônica, VC: voltametria cíclica, RX: raio X, RMN de ³¹P: ressonância magnética nuclear de ³¹P.

²²³ Shanker K, Rohini R, Ravinder V *et al.* Ru(II) complexes of N₄ and N₂O₂ macrocyclic Schiff base ligands: Their antibacterial and antifungal studies. *Spectrochim Acta A* 2009; **73**: 205-11.

²²⁴ Omar MM. Spectral, thermal and biological activity studies on ruthenium(II) complexes with some pyridylamines. *J Therm Anal Calorimetry* 2009; **96**: 607-15.

²²⁵ Priya NP, Arunachalam SV, Sathya N *et al.* Catalytic and antimicrobial studies of binuclear ruthenium(III) complexes containing bis-β-diketones. *Transition Met Chem* 2009; **34**: 437-45.

²²⁶ Muthukumar M, Viswanathamurthi P. Ruthenium(II) chalconate complexes: Synthesis, characterization, catalytic, and biological studies. *Spectrochim Acta A* 2009; **74**: 454-62.

II. OBJETIVOS & JUSTIFICATIVAS

a. JUSTIFICATIVAS, RELEVÂNCIA E OBJETIVO GERAL

A necessidade da pesquisa e o desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos, no âmbito da saúde pública, são de extrema importância e urgência, frente ao grave problema advindo das doenças infecciosas emergentes (DIEs) e das infecções fúngicas invasivas (IFIs) – causadas pelo crescente número de pacientes com resistência a antibióticos e o aparecimento de bactérias e de fungos que são resistentes aos quimioterápicos usuais.

Uma vez que: a) complexos de rutênio são potencialmente estudados para desenvolvimento de novos fármacos (principalmente atitumorais), b) ditiocarbamatos e seus complexos metálicos já mostraram atividade antifúngica e c) a atividade antifúngica de complexos de rutênio com ditiocarbamatos não foi estudada; o estudo da atividade antifúngica de complexos de rutênio com ditiocarbamatos torna-se muito promissor. Este trabalho teve como objetivo geral a síntese de complexos de rutênio com potencial atividade antifúngica.

b. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Síntese de ligantes organossulfurados (**L1-L9**), bem como sua caracterização espectroscópica (IV e RMN de ^1H e ^{13}C);

- ✓ Síntese, isolamento e caracterização espectroscópica (IV e EPR) de novos agentes antimicrobianos potenciais: complexos de rutênio (**C1-C9**) com ligantes organossulfurados (**L1-L9**);

- ✓ Investigação experimental da formação de compostos dinucleares ou mononucleares de complexos de rutênio(III) por Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray (ESI-MS), Voltametria Cíclica e Condutividade.
- ✓ Estudo da atividade antimicrobiana *in vitro* (determinação de Concentração Inibitória Mínima – CIM) dos complexos sintetizados contra:
 - *Candida* spp. (*C. albicans* (ATCC e isolados clinicamente: 119CL e 01CL), *C. dubliniensis* (isolados clinicamente: CD22, CD23, CD25, CD27, CD28 e CD29) *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*);
 - *Aspergillus* spp. (*A. clavatus*, *A. fumigatus* (ATCC e isolado clinicamente: IC), *A. nomius*, *A. flavus*, *A. tamarii*, *A. terreus* e *A. niger*);
 - *Paracoccidioides brasiliensis* (isolados clinicamente: 608, B339, MG04, MG05, PB01, PB18, PB1017)
 - *Cryptococcus neoformans*;
 - *Sporothrix schenckii*;
- ✓ Estudo da atividade antimicrobiana *in vitro* (avaliação dos Testes de Adesão) dos derivados sintetizados contra *Candida albicans*;
- ✓ Estudo da citotoxicidade *in vitro* (determinação de Concentração Inibitória de 50% da população celular -IC₅₀) dos compostos sintetizados contra:
 - Melanoma de alto potencial metastático murino (B16F10);
 - Melanoma humano (Mewo);
 - Adenocarcinoma mamário estrógeno-dependente humano (MCF-7);
 - Adenocarcinoma mamário humano (MDA-MB-231);
 - Carcinoma de pulmão humano (A549)';
 - Epitélio de rim de hâmsster (BHK11);
 - Epitélio de ovário de hâmsster chinês (CHO).

III. PARTE EXPERIMENTAL

A. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

A.1| CONSIDERAÇÕES GERAIS E EQUIPAMENTOS

Os solventes utilizados foram purificados por métodos descritos na literatura.²²⁷⁻²³⁰ Todos os reagentes, com exceção dos que têm sua preparação descrita, eram produtos comerciais ou já disponíveis no laboratório e foram purificados quando necessário. Os principais reagentes comerciais utilizados, diretamente nas sínteses estão listados na **Tabela 10**.

Tabela 11| Relação dos principais reagentes comerciais utilizados diretamente nas sínteses

REAGENTES COMERCIAIS	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA MOLAR (g/mol)
Cloridrato de dimetilamina	C ₂ H ₈ NCl	81,55
Cloridrato de dietilamina	C ₄ H ₁₂ NCl	109,60
Cloridrato de <i>terc</i> -butilamina	C ₄ H ₁₂ NCl	109,60
Cloridrato de isopropilamina	C ₃ H ₁₀ NCl	95,57
Cloridrato de diisopropilamina	C ₅ H ₁₆ NCl	125,64
Pirrolidina	C ₄ H ₉ N	71,12
Piperidina	C ₅ H ₁₁ N	85,15
Morfolina	C ₄ H ₉ NO	87,12
Dibenzilamina	(C ₆ H ₅ CH ₂) ₂ NH	197,97
Hidróxido de sódio	NaOH	40,00
Dissulfeto de carbono	CS ₂	76,13
Tricloreto de rutênio	H ₆ O ₃ RuCl ₃	261,47

EQUIPAMENTOS: Os compostos preparados foram purificados e analisados pelas técnicas físico-químicas e espectrométricas usuais:

✓ **Ressonância Magnética Nuclear**

²²⁷ Riddick JAE, Bunger WB. *Organic Solvent: Physical Properties and Methods of Purification. Techniques of Chemistry 3rd ed.* New York: **1970**.

²²⁸ Assumpção RMVE, Morita T. *Manual de Soluções, Reagentes & Solventes.* São Paulo: **1968**.

²²⁹ Armarego WLF, Perrin DD. *Purification of laboratory chemicals.* Butterworth-Heinemann; Oxford: **1996**.

A obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono-13 (RMN de ^{13}C) foi efetuada pelos espectrômetros Bruker Avance DPX200 MHz e DRX400 MHz, ambos com tratamento de dados através de transformada de Fourier, do Departamento de Química da UFMG. Os deslocamentos químicos (δ) são relatados em partes por milhão em relação ao tetrametilsilano (TMS), usado como padrão interno. Os solventes utilizados foram: água deuterada (D_2O), clorofórmio deuterado (CDCl_3) e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO).

✓ **Infravermelho**

Os espectros na região do Infravermelho (IV) na faixa de 150 a 700 cm^{-1} foram obtidos através de pastilhas de polietileno ($\approx 0,025$ mm) que foram analisadas em um espectrofotômetro interferométrico Perkin Elmer 283B, do Departamento de Química da UFMG. Os espectros no infravermelho na faixa de 700 a 4000 cm^{-1} foram obtidos no espectrofotômetro interferométrico Thermo Scientific Nicolet 380 FT-IR, do grupo de pesquisa NIEAMBAV²³⁰ (Núcleo Interdisciplinar de Estudos Ambientais Avançados - NIEAMBAV) do Departamento de Química da UFMG.

✓ **Ponto de Fusão**

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Fisher-Johns e em aparelho Microquímica Equipamentos Ltda, ambos sem correção, pertencentes ao laboratório 252 (LASELORG-QUIM, Laboratório de Síntese e Eletrossíntese Orgânica e Química Medicinal) do Departamento de Química da UFMG.

✓ **Cromatografia**

Para a cromatografia em camada delgada utilizou-se sílica-gel 60 G MERCK em lâminas de vidro e/ou Cromatofolha-Alumínio CCF-C/25 TLC 20 x 20 cm Silicagel 60 F₂₅₄ Merck. Como revelador foi utilizado vapor de iodo e lâmpada UV.

✓ **Ultra-Som**

Aparelho marca THORNTON, tipo T7 e modelo C/T.

✓ **Voltametria Cíclica**

O perfil eletroquímico dos compostos foi obtido através do uso de um potenciostato / galvanostato model 283 EG&G Instrumentos, pertencente ao laboratório LAMPAC (Laboratório de Materiais e Pilhas a Combustível) do Departamento de Química da UFMG. Como solvente utilizou-se N,N-dimetilformamida (DMF) anidra previamente tratada.²³⁰ Perclorato de tetrabutyl

²³⁰ <http://nieambav.qui.ufmg.br>

amônio ($C_{16}H_{36}NClO_4$) (Fluka) $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foi empregado como eletrólito suporte. Neste estudo eletroquímico, utilizou-se uma célula eletrolítica com configuração convencional de três eletrodos (**Figura 13**):

- Eletrodo de trabalho, de carbono vítreo ($A \cong 0,28 \text{ cm}^2$);
- Eletrodo auxiliar, de platina;
- Eletrodo de referência, de prata/nitrato de prata $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (Ag/AgNO_3).

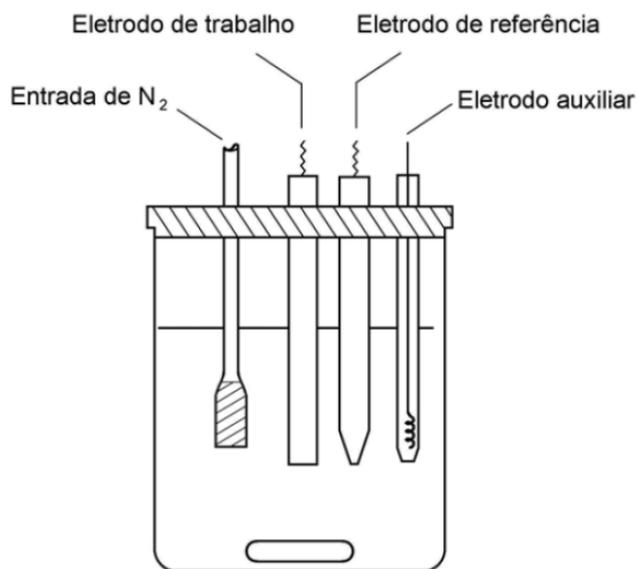


Figura 13 | Representação esquemática mostrando os eletrodos no recipiente voltamétrico.

✓ **Ressonância Paramagnética Eletrônica**

A determinação dos espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (*Electron Paramagnetic Resonance* – EPR) foi realizada pelo espectrômetro Bruker EMX, operando com *X-band* (9.35GHz), energia de 20 mW, frequência de modulação de 100 kHz e temperatura de 22 °C (t.a.) ou 77K do Departamento de Química da USP. Foram utilizados tubos de quartzo Wilmad (ou polietileno puro) para amostras sólidas e DPPH (α - α' -difeníl- β -picril-hidrazil) foi usado para calibração da frequência ($g = 2.0036$).

✓ **Condutimetria**

As medidas de condutimetria foram realizadas utilizando-se um aparelho condutímetro WTW-série inolab cond 730. Solvente: nitrometano (constante dielétrica: 35,9 (25°C) e viscosidade: 0,596 (25°C)).

✓ **Susceptibilidade Magnética**

As medidas de susceptibilidade magnética foram feitas em uma balança Johnson Matthey MSB/AUTO balança (pertencente ao Laboratório de Pesquisa em Química Inorgânica Medicinal do departamento de Química da UFMG).

✓ **Espectrometria de Massas**

Os espectros de massas dos compostos foram obtidos por meio do espectrômetro de massas com fonte de ionização *electrospray* (LC/ESI-MS) da Thermo Scientific LCQ Fleet do grupo de pesquisa NIEAMBAV do Departamento de Química da UFMG.²³¹

PROGRAMAS E SOFTWARES:

- ✓ IV: **EZOMNC32**. Versão: 7.4.0.127 English (United States). Companhia: Thermo Fisher Scientific Inc.
- ✓ Estrutura Química: **CHEMDRAW**. Versão: Ultra 7.0.1.898 English. Companhia: CambridgeSoft.Com.
- ✓ VC: **ORIGIN 7.0**. Versão: 7.220.0.220 English. Companhia: OriginLab Corporation.
- ✓ RMN: **MESTREC**. Versão: 4.7.0.0 English (United States). Companhia: MestRec Application.
- ✓ MS: **XCALIBUR**. Versão: Ver 2.0.7 English (Canada). Companhia: Thermo Fisher Scientific Inc.
- ✓ Outros: **WINDOWS^{XP} PROFESSIONAL**. Versão: 2004. **OFFICE 2007**. Versão: 12.0.4518.1014. Companhia: Microsoft Corporation.

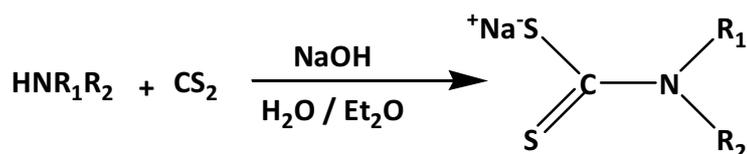
A.2| SÍNTESE DOS COMPOSTOS ESTUDADOS

A.2.1| PREPARAÇÃO DOS LIGANTES

Os ligantes organossulfurados foram preparados (**Equação 1, p. 48**) pelo método geral^{231,232} descrito a seguir e os dados complementares para a preparação são descritos na **Tabela 11 (p. 48)**.

²³¹ Lindmark AF, Fay RC. Kinetics of hindered rotation about carbon-nitrogen single bonds in some N,N-diisopropyldithiocarbamates. *Inorg Chem* 1983; **22**: 2000-6.

²³² Rezende CP. *Dissertação de Mestrado*. Departamento de Química da UFMG: **2005**.



L1: R₁ = R₂ = CH₃

L2: R₁ = R₂ = CH₂CH₃

L3: R₁ = C(CH₃)₃ R₂ = H

L4: R₁ = CH(CH₃)₂ R₂ = H

L5: R₁ = R₂ = CH(CH₃)₂

L6: R₁ e R₂ = -(CH₂)₄-

L7: R₁ e R₂ = -(CH₂)₅-

L8: R₁ e R₂ = -(CH₂)₂O(CH₂)₂-

L9: R₁ = R₂ = (CH₂-C₆H₅)₂

Equação 1 | Equação geral da reação química de obtenção e representação da estrutura química dos ligantes ditiocarbamatos.

Em um balão tribulado de fundo redondo de 125 mL foram adicionados 60 mmol do reagente amino derivado, sendo **L1-L5** na forma de cloridratos e **L6-L9** na forma neutra. O balão foi colocado e mantido, durante toda a adição dos reagentes, em banho de gelo à temperatura de ≈ 2 °C, com agitação magnética vigorosa. Preparou-se, em um béquer de 25 mL, uma solução básica com 2,40 g (60 mmol) de hidróxido de sódio e 2,4 mL de água deionizada. Adicionou-se a solução básica ao balão contendo o reagente amino. Por fim adicionaram-se lentamente 3,7 mL (60 mmol) de sulfeto de carbono à reação. A mistura foi mantida em agitação magnética a temperatura ambiente por 24h. Após o período da reação adicionaram-se 70 mL de éter dietílico, houve a formação de precipitado que foi filtrado em funil de Büchner sob pressão reduzida, lavado com éter dietílico e secado. Para reações com quantidades molares inferior, efetuou-se o mesmo procedimento com quantidades proporcionais dos demais reagentes.

Tabela 12 | Dados complementares na síntese dos ligantes ditiocarbamatos

REAGENTES		PRODUTOS (LIGANTES DITIOCARBAMATOS)
NOMES	MASSA (mmol)	CÓDIGO IDENTIFICADOR
Cloridrato de dimetilamina	4,9 g (60)	L1
Cloridrato de dietilamina	6,6 g (60)	L2
Cloridrato de <i>terc</i> -butilamina	6,6 g (60)	L3
Cloridrato de isopropilamina	1,4 g (15)	L4
Cloridrato de diisopropilamina	1,9 g (15)	L5
Pirrolidina	2,1 g (30)	L6
Piperidina	2,1 g (30)	L7
Morfolina	2,6 g (30)	L8
N,N-Dibenzilamina	6,0 g (30)	L9

Os ligantes ditiocarbamatos obtidos foram caracterizados e identificados, os dados complementares e de Ponto de Fusão são descritos na **Tabela 12**. Os dados da caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono-13 (RMN de ^{13}C) e Infravermelho são discutidos no próximo capítulo.

Tabela 13 | Dados de identificação dos ligantes ditiocarbamatos sintetizados

LIGANTE	NOME	ASPECTO FÍSICO: COR	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA MOLAR (g/mol)	MASSA OBTIDA (RENDIMENTO)	PONTO DE FUSÃO (°C)
L1	N,N-dimetil-ditiocarbamato de sódio	Amarelo	$\text{C}_3\text{H}_6\text{NS}_2\text{Na}$	143,21	6,9 g (80%)	112-115 ²³³
L2	N,N-dietil-ditiocarbamato de sódio	Branco	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na}$	171,26	6,5 g (63%)	83-85 ²³³
L3	N-terc-butil-ditiocarbamato de sódio	Verde claro	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na}$	171,26	9,5 g (93%)	173-176 ²³⁴
L4	N-isopropil-ditiocarbamato de sódio	Amarelo claro	$\text{C}_4\text{H}_7\text{NS}_2\text{Na}$	155,99	1,8 g (77%)	204-205 ²³³
L5	N,N-diisopropil-ditiocarbamato de sódio	Amarelo	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{NS}_2\text{Na}$	199,31	1,8 g (60%)	180-182 ²³⁴
L6	N-tetrametileno-ditiocarbamato de sódio	Branco	$\text{C}_5\text{H}_8\text{NS}_2\text{Na}$	169,24	4,7 g (92%)	156dec ²³⁵
L7	N-pentametileno-ditiocarbamato de sódio	Amarelo claro	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na}$	183,27	3,9 g (71%)	193dec ²³⁶
L8	N-oxidietileno-ditiocarbamato de sódio	Branco	$\text{C}_5\text{H}_8\text{ONS}_2\text{Na}$	185,24	4,7 g (84%)	253dec ²³⁷
L9	N,N-dibenzil-ditiocarbamato de sódio	Branco	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{NS}_2\text{Na}$	267,35	5,8 g (72%)	243-246 ²³⁸

dec: fusão com decomposição.

²³³ Teasdale JR, Taylorson RB. Weed seed response to methyl isothiocyanate and metham. *Weed Sci Soc Am* 1986; **34**: 520-4.

²³⁴ Klöpping HL, Van der Kerk GJM. Investigations on organic fungicides. *Rec Trav Chim Pays-Bas* 1951; **70**: 917-39.

²³⁵ Sherman MP, Aeberhard EE, Wong VZ *et al.* Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits induction of nitric oxide synthase activity in rat alveolar macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; **191**: 1301-8.

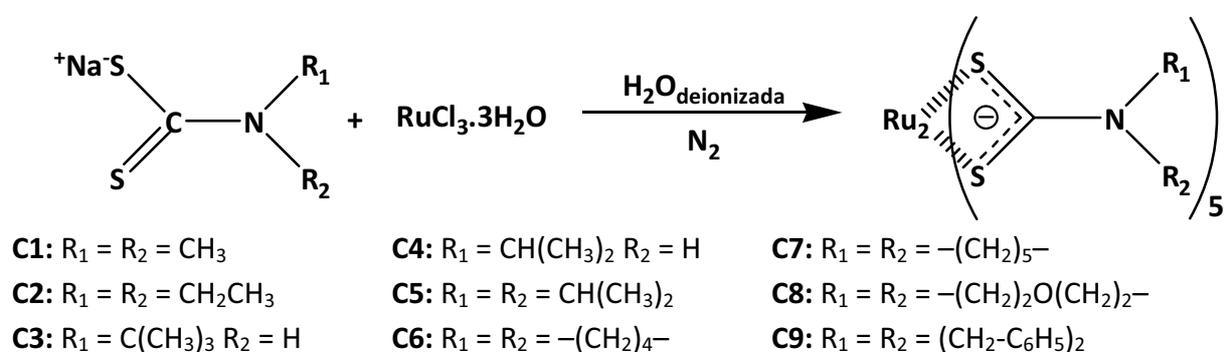
²³⁶ Shahzadi S, Ahmad SU, Ali S *et al.* Chloro-diorganotin(IV) complexes of piperydyl dithiocarbamate: Syntheses and determination of kinetic parameters, spectral characteristics and biocidal properties. *J Iran Chem Soc* 2006; **3**: 38-45.

²³⁷ Banco de dados (Sci Finder Scholar®): Advanced chemistry development (ACD/Labs) Software V8.14 for Solaris.

²³⁸ Moore RV. Dibenzylammonium and sodium dibenzylidithiocarbamates as precipitants for pre concentration of trace elements in water. *Anal Chem* 1982; **54**: 895-7.

A.2.2 | SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO

Os complexos de rutênio com ligantes organossulfurados foram preparados (**Equação 2**) pelo método geral^{160,239} descrito a seguir e os dados complementares para a preparação são descritos na **Tabela 13 (p. 51)**.



Equação 2 | Equação geral da reação química de obtenção e representação da estrutura química dos complexos de rutênio.

Em um balão tribulado de fundo redondo de 50 mL equipado com septo de borracha e sistema para utilização de atmosfera inerte com gás nitrogênio, adicionaram-se 300 mg (1,15 mmol) de tricloreto de rutênio. Então (utilizando-se uma seringa de vidro de 10 mL), adicionaram-se 2,0 mL de água deionizada, que foi previamente submetida ao ultra-som por 45 minutos e desaerada com nitrogênio. A solução mantida sob atmosfera inerte foi mantida em temperatura ambiente e sob agitação magnética.

Utilizando-se uma segunda montagem e procedimentos análogos aos descritos anteriormente dissolveu-se o ligante ditiocarmato de sódio (**L1-L9**) em 10 mL de água deionizada. Então, com auxílio de uma seringa, a solução aquosa do ligante ditiocarbamato foi adicionada, gota a gota, sobre a solução aquosa de rutênio. A solução foi mantida em atmosfera inerte (fluxo de nitrogênio até termino da adição do ligante) e em agitação magnética, à temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, o balão fechado foi mantido em repouso na geladeira, o precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner sob pressão reduzida, lavado com água deionizada e secado.²⁴⁰

²³⁹ Ngo SC, Banger KK, DelaRosa MJ *et al.* Thermal and structural characterization of a series of homoleptic Cu(II) dialkyldithiocarbamate complexes: Bigger is only marginally better for potential MOCVD performance. *Polyhedron* 2003; **22**: 1575-83.

²⁴⁰ Cotton FA, McClevertu JA. Dimethyl- and diethyldithiocarbamate complexes of some metal carbonyl compounds. *Inorg Chem* 1964; **3**: 1398-402.

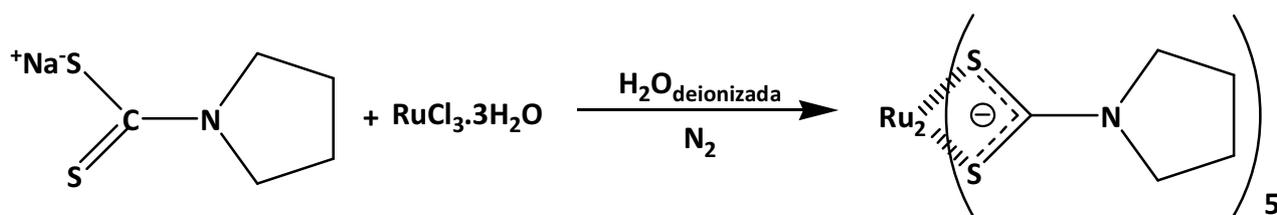
Foi realizado um segundo método de síntese para um dos complexos, seguindo dados da literatura,²⁴¹ essa nova síntese foi realizada para uma melhor identificação estrutural do complexo. Seguindo o mesmo processo anterior na preparação da solução aquosa (mesmo procedimento e montagem), com a solução contendo 200 mg de cloreto de rutênio (76 mmol) e 388 mg do ligante ditiocarbamato **L6** (2,3 mmol), foi realizada uma inversão na adição das soluções: com auxílio de uma seringa, a solução aquosa de rutênio foi adicionada, gota a gota, sobre a solução aquosa do ligante ditiocarbamato. A solução foi mantida em atmosfera inerte (fluxo até término da adição do complexo) e em agitação magnética, à temperatura ambiente por 24 horas. Após esse período, o balão fechado foi mantido em repouso na geladeira, o precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner sob pressão reduzida, lavado com água deionizada e secado.

Este novo procedimento foi realizado para a reação do ligante N-tetrametileno-ditiocarbamato de sódio com cloreto de rutênio (**Equação 3, p. 52**) e deste experimento isolou-se um produto denominado **C6B**. Todos os complexos sintetizados foram guardados em freezer.

Tabela 14 | Dados complementares ao procedimento geral na síntese dos complexos de rutênio sintetizados

REAGENTES		PRODUTOS (COMPLEXOS DE RUTÊNIO)
LIGANTES DITIOCARBAMATOS	MASSA (mmol)	CÓDIGO IDENTIFICADOR
L1	493 mg (3,4)	C1
L2	393 mg (2,3)	C2
L3	590 mg (3,4)	C3
L4	538 mg (3,4)	C4
L5	868 mg (3,4)	C5
L6	583 mg (3,4)	C6
L7	631 mg (3,4)	C7
L8	638 mg (3,4)	C8
L9	920 mg (3,4)	C9

²⁴¹ Giovagnini L, Mancinetti E, Ronconi L *et al.* Preliminary chemico-biological studies on Ru(III) compounds with S-methyl pyrrolidine/dimethyl dithiocarbamate. *J Inorg Biochem* 2009; **103**: 774-82.



Equação 3 | Equação da reação de obtenção do complexo de rutênio C6B.

Assim como descrito para os ligantes ditiocarbamatos, na **Tabela 14** estão descritos os dados complementares para as identificações dos complexos de rutênio sintetizados. No geral a determinação do ponto de fusão ocorre com decomposição do complexo, o que está de acordo com a literatura para complexos com um átomo de rutênio com ligantes semelhantes. Com relação ao aspecto físico de cor todos os complexos são escuros: marrom escuro. Os demais dados da caracterização físico-química e espectrométrica serão discutidos no próximo capítulo.

Tabela 15 | Dados de identificação dos complexos de rutênio sintetizados

COMPLEXO	NOME	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA MOLAR (g/mol)	MASSA OBTIDA (RENDIMENTO)	PONTO DE FUSÃO (°C)
C1	β -pentaquis(N,N-dimetil ditiocarbamato)dirutênio	C ₁₅ H ₃₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	803,78	663 mg (72%)	>300
C2	β -pentaquis(N,N-dietil ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₅ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	943,94	467 mg (65%)	>300
C3	β -pentaquis(N- <i>tert</i> -butil ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₅ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	943,94	765 mg (71%)	240dec
C4	β -pentaquis(N-isopropil ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₀ H ₄₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	873,86	726 mg (73%)	>300
C5	β -pentaquis(N,N-diisopropil ditiocarbamato)dirutênio	C ₃₅ H ₇₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	1083,75	767 mg (62%)	>300
C6	β -pentaquis(N-tetrametileno ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₅ H ₄₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	933,86	834 mg (78%)	214dec
C6B	α -pentaquis(N-tetrametileno ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₅ H ₄₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	933,86	606 mg (84%)	175-180dec
C7	β -pentaquis(N-pentametileno ditiocarbamato)dirutênio	C ₃₀ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	1003,94	591 mg (51%)	>300
C8	β -pentaquis(N-oxidietileno ditiocarbamato)dirutênio	C ₂₅ H ₄₀ N ₅ O ₅ Ru ₂ S ₁₀	1013,83	920 mg (79%)	210dec
C9	β -pentaquis(N,N-dibenzi ditiocarbamato)dirutênio	C ₇₅ H ₇₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀	1564,09	1099 mg (61%)	275dec

dec: fusão com decomposição.

B. ATIVIDADE BIOLÓGICA

B.1| ATIVIDADE ANTIFÚNGICA – DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)^{242,243}

B.1.1| PROCEDIMENTO GERAL PARA O ENSAIO DE SUSCEPTIBILIDADE

Na determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram utilizadas placas plásticas estéreis de 96 orifícios (**Figura 14**), onde foram adicionados 200 µL de RPMI 1640 em cada orifício da primeira coluna (A), para o controle negativo de crescimento da levedura. Na décima segunda coluna (B) adicionaram-se 100 µL de RPMI 1640 e 100 µL de inóculo da levedura correspondente ao ensaio, para o controle positivo de crescimento do fungo testado. No momento da leitura, o crescimento de microorganismos no controle positivo (coluna B), mostra a viabilidade da cultura usada e seu crescimento é comparado visualmente, ao crescimento verificado nos poços referentes às diferentes concentrações testadas (poço número **C1** até **C10**). No controle negativo (coluna A), pela ausência de inóculo não pode haver crescimento de microorganismos. Esse controle é muito importante, pois ele indica se o meio de cultura está isento de microorganismos (fungos, bactérias, etc.).

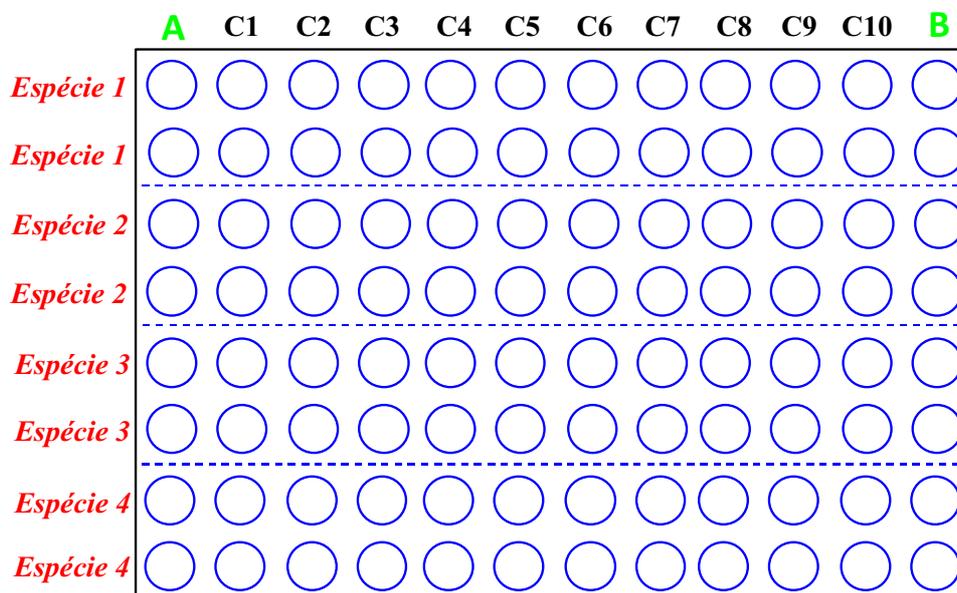


Figura 14| Modelo ilustrativo de uma placa Elisa, sendo a fileira A o controle negativo, as fileiras C1 a C10 as concentrações testadas e a fileira B o controle positivo.

²⁴² Giannini FA, Aimar ML, Sortino M *et al.* *In vitro* antifungal evaluation and structure-activity relationship of 3-H-1,2-dithiole-3-thione derivatives. *Il Farmaco* 2004; **59**: 245-54.

²⁴³ National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi: Approved Standard M38-A*. NCCLS, Wayne, PA, USA, **2002**.

Foram feitas duplicatas das concentrações para os compostos sintetizados e os antifúngicos utilizados como controle foram Anfotericina B (AMB) e Fluconazol (FLC). Nas colunas correspondentes às dez concentrações testadas de composto, com uma pipeta de microdiluição de 12 canais, foram distribuídos em cada orifício 100 μL do inóculo correspondente. Na preparação de cada microorganismo, utilizou-se, inicialmente, uma diluição em solução salina esterilizada, e depois diluição em RPMI-1640. Esta preparação da solução de inóculo é realizada para se obter o dobro da concentração final desejada, visto que esta será posteriormente adicionada à igual volume da solução contendo a droga antifúngica a ser examinada.

Em seguida, foram adicionados, em cada orifício, 100 μL do composto na coluna correspondente a sua concentração, resultando, com diluição da droga num total de 200 μL , em uma concentração final que varia de 512 a 1,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A placa foi selada com um papel laminado, incubada a 35 °C pelo tempo estabelecido para cada espécie e a leitura feita visualmente. As CIMs foram consideradas como a menor concentração do composto testado ou antifúngico que inibiu totalmente o crescimento do microorganismo, em relação ao controle de crescimento após a incubação e foram expressas em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Os compostos sintetizados **L1-L9**, **C1-C9** e o cloreto de rutênio foram testados, os compostos foram dissolvidos em água destilada estéril ou dimetilsulfóxido (DMSO) obtendo soluções estoque. Foram utilizados esses solventes, testados previamente sendo menos tóxico, fator este muito importante no teste de microdiluição, pois o solvente mantém contato com o microorganismo. Com o uso de dez tubos falcons estéreis com tampa, transferiu usando um pipetador de 1000 μL , o RPMI 1640 para os falcons. Fez-se uma diluição seriada de todos os compostos testados, transferindo-se o volume calculado previamente da solução estoque do composto correspondente para o primeiro falcon, resultando na primeira diluição. Desta primeira diluição, foi transferido o mesmo volume para o segundo falcon, resultando a segunda diluição e, assim, sucessivamente, até a décima diluição (**Figura 15, p. 55**). Assim, os compostos foram testados em dez concentrações que variaram de 512 a 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, em alguns ensaios e em outros nas concentrações que variam de 250 a 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Observações:

- ✓ O meio RPMI 1640 (Sigma) para *Sporothrix schenckii* foi suplementado com 5 % de dextrose;
- ✓ As amostras de *Paracoccidioides brasiliensis* foram mantidas em meio sólido Fava-Netto e incubadas a 37 °C para se obter a fase de levedura. Foram realizados repiques semanais com o objetivo de manter as amostras viáveis.

B.1.3| ORIGENS DOS MICROORGANISMOS

Origens dos microorganismos utilizados nos ensaios para determinação das CIMs:

- ✓ Microorganismos ATCC (as espécies usadas para os testes antifúngicos são da *American Type Culture Collection* (ATCC)):

- *Candida albicans* – ATCC 18804;
- *Candida glabrata* – ATCC 2001;
- *Candida krusei* – ATCC 200298;
- *Candida parapsilosis* – ATCC 20019;
- *Candida tropicalis* – ATCC 750;
- *Aspergillus fumigatus* – ATCC 16913;
- *Aspergillus nomius* – ATCC 15546;
- *Aspergillus flavus* – ATCC 36612;
- *Cryptococcus neoformans* – ATCC 32608;
- *Sporothrix schenckii* – ATCC 10212.

- ✓ Microorganismos Isolados Clinicamente (IC):

- *Candida dubliniensis* (CD22, CD23, CD25, CD27, CD28 e CD29);
- *Candida albicans* (01CL e 119CL);
- *Aspergillus clavatus*;
- *Aspergillus fumigatus*;
- *Aspergillus tamarii*;
- *Aspergillus niger*;
- *Aspergillus terreus*;
- *Paracoccidioides brasiliensis* (MG05, PB01, PB18, B339, 608, PB1017, MG04).

Todos os microorganismos são pertencentes à Coleção de Microorganismos do Laboratório de Micologia/Departamento de Microbiologia da UFMG.

B.1.4| PREPARAÇÃO DO INÓCULO

As preparações dos inóculos e também condições da determinação da CIM foram realizadas seguindo documento M27 para fungos leveduriformes e M38 para fungos filamentosos todos de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).^{243,244}

As espécies foram subcultivadas em meio específico ASD/BDA, sendo mantidas em tempos específicos e temperaturas específicas (NCCLS – *National Committee for Clinical Laboratory Standards*). Preparou-se uma suspensão, usando-se um tubo falcon grande estéril, contendo 5 mL de solução salina estéril 0,85%, e transferiu-se para esse falcon a cultura, com auxílio de uma alça de platina. Ajustou-se a concentração desta suspensão salina com o espectrofotômetro (modelo Micronal B542) a 520 nm, até obter transmitância específica. O inóculo de cada levedura foi preparado transferindo-se 300 µL da suspensão salina da levedura correspondente, para um falcon estéril grande com 14,7 mL de RPMI 1640, obtendo-se uma suspensão de 1×10^3 a 1×10^4 ufc.mL⁻¹.²⁴⁴ Para diferentes volumes finais de suspensão, dependendo das espécies de cada ensaio e da quantidade de compostos testados, efetuou-se procedimento similar sendo calculados os volumes proporcionais ao descrito acima.

B.2| ATIVIDADE ANTIFÚNGICA - TESTE DE INIBIÇÃO DA CAPACIDADE DE ADESÃO

B.2.1| PROCEDIMENTO GERAL²⁴⁵

Para a prévia exposição aos compostos sintetizados testados, estes foram dissolvidos em DMSO ou água estéril e caldo Sabouraud em quantidade suficiente para se obter uma solução final correspondente a CIM de todos os compostos contra o fungo testado (*Candida albicans*). De acordo com a literatura²⁴⁶ utilizou-se como controle positivo o Fluconazol, que foi dissolvido em água e diluído em caldo Sabouraud dextrose em quantidade suficiente para obter uma solução final de 4,0 µg.mL⁻¹. Esta concentração foi escolhida por ter sido capaz de inibir o crescimento do isolado a ser testado. As leveduras foram repicadas em ágar Sabouraud dextrose e incubadas a 37 °C por 24h. Preparou-se então uma suspensão de células em tampão fosfato a uma densidade óptica de 1,5 à 520 nm. Dessa suspensão de células, 1 mL foi adicionada a tubos falcons contendo 4 mL de caldo Sabouraud dextrose (controle) e 4 mL da solução de FLC ou composto sintetizado, o que proporcionou uma suspensão final de 10^6 a 10^7 células.mL⁻¹. Os tubos foram incubados sob agitação a 37 °C por

²⁴⁴ Chan MMY. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochem Pharmacol* 2002; 63: 99-104.

²⁴⁵ Ellepola ANB, Panagoda GJ, Samaranayake LP. The adhesion of oral *Candida* species to human buccal epithelial cells following brief exposure to nystatin. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 358-68.

²⁴⁶ Johann S, Soldi C, Lyon JP *et al.* Antifungal activity of the amyirin derivatives and *in vitro* inhibition of *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45: 148-53.

uma hora. Após essa breve exposição, os compostos testados foram removidos por dois ciclos de diluição, com tampão fosfato esterilizado. A suspensão foi centrifugada por 10 minutos a 3000 xg e o *pelet* suspenso em 3 mL de tampão fosfato esterilizado. Esse procedimento reduz em 10000 vezes a concentração da droga, minimizando, assim, qualquer efeito residual. Antes do teste de adesão, o número de células controle foi reconstituído conforme a necessidade para que se obtivesse uma concentração comparável àquela da suspensão de células expostas ao FLC e aos compostos sintetizados.

Para a preparação das células epiteliais bucais (CEB) para o teste de adesão, células bucais humanas de adultos jovens saudáveis, não portadores de leveduras do gênero *Candida* na cavidade oral, foram coletadas pela manhã, no mesmo horário do dia, com o auxílio de dois *swabs* esterilizados e depositados em 10 mL de tampão fosfato. A suspensão de CEB foi lavada quatro vezes, em tampão fosfato esterilizado (3000 xg por 10 minutos), para a remoção de microrganismos aderidos. As CEB foram então suspensas a uma concentração de 10^5 células.mL⁻¹, contadas com o auxílio de uma câmara de Neubauer, e foram utilizadas imediatamente para o teste de adesão.

No ensaio 0,5 mL da suspensão de CEB e 0,5 mL da suspensão de leveduras foram misturadas delicadamente as soluções contendo os compostos testados e incubados sob agitação a 37 °C por uma hora. A mistura foi então filtrada em um filtro de policarbonato de poros de 12 µ adicionando-se ainda 100 mL de tampão fosfato para remoção de leveduras não aderidas. O filtro foi retirado com o auxílio de uma pinça e pressionado contra uma lâmina de vidro. Após 10 segundos, o filtro foi removido delicadamente, deixando as CEB aderidas à lâmina de vidro. A preparação foi seca, fixada pelo calor e corada com cristal violeta. O número de leveduras aderidas a 50 CEB foi quantificado por microscopia óptica. Células dobradas ou sobrepostas foram excluídas.

B.3 | ATIVIDADE CITOTÓXICA – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DE 50% DA POPULAÇÃO CELULAR (IC₅₀)

B.3.1 | CONSIDERAÇÕES

Para a medida do crescimento e da viabilidade celular, há três alternativas de ensaios *in vitro*, consideradas pelo NCI (*National Câncer Institute*),²⁴⁷ duas consistem em ensaios de metabolismo celular, onde sais de tetrazólio (MTT e XTT) são reduzidos a produtos coloridos. Nos ensaios colorimétricos do MTT e XTT, a viabilidade celular é avaliada por meio de uma reação biológica catalisada por desidrogenases. Em células viáveis, essas enzimas estão ativas e elas são capazes de reduzir o sal de tetrazólio à formazana (**Figura 16**), um produto colorido. Os cristais de formazana, de cor roxa, que se formam com a metabolização do MTT são insolúveis em meio aquoso, e devem ser solubilizados em (DMSO), antes da leitura.²⁴⁸ No entanto a metabolização do XTT produz cristais de formazana de cor laranja. Estes cristais solúveis em água dispensam a etapa de solubilização e torna o ensaio mais simples e rápido. Por outro lado, há relatos que várias linhagens celulares tumorais metabolizam o XTT de forma menos eficiente que o MTT e, por isso, esse último ainda é preferido.²⁴⁹

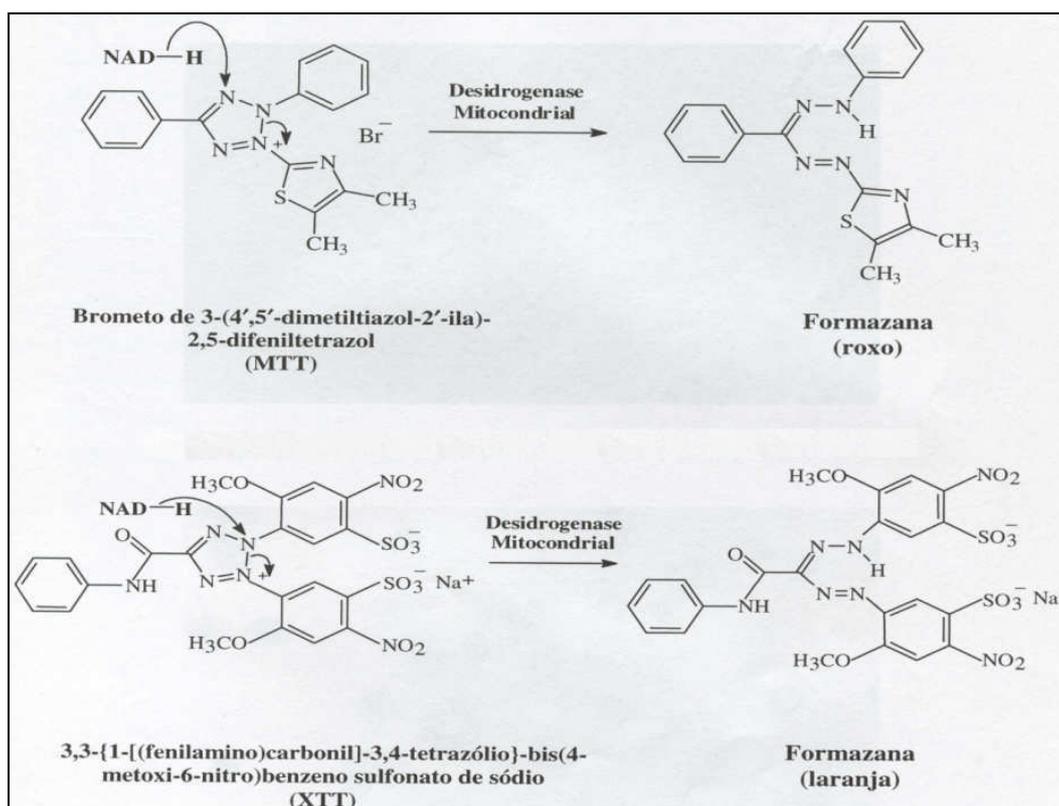


Figura 16 | Redução do MTT e do XTT a formazana.

