

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Exatas**  
**Departamento de Química**

**FLAVIANA TAVARES VIEIRA**

**COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS**  
**COM AÇÃO FARMACOLÓGICA**

**Belo Horizonte**  
**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UFMG-ICEx/DQ-682<sup>a</sup>

T. 283<sup>a</sup>

**FLAVIANA TAVARES VIEIRA**

**COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS  
COM AÇÃO FARMACOLÓGICA**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Ciências - Química.

Belo Horizonte  
2008

Vieira, Flaviana Tavares

V658c  
2008  
T

Compostos organoestânicos com ação farmacológica./  
Flaviana Tavares Vieira. 2008.

xii, 201 f.: il.

Orientador: Geraldo Magela de Lima  
Co-Orientador: José Roberto da Silveira Maia  
Doutorado (Tese) - Universidade Federal de Minas  
Gerais. Departamento de Química.

1. Química Inorgânica - Teses 2. Organoestânicos -  
Teses 3. Ácidos carboxílicos- Teses 4. Materiais  
biocidas - Teses I. Orientador: Lima, Geraldo Magela  
II. Co-Orientador: Maia, José Roberto da Silveira III.  
Título.

CDU:043



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEx  
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG  
TEL.: 031 - 3499-5732  
FAX: 031 - 3499-5700  
E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br

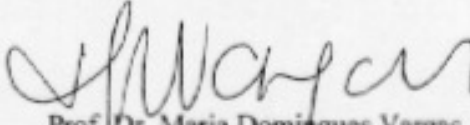


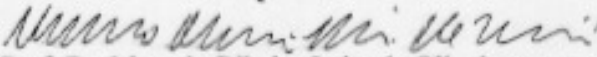
## "Compostos Organoestânicos com Ação Farmacológica"

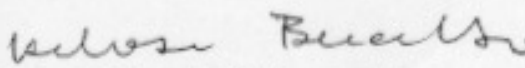
**Flaviana Tavares Vieira**

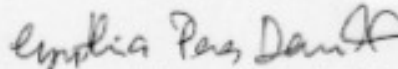
Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

  
Prof. Dr. Geraldo Magela de Lima - Orientador  
UFMG

  
Prof. Dr. Maria Domingues Vargas  
UFF

  
Prof. Dr. Marcelo Ribeiro Leite de Oliveira  
UFV

  
Prof. Dr. Heloisa de Oliveira Beraldo  
UFMG

  
Prof. Dr. Cynthia Peres Demicheli  
UFMG

Belo Horizonte, 06 de março de 2008.

O trabalho descrito nesta tese foi realizado sob a orientação do professor Geraldo Magela de Lima e co-orientação do professor José Roberto da Silveira Maia.

*Dedico este trabalho á minha mãe Lourdes, aos meus  
filhos Alexandre e Ana Flávia, ao meu esposo Silmário  
e aos meus irmãos, pela compreensão, carinho e apoio.*

## AGRADECIMENTOS

Expresso aqui minha gratidão a todos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Geraldo Magela de Lima (UFMG) e Dr. José Roberto S. Maia (UFV), pela orientação.

Aos professores Dr. Nivaldo Speziali (UFMG), Dra. Solange Wardell (Renê Rachou – RJ) e Dr. T.E. Albrecht-Schmitt (Auburn University - USA) pelas determinações estruturais por difração de raios-X.

Aos professores Dra. Maria Esperanza Cortés, Dr. Ary Correa, Dra. Déborah A. Negrão, Dra. Maria Norma Melo, Dr. Egler Chiari, Dra. Adlane Vilas Boas, Dra. Gerluza Borges, Dra. Clésia Nascentes, aos doutorandos Leonardo Rodrigues, Karina Teixeira, Ana Paula M. Urzedo e aos técnicos de laboratório Soraia, Jéferson e Afonso (UFMG) pela colaboração nos experimentos biológicos.

Aos professores Dr. José Domingos Ardisson (CDTN), Dr. José Domingos Fabris e ao doutorando Márcio Pereira (UFMG) pela obtenção dos espectros de Mössbauer.

Ao professor Dr. Júlio César Lopes e ao doutorando Andrelly M. José (UFMG) pela colaboração no screenig biológico virtual.

