



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

Leticia Pires de Oliveira

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE CITOTÓXICA E
ANTIMICOBACTERIANA DE COMPLEXOS METÁLICOS COM
FLUOROQUINOLONAS**

Uberlândia-MG

2018

LETICIA PIRES DE OLIVEIRA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE
CITOTÓXICA E ANTIMICOBACTERIANA DE
COMPLEXOS METÁLICOS COM FLUOROQUINOLONAS**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial para obtenção
do Título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Guerra

Uberlândia-MG

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

O48s
2018

Oliveira, Leticia Pires de, 1994-
Síntese, caracterização, atividade citotóxica e antimicobacteriana de complexos metálicos com fluoroquinolonas / Leticia Pires de Oliveira. - 2018.
127 f. : il.

Orientador: Wendell Guerra.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.198>
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Platina - Síntese - Teses. 3. Paládio - Síntese - Teses. 4. *Mycobacterium tuberculosis* - Teses. I. Guerra, Wendell. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 278/PPQUI.

DATA: 21/02/2018

DISCENTE: Leticia Pires de Oliveira

MATRÍCULA: 11612QMI007

TÍTULO DO TRABALHO: Síntese, caracterização, atividade citotóxica e antimicobacteriana de complexos metálicos com fluoroquinolonas.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

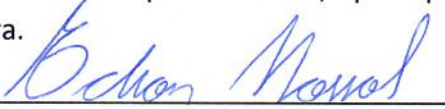
LINHA DE PESQUISA: Química Bioinorgânica


PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Preparação e caracterização de complexos e óxidos metálicos para aplicação em catálise, novos fármacos e conversão de energia


Às quatorze horas do dia vinte e um de fevereiro do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones, piso superior do Bloco 5I no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof. Dr. Edson Nossol, Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. Wagner Batista dos Santos, Universidade Federal do Mato Grosso e Prof. Dr. Wendell Guerra, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

mantido

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 20 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Edson Nossol


Prof. Dr. Wagner Batista dos Santos


Prof. Dr. Wendell Guerra

Dedico essa dissertação aos meus pais,
Irene Ferreira Pires e Gildo Dias.

AGRADECIMENTOS

À Deus por tudo que Ele tem me concedido.

À minha família pelo apoio, e principalmente à minha mãe por toda paciência e por sempre me confortar em momentos difíceis.

Ao meu orientador Wendell Guerra, pela oportunidade, por todo o aprendizado e por sua competência profissional a todo momento.

Ao meu namorado Alessandro Augusto, por toda a paciência e por todas as palavras de conforto.

Aos professores Letícia Regina de Souza Teixeira (UFMG), Sérgio de Albuquerque (FCFRP-USP), Zumira Aparecida Carneiro (FCFRP-USP), Fernando Pavan (UNESP), Marcos Pivatto (UFU), Norberto Peporine Lopes (FCFRP-USP) por toda a contribuição durante o trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Síntese Inorgânica (LABSIN) pelo companheirismo e paciência, principalmente a Drielly e o Maurício, que me ajudaram muito durante todo esse tempo.

Aos meus amigos pelos bons momentos, em especial a Lorena Fernandes e o Eduardo Marson que sempre estão ao meu lado.

À Rede Mineira de Química e ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT).

À Mayta, secretária da Pós-graduação, pela grande ajuda sempre que necessário.

À CAPES por me conceder a bolsa de mestrado durante a realização deste trabalho.

À UFU por todos os recursos disponibilizados para a conclusão deste trabalho.

Por fim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

“Porque onde estiver vosso tesouro,
aí estará também o vosso coração!”

Mateus 6, 21

RESUMO

O presente trabalho descreve a síntese e caracterização de novos complexos de platina(II) do tipo $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{FQ})\text{Cl}]\text{Cl}$ e complexos de paládio(II) do tipo *cis*- $[\text{Pd}(\text{FQ})\text{Cl}_2]$ em que FQ representa uma fluoroquinolona, a saber, levofloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina e esparfloxacina. Estes complexos foram caracterizados por análise elementar, condutimétrica e termogravimétrica, assim como espectrometria de massas de alta resolução, UV-Vis, IV, e por RMN ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt . Os dados espectrais sugerem que as fluoroquinolonas coordenam-se como ligantes bidentados à platina(II) através dos átomos de nitrogênio do anel piperazínico. A atividade antimicobacteriana e antitumoral dos compostos de platina contendo ofloxacina, ciprofloxacina e esparfloxacina foram determinadas. Ensaio microbiológicos envolvendo a linhagem *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC 27294) mostraram que todos os complexos possuem apreciável atividade, exibindo atividade antituberculose em baixas concentrações com valores de MIC comparáveis aos fármacos de segunda linha usados no tratamento de tuberculose. O complexo com esparfloxacina, $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$, exibiu o melhor potencial contra a maioria dos isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes. A atividade citotóxica destes compostos foi avaliada em três linhagens celulares: MCF-10 (célula sadia), MCF-7 (célula de câncer com resposta hormonal) e MDA-MB-231 (célula de câncer de mama triplo negativa). O complexo $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$ exibiu IC_{50} igual a 17,3 para as células MCF-7 e 15,3 para as células MDA-MB-231, com índices de seletividade de 7,8 e 8,8, respectivamente, sendo então três vezes mais ativo que a cisplatina na linhagem MCF-7 e aproximadamente 5 vezes mais ativo na linhagem MDA-MB-231, mostrando-se bem mais seletivo que a cisplatina. A citometria de fluxo determinou que $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$ induziu morte por apoptose tardia nas células MDA-MB-231.

Palavras-chave: Complexos de platina(II), complexos de paládio(II), atividade antitumoral, *Mycobacterium tuberculosis*, atividade antituberculose.

ABSTRACT

This work describes the synthesis and characterization of new platinum complexes of the type $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{FQ})\text{Cl}]\text{Cl}$ and palladium complexes of the type *cis*- $[\text{Pd}(\text{FQ})\text{Cl}_2]$, in which FQ represents a fluoroquinolone, namely, levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin and sparfloxacin. These complexes were characterized by elemental analysis, conductivity and thermogravimetric as well as high-resolution mass spectrometric (HRESIMS), IR, UV-Vis and ^1H , ^{13}C and ^{195}Pt NMR. The spectral data suggest that the fluoroquinolones act as bidentate ligands coordinated to platinum(II) through the nitrogen atoms of the piperazine ring. The antimycobacterial and anticancer activity of the platinum compounds containing ofloxacin, ciprofloxacin and sparfloxacin were determined. Microbiological assays against wild type *Mycobacterium tuberculosis* (ATCC 27294) showed that all complexes have been very active, exhibiting antituberculosis activity in low concentrations with MIC values comparable to second line drugs used in the treatment of tuberculosis. The complex with sparfloxacin, $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$, exhibited the best potential against most drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. The cytotoxicity activity of these compounds was also evaluated in three cell lines: MCF-10 (a healthy cell), MCF-7 (a hormone responsive cancer cell) and MDA-MB-231 (triple negative breast cancer cell). The complex $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$ showed IC_{50} equal 17.3 for MCF-7 cells and 15.3 for MDA-MB-231 cells, with selectivity index 7.8 and 8.8, respectively, being three times more active than cisplatin for MCF-7 line and approximately five times more active than MDA-MB-231 line, being more selective than cisplatin. Flow cytometry analysis revealed that $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$ induced late apoptotic cell death in MDA-MB-231 cells.

Keywords: Platinum(II) complexes, Palladium(II) complexes, antitumor activity, *Mycobacterium tuberculosis*, antituberculosis activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Estrutura do ácido nalidixico (em destaque o núcleo 4-quinolona).	1
Figura 2-Estrutura da flumequina.....	2
Figura 3-Estrutura base da quinolona.....	2
Figura 4-Alguns dos substituintes no núcleo quinolínico e o decorrente aumento de atividade.	3
Figura 5-Estrutura base das fluoroquinolonas.....	7
Figura 6-Alguns possíveis modos de coordenação das fluoroquinolonas.....	8
Figura 7-Estrutura geral para os complexos de cobre(II) contendo ligante P,O-doador e ligantes fluoroquinolonas.....	11
Figura 8-Estrutura de complexos de cobre contendo fenantrolina (phen) e fluoroquinolonas.....	11
Figura 9-Complexos de ouro contendo fluoroquinolonas.....	12
Figura 10-Estrutura geral para os complexos do tipo [Pt(FQ) ₂].....	12
Figura 11- Gráfico com o total de óbitos de acordo com as regiões brasileiras em 2014.....	18
Figura 12-Fármacos de primeira linha no tratamento da tuberculose, onde: (INH) isoniazida, (RFP) rifampicina, (PZA) pirazinamida e (EMB) etambutol.....	19
Figura 13-Estruturas dos fármacos de segunda linha no tratamento da tuberculose, onde: (AMC) amicacina, (COM) capreomicina, (CPL) ciprofloxacina, (OFL) ofloxacina, (PAS) ácido p- amino salicílico, (ETM) etionamida e PRM (protionamida).....	20
Figura 14-Estrutura da bedaquilina	21
Figura 15- Quimioterápicos à base de platina	25
Figura 16-Mecanismo de transposição da cisplatina na célula.....	26
Figura 17-Estruturas dos ligantes utilizados e estruturas propostas para os complexos	36
Figura 18-Curva TG/DTA para o complexo II ou [Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl.....	40
Figura 19-Curva TG/DTA para o complexo III ou [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl.....	40
Figura 20-Curva TG/DTA para o complexo V ou [Pd(CPL)Cl ₂].....	41
Figura 21-Espectro na região UV-Vis para o complexo II e seu respectivo ligante.....	43
Figura 22-Espectro na região UV-Vis para o complexo IV e seu respectivo ligante.....	44
Figura 23-Ampliação do espectro UV-Vis do complexo IV na região de 400 a 600 nm.....	44
Figura 24-Espectro vibracional de absorção no infravermelho para o complexo I , [Pt(LFL)(DMSO)Cl]Cl, e o ligante LFL.....	48

Figura 25-Espectro vibracional de absorção no infravermelho para o complexo I , [Pt(LFL)(DMSO)Cl]Cl, e o ligante LFL.....	49
Figura 26-Espectro de massas em alta resolução para o complexo IV ou [Pt(SPF)(DMSO)Cl]Cl.	50
Figura 27-Numeração dos ligantes para atribuição dos sinais do RMN de ^1H	52
Figura 28-Espectro de RMN ^1H para o ligante CPL	54
Figura 29-Espectro de RMN de ^1H para o complexo III ou [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl.	55
Figura 30-Espectro de RMN de ^1H para o complexo V ou [Pd(CPL)Cl ₂].	56
Figura 31-Numeração dos ligantes para atribuição dos sinais do RMN de ^{13}C	57
Figura 32- RMN de ^{195}Pt para o complexo III , [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl, em DMSO-d ₆	61
Figura 33-Estudo de estabilidade do complexo II , [Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl, por espectrofotometria UV-Vis.....	62
Figura 34-Estudo de estabilidade do complexo III , [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl, por espectrofotometria UV-Vis.....	62
Figura 35-Estudo de estabilidade do complexo V , [Pd(CPL)Cl ₂], por espectrofotometria UV-Vis.....	63
Figura 36-Estabilidade por RMN ^{195}Pt do complexo III ou [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl.....	64
Figura 37-Estudo de solvólise do complexo [Pt(CPL)Cl ₂] por RMN de ^{195}Pt	64
Figura 38-Etapas da apoptose.....	67
Figura 39-Representação das células de câncer de mama tratadas com anexina V e iodeto de propídio, sendo a medição realizada por citometria de fluxo.....	69
Figura 40-A-Porcentagem de células tingidas após tratamento. 40B-Porcentagem de células duplo positivo por Anexina e iodeto de propídio. 40C- Porcentagem de células negativo para Anexina e positivo para iodeto de propídio.	70

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1-Classificação de quinolonas mediante uso de alguns exemplos.....	4
Esquema 2-Método de síntese dos complexos de platina(II)	37
Esquema 3-Método de síntese dos complexos de paládio(II)	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Aplicações das fluoroquinolonas na clínica médica.....	5
Tabela 2-Complexos promissores para uso na clínica médica contendo fluoroquinolonas.	9
Tabela 3-Dados de análise elementar (CHN) para os complexos sintetizados	38
Tabela 4-Faixa de valores de condutividade propostos considerando DMSO como solvente.	38
Tabela 5-Condutividade dos complexos em DMSO.	39
Tabela 6-Comprimentos de onda, absorvidade molar e transições atribuídas na região do ultravioleta-visível.....	42
Tabela 7-Atribuições vibracionais no infravermelho para complexos e seus respectivos ligantes.	46
Tabela 8-Valores de m/z experimentais e teóricos obtidos na espectrometria de massas para os complexos II , III e IV	51
Tabela 9-Deslocamentos químicos em ppm no RMN de ¹ H para os complexos e seus respectivos ligantes.....	53
Tabela 10- Deslocamentos químicos no RMN de ¹³ C para os complexos e seus respectivos ligantes.....	59
Tabela 11-Deslocamentos químicos no RMN de ¹⁹⁵ Pt para os complexos de I a IV	60
Tabela 12-Atividade antitumoral(IC ₅₀) e citotoxicidade(CC ₅₀) dos complexos e seus ligantes.	65
Tabela 13-Valores de MIC contra Mycobacterium tuberculosis H37Rv para os complexos, seus ligantes e fármacos padrão usando ensaio de microtitulação por Resazurina.	71
Tabela 14-Concentrações críticas (µg/mL) para a classificação de resistência a drogas de primeira e segunda linhas usadas no tratamento da tuberculose.	72
Tabela 15-Valores de MIC para os complexos II , III e IV , seus ligantes e fármacos de referência no tratamento da tuberculose, para isolados clínicos resistentes 1-5 . Os primeiros valores de cada composto são MIC em µg/mL e abaixo os valores de MIC em µM.....	73

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DNA- Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucléico)
P,O- Ácido propiônico difenilfosfina
FQ- Fluoroquinolonas
SPF- Esparfloxacina
CPL- Ciprofloxacina
LFL- Levofloxacina
GAT- Gatifloxacina
PFL- Pefloxacina
OFL- Ofloxacina
NOR- Norfloxacina
phen- phenantrolina (fenantrolina)
LMX- Lomefloxacina
bipy- 2,2'-bipyridine
ENX- Enoxacina
BZN-Bezonidazol
HIV- Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)
OMS-Organização Mundial da Saúde
FDA- Food and Drug Administration (Administração de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos)
INCA- Instituto Nacional do Câncer
TG/DTA- Análise Termogravimétrica/Análise Térmica Diferencial
UV-Vis- Espectroscopia no ultravioleta-visível
FTIR- Fourier transform infrared spectroscopy (Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier)
IV-Infravermelho
ATR-Attenuated total reflection (Reflectância total atenuada)
RMN ¹H- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹⁹⁵Pt- Ressonância Magnética Nuclear de Platina
DMSO-*d*₆- Dimetilsulfóxido deuterado
MTT- 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium

FTIC- Isotiocianato de Fluoresceína

IP- Iodeto de Propídio

MCF-10- Células saudáveis epiteliais mamárias humanas

MCF-7- Células tumorais do epitélio mamário

MDA-MB-231- Células de adenocarcinoma mamário humano

PBS- Phosphate-buffered saline (Tampão fosfato)

CC₅₀- Citotoxicidade

IC₅₀-Atividade antitumoral

MIC- Concentração inibitória mínima

DMSO- Dimetilsulfóxido

DMF- Dimetilformamida

MeOH- Metanol

Λ_M - Condutividade molar

λ - Comprimento de onda

ϵ - Coeficiente de extinção molar

TCLM- Transferência de carga ligante-metal

ν - Vibração de estiramento

δ (ppm)- Deslocamento químico

DMF-*d*₇- Dimetilformamida deuterada

SI- Selectivity index (Índice de seletividade)

MTB H37Rv- *Mycobacterium tuberculosis*

MTBC- *Mycobacterium tuberculosis complex*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fluoroquinolonas	1
1.1.1. Química de coordenação das fluoroquinolonas	7
1.1.2. Compostos com potencial farmacológico	8
1.2. Tuberculose	13
1.2.1. Agente etiológico	14
1.2.2. Transmissão	14
1.2.3. Patogênese e resposta imunológica	15
1.2.4. Prevalência, incidência e mortalidade	17
1.2.5. Tratamento para tuberculose pulmonar	18
1.2.6. Linhagens Resistentes	21
1.3. Câncer	22
1.3.1. Tratamento	24
1.3.2. Cisplatina	25
2. OBJETIVOS	27
2.1. Objetivo Geral	27
2.2. Objetivos específicos	28
3. PARTE EXPERIMENTAL	28
3.1. Reagentes e solventes	28
3.2. Métodos Instrumentais	28
3.2.1. Análise Elementar (CHN)	28
3.2.2. Análise Condutimétrica	29
3.2.3. Análise Termogravimétrica (TG/DTA)	29
3.2.4. Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)	29
3.2.5. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	29
3.2.6. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por <i>electrospray</i> (HRESIMS)	29
3.2.7. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	30
3.3. Estudos de estabilidade	30
3.4. Estudos biológicos	30
3.4.1. Estudo de atividade citotóxica	30
3.4.2. Estudo de apoptose	31
3.4.3. Estudo de atividade antituberculose	31

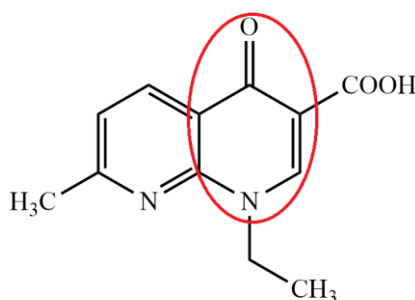
3.5.	Síntese	32
3.5.1.	Síntese do precursor $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$	32
3.5.2.	Síntese dos complexos de Pt(II)	32
3.5.3.	Síntese dos complexos de Pd(II)	34
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
4.1.	Análise Elementar	38
4.2.	Análise Condutimétrica	38
4.3.	Análise termogravimétrica	39
4.4.	Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis	42
4.5.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	45
4.6.	Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por <i>electrospray</i>	50
4.7.	Ressonância Magnética Nuclear	51
4.7.1.	RMN de ^1H	51
4.7.2.	RMN de ^{13}C	57
4.7.3.	RMN de ^{195}Pt	60
4.8.	Estudos de estabilidade	61
4.9.	Estudos biológicos	65
4.9.1.	Atividade antitumoral	65
4.9.2.	Determinação do modo de morte celular	66
4.9.3.	Atividade anti-TB	70
5.	CONCLUSÕES	75
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
7.	ANEXOS	95

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fluoroquinolonas

As quinolonas, diferentemente de grande parte dos antibióticos convencionais, não advém de organismos vivos, sendo então quimicamente sintetizadas. O primeiro composto desta classe, o ácido nalidíxico (Figura 1), foi descoberto acidentalmente por Lesher *et al.* em 1962 como um subproduto da síntese de um composto antimalarial. (LESHER *et al.*, 1962; ANDRIOLE, 2005; BISACCHI, 2015). Após dois anos da descoberta deste agente antibacteriano, definiu-se que seu mecanismo de ação ocorre através da inibição da atividade da DNA girase (topoisomerase II), que se refere a uma enzima essencial à sobrevivência das bactérias. Esta descoberta deu início a busca por novos compostos dessa classe, tendo como base o núcleo 4-quinolona, como resultado destes esforços, esta família de antibióticos tornou-se relativamente grande (EMMERSON, JONES, 2003; MINARINI, 2008).

Figura 1-Estrutura do ácido nalidíxico (em destaque o núcleo 4-quinolona).



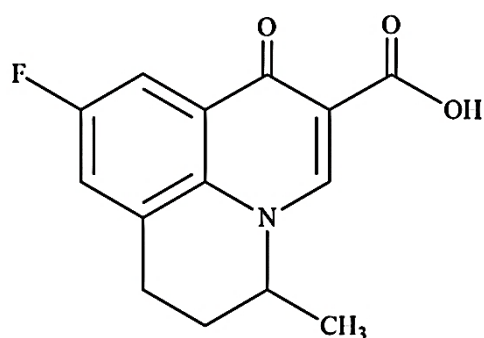
Fonte: A autora.

O ácido nalidíxico foi aprovado em 1967 para o tratamento de infecções urinárias não complicadas, que são em sua maioria causadas por bactérias Gram-negativas, entretanto para uma destas bactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, observou-se resistência. Além disso, foi verificado a resistência de bactérias Gram-positivas a este fármaco, assim como às quinolonas sintetizadas posteriormente. (EMMERSON, JONES, 2003).

Após desenvolvimento do ácido nalidíxico, produziu-se o ácido pipemídico, que foi a primeira quinolona piperazínica a ser sintetizada, tendo sido desenvolvida no Japão. Testes de atividade biológica demonstraram que este composto apresentou alguma atividade, ainda que restrita, contra *Pseudomonas aeruginosa* indicativo de que a adição do anel piperazínico pode ter influenciado na melhora da atividade (ITO, 2004). Significativa melhora na atividade antibacteriana se deu com o desenvolvimento da primeira monofluoroquinolona em 1976, a flumequina (Figura 2) (TARUSHI *et al.*, 2013). A inserção de um átomo de flúor permitiu ampliar o espectro de atividade quanto a bactérias do tipo Gram-negativas além de possibilitar

um aumento no espectro de ação quanto às bactérias Gram-positivas. Assim observou-se que modificações na estrutura do núcleo da quinolona podem resultar em compostos mais ativos, já que os primeiros compostos não apresentavam atividade para bactérias do tipo Gram-positivas. (EMMERSON, JONES, 2003; ITO, 2004).

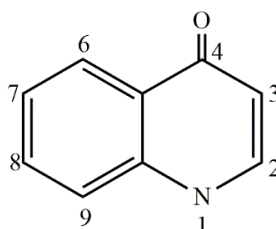
Figura 2-Estrutura da flumequina.



Fonte: A autora.

Dessa forma, a inserção de diferentes substituintes no núcleo quinolínico possibilitou a produção de novas espécies, visando uma melhor atividade. Estas alterações foram realizadas pela incorporação de substituintes em N-1, C-7, C-8 e C-9, conforme numeração na Figura 3.

Figura 3-Estrutura base da quinolona.

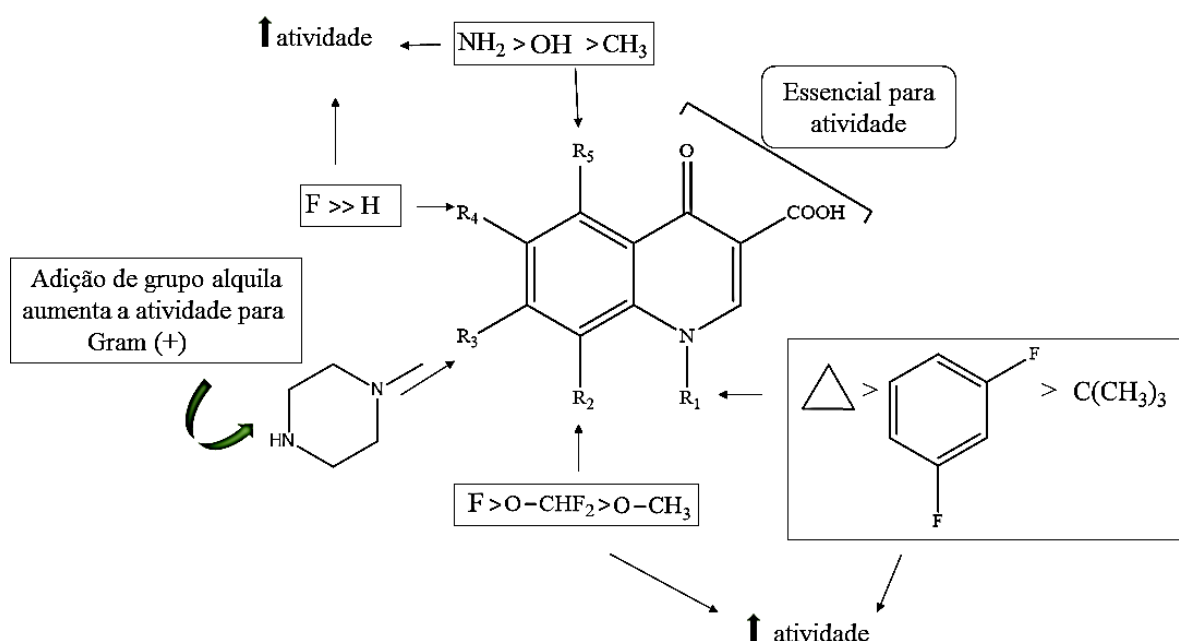


Fonte: A autora.

A adição de grupos substituintes nestas posições foi realizada para promover uma maior interação desta classe de fármacos com grupos específicos na bactéria, melhorando não só a atividade como também a farmacocinética nestes novos compostos. A adição de um átomo de flúor na posição C-7, como observado nas fluoroquinolonas, faz com que os compostos que o tenham, possuam maior interação com a célula bacteriana e, portanto, geram uma maior inibição da DNA girase. Já a inserção de um segundo átomo de flúor na posição C-9, como no caso da esparfloxacin, aumenta ainda mais sua absorção pela célula bacteriana, como também a meia-vida deste composto no organismo. A adição de um anel piperazínico na posição C-8 da base da quinolona, que está presente em alguns compostos de segunda, terceira e quarta geração de quinolonas (classificações definidas adiante), implica no aumento da atividade contra bactérias Gram-negativas, e finalmente a incorporação de um grupo metila no nitrogênio

distal contido no anel piperazínico, se associa ao aumento do tempo de meia-vida no organismo e a uma maior biodisponibilidade (ANDRIOLE, 2005; RODRIGUES-SILVA *et al.*, 2014; OWENS, AMBROSE, 2005). Conclui-se então que a adição de determinados grupos ao núcleo quinolínico podem influenciar no aumento de atividade biológica. Na Figura 4 ilustra-se alguns possíveis substituintes em distintas posições que favorecem melhora na atividade biológica.

Figura 4-Alguns dos substituintes no núcleo quinolínico e o decorrente aumento de atividade.

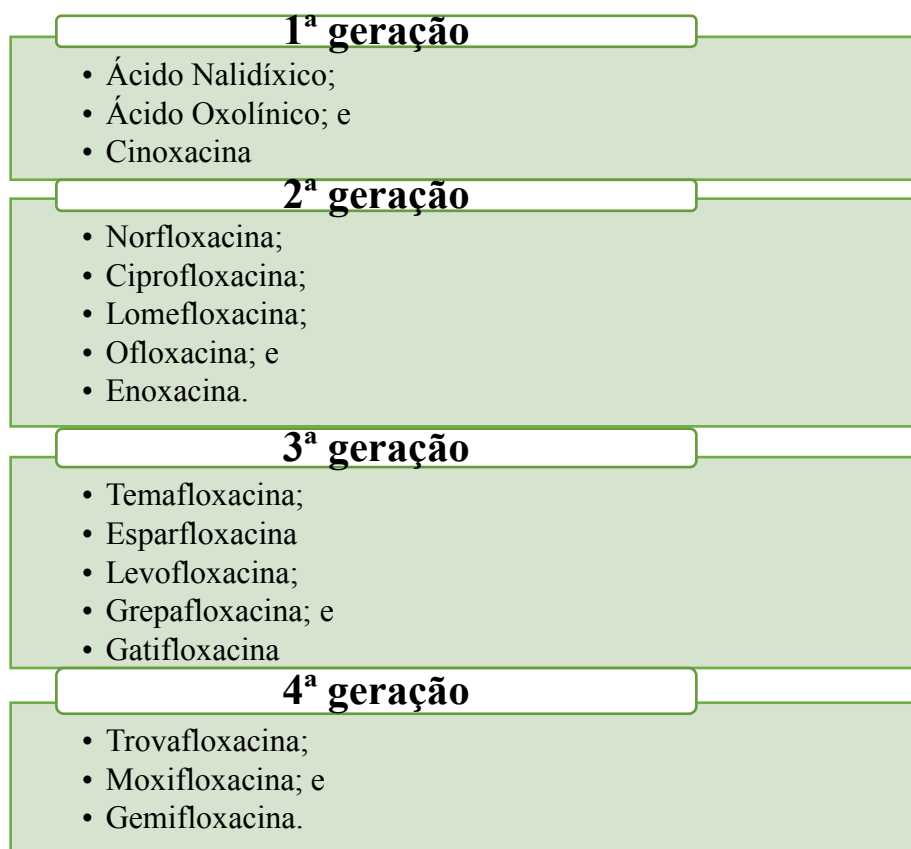


Fonte: Adaptado de Bambeke *et al.*, 2005.

Na década de 80 as fluoroquinolonas foram introduzidas na clínica médica sendo utilizadas tanto em bactérias Gram-negativas quanto em Gram-positivas. Na literatura pode ser verificado algumas classificações que podem divergir um pouco entre si, mas utilizando as classificações propostas por Andriole, Sharma e colaboradores, as quinolonas podem ser classificadas de acordo com o Esquema 1, que contém apenas alguns exemplos (ANDRIOLE, 2005; SHARMA, JAIN, A., JAIN, S., 2009).

Com a maior utilização das fluoroquinolonas nos dias atuais, principalmente no que se refere à tuberculose, mais especificamente relativo às bactérias multirresistentes, é relevante conhecer o modo de ação dessas espécies, e para isso faz-se necessário conhecer um pouco sobre o DNA bacteriano e sua replicação.

Esquema 1-Classificação de quinolonas mediante uso de alguns exemplos



Fonte: Adaptado de ANDRIOLE, 2005; SHARMA *et al.*, 2009.

A replicação do DNA bacteriano é semiconservativa, ou seja, uma das fitas do DNA permanece em cada uma das células filhas, haja visto que cada célula gera duas células filhas. Este DNA encontra-se superenovelado dentro do cromossomo que o contém, por questão de espaço e funções bacterianas. Para que ocorra a replicação desse DNA, enzimas específicas promovem a abertura da dupla fita e a região de separação entre as fitas toma a forma de um Y denominada forquilha de replicação.

Com o processo de abertura do DNA se tem um superenovelamento imediatamente após à forquilha de replicação, devido ao excesso ou falta de voltas no DNA que resulta em muita tensão nessa região e impede a continuidade da abertura da hélice, e a enzima DNA-girase ou topoisomerase II é responsável por diminuir essas tensões. Esta enzima é um tetrâmero formado por duas subunidades A e B, que são codificadas pelos genes *gyrA* e *gyrB*, respectivamente.

Outra enzima importante na replicação é a topoisomerase IV, um tetrâmero composto por duas subunidades C e duas subunidades E, codificadas pelos genes *parC* e *parE*, respectivamente. Esta é responsável pelo desencadeamento no processo final da replicação, ou seja, refere-se à remoção da interligação entre o DNA circular nesta parte do processo, para

possibilitar a segregação em duas células filhas ao fim de cada processo de replicação. É possível então concluir que tanto a topoisomerase II quanto a topoisomerase IV são essenciais para que se tenha viabilidade dos microrganismos uma vez que são necessárias à multiplicação celular (LUPALA, GOMEZ-GUTIERREZ, PEREZ, 2013; SOUSA, 2014).

As fluoroquinolonas agem inibindo uma ou outra destas enzimas, sendo que a DNA girase como primeiro alvo é mais comum em bactérias Gram-negativas e a topoisomerase IV como primeiro alvo, é mais susceptível em bactérias Gram-positivas. Estes antibacterianos interagem eficientemente com estas enzimas inibindo suas funções durante o processo de replicação. Quando a fluoroquinolona interage com a DNA girase ocorre “quebra” do DNA bacteriano, e quando se liga à topoisomerase IV não permite a separação em célula filhas, e por fim ocorre morte dos microrganismos de uma forma ou de outra (SOUSA, 2014; LUPALA *et al.*, 2013).

A resistência a estas espécies também ocorre principalmente devido a estas mesmas enzimas, uma vez que ocorrem modificações estruturais nestas e as interações entre o fármaco e as enzimas se tornam muito fracas. Estas mudanças são relatadas como ocorrendo em aminoácidos dos pares de genes *parC* e *parE* na topoisomerase IV ou no gene *gyrA* da topoisomerase II, ou ainda em ambos (SOUSA, 2014; LUPALA *et al.*, 2013).

Conforme já mencionado as fluoroquinolonas apresentam amplo espectro de ação, e na Tabela 1 é possível verificar o uso de algumas fluoroquinolonas no tratamento de doenças, que incluem agentes etiológicos bacterianos e fúngicos.

Tabela 1-Aplicações das fluoroquinolonas na clínica médica

Enfermidades nas quais se aplica FQs	Provável etiologia	Fluoroquinolona utilizada
Infecções complicadas do trato urinário	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> Espécies de <i>Proteus</i> e de <i>Klebsiella</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Ciprofloxacina, ofloxacina, lomefloxacina, enoxacina, levofloxacina e gatifloxacina
Pielonefrite não complicada (infecção urinária do trato superior)	Enterobactérias Enterococos <i>Staphylococcus aureus</i>	Norfloxacina, levofloxacina e gatifloxacina
Pielonefrite aguda em mulheres não grávidas	Enterobactérias <i>Pseudomonas</i> sp Enterococos <i>Staphylococcus aureus</i>	Ciprofloxacina e levofloxacina (menos eficiente)

Prostatite	Enterobactérias <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Enterococos <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Norfloxacin, ciprofloxacina, ofloxacina e levofloxacina (excelente atividade)
Sinusite antibacteriana aguda	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>	Gatifloxacina, moxifloxacina, esparfloxacina e levofloxacina (não como drogas de 1ª linha)
Bronquite aguda bacteriana	<i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	Levofloxacina, esparfloxacina, ofloxacina, gatifloxacina e moxifloxacina
Pneumonia adquirida	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenza</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Legionella Pneumoniae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Levofloxacina, gatifloxacina e moxifloxacina, esta última principalmente.
Uretrites e cervicites	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gatifloxacina, ciprofloxacina ou ofloxacina como alternativa a alérgicos a penicilina
Cancro mole	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Ciprofloxacina
Diarreia do viajante	Espécies <i>Shigella</i> <i>E. coli</i> enterotoxigênico <i>Campylobacter jejuni</i>	Norfloxacin ou ciprofloxacina
Febre tifoide entérica	<i>Salmonella entérica</i> <i>Salmonella tiphy</i>	Ciprofloxacina e ofloxacina
Cólera	<i>Vibrio colera</i>	Norfloxacin
Infecções em pés diabéticos	<i>Streptococcus</i> sp <i>Staphylococcus</i> sp	Quinolonas em conjunto com outros antibióticos

Fonte: Adaptado de OLIPHANT, GREEN, 2002; RORIZ-FILHO *et al.*, 2010; VERONESI, FOCACCIA, 2015.

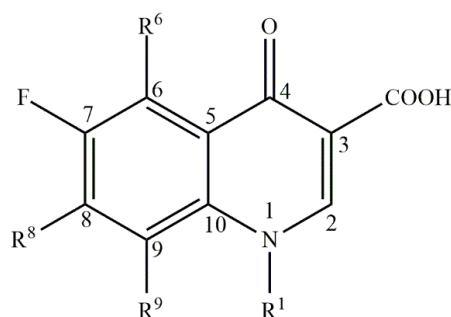
Com o uso das quinolonas/fluoroquinolonas na clínica médica, reações adversas são mais comumente identificadas no trato gastrointestinal, no sistema nervoso central e pele (OLIPHANT, GREEN, 2002; SARRO A., SARRO G., 2001).

1.1.1. Química de coordenação das fluoroquinolonas

Devido a importância dos íons metálicos em organismos vivos, assim como das fluoroquinolonas na clínica médica, diversos pesquisadores se interessaram em realizar estudos sobre a possível influência de metais na atividade das fluoroquinolonas.

As fluoroquinolonas possuem uma estrutura básica, ou seja, comum a todas, como pode ser averiguado na Figura 5, mas diferem em seus substituintes em todas as posições possíveis.

Figura 5-Estrutura base das fluoroquinolonas.



Fonte: A autora.

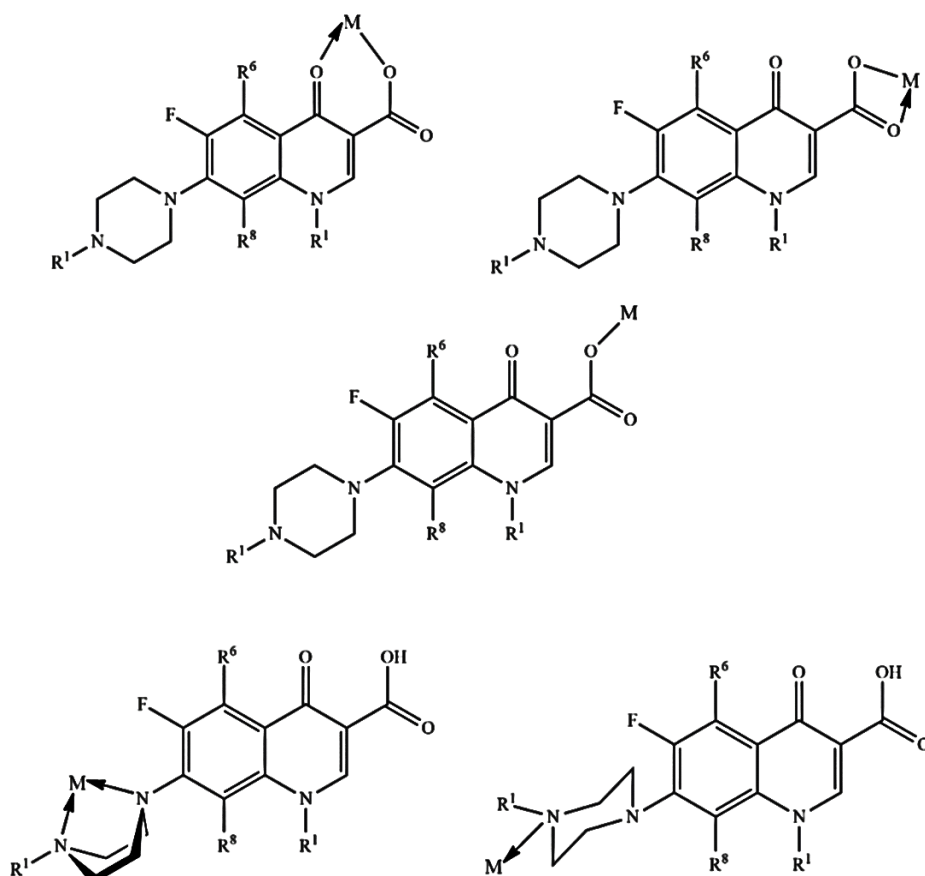
Como pode-se verificar há então um núcleo aromático condensado a um anel piridona, e como já foi mencionado, os grupos ácido carboxílico e cetônico são importantes na conferência da atividade biológica destes fármacos. Nas distintas fluoroquinolonas há diferentes substituintes em R^1 ligados ao $N1$, que pode ser por exemplo um anel ciclopropílico como no caso da ciprofloxacina. Em R^6 geralmente não se tem outro átomo diferente do hidrogênio, mas em alguns casos tem-se substituintes pouco volumosos, como por exemplo na esparfloxacina, na qual se observa um grupo NH_2 . Já na posição R^8 , nos fármacos mais recentes há um cicloalcano diamínico de 5 ou 6 membros, em que um dos nitrogênios se liga diretamente ao C8 do anel aromático, que é o caso de todas as fluoroquinolonas utilizadas neste trabalho. Por fim em R^9 pode-se ter um hidrogênio ou algum outro substituinte como flúor na esparfloxacina ou CH_2-CH_2-O na ofloxacina (FEIO *et al.*, 2014; BAMBEKE *et al.*, 2005).

Os grupos carboxílico e cetônico presente em todas as fluoroquinolonas são susceptíveis à coordenação, conforme observa-se na Figura 6, na qual verifica-se os modos de coordenação mais relatados na literatura via estes grupos. A coordenação via átomos de oxigênio mais frequentemente observada é aquela que ocorre via um dos átomos de oxigênio carboxílico e o

átomo de oxigênio cetônico, porquê dessa forma se obtém um anel quelato estável de seis membros (UIVAROSI, 2013; REIS, 2014; VIEIRA *et al.*, 2009a).

Além destes modos de coordenação existe a possibilidade de que a ligação ocorra via átomos de nitrogênio piperazínicos, de maneira bidentada ou ainda de forma monodentada pelo nitrogênio distal do anel piperazínico (Figura 6). (BEHRENS, DIAZ, 1986; UIVAROSI, 2013; REIS, 2014)

Figura 6-Alguns possíveis modos de coordenação das fluoroquinolonas.



Fonte: Adaptado de BEHRENS, DIAZ, 1986; UIVAROSI, 2013; REIS, 2014.

Há uma relevante quantidade de complexos metálicos contendo ligantes fluoroquinolonas com os quais fez-se avaliações antibacteriana, antimicobacteriana e antifúngica e com menor foco atividade tripanocida, antimalarial e antitumoral, sendo obtido alguns complexos promissores dentre estes.

1.1.2. Compostos com potencial farmacológico

Sabe-se que a coordenação de antibióticos a íons metálicos é uma forma de alcançar melhor atividade ou atividade em linhagens resistentes aos fármacos recomendados. A escolha de íons metálicos para síntese destes compostos geralmente se baseia na essencialidade de

alguns destes íons como elemento traço, o cobre por exemplo, ou na atividade já comprovada de compostos que contenham determinados íons metálicos, como no caso da prata e da platina (ROCHA *et al.*, 2011).

As fluoroquinolonas além de apresentarem amplo espectro de ação possuem alta atividade antibacteriana e antimicobacteriana, e este fator dificulta a síntese de novos compostos que sejam mais ativos. Mesmo neste contexto há complexos contendo fluoroquinolonas que possuem atividade promissora, conforme relatado na Tabela 2.