²⁴⁷ Boyd MR. Status of the NCI preclinical antitumor drug discovery screen. *Princ Pract Oncol Updat* 1989; **3**: 1-12.

²⁴⁸ Bellamy WT. Prediction of response to drug therapy of cancer. A review of *in vitro* assays. *Drugs* 1992; **44**: 690-798.

²⁴⁹ Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD *et al.* Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 1988; **48**: 4827-33.

A absorbância dos produtos formazanas, medida espectrofotometricamente, é diretamente correlacionada com o número de células ativas metabolicamente. Sendo assim, valores de absorbância altos indicam uma elevada produção de formazana (roxo ou laranja), o que significa, em outras palavras, uma alta atividade enzimática e, portanto, presença de um grande número de células viáveis.

B.3.2| ORIGEM DAS LINHAGENS E MEIO DE CULTURA

As linhagens celulares derivadas de melanoma humano (MeWo) e adenocarcinoma de mama humano (MDA-MB 231) foram cedidas pelo Dr. Ricardo R. Bretani do Instituto Ludwig de pesquisa sobre o câncer, de São Paulo. A linhagem celular CHO (epitélio de ovário de hamster chinês) foi cedida pelo Dr. Hugo Armelin, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. As demais linhagens: melanoma de alto potencial metastático murino (B₁₆F₁₀), adenocarcinoma mamário estrógeno-dependente humano (MCF-7), carcinoma de pulmão humano (A549) e epitélio de rim de hamster (BHK11) são pertencentes à Coleção do Laboratório de Substâncias Antitumorais do Departamento de Bioquímica da UFMG.

Para o meio de cultura, tem-se em cada 1,0 L de meio: 10,4 g de RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) em água deionizada; 1,2 g de bicarbonato de sódio (Grupo Química Indústria Ltda.); 10 µmol.L⁻¹ de HEPES pH 7,4 (INLAB); 0,1 g de Ampicilina (Wyeth); 0,1 g de Estreptomicina (Sigma-Aldrich); 0,05 g de Gentamicina (Farmácia HC – FMUSP); 0,0025 g de Anfotericina B (Bristol – Myers Squibb). O meio foi filtrado através de membranas de 0,2 µ de porosidade (*Micro Filtration Systems*) garantindo sua esterilização. O Soro Fetal Bovino (SFB) (Cultilab) foi inativado a 56 °C por 30 minutos e esterilizado por filtração através de membranas de 0,2 µ de porosidade (*Micro Filtration Systems*).

B.3.2| CULTURA DAS CÉLULAS

As células foram cultivadas, rotineiramente, em meio RPMI 1640 a 5% v/v de Soro Fetal Bovino (SFB) e incubadas em atmosfera úmida com 5% de CO₂, à 37 °C, no escuro. Antes de atingirem confluência as células foram subcultivadas da seguinte forma: a) Lavaram-se as células com PBS-EDTA (solução salina tamponada com EDTA), utilizando uma

bomba de vácuo para a sucção. b) Adicionou-se uma solução de tripsina 0,2%. c) Após o descolamento das células da superfície da garrafa, foi feita a inativação da tripsina pela adição de meio RPMI 1640 a 5% v/v de SFB. As células em suspensão foram distribuídas para novas garrafas ou placas nas densidades desejadas ou ainda estocadas em nitrogênio líquido (na presença de 10% de DMSO e 30% de SFB).

B.3.2 | PROCEDIMENTO GERAL^{250-252,251}

As suspensões celulares foram distribuídas em micro placas de 96 cavidades contendo $1,0 \times 10^3$ células/cavidade. As culturas foram incubadas em atmosfera úmida a 5% de CO₂, a 37 °C. Após 48 h, foram adicionados os compostos, dissolvidos em DMSO e meio de cultura celular, nas concentrações de 10^{-7} à 10^{-4} mol.mL⁻¹. O DMSO utilizado foi 1% e este não afetou a metabolização celular na concentração utilizada. O MTT (Brometo de 3-(4', 5'-dimetiltiazol-2'-ila)-2,5-difeniltetrazol) (Sigma-Aldrich) foi adicionado 4 horas antes das leituras (0,05 mg.cavidade⁻¹), sendo esse realizado 5 dias após a adição dos compostos, em espectrofotômetro (Leitor de Elisa), a 600 nm. Antes da adição do MTT, o meio RPMI 1640 a 5% de v/v de SFB foi trocado para se evitar qualquer interação entre os compostos analisados e o MTT. Os cristais de formazana formados, devido à metabolização do MTT, são insolúveis em meio aquoso, e por isso foram solubilizados em 150 µL de DMSO, antes das leituras.

Para controle positivo dos ensaios, não se utilizou nenhum antineoplásico. Em cada micro placa de 96 cavidades, o branco, utilizado para zerar o espectrofotômetro foi apenas com meio RPMI 1640 a 5% v/v de SFB e MTT. O crescimento celular foi acompanhado pelo controle negativo, composto apenas de células em meio RPMI 1640 a 5% v/v de SFB. As médias aritméticas das densidades ópticas (absorbância) obtidas para os controles foram consideradas como 100% de viabilidade celular, sendo assim, as porcentagens de células viáveis foram calculadas pela fórmula: $B/A \times 100$, onde A = média aritmética da densidade óptica do controle e B = densidade óptica na presença de amostra. A porcentagem de inibição da viabilidade celular foi determinada subtraindo-se de 100% o valor da porcentagem de viabilidade celular observada.

²⁵⁰ Garcia EF, Lopez MTP. *Dissertação de Mestrado*, Faculdade de Farmácia da UFMG, 2000.

²⁵¹ Price P, McMillan TJ. Use of the tetrazolium assay in measuring the response of human tumor cells to ionizing radiation. *Cancer Res* 1990; **50**: 1392-6.

IV. RESULTADOS & DISCUSSÃO

A. RESULTADOS E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

A.1 | CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES DITIOCARBAMATOS (L1-L9)

Os ditiocarbamatos são produtos da reação entre uma amina primária ou secundária com o dissulfeto de carbono, em geral na presença de uma base, têm sido estudados desde 1850, quando a primeira síntese foi registrada. Dependendo do tipo de amina usada na síntese pode ser obtido um mono ou um dialquilditiocarbamato ou um derivado cíclico. Os ditiocarbamatos têm sido estudados extensivamente nas últimas décadas, devido à vasta gama de aplicação em diferentes áreas, como na química industrial e medicinal.²⁵²

Os diferentes modos de coordenação dos ligantes ditiocarbamatos estão representados na **Figura 17**, o modo mais comum é o bidentado simétrico (**A**). Complexos com ditiocarbamatos monodentados (**C**) são geralmente observados quando os ligantes do metal são muito volumosos.^{242,253}

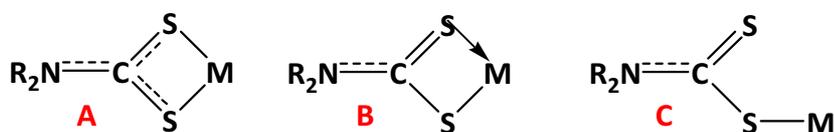
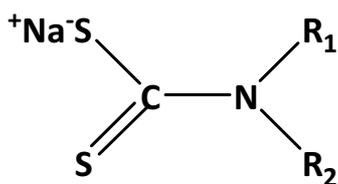


Figura 17 | Modelos de coordenação mais comum dos ligantes ditiocarbamatos: (A) bidentado simétrico, (B) bidentado assimétrico e (C) monodentado.

Neste trabalho foram sintetizados os ligantes ditiocarbamatos (**L1-L9**) (**Figura 18, p. 63**). No geral, os ligantes ditiocarbamatos foram obtidos em bons rendimentos (variando de 60 a 93%) e os dados espectrais são equivalentes aos descritos na literatura (referências apresentadas na **Tabela 12 (p. 49)**). Os ligantes foram caracterizados por espectrometria na região do Infravermelho (**Tabela 18, p. 74**) e por RMN de ^1H e ^{13}C em D_2O a 25°C (δ em ppm) (**Tabelas 15, p. 63 e Tabela 16, p. 66**).

²⁵² Ramos LA, Cavalheiro ETG, Chierice GO. Estudos termoanalíticos de sais de sódio e potássio de ditiocarbamatos em atmosfera oxidante. *Quim Nova* 2008; **31**: 1714-8.

²⁵³ Dantas AF. *Avaliação da '2,2'-biquinolina na separação, pré-concentração e determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular em solução em fase sólida*. Tese: Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia; **2004**.



- L1:** $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$
L2: $R_1 = R_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
L3: $R_1 = \text{C}(\text{CH}_3)_3$ $R_2 = \text{H}$
L4: $R_1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{H}$
L5: $R_1 = R_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$
L6: R_1 e $R_2 = -(\text{CH}_2)_4-$
L7: R_1 e $R_2 = -(\text{CH}_2)_5-$
L8: R_1 e $R_2 = -(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$
L9: $R_1 = R_2 = (\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5)_2$

Figura 18 | Estrutura química dos ligantes ditiocarbamatos.

Tabela 16 | Deslocamentos químicos da série de ligantes ditiocarbamatos alifáticos obtidos por espectrometria de RMN

LIGANTES	^{13}C			^1H	
	δ_1	δ_2	δ_3	δ_2	δ_3
L1	207,40	44,95 e 34,59	-	3,56 e 2,79	-
L2	205,55	48,71	11,29	4,03	1,23
L3	209,99	56,14	27,42	-	1,51
L4	208,76	71,14	21,53	4,47	1,40
L5	205,95	70,40	20,13	4,42	1,39

Os espectros de RMN de ^1H dos ligantes (**L1-L5**) apresentou os sinais de hidrogênios atribuídos na **Tabela 15**, característicos dos compostos obtidos:

L1: O espectro contém dois simpletos em δ 2,79 e 3,56 relativos aos grupos metilas ligado ao átomo de nitrogênio. A diferença de deslocamento químico ocorre devido ao efeito iônico de um dos átomos de enxofre sobre um grupo metila.

L2: Tem-se um tripleto em δ 1,23 ($J = 7,11$ Hz) coerente aos seis hidrogênios ligados aos grupos metilas e um quarteto em δ 4,03 ($J = 7,14$ Hz) referente aos quatro hidrogênios ligados aos carbonos metilênicos, e este, ao átomo de nitrogênio.

L3: Observa-se um simpleto em δ 1,51 relativo aos nove hidrogênios equivalentes ligados aos grupos metilas do grupo *terc*-butila. Cabe ressaltar, que os espectros foram obtidos em D_2O , portanto não se obteve o sinal característico do hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio.

L4: Assim como para **L3**, não se observou o sinal do hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio. O espectro mostra um duplete em δ 1,40 ($J = 7,10$ Hz) coerente com os seis hidrogênios das metilas do grupo *iso*-propila e um quarteto em δ 4,47 ($J = 7,27$ Hz) referente aos hidrogênios do carbono ligado ao átomo de nitrogênio.

L5: Sinais semelhantes ao ligante **L4**, o espectro apresenta um triplete em δ 1,39 ($J = 7,10$ Hz) referente aos 12 hidrogênios dos grupos metilas pertencente aos grupos *iso*-propilas e um quarteto em δ 4,42 ($J = 7,14$ Hz) referente aos dois hidrogênios dos carbonos metilênicos ligados ao átomo de nitrogênio.

A obtenção dos ligantes também foi confirmada pelos espectros de RMN de ^{13}C , pois, obteve-se o número de sinais de carbonos não-magneticamente equivalentes e com valores de deslocamento químico correspondente ao esperado. As atribuições para cada deslocamento químico encontram-se na **Tabela 15 (p. 63)**, podem-se relatar sucintamente, após uma avaliação geral, que os sinais de deslocamentos químicos menores (δ_3) referem-se aos grupos metilas, os valores intermediários (δ_2) para os carbonos sp^3 ligados ao átomo de nitrogênio e por fim na região média de 205 a 210 ppm as atribuições dos carbonos sp^2 ligados a dois átomos de enxofre e um de nitrogênio. Para todos os ligantes obtiveram-se os subespectros de DEPT, que confirmam as atribuições estabelecidas. Nas **Figuras 19 a 22 (p. 65 e 66)**, são destacados alguns espectros obtidos.

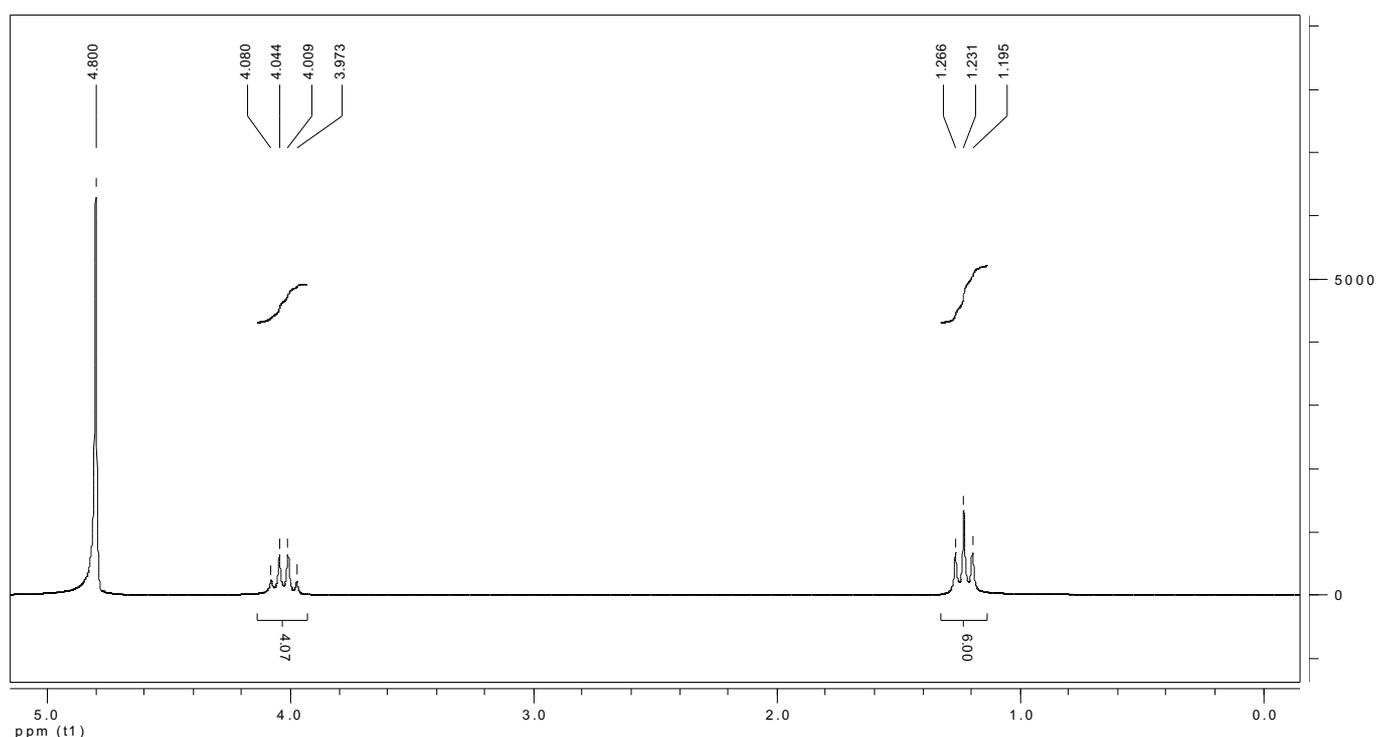


Figura 19| Espectro de RMN de ^1H de **L2** (δ , 200 MHz, D_2O).

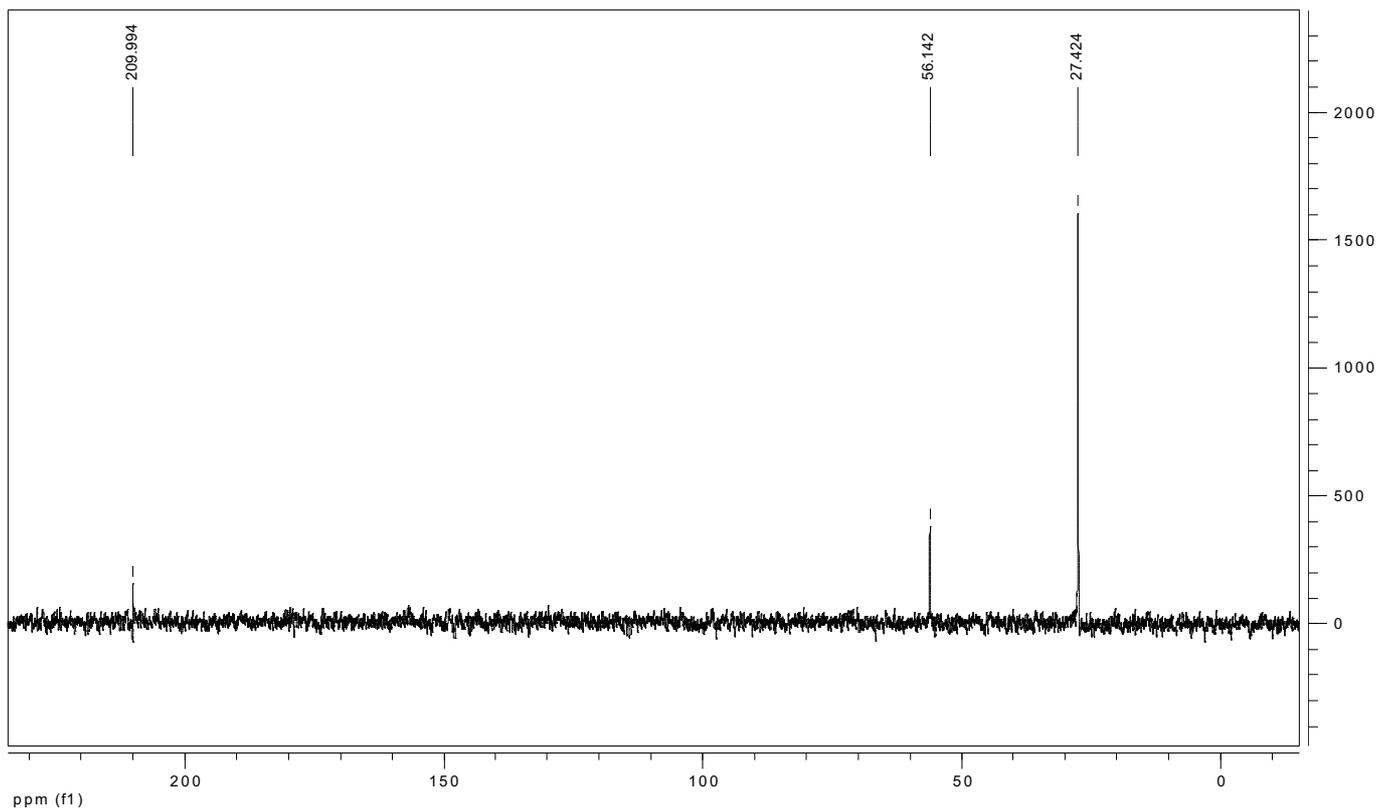


Figura 20 | Espectro de RMN de ^{13}C de L3 (δ , 50 MHz, D_2O).

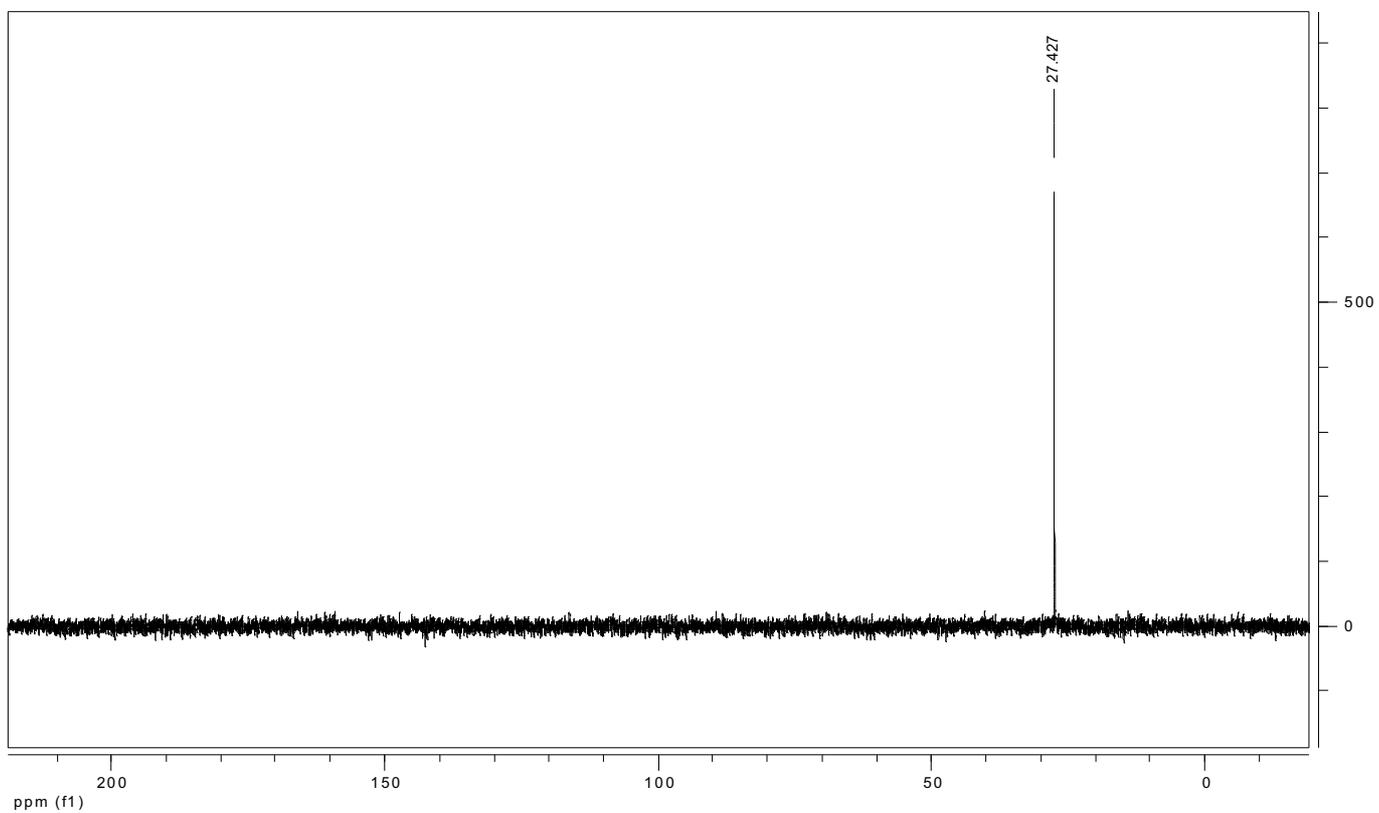


Figura 21 | Subespectro de DEPT 135 de L3 (δ , 50 MHz, D_2O).

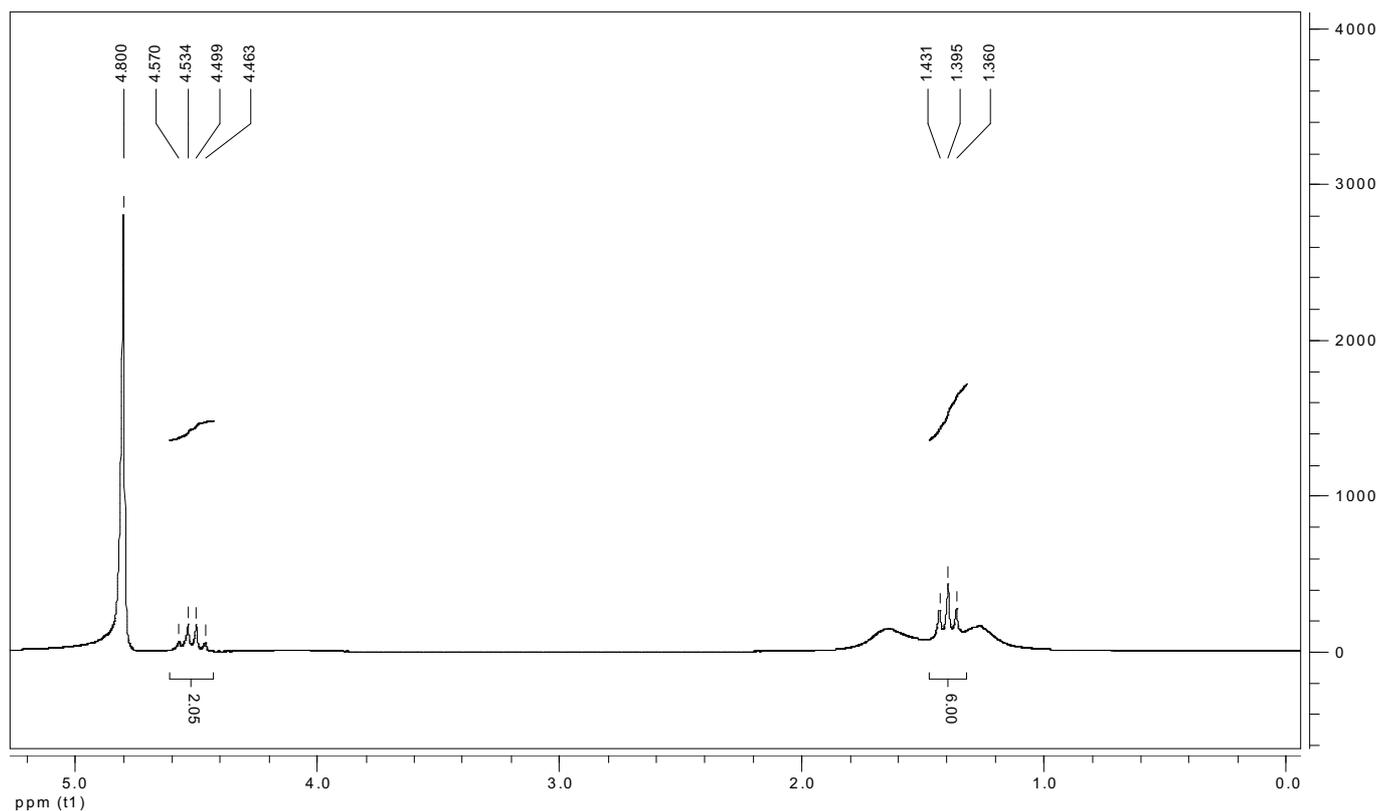


Figura 22 | Espectro de RMN de ^1H de L5 (δ , 200 MHz, D_2O).

Tabela 17 | Deslocamentos químicos da série de ligantes ditiocarbamatos cíclicos obtidos por espectrometria de RMN

LIGANTES	^{13}C						^1H				
	δ_1	δ_2	δ_3	δ_4	δ_5	δ_6	δ_2	δ_3	δ_4	δ_5	δ_6
L6	202,38	54,89	25,55	-	-	-	3,81	2,04	-	-	-
L7	204,84	52,94	25,54	23,67	-	-	4,29	1,66	1,62	-	-
L8	209,16	51,30	66,04	-	-	-	3,81	4,43	-	-	-
L9	212,48	55,99	136,34	128,63	126,74	127,16	5,18	-	7,04 - 7,23		

Os espectros de RMN de ^1H dos ligantes (**L6-L9**) apresentou os sinais de hidrogênios atribuídos na **Tabela 16**, característicos dos compostos obtidos:

L6: O espectro contém dois tripletos, um em δ 2,04 ($J = 6,90$ Hz), referente aos quatro hidrogênios ligados aos carbonos metilênicos mais afastados do átomo de nitrogênio e o outro em δ 3,81 ($J = 6,90$ Hz), relativo aos quatro hidrogênios ligados aos carbonos que estão ligados ao átomo de nitrogênio.

L7: Observa-se um multipletto referente aos deslocamentos químicos dos seis hidrogênios dos carbonos 2, 3 e 4 (**Tabela 16, p. 66**), como sendo a mesma região, observando-se em δ 1,62 e 1,66 ($J = 7,60$ Hz) as atribuições foram feitas baseando-se na integração dos sinais e de acordo com o artigo de Ramos e colaboradores.²⁵³ Para os quatro hidrogênios dos carbonos metilênicos ligados ao átomo de nitrogênio, atribui-se os sinais em δ 4,29 ($J = 7,20$ Hz), também de acordo com a literatura.

L8: Observa-se um tripleto em δ 3,81 ($J = 4,90$ Hz), menos blindado, indicativo dos quatro hidrogênios ligados aos carbonos ligados ao átomo de nitrogênio (constante de eletronegatividade de Pauling = 3,0) e para o tripleto em δ 4,43 ($J = 4,90$ Hz), mais blindado, pertencente aos quatro hidrogênios ligados aos carbonos acoplados ao átomo de oxigênio (constante de eletronegatividade de Pauling = 3,5).

L9: Espectro característico de composto aromático, este espectro mostra um simpleto em δ 5,18; atribuído aos quatro hidrogênios benzílicos ligado ao átomo de nitrogênio, atribui-se um multipletto na região em δ 7,06-7,23 para os 10 hidrogênios (em acordo com a integração dos sinais) ligados aos carbonos aromáticos. Os valores obtidos estão de acordo com a literatura.^{254,255}

Como ocorrido com os ligantes **L1-L5**, a obtenção dos ligantes **L6-L9** também foi confirmada pelos espectros de RMN de ^{13}C , pois, obteve-se o número de sinais de carbonos não-magneticamente equivalentes e com valores de deslocamento químico correspondente ao esperado. As atribuições para cada deslocamento químico encontram-se na **Tabela 16 (p. 66)**, podem-se relatar sucintamente, que os sinais de deslocamentos químicos para os ligantes cíclicos **L6** e **L7** são semelhantes; as atribuições para os carbonos 2 e 3 (**Tabela 16, p.**

²⁵⁴ Marimuthu G, Ramalingam K, Rizzoli C. Synthesis, spectral, thermal and BVS investigations on $\text{ZnS}_4\text{N}^{\wedge}\text{N}/\text{N}$ coordination environment: Single crystal X-ray structures of bis(dibenzylidithiocarbamate)($\text{N}^{\wedge}\text{N}$)Zinc(II) complexes ($\text{N}^{\wedge}\text{N} = 1,10$ -phenanthroline, tetramethylethylenediamine and 4,40-bipyridine). *Polyhedron* 2010; **29**: 1555-60.

²⁵⁵ Wenclawiak BW, Uttich S, Deiseroth HJ *et al.* Studies on bulky residual group substituted arsenic(III) dithiocarbamate structures. *Inorg Chim Acta* 2003; **348**: 1-7.

66) foram realizadas de acordo com o deslocamento químico característico para os carbonos ligados aos átomos de nitrogênio. No caso de **L7** a intensidade do sinal atribuído ao carbono 4 (**Tabela 16, p. 66**) é a metade do sinal correspondente ao carbono 3. Para o ligante de cadeia alicíclica com heteroátomo oxigênio **L8**, as atribuições foram realizadas com base na diferença de densidade eletrônica relativa ao redor dos átomos de nitrogênio e oxigênio, cabe lembrar que a diminuição da densidade eletrônica ao redor de um átomo, desblinda o átomo do campo magnético e faz com que o sinal apareça em campos mais baixos no espectro. Para o ligante aromático **L9**, o espectro mostra os respectivos seis sinais, suas atribuições foram baseadas na proximidade dos carbonos com o átomo de nitrogênio e através do espectro de DEPT. Para o sinal em δ 55,99 foi confirmado pelo espectro de DEPT como sendo um carbono metilênio, o sinal em δ 136,34 não aparece no espectro de DEPT confirmando ser o carbono não hidrogenado, observando as intensidades dos sinais, dos demais carbonos, podemos admitir que com intensidade pela metade, correspondente ao sinal do carbono 6 (**Tabela 16 p. 66**), para os carbonos 4 e 5 (**Tabela 16 p. 66**), de acordo com a localização do carbono 4, este é o mais susceptível ao campo induzido gerado pelos elétrons do átomo de nitrogênio, favorecendo um ligeiro aumento do campo. Para todos os ligantes cíclicos **L6-L9**, observa-se na região média de 202 a 212 ppm as atribuições dos carbonos sp^2 ligados a dois átomos de enxofre e um de nitrogênio. Nas **Figuras 23 a 27 (p. 69 e 70)**, são destacados alguns espectros obtidos.

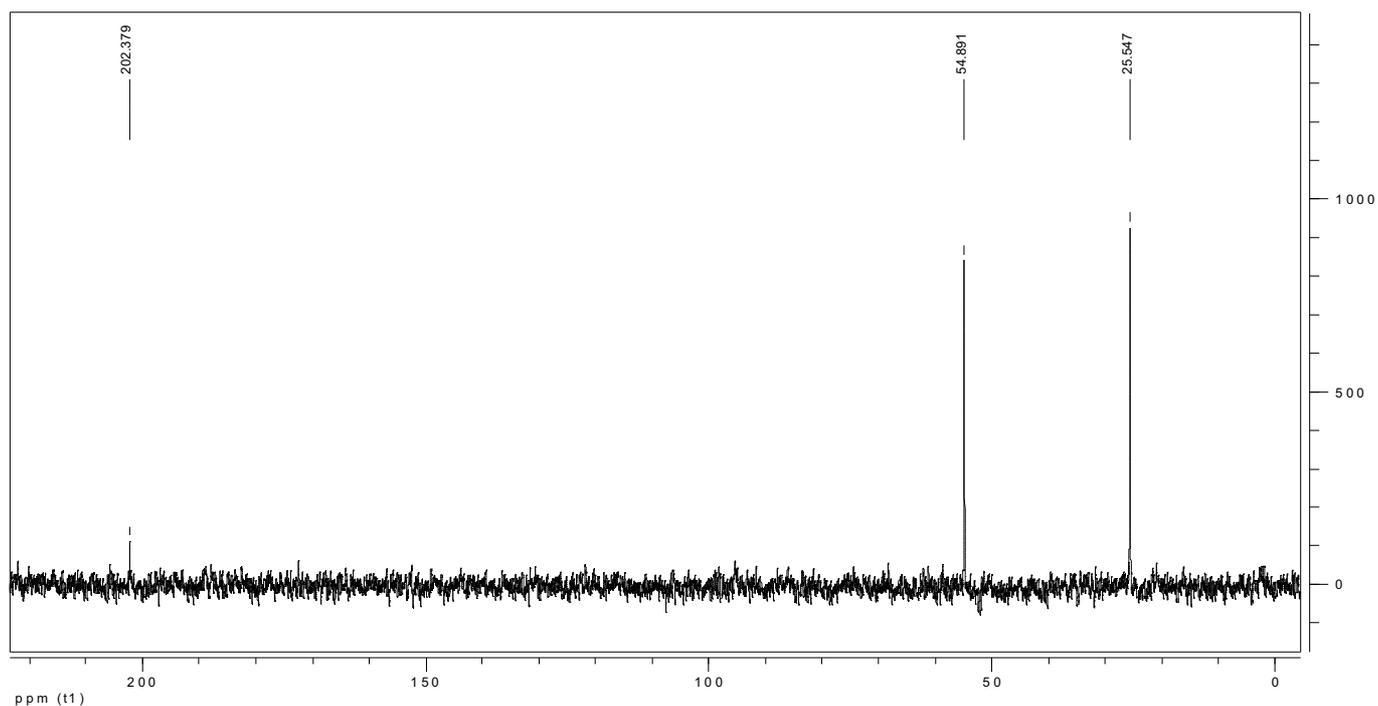


Figura 23 | Espectro de RMN de ^{13}C de L6 (δ , 50 MHz, D_2O).

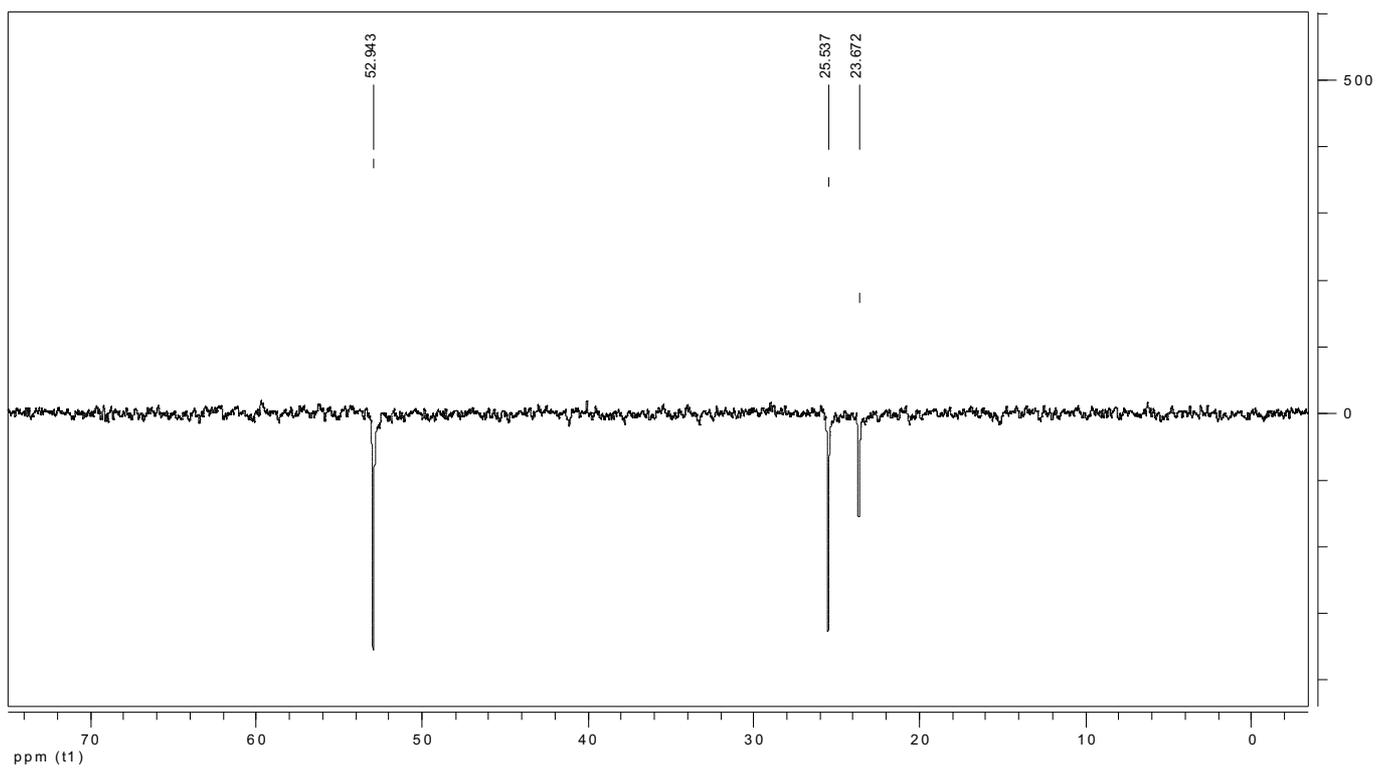


Figura 24 | Subespectro de DEPT 135 de L7 (δ , 50 MHz, D₂O).

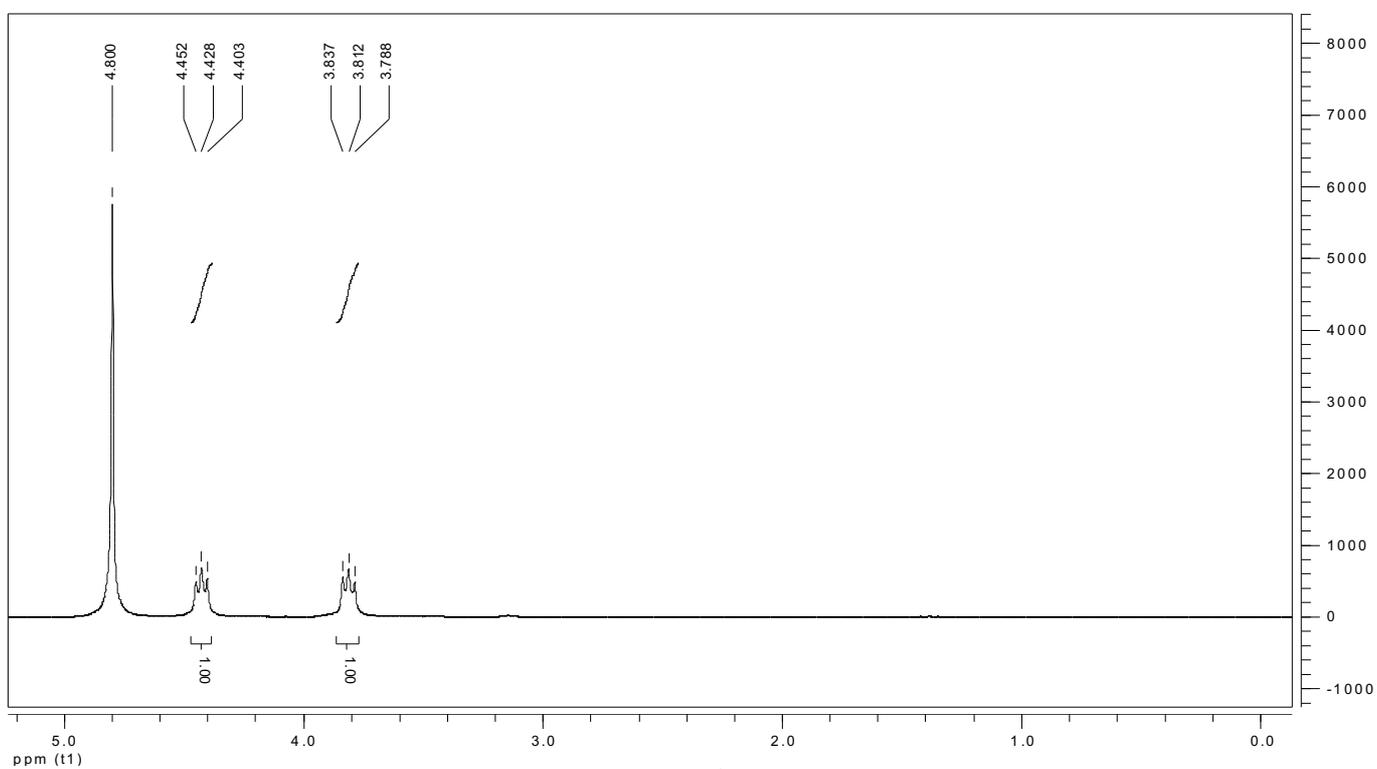


Figura 25 | Espectro de RMN de ¹H de L8 (δ , 200 MHz, D₂O).