Aos professores Dr. Rubén Sinisterra, Dra Bernadette P. Trigo, Dra. Elene Maia (UFMG) pelas sugestões no exame de qualificação.

Ao professor Dr. Antonio Flávio Alcântara (UFMG) pela colaboração nos cálculos teóricos.

Ao professor Dr. José Dias, à Dra. Ivana Lula e ao técnico Ricardo pelo auxílio na obtenção de espectros de RMN.



A todos os professores do Departamento de Química, do Departamento de Física, do Instituto de Ciências Biológicas (UFMG) e ao professor Dr. James Wardell (Instituto de Química – UFRJ) pela contribuição na ampliação do meu aprendizado.

À Wellerson, Jonas, Fernanda, Márcio, Ivana, Luísa, Amanda, Tom, Lilian, Valéria, Roqueline, Rodrigo, Paula Paganini, Dayse, Érica, Rogério, Amauri, Isolda, Anayive, Karina, Débora, Jéferson, Lucas e a todos do Departamento de Química (UFMG) pela amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

A todos, o meu respeito, afeto e sincero agradecimento.

### **Agradecimento Especial**

À Daniele Cristiane Menezes pela amizade, colaboração, parceria e disponibilidade na troca de idéias.

## SUMÁRIO

Resumo.....	I
Abstract.....	III
Lista de Figuras.....	V
Lista de Tabelas.....	IX
Lista de Quadros.....	XI
Siglas e Abreviaturas.....	XII

### ***Capítulo 1- Atividade Biológica de Compostos Organoestânicos***

1.1. Introdução.....	1
1.2. Referências Bibliográficas.....	12

### ***Capítulo 2 - Parte Experimental*** ..... 18

2.1. Métodos Físicos, Analíticos e Espectroscópicos.....	19
2.1.1. Ponto de Fusão .....	19
2.1.2. Análise Elementar .....	19
2.1.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	19
2.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	19
2.1.5. Espectroscopia Mössbauer de <sup>119</sup> Sn .....	20
2.1.6. Difração de Raios-X em Monocristal.....	20
2.1.7. Medidas de Turbidez .....	20
2.1.8. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	21
2.1.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	21
2.2. Procedimentos para Avaliação da Bioatividade dos Compostos .....	21
2.2.1. Estudo do Potencial Antifúngico.....	21
2.2.2. Determinação da Concentração Inibitória .....	22
2.2.3. Cultura de <i>Candida albicans</i> .....	23
2.2.4. Cultura de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23
2.2.5. Cultura dos Microorganismos <i>Gram</i> -positivos e <i>Gram</i> -negativos.....	23
2.2.6. Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Derivados Organoestânicos do Ácido Aminobenzóico por Difusão em Ágar.....	24
2.2.7. Avaliação da Integridade do DNA de <i>C. albicans</i> .....	24
2.2.8. Avaliação da Viabilidade Respiratória das Células Fúngicas .....	25

