MÁRCIA KIYOKO TANIMOTO

**A reatividade da fluoroquinolona ciprofloxacina
com o metal de transição rutênio.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para a obtenção do Título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Produtos Naturais e
Sintéticos

Orientada: Márcia Kiyoko Tanimoto

Orientadora: Profa. Dra. Sofia Nikolaou

Ribeirão Preto

2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Tanimoto, Márcia Kiyoko

A reatividade da fluoroquinolona ciprofloxacina com o metal de transição rutênio

67 p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientadora: Nikolaou, Sofia

1. Fluoroquinolonas 2. Rutênio. 3. Metalofármaco. 4. Ciprofloxacina

Nome: TANIMOTO, Márcia Kiyoko

Título: A reatividade da fluoroquinolona ciprofloxacina com o metal de transição rutênio

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Produtos Naturais e Síntéticos

Orientadora: Sofia Nikolaou

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

À profª Dra Sofia Nikolaou, pela idéia fantástica de trabalhar com a coordenação de uma fluoroquinolona ao metal de transição rutênio.

Ao Sérgio Dovidauskas, um grande amigo que contribuiu muito para a realização desse trabalho, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e me co-orientando da melhor forma possível.

Aos meus pais por toda força que me deram.

*Se uma idéia, em um primeiro momento não parecer absurda,
não tem razão de existir*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À prof^a Dr^a. Sofia Nikolaou, por me aceitar como aluna mesmo sabendo das dificuldades que eu enfrentaria por ter feito a graduação em uma universidade particular;

Ao prof. Dr. Norberto Peporine Lopes por permitir o uso do Espectrômetro de Massas;

Ao Thomaz pela aquisição dos espectros de massas;

À Maria Perpétua Freire de Moraes Del Lama pela aquisição dos espectros de infravermelho;

À Ana Paula Landi Librandi, pela amizade e por me ajudar durante as sínteses e os resumos de trabalhos;

À Simone por tudo que me ensinou dentro laboratório;

Ao Sérgio Dovidauskas por toda amizade, o incentivo, a contribuição e a credibilidade depositada em mim;

À minha mãe, pelas orações e palavras que sempre me deram força;

Ao meu pai, pelos conselhos que sempre me direcionaram para um futuro promissor;

E aos órgãos de fomento Fapesp, CNPq e em especial à Capes pela bolsa concedida.

Resumo

Tanimoto, M. K. (2009). *A reatividade da ciprofloxacina com o metal de transição rutênio*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Nesta dissertação são apresentadas a síntese e caracterização de duas novas substâncias, consideradas aqui como metalo-fármacos em potencial: o composto iônico $(C_{17}H_{19}FN_3O_3)_3[RuCl_6].3H_2O$ e o complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, obtidos através da reação entre Ru^{III} e a fluoroquinona ciprofloxacina em diferentes condições de síntese (meio ácido ou neutro e refluxo, respectivamente). O espectro ESI MS em modo positivo de $(C_{17}H_{19}FN_3O_3)_3[RuCl_6].3H_2O$ exibiu um pico principal em $m/z = 994,6$ que foi atribuído ao aduto $(ciprofloxacina)_3.H^+$ em fase gasosa, enquanto $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ apresentou picos m/z em 1093,3 e 547,1, atribuídos aos íons $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].H^+$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].2H^+$, respectivamente. Os resultados de análise térmica estão em concordância com os conteúdos de água propostos para as duas substâncias. Os espectros de absorção em meio aquoso são dominados pelas transições da ciprofloxacina na região UV. Não obstante, duas bandas foram observadas em 421 e 496 nm no caso de $(C_{17}H_{19}FN_3O_3)_3[RuCl_6].3H_2O$, e atribuídas à transição de transferência de carga e à transição d-d, respectivamente; no caso de $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, apenas um ombro largo em torno de 450 nm foi observado na região do Visível, tendo sido atribuído à uma transição d-d. O voltamograma cíclico deste complexo exibiu um processo quase-reversível em $-0,25$ V (*versus* EPH) enquanto o composto iônico apresentou o mesmo processo em $-0,11$ V, sugerindo que, neste caso, o íon central de rutênio é estabilizado no estado de oxidação III através da coordenação dos átomos de oxigênio das três unidades de ciprofloxacina. O complexo de coordenação é estável por mais de 48 horas em pH fisiológico, estomacal e intestinal. Ambos foram incubados nas condições estomacais (pH = 1,5 e temperatura = $37^{\circ}C$) e não causaram diminuições significativas nos valores de pH.

Palavras-chaves: Metalo-fármacos. Rutênio. Ciprofloxacina. Fluoroquinolonas. Atividade Biológica de Complexos de Metais de Transição.

Abstract

Tanimoto, M. K. (2009). The ciprofloxacin reactivity towards the ruthenium transition metal. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

This work presents the synthesis and characterization of two potential new metallo-drugs, the ionic $(C_{17}H_{19}FN_3O_3)_3[RuCl_6].3H_2O$ and the coordination $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ compounds, by combining ruthenium (III) and the fluoroquinolone ciprofloxacin in different synthetic conditions (acid media or neutral and reflux conditions, respectively). The ESI MS (positive mode) spectrum of the ionic compound displayed a main peak at $m/z = 994.6$, which was assigned to the gaseous phase adduct $(ciprofloxacin)_3.H^+$, while the coordination compound featured peaks at m/z 1093.3 and 547.1 ascribed to the singly and doubly charged ions $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].H^+$ and $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].2H^+$, respectively. Thermal analysis corroborated the proposed water content for both complexes. The absorption spectra of the compounds in aqueous medium are dominated by the ciprofloxacin transitions in the UV region but two bands were observed at 421nm and 496nm for the ionic compound, assigned to a charge transfer and d-d transitions. In the case of the coordination compound only a broad shoulder around 450 nm was observed in the visible region, also assigned to a ligand field transition. The cyclic voltammograms of the $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3]$ complex exhibited a quasi-reversible process ascribed to the Ru(II) / (III) redox pair at -0.25 V (vs SHE) while compound $(C_{17}H_{19}FN_3O_3)_3[RuCl_6]$ displayed this process at -0.11V, showing that the central ruthenium ion is stabilized in the (III) oxidation state by the coordination to the hard oxygen atoms of the ciprofloxacin ligand. The coordination compound is stable under physiological, stomachal and intestinal pH over 48 hours. Both compounds are stable incubated under stomachal conditions (pH=1.5 and 37°C) without significant pH lowering.

Keywords: Metallo-drugs. Ruthenium. Ciprofloxacin. Fluoroquinolones. Biological Activity of Transition Metal Complexes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas centrais de quinolonas	3
Figura 2. Estrutura da ciprofloxacina.....	4
Figura 3. Estruturas de ferro-heme (A) e vitamina B ₁₂ (B).....	6
Figura 4. Espectro de massas ESI MS, do composto iônico [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O, adquirido a partir de uma mistura 70 CH ₃ OH : 30 CHCl ₃ (v : v)	25
Figura 5. Expansão de algumas regiões do espectro ESI MS do composto [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O, com destaque para a distribuição isotópica do carbono.	26
Figura 6. Espectro de massas ESI MS do complexo [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O, adquirido a partir de solução metanólica, com destaque para a distribuição isotópica do rutênio. (a) ampliação do pico m/z 1093.3; (b) ampliação do pico m/z 547.15.....	28
Figura 7. Curvas TG e DTA obtidas para os compostos (a) [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O (b) [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O e (c) ciprofloxacina, sob atmosfera de N _{2(g)}	30
Figura 8. Estrutura do composto [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O	35
Figura 9. Espectro de RMN ¹ H do composto [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O em solução 1 x 10 ⁻² mol L ⁻¹ em DMSO-d ₆	36
Figura 10. Espectro COSY do composto [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O,	36
Figura 11. Estrutura do complexo [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O.....	38
Figura 12. Espectro de ¹ H do complexo [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O,	39
Figura 13. Espectro COSY do complexo [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O, solução 1 x 10 ⁻² mol/L em D ₂ O.....	39
Figura 14. Espectros vibracionais na região do infra-vermelho dos compostos (a) [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O, (b) ciprofloxacina e (c) [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O, obtidos a partir de pastilhas de KBr.....	42
Figura 15. Estrutura da ciprofloxacina (a) na forma zwitteriônica, (b) em [Ru(C ₁₇ H ₁₇ FN ₃ O ₃) ₃].4H ₂ O e (c) em [C ₁₇ H ₁₉ FN ₃ O ₃] ₃ [RuCl ₆].3H ₂ O, com destaque para as funções amina e ácido carboxílico.....	43
Figura 16. Modos de coordenação do carboxilato a um íon metálico	44

Figura 17. Espectro eletrônico do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, adquirido em solução de DMSO (a) $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (b) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.	46
Figura 18. Espectro eletrônico do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ adquirido em (a) solução aquosa $8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e (b) solução saturada em DMSO.	47
Figura 19. Espectro eletrônico da ciprofloxacina em solução obtida pela dissolução da ciprofloxacina em DMSO e posterior filtragem com filtro Millipore $0,45 \mu\text{m}$.	47
Figura 20. Voltamograma cíclico do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF ₆ , DMSO.	49
Figura 21. Voltamograma cíclico do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF ₆ , DMSO.	50
Figura 22. Variação de absorvância em função do pH e curva da primeira derivada para determinação do pKa da ciprofloxacina coordenada no complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$.	52
Figura 23. Estrutura da ciprofloxacina com destaque para um dos nitrogênios do grupo piperazina.	54
Figura 24. Variação de absorvância em função do pH e curva da primeira derivada para determinação dos pKas da ciprofloxacina no composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ (a) entre pH = 1,5 a 6,5 e (b) 7,3 a 12,8.	55
Figura 25. Espectros eletrônicos do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ em solução de HCl, pH 1,5; tampão PBS, pH 7,4 e solução de NaOH, pH 8,0 (a) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ e (b) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.	56
Figura 26. Espectros eletrônicos do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, $8,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de HCl, pH 1,5; tampão PBS, pH 7,4 e solução de NaOH, pH 8,0.	57
Figura 27. Curva de pH em função do tempo dos complexos $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ ($8,0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$) e $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ ($2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução de HCl, pH 1,5; 37°C durante 90 minutos.	57
Figura 28. Variação do espectro eletrônico de $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ com o tempo (a) em pH fisiológico ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em PBS) e (b) em meio aquoso ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em H ₂ O).	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação de reagentes e solventes utilizados	14
Tabela 2. Resultados de análise elementar obtidos para os compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	29
Tabela 3. Valores de deslocamento químico δ (ppm) de 1H observados para o composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e atribuições tentativas.	35
Tabela 4. Valores de deslocamento químico δ (ppm) de 1H observados para o complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ e atribuições tentativas.....	38
Tabela 5. Atribuições tentativas das frequências observadas para $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$; ciprofloxacina e $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	41
Tabela 6. Atribuições tentativas das bandas observadas no espectros dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ e da ciprofloxacina livre.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AN	acetonitrila
COSY	correlated spectroscopy
DCM	diclorometano
DMSO	dimetil sulfóxido
DNA	ácido desoxirribonucléico
E^0	potencial padrão de redução
$E_{1/2}$	potencial de meia onda
E_{pa}	potencial de pico anódico
E_{pc}	potencial de pico catódico
EPH	eletrodo padrão de hidrogênio
EPR	electron paramagnetic resonance
TBAPF ₆	hexafluorofosfato de tetrabutyl-amônio
IL	transição interna do ligante
IV	infravermelho
UV	ultravioleta
MM	massa molecular
PBS	phosphate buffered saline
RMN	ressonância magnética nuclear
TCLM	transição de transferência de carga ligante→metal
vs	versus

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
δ	deslocamento químico (RMN) ou deformação do ângulo no plano (IV)
ν	estiramento (IV)
ε	coeficiente de absortividade molar
$\lambda_{\text{máx}}$	comprimento de onda de absorção máxima
π	deformação do ângulo fora do plano (IV)
η	rendimento de síntese

SUMÁRIO

Resumo	vii
Abstract.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xiii
SUMÁRIO	xiv
1 Introdução.....	2
1.1 Química Medicinal.....	2
1.2 Quinolonas na química medicinal.....	2
1.3 A importância dos metais na Química Medicinal	5
1.4 Quinolonas complexadas a íons metálicos.....	7
1.5 Metalofármacos de rutênio.....	9
2 Objetivos.....	12
3 Materiais e Métodos.....	14
3.1 Reagentes e Solventes	14
3.2 Equipamentos utilizados	15
3.2.1 Espectrometria de Massas de Alta Resolução.....	15
3.2.2 Análise Elementar.....	15
3.2.3 Análise Termogravimétrica	15
3.2.4 Ressonância Magnética Nuclear.....	15
3.2.5 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho	16
3.2.6 Espectroscopia Eletrônica	16
3.2.7 Voltametria Cíclica.....	16
3.2.8 Medidas de pH.....	16
3.2.8.1 Preparação de solução tampão 7,4.....	16
3.3 Dependência do comportamento dos complexos com o pH	17
3.3.1 Determinação do pKa da ciprofloxacina nos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	17
3.3.2 Estabilidade em pH estomacal	17

3.3.3	Estabilidade em pH fisiológico.....	17
3.4	Sínteses	18
3.4.1	Síntese do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	18
3.4.2	Síntese do complexo de coordenação $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	18
3.5	Cromatografia de camada delgada (CCD)	19
4	Resultados e Discussão	21
4.1	Sínteses	21
4.2	Cromatografia de camada delgada	23
4.3	Espectrometria de massas	24
4.3.1	Espectros do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	24
4.3.2	Espectros do complexo de coordenação $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	27
4.4	Análise elementar e análise termogravimétrica	29
4.5	Ressonância magnética nuclear	33
4.5.1	O composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	34
4.5.2	O complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	37
4.6	Espectroscopia vibracional	40
4.7	Espectroscopia eletrônica	45
4.8	Voltametria Cíclica	49
4.9	Dependência do comportamento dos complexos com o pH	52
4.9.1	Determinação dos valores de pKa dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	52
4.9.2	Comportamento dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em pH estomacal, em água e em pH fisiológico	55
5	Considerações Finais	60
6	Referências Bibliográficas	63

INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Química Medicinal

A relação entre as estruturas de substâncias químicas empregadas como medicamentos (os fármacos: anti-inflamatórios, anti-hipertensivos, quimioterápicos, entre outros) e as respectivas atividades terapêuticas no organismo humano – esta é a área de investigação de caráter interdisciplinar conhecida como Química Medicinal que inclui, também, o planejamento estrutural e síntese de novas substâncias com potencial uso no combate às mais diversas doenças. Neste tópico em particular (planejamento e síntese) é que se situa o interesse desta Dissertação.

