

UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA
REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL

Bruno Torquato Biagioni

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS METÁLICOS COM
GABAPENTINA E ÁCIDO FURÓICO

Araraquara, SP

2022

Bruno Torquato Biagioni

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS METÁLICOS COM
GABAPENTINA E ÁCIDO FUROICO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara – UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Cavicchioli

Coorientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Massabni

Araraquara, SP

2022

B471d Biagioni, Bruno Torquato

Desenvolvimento de novos complexos metálicos com gabapentina e ácido fólico/Bruno Torquato Biagioni. – Araraquara: Universidade de Araraquara, 2022.

70f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal – UNIARA

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Cavicchioli

Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Massabni

1. Prata. 2. Compostos. 3. Metálicos. 4. Tuberculose. I. Título.


CDU 577.4

BRUNO TORQUATO BIAGIONI

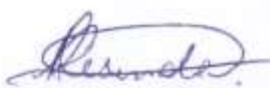
Dissertação apresentada a Universidade de Araraquara UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 24 de fevereiro de 2022


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. MAURÍCIO CAVICCHIOLI (Orientador)
Universidade de Araraquara - UNIARA



Profª Drª FLÁVIA APARECIDA RESENDE NOGUEIRA
Universidade de Araraquara - UNIARA



Prof. Dr. RENAN LIRA DE FARIAS
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao Grande Arquiteto do Universo, por nortear minhas perspectivas para os bons rumos.

Dedico também a minha amada família que sempre esteve comigo me fortificando para continuar em minha jornada.

Dedico este trabalho aos meus saudosos avós Antônio Torquato Primo e Nilva Therezinha de Mello Torquato (*In Memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Grande Arquiteto do Universo pela vida.

A minha família por todo amor e dedicação que tiveram comigo. Agradeço minha esposa Natalia, minhas filhas Alice e Julia, minha mãe Consuelo de Mello Torquato, meu pai Antônio Carlos Biagioni, minha “mãedra” Elaine, meus irmãos Jú, Kaká, Lú, meus tios e tias, primos e primas.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Medicina regenerativa e Química Medicinal – UNIARA, por contribuir com a minha formação. Ao Coordenador do programa Prof. Dr. André Capaldo Amaral, a Prof. Dr Flavia Aparecida Resende Nogueira e a as colaboradoras da UNIARA Laura, Sandra e Rosana pela disponibilidade e predisposição em ajudar nas rotinas administrativas.

A Prof. Dr^a Teresa Kazuko Muraoka coordenadora do curso de Ciências Biológicas da UNIARA

Ao grupo do Laboratório de Química Inorgânica Medicinal (QIM), Prof. Dr. Antônio Massabni, Dr. Mauricio Cavichioli e a todos docentes e discentes do programa.

A agência: Coordenação de aperfeiçoamento de nível superior (Capes) pela oportunidade de custear as mensalidades por meio do Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP).

Aos amigos de trabalho na companhia SGS, Edvaldo, Luiz, Fábio sempre me ajudaram a conciliar o trabalho com os estudos, sou muito grato pela amizade e companheirismo.

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O uso excessivo e inadequado de fármacos tem prejudicado a eficácia dos antibióticos no tratamento da tuberculose (TB), causando resistência bacteriana. Para atingir esses objetivos, os fármacos utilizados devem ser capazes de eliminar rapidamente a população bacteriana, evitando a seleção de cepas resistentes e prevenindo sua recorrência. Este trabalho trata da síntese e da caracterização de complexos metálicos e de testes biológicos que foram realizados com os complexos obtidos. Os ligantes utilizados foram a gabapentina, que possui atividade anticonvulsivante e analgésica; e o ácido furóico, responsável pela conservação de alimentos, aroma e regulação de metabolismos. O metal escolhido foi a prata, tendo em vista que muitos dos compostos de prata, assim como nanopartículas, possuem propriedades antibacterianas. Foram obtidos dois complexos de prata com os ligantes gabapentina e ácido furóico. Os complexos apresentam as seguintes fórmulas moleculares propostas: $[Ag(C_9H_{17}NO_2)]$ para gabapentina + Ag, $[Ag_2(C_5H_4O_3)] \cdot NO_3$ para ácido furóico + Ag. Esses complexos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia no infravermelho e termogravimetria. Testes realizados constataram atividade biológica para ambos os complexos.

Palavras-chave: prata, compostos metálicos, tuberculose.

ABSTRACT

The excessive and inappropriate use of drugs has impaired the effectiveness of antibiotics in the treatment of tuberculosis (TB), causing bacterial resistance. To achieve these goals, the drugs used must be able to quickly eliminate the bacterial population, avoiding the selection of resistant strains and preventing their recurrence. This work deals with the synthesis and characterization of metal complexes and biological tests that were performed with the obtained complexes. The ligands used were gabapentin, which has anticonvulsant and analgesic activity; and furoic acid, responsible for food preservation, aroma and metabolism regulation. The metal chosen was silver, considering that many of the silver compounds, as well as nanoparticles, have antibacterial properties. Two silver complexes with the ligands gabapentin and furoic acid were obtained. The complexes have the following proposed molecular formulas: $[\text{Ag}(\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_2)]$ for gabapentin + Ag, $[\text{Ag}_2(\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3)] \cdot \text{NO}_3$ for furoic acid + Ag. These complexes were characterized by elemental analysis, infrared spectroscopy and thermogravimetry. Tests performed showed biological activity for both complexes.

Keywords: silver, metallic compounds, tuberculosis.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	3
1.1 Complexos metálicos utilizados na clínica médica	4
1.1.1 Antitumorais	4
1.1.2 Antibacterianos	5
1.1.3 Antirreumáticos	7
1.1.4 Complexos metálicos como agentes de contraste	8
1.2 Tuberculose	10
1.2.1 Principais fármacos no tratamento da TB	11
1.2.2 Resistência a fármacos	12
1.2.3 Multirresistência a fármacos	13
1.2.4 Usos da prata	15
1.3 Barreira Hematoencefálica (BHE)	16
1.4 Penetração na Barreira Hematoencefálica	17
1.4.1 Gabapentina (BHE)	17
1.4.2 Ácido Furóico (BHE)	18
2 OBJETIVOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 Ligantes	19
3.1.1 Gabapentina	19
3.1.2 Ácido furóico	21
3.2 Metal	22
3.2.1 Prata	22
4 PARTE EXPERIMENTAL	23
4.1 Sínteses dos complexos metálicos	23
4.1.1 Complexo de gabapentina com prata	23
4.1.2 Complexo de ácido furóico com prata	25
4.2 Testes biológicos	27
4.2.1 Teste de inibição de crescimento bacteriano dos complexos de prata	27
4.2.2 Teste da concentração inibitória mínima (MIC)	28
4.2.2.1 Teste da concentração inibitória mínima (MIC) Ag- Gabapentina	28
4.2.2.2 Teste da concentração inibitória mínima (MIC) Ag- AcFur	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Caracterização dos complexos	32
5.1.1 Análise elementar	32
5.1.2 Análise termogravimétrica	32
5.1.2.1 TGA / DSC complexo Ag Gabapentina	33
5.1.2.2 TGA / DSC complexo Ag Ácido Furóico	34
5.1.3 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)	36
5.1.3.1 FTIR Ag Gabapentina	36
5.1.3.1 FTIR Ag Ácido Furóico	37
5.2 Testes de solubilidade	38
5.3 Testes biológicos	39
5.3.1 Ensaio de atividade inibitória de crescimento bacteriano por difusão em discos	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41

7 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA.....	43
8 CRONOGRAMA	44
REFERÊNCIAS.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ACs	Agentes de contrastes
Ag	Prata
AMR	Resistência antibacteriana
ACFUR	Ácido Furóico
ATCC	American type culture collection
BHI	Brain Heart infusion
C	Carbono
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	Clinical and laboratory Standards Institut
DFT	Density functional theory
DMSO	Dimetil-sulfoxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSC	Differential scanning calorimetry
EMB	Etambutol
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
FMO	Orbitais moleculares de fronteira
H	hidrogênio
HIV	Vírus da Imunodeficiência
GBP	Gabapentina
IRAS	Infecções relacionadas a assistência à saúde
IV	Infravermelho

K	Potássio
OMS	Organização Mundial da Saúde
P₄O₁₀	Pentóxido de fósforo
PZA	pirazinamida
FTIR	Espectroscopia do Infra vermelho
RM	Ressonância magnética
RPM	Rotação por minutos
TB	Tuberculose
TCA	Intermediário dos ácidos tricarboxílicos
TG	Análise termogravimétrica

Lista de figuras

FIGURA 1: COMPLEXOS DE PLATINA APROVADOS NA CLINICA MÉDICA	4
FIGURA 2: MECANISMO DE AÇÃO DA CISPLATINA	6
FIGURA 3: ESTRUTURA MOLECULAR DA SULFADIAZINA DE PRATA	6
FIGURA 4: COMPLEXOS METÁLICOS A BASE DE BISMUTO	7
FIGURA 5: COMPLEXOS ANTIRREUMÁTICOS.....	8
FIGURA 6: AGENTE DE CONTRASTE A BASE DE GADOLÍNIO	9
FIGURA 7: FÓRMULAS ESTRUTURAIS DAS SUBSTÂNCIAS MAIS UTILIZADAS PARA O TRATAMENTO DA TB.....	12
FIGURA 8: ILUSTRAÇÃO DA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA (BHE) E SUA SELETIVIDADE	16
FIGURA 9: FÓRMULA ESTRUTURAL DO GABAPENTINA	20
Figura 10: Fórmula estrutural do ácido 2-furoico	20
Figura 11: Produção do complexo Ag+Gabapentina 20	
FIGURA 12: PRODUÇÃO DO COMPLEXO AG+ACFUROICO FÓRMULA ESTRUTURAL DO GABAPENTINA.....	24
FIGURA 13: FORMAÇÃO DO PRECIPITADO DE AG+ACFUROICO	25
FIGURA 14: PLACA DE PETRI INOCULADA COM AS CEPAS BACTERIANAS E OS DISCOS COM O COMPLEXO DE AG+GABAPENTINA	28
FIGURA 15: PLACA DE PETRI INOCULADA COM AS CEPAS BACTERIANAS E OS DISCOS COM O COMPLEXO DE AG+ACFUR.....	30
FIGURA 16: OBTENÇÃO DE DOIS NOVOS COMPLEXOS METÁLICOS INÉDITOS	43

1 INTRODUÇÃO

Considera-se que diversos íons metálicos são primordiais para os seres vivos e desempenham papéis cruciais no sistema biológico, no qual estão presentes inúmeros processos bioquímicos e interações com diversas moléculas como DNA e proteínas. O grupo heme da hemoglobina, por exemplo, contém o íon Fe^{2+} coordenado, tornando-se essencial para o transporte de oxigênio e para o transporte de elétrons (BERALDO, 2005).

A Química Inorgânica Medicinal começou no século 20 com os trabalhos de Paul Ehrlich, Prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1908, e Alfred Werner, Prêmio Nobel de Química em 1913. Paul Ehrlich foi o precursor e criador da Quimioterapia e do conceito de índice terapêutico. Já Alfred Werner é considerado o pai da Química de Coordenação, por sua teoria que explica as ligações existentes nos compostos de coordenação e suas estruturas (MONGE et al., 2000).

Em 1964, Barnett Rosenberg já estudava os efeitos do campo elétrico sobre culturas bacterianas de *Escherichia coli*, quando observou que as bactérias passavam a crescer na forma de filamentos, devido à impossibilidade de se multiplicarem. Ele acabou descobrindo acidentalmente que na região próxima aos eletrodos de platina havia uma inibição à divisão celular bacteriana. Após a análise do material próximo aos eletrodos, descobriu-se que era por causa da formação da cisplatina (HOESCHELE, 2014).

1.1 Complexos metálicos utilizados na clínica médica

1.1.1 Antitumorais

Em meados dos anos 1970, a cisplatina foi aprovada pela agência norte-americana Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de alguns tipos de câncer como de ovário e de testículo (REEDIJK, 1987).

Atualmente, a cisplatina $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, também conhecida como *cis*-diaminodichloroplatina(II), é prescrita para neoplasias, como câncer de pulmão, cabeça, esôfago, mama e cérvix. Novas descobertas mostram que também é eficaz em casos de sarcomas, linfomas, câncer pulmonar, esôfago, tireoide, melanoma maligno e neuroblastoma (ALMEIDA et al., 2005).