2.2.9. Dosagem de Lipídios .....	26
2.2.10. Avaliação Morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	27
2.2.11. Ensaio de Biotoxicidade sobre <i>Artemia salina</i> .....	28
2.2.12. Avaliação do Potencial Nematicida dos Derivados Organoestânicos do Ácido Cólico em <i>Strongyloides venezuelensis</i> .....	29
2.2.13. Avaliação da Citotoxicidade dos Compostos em Células Humanas – Ensaio de MTT.....	31
2.2.14. Procedimento para Avaliação da Atividade Antileishmanial.....	32
2.2.15. Avaliação <i>in vivo</i> da Bioatividade em Camundongos com Doença de Chagas .....	33
2.2.16. Análise Estatística .....	33
2.2.17. Cálculos semi-empíricos para verificação da estabilidade de conformeros do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico .....	34
2.2.18. Screening Biológico Virtual da Interação de Compostos Orgânicos com Alvos Biológicos.....	34
2.3. Síntese dos Ligantes e Complexos .....	35
2.3.1. Síntese da Base de Schiff Derivada do Ácido Aminobenzóico e do Salicilaldeído - Ligante do Composto $[Me_2Sn(C_{14}H_9NO_3)]$ .....	35
2.3.2. Síntese do Derivado Dimetílico do Ácido Aminobenzóico: $[Me_2Sn(C_{14}H_9NO_3)]$ ...	36
2.3.3. Síntese dos Derivados Diorganoestânicos do Ácido Aminobenzóico: $[Me_2Sn(abz)_2]_2Sn_2O_2Me_4$ e $[Bu_2Sn(abz)_2]$ .....	37
2.3.4. Síntese dos Derivados Triorganoestânicos do Ácido Aminobenzóico: $[Me_3Sn(abz)]$ , $[Cy_3Sn(abz)]$ , $[Ph_3Sn(abz)]$ e $[Bu_3Sn(abz)]$ .....	39
2.3.5. Síntese do Derivado Dimetílico do Ácido Cólico: $[Me_2Sn(cho)_2]$ .....	40
2.3.6. Síntese do Derivado Dibutílico do Ácido Cólico: $[Bu_2Sn(cho)_2]$ .....	41
2.3.7. Síntese do Derivado Difenílico do Ácido Cólico: $[Ph_2Sn(cho)_2]$ .....	41
2.3.8. Síntese do Derivado Trimetílico do Ácido Cólico: $[Me_3Sn(cho)]$ .....	42
2.3.9. Síntese do Derivado Tributílico do Ácido Cólico: $[Bu_3Sn(cho)]$ .....	42
2.3.10. Síntese do Derivado Trifenílico do Ácido Cólico: $[Ph_3Sn(cho)]$ .....	43
2.3.11. Síntese do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H <sub>2</sub> L).....	44
2.3.12. Síntese do Derivado Dimetílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: $[Me_2Sn(L)]$ .....	45
2.3.13. Síntese do Derivado Dibutílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: $[Bu_2Sn(L)]$ .....	46
2.3.14. Síntese do Derivado Difenílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: $[Ph_2Sn(L)]$ .....	46
2.3.15. Síntese do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	47

2.3.16. Síntese do Derivado Dimetílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Me <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> .....	48
2.3.17. Síntese do Derivado Dibutílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> .....	49
2.3.18. Síntese do Derivado Difenílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> .....	49
2.3.19. Síntese do Derivado Trimetílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Me <sub>3</sub> Sn(boz)].....	50
2.3.20. Síntese do Derivado Tributílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Bu <sub>3</sub> Sn(boz)].....	51
2.3.21. Síntese Derivado Trifenílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Ph <sub>3</sub> Sn(boz)].....	51
2.4. Reagentes e Solventes Utilizados.....	52
2.5. Referências Bibliográficas.....	54

<b>Capítulo 3 - Investigação <i>in vitro</i> da Atividade Antimicrobiana de Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico</b> .....	56
3.1. Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico.....	57
3.2. Caracterização Complementar dos Compostos Diorganoestânicos [Me <sub>2</sub> Sn(abz) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Sn <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Me <sub>4</sub> e [Bu <sub>2</sub> Sn(abz) <sub>2</sub> ].....	59
3.2.1. Espectroscopia Mössbauer de <sup>119</sup> Sn.....	59
3.2.2. Estrutura Cristalográfica de [Me <sub>2</sub> Sn(abz) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Sn <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Me <sub>4</sub> .....	60
3.3. Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Compostos Diorganoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico.....	63
3.3.1. Avaliação da Atividade Antimicrobiana.....	63
3.3.2. Determinação da Concentração Inibitória (IC) contra <i>C. albicans</i> .....	64
3.3.3. Ensaio da Integridade do DNA.....	64
3.3.4. Viabilidade Respiratória das Células.....	65
3.3.5. Extração de Lipídios.....	68
3.3.6. Avaliação Morfológica das Células Fúngicas por Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV) e de Transmissão (MET).....	69
3.4. Atividade Antimicrobiana dos Triorganoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico.....	74
3.5. Referências Bibliográficas.....	76

<b>Capítulo 4 - Síntese, Caracterização e Avaliação da Bioatividade de Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Cólico</b> .....	78
4.1. Caracterização dos Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Cólico.....	79