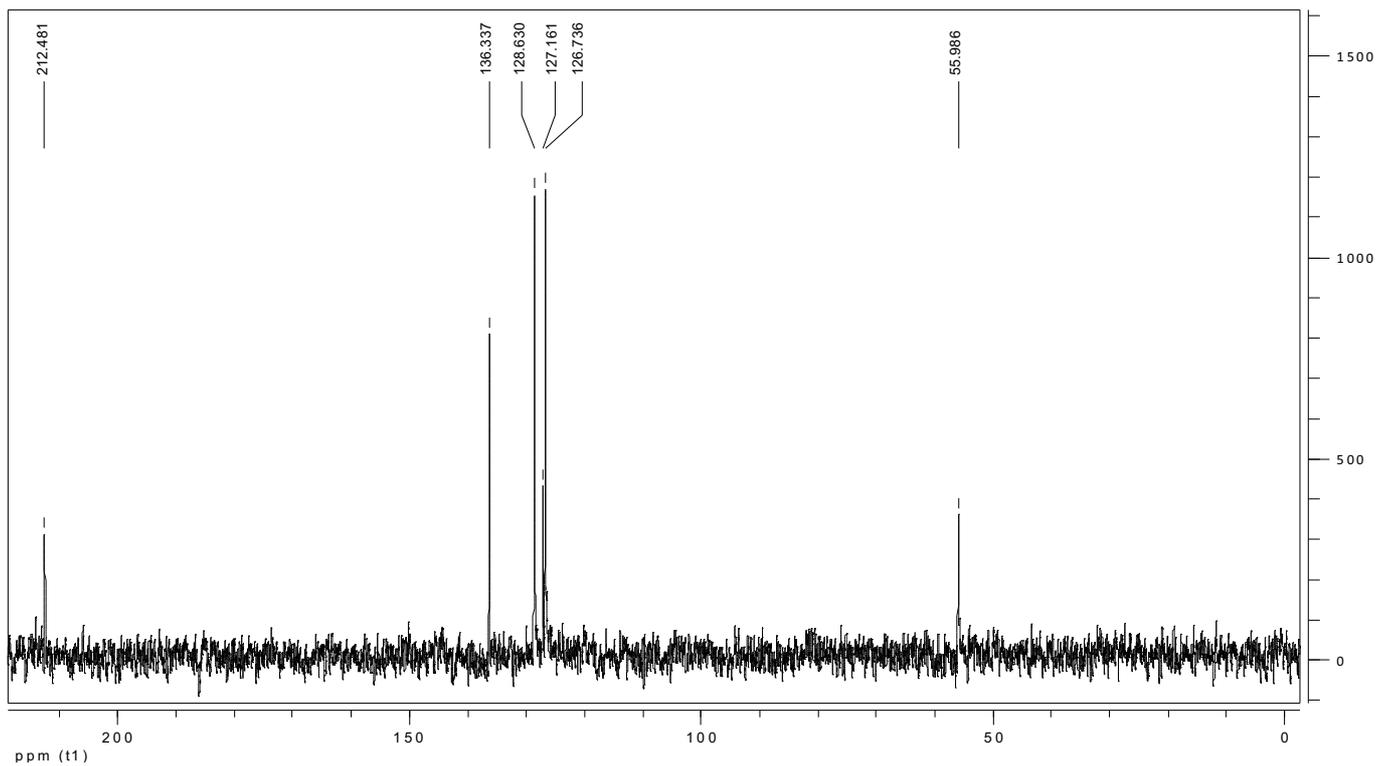


Figura 26 | Espectro de RMN de ¹³C de L9 (δ, 50 MHz, D₂O).

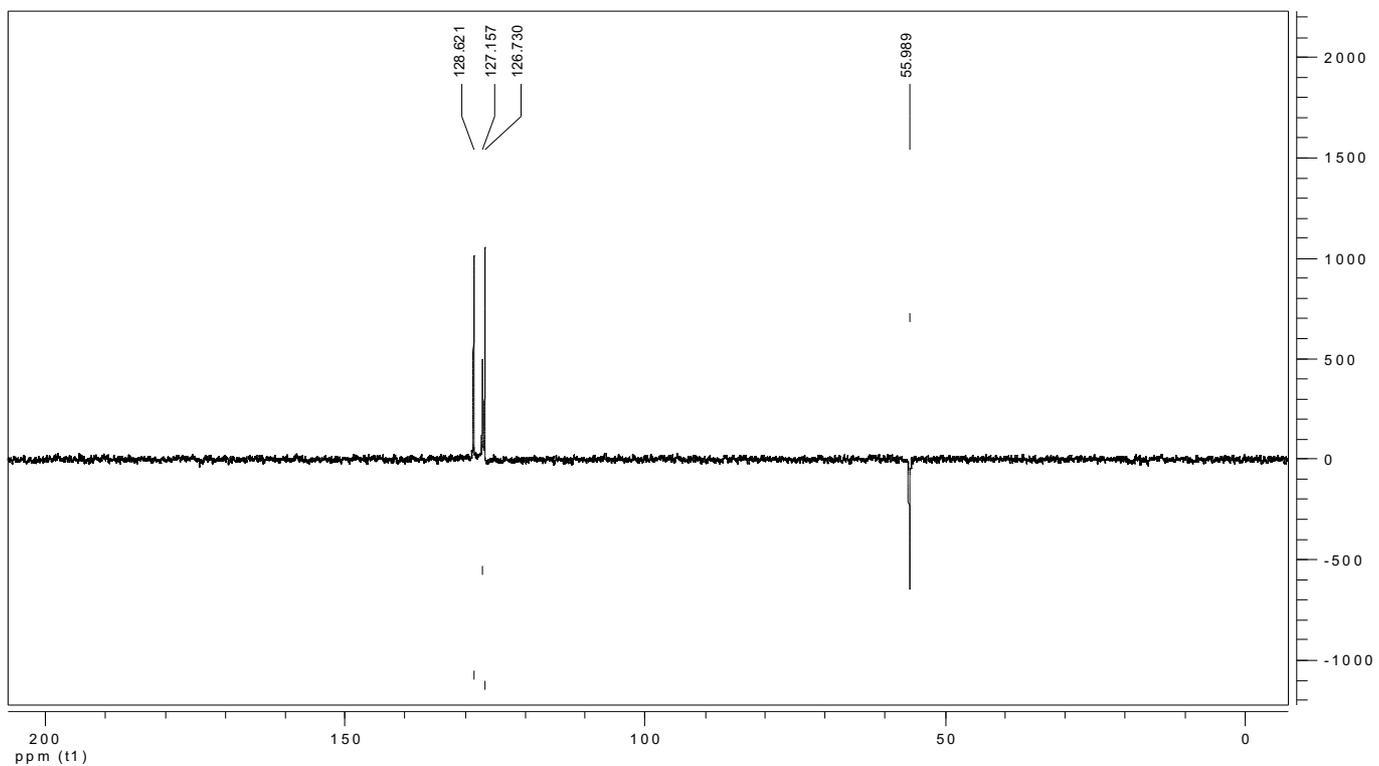


Figura 27 | Subespectro de DEPT 135 de L9 (δ, 50 MHz, D₂O).

A.2 | CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO (C1-C9)

Como descrito nas metodologias usuais de síntese de compostos de coordenação, os complexos preparados neste trabalho foram sintetizados pela mistura de solução do metal e solução do ligante. Os complexos de rutênio foram sintetizados (com rendimentos satisfatórios – variando de 51 a 84%) com adição dos ligantes ditiocarbamatos (**L1-L9**) (solúveis em água) em solução aquosa de cloreto de rutênio, e após 24 horas de reação, a mistura reacional foi mantida em repouso com formação de um sólido marrom insolúvel em água, sendo a primeira evidência da complexação. A determinação estrutural dos complexos obtidos pelas reações de complexação foi efetuada através das seguintes análises físico-químicas usuais: espectrometria nas regiões do Infravermelho (IV) de 4000 a 400 cm^{-1} e de 700 a 150 cm^{-1} ; por Susceptibilidade Magnética; por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono-13 (RMN de ^{13}C); por Espectrometria de Massas por Ionização *Electrospray* (ESI-MS); por Condutividade; por Voltametria Cíclica e por espectrometria Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR).

Foi efetuada uma pesquisa na literatura sobre as publicações dos complexos de rutênio (**C1-C9**) através de banco de dados virtual (*SciFinder Scholar*®) utilizando a identificação dos complexos que foi proposta deste trabalho, pela fórmula molecular e também considerando a formação do complexo dinuclear mais comum $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{III}}$, os dados encontrados são descritos na **Tabela 17 (p. 72)**, e como pode ser observado somente quatro dos nove complexos de rutênio com ligantes ditiocarbamatos estudados nesta Tese já foram relatados. A literatura^{254,257,258} relata a existência de duas formas isoméricas para os complexos binuclear tipo **C1-C9**, ditas isoméricas α e β (**Figura 28**) que podem sofrer interconversão; tal afirmação foi proposta através de estudos da estrutura por raios-X.

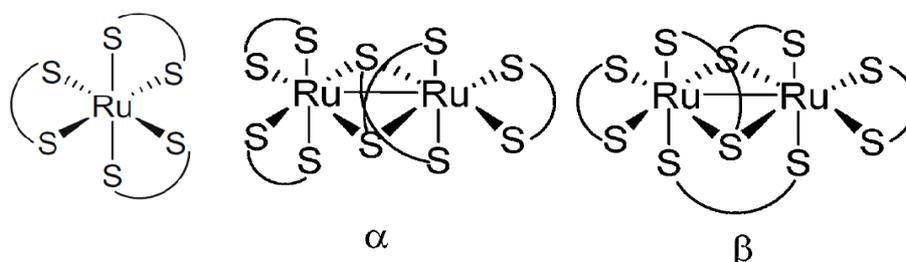


Figura 28 | Estrutura geral mostrando o modo de coordenação dos ligantes ditiocarbamatos ao centro metálico: complexo de rutênio mononuclear tri-coordenado (esq.), complexo de rutênio α -dinuclear penta-coordenado (meio) e complexo de rutênio β -dinuclear penta-coordenado (dir.).

Tabela 18| Complexos de rutênio tipo C1-C9 já publicados

COMPLEXOS	NÚMERO DE REGISTRO (REFERÊNCIA)	FÓRMULA MOLECULAR
C1	61701-49-3 (256)	C ₁₅ H ₃₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
	61695-20-3 (257)	
	57774-52-4 (SR)	
C2	SN (242)	C ₂₅ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
	SN (258)	
	761346-83-2 (SR)	
	55326-21-1 (SR)	
C3	-	C ₂₅ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
C4	-	C ₂₀ H ₄₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
C5	58342-75-9 (SR)	C ₃₅ H ₇₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
C6	1161069-13-1 (SR)	C ₂₅ H ₄₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
	57774-56-8 (SR)	
	SN (242)	
C7	665650-70-0 (SR)	C ₃₀ H ₅₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
C8	-	C ₂₅ H ₄₀ N ₅ O ₅ Ru ₂ S ₁₀
C9	57774-54-6 (SR)	C ₇₅ H ₇₀ N ₅ Ru ₂ S ₁₀
	SN (242)	

SR, sem referência (mas são descritos no banco de dados com a estrutura química binuclear tipo Ru⁺³/Ru⁺³). SN, composto descrito pelos artigos e sem número de registro no *SciFinder*.

Como mencionado anteriormente a determinação estrutural dos complexos foi efetuada através de várias análises físico-químicas. A seguir descrevem-se cada uma dessas análises que serão discutidas e correlacionadas com a literatura.

²⁵⁶ Hendrickson AR, Hope JM, Martin RL. Tris- and pentakis-dialkyldithiocarbamates of ruthenium, [Ru(S₂CNR₂)₃]ⁿ and [Ru₂(S₂CNR₂)₅]ⁿ (n = +1, 0, and -1): Chemical and electrochemical interations. *J Chem Soc Dalton Trans: Inorg Chem* 1976; **20**: 2032-39.

²⁵⁷ Giovagnini L, Sitran S, Castagliuolo I *et al.* Ru(III)-based compounds with sulfur donor ligands: Synthesis, characterization, electrochemical behaviour and anticancer activity. *Dalton Trans* 2008; **47**: 6699-708.

²⁵⁸ Wheeler SH, Mattson BM, Miessler GL. Electrochemical and chemical properties of dithiocarbamate complexes of ruthenium(II), ruthenium(III), and ruthenium(IV). *Inorg Chem* 1978; **17**: 340-50.

A.2.1 | Caracterização dos complexos de rutênio por espectrometria na região do Infravermelho (IV)

A literatura²⁵³ relata, em complexos de rutênio com ligantes ditiocarbamatos, para os espectros na região de infravermelho, uma banda de absorção intensa na região entre 1600-1450 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação carbono-nitrogênio (ν_{CN}). As bandas do estiramento da ligação carbono-enxofre (ν_{CS}) são representadas por uma ou duas bandas com absorção intensa na região de 900-1000 cm^{-1} e sugerem uma coordenação bidentada quando há apenas uma banda (o que também ocorre nos sais) e uma coordenação monodentada quando há duas bandas. Esta informação, também é útil na caracterização dos ligantes, na forma de sais ditiocarbamatos, no espectro de IV destes sais, aparecem duas bandas e quando ocorre a complexação, além da banda característica (277 à 278 cm^{-1}), surgem bandas com frequência de estiramento maiores, confirmando a complexação bidentada.

As bandas de absorção para os ligantes ditiocarbamatos **L1-L9**, resultam das vibrações dos grupos funcionais característicos de cada ligante, as principais frequências de estiramento ($\nu_{\text{C-N}}$ e $\nu_{\text{C-S}}$) são descritas na **Tabela 18 (p. 74)**, as demais frequências estão de acordo com a literatura (**Tabela 12, p. 49**), dentre essas, cabe destacar: deformação axial e angular de N-H, respectivamente, para os ligantes **L3** (3330 e 1627 cm^{-1}) e **L4** (3389 e 1636 cm^{-1}), estiramento de grupo C-O-C cíclico para o ligante **L8**, em frequência de 1213 cm^{-1} e por fim, estiramento de C=C aromático para o ligante **L9** em frequência de 1598 cm^{-1} .

A formação dos complexos foi evidenciada pelas análises comparativas dos espectros no IV dos ligantes (**L1-L9**) com as bandas observadas dos complexos correspondentes (**Tabela 18, p. 74**). Na análise geral dos resultados, observam-se as diferenças entre as frequências de estiramento dos ligantes, antes e depois da complexação. Cabe destacar, um deslocamento das bandas na região de 1500 cm^{-1} , referentes ν_{CN} para frequências maiores, bem como um deslocamento similar na região de 970 cm^{-1} , onde, também, as bandas duplas desta região passam a serem bandas únicas. Observa-se uma similaridade no perfil dos espectros de todos os complexos **C1-C9**, o que comprova a ocorrência de coordenação formando as espécies dinucleares penta-coordenados (Ru_2L_5).

Dados da literatura²⁴² para o complexo pirrolidinico de rutênio dinuclear mostram resultados similares para o complexo **C6**, corroborando a nossa proposta de atribuição. As frequências de estiramento para os complexos **C6** (complexo preparado pela rota de síntese geral de adição)^{160,240} e **C6B** (complexo preparado por rota de síntese com adição inversa)²⁴² são praticamente idênticas, cabe salientar, que estes compostos são isômeros α e β (**Figura 28, p. 71**) e foram confirmados posteriormente pelas análises dos voltamogramas.

Na região de baixa frequência observaram-se as bandas referentes à ν_{S-Ru-S} na região de 290-280 cm^{-1} e para ν_{Ru-Ru} na região de 202-209 cm^{-1} .²⁵⁹ A **Figura 29 (p. 75)** mostra o espectro no IV na região baixa para o complexo **C4** evidenciando a banda em 203 cm^{-1} que comprova a formação da ligação Ru-Ru. É importante ressaltar que o complexo mononuclear não apresentaria a banda na região de 202-209 cm^{-1} referente à ligação Ru-Ru.

Tabela 19 | Frequências do estiramento (cm^{-1}) das principais ligações dos ligantes (L1-L9) e dos complexos de rutênio sintetizados (C1-C9)

LIGANTES (cm^{-1})			COMPLEXOS (cm^{-1})				
	ν_{C-N}	ν_{C-S}		ν_{C-N}	ν_{C-S}	ν_{S-Ru-S}	ν_{Ru-Ru}
L1	1484	966/953	C1	1537	1012	277	209
L2	1492	970/912	C2	1508	999	278	202
L3	1474	965/923	C3	1530	972	280	204
L4	1497	962/935	C4	1513	971	279	203
L5	1478	939/903	C5	1483	1032	279	204
L6	1462	996/939	C6	1492	998	280	203
			C6B	1489	997	278	203
L7	1470	966/948	C7	1495	1003	282	202
L8	1459	1011/983	C8	1484	1022	277	204
L9	1471	976/942	C9	1494	1001	282	202

²⁵⁹ Preti C, Tosi G, Zannini P. Synthesis and characterization of ruthenium dithiocarbamate complexes. *J Inorg Nucl Chem* 1979; **41**: 485-8.

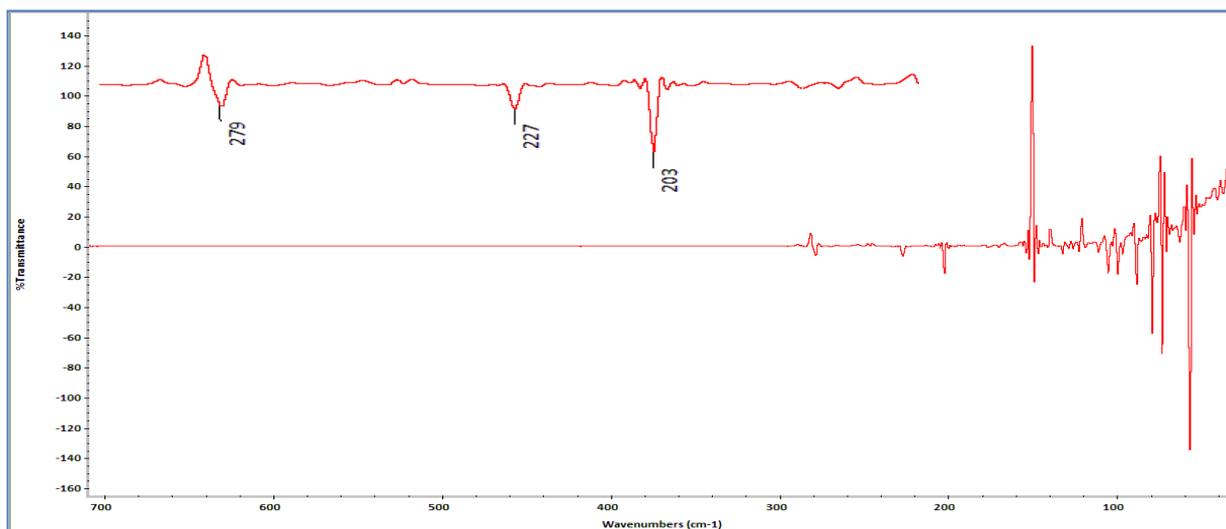


Figura 29 | Espectro no IV para o complexo C4 na região 700-150 cm^{-1} .

A.2.2 | Caracterização dos complexos de rutênio por Susceptibilidade Magnética (μ_{eff})

A susceptibilidade magnética é uma característica intrínseca de cada material e sua identificação está relacionada com a estrutura atômica e molecular. Os átomos têm momentos de dipolo magnético em virtude do movimento orbital dos respectivos elétrons. Além disso, cada elétron tem um momento de dipolo magnético intrínseco associado ao seu spin. O momento magnético de um átomo depende da disposição dos elétrons no seu interior. Um material pode produzir um campo magnético tanto porque está magnetizado, como porque conduz uma corrente de transporte de portadores de carga. Quando um material está na presença de um campo magnético, este é modificado por causa da magnetização resultante (μ) do momento de dipolo molecular. Esta magnetização pode ser puramente devido à interação do campo aplicado com a matéria, conforme ocorre com os materiais diamagnéticos e paramagnéticos ou pode já existir mesmo na ausência do campo externo, conforme ocorre com os materiais ferromagnéticos.²⁶⁰

O diamagnetismo ocorre em todos os materiais, pois todas as moléculas exibem um momento de dipolo magnético induzido e antiparalelo ao campo magnético aplicado em virtude da deformação da distribuição da corrente eletrônica. A sua magnetização tende a

²⁶⁰ Carneiro AAO, Touso AT, Baffa O. Avaliação da susceptibilidade magnética usando uma balança analítica. *Quim Nova* 2003; **26**: 952-6.

enfraquecer o campo externo. Geralmente o efeito diamagnético nos materiais é mascarado pelo comportamento paramagnético e ferromagnético. O paramagnetismo resulta da tendência dos momentos magnéticos moleculares alinharem-se com o campo magnético aplicado, reforçando o campo aplicado. Esses materiais diamagnéticos e paramagnéticos têm uma susceptibilidade, em módulo, muito menor que um ($\chi \ll 1$).

A análise da susceptibilidade magnética foi realizada, até agora, para os complexos **C1**, **C2**, e **C3** mantendo uma similaridade do momento magnético, efetuou-se então a medida para um complexo com ligante cíclico, escolhendo aleatoriamente **C8**. Os dados teóricos para o átomo de rutênio e os valores obtidos para os complexos são apresentados na **Tabela 19**.

Tabela 20 | Dados da determinação do Momento Magnético de Bohr para os complexos C1, C2, C3 e C8.

REFERÊNCIA				MOMENTO MAGNÉTICO EXPERIMENTAL	
Estado de oxidação do rutênio	Configuração	Número de elétrons desemparelhados	Momento magnético esperado - μ_{eff} (BM)	COMPLEXO	μ_{eff} (BM)
Ru ^{II}	d ⁶	0	0	C1	0,9
				C2	1,1
Ru ^{III}	d ⁵	1	1,8-2,1	C3	1,1
				C8	0,9

Os valores obtidos sugerem que deve haver uma mistura de núcleos metálicos, com diferentes estados de oxidação, sendo os complexos provavelmente, dinucleares do tipo Ru^{II}/Ru^{III} ou haver uma forte aproximação dos elétrons desemparelhados dos dois núcleos de Ru^{III}, sendo assim um complexo dinuclear Ru^{III}/Ru^{III}. Outras caracterizações para complementar estes resultados serão discutidos e correlacionados com a literatura nos próximos tópicos.

A.2.3 | Caracterização dos complexos de rutênio por espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹H) e de Carbono-13 (RMN de ¹³C)

Os complexos de rutênio (**C1-C9**) foram caracterizados por RMN de ¹H e de ¹³C, no entanto, devido as características paramagnéticas dos complexos, não foi possível identificar os sinais referente aos ligantes coordenados nos respectivos espectros.

Na Literatura^{342,257-259,261,262} os autores que descrevem compostos semelhantes relatam somente dados de espectros RMN de ¹H. Alguns espectros de RMN de ¹H dos complexos apresentaram sinais largos característicos dos ligantes coordenados em complexo paramagnético.

A.2.4 | Caracterização dos complexos de rutênio por Espectrometria Massas (EM)

Ainda permanecia a dúvida se os complexos (C1-C9) obtidos pela complexação de cloreto de rutênio (III) com os ligantes ditiocarbamatos sintetizados (L1-L9) eram complexos mononucleares tricoordenados (RuL₃) ou dinucleares pentacoordenados (Ru₂L₅), ambos já relatados por alguns autores.^{342,257-259,263,265} Como a diferença fundamental entre as duas propostas estruturais é a massa molecular, seria de interesse o uso de uma técnica espectrométrica como a Espectrometria de Massas (EM), para esclarecer esta dúvida.^{264,265}

Desde o início do século XX, a espectrometria de massas vem sendo reconhecida como uma ferramenta analítica potente, devido à extraordinária capacidade de determinação das massas moleculares e caracterização de estruturas com sensibilidade e exatidão. É empregada na identificação e quantificação de substâncias orgânicas ou inorgânicas presentes em sólidos, líquidos ou gases, e na elucidação da estrutura das moléculas. A EM possui uma posição de destaque entre as técnicas analíticas devido a características como especificidade, elevada sensibilidade e limites de detecção muito baixos. Sua ampla diversidade de aplicações estende-se desde a química, geocronologia, biologia, ciências médicas, ambientais e até no desenvolvimento de novas tecnologias.²⁶⁶ Esta técnica é particularmente adequada para a caracterização e quantificação dos analitos

²⁶¹ Miessler GL, Pignolet LH. Photochemistry of dithiocarbamate complexes. 3. Photosensitized reactions of tris(N,N-dialkyldithiocarbamate)ruthenium(III) and the X-ray and molecular structure of chlorobis(N,N-dimethyldithiocarbamate)(N,N-dimethylthiocarbamido)ruthenium(IV). *Inorg Chem* 1979; **18**: 210-13.

²⁶² Given KW, Mattson BM, Pignolet LH. Synthesis, properties, and X-Ray structural characterization of a novel seven-coordinate halogenotriss(dithiocarbamate) complex of ruthenium(IV). *Inorg Chem* 1976; **15**: 3152-6.

²⁶³ Pignolet LH. Dynamic stereochemistry of tris-chelate complexes. IV. Crystal structure of tris(N,N-diethyldithiocarbamate)ruthenium(III). *Inorg Chem* 1974; **13**: 2051-5.

²⁶⁴ Raston CL, White AH. Structural studies in the ruthenium-dithiocarbamate system. Part II. Crystal structures of two salts of the [Ru₂(dtc)₅]⁺ cation, one containing the [Ru₂Cl₆]²⁻ anion. *J Chem Soc Dalton Trans* 1975; **5/038**: 2410-8.

²⁶⁵ Mattson BM, Heiman JR, Pignolet LH. Oxidation of tris(N,N-disubstituted-dithiocarbamate) complexes of ruthenium(III). X-ray structure determination of bis(N,N-diethyldithiocarbamate)-μ-tris(N,N-diethyldithiocarbamate)-diruthenium(III)tetrafluoroborate, [Ru₂(Et₂dtc)₅]BF₄. *Inorg Chem* 1976; **15**: 564-71.

²⁶⁶ Hoffman E, Stroobant V. *Mass spectrometry: Principles and applications*. Chichester: John Wiley & Sons; p.407: **2002**.

em misturas complicadas, mesmo que estes estejam presentes em concentrações traços. Na sua forma convencional, a espectrometria de massas possui como uma das principais limitações, a necessidade de realizar a ionização de uma substância a baixíssimas pressões, mas se esta substância não for volátil, como no caso de complexos inorgânicos, devem-se utilizar procedimentos que lhe conferirão esta propriedade.

Assim, uma técnica alternativa para análise em espectrometria de massas surgiu com a introdução de novas formas de ionização à pressão atmosférica, como por exemplo, a ionização *electrospray* (ESI-MS).²⁶⁷ Com esta técnica o restrito universo de substâncias analisáveis por espectrometria de massas foi muito ampliado permitindo a análise daquelas não voláteis, termicamente lábeis e polares, como os compostos inorgânicos e de coordenação. Por exemplo, nos últimos anos, a técnica de ESI-MS tem sido extensivamente empregada em diferentes análises ambientais destacando-se, por exemplo, Hetherton e colaboradores²⁶⁸ que utilizaram a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com fonte de ionização *electrospray* (LC/ESI-MS) como método de *screening* de multiresíduos para a análise simultânea de 73 pesticidas e seus metabólitos em frutas e vegetais, que pela sua alta polaridade e hidrossolubilidade não seriam detectados por espectrometria de massas convencional. A análise destes pesticidas envolveu apenas uma simples extração com acetonitrila sem requerer nenhum outro processo anterior de preparo da amostra. O método foi validado para níveis de 0,01 e 0,1 mg.kg⁻¹ em maçã, alface e laranja. A LC/ESI-MS mostrou-se uma técnica muito importante para a determinação de multiresíduos graças a sua alta sensibilidade e seletividade.

Desta forma, realizaram-se experimentos para a determinação da massa molecular dos complexos de rutênio sintetizados (**C1-C9**) em solução pela técnica ESI-MS. Os resultados obtidos por ESI-MS para a determinação da massa molecular dos complexos de rutênio (**C1-C9**) sintetizados estão correlacionados na **Tabela 20 (p. 79)**, onde, para efeito de comparação, também se reporta a possível massa molecular que seria obtida para as espécies mononuclear tricoordenada (RuL₃) e para a espécie dinuclear pentacoordenada (Ru₂L₅).

²⁶⁷ Cole RB. *Electrospray Ionization Mass Spectrometry*. New York: Wiley & Sons, 1997.

²⁶⁸ Hetherton CL, Sykes MD, Fussell RJ *et al.* A multi-residue screening method for the determination of 73 pesticides and metabolites in fruit and vegetables using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2004; **18**: 2443-50.

Tabela 21 | Valores teóricos e experimentais de m/z (Da) para os complexos

COMPLEXO	CALCULADO			EXPERIMENTAL	
	MONONUCLEAR	DINUCLEAR [M]	DINUCLEAR [M+1]	[M]	[M+1]
C1	462	804	806	804	806
C2	546	944	946	944	946
C3	546	944	946	944	946
C4	504	874	876	877	877
C5	633	1084	1086	1084	1086
C6	540	933	934	933	936
C6B	540	933	934	934	935
C7	582	1004	1006	1004	1006
C8	588	1014	1016	1014	1016
C9	918	1564	1066	1564	1066

[M], íon molecular principal. [M+1], íon molecular, isótopo de maior abundância reativa.

Como se pode observar, todos os complexos estão na forma dinuclear, contudo para o derivado di-isopropílico **C4** obteve-se uma massa molecular menos exata do que o esperado. Nas Figuras 30 a 33 (p. 80 e 81) são apresentados alguns espectros obtidos, todos os espectros mostram similaridade quanto à identificação de cada complexo na forma neutra.

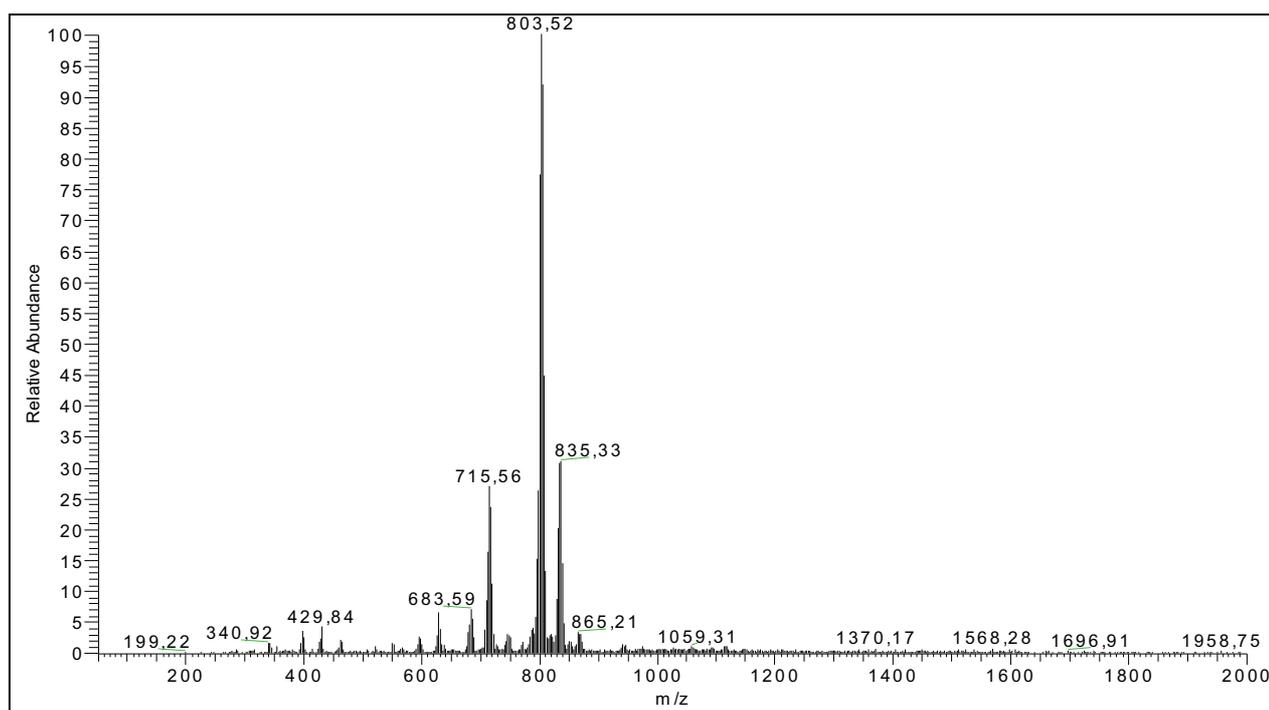


Figura 30 | Espectro de massas por ESI-MS do complexo C1.

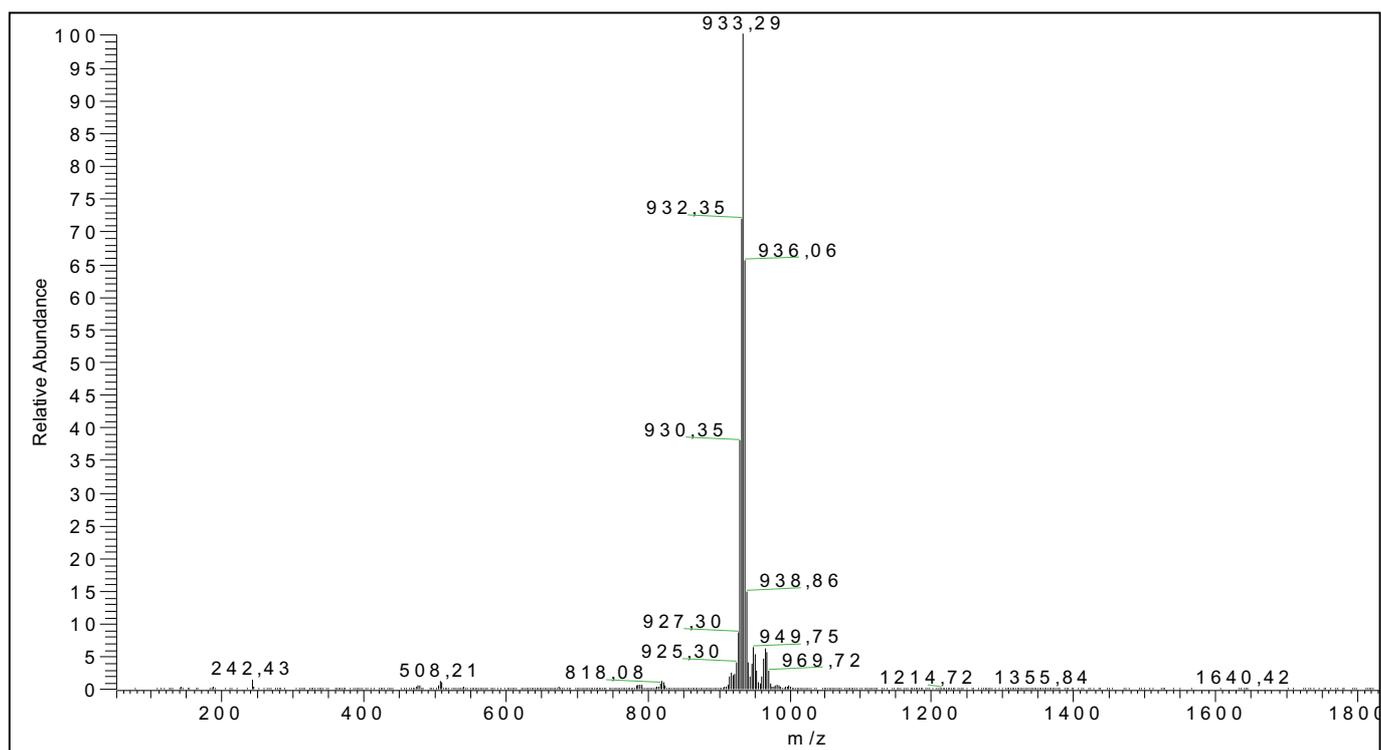


Figura 31 | Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C6.

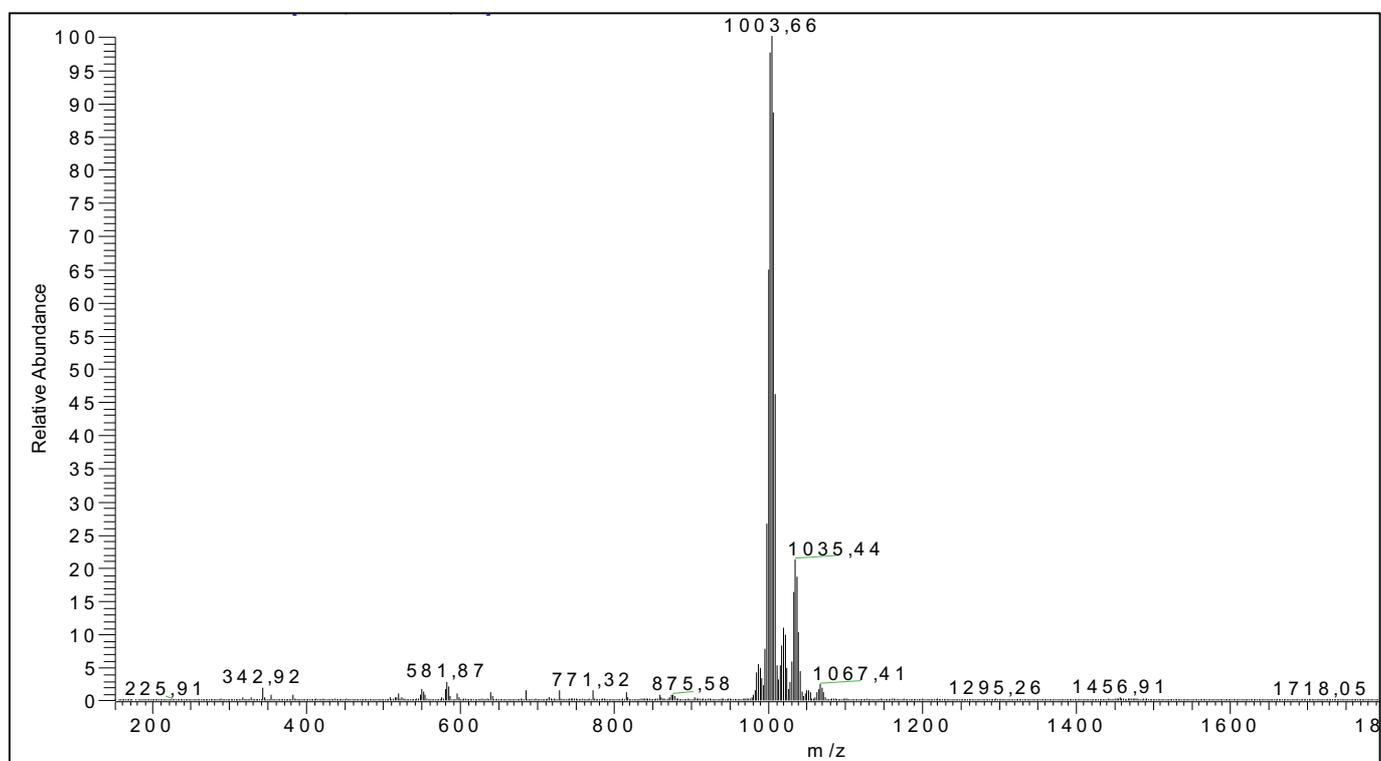


Figura 32 | Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C7.

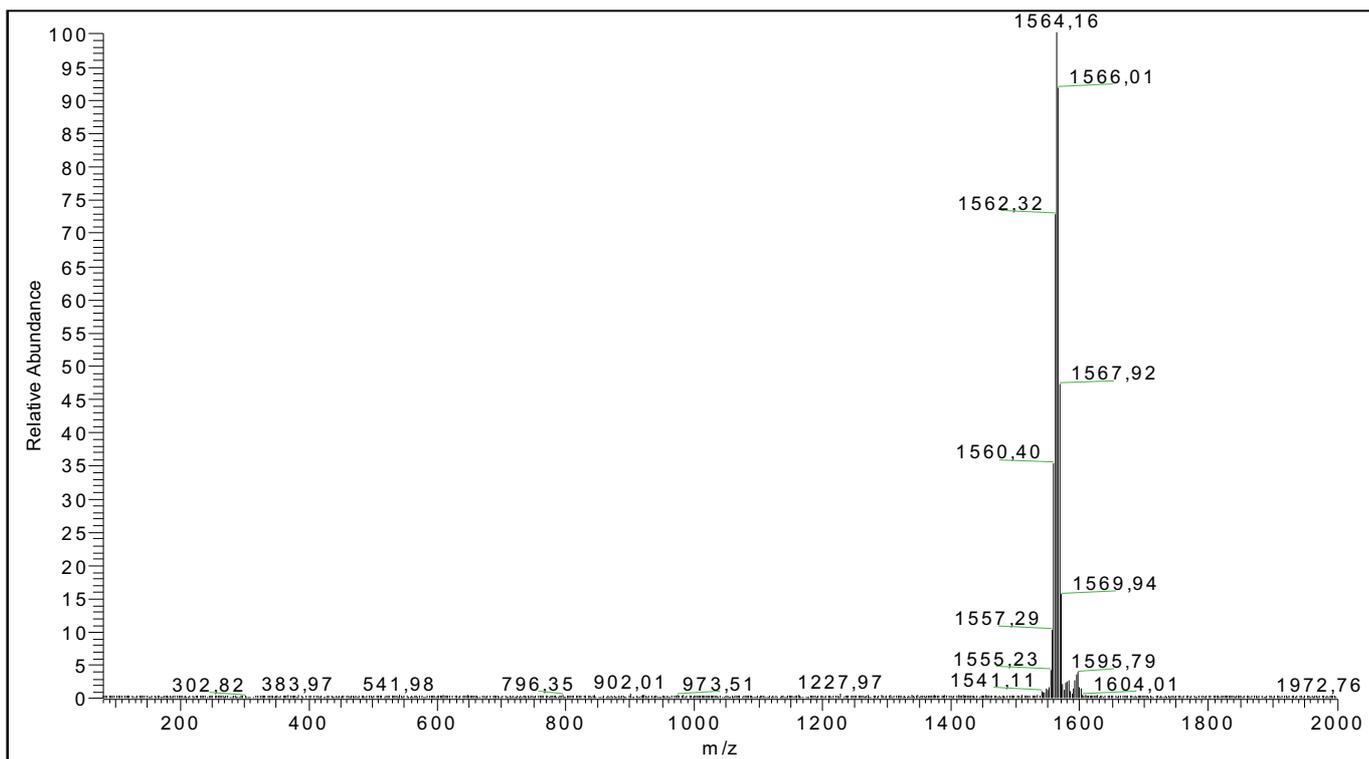
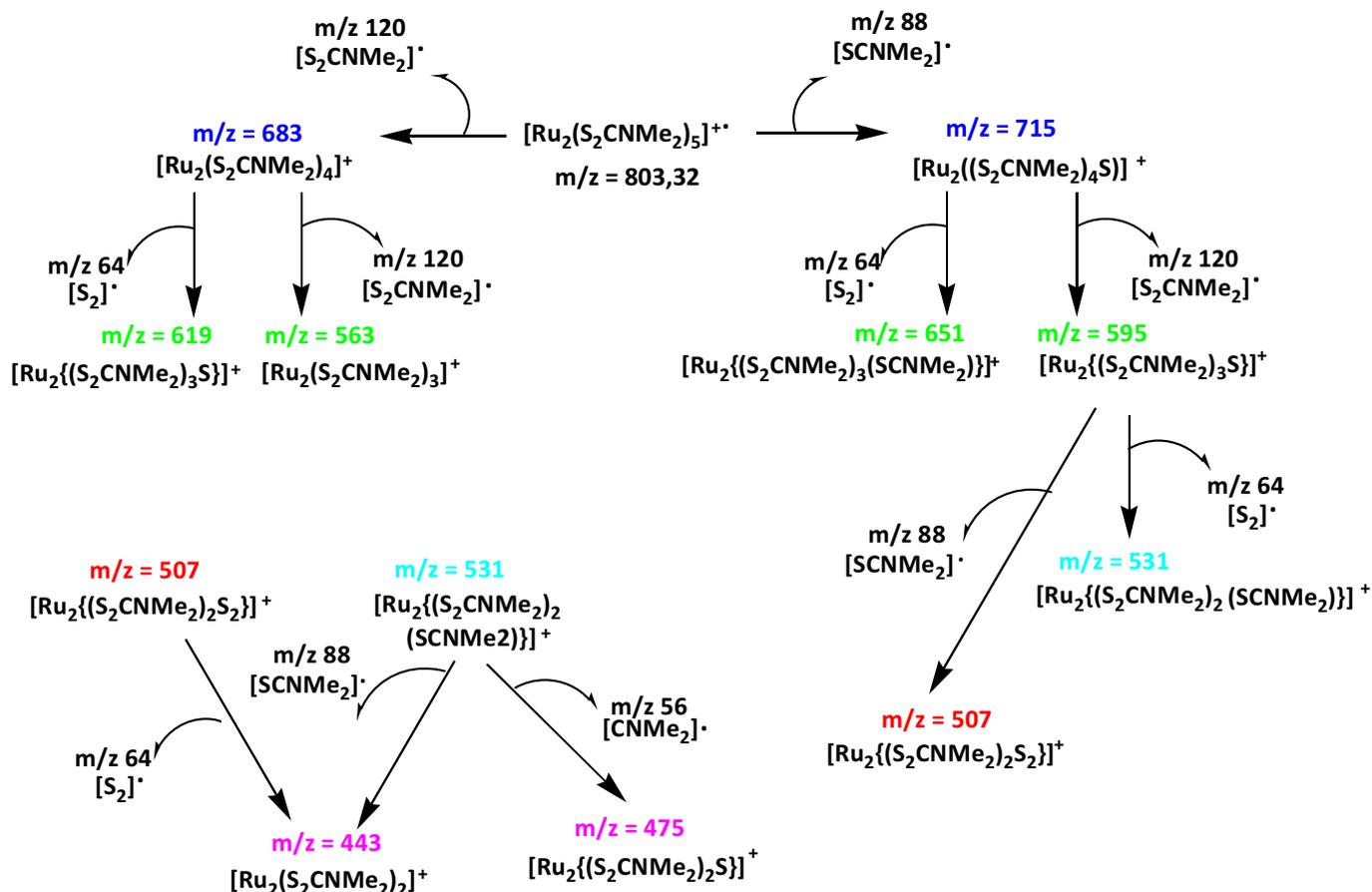


Figura 33| Espectro de massas por ESI-MS do complexo cíclico C9.