Após a descoberta da cisplatina, vários outros complexos à base de platina(II) foram estudados, entretanto somente outros dois complexos foram aprovados para a utilização clínica no mundo todo. São eles: a oxaliplatina e a carboplatina. Entretanto existem outros análogos da Cisplatina tais como a Nedaplatina, Heptaplatina e Loboplatina que já estão aprovados no Japão e China, respectivamente.

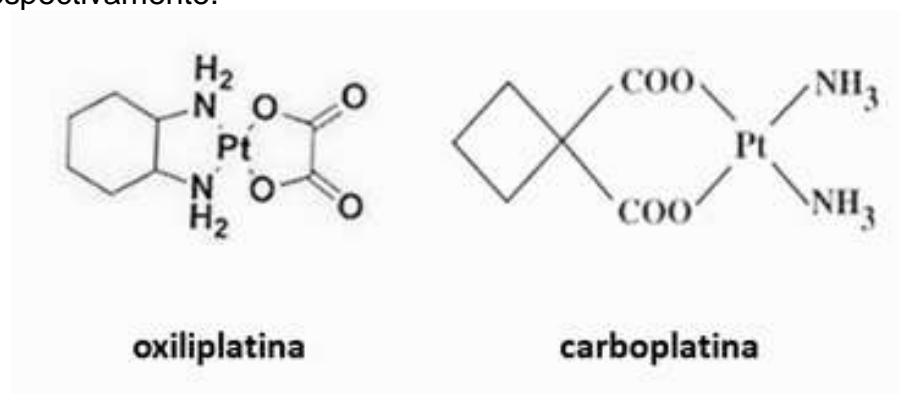


Figura 1. Complexos de platina aprovados na clínica médica

O mecanismo de ação da cisplatina se inicia com a entrada do complexo no interior da célula. No meio intracelular, o complexo sofre hidrólise, substituindo um ou dois dos cloretos de sua estrutura por uma ou duas moléculas de água. Esse processo de hidrólise possibilita a ligação da platina ao DNA através do nitrogênio 7 da guanina. As ligações entre a platina e o DNA ocasionam distorções na estrutura do material genético gerando bloqueio do ciclo celular e ao processo de apoptose (SIDDIK, 2003).

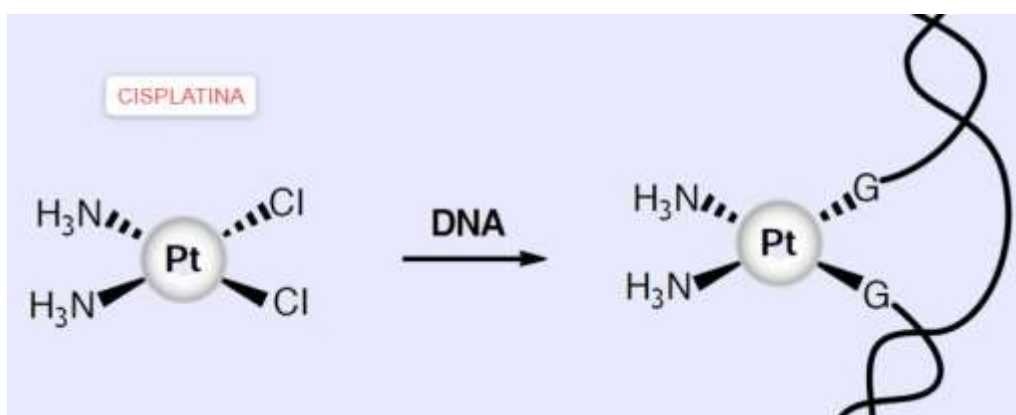


Figura 2. Mecanismo de ação da cisplatina

1.1.2 Antibacterianos

Além do rápido aumento da resistência bacteriana frente aos antibióticos já existentes, tem ocorrido, na mesma velocidade, uma redução drástica do conjunto de fármacos disponíveis para o tratamento de infecções bacterianas resistentes. Conseqüentemente, a busca por novos princípios ativos farmacêuticos torna-se indispensável (ROCHA et al., 2011).

Em 1968, Charles L. Fox estudava a associação de nitrato de prata com sulfadiazina. Essa pesquisa acabou resultando no desenvolvimento do complexo de sulfadiazina com prata(II) (Figura 3). Obtendo sua aprovação em 1973 pelo

FDA, ela é amplamente usada até hoje no tratamento de queimaduras de segundo e terceiro grau (RAGONHA et al., 2005).



Figura 3. Estrutura molecular da sulfadiazina de prata

A sulfadiazina de prata é um antibacteriano de uso tópico que apresenta estrutura cristalina polimórficas e é comercializado na forma cremosa inodora, de cor branca e hidrossolúvel. Sua prescrição é indicada para o tratamento de infecções em pacientes com quadros de queimaduras, feridas cirúrgicas, escaras de decúbito e úlceras varicosas. O complexo tem atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (RAGONHA et al., 2005).

Já os compostos à base de bismuto são utilizados na clínica médica para tratar doenças do trato gastrointestinal como a infecção por *Helicobacter pylori*. O tratamento para a erradicação da *H. pylori* consiste na utilização de diversos complexos metálicos a base de bismuto, como subsalicilato de bismuto, e o citrato de bismuto (Figura 4) (ROCHA et al., 2011).

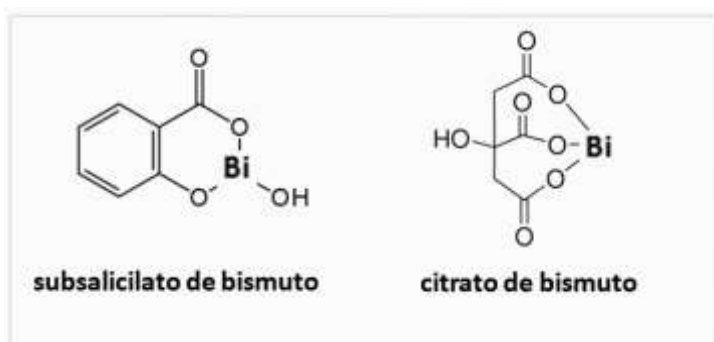


Figura 4. Complexos metálicos a base de bismuto

1.1.3 Antirreumáticos

O ouro também é um metal muito utilizado desde a Antiguidade com finalidade terapêutica. Os primeiros relatos sobre sua utilização na Medicina ocorreram em 2500 a.C. (HIGBY,1982).

Os compostos à base de ouro também se mostraram eficazes na diminuição das dores articulares, levando, em 1929, Jacques Foriester a estudar o uso de compostos de ouro no tratamento de artrite reumatoide (DELGADO et al., 2020).

Atualmente, com o desenvolvimento de novos fármacos para tratamento da artrite reumatoide, houve uma diminuição da prescrição desses compostos à base de ouro para esse tipo de tratamento, porém ainda fazem parte da classe de fármacos antirreumáticos. São eles o aurotiomalato de sódio, a aurotioglicose e a auranofina (DELGADO et al., 2020).

Recentemente, verificou-se supostamente que a auranofina inibe a replicação do SARS-COV-2 em células humanas em baixa concentração. O tratamento com a auranofina resultou na redução significativa das citocinas induzidas pelo SARS-COV-2 em células humanas. A auranofina poderia mitigar a infecção pelo SARS-COV-2 e os danos pulmonares devido a suas propriedades antivirais e anti-inflamatórias (ROTHAN et al., 2020).

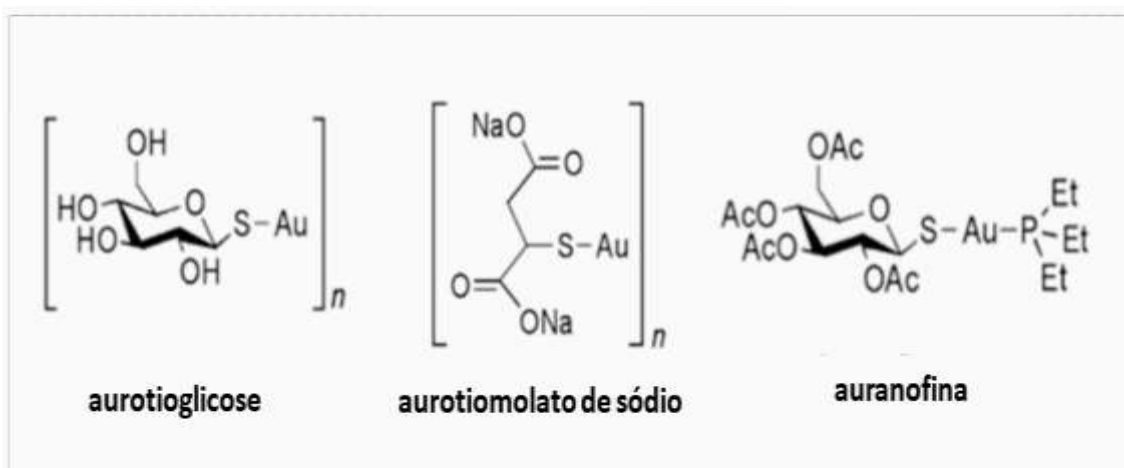


Figura 5. Complexos antirreumáticos

1.1.4 Complexos metálicos como agentes de contraste

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma ótima técnica para se estudar as imagens diagnósticas e é não invasiva, permitindo a obtenção de imagens tridimensionais de alta resolução (COURANT et al., 2013). Entre os compostos metálicos utilizados na clínica estão os complexos a base de gadolínio Gd^{3+} , complexos de manganês Mn^{2+} e óxidos de Fe^{2+} (FRULLANO; CARAVAN, 2011).

Os complexos metálicos à base de gadolínio aprovados como agentes de contraste para utilização são: Magnevist (gadopentato), MultiHance (gadobenato de dimeglumina), Dotarem (ácido gadotérico), ProHance (gadoteridol), Gadovist (gadobutrol), Vasovist (gadofosveset trissódico), Eovist (gadoxetato dissódico) e Optimark (gadoversetamida) (LAURENT et al., 2012).

O Gd-DTPA (gadopentato) (Figura 6) foi o primeiro complexo aprovado para o uso clínico e o mais utilizado devido a sua estabilidade, em solução. É muito utilizado para exames de lesões intracranianas (AIME, 2002).

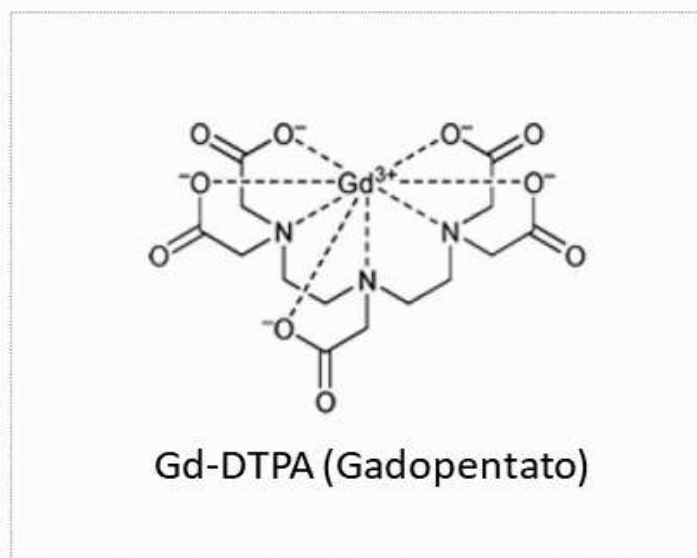


Figura 6. Agente de contraste à base de gadolínio.

Recentemente, o grupo do Orientador deste trabalho publicou um artigo que trata dos metalofármacos e sua importância para a detecção de vários tipos de doenças e tumores (PAYOLLA; MASSABNI; ORVIG, 2019).

Considera-se que os íons metálicos, além de essenciais para diversas funções vitais do organismo, podem modificar a ação e a estrutura de compostos orgânicos empregados na Medicina, podendo ser ativados ou biotransformados através de íons presentes no meio biológico. À vista disso, o estudo e a pesquisa de complexos metálicos e de metalofármacos que apresentam algum potencial biológico são de grande importância.

Os ligantes dos metalofármacos podem ser orgânicos ou inorgânicos. A coordenação com o íon metálico pode modificar as propriedades físicas e químicas, alterar a toxicidade, modificar a biodistribuição, reduzir os efeitos colaterais e aumentar a atividade biológica. Os ligantes são moléculas ou íons que se encontram ligados à espécie central (íon metálico) por ligação coordenada (PAYOLLA; MASSABNI; ORVIG, 2019).