4.1.1. Análise Elementar .....	79
4.1.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	79
4.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear.....	80
4.1.4. Espectroscopia Mössbauer de <sup>119</sup> Sn .....	85
4.4. Avaliação Biológica .....	88
4.4.1. Teste de Toxicidade em <i>Artemia salina</i> .....	88
4.4.2. Avaliação da Atividade Nematicida.....	89
4.4.2.1. Ensaio em Larvas de <i>S. venezuelensis</i> (L3).....	89
4.4.2.2. Ensaio em Larvas de <i>S. venezuelensis</i> (L1).....	90
4.4.3. Avaliação da Atividade Antifúngica .....	91
4.4.3.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima. ....	92
4.4.4. Avaliação da Citotoxicidade.....	93
4.5. Referências Bibliográficas.....	95

**Capítulo 5 - Síntese, Caracterização e Estudo das Atividades Antifúngica e Leishmanicida de Compostos de Sn(IV) Derivados do Ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico .....**

5.1. Caracterização dos Derivados Organoestânicos do Ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico. ....	97
5.1.1. Análise Elementar .....	97
5.1.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	97
5.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear.....	98
5.1.4. Espectroscopia Mössbauer de <sup>119</sup> Sn .....	102
5.2. Avaliação da Bioatividade.....	105
5.2.1. Atividade Antifúngica .....	105
5.2.2. Avaliação da Atividade Antileishmanial.....	106
5.3. Screening Virtual de Alvos Biológicos com Possibilidades de Interação com o Ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico. ....	110
5.4. Referências Bibliográficas.....	113

**Capítulo 6 - Síntese, Caracterização e Avaliação da Bioatividade de Compostos de Sn(IV) Derivados do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....**

6.1. Caracterização do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico .....	115
6.1.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	115
6.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear.....	116

6.1.3. Cálculos semi-empíricos para verificação da estabilidade de conformeros do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico .....	118
6.1.4. Estrutura Cristalográfica do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico .....	118
6.2. Caracterização dos Derivados Organoestânicos do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico .....	120
6.2.1. Análise Elementar .....	120
6.2.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho .....	120
6.2.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear.....	121
6.2.4. Espectroscopia Mössbauer de <sup>119</sup> Sn .....	126
6.2.5. Difração de Raios – X em Monocristal. ....	129
6.2.6. Estruturas Propostas .....	133
6.3. Avaliação da Bioatividade.....	134
6.3.1. Atividade Antifúngica .....	134
6.3.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima. ....	135
6.3.3. Bioatividade <i>in vivo</i> do composto 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano em <i>Trypanossoma cruzi</i> . ....	136
6.4. Screening Virtual de Alvos Biológicos com Possibilidades de Interação com o Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. ....	136
6.5. Referências Bibliográficas.....	140
<b>Capítulo 7 - Discussão e Conclusões</b> .....	141
7.1. Referências Bibliográficas.....	150
<b>Anexos</b> .....	151
Anexo I: Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto [Me <sub>2</sub> Sn(μ-O)O <sub>2</sub> C(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Sn <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Me <sub>4</sub> .....	152
Anexo II: Determinação do MIC em placa de microdiluição contendo cultura de <i>Candida albicans</i> (ATCC 18804). ....	160
Anexo III: Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. ....	161
Anexo IV: Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto Poli-[trimetilestanho-3-{(carboxifenil)amino}ciclohexen-2-ona].....	167
Anexo V: Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano.....	173
Anexo VI: Cartas de Aceite de Trabalhos .....	179
Anexo VII: Artigos Publicados .....	201