Quanto ao mecanismo de fragmentação possível, observou-se a ocorrência de fragmentações similares para todos os derivados, mostrando analogia nas fragmentações, o que permitiu, por exemplo, no caso do complexo dimetilico **C1** propor o mecanismo apresentado no **Esquema 1 (p. 82)**. A espécie cátion-radical (com energia de ionização de 25 eV) relativa ao íon-molecular $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CNMe}_2)_5]$ ($[\text{M}]^{+\bullet} = 803$) pode perder um fragmento radicalar $[\text{SCNMe}_2]^\bullet$ (88 Da) ou perder um fragmento radicalar $[\text{S}_2\text{CNMe}_2]^\bullet$ (120 Da), gerando respectivamente os íons produtos observados com m/z 715 e 683. O íon precursor de m/z 715 por sua vez gera os íons produtos m/z 595 e 651 pela correspondente perda de fragmentos de 64 Da (S_2) e $[\text{S}_2\text{CNMe}_2]^\bullet$ (120 Da). Uma fragmentação mista, entre a primeira e a segunda fragmentações, ocorreu quando o íon precursor m/z 683, foi submetido à fragmentação, observaram-se os íons produtos com 619 Da (perda de S_2) e 563 Da (perda de SCNMe_2). O fragmento de m/z 595, por sua vez fragmentou-se gerando espécies com m/z 531 (perda de 64) e 507 (perda de 88). O íon precursor de m/z 531 originou um íon produto com m/z 443 pela perda de $[\text{SCNMe}_2]^\bullet$ (88 Da) e um fragmento de m/z 475 pela perda de

grupo CNMe₂ (56 Da). Alguns espectros de massas destas fragmentações citadas acima são apresentados na **Figura 34 (p. 83)**.



Esquema 1 | Mecanismo de fragmentação para o complexo C1.

Com a análise dos espectros de massas dos outros compostos estudados (**C2-C9**) e os resultados das massas moleculares obtidas juntamente com confirmação pela análise dos fragmentos, pode-se afirmar que houve a formação de complexos dinucleares para todos os complexos estudados. Os dados com os valores de massas dos íons moleculares e dos fragmentos para todos os complexos (**C1-C9**) estudados, considerando somente a fragmentação do íon molecular são apresentados na **Tabela 21 (p. 83)**.

Cabe destacar que todas as fragmentações observadas por ESI-MS dos complexos estudados são análogas e comprovam a formação de espécies dinucleares e ressaltar, também, que apesar das caracterizações por ESI-MS descritas na literatura e mesmo as agora obtidas, confirmarem a obtenção de complexos dinucleares catiônicos, não é descrito, e nem foi observado, sinais específicos no modo negativo.

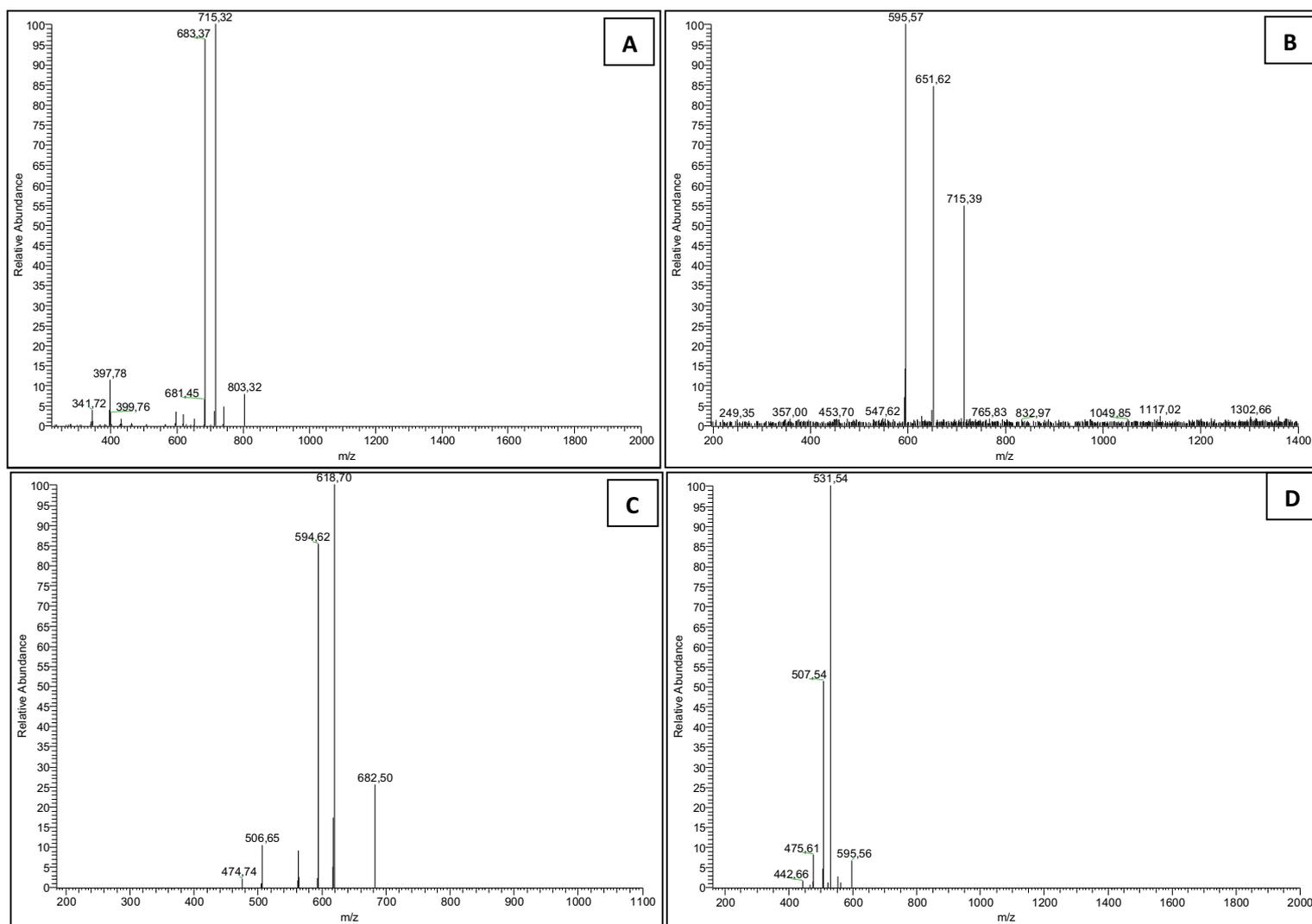


Figura 34 | Espectros de massas das fragmentações obtidos para o complexo C1 – A: fragmentação do íon m/z 803; B: fragmentação do íon m/z 715; C: fragmentação do íon m/z 683 e D: fragmentação do íon m/z 595.

Tabela 22 | Valores de m/z para perda dos principais fragmentos comuns a todos os complexos de rutênio C1-C9

COMPLEXO	m/z [M] ⁺⁺ (Da)	m/z (Da) PERDA DE [SCNR ₂] ⁺	m/z (Da) PERDA DE [S ₂ CNR ₂] ⁺
C1	804	716	684
C2	944	828	795
C3	944	827	795
C4	877	771	795
C5	1084	936	907
C6	933	820	788
C7	1004	875	844
C8	1014	883	852
C9	1564	1355	1323

A.2.5 | Caracterização dos complexos de rutênio por Condutimetria (Ω_M)

A caracterização de complexos de coordenação também envolve o estudo de formação de complexos neutros ou carregados, o que pode ser facilmente investigado pela medida de condutimetria. As medidas da condutividade ($\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ em CH_3NO_2) foram realizadas para todos os complexos sintetizados: **C1** (46), **C2** (58), **C3** (21), **C4** (16), **C5** (20), **C6** (16), **C6B** (20), **C7** (14), **C8** (22) e **C9** (34).

Os resultados obtidos confirmam a natureza iônica observada pela espectrometria de massas, com valores entre $14\text{-}58 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ (para soluções a $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em nitrometano a $25,9^\circ\text{C}$). Na literatura²⁴² os autores descrevem valores semelhante para compostos dinucleares e valores abaixo de $5 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ para complexos de rutênio neutros.

A.2.6 | Caracterização dos complexos de rutênio por Voltametria Cíclica

A voltametria é uma técnica que se fundamenta nos fenômenos redox de um analito que ocorre na interface entre um eletrodo de trabalho e a solução que contém o analito. Nesta técnica mede-se a corrente em função da variação linear do potencial, ou seja, as informações em relação ao analito são obtidas através da medida da magnitude da corrente que surge no eletrodo de trabalho ao aplicar um potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência.^{269,270,271} Os primeiros estudos voltamétricos foram feitos por Heyrovsky e Kuceras em 1922 usando um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho e como eletrodo de referência um eletrodo de calomelano saturado.²⁷²

Na voltametria cíclica (VC) tem-se a variação tensão-corrente-tempo na forma de ciclos de potencial de um eletrodo imerso em uma solução sem agitação, resultando em um voltamograma obtido pela medida da corrente no eletrodo de trabalho durante a aplicação do potencial.

²⁶⁹ Alves, MRA. Monografia: *Síntese e caracterização eletroquímica do poli(3-metoxitiofeno) e estudo por voltametria cíclica do ferricianeto de potássio*. Departamento de Química da UFMG: 2007.

²⁷⁰ Mabbott GA. An introduction to cyclic voltammetry. *J Chem Educ* 1983; **60**: 697-701.

²⁷¹ Kissinger PT, Heineman WR. Cyclic voltammetry. *J Chem Educ* 1983; **60**: 702-6.

²⁷² Aleixo LM. *Voltametria: Conceitos e técnicas*. Instituto de Química: Universidade Estadual de Campinas. 40pp.

Na verdade, a VC é atualmente o primeiro experimento realizado para o estudo do comportamento eletroquímico, bem como para a avaliação dos estados de oxidação dos compostos químicos em estudo.

No presente caso, os complexos estudados já haviam sido caracterizados como complexos dinucleares de rutênio penta-coordenado (com ligantes ditiocarbamatos) através da técnica de espectrometria de massas ESI-MS. O estudo do comportamento eletroquímico permite saber se os átomos de rutênio complexados estão nos estados de oxidação Ru(II) ou Ru(III). O sistema redox das espécies investigadas pode ser representado pelas **Equações 4a** e **4b** dadas a seguir:



A literatura (listada na **Tabela 22, p. 86**) já mostrava vários estudos sobre o comportamento eletroquímico de complexos de rutênio similares aos sintetizados e para melhor visualização e compreensão dos resultados trazem-se na **Tabela 22** os principais dados obtidos de todos os artigos relacionados. O estudo do comportamento voltamétrico do derivado similar ao complexo pentaquis-N,N-dimetílico (**C1**), já havia sido descrito desde 1976, por Hendrickson e colaboradores²⁵⁷ mas, as condições eletroquímicas utilizadas (**Tabela 22**) são diferentes das condições empregadas neste trabalho (DMF anidra, perclorato de tetrabutyl amônio). No mesmo ano, Pignolet e colaboradores²⁶⁴ também investigaram o comportamento eletroquímico, mas por polarografia, de **C1** e dos derivados N,N-dietílico (**C2**), pirrolidínico (**C6**) e N,N-dibenzílico (**C9**). Ambos os estudos relatados mostram a presença de duas ondas catódicas e duas ondas anódicas correspondentes ao esperado sistema de oxirredução dos dois átomos de rutênio(III). Cabe ressaltar que em ambos os artigos citados não há o relato do estudo eletroquímico dos ligantes livres.

No trabalho de Hendrickson e colaboradores²⁵⁷ é descrito que o derivado dimetílico é primeiramente obtido como derivado mononuclear tri-quelado (RuL₃) e que somente após separação cromatográfica gerava-se o derivado semelhante a **C1** (na forma de derivado dinuclear pentacoordenado Ru(III)/Ru(III) monocloreto) que só então seria transformado nos derivados tetrafluorborato (que foi detalhadamente estudado por voltametria cíclica – **Figura 35, p. 88**) ou hexafluorofosfato.

Tabela 23 | Tabela com valores de potencias redox de complexos de rutênio

ANO	COMPLEXO	SOLVENTE	ELETRÓLITO	ELETRODO REFERÊNCIA	POTENCIAL DE OXIDAÇÃO (V)	POTENCIAL DE REDUÇÃO (V)	REFERÊNCIA
1976	[Ru ₂ (S ₂ CNMe ₂) ₅][BF ₄]	(CH ₃) ₂ CO	[Et ₄ N][ClO ₄]	LiClMe ₂ CO	-	Ru ^{III} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{III} α: -0,273 ; β: -0,308 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{II} α: -0,721 ; β: -0,826	257
1976	Ru ₂ (S ₂ CNMe ₂) ₅ ; Ru ₂ (S ₂ CNEt ₂) ₅ ; Ru ₂ (S ₂ CNPyrr) ₅ ; Ru ₂ (S ₂ CNBz ₂) ₅	DMF	[Bu ₄ N][ClO ₄]	Calomelano	-	Ru ^{III} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{III} : -0,31 a -0,46 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{II} : -0,96 a -1,05	265
1978	Ru ₂ (S ₂ CNEt ₂) ₅	CH ₃ CN	[Et ₄ N][ClO ₄]	Calomelano	-	Ru ^{III} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{III} α: -0,56 ; β: -0,54 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{II} α: -0,98 ; β: -1,12	259
1978	[Ru(dAdtc) ₃]	DMSO	[Et ₄ N][ClO ₄]	Calomelano	-	Ru ^{III} → Ru ^{II} -0,950	273
1992	LRu ⁺² ; L = (η ⁶ -C ₆ Me ₆) ₂	CH ₂ Cl ₂	Bu ₄ NPF ₆	Platina	-	LRu ⁺² → LRu ⁺¹ -1,35 ; LRu ⁺¹ → LRu ⁰ -1,53	274
1997	Ru(PPh ₃) ₂ (S ₂ C(C ₅ H ₆)NHR) ₂ R = H, Me, Et, Bu, C ₆ H ₁₁	CH ₃ CN	[Et ₄ N][ClO ₄]	Platina	Ru ^{II} → Ru ^{III} : +0,23 a +0,26 Ru ^{III} → Ru ^{IV} : +0,67 a +0,72	-	275
2005	<i>mer</i> -[RuCl ₃ (L ₁)(4-L ₂)]; L ₁ = Ph ₂ P(CH ₂) ₄ PPh ₂ ; L ₂ =CH ₃ C ₅ H ₄ N	HCl/KCl	[Et ₄ N][ClO ₄]	Ag/AgCl	Ru ^{II} → Ru ^{III} : +0,35	Ru ^{III} → Ru ^{II} : +0,05	276

²⁷³ Ahmed M, Magee RJ. The electrochemical behavior of tris(N,N-disubstituted dithiocarbamate) complexes of ruthenium(III) in dimethylsulphoxide. *Proc Indian Acad Sci* 1979; **88A(Part I)**: 401-11.

²⁷⁴ Pierce DT, Geiger WL. Electrochemical kinetic discrimination of the single-electron-transfer events of a two-electron-transfer reaction: Cyclic voltammetry of the reduction of the bis(hexamethylbenzene)ruthenium dication. *J Am Chem Soc* 1992; **114**: 6063-73.

²⁷⁵ Baitalik S, Mohanta S, Adhikary B. Studies on some mixed-ligand complexes of ruthenium(II) involving dithiocarboxylates, dithiocarbamates, triphenylphosphine and bipyridine. *Polyhedron* 1977; **16**: 983-8.

²⁷⁶ Wohnrath K, Pessoa CA, dos Santos PM *et al.* Electrochemical properties of a ruthenium complex immobilized as thin films and in carbon paste electrodes. *Prog Solid State Chem* 2005; **33**: 243-52.

Continuação da Tabela 22

2006	<i>mer</i> -[RuCl ₃ (L1)L]; L1 = Ph ₂ P(CH ₂) ₄ PPh ₂ L=Py/4-CH ₃ Py	CH ₂ Cl ₂	Bu ₄ NPF ₆	Ag/AgCl	Ru ^{II} /Ru ^{II} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +0,30 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{III} /Ru ^{III} +0,41	Ru ^{III} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +0,30 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{II} -0,23	277
2007	[RuCl(NO)(dcype)(bipy)](PF ₆) ₂	CH ₂ Cl ₂ CH ₃ CN	[Bu ₄ N][ClO ₄]	Ag/AgCl	Ru ^{II} -NO ⁺ → Ru ^{II} -NO ⁰ +0,10 Ru ^{II} -NO ⁰ → Ru ^{II} -NO ⁻ -0,88 Ru ^{II} /Ru ^{II} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +0,89 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{III} /Ru ^{III} +1,06	-	278
2007	[RuCl(dppb)(H ₂ BzR)] R = 4DH, 4Me, 4Ph	CH ₂ Cl ₂	[Bu ₄ N][ClO ₄]	Ag/AgCl	Ru ^{II} → Ru ^{III} : +0,41 a +0,44	Ru ^{III} → Ru ^{II} : +0,34 / +0,39	279
2008	[Ru(mttpy) ₂](PF ₆) ₂ ; [Ru(attpy) ₂](PF ₆) ₂	DMF	[Bu ₄ N][ClO ₄]	Ag/AgCl	Ru ^{II} /Ru ^{II} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +1,29 Ru ^{II} /Ru ^{II} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +1,27	Redução dos ligantes: ttpy → ttpy ⁻ : m = -1,19 ; a = -1,20 ttpy ⁻ → ttpy ²⁻ : m = -1,43 ; a = -1,41	186
2008	[Ru ₂ (L) ₅ Cl]; L = DMDT, MSDT, ESDT e TSDT	CH ₂ Cl ₂ DMSO	Bu ₄ NPF ₆	Calomelano	Ru ^{II} /Ru ^{II} → Ru ^{II} /Ru ^{III} +1,1 a +1,2 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{III} /Ru ^{III} : +1,4 a +1,2	Ru ^{III} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{III} : -0,41 a -0,55 Ru ^{II} /Ru ^{III} → Ru ^{II} /Ru ^{II} : -1,00 a -0,86	258
2008	[Ru(bpy) ₂ (Xbpy)]; X = Cl, Br, I	CH ₃ CN	Bu ₄ NPF ₆	Ag/AgCl	Ru ^{II} → Ru ^{III} : +0,78 a +0,80	Ru ^{III} → Ru ^{II} : -0,44 a -1,46	280

²⁷⁷ Wohnrath K, dos Santos PM, Sandrino B *et al.* A novel binuclear ruthenium complex: Spectroscopic and electrochemical characterization, and formation of langmuir and langmuir-blodgett films. *J Braz Chem Soc* 2006; **17**: 1634-41.

²⁷⁸ Poelhsitz GV, Bogado AL, Souza GD *et al.* New nitrosyl ruthenium complex [RuCl(NO)(dcype)(bipy)](PF₆)₂: Synthesis, electrochemistry, NMR and ESI-MS/MS studies. *Inorg Chem Commun* 2007; **10**: 133-8.

²⁷⁹ Graminha AE, Rodrigues C, Batista A *et al.* Ruthenium(II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones with cytotoxic activity against human tumor cell lines. *Spectrochim Acta [A]* 2008; **69**: 1073-6.

²⁸⁰ Zhang W, Liu JH, Pan JX *et al.* Synthesis and characterization of some new mononuclear ruthenium complexes containing 4-(un)substituted dipyriddyipyrazole ligands. *Polyhedron* 2008; **27**: 1168-76.

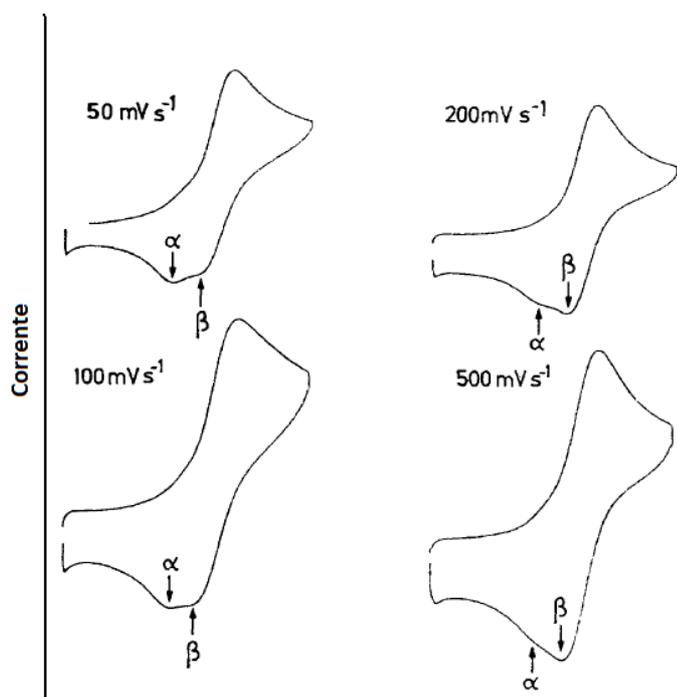


Figura 35 | Voltamograma cíclico do complexo β -[Ru₂(S₂CNMe₂)₅][BF₄]; em acetona e NEt₄ClO₄.²⁴²

O derivado neutro pentacoordenado Ru(II)/Ru(III) era obtido por redução catódica do derivado Ru(III)/Ru(III). Nos voltamogramas mostrados os autores também relatam que há um ombro na onda catódica relativo à isomerização irreversível do isômero *beta*-(β -) para o isômero *alfa*- (α -) (mais estável) e que este tipo de fenômeno já havia sido relatado anteriormente com complexos análogos de cobalto. Contudo, como já dito, as diferentes condições dos ensaios eletroquímicos dificultam as possíveis comparações com nossos resultados.

Em 1978, Wheeler e colaboradores²⁵⁹ publicaram um trabalho sobre o comportamento eletroquímico estudado por voltametria cíclica de complexos de Ru(II)/(III)/(IV) com ditiocarbamatos. Neste trabalho os autores também citam os isômeros tipos α - e β -, mas para o derivado mononuclear correspondente ao complexo dietílico **C2**, e comentam sobre a dificuldade na caracterização da mono- ou bi-nuclearidade dos complexos estudados, embora outros artigos dos mesmos autores já caracterizavam complexos análogos (**Tabela 22, p. 86 e 87**). Os autores mostram a formação dos isômeros α - e β - inclusive indicando a obtenção do complexo neutro pentacoordenado [Ru(II)/Ru(III)] pela redução com NaBH₄; também é citada a formação de uma outra espécie ainda não

descrita, o complexo heptacoordenado $\text{RuCl}(\text{L2})_3$. Neste trabalho, para o estudo eletroquímico com o derivado tris-dietilditiocarbamato de rutênio, relata-se a observação de uma curva catódica reversível, referente à redução do derivado neutro à forma aniônica e uma curva irreversível para a oxidação à forma catiônica (com Ru(IV)). Os autores relatam também que não houve detecção de complexos bimetalicos nestes ensaios e que estas espécies bis-rutenadas só puderam ser preparadas a partir do complexo triquelado Ru(III) tratado com $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ e que o isômero α - era facilmente convertido no isômero β - pela reação com oxigênio. Os autores também reportam a obtenção do derivado dinuclear neutro (por reação com NaBH_4 e que tem forma paramagnética Ru(II)/Ru(III). Contudo, nossos resultados não são diferentes comparativamente a estes.

Entretanto, só recentemente em 2009, a comprovação da formação do análogo binuclear foi feita por ESI-MS quando Giovagnini e colaboradores²⁵⁸ descreveram a síntese, a atividade antitumoral e o comportamento eletroquímico de complexos na forma de $[\text{Ru}_2(\text{L1})_5]^+\text{Cl}^-$ (aqui chamado de **C1B**) onde se destaca o relato detalhado do voltamograma cíclico (em CH_2Cl_2 ; NBu_4PF_6) com ênfase na observação da isomerização *alfa-beta* (**Figura 36**). No voltamograma do complexo **C1** (**Figura 37, p. 90**) observaram-se três picos catódicos e três picos anódicos em três sistemas quase totalmente reversíveis, destacando-se que os autores indicam que haveria a detecção dos isômeros α - e β - em dois dos ciclos reversíveis e que seria possível a redução exaustiva Ru(III)/Ru(III) para Ru(II)/Ru(III) (**Tabela 22, p. 87**). Porém, após a síntese do complexo **C1** neste trabalho, não foi possível a solubilização dos produtos nas condições eletroquímicas usadas pelos autores citados.

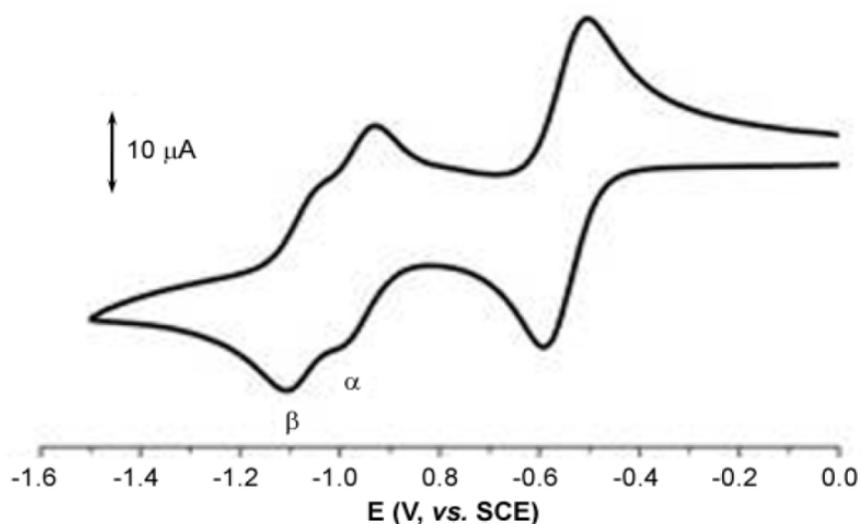


Figura 36 | Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CNMe}_2)_5][\text{Cl}]$; em CH_2Cl_2 e NBu_4PF_6 .²⁴²

Apesar das diferentes condições usadas entre os voltamogramas descritos na literatura e os obtidos para os complexos sintetizados, o que impede a comparação direta dos potenciais, comparações relativas quanto à forma dos voltamogramas e a sequência relativa dos picos podem ser feitas. Neste trabalho observou-se que para o complexo **C1** e para **L1**, os voltamogramas (**Figura 37**) mostraram que, tanto no complexo (+0,06 V x Ag/AgCl) quanto no ligante (-0,11 V), ocorrem processos eletroquímicos com a parte do ligante na região em cerca de 0,0 V e como esperado a oxidação da parte do ligante no complexo ocorre em potenciais maiores.

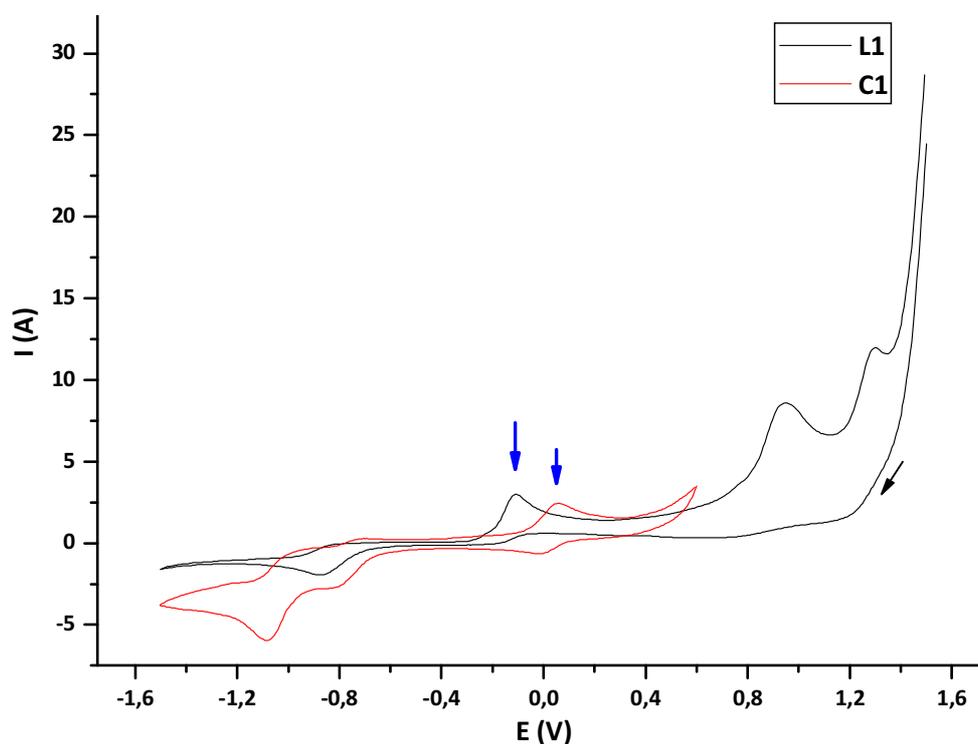


Figura 37 | Voltamograma cíclico do complexo C1 e do ligante L1.

Na região de potenciais mais negativos, observam-se nitidamente, duas ondas catódicas e duas ondas anódicas relacionadas, sendo que os picos catódico e anódico na região de -0,1 a +0,1V se tornam reversíveis (+0,70V E_{pa} ; -0,80V E_{pc} ; $i_{pa}/i_{pc} \approx 1$) quando há limitação do potencial (**Figura 38, p. 91**). Na região entre -1,1 V e -1,4 V observa-se a ocorrência de uma onda secundária variável conforme a velocidade de varredura utilizada que como já citado (**Figura 36, p. 89**) foi correlacionada com isomerização *alfa-/beta-*.

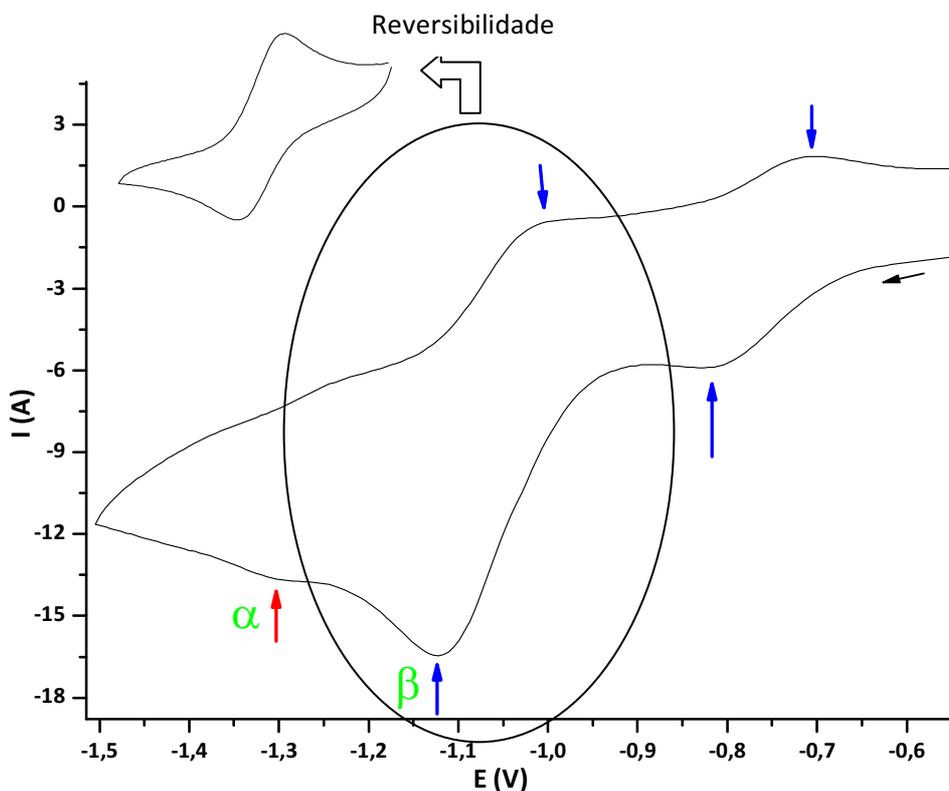


Figura 38| Voltamograma cíclico do complexo C1 na região baixa (-0,6 a -1,4 V); em destaque a reversibilidade dos potenciais.

Quanto ao ligante, também se observam na região anódica ($> 0,9$ V) outros processos eletroquímicos (**Figura 37, p. 90**) cabendo ressaltar que os outros estudos relatados não fazem qualquer citação sobre a eletroquímica dos ligantes. Assim, comparativamente, e com a consideração da parte de oxirredução do ligante, os resultados encontrados para os complexos de rutênio são similares aos da literatura observando-se o par de oxirredução Ru(III)/Ru(III) para Ru(II)/Ru(III) como um sistema reversível.

Todavia, antes de se estudar a eletroquímica de todos os outros complexos achou-se necessário uma comparação mais detalhada, entre os complexos binucleares de rutênio que se apresentaram aparentemente, diferentes, conforme as condições de síntese descritas no capítulo anterior (síntese de **C6** e de **C6B**). Na verdade, a ordem de adição das soluções de metal e de ligante foi diferente. Enquanto na síntese de **C6** a solução aquosa do ligante **L6** era adicionada sobre a solução aquosa de cloreto de rutênio (24 horas de reação); na metodologia para síntese de **C6B**, a mais comum, aliás, a solução do metal era adicionada sobre a solução do ligante (também 24h), que é conhecidamente redutor. Desta forma, diante dos dois complexos (**C6** e **C6B**) sintetizados através das duas metodologias, foi possível verificar conjuntamente o estudo voltamétrico desses complexos. Comparando-se

os dois voltamogramas superpostos (**Figura 39**), observa-se uma similaridade, mas as duas espécies não são idênticas, aliás, os potenciais observados **C6B** ($E_{pa} = -0,83V$) são ligeiramente menores que os observados para o complexo **C6** ($E_{pa} = -0,79V$).

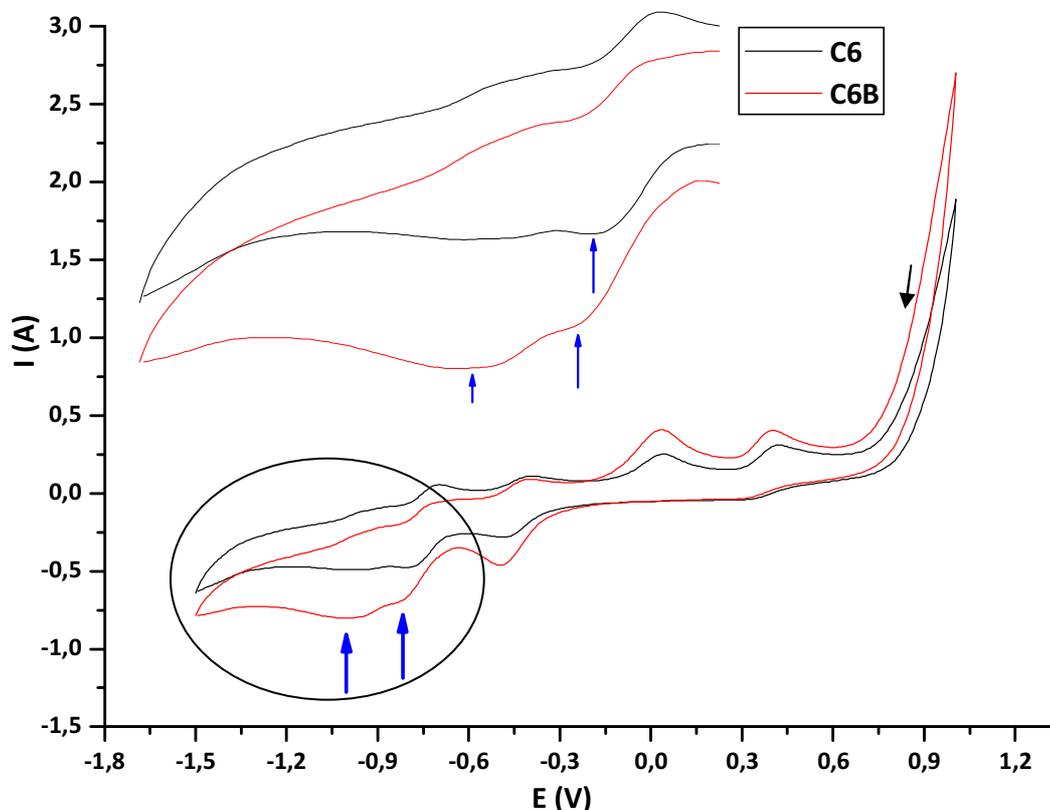


Figura 39 | Voltamograma cíclico dos complexos **C6** e **C6B**.

Assim, como já descrito na literatura, pode-se sugerir que no experimento proposto por Giovagnini e colaboradores na síntese de **C6B** deve-se ter obtido o isômero *alfa*-, o mais estável (conforme a literatura com potenciais mais negativos) e que pode ser formado a partir da redução do isômero *beta*-, como já relatado anteriormente;²⁵⁸ enquanto na metodologia para síntese de **C6** deve-se obter o isômero *beta*-. Esta redução deve ocorrer durante a reação pelo excesso da presença do ligante redutor. Cabe ressaltar, entretanto, que já foi relatado que em complexos de rutênio mononucleares ocorre a retenção de configuração geométrica durante processos redox e a citada isomerização *alfa*-/ *beta*-, para derivados binucleares, torna-se discutível.

Comparando-se detalhadamente os voltamogramas (50 mVs^{-1}) (**Figura 39**) de **C6** e **C6B**, observa-se a ocorrência já descrita nos dois experimentos de sistema reversível (ca. de -0,7 V). Esta reversibilidade foi observada em várias varreduras (**Figura 40**, p. 93). Mas, em

potenciais mais negativos onde se observam diferenças sutis, mas determinantes: no derivado dito **C6B** há um sistema de oxirredução bem definido (em ca. -1,0 V; $E_{pa} = -0,94V$ e $E_{pc} = -0,98V$) enquanto que em **C6** este sistema parece muito indefinido, ou seja parece que uma segunda redução Ru(III)/Ru(II) só ocorre para **C6B** e não para **C6**. Assim, concluindo, as diferenças observadas entre o complexo **C6** e **C6B**, obtido pelas diferentes metodologias, permite sugerir que **C6** deve ser binuclear Ru(III)/Ru(III) na forma *beta-*, enquanto que **C6B** deve ser também binuclear mas, na forma *alfa-*.

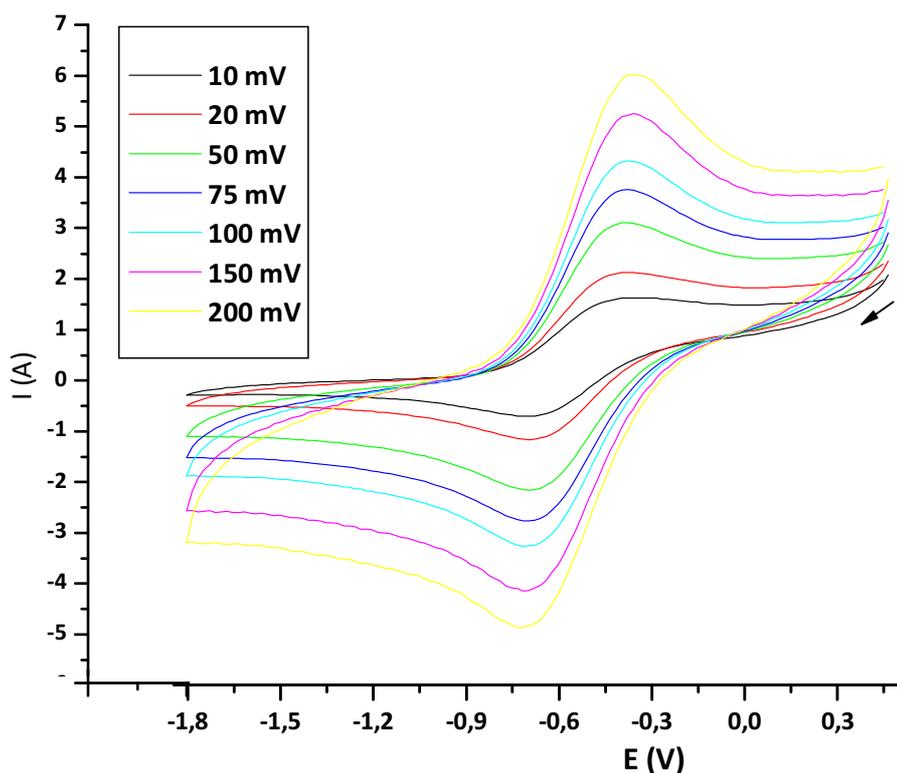


Figura 40| Voltamograma do complexo C6 em várias velocidades de varreduras.

A comparação voltamétrica entre os complexos mostra uma grande similaridade em relação aos picos do rutênio (região de -1,0 V) e uma variação entre os picos de oxidação dos ligantes, que pode ser correlacionada ao diferente efeito eletronegativo dos substituintes presentes. A **Figura 41 (p. 94)** apresenta uma comparação entre os complexos **C1**, **C6**, **C8** e **C9**, onde a superposição dos voltamogramas mostra o que foi descrito. A **Tabela 23 (p. 94)** mostra os dados voltamétricos obtidos (E_{pa} , E_{pc} e ΔE_p) dos complexos de rutênio, após a análise dos voltamogramas cíclicos obtidos em solução DMF ($10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$).