1.2 Tuberculose

A tuberculose (TB) é uma das dez principais causas de morte humana, sendo a mais letal causada por um único agente infeccioso (acima do HIV/AIDS). Essa doença afeta 1/3 da população mundial e aproximadamente 10 milhões de pessoas desenvolvem TB a cada ano, resultando em 2 milhões de mortes. (BRASIL. Ministério da Saúde.)

Embora o tratamento médico padrão com medicamentos para TB seja altamente eficaz, são necessárias mais terapias para reduzir o número de casos infecciosos. O número de novos casos de TB multirresistente (MDR-TB) e TB extensivamente resistente (XDR-TB) continua aumentando. Compreender o perfil epidemiológico da TB é fundamental para reduzir o tempo entre os primeiros sintomas, o diagnóstico e a início de tratamentos médicos supervisionados. Também é importante desenvolver pesquisas para introduzir novos medicamentos ou melhorar os já existentes, o que pode reduzir o tempo de tratamento de 6 para 3 meses, por exemplo, evitando o abandono e aumentando a adesão, que previnem a TBMR e a TBXDR. Enquanto algumas iniciativas contra a TB visam erradicar as condições sociais que aumentam os casos de TB (como pobreza extrema, desnutrição e tabagismo), outras ações buscam aumentar a imunidade da população à bactéria por meio da vacina Bacillus Calmette-Guérin (BCG); também são inúmeros os esforços para eliminar o *Mycobacterium tuberculosis* como causa da forma ativa (e letal) da TB, criando novos medicamentos para uso potencial.

Desde 1960, diante da resistência bacteriana e do aumento dos casos de óbitos por TB, o esquema de tratamento foi padronizado e o tratamento atualmente recomendado para casos de TB sensível a medicamentos é um esquema de seis meses com os quatro medicamentos de primeira linha.

A tuberculose (TB) é uma grave doença do tipo infectocontagiosa e de caráter crônico que afeta a humanidade há mais de 5.000 anos. É causada pelo

agente etiológico *Mycobacterium tuberculosis*, um dos patógenos que mais causam mortes no mundo (CAMPOS, 1999). A infecção da TB ocorre através da inalação do *M. tuberculosis* presente nos aerossóis ou nas partículas de poeira presentes no ar. As pessoas contaminadas transmitem o microrganismo expelindo-o no ar, através da fala, da tosse, de espirros e de perdigotos (BIAGIONI; CAVICCHIOLI; MASSABNI).

A TB é uma doença que afeta uma boa parcela da população mundial, sendo que aproximadamente 10 milhões de pessoas acabam desenvolvendo a doença (WHO, 2018).

Vale enfatizar a problemática da tuberculose e lembrar que somente em 2018 cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram TB em todo o mundo, e 1,5 milhão de pessoas vieram ao óbito por decorrência da doença (MASSABNI; BONINI, 2019).

1.2.1 Principais fármacos no tratamento da TB

O tratamento padrão para TB consiste em quatro medicamentos de primeira linha: isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol, e a resistência dos bacilos pode ocorrer a todos os medicamentos de primeira linha (PAI et al., 2016). O tratamento da TB visa a cura (prevenindo sua morbidade e mortalidade) e a interrupção da transmissão da doença (tornando os pacientes não infecciosos). Para atingir esses objetivos, os medicamentos utilizados devem ser capazes de eliminar rapidamente a população bacteriana, evitando a seleção de cepas resistentes aos medicamentos e esterilizando a lesão, evitando sua recorrência (RABAHI et al., 2017).

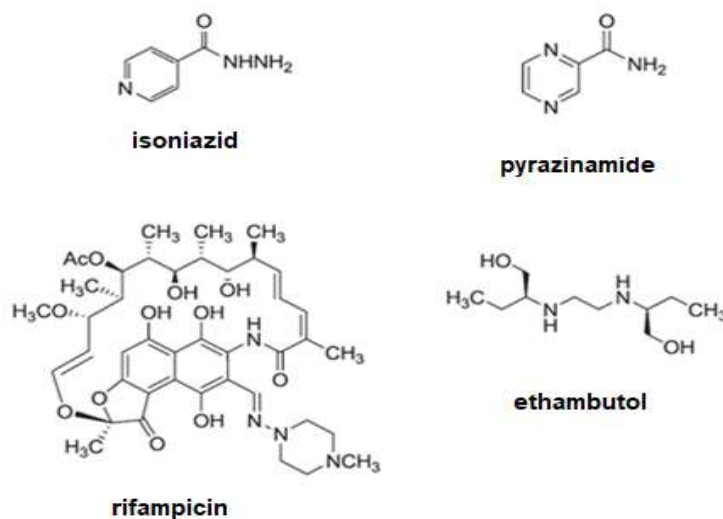


Figura 7. Fórmulas estruturais das substâncias mais utilizadas para o tratamento da TB
Fonte: Biagioni, Cavicchioli e Massabni.

Desde 1960, existem pesquisas em face da resistência bacteriana e do aumento dos casos de morte por TB, através das pesquisas científicas o regime de tratamento foi padronizado e o tratamento atualmente recomendado para os casos de TB sendo necessário uso de fármacos em um regime de seis meses, sendo utilizado como profilaxia quatro fármacos de primeira linha (RABAHI et al., 2017). As fórmulas estruturais destas substâncias são mostradas na Figura 7.

1.2.2 Resistência a fármacos

O rápido surgimento de bactérias resistentes prejudicou a eficácia dos antibióticos para o tratamento da TB. A crise de resistência aos antibióticos tem sido atribuída ao uso excessivo e inadequado desses medicamentos, bem como à falta de desenvolvimento de novos medicamentos pela indústria farmacêutica, devido à redução dos incentivos econômicos e a exigências regulatórias desafiadoras (VENTOLA, 2015).

Os genes bacterianos podem ser herdados ou podem ser adquiridos de plasmídeos. Essa transferência horizontal de genes pode permitir a transferência de resistência aos antibióticos entre diferentes tipos de bactérias. A resistência também pode aparecer através de mutação. Os antibióticos podem remover concorrentes sensíveis aos medicamentos, permitindo a reprodução de bactérias resistentes como resultado de uma seleção natural (VENTOLA, 2015).

As micobactérias têm algumas estratégias para desenvolver a resistência aos medicamentos. As principais são: diminuição da permeabilidade da parede celular, aumento do efluxo da droga, degradação ou inativação dos fármacos através de enzimas e modificações genéticas no alvo da droga. No *M. tuberculosis*, a resistência é adquirida somente por mutações cromossômicas e a multirresistência ocorre devido ao acúmulo de mutações em genes independentes, que são cada um responsável pela resistência a um determinado antibiótico (SANTOS et al., 2012).

Os tipos de resistência ao *M. tuberculosis* são classificados como naturais, iniciais, primários e adquiridos (ou secundários). A resistência natural ocorre com mutação espontânea de bacilos; a inicial é observada em pacientes com alguma forma de resistência a um ou mais medicamentos cujo histórico de tratamento é desconhecido; a resistência primária ocorre em pacientes infectados com uma cepa resistente de *M. tuberculosis* e a adquirida ou secundária ocorre devido ao uso inadequado de medicamentos prescritos (SANTOS et al., 2012).

1.2.3 Multirresistência a fármacos

O tratamento da TB multirresistente é um dos maiores desafios globais para o controle da doença, especialmente a resistente à rifampicina, isolada ou combinada com outros fármacos, pois é a droga mais eficaz contra o bacilo *M. tuberculosis*. Os esquemas sem rifampicina em sua composição, seja por resistência ou intolerância, exigem o uso de fármacos de segunda linha, o que

resulta em tratamento com maior duração, com grande potencial de toxicidade e mau prognóstico (BRASIL, 2018).

Quanto aos casos de TB sensíveis a fármacos, o regime terapêutico para TB multirresistente deve utilizar pelo menos quatro fármacos eficazes (nunca utilizadas antes ou com alta probabilidade de serem sensíveis), de acordo com a classificação racional de fármacos, contendo pelo menos dois fármacos essenciais (bactericidas e esterilizantes), mais dois fármacos acompanhantes (ação protetora contra resistência adquirida essencial) (BRASIL, 2018).

Em pacientes com TB resistente à rifampicina ou multirresistentes, é recomendada a terapia com pelo menos cinco fármacos anti-TB durante a fase intensiva, incluindo pirazinamida e quatro fármacos de segunda linha (uma do Grupo A, uma do Grupo B e pelo menos duas do Grupo C). Se o número mínimo de fármacos contra a TB não puder ser incluído na dose de tratamento como indicado acima, um agente do Grupo D2 e outros agentes do Grupo D3 podem ser adicionados para atingir o total de cinco (Quadro 1) (OMS, 2016).

Quadro 1. Classes de medicamentos anti-TB de segunda linha

Grupos	Classificação	Fármacos
Grupo A	fluoroquinolonas	levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina
Grupo B	aminoglicosídeos	amikacina, capreomicina, canamicina, estreptomina
Grupo C	outros agentes importantes de segunda linha	etionamida/protionamida, cicloserina/terizidona, linezolida, clofazimina
Grupo D	agentes adicionais	D1: pirazinamida, etambutol, alta dose de isoniazida
		D2: bedaquilina, delamanid
		D3: ácido para-aminossalicílico, imipenem-cilastatina, meropenem, amoxicilina-clavulanato, tioketona

Fonte: Biagioni, Cavicchioli e Massabni (no prelo).

1.2.4 Usos da prata

A prata e seus sais de prata(I) são considerados tóxicos também para os seres humanos e para organismos inferiores. Muitas formulações incluíram compostos de prata(I) como fármaco para certos tratamentos médicos como agentes antimicrobianos e anticancerígenos foram usados no século passado (MEDICI et al., 2019).

O metal não tem papel biológico. Pelo contrário, é considerado altamente tóxico para os organismos vivos, dependendo de sua concentração. No entanto não é um veneno cumulativo no corpo, diferentemente de outros metais pesados. Já há algum tempo, os complexos de Ag(I) têm sido considerados possíveis metalofármacos devido às suas propriedades biológicas. Vários estudos mostram as atividades da prata contra bactérias, fungos, parasitas, cânceres e malária (MEDICI et al., 2019).

De acordo com Medici et al. (2019), a eficácia dos complexos de Ag(I) contra bactérias, principalmente, depende de vários fatores: lipofilicidade, propensão à redução, solubilidade e estabilidade em água, e taxa de liberação dos íons Ag(I). Entretanto os autores comentam que mesmo que um complexo de Ag(I) seja bem projetado para uso médico, sua eficácia pode diminuir consideravelmente quando usado *in vivo* por causa da formação de AgCl insolúvel ou ligação do complexo a enzimas celulares.

Uma abordagem comum para as sínteses de complexos metálicos — incluindo complexos Ag(I) — é associar a ação do centro metálico com a de um fármaco que já exibiu propriedades terapêuticas contra uma determinada doença. Juntamente de um agente conservador que pela literatura possui ação antibacteriana e antifúngica. A intenção é que a combinação de metal e ligante melhore o desempenho do complexo resultante, já existem inúmeras publicações científicas que enfatizam a viabilidade da prata Ag como um eficiente antibiótico e antibactericida como é o caso de vários complexos de prata Ag(I) discutidos adiante neste trabalho.

A formação de novos complexos de prata Ag, podem proporcionar para humanidade, substitutos a outros metais de cunho terapêutico, como no caso da platina Pt, Ouro Au, dentre outros metais que ao longo de sua utilização vem se tornando escassos.

1.3 Barreira Hematoencefálica (BHE)

A Barreira hematoencefálica (BHE) é uma estrutura de permeabilidade altamente seletiva que protege o Sistema Nervoso Central (SNC) de substâncias potencialmente neurotóxicas presentes no sangue e sendo essencial para função metabólica normal do cérebro. É composta de células endoteliais estreitamente unidas, astrócitos, pericitos e diversas proteínas. Cerca de 98% dos medicamentos em potencial não ultrapassam esta barreira, sendo esse um dos principais desafios na terapêutica de sistema nervoso central.

A BHE é semi-permeável, ou seja, ela permite que algumas substâncias atravessem e outras não. Os capilares (vasos sanguíneos muito finos), ficam alinhados às células endoteliais. O tecido endotelial tem pequenos espaços entre cada célula para que substâncias possam se mover de um lado para o outro, entrando e saindo dos capilares. Porém, no cérebro, as células endoteliais são posicionadas de uma maneira que apenas as menores substâncias possam entrar no Sistema Nervoso Central. Moléculas maiores como a glicose só podem entrar através de mecanismos especiais, específicos para cada molécula.