No desenvolvimento de um provável novo medicamento, algumas considerações iniciais são imprescindíveis: (i) as propriedades farmacodinâmicas, que governam as interações entre a substância planejada e o biorreceptor (reconhecimento molecular), e (ii) as propriedades farmacocinéticas, que regulam fatores de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação, devem ser favoráveis; além disso, (iii) a toxidez da substância deve ser baixa (BARREIRO & FRAGA, 2002).

1.2 Quinolonas na química medicinal

As quinolonas são agentes antimicrobianos usados no tratamento de infecção urinária, prostatite, uretrite, cistite, faringite, gastroenterite e algumas podem ser usadas em casos de infecções sistêmicas (TAVARES, 1996; GILMAN, 1996). Essa classe de antimicrobiano apresenta reconhecida atividade contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (PATRICK, 2005). Essa atividade se deve à capacidade que as quinolonas têm de interagir com enzimas topoisomerases II (DNA-girase) e IV, as quais são responsáveis pelas modificações topológicas do DNA durante a síntese bacteriana (PATRICK, 2005).

De um modo geral as quinolonas (Figura 1) caracterizam-se por conter em sua estrutura um núcleo central que pode ser uma naftiridina (dois nitrogênios, um na posição 1 e o outro na posição 8), uma cinolina (dois nitrogênio, um na posição 1 e o outro na posição 2), uma quínoleína (apenas um nitrogênio na posição 1) ou uma piridopimidina (três nitrogênios, um na posição 1, outro na posição 6 e outro na posição 8). Ligados a esses núcleos centrais podemos encontrar uma função cetona

na posição 4 e um ácido carboxílico na posição 3. Estes grupos são importantes na estrutura das quinolonas, pois através deles as quinolonas ligam-se ao DNA da bactéria por pontes de hidrogênio (TAVARES, 1996) (**Figura 1**).

Figura 1. Estruturas centrais de quinolonas

Em particular, a ciprofloxacina (**Figura 2**) foi a fluoroquinolona investigada neste trabalho. Algumas fluoroquinolonas de interesse, como por exemplo a ciprofloxacina, a norfloxacina e a enoxacina, são assim chamadas por apresentarem um átomo de flúor na posição 6 que aumenta notavelmente a potência antimicrobiana desses fármacos. Além do átomo de flúor na posição 6, essas fluoroquinolonas contêm em suas estruturas um anel piperazínico na posição 7 que garante a estes fármacos atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* (TAVARES, 1996; APPELBAUM & HUNTER, 2000).

A farmacocinética da norfloxacina é pouco favorável, pois a sua absorção por via oral é baixa (30 a 40 % da dose administrada) e, devido à sua pequena solubilidade em pH 7,0, a droga não é disponível para uso parenteral. A norfloxacina não apresenta boa difusão e concentração nos tecidos, sua ligação a proteínas do soro é baixa e a meia vida é cerca de três a quatro horas. A norfloxacina só atinge uma concentração elevada no parênquima renal e nas vias urinárias onde encontra-se em concentrações entre quatro a doze vezes maiores que a concentração no sangue (média de 6,6 mg/ml com doses de 400 mg) (TAVARES, 1996). Sendo assim, ela é bastante usada em casos de infecção urinária, cistite aguda não complicada, gastroenterite aguda, uretrite, faringite e prostatite (TAVARES, 1996; GILMAN, 1996; DEF, 2002/03).

Figura 2. Estrutura da ciprofloxacina

A enoxacina apresenta como núcleo central uma naftiridina, de maneira semelhante ao ácido nalidíxico. Foi sintetizada por pesquisadores da Companhia Dainippon, Japão, sendo introduzida em 1980 por Matsumoto e col. com o código “AT-2266”. A enoxacina é bem absorvida por via oral, passando à corrente circulatória cerca de 85% da dose administrada. A meia-vida é de quatro a sete horas e a ligação protéica é de 35% (TAVARES, 1996).

A ciprofloxacina foi desenvolvida por pesquisadores do laboratório Bayer, Alemanha, sendo introduzida em 1983 por Wise e col. com o nome de “Bay 09867” (TAVARES, 1996). Constitui a mais potente quinolona contra microrganismos gram-negativos, mostrando-se quatro a oito vezes mais ativa que a norfloxacina contra enterobactérias e pseudomonas. A ciprofloxacina pode ser administrada por via oral ou intravenosa. A via intravenosa é indicada em caso de infecções graves ou naqueles pacientes que não podem ingerir. A dose recomendada é de 200mg para infecções urinárias e de 300mg para infecções respiratórias e pélvicas, repetidas a cada doze horas. Para infecções sistêmicas de maior gravidade (septicemia, infecção intra-abdominal, meningites) é recomendada a dose de 400mg de 8/8 em uso intravenoso. A droga deve ser dissolvida em 100ml de solução de cloreto de sódio a 0,9% ou solução glicosada a 5% ou 10% e administrada gota a gota por um período de 30 minutos. Por via oral, são absorvidos cerca de 70% da dose administrada. Sua meia-vida é de quatro horas e sua ligação às proteínas séricas situa-se entre 20% e 30%. A distribuição da ciprofloxacina se faz por diferentes líquidos e tecidos orgânicos, atingindo concentração terapêutica nas amídalas, gânglios linfáticos, secreção brônquica, pulmões, saliva, pele e tecido subcutâneo,

fígado, pâncreas, músculos, aparelho genital feminino, ossos, próstata, sêmen e aparelho renal. Atinge concentração na bile quatro vezes maior que a concentração no sangue (TAVARES, 1996).

A presença de amina e de ácido carboxílico nas estruturas é um dos fatores que favorecem a coordenação destes fármacos a íons metálicos, pois são bons grupos coordenantes. Além disso, os grupamentos amina e ácido podem ser facilmente protonados e desprotonados, causando efeitos eletrônicos nas quinolonas e proporcionando meios para interferir no modo de coordenação quinolona – íon metálico.

1.3 A importância dos metais na Química Medicinal

Os metais desempenham importante papel em estruturas e processos biológicos, principalmente em proteínas (como as enzimas, por exemplo) que desempenham funções tão variadas quanto o transporte de oxigênio no sangue, feito pelo centro ferro-heme da hemoglobina (**Figura 3A**), e transferências multieletrônicas na respiração ou fotoinduzidas na fotossíntese. Os metais ocorrem também na composição de nutrientes essenciais como vitaminas; para citar apenas um exemplo, a vitamina B12 contém um íon de Co^{II} em sua estrutura (**Figura 3B**).

A despeito do fato de participarem em muitos processos biológicos, existe uma visão disseminada de que os metais (em especial os chamados “metais pesados”, categoria na qual se enquadram os metais de transição) são tóxicos. E de fato o são em determinadas circunstâncias. Porém, existem relatos de que há cerca de 5000 anos o uso medicinal de metais já era praticado. Por exemplo: aproximadamente 3000 anos AC o cobre já era usado pelos egípcios na esterilização da água e, em 1500 AC, utilizavam-se medicamentos contendo ferro; nesta mesma época, o ouro já era empregado pelos árabes e chineses em suas formulações terapêuticas (BERALDO, 2005). Assim, embora a elucidação dos mecanismos de ação dos metais no organismo humano seja relativamente recente, existe um grande interesse no uso de metais nas formulações de medicamentos em função do grande potencial dos cátions metálicos como espécies deficientes em elétrons capazes de interagirem com biomoléculas (proteínas, enzimas ou o próprio DNA) e, desse modo, possibilitar a interferência em processos metabólicos das mais diversas naturezas.

Figura 3. Estruturas de ferro-heme (A) e vitamina B₁₂ (B)

No século XIX o trabalho de Alfred Werner foi capaz de explicar a estrutura e as ligações químicas de complexos metálicos. Na mesma época, Paul Ehrlich estudava as relações estrutura-atividade fazendo uso de complexos de arsênio usado no tratamento da sífilis.

Essas descobertas foram extremamente importantes na química inorgânica medicinal, no entanto foi com a descoberta da cisplatina ($cis[Pt(NH_3)_2Cl_2]$) em 1965, pelo físico Barnett Rosenberg, que surgiu um grande interesse em se estudar o uso de complexos metálicos na medicina. A cisplatina é um composto inorgânico que apresentou grande potencial de atividade antitumoral cuja citotoxicidade deve-se à sua capacidade de se ligar ao DNA. Uma vez ligada, a cisplatina causa uma distorção na estrutura da hélice dupla da molécula de DNA, comprometendo a sua transcrição e replicação, o que interfere no desenvolvimento das células tumorais (ZHANG & LIPPARD, 2003; REEDIJK, 1999).

Os estudos começaram a mostrar que a coordenação aos cátions metálicos alterava significativamente o perfil fisiológico das drogas, percebia-se que o complexo podia ser mais ativo que o ligante livre, os efeitos colaterais poderiam ser diminuídos com a complexação e o íon metálico podia estar envolvido no mecanismo de ação do metalo-fármaco por se ligar aos sítios ativos de enzimas.

Além disso, observava-se que a coordenação podia reduzir a resistência celular, uma vez que os mecanismos de resistência que reconhecem um composto orgânico não são capazes de reconhecer um composto inorgânico.

A tendência que os metais tem em perder elétrons facilmente e formar íons com carga positiva, os quais tendem a ser solúveis em fluidos biológicos, é uma característica fundamental para que os metais possam desempenhar as funções biológicas (BENITE et al, 2007) pois a maioria dos compostos orgânicos são moléculas ricas em elétrons e essa oposição de cargas favorece a interação dos íons metálicos com as moléculas biológicas.

Os complexos metálicos que são fundamentais para manutenção da saúde podem ser de origem endógena, como as metalo-proteínas, e exógenas, como os metalo-fármacos. Para sintetizar um complexo metálico é importante considerar a estabilidade termodinâmica e a seletividade do centro metálico. Esses fatores são determinados pelo estado de oxidação, geometria de coordenação, ligante, estrutura tridimensional do complexo, estequiometria e a disponibilidade de ligantes. Além disso, hidrofiliabilidade ou hidrofobicidade, impedimento espacial dos sítios de coordenação, entre outros fatores, podem aumentar ou diminuir a estabilidade de um complexo.

Com o avanço da química medicinal inorgânica houve um crescente interesse em se estudar drogas antitumorais à base de metais (análogos da cisplatina), agentes antimicrobianos e antiartríticos (complexos de ouro), anti-hipertensivos (complexos de ferro e rutênio), antiácidos (à base de Al, Na, Mg, Ca) e complexos de bismuto ativos contra a bactéria *Helicobacter pylori*, causadora da úlcera.

1.4 Quinolonas complexadas a íons metálicos

Uma vez que já se conhece a ação das quinolonas e a importância dos metais na química medicinal, muitos pesquisadores se interessaram em estudar de que forma os íons metálicos podem interferir no mecanismo de ação da quinolonas, uma vez que estas apresentam estrutura favorável para interagir com íons metálicos.

Surgiu então, um grande interesse em se estudar sistemas quinolonas-íons metálicos visando explorar as propriedades químicas e biológicas destes complexos. De um lado um grupo de pesquisadores mostrou que a presença dos metais no

organismo diminui a biodisponibilidade das quinolonas, justamente pela formação de complexos que não podem ser absorvidos; por outro lado, surgiram estudos mostrando uma melhora na atividade do complexo em relação à quinolona livre, pois quando complexada a quinolona se torna mais solúvel, o que poderia ajudar no transporte e na absorção dos fármacos.

Palumbo et al., por exemplo, estudaram qual seria o papel do íon magnésio na interação quinolona-DNA. Inicialmente sugeriram que o Mg(II) agiria como uma ponte entre a quinolona e grupo fosfato do DNA e que esse complexo se estabilizaria por várias interações entre os anéis da quinolona e as bases nitrogenadas do DNA. Em um estudo posterior foi confirmado que o Mg(II) seria capaz de modular a afinidade do DNA pela quinolona, sendo capaz de clivar a enzima DNA-gyrase e assim exercer a atividade bacteriana.

Outro exemplo: Gao et al. sintetizaram complexos de Fe(III) e Zn(II) com norfloxacin e obtiveram, respectivamente, $[\text{Fe}(\text{NOR})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Zn}(\text{NOR})_2]\text{Cl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Esses complexos foram testados *in vitro* contra bactérias Gram negativas (*E. coli* e *Bacillus dysenteria*) e a atividade antibacteriana encontrada para esses complexos mostrou-se superior à da norfloxacin livre.

Quanto à ligação das quinolonas a um íon metálico, observa-se que em meios mais ácidos tem-se um complexo metal-quinolona denominado iônico, na proporção 1 : n (onde n corresponde à carga formal do íon complexo metálico central), e em meios com valores de pH mais altos pode-se formar complexos de coordenação verdadeiros, geralmente nas proporções 1:2, o que seria um modo de coordenação mais favorável. Já em alguns complexos de ferro e alumínio observou-se uma coordenação na proporção de 1:3 (ML) em detrimento da estequiometria 1: 2 (TUREL, 2002).