## RESUMO

Este trabalho consistiu na investigação mecanística da atividade biológica de derivados diorganoestânicos do ácido aminobenzóico em células de *C. albicans* (i); síntese, caracterização e a atividade biológica de derivados organoestânicos do ácido cólico (ii); ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (iii) e do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (iv). O capítulo 1 traz uma breve revisão da literatura a respeito do potencial biológico exibido por complexos organoestânicos. Também descreve aspectos gerais em relação aos microorganismos utilizados nos bioensaios. O capítulo 2 descreve os detalhes experimentais das sínteses e procedimentos biológicos. O capítulo 3 relata a atividade antifúngica *in vitro* dos derivados organoestânicos do ácido aminobenzóico (Habz),  $[\text{Me}_2\text{Sn}(2\text{-OC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NC}_6\text{H}_4\text{CO}_2)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{SnO}_2\text{C}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ , no fungo *Candida albicans*. Os efeitos dos compostos foram investigados sobre a atividade celular da levedura. Nenhuma mudança na integridade do DNA ou na função mitocondrial foi observada. Entretanto, todos os compostos de estanho reduziram a biossíntese do ergosterol. Os compostos apresentaram concentração inibitória ( $\text{IC}_{50}$ ) na faixa de 7,5 – 20,0  $\mu\text{g/mL}$ . Análises por microscopia eletrônica de varredura e de transmissão sugerem que os compostos organoestânicos atuem na membrana, provocando extravasamento do citoplasma e deformação celular. Os dados sugerem um mecanismo de ação semelhante aos de drogas poliênicas, normalmente usadas em infecções causadas por *Candida*. Os derivados triorganoestânicos do ácido aminobenzóico foram avaliados frente a dez microorganismos, apresentando promissoras atividades biológicas na inibição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O capítulo 4 descreve a síntese e caracterização de seis compostos organoestânicos do ácido cólico (Hcho),  $[\text{R}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e  $[\text{R}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ , com R = Me, Bu e Ph. Eles foram avaliados contra *Artemia salina*, exibindo a seguinte ordem de biotoxicidade ( $\text{mg/mL}$ ):  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{cho})_2] > [\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2] > [\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ .  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  foi altamente ativo contra os nematóides *Stongyloides venezuelensis*, na fase de crescimento L3. O melhor resultado na fase L1 foi encontrado para o composto  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ . A atividade antifúngica dos ligantes e dos complexos organoestânicos foi avaliada em culturas dos fungos *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Cladosporium sphaerospermum*. Os compostos contendo os grupos  $\text{Me}_2$ ,  $\text{Me}_3$  e  $\text{Bu}_2$  foram inativos.  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  apresentou-se bastante ativo em *C. neoformans*, em dose inferior à do cetoconazol, usado em clínicas

médicas. Todos os derivados organoestânicos do ácido cólico apresentaram-se menos citotóxicos para células de rim humano (HEK 293) que o cetoconazol. No capítulo 5 descreve-se a síntese da nova base de Schiff, o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, (H<sub>2</sub>L), resultado da reação do ácido aminobenzóico com o 2,5-tiofenodicarboxaldeído. O produto foi empregado no preparo de três compostos diorganoestânicos: [Me<sub>2</sub>Sn(L)], [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(L)]. Eles foram avaliados quanto a atividade antifúngica e antileishmanial. O derivado difenílico inibiu a multiplicação das culturas de *C. albicans* e *C. neoformans*. Esta atividade foi menor que a do cetoconazol. A atividade antileishmanial do complexo dimetílico foi semelhante à do antimoniato de meglumina, entretanto, após nove dias de cultura este complexo apresentou melhor desempenho. No capítulo 6 é descrita a síntese do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, usado como ligante no preparo de seis novos complexos organoestânicos. A estrutura do ligante e dos derivados dibutílico e trimetílico foram determinadas por difração de raios-X. A atividade antifúngica apresentada por [Ph<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub> e [Ph<sub>3</sub>Sn(boz)] em *C. neoformans* foi melhor que o cetoconazol. [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub> apresentou-se inativo, *in vivo*, contra o protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Palavras-chave: Organoestânicos, ácidos carboxílicos, materiais biocidas.