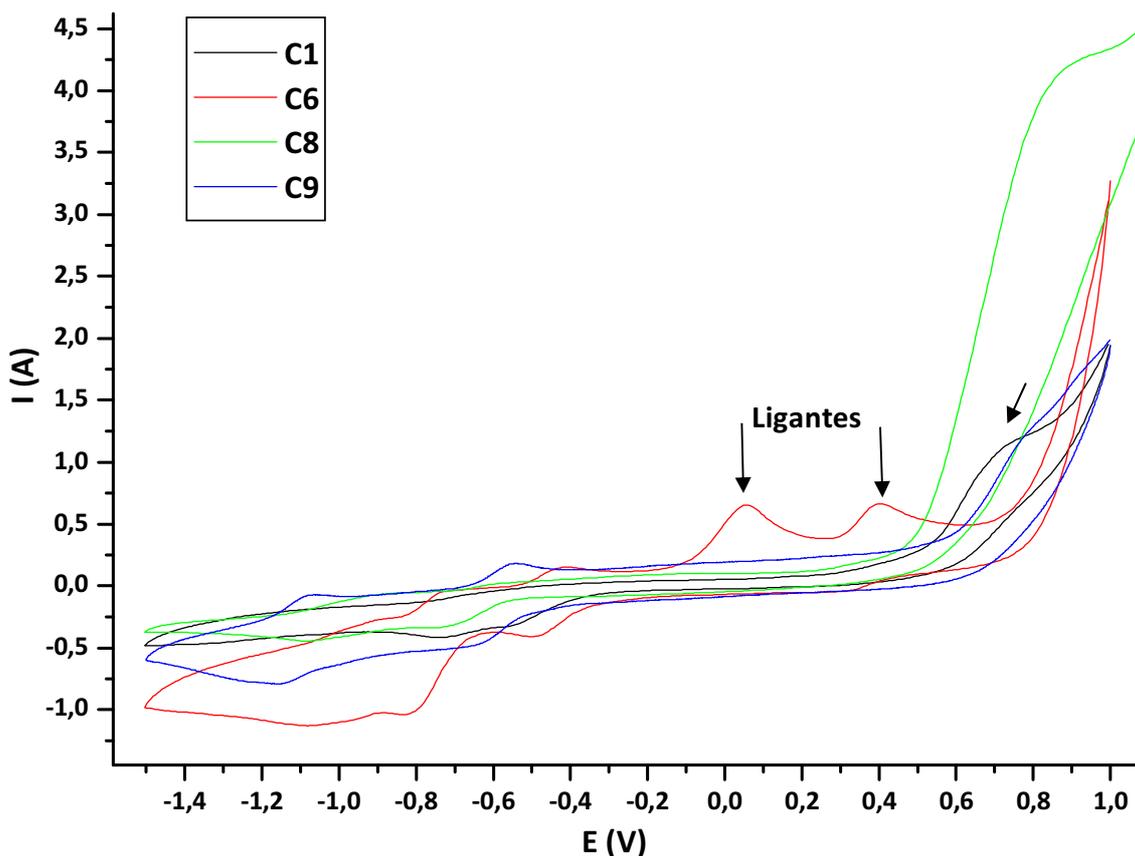


Figura 41 | Voltamogramas cíclicos dos complexos C1, C6, C8 e C9.

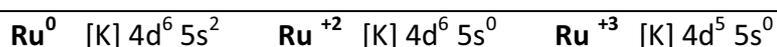
Pode-se observar que todos os compostos apresentam um sistema de oxirredução similar, o que comprova a obtenção de complexos dinucleares em todos os casos.

Tabela 24 | Valores dos potencias de oxirredução dos complexos de rutênio

COMPLEXOS	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	ΔE_p (mV)
C1	-1,02	-1,12	108
C2	-0,93	-1,31	380
C3	-	-	-
C4	-	-	-
C5	-0,71	-0,90	190
C6	-0,74	-0,81	77
C6B	-0,71	-0,80	87
C7	-	-	-
C8	-0,88	-1,08	203
C9	-1,07	-1,16	84

A.2.7 | Caracterização dos complexos de rutênio por espectrometria de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

A completa caracterização dos produtos formados pela reação de complexação entre rutênio e os ligantes ditiocarbamatos (**L1-L9**) requer a confirmação da determinação dos estados de oxidação dos átomos de rutênio centrais o que pode ser feito por técnicas físicas, esclarecendo sobre o número de elétrons do metal. Os estados de oxidação mais comuns e de interesse são Ru(II) e Ru(III) com distribuição eletrônica do metal rutênio sendo, então:



Os complexos sintetizados nesse trabalho utilizam o cloreto de rutênio, onde o metal apresenta número de oxidação igual a três [Ru(III)]. Pela Teoria do Campo Cristalino (TCC), considerando-se uma geometria octaédrica ao redor de cada átomo de Ru(III) e o ligante ditiocarbamato como um ligante de campo fraco, tem-se a seguinte configuração eletrônica: $t_{2g}^3 e_g^2$ (Figura 42).

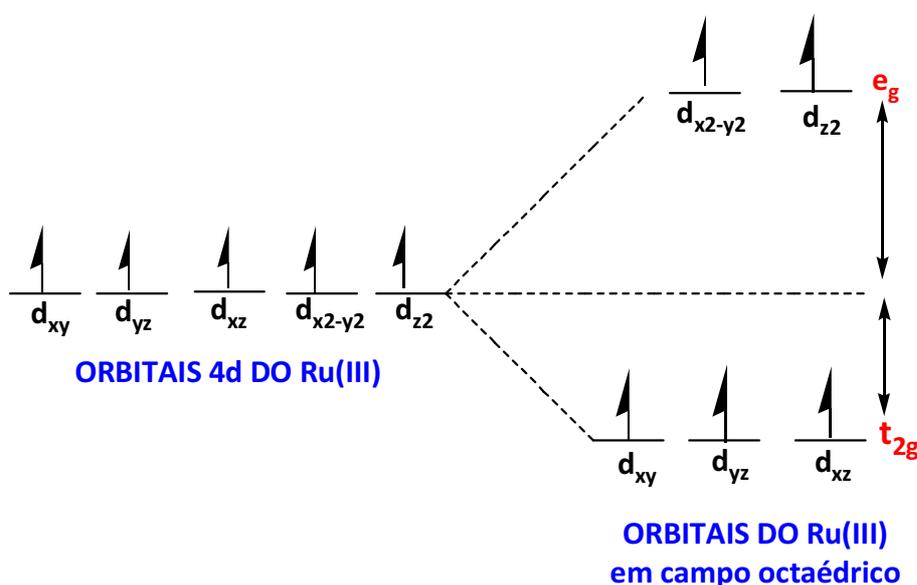


Figura 42 | Distribuição eletrônica dos elétrons de valência do Ru(III).

Para os complexos de rutênio monovalentes (com Ru(III)) e tri-coordenados - tipo RuL_3 – existem seis átomos de enxofre doando um par de elétrons cada um, totalizando doze elétrons distribuídos nos orbitais a_{1g} , t_{1u} e e_g , sobrando cinco elétrons para ocupar o orbital não ligante t_{2g} , dando origem a um complexo paramagnético. A mesma aproximação pode ser feita para os complexos Ru_2L_5 , considerando cada átomo de rutênio

separadamente. Assim sendo, os complexos binucleares de Ru(III)/Ru(III) pentacoordenados com ditiocarbamatos apresentam elétrons desemparelhados que podem ser detectados pela técnica específica para tal, a espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica.

A Ressonância Paramagnética Eletrônica – RPE ou Ressonância de Spin Eletrônica – RSE (do inglês *Electron Paramagnetic Resonance* – EPR) é uma técnica espectroscópica avançada ideal para o estudo das propriedades magnéticas de certos materiais conhecidos como paramagnéticos (espécies contendo elétrons desemparelhados). Desde 1945, quando Zavoisky demonstrou a existência de um espectro de ressonância nas substâncias paramagnéticas, milhares de trabalhos passaram a aplicar a técnica de RPE em busca de um aprofundamento das propriedades magnéticas dos materiais. Esta técnica espectroscópica de investigação não destrutiva de amostras paramagnéticas tem grande aplicabilidade em diversas áreas do estudo científico e tecnológico, incluindo datação arqueológica, identificação e quantificação de alterações nas estruturas cristalinas de substâncias, identificação de metais de transição em complexos inorgânicos ou metalproteínas, etc.^{281,282}

A teoria subjacente à EPR é análoga à de RMN, havendo lugar à excitação dos spins dos elétrons, ao invés dos spins dos núcleos atômicos. Apesar da técnica de RPE ser considerada sofisticada e de custo relativamente elevado, graças aos excelentes resultados obtidos, o seu uso vem crescendo em instituições de pesquisa no mundo inteiro.

Em trabalho publicado por Giovagnini e colaboradores²⁵⁸ os autores descrevem o espectro de EPR de um complexo mononuclear com ligante dimetildiocarbamato $[\text{Ru}(\text{S}_2\text{CNMe}_2)_3]$ (**Figura 43, p. 97**) sendo este um complexo semelhante ao complexo dinuclear **C1**. Para os resultados, é considerado apenas o orbital T_{2g} uma vez que a configuração d^5 é equivalente a configuração d^1 . Os dados espectrais mostram uma similaridade com valores estabelecidos para complexos Ru(III), sendo os parâmetros correspondendo a $g_z > 0$ e $g_x, g_y < 0$, o que implica em uma grande distorção da simetria idealizada octaédrica.

²⁸¹ Rodrigues Júnior O. *Desenvolvimento de um programa computacional para o tratamento de sinais obtidos pela ressonância paramagnética eletrônica na dosimetria de doses altas*. Tese: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/USP; **2003**.

²⁸² Bleaney B, O'Brien MCM. Paramagnetic resonance in some complex cyanides of the cron. Group II. Theory. *Proc Phys Soc B* 1956; **69**: 1216-30.

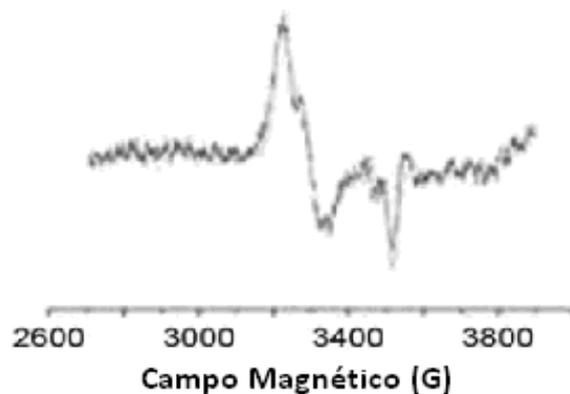


Figura 43 | Espectro de EPR do complexo $[Ru(DMDT)_3]$ em CH_2Cl_2 ; 0.01 mol.L^{-1} ; $T = 80 \text{ K}$.

Na avaliação por EPR dos complexos de rutênio **C1** e **C2** (N,N-dialquilados), **C3** e **C4** (N-monoalquilados) e **C6** e **C9** (ligantes cíclicos), os resultados mostram similaridade (**Figura 44**) com os resultados descritos por Giovagnini e colaboradores²⁵⁸

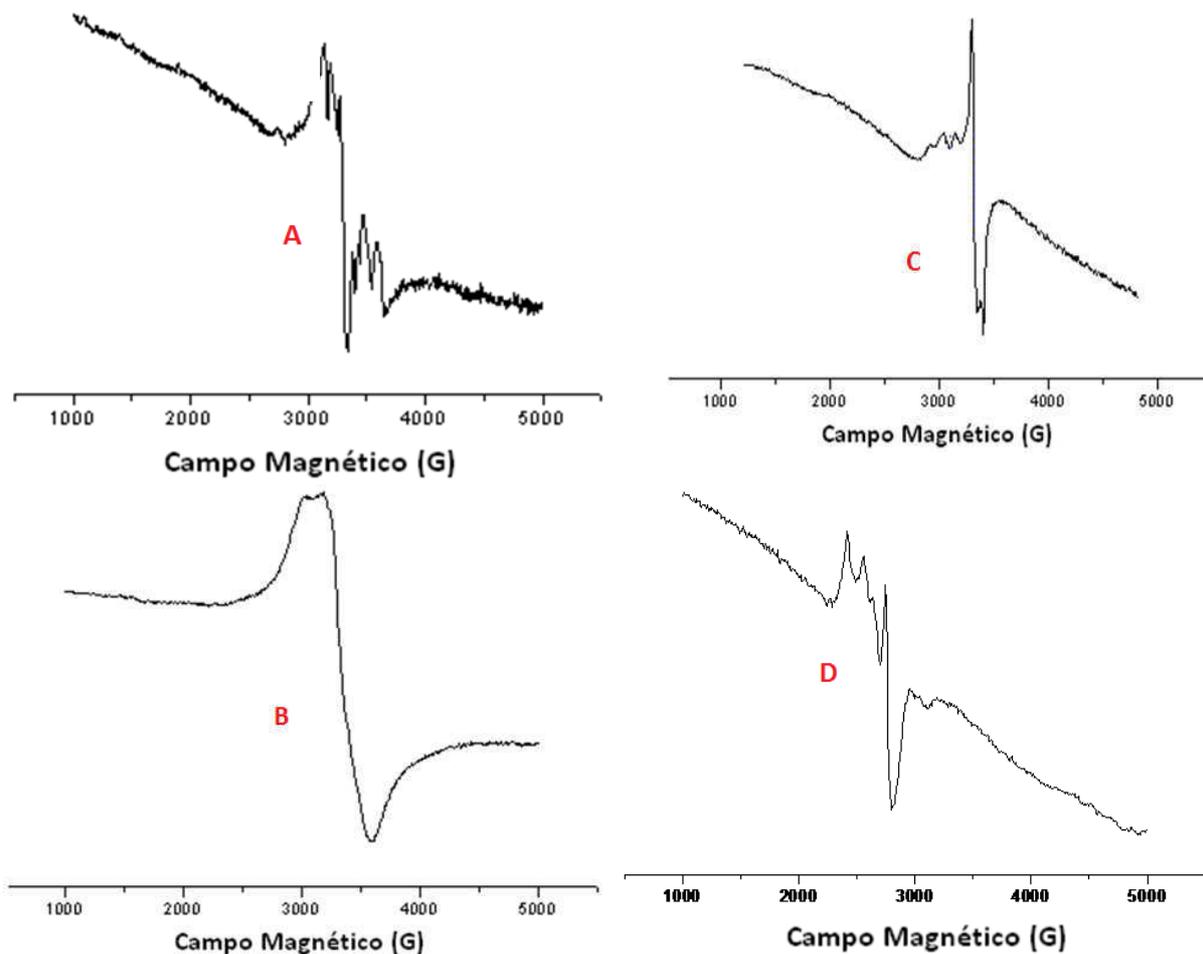


Figura 44 | Espectros de EPR dos complexos **C1** (A), **C2** (B), **C3** (C) e **C9** (D), realizados na forma sólida com frequência de 9,62 GHz.

Uma avaliação do estado de oxidação dos átomos de rutênio foi realizada através dos espectros de EPR para os complexos de rutênio dinucleares, com as duas metodologias para preparação descritas: obtenção de **C6** (adição de solução do ligante sobre o metal) e obtenção de **C6B** (adição do metal sobre o ligante), conforme já foi discutido nos resultados por voltametria cíclica. A superposição dos espectros de EPR de **C6** e de **C6B** é mostrada na Figura 45.

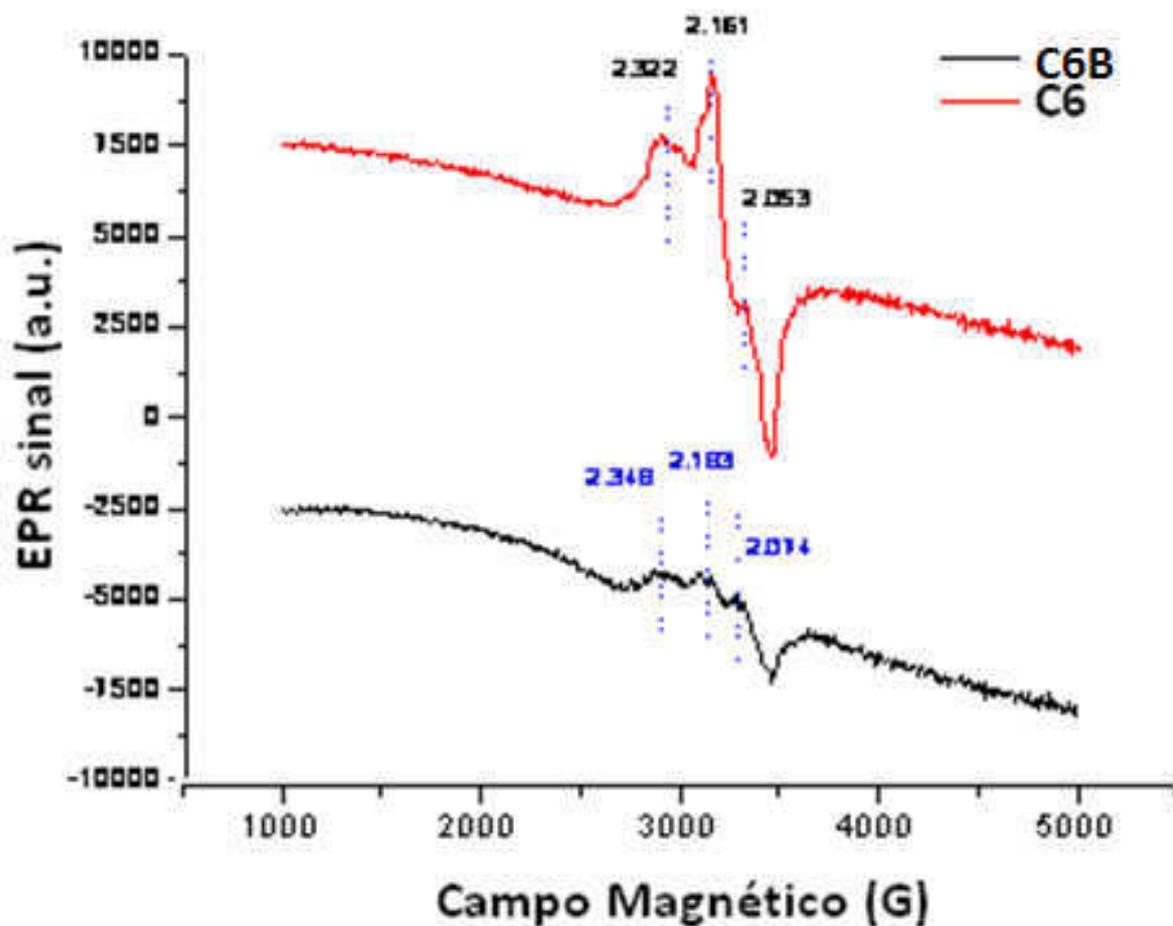


Figura 45 | Espectro de EPR dos complexos C6 e C6B realizados na forma sólida com frequência de 9,62 GHz.

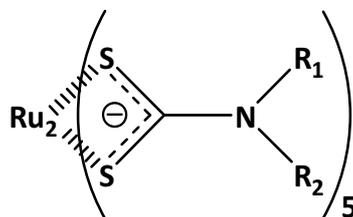
Os dados mostram sinais de intensidade menores para o complexo **C6B**, em uma similaridade dos sinais. Para o complexo **C6** a intensidade do sinal é cerca de três vezes maior que o **C6B**, sendo que a relação entre as áreas (integrando-se os valores de spin em cada espectro) é de 3,07; concluindo-se que houve a obtenção de complexos dinucleares Ru^{III}/Ru^{III} e pela diferença de intensidade, sugerindo a existência de duas forma isoméricas diferentes ou que no caso de **C6B** há redução de $Ru(III)$ para $Ru(II)$ mais rapidamente.

B. RESULTADOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

B.1| ATIVIDADE ANTIFÚNGICA – DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Todos os compostos sintetizados foram submetidos à avaliação da atividade antifúngica. Os resultados estão apresentados em forma de tabelas, onde os valores de CIM são dados em $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ e $10^{-8} \text{ mol}.\text{mL}^{-1}$ para cada composto estudado. Como os resultados obtidos mostram variabilidade do valor de CIM entre 10^{-6} e $10^{-9} \text{ mol}.\text{mL}^{-1}$, optou-se por mostrar os dados em forma de gráficos de colunas, onde os dados da CIM são transformados no seu valor logarítmico negativo (-LOG (CIM)). Desta forma tem-se uma visualização melhor da potência relativa observada em cada ensaio, pois quanto menor o valor de CIM, maior a altura da coluna do gráfico.

A avaliação geral dos resultados de susceptibilidade fúngica frente aos complexos de rutênio ditiocarbamatos estudados **C1-C9** (Figura 46) mostra a potencialidade dos compostos sintetizados como novos agentes antifúngicos. Nos ensaios de susceptibilidade com o cloreto de rutênio, este não apresentou atividade antifúngica.



C1: $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$

C2: $R_1 = R_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$

C3: $R_1 = \text{C}(\text{CH}_3)_3$ $R_2 = \text{H}$

C4: $R_1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ $R_2 = \text{H}$

C5: $R_1 = R_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$

C6: $R_1 = R_2 = -(\text{CH}_2)_4-$

C7: $R_1 = R_2 = -(\text{CH}_2)_5-$

C8: $R_1 = R_2 = -(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$

C9: $R_1 = R_2 = (\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5)_2$

Figura 46| Estruturas químicas dos complexos de rutênio estudados.

Na Tabela 24 (p. 100) são apresentados os resultados de atividade dos compostos testados contra sete espécies do gênero *Candida*. Na Tabela 25 e 26 (p. 101), têm-se os resultados para os isolados clínicos das espécies *Candida dubliniensis*, houve dificuldade no cultivo fúngico das linhagens, efetuando a avaliação antifúngica com todos os isolados somente para **C1, C2, L1 e L2**.

Tabela 25 | CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL $^{-1}$) contra *Candida* spp.

COMPOSTOS	<i>C. albicans</i>			<i>C. krusei</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>
	ATCC	119CL	01CL				
L1	16 (11,2)	<16 (11,2)	<16 (11,2)	16 (11,2)	128 (89,4)	64 (44,7)	-
C1	8 (1,00)	<16 (1,99)	<16 (1,99)	16 (1,99)	16 (1,99)	16 (1,99)	32 (3,98)
L2	16 (9,34)	<16 (9,34)	<16 (9,34)	16 (9,34)	64 (37,4)	64 (37,4)	-
C2	8 (0,85)	<16 (1,70)	<16 (1,70)	16 (1,70)	8 (0,85)	8 (0,85)	64 (6,78)
L3	64 (37,4)	32 (18,7)	32 (18,7)	128 (74,7)	32 (18,7)	>128 (74,7)	-
C3	64 (7,78)	128 (13,6)	128 (13,6)	64 (7,78)	64 (7,78)	32 (3,39)	256 (27,1)
L4	32 (20,5)	16 (10,2)	<16 (10,2)	64 (41,0)	32 (20,5)	64 (41,0)	-
C4	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	256 (29,3)
L5	128 (64,2)	32 (16,1)	32 (16,1)	>64 (32,1)	64 (32,1)	>128 (64,2)	-
C5	32 (2,95)	64 (5,90)	64 (5,90)	32 (2,95)	32 (2,95)	64 (5,90)	>256 (23,6)
L6	2 (1,18)	-	-	8 (4,73)	16 (9,45)	16 (9,45)	-
C6	4 (0,43)	<16 (1,71)	<16 (1,71)	16 (1,71)	8 (0,86)	8 (0,86)	-
L7	8 (4,37)	<16 (8,73)	<16 (8,73)	8 (4,37)	32 (17,5)	32 (17,5)	-
C7	4 (0,40)	<16 (1,59)	<16 (1,59)	16 (1,59)	8 (0,80)	8 (0,80)	-
L8	>128 (69,1)	-	-	>128 (69,1)	>128 (69,1)	>128 (69,1)	-
C8	64 (6,31)	64 (6,31)	128 (12,6)	64 (6,31)	32 (3,16)	64 (6,31)	-
L9	8 (2,99)	128 (47,9)	64 (23,9)	8 (2,99)	32 (12,0)	32 (12,0)	-
C9	64 (4,09)	64 (4,09)	64 (4,09)	32 (2,05)	64 (4,09)	64 (4,09)	-
AMB	0,5 (0,05)	1 (0,11)	0,5 (0,05)	0,25 (0,03)	0,5 (0,05)	1 (0,11)	0,5 (0,05)
FLC	1 (0,33)	1 (0,33)	32 (10,4)	1 (0,33)	1 (0,33)	32 (10,4)	1 (0,33)

–, os compostos não foram testados (principal fator foi a não viabilidade da cultura fúngica).

>, Indica que a concentração mencionada foi à concentração máxima testada, nessa concentração a substância não teve atividade de 100% de inibição.

<, Indica que a concentração mencionada foi à concentração mínima testada (considerando as 10 diluições testadas) e que nessa concentração a substância teve atividade de 100% de inibição.

Tabela 26 | CIM dos complexos de rutênio (C1 e C2) e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL⁻¹) contra amostras clínicas de *C. dubliniensis*

COMPOSTOS	<i>C. dubliniensis</i>				
	CD22	CD23	CD25	CD27	CD29
L1	8 (5,59)	4 (2,79)	8 (5,59)	4 (2,79)	8 (5,59)
C1	64 (7,96)	8 (1,00)	8 (1,00)	8 (1,00)	32 (3,98)
L2	8 (4,67)	4 (2,34)	8 (4,67)	8 (4,67)	8 (4,67)
C2	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	32 (3,39)	64 (6,78)
AMB	0,5 (0,05)	1 (0,11)	0,5 (0,05)	0,5 (0,05)	1 (0,11)
FLC	32 (10,4)	1 (0,33)	1 (0,33)	32 (10,4)	1 (0,33)

Tabela 27 | CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL⁻¹) contra a amostra clínica de *C. dubliniensis* CD28

	L1	C1	L2	C2	L3	C3	L4	C4	L5	C5
CD28	8 (5,59)	<16 (1,99)	8 (4,67)	<16 (1,70)	<16 (9,34)	64 (7,78)	<16 (10,2)	64 (7,32)	32 (16,1)	32 (2,95)
	L6	C6	L7	C7	L8	C8	L9	C9	AMB	FLC
CD28	<16 (9,45)	<16 (1,71)	<16 (8,73)	<16 (1,59)	>128 (69,1)	64 (6,31)	64 (23,9)	64 (4,09)	0,5 (0,05)	1 (0,33)

<, Indica que a concentração mencionada foi à concentração mínima testada (considerando as 10 diluições testadas) e que nessa concentração a substância teve atividade de 100% de inibição.

Os resultados da atividade antifúngica contra os isolados de *Candida albicans* (Gráfico 4, p. 102) mostram que na maioria dos ensaios (96%) a atividade antifúngica dos complexos de rutênio foi maior que a atividade dos ligantes livres. Pode-se observar também, que a espécie mais susceptível foi a espécie *C. albicans* ATCC (Tabela 24, p. 100) e que as amostras clínicas 119CL e 01CL tiveram susceptibilidades semelhantes. Considerando a atividade antifúngica dos complexos de rutênio contra essas três linhagens, temos a seguinte ordem decrescente da potência da CIM: C7, C6, C2, C1, C9, C5, C4, C8 e C3. Em todos os ensaios a anfotericina B (AMB) teve maior CIM que os complexos de rutênio. Na comparação com o fluconazol (FLC), os complexos C6 e C7 tiveram resultados semelhantes ($0,4 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) ao FLC ($0,3 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) contra a espécie de *C. albicans* ATCC. Na determinação das CIMs contra a espécie *C. albicans* 01CL, os compostos testados tiveram

resultados melhores (89% dos complexos e 56% dos ligantes) que o FLC. Cabe destacar, que entre as espécies do gênero *Candida*, as linhagens de *C. albicans* são as predominantes nas infecções fúngicas invasivas (IFIs).

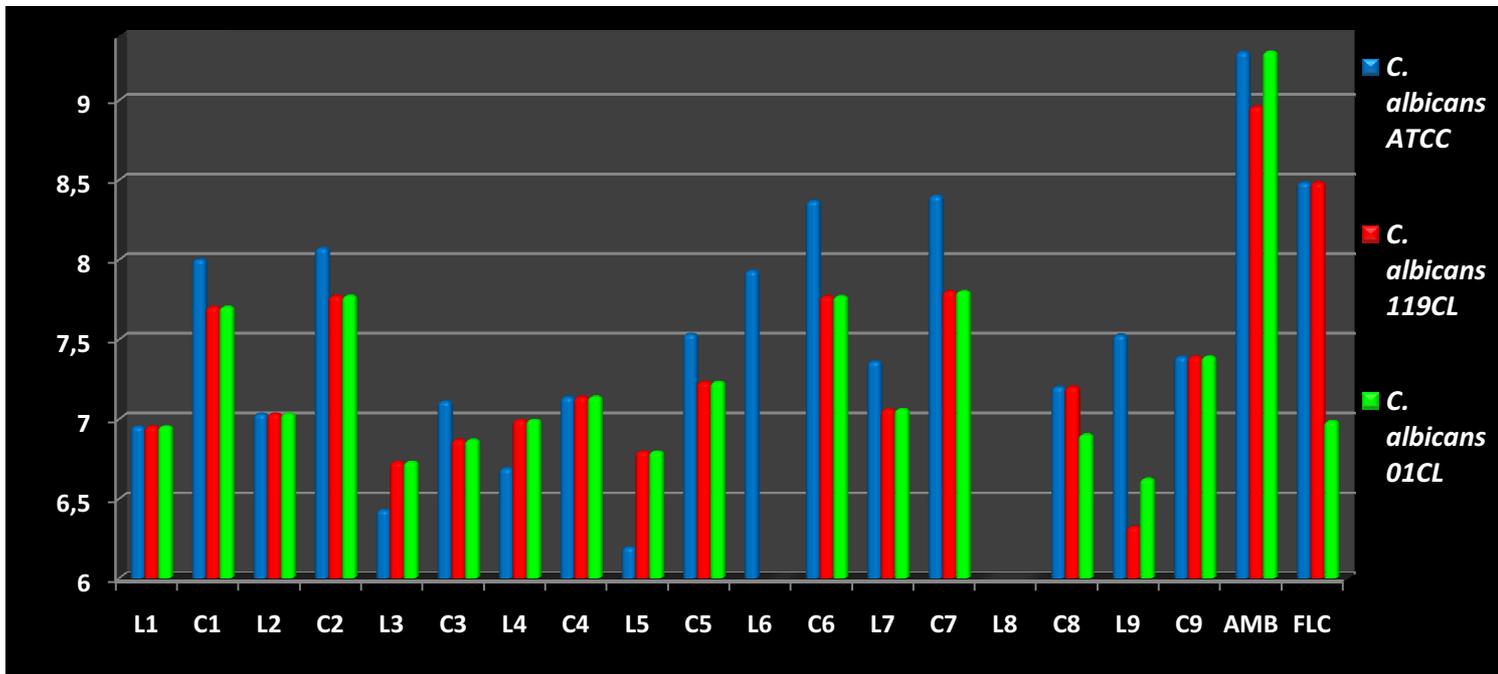


Gráfico 4 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra amostras de *Candida albicans*.

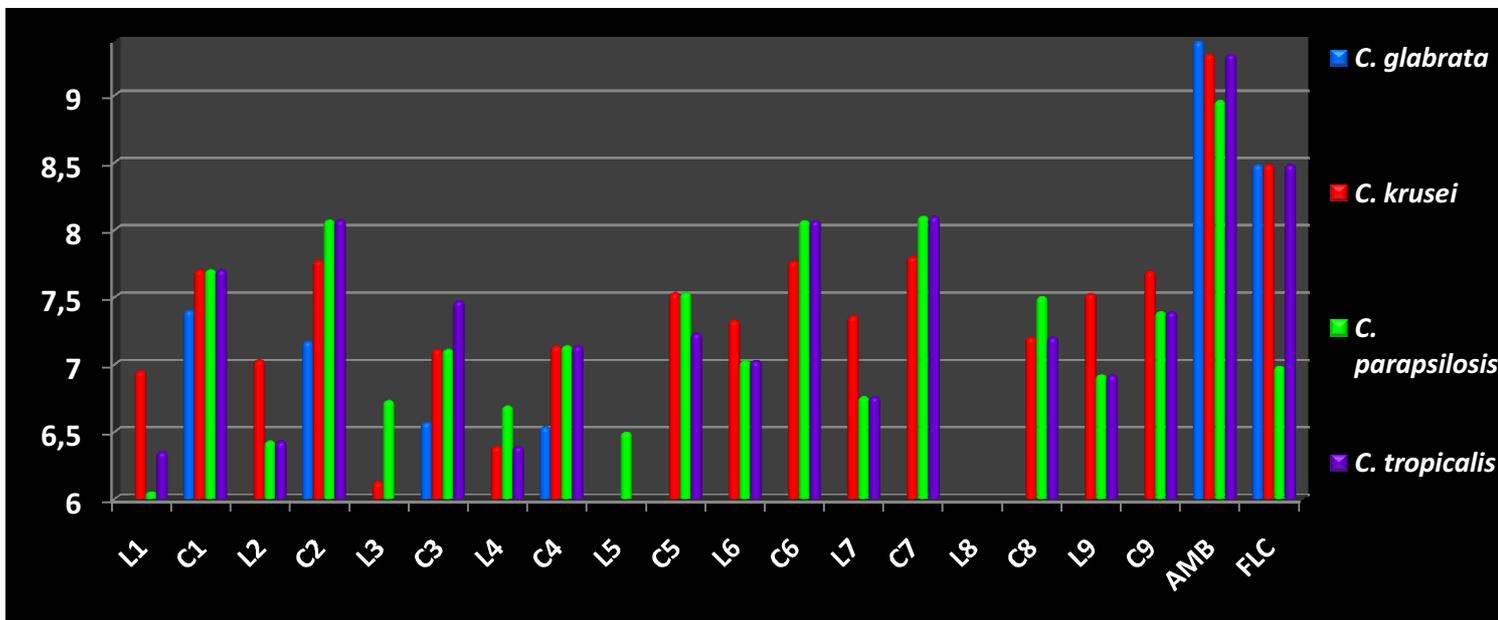


Gráfico 5 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*.

Os resultados obtidos no Gráfico 5 (contra as espécies de *Candida glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*), mostram a superioridade da atividade antifúngica dos

complexos de rutênio em relação aos ligantes ditiocarbamatos livres em todas as linhagens testadas. Os melhores resultados de inibição foram contra as espécies de *C. parapsilosis* e *C. krusei*.

Assim, como ocorrido com os resultados contra as linhagens de *C. albicans*, **C6**, **C7**, **C2** e **C1** foram os complexos mais ativos. Considerando a atividade antifúngica contra a espécie de *C. parapsilosis*, todos os complexos (100%) foram mais ativos que o FLC. Em muitos casos clínicos, o FLC é a primeira opção de fármaco em infecções causadas por patógeno com sensibilidade reduzida. Nas outras três espécies, os antifúngicos AMB e FLC tiveram maior inibição.

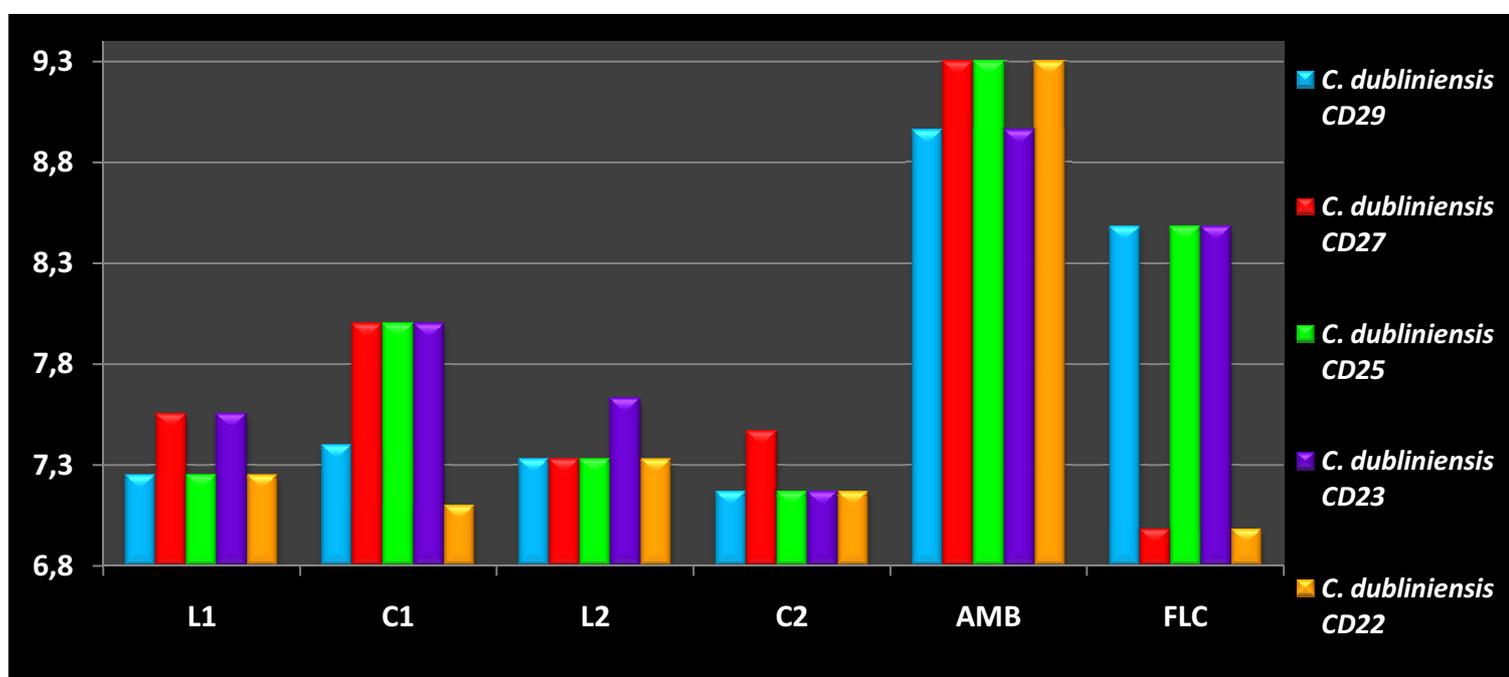


Gráfico 6 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra as amostras clínicas CD22, CD23, CD25, CD27 e CD29 da espécie de *C. dubliniensis*.

O teste antifúngico contra todas as espécies de *Candida dubliniensis* foi realizado inicialmente somente com os complexos **C1** e **C2** (os mais ativos entre os cinco primeiros complexos sintetizados) e seus respectivos ligantes livres (**L1** e **L2**) (**Gráfico 6**). Os resultados mostram maior potência de atividade do complexo **C1** em relação ao ligante **L1** em três isolados clínicos de *C. dubliniensis* (CD27, CD25 e CD23). A espécie mais susceptível foi *C. dubliniensis* CD27, considerando a atividade contra essa espécie, juntamente com a espécie *C. dubliniensis* CD22, os resultados mostram maior CIM dos compostos testados que o antifúngico FLC.

Nos ensaios posteriores, para determinação da atividade antifúngica, com os demais complexos e ligantes sintetizados, obteve-se sucesso no cultivo somente da linhagem *C. dubliniensis* CD28 (Gráfico 7). Os resultados mostram uma linearidade nos valores de atividade dos complexos de rutênio com cadeias alifáticas, sendo os complexos **C1** e **C2** os de maiores CIMs em relação aos ligantes **L1** e **L2**. Para os complexos de cadeias cíclicas, observa-se uma maior diferença, no aumento da potência de atividade comparando os complexos (**C6-C9**) com os respectivos ligantes livres (**L6-L9**). Neste ensaio nenhum dos compostos testados teve maior CIM que a AMB e o FLC.

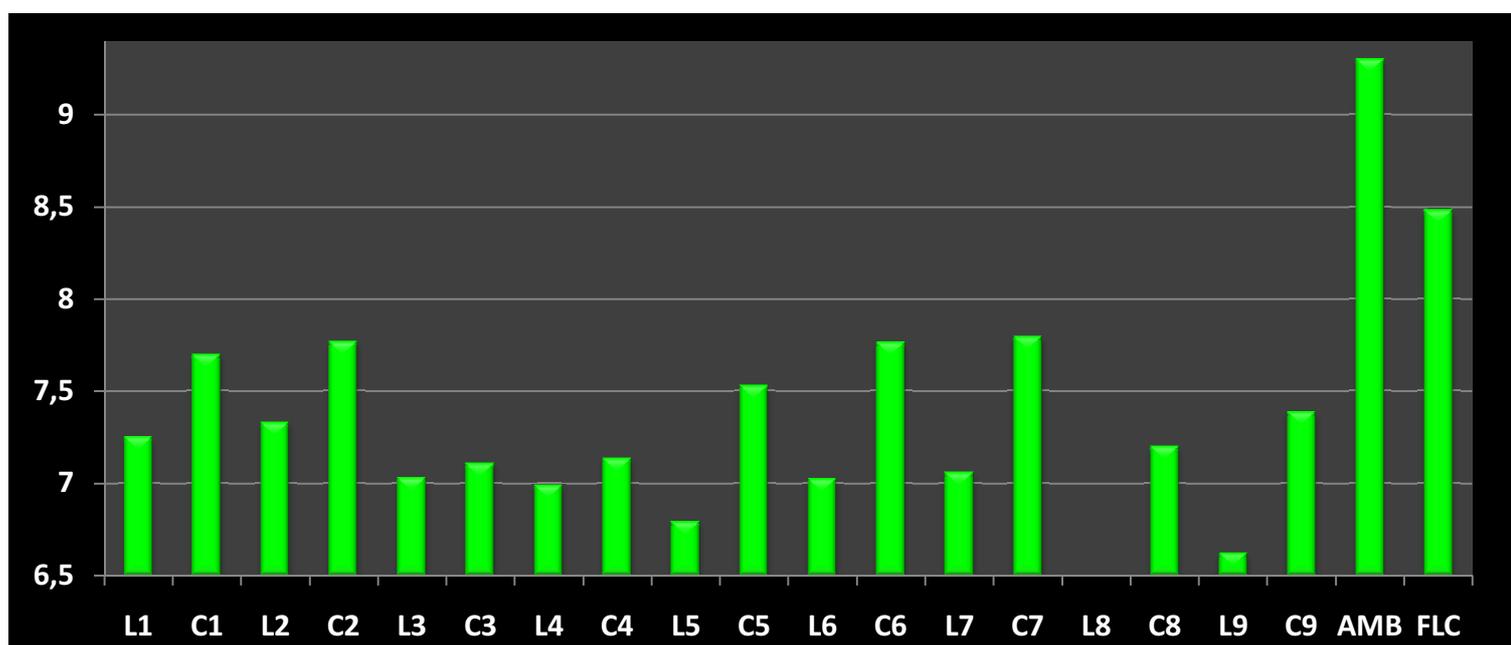


Gráfico 7 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra *Candida dubliniensis* amostra clínica CD28.

Diante de todos os resultados, dos ensaios contra seis espécies (total de treze linhagens distintas) do gênero *Candida* (Tabelas 24, 25 e 26; Gráficos 4, 5, 6 e 7), podemos destacar que ao se avaliar a potência antifúngica medida (dados CIM em 10^{-8} mol.L⁻¹) tem-se a seguinte ordem de atividade relativa: os complexos **C6**, **C7**, **C1** e **C2** foram os mais potentes (na faixa média de 1,12; 1,19; 2,45 e 3,59 x 10^{-8} mol.mL⁻¹, respectivamente) seguidos pelos complexos **C9**, **C5**, **C8** (3,80; 6,64 e 6,76 x 10^{-8} mol.mL⁻¹) e por fim os complexos **C4** e **C3** (10,07 e 11,10 x 10^{-8} mol.mL⁻¹).

Os resultados mostram que os compostos **C6**, **C7**, **C1** e **C2** apresentam potência antifúngica similar ao fluconazol (FLC) (0,33 x 10^{-8} mol.mL⁻¹), mas inferior à anfotericina B

(AMB) ($0,03 \times 10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$), fármacos utilizados clinicamente. Todavia, cabe ressaltar que AMB apresenta alta toxidez e é um fármaco de pouca estabilidade química. Comparando-se os resultados de atividade contra *Candida* spp. dos complexos **C1-C9** com os ligantes ditiocarbamatos livres correspondentes (**L1-L9**) pode-se observar a tendência geral, de que os complexos são mais potentes do que os ligantes (de 3 a 45 vezes).