Embora se tenha estudado bastante a complexação das quinolonas a íons metálicos (TUREL,2002; AL-MUSTAFA & TASHTOUSH, 2002), não foi encontrada na literatura nenhuma quinolona complexada ao íon rutênio.

1.5 Metalo-fármacos de rutênio

O rutênio é um íon metálico capaz de atingir vários estados de oxidação; esta propriedade garante a versatilidade do rutênio frente a diferentes ligantes (CLARKE, 2002). Metalo-fármacos cujo centro metálico é o rutênio possuem boa aplicação clínica, principalmente por ser baixa a toxicidade do metal (ALLARDYCE & DYSON, 2001). Isto se deve, em parte, à semelhança das propriedades físico-químicas deste íon metálico com as do íon ferro. O organismo consegue proteger-se dos efeitos causados por um excesso de ferro através do aumento da produção de proteínas captadoras de ferro, como a transferina e a albumina. Alguns autores acreditam que o mecanismo de defesa contra a toxicidade do rutênio seja o mesmo (ALLARDYCE & DYSON, 2001).

Lembrando que a toxicidade do metal também está relacionada com o seu estado de oxidação, pode-se afirmar que outro fator da baixa toxicidade do rutênio é a sua habilidade de atingir vários estados de oxidação (II, III e IV) em meio fisiológico. Provavelmente isso ocorra devido às reações redox causadas pela enzima citocromo-c oxidase, pela glutatona ou pelo ascorbato (ALLARDYCE & DYSON, 2001).

Complexos metálicos de rutênio podem ter aplicações como imunossupressor (BAILEY et al., 1997; BASTOS et al., 1998), como antibiótico (SANCHEZ-DELGADO et al., 1996; NAVARRO et al., 1997), anticancerígeno (SAVA et al., 1995), antifúngico (de LIMA et al., 2003), intercalador de DNA (ABUFARAQ & REEDIJK, 1995) e como agente anti-HVI (MISHRA et al., 2001).

Alguns complexos de rutênio demonstram ter um efeito similar às drogas da platina (II) já utilizada no tratamento de tumores, porém apresentaram uma toxicidade mais baixa (BRABEC & NOVÁKOVÁ, 2006). Ainda atuam na excitação de neutrófilos humanos que penetram profundamente no tumor que está se proliferando e produzem moléculas tóxicas.

A atividade anticarcinogênica associada a uma alta seletividade pelas células cancerígenas tem sido atribuída a alguns complexos de rutênio (CARABALHO et al., 1997) que são capazes de inibir a proliferação de linhas de células cancerígenas no câncer de colo retal (GALEANO et al., 1992).

Além disso, alguns complexos de rutênio têm mostrado habilidade de interferir com a via do óxido nítrico (NO) em sistemas biológicos (FRICKER et al., 1997), o

que sugere um potencial para emprego terapêutico, pois o óxido nítrico é uma molécula que desempenha importante papel nos processos biológicos, atuando como transmissor em comunicação celular, além de ser um importante segundo mensageiro que tem a habilidade de controlar o ambiente onde é produzido. Essa molécula também foi identificada como sendo um fator relaxante derivada do endotélio, onde desempenha um importante papel no controle do tônus vascular (BONAVENTURA et al., 2006) além de atuar em vários processos fisiológicos, como por exemplo, na neurotransmissão no sistema nervoso periférico.

OBJETIVOS

2 Objetivos

De maneira geral, os objetivos deste trabalho são a síntese e a caracterização de novos metalo-fármacos em potencial obtidos a partir da combinação do íon metálico rutênio (Ru(III)) com a fluoroquinolona ciprofloxacina. Os objetivos específicos são discriminados a seguir:

1. Síntese de novos metalo-fármacos em potencial a partir da combinação do rutênio com a fluoroquinolona ciprofloxacina através de duas rotas sintéticas diferentes, a saber: em meio aquoso sem controle de pH e em meio ácido.
2. Purificação dos compostos obtidos, por recristalização ou cromatografia de adsorção, caso seja necessário.
3. Realizar a caracterização dos compostos obtidos, em meio orgânico ou aquoso, dependendo das diferentes solubilidades apresentadas. Essa caracterização foi realizada através dos seguintes experimentos:
 - 3.1) Análise elementar.
 - 3.2) Análise termogravimétrica.
 - 3.3) Espectrometria de massas.
 - 3.4) Espectroscopia RMN.
 - 3.5) Espectroscopia UV-visível.
 - 3.6) Espectroscopia IV.
 - 3.7) Voltametria cíclica.
 - 3.8) Dependência do comportamento dos complexos com variações de pH.

MATERIAIS E MÉTODOS

3 Materiais e Métodos

3.1 Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes foram obtidos comercialmente (todos de grau analítico), utilizados sem purificação prévia. As procedências dos mesmos estão mostradas na **Tabela 1**.

Tabela 1. *Relação de reagentes e solventes utilizados*

Reagentes e Solventes	Teor %	Procedência
Acetona	99,5	Synth
Acetonitrila	99,9	Burdick & Jackso
Ácido clorídrico	36,5~38,0	J.T. Baker
Benzeno	99,9	Cinética Química Ltda
Ciprofloxacina	98	Fluka
Clorofórmio	99,5	F. Maia
Diclorometano	99,5	Vetec
Dimetilformamida	99,7	Vetec
Dimetil sulfóxido	99,5	Merk
Etanol	99,8	Synth
Éter etílico	98	F. Maia
Hexafluorofosfato de tetrabutílica-amônio	98	Aldrich
Hexano	—	Mallinckrodt Chemicals
Hidróxido de sódio	95,0	Nuclear
Metanol	99,5	F. Maia
(Metil sulfóxido)-d ₆	99,9	Aldrich
NH ₄ PF ₆	95	Aldrich
RuCl ₃	99,98	Aldrich

3.2 Equipamentos utilizados

3.2.1 *Espectrometria de Massas de Alta Resolução*

Os espectros foram obtidos em espectrômetro de alta resolução da marca Bruker Daltonics (Billerica, MA, EUA) modelo ultrOTOF_Q - ESI-TOF, nas seguintes condições experimentais: Fluxo de bomba de infusão: $300\mu\text{l/h}$; fase móvel: $\text{CH}_3\text{OH}:\text{CHCl}_3$ (70:30); modo de detecção: positivo. Os espectros foram gentilmente obtidos pelo Dr. José Carlos Tomaz e Prof. Norberto Peporine Lopes, ambos do Departamento de Física e Química da FCFRP.

3.2.2 *Análise Elementar*

As análises elementares (C, H e N) foram realizadas utilizando um equipamento marca CE Instruments modelo EA 1110, na Central Analítica do Departamento de Química da FFCLRP.

3.2.3 *Análise Termogravimétrica*

As análises térmicas foram realizadas em equipamentos da marca SHIMADZU, modelo DTA-50 para a análise térmica diferencial e um modelo TGA-50 para a análise termogravimétrica. Utilizou-se uma rampa de aquecimento de $10^\circ\text{C} / \text{min}$ até a temperatura de 1000°C , sob atmosfera de $\text{N}_{2(g)}$.

3.2.4 *Ressonância Magnética Nuclear*

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H) e COSY foram obtidos a partir de solução aproximadamente $10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ em $\text{DMSO}-d_6$ ou D_2O , a 400 MHz em espectrômetro marca Bruker modelo DRX-400. Os deslocamentos químicos (δ) estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno.

3.2.5 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

Os espectros de infravermelho foram registrados utilizando-se pastilhas de KBr contendo a amostra de interesse, na região de 4000 a 400 cm^{-1} em um espectrofotômetro FTIR marca Nicolet modelo Proteje 460.

3.2.6 Espectroscopia Eletrônica

Os espectros eletrônicos apresentados foram obtidos em um espectrofotômetro UV-visível marca Hitach modelo U-3501, utilizando cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e soluções aproximadamente $10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ em diferentes solventes.

3.2.7 Voltametria Cíclica

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas utilizando um potenciostato/galvanostato marca AUTOLAB® modelo PGSTAT30, acoplado a um microcomputador. Foi utilizada uma cela eletroquímica composta por três eletrodos: de trabalho (disco de platina, diâmetro = 2 mm), de referência (Ag/AgCl, 0,197 V vs EPH) e auxiliar (fio de platina). Os voltamogramas cíclicos foram registrados utilizando-se soluções aproximadamente $4,0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ do complexo em soluções de TBAPF₆, 0,1 mol/L em DMSO e os potenciais apresentados foram corrigidos pelo uso de ferroceno como padrão interno.

3.2.8 Medidas de pH

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se o pHmetro marca Digimed modelo DM-20.

3.2.8.1 Preparação de solução tampão 7,4

Pesou-se 1,518 g Na₂HPO₄ e 6,942 g NaH₂PO₄, que foram dissolvidos em 400 ml de água destilada e em seguida o volume foi completado para 500 ml; o pH foi ajustado para 7,4 com soluções diluídas de NaOH e HCl.

3.3 Dependência do comportamento dos complexos com o pH

3.3.1 Determinação do pK_a da ciprofloxacina nos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$

Foi preparada uma solução do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ em DMSO, concentração $1,0 \times 10^{-4}$ mol/L e, a partir dessa solução preparou-se as demais soluções de concentração $5,0 \times 10^{-6}$ mol/L em diferentes pHs para estudo de pK_a (ajustados com soluções de HCl e NaOH). Alíquotas de 0,5 ml da solução inicialmente preparada foram colocadas em balões de 10 ml e em seguida o volume foi completado com a solução aquosa no pH desejado.

Para o complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ Foi preparada uma solução aquosa de concentração $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L e, a partir dessa solução preparou-se as demais soluções de concentração $8,0 \times 10^{-6}$ mol/L em diferentes pHs para estudo de pK_a . Alíquotas de 0,08 ml da solução inicialmente preparada foram colocadas em balões de 10 ml e em seguida o volume foi completado com a solução aquosa no pH desejado.

Em ambos os casos, a variação de absorvância com o pH foi lida em um comprimento de onda fixo, e os valores encontrados foram plotados em função do pH. A curva foi tratada na planilha Origin 6.0, pelo método de ajuste sigmoidal seguido da primeira derivada.

3.3.2 Estabilidade em pH estomacal

A fim de verificar a estabilidade dos complexos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em pH estomacal, os complexos foram submetidos a um ensaio que mimetizou as condições do estômago, onde os complexos foram solubilizados em solução HCl pH 1,5 e mantidos a temperatura de $37^\circ C$ durante uma hora e trinta minutos. A cada dois minutos foram adquiridos espectros eletrônicos de alíquotas da solução incubada.

3.3.3 Estabilidade em pH fisiológico

A fim de verificar a estabilidade do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em pH fisiológico e em água foi feito uma análise comparativa dos espectros eletrônicos da

solução $1,0 \times 10^{-5}$ mol/L desse complexo em PBS e em H₂O deionizada em diferentes intervalos de tempos. Este ensaio não foi realizado para o complexo [C₁₇H₁₉FN₃O₃]₃[RuCl₆].3H₂O, dada sua baixa solubilidade nos dois meios estudados.

3.4 Sínteses

3.4.1 Síntese do composto iônico [C₁₇H₁₉FN₃O]₃[RuCl₆].3H₂O

Em um balão de 100 ml com duas bocas foram colocados 0,4800 g de ciprofloxacina (1,40 mmol) e 20 ml de etanol. A mistura foi aquecida até refluxo. Adicionou-se então 10 ml de HCl 6 M, até que a ciprofloxacina se dissolvesse totalmente. Após a dissolução da ciprofloxacina, adicionou-se 0,1001 g de RuCl₃ (0,48 mmol) previamente dissolvidos em aproximadamente 5 ml de etanol. A solução adquiriu cor marrom avermelhada. Após duas horas de refluxo, a reação foi interrompida, a solução foi esfriada até a temperatura ambiente e deixada sob refrigeração até o dia seguinte. Houve a formação de um sólido em forma de agulhas laranja-avermelhadas. Ao agitar o balão, esse sólido deixou de ter a forma de agulha e observou-se a presença do sólido no fundo do balão, o qual foi isolado através de filtração a vácuo com papel de filtro quantitativo. O sólido foi então lavado com HCl 0,1 M e etanol, sendo seco ao ar e posteriormente sob vácuo em dessecador contendo sílica gel. Obteve-se 0,3660 g ($\eta = 54\%$). O filtrado (alaranjado forte) ficou sob refluxo por mais duas horas, como não houve alteração de cor a solução foi esfriada até a temperatura ambiente e mantida sob refrigeração por mais 24 horas, houve a formação de mais precipitado, que foi isolado da mesma forma que o primeiro sólido, sendo considerado como uma segunda fração.

3.4.2 Síntese do complexo de coordenação [Ru(C₁₇H₁₇FN₃O₃)₃].4H₂O

A síntese foi feita de acordo com o método encontrado na literatura (CHATTAH, et al., 2007). Em um balão de 25 ml foram colocados 0,1095 g de RuCl₃ (0,48 mmol), 0,4809 g de ciprofloxacina (1,4 mmol) e 15 ml de água, a mistura ficou sob agitação magnética e foi aquecida até refluxo, durante 3 horas. A reação foi interrompida, a solução foi esfriada a temperatura ambiente e filtrada com papel de filtro quantitativo. Isolou-se um sólido escuro que seria o resíduo insolúvel da

síntese, esse foi descartado. Ao filtrado foi adicionado 390 ml de acetona. Houve a precipitação de um sólido mais claro de cor marrom, que foi filtrado em papel de filtro quantitativo e seco ao ar e posteriormente sob vácuo em dessecador contendo sílica gel. Obteve-se 0,3546 g do sólido claro de cor marrom ($\eta = 63\%$).