## ABSTRACT

This work regards the mechanistic investigation of the biological activity of diorganotin complexes of aminobenzoic acid towards *C. albicans* cells (*i*); as well as the synthesis, characterization and biological activity of organotin derived of cholic acid (*ii*), 2,2'-[2,5-thiophenediyl-bis(metilenitrile)]-dibenzoic acid (*iii*) and 2-(3-oxociclohexen-1-enyl)aminobenzoic acid (*iv*). Chapter 1 provides a brief of the literature concerning the biological activity of organotin complexes. It is also described the general aspects of the screened microorganisms. Chapter 2 comprises the experimental details of the synthesis and biological procedures. Chapter 3 reports the in vitro anti-fungal activity of the organotin complexes of aminobenzoic acid (Habz),  $[\text{Me}_2\text{Sn}(2\text{-OC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NC}_6\text{H}_4\text{CO}_2)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{SnO}_2\text{C}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  and  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ , screened against *Candida albicans*. The effect of the compounds on the cellular activity of the yeast has been investigated. No change in DNA integrity or in the mitochondria function has been observed. However, all the tin compounds were found to reduce the ergosterol biosynthesis. The compounds have inhibitory concentrations ( $\text{IC}_{50}$ ) in the 7.5 – 20.0  $\mu\text{g/mL}$ . Scanning electron microscopy and transmission electron microscopy suggest that the organotin complexes act on cell membrane, in view of the cytoplasm leaking and cellular deformation. The data indicate a mechanism of action similar to that of polyene drugs, normally used in *Candida* infections. The triorganotin complexes of aminobenzoic acid were tested towards ten micro-organisms showing promising biological activity in the inhibition of *Gram*-positive and *Gram*-negative bacteria. Chapter 4 describes the synthesis and characterization of six organotin complexes of cholic acid (Hcho),  $[\text{R}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  and  $[\text{R}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ , R = Me, Bu and Ph. They have been screened against *Artemia salina*, displaying the following order of bio-toxicity (mg/mL):  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{cho})_2] > [\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2] > [\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})] > [\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ .  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  presented highly active against the nematode *Stongyloides venezuelensis*, in the growing phase L3. Best results in phase L1 were achieved by complex  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ . The antifungal activity of the ligands and the all organotin compounds was tested in *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Cladosporium sphaerospermum*. The compounds with the group  $\text{Me}_2$ ,  $\text{Me}_3$  and  $\text{Bu}_2$  no have activity.  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  presented high activity antifungal against *C. neoformans*, in lower dose than that of the ketoconazole, used clinically. All the organotin compounds of cholic acid presented lower cytotoxic activity in human kidney cells (HEK 293) than the ketoconazole.

Chapter 5 deals with the preparation of the new Schiff base, 2,2'-[2,5-thiophenediyl-bis-(methylenenitrile)]-dibenzoic acid, (H<sub>2</sub>L), from the reaction of aminobenzoic acid with 2,5-thiophenedicarboxaldehyde. The product was employed in the preparation of three diorganotin complexes: [Me<sub>2</sub>Sn(L)], [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(L)]. They have been screened for antifungal and antileishmanial activity. The diphenyl derivative has shown antifungal activity against *C. albicans* and *C. neoformans*, this activity was lower than ketoconazole. The antileishmanial of the dimethyltin complex was similar to that of the antimoniate of meglumine, however after nine days of culture this complex displayed better activity. Chapter 6 also reports the synthesis of 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzoic acid, used as ligand in synthesis of new six organotin complexes. The structure of ligand and the dibutyl and trimethyl derivatives have been determined to X-ray. The antifungal activity showed to [Ph<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub> and [Ph<sub>3</sub>Sn(boz)] against *C. neoformans* was better than ketoconazole. [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub> not displayed activity towards *Trypanosoma cruzi*.

Key-words: Organotin, carboxylic acid, biocide materials.

## Lista de Figuras

Figura 1.1	Ácido Aminobenzóico.....	5
Figura 1.2	Ácido Cólico.....	6
Figura 1.3	<i>Artemia salina</i> .....	7
Figura 1.4	Larvas infectantes (L3) de <i>Strongyloides venezuelensis</i> .....	8
Figura 1.5	Leishmania <i>in natura</i> (a) Leishmania corada (b) .....	9
Figura 1.6	Medicamentos usados clinicamente para inibição de fungos patógenos (A) polienos (B) azólicos.....	10
Figura 1.7	Formas tripomastigostas de <i>Trypanosoma cruzi</i> no sangue.....	11
Figura 2.1	Esquema de redução do TTC.....	26
Figura 2.2	Esquema de síntese da base de Schiff - ligante usado na síntese do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ .....	35
Figura 2.3	Esquema da reação para obtenção do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ....	36
Figura 2.4	Esquema de síntese dos compostos $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .....	37
Figura 2.5	Esquema de síntese dos compostos $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ , $[\text{Cy}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ , $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ e $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ .....	39
Figura 2.6	Esquema de síntese dos derivados organoestânicos do ácido cólico.....	44
Figura 2.7	Esquema de síntese para obtenção do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ).....	45
Figura 2.8	Esquema de síntese dos derivados organoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico .....	47
Figura 2.9	Esquema de síntese do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	48
Figura 2.10	Esquema de síntese dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	50
Figura 3.1	Fórmulas estruturais dos compostos diorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico.....	58
Figura 3.2	Fórmulas estruturais dos compostos triorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico.....	58
Figura 3.3	Espectro Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	59