Em análise preliminar de relação estrutura-atividade pode-se inferir que os complexos com ligantes N-monoalquilados (**C3** e **C4**) são os menos potentes. Os complexos com ligantes análogos N,N-dialquil-substituídos com padrão estrutural similar a um grupo etílico (**L7**: N-(CH₂)₅-; **L2**: N(CH₂CH₃)₂; **L6**: N-(CH₂)₄-) são os complexos de maior potência, juntamente com o derivado dimetílico **C1**. Os derivados com padrões de N,N-dialquilação dos ligantes com grupos mais volumosos (**L9**: N(CH₂-C₆H₅)₂ e **L5**: N(CH(CH₃)₂)₂) ou mais eletronegativo (**L8**: N-(CH₂)₂O(CH₂)₂-) apresentam uma potência intermediária. Pode-se concluir que fatores estéricos e eletrônicos influenciam a atividade antifúngica.

Cabe lembrar, que os resultados descritos por Menezes e colaboradores¹⁸⁸ para a avaliação da atividade antifúngica contra *C. albicans* ($2,5 - 320 \times 10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$) de complexos de estanho (IV) com ditiocarbamatos ([Sn{S₂CN(CH₂)₄}₂Cl₂]; [Sn{S₂CN(CH₂)₄}₂Ph₂]; [Sn{S₂CN(CH₂)₄}Ph₃]; [Sn{S₂CN(CH₂)₄}₂*n*-Bu₂]; [Sn{S₂CN(CH₂)₄}Cy₃] {Cy = ciclohexil}; [Sn{S₂CN(C₂H₅)₂}₂Cl₂]; [Sn{S₂CN(C₂H₅)₂}₂Ph₂]; [Sn{S₂CN(C₂H₅)₂}Ph₃]; [Sn{S₂CN(C₂H₅)₂}₃Ph] e [Sn{S₂CN(C₂H₅)₂}Cy₃] mostraram nível de potência antifúngica similar a menor, corroborando a importância de complexos de ditiocarbamatos com metais de transição como novos agentes antifúngicos potenciais.

No caso da avaliação dos dados da atividade antifúngica dos complexos sintetizados contra *Aspergillus* spp. (sete espécies e oito linhagens diferentes) também se obtiveram resultados de alta potência (**Tabela 27, p. 106**) Na avaliação dos resultados (**Gráfico 8, p. 107**), podemos destacar que em todos os ensaios (total de 108) os complexos de rutênio foram mais ativos que os ligantes ditiocarbamatos livres. A maior potência de atividade foi contra a espécie de *A. clavatus* e a espécie menos susceptível foi *A. flavus*.

Contra *A. fumigatus* ATCC e *A. clavatus* IC, **C2** e **C1** foram os mais ativos (**C1**: $0,85 \text{ e } 0,42 \times 10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$ e **C2**: $0,50 \text{ e } 7,96 \times 10^{-8} \text{ mol.mL}^{-1}$, respectivamente).

Tabela 28 | CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL⁻¹) contra *Aspergillus* spp.

COMPOSTOS	<i>A. fumigatus</i>		<i>A. clavatus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. tamaritii</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. nomius</i>
	ATCC	IC						
L1	16 (11,2)	<16 (11,2)	128 (89,4)	128 (89,4)	16 (11,2)	64 (44,7)	>512 (358)	512 (358)
C1	64 (7,96)	64 (7,96)	4 (0,50)	64 (7,96)	16 (1,99)	32 (3,98)	>512 (63,7)	>512 (63,7)
L2	32 (18,7)	16 (9,34)	64 (37,4)	128 (74,7)	<16 (9,34)	64 (37,4)	>512 (299)	>512 (299)
C2	8 (0,85)	64 (6,78)	4 (0,42)	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	>512 (54,2)	>512 (54,2)
L3	>128 (74,7)	128 (74,7)	>128 (74,7)	>128 (74,7)	>128 (74,7)	>128 (74,7)	-	-
C3	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	-	-
L4	128 (81,9)	64 (41,0)	>128 (81,4)	>128 (81,4)	128 (81,4)	>128 (81,4)	-	-
C4	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	-	-
L5	>128 (64,2)	128 (64,2)	>128 (64,2)	>128 (64,2)	128 (64,2)	>128 (64,2)	-	-
C5	32 (2,95)	32 (2,95)	32 (2,95)	64 (5,90)	16 (1,48)	32 (2,95)	-	-
L6	32 (18,9)	<16 (9,45)	>128 (75,6)	>128 (75,6)	<16 (9,45)	64 (37,8)	-	-
C6	<16 (1,71)	<16 (1,71)	<16 (1,71)	64 (6,85)	<16 (1,71)	32 (3,43)	-	-
L7	16 (8,73)	16 (8,73)	32 (17,5)	64 (34,9)	<16 (8,73)	32 (17,5)	-	-
C7	-	-	-	-	-	-	-	-
L8	>128 (69,1)	>128 (69,1)	>128 (69,1)	>128 (69,1)	>128 (69,1)	>128 (69,1)	-	-
C8	64 (6,31)	64 (6,31)	64 (6,31)	64 (6,31)	64 (6,31)	64 (6,31)	-	-
L9	16 (5,98)	16 (5,98)	64 (23,9)	64 (23,9)	16 (5,98)	64 (23,9)	-	-
C9	64 (4,09)	64 (4,09)	64 (4,09)	64 (4,09)	64 (4,09)	64 (4,09)	-	-
AMB	1 (0,11)	0,25 (0,03)	0,03 (0,003)	1 (0,11)	1 (0,11)	0,25 (0,03)	2 (0,22)	1 (0,11)
FLC	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)	>128 (41,8)

–, os compostos não foram testados (principal fator foi a não viabilidade da cultura fúngica).

>, Indica que a concentração mencionada foi à concentração máxima testada, nessa concentração a substância não teve atividade de 100% de inibição.

<, Indica que a concentração mencionada foi à concentração mínima testada (considerando as 10 diluições testadas) e que nessa concentração a substância teve atividade de 100% de inibição.

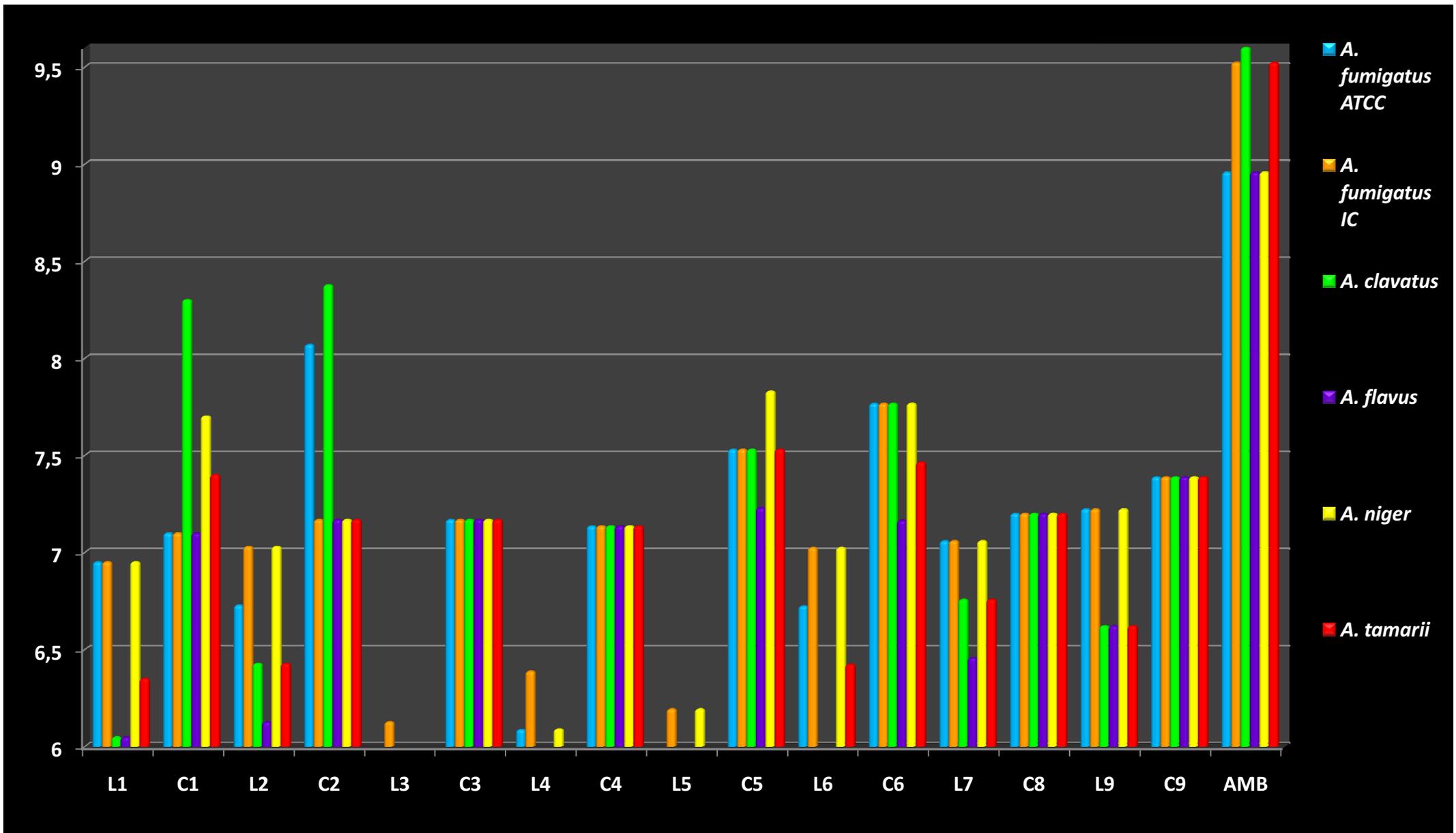


Gráfico 8 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra *Aspergillus* spp.

Em análise geral dos resultados da atividade antifúngica dos complexos de rutênio estudados contra todas as outras espécies de *Aspergillus*, observa-se, como para *Candida* spp., que também há uma sub-série mais potente, que engloba os compostos **C6**, **C5** e **C9** (faixa média de CIM de 2,85; 3,20 e 4,09 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹, respectivamente) e outra sub-série seguida dos compostos **C2**, **C1**, **C8**, **C3** e **C4** (4,73; 5,06 e 6,31; 6,78 e 7,32 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹). A atividade do derivado piperidínico **C7** não pode ser avaliada por contaminação dos experimentos.

É digno de nota que os resultados encontrados confirmam a potencialidade de complexos de ditiocarbamatos como agentes antifúngicos, pois como já constatado, nos estudos pioneiros de Klöpping e van der Kerk¹²⁴, os complexos de ferro, zinco e selênio com os ligantes dimetil- (**L1**) e dietil-ditiocarbamatos (**L2**) eram cerca de 58% mais ativos que os ligantes livres contra *Aspergillus niger* e outros fungos. Para os compostos estudados, os complexos mostraram-se de 5 a 180 vezes mais potentes que os ligantes livres correspondentes contra *Aspergillus* spp.

Comparativamente à AMB (0,003 - 0,22 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹ para todas as linhagens testadas), antifúngico clinicamente usado contra aspergilose, somente o complexo **C2** mostrou-se similarmente ativo (0,85 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹ contra *A. fumigatus* ATCC). Avaliando-se influências da estrutura molecular dos complexos sobre a atividade observada contra *Aspergillus* spp. observa-se que neste caso os complexos, com ligantes contendo substituintes mais volumosos (**L6**: N-(CH₂)₄-; **L5**: N(CH(CH₃)₂)₂) e **L9**: N-(CH₂C₆H₅)₂-), foram os mais ativos evidenciando uma influência maior de fatores estéricos sobre a atividade antifúngica.

No teste contra os fungos isolados clínicos da espécie de *Paracoccidioides brasiliensis*, o ensaio de susceptibilidade foi efetuado com sete linhagens de amostras clínicas (**Tabela 28, p. 109** e **Gráfico 9, p. 110**), os resultados da atividade antifúngica dos ligantes ditiocarbamatos **L1**, **L2** e **L7** foram comparados aos de seus respectivos complexos de rutênio **C1**, **C2** e **C7**, sendo que, os complexos mostraram-se de 3 a 180 vezes mais potentes que os ligantes livres. Além disso, também se efetuou a avaliação antifúngica dos demais complexos. A ordem de potência antifúngica para todos os complexos é: **C2**, **C7**, **C6** e **C1** (na

faixa média de CIM de 0,97; 1,59; 1,71 e 2,84 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹, respectivamente), seguida pelos complexos **C5**, **C3**, **C9**, **C4** e **C8** (5,90; 6,78; 7,16; 7,32 e 11,03 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹).

Tabela 29 | CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em µg.mL⁻¹ (10⁻⁸ mol.mL⁻¹) contra amostras clínicas de *Paracoccidioides*

COMPOSTOS	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>						
	MG05	PB01	PB18	PB1017	608	B339	MG04
L1	16 (11,2)	256 (179)	64 (44,7)	128 (89,4)	16 (11,2)	32 (22,3)	32 (22,3)
C1	16 (1,99)	32 (3,98)	16 (1,99)	32 (3,98)	32 (3,98)	16 (1,99)	16 (1,99)
L2	128 (74,7)	>512 (299)	>512 (299)	>512 (299)	>512 (299)	128 (74,7)	128 (74,7)
C2	4 (0,42)	8 (0,85)	<16 (1,70)	8 (0,85)	16 (1,70)	4 (0,42)	8 (0,85)
C3	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	64 (6,78)	-	-	-
C4	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	64 (7,32)	-	-	-
C5	64 (5,90)	64 (5,90)	64 (5,90)	64 (5,90)	-	-	-
C6	<16 (1,71)	<16 (1,71)	<16 (1,71)	<16 (1,71)	-	-	-
L7	64 (34,9)	64 (34,9)	64 (34,9)	64 (34,9)	-	-	-
C7	<16 (1,59)	<16 (1,59)	<16 (1,59)	<16 (1,59)	-	-	-
C8	128 (12,6)	64 (6,31)	128 (12,6)	128 (12,6)	-	-	-
C9	128 (8,18)	64 (4,09)	128 (8,18)	128 (8,18)	-	-	-
Ru	>512 (196)	>512 (196)	>512 (196)	>512 (196)	>512 (196)	>512 (196)	>512 (196)
FLC	8 (2,61)	4 (1,31)	8 (2,61)	8 (2,61)	4 (1,31)	4 (1,31)	4 (1,31)

–, os compostos não foram testados (principal fator foi a não viabilidade da cultura fúngica).

>, Indica que a concentração mencionada foi à concentração máxima testada, nessa concentração a substância não teve atividade de 100% de inibição.

<, Indica que a concentração mencionada foi à concentração mínima testada (considerando as 10 diluições testadas) e que nessa concentração a substância teve atividade de 100% de inibição.

Neste ensaio, em comparação com o FLC (atividade de 1,31 a 2,61 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹) os complexos **C2** e **C7** tiveram atividade em nível similar ou até superior ao FLC. A avaliação de efeitos estruturais sobre a atividade antifúngica mostrou resultados similares aos encontrados para *Candida* spp. para os derivados **C2**, **C7**, **C6** e **C1**, contudo para *P. brasiliensis* os complexos **C9** e **C8**, com substituintes mais volumosos e mais eletronegativos (grupos fenilas e átomo de oxigênio no anel morfolínico) foram os menos potentes.

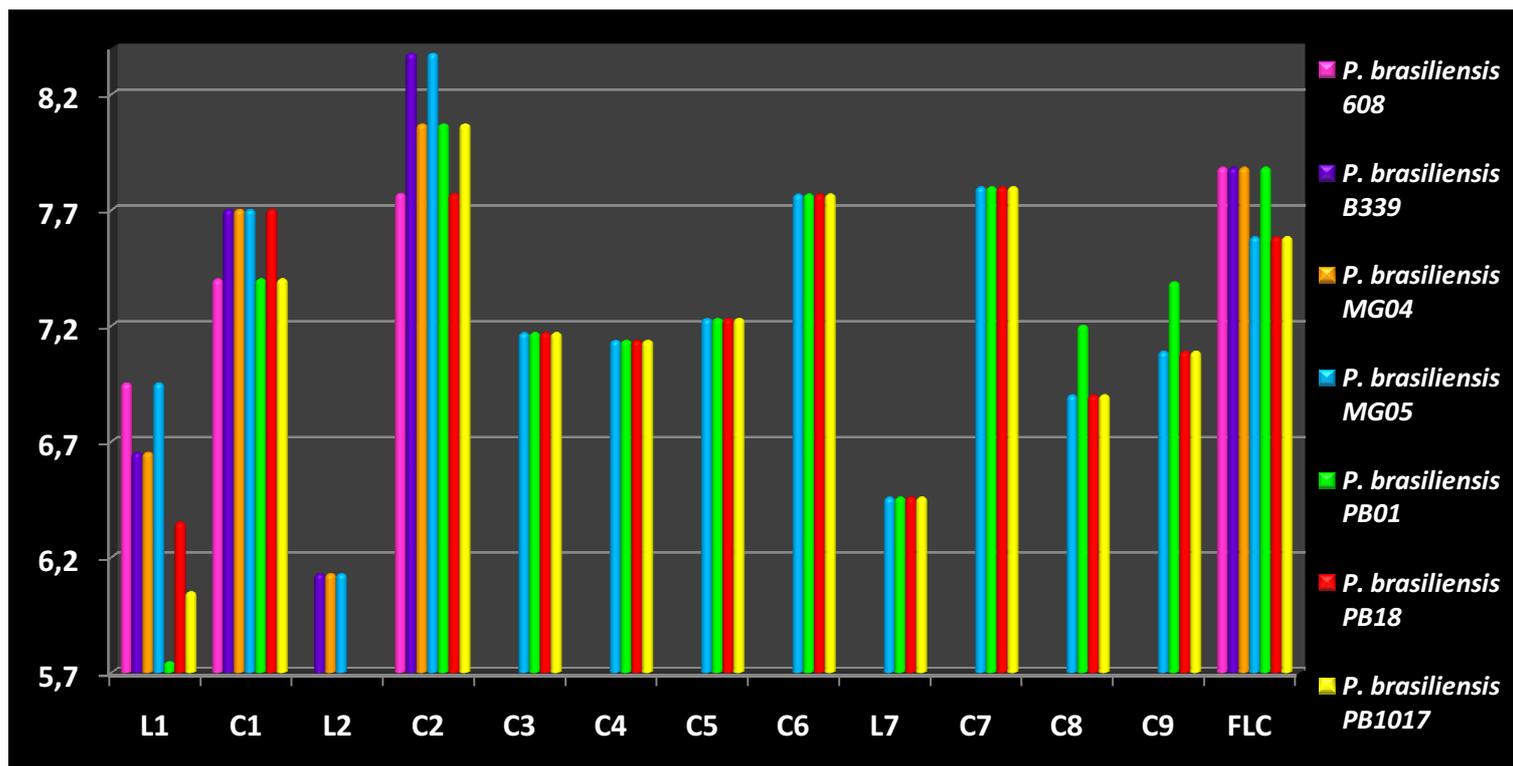


Gráfico 9 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra amostras clínicas de *Paracoccidioides brasiliensis*.

Realizou-se a investigação da suscetibilidade de *Cryptococcus neoformans* frente aos complexos sintetizados (Tabela 29).

Tabela 30 | CIM dos complexos de rutênio e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL⁻¹) contra *Cryptococcus* sp.

COMPOSTOS	<i>C. neoformans</i>	COMPOSTOS	<i>C. neoformans</i>
L1	<16 (11,2)	L6	<16 (9,45)
C1	<16 (1,99)	C6	<16 (1,71)
L2	<16 (9,34)	L7	<16 (8,73)
C2	<16 (1,70)	C7	<16 (1,59)
L3	<16 (9,34)	L8	64 (34,5)
C3	64 (6,78)	C8	32 (3,16)
L4	<16 (10,2)	L9	>128 (47,9)
C4	32 (3,66)	C9	16 (1,02)
L5	32 (16,1)	FLC	2 (0,65)
C5	16 (1,48)		

<, Indica que a concentração mencionada foi à concentração mínima testada (considerando as 10 diluições testadas) e que nessa concentração a substância teve atividade de 100% de inibição.

Os resultados mostram que o derivado **C9** foi o complexo mais ativo ($1,02 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) sendo quase tão potente quanto o FLC ($0,65 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹). Em seguida, os derivados **C5**, **C7**, **C2**, **C6** e **C1** apresentaram potência em nível similar de $1,48$ a $1,99 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) e os derivados menos potentes são **C8**, **C4** e **C3** (faixa média de CIM de $3,16$; $3,66$ e $6,78 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹, respectivamente). Em todos os resultados comparando a atividade dos ligantes livres com os complexos correspondentes, contra isolados de *C. neoformans*, estes se apresentaram de 3 a 11 vezes menos potentes do que os complexos correspondentes (Gráfico 10).

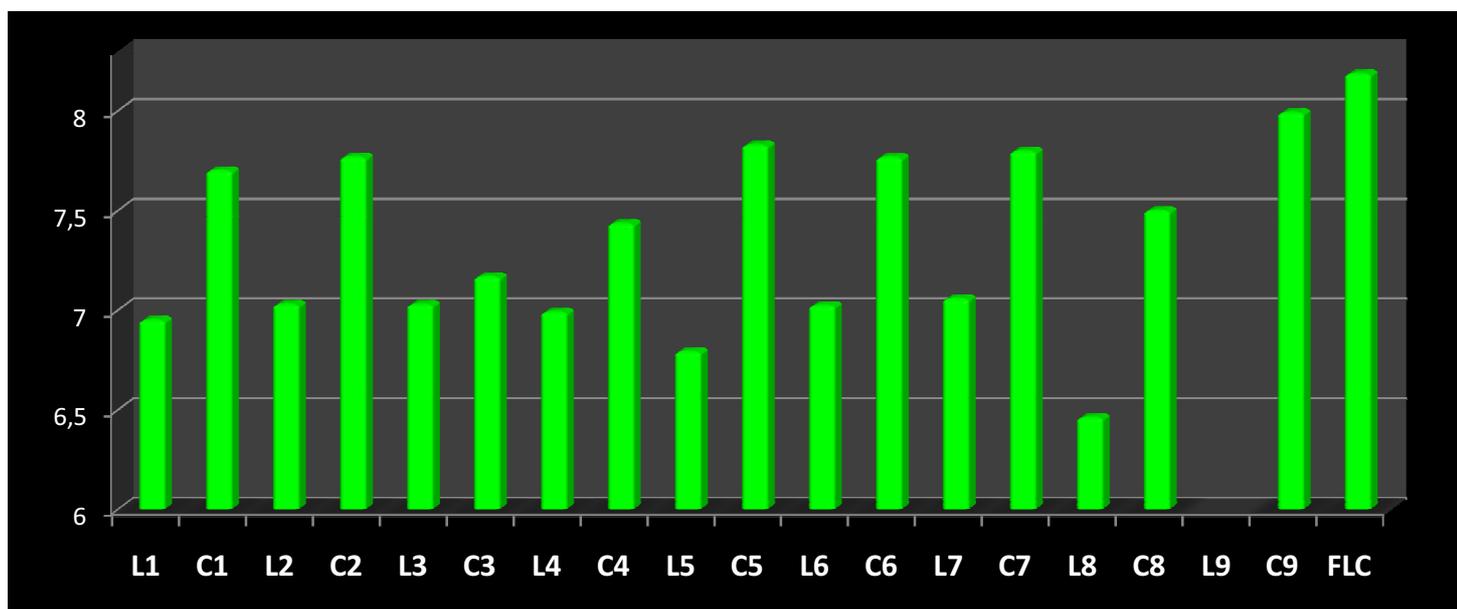


Gráfico 10| Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra *Cryptococcus neoformans*.

A análise de relações estrutura-atividade, para os complexos mais potentes contra *C. neoformans*, mostra que há grande correlação entre a atividade antifúngica e o efeito estérico dos N,N-dialquil-substituintes. De fato, tem-se a ordem de atividade **C9** > **C5** > **C7** > **C2** > **C6** equivalente à ordem de volume estereoquímico dos ligantes correspondentes **L9** (N-(CH₂C₆H₅)₂-) > **L5** (N(CH(CH₃)₂)₂) > **L7** (N-(CH₂)₅-) > **L2** (N-(CH₂CH₃)₂-) > **L6** (N-(CH₂)₄-).

No caso de *Sporothrix schenckii* efetuaram-se os estudos para avaliação da atividade antifúngica somente de **C1** a **C5**, os derivados acíclicos; para os outros complexos não se conseguiu reprodutibilidade no cultivo fúngico (Tabela 30, p. 112).

Tabela 31 | CIM dos complexos de rutênio (C1-C5) e os respectivos ligantes ditiocarbamatos em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (10^{-8} mol.mL $^{-1}$) contra *Sporothrix* sp.

COMPOSTOS	<i>S. schenckii</i>
L1	2 (1,40)
C1	8 (1,00)
L2	8 (4,67)
C2	8 (0,85)
C3	256 (27,1)
C4	125 (14,7)
C5	>256 (23,6)
FLC	2 (0,65)

>, Indica que a concentração mencionada foi à concentração máxima testada, nessa concentração a substância não teve atividade de 100% de inibição.

Os resultados mostraram que **C2** e **C1** são os complexos mais potentes ($0,85$ e $1,00 \times 10^{-8}$ mol.mL $^{-1}$) e **C4** e **C3** apresentaram nível de potência intermediária ($14,7$ e $27,1 \times 10^{-8}$ mol.mL $^{-1}$). No caso de **C5** até a concentração testada (256×10^{-6} g.mL $^{-1}$ ou $23,6 \times 10^{-8}$ mol.mL $^{-1}$) não se observou atividade antifúngica. Diante dos resultados de **C1** e **C2** efetuaram-se as determinações das CIMs para os ligantes livres correspondentes **L1** e **L2** (Tabela 30), onde se observou que **C2** foi 40% mais potente do que **L2** e que **C1** foi 5,5 vezes mais potente que **L1**.

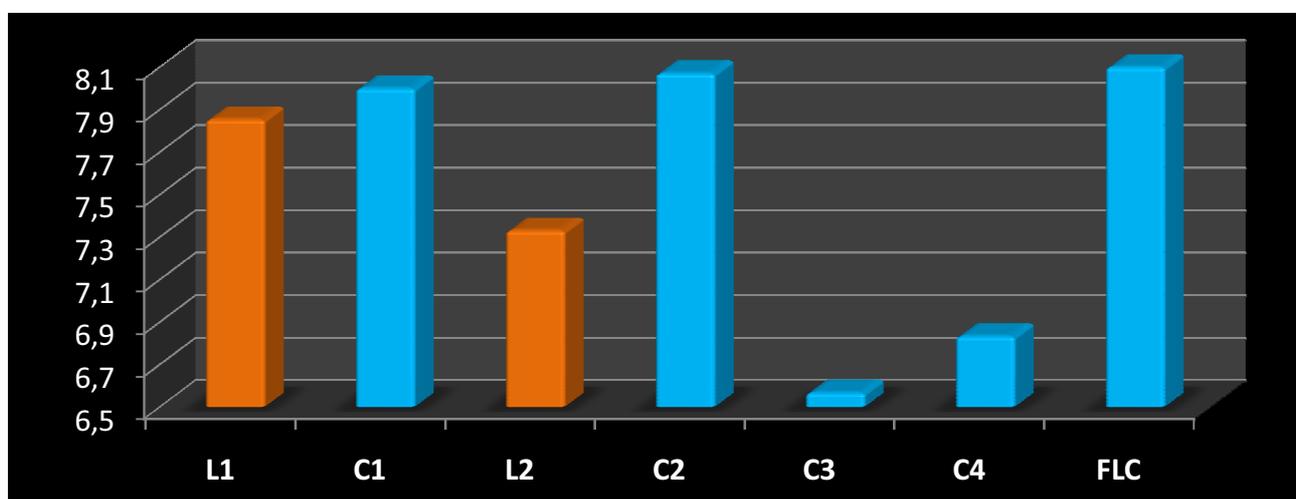


Gráfico 11 | Atividade antifúngica (-LOG CIM) dos compostos estudados contra *Sporothrix schenckii*.

Inicialmente, em ensaios preliminares da susceptibilidade frente ao cloreto de rutênio (sal gerador dos complexos estudados) mostrou para *Paracoccidioides brasiliensis* que este sal não apresenta atividade antifúngica até a concentração testada (512×10^{-6} g.mL $^{-1}$).

Em uma avaliação preliminar geral, entre os dados eletroquímicos obtidos pela técnica de voltametria cíclica e os valores da CIM, consegue-se estabelecer que o complexo **C6** (pirrolidínico), que é dentre os complexos investigados, um dos mais ativos contra todos os fungos estudados, apresenta o menor potencial catódico referente a redução Ru(III)/Ru(II) ($E_{pc} = -0,81V$ vs Ag/AgCl), seguido do complexo **C5** (diisopropil) com o segundo menor potencial catódico ($E_{pc} = -0,90 V$ vs Ag/AgCl) (**Tabela 23, p. 94**) estando estes, entre os complexos mais ativos contra várias linhagens testadas. Isto pode significar que a redução Ru(III)/Ru(II) pode ser um dos mecanismos de ação influentes na atividade biológica observada.

B.2| ATIVIDADE ANTIFÚNGICA – TESTE DE INIBIÇÃO DA CAPACIDADE DE ADESÃO

A seguir são apresentados os resultados obtidos dos ensaios da atividade de inibição da capacidade de adesão dos complexos **C1** e **C2** e seus respectivos ligantes (**L1** e **L2**) contra os fungos: *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* (amostras clínicas: CD27 e CD22), cabe ressaltar que estes complexos estão entre os mais ativos nos ensaios anteriores. Na **Tabela 31** são apresentados os resultados obtidos com os ensaios de determinação da CIM, esses valores são apresentados em $\mu g.mL^{-1}$ e são usados como referência para o ensaio da capacidade de adesão dos compostos. Cabe destacar que na origem de uma infecção fúngica oral, por exemplo, candidíase oral, a primeira etapa antes da consolidação da infecção é adesão dos fungos ao tecido, o que torna relevante este estudo do teste de inibição da capacidade de adesão.

Tabela 32| Concentração Inibitória Mínima ($\mu g.mL^{-1}$) utilizada como concentração de referência para o ensaio de inibição da capacidade de adesão

ESPÉCIES	FLC	AMB	L1	C1	L2	C2
<i>C. albicans</i>	0,25	0,06	16	16	16	16
<i>C. tropicalis</i>	2	1	32	32	16	16
<i>C. parapsilosis</i>	1	0,5	64	64	16	16
<i>C. dubliniensis</i> (CD27)	0,5	0,5	4	16	8	32
<i>C. dubliniensis</i> (CD22)	0,5	0,5	8	64	8	64

Como controle positivo além de FLC e AMB, utilizou-se DMSO com uma diluição de 1:50. Na **Tabela 32 (p. 114)** estão descritos os valores dos números de leveduras aderidas a 50 CEB. SD indica o meio Sabouraud Dextrose, sendo como controle negativo de inibição do crescimento. Após análise dos resultados, podemos ter os valores de células aderidas em

comparação com o controle de crescimento (SD), os resultados são expressos em porcentagem na **Tabela 33**.

Como anteriormente, optou-se por mostrar os dados em forma de gráfico de coluna (**Gráfico 12, p. 115**), onde os dados de porcentagem de adesão dos compostos são correlacionados com os antifúngicos e com os microorganismos testados. Desta forma tem-se uma visualização melhor da potência relativa observada no ensaio.

Tabela 33 | Números de leveduras aderidas a 50 células epiteliais bucais (CEB)

COMPOSTOS	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. dubliniensis</i> (CD27)	<i>C. dubliniensis</i> (CD22)
L1	140	32	92	68	31
C1	120	99	105	50	42
L2	100	28	136	73	82
C2	73	35	161	55	43
DMSO	85	50	139	103	93
SD	166	102	145	106	78
FLC	118	63	123	35	49
AMB	27	14	72	30	17

Tabela 34 | Percentual de adesão celular a 50 células epiteliais bucais.

COMPOSTOS	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. dubliniensis</i> (CD27)	<i>C. dubliniensis</i> (CD22)
L1	84	31	63	64	40
C1	72	97	72	47	54
L2	60	27	94	69	105
C2	44	34	111	52	55
DMSO	51	49	96	97	119
SD	100	100	100	100	100
FLC	71	62	85	33	63
AMB	16	14	50	28	22

A AMB tem alta porcentagem de inibição em todas as linhagens, cabe ressaltar que a AMB é muito tóxica, em muitos casos clínicos a AMB é usada em pacientes de uso contínuo do FLC, onde o FLC não apresenta eficiência terapêutica (já existe a resistência aos microorganismos). Comparando os compostos sintetizados com o FLC, no geral, estes apresentam eficácia na inibição da capacidade de adesão em 50% dos ensaios. Entre os complexos, o C2 teve maior potência que o C1. Cabe destacar os resultados (Tabela 33, p. 114) do complexo C2 contra *C. albicans* com capacidade de inibição de 27% maior que o FLC e 16% maior que o ligante livre L1. Contra *C. parapsilosis* e *C. dubliniensis* CD22, o complexo C2 foi mais ativo que o FLC em 28 e 8% respectivamente.

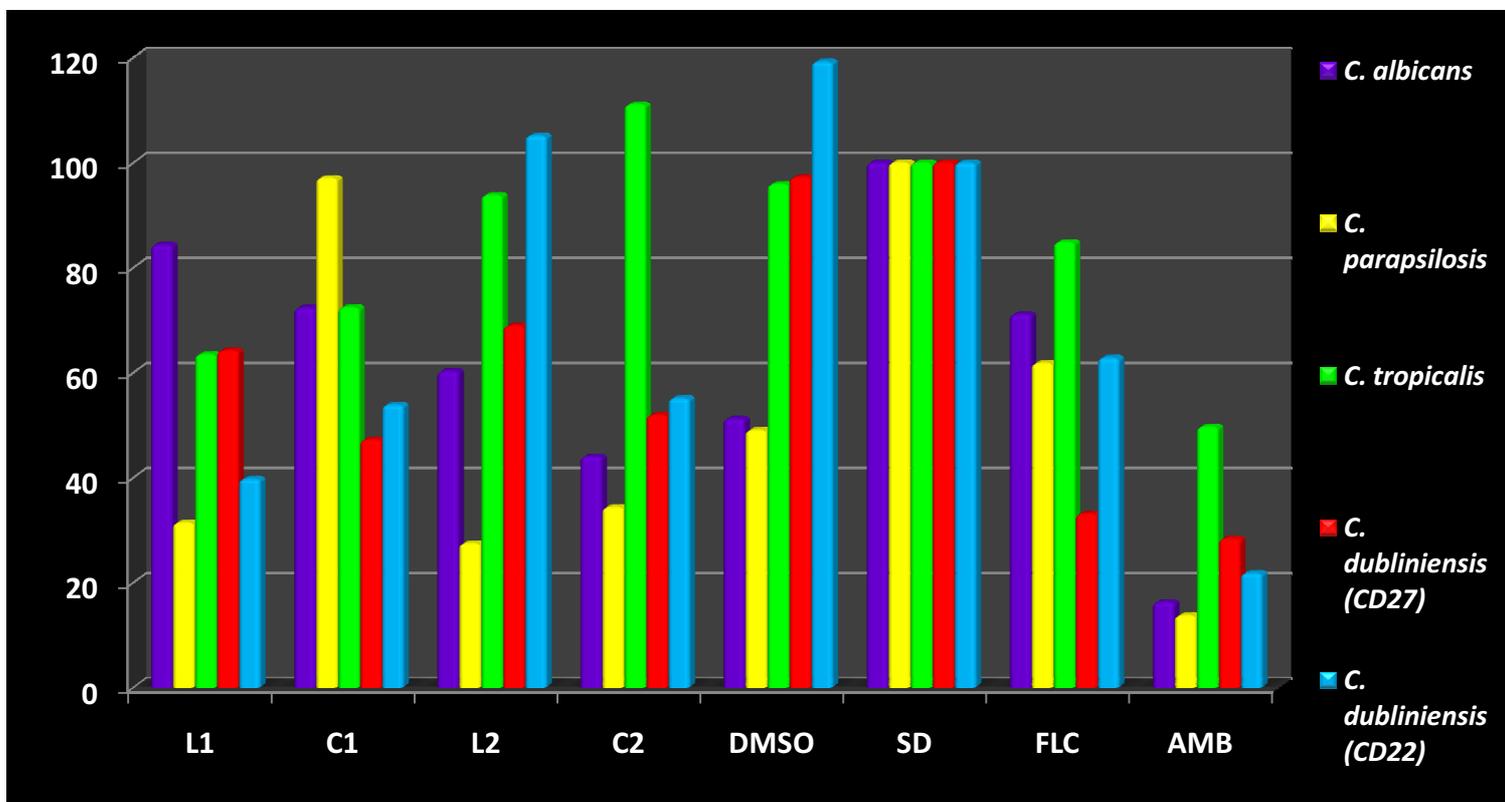


Gráfico 12 | Percentual da capacidade de adesão celular a 50 células epiteliais bucais.

B.3| ATIVIDADE CITOTÓXICA – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA DE 50% DA POPULAÇÃO CELULAR (IC₅₀)

A seguir são apresentados os resultados obtidos nos ensaios da atividade citotóxica e antitumoral dos complexos **C1**, **C2**, **C3**, **C4** e **C5**. Contra as seguintes linhagens tumorais:

- ✓ B₁₆F₁₀ – melanoma de alto potencial metastático murino
- ✓ Mewo – melanoma humano
- ✓ MCF-7 – adenocarcinoma mamário estrógeno-dependente humano
- ✓ MDA-MB-231 – adenocarcinoma mamário humano
- ✓ A549 – carcinoma de pulmão humano

E as linhagens saudáveis:

- ✓ BHK₁₁ – epitélio de rim de hãmsster
- ✓ CHO – epitélio de ovário de hãmsster chinês

As **Figuras 47 e 48 (p. 117)** ilustram o procedimento descrito e mostra o resultado dos ensaios de duas placas referentes às linhagens MDA-MB-231 e MCF-7 respectivamente, na **Figura 47** observa-se a atividade do composto **C2** e na **Figura 48 (p. 117)** o resultado para o composto **C5**. Ao lado, os Gráficos **13 e 14 (p. 117)** mostram o efeito citotóxico (curva de letalidade) sobre as linhagens testadas, utilizados para obtenção da Concentração Inibitória de 50% da população celular (IC₅₀).

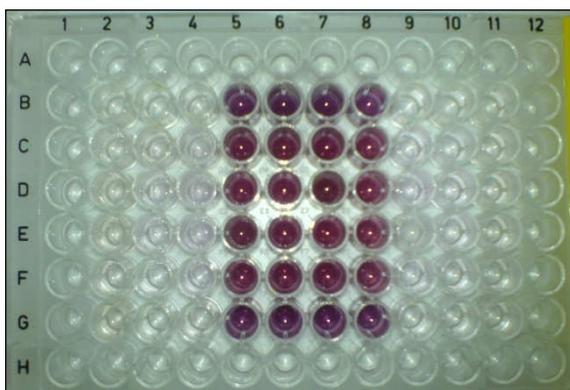


Figura 47 | Imagem da placa Elisa mostrando o resultado obtido com o complexo C2 contra a linhagem MDA-MB-231.

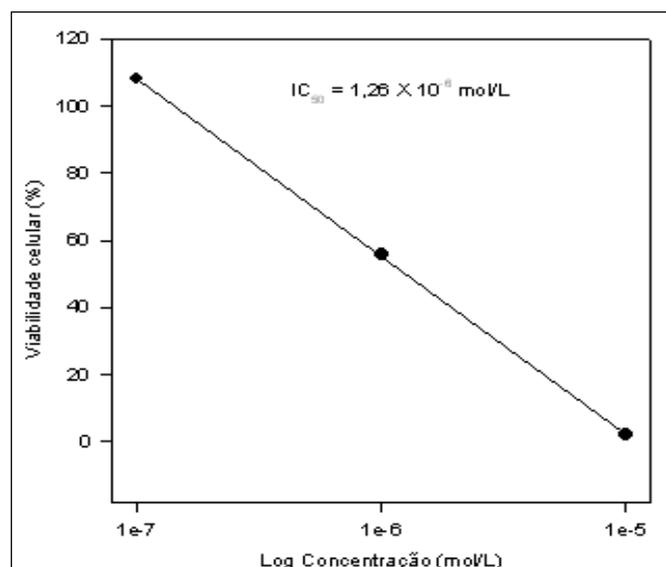


Gráfico 13 | Gráfico viabilidade celular vs Log da concentração do complexo C2 sobre células MDA-MB-231.

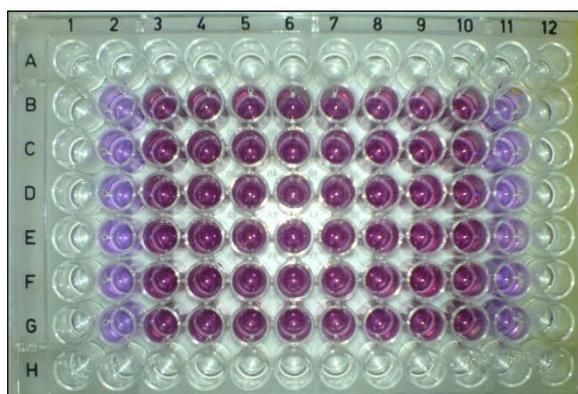


Figura 48 | Imagem da placa Elisa mostrando o resultado obtido com o complexo C5 contra a linhagem MCF-7.

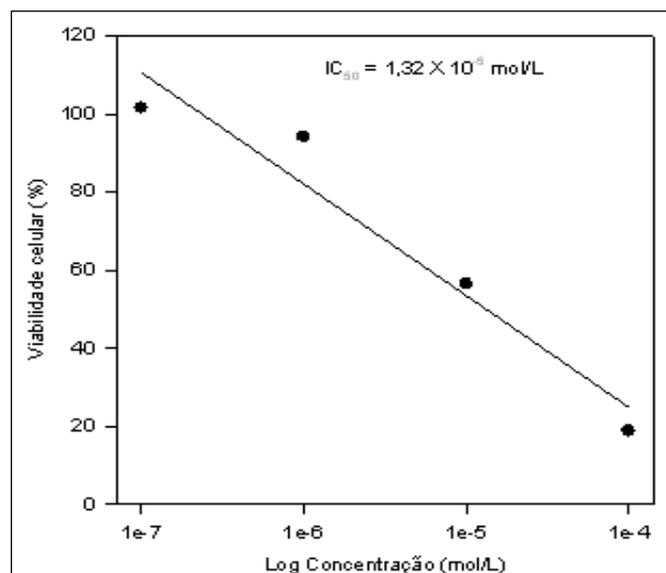


Gráfico 14 | Gráfico viabilidade celular vs Log da concentração do complexo C5 sobre células MCF-7.

Observa-se que o complexo **C5** teve baixa inibição se comparado ao complexo **C2**, as colunas 1 e 12 são os controles negativos e as linhas 6 e 7 são os controles positivos. As linhagens celulares utilizadas, na maioria de origem epitelial, foram escolhidas, diante da viabilidade de cultivo. Os resultados são descritos na **Tabela 34** e mostram variabilidade do valor de IC_{50} .