3.5 Cromatografia de camada delgada (CCD)

Para verificar a presença de contaminação por ciprofloxacina nos sólidos obtidos, foram feitas algumas CCDs usando-se uma cuba saturada com fase móvel acetonitrila e metanol (50:50, v:v) e como fase estacionária usou-se uma placa de alumina neutra. A ciprofloxacina foi solubilizada em HCl 0,1 M, o complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ em DMSO e o composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{Ru Cl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em metanol. As amostras foram aplicadas com auxílio de um capilar e para a evaporação dos solventes uso-se um secador após cada aplicação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 Resultados e Discussão

4.1 Sínteses

A primeira e principal diferença observada entre os produtos das duas sínteses realizadas foi a diferença em suas solubilidades: enquanto o produto da síntese realizada em meio ácido apresenta baixa solubilidade em água (sendo solúvel apenas em DMSO), o produto da segunda síntese solubilizou-se muito bem em água e pode se dizer que o mesmo teve uma boa solubilidade também em DMSO e metanol, tal qual um complexo análogo de ferro recentemente reportado na literatura (PSOMAS, 2008). Este resultado sinaliza para obtenção de produtos com estruturas diferentes, o que responderia pela diferença de solubilidade dos mesmos em meio aquoso.

A primeira síntese foi realizada em meio etanólico, aquecimento até refluxo e com adição de ácido (HCl 6 M) para solubilização da ciprofloxacina pois, de acordo com dados encontrados na literatura (MERCK INDEX), a ciprofloxacina apresenta-se solúvel em extremos de pH. Sendo assim, acreditava-se que a adição de ácido era necessária para ter a ciprofloxacina solúvel no meio reacional, o que possibilitaria a reação com o rutênio. Entretanto, a dissolução da ciprofloxacina em meio ácido implica na ocorrência de protonação de suas funções amina, gerando um cátion monovalente ou divalente, respectivamente. O meio ácido também impede a presença da espécie na forma de carboxilato, condição necessária para a coordenação ao íon metálico. No caso da geração de cátions monovalentes, normalmente ocorre uma ligação de hidrogênio intramolecular entre a hidroxila da função ácido e a carbonila da piridona, contribuindo também para a não ocorrência da coordenação ao centro metálico (TUREL et. al., 1997a; TUREL, 2002).

Outro aspecto a ser destacado é a presença de excesso de íons cloreto em solução, dada a utilização de ácido clorídrico 6M no meio reacional. Essa condição, por sua vez, favorece a formação do ânion de coordenação $[\text{RuCl}_6]^{-3}$, conforme reportado anteriormente (COOK et. al., 1976; KAHROVIC et. al., 2003).

Para além da análise dessas condições experimentais utilizadas, é bem conhecido e já descrito na literatura um número relativamente grande de exemplos de compostos iônicos formados entre fluoroquinolonas como ciprofloxacina ou norfloxacina e ânions de coordenação como o mencionado acima, para vários

metais de transição, incluindo até o Bi. (TUREL et al., 1997b; TUREL et al., 2002). Em todos os exemplos cujas estruturas foram determinadas através de medidas de raio-X de monocristal, as sínteses haviam sido realizadas em meio ácido. Sendo assim, esses aspectos nos levaram a formular o produto da primeira síntese, realizada em meio ácido, como sendo o composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O]_3[RuCl_6]$.

Já a segunda síntese foi realizada segundo condições descritas na literatura para a síntese de um complexo de coordenação de alumínio com ciprofloxacina, realizada em meio aquoso sem adição de ácido, apenas com aquecimento até refluxo e agitação magnética (CHATTAH et al., 2007). Neste caso, observa-se a dissolução da fluoroquinolona durante o aquecimento e, a ausência do ácido aparentemente permite que ocorra em solução a espécie desprotonada da ciprofloxacina, ou seja, na forma de carboxilato, o que viabiliza a coordenação ao centro metálico. Isso nos levou a formular o produto da segunda síntese como sendo o complexo de coordenação $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3]$.

Como se verá nos próximos itens desta Dissertação, a composição e a estrutura de ambos os complexos puderam ser de fato identificadas como as propostas acima através dos resultados de espectrometria de massas de alta resolução, análise elementar e análise termogravimétrica.

4.2 Cromatografia de camada delgada

Ao analisar as placas cromatográficas dos complexos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ através de uma lâmpada UV em nenhum dos dois casos observou-se a luminescência característica da ciprofloxacina livre quando irradiada nos comprimentos de onda 254 nm e 365 nm. Concluiu-se que, em caso de haver contaminação por ciprofloxacina livre, essa contaminação seria baixíssima em ambos os complexos e que tal contaminação não interfere nas análises de caracterização dos compostos.

4.3 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma técnica bastante usada na determinação do peso molecular de vários compostos orgânicos e inorgânicos, por fornecer a relação m/z de íons que são gerados do próprio composto por uma fonte de ionização. Na determinação dos pesos moleculares dos compostos obtidos neste trabalho, contou-se com a colaboração do Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes do Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, para obtenção dos espectros de massas com ionização por “electrospray” (ESI MS+).

4.3.1 Espectros do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$

No espectro de massas do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6]$ (**Figura 4**), observa-se um pico de baixa intensidade em m/z 1325.8, que foi atribuído ao aducto monovalente $\{[C_{17}H_{18}FN_3O_3-H^+]_3 [RuCl_5]^{2-} \cdot H_2O \cdot CH_3OH\}^+$, de massa molecular 1325. Essa observação corrobora a hipótese de que, estando a ciprofloxacina totalmente protonada (na forma de ácido carboxílico e com a função amina protonada), sua coordenação aos íons rutênio foi dificultada e, sendo o meio reacional rico em íons cloretos, é possível a ocorrência da coordenação destes íons cloretos ao rutênio central (TUREL et al., 1997b). De fato existe uma série de exemplos relatados na literatura que mostram que, quando a reação entre algumas fluoroquinolonas e metais de transição é realizada em meio ácido, o produto obtido não é um complexo de coordenação propriamente dito, mas sim um composto denominado iônico, no qual o íon metálico (normalmente coordenado por haletos e / ou moléculas de solvente) compõe um ânion complexo e as fluoroquinolonas protonadas funcionam como contra-íons (cátions) no metalo-fármaco (TUREL, et al., 1997b; TUREL et al., 1996; LAZARINI, 1987; TOFFOLI, et al., 1988).

Ainda na **Figura 4**, pode-se verificar que o pico mais intenso observado no espectro do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6]$ ocorre em m/z 994.6 e, a julgar pelo perfil da distribuição isotópica deste pico (apresentado na **Figura 5**), este fragmento não contém átomos de rutênio, mas corresponde a um fragmento que apresenta apenas a distribuição isotópica dos átomos de carbono (Henderson & McIndoe,

2005). Esse pico pode ser atribuído ao aducto monovalente $\{(C_{17}H_{18}FN_3O_3)_3 \cdot H^+\}$, formado em fase gasosa pela associação de três moléculas de ciprofloxacina. Observa-se ainda no espectro uma seqüência de aductos de ordem menor, ou seja, o fragmento $\{(C_{17}H_{18}FN_3O_3)_2 \cdot H^+\}$ em m/z 663.3 (duas ciprofloxacinas associadas) e um pico correspondente a uma ciprofloxacina protonada ($C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot H^+$, 332.35) em m/z 332.1.

Figura 4. Espectro de massas ESI MS, do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$, adquirido a partir de uma mistura 70 CH_3OH : 30 $CHCl_3$ (v : v)

É interessante notar que o espectro traz ainda outro pico em m/z 763.6 (**Figura 5**), que pôde ser atribuído a um processo de fragmentação da ciprofloxacina. Em um trabalho recente reportado por Calza *et.al.*, foram mapeados vários caminhos de fragmentação da ciprofloxacina (CALZA *et.al.*, 2008). Dentre eles demonstrou-se, através de espectrometria de massa de alta resolução, que uma de suas vias de fragmentação implica na perda dos grupamentos HF, CO_2 e $-C_3H_5$ (ciclopropano). De fato, considerando a perda de moléculas de HF e moléculas de CO_2 de cada uma das três moléculas de ciprofloxacina do aducto $\{(C_{17}H_{18}FN_3O_3)_3 \cdot H^+\}$, e a perda de um grupamento alquílico C_3H_5 de uma das

moléculas de fármaco no aducto, obtêm-se um fragmento de massa 763, que corresponde ao pico em m/z 763.6.

Figura 5. Expansão de algumas regiões do espectro ESI MS do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$, com destaque para a distribuição isotópica do carbono.

Essas observações permitiram concluir que o espectro de massas ESI MS do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6]$ é dominado por processos centrados na ciprofloxacina livre. Esse fato era esperado, considerando-se a proposta do composto como sendo um composto iônico a partir do qual a ciprofloxacina encontrar-se-ia livre em fase gasosa, ao invés de coordenada. De fato, foi possível identificar apenas um pico de intensidade bastante baixa, que revela a associação dos íons $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3^{+3}$ e $[RuCl_6]^{-3}$. Isso por que esse arranjo iônico é sustentado por interações eletrostáticas, difíceis de serem mantidas em fase gasosa.

Sendo assim, concluiu-se que o sólido obtido da síntese realizada em meio ácido é um espécie neutra com três cátions ciprofloxacina- H^+ , os quais mantêm a eletroneutralidade do ânion complexo hexacloroeto de rutênio (III), apresentando como fórmula estrutural $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6]$. Dessa maneira não é possível obter o pico correspondente ao íon molecular, uma vez que o espectro foi obtido em modo positivo e por isso só detecta moléculas positivamente carregadas. No entanto, como a solubilização foi feita em uma mistura de metanol e clorofórmio foi possível que moléculas desses solventes se associassem ao complexo, com a perda de um íon Cl^- no processo de ionização, gerando o fragmento detectado em m/z 1325.

4.3.2 Espectros do complexo de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

No espectro de massas do composto obtido da segunda síntese, foi possível visualizar a distribuição isotópica do rutênio ampliando os picos em m/z 1093.3 e em m/z 547.2 (**Figura 6**). O pico em m/z 1093.3 foi atribuído ao cátion monovalente correspondente ao complexo protonado, ou seja, $\{[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3\text{H}^+]\}^+$ (MM=1093) e o pico em m/z 547.2, por sua vez, foi atribuído ao complexo bi-protonado $\{[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3 2\text{H}^+]\}^{+2}$ (MM=1094)/2 = 547. A diferença nos valores de m/z observada em cada um dos picos (1 unidade de massa no primeiro caso e 1/2 unidade de massa no segundo caso) confirma as cargas dos dois fragmentos observados.

Sendo assim, conclui-se que sólido obtido na segunda síntese é uma espécie neutra com um íon Ru(III) e três ciprofloxacinas desprotonadas apresentando como fórmula molecular $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3]$ (MM=1092). Essa espécie, tendo sofrido protonação no meio metanólico utilizado na preparação da amostra, permitiu a detecção dos fragmentos em modo positivo.

Neste caso, em função das condições de síntese utilizadas e da composição do produto, definida pelo resultado de espectrometria de massas, sugere-se que este produto trata-se de um composto de coordenação verdadeiro, no qual as três moléculas de ciprofloxacina encontram-se coordenadas ao íon rutênio central, diferentemente do composto analisado anteriormente, no qual as moléculas de ciprofloxacina protonadas funcionam como contra-íons.

Figura 6. Espectro de massas ESI MS do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, adquirido a partir de solução metanólica, com destaque para a distribuição isotópica do rutênio. (a) ampliação do pico m/z 1093.3; (b) ampliação do pico m/z 547.15.

4.4 Análise elementar e análise termogravimétrica

Os resultados obtidos de análise elementar são apresentados na Tabela abaixo.

Tabela 2. Resultados de análise elementar obtidos para os compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$

Composto		(%) N	(%) C	(%) H
$[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	Teórica	9,24	44,88	4,65
	Experimental	8,75	44,51	4,42
$[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	Teórica	10,80	52,61	5,11
	Experimental	10,20	50,60	5,02

A partir dos dados de análise elementar foi possível concluir que ambos os compostos apresentam moléculas de água em suas composições. O composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6]$ apresenta três moléculas de água que poderiam ser decorrentes do meio reacional ou da própria umidade do ar, sendo assim a fórmula molecular proposta para este composto é $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, o que corresponde a 3,95% de água em massa. Já o composto de coordenação apresentou uma maior quantidade de moléculas de água em sua composição, pelo fato da síntese ter sido realizada em um meio totalmente aquoso e apresentar uma estrutura que favorece a formação de ligações de hidrogênio entre os átomos do ligante (grupos carboxilato e amina desprotonados) e da água. Portanto a fórmula molecular proposta é $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ e esse valor corresponde a 6,18% de água (em massa) na composição deste produto. Em ambos os casos, as moléculas de água não foram detectadas na espectrometria de massas por serem moléculas fracamente ligadas ao complexo e, portanto, perdidas durante o processo de ionização.

A fim de corroborar os resultados de análise elementar no que tange o conteúdo de água dos compostos, foram realizadas também as análises termogravimétricas (TG/DTA) de ambos os compostos em atmosfera inerte ($N_{2(g)}$), conforme apresentado na **Figura 7**. Também é apresentada a TG da ciprofloxacina adquirida nas mesmas condições.

Figura 7. Curvas TG e DTA obtidas para os compostos (a) $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ (b) $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ e (c) ciprofloxacina, sob atmosfera de $N_{2(g)}$.

Já foi reportado na literatura resultados de análise térmica tanto para a ciprofloxacina livre quanto para compostos iônicos e de coordenação com Cu e Zn (TUREL & BUKOVEC, 1996; TUREL et. al., 1996; TUREL et. al., 1994). Embora os dados da literatura tenham sido adquiridos em condições diferentes (fluxo de ar seco), os resultados apresentados na **Figura 7** são compatíveis nos três casos.

Para a ciprofloxacina livre (na forma zwitteriônica neste trabalho), não ocorre perda de água, sendo observado o primeiro processo térmico em 272°C (pico endotérmico na curva DTA), correspondente à parte de sua decomposição por perda de H₂O e CO₂ que, segundo a literatura, ocorre em 277°C (TUREL & BUKOVEC, 1996). Sua decomposição completa ocorre acima de 600°C (pico endotérmico em 623°C), valor também compatível com o valor reportado anteriormente.