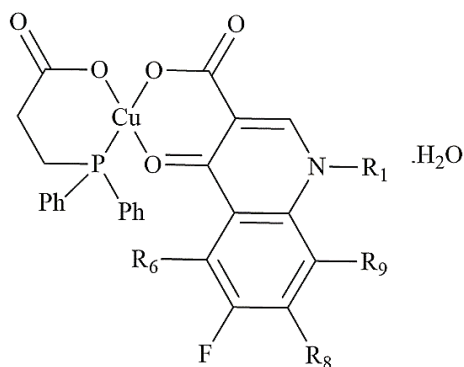
Tabela 2-Complexos promissores para uso na clínica médica contendo fluoroquinolonas.

Complexo proposto	Complexo testado/investigado para	Resultado	Referência
[Cu(P,O)(FQ).H ₂ O] (Figura 7) FQ: SPF, CPL, LFL, GAT, PFL, OFL, NOR.	Atividade antibacteriana e antifúngica	Os complexos exibiram maior atividade antibacteriana e antimalarial que as fluoroquinolonas	MEHTA, GAJERA, PATEL, 2015
[Cu(LFL)(phen)(H ₂ O)] NO ₃ .2H ₂ O (Figura 8)	Atividade antibacteriana (linhagens <i>E. coli</i> .)	Atividades comparável aos ligantes, um pouco maior na linhagem JF703	SOUSA <i>et al.</i> , 2012
[Cu(LMX)(phen)(NO ₃)]	Atividade antibacteriana (Linhagens <i>E. coli</i> e derivadas)	Atividade comparável aos ligantes	FERNANDES <i>et al.</i> , 2014
[CuCl ₂ (phen)(SPF)]; [CuCl ₂ (phen)(NOR)] (Figura 8)	Atividade tripanocida (<i>T. cruzi</i>)	Mais ativos que BZN (fármaco de referência) e bem mais ativos que as fluoroquinolonas	BATISTA <i>et al.</i> , 2011
[CuCl(bipy)(NOR)Cl.2H ₂ O]; [CuCl ₂ (phen)(NOR)].3H ₂ O	Atividade tripanocida (<i>T. cruzi</i>)	Muito mais ativos que a fluoroquinolona, mas apresenta baixa seletividade	MARTINS <i>et al.</i> , 2016
[Cu(SPF)(phen)Cl]; [Cu(SPF)(bipy)Cl]	Atividade citotóxica (células)	Complexos exibiram alta	EFTHIMIADOU <i>et al.</i> , 2008

	leucemia mielóide crônica)	atividade, enquanto a fluoroquinolona quase não apresentou atividade	
[M(ENX) ₂ (H ₂ O) ₂].nH ₂ O M: Cu(II), Mn(II), Ni(II) e Fe(II)	Atividade antibacteriana	Maior atividade de alguns complexos para determinadas bactérias, principalmente complexos de Cu(II) e Mn(II)	ARAYNE <i>et al.</i> , 2009
[Au(NOR)(H ₂ O) ₂ Cl ₃]	Atividade antibacteriana e antifúngica	O complexo foi mais ativo que a fluoroquinolona para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CASINI <i>et al.</i> , 2010; REFAT, 2007
[AuCl ₂ (FQ)]Cl (Figura 9)	Avaliação citotóxica	Complexos muito mais ativos que as fluoroquinolonas	GOUVEA <i>et al.</i> , 2012
[AuCl ₂ (LFL)]Cl	Atividade antibacteriana e antifúngica	Razoável melhora na atividade em comparação com a levofloxacina	AL-KHODIR, REFAT, 2015
[Pt(FQ) ₂] FQ: NOR, OFL, PFL, GAT, LFL e SPF (Figura 10)	Atividade antibacteriana	Os complexos exibiram boa atividade, e em muitas linhagens atividade melhor que as fluoroquinolonas	PATEL, GANDHI, PARMAR, 2012.
[Pt(FQ)Cl ₂] e [Pd(FQ)Cl ₂] FQ: LFL, CPL, OFL, SPF e GAT	Atividade antimicobacteriana-linhagem sensível (tuberculose)	Todos os complexos mostraram boa atividade, e a maioria deles atividade maior que a rifampicina (fármaco de referência)	VIEIRA <i>et al.</i> , 2009a; VIEIRA <i>et al.</i> , 2009b.

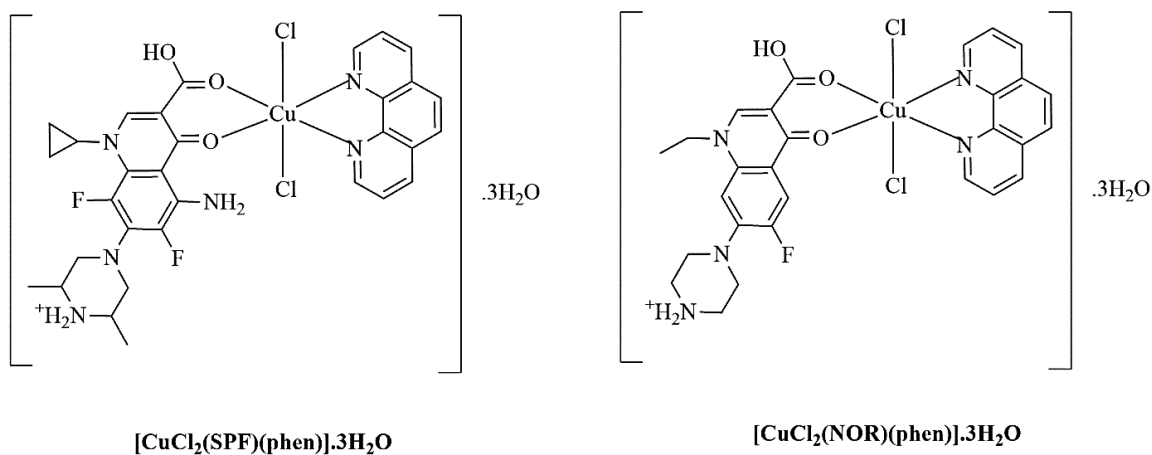
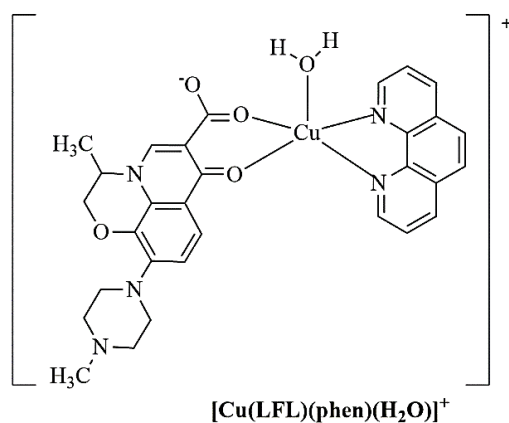
[Pd(LFL)Cl ₂]	Atividade antibacteriana e antifúngica	Melhora razoável na atividade em comparação com a levofloxacina	AL-KHODIR, REFAT, 2015
---------------------------	--	---	------------------------

Figura 7-Estrutura geral para os complexos de cobre(II) contendo ligante P,O-doador e ligantes fluoroquinolonas.



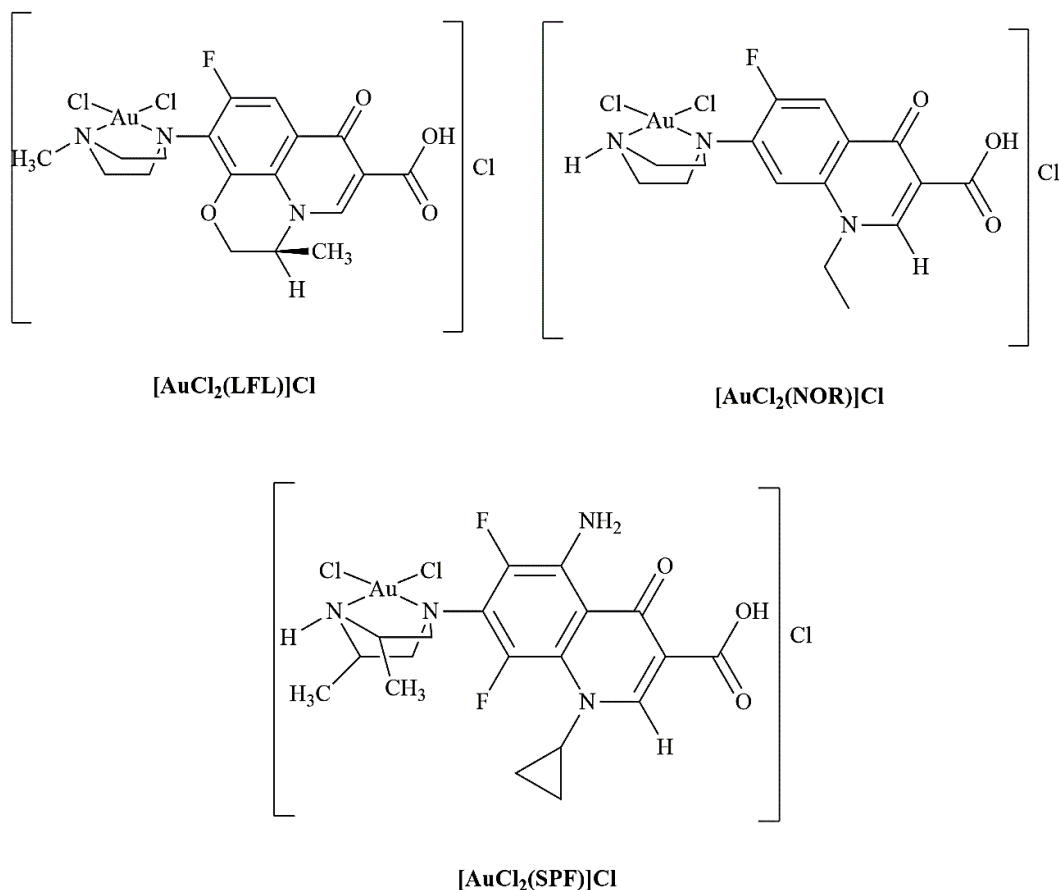
Fonte: Adaptado de MEHTA *et al.*, 2015.

Figura 8-Estrutura de complexos de cobre contendo fenantrolina (phen) e fluoroquinolonas.



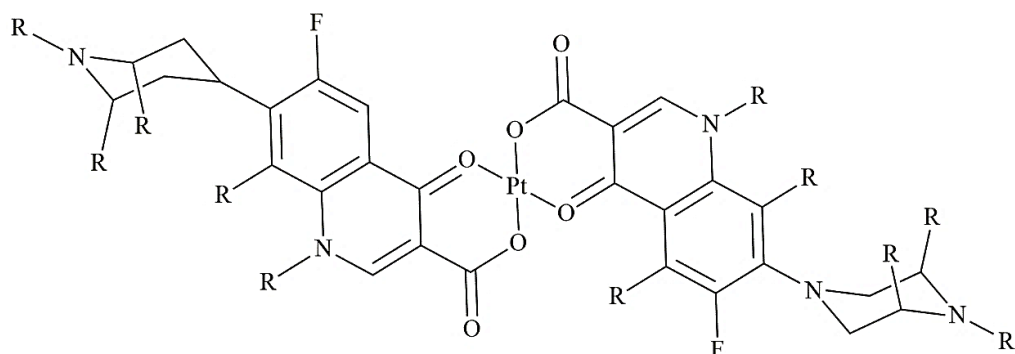
Fonte: Adaptado de SOUSA *et al.*, 2012; BATISTA *et al.*, 2011.

Figura 9-Complexos de ouro contendo fluoroquinolonas.



Fonte: Adaptado de Gouvea *et. al.*, 2012.

Figura 10-Estrutura geral para os complexos do tipo [Pt(FQ)₂].



Fonte: Adaptado de Patel *et al.*, 2012.

Conforme já mencionado há muitos outros complexos metálicos contendo fluoroquinolonas. O interesse em moléculas que contenham centros metálicos coordenados a antibióticos tem aumentado, uma vez que essa é uma boa estratégia para reverter a resistência, que está cada vez mais se tornando alarmante, pois doenças que já haviam sido praticamente

extinguidas ou minimizadas a um ponto em que não mais causava preocupação têm voltado em formas mais agressivas e às vezes resistentes a todos os fármacos existentes (ROCHA *et al.*, 2011).

A resistência tem sido verificada em altos níveis em doenças causadas por microrganismos, como bactérias, fungos e vírus, assim como para o câncer que tem feito diversas novas vítimas. A tuberculose tem se encaminhado a níveis preocupantes uma vez que tem retornado de forma agressiva por apresentar cepas resistentes a diversos medicamentos. Devido a esta preocupação acerca da resistência e a ineficiência dos tratamentos existentes, faz-se necessária a síntese de novos compostos que possuam aplicabilidade no tratamento de determinadas enfermidades, principalmente no que se refere a cepas resistentes desde que apresentem um novo mecanismo de ação (WHO, 2017a).

1.2. Tuberculose

Tuberculose é o nome dado a uma doença infecciosa que tem por agente etiológico *Mycobacterium tuberculosis*. A doença ataca principalmente os pulmões, mas pode alcançar outros órgãos. É uma enfermidade curável se o tratamento for seguido corretamente (WHO, 2016; WHO, 2017c). Esta enfermidade foi detectada em múmias da Grécia e Roma antiga, mas apenas em 1882 o agente causador dessa doença foi descoberto pelo cientista alemão Robert Koch e por isto este agente é também conhecido como bacilo de Koch (VERONESI *et al.*, 1991; NOGUEIRA *et al.*, 2012).

Mencionar que a tuberculose é causada por *Mycobacterium tuberculosis* é uma simplificação, uma vez que na verdade é uma doença causada por *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) que compreende *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), *M. africanum*, *M. canettii*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. orygis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii* e *M. suricattae* ou *M. mungi*, estando inclusos na matriz MTBC por possuírem características similares fenotipicamente e geneticamente (SINHA *et al.*, 2016; VERONESI, FOCACCIA, 2015).

Uma das formas preventivas utilizada neste caso é a vacinação. A vacina BCG (bacilo de Calmette e Guérin, nomes das pessoas que isolaram a linhagem desta vacina) é constituída de uma cultura viva de *Mycobacterium bovis* com menor eficácia viral devido ao cultivo em meios artificiais. Seu uso não é amplamente recomendado pois apresenta uma eficácia irregular, sendo mais eficiente quando administrada em crianças pequenas. Além deste fator, crianças

infectadas com HIV podem ter uma infecção fatal a partir da vacinação (TORTORA *et al.*, 2012).

A tuberculose é hoje uma doença muito bem conhecida, quanto aos seus sintomas, tratamentos disponíveis, agente etiológico e as possíveis formas de prevenção. No entanto, é uma doença ainda bastante recorrente.

1.2.1. Agente etiológico

Conforme já mencionado o agente causador da tuberculose é *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacilo de Koch. Estas bactérias são geralmente bacilos retos ou às vezes pouco curvos, que possuem de 0,2 a 0,6 μm por 1 a 10 μm . Possuem algumas características que permitem sua identificação, como o longo tempo necessário para sua replicação, de 3 a 18 horas, o que não é usual para bactérias. Este longo tempo se dá pelo fato de que essas espécies possuem uma parede celular constituída por ácidos micólicos, e para que esta parede lipídica seja constituída estas bactérias utilizam grande parte de seu metabolismo. A parede lipídica é importante porque confere a estas bactérias resistência a agentes químicos, e este é o motivo pelo qual não sofrem descoloração ou dessecação por álcool e ácidos, no entanto, são passíveis de ataques físicos como o calor. (COSTA *et al.*, 2013; VERONESI, FOCACCIA, 2015).

1.2.2. Transmissão

Logo que a tuberculose foi descoberta não se tinha conhecimento acerca de sua natureza infecciosa, até que em 1865 Vellemin por meio de estudos com animais nos quais se provocou a doença, descobriu a transmissibilidade dessa enfermidade. Concluiu-se que os bacilos expelidos na tosse de uma pessoa infectada podem contaminar uma pessoa saudável, sendo estes bacilos capazes de sobreviver durante certo tempo fora de organismos vivos (VERONESI, FOCACCIA, 2015; VERONESI *et al.*, 1991; KNECHEL, 2009).

Posteriormente verificou-se que nem todas as gotículas expectoradas são responsáveis por infectar pessoas saudáveis, pois partículas expectoradas de maior diâmetro tendem a se depositar no chão enquanto que partículas de menor diâmetro permanecem no ar. Além disso, somente as partículas pequenas que são ressecadas até certo tamanho e que possuam aerodinamicidade adequadas podem vir a contaminar uma pessoa saudável, uma vez que para que ocorra a infecção os bacilos devem chegar até os alvéolos pulmonares (VERONESI, FOCACCIA, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2012; KAUFMANN, McMICHAEL, 2005).

A transmissão ocorre de uma pessoa para outra quando uma pessoa detentora da forma pulmonar da doença tosse, espirra ou fala, liberando bacilos no meio ambiente, sem que seja necessário um vetor intermediário. Para que uma pessoa seja infectada calcula-se que seja necessária uma exposição de 100 a 200 horas a uma pessoa doente, ou seja, uma pessoa não é contaminada logo no primeiro contato com alguém infectado, mas quanto maior a convivência entre uma pessoa infectada e pessoas saudáveis, maior a possibilidade de transmissão, principalmente em espaços mal ventilados. Há ainda outros fatores que devem ser considerados, como as características da expectoração, ou seja, sua quantidade e vigor (VERONESI, FOCACCIA, 2015; BUSATTO *et al.*, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2012).

1.2.3. Patogênese e resposta imunológica

Assim como as espécies infecciosas evoluem para adquirir resistência, o corpo humano também está em evolução, neste caso o trato respiratório, que desenvolveu ao longo do tempo determinados mecanismos para regular a entrada e/ou disseminação dos bacilos da tuberculose no corpo. Um destes mecanismos é a depuração mucociliar, que pode manter estas espécies retidas na porta de entrada, mas os bacilos que conseguem escapar deste mecanismo são capazes de alcançar os pulmões e nestes enfrentam a contenção por macrófagos alveolares (células geralmente encontradas em repouso, mas que podem tornar-se ativas se suas capacidades fagocíticas forem necessárias, sendo o estágio ativo muito importante para o controle de células cancerosas e patógenos). Estes macrófagos fagocitam as bactérias e as mantêm dentro do fagossoma, que se funde com o lisossoma, e aí são liberados grânulos e toxinas. Dessa forma ocorre a ingestão destes bacilos pelos macrófagos, mas alguns sobrevivem promovendo um processo infeccioso e assintomático (VERONESI, FOCACCIA, 2015; TORTORA *et al.*, 2012).

A reprodução de bacilos dentro dos macrófagos faz com que o organismo responda “atraindo” células de defesa e mais macrófagos àquela área, que por sua vez formam uma barreira ao redor dos bacilos, formando um tubérculo inicial. Estes macrófagos e células circundantes não conseguem destruir os bacilos, mas acabam por causar uma lesão pulmonar inflamatória ao liberarem enzimas e citosinas. Algum tempo depois alguns macrófagos começam a morrer e há liberação de bacilos dentro do tubérculo com a consequente formação de uma cavidade dentro do mesmo, tempo no qual surgem os sintomas da doença. Os bacilos não se desenvolvem bem nesta situação e alguns permanecem em estado de dormência (tuberculose latente) podendo ser reativados em algum outro momento. Nesta fase, a doença

pode ter sua progressão interrompida e a lesão causada pode ser calcificada (TORTORA *et al.*, 2012).

Em um cenário ruim a doença pode progredir, e com isto a cavidade formada anteriormente pode aumentar através de um processo denominado liquefação. Esta cavidade, então denominada cavidade tuberculosa, fica cheia de ar e propicia a proliferação de bacilos fora dos macrófagos. A cavidade dentro do tubérculo continua a aumentar devido ao processo de liquefação, até que o tubérculo se rompa liberando os bacilos que podem então se alastrar pelos bronquíolos e pela corrente sanguínea até outros órgãos, caracterizando a forma extrapulmonar da doença (SILVA, 2012; VERONESI, FOCACCIA, 2015; COSTA *et al.*, 2013; DIVANGAHI *et al.*, 2009; TORTORA *et al.*, 2012).

É avaliado que pelo menos um terço da população possua a tuberculose em sua forma latente, e parte dessas pessoas podem vir a ter a forma ativa após 2 anos de um primeiro contágio, e outras permanecem com a forma latente, tendo este quadro alterado caso ocorra um decréscimo na imunidade (BUSATTO *et al.*, 2015).

Na tuberculose latente, em que as pessoas infectadas permanecem sem apresentar a forma ativa da doença, os sintomas não se apresentam, mas aqueles que adquirem a tuberculose primária (desenvolvem a forma ativa na primo-infecção) ou a tuberculose pós-primária (desenvolvem a forma ativa a partir da tuberculose latente) apresentam alguns sintomas, que são ditos inespecíficos, pois se apresentam em outras doenças, principalmente respiratórias.

Os sintomas respiratórios são: 1) Tosse, verificada em quase todos os pacientes devido ao processo inflamatório alveolar. No início é caracterizada por uma tosse seca, mas pode surgir um pouco de muco com o tempo; 2) Hemoptise: Referente a presença de sangue nas expectorações que é advinda de pulmões, traqueia e brônquios. Geralmente ocorre em pequenas quantidades, denominadas hemoptoicos; 3) Dispneia: Não é muito relatado, sendo uma consequência do padrão fibrótico da doença que causa lesões avançadas nos pulmões; 4) Dor torácica, uma vez que a tuberculose se inicia nos alvéolos que é uma região próxima à superfície pleural. É um sintoma que se dá no início da doença e é frequente, mas de baixa intensidade e desvanece com um tratamento eficaz; e 5) Rouquidão, que não é um sintoma muito relatado porque as pessoas infectadas não a consideram relevante, e é proveniente de um comprometimento da laringe. Estes sintomas respiratórios estão quase sempre relacionados à forma pulmonar da doença, mas há sintomas que aparecem tanto nesta forma, quanto na forma extrapulmonar (VERONESI, FOCACCIA, 2015; WHO, 2017c; CDC, 2016; CAMPBELL, BAH-SOW, 2006).

Os sintomas gerais são: 1) Febre e sudorese: A multiplicação dos bacilos ocorre preferencialmente quando se tem altos níveis séricos de cortisol, ou seja, pela manhã e isto favorece que ao decorrer do dia os bacilos sejam liberados de dentro dos macrófagos, e esta sequência dá início ao processo inflamatório, por isto a febre é usualmente vespertina. A resposta do organismo a esse processo febril é a sudorese noturna; 2) Redução do peso corporal: É um sintoma frequente, e é proporcional à extensão da doença. Comumente é acompanhada de grande fraqueza muscular (VERONESI, FOCACCIA, 2015; WHO, 2017c; CDC, 2016; CAMPBELL, BAH-SOW, 2006).

Os sintomas apresentados na tuberculose geralmente são indolores, e mesmo que não sejam, podem ser associados a outras doenças, e por isto as pessoas podem demorar a procurar atendimento médico, e dessa forma uma pessoa infectada pode transmitir a doença a um número considerável de pessoas, mas nos primeiros momentos do tratamento esta já não é mais transmissível (VERONESI, FOCACCIA, 2015; VERONESI *et al.*, 1991, BUSATTO *et al.*, 2015).

1.2.4. Prevalência, incidência e mortalidade

Em 1970 foi verificada uma redução da doença em países desenvolvidos, mas ainda com aparecimento de novos casos em países subdesenvolvidos, e isto criou uma falsa ideia de controle a respeito da tuberculose. Em décadas posteriores, a doença atingiu níveis mais alarmantes até mesmo em países desenvolvidos, o que ocorreu principalmente devido à interação da tuberculose com a epidemia do HIV. Outro fator contribuinte especialmente em países desenvolvidos foi a longevidade, pois com ela se tem uma baixa na imunidade e os bacilos que podem ter ficado em estado de dormência por muito tempo, podem entrar na forma ativa (VERONESI, FOCACCIA, 2015).

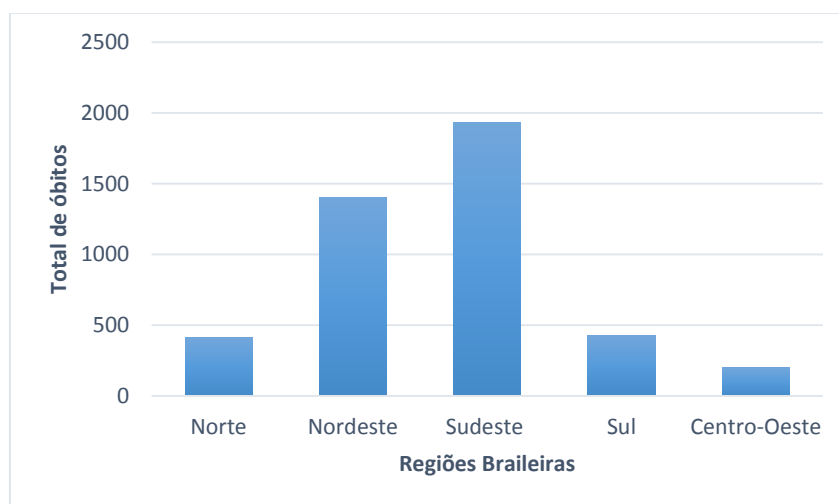
Em 1993 a tuberculose foi declarada como emergência global pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Em 2011 esta mesma organização declarou que aproximadamente 100 milhões de pessoas são infectadas por ano, e se tem uma prevalência de quase 9 milhões de doentes e uma mortalidade de 1,5 milhões de pessoas por ano. A tuberculose que havia sido esquecida pela maior parte da população tem causado muitos transtornos em diversos locais. Segundo relatório da OMS de 2015 houve 10,4 milhões de novos casos em todo o mundo, sendo que grande parte destes se concentraram em seis países: Índia, Indonésia, China, Nigéria, Paquistão e África do Sul. Ainda segundo a OMS 1,8 milhões de pessoas morreram devido à tuberculose dentre os quais, 0,4 milhões de pessoas tinham HIV. Por fim, a tuberculose foi

classificada como uma das 10 principais causas de morte em 2015 (VERONESI, FOCACCIA, 2015; WHO, 2016; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Quanto ao Brasil foi verificado uma redução nas taxas de mortalidade por tuberculose dos anos de 1940/1950 para 1980/1990. Entretanto a crise social e os baixos investimentos na saúde pública têm favorecido o reaparecimento e em algumas vezes o agravamento desta doença (VERONESI, FOCACCIA, 2015).

As regiões brasileiras não apresentam o mesmo coeficiente de mortalidade, e é possível avaliar na Figura 11 que as regiões Norte, Nordeste e Sudeste apresentam os maiores índices de mortalidade. É factível esperar que a região Sudeste não apresentasse maior índice que outras regiões por ser uma área amplamente industrializada, mas é onde se tem também alguns fatores que favorecem a transmissão da doença, como um alto índice de pessoas vivendo na pobreza e a alta densidade populacional (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Figura 11- Gráfico com o total de óbitos de acordo com as regiões brasileiras em 2014.



Fonte: Adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016.

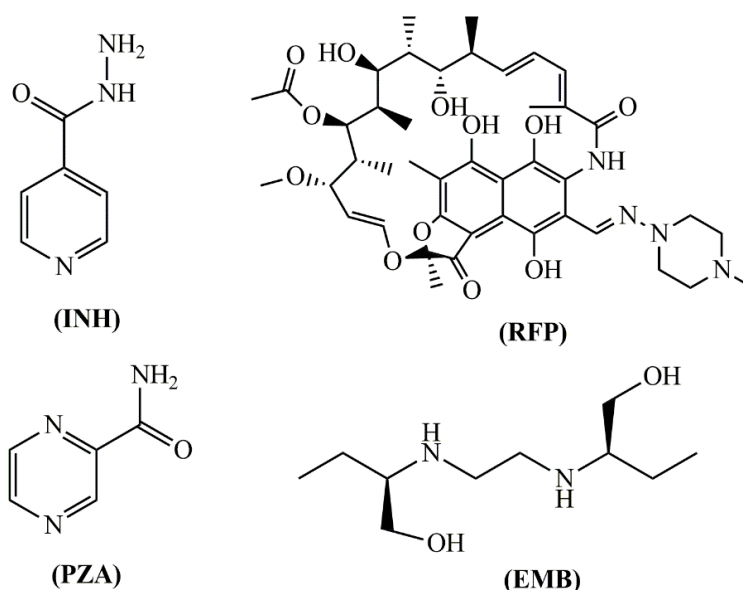
1.2.5. Tratamento para tuberculose pulmonar

O tratamento para a forma pulmonar ativa da tuberculose recomendada pelos órgãos responsáveis é que este seja realizado durante seis meses com uso de tratamento multidrogas. Este consiste em empregar os fármacos isoniazida e rifampicina, e ainda nos dois primeiros meses o uso de pirazinamida e etambutol. É válido ressaltar que com este tratamento surgem diversos efeitos colaterais, dentre eles náuseas, vômitos e problemas visuais (LUIES *et al.*, 2017; RENDON *et al.*, 2016; VIGANOR *et al.*, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2012).

Para que se tenha um tratamento eficiente é necessário um diagnóstico precoce e bons protocolos de tratamento. Se estes dois aspectos forem cumpridos pode-se obter um relativo controle da doença no mundo. Há um consenso mundial de controle desta doença com o objetivo de reduzir a mortalidade e na tentativa de bloquear o desenvolvimento de resistência aos medicamentos já utilizados, motivo pelo qual se tem um tratamento multidrogas (LUIES *et al.*, 2017).

Os medicamentos indicados para este tratamento podem ser classificados como fármacos de primeira linha, fármacos de segunda linha e por fim de terceira linha, que têm correspondência com os cinco grupos atribuídos pela OMS. Aqueles denominados como de primeira linha ou Grupo 1 têm por características comuns alta eficácia e toxicidade razoável, como por exemplo os fármacos isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida (Figura 12).

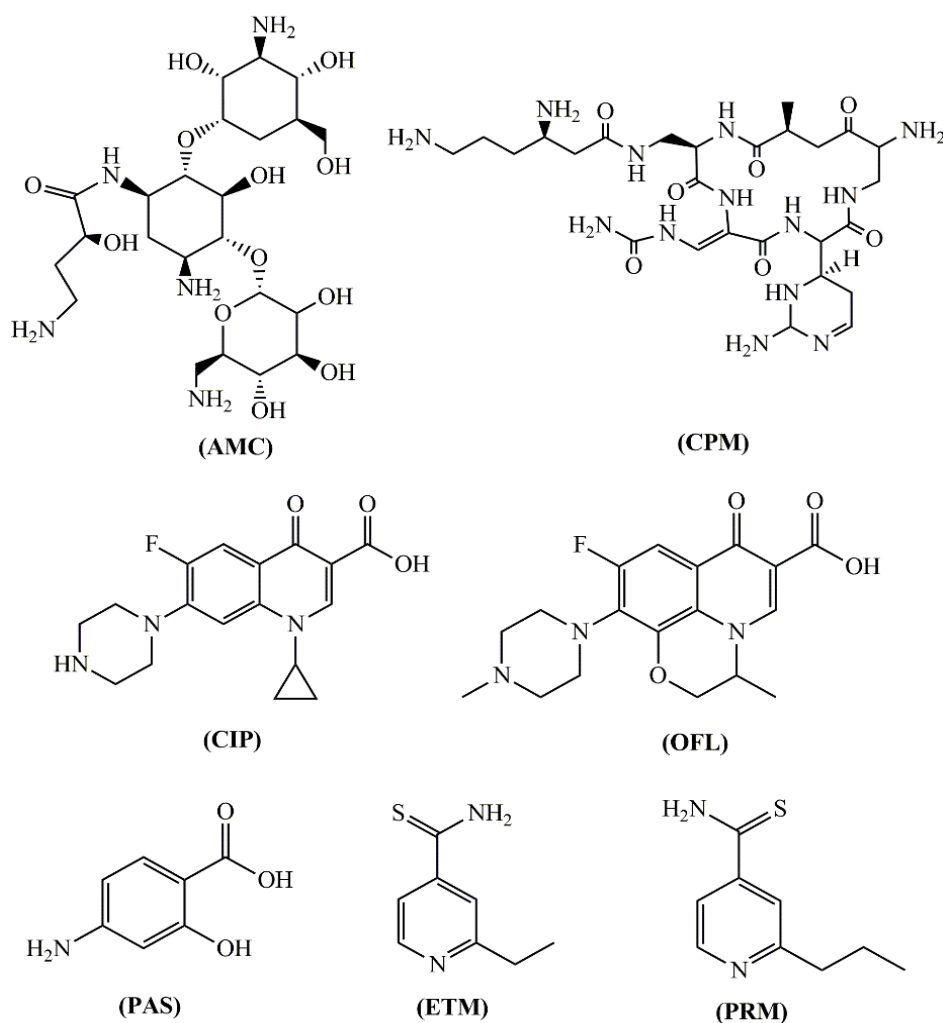
Figura 12-Fármacos de primeira linha no tratamento da tuberculose, onde: (INH) isoniazida, (RFP) rifampicina, (PZA) pirazinamida e (EMB) etambutol.



Fonte: A autora.

Já os que são denominados como de segunda linha, ou aqueles compreendidos nos grupos 2, 3 e 4, inclui fármacos que podem ser utilizados no caso de resistência aos medicamentos do primeiro grupo. Os fármacos de segunda linha, como amicacina, capreomicina, ciprofloxacina, etionamida, ofloxacina, ácido p-aminosalicílico e protionamida (Figura 13), recebem esta classificação por serem menos efetivos que os primeiros, por possuírem efeitos colaterais severos ou por não terem sido avaliados em diversos países (MISHRA *et al.*, 2017; RENDON *et al.*, 2016; WHO, 2014).

Figura 13-Estruturas dos fármacos de segunda linha no tratamento da tuberculose, onde: (AMC) amicacina, (COM) capreomicina, (CPL) ciprofloxacina, (OFL) ofloxacina, (PAS) ácido p-amino salicílico, (ETM) etionamida e PRM (protionamida)



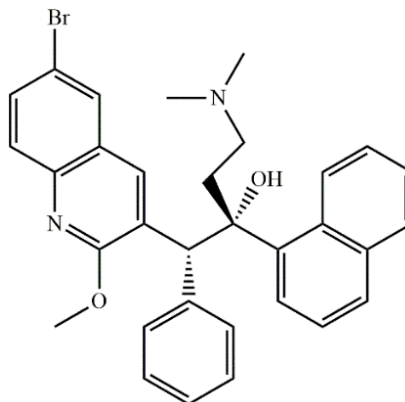
Fonte: A autora.

Os fármacos de terceira linha, ou para aqueles que fazem a classificação em cinco grupos engloba o quinto grupo, contém espécies que possuem atividade não totalmente comprovada, pois foram realizados apenas testes *in vitro* ou tiveram menor uso que os de primeira e segunda linhas, incluindo fármacos como rifabutina, bedaquilina e outros, sendo o uso da bedaquilina (Figura 14) liberado em 2012 pela FDA (MISHRA *et al.*, 2017; VIGANOR *et al.*, 2015).

Com o surgimento de linhagens resistentes, se tem uma mudança nesta classificação sendo que tais linhagens serão brevemente abordadas posteriormente. Nestes casos pode-se ter

o tratamento com altas doses de alguns fármacos da primeira linha, o que não é o mais recomendado, ou o uso de espécies da segunda linha que prolonga a duração do tratamento devido a menor eficácia e à própria resistência, com desvantagens como maiores toxicidade e gastos financeiros (TIBERI *et al.*, 2017; CITC, 2016; WHO, 2014).

Figura 14-Estrutura da bedaquilina



Fonte: A autora.

1.2.6. Linhagens Resistentes

O tratamento contra tuberculose enfrenta sérios desafios, como a miserabilidade da população, a decadente saúde pública e o longo tempo de tratamento que faz com que as pessoas não o sigam corretamente, e isto contribui significativamente para o desenvolvimento de resistência aos antibióticos existentes (VERONESI, FOCACCIA, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2012).

Existem algumas definições para as linhagens resistentes, que são atribuídas de acordo com o fármaco a que é resistente. Sendo assim, pode-se verificar as três classificações a seguir:

- 1) Multirresistente (MDR-TB): refere-se à forma da tuberculose que é resistente a pelo menos isoniazida e rifampicina;
- 2) Extensivamente resistente a drogas (Extensively drug resistant: XDR-TB): Além da resistência citada para MDR-TB, há ainda a resistência referente a fluoroquinolonas e uma droga injetável, como amicacina ou capreomicina; e
- 3) Totalmente resistente a drogas (Totally drug resistant-TDR-TB): Resistente aos fármacos de primeira e segunda linhas, sendo classificado como extremamente resistente (MISHRA *et al.*, 2017).

Tem se instaurado um quadro alarmante com o aparecimento de linhagens resistentes, e estima-se que em 2014 houve pelo menos 480.000 novos casos de tuberculose multirresistente e que aproximadamente 40% das pessoas morreram devido a esta forma da doença. Em 2015, 105 países relataram ao menos um caso de linhagem totalmente resistente a drogas (CITC, 2016).

A forma multirresistente da doença não pode ser tratada de modo convencional, uma vez que já foi verificado que não responde bem ao tratamento de seis meses. Por este motivo, o tratamento nestes casos gera maiores gastos devido a uma maior duração (CITC, 2016; MAGIORAKOS *et al.*, 2012; VIGANOR *et al.*, 2015; MISHRA *et al.*, 2017).

O perfil e mecanismo de resistência a isoniazida e rifampicina, bem como o perfil epidemiológico já foram descritos (MIYATA, *et. al.*, 2011; MENDES, *et. al.*, 2011). Uma das formas mais comuns de resistência é relativa à isoniazida, e nesse caso é indicado o tratamento entre 6 e 9 meses com as fluoroquinolonas de primeira linha que podem ser as fluoroquinolonas classificadas na 2ª geração de quinolonas, sem uso da isoniazida, mais uma fluoroquinolona de última geração, sendo mais relatado uso de levofloxacina e moxifloxacina (3ª e 4ª geração de quinolonas). Assim o tratamento irá depender da especificidade da resistência, mas a alta efetividade das fluoroquinolonas principalmente de última geração, faz com que estas sejam recomendadas em praticamente todos os tratamentos com linhagens resistentes, a menos que se tenha resistência a estes compostos (MAGIORAKOS *et al.*, 2012; WHO, 2014; VIGANOR *et al.*, 2015; CITC, 2016; MISHRA *et al.*, 2017).

1.3. Câncer

A Organização Mundial da Saúde (OMS) relata o câncer como a segunda doença que mais mata no mundo, sendo a doença cardiovascular a primeira desse ranking. Em um panorama global, no ano de 2015 foram relatados aproximadamente 8,8 milhões de mortes das quais cerca de 17% deveu-se ao câncer. No Brasil, o INCA estimou para o biênio 2016-2017 aproximadamente 600 mil novos casos de câncer, sem incluir o câncer de pele tipo não-melanoma (WHO, 2017b; INCA, 2015; GDB, 2017).

Câncer é o termo empregado para um conjunto de doenças com características similares e que podem acometer qualquer parte do corpo sendo caracterizadas pela rápida e ininterrupta divisão celular. Faz sentido classificar o câncer como doença genética, uma vez que se inicia devido a mudança genética nas células normais. Assim as células cancerosas são aquelas que têm seu material genético alterado, e dessa forma não recebem as instruções que deveriam,

agindo de forma errônea como se verifica em sua divisão descontrolada, motivo pelo qual não respondem aos mecanismos de defesa normais, especialmente os de apoptose que é a morte celular programada (SILVA, 2009; INCA, 2017; WHO, 2017b; NCI, 2015; GRAMINHA, 2010).

O crescimento desordenado das células resulta, frequentemente, na formação de tecidos que se proliferam de forma anormal fugindo ao controle do organismo, sendo estes tecidos denominados neoplasia ou tumor. Os tumores podem ser classificados como benignos ou malignos, sendo que os primeiros se caracterizam por um crescimento organizado, lento e que possui limites bem explícitos. Já os tumores malignos possuem maior autonomia e são caracterizados por sua capacidade invasiva, o que caracteriza o processo metastático, dificultando sua erradicação por procedimento cirúrgico e até os tornando resistentes aos medicamentos (INCA, 2011).

As causas para o surgimento do câncer são diversas. Primeiramente se tem o fator genético, ou seja, carga genética adquirida dos pais, que influencia na maior ou menor defesa que tem o organismo de determinada pessoa. Além deste há ainda os fatores ambientais, como carcinógenos físicos (radiação ionizante e ultravioleta), carcinógenos químicos (tabaco e/ou aflatoxina, que é um contaminante de alimentos), carcinógenos biológicos (infecções advindas de bactérias ou vírus), entre outros. Um outro fator que tem contribuído muito é a senescência, pois neste estágio as células já foram expostas aos carcinógenos já mencionados e já sofreram muitas mudanças, aumentando-se as chances de alteração genética (NCI, 2017; INCA, 2017; WHO, 2017b).

Biologicamente o câncer é atuante no núcleo celular, pois as alterações genéticas que induzem à formação de doenças deste tipo afetam a informação genética (ácido desoxirribonucleico-DNA) contida nos genes, que por sua vez compõem os cromossomos que se encontram no núcleo. Quando ocorre um dano no DNA, os mecanismos de reparo logo tentam restaurá-lo para que a célula funcione normalmente, e este sistema é usualmente eficiente, mas se as lesões não podem ser restauradas, a célula inicia o processo de apoptose e assim evita-se a transferência de danos para células-filhas. No entanto quando a extensão dos danos é grande, as células não são suficientemente susceptíveis aos mecanismos de reparo, e também não obedecem ao processo apoptótico e com estas condições favorecem a instalação de células cancerosas (INCA, 2015; MARZANO, 2013).