Figura 3.4	Espectro Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ do composto $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .....	59
Figura 3.5	Estrutura molecular determinada por difração de raios-X do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	62
Figura 3.6	Diagrama de eletroforese do padrão de bandas do DNA de <i>C. albicans</i> .....	65
Figura 3.7	Formação das colônias de <i>C. albicans</i> em placas com ágar.....	67
Figura 3.8	Teste respiratório evidenciando poucas alterações na coloração das colônias de <i>Candida albicans</i> .....	67
Figura 3.9	Conteúdo relativo de ergosterol das células fúngicas tratadas com os compostos organoestânicos.....	68
Figura 3.10	Imagens de microscopia eletrônica de varredura.....	69
Figura 3.11	Projeção em “perfil” (eixo o-b) do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	71
Figura 3.12	Imagens de microscopia eletrônica de transmissão.....	72
Figura 3.13	Imagens de microscopia eletrônica de transmissão.....	73
Figura 4.1	Fórmula estrutural do ácido cólico com os átomos de carbono numerados.....	80
Figura 4.2	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do ácido cólico .....	83
Figura 4.3	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ácido cólico .....	84
Figura 4.4	Espectros Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ dos derivados do ácido cólico.....	86
Figura 4.5	Fórmulas estruturais propostas para os derivados organoestânicos do ácido cólico.....	87
Figura 4.6	Viabilidade das larvas L1 de <i>S. venezuelensis</i> em coprocultura frente aos compostos organoestânicos $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ (1), $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ (2) e $[\text{Ph}_3\text{Sncho}]$ (3).....	90
Figura 4.7	Valores médios do diâmetro dos halos de inibição de crescimento produzidos por 1 mg/mL dos compostos organoestânicos $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ (1), $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ (2) e $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ (3) frente aos fungos <i>C. sphaerospermum</i> , <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> .....	92
Figura 4.8	Redução do MTT a cristais de formazan.....	93
Figura 4.9	Monocamada de células HEK 293 na presença do composto $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ .....	94
Figura 5.1	Fórmula estrutural da base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ).....	99

Figura 5.2	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ).....	101
Figura 5.3	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.....	101
Figura 5.4	Espectros Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ dos derivados diorganoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.....	103
Figura 5.5	Fórmula estrutural proposta para os derivados diorganoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.....	104
Figura 5.6	Valores médios dos diâmetros dos halos de inibição produzidos pelo composto $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]$ frente à cultura dos fungos (a) <i>C. neoformans</i> e (b) <i>C. sphaerospermum</i> .....	105
Figura 5.7	Curva de crescimento das formas promastigotas de <i>L. chagasi</i> por 9 dias em contato com 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ da base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ) e do derivado dimetílico $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{L})]$ .....	108
Figura 5.8	Viabilidade das formas promastigotas de <i>L. chagasi</i> frente a variadas concentrações da base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ) e do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{L})]$ .....	109
Figura 5.9	Proteínas-alvo para o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.....	110
Figura 5.10	Interação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ) com a proteína DNA ligase.....	112
Figura 5.11	Interação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ) com a proteína fosforilase.....	112
Figura 6.1	Formas tautoméricas do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, ( $\text{Hboz}$ ): (a) imina e (b) enamina.....	115
Figura 6.2	Estrutura do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	116
Figura 6.3	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	117
Figura 6.4	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	117
Figura 6.5	Arranjo pseudo-polimérico mantido por ligações de hidrogênio intermoleculares, determinado por difração de raios-X em monocristal do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	119