O perfil das curvas dos compostos iônico e de coordenação apresentados na Figura 7 (a) e (b) também são semelhantes aos perfis observados anteriormente para compostos análogos (TUREL & BUKOVEC, 1996; TUREL et. al., 1996; TUREL et. al., 1994), apresentando perdas de moléculas de água no início do termograma e duas etapas principais de decomposição em temperaturas mais altas.

No caso do composto iônico (Figura 7 a), observa-se perda de moléculas de água, com um pico endotérmico em 60°C e perda de 4% de massa, o que corresponde a três moléculas de água, concordando com o resultado da análise elementar. Segundo a literatura (TUREL & BUKOVEC, 1996; TUREL et. al., 1996), esse processo acontece em 62,5°C para um composto análogo de Cu, e é seguido por perdas de massa a partir de 230°C, que foram atribuídas como perdas de moléculas de HCl, H₂O e CO₂ (lembrando que o ânion é composto por cloretos metálicos). A decomposição final do composto iônico ocorre na faixa posterior de temperaturas, até cerca de 800°C. Esse perfil é compatível com o observado na curva TG / DTA obtida neste trabalho.

Já o composto de coordenação (Figura 7 b) apresenta perda de 6% de massa até 135°C, o que corresponde a quatro moléculas de água, também compatível com o resultado de análise elementar e com o valor de 140°C reportado na literatura para esse processo (TUREL et. al., 1994). Aparentemente a coordenação confere alguma estabilidade térmica à ciprofloxacina, uma vez que sua decomposição começa a ocorrer acima de 300°C, temperatura ligeiramente mais alta do que aquela observada para a ciprofloxacina livre e para o composto iônico.

Talvez o aspecto mais importante a ser destacado dos dados de análise termogravimétrica diga respeito às temperaturas de perda de moléculas de água no caso dos dois compostos em questão, o iônico e o de coordenação.

No caso do composto iônico $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, a perda de água ocorre em 60°C , temperatura baixa que sinaliza para a perda de águas de hidratação fracamente associadas à estrutura do composto. Já no caso do composto de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, as perdas de água ocorrem acima de 100°C (em 135°C), mostrando que nesse caso as moléculas de água encontram-se ligadas ao composto. Conforme foi discutido em detalhes em Turel & Bukovec, 1996, as moléculas de água parecem ter um papel importante no caso de compostos de fluoroquinolonas com sítios disponíveis para a formação de ligações de hidrogênio. Para compostos de coordenação típicos, tanto a função amina quanto o carboxilato (apesar de coordenado ao centro metálico) funcionam como sítios de formação de uma rede de ligações de hidrogênio com moléculas de água e essa estrutura se reflete no aumento da temperatura de desidratação, uma vez que as moléculas de água encontram-se associadas aos compostos por uma interação relativamente forte. No caso dos compostos iônicos, onde ambos os sítios de formação de ligações de hidrogênio encontram-se já protonados, as águas de hidratação encontram-se fracamente associadas ao composto. Esse parece ser o caso dos compostos estudados neste trabalho. Como se verá adiante, a formação dessa rede de ligações de hidrogênio nos compostos de coordenação tem ainda implicações em seus espectros de infra-vermelho.

4.5 Ressonância magnética nuclear

Os compostos $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ são formados pelo íon metálico Ru(III), configuração d^5 , que é paramagnético. O elétron desemparelhado geralmente afeta o espectro de RMN. No entanto, no caso dos compostos investigados neste trabalho, os espectros não mostraram efeito significativo da anisotropia paramagnética desse íon, pois de acordo com as estruturas propostas para $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**Figura 8** e **Figura 11** respectivamente), os prótons observados nos espectros estão distantes do núcleo paramagnético.

O efeito da anisotropia paramagnética geralmente se manifesta através do mecanismo de *pseudocontato*, que envolve uma interação dipolar através do espaço que decresce com o aumento da distância (NIKOLAOU, 2002; BERTINI & LUCHINAT, 1996). Essa característica poderia explicar os espectros observados no caso dos complexos em questão, no qual os prótons observados nos espectros de ambos os complexos encontram-se distantes do centro paramagnético, conforme mencionado acima. Como em $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ as ciprofloxacinas funcionam como ligantes do rutênio (III) (**Figura 11**), os prótons H17 e H5 que são os núcleos mais próximos ao centro paramagnético, estão distantes deste centro por cinco ligações. Portanto, sofrem um efeito muito pequeno da anisotropia paramagnética, variando ligeiramente os valores de δ em relação à ciprofloxacina livre (TREFI et al., 2007).

Já no complexo $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, as ciprofloxacinas estão protonadas e funcionam como contra íon do hexacloreto de rutênio (III), sendo assim os prótons desse complexo estão bem distante do núcleo paramagnético e o efeito da anisotropia paramagnética não é percebido, o que justifica a semelhança encontrada entre os valores de deslocamento de prótons da ciprofloxacina livre (ZIEBA et al., 2004) e os valores de deslocamento de prótons do complexo $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Outro efeito que se observa no espectro é o aparecimento dos sinais dos núcleos aromáticos em região de campo baixo. À medida que um anel aromático é submetido a um campo magnético externo B_0 , seus elétrons π passam a circular de modo a gerar um campo magnético local em resposta à perturbação externa. Desta forma, em função das linhas do campo induzido, a região imediatamente acima do

anel aromático sofre a chamada blindagem, uma vez que nessa região o campo magnético local é contrário ao campo B_0 aplicado. Em contrapartida, na região lateral ao anel ocorre a chamada desblindagem, uma vez que o campo magnético local se soma ao campo magnético externo. Esta é a razão pela qual os prótons aromáticos tem deslocamentos químicos em região de campo baixo, tipicamente entre 7 ppm e 9 ppm (NIKOLAOU, 2002; SILVERSTEIN et al.; 1991).

4.5.1 O composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$

A **Tabela 3** apresenta de forma resumida as atribuições tentativas feitas para os 9 sinais observados no espectro 1H RMN (**Figura 9**) do complexo $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$. Destes, três foram atribuídos aos prótons do anel aromático da piridona: dois dubletos (δ 7.62 ppm = H5; δ 7.94 ppm = H14) e um singleto em uma região de campo baixo (δ 8.68 ppm = H17), devido a ligação do carbono 17 ao heteroátomo nitrogênio, que também promove desblindagem dos núcleos adjacentes por efeito indutivo. Esses dubletos mostram o acoplamento desses prótons com o flúor, H5 acopla com F com um $^4J_{HF} = 7\text{Hz}$ e H14 acopla com F com um $^3J_{HF} = 13\text{Hz}$ (TREFI et al., 2007).

Em uma região de campo mais alto observou-se 6 sinais, que foram atribuídos aos prótons do ciclopropano (δ 1.19 ppm = H19a e H20a'; δ 1.33 ppm = H19b e H20b'; δ 3.86 ppm = H18 que apresentou-se um pouco mais desblindado devido a ligação do carbono 18 ao heteroátomo nitrogênio), da piperazina (δ 3.32 ppm = H9 e H13; δ 3.58 ppm = H10 e H12) e ao sinal da água residual em DMSO δ 3.40 ppm. O sinal em δ 9.39 ppm foi atribuído aos prótons da amina da piperazina (H11), de acordo com o valor de integral.

Os valores de integral teórico e experimental (57 e 56,5 respectivamente) mostraram claramente a presença de três ciprofloxacinas no complexo. A pequena diferença no valor das integrais pode ser justificada pela sobreposição H10/H12, H9/H13 com o sinal da água em δ 3.4. É importante ainda destacar que, no caso deste composto no qual a função amina encontra-se protonada, não houve troca de seus prótons por deutério e o sinal atribuído à amina tem valor de integral próximo a 6 (5,5), mostrando a protonação.

O espectro de COSY (**Figura 10**) não mostra as manchas de correlação dos dubletos na região aromática, pois estes não são desdobrados por acoplamento próton-próton (detectado no COSY) e sim por acoplamento próton-fluor. Mas, mostra as manchas de correlação entre os prótons do ciclopropano (H18 acopla com H19a/H20a' e com H19b/H20b') e entre os prótons H11 e H10/H12.

Figura 8. Estrutura do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$

Tabela 3. Valores de deslocamento químico δ (ppm) de 1H observados para o composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e atribuições tentativas.

Próton	δ (ppm)
$[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	
H19a e H20a'	1.19
H19b e H20b'	1.33
H9 e H13	3.32
Água Residual em DMSO	3.41
H10 e H12	3.58
H18	3.86
H5	7.62
H14	7.94
H17	8.68
H11	9.40

Figura 9. Espectro de RMN ^1H do composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em solução $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{DMSO-}d_6$.

Figura 10. Espectro COSY do composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, solução $1 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ em $\text{DMSO-}d_6$.

4.5.2 O complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$

A **Tabela 4** apresenta de forma resumida as atribuições tentativas feitas para os sinais observados no espectro 1H RMN (**Figura 12**) do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$. Destes, três foram atribuídos aos prótons de anel aromático da piridona: dois dubletos (δ 7.52 ppm = H5; δ 7.75 ppm = H14) e um singlete em uma região de campo mais baixo (δ 8.74 ppm = H17), devido à ligação do carbono 17 ao heteroátomo nitrogênio, que causa desblindagem do núcleo em questão (ZIEBA et al., 2004). Os dubletos (H5 e H14) mostram o acoplamento desses prótons com o flúor, H5 acopla com F com um $^4J_{HF} = 6\text{Hz}$ e H14 acopla com F com um $^3J_{HF} = 12.5\text{Hz}$ (TREFFI et al., 2007).

Em uma região de campo mais alto observou-se 5 sinais, que foram atribuídos aos prótons do ciclopropano (δ 1.19 ppm = H19a e H20a'; δ 1.42 ppm = H19b e H20b'; δ 3.65 ppm = H18 que apresentou-se um pouco mais blindado em relação aos prótons do ciclopropano da ciprofloxacina livre (ZIEBA et al., 2004), possivelmente devido ao efeito da anisotropia paramagnética), e da piperazina (δ 3.54 ppm = H9 e H13; δ 3.60 ppm = H10 e H12) (ZIEBA et al., 2004). Os prótons H11 não aparecem no espectro 1H RMN, pois estes são capazes de trocar com o deutério da água deuterada usada na preparação da amostra.

Quanto às integrais, o valor teórico é 42, levando em consideração que as ciprofloxacinas estão desprotonadas e que os prótons das aminas trocaram com o deutério da água deuterada utilizada como solvente. O valor experimental é 41,3. Isso mostra claramente a presença de três ciprofloxacinas desprotonadas no complexo. A pequena diferença no valor teórico e experimental das integrais pode ser justificada pela sobreposição dos sinais H10/H12, H9/H13 e H18.

O espectro de COSY (**Figura 13**) não mostra as manchas de correlação dos dubletos na região aromática, pois estes não são desdobrados por acoplamento próton-próton (detectado no COSY) e sim por acoplamento próton-fluor. Mas, mostra as manchas de correlação entre os prótons do ciclopropano (H18 acopla com H19a/H20a' e com H19b/H20b').

Figura 11. Estrutura do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$

Tabela 4. Valores de deslocamento químico δ (ppm) de 1H observados para o complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$ e atribuições tentativas

Próton	δ (ppm)
$[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$	
H19a e H20a'	1.19
H19b e H20b'	1.42
H9 e H13	3.54
H10 e H12	3.60
H18	3.65
H5	7.52
H14	7.75
H17	8.74

Figura 12. Espectro de 1H do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$, solução 1×10^{-2} mol/L em D_2O

Figura 13. Espectro COSY do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$, solução 1×10^{-2} mol/L em D_2O

4.6 Espectroscopia vibracional

Os espectros das quinolonas na região do infravermelho são extremamente complexos por apresentarem vários grupos funcionais em suas moléculas. Destes, os modos vibracionais mais estudados são os estiramentos das carbonilas da piridona $\nu(\text{C}=\text{O})_p$ encontrada em 1628 cm^{-1} e do ácido carboxílico $\nu(\text{COOH})$ encontrado em 1725 cm^{-1} . Além destes, também se estuda os estiramentos simétrico e assimétrico do carboxilato: $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O})_s$ encontrado entre $1650\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$ e $\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O})_a$ encontrado entre $1400\text{-}1280\text{ cm}^{-1}$ respectivamente (TUREL, 2002).

Em termos gerais, na caracterização de uma quinolona complexada a um íon metálico, a espectroscopia vibracional é usada para se observar as vibrações típicas e as mais estudadas desses compostos. O estiramento $\nu(\text{COOH})$ do ácido carboxílico tende a desaparecer em complexos metálicos de quinolonas (TUREL, 2002), pois acredita-se que para ocorrer a coordenação de uma quinolona a um íon metálico o grupamento carboxílico (COOH) precisa estar desprotonado, como na forma zwitteriônica de uma quinolona (COO^-). Essa hipótese tem sido verificada através do estudo de cristalografia por raio-x de alguns complexos metálicos de quinolonas, nos quais verifica-se que a maioria desses complexos tem a quinolona coordenada ao íon metálico através de dois oxigênios, um da carbonila da piridona e o outro da carbonila do carboxilato (TUREL, 1997b); nestes casos, o estiramento do grupo carboxílico está ausente do espectro de IR. Porém, um aspecto importante que tem sido igualmente observado é a interferência da água na vibração desses grupos funcionais das quinolonas (TUREL, 2002; TUREL et al., 1997a; TUREL et al., 1996, TUREL & BUKOVEC, 1996). Tudo indica que a presença da água nesses complexos promove a formação de ligações de hidrogênio entre o oxigênio desses grupos e o hidrogênio das moléculas de água. Portanto, se houver uma molécula de água ligada ao grupamento carboxílico da quinolona, o estiramento $\nu(\text{COOH})$ pode aparecer no espectro vibracional. Por fim, a banda que aparece em $3405\text{-}3420\text{ cm}^{-1}$ é atribuída ao estiramento $\nu(\text{O}-\text{H})$ de moléculas de água coordenadas a um complexo quinolônico (EFTHIMIADOU et al., 2008).