1.3.1. Tratamento

O tratamento do câncer pode ser realizado basicamente de três maneiras: por procedimento cirúrgico, radioterapia ou quimioterapia. Pode ser utilizada uma destas técnicas ou um conjunto destas tendo por principal objetivo a cura, mas em casos graves o que se pode obter é uma melhora da qualidade de vida.

O enfoque aqui será no tratamento quimioterápico. Este tratamento pode ser indicado: Para diminuição do tumor, fazendo com que ele se torne operável/ressecável; após o procedimento cirúrgico para se ter certeza da extinção de todo o tumor; na própria cura, uma vez que alguns tipos de câncer podem ser curados com uso da quimioterapia; para sobrevida, mas sem probabilidades de cura; e por fim como procedimento paliativo, atenuando os sintomas provenientes da doença, mas sem chances de sobrevida ou cura (INCA, 2011; GRAMINHA, 2010).

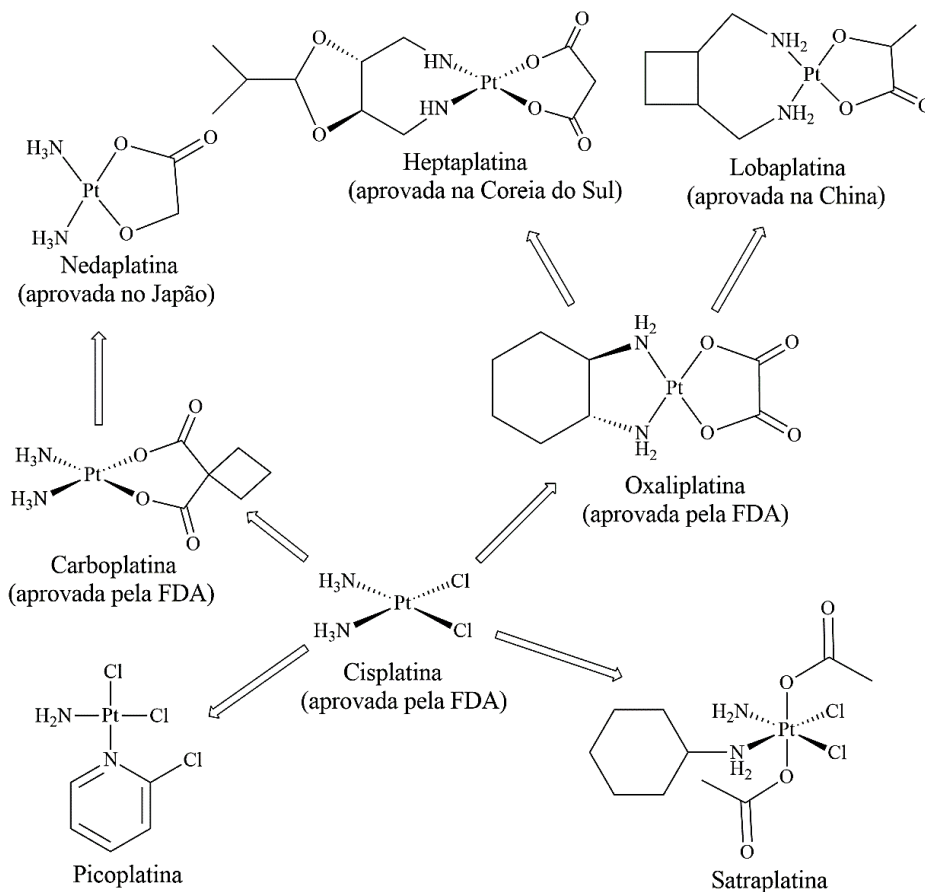
Neste tipo de tratamento faz-se uso de medicamentos denominados quimioterápicos ou antineoplásicos, que podem ser orgânicos, como taxol e vimblastina, ou inorgânicos, como carboplatina e oxaliplatina. O uso de compostos inorgânicos tornou-se possível graças a descoberta da atividade citotóxica da cisplatina, realizada acidentalmente por Barnett Rosenberg e colaboradores por volta do fim do século XX, década de 1960, quando este estudava o efeito do campo elétrico no crescimento da bactéria *Escherichia coli* (ROSENBERG *et al.*, 1967; FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005; NEVES, VARGAS, 2011; MÜDGE *et al.*, 2014).

A partir da aprovação da cisplatina em 1978 para uso corrente no tratamento quimioterápico, seu uso tem sido bastante intenso. Em pelo menos 50% dos tratamentos quimioterápicos realizados faz-se uso da cisplatina. Com a descoberta da atividade antitumoral desta espécie, a pesquisa em torno de compostos a base de platina para esta mesma finalidade cresceu cada vez mais, com o intuito de se obter espécies com espectro de atividade pelo menos similar à cisplatina e com menores efeitos colaterais, e que idealmente possam ser ativos em células cancerosas resistentes à cisplatina (MÜDGE *et al.*, 2014; SILVA, VARGAS, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2014; DILRUBA, KALAYDA, 2016).

Dos fármacos contendo platina além da cisplatina, tem-se a carboplatina e oxaliplatina que são de uso mundial, a nedaplatina, que tem seu uso aprovado apenas no Japão, lobaplatina, com uso aprovado somente na China e heptaplatina com uso aprovado exclusivamente na Coreia do Sul, enquanto que satraplatina e picoplatina estão em fase de testes clínicos (Figura

15) (ALI *et al.*, 2013; NDAGI, MHLONGO, SOLIMAN, 2017; DILRUBA e KALAYDA, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2014).

Figura 15- Quimioterápicos à base de platina



Fonte: Adaptado de NDAGI *et al.*, 2017.

1.3.2. Cisplatina

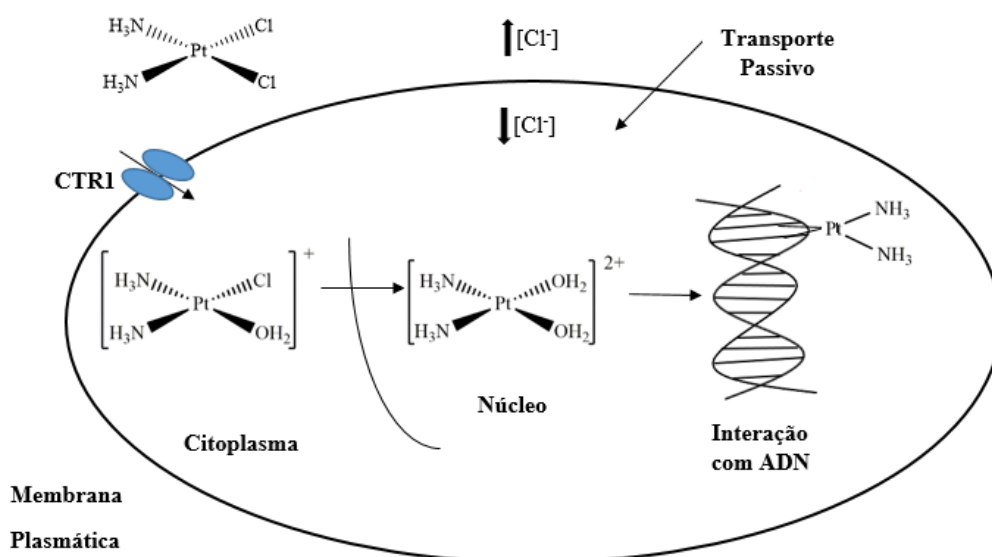
A cisplatina ou *cis*-diaminodicloroplatina(II), é um complexo metálico neutro de geometria quadrado-planar (Figura 15). Esta espécie foi primeiramente reportada por Michele Peyrone na Itália em 1844, mas sua atividade citotóxica só foi descoberta muito tempo depois (KAUFFMAN *et al.*, 2010; ROSENBERG *et al.*, 1967).

Há um consenso de que a ação de compostos de platina, especialmente a cisplatina, seja por meio da ligação destes com o DNA e consequente formação de um aduto. A cisplatina é geralmente administrada por via intravenosa devido à baixa solubilidade deste fármaco em água. Ao chegar na corrente sanguínea existe uma alta concentração de íons cloreto, que faz com que as moléculas de cisplatina continuem praticamente intactas. Com a entrada do composto no ambiente celular, ocorre sua hidrólise pois no interior da célula a concentração de

íons cloreto se torna bem menor, gerando principalmente as espécies aquo $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, que são mais reativas que o composto de origem.

Supôs-se por muito tempo que a principal forma de entrada da cisplatina na célula fosse a difusão passiva, contudo muitas pesquisas indicam que pode ter grande contribuição da difusão ativa, por meio da participação do transportador de cobre CTR1 (Figura 16), que é uma proteína envolvida na homeostase do cobre. Pesquisas indicam que em casos de deficiência desta proteína a cisplatina é bem menos efetiva. Outro fator que corrobora para enunciar que o transportador de cobre CTR1 está envolvido na entrada da cisplatina na célula é esta ser constituída em boa parte por histidina e metionina, que são aminoácidos que interagem eficientemente com a cisplatina (NEVES, VARGAS, 2011; ALMEIDA *et al.*, 2014; ALI *et al.*, 2013; DILRUBA, KALAYDA, 2016).

Figura 16-Mecanismo de transposição da cisplatina na célula



Fonte: Adaptado de NEVES, VARGAS, 2011.

Após a perda dos dois ligantes cloridos, a cisplatina hidrolisada reage com o DNA formando ligações com as bases nitrogenadas que constituem este último. Dessa forma, a espécie ativa no caso da cisplatina é $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$, que se liga ao DNA preferencialmente via átomos N7 das bases purinas guanina e adenina. O aduto predominante da interação entre o fragmento ativo da cisplatina e o DNA é o resultante da ligação cruzada 1,2-intrafito, estando a platina ligada a duas bases adjacentes, prevalecendo este tipo de ligação. Ao interagir covalentemente com o DNA, o aduto formado provoca distorções na estrutura de dupla hélice do DNA, e esta lesão pode levar às seguintes consequências: ao reparo a partir do reconhecimento por diversas proteínas (um dos caminhos para a resistência), inibição do

processo de replicação ou início do processo de apoptose (citotoxicidade do composto). Conclui-se então que a citotoxicidade deste composto é devido a lesão que provoca no DNA, quando se liga a este (NEVES, VARGAS, 2011; ALI *et al.*, 2013; DILRUBA, KALAYDA, 2016).

Sendo o DNA alvo biológico da cisplatina esta espécie age de forma indistinta, ou seja, atinge o DNA tanto em células doentes quanto em células saudáveis. Aparentemente essa não especificidade faz com que o uso da cisplatina no tratamento quimioterápico seja acompanhado de diversos efeitos colaterais, tais como: nefrotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, ototoxicidade, supressão da medula óssea, neurotoxicidade, perda de cabelo, anemia, náuseas e vômito. Estes efeitos colaterais juntamente com a resistência adquirida à cisplatina tem sido uma problemática na sua utilização (MEDICI *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2014; NEVES, VARGAS, 2011).

A resistência à cisplatina pode ocorrer por motivos distintos, como o reparo do DNA pelo reconhecimento de proteínas como já mencionado, a interação deste fármaco com peptídeos contendo enxofre, que pode ser uma das formas de inativação desta espécie antes de sua entrada na célula, ou ainda pelo aumento do efluxo devido aos genes ATP7A e ATP7B que são extrusores de cobre. Foi verificado que o gene ATP7A é responsável pelo sequestro da cisplatina em estruturas vesiculares para que não ocorra a distribuição da droga, enquanto que o gene ATP7B é responsável pelo efluxo da cisplatina (NEVES, VARGAS, 2011; DILRUBA, KALAYDA, 2016).

Devido a esta resistência a busca por novos complexos de platina(II) é interessante, buscando um maior espectro de ação e mecanismos diferentes daquele para o qual já se tem resistência. Conforme foi verificado para os compostos inorgânicos contendo fluoroquinolona poucos são os avaliados quanto a atividade antitumoral, e nenhum dos que já foram avaliados nestes termos contém platina, o que torna interessante a avaliação antitumoral de compostos contendo este metal e ligantes fluoroquinolona.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo neste trabalho é sintetizar e caracterizar complexos de platina(II) e paládio(II) com fluoroquinolonas, assim como efetuar a avaliação da atividade antitumoral e antimicrobiana de alguns destes.

2.2. Objetivos específicos

- a) Sintetizar e caracterizar (estruturalmente e espectroscopicamente) complexos de platina(II) contendo as fluoroquinolonas: levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin e esparfloxacin, e complexos de paládio(II) com as fluoroquinolonas: ciprofloxacin e ofloxacin;
- b) Avaliar a estabilidade dos complexos de Pt(II) por RMN de ^{195}Pt e de alguns dos complexos de Pt(II) e Pd(II) por UV-Vis;
- c) Determinar valores de IC_{50} para três complexos de platina(II) e seus respectivos ligantes, em duas linhagens de células tumorais (MCF-7 e MDA-MB-231) e uma linhagem normal (MCF-10);
- d) Determinar o mecanismo de morte celular para complexos de platina(II) selecionados, por citometria de fluxo;
- e) Avaliar a atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* para três complexos de platina(II) e seus respectivos ligantes fluoroquinolonas; e
- f) Avaliar a atividade frente a linhagens resistentes de tuberculose para três complexos de platina(II) e seus respectivos ligantes fluoroquinolonas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes e solventes

Todos os ligantes e sais metálicos foram adquiridos comercialmente (Sigma Aldrich). Todos os outros reagentes químicos utilizados possuíam grau analítico e foram obtidos de fontes distintas, sendo utilizados como recebidos.

3.2. Métodos Instrumentais

3.2.1. Análise Elementar (CHN)

O percentual de carbono, hidrogênio e nitrogênio contidos nas amostras foram determinados em um analisador CHNS Perkin-Elmer 2400.

3.2.2. Análise Condutimétrica

As medidas de condutividade dos complexos foram realizadas em um condutivímetro Tecnal Tec-4MP, com uma constante de célula igual a $0,9351 \text{ cm}^{-1}$. As soluções foram preparadas utilizando dimetilsulfóxido grau espectroscópico como solvente ($\Lambda_M = 1,96 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) em uma concentração de $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, e brometo de tetraetilamina ($\Lambda_M = 79,19 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) como composto padrão eletrólito 1:1.

3.2.3. Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

As análises termogravimétricas foram realizadas em um aparelho Shimadzu TGA-50, com o uso de aproximadamente 5,5 mg de amostras dispostas em um cadinho de alumínio. Tal análise foi realizada com uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, iniciando à temperatura ambiente até atingir $600 \text{ }^\circ\text{C}$, em uma atmosfera dinâmica de nitrogênio com uma vazão de 50 mL min^{-1} .

3.2.4. Espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Para avaliar a absorção dos compostos na região do ultravioleta-visível foi utilizado um espectrofotômetro UV-2501 PC Shimadzu, sendo os espectros realizados em concentração $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando acetonitrila como solvente.

3.2.5. Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range-MIR da Perkin Elmer. Esta análise foi feita com as amostras sólidas dos complexos e ligantes e com o uso do acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante, compreendendo a região entre 4000 e 220 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

3.2.6. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS)

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massas de alta resolução micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics), mediante uso da ionização por *electrospray* (ESI), em

colaboração com o Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes (Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP) e o Prof. Dr. Marcos Pivatto (IQ-UFU). Os complexos foram solubilizados em acetonitrila e injetados utilizando seringa (100 μL), adaptada a uma bomba de infusão direta com fluxo de 5 $\mu\text{L min}^{-1}$. Os espectros foram obtidos no modo positivo e os valores de m/z teóricos para as proposições dos complexos carregados foram calculados com o software ChemDraw Ultra 12.0.

3.2.7. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt foram obtidos em um espectrômetro Bruker (400 MHz), modelo Ascend 400. As amostras dos complexos e ligantes foram dissolvidas em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6), e os deslocamentos químicos expressos em $\delta(\text{ppm})$, tendo como referência o tetrametilsilano para os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e o sal $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$ como referência com relação aos espectros de RMN de ^{195}Pt .

3.3. Estudos de estabilidade

Um primeiro estudo de estabilidade foi realizado por espectrofotometria na região UV-Vis. Nesta análise utilizou-se dois procedimentos distintos: a) Para os complexos **II** e **V**, $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$ e $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$ respectivamente, foi feito um sistema 1,5% DMSO -água v/v, e as leituras foram realizadas por 6 e 24 horas, respectivamente. Já para o complexo **III**, $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, fez-se as leituras por 6 horas, mas com o sistema 1,5% DMSO -tampão fosfato v/v.

Outro estudo de estabilidade foi realizado por meio de ressonância magnética nuclear para o núcleo de ^{195}Pt com leituras compreendendo um intervalo de 24 horas. É válido ressaltar que os complexos estudados nesta análise foram dissolvidos em DMSO-d_6 .

3.4. Estudos biológicos

3.4.1. Estudo de atividade citotóxica

A atividade citotóxica foi avaliada usando o clássico ensaio colorimétrico [3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium] (MTT) (MOSSMAN, 1983). Após o período de incubação, os compostos foram adicionados (concentrações de 250 a 3,9 μM em diluição seriada). O ensaio *in vitro* foi realizado em três linhagens celulares de mama: MCF-10

(uma célula sadia), MCF-7 (uma célula de câncer com resposta hormonal) e MDA-MB-231 (célula de mama cancerígena triplo negativa), que foram incubadas por 48 horas a 37 °C. A cisplatina foi usada como controle positivo, e os meios de cultura como controle negativo. Após incubação, o meio foi removido seguido da adição de um meio de cultura contendo 10 µM de MTT (2,5 mg/mL) diluído em solução salina tamponada com fosfato (PBS). O precipitado azul MTT formazan foi então dissolvido em 50 µL de DMSO, e a absorbância foi mensurada a 570 nm em um leitor de placas VARIAN CARY-50 MPR multi placas. Citotoxicidade foi expressa como a porcentagem dos valores de absorção em células tratadas comparados às células não tratadas (controle). A citotoxicidade CC₅₀ (concentração necessária para causar morte de 50% das células viáveis) e atividade antitumoral IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% do crescimento celular) foi calculada.

3.4.2. Estudo de apoptose

Para avaliação dos eventos de apoptose, as células MDA-MB-231 foram semeadas em 12 poços de placas a $5,0 \times 10^5$ células/poço por 24 h. Então elas foram tratadas com os complexos **II**, **III** e **IV** ou meio de cultura durante 48 h. Após este tempo, as células foram coletadas com tripsina e lavadas com PBS gelado. As células foram então incubadas com Anexina V FTIC-conjugada (1:100) por mais 15 minutos como determinado pelo Kit de Detecção de Apoptose FTIC Anexina V (Pharmingen™ BD). O iodeto de propídio (1 µg/mL) foi adicionado imediatamente antes da análise de citometria de fluxo BD FAXSCANTOTM. 10.000 eventos foram contados no total por amostra e então analisados pelo software BD FACSDIVA (BD Biosciences).

3.4.3. Estudo de atividade antituberculose

Utilizando um ensaio de microtitulação de resazurina foi possível obter os valores de MIC (Concentração inibitória mínima) para os compostos contra *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) e cinco cepas clínicas (PALOMINO, *et al.*, 2002; PAVAN, *et al.*, 2010). As cepas clínicas foram coletadas no Hospital Clemente Ferreira, referência no tratamento de tuberculose, na cidade de São Paulo-BR, entre 2007 e 2009.

Todos os compostos foram dissolvidos em dimetilsulfóxido a uma concentração de 10 mg mL⁻¹. Posteriormente, os compostos foram diluídos em série (em meio de cultura) para uma

faixa de 0,098-25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Subsequentemente 100 μL de solução bacteriana previamente ajustada em 5×10^5 unidades de formação de colônias por mL em caldo Middlebrook 7H9 (Difco) suplementado com ácido oleico, dextrose e catalase (AODC), foi adicionado em 100 μL da solução dos compostos em placas de 96 poços (Kasvi[®]). Depois de sete dias, 30 μL de solução resazurina (0,01% em água) (Sigma-Aldrich[®]) foi adicionado em cada poço. Após 24 horas com uso do equipamento Cytation 3 (Biotek[®]), foi feita a leitura de fluorescência a 530 e 590 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3.5. Síntese

3.5.1. Síntese do precursor $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$

O precursor $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ foi sintetizado a partir da reação de $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ com dimetilsulfóxido, de acordo com procedimento descrito na literatura. (CINI, DONATTI, GIANNETTONI, 2001).

3.5.2. Síntese dos complexos de Pt(II)

a) Complexo (I) – $[\text{Pt}(\text{LFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Uma suspensão do ligante levofloxacina (0,25 mmol) em 5 mL de água foi adicionada lentamente a 0,25 mmol de $[\text{Pt}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$, previamente solubilizado em água quente (5 mL, 65 °C). É válido ressaltar que mesmo a parte sólida insolúvel foi adicionada lentamente, e com o término da adição do ligante obteve-se uma mistura totalmente solúvel. A mistura foi mantida sob refluxo e após 24 horas, evaporou-se o solvente lentamente a aproximadamente 65 °C, e após total arrefecimento obteve-se um sólido amarelo, que foi filtrado e lavado com metanol e éter etílico, sendo então seco sob pressão reduzida.

M.M.: 705,48 g mol^{-1} . Rendimento: 51% Cor: Amarelo. Análise Elementar para $[\text{PtC}_{20}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{FN}_3\text{O}_7\text{S}]$: C, 32,40; H, 4,08; N, 5,67%; Encontrado: C, 31,83; H, 3,41; N, 5,49. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 15,12 (H₁); 9,00 (H₁₆); 7,63 (H₅); 4,95 (CH₂-O, H_{13a}); 4,62 (CH₂-O, H_{13b}); 4,38 (N-CH, H₁₄); 3,34–2,51 (H₈-H₁₁); 2,87 (N-CH₃); 1,47 (H₁₅). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 176,9; 166,6; 154,6; 146,9; 141,2; 130,9; 125,2; 121,1; 107,4; 103,7; 68,8; 55,3; 53,72; 47,66; 42,92; 18,4. RMN ¹⁹⁵Pt (64 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): -2949. Espectro IV no ATR, ν (cm^{-1}): 3405, 3234, 3039, 3002, 2958, 2916, 2911, 2866, 1703, 1619,

1550, 1523, 1470, 1455, 1438, 1424, 1396, 1358, 1342, 1308, 1293, 1278, 1265, 1248, 1221, 1209, 1178, 1140, 1118, 1095, 1086, 1054, 1022, 1015, 975, 957, 939, 919, 891, 875, 850, 828, 804, 743, 733, 709, 694, 654, 635, 563, 539, 492, 469, 441, 410, 380, 367, 345, 329, 306, 269, 230. $\Lambda_M = 24,50 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

b) Complexo (II) – [Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl.0,5H₂O

Este complexo foi obtido com a mesma rota sintética que o complexo I, porém com o ligante ofloxacin.

M.M.: 705,48 g mol⁻¹. Rendimento: 27% Cor: Amarelo. Análise Elementar para [PtC₂₀H₂₆Cl₂FN₃O₅S].0,5H₂O: C, 34,05; H, 3,71; N, 5,96%; Encontrado: C, 33,53; H, 3,63; N, 5,69%. HRESIMS (ACN) *m/z* 669,0907 [M – Cl]⁺ (calculado para [Pt(C₂H₆SO)(C₁₈H₂₀FN₃O₄)Cl]⁺, 669,0913) ($\Delta -0,9$ ppm)). ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 15,2 (H₁); 8,9 (H₁₆); 7,58 (H₅); 4,92 (CH₂-O, H_{13a}); 4,59 (CH₂-O, H_{13b}); 4,38 (N-CH, H₁₄); 3,34–3,32 (H₈-H₁₁); 2,33 (N-CH₃); 1,46 (H₁₅). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 176,9; 166,5; 154,7; 146,7; 140,7; 132,3; 125,3; 120,2; 107,1; 103,7; 68,5; 55,4; 50,23; 46,1; 18,4. RMN ¹⁹⁵Pt (64 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): -2949. IR spectra in ATR, ν (cm⁻¹): 3522, 3008, 2917, 2890, 2845, 1707, 1621, 1549, 1520, 1478, 1445, 1403, 1360, 1307, 1292, 1270, 1247, 1203, 1148, 1133, 1123, 1094, 1051, 1022, 979, 956, 936, 891, 877, 851, 829, 803, 789, 745, 731, 708, 693, 656, 635, 563, 534, 492, 441, 416, 374, 335, 302, 280, 273, 265, 254, 242, 233. $\Lambda_M = 12,19 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

c) Complexo (III) – [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl

Uma suspensão metanólica (6 mL) do ligante cloridrato de ciprofloxacina (0,25 mmol) foi adicionado lentamente à solução de [Pt(DMSO)₂Cl₂], sendo este último solubilizado em água quente (5 mL, 65 °C). A parte sólida insolúvel do ligante foi também adicionada lentamente e ao fim desta adição obteve-se uma suspensão com coloração diferente do original. O sistema foi mantido sob refluxo por 48 horas, e o precipitado obtido foi filtrado, lavado com metanol e éter etílico, e seco sob pressão reduzida.

M.M.: 675,46 g mol⁻¹. Rendimento: 72% Cor: Amarelo pálido. Análise Elementar para [PtC₁₉H₂₄Cl₂FN₃O₄S]: C, 33,78; H, 3,58; N, 6,22; S, 4,75%; Encontrado: C, 33,91; H, 3,58; N, 6,12; S, 5,08%. HRESIMS (ACN) *m/z* 680,1066 [M – Cl + CH₃CN]⁺ (calculado para

$[\text{Pt}(\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{FO}_3)(\text{C}_2\text{H}_6\text{SO})\text{Cl}(\text{CH}_3\text{CN})]^+$, 680,1068 ($\Delta -0,3$ ppm)). ^1H NMR (400 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm): 15,1 (H_1); 8,65 (H_{17}); 7,91 (H_5); 7,53 (H_{12}); 5,92 (NH); 3,82 (N-CH, H_{14}); 3,60–3,15 (H_8 – H_{11}); 1,33–1,18 (H_{15} – H_{16}). ^{13}C NMR (100 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm): 176,8; 166,4; 152,1; 148,6; 144,9; 139,6; 119,3; 111,6; 107,2; 106,7; 51,1; 50,7; 49,7; 49,1; 36,4; 8,1. RMN ^{195}Pt (64 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm): –3135. Espectro IV no ATR, ν (cm^{-1}): 3536, 3458, 3222, 3173, 3096, 3053, 3013, 2961, 2926, 2851, 1745, 1721, 1628, 1498, 1460, 1447, 1415, 1389, 1358, 1340, 1320, 1297, 1274, 1229, 1213, 1186, 1166, 1139, 1105, 1084, 1070, 1023, 971, 942, 903, 894, 851, 841, 831, 804, 786, 767, 746, 735, 718, 694, 678, 663, 613, 548, 505, 485, 441, 390, 380, 356, 343, 308, 296, 272, 239. $\Lambda_{\text{M}} = 2,91 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$

d) Complexo (IV) – $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$

Este complexo foi obtido utilizando-se a mesma rota sintética do complexo **III**, mas com o ligante esparfloxacina.

M.M.: 736,52 g mol^{-1} . Rendimento: 56% Cor: Vermelho. Análise Elementar para $[\text{PtC}_{21}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{S}]$: C, 34,25; H, 3,83; N, 7,61%; Encontrado: C, 34,84; H, 4,04; N, 7,72%. HRESIMS (ACN) m/z 700,1135 $[\text{M} - \text{Cl}]^+$ (calculado para $[\text{Pt}(\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{F}_2\text{O}_3)(\text{C}_2\text{H}_6\text{SO})\text{Cl}]^+$, 700,1130 ($\Delta 0,7$ ppm)). ^1H NMR (400 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm): 8,40 (H_{17}); 5,44 (NH); 3,97–3,24 (H_8 – H_{11}); 1,28 (CH_3 – C_9 , – C_{10}); 1,15 (H_{14} – H_{16}). RMN ^{195}Pt (64 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm): –2880. Espectro IV no ATR, ν (cm^{-1}): 3390, 3270, 3083, 3011, 2979, 2925, 2893, 2786, 2733, 2631, 2530, 2471, 1730, 1710, 1632, 1590, 1539, 1521, 1504, 1454, 1436, 1385, 1351, 1319, 1280, 1256, 1238, 1215, 1181, 1128, 1115, 1095, 1051, 1041, 1026, 1008, 984, 964, 951, 928, 896, 850, 809, 789, 773, 750, 737, 700, 667, 630, 571, 534, 523, 504, 480, 453, 408, 393, 377, 357, 335, 321, 292, 278, 265, 251, 245. $\Lambda_{\text{M}} = 34,85 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$

3.5.3. Síntese dos complexos de Pd(II)

a) Complexo (V) – $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Nesta síntese 0,25 mmol do sal $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ foi solubilizado em 5 mL de água, sendo adicionado 0,25 mmol de DMSO. Após 1 hora, foi adicionado lentamente uma suspensão metanólica do ligante ciprofloxacina. O precipitado obtido foi filtrado, lavado com metanol e éter etílico, e seco sob pressão reduzida.

M.M.: 562,71 g mol⁻¹. Rendimento: 65% Cor: Amarelo. Análise Elementar para [PdC₁₇H₂₄Cl₂FN₃O₆]: C, 36,29; H, 4,3; N, 7,47; Encontrado: C, 36,84; H, 4,72; N, 7,65. RMN ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 15,2 (H₁); 8,65 (H₁₇); 7,90 (H₅); 7,51 (H₁₂); 3,82 (N-CH, H₁₄); 3,55-3,13 (H₈-H₁₁); 1,33-1,18 (H₁₅-H₁₆). RMN ¹³C (100 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 176,9; 166,4; 152,1; 148,6; 144,9; 139,7; 119,3; 111,6; 107,2; 106,7; 49,47; 46,95; 46,90; 43,19; 36,4; 8,1. Espectro IV no ATR, ν (cm⁻¹): 3477, 3021, 2918, 2850, 2754, 2546, 1717, 1628, 1609, 1581, 1549, 1516, 1488, 1473, 1455, 1382, 1359, 1295, 1273, 1182, 1146, 1117, 1082, 1042, 1024, 971, 944, 894, 863, 829, 800, 765, 747, 706, 678, 667, 632, 614, 587, 559, 545, 520, 503, 441, 418, 391, 375, 329, 302, 281, 247, 239, 231, 225. Λ_M = 4,09 S cm² mol⁻¹

b) Complexo (VI) – [Pd(OFL)Cl₂].3H₂O

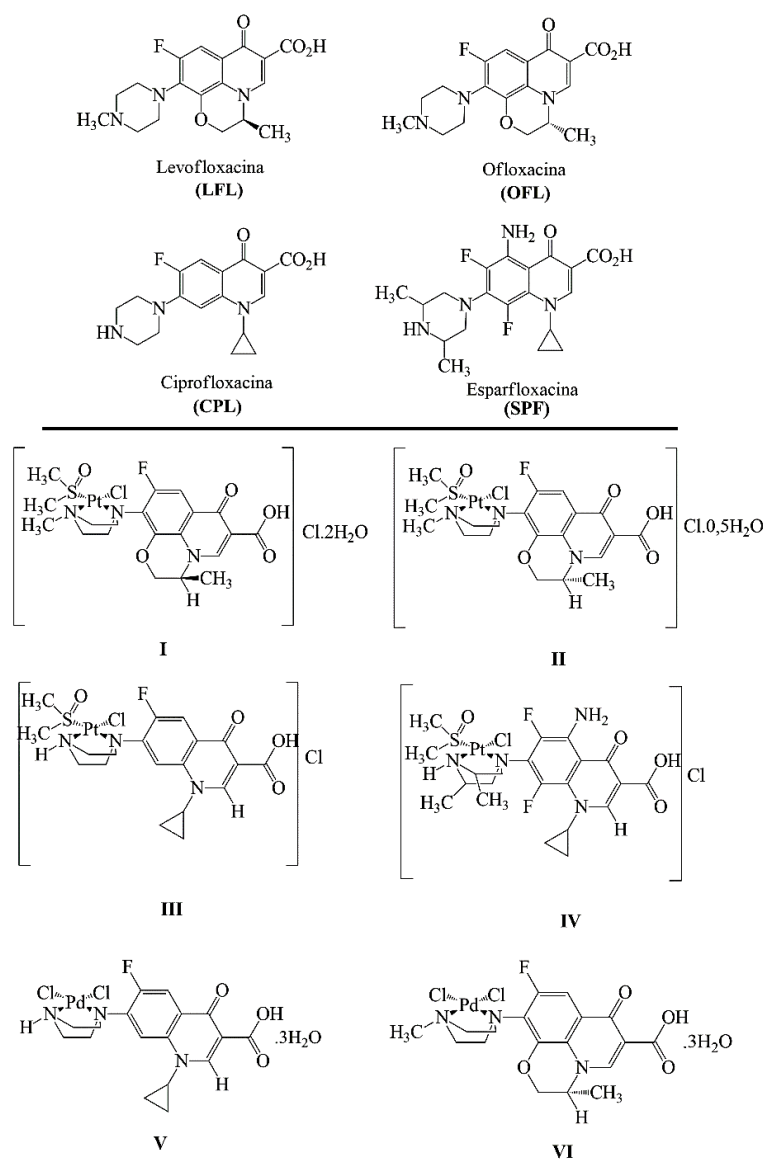
Este complexo foi sintetizado conforme síntese do complexo V, mas com o ligante ofloxacina.

M.M.: 592,74 g mol⁻¹. Rendimento: 92% Cor: Amarelo. Análise Elementar para [PdC₁₈H₂₆Cl₂FN₃O₇] : C, 36,47; H, 4,42; N, 7,09%; Encontrado: C, 36,64; H, 4,21; N, 7,18%. RMN ¹H (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 15,2 (H₁); 8,97 (H₁₆); 7,58 (H₅), 4,93 (CH₂-O, H_{13a}); 4,60 (CH₂-O, H_{13b}); 3,39-2,51 (H₈-H₁₁); 2,78 (N-CH₃); 1,46 (H₁₅). ¹³C NMR (100 MHz; DMSO-*d*₆) δ (ppm): 176,9; 166,7; 154,6; 146,9; 140,6; 132,0; 125,4; 120,5; 107,3; 103,8; 68,6; 55,3; 51,48; 49,70; 45,27; 18,4. Espectro IV no ATR, ν (cm⁻¹): 3479, 3032, 2857, 2751, 1625, 1585, 1557, 1511, 1447, 1403, 1392, 1345, 1326, 1309, 1296, 1273, 1241, 1222, 1197, 1185, 1155, 1132, 1117, 1091, 1051, 1020, 1003, 980, 960, 909, 878, 846, 798, 773, 750, 701, 666, 575, 555, 517, 492, 466, 429, 398, 322, 231. Λ_M = 5,35 S cm² mol⁻¹.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho relata-se a síntese e a caracterização de novos complexos de platina(II) e paládio(II) contendo fluoroquinolonas. A Figura 17 ilustra as estruturas das fluoroquinolonas utilizadas, assim como estruturas propostas para os complexos sintetizados. É válido mencionar que o ligante levofloxacina é isômero da ofloxacina, sendo também conhecido como (S)-ofloxacina (ORLANDO *et al.*, 2007). Três dos complexos de platina(II), bem como seus respectivos ligantes foram submetidos a ensaios biológicos, tanto para atividade antitumoral quanto para atividade antimicobacteriana, sendo esta última realizada para uma linhagem sensível e cinco cepas clínicas resistentes.

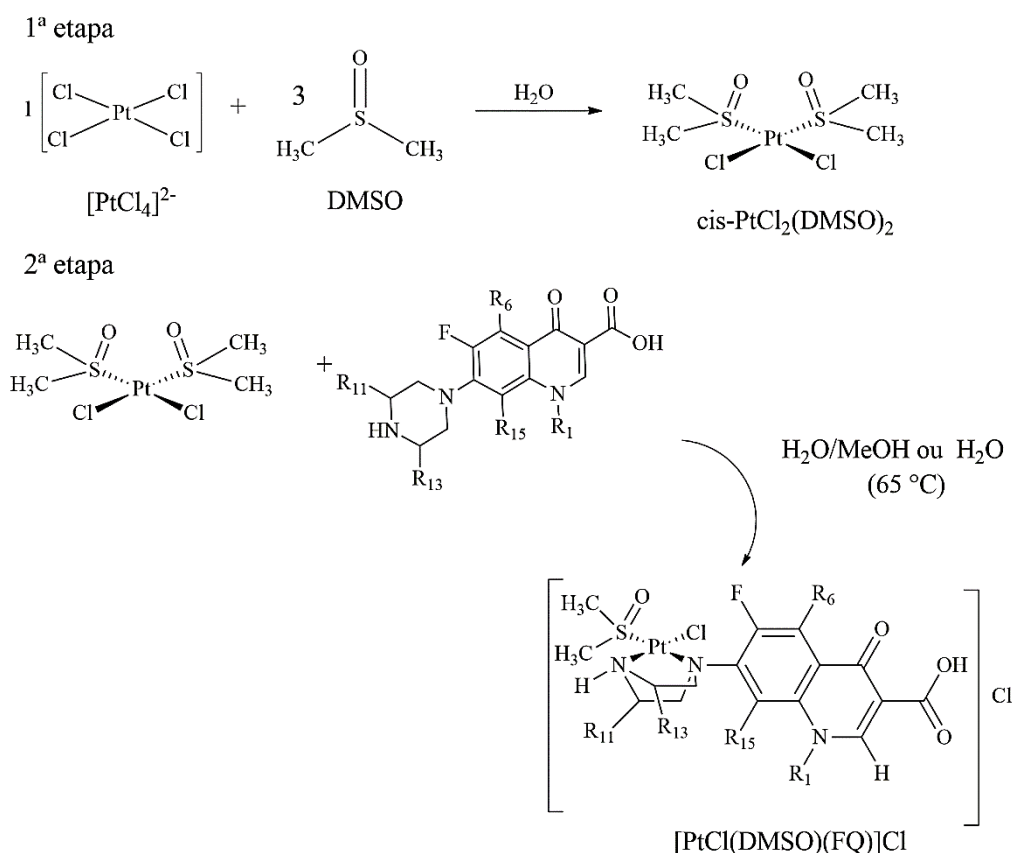
Figura 17-Estruturas dos ligantes utilizados e estruturas propostas para os complexos



Fonte: A Autora.

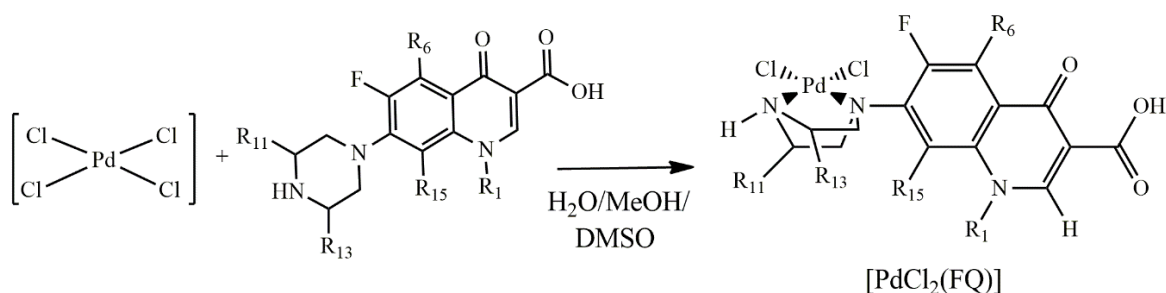
Os complexos foram sintetizados conforme seção experimental e de acordo com o ilustrado nos Esquemas 2 e 3. Os compostos possuem coloração amarela, excetuando-se o complexo **IV** que é vermelho. São estáveis ao ar, à luz, solúveis em DMSO e DMF, sendo insolúveis em diclorometano, por exemplo. Os complexos foram caracterizados por análise elementar, condutimétrica e termogravimétrica. Técnicas espectroscópicas e espectrometria de massas com ionização por *electrospray* também foram utilizadas para auxiliar na proposição das estruturas.

Esquema 2-Método de síntese dos complexos de platina(II)



Fonte: A autora.

Esquema 3-Método de síntese dos complexos de paládio(II)



Fonte: A autora.

4.1. Análise Elementar

Os dados de análise elementar obtidos para os compostos em estudo (Tabela 3) estão de acordo com as formulações propostas.

Tabela 3-Dados de análise elementar (CHN) para os complexos sintetizados

Complexo	%C _{teór.}	%C _{exp.}	%H _{teór.}	%H _{exp.}	%N _{teór.}	%N _{exp.}
I	32,40	31,83	4,08	3,41	5,67	5,49
II	34,05	33,53	3,71	3,63	5,96	5,69
III	33,78	33,91	3,58	3,58	6,22	6,12
IV	34,25	34,84	3,83	4,04	7,61	7,72
V	36,29	36,84	4,30	4,72	7,47	7,65
VI	36,47	36,64	4,42	4,21	7,09	7,18

A partir da concordância destes resultados, realizou-se técnicas adicionais para avaliar as estruturas propostas.

4.2. Análise Condutimétrica

As medidas de condutividade molar dos complexos foram realizadas em DMSO logo após o preparo das soluções de concentração $1,0 \times 10^{-3}$ M. Com os resultados é possível avaliar se determinada espécie é ou não eletrólito, conforme Tabela 4. (VELHO, 2006)

Tabela 4-Faixa de valores de condutividade propostos considerando DMSO como solvente

Eletrólito	(S cm ² mol ⁻¹)
1:1	20-62
2:1	54-110

Adaptado de VELHO(2006)

Sabendo destas faixas de classificação no solvente mencionado, pode-se correlacionar os valores obtidos para os complexos deste trabalho (Tabela 5) com tais faixas. Verifica-se a neutralidade dos complexos de paládio(II), **V** e **VI**, devido aos baixos valores apresentados que concordam com a estrutura proposta e a literatura (VIEIRA *et al.*, 2009b).