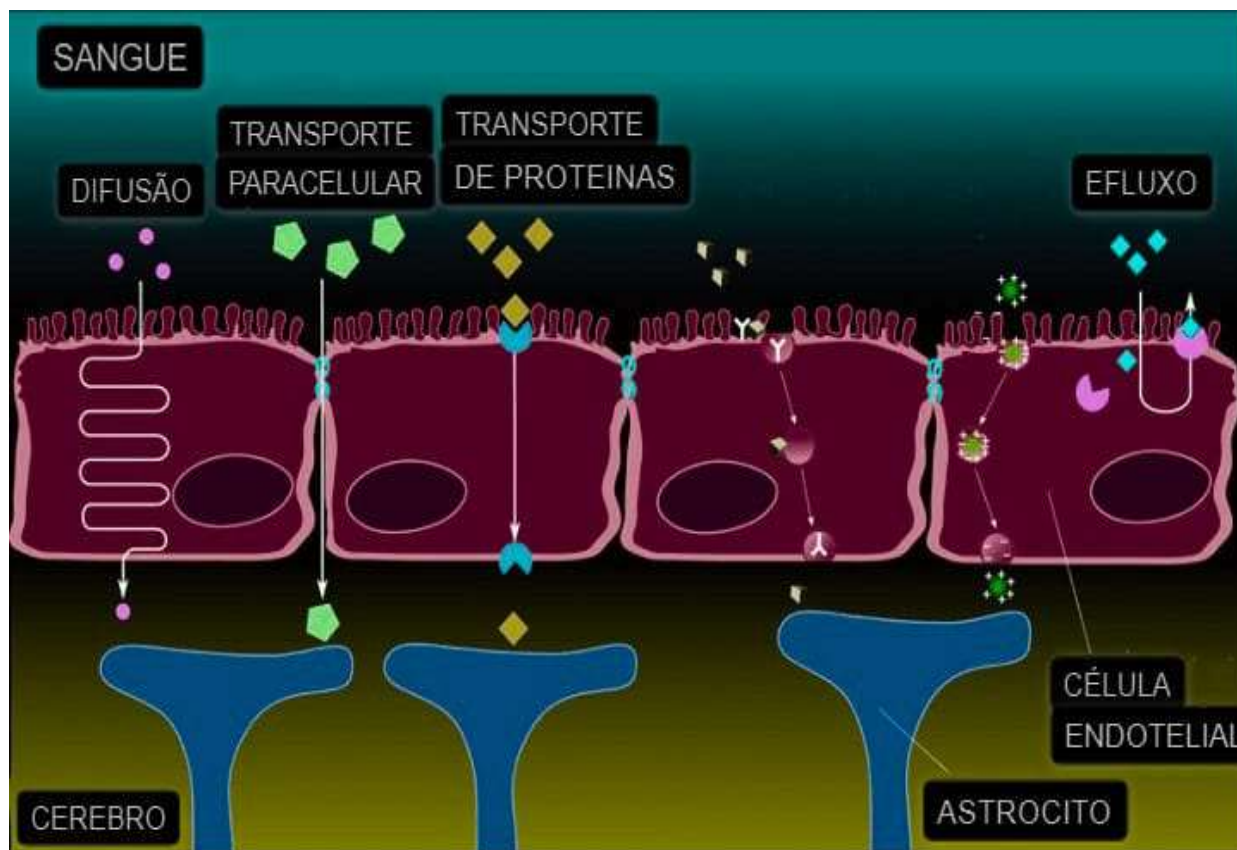


Figura 8. Ilustração da barreira hematoencefálica (BHE) e sua seletividade.

1.4 Penetração na Barreira Hematoencefálica

1.4.1 Gabapentina (BHE).

A gabapentina, anticonvulsivante de segunda geração, é uma substância análoga ao ácido γ -aminobutírico (GABA) com uma boa penetração na barreira hematoencefálica.

1.4.2 Ácido Furóico (BHE).

O Ácido Furóico é mais amplamente encontrado em produtos alimentícios como conservante e agente aromatizante, onde confere um sabor doce e terroso com uma boa penetração na barreira hematoencefálica.

2 OBJETIVOS

Este trabalho objetivou descrever a síntese e a caracterização de novos complexos metálicos visando avaliar sua atividade biológica contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas desses complexos.

Os objetivos específicos:

- Síntese de novos complexos metálicos de gabapentina e ácido furóico com o íon metálico prata Ag.

- Caracterização dos complexos metálicos através de espectroscopia vibracional na região do infravermelho, análise elementar e termogravimetria;
- Estudos da atividade biológica dos complexos contra bactérias *in vitro*;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Ligantes

3.1.1 Gabapentina

A gabapentina (Figura 9) é um fármaco da classe dos anticonvulsivantes, análogo de GABA. Embora tenha uma estrutura semelhante ao GABA, a gabapentina não tem afinidade por receptores GABA, e seu mecanismo de ação

parece alheio a qualquer efeito sobre o sistema gabaérgico (HWANG; KIM, 2008; JENSEN, 2002).

Vários mecanismos moleculares foram propostos e incluem a capacidade de limitar a deflagração repetitiva e sustentada de potenciais de ação com exposição prolongada. Esse efeito sugere uma ação sobre os canais de sódio sensíveis a voltagem (WHITE, 2004).

A gabapentina liga-se a uma proteína nas membranas corticais com uma sequência de aminoácidos idêntica à subunidade $\alpha 2\delta$ de canal de cálcio do tipo L sensível à voltagem (McNAMARA, 2006). Desse modo, a gabapentina reduz a liberação sináptica de neurotransmissores e diminui o influxo pós-sináptico de Ca^{2+} , resultando na diminuição da excitação (STEFAN; FEUERSTEIN, 2007).

Apesar de o mecanismo de ação da gabapentina ainda ser pouco conhecido, sabe-se que seu receptor é a subunidade $\alpha 2\delta$ -1 do complexo do canal de Ca^{2+} voltagem-dependente presente no axônio dos neurônios, provocando diminuição do influxo de cálcio, o que diminui sua excitabilidade. O fármaco pode interferir na sinaptogênese através da competição com o fator astrocitário trombospondina, que apresenta evidências de envolvimento na sinaptogênese e que tem a mesma subunidade como sítio de ligação (PELLOSO, 2005).

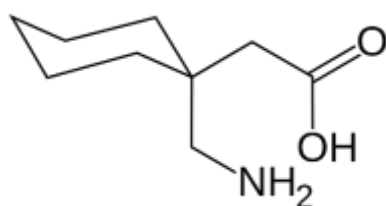


Figura 9. Fórmula estrutural do gabapentina

3.1.2 Ácido furoico

O ácido 2-furoico (Figura 10) é um ácido carboxílico heterocíclico, que consiste em um anel aromático de cinco membros e um grupo carboxílico. Seu nome é derivado da palavra latina *furfur*, que significa “farelo”. Os sais e os ésteres do ácido furoico são conhecidos como furoatos. O ácido 2-furoico é um composto orgânico mais amplamente encontrado em produtos alimentícios como conservante. Ele pode ocorrer pela oxidação de álcool furfurílico. Isso pode ocorrer quimicamente ou biocataliticamente (PAYNE et al., 2019).

Sua fórmula molecular é $C_5H_4O_3$, possui massa molecular de 118,02 g mol⁻¹ e sua estrutura química está representada na Figura 8. Apresenta-se, normalmente, como um pó branco e inodoro, temperatura de fusão entre 185 e 188 °C, ponto de ebulição de 235 °C e solubilidade de 83,2 mg mL⁻¹ a 25 °C (PAYNE et al., 2019).

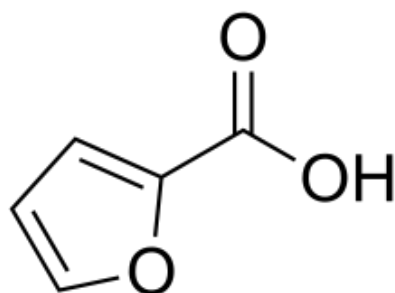


Figura 10. Fórmula estrutural do ácido 2-furoico

O ácido 2-furoico é um conservante, atuando como bactericida e fungicida. Também é considerado um ingrediente aromatizante e alcançou um status geralmente reconhecido como seguro (GRAS) em 1995 pela Associação de Fabricantes de Sabor e Extrato. O ácido 2-furoico é um sólido cristalino branco a esbranquiçado e tem um odor característico, descrito na *Enciclopédia de Alimentos e Aditivos Coloridos* como doce, oleoso, herbáceo e terroso. O ácido 2-furoico é frequentemente usado como material inicial para a produção de ésteres de furoato. Ele e seus derivados também auxiliam na produção de

nylon e são frequentemente usados em pesquisas biomédicas (CAROLE et al., 2004).

3.2 Metal

3.2.1 Prata

A atividade antimicrobiana da prata já é conhecida há muito tempo. Sabe-se que a prata, ao penetrar na célula bacteriana, pode interagir com várias estruturas celulares (CLEMENT; JARRETT, 1994).

Os íons de prata reagem com o peptidoglicano da parede celular bacteriana, podendo formar poros e lesionar essa estrutura (SIM et al., 2018), além da inibição das funções relacionadas ao transporte através da parede celular.

Os íons de Ag(I) também atuam interagindo com os ácidos nucleicos do DNA interrompendo o ciclo celular (WOO et al., 2008). Podem também interagir com as proteínas microbianas e levar a uma perturbação no nível metabólico da célula (MAILLARD; HARTEMANN, 2013).

4 PARTE EXPERIMENTAL

Os ligantes gabapentina e ácido furóico, bem como o nitrato de prata são produtos químicos de grau analítico adquiridos da Sigma/Aldrich. Todos os outros produtos químicos foram adquiridos de fontes diferentes. Os reagentes foram utilizados conforme recebidos.

4.1 Sínteses dos complexos metálicos

4.1.1 Complexo de gabapentina com prata

Para a síntese do complexo de Ag(I) com gabapentina foram utilizados 10 mL de uma solução aquosa contendo 0,849 g (5,0 mmol) de nitrato de prata, que foram adicionados a 10 mL de uma solução aquosa com 0,856 g (5,0 mmol) de gabapentina sob agitação constante a 50 °C, na ausência de luz. Ocorreu a precipitação de um sólido branco e após formação de um precipitado branco. O sólido foi filtrado e seco em um dessecador com P₄O₁₀ em uma sala escura. Os resultados da análise elementar permitiram propor a composição [Ag(gbp)]·NO₃ – formula molecular [Ag(C₉H₁₇NO₂)] para o composto formado.



Figura 12. Formação do precipitado de Ag+Gabapentina

4.1.2 Complexo de ácido furóico com prata

Para a síntese do complexo de ácido furóico com prata, foi preparada uma solução aquosa com 3,0 mmol de ácido furóico e o pH foi ajustado em 7,0 com KOH. Em seguida, foram adicionados 20 mL de solução aquosa com 6,0 mmol de nitrato de prata. A mistura foi mantida sob agitação constante a 50 °C na ausência de luz por 5 min. Durante o aquecimento, ocorreu a formação de um precipitado branco, que foi filtrado e seco em dessecador com P₄O₁₀ e guardado em local protegido da luz. Os resultados de análise elementar permitiram sugerir a composição [Ag₂(acfur)] – fórmula molecular proposta [Ag₂(C₅H₄O₃)] para o composto formado.



Figura 13. Produção do complexo Ag+Acfuroico



Figura 14. Formação do precipitado de Ag+Acfuroico

4.2 Testes biológicos

4.2.1 Teste de inibição de crescimento bacteriano dos complexos de prata

Os ensaios de inibição do crescimento bacteriano por difusão em disco se baseiam na capacidade do composto, inicialmente impregnado nos discos, de se difundir pelo meio de cultura, sendo possível avaliar a sua atividade ou não contra o microrganismo. Os ensaios de inibição de crescimento bacteriano dos complexos metálicos e dos ligantes livres foram realizados de acordo com o método do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). No laboratório de microbiologia SGS do Brasil em Campinas – SP. Foram utilizadas as cepas bacterianas do tipo ATCC (*American type culture collection*), devido à sua padronização em relação ao seu fenótipo bioquímico.

As cepas das bactérias Gram-negativa (*E. coli* ATCC 25922) e Gram-positiva (*S. aureus* ATCC 25923) foram inoculadas em tubos contendo 2,0 mL de BHI estéril e incubados por 18 h a temperatura de 35-37 °C. A partir desses cultivos, as suspensões foram preparadas na escala nefelométrica 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e semeadas em placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton.