Os espectros vibracionais da ciprofloxacina e dos complexos $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (**Figura 14**) foram

analisados de forma comparativa e as atribuições tentativas dos principais modos vibracionais são resumidas na **Tabela 5**.

Tabela 5. Atribuições tentativas das frequências observadas para $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; ciprofloxacina e $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

	$\nu(\text{C}=\text{O})_p$	$\nu(\text{COOH})$	$\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O})_a$	$\nu(\text{O}-\text{C}-\text{O})_s$	$\Delta\nu_{(\text{COO})}$
$[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1626 cm^{-1}	1709 cm^{-1}	1608 cm^{-1}	1385 cm^{-1}	223
Ciprofloxacina	1620 cm^{-1}	1724 cm^{-1}	1542 cm^{-1}	1377 cm^{-1}	165
$[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	1630 cm^{-1}	1718 cm^{-1}	1608 cm^{-1}	1383 cm^{-1}	225

Inicialmente verificou-se a presença ou não da banda atribuída ao estiramento $\nu(\text{COOH})$ nos compostos em questão. No caso do espectro da ciprofloxacina, observa-se uma banda em 1724 cm^{-1} , atribuída ao estiramento $\nu(\text{COOH})$. Porém esta banda apresenta baixa intensidade, quando este estiramento normalmente apresenta-se como uma banda muito intensa. De fato, a ciprofloxacina livre apresenta-se em sua maior parte na forma de zwitterion (**Figura 15 a**), na qual a função carboxilato encontra-se desprotonada e, portanto, não apresenta o estiramento do ácido carboxílico. A banda residual observada em 1724 cm^{-1} provavelmente se deve à porção de ciprofloxacina presente na amostra em equilíbrio com a forma de zwitter íon. No caso do composto iônico $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**Figura 15 c**), este estiramento esta presente em 1722 cm^{-1} como uma banda forte, pois temos a função ácido carboxílico presente.

Conforme mencionado acima no texto, no caso do composto de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, esse estiramento tende a desaparecer com a desprotonação da função ácido e a coordenação ao íon metálico (PSOMAS, 2008; XIAO et al., 2005). Entretanto, no caso do composto em estudo aqui o estiramento foi mantido. Possivelmente isso ocorre pois o complexo apresenta um alto conteúdo de águas de hidratação que geralmente participam de uma rede de ligações de hidrogênio com as funções carboxilato, carbonila da piridona e amina da piperazina (**Figura 15 b**).

Figura 14. Espectros vibracionais na região do infra-vermelho dos compostos (a) $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3] \cdot 4H_2O$, (b) ciprofloxacin e (c) $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$, obtidos a partir de pastilhas de KBr.

Em alguns casos foi demonstrado que a quantidade relativa de água presente na composição de compostos de coordenação formados entre metais de transição e fluoroquinolonas e, conseqüentemente, a ocorrência de ligações de hidrogênio,

promovem o aparecimento do estiramento $\nu(\text{COOH})$ (TUREL, 2002; TUREL et al., 1997a; TUREL et. al., 1996, TUREL & BUKOVEC, 1996). O tratamento térmico ou a exposição do alguns compostos ao ar também parece afetar a perfil dos espectros de infra-vermelho no que tange a observação ou não deste estiramento, contudo os mecanismos envolvidos e a participação das águas de hidratação ainda não foram estabelecidos (TUREL, 2002; TUREL et. al., 1996, TUREL & BUKOVEC, 1996).

Figura 15. Estrutura da ciprofloxacina (a) na forma zwitteriônica, (b) em $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e (c) em $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, com destaque para as funções amina e ácido carboxílico.

No estudo de complexos de metais de transição com ligantes carboxílicos, a espectroscopia na região do infravermelho também é bastante utilizada para identificar os modos vibracionais de estiramentos simétricos (ν_s) e anti-simétricos (ν_a) dos ligantes carboxilatos (WEDER et al., 2002).

Os íons carboxilatos (R-COO^-) podem coordenar-se a um íon metálico de modo monodentado ou bidentado. De modo geral, a estrutura do complexo vai depender das propriedades eletrônicas e estéricas do ligante carboxílico. O modo de coordenação do carboxilato ao metal pode ser identificado pelos valores das

diferenças entre as frequências dos modos vibracionais dos estiramentos anti-simétricos (ν_a) e simétricos (ν_s) dos grupos R-COO^- , $\Delta\nu_{(\text{COO})} = [\nu_a(\text{COO}^-) - \nu_s(\text{COO}^-)]$ (TRINCHERO et al., 2004; GORDIJO, 2007). Como pode ser visto **Figura 16**, carboxilatos monodentados tem $\Delta\nu_{(\text{COO})} > 200$, já os bidentados quelantes tem $\Delta\nu_{(\text{COO})} < 100$ e os carboxilatos iônicos e ligados em ponte apresentam $\Delta\nu_{(\text{COO})} \cong 150$ (AL-MUSTAFA & TASHTOUSH, 2002).

Figura 16. Modos de coordenação do carboxilato a um íon metálico

No caso da ciprofloxacina livre observou-se um valor de $\Delta\nu_{(\text{COO})} = 165$, que foi calculado a partir das atribuições tentativas dos estiramentos anti-simétrico e simétrico observados no espectro registrado neste trabalho (**Figura 14 e Tabela 5**). Este valor, próximo a 150, sinaliza para a presença preferencial da forma zwitteriônica da ciprofloxacina na amostra.

Tanto para o composto iônico $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ quanto para o de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, os valores calculados de $\Delta\nu_{(\text{COO})}$ são maiores do que 200 (**Tabela 5**), indicando o modo de coordenação monodentado. Essa é a situação que ocorre no caso do complexo de coordenação, cuja ligação ao centro metálico ocorre através de apenas um dos átomos de oxigênio da função carboxilato e do outro átomo de oxigênio da função piridona. No caso do composto iônico pode-se supor que a protonação da função carboxilato simule a ligação com o centro metálico, de modo que a análise espectral sugere uma ligação monodentada.

Por fim, os estiramentos da carbonila da piridona, $\nu(\text{C=O})_p$, apresentam deslocamentos pequenos em relação ao valores da ciprofloxacina livre, fato que têm sido observado na literatura (PSOMAS, 2008; TUREL 2002).

4.7 Espectroscopia eletrônica

A **Figura 17** apresenta o espectro eletrônico do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ em duas concentrações diferentes. A **Figura 18** apresenta o espectro do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em dois solventes diferentes e a **Figura 19** traz o espectro da ciprofloxacina livre, para efeito de comparação.

O espectro eletrônico do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ em dimetilsulfóxido (DMSO) apresenta as bandas características da ciprofloxacina na região do UV (**Figura 17(a)**), em 283 nm ($\epsilon = 144978 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), 319 nm ($\epsilon = 39393 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e 332 nm ($\epsilon = 37433 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), que foram tentativamente atribuídas à transições $\pi-\pi^*$. Em soluções mais concentradas (**Figura 17(b)**), observam-se ainda duas bandas na região do visível centradas em 421 nm ($\epsilon = 3377 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e outra em 495 nm ($\epsilon = 472 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$). A julgar pela região espectral em que estas bandas aparecem (visível), por seus valores de coeficiente de absortividade molar (da ordem de milhar e de centenas, respectivamente), e do fato do rutênio apresentar-se no estado de oxidação +3, essas bandas foram tentativamente atribuídas a uma transição de transferência de carga ligante metal (TCLM) e uma transição d-d, respectivamente.

O espectro eletrônico do ânion $[RuCl_6]^{3-}$ já foi reportado em condições tão diversas quanto HCl concentrado ou um sal de cloroaluminato fundido (GAYLOR & SENOFF, 1972; HUSSEY et. al., 1991). Em ambos os casos, garante-se que há presença de excesso de íons cloreto no meio e os espectros reportados são compatíveis, apresentando bandas de intensidade relativamente baixas em 310 nm ($\epsilon = 2400 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), 351 nm ($\epsilon = 3980 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); 394 nm ($\epsilon = 2150 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e 457 nm ($\epsilon = 780 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), cuja atribuição não foi feita. No caso do composto investigado neste trabalho, em solução de DMSO pode haver a troca de íons Cl^- da esfera de coordenação do ânion por moléculas de DMSO ou de H_2O presentes nesse solvente, levando à presença de espécies aniônicas em solução com esfera de coordenação mista.

Mantendo esse aspecto em mente, no caso do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ pode-se propor tentativamente que as bandas de maior energia do ânion rutenato estariam encobertas pelas transições da ciprofloxacina e

que as bandas de menor energia reportadas anteriormente em 394 nm e 457 nm poderiam estar deslocadas, sendo as transições observadas em 421 nm e 495 nm.

Figura 17. Espectro eletrônico do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, adquirido em solução de DMSO (a) $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}$ e (b) $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}$.

O espectro eletrônico do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em H_2O (**Figura 18(a)**) apresenta as bandas do ligante em 276 nm ($\epsilon = 119087 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) e 314 nm ($\epsilon = 38382 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), compatíveis com as bandas observadas para a ciprofloxacina livre. Entretanto, não é possível observar as bandas na região do visível. Quando adquirido em DMSO, é possível detectar no espectro eletrônico desse complexo apenas um ombro de baixa intensidade e sem resolução na região de 450 nm (**Figura 18 (b)**). Não foi possível fazer uma leitura precisa do comprimento de onda máximo dessa transição, pois quando se aumenta a concentração da solução na tentativa de melhor visualizar esta banda, tem-se essa transição encoberta pela banda larga do ligante. Sendo assim, conclui-se que essa

banda, possivelmente uma transição d-d, possui um ϵ bastante baixo e não foi possível calculá-lo. A **Tabela 6** resume as atribuições tentativas das bandas observadas.

Figura 18. Espectro eletrônico do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ adquirido em (a) solução aquosa 8×10^{-6} mol/L e (b) solução saturada em DMSO.

Figura 19. Espectro eletrônico da ciprofloxacina em solução obtida pela dissolução da ciprofloxacina em DMSO e posterior filtragem com filtro Millipore 0,45 μm .

Tabela 6. Atribuições tentativas das bandas observadas no espectros dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ e da ciprofloxacina livre.

Atribuições	Transições Observadas $\lambda_{\text{máx}} / \text{nm}$ ($\log \epsilon / \text{cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$)				
	$\pi \rightarrow \pi^*$ (IL)			TCLM	d-d
$[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$	276 (5,07)	314 (4,58)	—	—	$\cong 450$
Ciprofloxacina	284	319	—	—	—
$[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$	283 (5,16)	319 (4,59)	332 (4,57)	421 (3,53)	495 (2,67)

IL – intra ligante, TCLM – transferência de carga ligante metal

4.8 Voltametria Cíclica

O complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ apresenta um voltamograma cíclico (**Figura 20**) semelhante ao voltamograma cíclico do composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**Figura 21**), no qual observam-se três processos redox que foram atribuídos como sendo (a) o par de ondas com $E^{0'} \cong -0,25 \text{ V vs EPH}$, $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$, que foi diretamente relacionado ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}} / \text{Ru}^{\text{II}}$, uma vez que tal processo inexistia na voltametria cíclica da ciprofloxacina livre em DMSO (SAHA et al., 2002).

Figura 20. Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF_6 , DMSO.

No complexo $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ esse par de ondas também foi observado, tendo sido definido também como um processo quase-reversível com $E^{0'} \cong -0,11 \text{ V vs EPH}$, $\Delta E_p = 70 \text{ mV}$. Esse resultado é coerente uma vez que os íons cloreto, coordenados ao íon central rutênio no composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ são menos σ -doadores do que a ciprofloxacina, dificultando ligeiramente o processo de oxidação dos íons $\text{Ru}(\text{II})$ para $\text{Ru}(\text{III})$. Além disso, os átomos de oxigênio do íon carboxilato da ciprofloxacina são bases duras, compatíveis com o íon $\text{Ru}(\text{III})$ (SHIVER & ATKINS, 1994), estabilizando esses íons no estado de oxidação três no composto $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Por fim é importante comentar ainda que, em comparação com os respectivos potenciais em

outros complexos de rutênio em solventes orgânicos (LEVER, 1990), observa-se que o potencial formal de óxido redução (E^0) no complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ está significativamente deslocado para potenciais mais negativos, sugerindo uma estabilização do estado Ru^{III} pela deslocalização da carga do íon central através dos anéis conjugados das 3 moléculas periféricas de ciprofloxacina.

Além disso, as intensidades de correntes no processo (a) de ambos os complexos são aproximadamente 1/3 das intensidades de corrente associadas aos processos localizados nas três unidades periféricas de ciprofloxacina (processos (b) e (c), discussão no próximo parágrafo).

Figura 21. Voltamograma cíclico do composto $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em TBAPF_6 , DMSO

Pouco se sabe a respeito do comportamento eletroquímico da ciprofloxacina e também de compostos correlatos (por exemplo, norfloxacin e enoxacin), principalmente no que diz respeito à atribuição dos processos. Contudo, os processos observados são consistentes com o que foi encontrado na literatura (SAHA et al., 2002). Os processos (b) e (c) do complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ indicam duas reduções irreversíveis com potenciais de pico catódico iguais a $-0,85$ e $-1,45$ V, respectivamente. Os tipos de onda (irreversíveis) e as regiões de potencial em que ocorrem são consistentes com duas reduções ocorrendo nas 3 ciprofloxacinas periféricas: uma nos resíduos de piperazina (processo b) e outra nos resíduos de piridona (processo c). Esses processos (b) e (c) também foram

observados no complexo $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ com potenciais de pico catódico iguais a -0,92 e -1,56 V.