Quanto aos complexos **I** e **IV** conclui-se que são eletrólitos 1:1, o que corrobora para as suas estruturas propostas no estado sólido. Por sua vez, os complexos **II** e **III** são classificados como não-eletrólitos, o que pode ser devido a um equilíbrio ácido-base, uma vez que foi

realizado um teste qualitativo com AgNO_3 para o complexo **II** e foi verificado a precipitação de AgCl , indicando existência do íon cloro não coordenado à platina.

Tabela 5-Condutividade dos complexos em DMSO.

Composto	Solvente	Λ_M ($\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$)
I / $[\text{Pt}(\text{LFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	DMSO	24,50
II / $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	DMSO	12,19
III / $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	DMSO	2,91
IV / $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	DMSO	34,85
V / $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$	DMSO	4,09
VI / $[\text{Pd}(\text{OFL})\text{Cl}_2]$	DMSO	5,35

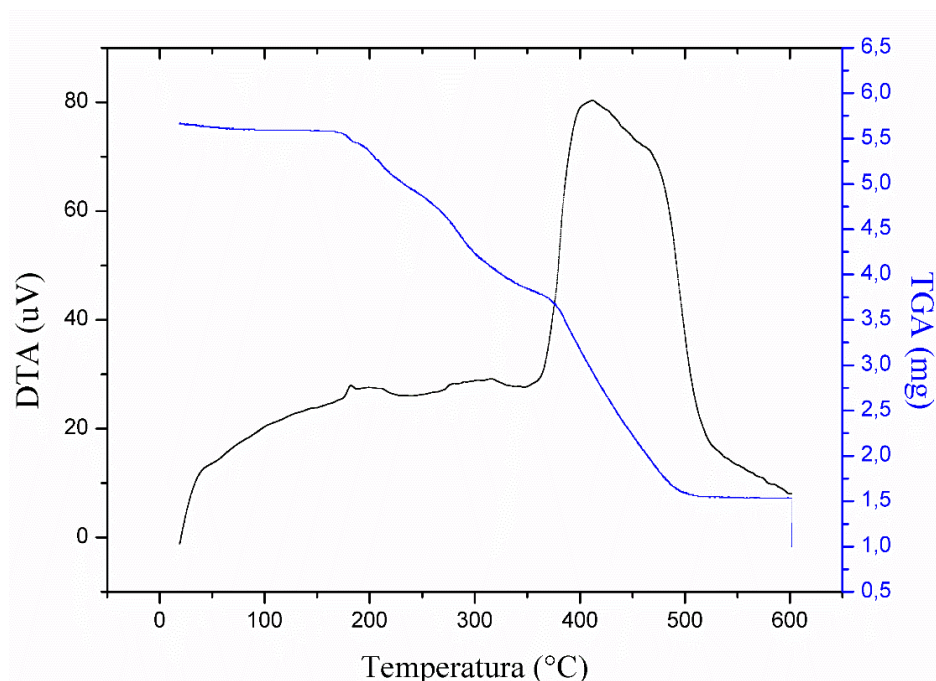
Fonte: Dados da Pesquisa.

4.3. Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos complexos **II**, **III** e **V** foi avaliada por meio de suas respectivas curvas TG e DTA. Verifica-se na Figura 18 que o complexo **II**, $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, sofre decomposição exotérmica referente à saída dos ligantes. No início do gráfico TGA, aproximadamente de 24 a 90 °C, observa-se uma pequena perda de massa, referente à perda de meia molécula de água, tendo sido obtido perda de 1,24% em massa (calculado 1,28%), corroborando com a proposição desta quantidade de água no complexo.

Sugere-se que o próximo evento exotérmico, entre 170 e 230 °C, relativo à perda de 9,75% da massa inicial refere-se à perda de dos dois grupos metílicos e do grupamento CO_2H da ofloxacina (calculado 10,63%). Na faixa de temperatura entre 254 e 360 °C propõe-se que este evento seja relativo à perda dos dois ligantes cloridos e do dimetilsulfóxido, obtendo-se uma perda de massa experimental igual a 19,97% (calculado 21,12%). O último evento exotérmico refere-se à perda da ofloxacina remanescente com uma perda de 39,22% em massa (calculado 40,70%). Por fim, em 550 °C há um resíduo de platina elementar que equivale a 27,03% da massa utilizada (calculado 27,65%) corroborando com a estrutura proposta, $[\text{Pt}(\text{C}_2\text{H}_6\text{SO})(\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_4)\text{Cl}]\text{Cl} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$.

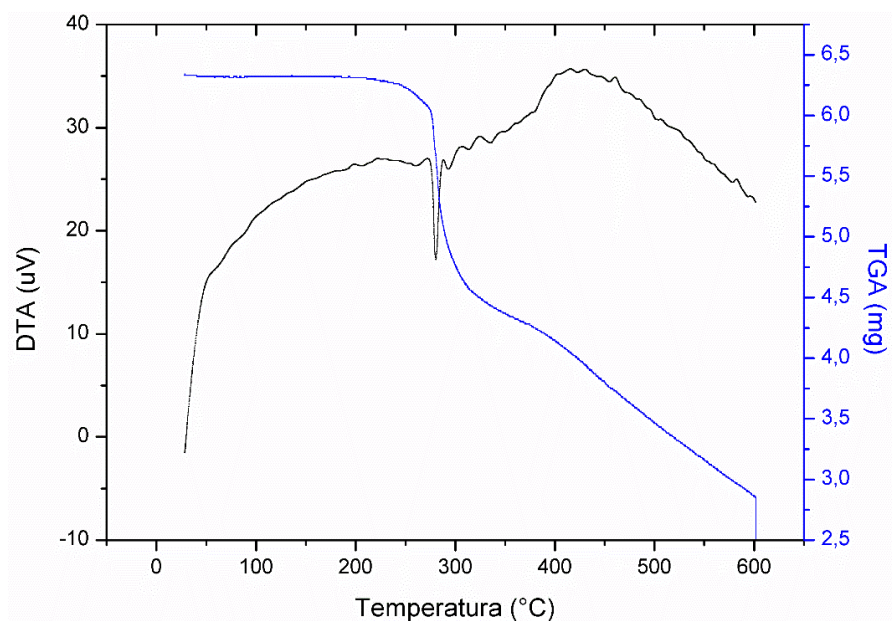
Figura 18-Curva TG/DTA para o complexo **II** ou $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

A curva TG/DTA do complexo **III**, $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, não contribuiu muito para a caracterização de sua estrutura, uma vez que não foi observado resíduo na faixa de temperatura estudada. Contudo, pode ser averiguada a estabilidade térmica e a ausência de água ou solvente no complexo, uma vez que não ocorrem perdas de massas significativas até 200 °C (Figura 19).

Figura 19-Curva TG/DTA para o complexo **III** ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$

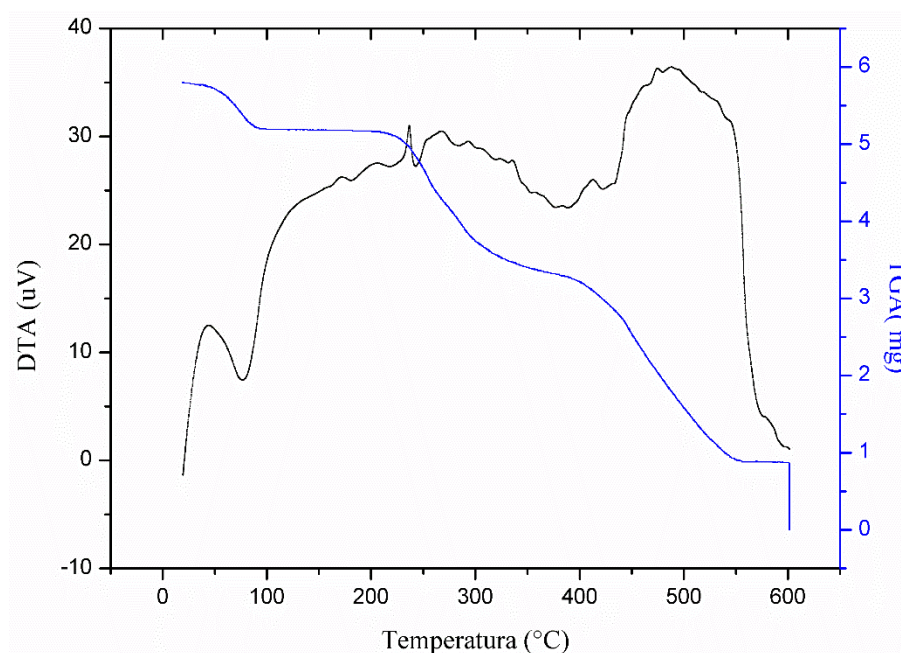


Fonte: Dados da Pesquisa.

Referente ao complexo **V**, $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$, verifica-se primeiramente um evento endotérmico e pelo menos dois eventos exotérmicos (Figura 20). O evento endotérmico refere-se à perda de 9,5% em massa que é devido a perda de três moléculas de água (calculado 9,60%), o que corrobora com a quantidade de água proposta a partir dos resultados da análise elementar.

O primeiro evento exotérmico entre 220 e 350 °C é concernente com a perda de 30% em massa, o qual propõe-se ser devido à perda dos dois ligantes cloridos e uma parte da ciprofloxacina, mais especificamente o anel ciclopropílico e CO_2H , que equivalem a 27,90%. O outro evento entre 380 e 550 °C, refere-se à decomposição exotérmica da ciprofloxacina remanescente correspondendo a 42,53% em massa (calculado: 43,56%). Em 550 °C aproximadamente, há um resíduo de paládio elementar equivalente a 18% da massa inicial (calculado: 18,91%) corroborando com a estrutura proposta para este complexo, ou seja, com a fórmula molecular $[\text{Pd}(\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{FO}_3)\text{Cl}_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Figura 20-Curva TG/DTA para o complexo **V** ou $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Analisando-se os espectros dos complexos para os quais promoveu-se análise termogravimétrica, conclui-se que os mesmos possuem considerável estabilidade térmica, uma vez que ao desconsiderar-se as moléculas de água, a degradação térmica dos complexos só é notada a partir de 170 °C aproximadamente.

4.4. Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis

Os espectros na região ultravioleta-visível foram obtidos em acetonitrila grau espectroscópico, com soluções de concentração $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Na Tabela 6 tem-se os comprimentos de onda de absorção máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) e absortividade molar ($\epsilon_{\text{máx}}$) para as fluoroquinolonas, assim como para os complexos. No que se refere aos compostos orgânicos, as bandas observadas entre 200 e 300 nm referem-se às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático, e as demais bandas referem-se às transições $n \rightarrow \pi^*$ (NEUGEBAUER *et al.*, 2005; TANIMOTO, 2009; EL-GAMEL, ZAYED, 2011).

Tabela 6-Comprimentos de onda, absortividade molar e transições atribuídas na região do ultravioleta-visível

Composto	Ligante livre		Complexo		Transições
	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$	
[Pt(LFL)(DMSO)Cl]Cl	223	4,27	227	4,51	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou I	257(fr)	3,86	247(fr)	4,30	$\pi \rightarrow \pi^*$
	300	4,65	294	4,60	$\pi \rightarrow \pi^*$
	326(o)	4,23	326	4,23	$n \rightarrow \pi^*$
[Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl	225	4,34	227	4,48	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou II	300	4,66	300	4,63	$\pi \rightarrow \pi^*$
	335(o)	4,20	335(o)	4,20	$n \rightarrow \pi^*$
[Pd(OFL)Cl ₂]	225	4,34	243	4,11	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou VI	300	4,66	300	4,28	$\pi \rightarrow \pi^*$
	335(o)	4,20	329	3,90	$n \rightarrow \pi^*$
[Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl	203	4,28	223	4,36	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou III	280	4,57	282	4,73	$\pi \rightarrow \pi^*$
	317	4,08	318	4,20	$\pi \rightarrow \pi^*$
	332	4,07	332	4,20	$n \rightarrow \pi^*$
[Pd(CPL)Cl ₂]	203	4,28	230	4,04	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou V	280	4,57	282	4,28	$\pi \rightarrow \pi^*$
	317	4,08	319	3,86	$\pi \rightarrow \pi^*$
	332	4,07	333	3,85	$n \rightarrow \pi^*$

[Pt(SPF)(DMSO)Cl]Cl	225	5,04	226(fr)	4,67	$\pi \rightarrow \pi^*$
ou IV	309	5,20	276	4,85	$\pi \rightarrow \pi^*$
	375	4,69	331	4,46	$n \rightarrow \pi^*$
			495	4,23	TCLM

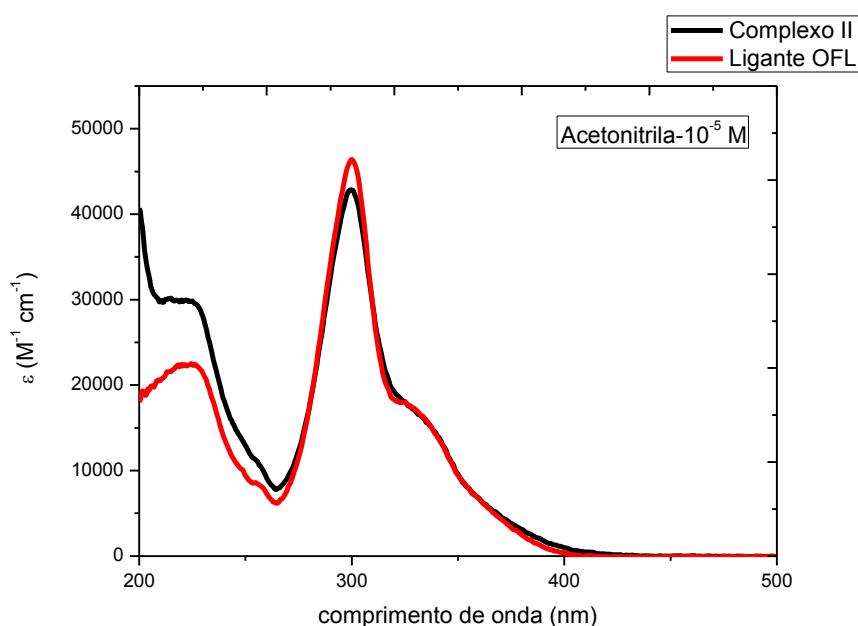
fr: fraca; o: ombro

Fonte: Dados da Pesquisa

Analizando os espectros dos complexos, como exemplo o complexo **II** (Figura 21) nota-se que não houve deslocamentos significativos com relação às bandas do ligante livre, com exceção do complexo **IV**, o que corrobora para propor que a coordenação ocorra via nitrogênios do anel piperazínico uma vez que que a transição do tipo $n \rightarrow \pi^*$ geralmente ocorrem abaixo do limite de corte de grande parte dos solventes, e por isto não são comumente observadas (PRABAVATHI *et al.*, 2012, PAVIA *et al.*, 2010).

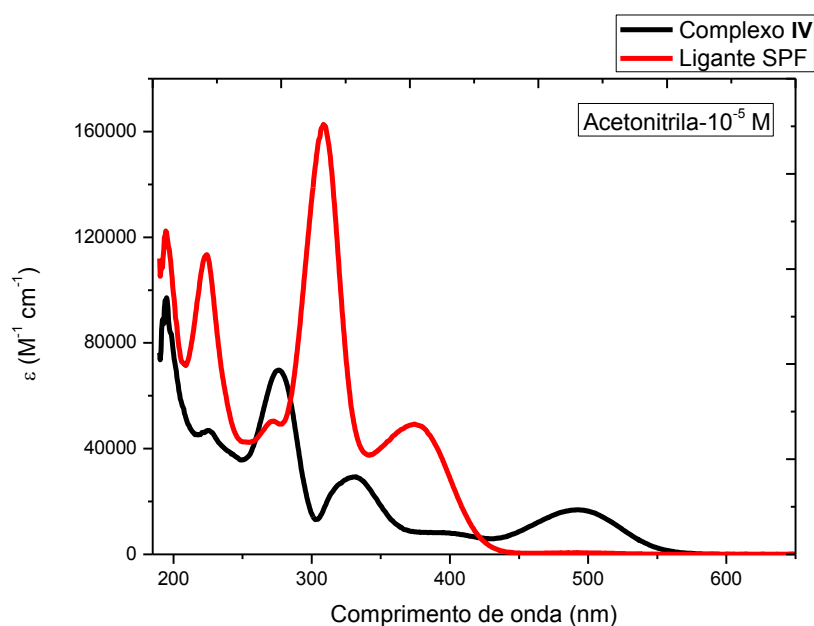
O considerável deslocamento observado para o complexo **IV** pode sugerir que a coordenação neste complexo ocorra via átomos de oxigênio do ligante esparfloxacina, provavelmente via oxigênio cetônico e um oxigênio carboxílico, uma vez que é o mais recorrente na literatura. Contudo, de acordo com Lin *et al.* o maior deslocamento observado para o complexo **IV** (Figura 22) em relação a seu ligante pode ser atribuído ao aumento na extensão da conjugação eletrônica que resulta no deslocamento da posição do cromóforo (doação eletrônica do grupo amina através do anel aromático) (UIVAROSI, 2013, LIN *et al.*, 2015, PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 21-Espectro na região UV-Vis para o complexo **II** e seu respectivo ligante



Fonte: Dados da Pesquisa.

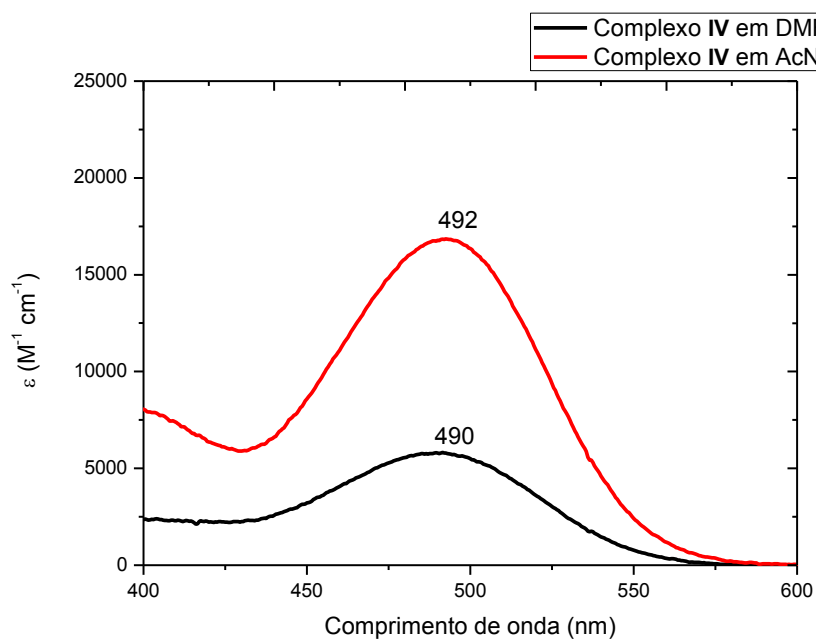
Figura 22-Espectro na região UV-Vis para o complexo **IV** e seu respectivo ligante.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Por fim, o complexo **IV** apresentou uma banda de transferência de carga (TCLM), Figura 23, com valor de $\lambda_{\text{máx}}$ próximo a 490 nm. (HUHEEY *et al.*, 2006).

Figura 23-Ampliação do espectro UV-Vis do complexo **IV** na região de 400 a 600 nm.



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.5. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os ligantes utilizados neste estudo foram caracterizados por absorção na região do infravermelho para posterior comparação com os espectros dos complexos.

Conforme a Tabela 7, as fluoroquinolonas apresentam uma banda de absorção por volta de 3300 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo OH. Frequências entre 2930 e 3040 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento simétrico de C-H aromático. É válido ressaltar a presença das frequências relativas aos grupos $\text{C}=\text{O}_{\text{carboxílico}}$ e $\text{C}=\text{O}_{\text{carbonílico}}$ que se encontram entre 1700 - 1720 cm^{-1} e 1606 - 1640 cm^{-1} , respectivamente. Bandas atribuíveis ao grupo C-F estão localizadas entre 1140 e 1450 cm^{-1} , dependendo do ligante. A frequência vibracional referente à ligação C-N do anel arila encontra-se por volta de 1180 e 1250 cm^{-1} , enquanto que a vibração C-N do anel piperazínico ocorre em frequências mais baixas, na faixa de 980 e 1030 cm^{-1} , dependendo do ligante (SAHOO, CHAKRABORTI, BEHERA, 2012; MARTINS *et al.*, 2016; EFTHIMIADOU *et al.*, 2008; SAHOO *et al.*, 2011a; KALAIMAGAL, 2015; GUNASEKARAN, RAJALAKSHMI, KUMARESAN, 2013; GOYNE *et al.*, 2005; FOCHESSATTO, 2008; SAHOO *et al.*, 2011b; DOROFEEV, 2004; SAGDNIC, BAYARI, 2004; NEUGEBAUER, 2005; PAVIA *et al.*, 2010).

Além das frequências vibracionais supracitadas, existem ainda bandas de absorção que são importantes para a atribuição do modo de coordenação e que estão presentes em um ou dois ligantes. Como exemplo, a do grupo CH (CH_3) contidos no anel piperazínico do ligante esparfloxacina (SPF), compreendidas entre 2963 - 2843 cm^{-1} . Já no caso dos ligantes levofloxacina (LFL) e ofloxacina (OFL), é possível avaliar os estiramentos relacionados ao grupo metil ligado diretamente a um dos nitrogênios piperazínicos, que compreende a região por volta de 2800 cm^{-1} . Por fim, as frequências vibracionais referentes ao estiramento $\nu\text{N-H}$ nos ligantes ciprofloxacina (CPL) e esparfloxacina (SPF) que ocorrem por volta de 3378 e $3097/3338\text{ cm}^{-1}$, respectivamente (EL-GAMEL, ZAYED, 2011; GUPTA *et al.*, 2010; EFTHIAMIDOU, 2010; AL-KHODIR, REFAT, 2015).

Tabela 7-Atribuições vibracionais no infravermelho para complexos e seus respectivos ligantes.

Atribuições vibracionais	Compostos									
	LFL	I	OFL	II	VI	CPL	III	V	SPF	IV
$\nu(\text{OH})$	3414	3405; 3234	3423	3507	3479	3525	3534	3477	3458	3476
$\nu_s(\text{CH})_{\text{arom.}}$	2938	2916	3047; 3008	-	3032	3092- 3015	-	3093- 3007	-	-
$\nu(\text{C=O})_{\text{COOH}}$	1719	1703	1713; 1694	1707	-	1699	1746; 1717	1717	1714	1730; 1712
$\nu(\text{C=O})_{\text{piridona}}$	1619	1619	1622	1622	1625	1624; 1606	1626	1628	1638	1633
$\nu(\text{C-C})_{\text{arom.}}$	1538	1550	1548	1548	1557	-	-	-	1584	1589
$\nu(\text{C-F})$	1342; 1438	1396; 1455	1289	1292	1273	-	-	-	1147	1127
$\nu(\text{C-N})_{\text{arila}}$	1208	1221	-	-	-	1266	1274	1273	1291- 1185	1282- 1181
$\delta(\text{C-H})$		875	878	877	-	889	892	-	671	667
$\nu(\text{C-H})_{\text{CH}_3}$	-	-	-	-	-	-	-	-	2964- 2843	2923- 2729

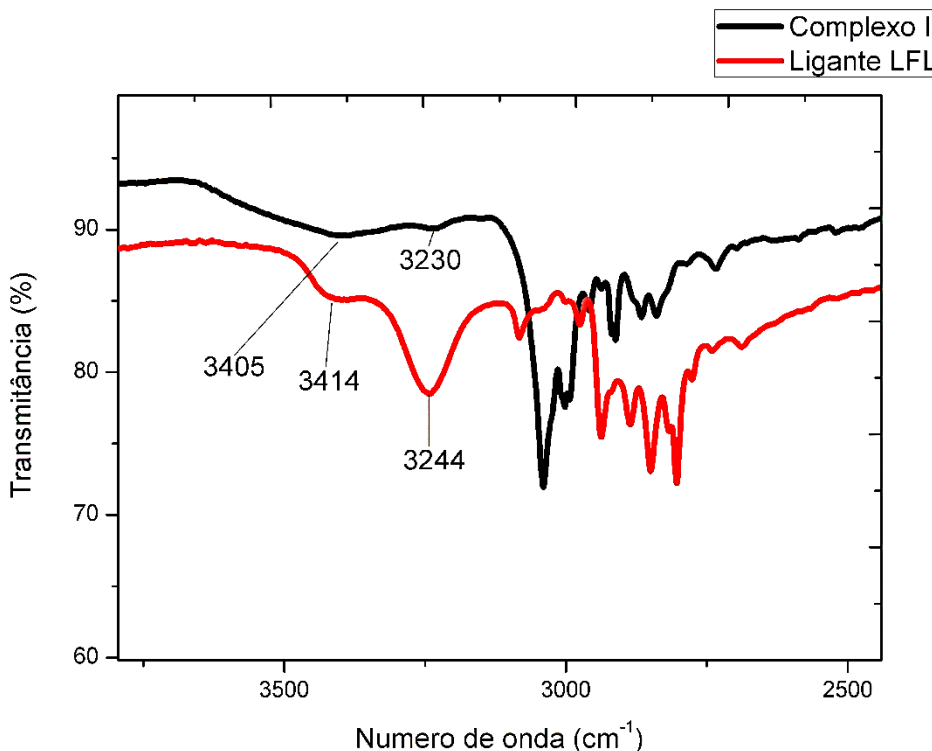
$\nu(\text{CH})_{\text{N-CH}_3}$	2802	Não aparece	2786	Não aparece	2751	-	-	-	-	-
$\delta(\text{N-CH}_3)$		-	1407; 1398	1403	1403; 1392	-	-	-	-	-
$\nu(\text{NH}_2^+)$	-	-	-	-	-	2764- 2461	Não aparece	-	-	-
$\nu(\text{NH})$ e/ou $\nu(\text{NH}_2)$	3244	-	-	-	-	3378	3458	3476	3338; 3097	3270; 3083
$\nu(\text{C-N})_{\text{alquila}}$	983	975	1010	1021	1020	986	971	-	1029	1008
$\nu(\text{Pt-S})$	-	1140	-	1133	-	-	1139	-	-	1181
$\nu(\text{Pt-N})$	-	441	-	-	-	-	441	-	-	572
$\nu(\text{Pt-Cl})/$ $\nu(\text{Pd-Cl})$	-	380	-	374	322; 303	-	344	329; 316	-	-

Fonte: Dados da Pesquisa.

Tendo sido atribuído os principais modos vibracionais dos ligantes, é válido verificar como resultam estes mesmos estiramentos nos complexos com o intuito de avaliar o modo de coordenação dos ligantes. Na Tabela 7 pode-se observar as mesmas atribuições feitas para os ligantes analisadas para os complexos, como também novas atribuições devido à formação dos complexos.

Comparando os valores das frequências vibracionais dos complexos com aqueles obtidos para os ligantes nota-se grande diferença entre os espectros corroborando para a coordenação das fluoroquinolonas ao centro metálico. Alguns estiramentos apresentam maior deslocamento do ligante para o complexo, enquanto que outros como os estiramentos vibracionais referentes ao grupo OH não sofrem deslocamento significativo nos complexos, conforme observa-se na Figura 24 para um dos complexos e seu respectivo ligante.

Figura 24-Espectro vibracional de absorção no infravermelho para o complexo **I**, [Pt(LFL)(DMSO)Cl]Cl, e o ligante LFL.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Duas bandas que devem ser analisadas com cuidado são aquelas atribuíveis aos grupos -COOH e -C=O , assim como bandas envolvendo grupos do anel piperazínico, pois estes grupos são passíveis de coordenação (REIS, 2014; VIEIRA *et al.*, 2009b).

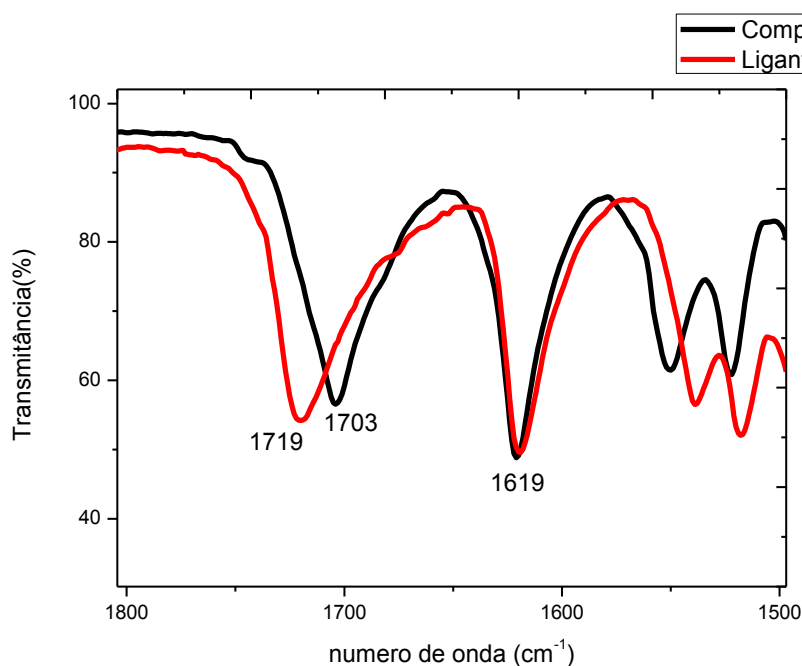
A maioria dos complexos obtidos com fluoroquinolonas enunciados na literatura são descritos como tendo o ligante coordenado ao cátion metálico de forma bidentada através dos átomos de oxigênio carbonila e carboxila. Nestes complexos, este modo de coordenação é evidenciado no infravermelho pelo desaparecimento da banda relativa ao grupo C=O carboxílico e deslocamento do estiramento relacionado ao grupo C=O do anel piridona (VIEIRA *et al.*, 2009b). No entanto alguns complexos com íons metálicos, como prata e platina, são reportados com coordenação via átomos de nitrogênio piperazínico, de forma monodentada na prata e bidentada para a platina (VIEIRA *et al.*, 2009a; RUSU *et al.*, 2016; RUSU *et al.*, 2017).

Nos complexos de platina em estudo, observa-se apenas um deslocamento para as bandas relativas aos grupos -COOH e -C=O . Não foi observado em nenhum dos casos o desaparecimento da banda atribuída ao grupo -COOH , conforme pode ser verificado na Figura

25. Por outro lado, verifica-se um deslocamento considerável destas bandas nos complexos de paládio e um decréscimo significativo na intensidade, que podem ocorrer devido as interações intra ou intermoleculares no estado sólido. De qualquer forma, o uso do RMN é indicado para esclarecer os modos de coordenação para ambos os tipos de complexos.

Figura 25-Espectro vibracional de absorção no infravermelho para o complexo **I**,

$[\text{Pt}(\text{LFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, e o ligante LFL.



Fonte: Dados da Pesquisa.

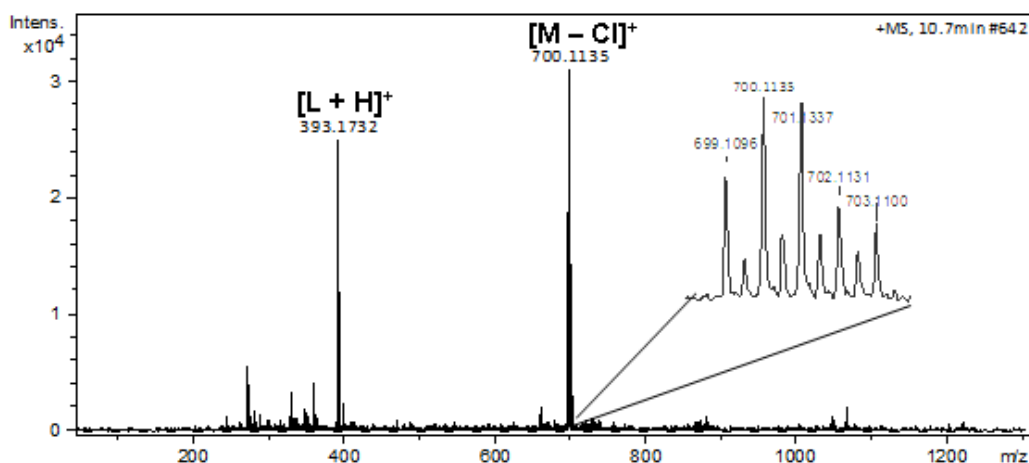
Uma observação importante é que a banda atribuída ao grupo NH (anel piperazínico) sofre deslocamento considerável nos espectros dos complexos **III** ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, **IV** ou $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$ e **V** ou $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$, com deslocamento de 80 cm^{-1} em média, reforçando a coordenação via anel piperazínico. Por fim, conforme a Tabela 7, é possível verificar uma nova banda para os complexos de platina, atribuída ao estiramento vibracional $\nu(\text{S}=\text{O})$ observada entre $1130\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$, que quando ocorre nesta região indica a coordenação do DMSO via átomo de enxofre. No que se refere à ligação Pt-N observou-se novas bandas entre $440\text{--}570\text{ cm}^{-1}$, e com relação à ligação M-Cl, onde M é platina ou paládio, verifica-se uma única banda para os complexos de platina enquanto para os complexos de paládio constata-se duas bandas corroborando com o fato de que estes complexos são do tipo *cis*- $[\text{Pd}(\text{FQ})\text{Cl}_2]$ (NAKAMOTO, 2009).

Como mencionado anteriormente, as frequências vibracionais referentes às outras ligações não sofrem alterações significativas o suficiente para corroborar na definição do modo de coordenação, conforme observa-se na Tabela 7 para algumas bandas atribuídas.

4.6. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray*

A espectrometria de massas em alta resolução foi realizada para os complexos **II**, **III** e **IV**, utilizando acetonitrila como solvente. Os espectros foram registrados no modo positivo e podem ser observados no anexo C. No processo de ionização o íon cloreto admitido como contra-íon foi dissociado, tendo como resultado complexos carregados. Os valores de m/z listados na Tabela 8 são relativos ao isótopo de platina mais abundante (^{195}Pt) e conforme pode ser verificado, para os complexos **II** e **IV**, os valores obtidos concordam com a estrutura proposta, sendo possível observar o sinal referente à espécie $[\text{PtCl}(\text{DMSO})(\text{FQ})]^+$, enquanto que para o complexo **III** obteve-se um aduto com o solvente acetonitrila, $[\text{PtCl}(\text{DMSO})(\text{FQ})]^+ \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (HENDERSON, MCLNDOE, 2005; DOLEŽEL, KUBÁŇ, 2002). Na Figura 26, é possível avaliar o espectro obtido para o complexo **IV**, no qual o pico de maior intensidade apresenta um valor de m/z igual a 700,1135, sendo que o valor calculado para $[\text{Pt}(\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{F}_2\text{O}_3)(\text{C}_2\text{H}_6\text{SO})\text{Cl}]^+$ é 700,1130 (Δ 0,71 ppm). Além disso, é possível observar um pico em 393,1732 $[\text{L}+\text{H}]^+$, que é atribuído ao ligante protonado (calculado para $[\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{F}_2\text{O}_3\text{H}]^+$ 393,1733 (Δ -0,25 ppm)). Os valores de m/z das principais espécies carregadas, observadas nos espectros de massas dos complexos **II**, **III** e **IV** podem ser verificados na Tabela 8.

Figura 26-Espectro de massas em alta resolução para o complexo **IV** ou $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Outro pico que pode ser encontrado, como exemplo no espectro do complexo **IV**, é o que se refere a 701,1167. Propõe-se que este pico seja evidenciado devido a espécie $[\text{M}-\text{Cl}+\text{H}]^+$ (701,1214), ou seja, a espécie relatada no pico anterior, mas com a redução da platina e

concomitante protonação. Complexos com a redução metálica em experimentos de espectrometria de massas já foram reportados na literatura por Maia *et al.*, assim como a redução evidenciada por voltametria cíclica de alguns complexos de paládio e um de platina foi relatada por Kovala-Demertzi *et al.* o que torna factível a espécie proposta (MAIA *et al.*, 2012; MAIA *et al.*, 2017; KOVALA-DEMERTZI *et al.*, 1997; KOVALA-DEMERTZI *et al.*, 1999).

Tabela 8-Valores de m/z experimentais e teóricos obtidos na espectrometria de massas para os complexos **II**, **III** e **IV**.

Complexo	Espécie carregada	m/z experimental	m/z teórico	Erro (ppm)
II	$[M-Cl]^+$	669,0907	669,0913	-0,90
[Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl	$[OFL+H]^+$	362,1517	362,1511	1,66
	$[M-Cl+H]^+$	670,0945	670,0992	-7,01
III	$[M-Cl]^+$	680,1066	680,1068	-0,29
[Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl	$[CPL+H]^+$	332,1395	332,1405	-3,01
	$[M-Cl+H]^+$	681,1146	681,1152	-0,88
IV	$[M-Cl]^+$	700,1135	700,1130	0,71
[Pt(SPF)(DMSO)Cl]Cl	$[SPF+H]^+$	393,1732	393,1733	-0,25
	$[M-Cl+H]^+$	701,1167	701,1214	-6,70

Fonte: Dados da Pesquisa.

4.7. Ressonância Magnética Nuclear

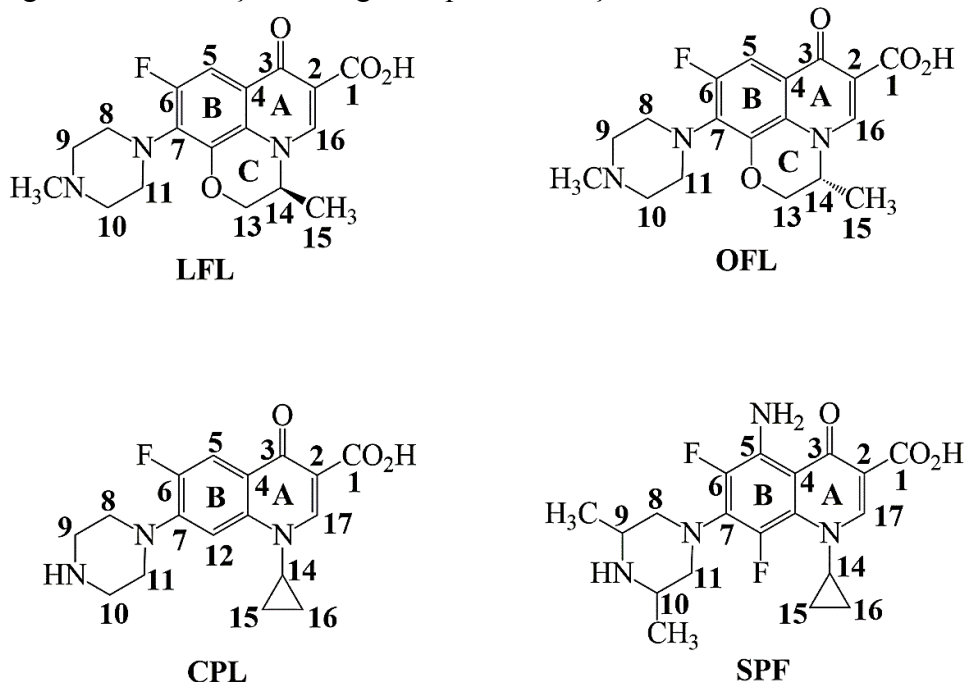
4.7.1. RMN de 1H

Os espectros de RMN de 1H para os complexos **I-VI** foram obtidos em DMSO- d_6 . A Figura 27 mostra a numeração nos ligantes, de acordo com os quais serão avaliados os espectros de RMN. É válido ressaltar que os sinais dos ligantes foram atribuídos mediante dados da literatura (HERMECZ *et al.*, 1998; HOLZGRABE, BRANCH, 1994; SALEM, MOSSA, BARSOUM, 2005; ZIEBA, MAŚLANKIEWICZ, SITKOWSKI, 2004). É possível avaliar que os complexos de paládio sofrem certa solvólise nas condições em que esta análise foi realizada.

Como pode ser verificado a partir dos resultados de RMN, os hidrogênios dos anéis A e B não sofrem deslocamento significativo quando se compara ligantes e complexos, assim como aqueles hidrogênios referentes ao anel C do ligante ofloxacina e do anel ciclopropílico

dos ligantes CPL e SPF, e o hidrogênio do grupo CO_2H dos complexos **II** e **VI** com relação ao seu respectivo ligante. Por sua vez, os hidrogênios ligados aos carbonos do anel piperazínico sofrem um pequeno deslocamento, que pode ser explicado devido a coordenação das fluoroquinolonas via átomos de nitrogênio do anel piperazínico. Outros fatores que corroboram com esta proposição são: a) Nos complexos **I**, **II** e **VI**, observa-se o deslocamento do grupo metila ligado a um dos nitrogênios piperazínicos com relação a seu respectivo ligante (Tabela 9); b) Nos complexos **III** e **V** há um pico atribuído ao hidrogênio ligado diretamente ao nitrogênio piperazínico, que não pode ser visualizado no ligante CPL livre como pode ser analisado nas Figuras 28, 29 e 30; c) No complexo **IV** o pico referente ao hidrogênio do grupo NH encontra-se bem deslocado com relação ao pico atribuído a este mesmo grupo no ligante livre.

Figura 27-Numeração dos ligantes para atribuição dos sinais do RMN de ^1H .