Discos de papel de filtro estéreis (Whatman 3 – 10 mm de diâmetro) foram impregnados com 1000µg dos complexos metálicos [Ag(gbp)]NO₃, [Ag₂(acfur)], e com os ligantes bioativos na forma livre. Após secagem em estufa ventilada a 37°C, os discos foram depositados sobre a superfície da placa com ágar contendo os microrganismos já semeados. As placas foram incubadas por 18-24 h, a 37°C, em estufa bacteriológica. A atividade antimicrobiana dos compostos foi analisada mediante presença ou ausência de halo de inibição de crescimento (em mm). Os testes foram realizados em triplicata.

4.2.2 Teste da concentração inibitória mínima (MIC)

4.2.2.1 Teste da concentração inibitória mínima (MIC) Ag-Gabapentina

Para a determinação da concentração inibitória mínima (MIC) do complexo Ag-gabapentina e do seu ligante, foram utilizadas cepas bacterianas ATCC de *S. aureus* ATCC 25923 (Gram-positivo), *B. cereus* ATCC 14579 (Gram-positivo), *E. coli* ATCC 25922 (Gram-negativo) e *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Gram-negativo), conforme descrito em CLSI 2016. (CLSI,2016) (Lustri et al., 2017).

Cada isolado ATCC foram inoculadas em tubos contendo 10,0mL de BHI (Brain Heart Infusion KASVI) e incubadas por 18h a 35-37 ° C. Após o crescimento bacteriano, foram realizado inóculos de cada suspensão bacteriana em meio BHI estéril até atingir 1,0 turbidez na escala nefelométrica de McFarland (~ 3,0x10⁸ UFC / mL⁻¹).

No primeiro poço da microplaca de 96 poços, utilizado como controle de crescimento, foram adicionados 50 µL de meio BHI estéril, 50 µL de solução dmso aquosa 20% e 100 µL de suspensões bacterianas, na escala 1,0 de McFarland.

No segundo poço, foi adicionado um volume de 50µL da solução estoque (20 mg / mL) do ligante livre e [Ag(C₉H₁₇NO₂)] suspenso em solução 20% mais a adição de 50 µL de meio BHI estéril, e em seguida realizado as diluições em série (5,0 mg / mL a 0,078 mg / mL). Após a diluição foram adicionados em cada poço 100 µL das suspensões de microrganismos, na escala McFarland 1,0,

foram adicionados a cada poço, atingindo turbidez 0,5 McFarland ($\sim 1,5 \times 10^8$ UFC / mL), em um volume final de 200 μ L / poço.

As microplacas foram incubadas a 35-37 ° C por 18 horas em câmara úmida sob agitação a 150 rpm. Após o período de incubação, 15 μ L de resazurina 0,02% em solução aquosa estéril foram adicionados a cada poço. Após 3 horas de reincubação, a leitura foi realizada. Quando as células bacterianas encontram-se ativas, elas acabam convertendo a resazurina “azul” em resorufina “rosa”. Para a determinação do MIC foi considerada a menor concentração que resultou na inibição do crescimento bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata.



Figura 14. Placa de petri inoculada com as cepas bacterianas e os discos com o complexo de Ag+gabapentina

4.2.2.2 Teste da concentração inibitória mínima (MIC) Ag- AcFur

Para a determinação da concentração inibitória mínima (MIC) do complexo Ag-AcFur e do seu ligante, foram utilizadas cepas bacterianas ATCC de *S. aureus* ATCC 25923 (Gram-positivo), *B. cereus* ATCC 14579 (Gram-positivo), *E. coli* ATCC 25922 (Gram-negativo) e *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Gram-negativo), conforme descrito em CLSI 2016. (CLSI,2016) (Lustri et al., 2017).

Cada isolado ATCC foram inoculadas em tubos contendo 10,0mL de BHI (Brain Heart Infusion KASVI) e incubadas por 18h a 35-37 ° C. Após o crescimento bacteriano, foram realizado inóculos de cada suspensão bacteriana em meio BHI estéril até atingir 1,0 turbidez na escala nefelométrica de McFarland (~ 3,0x10⁸ UFC / mL-1).

No primeiro poço da microplaca de 96 poços, utilizado como controle de crescimento, foram adicionados 50 µL de meio BHI estéril, 50 µL de solução dmso aquosa 20% e 100 µL de suspensões bacterianas, na escala 1,0 de McFarland.

No segundo poço, foi adicionado um volume de 50µL da solução estoque (20 mg / mL) do ligante livre e [Ag₂(C₅H₄O₃)]·NO₃ suspenso em solução aquosa de DMSO a 20% mais a adição de 50 µL de meio BHI estéril, e em seguida realizado as diluições em série (5,0 mg / mL a 0,078 mg / mL). Após a diluição foram adicionados em cada poço 100 µL das suspensões de microrganismos, na escala McFarland 1,0, foram adicionados a cada poço, atingindo turbidez 0,7 McFarland (~ 1,5x10⁸ UFC / mL), em um volume final de 200µL / poço.

As microplacas foram incubadas a 35-37 ° C por 18 horas em câmara úmida sob agitação a 150 rpm. Após o período de incubação, 15 µL de resazurina 0,02% em solução aquosa estéril foram adicionados a cada poço. Após 3 horas de reincubação, a leitura foi realizada. Quando as células bacterianas encontram-se ativas, elas acabam convertendo a resazurina “azul” em resorufina “rosa”. Para a determinação do MIC foi considerada a menor

concentração que resultou na inibição do crescimento bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata.



Figura 15. Placa de petri inoculada com as cepas bacterianas e os discos com o complexo de Ag+Acfur

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos complexos

5.1.1 Análise elementar

As análises elementares para a determinação das porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio, em conjunto com os dados da porcentagem de resíduo da curva termogravimétrica, são de fundamental importância para a determinação da estequiometria dos complexos metálicos. As análises dos resultados permitem obter a proporção entre metal e ligante.

Tabela 1. Resultado da análise elementar dos complexos obtidos

Amostra		Fórmula proposta					
		C	H	N	O	S	
Ag + gabapentina	Calc.	38,9	5,8	5,0	-	0,0	[Ag(C ₉ H ₁₇ NO ₂)]
	Exp.	39,6	5,4	6,2		0,0	
Ag + ácido furoico	Calc.	25,6	1,3	0,0	27,2	0,0	[Ag ₂ (C ₅ H ₄ O ₃)]·NO ₃
	Exp.	26,3	3,1	0,0		0,0	

Fonte: Autoria própria.

5.1.2 Análise termogravimétrica

A Análise Termogravimétrica (TGA) é amplamente usada com a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Termomecânica (TMA) e Análise Mecânica Dinâmica (DMA). A TGA mede a massa de uma amostra

enquanto a amostra é aquecida ou resfriada em uma atmosfera definida. Seu principal uso é caracterizar materiais em relação à sua composição.

Um instrumento TGA/DSC também permite medir eventos térmicos que não produzem alteração de massa, como fusão, transições vítreas ou outras transições sólido-sólido.

A Análise Termogravimétrica (TGA) é usada para caracterizar as propriedades físicas e químicas dos materiais como uma função da temperatura em uma atmosfera controlada com precisão. O método fornece informações valiosas para controle de qualidade, desenvolvimento e pesquisa.

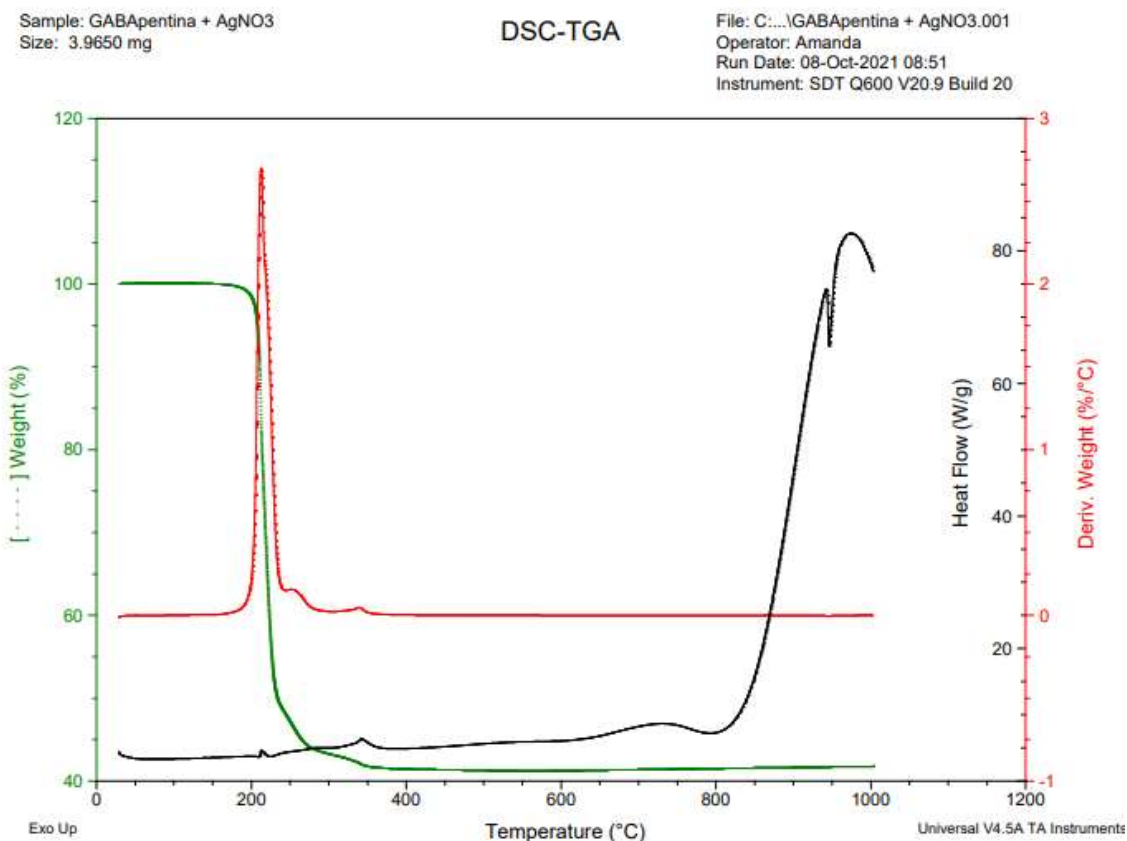
As áreas de aplicação incluem termoplásticos, elastômeros, termorrígidos, metais e cerâmicas além de diversas análises nas indústrias química, de construção, alimentícia e farmacêutica.

5.1.2.1 TGA / DSC complexo Ag Gabapentina

A curva termogravimétrica do [Ag(gabapentina)] mostra três perdas de massas bem definidas com platôs ao longo da curva. A primeira perda de cerca de 38% ocorre na faixa de 140-200 °C.

As outras duas perdas de massa ocorrem nas faixas de 200-280 e de 320-360 °C, que correspondem à decomposição do ligante e do ânion NO_3^- . A curva mostra uma perda de massa de cerca de 62%, com um resíduo final de 38%, condizente com a formação final de Ag^0 . Em trabalhos já realizados no grupo de pesquisas, (Cavicchioli et al., 2010) (Cavicchioli et al., 2007) foram feitas as análises térmicas de dois outros complexos de prata(I) utilizando ar sintético e os resíduos da decomposição foram analisados por difratometria de Raios -X. Em ambos os casos o resíduo final foi Ag^0 .

A análise por calorimetria de varredura diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*) do complexo Ag-Gbp indica eventos exotérmicos com seus picos máximos em 190, 275 e 348 °C, que correspondem à decomposição do ligante e formação de resíduo de prata metálica (Ag^0).



Curva termogravimétrica (TG and DSC) do complexo [Ag₂(GABA)], nas seguintes condições: ar sintético 100ml/min, taxa de aquecimento de 10°C/min, de 30 a 1000°C. Fonte os autores.