Pode –se verificar que, no caso do complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, no qual as três moléculas de ciprofloxacina encontram-se coordenadas ao íon Ru(III) , os potenciais de redução das mesmas estão deslocados para valores de potenciais menores, ou seja, as ciprofloxacinas coordenadas são mais facilmente reduzidas do que as ciprofloxacinas não-coordenadas do complexo $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Esse fato é coerente com a coordenação da ciprofloxacina ao íon Ru(III) que, sendo um ácido de Lewis remove densidade eletrônica dos ligantes, tornando-os mais facilmente redutíveis, em comparação com o composto no qual a ciprofloxacina encontra-se livre.

4.9 Dependência do comportamento dos complexos com o pH

4.9.1 Determinação dos valores de pK_a dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$

Uma vez que a solubilidade e, portanto, a biodisponibilidade e a atividade biológica da maioria das fluoroquinolonas é dependente do pH e das constantes de dissociação ácidas, o conhecimento dos valores de pK_a da ciprofloxacina nas suas diferentes combinações e formulações é essencial. A **Figura 22** mostra as curvas obtidas para o composto $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$.

Figura 22. Variação de absorvância em função do pH e curva da primeira derivada para determinação do pK_a da ciprofloxacina coordenada no complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$

No caso do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, no qual a ciprofloxacina encontra-se coordenada ao íon metálico pela função carboxilato, espera-se apenas um equilíbrio ácido – base de protonação da função amina periférica, conforme observa-se na curva acima. Encontrou-se para esse equilíbrio o valor de pK_a de 5,68. A literatura tem reportado valores de pK_a com flutuações importantes dependendo do método utilizado para sua determinação e também em função da baixa solubilidade das fluoroquinolonas em meio aquoso, o que demanda o uso de co-solventes, que também variam, como por exemplo o uso de acetonitrila ou DMSO (LIN et al., 2004 e referências aí citadas). Os valores de pK_a encontrados para o equilíbrio de dissociação do próton da função ácido carboxílico variam de 5,86 a

6,35 e os valores de pKa encontrados para o equilíbrio de protonação da função amina ocorrem entre 8,24 a 8,95.

No nosso caso, conforme o esperado, o equilíbrio relativo à função carboxilato não foi observado e o valor de pKa para o equilíbrio de protonação da função amina periférica é menor do que os valores para a ciprofloxacina livre. Isso decorre da coordenação ao centro metálico Ru(III), que funciona como um ácido de Lewis, removendo densidade eletrônica do ligante, deixando-o mais ácido. Esse efeito indutivo também foi observado na voltametria, uma vez que os potenciais de redução da ciprofloxacina sofreram deslocamentos para valores mais positivos, sinalizando para a deficiência de elétrons deste ligante na sua forma coordenada. O valor de pKa determinado também explica a variação espectral observada quando o espectro deste composto é registrado em água (pH = 5,8 da água destilada utilizada em nosso laboratório) e pH fisiológico (item 4.9.2): em água deve haver uma contribuição maior da espécie em que a amina encontra-se protonada ($-\text{NH}_2^+$), enquanto em pH fisiológico predomina a espécie desprotonada ($-\text{NH}$).

No caso do composto iônico $[\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{FN}_3\text{O}_3]_3[\text{RuCl}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, pode-se assumir que os valores de pKa são próximos aos valores da ciprofloxacina livre, uma vez que neste caso a ciprofloxacina não está coordenada ao íon metálico. Entretanto, o método aplicado neste trabalho não foi eficiente para a análise da faixa de pHs mais baixos, tendo havido uma dispersão muito grande dos pontos de variação de absorvância. Esse aspecto comprometeu a determinação de valores confiáveis de pKa para o composto. Além do método empregado, outro aspecto complicador para a determinação dos pKas em intervalos de pHs baixos diz respeito ao fato de que em alguns casos (dependendo do método de análise empregado), têm sido observado um terceiro equilíbrio ácido-base no segundo nitrogênio do anel piperazínico denominado N1 e assinalado na estrutura apresentada na **Figura 23** (LIN et al, 2004; WITTE et al, 2007); naturalmente esse seria o sítio mais ácido presente na ciprofloxacina. Witte reporta para esse equilíbrio valores de pKa que variam de 3,64 a 4,07 (WITTE et al, 2007). Portanto, o fato de haver dois equilíbrios de protonação em um pequeno intervalo de pHs (3 a 6) pode ter comprometido sua determinação no caso do composto iônico investigado neste trabalho pelo método simples empregado aqui.

Figura 23. Estrutura da ciprofloxacina com destaque para um dos nitrogênios do grupo piperazina

Contudo, sem perder de vista a ressalva feita acima e levando em consideração que a análise apresentada a seguir é meramente qualitativa, pode-se estimar os valores de pKa do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$ e, a partir deles, discutir sua solubilidade em meio aquoso.

Considerando dois intervalos distintos de pH, foi possível ajustar duas curvas e determinar os respectivos valores de pKa, conforme mostrado na **Figura 24**. A julgar pelos valores observados ($pK_{a1} = 3,43$ e $pK_{a2} = 8,74$) e por comparação com os valores da ciprofloxacina livre ($pK_{a1} = 3,64$ a $4,07$ e $pK_{a2} = 8,24$ a $8,95$), esses valores correspondem aos equilíbrios de protonação dos dois átomos de nitrogênio do grupo piperazina. Diante da similaridade destes valores com os reportados na literatura para a ciprofloxacina livre, podemos assumir ainda que o pKa da função carboxilato deva encontrar-se entre 5,5 e 6,5 no composto sob investigação. Sendo assim, em solução aquosa a ciprofloxacina do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6] \cdot 3H_2O$ deve predominar na forma zwitteriônica, ou seja, deve ser uma molécula neutra.

É conhecido que a ciprofloxacina é solúvel em meio aquoso apenas em extremos de pH (MERK INDEX). Em meio ácido, tanto as funções amina quanto a função ácido carboxílico encontram-se protonadas ($-NH^+$, $-NH_2^+$ e $-COOH$), de modo que a molécula apresenta carga +2. Em pHs altos (acima de 10), as três funções encontram-se desprotonadas ($-N$, $-NH$ e $-COO^-$), conferindo carga total à molécula de -1. Nessas circunstâncias onde a molécula apresenta carga, ela é solúvel. No caso de pHs intermediários, a ciprofloxacina encontra-se na sua forma zwitteriônica ($-N$, $-NH_2^+$ e $-COO^-$), apresentando carga total igual a 0. Segundo essa análise, a carga parece ter contribuição fundamental na solubilidade da ciprofloxacina. Esse

fato explica a baixa solubilidade em meio aquoso do composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ pois, levando-se em consideração o pH da água destilada utilizada nas preparações (pH = 5,8), neste valor de pH a ciprofloxacina encontra-se com a função amina periférica protonada e a função ácido carboxílico desprotonada, conferindo à molécula em solução carga total igual a zero, simulando a situação do zwitterion.

Figura 24. Variação de absorvância em função do pH e curva da primeira derivada para determinação dos pKas da ciprofloxacina no composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ (a) entre pH = 1,5 a 6,5 e (b) 7,3 a 12,8

4.9.2 Comportamento dos compostos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em pH estomacal, em água e em pH fisiológico

Ao estudar o comportamento dos complexos $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ e $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ em diferentes pHs, contemplando o pH estomacal (pH=1,5), o pH fisiológico (pH=7,4) e o pH intestinal (pH=8,0), observou-se que o

perfil espectral dos complexos depende do pH (**Figura 25** e **Figura 26**). De fato, conforme discutido acima, no pH estomacal as ciprofloxacinas encontram-se protonadas (função amina no complexo de coordenação, e função amina e ácido carboxílico no composto iônico) e nos outros dois valores encontram-se desprotonadas. Portanto os espectros registrados nos diferentes pHs referem-se a espécies químicas diferentes no que diz respeito à sua carga total.

Figura 25. Espectros eletrônicos do composto $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ em solução de HCl, pH 1,5; tampão PBS, pH 7,4 e solução de NaOH, pH 8,0 (a) $5,0 \times 10^{-6}$ mol/L e (b) $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L

Outro ensaio importante que tem sido realizado quando se pretende estudar um metalo-fármaco em potencial diz respeito à sua estabilidade em pH estomacal (GORDIJO, 2007). Para tanto se encuba os compostos a 37°C e $\text{pH} = 1,5$ por um tempo determinado, simulando as condições estomacais e acompanham-se as variações por espectrofotometria. Como observado na **Figura 27**, ambos os complexos são estáveis no pH estomacal, pois não foram observadas variações significativas de pH. Além disso, não houve precipitação dos compostos, sinalizando para a manutenção de sua integridade nas condições descritas.

Figura 26. Espectros eletrônicos do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$, $8,0 \times 10^{-6}$ mol/L em solução de HCl, pH 1,5; tampão PBS, pH 7,4 e solução de NaOH, pH 8,0

Figura 27. Curva de pH em função do tempo dos complexos $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ ($8,0 \times 10^{-6}$ mol/L) e $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$ ($2,5 \times 10^{-4}$ mol/L) em solução de HCl, pH 1,5; $37^\circ C$ durante 90 minutos.

Como o complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ apresenta boa solubilidade em água, foi feito também um ensaio para verificar a estabilidade deste composto em água e em tampão PBS - pH 7,4. Esse ensaio permitiu concluir que o complexo

$[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ é estável tanto em solução aquosa como em pH fisiológico ao menos pelo período de dois dias (**Figura 28**).

Figura 28. Variação do espectro eletrônico de $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ com o tempo (a) em pH fisiológico ($1,0 \times 10^{-5}$ mol/L em PBS) e (b) em meio aquoso ($1,0 \times 10^{-5}$ mol/L em H_2O)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 Considerações Finais

Quando a reação entre a ciprofloxacina e íons rutênio (III) é promovida em meio ácido, a ciprofloxacina encontra-se protonada e essa protonação impede a coordenação da mesma ao íon central. Sendo assim, em meio ácido obteve-se como produto o composto iônico $[C_{17}H_{19}FN_3O_3]_3[RuCl_6].3H_2O$, onde a ciprofloxacina protonada funciona como contra-íon do hexacloreto de rutênio (III).

A ciprofloxacina pode reagir com o rutênio sob agitação e aquecimento até refluxo, sem adição de ácido, promovendo a formação do complexo de coordenação $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$. Este complexo apresenta três ciprofloxacinas desprotonadas que estão coordenadas ao rutênio (III).

O complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ apresentou-se solúvel em água, isso mostra que quando a ciprofloxacina esta coordenada ao rutênio sua solubilidade em meio aquoso aumenta. Por outro lado, o composto iônico apresenta baixa solubilidade em meio aquoso e em pH fisiológico, o que pode ser racionalizado em termos dos seus valores de pKa. A partir deles conclui-se que nestes meios a ciprofloxacina (no composto iônico) encontra-se neutra na forma de zwitterion, tendo baixa solubilidade em água.

O elétron desemparelhado do íon Ru(III) (configuração d^5) não apresentou efeitos significativos de anisotropia paramagnética no espectro de RMN das espécies estudadas devido às distâncias em que os prótons se encontram do núcleo paramagnético. Os espectros eletrônicos dos dois complexos em questão apresentam as bandas de transição interna do ligante e bandas de campo ligante (d-d), características de compostos de metais de transição. Os voltamogramas cíclicos dos dois complexos apresentaram três processos, um par de ondas que foi relacionado ao par redox Ru(III)/Ru(II) e dois processos irreversíveis que foram atribuídos aos resíduos (piperazina e piridona) do ligante. As variações observadas para os valores de potencial desses processos nos dois compostos em estudo mostram os efeitos da coordenação da ciprofloxacina ao centro metálico.

A presença de água na composição dos compostos (verificada pela análise termogravimétrica), principalmente no caso do complexo $[Ru(C_{17}H_{17}FN_3O_3)_3].4H_2O$ interfere nas suas propriedades espectroscópicas, como fica evidente nos espectros de infravermelho.

Também foram apresentados os valores de pKa dos compostos investigados e uma análise de seu comportamento em função de variações de pH. É importante destacar que ambos os compostos são estáveis em pH estomacal e, no caso do composto de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, estável também em pH fisiológico a temperatura ambiente.