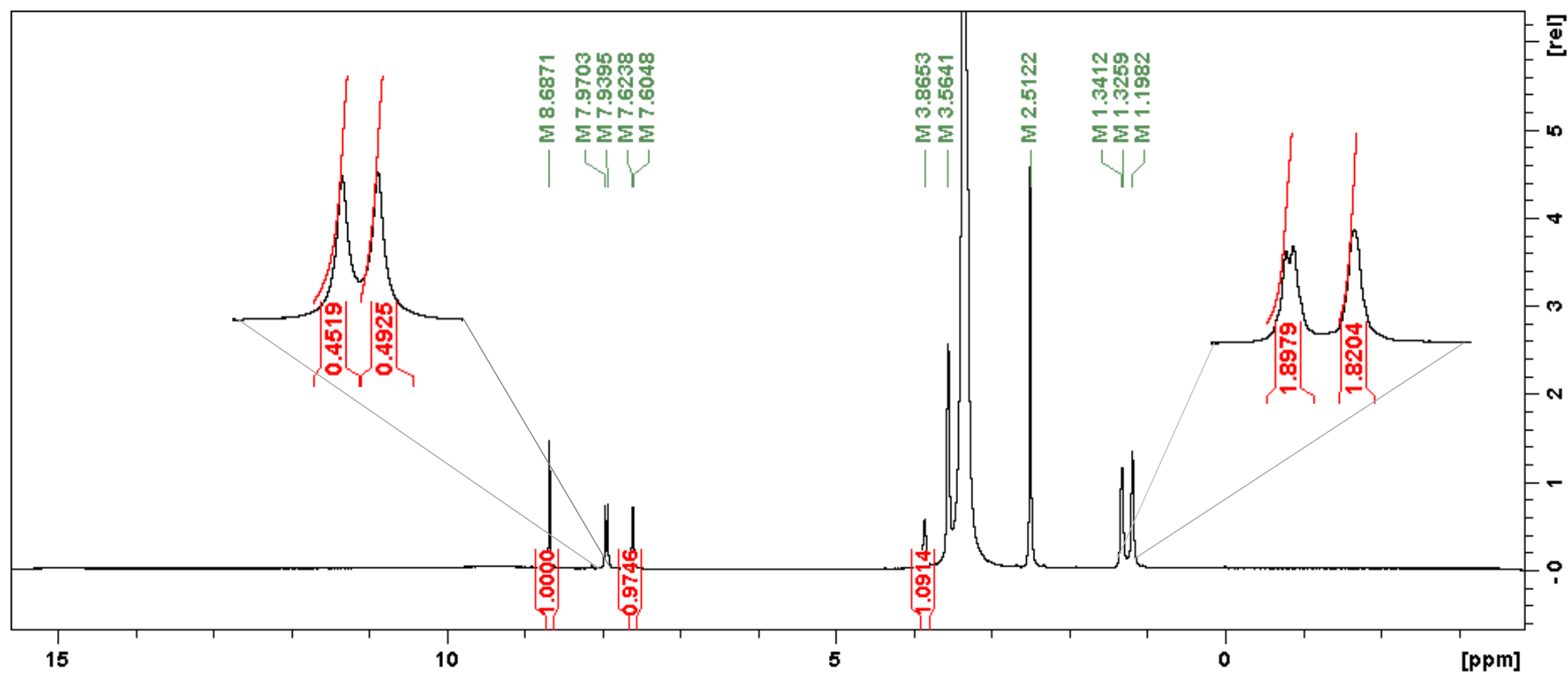


Fonte: A Autora.

Tabela 9-Deslocamentos químicos em ppm no RMN de ^1H para os complexos e seus respectivos ligantes.

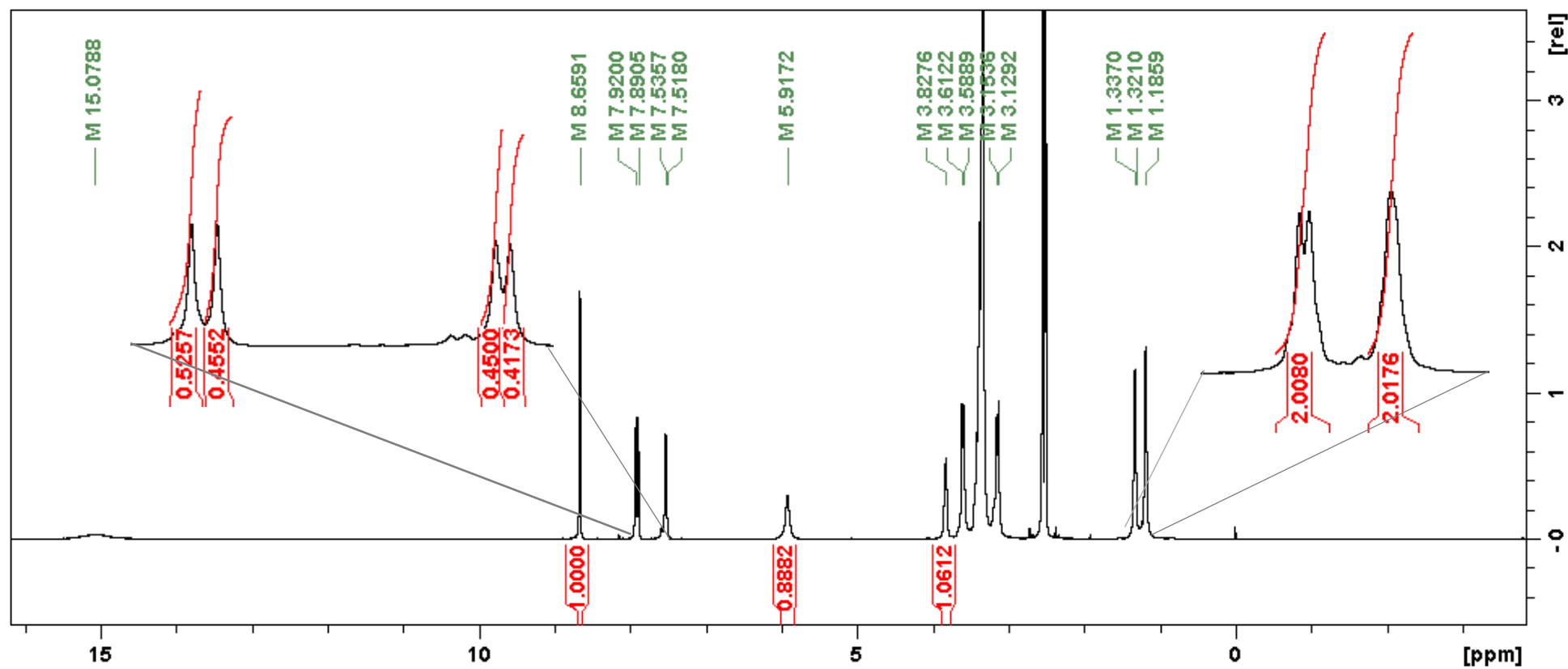
Composto	H1	H5	H8-H11	CH ₃ - H9,H10	CH ₃ -N	NH	H12	H13	H14	H15	H16	H17
LFL	-	7,53	2,44-3,29	-	2,23	-	-	4,92/4,59	4,37	1,46	8,95	-
I	15,12	7,63	2,51-3,34	-	2,87	-	-	4,95/4,62	4,42	1,47	9,0	-
OFL	15,2	7,59	2,45-3,33	-	2,24	-	-	4,92/4,59	4,38	1,45	8,98	-
II	15,2	7,58	3,32-3,34	-	2,33	-	-	4,92/4,59	4,38	1,46	8,9	-
VI	15,2	7,58	2,51-3,39	-	2,78	-	-	4,93/4,60	-	1,46	8,97	-
CPL	-	7,96	3,37-3,56	-	-	-	7,61	-	3,87	1,34	1,20	8,69
III	15,1	7,91	3,15-3,60	-	-	5,92	7,53	-	3,82	1,33	1,18	8,65
V	15,2	7,90	3,13-3,55	-	-	5,41	7,51	-	3,82?	1,33	1,18	8,65
SPF	-	-	2,72-3,35	0,98	-	4,02	-	-	1,09	1,09	1,09	8,50
IV	-	-	3,24-3,97	1,28	-	5,44	-	-	1,15	1,15	1,15	8,40

Fonte: Dados da Pesquisa.

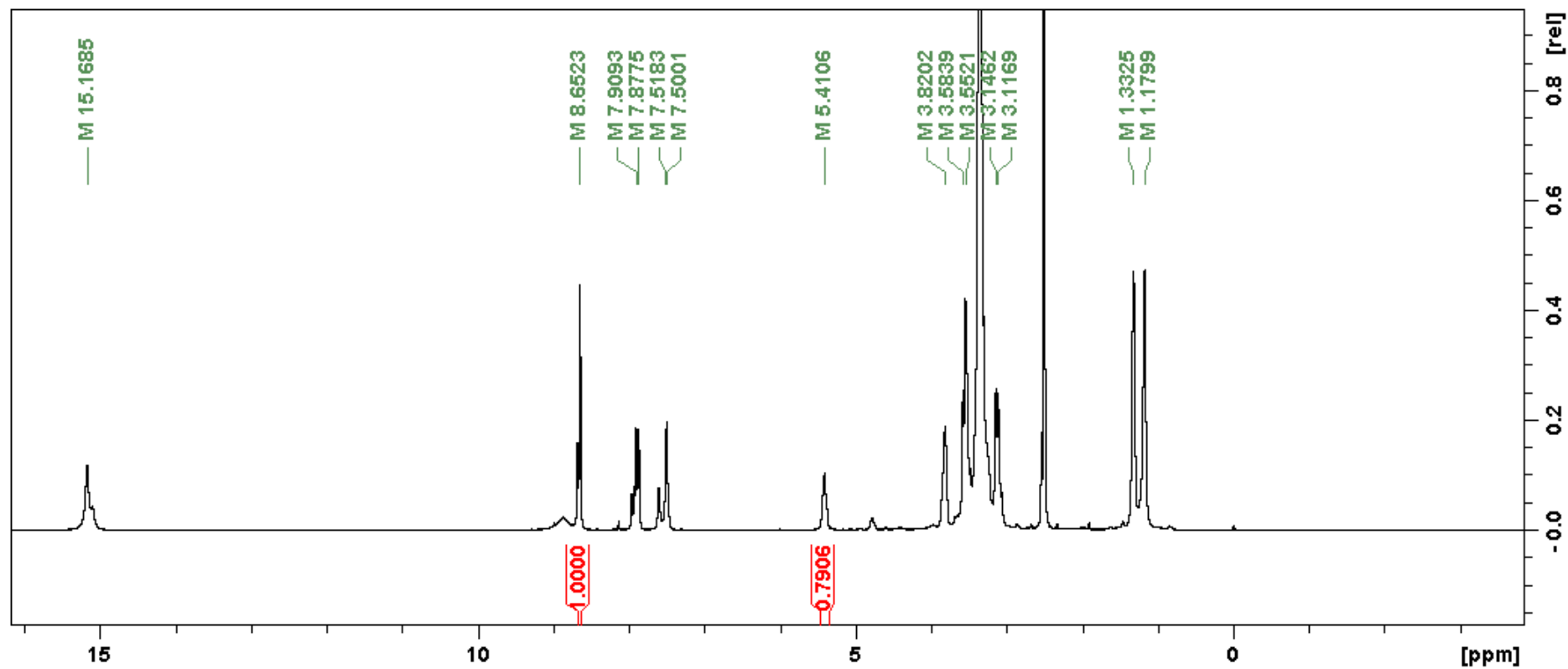
Figura 28-Espectro de RMN ^1H para o ligante CPL

Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 29-Espectro de RMN de ^1H para o complexo **III** ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

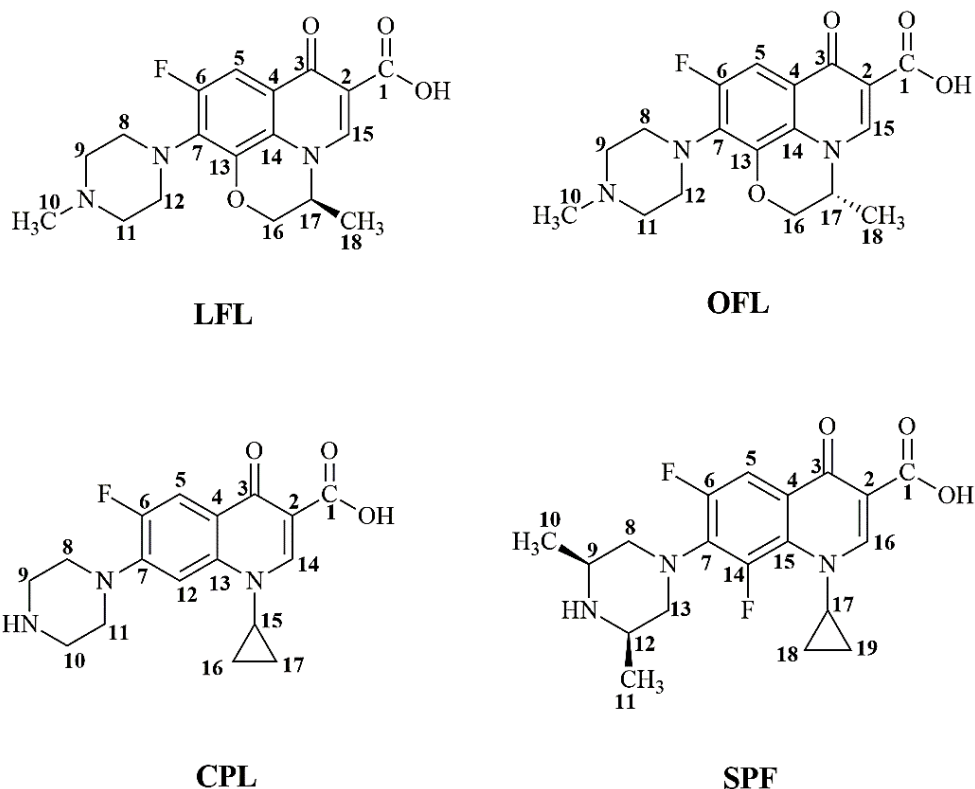
Figura 30-Espectro de RMN de ^1H para o complexo V ou $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$.

Fonte: Dados da Pesquisa.

4.7.2. RMN de ^{13}C

O RMN de ^{13}C desacoplado foi realizado e na Tabela 10 é possível verificar os sinais dos carbonos atribuídos conforme numeração dos ligantes na Figura 31. Os sinais dos ligantes foram atribuídos conforme literatura (HOLZGRABE, BRANCH, 1994; CHAO *et al.*, 2004; GOUVEA, 2013; ZIEBA, MAŚLANKIEWICZ, SITKOWSKI, 2004; GOUVEA *et al.*, 2012).

Figura 31-Numeração dos ligantes para atribuição dos sinais do RMN de ^{13}C .



Fonte: A Autora.

Os sinais referentes aos carbonos carbonílico e cetônico, C1 e C3 respectivamente, não sofrem deslocamento significativo em nenhum dos complexos, Tabela 10, o que seria esperado se a coordenação ocorresse via átomos de oxigênio. Assim, os deslocamentos mais significativos são devido aos carbonos do anel piperazínico e do grupo metil ligado ao nitrogênio distal do anel piperazínico, complexo **I** e **VI**, o que corrobora com o modo de coordenação proposto (GOUVEA, 2013).

O modo de coordenação proposto para os compostos de paládio(II) por Vieira *et al.* é via átomos de oxigênio das fluoroquinolonas. Entretanto o modo de coordenação aqui mencionado, coordenação via N,N não é inédito na literatura, uma vez que já foi relatado por Al-Khodir e Refat um complexo de Pd^{2+} com levofloxacinina com modo de coordenação igual

ao proposto neste trabalho (VIEIRA *et al.*, 2009b; AL-KHODIR, REFAT, 2005). É possível que pequenas modificações na síntese como temperatura, pH, solvente, entre outros fatores, possam conduzir a esta mudança no sítio de coordenação.

Tabela 10- Deslocamentos químicos no RMN de ^{13}C para os complexos e seus respectivos ligantes

Composto	δ (ppm)																
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17/C18
LFL	166,5	107,1	176,8	120,0	103,7	154,7	132,5	55,28	50,56	46,53	55,28	50,56	140,6	125,2	146,6	68,5	55,7/18,4
I	166,6	107,4	176,9	121,1	103,7	154,6	130,9	53,72	47,66	42,92	53,72	47,66	141,2	125,2	146,9	68,8	55,3/18,4
OFL	166,6	107,2	176,8	120,2	104,0	154,8	132,5	50,58	50,55	46,51	50,58	50,55	140,8	125,5	146,8	68,6	55,8/18,6
II	166,5	107,1	176,9	120,2	103,7	154,7	132,3	50,23	46,1	-	50,23	46,1	140,7	125,3	146,7	68,5	55,4/18,4
VI	166,7	107,3	176,9	120,5	103,8	154,6	132,0	51,48	49,70	45,27	51,48	49,70	140,6	125,4	146,9	68,6	55,3/18,4
CPL	166,3	107,4	176,9	119,8	111,7	152,1	144,7	46,84	42,98	42,98	46,84	107,32	138,6	148,7	36,5	8,10	-
III	166,4	107,2	176,8	119,3	111,6	152,1	144,9	51,05	49,73	49,12	50,66	106,73	139,6	148,6	36,4	8,08	-
V	166,4	107,2	176,9	119,3	111,6	152,1	144,9	46,95	43,19	49,47	46,90	106,73	139,7	148,6	36,4	8,10	-
SPF	166,0	150,5	180,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	166,5	151,8	180,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Dados da Pesquisa.

4.7.3. RMN de ^{195}Pt

Foi realizada a análise do RMN de ^{195}Pt para todos os complexos de platina em DMSO- d_6 . Esta análise proporciona uma caracterização eficaz no que diz respeito à esfera de coordenação ao redor da platina, uma vez que este metal possui particular sensibilidade às mudanças de estado de oxidação, substituição dos ligantes e na estereoquímica ao redor do íon metálico. Os valores de deslocamento químico obtidos nesta análise para os complexos aqui estudados se encontram na Tabela 11 (STILL, 2007).

Tabela 11-Deslocamentos químicos no RMN de ^{195}Pt para os complexos de **I** a **IV**.

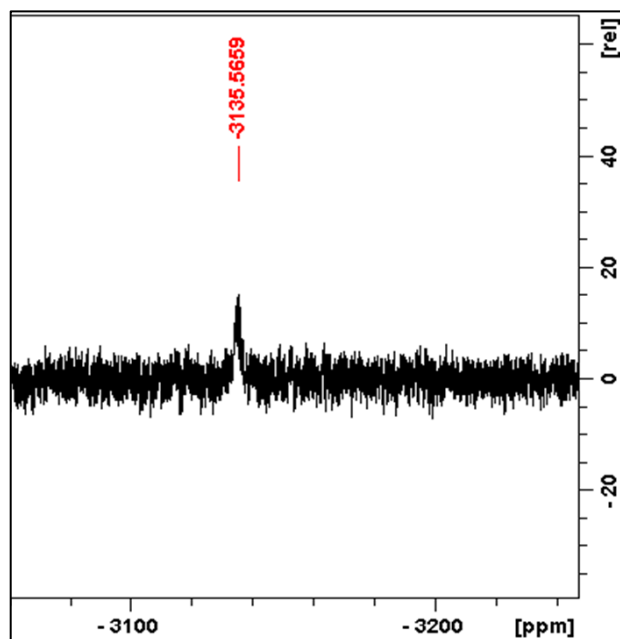
Composto	$\delta(\text{ppm})$
I ou $[\text{Pt}(\text{LFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	-2949
II ou $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	-2949
III ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	-3135 (Figura 32)
IV ou $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$	-2880

Fonte: Dados da Pesquisa

Considerando as esferas de coordenação mais prováveis, PtO_2SCl ou PtN_2SCl , já mencionadas para as fluoroquinolonas é possível avaliar o modo de coordenação utilizando dados pré-existentes (REIS, 2014). Assim Priqueler *et al.* em uma revisão sobre RMN de ^{195}Pt relata que a esfera PtO_2SCl gera um sinal por volta de -2400 ppm, sendo o complexo citado avaliado em clorofórmio e metanol deuterados. Quanto a esfera de coordenação do tipo PtN_2SCl há relatos de complexos gerando sinais entre -2890 e -3185 ppm, faixa na qual tanto ligantes nitrogenados monodentados quanto bidentados são considerados. Como exemplo o complexo $\text{Pt}(2,3\text{-dat})\text{Cl}_2$, onde 2,3-dat é o ligante 2,3-diaminotolueno, sofre solvólise em que um clorido é substituído por DMSO ligado via átomo de enxofre, e a espécie proveniente da solvólise gera um sinal em -3181 ppm no RMN de ^{195}Pt . Ackley *et al.* também avaliaram complexos do tipo PtN_2SCl com ligante 1,2-etanodiamino e ligantes do tipo tioureia, que geraram sinais próximos a -2900 ppm (PRIQUELER *et al.*, 2006; PASCALI *et al.*, 2005; PÉREZ-CABRÉ *et al.*, 2004; ACKLEY *et al.*, 2004).

Há então grande diferença de deslocamento no RMN de ^{195}Pt gerados pelas duas possíveis esferas de coordenação. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, é possível inferir que as fluoroquinolonas coordenam-se de maneira bidentada via átomos de nitrogênio do anel piperazínico, pois os valores obtidos estão de acordo com aqueles reportados para a esfera de coordenação do tipo PtN_2SCl .

Figura 32- RMN de ^{195}Pt para o complexo **III**, $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, em DMSO-d_6 .



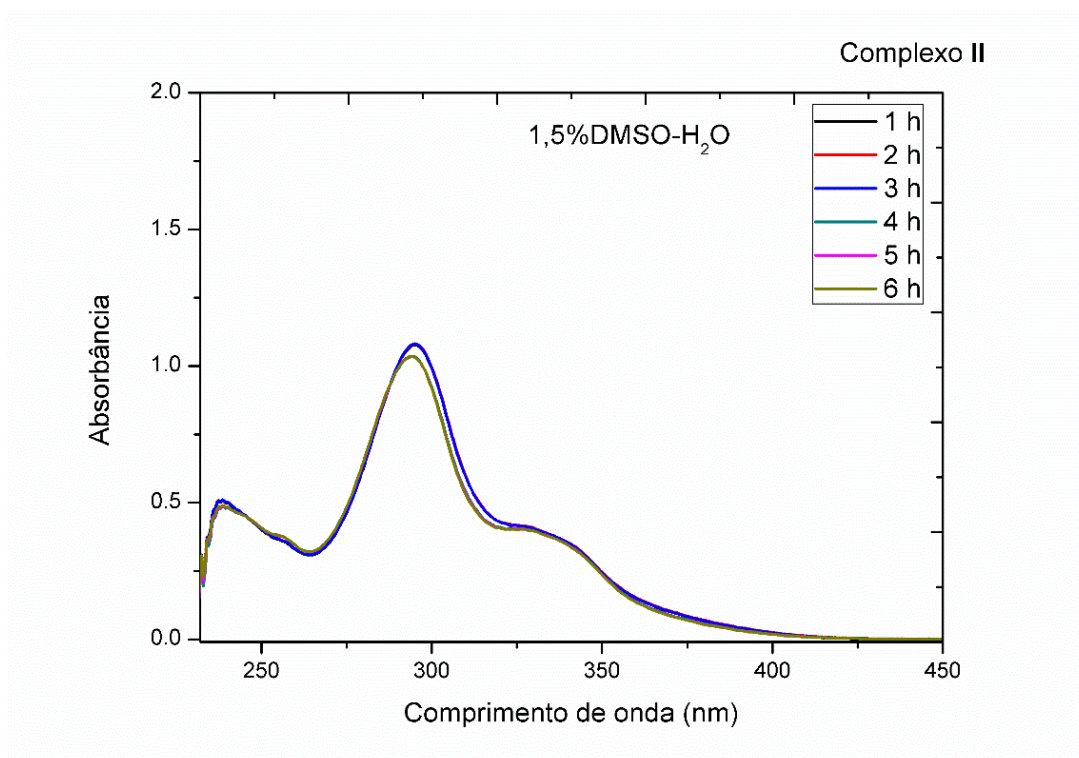
Fonte: Dados da Pesquisa.

4.8. Estudos de estabilidade

É importante avaliar a estabilidade dos complexos antes de proceder aos ensaios de atividade biológica, uma vez que por meio destes estudos pode-se verificar se os complexos mantêm suas estruturas intactas. Dessa forma a estabilidade de alguns complexos foi avaliada por meio da técnica UV-Vis em solução aquosa com 1,5% de DMSO, com exceção do complexo **III**, $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, para o qual foi utilizada uma solução tamponada com 1,5% de DMSO para evitar a precipitação.

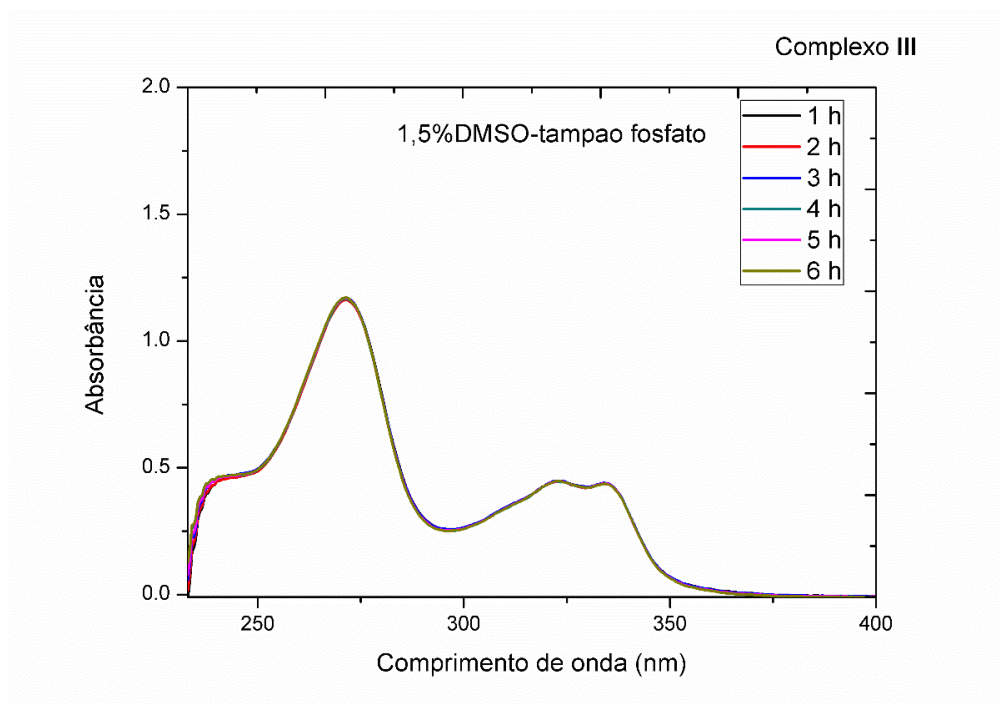
Como pode ser verificado nas Figuras 33, 34 e 35, as análises realizadas para os complexos **II**, **III** e **V** não resultaram em nenhuma mudança significativa nos espectros na região do UV-Vis durante o tempo em que foram realizadas. É possível inferir a partir de tais resultados, que nas condições mencionadas os complexos são estáveis.

Figura 33-Estudo de estabilidade do complexo **II**, [Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl, por espectrofotometria UV-Vis.



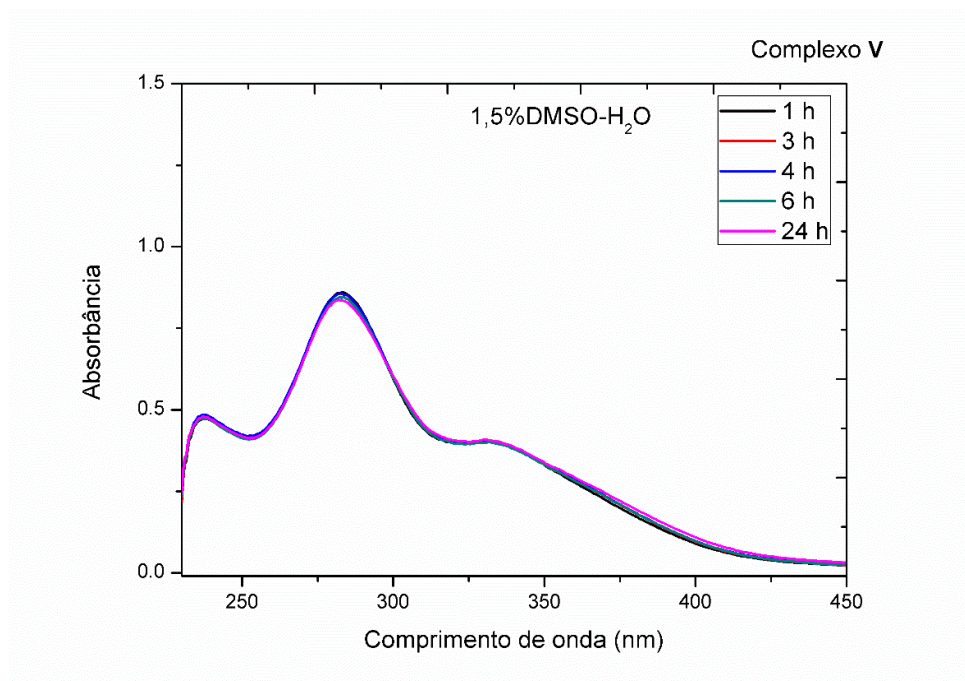
Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 34-Estudo de estabilidade do complexo **III**, [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl, por espectrofotometria UV-Vis.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 35-Estudo de estabilidade do complexo V, $[\text{Pd}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$, por espectrofotometria UV-Vis.



Fonte: Dados da Pesquisa.

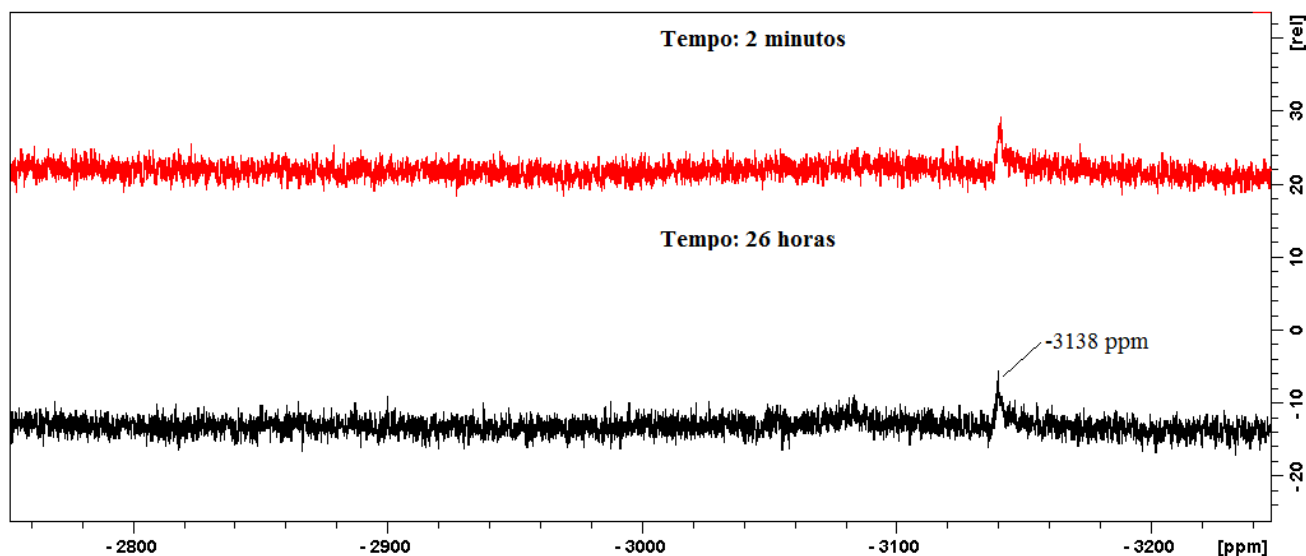
Há um vasto conhecimento acerca da solvólise de complexos de platina, principalmente no que diz respeito à dissolução destes compostos em dimetilsulfóxido. Um dos ligantes da esfera de coordenação da platina pode ser trocado por um solvente dimetilsulfóxido, o que resulta em uma nova espécie (MA *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2001). Sendo assim foi realizado um estudo apenas em DMSO por meio da técnica RMN de ^{195}Pt .

Os resultados obtidos para os complexos deste trabalho demonstram que estes não sofrem o processo de solvólise durante o tempo de análise, pois não há aparecimento de nenhum outro pico além daqueles já mencionados para estes compostos, como observa-se para o complexo **III**, $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, na Figura 36. Um fato interessante é que analisando um dos complexos de platina reportados por Vieira *et al.*, mais especificamente o complexo $[\text{Pt}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$, os resultados de análise de RMN de ^{195}Pt por aproximadamente 26 horas mostraram que há o aparecimento de outro pico além daquele citado pelos autores que o analisaram em DMF- d_7 , sendo o espectro gerado a partir da análise em DMSO- d_6 e verificado na Figura 37. Este novo pico encontra-se em valor bem próximo ao aqui relatado para o complexo $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$. A conclusão que pode ser tirada deste estudo é que o

complexo $[\text{Pt}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$ devido ao processo de solvólise, gera o complexo de platina com a ciprofloxacina e DMSO aqui relatado.

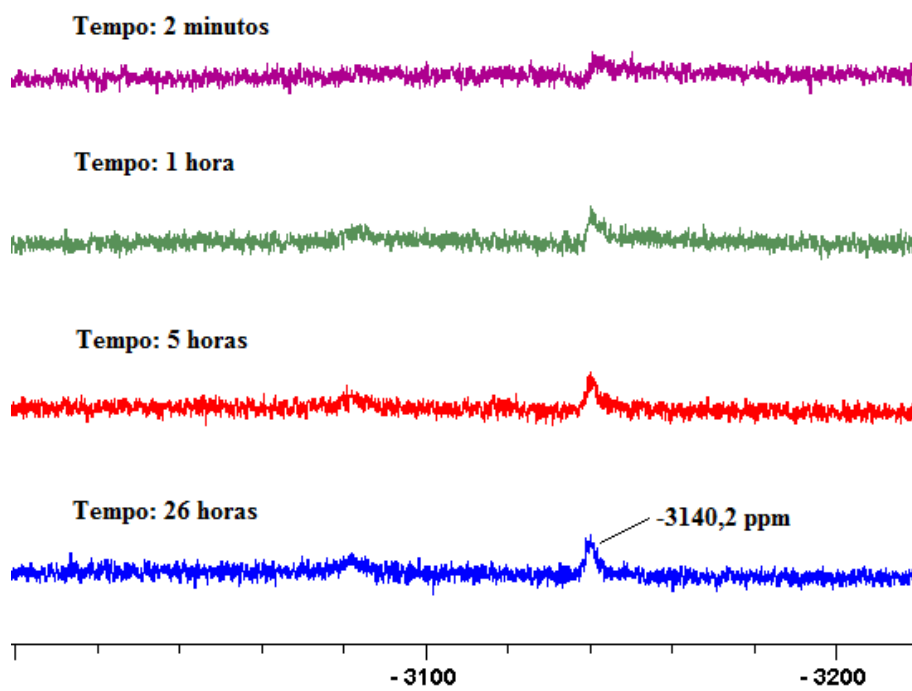
Entretanto, tanto o ligante clorido quanto DMSO são bons grupos abandonadores e no meio biológico podem não estar coordenados, acarretando no fato de que a espécie ativa seja $[\text{Pt}(\text{FQ})]^{2+}$.

Figura 36-Estabilidade por RMN ^{195}Pt do complexo **III** ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 37-Estudo de solvólise do complexo $[\text{Pt}(\text{CPL})\text{Cl}_2]$ por RMN de ^{195}Pt .



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.9. Estudos biológicos

4.9.1. Atividade antitumoral

A atividade antitumoral dos complexos **II**, **III** e **IV** ([Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl, [Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl e [Pt(SPF)(DMSO)Cl]Cl, respectivamente) e da cisplatina como padrão, foi avaliada nas linhagens MCF-10, MCF-7 e MDA-MB-231, conforme Tabela 12. A primeira linhagem MCF-10, refere-se a células epiteliais mamárias saudáveis, a linhagem MCF-7 refere-se a células tumorais muito utilizadas em testes de citotoxicidade *in vitro*, pois possuem algumas características do epitélio mamário mantidas, e por fim, MDA-MB-231 que é definida como células de câncer de mama triplo negativa. As células MDA-MB-231 são caracterizadas por sua versatilidade morfológica e patológica, ou seja, possui certa variação quanto a aparência ou configuração, e também na progressão da doença em si. Com esta variabilidade patológica, este subtipo de célula tumoral apresenta-se de forma mais agressiva, com alta capacidade metastática e geralmente se tem prognósticos desfavoráveis em contraste a outros subtipos de câncer. Por todas estas características encontra-se usualmente associado a uma alta mortalidade.

Neste trabalho, os valores obtidos de IC₅₀ referem-se à concentração necessária para inibição de 50% do crescimento celular, CC₅₀ é a concentração requerida para causar a morte de 50% das células viáveis, e o SI é o índice de seletividade que é obtido a partir da razão entre CC₅₀ e IC₅₀, sendo considerado significativo um valor de SI ≥ 2 (BADISHA *et al.*, 2009).

Tabela 12-Atividade antitumoral(IC₅₀) e citotoxicidade(CC₅₀) dos complexos e seus ligantes.

Composto	Células tumorais IC₅₀ MCF-7 (μM)	Células tumorais IC₅₀ MDA-MB-231 (μM)	Células não tumorais CC₅₀ (μM)	SI MCF-7	SI MDA-MB231
OFL	222,4	179,2	212,6	0,9	1,1
II	144,8	149,8	227,3	1,5	1,5
CPL	168,1	141,0	150,5	0,9	1,0
III	180,4	161,5	300,1	1,6	1,8
SPF	206,2	169,2	209,7	1,0	1,2

IV	17,3	15,3	135,9	7,8	8,8
Cisplatina	56,6	75,9	82,4	1,4	1,0

Fonte: Dados da pesquisa.

Para a linha celular MCF-7 a ordem de atividade citotóxica é: **IV**> cisplatina> **II**> CPL> **III**> SPF> OFL. A primeira conclusão factível é que os ligantes fluoroquinolonas apresentaram baixa atividade antitumoral, da mesma forma que os complexos **II** e **III**. O único complexo a mostrar atividade nesta linhagem foi o complexo **IV**, que na verdade demonstrou alta atividade, uma vez que é aproximadamente 12 vezes mais ativo que seu ligante livre (esparfloxacina), além de ser 3,3 vezes mais ativo que a cisplatina. Não menos importante, o complexo apresentou uma boa seletividade, sendo mais seletivo que a cisplatina, que é o fármaco recomendado em pelo menos 50% dos regimes quimioterápicos (SILVA, VARGAS, 2012).

Quanto a linha celular MDA-MB-231 percebe-se que há um padrão semelhante à outra linhagem, mas neste caso a ordem de atividade é: **IV**> cisplatina> CPL> **II**> **III**> SPF> OFL, invertendo apenas a ordem com relação ao complexo **II** e seu respectivo ligante. Há um padrão análogo de atividade, porém o complexo **IV** apresentou-se um pouco mais ativo nesta linhagem, resultando em uma seletividade próximo a 9.

Considerando a atividade e a seletividade do complexo **IV**, especialmente no que diz respeito às células MDA-MB-231, por serem células mais agressivas e que possuem caráter metastático, a continuidade dos estudos com este composto possui alta probabilidade, e assim se teve interesse em realizar a determinação do modo de morte celular para os três complexos estudados.

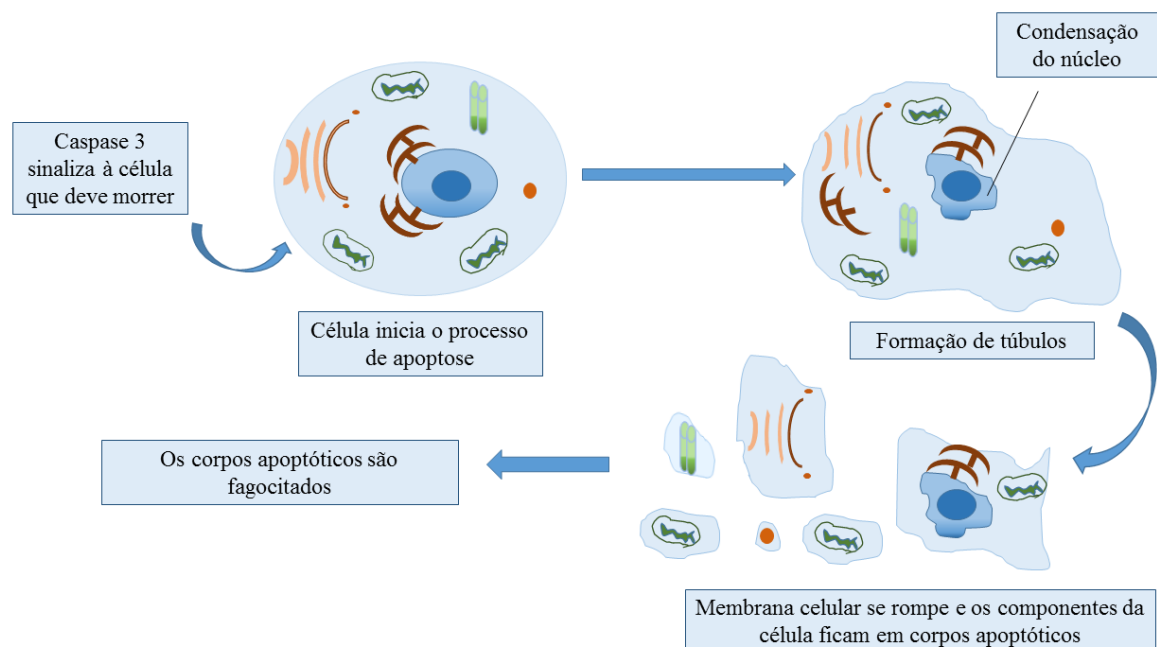
4.9.2. Determinação do modo de morte celular

Neste ponto o objetivo é avaliar se os compostos **II**, **III** e **IV** induzem a morte celular por apoptose, uma vez que o processo apoptótico é preferível a outros possíveis processos, como a necrose por exemplo, haja visto que neste último se tem um intenso processo infeccioso, enquanto que com a apoptose o processo inflamatório ocorre em menor extensão (PALMA, 2005). Para tanto faz-se necessário algumas informações antes da análise dos resultados.