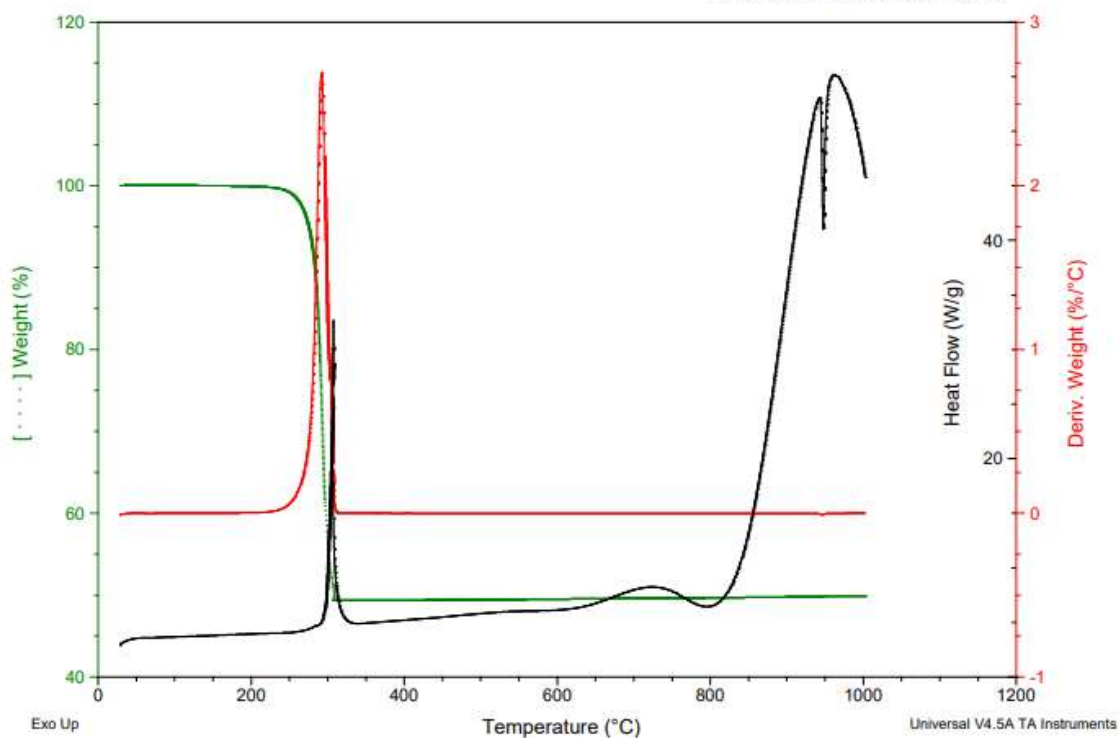
5.1.2.2 TGA / DSC complexo Ag Ácido Furóico

A curva termogravimétrica do [Ag(AcidoFuróico)NO₃] mostra três perdas de massas bem definidas com platôs ao longo da curva. A primeira perda de cerca de 40% ocorre na faixa de 140-200 °C. As outras duas perdas de massa ocorrem nas faixas de 200-280 e de 320-360 °C, que correspondem à decomposição do ligante e do ânion NO₃⁻. A curva mostra uma perda de massa de cerca de 60%, com um resíduo final de 40%, condizente com a formação final de Ag⁰. Em trabalhos já realizados no grupo de pesquisas, (Cavicchioli et al., 2010) (Cavicchioli et al., 2007) foram feitas as análises térmicas de dois outros complexos de prata(I) utilizando ar sintético e os resíduos da decomposição foram analisados por difratometria de Raios -X. Em ambos os casos o resíduo final foi Ag⁰.

Sample: Ac Furoico + AgNO3
Size: 5.3240 mg

DSC-TGA

File: C:\...Ac Furoico + AgNO3.001
Operator: Amanda
Run Date: 07-Oct-2021 16:07
Instrument: SDT Q600 V20.9 Build 20

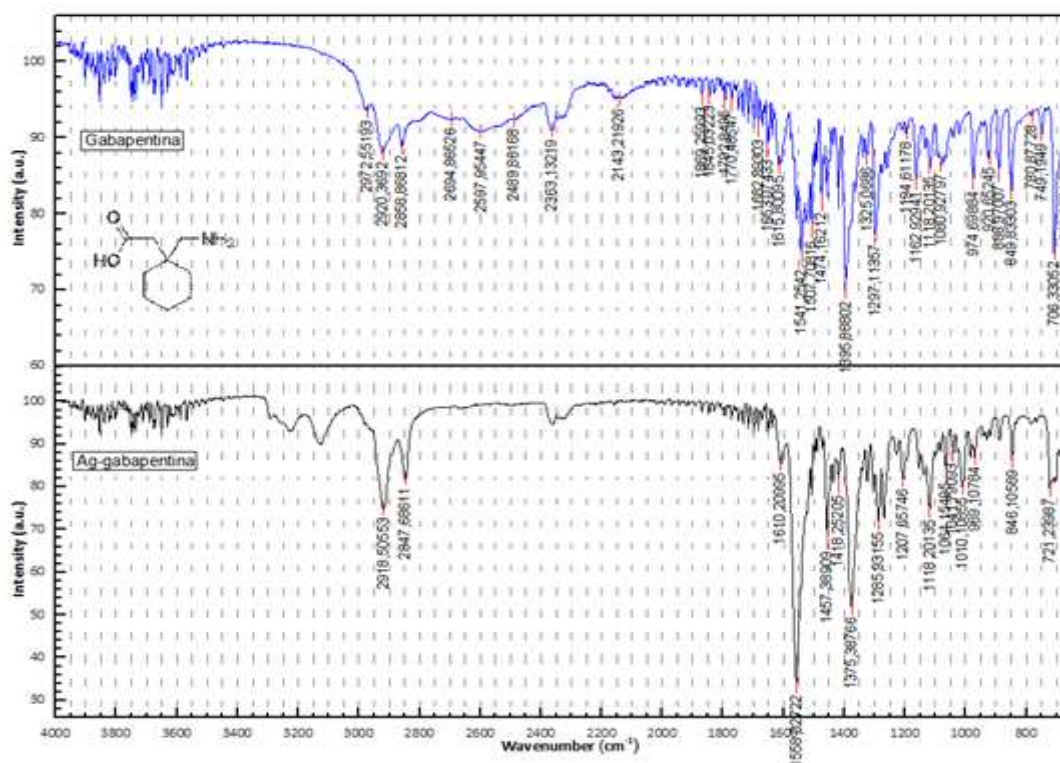


Curva termogravimétrica (TG and DSC) do complexo $[Ag_2(FUROIC)] \cdot NO_3$, nas seguintes condições: ar sintético 100ml/min, taxa de aquecimento de 10°C/min, de 30 a 1000°C. Fonte os autores.

5.1.3 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)

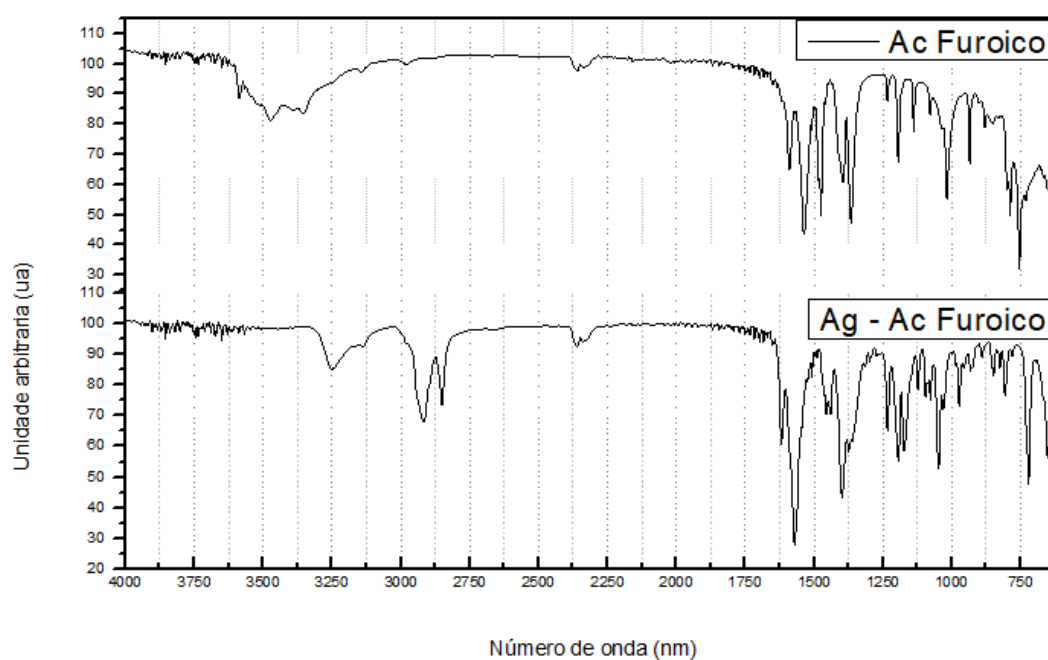
5.1.3.1 FTIR Ag Gabapentina

Os espectros no infravermelho (IV) do complexo Ag-gbp mostrou a mudança das bandas relacionadas ao ácido carboxílico do ligante (n C=O em 1541 e d C-O-H em 1395). As bandas se deslocam para 1558 e 1375, indicando a provável coordenação da Ag ao grupo carboxilato



5.1.3.1 FTIR Ag Ácido Furóico

O espectro no infravermelho do complexo Ag-AcFuroico mostrou a mudança das bandas relacionadas ao ácido carboxílico do ligante (n C=O em 1539 e d C-O-H em 1399). As bandas se deslocam, indicando a provável coordenação da Ag ao grupo carboxilato



Mudanças significativas nas bandas dos complexos em comparação com os ligantes indicam que houve coordenação. A banda relacionada ao NH₂ em 1630 foi deslocada para 1615 no complexo e a banda relacionada a C=O em 1544 foi deslocada para 1522 no complexo. Essas mudanças indicam uma

possível coordenação do metal ao ligante através do oxigênio do grupo C=O e do nitrogênio do grupo NH₂. Uma banda em 1289 atribuída ao grupo NO₃⁻ apareceu no espectro do complexo, confirmando sua presença na composição.

Com relação às bandas ν (C-N) amida e ν (N-N), foi observado um comportamento semelhante ao complexo de cobre com isoniazida descrito por Poggi et al. (2004), sendo que a coordenação provoca um deslocamento das bandas da amida. Uma possível explicação para esse comportamento seria que a coordenação pelo grupo C=O enfraquece a ligação C–O e conseqüentemente reforça a ligação N-H, deslocando a banda da amida (C-N) para uma frequência maior.

Mudanças significativas nas bandas do complexo com relação ao ligante indicam coordenação da gabapentina e do ácido furóico ao metal. Além disso, a presença de uma banda intensa de NO₃⁻ sugere a presença desse ânion na composição do complexo, embora este dado seja de difícil.

5.2 Testes de solubilidade

A solubilidade dos complexos foi testada com água, etanol e dimetilsulfóxido. Em tubos de ensaios foram adicionados 5 mL de cada solvente e, em seguida, foi adicionada uma quantidade de massa de cada complexo, até o ponto de saturação. A cada adição de uma porção de massa, o tubo de ensaio era agitado no vórtex por 3 min.

Em seguida, os tubos centrifugados a 5000 rpm por 15 min. Após a centrifugação, os sobrenadantes de cada tubo foram coletados e postos em béqueres previamente pesados. Os béqueres foram postos para secagem na estufa por 10 dias a uma temperatura de 70 °C. A seguir, os béqueres foram novamente pesados para a realização dos cálculos das solubilidades de cada complexo.

Tabela 2. Resultado da análise de solubilidade dos complexos obtidos

	H ₂ O (mg/mL)	DMSO (mg/mL)	Etanol (mg/mL)
[Ag(<i>gpb</i>)-NO ₃]	1,5	15,0	0,5
[Ag ₂ (<i>acfur</i>). NO ₃]	1,7	14,0	0,4

Fonte: Autoria própria.

5.3 Testes biológicos

Os complexos apresentaram atividade inibitória contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas usadas no ensaio. Os ligantes livres *acfur* e *gpb* e a solução aquosa de DMSO não apresentaram atividades antibacterianas nas mesmas condições experimentais.

5.3.1 Ensaio de atividade inibitória de crescimento bacteriano por difusão em discos

O uso de complexos a base de prata promovem uma liberação mais lenta dos íons Ag^+ quando comparado ao nitrato de prata. Esta característica aumento do efeito antibacteriano do composto.

Tabela 3 – Valores de concentração inibitória dos complexos obtidos.

AMOSTRA	COMPLEXOS	Halos de inibição em mm (+0.1 mm)	
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E.coli</i> ATCC 5822
1	GBP	R	R
2	[Ag(gbp)]	1,4	1,3
3	[Ag ₂ (acfur)]	1,4	1,1
4	Ac Furóico	R	R
R - Resistente			

Os complexos de prata foram submetidos ao teste para determinação da concentração inibitória mínima com *Mycobacterium tuberculosis*. E apresenta os respectivos valores de concentração inibitória mínima (MIC₉₀) de cada complexo.

Tabela 4 – Valores de concentração inibitória mínima dos complexos obtidos.