Assim, este trabalho apresentou a obtenção e caracterização de dois compostos estruturalmente distintos de rutênio com uma fluoroquinolona, cujas estruturas são moduladas pela condição adotada em suas sínteses. No caso do complexo de coordenação $[\text{Ru}(\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_3\text{O}_3)_3] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, este mostrou ser uma forma da ciprofloxacina totalmente solúvel e estável em meio aquoso e em pH fisiológico, o que deverá ter implicações importantes do ponto de vista de sua biodisponibilidade e atividade farmacológica. Portanto, nas próximas etapas da investigação iniciada com este trabalho, a atividade biológica dos compostos aqui obtidos será investigada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6 Referências Bibliográficas

- ABUFARAQ, A.; REEDIJK, J. Ruthenium complexes tetraded to organic DNA intercalators. **J. Inorg. Biochem.**, v. 59, p. 137, 1995.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. **Platinum Metals Rev.**, v. 45, p. 62-9, 2001.
- AL-MUSTAFA, J.; TASHTOUSH, B. Iron(II) and iron(III) perchlorate complexes of ciprofloxacin and norfloxacin. **J. Coord. Chem.**, v. 56, p. 113-124, 2003.
- APPELBAUM, P. C.; HUNTER, P. A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. **Inter. J. Antimicrob. Ag.**, v. 16, p. 5-15, 2000.
- BAILEY, V. M. R.; GALANG, J. L. C.; DOAN, P. E.; CLARKE, M. J. ^1H and ^{31}P NMR and EPR of Pentaammineruthenium(III) Complexes of Endocyclically Coordinated Nucleotides, Nucleosides, and Related Heterocyclic Bases. Autoxidation of $[(\text{Guo}^{\text{N}7})(\text{NH}_3)_5\text{Ru}^{\text{III}}]$ ($\text{Guo} = \text{Guanosine}$). Crystal Structure of $[\text{MeGuo}^{\text{N}9}(\text{NH}_3)_5\text{Ru}]\text{Cl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ **Inorg. Chem.**, v. 36, p. 1873-1883, 1997.
- BAJAJ, H. C.; TREGLOAN, P. A.; ELDIK, R. V. Highly Localized Charges Control Electrostriction: Reaction Volumes for the Reduction of Mononuclear and Bridged Ruthenium Complexes. **Inorg. Chem.**, v. 43, p. 1429-1435, 2004.
- BASTOS, C. M.; GORDON, K. A.; OCAIN, T. D. Synthesis and immunosuppressive activity of ruthenium complexes. **Bioorg. Med. Chem. Let.**, v. 8, p. 147-150, 1998.
- BELVISI, M. G.; STRETTON, C. D.; YACOUB, M.; BARNESS, P. J. Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in human. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 210, p. 221-222, 1992.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. de P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Quim. Nova**, v. 30, p. 2062-2067, 2007.
- BERALDO, H. A química inorgânica na química medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 4-6, 2005.
- BERTINI, I.; LUCHINAT, C. Chapter 1: Introduction. **Coord. Chem. Rev.**, v. 150, p. 1-28, 1996.
- BONAVENTURA, D.; OLIVEIRA, F. S.; LUNARDI, C. N.; VERCESI, J. A.; DA SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. Characterization of the mechanisms of action and nitric oxide species involved in the relaxation induced by the ruthenium complex. **Nitric Oxide**, v. 15, p. 387-394, 2006..
- BRABEK, V.; NOVÁKOVÁ, O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. **Drug Resistance Updates**, v. 9, p. 111-122, 2006.
- CALZA, P.; MEDANA, C.; CARBONE, F.; GIANCOTTI, V.; BAIACHI, C. Characterization of intermediate compounds formed upon photinduced degradation of quinolones by high-performance liquid chromatography / high-resolution multiple – stage mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, v. 22, p. 1533-1552, 2008.

CARBALHO, M.; VILAPLANA, R.; MARQUEZ, G.; CONDE, M.; BEDOYA, F. J.; GONZALEZ-VILCHEZ, F.; SOBRINO, F. A newly synthesized molecule derived from ruthenium cation, with antitumor activity, activates NADPH oxidase in human neutrophils. **J. Biochem.**, v. 328, p. 559-564.

CHATTAH, A. K.; LINCK, Y. G.; MONTI, G. A.; LEVSTEIN, P. R.; BREDÁ, S. A.; MANZO, R. H.; OLIVERA, M. E. NMR and IR characterization of the aluminium complexes of norfloxacin and ciprofloxacin fluoroquinolones. **Magn. Reson. Chem.**, v. 45, p. 850-859, 2007.

CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coord. Chem. Rev.**, v. 232, p. 69-93, 2002.

EFTHIMIADOU, E. K.; PSOMAS, G.; SANAKIS, Y.; KATSAROS, N.; KARALIOTA, A. Metal complexes with the quinolone antibacterial agent N-propyl-norfloxacin: Synthesis, structure and bioactivity. **J. Inorg. Biochem.**, v. 101, p. 525-535, 2007.

FRICKER, S. P.; SLADE, E.; POWELL, N. A.; VAUGHAN, O. J.; HENDERSON, G. R.; MURRER, B. A.; MEGSON, I. L.; BISLAND, S. K.; FLITNEY, F. W. Ruthenium complexes as nitric oxide scavengers: a potential therapeutic approach to nitric oxide mediated diseases. **Pharmacol.**, v. 122, p. 1441-1449, 1997.

GALEANO, A.; BERGER, M. R.; KEPPLER, B. K. Antitumor activity of some ruthenium derivatives in human colon cancer cell lines in vitro. **Arzhenim-Fosch.**, v. 42, p. 821-824, 1992.

GAYLOR, J. R.; SENOFF, C. V. The stabilization of hexachlororuthenate(III) and hexabromorethenate(III) anions by 2,2',2''-triammoniotriethylamina, $N(CH_2CH_2NH_3)_3^{3+}$. **Inorg. Chem.**, v. 11, p. 2551-2552, 1972.

GILMAN, A. G. A. Quimioterapia das Doenças Microbianas. In: Mandell, G. L.; Petri Jr., W. **Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica**. 9ª ed, McGraw-Hill, p. 783-789, 1996.

GORDIJO, C. R. Estudo de metalofármacos antiinflamatórios de cobre e dos materiais híbridos resultantes de suas imobilizações no hidróxido duplo lamelar hidrotalcita: síntese, caracterização e avaliação da atividade farmacológica. **Tese de Doutorado**, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 2007.

HENDERSON, W.; McINDOE, J. S. In: **Mass spectrometry of inorganic and organometallic compounds**. John Wiley & Sons, Inglaterra, 2005.

HUSSEY, C. L.; BARBARD, P. A.; SUN, I-W.; APPLEY, D.; HITCHCOK, P. B.; SEDDON, K. R.; WELTON, T.; ZORA, J. A. An electrochemical study of ruthenium (III) and (IV) hexachlorometallates in a basic room temperature chloroaluminate molten salt. **J. Electrochem. Soc.**, v. 138, p. 2590-2594, 1991.

JORNAL BRASILEIRO DE MEDICINA. In: **DEF (Dicionário de especialidades farmacêuticas)**, 31ª ed, EPUC (Editora de publicações científicas Ltda.), 2002/03, p. 778-779.

KOJIMA, T.; HAYASHI, K-i.; IIZUKA, S-y.; TANI, F.; NARUTA, Y.; KAWANO, M.; OHASHI, Y.; HIRAI, Y.; OHKUBO, K.; MATSUDA, Y.; FUKUZUMI, S. Synthesis and Characterization of Mononuclear Ruthenium(III) Pyridylamine Complexes and Mechanistic Insights into Their Catalytic Alkane Functionalization with *m*-Chloroperbenzoic Acid. **Chem. Eur. J.**, v. 13, p. 8212 – 8222, 2007.

LAZARINI, F. Structure of diethylammonium hexachlorobismuthate (III). **Acta Crystallogr. Sect. C**, v. 43, p. 637-638, 1987.

LEVER, A. B. P. Electrochemical parametrization of metal complex redox potentials, using the ruthenium(III)/ruthenium(II) couple to generate a ligand electrochemical series. **Inorg. Chem.**, v. 29, p. 1271, 1990.

de LIMA, R. G.; LEVER, A.B. P.; ITO, I. Y.; DA SILVA, R. S. Antifungal activity of novel catecholamine ruthenium (III) complexes. **Trans. Metal Chem.**, v. 28, p. 272-275, 2003.

LIN, C-E.; DENG, Y-J.; LIAO, W-S.; SUN, S-W.; LIN, W-Y.; CHEN, C-C. Electrophoretic behaviour and pKa determination of quinolones with peperazinyl substituent by capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 1051, p. 283-290, 2004.

MICOLI, F.; SALVI, L.; SALVINI, A.; FREDIANI, P.; GIANNELLI, C. Mononuclear ruthenium complexes containing two different phosphines in trans position: I. Synthesis and spectroscopic characterization. **J. Organomet. Chem.**, v. 690, p. 4867-4877, 2005.

MISHRA, L.; SINHA, R.; ITOKAWA, H. et al. Anti-HIV and cytotoxic activities of Ru(II)/Ru(III) polypyridyl complexes containing 2,6-(2'-benzimidazolyl)-pyridine/chalcone as co-ligand. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 9, p. 1667, 2001.

NAVARRO, M.; PEREZ, H.; SANCHEZ-DELGADO, R. A. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of the new gold-chloroquine complex [Au(PPh₃)(CQ)](PF₆). **J. Med. Chem.**, v. 40, p. 1937-1939, 1997.

NIKOLAOU, S. Desenvolvimento de sistemas polinucleares baseados em clusters trinucleares e complexos poliimínicos de rutênio: unidades de montagem em química supramolecular. **Tese de Doutorado**, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 2002.

PANSURIYA, P. B.; DHANDHUKIA, P.; THAKAR, V.; PATEL, M. N. Synthesis, spectroscopic and biological aspects of iron(II) complexes. **J. Enzym. Inhib. Med. Chem.**, v. 22, p. 477-487, 2007.

PATRIC, G. L. Antibacterial Agents. In: **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 3ª ed., New York, Oxford University Press, p. 428-431, 2005.

PSOMAS, G. Mononuclear metal complexes with ciprofloxacin: synthesis, characterization and DNA-binding properties. **J. Inorg. Biochem.**, v. 102, p. 1798-1811, 2008.

RAVEENDRAN, R.; PAL, S. Synthesis, structure and properties of di- and mononuclear ruthenium(III) complexes with N-(benzoyl)-N'-(salicylidene)hydrazine and its derivatives. **Inorg. Chim. Acta**, v. 359, p. 3212–3220, 2006.

SADEEK, S. A. Synthesis, thermogravimetric analysis, infrared, electronic and mass spectra of Mn(II), Co(II) and Fe(III) norfloxacin complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 753, p. 1-12, 2005.

SAHA, D. K.; PADHYE, S.; ANSON, C. E.; POWELL, A. K. Hydrothermal synthesis, crystal structure, spectroscopy, electrochemistry and antimycobacterial evaluation of the copper (II) ciprofloxacin complex: $[\text{Cu}(\text{cf})_2(\text{BF}_4)_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. **Inorg. Chem. Commun.**, v. 5, p. 1022-1027, 2002.

SANCHEZ-DELGADO, R. A.; NAVARRO, M.; PEREZ, H.; URBINA, J. A. Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases. **J. Med. Chem.**, v. 39, p. 1095-1099, 1996.

SAVA, G.; PACOR, S.; BERGAMO, A.; COCCHIETTO, M.; MESTRONI, G.; ALESSIO, E. Effects of ruthenium complexes on experimental tumors: irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition. **Chem. Biol. Interac.**, v. 95, p. 109-126, 1995.

SHIVER, D. F.; ATKINS, P.W.; LANGFORD, C.H. d -Metal complexes. In: **Inorganic Chemistry**. 2ª ed., Oxford, Oxford University Press, p. 226-2731, 1994.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. In: **Spectroscopic Identification of Organic Compounds**. 5ª ed., John Wiley & Sons, 1991.

TAVARES, W. Quinolonas. In: **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Anti-infecciosos**. 2ª ed., São Paulo, Atheneu, p. 684-713, 1996.

TOFFOLI, P. P.; KHODADAD, P.; RODIER, N. Tétrachloroplatinate (II) de bis (pérfloxacinium) dehydrate. **Acta Crystallogr. Sect. C**, v. 44, p. 470-472, 1988.

TREFI, S.; GILARD, V.; MALET-MARTINO, M.; MARTINO, R. Generic ciprofloxacin tablets contain the stated amount of drug and different impurity profiles: A 19F, 1H and DOSY NMR analysis. **J. Pharmaceut. Biomed.** v. 44, p. 743–754, 2007.

TRINCHERO, A.; BARBOSA, S.; FINI, A. Spectroscopic behavior of copper complexes of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Biopolymers**, v. 74, p. 120-124, 2004.

TUREL, I.; LEBAN, I.; BUKOVEC, P. Synthesis, characterization and crystal structure of a copper(II) complex with quinolone family member (ciprofloxacin): bis(1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-piperazin-1-yl)quinolone-3-carboxylate copper(II) chloride hexahydrate. **J. Inorg. Biochem.**, v. 56, p. 273-282, 1994.

TUREL, I.; BUKOVEC, P. Comparison of the thermal stability of ciprofloxacin and its compounds. **Thermochim. Acta**, v. 287, p. 311-318, 1996.

TUREL, I.; GRUBER, K.; LEBAN, I.; BUKOVEC, N. Synthesis, crystal structure, and characterization of three novel compounds of the quinolone family member (norfloxacin) **J. Inorg. Biochem.**, v. 61, p. 197-212, 1996.

TUREL, I.; BUKOVEC, P.; QUIRÓS, M. Crystal structure of ciprofloxacin hexahydrate and its characterization. **Int. J. Pharm.**, v. 152, p. 59-65, 1997

TUREL, I.; LEBAN, I.; BUKOVEC, N. Crystal structure and characterization of the bismuth (III) compound with quinolone family member (ciprofloxacin). Antibacterial study. **J. Inorg. Biochem.**, v. 66, p. 241-245, 1997.

TUREL, I. The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents. **Coord. Chem. Rev.**, v. 232, p. 27-47, 2002.

XIAO, D-R.; WANG, E-B.; NA, H-Y.; SU, Z-M.; LI, Y-G.; GAO, L.; SUN, C-Y.; XU, L. Rationally designed, polymeric, extended metal – ciprofloxacin complexes. **Chem. Eur. J.**, v. 11, p. 6673-6686, 2005.

YU, L.-C.; CHEN, Z.-F.; LIANG, H.; ZHOU, C.-S.; FUN, H.-K. Hydrothermal synthesis, crystal structure and antibacterial studies of nickel(II) and manganese(II) complexes with ciprofloxacin. **J. Coord. Chem.**, v. 59, p. 953–959, 2006.

WEDER, J. E.; DILLON, C. T.; HAMBLEY, T. W.; KENNEDY, B. J.; LAY, P. A.; BIFFIN, J. R.; REGTOP, H. L.; DAVIES, N. M. Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized. **Coord. Chem. Rev.**, v. 232, p. 95-125, 2002.

de WITTE, B.; DEWULF, J.; DEMEESTERE, K.; de RUYCK, M.; LANGENHOVE, H. V. Critical points in the analysis of ciprofloxacin by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 1140, p. 126-130, 2007.

ZIEBA, A.; MASLANKIEWICZ, A.; SITKOWSKI, J. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR spectra of ciprofloxacin. **Magn. Reson. Chem.**, v. 42, n. 10, p.903-904, 2004.