A apoptose refere-se a morte celular programada que envolve uma sequência de eventos moleculares e bioquímicos específicos, além de ser dependente de energia. Resumidamente, este processo tem início com proteases denominadas caspases, que podem reconhecer em seu sítio ativo substratos com resíduos de aspartato. A ativação destas proteases pode ocorrer por

meio de receptores localizados na membrana celular, nomeados como receptores da morte, ou podem ainda ser ativadas por estímulos internos de estresse celular, como é o caso de lesão no DNA. Estas caspases sinalizam para apoptose, e com esta se tem a retração celular com perda de aderência às células vizinhas, provocando a condensação da cromatina, onde está contido o material genético que se aglomera junto a membrana nuclear, tendo permanecido intacta até este ponto. A membrana celular começa a se prolongar formando túbulos e o núcleo se dissocia formando fragmentos envoltos por tal membrana. Estes prolongamentos aumentam até seu rompimento, originando estruturas com conteúdo celular, que são designados por corpos apoptóticos, conforme verifica-se na Figura 38. As caspases são responsáveis por externalizar fosfolipídios de membrana que por sua vez sinalizam para que estes corpos apoptóticos sejam fagocitados por macrófagos, sem causar nenhuma ou pouca resposta inflamatória. É válido ressaltar que no processo de apoptose ocorre também a fragmentação internucleossômica do DNA, a partir da ativação de uma endonuclease, que é uma enzima com capacidade de clivar nucleotídeos não terminais, o que é obtido no DNA (GRIVICICH *et al.*, 2007; LUCHS, PANTALEÃO, 2010).

Figura 38-Etapas da apoptose.



Fonte: A autora.

A membrana plasmática é constituída por uma bicamada lipídica basicamente constituída de fosfolípidos. No processo apoptótico há perda assimétrica desta bicamada, o que leva a uma externalização da fosfatidilserina para a superfície celular. Esta é uma

sinalização que ocorre antes que a membrana celular seja totalmente desintegrada e para que se tenha a fagocitose pelos macrófagos. (VIEIRA, 2011)

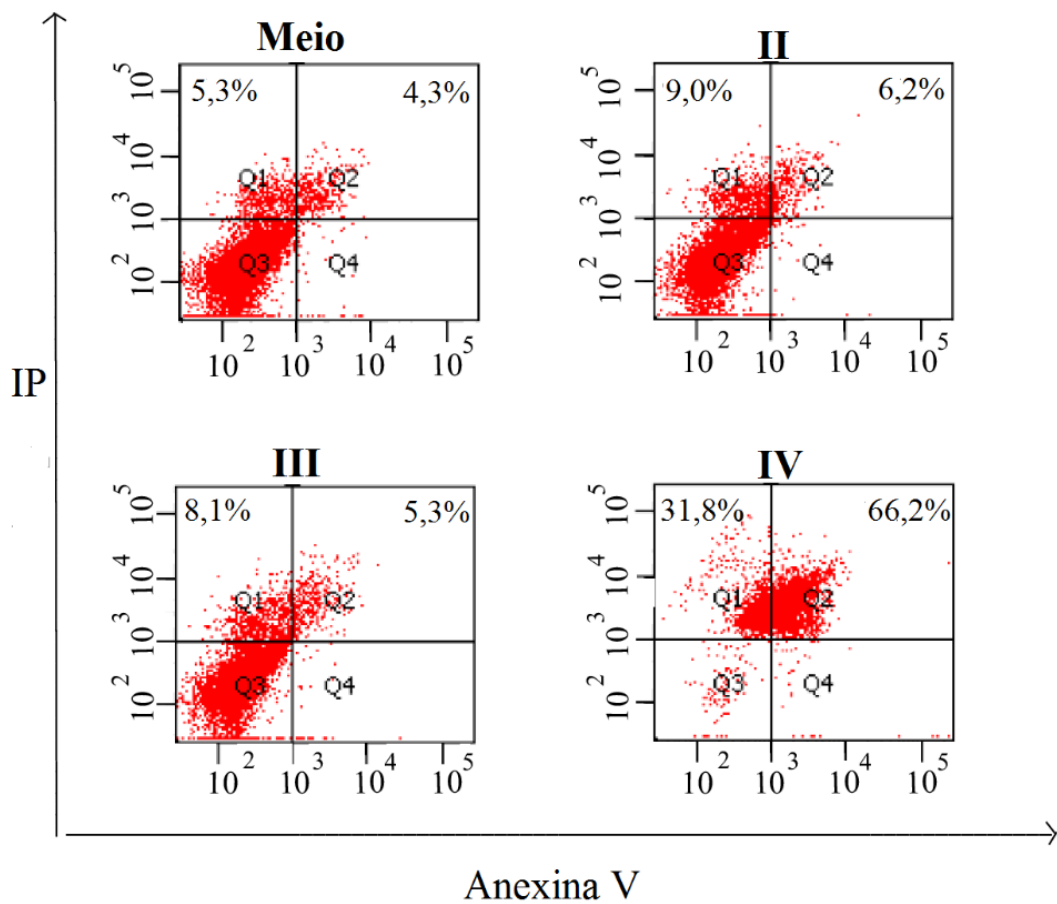
Neste estudo fez-se uso de anexina-V conjugada a isotiocianato de fluoresceína (FTIC). A anexina-V foi utilizada porque essa se liga preferencialmente à parte negativamente carregada dos fosfolípidos, uma vez que estes são compostos por uma região apolar (glicerídeo) e uma região polarizada (grupo fosfato). Já o FTIC permite a identificação por meio de citometria de fluxo das células apoptóticas. Na citometria de fluxo promove-se a medida e dispersão de um feixe de laser refletido por determinada amostra celular. Este tipo de análise é realizada de acordo com o fluorocromo utilizado. Quanto a utilização simultânea de iodeto de propídio (IP), que é um marcador nuclear fluorescente, pretende-se analisar variações no núcleo que são observadas nas etapas de apoptose tardia. (PALMA, 2005).

Avaliando cada etapa e sua devida marcação com um dos indicadores é possível verificar que: Ocorre marcação Anexina(+) e IP(-) se a apoptose ocorre precocemente, pois a exposição da fosfatidilserina ocorre antes do comprometimento da membrana celular. Se a identificação ocorre com marcação de Anexina(+) e IP(+), tem-se um processo de apoptose tardia, isto porque além da externalização da fosfatidilserina há também alterações na membrana plasmática que permitem a permeabilidade de moléculas de peso molecular mais elevado como o iodeto de propídio, o que não acontece se a membrana plasmática estiver intacta. Mas se o que ocorre é a necrose, o resultado obtido é Anexina(-) e IP(+), uma vez que este evento ocorre mais rapidamente de forma que não há exposição de fosfatidilserina, porém há a alteração na membrana plasmática e consequente mudança de sua permeabilidade, permitindo a entrada do iodeto de propídio. Sendo assim obtém-se quatro quadrantes possíveis na análise do possível tipo de morte celular, onde: Quadrante superior esquerdo (Q1), relativo à células que sofrem necrose ou morrem por outra via, que não por apoptose, resultando em marcação Anexina(-) e IP(+); Quadrante superior direito (Q2), concernente a apoptose tardia repercutindo em marcação Anexina(+) e IP(+); Quadrante inferior esquerdo (Q3) que refere-se às células viáveis com marcação Anexina(-) e IP(-); e por fim quadrante inferior direito (Q4) que equivale a células em processo inicial de apoptose, com marcação Anexina(+) e IP(-).

Com todas estas informações é possível então analisar os resultados obtidos para os complexos **II**, **III** e **IV**. Analisando a Figura 39 o resultado mais claro é que os complexos **II** e **III** geram a mesma distribuição nos quadrantes que o padrão negativo, ou seja, não são capazes de induzir a morte das células tumorigênicas, como já foi indicado com a atividade destes compostos. Por sua vez, para o complexo **IV** (50 μ M por 48 horas) obteve-se a morte de quase

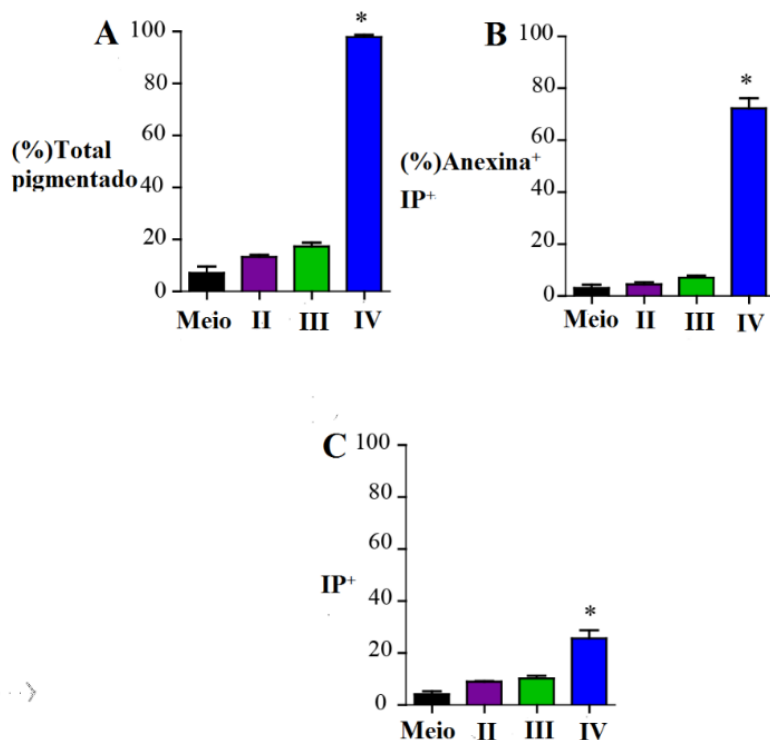
todas as células tumorigênicas, conforme pode ser observado na Figura 40A. De acordo com a Figura 40B aproximadamente 70% das células da linhagem analisada sofrem apoptose tardia devido a marcação Anexina(+) e IP(+) e “tingimento” dos quadrante Q2 na Figura 39. Outra análise exequível é que em torno de 30% das células tumorais não morrem por via apoptótica, pois como não há marcação positiva para Anexina, somente para IP (Figura 40C), não há externalização da fosfatidilserina.

Figura 39-Representação das células de câncer de mama tratadas com anexina V e iodeto de propídio, sendo a medição realizada por citometria de fluxo.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 40-A- Porcentagem de células tingidas após tratamento. 40B- Porcentagem de células duplo positivo por Anexina e iodeto de propídio. 40C- Porcentagem de células negativo para Anexina e positivo para iodeto de propídio.



Fonte: Dados de Pesquisa.

4.9.3. Atividade anti-TB

Os complexos **II**, **III** e **IV**, assim como seus respectivos ligantes e vários fármacos padrão foram avaliados contra a linhagem sensível MTB H37Rv (ATCC 27294). Os resultados estão dispostos na Tabela 13. Esta linhagem responde mais facilmente aos medicamentos utilizados no tratamento da tuberculose, por isto é sensível. Conforme o esperado, os fármacos de referência de primeira linha apresentam extraordinária atividade e por isto são tão bem empregadas no tratamento da tuberculose. Os fármacos de segunda linha perdem um pouco em atividade com relação aos primeiros, mas ainda assim têm alta atividade. As fluoroquinolonas também apresentam surpreendente atividade, muitas vezes comparável aos medicamentos de primeira linha.

Analisando os resultados obtidos para os complexos, verifica-se que apresentam também notável atividade. A ordem de atividade obtida para complexos e ligantes é: SPF > **IV** > CPL > **III** > **II** > OFL. Estabelecida esta ordem é possível verificar que o complexo **IV** é o mais

ativo dentre os três, sendo também mais ativo que a estreptomicina e amicacina. Além disto, todos os complexos são mais ativos que o antibiótico ofloxacina (OFL).

É interessante notar que os complexos aqui propostos apresentam atividade semelhante aos complexos $[\text{Pt}(\text{Fluoroquinolona})\text{Cl}_2]$ descritos por Vieira *et al.*, utilizando método de análise semelhante. Estes complexos foram reportados como tendo excelente atividade anti-TB com valores de MIC entre 0,31 e 1,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Uma possível explicação para esta similaridade é que ambos os tipos de complexos geram a mesma espécie ativa, $[\text{Pt}(\text{Fluoroquinolona})]^{2+}$, uma vez que os ligantes DMSO e Cl^- são bons grupos abandonadores, conforme discutido anteriormente (VIEIRA *et al.*, 2009a; VIEIRA *et al.*, 2009b).

Tabela 13-Valores de MIC contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv para os complexos, seus ligantes e fármacos padrão usando ensaio de microtitulação por Resazurina.

Composto	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC (μM)
OFL	$0,697 \pm 0,036$	$1,928 \pm 0,104$
II /[Pt(OFL)(DMSO)Cl]Cl	$1,252 \pm 0,073$	$1,775 \pm 0,130$
CPL	$0,327 \pm 0,005$	$0,888 \pm 0,041$
III /[Pt(CPL)(DMSO)Cl]Cl	$0,644 \pm 0,088$	$0,953 \pm 0,099$
SPF	$<0,098$	$<0,250$
IV /[Pt(SPF)(DMSO)Cl]Cl	$0,338 \pm 0,030$	$0,459 \pm 0,014$
Gatifloxacina	$<0,098$	$<0,261$
Estreptomicina	$0,454 \pm 0,070$	$0,781 \pm 0,120$
Amicacina	$0,438 \pm 0,099$	$0,748 \pm 0,170$
Rifampicina	$<0,098$	$<0,119$
Isoniazida	$<0,098$	$<0,715$
Etionamida	$<0,098$	$<0,589$

Fonte: A Autora.

Devido aos valores consideráveis de MIC obtidos, os complexos foram avaliados em linhagens resistentes. É válido notar que atualmente o surgimento de linhagens resistentes tem se tornado cada vez mais preocupante, e de acordo com o que já foi mencionado, este é um

problema crescente até mesmo em países desenvolvidos. As concentrações críticas empregadas na definição de resistência são estabelecidas na Tabela 14. Cinco tipos de linhagens clínicas resistentes ao tratamento convencional para tuberculose foram avaliadas e os resultados obtidos para os complexos, seus ligantes e os fármacos de referência são listados na Tabela 15.

Tabela 14-Concentrações críticas ($\mu\text{g/mL}$) para a classificação de resistência a drogas de primeira e segunda linhas usadas no tratamento da tuberculose.

Fármaco	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração (μM)	Massa Molar (g/mol)
Amicacina	4,00	6,83	585,603
Estreptomicina	2,00	3,44	581,574
Rifampicina	2,00*	2,43	822,940
Isoniazida	0,50**	3,65	137,139
Etionamida	5,00	30,08	166,244
Moxifloxacina	2,00*	4,98	401,431
Ofloxacina	4,00***	11,07	361,368

*Entre 0,5–2,0, **0,125–0,5 e ***1,0–4,0 $\mu\text{g/mL}$ são considerados limite, porque é esperado uma variação aceitável no resultado de MIC devido ao método utilizado.

Analisando-se os resultados da Tabela 15, verifica-se que:

1. As linhagens 1 e 5 são muito sensíveis a todos os complexos analisados, sendo que tais linhagens são resistentes à isoniazida, um fármaco de primeira linha;
2. O complexo **IV** ou $[\text{Pt}(\text{SPF})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, foi o que exibiu o maior potencial antimicobacteriano, especialmente no que diz respeito às linhagens 2, 3 e 4, o que o torna promissor para estudos futuros;
3. O complexo **II** ou $[\text{Pt}(\text{OFL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, e seu ligante exibiram baixa atividade para as linhagens clínicas 2, 3 e 4, o que pode ser explicado por serem linhagens classificadas como resistentes à ofloxacina. A melhor atividade para estes dois compostos ocorreu na linhagem 5;

4. O complexo **III** ou $[\text{Pt}(\text{CPL})(\text{DMSO})\text{Cl}]\text{Cl}$, e seu ligante apresentam similaridade com o complexo **II** no que diz respeito às linhagens 3 e 4, mas com valores de MIC mais altos; e
5. Nenhum dos complexos obteve melhor atividade que a rifampicina, mas é válido ressaltar que as linhagens clínicas resistentes aqui investigadas não são classificadas como resistentes a esse fármaco.

Tabela 15-Valores de MIC para os complexos **II**, **III** e **IV**, seus ligantes e fármacos de referência no tratamento da tuberculose, para isolados clínicos resistentes **1-5**. Os primeiros valores de cada composto são MIC em $\mu\text{g/mL}$ e abaixo os valores de MIC em μM .

Composto	MIC				
	1	2	3	4	5
OFL	$1,2 \pm 0,6$	$4,4 \pm 3,8$	$10,9 \pm 3,6$	$10,8 \pm 0,6$	$0,9 \pm 0,4$
	$3,2 \pm 1,5$	$12,2 \pm 10,4$	$30,2 \pm 9,9$	$29,9 \pm 3,2$	$2,6 \pm 1,0$
II	$10,8 \pm 7,0$	$20,4 \pm 6,5$	$19,4 \pm 3,6$	$19,6 \pm 4,4$	$0,7 \pm 0,01$
	$15,3 \pm 9,9$	$28,9 \pm 9,2$	$27,6 \pm 5,1$	$27,8 \pm 6,2$	$1,0 \pm 0,02$
CPL	$0,2 \pm 0,02$	$0,5 \pm 0,4$	$12,1 \pm 0,3$	$13,5 \pm 3,5$	$0,2 \pm 0,02$
	$0,5 \pm 0,04$	$1,3 \pm 1,1$	$32,8 \pm 0,9$	$36,8 \pm 9,4$	$0,5 \pm 0,06$
III	$1,0 \pm 0,6$	$3,6 \pm 3,9$	$>25,00$	$>25,00$	$0,7 \pm 0,01$
	$1,5 \pm 0,8$	$5,3 \pm 5,7$	$>37,01$	$>37,01$	$1,0 \pm 0,01$
SPF	$0,1 \pm 0,05$	$0,1 \pm 0,07$	$1,3 \pm 0,08$	$1,4 \pm 0,03$	$<0,10$
	$0,3 \pm 0,13$	$0,4 \pm 0,17$	$3,3 \pm 0,20$	$3,57 \pm 0,09$	$<0,25$
IV	$1,5 \pm 0,3$	$1,2 \pm 1,2$	$7,8 \pm 1,8$	$7,6 \pm 2,3$	$0,3 \pm 0,005$
	$2,0 \pm 0,4$	$1,7 \pm 1,67$	$10,6 \pm 2,4$	$10,4 \pm 3,2$	$0,5 \pm 0,01$
Gatifloxacina	$0,2 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,1$	$<0,10$
	$0,7 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,5$	$5,2 \pm 2,2$	$5,9 \pm 0,3$	$<0,26$
Moxifloxacina	$<0,10$	$0,3 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,001$	$<0,10$

	<0,24	0,8 ± 0,5	3,6 ± 0,6	2,7 ± 0,002	<0,24
Estreptomicina	5,7 ± 0,5	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,4	5,6 ± 0,9	1,8 ± 1,3
	9,8 ± 0,9	0,8 ± 0,5	1,6 ± 0,7	9,7 ± 1,5	3,2 ± 2,2
Amicacina	2,3 ± 0,9	0,8 ± 0,3	1,2 ± 0,33	2,3 ± 0,2	0,7 ± 0,04
	3,9 ± 1,5	1,4 ± 0,5	2,0 ± 0,6	4,0 ± 0,3	1,2 ± 0,07
Rifampicina	<0,10	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	<0,10	<0,10
	<0,12	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,3	<0,12	<0,12
Isoniazida	>25,0	>25,0	0,5 ± 0,3	0,4 ± 0,01	6,9 ± 5,9
	>182,3	>182,3	3,4 ± 2,0	2,6 ± 0,07	50,1 ± 42,9
Etionamida	>25,0	>25,0	<0,10	<0,10	>25,0
	>150,4	>150,4	<0,6	<0,6	>150,4
Classificação	Resistente a estreptomina, isoniazida e etionamida	Resistente a ofloxacina, isoniazida e etionamida	Resistente a estreptomina, ofloxacina e baixa resistência a moxifloxacina ^a e isoniazida ^b	Resistente a estreptomina, ofloxacina e baixa resistência a moxifloxacina ^a e isoniazida ^b	Resistente a isoniazida e etionamida

Fonte: Dados da Pesquisa. (Valores entre 0,5-2,0 µg/mL^a e entre 0,125-0,5 µg/mL^b são consideradas limite porque esta é considerável uma variação aceitável o resultado de MIC devido ao método usado).

Por fim, os complexos aqui descritos, além de ativos em linhagens resistentes podem apresentar mecanismo de ação não relacionado às fluoroquinolonas, o que seria muito interessante e deve ser investigado em estudos posteriores. Dessa forma, este trabalho faz com que estes complexos possam ser objetos de estudos mais abrangentes, tanto no que se refere à síntese quanto a obtenção de novas estruturas, já que os resultados biológicos foram animadores.

5. CONCLUSÕES

A caracterização dos complexos de platina(II) sintetizados indica que a fluoroquinolona esteja coordenada de forma bidentada via átomos de nitrogênio piperazínico e o DMSO coordenado via átomo de enxofre, além de um ligante clorido para completar a esfera de coordenação e um cloro para a neutralidade do complexo. Já para os complexos de paládio(II), os resultados de caracterização indicam que se tem dois ligantes cloridos com geometria *cis* entre si, e um ligante fluoroquinolona coordenado via átomos de nitrogênio piperazínico.

O estudo de estabilidade por RMN de ^{195}Pt demonstra que os complexos de platina se mantêm inalterados, ou seja, permanecem sob a forma $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{FQ})\text{Cl}]^+$, não gerando outras espécies por solvólise. Quantos aos estudos por UV-Vis, demonstram a estabilidade dos complexos de paládio e platina em condições que se assemelham às utilizadas nos ensaios biológicos.

A avaliação biológica com três dos complexos contra a linhagem sensível *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv indica que os complexos são tão ativos quanto os ligantes livres. Sabendo que as fluoroquinolonas apresentam excelente atividade no que se refere ao tratamento de tuberculose, por comparação é possível estabelecer que os complexos apresentaram atividade considerável.

A análise quanto as cinco linhagens resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* demonstrou que tanto ligantes quanto complexos foram ativos em algumas linhagens, sendo mais ativos que os fármacos de referência em alguns casos, majoritariamente quando comparado aos fármacos isoniazida e etionamida, fármacos de primeira e segunda linha respectivamente, no tratamento da tuberculose. É válido ressaltar que a maior atividade dos complexos com relação a estes fármacos foi obtida em linhagens resistentes aos mesmos. O complexo **IV** foi o composto que exibiu maior atividade dentre os complexos analisados, com atividade comparável ao seu respectivo ligante. Não se observou maior atividade dos compostos avaliados com relação à rifampicina, fármaco altamente recomendado no tratamento da tuberculose, sendo este fato explicado devido às linhagens utilizadas não serem resistentes à rifampicina.

Além disso, o ensaio biológico em duas linhagens tumorais indica que o complexo **IV**, $[\text{Pt}(\text{DMSO})(\text{SPF})\text{Cl}]\text{Cl}$ é o mais ativo no que se refere à atividade antitumoral, sendo mais ativo que a cisplatina. Além disso, determinou-se que o mecanismo de morte celular ocorre principalmente por apoptose tardia para o complexo **IV**. Devido a avaliação da atividade citotóxica em duas linhagens tumorais e uma linhagem celular normal, determinou-se que este

complexo apresenta boa seletividade, concluindo-se que o complexo **IV** é mais ativo e mais seletivo que a cisplatina.

A partir dos ensaios biológicos é possível avaliar que o complexo **IV** foi o mais ativo no que se refere tanto a linhagem sensível de *Mycobacterium tuberculosis* quanto as cinco linhagens resistentes, assim como o mais ativo nas linhagens tumorais e o que exibiu menor toxicidade, sendo então promissor a estudos futuros.

Os outros complexos que não exibiram significativa atividade nos ensaios realizados não precisam ser necessariamente ditos como inativos, uma vez que o estudo destes para outros alvos biológicos pode resultar em boa atividade dos mesmos. Sendo assim os complexos **II** e **III** também são candidatos a estudos futuros, desde que seja estudado mesmo que de forma teórica, inicialmente, uma linhagem em que possam ser efetivos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKLEY, M. C.; BARRY, C. G.; MOUNCE, A. M.; FARMER, M. C.; SPRINGER, B-E.; DAY, C. S.; WRIGHT, M. W.; BERNERS-PRICE, S. J.; HESS, S. M.; BIERBACH, U. Structure–activity relationships in platinum–acridinylthiourea conjugates: effect of the thiourea nonleaving group on drug stability, nucleobase affinity, and in vitro cytotoxicity. **Journal Biological Inorganic Chemistry**. v. 9, p. 453-461, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00775-004-0541-4>

ALI, I.; WANI, W. A.; SALEEM, K.; HAQUE, A. Platinum Compounds: A Hope for Future Cancer Chemoterapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 296-306, 2013. <https://doi.org/10.2174/1871520611313020016>

AL-KHODIR, A. I. F.; REFAT, M. S. Vital Metal Complexes of Levofloxacin as Potential Medical Agents: Syththesis and Their Spectroscopic, Thermal, Computational, and Anticancer Studies. **Russian Journal of General Chemistry**. v. 85, p. 718-730, 2015. <https://doi.org/10.1134/S1070363215030317>

ALMEIDA, S. M. V. de; ALCANTARA, F. F. de; BRITO, C. G. X de; SOUZA, G. C. A. de; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, V. B. R. da; CARVALHO, M. dos S.; LIMA, M. do C. A. de. Compostos coordenados híbrido de platina no tratamento do câncer. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 35, p. 337-345, 2014.

ANDRIOLE, V.T. The Quinolones: Past, Present and Future. **Clinical Infectious Disease**. v. 41, p. 113-119, 2005. <https://doi.org/10.1086/428051>

ARAYNE, S.; SULTANA, N.; HAROON, U.; MESALK, M. A. Synthesis, Characterization, Antibacterial and Anti-InflammatorynActivities of Enoxacin Metal Complexes. **Bioinorganic Chemistry and Applications**. 6 páginas, 2009.

BADISHA, R. B.; DARLING-REED, S. F.; JOSEPH, P.; COOPERWOOD, J. S.; LATINWO, L. M.; GOODMAN, C. B. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Research**. v. 29, p. 2993-2996, 2009.

BAMBEKE, F. V.; MICHOT, J. –M; ELDERE, J. V.; TULKENS, P. M. Quinolones in 2005: an update. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 11, p. 256-280, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01131.x>

BATISTA, D. da G. J.; SILVA, P. B. da; STIVANIN, L.; LACHTER, D. R.; SILVA, R. S.; FELCMAN, J.; LOURO, S. R. W.; TEIXEIRA, L. R.; SOEIRO, M. de N. C. Co(II), Mn(II) and Cu(II) complexes of fluoroquinolones: Synthesis, spectroscopical studies and biological evaluation against *Trypanosoma cruzi*. **Polyhedron**. v. 30, p. 1718-1725, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.04.001>

BEHRENS, N. B.; DIAZ, G. M. Metal Complexes of the Antibiotic Nalidixic Acid. **Inorganica Chimica Acta**. v. 125, p. 21-26, 1986. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)85478-X](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)85478-X)

BISACCHI, G. S. Origins of the Quinolone Class of Antibacterials: An Expanded “Discovery Story”. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 58, p. 4874-4882, 2015. <https://doi.org/10.1021/jm501881c>

BUSATTO, C.; REIS, A. J.; VALIM, A. R. M.; NUNES, L. S. de; CARNEIRO, M.; POSSUELO, L. Tuberculose ativa *versus* Tuberculose Latente: uma revisão de literatura. **Journal of Infection Control**. v. 4, n. 3, p. 60-64, 2015.

CAMPBELL, I. A.; BAH-SOW, O. Pulmonary tuberculosis: Diagnosis and treatment. **BMJ Journals**. v. 332, p. 1194-1197, 2006. <https://doi.org/10.1136/bmj.332.7551.1194>

CASINI, A.; DIAWARA, M. C.; SCOPELLITI, R.; ZAKEERUDDIN, M.; GRÄTZEL, M.; DYSON, P. J. Synthesis, characterization and biological properties of gold(III) compounds with modified bipyridine and bipyridylamine ligands. **Dalton Transactions**. v. 39, p. 2239-2245, 2010. <https://doi.org/10.1039/b921019a>

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Tuberculosis (TB). Disponível em: <<https://www.cdc.gov/tb/topic/basics/signsandsymptoms.htm>>. Revisado em março de 2016.

CHAO, J-B.; TONG, H-B.; HUANG, S-P.; LIU D-S. Preparation and study on the solid inclusion complex of sparfloxacin with β -cyclodextrin. **Spectrochimica Acta Part A**. v. 60, p. 161-166, 2004. [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(03\)00211-7](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(03)00211-7)

CINI, R.; DONATTI, A.; GIANNETTONI, R. Synthesis and structural characterization of chloro(2,2';6',2''-terpyridine)platinum(II) trichloro(dimethylsulfoxide)platinate(II). Density functional analysis of model molecules. **Inorganica Chimica Acta**. v. 315, p. 73-80, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(01\)00317-6](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(01)00317-6)

COSTA, M.; TAVARES, V. R.; CAMPOS, D. J.; SILVA, A. C.; BUENO, S. K. Tuberculose: uma revisão de literatura. **REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres [Online]**. v. 2, n. 1, 2013.

Curry International Tuberculosis Center (CITC) and California Department of Public Health, 2016: *Drug-Resistant Tuberculosis: A Survival Guide for Clinicians*, 3rd edition.

DILRUBA, S.; KALAYDA, G. V. Platinum-based drugs: past, present and future. **Cancer Chemoterapy Pharmacology**. v. 77, p. 1103-1124, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-2976-z>

DIVANGAHI, M; CHEN, M; GAN, H; DESJARDINS, D.; HICKMAN, T. T.; LEE, D. M.; FORTUNE, S.; BEHAR, S. M.; REMOLD, H. G. Mycobacterium tuberculosis evades macrophage defenses by inhibiting plasma membrane repair. **Nature immunology**. v. 10, p. 889-906, 2009. <https://doi.org/10.1038/ni.1758>

DOLEŽEL, P.; KUBÁŇ, V. Mass Spectrometric Study of Platinum Complexes Based on Cisplatin. **Chemical Papers**. v. 56, p. 236-240, 2002.

DOROFEEV, V. L. Infrared Spectra and the structure of drugs of the fluoroquinolone group. (*Traduzido por Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*). **Pharmaceutical Chemistry Journal**. v. 38, p. 45-49, 2004.

EFTHIMIADOU, E. K.; KATSAROU, M. E.; KARALIOTA, A.; PSOMAS, G. Copper(II) complexes with sparfloxacin and nitrogen-donor heterocyclic ligands: Structure-activity relationship. **Journal of Inorganic Biochemistry.** v. 102, p. 910-920, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.12.011>

EL-GAMEL, N. E. A. E-; ZAYED, M. A. Synthesis, structural characterization and antimicrobial activity evaluation of metal complexes of sparfloxacin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.** v. 82, p. 414-423, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.07.072>

EMMERSON, A. M.; JONES, A. M. The quinolones: decades of development and use. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** v. 51, p. 13-20, 2003. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg208>

FEIO, M. J.; SOUSA, I.; FERREIRA, M.; SILVA, L. -C.; SARAIVA, R. G.; QUEIRÓS, C.; ALEXANDRE, J. G.; CLARO, V.; MENDES, A.; ORTIZ, R.; LOPES, S.; AMARAL, A. L.; LINO, J.; FERNANDES, P.; SILVA, A. J.; MOUTINHO, L.; CASTRO, B. de; PEREIRA, E.; PERELLÓ, L.; GAMEIRO, P. Fluoroquinolone-metal complexes: A route to counteract bacterial resistance?. **Journal of Inorganic Biochemistry.** v. 138. p. 129-143, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.05.007>

FERNANDES, P.; SOUSA, I.; CUNHA-SILVA, L.; FERREIRA, M.; CASTRO, B. de; PEREIRA, E. F.; FEIO, M. J.; GAMEIRO, P. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) lomefloxacin ternary complex. **Journal of Inorganic Biochemistry.** v. 131, p. 21-29, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.10.013>

FOCHESATTO, C. **Caracterização química e avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de complexos de 99m tc-ciprofloxacino e 99m tc-pefloxacino.** 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

FONTES, A.P.S; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A. Química Inorgânica na Terapia do Câncer. **Cadernos Temáticos da Química Nova na Escola.** n. 6, p. 13-18, 2005.

Global Burden of Cancer (GDB). Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. **JAMA Oncology/Special Communication**. v. 3, p. 524-548, 2017.

GOUVEA, L. R.; GARCIA, L. S.; LACHTER, D. R.; NUNES, P. R.; PEREIRA, F. de C.; SILVEIRA-LACERDA, E. P.; LOURO, S. R. W.; BARBEIRA, P. J. S.; TEIXEIRA, L. R. Atypical fluoroquinolone gold(III) chelates as potential anticancer agents: Relevance of DNA and protein interactions for their mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 55, p. 67-73, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.07.004>

GOUVEA, L. R. **Complexos metálicos de fluorquinolonas [manuscrito]: síntese, atividade biológica e estudos do mecanismo de ação**. 2013. 128f. Tese (Doutorado em Química)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

GOYNE, K. W.; CHOROVER, J.; KUBICKI, J. D.; ZIMMERMAN, A. R.; BRANTLEY, S. L. Sorption of the antibiotic ofloxacin to mesoporus and nonporous alumina and silica. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 283, p.160-170, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.08.150>

GRAMINHA, A. E. **Complexos de Ru e Pd com bases de Schiff de ditiocarbazatos com interesse bioinorgânico e quimioterápico**. 2010. 144 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. da. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 53, p. 335-343, 2007.

GUNASEKARAN, S.; RAJALAKSHMI, K.; KUMARESAN, S. Vibrational analysis, electronic structure and nonlinear optical properties of Levofloxacin by density functional theory. **Spectrochimica Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 112, p. 351-363, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.074>

GUPTA, H.; AQIL, M.; KHAR, R. K.; ALI, A.; BHATNAGAR, A.; MITTAL, G. M. Sparfloxacin-loaded PLGA nanoparticles for sustained ocular drug delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. v. 6, p. 324-333, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.10.004>

HENDERSON, W.; MCLNDOE, J. S. Mass Spectrometry of Inorganic and Organometallic Compounds: Tools-Techniques-Tips. Wiley, 2005. 271 páginas.

HERMECZ, I; VASVÁRI-DEBRECZY, L.; PODÁNYI, B.; KERESZTURI, G.; BALOGH, M.; HORVÁTH, Á.; VÁRKONYI, P. Regioselective nucleophilic substitution of halogen derivatives of 1-substitued 4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. **Heterocycles**. v. 48, p. 1111-1116, 1998. <https://doi.org/10.3987/COM-98-8143>

HOLZGRABE, U.; BRANCH, S. K. ^1H , ^{19}F and ^{13}C NMR Spectral Data of Fifteen Gyrase Inhibitors and some Metabolites. **Magnetic Resonance in Chemistry**. v. 32, p. 192-196, 1994. <https://doi.org/10.1002/mrc.1260320313>

HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L; MEDHI, O. K. Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity. 4ª edição. Pearson Education, 2006. 964 páginas.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA)-**ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. 2011. 128 f. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA)-**Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil**. 2015. 122 f. Rio de Janeiro: INCA, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA)-Ministério da Saúde. **O que é câncer**. 2017. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee>>. Acesso em out. 2017.

ITO, C. A. S. **Ácido Nalidíxico como marcador preditivo de sensibilidade às fluoroquinolonas para *Escherichia coli* isoladas de urocultura**. 2004. 88f. Dissertação- (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

KALAIMAGAL, K.; GUNASEKARAN, S. FTIR, FT-Raman and Density Functional Theory studies on Ofloxacin. **International Journal of ChemTech Research**. v. 8, p. 1403-1416, 2015.

KAUFFMAN, G. B.; PENTIMALLI, R.; DOLDI, S.; HALL, M. D. Michele Peyrone (1813-1883), Discoverer of Cisplatin. **Platinum Metals Review**. v. 54, p. 250-256, p. 2010.

KAUFMANN, S. H.; McMICHAEL, A. J. Annulling a dangerous liaison: vaccination strategies against AIDS and tuberculosis. **Nature medicine**. v. 11, p. S33-44, 2005. <https://doi.org/10.1038/nm1221>

KHARADI, G. J. Antitubercular and fluorescence studies of copper(II) complexes with quinolone family member, ciprofloxacin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 79, p. 898-903, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.03.032>

KNECHEL, N. A. Tuberculosis: pathophysiology, clinical features, and diagnosis. **Critical Care Nurse**. v. 29, p. 34-43, 2009. <https://doi.org/10.4037/ccn2009968>

KOVALA-DEMERTZI, D.; DOMOPOULOU, A.; DEMERTZIS, M. A.; PAPAGEORGIOU, A.; WEST, D. X. Palladium(II) complexes of 2-acetylpyridine N(4)-propyl, N(4)-dipropyl-and 3-hexamethyleneiminylthiosemicarbazones with potentially interesting biological activity. Synthesis, spectral properties, antifungal and *in vitro* antitumor activity. **Polyhedron**. v. 16, p. 3625-3633, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(97\)00107-1](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(97)00107-1)

KOVALA-DEMERTZI, D.; MILLER, J. R.; KOURKOUMELIS, N.; HADJIKAKOU, S. K.; DEMERTZIS, M. A. Palladium(II) and platinum(II) complexes of pyridine-2-carbaldehyde thiosemicarbazone with potential biological activity. Synthesis, structure and spectral properties. Extended network via hydrogen bond linkages of [Pd(PyTsc)Cl]. **Polyhedron**. v. 18, p. 1005-1013, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(98\)00386-6](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(98)00386-6)

LESHER G.Y.; FROELICH E.J.; GRUETT M.D.; BAILEY, J.H.; BRUNDAGE, R.P. 1,8-Naphthyridine derivatives: a new classes of chemotherapeutic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 5, p. 1063-1065, 1962. <https://doi.org/10.1021/jm01240a021>

LIN, L.; ZHAI, Y.; WANG, D.; YIN, G.; FAN, L.; HU, Y. Preparation, characterization and spectroscopic properties of difluoroboron complexes with some fluoroquinolones. **Journal of Fluorine Chemistry**. 2015.

LUCHS, A.; PANTALEÃO, C. Apoptose e modelos *in vivo* para estudo das moléculas relacionadas a este fenômeno. **Einstein**. v. 8, p. 495-497, 2010. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082010rb1685>

LUIES, L.; MIENIE, J.; MOTSHWANE, C.; RONACHER, K.; WALZL, G.; LOOTS, D. T. Urinary metabolite markers characterizing tuberculosis treatment failure. **Metabolomics**. v. 13, 2017.

LUPALA, C. S.; GOMEZ-GUTIERREZ, P.; PEREZ, J. J. Molecular Determinants of the Bacterial Resistance to Fluoroquinolones: A Computational Study. **Current Computer-Aided Drug Design**. v. 9, p. 281-288, 2013. <https://doi.org/10.2174/15734099113099990004>

MA, G.; MIN, Y.; HUANG, F.; JIANG, T.; LIU, Y. Thioether binding mediates monofunctional platinum antitumor reagents to *trans* configuration in DNA interactions. **The Royal Society of Chemistry**. v. 46, p. 6938-6940, 2010. <https://doi.org/10.1039/c0cc01408g>

MAGIORAKOS, A.P.; SRINIVASAN, A.; CAREY, R. B.; CARMELI, Y.; FALAGAS, M. E.; GISKE, C. G.; HARBARTH, S.; HINDLER, J. F.; KAHLMETER, G.; OLSSON-LIJEQUIST, B.; PATERSON, D. L.; RICE, L. B.; STELLING, J.; STRUELENS, M. J.; VATOPOULOS, A.; WEBER, J. T.; MONNET, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 18, p. 268-281, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

MAIA, P. I. S.; NGUYEN, H.; PONADER, D.; HAGENBACH, A.; BERGEMANN, S.; GUST, R.; DEFLON, V. M.; ABRAM, U. Neutral Gold Complexes with Tridentate SNS Thiosemicarbazide Ligands. **Inorganic Chemistry**. v. 51, p. 1604-1613, 2012.

<https://doi.org/10.1021/ic201905t>

MAIA, P. I. S.; CARNEIRO, Z. A.; LOPES, C. D.; OLIVEIRA, C. G.; SILVA, J. S.; ALBUQUERQUE, S.; HAGENBACH, A.; GUST, R.; DEFLON, V. M.; ABRAM, U. Organometallic Gold(III) Complexes with Hybrid SNS-Donating Thiosemicarbazone Ligands: Cytotoxicity and anti-*Trypanosoma cruzi* Activity. **Dalton Transactions**. 2017.