Composto	MIC ₉₀ (µg/mL)
Ácido Furóico	16,05
Gabapentina	> 25,00
Ag-gabapentina	17,03

Fonte: Elaborada pela autor.

Está bem estabelecido que ambos os complexos são possíveis fármacos em especial o Ag-GPB sendo o mais potente e seletivo que inibe a biossíntese da parede celular das micobactérias, interrompendo a síntese de ácidos micólicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conseguimos obter dois complexos a partir da coordenação de prata com os ligantes gabapentina e ácido furóico. O complexo de Ag(gbp) e Ag(Acfur) são inéditos na literatura.

A caracterização dos complexos $[Ag(gbp)NO_3]$, $[Ag_2(Acfur)NO_3]$ sintetizados indicam que a gabapentina e o Ácido furóico estão coordenados através dos átomos de oxigênio do grupo C=O e de nitrogênio do grupo NH_2 , apresentando em suas estruturas a presença do ânion NO_3 .

Já para os complexos os resultados da caracterização indicam a coordenação dos íons Ag ao grupo carboxilato dos ligantes.

A avaliação biológica dos complexos contra o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv indicou que os complexos apresentam atividade biológica. Sendo o complexo $[Ag(gbp)NO_3]$ o mais ativo, com um desempenho superior quando comparado aos fármacos de referência como o etambutol e o p-aminossalicílico.

A avaliação de inibição do crescimento bacteriano mostrou que os complexos $[Ag(gbp)NO_3]$, $[Ag_2(Acfur)NO_3]$ apresentaram resultados positivos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas quando comparado aos ligantes na forma livre.

A partir desses resultados, o centro metálico Ag apresentou um papel importante aos compostos, conferindo aos complexos atividades biológicas antibacterianas e antimicobacterianas.



Figura 16. Obtenção de dois novos complexos metálicos inéditos

7 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

PARIS JUNIOR, J. A.; ROCCHI, A. J. S.; **BIAGIONI, B. T.**; CAVICCHIOLI, M.; MACHADO, R. T. A.; PAVAN, F. R.; CORBI, P. P.; LUSTRI, W. R.; PEREIRA, D. H.; MASSABNI, A. C. Chemical, spectroscopic characterization, molecular modeling and antibacterial activity assays of a silver (I) complex with succinic acid. **Eclética Química Journal**, v. 46, n. 2, p. 26-35, 2021. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v46.2.2021.p26-35>

BIAGIONI, B. T.; CAVICCHIOLI, M.; MASSABNI, A. C. Silver complexes for tuberculosis treatment: a short review. **Química Nova**, no prelo. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170812>

8 CRONOGRAMA

Este projeto foi concluído em dezembro de 2021 com a sua defesa em 24 fevereiro 2022.

Atividades	Bimestres					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
Revisão bibliográfica; leitura e interpretação de textos científicos selecionados pelo Orientador.	X	X				
Preparação de complexos de ligantes e metais escolhidos.	X	X	X			
Usos das técnicas de caracterização aplicadas aos ligantes, sais e complexos para caracterização de ligantes e complexos.		X	X	X		
Testes biológicos.				X	X	X
Redação de relatórios científicos, redação de trabalhos para apresentação em congressos e para publicação.			X	X	X	
Redação e defesa da qualificação.				X	X	
Elaboração da dissertação				X	X	
Defesa da dissertação					X	X

REFERÊNCIAS

AIME, S; CRICH, S. G; GIANOLIO, E; GIOVENZANA, G. B; TEIA, L; TERRENO, E. High sensitivity lanthanide(III) based probes for MR-medical imaging. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 250, p. 1562–1579, 2006.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100021>

HWANG, H.; KIM, K. J. New antiepileptic drugs in pediatric epilepsy. *Brain & Development*, v. 30, p. 549-555, 2008.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Química Nova na Escola**, n. 6, p. 4-6, 2005. Disponível em: <http://qnesc.s bq.org.br/online/cadernos/06/a03.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de Recomendações para o Controle da tuberculose no Brasil**. Ministério da Saúde: Brasília, 2018. Disponível em: https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_controle_tuberculose_brasil_2_ed.pdf. Acesso em: 14 ago. 2021.

CAMPOS, H. S. *Mycobacterium tuberculosis* resistente: de onde vem a resistência? **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 7, n. 1, 51-64, 1999. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-460X1999000100006&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 23 ago. 2021.

CAROLE, M. T., PELLEGRINO, J. e PASTER, M. D. Opportunities in the Industrial Biobase Products Industry. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 113-116, p. 871-885, 2004.

CLEMENT, J. L.; JARRETT, P. S. Antibacterial Silver. **Metal-Based Drugs**, v. 1, 707103, 1994. <https://doi.org/10.1155/mbd.1994.467>

COURANT, T.; ROULLIN, G. V.; CADIOU, C.; CALLEWAERT, M.; ANDRY, M. C.; PORTEFAIX, C.; HOEFFEL, C.; GOLTSTEIN, M.; PORT, M.; LAURENT, S.; ELST, L. V.; MULLER, R. N.; MOLINARI, M.; CHUBURU, F. Biocompatible nanoparticles and gadolinium complexes for MRI applications. **Comptes Rendus Chimie**, v. 16, p. 531-539, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2012.12.010>

DELGADO, G. Y. S.; CONDÉ, C. A. S. R.; SANTOS, H. F.; NAVARRO, M. Compostos quimioterápicos de ouro: uma visão geral dos complexos anticâncer de Au(I/III) em relação à estrutura do ligante. **Química Nova**, v. 43, n. 8, p. 1104-1124, 2020. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170566>

FRULLANO, L.; CARAVAN, P. Strategies for the preparation of bifunctional gadolinium(III) chelators. **Current Organic Synthesis**, v. 8, n. 4, p. 535-565, 2011. <https://doi.org/10.2174/157017911796117250>

HIGBY, G. J. Gold in medicine: a review of its use in the West before 1900. **Gold Bulletin**, v. 15, n. 4, p. 130-140, 1982. <https://doi.org/10.1007/bf03214618>

HOESCHELE, J. D. Biography of Professor Barnett Rosenberg: A Tribute to His Life and His Achievements. **Anticancer Research**, v. 34, n. 1, p. 417-421, 2014.

LAURENT, S; HENOUMONT, C; ELST, L. V; MULLER, R. Synthesis and Physicochemical Characterisation of Gd-DTPA Derivatives as Contrast Agents for MRI. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2012, n. 12, p. 1889–1915, 2012. <https://doi.org/10.1002/ejic.201101226>

MAILLARD, J. Y.; HARTEMANN, P. Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 373-383, 2013. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.713323>

MASSABNI, A. C.; BONINI, E. H. Tuberculose: história e evolução dos tratamentos da doença. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 22, n. 2, p. 6-34, 2019. <https://doi.org/10.25061/2527-2675/rebram/2019.v22i2.678>

MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M.; ZORODDU, M. A. Medical uses of silver: history, myths, and scientific evidence. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 13, p. 5923-5943, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01439>

MONGE, A.; CHORGHADÉ, M.; ERHARDT, P. W.; GANELLIN, C. R.; KOGA, N.; LINDBERG, P.; PERUN, T. J.; TOPLISS, J. G.; TRIVEDI, B. K.; WERMUTH, C. G. Medicinal Chemistry in the development of societies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 1121-1125, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100026>

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis, 2016 update. October 2016 revision**. OMS: Genebra, 2016. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250125/9789241549639-eng.pdf;jsessionid=FC8D03A39743D8BA63EFDAF2A9EFE213?sequence=1>, Acesso em: 21 jul 2021.

PAI, M.; BEHR, M. A.; DOWDY, D.; DHEDA, K.; DIVANGAHI, M.; BOEHME, C. C.; GINSBERG, A.; SWAMINATHAN, S.; SPIGELMAN, M.; GETAHUN, H.; MENZIES, D.; RAVIGLIONE, M. **Nat. Rev. Dis. Primers**, v. 2, 16076, 2016.

PAYNE, K. A. P.; MARSHALL, S. A.; FISHER, K.; CLIFF, M. J.; CANNAS, D. M.; YAN, C.; HEYES, D. J.; PARKER, D. A.; LARROSA, I.; LEYS, D. Enzymatic Carboxylation of 2-Furoic Acid Yields 2,5-Furandicarboxylic Acid (FDCA). **ACS Catalysis**, v. 9, n. 4, p. 2854-2865, 2019. <https://doi.org/10.1021/acscatal.8b04862>

PAYOLLA, F. B.; MASSABNI, A. C.; ORVIG, C. Radiopharmaceuticals for Diagnosis in Nuclear Medicine: A Short Review. **Eclética Química Journal**, v.

44, n. 3, p. 11-19, 2019. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v44.3.2019.p11-19>

PELLOSO, L. R. C. A. Efeito dos anticonvulsionantes gabapentina e carbamazepina associados ou não ao antidepressivo amitriptilina no controle da dor neuropática em pacientes portadores de Hanseníase. 2005. [Tese de Doutorado em Ciências]. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 2005. São Paulo. 125p.

RABAHI, M. F.; SILVA JÚNIOR, J. L. R.; FERREIRA, A. C. G.; TANNUS-SILVA, D. G. S., CONDE, M. B. **Journal of Brazilian Pneumology**, v. 43, 472, 2017.

RAGONHA, A. C. O.; FERREIRA, E.; ANDRADE, D.; ROSSI, L. A. Avaliação microbiológica de coberturas com sulfadiazina de prata a 1%, utilizadas em queimaduras. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 13, n. 4 p. 514-521, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692005000400009>

REEDIJK, J. The mechanism of action of platinum antitumor drugs. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 181-192, 1987. <https://doi.org/10.1351/pac198759020181>

RICHARDS, D. M.; CARMINE, A. A., BROGDEN, R. N. HELL, R. C.; SPEIGHT, T. M.; AVERY, G. S. Acyclovir. **Drugs**, v. 26, p. 378-438, 1983. <https://doi.org/10.2165/00003495-198326050-00002>

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W.; FONTES, A. P. S.; TAVARES, T. T.; MARZANO, I. M.; PEREIRA-MAIA, E.C. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 111-118, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000100022>

ROTHAN, H. A.; STONE, S.; NATEKAR, J.; KUMARI, P.; ARORA, K.; KUMAR, M. The FDA-approved gold drug auranofin inhibits novel coronavirus (SARS-COV-2) replication and attenuates inflammation in human cells. **Virology**, v. 547, p. 7-11, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.05.002>

SANTOS, D. P.; SOUZA, D. V.; RODRIGUES, S.; AVELAR, K. E. S. **Revista de Saúde**, v. 3, n. 13, 2012.

SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. **Oncogene**, v. 22, n. 47, p. 7265-7279, 2003. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206933>

SIM, W.; BARNARD, R. T.; BLASKOVICH, M. A. T.; ZIORA, Z. M. Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: A patent review of the past decade (2007–2017). **Antibiotics**, v. 7, n. 4, p. 1–15, 2018. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040093>

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **P&T**, v. 40, 277, 2015.

WOO, K. J., HYE, C. K., KI, W. K., SHIN, S., SO, H. K., & YONG, H. P. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2171–2178. <https://doi.org/10.1128/AEM.02001-07>

Alexander, Wesley, J. (2009). History of the medical use of silver. *Surgical Infections*, 10(3), 289–294.

Amaral, A. T., & Montanari, C. A. (2002). 25 Years of medicinal chemistry in Brazil. *Quimica Nova*, 25(SUPPL. 1), 39–44. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422002000800008>

Amaral, A. T., & Montanari, C. A. (2002). 25 Years of medicinal chemistry in Brazil. *Quimica Nova*, 25(SUPPL. 1), 39–44. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422002000800008>

Arbex, M. A., Varella, M. de C. L., de Siqueira, H. R., & de Mello, F. A. F. (2010). Drogas antituberculose: Interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais. parte 1: Fármacos de primeira linha. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 36(5), 626–640. <https://doi.org/10.1590/s1806-37132010000500017>

Bader, R.F.W.; *Atoms in molecules: a quantum theory*, 1st ed., Clarendon Press: Wotton-under-Edge, 1994

Barberis, I., Bragazzi, N. L., Galluzzo, L., & Martini, M. (2017). The history of tuberculosis: From the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 58(1), E9–E12. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2017.58.1.728>

Barillo, D. J., & Marx, D. E. (2014). Silver in medicine: A brief history BC 335 to present. *Burns*, 40(S1), S3–S8. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.09.009>

Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>

Beraldo, H. (2005). Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. *Química Nova Na Escola*, 6, 4–6.