Tabela 35 | Concentração Inibitória de 50% da população celular (IC_{50}) de complexos de rutênio ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)

LINHAGEM CELULAR	COMPLEXOS DE RUTÊNIO				
	C1	C2	C3	C4	C5
B₁₆F₁₀	0,48	0,91	47,86	30,90	52,48
Mewo	0,40	0,63	-	6,16	67,61
MCF-7	0,13	0,30	69,18	23,44	13,18
MDA-MB-231	0,47	1,26	>100	89,12	>100
A549	0,48	0,41	-	-	-
BHK₁₁	8,91	3,31	>100	>100	>100
CHO	0,13	0,63	42,17	17,78	52,48

–, os compostos não foram testados.

>, Indica que a concentração mencionada foi à concentração máxima testada, nessa concentração a substância não teve atividade de 50% de inibição.

Novamente, optou-se por mostrar os dados em forma de gráficos de colunas (**Gráfico 15**), onde os dados de IC_{50} são transformados no seu valor logarítmico negativo. Desta forma tem-se uma visualização melhor do potencial de ativação observado em cada ensaio, pois quanto menor o valor de IC_{50} em $\mu\text{mol.L}^{-1}$, maior a altura da coluna do gráfico.

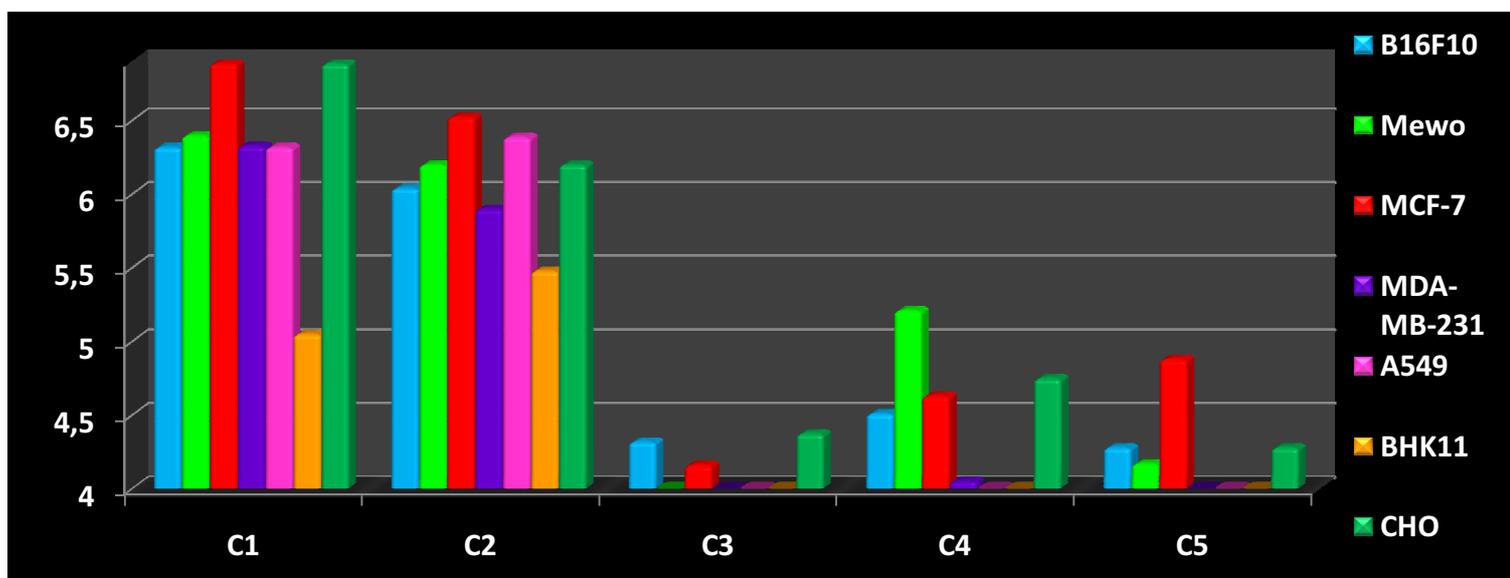


Gráfico 15 | Atividade citotóxica (-LOG IC_{50}) dos compostos estudados contra linhagens saudáveis e tumorais.

Na avaliação dos resultados contra linhagens tumorais, os complexos **C1** e **C2** foram ativos contra todas as linhagens, seguidos pelos complexos **C4** e **C5** com atividade intermediária e por fim o complexo monoalquilado **C3** respectivamente para a maioria das células tumorais.

Para os resultados com as células saudáveis (BHK_{11} e CHO), os complexos **C3**, **C4** e **C5** apresentam baixa citotoxicidade, bem como mostrado para a maioria dos ensaios antifúngicos. Comparando a atividade antifúngica *in vitro* contra *Aspergillus clavatus* e os resultados citotóxicos para as células saudáveis, os complexos **C1** e **C2** são ativos em concentrações de 180 a 85 vezes menor, respectivamente, que os valores de IC_{50} . Em comparação entre os complexos, o complexo **C1** foi o mais ativo na maioria das linhagens.

V. CONCLUSÕES

Nove complexos de rutênio com ligantes ditiocarbamatos ($S_2CNR_2 = Ln$) do tipo pentaquis(ditiocarbamato)dirutênio [$Ru_2(Ln)_5$] (**C1-C9**) foram sintetizados a partir da reação de complexação – em solução aquosa de cloreto de rutênio e do ligante em atmosfera inerte – com os correspondentes ligantes ditiocarbâmicos (**L1-L9**), a saber **L1**: N,N-dimetil-ditiocarbamato; **L2**: N,N-dietilditiocarbamato; **L3**: N-mono-*terc*-butil-ditiocarbamato; **L4**: N-mono-(*iso*-propil)-ditiocarbamato; **L5**: N-di-(*iso*-propil)-ditiocarbamato; **L6**: N,N-(tetrametileno)-ditiocarbamato (ou N-pirrolidinilditiocarbamato); **L7**: N,N-pentametileno-ditiocarbamato (ou N-piperidinilditiocarbamato); **L8**: N-(oxidietileno)ditiocarbamato (ou N-morfolinil-ditiocarbamato) e **L9**: N,N-dibenzil-ditiocarbamato. É digno de nota que os complexos **C3**, **C4**, **C5**, **C7** e **C8** são inéditos na literatura.

As caracterizações físico-químicas e espectrométricas realizadas – principalmente a técnica de voltametria cíclica, EPR e ESI-MS – permitiram a caracterização estrutural detalhada dos compostos de coordenação obtidos como sendo bis[α -(dialquil ou monoalquil-ditiocarbamato-S,S,S')]tris(dialquil ou monoalquil-ditiocarbamato-S,S,S')dirutênio (III), ou isômero *beta*-.

A caracterização espectrométrica na região do Infravermelho de baixa frequência permitiu a confirmação da reação de complexação para todos os complexos (**C1-C9**), com a caracterização dos compostos de coordenação como dinucleares e penta-coordenados pela observação das bandas referentes a ν_{Ru-Ru} em cerca 204 cm^{-1} e a ν_{S-Ru-S} em cerca de 280 cm^{-1} . Na região de 4000 a 600 cm^{-1} a variação da posição das bandas relativas a ν_{CS} (de 955 nos ligantes para 1000 cm^{-1} nos complexos) e ν_{CN} (de 1476 para 1503 cm^{-1}) também confirmam a complexação.

A análise dos espectros de massas por ionização *electrospray* (ESI-MS) dos compostos de coordenação investigados foi fundamental para caracterização definitiva como complexos dinucleares e pentacoordenados, pela detecção dos íons-moleculares ($[M]^+$) correspondentes às estruturas propostas para **C1** (m/z 804 Da); **C2** (m/z 944 Da); **C3** (m/z 944 Da); **C4** (m/z 877 Da); **C5** (1084 Da); **C6** (m/z 933 Da); **C7** (m/z 1004 Da); **C8** (m/z 1014 Da) e **C9** (m/z 1564 Da). Os

mecanismos de fragmentação para todos os complexos estudados são similares, mostrando íons-precusores e íons-produtos análogos com perdas subsequentes de fragmentos, por exemplo, $[S_2CNMe_2]^+$ (m/z 120 Da), $[SCNMe_2]^+$ (m/z 88 Da), $[S_2]^+$ (m/z 64 Da) e $[CNMe_2]^+$ (m/z 56 Da) conduzindo a íons-produtos cada vez menores, o que também corroborou na caracterização estrutural.

A análise eletroquímica por voltametria cíclica (VC) dos complexos (**C1**, **C2**, **C5**, **C6**, **C8** e **C9**) mostra na região de potenciais mais negativos, duas ondas catódicas e duas ondas anódicas relacionadas, sendo que os picos catódico e anódico na região de -0,1 a +0,1V se tornam reversíveis ($+0,07 E_{pa}$; $-0,01 E_{pc}$; $i_{pa}/i_{pc} \approx 1$) quando há limitação do potencial. Quanto ao ligante também se observam na região anódica ($> 0,9 V$) outros processos eletroquímicos variáveis conforme a estrutura do ligante e o seu efeito eletrônico. Cabe ressaltar que os outros estudos relatados não fazem qualquer citação sobre a eletroquímica dos ligantes. Assim, os resultados obtidos são similares aos da literatura observando-se o par de oxirredução Ru(III)/Ru(III) para Ru(II)/Ru(III) como um sistema reversível e em potenciais ainda mais negativos um processo não tão reversível correspondente à isomerização *alfa-/beta-* muito citada na literatura. A análise detalhada dos voltamogramas cíclicos de compostos preparados com ordem inversa de adição das soluções metal-ligante, **C6** (adição de ligante sobre metal) e **C6B** (metal sobre ligante), mostraram diferenças sutis que podem ser relacionadas aos isômeros *beta-*, no caso **C6** (potenciais ligeiramente mais negativos) e *alfa-*, formado no caso de **C6B**.

Medidas de susceptibilidade magnética (para **C1**, **C2**, **C3** e **C8**) indicaram que pode haver mistura de Ru(III)/Ru(III) e Ru(III)/Ru(II) e que pode haver forte aproximação entre os dois elétrons desemparelhados do sistema Ru(III)/Ru(III).

Os dados obtidos dos experimentos de condutimetria mostraram valores mais baixos do que usualmente obtidos, confirmando a obtenção de complexos iônicos, porém com ligações parcialmente covalentes como indicado na literatura.

Todos os complexos (**C1-C9**) tiveram sua atividade antifúngica avaliada por testes “*in vitro*” para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra fungos de interesse clínico relacionados a doenças infecciosas emergentes (DIEs) e infecções fúngicas invasivas (IFIs). Os resultados dos ensaios contra *Candida* spp. (*C. albicans*, *C. dubliniensis* (isolados clinicamente: CD22, CD23, CD25, CD27, CD28 e CD29), *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C.*

tropicalis) mostra a seguinte ordem de atividade relativa: **C6, C7, C1, C2, C9, C5, C8, C4** e **C3** (CIM média: 1,12; 1,19; 2,45; 3,59; 3,80; 6,64; 6,76; 10,07 e 11,10 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹). Os complexos **C6, C7, C1** e **C2** apresentam potência antifúngica similar ao fluconazol (FLC) (0,33 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹), mas inferior à anfotericina B (AMB) (0,03 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹), fármacos utilizados clinicamente; os complexos são de 3 a 45 vezes mais potentes do que os ligantes livres. Análise preliminar de relações estrutura-atividade (SAR) mostra que os complexos com ligantes N-monoalquilados (**C3** e **C4**) são os menos potentes e que os análogos N,N-dialquil-substituídos com padrão estrutural similar a um grupo etílico (**L7**: N-(CH₂)₅-; **L2**: N(CH₂CH₃)₂; **L6**: N-(CH₂)₄-) são os derivados de maior potência.

No caso da avaliação dos dados da atividade antifúngica dos complexos **C1-C9** contra *Aspergillus* spp. (*A. clavatus*, *A. fumigatus* (clínico e ATCC), *A. nomius*, *A. flavus*, *A. tamarii* e *A. terreus*) em análise geral observa-se uma ordem quase similar à observada para *Candida* spp.: **C6, C5, C9, C2, C1, C8, C3** e **C4** (CIM média: 2,85; 3,20; 4,09; 4,73; 5,06; 6,31; 6,78 e 7,32 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹). Os fungos *A. fumigatus* ATCC e *A. clavatus* foram os mais susceptíveis a **C1** e a **C2** (**C1**: 0,85 e 0,42 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹ e **C2**: 0,50 e 7,96 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹, respectivamente). Neste caso os ligantes livres foram de 5 a 180 menos potentes do que os complexos correspondentes e análises tipo SAR mostram influência maior de fatores estéricos sobre a atividade antifúngica, pois os complexos com ligantes de substituintes mais volumosos (**L6**: N-(CH₂)₄-; **L5**: N(CH(CH₃)₂)₂) e **L9**: N-(CH₂C₆H₅)₂-) foram os mais ativos. **C2** mostrou-se ativo contra *A. fumigatus* ATCC comparativamente à AMB, antifúngico clinicamente usual contra aspergilose.

A avaliação antifúngica dos complexos frente à *Paracoccidioides brasiliensis* (isolados clínicos: MG05, PB01, 18, B339, 608, 1017, MG04) mostrou a ordem de potência antifúngica decrescente a seguir: **C2, C7, C6, C1, C5, C3, C9, C4** e **C8** (CIM média: 0,97; 1,59; 1,71; 2,84; 5,90; 6,78; 7,16; 7,32 e 11,03 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹). Neste caso, o FLC mostrou potência (1,31 a 2,61 x 10⁻⁸ mol.mL⁻¹) em nível similar, ou até inferior, aos complexos **C2** e **C7**. Os complexos **C1, C2** e **C7** mostraram-se de 3 a 180 vezes mais potentes que os ligantes livres correspondentes. Observou-se neste caso que efeitos estruturais, similares a *Candida* spp., influenciam a atividade antifúngica, mas para *P. brasiliensis* os complexos N-monoalquilados **C3** e **C4** não foram os menos potentes, mas sim os derivados **C9** e **C8**, os compostos com substituintes mais volumosos e mais eletronegativos (grupos fenilas e átomo de oxigênio no anel morfolínico).

No caso da investigação da suscetibilidade de *Cryptococcus neoformans* frente aos complexos sintetizados, o derivado **C9** foi quase tão potente (CIM: $1,02 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) quanto ao FLC (CIM: $0,65 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹). Em seguida, **C5**, **C7**, **C2**, **C6** e **C1** apresentaram potência em nível similar de $1,48-1,99 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹, e os derivados menos potentes são **C8**, **C4** e **C3** ($3,16$; $3,66$ e $6,78 \cdot 10^{-8}$ mol.mL⁻¹). Em todos os casos os ligantes livres apresentaram-se de 3 a 11 vezes menos potentes do que os complexos correspondentes. A análise de relações estrutura-atividade, para os complexos mais potentes contra *C. neoformans*, mostra que há grande correlação entre a atividade antifúngica e o efeito estérico dos N,N-dialquil-substituintes, pois a ordem de atividade **C9** > **C5** > **C7** > **C2** > **C6** equivale à ordem de volume estereoquímico dos ligantes correspondentes **L9** (N-(CH₂C₆H₅)₂-) > **L5** (N(CH(CH₃)₂)₂) > **L7** (N-(CH₂)₅-) > **L2** (N-(CH₂CH₃)₂-) > **L6** (N-(CH₂)₄-).

No caso de *Sporothrix schenckii* os resultados mostraram que **C2** e **C1** são os complexos mais potentes ($0,85$ e $1,00 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) seguidos por **C4** e **C3** que apresentaram nível de potência intermediária ($14,7$ e $27,1 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹) e **C5** que não apresentou atividade antifúngica até a concentração testada (256×10^{-6} g.mL⁻¹ ou $23,6 \times 10^{-8}$ mol.mL⁻¹). **C1** foi 40% mais potente do que **L1** e que **C2** foi 5,5 vezes mais potente que **L2**.

Ensaio de citotoxicidade, para os complexos **C1** a **C5**, com células de rim de hamster, mostraram que os complexos estudados são tóxicos em concentrações de 80 a 200 vezes maior do que a CIM observada para *A. fumigatus*, por exemplo.

Finalmente, pode-se concluir que devido a grande potencialidade dos complexos de rutênio dinucleares penta-coordenados com ligantes ditiocarbamatos, estes podem vir a ser utilizados como novos agentes antifúngicos de alta eficiência e de baixa toxicidade para o desenvolvimento de novos fármacos para enfrentar o grave problema de saúde pública das doenças infecciosas emergentes (DIEs) e infecções fúngicas invasivas (IFIs).

**VI. PUBLICAÇÕES & TRABALHOS APRESENTADOS EM
CONGRESSOS**

a. ARTIGOS EM PERIÓDICOS

In vitro susceptibility of *Aspergillus* spp. to dithiocarbamate organoruthenium compounds

Luciano J. Nogueira,¹ Maria A. de Resende,² Sheila R. Oliveira,¹ Maria Helena de Araújo,¹ Thais F. F. Magalhães,² Milena B. de Oliveira,² Cleide V. B. Martins,^{2,3} Miriam T. P. Lopes,⁴ Ana C. Araújo e Silva⁴ and Claudio L. Donnici¹

¹Departamento de Química, ICEx, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil, ²Departamento de Microbiologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil, ³Gemaq – UNIOESTE, Rua da Faculdade, Toledo, PR, Brazil and ⁴Departamento de Farmacologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

Summary

The *in vitro* antifungal activity of ruthenium dithiocarbamate compounds (**1–5**) was investigated and assessed for its activity against seven different species of *Aspergillus* (*Aspergillus clavatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nomius*, *Aspergillus tamaraii* and *Aspergillus terreus*). Analysis of *in vitro* susceptibility was performed using broth microdilution assay following the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines for filamentous fungi. The cytotoxicity was evaluated using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay. *Aspergillus clavatus* and *A. fumigatus* were more susceptible species for complexes **1** and **2**. Other complexes showed excellent minimum inhibitory concentration (4–64 µg ml⁻¹) against most microorganisms. Complexes **1** and **2** are respectively 180- and 95-fold more active than the corresponding free ligands against *A. clavatus* and the complex **5** is 46-fold more active than free ligand against *A. niger*. *Aspergillus niger* was more susceptible to the action of the complexes **1** and **5** (16 µg ml⁻¹). A low cytotoxic activity (IC₅₀ > 10⁻⁶ mol l⁻¹) on normal mammalian cells (BHK-21) to the evaluated complexes was measured. Ruthenium complexes are promising antifungal agents against the development of novel effective drug against different species of *Aspergillus*; however, for *A. nomius* and *A. terreus*, they were not active in the highest concentration tested.

Key words: Antifungal susceptibility, emerging infectious diseases, amphotericin B, fluconazole, dinuclear ruthenium complexes, cytotoxicity testing.

Introduction

The frequency of invasive mycoses caused by opportunistic fungal pathogens has been increasing since early 1980s. In fact, fungal infections have emerged as major causes of human illness and the treatment of these conditions is a great challenge. This is directly related to the rise in at-risk population of patients including individuals undergoing solid-organ transplantation,

blood and marrow transplantation, major surgery, those with AIDS, neoplastic disease, those under immunosuppressive therapy, those who are at advanced age, and premature birth.¹ In addition, these severe well-known emerging diseases or invasive fungal infections (IFIs) are difficult to diagnose and subsequent usage of appropriate antifungal therapy is difficult, causing a high mortality rate not only in sufficiently immunocompromised hosts, but also in diabetic patients and others with potential predisposing factors.^{1–4} This public health situation has become alarming also because of the increase in the frequency of isolation of resistant fungi species. A majority of mycoses-related deaths are associated with *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* spp. infections.^{1,5–7} Among them,

Correspondence: Prof. Donnici Claudio, Av. Antonio Carlos, 6627 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.
Tel.: +55 31 3409 5745. Fax: +55 31 3409 5700.
E-mail: cdonnici@terra.com.br

Accepted for publication 12 April 2010

Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch

Nogueira, Luciano J.;¹ Montanari, Carlos A.;² Donnici, Claudio L.^{1,*}

Rev. Virtual Quim., 2009, 1 (3), 227-240. Data de publicação na Web: 8 de Agosto de 2009

<http://www.uff.br/rvq>

The history, evolution and importance of lipophilicity in medicinal chemistry: from Hippocrates and Galeno to Paracelsus and the contributions of Overton and Hansch

Abstract: This mini-review presents a brief introduction about the history of Medicinal Chemistry and the importance of lipophilicity in this development; among others the contributions of Hippocrates, Galeno, Paracelsus, Overton, Ehrlich and Hansch are remarkably noticed.

Keywords: history of medicinal chemistry; Hippocrates; Galeno; Paracelsus; Overton; Hansch; lipophilicity

Resumo

O presente artigo, apresentado como mini-revisão, mostra uma breve introdução sobre a história da Química Medicinal e a importância da influência da lipofilia no desenvolvimento de medicamentos evidenciando, dentre outras, as contribuições de Hipócrates, Galeno, Paracelsus, Overton, Ehrlich e Hansch.



Palavras-chave: história da química medicinal; Hipócrates; Galeno; Paracelsus; Overton; Hansch; lipofilia

*Departamento de Química, ICEX, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antonio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brasil.

✉ cdonnici@terra.com.br

b. TRABALHOS EM CONGRESSOS INTERNACIONAIS



ICCC38

38th INTERNATIONAL CONFERENCE
ON COORDINATION CHEMISTRY

JERUSALEM, ISRAEL, JULY 20 – 25, 2008



www.kenes.com/iccc38

ANNOUNCEMENT AND CALL FOR ABSTRACTS

Important Dates:

Deadline for submission of abstracts: January 16, 2008

Notification of abstract acceptance: March 10, 2008

Early registration deadline: April 1, 2008

RUTHENIUM (II) COMPLEXES OF NOVEL HYDRAZONE-THIAZOLIDONES WITH BIOLOGICAL ACTIVITY

C.L. Donnici¹, M.H. Araujo¹, H.S. Oliveira¹, D.R.M. Moreira², A.C.L. Leite²

¹NEQUIM-Nucleo De Estudos Em Quimica Medicinal- Depto. De Quimica-ICEX/UFMG, Brazil, ²Laboratorio De Planejamento, Avaliacao E Síntese De Farmacos-LABSINFA, Departamento De Ciencias Farmaceuticas-Recife, Brazil

The potential of 4-thiazolidones as drugs is under consideration by the pharmaceutical science since the beginning of the XX century. During recent years a new phase has been seen in this field. Centenarian history of synthetic research possibilities of these heterocycles lead to diversity in modelling biologically active compounds using 4-thiazolidone scaffolds. The present work shows the results of the study of the complexation with Ru(II) of some novel hydrazone-thiazolidones derivatives (HydThz) - para-X-C₆H₅-S-CH₂CH=N-NH-cyclo[-C=NC=OC(R)₂S-] (X=H,Me,Br,Cl; R=H,Me,Et)- with antifungal and antibacterial activities and the evaluation of these activities after the complexation.

These new ruthenium complexes were chemically prepared by condensing an equimolar amount of the substituted HyThz with freshly synthesized [Ru(COD)(MeCN)₂Cl₂] in hot methanol and stirring for 4 h, after keeping the reaction flask at room temperature for 2h, an orange solid was filtered, washed with cold methanol and dried in vacuo over silica gel. All complexes were obtained in good yields and high purity degree and they were fully characterized by the physical and spectrometric techniques. The study of the biological activity for the obtained complexes is in progress as well the lipophilicity measurement by RP-HPLC.

Acknowledgments: CNPq, PRPq-UFMG, FAPEMIG (EDT 479/07, APQ-4911-5.02/07, CEX 817/06)

ABSTRACT BOOK



3rd ADVANCES AGAINST ASPERGILLOSIS

January 16-19, 2008

Miami Beach Resort & Spa
Miami, Florida, USA

RUTHENIUM COMPLEXES AGAINST ASPERGILLUS SPP.

C L, Donnici¹; L J, Nogueira¹; M H, Araújo¹; *C V B, Martins^{2,3}; T F F, Magalhães²; M A, de Resende²

*cvbmartins@gmail.com

1NEQUIM, Departamento de Química, ICEx-UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil.

2Depto. de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil.

3GEMAQ, UNIOESTE, Toledo, PR, Brazil.

Coordination compounds (compounds with metal-ligand chemical bond) have been widely used as a novel and interesting source for development of new drugs with several different activities. The dithiocarbamates are remarkable and well-known compounds with very high antifungal activity and some ruthenium complexes show very efficient anticancer activity, but none dithiocarbamate, such as **DM** and **DE** (dimethyl- and diethylcarbamates) have been used as ligands to generate ruthenium complexes which could be used as possible new antifungal agents. The present work shows the results of the study of the activity of two ruthenium dithiocarbamate complexes (**RuDM**, **RuDE**) against *Aspergillus* spp. These promises antifungal agents are chemically prepared by an easy synthetic route. They were obtained in high yield and were completely characterized by the analytical and spectrometric techniques. Antifungal activities were evaluated against *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. nomius*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus*, following the CLSI protocol with some modifications. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values were determined by microdilution of test-solution using commercial antifungal as positive control. It is noteworthy that both complexes showed very high activity against *A. clavatus*, *A. fumigatus*: **RuDM** (*A. clavatus*: 4 µg/mL, *A. fumigatus*: 128 µg/mL, against *A. nomius*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus* the MIC was higher, 512 µg/mL), **RuDE** (*A. clavatus*: 4 µg/mL, *A. fumigatus*: 4 µg/mL; against *A. nomius*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus* the MIC was much higher, 512 µg/mL). As described before, we confirmed that the free ligands **DM** and **DE** showed not so high antifungal activity against *Aspergillus*: **DM** (*A. clavatus*: 512 µg/mL, *A. fumigatus*: 128 µg/mL; against *A. nomius*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus*, the MIC was higher, 512 µg/mL), **DE** (*A. clavatus*: 512 µg/mL, *A. fumigatus*: 128 µg/mL; against *A. nomius*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus*, the MIC was also much higher, 512 µg/mL). It is interesting to note that ruthenium trichloride is inactive in these levels of concentrations. These results show that the complexation of the dithiocarbamate with ruthenium generates much more active novel antifungal agents, maybe due to some synergic effect in the dithiocarbamate moiety.

Acknowledgments: **CNPq** and **FAPEMIG** (EDT 479/07, CEX APQ-4911-5.02/07 and CEX 817/06).

VI^{CLAM} CONGRESO LATINOAMERICANO DE MICOLOGÍA



***“El desafío de la Biotecnología y
la conservación de la Biodiversidad”***

**www.almic.org
10 - 13 NOVIEMBRE 2008
MAR DEL PLATA - ARGENTINA**

A.L.M.
ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA
de MICOLOGÍA

THE *IN VITRO* ANTIFUNGAL ACTIVITY OF RUTHENIUM COMPLEXES AGAINST *CANDIDA* SPECIES

Nogueira, L. J.¹; Donnici, C. L.*¹; Araújo, M. H.¹; Resende, M. A.²; Magalhães, T. F.²; Martins, C. V. B.^{2,3}

¹ Depto. de Química, ICEx, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

² Depto. de Microbiologia, ICB, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

³ GEMAG – UNIOESTE, Rua da Faculdade, 0645 / Toledo – PR, CP85903-000.

* cdonnici@terra.com.br

Keywords: *Candida* spp., antifungal susceptibility, amphotericin B, candidiasis, dithiocarbamate, ruthenium complexes.

Introduction

Invasive fungal infections (IFIs) have been emerged as major causes of human disease, especially among the immunocompromised and those hospitalized with serious underlying disease. A recent study of the epidemiology of sepsis found that the number of cases of sepsis caused by fungal organisms in the USA increased by 207 % between 1979 and 2000. The majority of these mycoses-related deaths were associated with *Candida*, *Aspergillus*, and *Cryptococcus* spp. infection. More than 17 different species of *Candida* have been reported to be etiologic agents of invasive candidiasis in humans. Although more than 90 % IFIs due to *Candida* spp. are attributed to five species: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, and *C. parapsilosis*. Oral candidiasis reflects: a) The ability of the yeast to colonize oral surfaces; b) The host factors which predispose to *Candida* colonization and subsequent infections. In many cases, the treatment of fungal diseases with current therapies is of limited efficacy. The discovery of new antifungal agents thus remains an important challenge for the scientific community and metal-based drugs might represent an alternative therapeutic route. The present work reports the antifungal activity study of five synthesized ruthenium (III) complexes against *Candida* spp. Previous rational planning of these novel antifungal agents considered structure-activity relationships, especially lipophilicity and steric hindrance parameters.

Results and Discussion

These ruthenium dithiocarbamate complexes (**1-5**) were studied as novel antifungal agents against five different *Candida* species (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis*), these data were compared to amphotericin B (AMB), the usual clinically antifungal agent. Broth inoculation and incubation time (microdilution testing) were performed in accordance with the guidelines of CLSI. The studies demonstrated that ruthenium complexes showed higher potency *in vitro*. *In vivo* susceptibility data for all studied species are summarized in Table 1. The complexes **1** and **2** showed inhibition against all *Candida* species. The

results with the corresponding free ligands **L1** (sodium N,N-dimethyl-dithiocarbamate) and **L2** (sodium N,N-diethyl-dithiocarbamate) are shown in Table 2.

TABLE 1. *In vitro* susceptibilities of emerging species of *Candida* to ruthenium complexes.

<i>Candida</i> species	Minimum Inhibitory Concentration – MIC ^[a] (10 ⁻⁶ g/mL)		
	Complex 1	Complex 2	AMB
<i>C. albicans</i>	8	16	4
<i>C. krusei</i>	16	32	32
<i>C. tropicalis</i>	32	16	32
<i>C. glabrata</i>	32	64	4
<i>C. parapsilosis</i>	32	16	32

^[a] MIC with 100 % of susceptibility

Table 2. *In vitro* inhibition data of *C. albicans* with complexes and their respective ligands

Entry	Minimum Inhibitory Concentration – MIC ^[a] (10 ⁻⁸ mol/mL)	
	Free Ligand	Ru-Complexes
1	L1 - 11,2	1 - 1,7
2	L2 - 9,3	2 - 2,9

^[a] MIC with 100 % of susceptibility

Complexes **1** and **2** presented excellent results; they showed antifungal potency data similar to AMB. The complexation with ruthenium really enhances the dithiocarbamate moiety activity, since the complexes **1** and **2** exhibit greater antifungal potency if compared the others complexes.

Conclusions

The results describe excellent inhibition of the synthesized ruthenium complexes against all *Candida* species, but **1** was even more effective. The ligands **L1** and **L2** showed lower inhibition than the corresponding complexes. These results present the possible application of these ruthenium complexes as new drugs for IFIs.

Acknowledgements

Thanks to FAPEMIG (CEX APQ-4911-5.02/07; CEX 817/06; CEX EDT 479/07) and CNPq for financial support.



BrazMedChem2008

The 4th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry



[Presentation](#) [About](#) [Contact](#) [Site Map](#)



SYSTEMS CHEMICAL BIOLOGY

Hotel Summerville Beach Resort Convention Center
Porto de Galinhas - PE - Brazil
November 9-13 2008

[Presentation](#)

[About the BrazMedChem2008](#)

[Program](#)

[Abstracts](#)

[Contact](#)

[Support](#)

» [Home](#)

[Navigation](#)

[Presentation](#)

[About the Symposium](#)

[Program](#)

[Abstracts](#)

[Previous editions](#)

[Support](#)

Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry

Presentation

Dear colleagues, the Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (BrazMedChem2008) will be held at Hotel Summerville Beach Resort, located in Porto de Galinhas in the State of Pernambuco, November 9-13, 2008.

Thanks!

Your presence has been very important for the enhancement of the brazilian medicinal chemistry!

[Promotion/Realization](#)

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF DITHIOCARBAMATE RUTHENIUM COMPLEXES AGAINST DIMORPHIC ENDEMIC PATHOGENS

Nogueira, L. J.¹; Donnici, C. L.*¹; Araújo, M. H.¹; Resende, M. A.²; Magalhães, T. F. F.²; Watanabe, G. A.²; Silva, D. L.²; Martins, C. V. B.^{2,3}

¹ Depto. de Química, ICEx, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

² Depto. de Microbiologia, ICB, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

³ GEMAG – UNIOESTE, Rua da Faculdade, 0645 / Toledo – PR, CP85903-000.

* cdonnici@terra.com.br

Keywords: Antifungal susceptibility, cryptococcosis, paracoccidioidomycosis, sporotrichosis, dithiocarbamate, ruthenium complexes.

Introduction

The major part of the patient deaths related to fungal infections is associated with *Candida*, *Aspergillus* and *Cryptococcus* sp. infection. Endemic mycosis caused by certain dimorphic fungi remains a major problem for health in several countries. In particular, AIDS associated to histoplasmosis and coccidioidomycosis. Keeping these risk factors, adverse effects, and inconveniences in mind, we have attempted to develop novel antifungal agents. Also, systemic and endemic emerging mycosis in Latin America is paracoccidioidomycosis, it's a chronic granulomatous disease with a diversity of clinical manifestations, and special emphasis has been placed on pulmonary and mucocutaneous forms (systemic mycosis). *Sporothrix schenckii* is a widespread dimorphic fungus which can cause cutaneous infection (sub acute or chronic) following local implantation. It has been described that ruthenium complexes can be used as building blocks for novel transition-metal-based pharmacological agents, besides dithiocarbamates also have been studied as antifungal agents, but no ruthenium dithiocarbamate complex has been studied as a novel chemical entity for possible antifungal agents. This way the present work describes the investigation of *in vitro* antifungal activity of dithiocarbamate ruthenium complexes with previous structure-activity analysis considering different lipophilicity, steric hindrance levels and topological parameters.

Results and Discussion

The synthesized dithiocarbamate ruthenium (III) complexes (**1-5**) were tested against *Cryptococcus neoformans*, *Sporothrix schenckii* and *Paracoccidioides brasiliensis*. It was also evaluated the antifungal potency of these pathogens towards amphotericin B (AMB) and fluconazole (FLC), the most common clinically used antifungal agents. Broth inoculation and incubation time (microdilution testing) were performed in accordance with the guidelines of CLSI (formerly NCCLS) for mould susceptibility testing. The results (Tables 1 and 2)

demonstrated that only complexes **1** and **2** exhibited high inhibition against all tested fungi species, similarly to AMB and FLC. The other complexes **3**, **4** and **5** showed no significant antifungal activity.

TABLE 1. *In vitro* susceptibilities of emerging species to new complexes.

Compounds	Minimum Inhibitory Concentration – MIC ^[a] (mg/L)		
	<i>C. neoformans</i>	<i>S. schenckii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
1	7,8	7,8	32
2	7,8	3,9	8
AMB	31,3	31,3	15,6

^[a] MIC with 100 % of susceptible

TABLE 2. *In vitro* susceptibilities of *Paracoccidioides brasiliensis* to new complexes.

Compounds	Minimum Inhibitory Concentration – MIC ^[a] (mg/L)		
	B339	MG04	MG05
1	7,8	7,8	32
2	7,8	3,9	8
FLC	4	4	4

^[a] MIC with 100 % of susceptible

Although, the difference in the lipophilicity and the carbon chain size between the complexes **1** and **2**, it showed discrete differences of antifungal activities.

Conclusions

The MICs data for all studied complexes show excellent antifungal inhibition for the disubstituted derivatives **1** and **2**. The results show the high possible applicability of these complexes for the development of novel drugs and strategic treatment to fight against these emerging infectious diseases.

Acknowledgements

This research was supported by: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG CEX APQ-4911-5.02/07, CEX 817/06, EDT 479/07) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

ABSTRACT BOOK



4th ADVANCES AGAINST ASPERGILLOSIS

February 4-6, 2010

Rome, Italy
Sheraton Roma

www.AAA2010.org

IN VITRO ACTIVITY OF INORGANIC COORDINATION COMPLEX AGAINST ASPERGILLUS SPP.

Nogueira LJ, Donnici CL, Araújo, MH, Magalhães TFF, de Resende MA

Despite the development of new treatments, the mortality of IPA (invasive pulmonary aspergillosis) remains above 50%, reaching 95% in certain situations. Immunosuppression, whether due to drug treatment or secondary to an underlying disease, plays a key role in the occurrence of IPA. Patients suffering from hematological disorders and patients who have undergone transplantation are therefore at a particularly high risk of IPA. In the study for the development of new chemotherapeutic agents against aspergillosis, we can mention studies with metal-based drugs as an alternative therapeutic route. The description of the use of ruthenium complexes with dithiocarbamate ligands as potential antimicrobial agents is still new in the literature. Since there are scientific works that have been described, ruthenium complexes as building blocks for novel transition-metal-based pharmacological agents, the investigation of *in vitro* antifungal activity of dithiocarbamate ruthenium complexes is very promising; even more if the chelation of dithiocarbamate moiety with ruthenium could enhance the antifungal activity. The present work shows the results of the study of the activity of five ruthenium dithiocarbamate complexes: ($[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_3)_2)_5]$ (**1**), $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2)_5]$ (**2**), $[\text{Ru}_2\{\text{S}_2\text{CN}(\text{C}(\text{CH}_3)_3)(\text{H})\}_5]$ (**3**), $[\text{Ru}_2\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)(\text{H})\}_5]$ (**4**), $[\text{Ru}_2\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2\}_5]$ (**5**)) against *Aspergillus* spp.

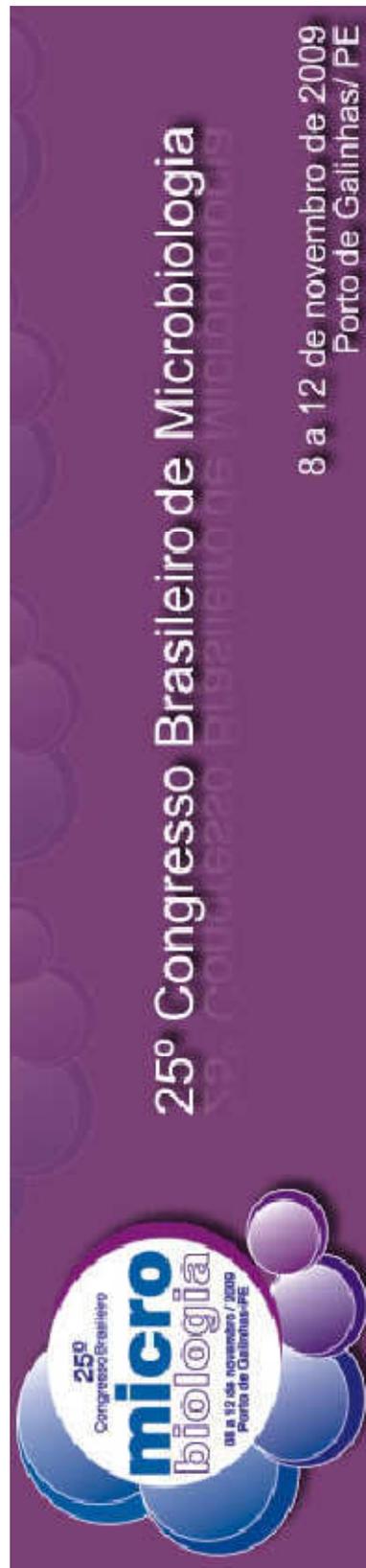
Antifungal activities were evaluated against *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. nomius*, *A. niger*, *A. tamarii*, *A. terreus* and *A. flavus*, following the CLSI protocol with some modifications. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values were determined by microdilution of test-solution using commercial antifungal as positive control (amphotericin B and fluconazole).

It is noteworthy that all complexes showed very high activity against *A. clavatus*, *A. fumigatus* (ATCC and Clinic), *A. flavus*, *A. niger* and *A. tamarii*. The MIC range values showed: complexes **1** and **2** (4 to 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$), complexes **3** and **4** (64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and complex **5** (16 to 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$). For *A. terreus* and *A. nomius* the MIC was much higher, 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$. As described before, we confirmed that the free ligands (**L**¹-**L**⁵) showed not so high antifungal activity against *Aspergillus*; by MIC comparison the results average proved the ligand **L**¹ was 41-fold less active than complex **1**, the ligands **L**² and **L**⁵ were 26-fold less active than complexes **2** and **5**, and the ligands **3** and **4** were 11-fold less active than complexes **3** and **4**. Against *A. nomius* and *A. terreus*, the MIC was also much higher, 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The results showed low cytotoxicity for complexes **3**, **4** and **5**. Although the complexes **1** and **2** are more cytotoxic than the other investigated complexes, *in vitro* antifungal activities of these complexes were detected in concentrations 100-fold smaller than the concentration of harmful effect to the normal cells.

These results show that the complexation of the dithiocarbamate with ruthenium generates much more active novel antifungal agents, maybe due to some synergic effect in the dithiocarbamate moiety. The ruthenium complexes demonstrated promising antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*, *A. clavatus* and *A. niger*.

Acknowledgments: CNPq and FAPEMIG (EDT 479/07, CEX APQ-4911-5.02/07 and CEX 817/06).

c. TRABALHOS EM CONGRESSOS NACIONAIS



ACTION OF ORGANOSULFUR RUTHENIUM AS INHIBITOR OF *CANDIDA* SPP. ADHESION TO HUMAN BUCCAL EPITHELIAL CELLS

Luciano José Nogueira¹, Claudio Luis Donnici^{1,*}, Maria Helena de Araújo¹, Thaís Furtado Ferreira Magalhães², Maria Aparecida de Resende², Cleide Viviane Buzanello Martins^{2,3}

¹ Departamento de Química, ICEx, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

² Departamento de Microbiologia, ICB, UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627 / Belo Horizonte – MG, CP31270-901.

³ Gemaq – UNIOESTE, Rua da Faculdade, 0645 / Toledo – PR, CP85903-000.

* Corresponding author. Tel: +55-31-34095745; Fax: +55-31-34095700; cdonnici@terra.com.br

Introduction: Various *in vitro* studies and animal studies have provided evidence for a relationship between the proclivity of opportunistic *Candida* species to adhere to mucosal surfaces (vascular structures such as endothelial cells and subendothelial basement membrane) and their presence in infections. Therefore candidal adherence to human buccal epithelial cells (BECs) is considered as the critical initial step in the pathogenesis of oral candidiasis, which may lead to eventual systemic infection, especially in compromised people. Facing of candidiasis increased, the discovery of new antifungal agents thus remains an important challenge for the scientific community and metal-based drugs might represent an alternative therapeutic route.

Objectives: The present work reports the results of inhibition of the adhesion of *Candida* spp. to BECs by two new antifungal agents (ruthenium dithiocarbamate complexes).

Methods: The adhesion testing was performed in accordance with method described by literature and it was tested against four *Candida* species (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* and two clinical isolates strains of *C. dubliniensis*). Fluconazole (FLC) was used as control. The effect of antifungal drugs on candidal adhesion to BECs has been examined following limited exposure (1h) of the isolates to sublethal concentration of the drug. The preparations of BEC were air dried, fixed with heat and stained with gentian violet. The number of adherent yeast cells was quantified by light microscopy at 4009 magnification. In each experiment, 50 BECs were observed for adherent yeast cells. Clumped, folded, or overlapping BECs were excluded.

Results: The reference concentration of testing was obtaining a previous experiment. The results were described in mg/L in **Table 1**. Compared with the fluconazole, one expressive reduction of adhesion to BECs was observed, was higher for Complex 1 against *C. parapsilosis* (35%) and Complex 2 against *C. tropicalis* (25%). By relationship ligand/complex there were data similar in all testing (50%). Others results showed adhesion inhibition as good as fluconazole (ligand 1 against *C. albicans* and *C. dubliniensis* CD22; ligand 2 against *C. tropicalis* and both *C. dubliniensis* clinical isolates; complex 1 against *C. albicans* and *C. tropicalis*; complex 2 against *C. dubliniensis* CD22).

Conclusion: In conclusion, inhibition of *Candida* spp. adhesion by ruthenium dithiocarbamate complexes is clearly epithelial cell-specific for preponderance of strains. Therefore, the presence of drug during the “adherence phase” may be of clinical relevance. These results addition others publications (Minimum Inhibitory Concentration from 10^{-6} - 10^{-8} micromol.mL⁻¹ against some important fungal pathogens) proved the possible application of these ruthenium complexes as new drugs for invasive fungal infections (IFIs).