<https://doi.org/10.1039/C6DT04307K>

MARTINS, E. T.; BARUAH, H.; KRAMARCZYK, J.; DAY, C. S.; KUCERA, G. L.; BIERBACH, U. Design, Synthesis, and Biological Activity of a Novel Non-Cisplatin-type Platinum-Acridine Pharmacophore. **Journal Medicinal Chemistry**. v. 44, p. 4492-4496, 2001.

<https://doi.org/10.1021/jm010293m>

MARTINS, D. A.; GOUVEA, L. R.; MUNIZ, G. S. V.; LOURO, S. R. W.; BATISTA, D. G. J.; SOEIRO, M. N.; TEIXEIRA, L. R. Norfloxacin and N-Donor Mixed-Ligand Copper(II) Complexes: Synthesis, Albumin Interaction, and Anti-*Trypanosoma cruzi* Activity. **Bioinorganic Chemistry and Applications**. 11 páginas, 2016.

MARZANO, I. M. **Síntese, Caracterização e Estudo da atividade antitumoral e antibacteriana de alguns complexos metálicos de Bismuto (III) e Gálio (III)**. 2013. 190 f. Tese (Doutorado em Ciências-Química)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M.; LACHOWICZ, J. I.; CRISPONI, G.; ZORODDU, M. A. Noble metals in medicine: Latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 284, p. 329-350, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>

MEHTA, J. V.; GAJERA, S. B.; PATEL, M. N. Antimalarial, antimicrobial, cytotoxic, DNA interaction and SOD like activities of tetrahedral copper(II) complexes. **Spectrochimica Acta**

Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. v. 136, p. 1881-1892, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.103>

MENDES, N. H. N. H.; MELO, F. A.; SANTOS, A. C.; PANDOLFI, J. R. J. R.; ALMEIDA, E. A.; CARDOSO, R. F.; BERGHS, H.; DAVID, S.; JOHANSEN, F. K.; ESPANHA, L. G. L. G.; LEITE, S. R.; LEITE, C. Q. Characterization of the genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in São Paulo city, Brazil. **BMC Research Notes.** v. 4, p. 269, 2011. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-269>

MINARINI, L. A. R. **Estudo dos mecanismos de resistência às quinolonas em enterobactérias isoladas de alguns estados brasileiros.** 2008. 128f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2016). Panorama da tuberculose no Brasil: a mortalidade em números/Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis-Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2017). Plano Nacional pelo fim da Tuberculose/Ministério da Saúde, Secretária de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis-Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

MISHRA, S. K.; TRIPATHI, G.; KISHORE, N.; SINGH, R. K.; SINGH, A.; TIWARI, V. K. Drug development against tuberculosis: Impact of alkaloids. **European Journal of Medicinal Chemistry.** v. 137, p. 504-544, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.005>

MIYATA, M.; PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; MARINO, L. B.; HIRATA, M. H.; CARDOSO, R. F.; MELO, F. A. F. de; ZANELLI, C. F.; LEITE, C. Q. F. Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Brazil: Phenotypic and genotypic methods. **Biomedicine & Pharmacotherapy.** v. 65, p. 456-459, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2011.04.021>

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival – application to proliferation and cyto-toxicity assays. **Journal of Immunological Methods.** v. 65 (1-2), p. 55-63, 1983. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

MÜGGE, C.; LIU, R.; GÖRLS, H.; GABBIANI, C.; MICHELUCCI, E.; RÜDIGER, N.; CLEMENT, J. H.; MESSORI, L.; WEIGAND, W. Novel platinum(II) compounds with O,S bidentate ligands: synthesis, characterization, antiproliferative properties and biomolecular interactions. **Dalton Transactions.** v. 43, p. 3072-3086, 2014. <https://doi.org/10.1039/C3DT52284A>

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds.** Part B: Applications in coordination, organometallic and bioinorganic chemistry. 6^a ed. New Jersey, 2009.

National Cancer Institute of USA (NCI). **What is Cancer?**. 2015. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>>. Acesso em out. 2017.

NDAGI, U.; MHLONGO, N.; SOLIMAN, M. E. Metal complexes in cancer therapy-an update from drug design perspective. **Drug Design, Development and Therapy-Dovepress.** v. 11, p. 599-616, 2017. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S119488>

NEUGEBAUER, U.; SZEGHALMI, A.; SCHMITT, M.; KIEFER, W.; POPP, J.; HOLZGRABE, U. Vibrational spectroscopic characterization of fluoroquinolones. **Spectrochimica Acta Part A.** v. 61, p. 1505-1517, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.11.014>

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer. **Revista Virtual de Química.** v. 3, p. 196-209, 2011.

NOGUEIRA, A. F.; FACCHINETTI, V.; SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos. **Revista Brasileira de Farmácia.** v. 93, p. 3-9, 2012.

OLIPHANT, C. M.; GREEN, G. M. Quinolones: A Comprehensive Review. **American Family Physician.** v. 65, p. 455-464, 2002.

ORLANDO, R. M.; FILHO, N. C.; GIL, E de S.; STRINGHETTA, J. P. de S. Importância Farmacêutica de Fármacos Quirais. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, p. 8-14, 2007. <https://doi.org/10.5216/ref.v4i1.2115>

OWENS, C. R.; AMBROSE, P. G. Antimicrobial Safety: Focus on Fluoroquinolones. **Clinical Infectious Disease**. v. 41, p. 144-157, 2005. <https://doi.org/10.1086/428055>

PALMA, P. R. **Avaliação da Anexina V e Calceína AM como marcadores de apoptose em linfócitos**. 2005. 90f. Dissertação (Mestrado em Farmácia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

PALOMINO, J.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**. v. 46, p. 2720-2722, 2002. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002>

PASCALI, S. A.; PAPADIA, P.; CICCARESE, A.; PACIFICO, C.; FANIZZI, F. P. First Examples of β -Diketonate Platinum(II) Complexes with Sulfoxide Ligands. **European Journal Inorganic Chemistry**. p. 788-796, 2005. <https://doi.org/10.1002/ejic.200400665>

PATEL, M. N.; GANDHI, D. S.; PARMAR, P. A. DNA interaction and *in vitro* antibacterial studies of fluoroquinolones based platinum(II) complexes. **Inorganic Chemistry Communication**. v. 15, p. 248-251, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2011.10.037>

PAVAN, F. R.; MAIA, P. I. da S.; LEITE, S. R. A.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. F. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti-Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. **European Journal Medicinal Chemistry**. v. 45, p. 1898-1905, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.01.028>

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4ª edição norte-americana [tradução Pedro Barros]. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PÉREZ-CABRÉ, M.; CERVANTES, G.; MORENO, V.; PRIETO, M. J.; PÉREZ, J. M.; FONT-BARDIA, M.; SOLANS, X. Pd(II) and Pt(II) complexes with aromatic diamines: study of their interaction with DNA. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 98, p. 510-521, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2003.12.022>

PRABAVATHI, N.; NILUFER, A.; KRISHNAKUMAR, V.; AKILANDESWARI, L. Spectroscopic, electronic structure and natural bond analysis of 2-aminopyrimidine and 4-aminopyrazolo[3,4-d]pyrimidine: A comparative study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 96, p. 226-241, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.05.015>

PRIQUELER, J. R. L.; BUTLER, I. S.; ROCHON, F. D. An Overview of ^{195}Pt Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Applied Spectroscopy Reviews**. v. 41, p. 185-226, 2006. <https://doi.org/10.1080/05704920600620311>

REFAT, M. S. Synthesis and characterization of norfloxacin-transition metal complexes (group 11, IB): Spectroscopic, thermal, kinetic measurements and biological activity. **Spectrochimica Acta Part A**. v. 68, p. 1393-1405, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.12.078>

REIS, F. C. C. **Investigação química de complexos de coordenação dos antibióticos enrofloxacin e norfloxacin combinados ao íon Ru(III) e suas interações com biomolécula alvo**. 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

RENDON, A.; TIBERI, S.; SEARDIGLI, A.; AMBROSIO, L. D'; CENTIS, R.; CAMINEROS, J. A.; MIGLIORI, G. B. Classification of drugs to treat multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): evidence and perspectives. **Journal of Thoracic Disease**. v. 8, p. 2666-2671, 2016. <https://doi.org/10.21037/jtd.2016.10.14>

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W.; FONTES, A. P. S.; TAVARES, T. T.; MARZANO, I. M.; PEREIRA-MAIA, E. C.; Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**. v. 34, p. 111-118, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000100022>

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Ocorrência e Degradação de Quinolonas por Processos Oxidativos Avançados. **Química Nova**. v. 37, p. 868-885, 2014.

RORIZ-FILHO, J. S.; VILAR, F. C.; MOTA, L. M.; LEAL, C. L.; PISI, P. C. B. Infecção do trato urinário. **Medicina**. v. 43, p. 118-125, 2010. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v43i2p118-125>

ROSENBERG, B.; RENSHAW, E.; VANCAMP, L.; HARTWICK, J.; DROBNIK, J. Platinum-Induced Filamentous Growth in *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**. v. 93, n. 2, p. 716-721, 1967.

RUSU, A.; HANCU, G.; TÓTH, G.; VANCEA, S.; TOMA, F.; MARE, A. D.; MAN, A.; NITULESCU, G. M.; UIVAROSI, V. New silver complexes with levofloxacin: Synthesis, characterization and microbiological studies. **Journal of Molecular Structure**. v. 1123, p. 384-393, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.07.035>

RUSU, A.; HANCU, G.; MUNTEANU, A. C.; UIVAROSI, V. Development perspectives of silver complexes with antibacterial quinolones: Successful or not?. **Journal of Organometallic Chemistry**. v. 839, p. 19-30, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.02.023>

SAGDNIC, S.; BAYARI, S. Theoretical study of ofloxacin: geometrical parameters and vibrational wavenumbers. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**. v. 668, p. 93-99, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(03\)00878-9](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(03)00878-9)

SAHOO, S.; CHAKRABORTI, C. K.; MISHRA, S. C.; NANDA, U. P.; NAIK, S. FTIR and XRD investigations of some fluoroquinolones. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v. 3, p. 1-6, 2011a.

SAHOO, S.; CHAKRABORTI, C. K.; NAIK, S.; MISHRA, S. C.; NANDA, U. N. Structural Analysis of Ciprofloxacin-Carbopol Polymeric Composites by X-Ray Diffraction and Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**. v. 10, p. 273-280, 2011b. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v10i3.14>

SAHOO, S.; CHAKRABORTI, C. K.; BEHERA, P. K. Spectroscopic investigations of a ciprofloxacin/HPMC mucoadhesive suspension. **International Journal of Applied Pharmaceutics**. v. 4, p. 1-8, 2012.

SALEM, A. A.; MOSSA, H. A.; BARSOUM, B. N. Quantitative determinations of levofloxacin and rifampicin in pharmaceutical and urine samples using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A**. v. 62, p. 466-472, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2005.01.016>

SARRO, A.; SARRO, G. Adverse Reactions to Fluoroquinolones. An Overview on Mechanistic Aspects. **Current Medicinal Chemistry**. v. 8, p. 371-384, 2001. <https://doi.org/10.2174/0929867013373435>

SEHAB, O. R.; MANSOUR, A. M. Sparfloxacin charge transfer complexes with 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone and tetracyanoquinodimethane: Molecular structures, spectral, and DFT studies. **Journal of Molecular Structure**. v. 1093, p. 186-194, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.03.048>

SINHA, P.; GUPTA, A.; PRAKASH, P.; ANUPURBA, S.; TRIPATHI, R.; SRIVASTAVA, G. N. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex from non-tubercular mycobacteria by nested multiplex PCR targeting *IS6110*, *MTP40* and *32kD alpha antigen* encoding gene fragments. **BMC Infectious Diseases**. v. 16, 2016.

SILVA, H. **Complexos de Platina com Diaminas N-alquilados de Cadeia Longa: Síntese, inclusão em lipossomas, atividade citotóxica, antitumoral e estudos farmacocinéticos**. 2009. 196 f. Tese (Doutorado em Química)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

SILVA, G. B. da; VARGAS, M. D. Complexos de Pt^{4+} : Estratégia Molecular no Combate ao Câncer. **Revista Virtual de Química**. v. 4, p. 102-117, 2012.

SILVA, J. R. e L. Novos Aspectos da Patogenia da Tuberculose. **Pulmão RJ**. v. 21, p. 10-14, 2012.

SHARMA, P. C.; JAIN, A.; JAIN, S. Fluoroquinolone antibacterials: A review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. **Acta Poloniae Pharmaceutica**. v. 66, p. 587-604, 2009.

SOUSA, I.; CLARO, V.; PEREIRA, J. L.; AMARAL, A. L.; CUNHA-SILVA, L.; CASTRO, B. de; FEIO, M. J.; PEREIRA, E.; GAMEIRO, P. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) levofloxacin ternary complex. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 110, p. 64-71, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.02.003>

SOUSA, R. R. F. **Pesquisa de genes de resistência a quinolonas em bacilos Gram negativos de origem clínica e ambiental**. 2014. 102 f. Dissertação-(Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

STILL, B. M.; KUMAR, P. G. A.; ALDRICH-WRIGHT, J. R.; PRICE, W. S. ^{195}Pt NMR-theory and application. **Chemical Society Reviews**. v. 36, p. 665-686, 2007. <https://doi.org/10.1039/B606190G>

TANIMOTO, M. K. **A reatividade da fluoroquinolona ciprofloxacina com o metal de transição rutênio**. 2009.82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

TARUSHI, A.; KLJUN, J.; TUREL, I.; PANTAZAKI, A. A.; PSOMAS, G.; KESSISSOGLU, D. P. Zinc(II) complexes with the quinolone antibacterial drug flumequine: structure, DNA-and albumin-binding. **New Journal of Chemistry**. v. 37, p. 342-355, 2013. <https://doi.org/10.1039/C2NJ40798A>

TIBERI, S.; SCARDIGLI, A.; CENTIS, R.; AMBROSIO, L. D'.; MUÑOZ-TORRICO, M.; SALAZAR-LEZAMA, M. A.; SPANEVELLO, A.; VISCA, D.; ZUMLA, A.; MIGLIORI, G. B.; LUNA, J. A. C. Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. **International Journal of Infectious Diseases**. v. 56, p. 181-184, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.10.026>

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R., CASE, C. L. **Microbiologia** [recurso eletrônico]. Tradução: Aristóbolo Mendes da Silva [et. al.]. 10ª edição. Porto Alegre-RS. Editora: Artmed, 2012, p. 711.

UIVAROSI, V. Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update. **Molecules**. v. 18, p. 11153-11197, 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules180911153>

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. 170 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R.; DIETZE, R. Doenças Infecciosas e Parasitárias. 8ª edição. Rio de Janeiro-RJ: Editora Guanabara Koogan S. A, 1991. p. 325.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R (Vários autores). Tratado de Infectologia. 5ª ed. rev. e atual. São Paulo: Editora Atheneu, 2015. Obra em 2 vol. ISBN: 978-85-388-0648-6.

VIEIRA, L. M. M.; ALMEIDA, M. V.; ABREU, H. A.; DUARTE, H. A.; GRAZUL, R. M.; FONTES, A. P. S. Platinum(II) complexes with fluoroquinolones: Synthesis and characterization of unusual metal-piperazine chelates. **Inorganica Chimica Acta**. v. 362, p. 2060-2064, 2009a. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2008.08.018>

VIEIRA, L. M. M.; ALMEIDA, M. V.; LOURENÇO, M. C. S.; BEZERRA, F. V. F. M.; FONTES, A. P. S. Synthesis and antitubercular activity of palladium and platinum complexes with fluoroquinolones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 44, p. 4107-4111, 2009b. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.05.001>

VIEIRA, G. C. **Avaliação *in vitro* do potencial citotóxico de quatro análogos de benzotiazóis**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

VIGANOR, L.; SKERRY, C.; McCANN, M.; DEVEREUX, M. Tuberculosis: An Inorganic Medicinal Chemistry Perspective. **Current Medicinal Chemistry**. v. 22, p. 2199-2224, 2015. <https://doi.org/10.2174/0929867322666150408112357>

World Health Organization (WHO). **Antimicrobial resistance**. 2017a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Revisado em novembro de 2017. Acesso em dez. 2017.

World Health Organization (WHO). **Cancer**. 2017b. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em out. 2017.

World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2016. ISBN 978 92 4 156539 4, 2016.

World Health Organization (WHO). Tuberculosis. 2017c. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>>. Revisado em março de 2017. Acesso em out. 2017.

World Health Organization (WHO). Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. ISBN: 9789241548809, 2014.

ZIEBA, A.; MAŚLANKIEWICZ, A.; SITKOWSKI, J. Spectral Assignments and Reference Data. **Magnetic Resonance in Chemistry**. v. 42, p. 903-904, 2004.

7. ANEXOS

Anexo A: UV dos ligantes e complexos de Pt(II) e Pd(II)

Figura A1: Espectros de UV do complexo **I** e seu ligante LFL

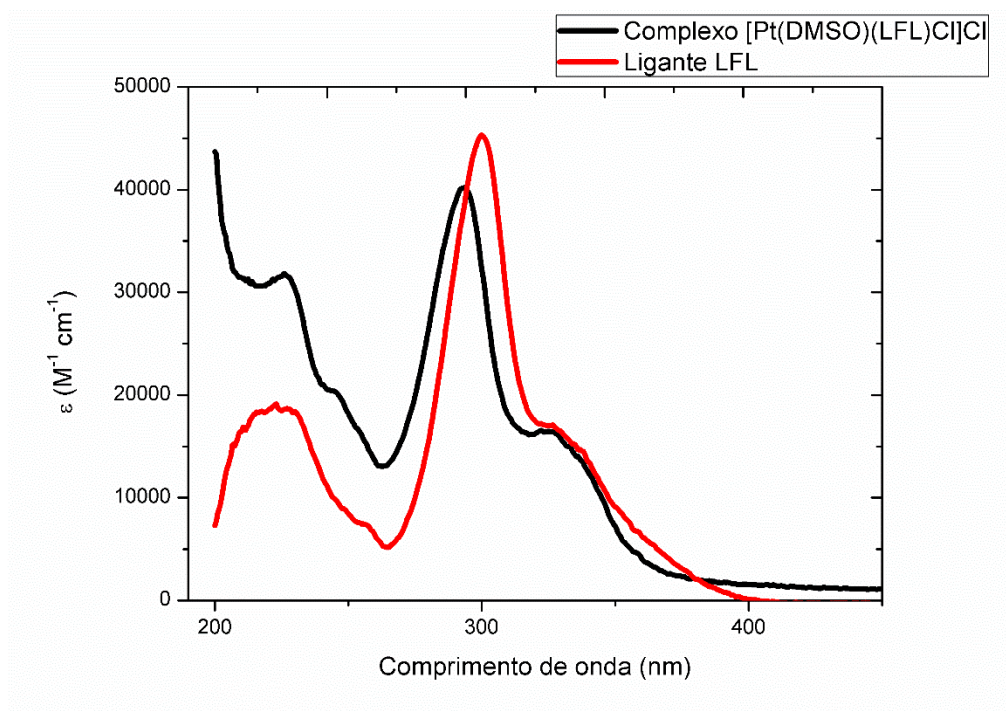


Figura A2: Espectros de UV do complexo **III** e seu ligante CPL

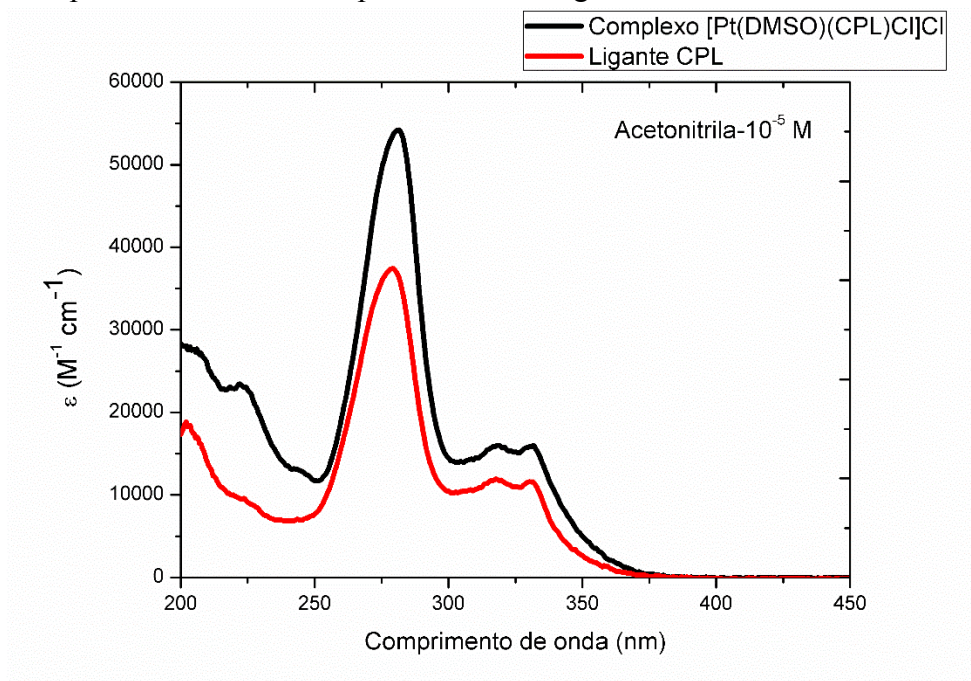


Figura A3: Espectros de UV do complexo V e ligante CPL

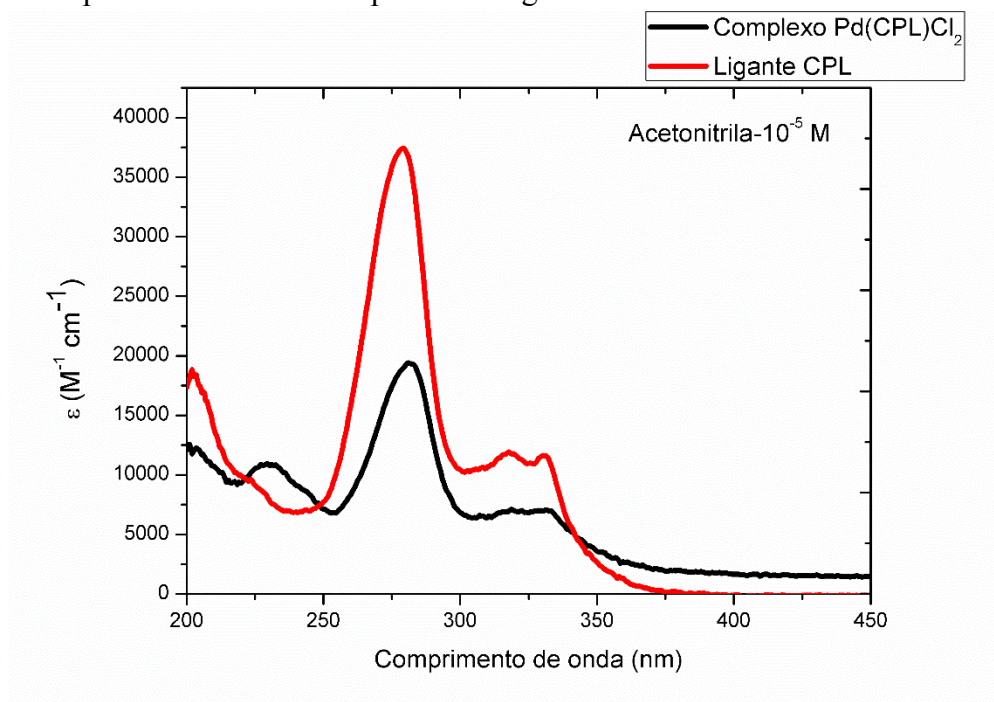
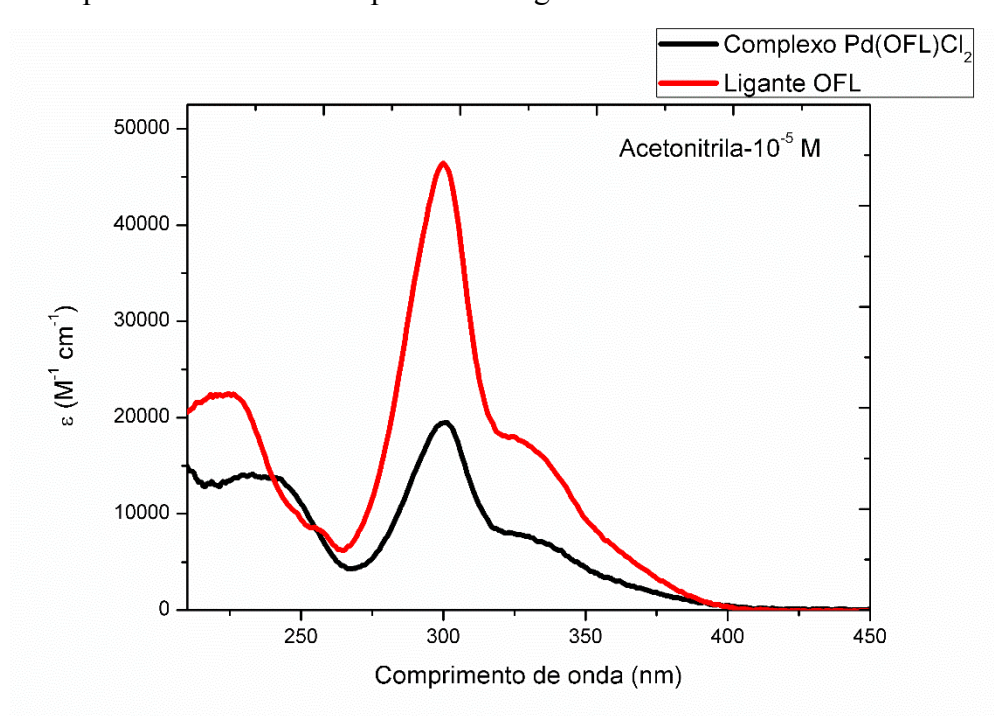


Figura A4: Espectros de UV do complexo VI e ligante OFL



Anexo B: Espectros IV dos complexos de Pt(II) e Pd(II) e seus respectivos ligantes

Figura B1: Espectros IV sobrepostos do complexo **I** e do ligante LFL

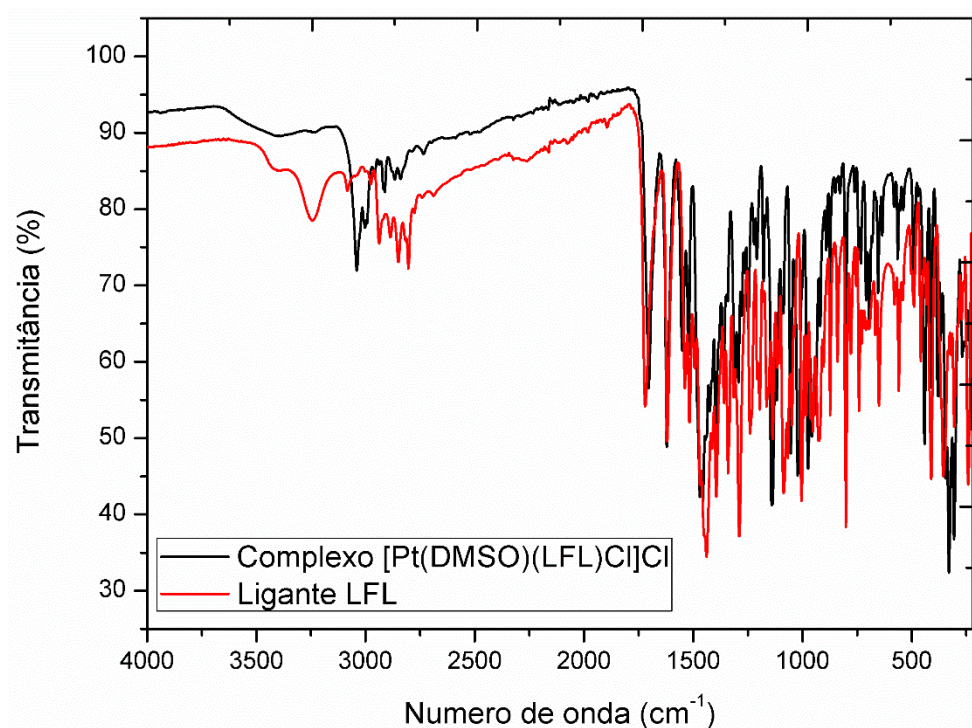


Figura B2: Espectros IV sobrepostos do complexo **II** e do ligante OFL

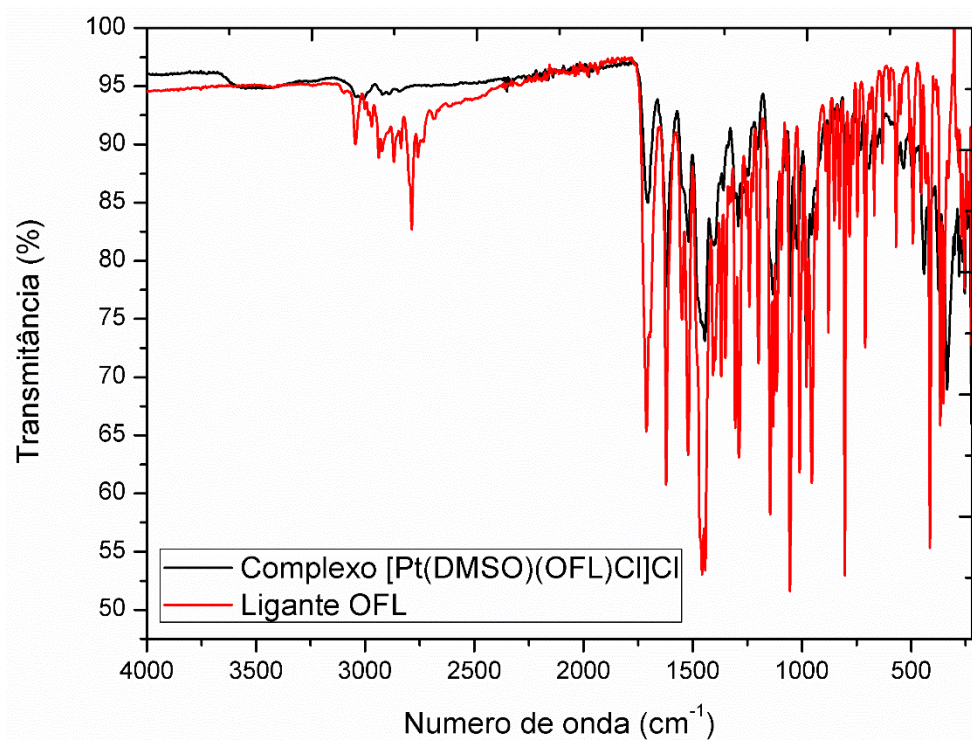


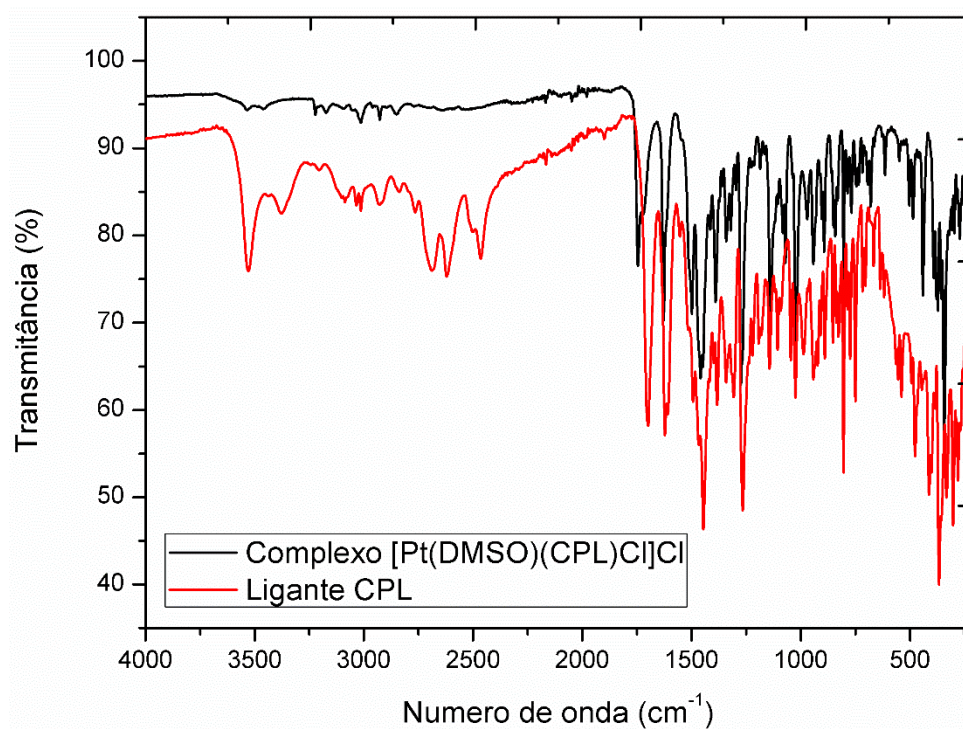
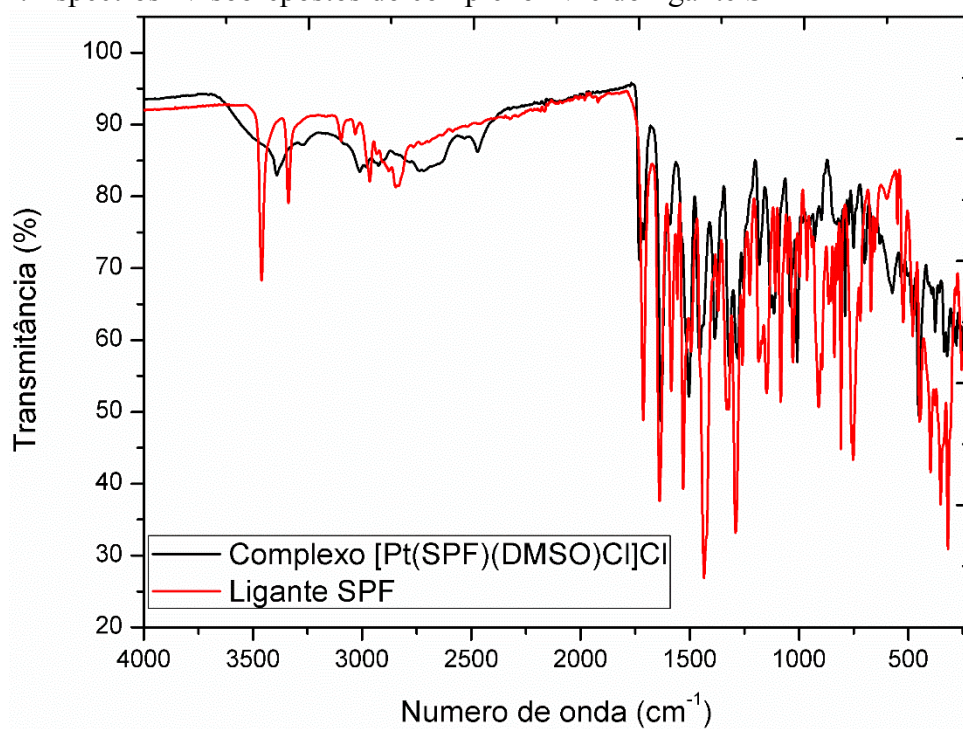
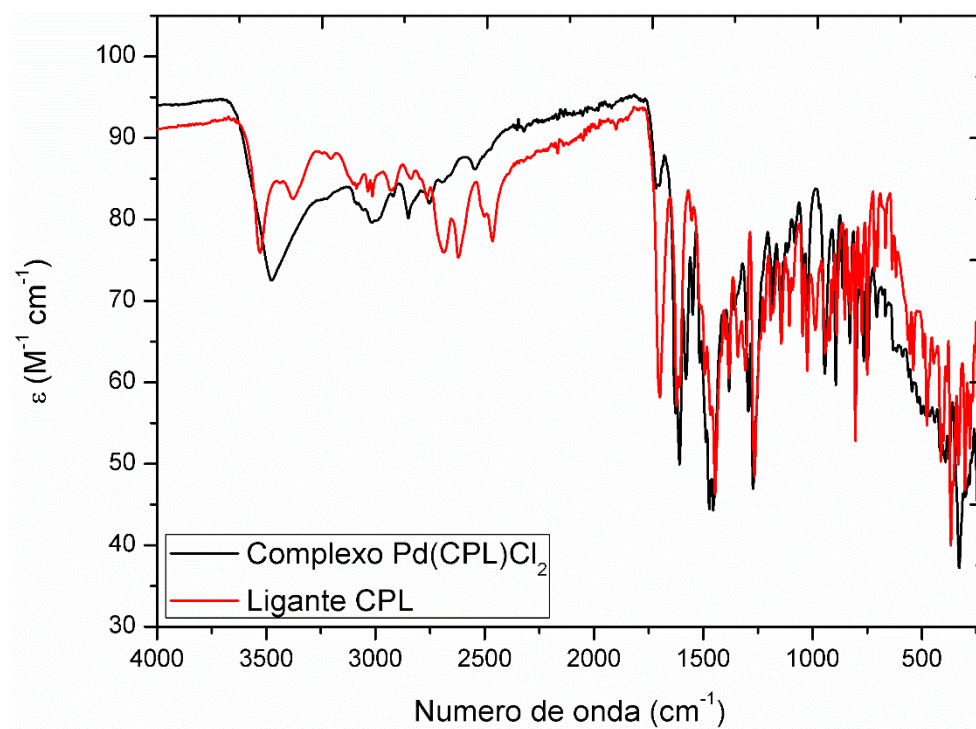
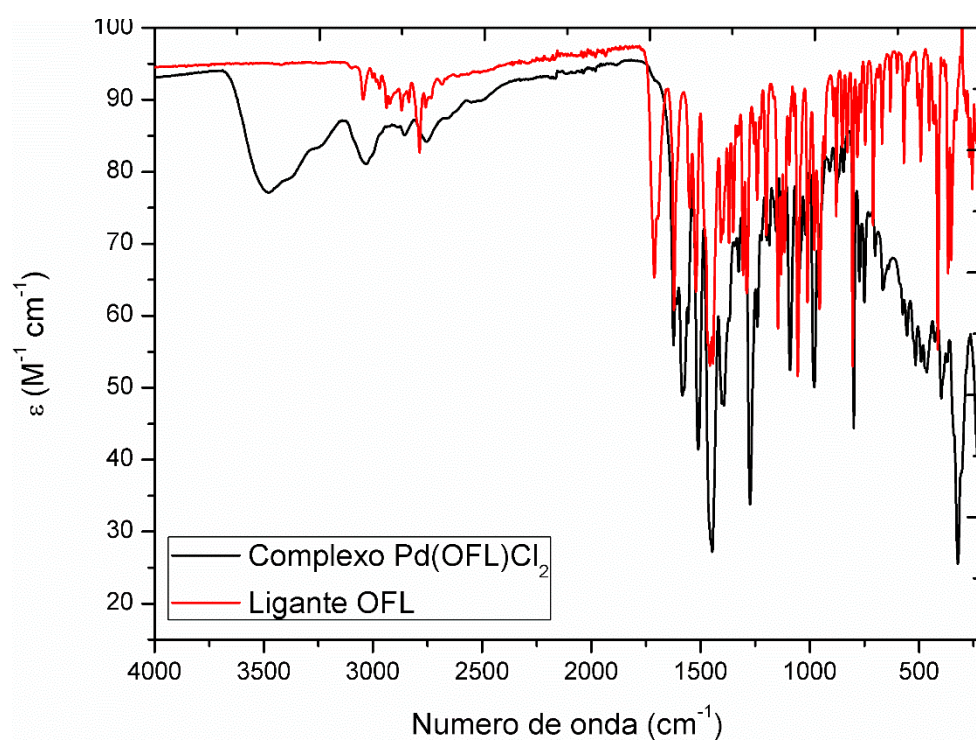
Figura B3: Espectros IV sobrepostos do complexo **III** e ligante CPLFigura B4: Espectros IV sobrepostos do complexo **IV** e do ligante SPF

Figura B5: Espectros IV sobrepostos do complexo **V** e do ligante CPLFigura B6: Espectros IV sobrepostos do complexo **VI** e do ligante OFL