BERINGER, P. (Ed.) *Remington: the science and practice of pharmacy*. 19th ed. Easton: Mack, 1995. p. 880.

Brasil. (2020). Boletim Epidemiológico de Tuberculose. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância Em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis., 1, 40.

Campos, H. S. (1999). Mycobacterium tuberculosis resistente: de onde vem a resistência? *Boletim de Pneumologia Sanitária*, 7(1). <https://doi.org/10.5123/s0103-460x1999000100006>

Campos, R., & Pianta, C. (2001). Tuberculose: histórico, epidemiologia e imunologia, de 1990 a 1999, e co-infecção TB/HIV, de 1998 a 1999, Rio Grande do Sul - Brasil. *Boletim Da Saúde*, 61–71.

CAROLE, M. T., PELLEGRINO, J. e PASTER, M. D, 2004. Opportunities in the Industrial Biobase Products Industry. *Appl. Biochemistry and Biotechnology*, v. 11-116

Cavicchioli, M., Leite, C. Q. F., Sato, D. N., & Massabni, A. C. (2007). Synthesis, characterization and antimycobacterial activity of Ag(I)-aspartame, Ag(I)-saccharin and Ag(I)-cyclamate complexes. *Archiv Der Pharmazie*, 340(10), 538–542

Cavicchioli, M., Massabni, A. C., Heinrich, T. A., Costa-Neto, C. M., Abrão, E. P., Fonseca, B. A. L., Castellano, E. E., Corbi, P. P., Lustri, W. R., & Leite, C. Q. F. (2010). Pt(II) and Ag(I) complexes with acesulfame: Crystal structure and a study of their antitumoral, antimicrobial and antiviral activities. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 104(5), 533–540.

CHEN, X. B. Determination of allantoin in biological, cosmetic and pharmaceuticals samples. *Journal of AOAC International*, v. 79, n. 3, p. 625-635, 1996.

CHOWDHURY, S.; GHOSH, S.; RASHID, K.; SIL, P. C. Deciphering the role of ferulic acid against streptozotocin-induced cellular stress in the cardiac tissue of diabetic rats. *Food Chem Toxicol.* v. 97, p. 187–198, 2016.

CLARK, T.P.; CHIEFFO, C.; HUHN, J.C.; NIMZ, E.L.; WANG, C.; BOY, M.G. The steady-state pharmacokinetics and bioequivalence of carprofen administered orally and subcutaneously in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Oxford*, v.26, n.3, p.183-192, 2003

Clement, J. L., & Jarrett, P. S. (1994). Antibacterial Silver. *Metal-Based Drugs*, 1(5–6), 467–482. <https://doi.org/10.1155/mbd.1994.467>

Clivatti, J., Sakata, R. K., & Issy, A. M. (2009). Review of the use of gabapentin in the control of postoperative pain. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 59(1), 87–98. <https://doi.org/10.1590/S0034-70942009000100012>

D. Sun, F.-J. Liu, H.-J. Hao, Y.-H. Li, R.-B. Huang, L.-S. Zheng, Six low-dimensional silver(I) coordination complexes derived from 2-aminobenzonitrile and carboxylates, *Inorganica Chimica Acta*. 387 (2012) 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.01.027>.

Da Silva Lima, C. H., Çã Ferreira Bispo, M. D. L., & De Souza, M. V. N. (2011). Pyrazinamide: An essential drug in the tuberculosis treatment. *Revista Virtual de Quimica*, 3(3), 159–180. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20110021>

Ditchfield, R., Miller, D. P., & Pople, J. A. (1971). Self-consistent molecular orbital methods. xi. molecular orbital theory of NMR chemical shifts. *The Journal of Chemical Physics*, 54(10), 4186–4193. <https://doi.org/10.1063/1.1674657>

Estrela, T. S. (2018). Resistência antimicrobiana: enfoque multilateral e resposta brasileira. *Saúde e Política Externa: Os 20 Anos Da Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde (1998-2018)*. Brasil. Ministério Da Saúde. Assessoria de Assuntos Internacionais de Saúde, 307–327. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_politica_externa_20_anos_aissa.pdf

FARIAS, R. F. *Química de coordenação: fundamentos e atualidades*. 2. ed. São Paulo: Átomo, 2009

FU, Y.-C., FERNG, L.-H.A., HUANG, P.-Y. Quantitative analysis of allantoin and allantoic acid in yam tuber, mucilage, skin and bubil of *Dioscorea* species. *Food Chemistry*, 94: 541-549, 2006.

Fundamental, D. D. Q., Química, I. De, Paulo, U. D. S., Prof, A., Prestes, L., Física, I. De, Carlos, D. S., Paulo, U. D. S., Dagnone, A. J., & Angelina, J. S. (2017). *Quim. Nova*,. 40(6), 694–700.

Fundamental, D. D. Q., Química, I. De, Paulo, U. D. S., Prof, A., Prestes, L., Física, I. De, Carlos, D. S., Paulo, U. D. S., Dagnone, A. J., & Angelina, J. S. (2017). *Quim. Nova*,. 40(6), 694–700.

Genérico, M. (2020). *Medicamento Genérico, Lei no 9.787, de 1999*. 13–14.

Gordon, S. V., Bottai, D., Simeone, R., Stinear, T. P., & Brosch, R. (2009). Pathogenicity in the tubercle bacillus: Molecular and evolutionary determinants. *BioEssays*, 31(4), 378–388. <https://doi.org/10.1002/bies.200800191>

Guimarães, D. O., Da Silva Momesso, L., & Pupo, M. T. (2010). Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova*, 33(3), 667–679. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>

Hariharan, P. C., & Pople, J. A. (1973). The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies. *Theoretica Chimica Acta*, 28(3), 213–222. <https://doi.org/10.1007/BF00533485>

Higby, G.J. Gold in medicine. *Gold Bull* 15, 130–140 (1982).

Hughes, Ronda. *Patient Safety and Quality: An Evidence-Based Handbook for Nurses*. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality, 2008

KAY-MUGFORD, P.; BENN, S.J.; LaMARRE, J.; CONLON, P. In vitro effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on ciclooxigenase activity in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v.61, n.7, p.802-810, 2000

Keith, T.A.; *AIMA11. (Version 17.11.14)*; Overland Park, USA, 2017.
LEE, P.C., LEE, S.Y., HONG, S.H., CHANG, H.N., LEE, W.G., KWON, S, 2000. Batch and continuous cultivation of *Anaerobiospirillum succiniciproducens* for the production of succinic acid from whey. *Appl Environ Microbiol*;54:23-7.

LEHNINGER, A.L. *Principios de bioquímica*.4a.ed., Sao Paulo: Sarvier, 2006. 1232p

Lima, L. M. (2007). Química Medicinal Moderna: desafios e contribuição brasileira. *Química Nova*, 30(6), 1456–1468. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422007000600015>

LUBOWE I. I. and MECCA S. B. (1959) Allantoin and aluminum derivatives in dermatological applications. *Drug Cosmet. Ind.* 84, 36-37, 117-118. Beraldo, H. (2005). Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. *Química Nova Na Escola*, 6, 4–6.

Lustri, W. R., Lazarini, S. C., Lustri, B. C., Corbi, P. P., Silva, M. A. C., Resende Nogueira, F. A., Massabni, A. C., Amaral, A. C., Treu Filho, O., & Massabni, A. C. (2017). Spectroscopic characterization and biological studies in vitro of a new

silver complex with furosemide: Prospective of application as an antimicrobial agent. *Journal of Molecular Structure*, 1134(2017), 386–394. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.12.056>

Maciel, M. D. S., Siqueira-batista, R., Mendes, P. D., & Gomes, A. P. (2012). A história da tuberculose no Brasil : os muitos tons (de cinza) da miséria *. *Revista Brasileira de Clínica Médica*, 10(3), 226–230.

Maillard, J. Y., & Hartemann, P. (2013). Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 373–383. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.713323>

Massabni, A. C., & Bonini, E. H. (2019). Tuberculose: história e evolução dos tratamentos da doença. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, 22(2), 6–34. <https://doi.org/10.25061/2527-2675/rebram/2019.v22i2.678>

MONGE, A.; CHORGHAE, M.; ERHARDT, P.W.; GANELLIN, C.R.; KOGA, N.; LINDBERG, P.; PERUN, T.J.; TOPLISS, J.G.; TRIVEDI, B.K.; WERMUTH, C.G. Medicinal Chemistry in the development of societies. *Eur. J. Med. Chem.* v.35, p.1121-1125, 2000

MURATSUBAKI, H., SATAKE, K., ENOMOTO, K. Enzymatic assay of allantoin in serum using allantoinase and allantoinamidohydrolase. *Anal. Biochem.* 359: 161–166, 2006

Murray, M. F. (2003). Nicotinamide: An oral antimicrobial agent with activity against both *Mycobacterium tuberculosis* and human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases*, 36(4), 453–460. <https://doi.org/10.1086/367544>

Nghiem, N. P., Kleff, S., & Schwegmann, S. (2017). Succinic acid: Technology development and commercialization. *Fermentation*, 3(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/fermentation3020026>

O'Neil, J. (2014). Review on Antibiotic resistance. *Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations.* Health and Wealth Nations, December, 1–16. [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR_Review_Paper - Tackling a crisis for the health and wealth of nations_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR_Review_Paper_-_Tackling_a_crisis_for_the_health_and_wealth_of_nations_1.pdf)

OUIMET, M. A.; GRIFFIN, J.; CARBONE-HOWELL, A. L.; WU, W. H.; STEBBIND, N. D.; DI, R.; UHRICH, K. E. Biodegradable ferulic acid-containing poly(anhydride-ester): degradation products with controlled release and sustained antioxidant activity. *Biomacromolecules*. v. 14, p. 854–861, 2013

QUE JR, L.; BANCI, L. Bioinorganic Chemistry. *Curr. Opinion in Chemical Biology*. v.6, p.169-170, 2002

Rawat, R., Whitty, A., & Tonge, P. J. (2003). The isoniazid-NAD adduct is a slow, tight-binding inhibitor of InhA, the Mycobacterium tuberculosis enoyl reductase: Adduct affinity and drug resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(SUPPL. 2), 13881–13886. <https://doi.org/10.1073/pnas.2235848100>

Rezende, S., Cristina, A., Carvalho, C., & Tuberculose, P. A. De. (2020). Determinantes sociais da saúde e custos catastróficos associados ao diagnóstico e tratamento da tuberculose. *46(5)*, 1–5.

Ribeiro, I.; Reis, D.; Pereira, D.; *J. Mol. Model.* 2019, 25, 267.

Rosemberg, J. (1999). Tuberculose - Aspectos históricos, realidades, seu romantismo e transculturação. *Boletim de Pneumologia Sanitária*, 7(2). <https://doi.org/10.5123/s0103-460x1999000200002>

Santos de Queiroz, N. (2004). A Resistência Bacteriana no Contexto da Infecção Hospitalar. *Texto & Contexto Enfermagem*, 13, 64–70. <http://www.scielo.br/pdf/tce/v13nspe/v13nspea07.pdf>

Silver, S., Phung, L. T., & Silver, G. (2006). Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(7), 627–634. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0139-7>

Sim, W., Barnard, R. T., Blaskovich, M. A. T., & Ziora, Z. M. (2018). Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: A patent review of the past decade (2007–2017). *Antibiotics*, 7(4), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040093>

Souza, M. V. N., & Vasconcelos, T. R. A. (2005). Drugs against tuberculose: Past, present and future. *Quimica Nova*, 28(4), 678–682. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000400022>

Tuberculostático, E. (2006). Nome Genérico: 2004–2006.

Vilchèze, C. (2020). Mycobacterial cell wall: A source of successful targets for old and new drugs. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/app10072278>

Vilchèze, C., & Jacobs, W. R. (2019). The Isoniazid Paradigm of Killing, Resistance, and Persistence in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3450–3461. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.02.016>

Wanmacher L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida?

WILLKE, Th.; VORLOP, K-D. Industrial bioconversion of renewable resources as an alternative to conventional chemistry. *App. Microbiol. Biotechnol*, 66, p. 131 - 142, 2004.

Woo, K. J., Hye, C. K., Ki, W. K., Shin, S., So, H. K., & Yong, H. P. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7), 2171–2178. <https://doi.org/10.1128/AEM.02001-07>

World Health Organization. “Antimicrobial resistance: global report on surveillance”. 2014.

ZEIKUS, J.G, JAIN, M.K., ELANKOVAN P, 1999. Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products. *Appl Microbiol Biotechnol* 51(5):545–552