Acknowledgments: CNPq and FAPEMIG (EDT 479/07, CEX APQ-4911-5.02/07 and CEX 817/06).

Table 1 – Results of adhesion capacity in percent by ruthenium complexes and respectively ligands

Compounds	<i>Candida</i>				
	<i>albicans</i>	<i>parapsilosis</i>	<i>tropicalis</i>	<i>dubliniensis</i>	
				CD22	CD28
Ligand 1	84	31	64	76	40
Complex 1	72	97	72	51	54
Ligand 2	60	28	94	87	105
Complex 2	44	34	111	71	55
FLC	71	62	85	71	80



III Congresso da BrMASS

de 12 a 15 de Dezembro de 2009

Home | Contato | Site BrMASS

Em breve fotos do 3º Congresso

Patrocinadores

- PROGRAMAÇÃO <
- INSCRIÇÕES <
- TAXA DE INSCRIÇÃO CONGRESSO
- INSCRITOS
- PALESTRANTES <
- CURSOS <
- NOTÍCIAS <
- FOTOS <
- DIRETORIA BRMASS <
- TRABALHO CIENTÍFICO <
- PATROCINADORES <
- PARCEIROS <
- LOCAL <
- CONTATO <

Últimas Notícias

03.12.2009
USER'S MEETING!! PARTICIPE JÁ!
 16.09.2009
Informações Gerais 3o. BrMASS

Álbum de Fotos



Cartaz para Download

Cartaz A3
 Cartaz A5

Palestrantes Convidados



David Clemmer
 Indiana University
 + mais informações



R. Graham Cooks
 Purdue University
 + mais informações



Richard Caprioli
 Vanderbilt Mass Spectrometry Research Center USA
 + mais informações



Roman A. Zubarev
 Roman Alexandrovich Zubarev
 + mais informações

Programação



12 | 13 | 14 | 15

08:00 h Uma "Dúzia" de Cursos Variados Confirmados.
 Inscreva-se Já!

Applied Biosystems | Analytical Technologies



Agilent Technologies



APOIO: PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPINAS UNICAMP SBQ INSTITUTO DE QUÍMICA

Categoria do Resumo: Inorgânico

ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Luciano José Nogueira¹, Claudio Luis Donnici^{1*}, Maria Helena Araújo¹, Rodinei Augusti¹, Layza Miranda Gonçalves¹, Marina Melo Antunes Coelho¹, Maria Aparecida de Resende².

* cdonnici@terra.com.br

¹ LASELORG/NEQUIM, Departamento de Química, ICEX – UFMG, Av. Ant. Carlos, 6627; CP31270-901, Belo Horizonte – MG / Brasil.

² Departamento de Microbiologia, ICB – UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627; CP31270-901, Belo Horizonte – MG / Brasil.

Palavras Chave: Atividade antifúngica, Complexo dinuclear, Ditiocarbamatos, ESI-MS.

As Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs), também ditas Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs) são as principais causas de doenças humanas especialmente em pacientes imunossuprimidos. A situação é ainda mais séria com o aumento da resistência dos microrganismos aos fármacos antifúngicos usuais e assim a descoberta de novos agentes antifúngicos é um desafio para a comunidade científica. Os compostos organometálicos podem apresentar uma rota terapêutica alternativa no combate dessas infecções. Na literatura descreve-se a atividade biológica de ditiocarbamatos livres e complexados com outros metais (Fe, Zn, Se, Sn). Nosso grupo de trabalho tem estudado a atividade antifúngica *in vitro* de complexos do rutênio(III) com alquilditiocarbamatos (RuDTCB) e verificado que estes complexos podem se apresentar em forma mononuclear $[\text{Ru}(\text{S}_2\text{CR}_2)_3]$ ou dinuclear $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CR}_2)_5]$, o que pode acarretar diferentes correlações quantitativas de estrutura-atividade (QSAR-PCA). Desde que a espectrometria de massas (EM) é ferramenta analítica potente para identificação estrutural, pela determinação de massa molecular (MM), seria de interesse o uso de EM para caracterização estrutural dos complexos tipo RuDTCB, contudo estes são pouco voláteis. Um dos principais avanços em espectrometria de massas ocorreu com a introdução da ionização electrospray (ESI-MS). Assim, podem-se obter com o uso de técnicas modernas tipo ESI-MS, a identificação e quantificação de substâncias orgânicas ou inorgânicas, voláteis ou não, permitindo a elucidação estrutural das moléculas. Este trabalho tem como objetivo principal a identificação estrutural e avaliação dos complexos buscando verificar se a atividade antifúngica observada é influenciada pela ocorrência de complexo na forma mononuclear ou dinuclear.

Os complexos de rutênio $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CR}_2)_5]$ foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas espectrométricas usuais e mostraram-se como novos agentes antifúngicos potentes. Os resultados mostraram atividade comparável a anfotericina B a (principal antifúngico clínico). Os valores de MM observados por ESI-MS nos espectros em modo positivo, nas condições efetuadas (Espectrômetro de massa LC/MS/MSn LCQ Fleet, Thermo Scientific, solvente: MeOH; [complexo]: 10 ppm) mostraram que os complexos estão em forma dinuclear; m/z experimental (calculado): $[\text{Ru}_2(\text{S}_2\text{CNR})_5]$ – R=Me₂: 803,6(803,8); R=Et₂: 943,9(943,9); R=i-But: 943,8(943,9); R=(CH₂CH₂)₂O: 1013,9(1013,4); R=i-Pr₂: 1083,0(1084,8); R=(CH₂)₄: 933,9(933,9) e R=(C₆H₅)₂: 1460,7(1459,4).

A técnica de espectrometria de massas por ionização electrospray (ESI-MS) foi útil e imprescindível para a caracterização dos novos complexos de rutênio(III) como dinucleares. Novos estudos de modelagem molecular estão sendo realizados, para melhor compreensão das relações estrutura-atividade biológica com estes complexos.

Agradecimentos: CNPq e FAPEMIG (CEX APQ-4911-5.02/07; EDT 479/07 e CEX 817/06).

32^a

Reunião Anual

Sociedade Brasileira de Química

Resumos

Apoio:

 **FAPESP**

 **CNPq**

 **FAPEMIG**


FUNCAP


UNIFOR

[Entrar]

QUÍMICOS

PARA UMA POTÊNCIA EMERGENTE

Fortaleza, Ceará

30/05 a 02/06/2009

SBO 2009 - Todos os direitos reservados - Produzido por Adaltech Soluções para Eventos.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO ELECTROSPRAY DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Luciano J. Nogueira¹ (PG), Claudio L. Donnici^{1*} (PQ), Maria H. Araújo¹ (PQ), Rodinei Augusti¹ (PQ), Patterson P. Souza¹ (PQ), Maria A. Resende² (PQ) e Cleide V. B. Martins^{2,3} (PG). * cdonnici@terra.com.br

¹LASELORG/NEQUIM, Departamento de Química, ICEx – UFMG, Av. Ant. Carlos, 6627; CP31270-901, Belo Horizonte – MG / Brasil.

²Departamento de Microbiologia, ICB – UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627; CP31270-901, Belo Horizonte – MG / Brasil.

³GEMAG – UNIOESTE, Rua da Faculdade, 0645; CP85903-000, Toledo – PR / Brasil.

Palavras Chave: Atividade antifúngica, Complexos de rutênio, Complexo dinuclear, Ditiocarbamatos, ESI-MS. espectrométricas usuais e mostraram-se como novos agentes antifúngicos potentes.

Introdução

As Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs), também ditas Doenças Infecciosas Emergentes (DIEs) são as principais causas de doenças humanas especialmente em pacientes imunossuprimidos. A situação é ainda mais séria com o aumento da resistência dos microrganismos aos fármacos antifúngicos usuais e assim a descoberta de novos agentes antifúngicos é um desafio para a comunidade científica. Os compostos organometálicos podem apresentar uma rota terapêutica alternativa no combate dessas infecções. Na literatura descreve-se a atividade biológica de ditiocarbamatos livres e complexados com outros metais (Fe, Zn, Se, Sn). Nosso grupo de trabalho tem estudado a atividade antifúngica *in vitro* de complexos do rutênio(III) com alquilditiocarbamatos (RuDTCB) e verificado que estes complexos podem se apresentar em forma mononuclear $[Ru(S_2CR_2)_3]$ ou dinuclear $[Ru_2(S_2CR_2)_5]$, o que pode acarretar diferentes correlações quantitativas de estrutura-atividade (QSAR-PCA). Desde que a espectrometria de massas (EM) é ferramenta analítica potente para identificação estrutural, pela determinação de massa molecular (MM), seria de interesse o uso de EM para caracterização estrutural dos complexos tipo RuDTCB, contudo estes são pouco voláteis. Um dos principais avanços em espectrometria de massas ocorreu com a introdução da ionização *electrospray* (ESI-MS). Assim, podem-se obter com o uso de técnicas modernas tipo ESI-MS, a identificação e quantificação de substâncias orgânicas ou inorgânicas, voláteis ou não, permitindo a elucidação estrutural das moléculas. Este trabalho tem como objetivo principal a identificação estrutural e avaliação dos complexos buscando verificar se a atividade antifúngica observada é influenciada pela ocorrência de complexo na forma mononuclear ou dinuclear.

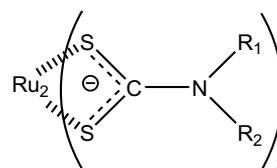


Figura 1. Estrutura dos complexos de rutênio.

Os resultados mostraram atividade comparável a anfotericina B^a (principal antifúngico clínico). Os valores de MM observados por ESI-MS nos espectros em modo positivo, nas condições efetuadas (Espectrômetro de massa LC/MS/MSn LCQ Fleet, Thermo Scientific, solvente: MeOH; [complexo]: 10 ppm) mostraram que os complexos estão em forma dinuclear (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados de massas moleculares dos complexos (ESI-MS) e atividade biológica

COMPLEXOS DE RUTÊNIO	m/z ^b	CIM ^c
$[Ru_2(S_2CNMe_2)_5]$	803	4
$[Ru_2(S_2CNEt_2)_5]$	943	74
$[Ru_2(S_2CNf-But)_5]$	943	256
$[Ru_2(S_2CNMorphd)_5]$	1013	-

^a 0,3 x 10⁻⁶g/mL.

^b Espectrometria de massas.

^c Concentração Inibitória Mínima com 100% de susceptibilidade contra *Aspergillus clavatus* (10⁻⁶g/mL).

^d Morph = morfina (-N(CH₂CH₂)₂O).

Conclusões

A técnica de espectrometria de massas por ionização *electrospray* (ESI-MS) foi útil e imprescindível para a caracterização dos novos complexos de rutênio(III) como dinucleares. Novos estudos de modelagem molecular estão sendo realizados, para melhor compreensão das relações estrutura-atividade biológica com estes complexos.

Agradecimentos

CNPq e FAPEMIG (CEX APQ-4911-5.02/07; EDT 479/07 e CEX 817/06).

Resultados e Discussão

Os complexos de rutênio (Figura 1) foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas

VII. APÊNDICE

A investigação dos artigos citados na **Tabela 7 (p. 28)** mostrando o estudo de vários compostos de coordenação é descrita de modo mais detalhado na **Tabela 35 (p. 143)** observando-se os diversos metais, tipos de ligantes e atividade antifúngica dos complexos.

Tabela 36| Complexos inorgânicos com atividade antifúngica

METAIS ^a	LIGANTES	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA (CIM)	REFERÊNCIA
Fe; Zn; Se	[S ₂ CNMe ₂] e [S ₂ CNEt ₂]	<i>Botrytis cinerea</i> ^b (0,1-1 mg/L); <i>Penicillium italicum</i> ^b (0,1-1 mg/L); <i>Aspergillus niger</i> (5-10 mg/L); <i>Rhizopus nigricans</i> (1-2 mg/L)	124
Cu; Co	[S ₂ CNMe ₂]	<i>Aspergillus niger</i>	125
Mn	EtNH ₂ ; H ₂ NCH ₂ CH ₂ NH ₂ ; MeNH ₂	<i>Alternaria tenuis</i>	126
Cu; Zn	[2,6-Cl ₂ -4-NO ₂ -NH ₂ Ph] e LG1 : C ₅ H ₅ N ₂ OSCl ₃ (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Aspergillus terreus</i> ; <i>Aspergillus parasiticus</i> ; <i>Penicillium rubrum</i> ; <i>Penicillium citrinum</i> ; <i>Penicillium puberulum</i> ; <i>Rhizopus stolonifer</i> ; <i>Rhizopus arrhizus</i> ; <i>Rhizopus oryzae</i> ; <i>Sclerotium bataticola</i> ; <i>Curvularia maculans</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i>	127
Cu	[SC(NH ₂) ₂ (S ₂ CNMe ₂)]	<i>Aspergillus niger</i> (10-20 ppm / 2-4 x 10 ⁻³ M); <i>Fusarium oxysporum</i> (10-20 ppm / 2-4 x 10 ⁻³ M)	128
Zn; Mn; Cu; Ni; Co; Fe; Cd	[(RNHC(=NH)NH ₂)(S ₂ CNMe ₂)]; R = <i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅ , <i>n</i> -C ₁₄ H ₂₉ , <i>n</i> -C ₁₆ H ₃₃ , <i>n</i> -C ₁₈ H ₃₇ , (CH ₂) ₄ CHMe Et, Bu.	<i>Alternaria solani</i>	129
Co; Cu; Zn	LG2 : C ₁₀ H ₇ N ₃ S (Tabela 36)	<i>Penicillium spp.</i> (5-9 mg/L); <i>Fusarium spp.</i> (51-61 mg/L)	130
Ni; Co	LG3 : C ₆ H ₇ N ₃ OS (Tabela 36)	<i>Alternaria tenuis</i> ; <i>Helminthosporium sativum</i>	131
Mn; Fe; Co; Ni	LG4 : C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O (Tabela 36)	<i>Paecilomyces variot</i> ; <i>Curvularia lunata</i>	132
Zn	LG5 : C ₄ H ₇ N ₂ S ₄ Na (Tabela 36) e LG6 : C ₉ H ₇ NO (Tabela 36)	<i>Alternaria tenuis</i> (0,5 mg/L); <i>Helminthosporium sativum</i> (0,5 mg/L)	133
Mg; Zn; Mn; Cu; Fe; Al; Sn	[2,6-Cl ₂ -4-NO ₂ -NH ₂ Ph] e [S ₂ CNEt ₂]	<i>Phytophthora cactorum</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Alternaria solani</i> ; <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ; <i>Schizophyllum commune</i> ; <i>Pythium debarianum</i> ; <i>Mucor mucedo</i>	134

Mg; Zn; Mn; Cu; Fe; Al	[2,6-Cl ₂ -4-NO ₂ -NH ₂ Ph] e [S ₂ CNEt ₂]	<i>Botrytis cinerea; Alternaria solani; Trichophyton mentagrophytes</i>	135
Cu	LG7: C ₆ H ₆ N ₂ O (Tabela 36)	<i>Fusarium oxysporum; Drechslera rostrata</i>	136
Cu; Ni;Co; Cd	HO-N(Ph)-CO-CH ₂ Ph	<i>Fusarium oxysporum; Alternaria alternate</i>	137
Pd	LG8: C ₅ H ₄ N ₂ O ₄ (Tabela 36)	<i>Candida</i> sp. (1000 mg/L)	138
Pd	H ₂ N-C(S)-NH-N=CPh	<i>Fusarium oxysporum</i> (76-77% /85-86 ppm); <i>Sclerotium rolfsi</i> (72-73% / 76-78 ppm); <i>Alternaria alternata</i> (89-90% / 92-94 ppm)	139
Zn; Cu	LG9: [C ₈ H ₁₅ NO ₃] _n (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger; Aureobasidium pullulans; Chaetomium globosum</i>	140
Au; Os	[O ₂ (2,6-Me ₂ -C ₆ H ₃) ₂]; [(SCN)(PMe ₃)]	<i>Candida albicans</i> (52,5 mg/L)	141
Mg; Fe; Co; Ni; Zn; Cu; Mo; Rh; Ag; Sn; Sm; Pt; Au; Hg; Pb	[(S ₂ CNMe ₂) ₂ (L)]; L = CH ₃ (CH ₂) ₁₁ -NH-C(=NH)-NH ₂	<i>Alternaria solani</i> (37-686µm/L); <i>Ascochyta pisi</i> (506-1390µm/L); <i>Botrydiplodia theobromae</i> (251-2665µm/L); <i>Botrytis allii</i> (138-1383µm/L); <i>Cladosporium cucumerinum</i> (83-347µm/L); <i>Colletotrichum atramentarium</i> (30-6240µm/L); <i>C. lindemuthuanum</i> (37-9318µm/L); <i>C. dematium</i> (20-4182µm/L); <i>Diaporthe helianthi</i> (13-387µm/L); <i>Didymella applanata</i> (53-287µm/L); <i>Drechslera teres</i> (239-3597µm/L); <i>F. graminearum</i> (51-2410µm/L); <i>F. oxysporum</i> (62-440µm/L); <i>Helminthosporium carbonum</i> (79-367µm/L); <i>Macrophomina phaseolina</i> (39-343µm/L); <i>Mucor racemosus</i> (341-4255µm/L); <i>Nectria cinnabarina</i> (44-655µm/L); <i>Nigrospora oryzae</i> (17-888µm/L); <i>Penicillium</i> sp. (307-7288µm/L); <i>Phoma betae</i> (93-440µm/L); <i>Phytophthora parasitica</i> (216-1490µm/L); <i>Piricularia oryzae</i> (42-2533µm/L); <i>Rhizoctonia solani</i> (535-2801µm/L); <i>Rhizopus nigricans</i> (34-981µm/L); <i>Thielaviopsis basicola</i> (108-448µm/L); <i>Trametes versicolor</i> (56-1233µm/L)	142

Pd	$\text{CH}_3\text{-CO-CHR-CO-CH}_3$; R = Tiazol ou triazol	<i>Alternaria brassicae</i> (45-50% / 250 mg/L); <i>Fusarium lycopersici</i> (59-60% / 250 mg/L)	143
Ni; Co; Mn	LG10: $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{N}_7\text{P}_3\text{Cl}_2$ (Tabela 36)	<i>Aspergillus flavus</i> C1150 (9-35 $\mu\text{g/mL}$); <i>A. niger</i> C418 (10-39 $\mu\text{g/mL}$); <i>Candida albicans</i> C316 (2-20 $\mu\text{g/mL}$)	144
Cu	LG11: $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_{18}$ (Tabela 36)	<i>T. palustris</i> ; <i>C. versicolor</i>	145
Pd	$[\text{o-FC}_6\text{H}_4\text{C(H)NNC(SH)SCH}_2\text{Ph}]$; $[\text{o-FC}_6\text{H}_4\text{C(Me)NNC(SH)SCH}_2\text{Ph}]$	<i>Rhizoctonia bataticola</i> (7-8 mm / 58-59 ppm) ^c ; <i>Fusarium oxysporum</i> (9-10 mm / 81-82 ppm) ^c ; <i>Alternaria alternata</i> (7-8 mm / 70-71 ppm) ^c	146
Cu; Ni; Co; Cr	LG12: $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_8\text{N}_2$ (Tabela 36)	<i>Aspergillus flavus</i> C1150 (2-75 mg/L); <i>Aspergillus niger</i> C418 (1-70 mg/L); <i>Candida albicans</i> C316 (9-35 mg/L)	147
Zn; Cu; Ni; Co; Mn	LG13: $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ (Tabela 36)	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Colletotrichum falcatum</i> ; <i>fusarium oxysporum</i> ; <i>Rhizoctonia bataticola</i>	148
Pd	$(\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2)_2$; $(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2)_2\text{Sn}_2(\text{Ph})_4$; $(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2)_2\text{Sn}_2(\text{Me})_4$; $(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2)_2\text{Si}_2(\text{Ph})_4$; $(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2)_2\text{Ti}_2(\text{Cp})_4$; $(\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2)_2\text{Zr}_2(\text{Cp})_4$	<i>Alternaria alternata</i> (25-50 %); <i>Fusarium oxysporum</i> (27-55 %)	149
Sn	$\text{R-CH=N-NH-C(S)-SCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$; R = 2-furano e 2-tiofeno	<i>Aspergillus flavus</i> (8-14 mm); <i>Aspergillus niger</i> (8-12 mm); <i>Rhizoctonia phaseoli</i> (9-15 mm); <i>Penicillium chrysogenum</i> (10-15 mm)	150
Ag	LG14: $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ (Tabela 36); LG15: $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$ (Tabela 36); LG16: $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$ (Tabela 36); LG17: $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_4$ (Tabela 36)	<i>Candida albicans</i> (15,7 mg/L); <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (15,7 mg/L)	151
Co; Fe; Ba	LG6: $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ (Tabela 36); $[\text{S}_2\text{CNR}]$, R = $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_2\text{-}$ (CHCH_2O)	<i>Aspergillus niger</i> (25-75%); <i>Penicillium</i> sp. (25-50%)	152
Sn	$[(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2)_2\text{-C}_6\text{H}_3][\text{R}]$; R = <i>n</i> Bu ou Ph	<i>Candida albicans</i> ATCC 44895 (7,81->500 $\mu\text{mol/L}$); <i>Trichosporon beigelii</i> 1188 (125->500 $\mu\text{mol/L}$); <i>Candida tropicalis</i> 156 (62,5-500 $\mu\text{mol/L}$); <i>T. mentagrophytes</i> 445 (1,95-250 $\mu\text{mol/L}$); <i>Candida krusei</i> E28 (3,91->500 $\mu\text{mol/L}$); <i>Aspergillus fumigatus</i> 231 (7,81->500 $\mu\text{mol/L}$); <i>Candida glabrata</i> 20/I (15,6->500 $\mu\text{mol/L}$); <i>Absidia corymbifera</i> 272 (7,81->500 $\mu\text{mol/L}$).	153

V; Mo; W; Pt	$[R_2NCS_2]_n$; n = 3 ou 4. $R_2 = Me_2$ ou Et_2	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>Colletotrichum capsici</i>	154
Mn; Co; Ni; Cu; Zn; Cd	$Fe(CN)_6$	<i>Mycogone pernicioso</i> ; <i>Rhizoctonia solani</i>	155
Bi	$(4-YC_6H_4)_3$ Y=MeO, F, Cl, CF_3 , CN ou NO_2 ; 2- <i>t</i> BuSO ₂ C ₆ H ₄ (4-YC ₆ H ₄) Y=MeO, Me, H ou Cl; (C ₆ H ₄ -2-SO ₂ C ₆ H ₄ -1'-); 2-Me ₂ NCH ₂ C ₆ H ₄ (Ph); 4-MeC ₆ H ₄ (8-Me ₂ NC ₁₀ H ₆ -1-)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (0-18 mm)	156
Au; Cu; Ru	LG18: C ₂₂ H ₁₇ ClN ₂ (Tabela 36); LG19: C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ O ₄ (Tabela 36)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (0,75-3 mM/L)	157
Co, Cu, Ni, Zn	LG20: C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₄ S (Tabela 36)	<i>Trichophyton longifusus</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Microsporium canis</i> ; <i>Fusarium solani</i> ; <i>Candida Glabrata</i>	158
Ti	[(Pht ou Suc) ₂ (A) ₂] A = H ₂ NCH ₂ CO ₂ H; HOCH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H; (CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H; HSCH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H; (-SCH ₂ CH(NH ₂)CO ₂ H) ₂ . LG21: C ₈ H ₅ NO ₂ (Tabela 36). LG22: C ₄ H ₅ NO ₂ (Tabela 36)	<i>Candida albicans</i> (9-16 mm / 200µg); <i>Aspergillus niger</i> (10-14 mm / 200µg); <i>A. fumigatus</i> (10-14 mm / 200µg)	159
Sn	[S ₂ CN(CH ₂) ₄] ₂ Cl ₂ ; [S ₂ CN(CH ₂) ₄] ₂ Ph ₂ ; [S ₂ CN(CH ₂) ₄] ₂ Ph ₃ ; [S ₂ CN(CH ₂) ₄] ₂ n-Bu ₂ ; [S ₂ CN(CH ₂) ₄] ₂ Cy ₃	<i>Candida albicans</i> (ATCC 18804)(8,4-19,7 mm / 0,025-3,2 mM) ^c	160
Zn, Pd	LG23: C ₁₆ H ₁₄ N ₄ S (Tabela 36)	<i>Candida albicans</i> (≤ 0,125-8 µg/mL); <i>Candida utilis</i> (≤ 0,125-8 µg/mL); <i>Cryptococcus neoformans</i> (4-8 µg/mL)	161
Pd	[2-HOC ₆ H ₄ C(H)=NC ₆ H ₃ -2-(OH)-5-CO ₂ H]; [5-Br-2-HOC ₆ H ₃ C(H)=NC ₆ H ₃ -2-(OH)-5-CO ₂ H]	<i>Aspergillus niger</i> (0-3 mm); <i>Aspergillus flavus</i> (3-5 mm)	162
Pd	LG24: C ₁₃ H ₁₁ N ₂ O ₃ S; C ₁₄ H ₁₃ N ₂ O ₃ S; C ₁₅ H ₁₅ N ₂ O ₃ S; C ₁₈ H ₂₀ N ₃ O ₄ S (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> (0-1 mm / 100 µg); <i>Aspergillus flavus</i> (0-3 mm / 100 µg)	163
Pd	LG25: C ₁₉ H ₂₁ NBO ₃ ; C ₁₉ H ₂₀ N ₂ BO ₅ ; C ₂₃ H ₂₃ NBO ₃ (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> (3-6 mm / 200 µg); <i>Aspergillus flavus</i> (0-6 mm / 200 µg)	164
Co	LG26: C ₁₇ H ₁₈ N ₆ OS (Tabela 36); LG27: C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₂ S (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> (25-75%); <i>Candida albicans</i> (25-50%)	165
Ni; Co; Pt	C ₆ H ₅ -C(O)=N-C(=S)-NR ₁ R ₂ ; R ₁ = Me ou Et e R ₂ = nBu ou iPr	<i>Penicillium digitatum</i> (10–96,1% / 20µg)	166

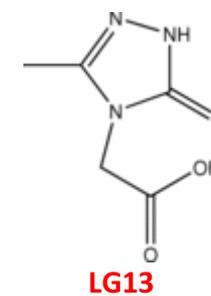
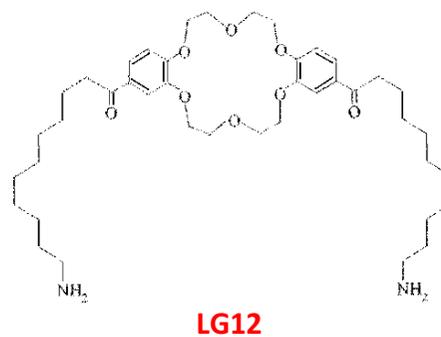
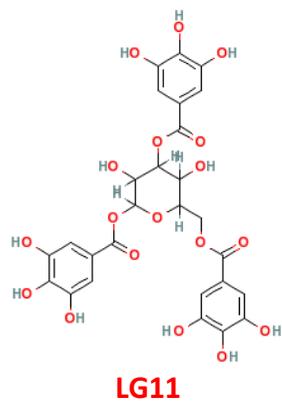
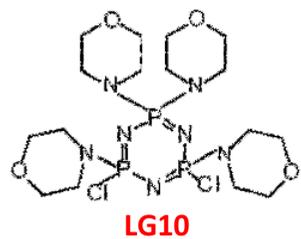
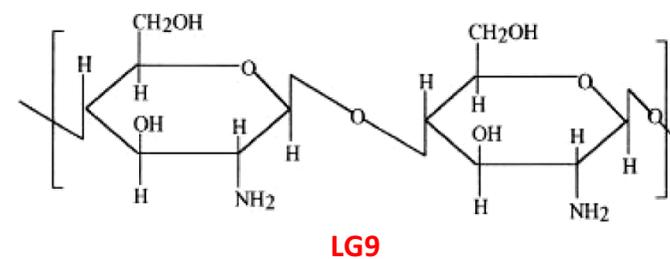
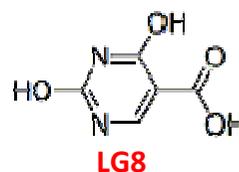
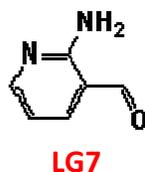
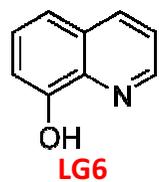
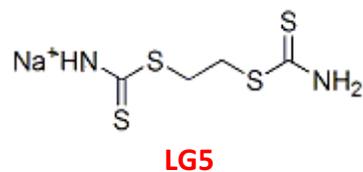
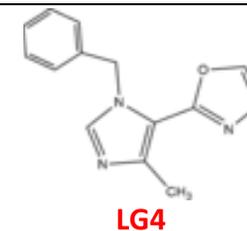
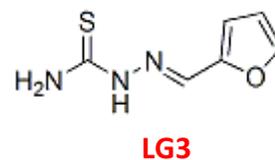
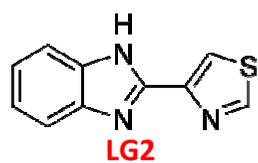
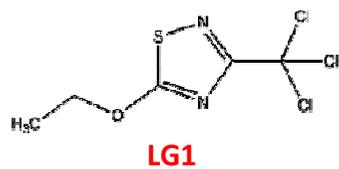
Si	LG28: C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₂ (Tabela 36); LG29: C ₁₇ H ₁₄ N ₄ OS (Tabela 36); LG30: C ₁₇ H ₁₃ N ₅ O ₃ S (Tabela 36); LG31: C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₃ S (Tabela 36)	<i>Fusarium oxysporum</i> (68-81% / 50 ppm); <i>Aspergillus niger</i> (72-88% / 50 ppm)	167
Cu, Co; Ni; Zn	LG32: C ₁₄ H ₁₄ FeO ₂ (Tabela 36)	<i>Trichophyton longifusus</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Microsporum canis</i> ; <i>Fusarium solani</i> ; <i>Candida glabrata</i>	168
Pd	LG33: C ₁₇ H ₁₃ N ₄ OCIX, (X = S ou O)(Tabela 36)	<i>Fusarium oxysporum</i> (40-48% / 50 ppm); <i>Macrophomina phaseolina</i> (40-47% / 50 ppm)	169
Bi	[R' ₂ NCS ₂] ₂ [S ₂ COR]; R' = Me e Et. R = Et, nPr, iPr, nBu e iBu	<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 9029) (6-10 mm / 100 ppm); <i>Penicillium chrysogenum</i> (ATCC 10106) (6-10 mm / 100 ppm)	170,171
Pd	P(Ph) ₂ -PhCHO	<i>Candida albicans</i> (0,77 mM)	172
Pd	LG34: C ₉ H ₁₀ N ₂ ; C ₁₄ H ₁₂ N ₂ ; C ₂₄ H ₄₀ N ₂ ; C ₁₀ H ₁₂ N ₂ ; C ₁₅ H ₁₄ N ₂ ; C ₂₅ H ₄₂ N ₂ (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> (0-45 % / 200 µg); <i>Aspergillus flavus</i> (0-50 % / 200 µg); <i>Candida albicans</i> (0-40 % / 200 µg); <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (0-74 % / 200 µg)	173
Pd	LG35: C ₅ H ₈ N ₂ (Tabela 36); LG36: C ₅ H ₅ NO ₄ (Tabela 36)	<i>Aspergillus niger</i> (100 mg/L)	174
Cu	[X(NC(Ph)CH ₂) ₂] ₂ ; X = Pirrolidina, furano ou tiofeno	<i>Aspergillus niger</i> (50-75%)	175
Ru; Rh; Ir	[(C ₆ H ₄)NHC(O)C(N-)] ₂ X; X = (CH ₂) ₂ ; (CH ₂) ₃ ; (CH ₂) ₄ ; 2-C ₆ H ₄ ; 3-C ₆ H ₄	<i>Aspergillus niger</i> (12,2-25,5% / 100 ppm); <i>Fusarium oxysporum</i> (14-29,6% / 100 ppm)	176
Zn	[NaS ₂ CNEt ₂]; [NaS ₂ PEt ₂]	<i>Fusarium</i> sp. (0-15 mm / 1,8%)	177
Pd	(C ₅ H ₄ N)-NH-CS-NH-R; R = NH ₂ , NH(CH ₂) ₃ NH ₂ , N=CH-C ₆ H ₅ , N=CH-(C ₆ H ₄ OH)	<i>Aspergillus fumigatus</i> (250-500 µg/mL); <i>A. flavus</i> (250-500 µg/mL); <i>A. niger</i> (500 µg/mL)	178
Pd	(C ₆ H ₅) ₂ N-CS-NHNH ₂ ; (C ₆ H ₅) ₂ N-CS-(CH ₂) ₂ -NH ₂	<i>Aspergillus fumigates</i> (250-500 mg/L); <i>Aspergillus flavus</i> (250-500 mg/L); <i>Aspergillus niger</i> (500-1000 mg/L)	179
Pd	(µ ₂ -SCH ₂ CH ₂ NHNCC ₆ H ₄)	<i>Candida albicans</i> (17 mm); <i>Kluyveromyces fragilis</i> (18 mm); <i>Rhodotorula rubra</i> (15 mm); <i>Candida guilliermondii</i> (16 mm)	180

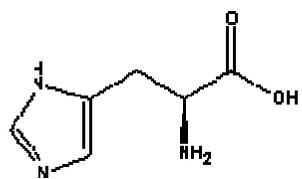
Co; Cu; Ni; Zn	LG37: C ₁₆ H ₁₇ NO ₂ Fe (Tabela 36); LG38: C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂ Fe (Tabela 36)	<i>Trichophyton longifusus</i> (17-27 mm); <i>Candida albicans</i> (12-18 mm); <i>Aspergillus flavus</i> (17-28 mm); <i>Microsporum canis</i> (20-26 mm); <i>Fusarium solani</i> (18-27 mm); <i>Candida glabrata</i> (18-25 mm)	181
Cr	[HSCH ₂ C(NH ₂)CO ₂ H] ₂ X ₂ ; [PhCH ₂ C(NH ₂)CO ₂ H] ₂ Y ₂ ; X = LG39: C ₈ H ₅ NO ₂ (Tabela 36). Y = LG40: C ₄ H ₅ NO ₂ (Tabela 36).	<i>Candida albicans</i> (15-18 mm / 200 µg); <i>Aspergillus niger</i> (15-18 mm / 200 µg); <i>Aspergillus fumigatus</i> (15-18 mm / 200 µg); <i>Penicillium</i> spp. (15-18 mm / 200 µg)	182
Cu; Cd; Pb; Ni; Zn	[S ₂ CNEt ₂]	<i>Aspergillus niger</i> l (9-12 mm / 100 µL); <i>Rhizopus oryzae</i> (0 mm / 100 µL); <i>Chrysosporium tropicum</i> (8-12 mm / 100 µL); <i>Candida albicans</i> (9-11 mm / 100 µL); <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9-11 mm / 100 µL)	184
Ag	(HFlu)(NO ₃); (HFlu) ₂ (ClO ₄). LG41: C ₁₃ H ₁₂ N ₆ OF ₂ (Tabela 36)	<i>Candida albicans</i> (0,25 µg mL ⁻¹ / MIC 80%); <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2 µg mL ⁻¹ / MIC 80%); <i>Mucor mucedo</i> (5 µg mL ⁻¹ / MIC 80%); <i>Rhizopus tolonifer</i> (5 µg mL ⁻¹ / MIC 80%); <i>Penicillium uniculosum</i> (10 µg mL ⁻¹ / MIC 80%); <i>Aspergillus niger</i> (5-10 µg mL ⁻¹ / MIC 80%)	183
Cu; Ni; Zn; Cd	<i>vic</i> -dioxime LG42: C ₁₂ H ₉ N ₃ O ₉ Na ₂ S ₂ (Tabela 36)	<i>Rhodotorula rubra</i> (7-16 mm / 2ppm-50µL); <i>Kluyveromyces marxianus</i> (8-18 mm / 2ppm-50µL); <i>Aspergillus fumigatus</i> (8-14 mm / 2ppm-50µL); <i>Mucor pusillus</i> (7-8 mm / 2ppm-50µL)	185
Ru	[(mttpty) ₂ (PF ₆) ₂]; [(attpty) ₂ (PF ₆) ₂]; [(mttpty)(tpty)(PF ₆)]; [(mttpty)(MeOPhtpty)(PF ₆) ₂]. m = CH ₃ , a = H. tpty = LG43: C ₂₅ H ₁₈ O ₂ N ₃ (Tabela 36)	<i>Curvularia lunata</i> ^b (8-11 mg/L); <i>Fusarium oxysporum</i> ^b (10-28 mg/L); <i>Fusarium udum</i> ^b (11-30 mg/L); <i>Macrophomina phaseolina</i> ^b (7-15 mg/L); <i>Rhizoctonia solani</i> ^b (12-36 mg/L)	186
Sn	[(S ₂ CNX) ₂ Cl ₂]; [(S ₂ CNX) ₂ Ph ₂]; [(S ₂ CNX) ₂ Ph ₃]; [(S ₂ CNX) ₂ <i>n</i> -Bu ₂]; [(S ₂ CNX) ₂ Cy ₃] Cy = ciclohexil; X = (CH ₂) ₄ ou (C ₂ H ₅) ₂	<i>C. albicans</i> (ATCC18804/Isolado Clínico) (1,25->250 mg/L); <i>C. tropicalis</i> (ATCC 750)(1,25-75 mg/L)	188
Cr; Mn; Fe; Fe; Co; Ni; Cu; Zn	LG45: C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₂ (Tabela 36)	<i>Aspergillus flavus</i> (55-110 mg/L); <i>Aspergillus niger</i> (65-140 mg/L)	189

Ru	LG44: C ₉ H ₁₁ O ₃ N ₃ S (Tabela 36)	<i>Candida albicans</i> (8-15 mm / 100 ppm) ^c ; <i>Aspergillus niger</i> (9-11 mm / 100 ppm) ^c	187
Co; Cu; Ni; Zn	LG46 (R = H ou CH ₃ ; R ₁ = isoxazol ou tiazol): C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O ₄ S; C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃ S ₂ ; C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₄ S; C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S ₂ (Tabela 36)	<i>T. longifusus</i> (0-80% / 200 µg/mL); <i>Candida albicans</i> (0-75% / 200 µg/mL); <i>Aspergillus flavus</i> (0-80% / 200 µg/mL); <i>M. canis</i> (0-90% / 200 µg/mL); <i>F. solani</i> (0-85% / 200 µg/mL); <i>Candida glabrata</i> (0-85% / 200 µg/mL)	190
Ag	LG47: [C ₅₇ H ₉₄ O ₂₉] extraído da <i>Capsicum frutescens</i> (Tabela 36)	<i>Aspergillus flavus</i> (1,25-30 mg/L); <i>Aspergillus fumigatus</i> (0,63-30 mg/L); <i>Aspergillus niger</i> (0,03->2 mg/L); <i>Fusarium verticillioides</i> (0,075-25 mg/L); <i>Fusarium oxysporum</i> (0,075-25 mg/L); <i>Fusarium solani</i> (0,03-25 mg/L)	191

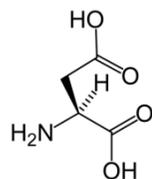
^a B, Si e Se são classificados como semi-metais, mas seus complexos com atividade antifúngica são descritos na tabela. ^b patógeno de plantas. ^c teste antifúngico pelo método de difusão de disco. ^d atividade antifúngica somente dos ligantes. Referência complementar¹⁹².

Tabela 37 | Estrutura química de alguns ligantes listados na Tabela 35

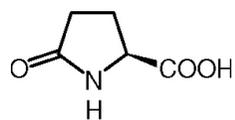




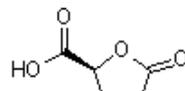
LG14



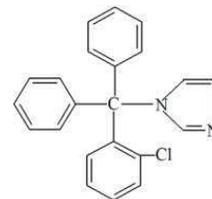
LG15



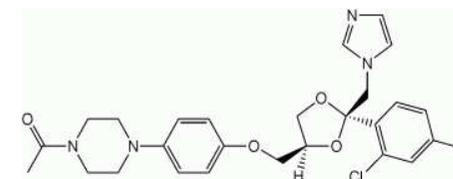
LG16



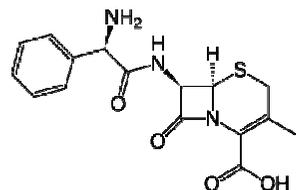
LG17



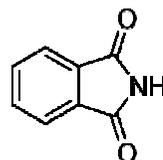
LG18



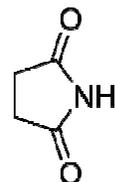
LG19



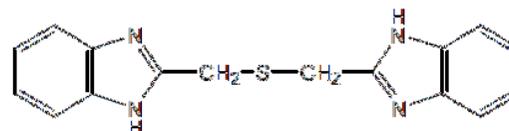
LG20



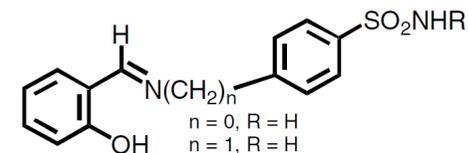
LG21



LG22

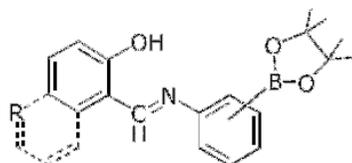


LG23



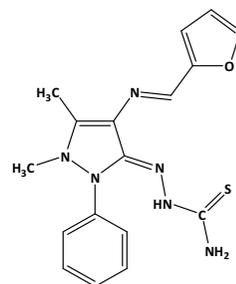
$n = 0, R = H$
 $n = 1, R = H$
 $n = 2, R = H$
 $n = 0, R = C(O)NHBu$

LG24

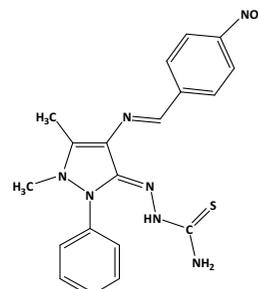


1: 2-Bpin, **2:** 3-Bpin, **3:** 4-Bpin
a: R = H, **b:** R = NO₂, **c:** R = naphthalene

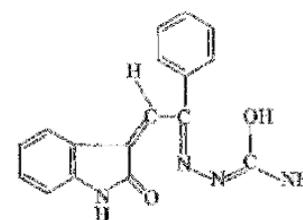
LG25



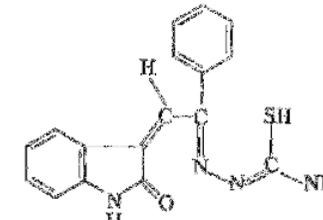
LG26



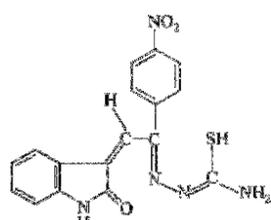
LG27



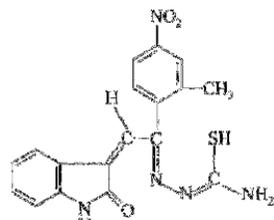
LG28



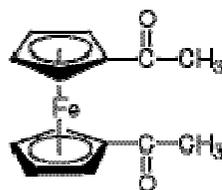
LG29



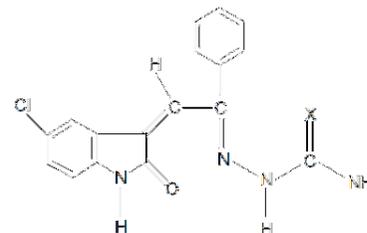
LG30



LG31



LG32



LG33

R=H, R'=allyl
 R=H, R'=4-styryl
 R=H, R'=oleyl
 R=Me, R'=allyl
 R=Me, R'=4-styryl
 R=Me, R'=oleyl

LG34