Anexo C: Espectros de massas para os complexos II e III

Figura C1: Espectro de massas para o complexo II

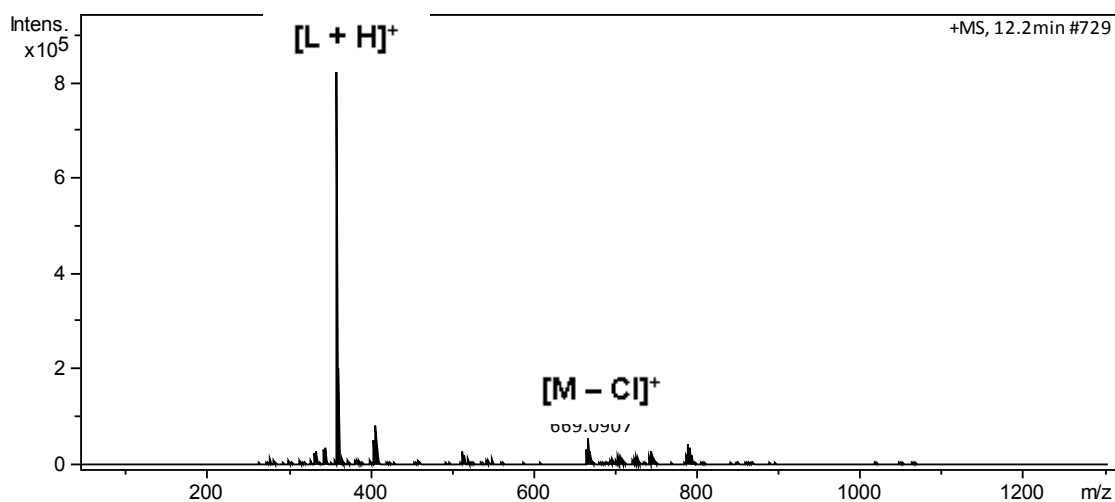
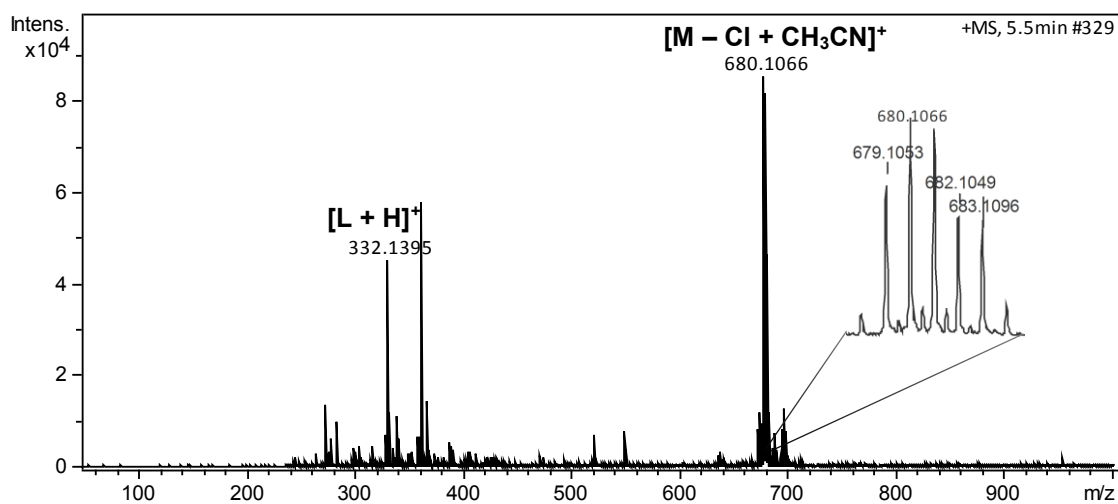


Figura C2: Espectro de massas para o complexo III



Anexo D: Espectros de RMN ^1H dos ligantes fluoroquinolonas e complexos de Pd(II) e Pt(II)

Figura D1: Espectro de RMN ^1H para o ligante LFL

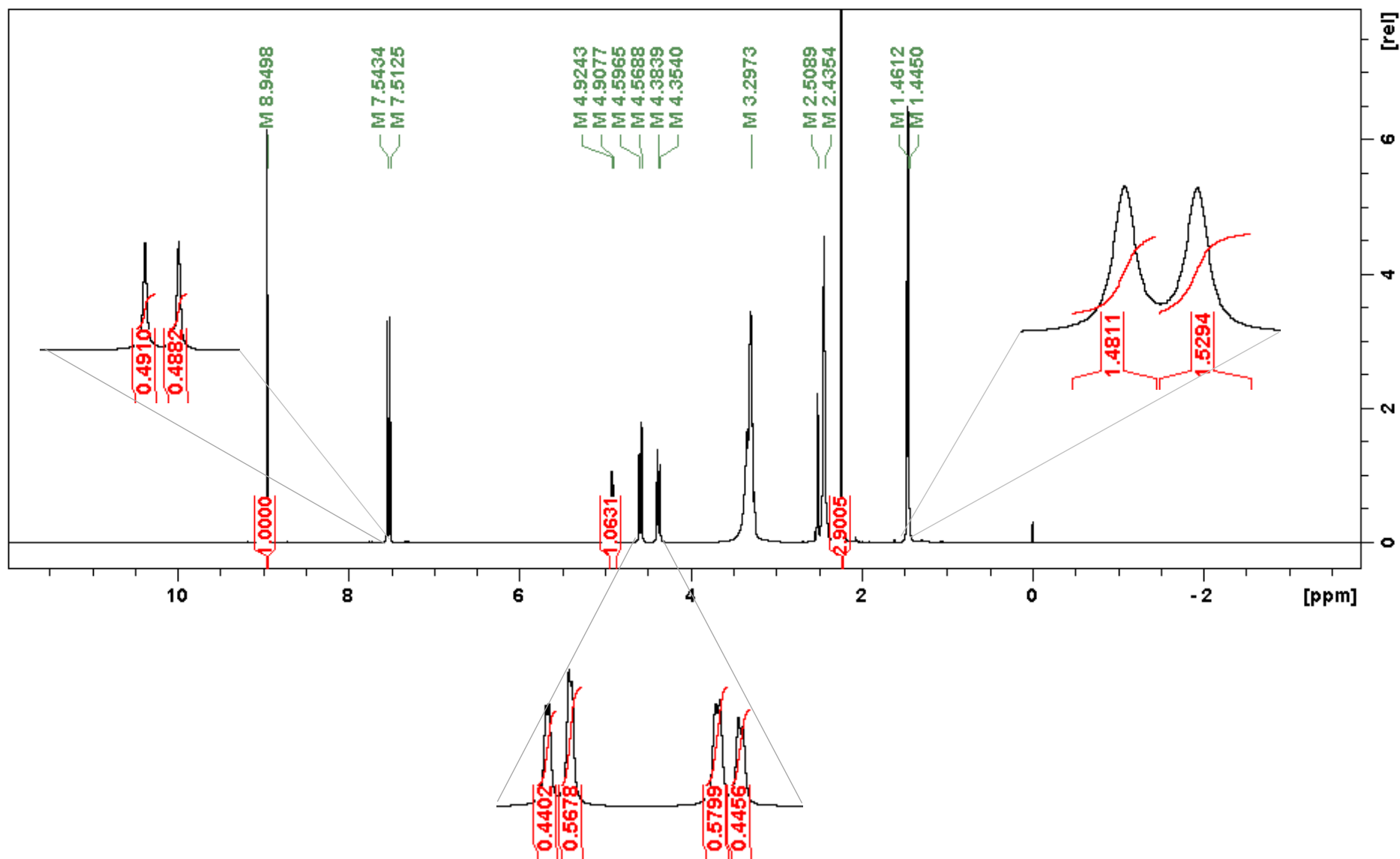


Figura D2: Espectro de RMN ^1H para o complexo I

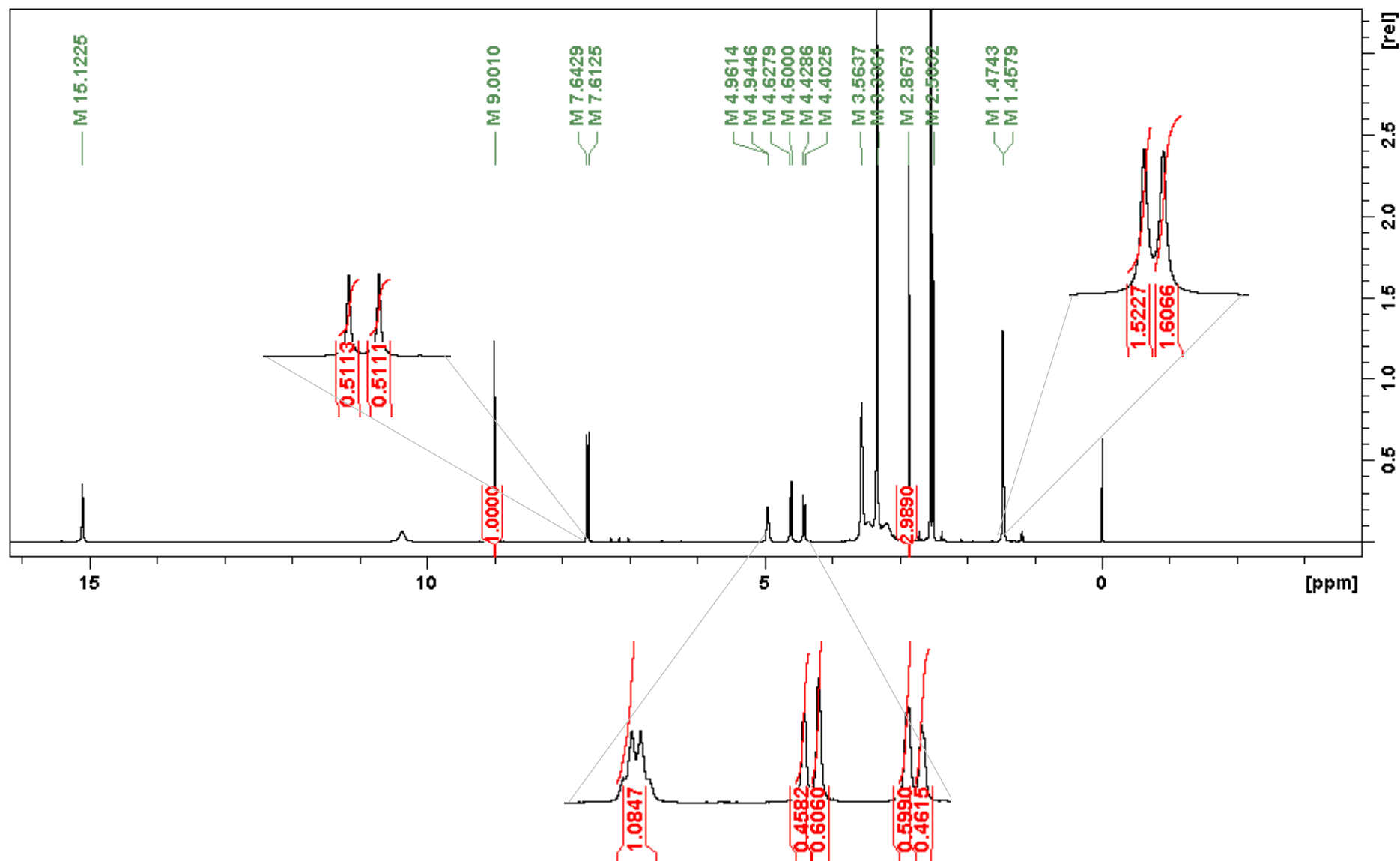


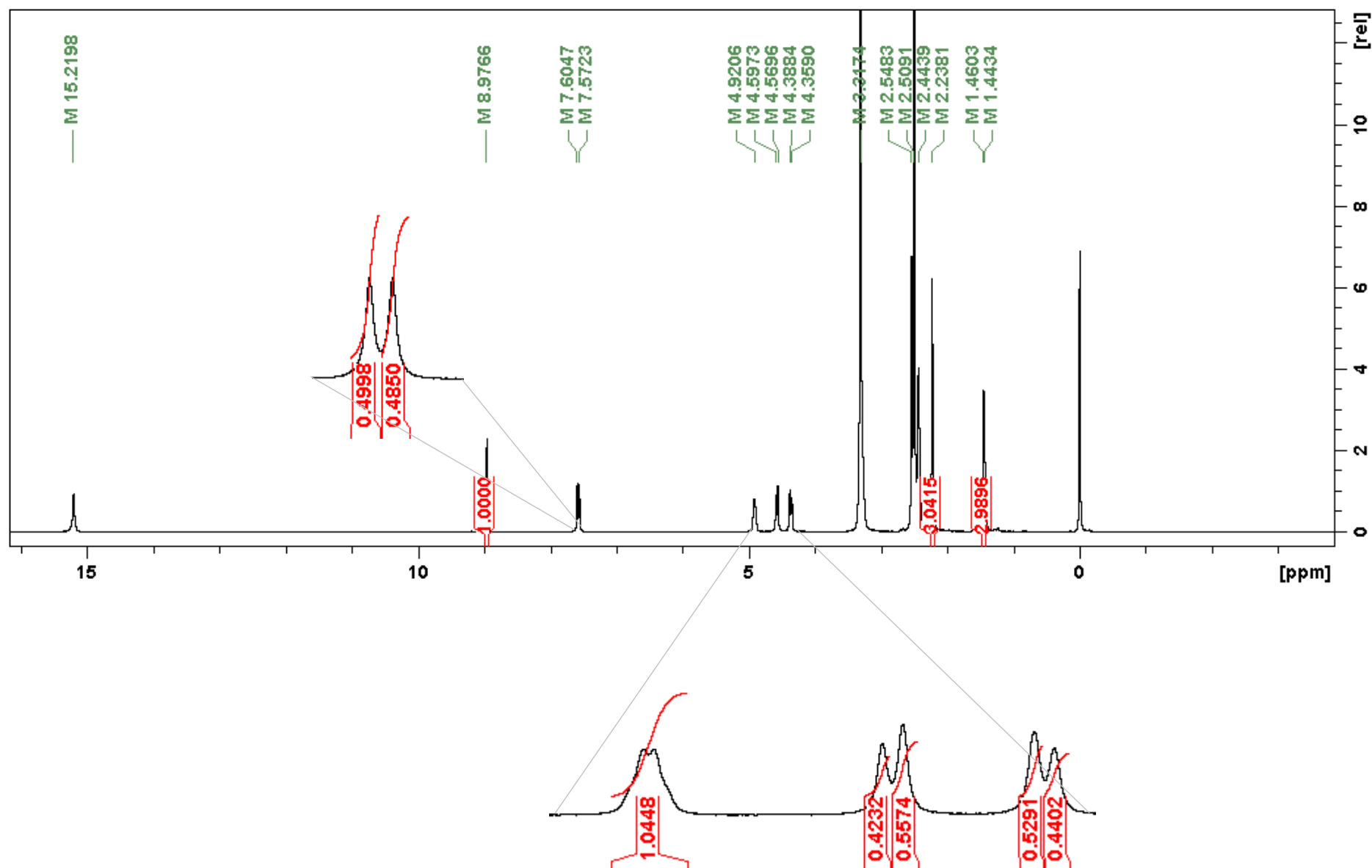
Figura D3: Espectro de RMN ^1H para o ligante OFL

Figura D4: Espectro de RMN ^1H para o complexo **II**

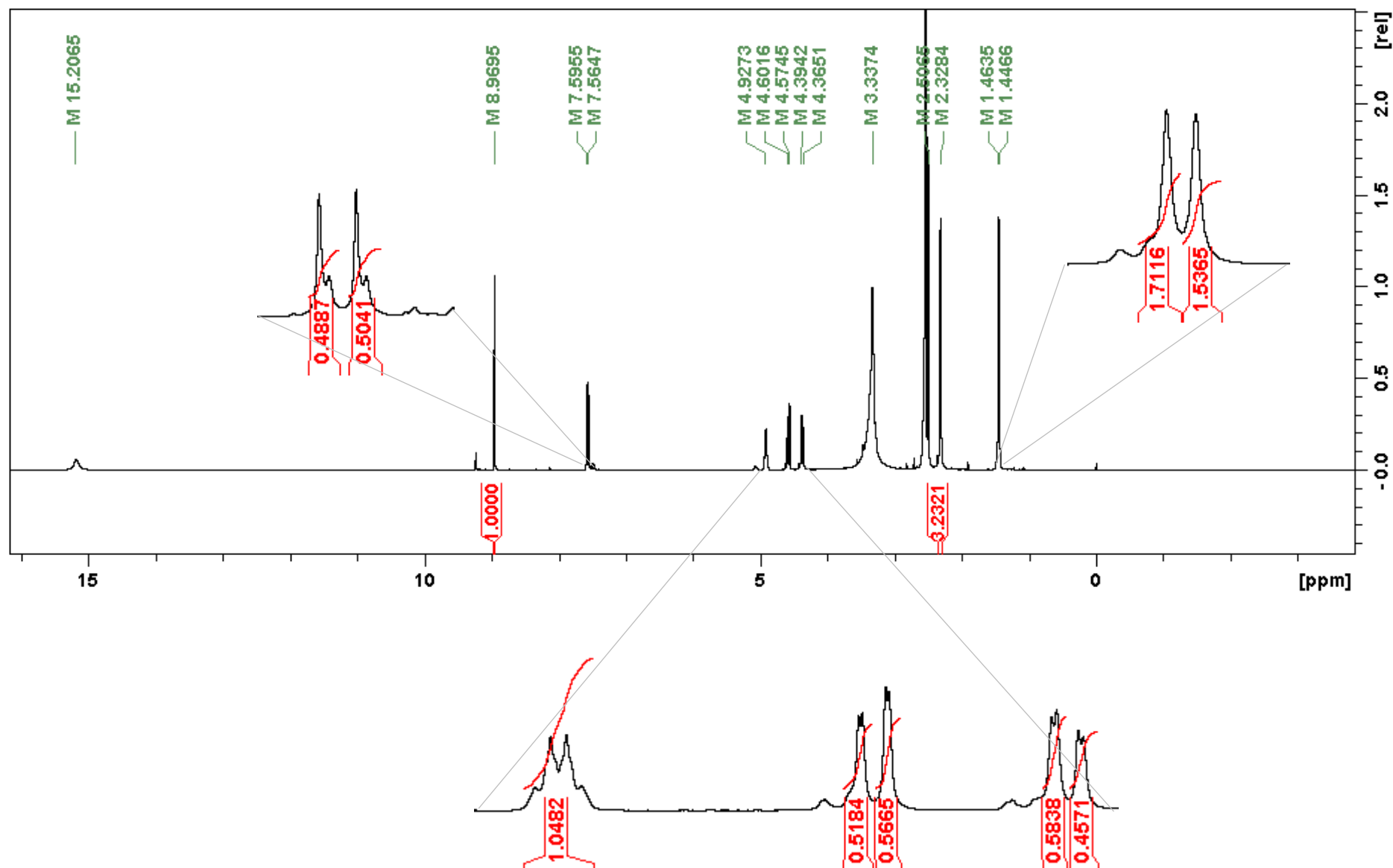


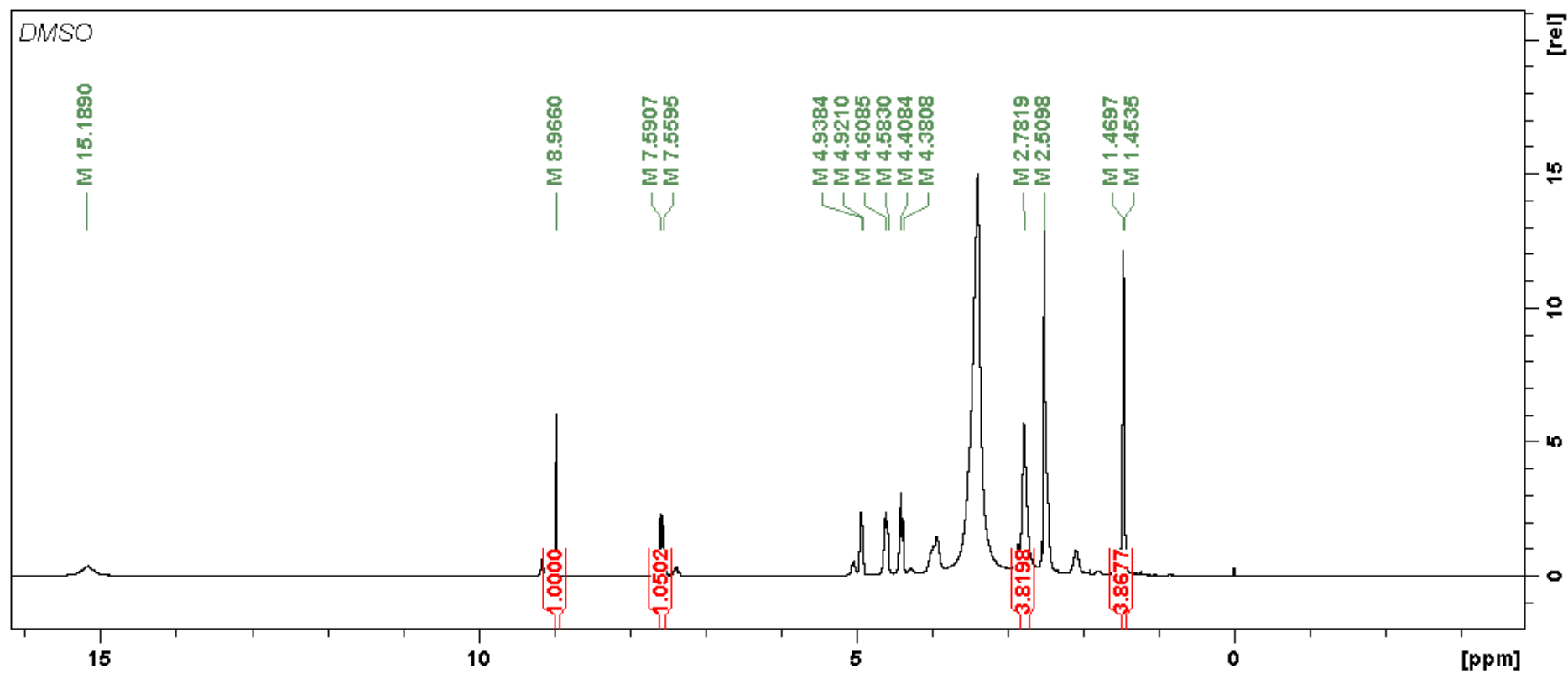
Figura D5: Espectro de RMN ^1H para o complexo **VI**

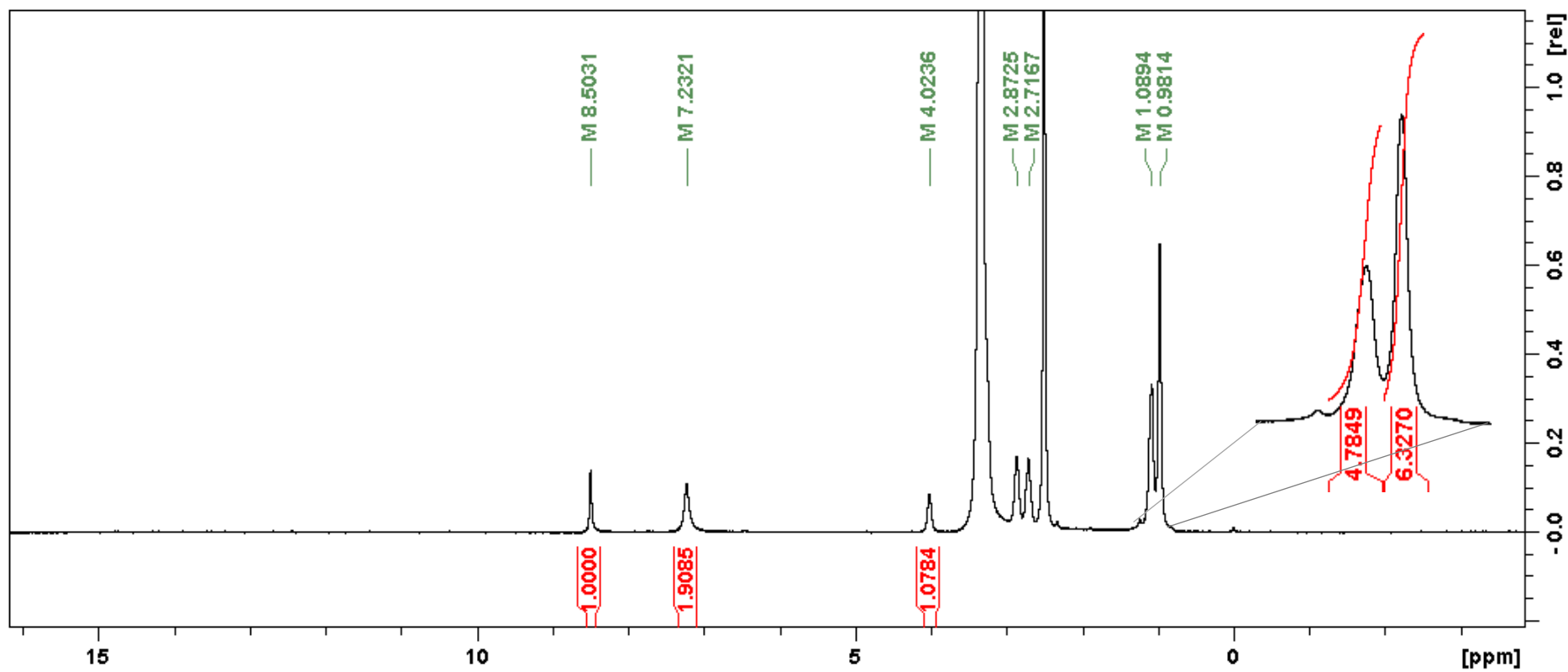
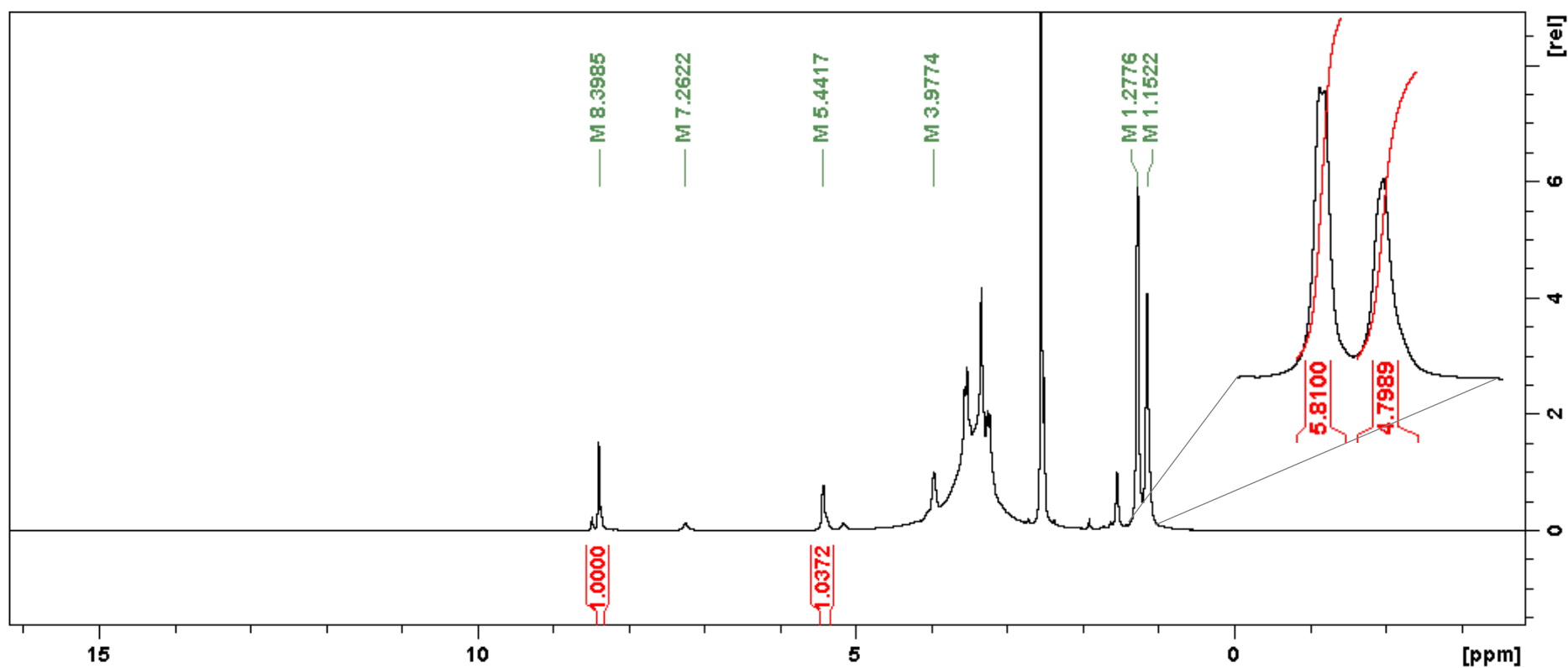
Figura D6: Espectro de RMN ^1H para o ligante SPF

Figura D7: Espectro de RMN ^1H para o complexo **IV**

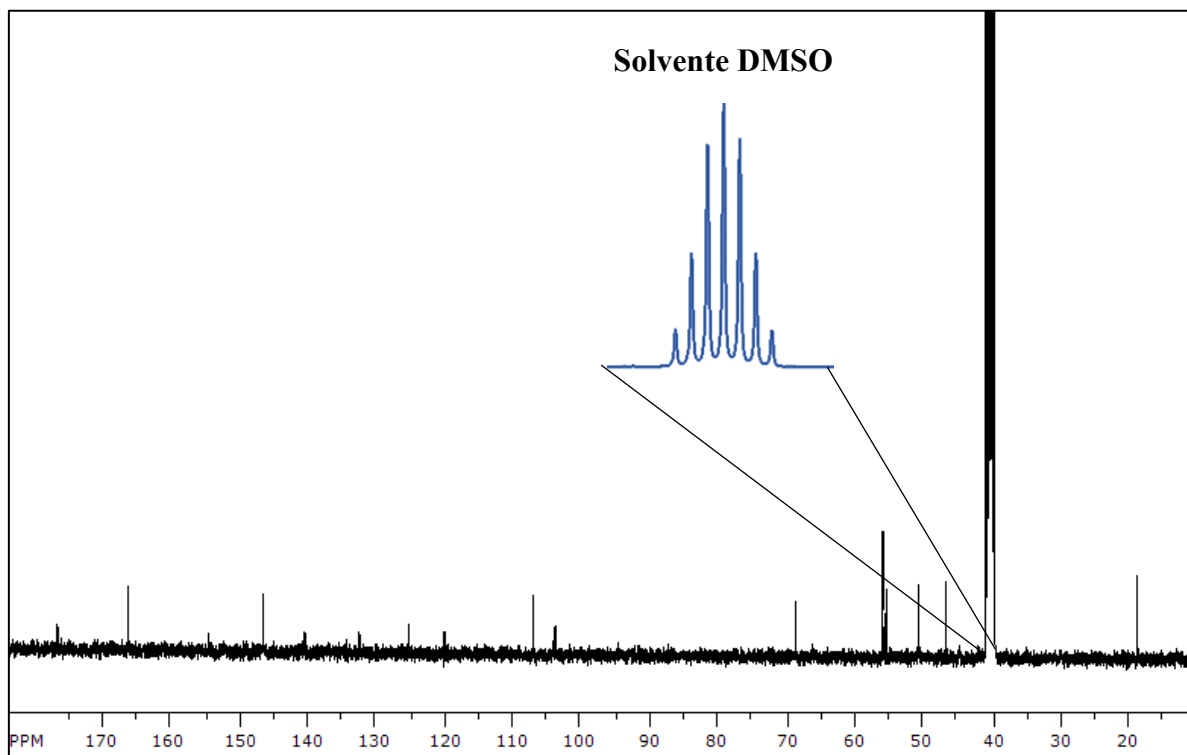
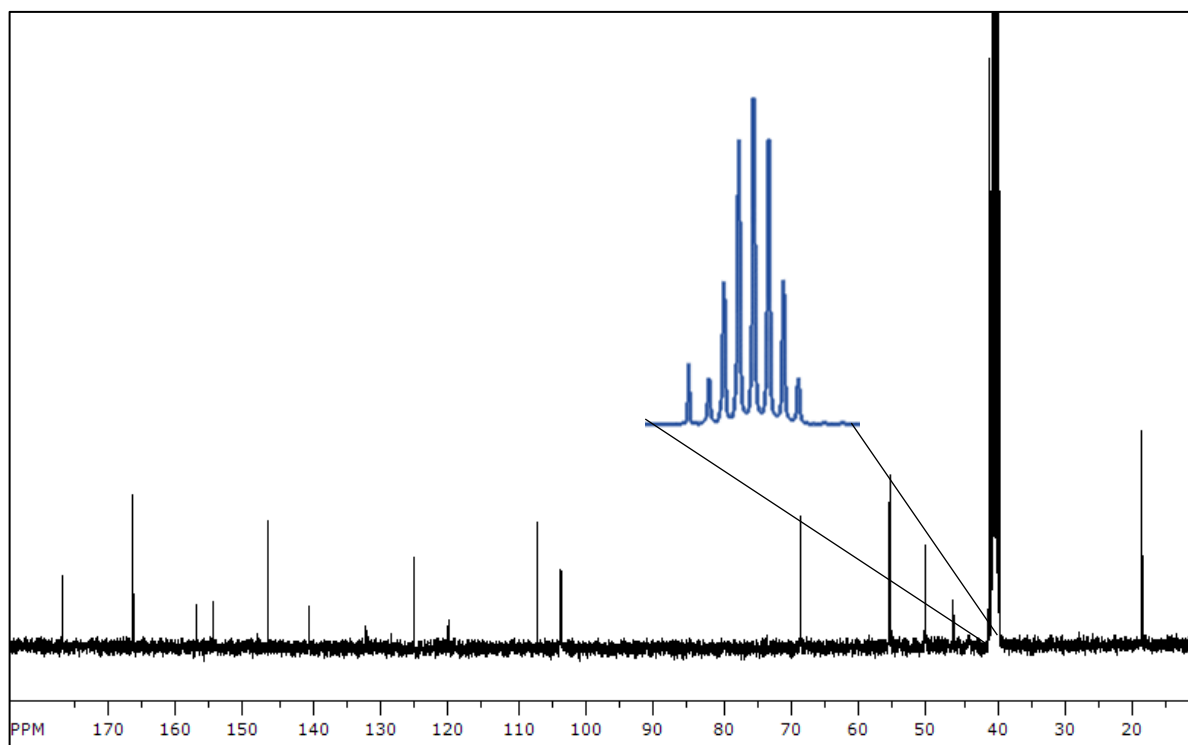
Anexo E: Espectros de RMN ^{13}C para os ligantes fluoroquinolonas e complexos III, V e**VI**Figura E1: Espectro de RMN ^{13}C para o ligante OFLFigura E2: Espectro de RMN ^{13}C para o complexo II

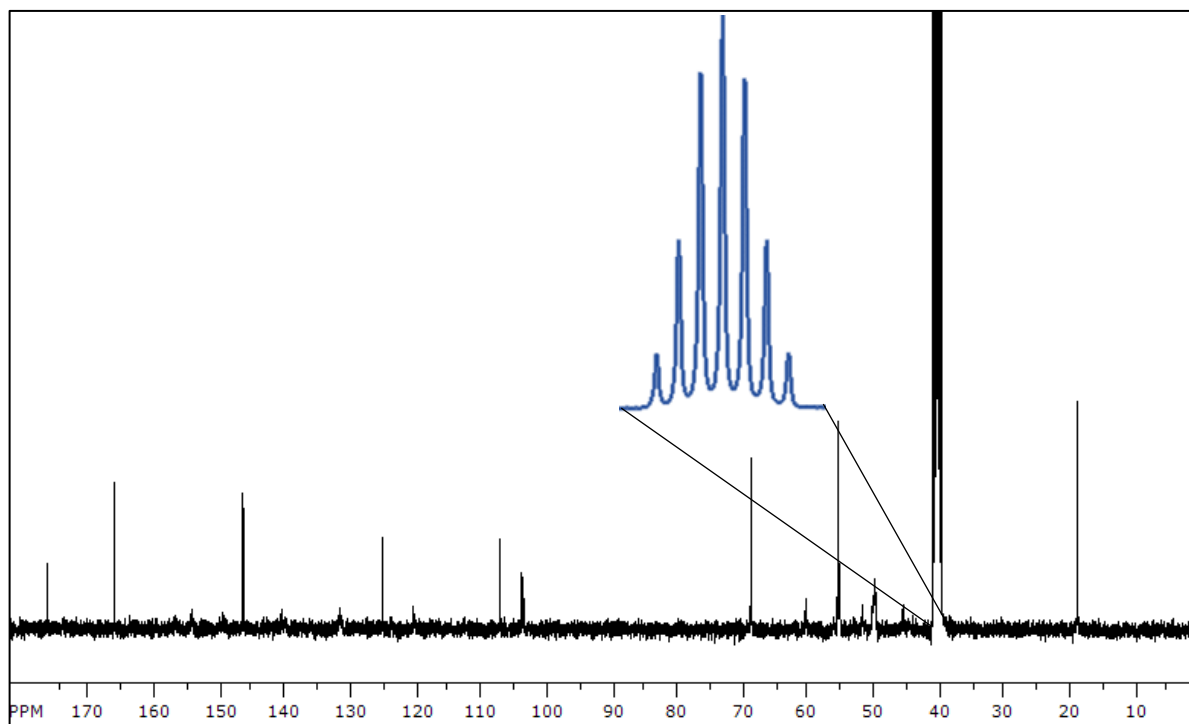
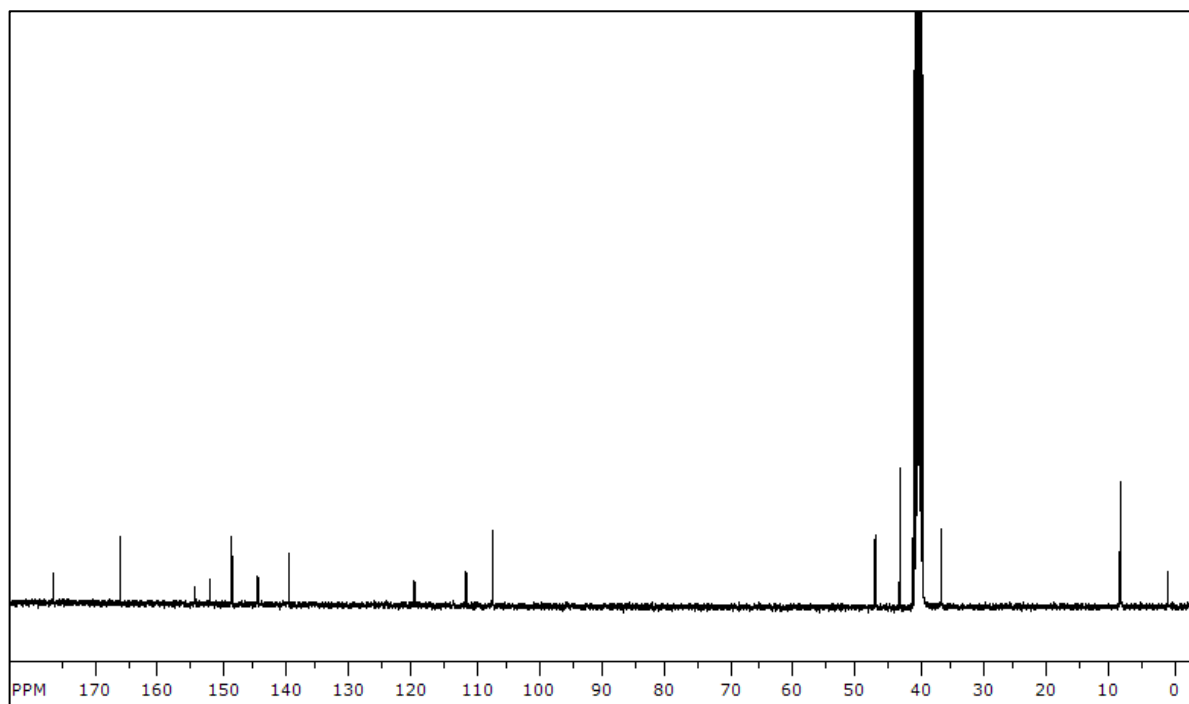
Figura E3: Espectro de RMN ^{13}C para o complexo **VI**Figura E4: Espectro de RMN ^{13}C para o ligante CPL

Figura E5: Espectro de RMN ^{13}C para o complexo **III**

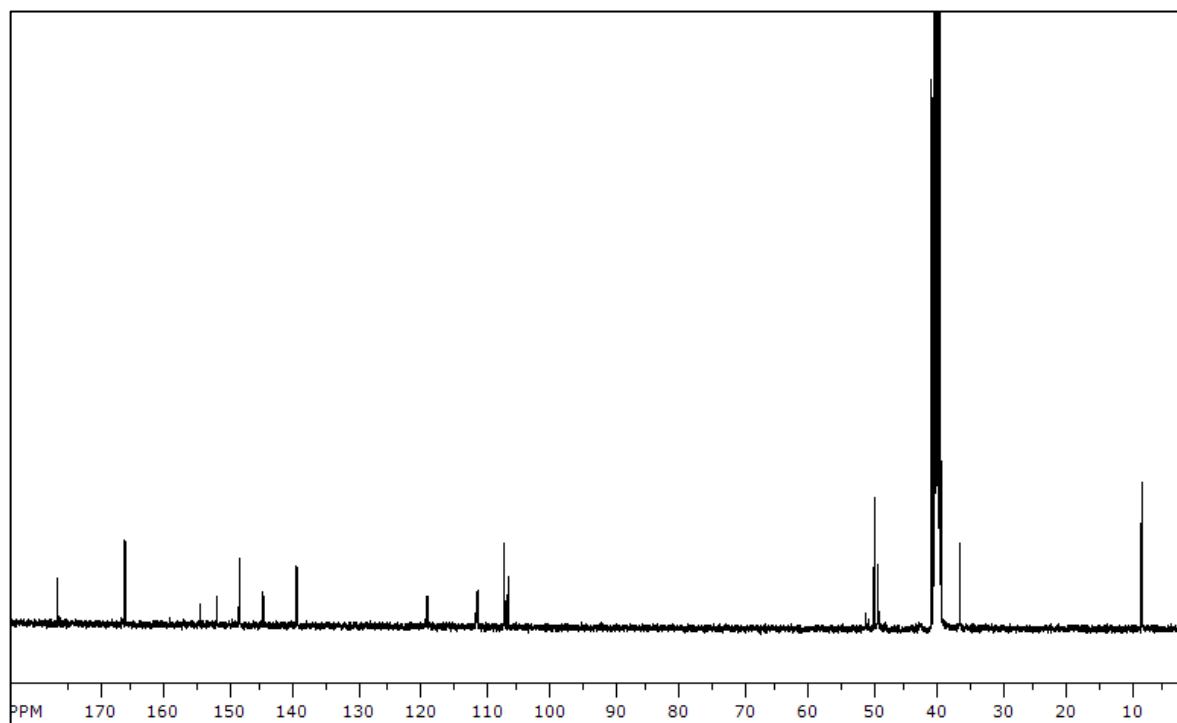


Figura E6: Espectro de RMN ^{13}C para o complexo **V**