Figura 6.6	Espectros Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	128
Figura 6.7	Estrutura monomérica do <i>poli</i> -[trimetilestanho-3- {(carboxifenil)amino}ciclohexen-2-ona] .....	130
Figura 6.8	Estrutura do composto $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ , por difração de raios-X em monocristal.....	132
Figura 6.9	Estrutura do composto $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}_2]$ , por difração de raios-X em monocristal.....	132
Figura 6.10	Fórmulas estruturais propostas para os compostos diorganoestânicos (a) e triorganoestânicos (b) derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	134
Figura 6.11	Estrutura cristalográfica das proteínas-alvo, mRNA guanililtransferase (1ckm) e HIV-1 retropepsin (1mtr), para o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	137
Figura 6.12	Modelo de interação do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com a proteína mRNA guanililtransferase (1ckm), presente na artrite reumatóide e na placa dentária.....	139
Figura 6.13	Modelo de interação do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com a proteína HIV-1 retropepsin (1mtr), presente no vírus da imunodeficiência humana.....	139

## Lista de Tabelas

Tabela 1.1	Influência do grupo R sobre as propriedades fungicidas de acetatos de triorganoestânicos .....	3
Tabela 1.2	Relação de atividade inibitória entre o grupo orgânico R de trialquistânicos e alguns organismos.....	3
Tabela 1.3	Agroquímicos comercializados em 2007 no Brasil.....	4
Tabela 2.1	Relação dos principais solventes e reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.....	52
Tabela 3.1	Distâncias de ligação selecionadas (Å) do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	60
Tabela 3.2	Ângulos de ligação selecionados (Å) do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	60
Tabela 3.3	Informações técnicas e dados obtidos da estrutura cristalina do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .....	61
Tabela 3.4	Valores de halos de inibição (mm) para os compostos $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ , $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ frente à bactéria <i>S. aureus</i> e ao fungo <i>C. albicans</i> .....	63
Tabela 3.5	Concentração inibitória ( $\text{IC}_{50}$ ) para os compostos $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ , $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .....	64
Tabela 3.6	Crescimento de colônias de <i>C. albicans</i> em ágar contendo 10 e 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dos compostos $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ , $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .....	66
Tabela 3.7	Atividade inibitória dos derivados triorganoestânicos do ácido aminobenzóico em microrganismos <i>Gram</i> -positivos e <i>Gram</i> -negativos.	75
Tabela 4.1	Atribuição e deslocamento químico dos átomos de carbono do ácido cólico e dos derivados organoestânicos.....	82
Tabela 4.2	Parâmetros Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$ dos derivados organoestânicos do ácido cólico.....	86
Tabela 4.3	Valores médios de $\text{DL}_{50} \pm$ desvio padrão (D.P.) obtidos no bioensaio de toxicidade em <i>A. salina</i> para os compostos organoestânicos derivados do ácido cólico.....	88
Tabela 4.4	Viabilidade das larvas (L3) de <i>S. venezuelensis</i> após contato com os	

	derivados organoestânicos do ácido cólico.....	89
Tabela 5.1	Frequência de vibração das principais ligações do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e de seus derivados organoestânicos.....	98
Tabela 5.2	Deslocamentos químicos dos átomos de carbono presentes no ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e em seus derivados de Sn(IV) .....	100
Tabela 5.3	Parâmetros Mössbauer de <sup>119</sup> Sn para os derivados organoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e de seus precursores.....	103
Tabela 5.4	Viabilidade das formas promastigotas de <i>L. chagasi</i> (%) após incubação com o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e seus derivados diorganoestânicos.....	107
Tabela 5.5	Principais alvos relacionados com a previsão de ação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.....	111
Tabela 6.1	Distâncias de ligação selecionadas (Å) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	118
Tabela 6.2	Informações técnicas e dados obtidos da estrutura cristalina do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	120
Tabela 6.3	Frequência de vibração das principais ligações dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	121
Tabela 6.4	Deslocamento químico dos átomos de hidrogênio dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	124
Tabela 6.5	Deslocamento químico dos átomos de carbono do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico e dos derivados organoestânicos.....	125
Tabela 6.6	Parâmetros Mössbauer de <sup>119</sup> Sn dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	127
Tabela 6.7	Informações técnicas e dados obtidos das estruturas cristalinas dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	129
Tabela 6.8	Distâncias de ligação selecionadas (Å) dos derivados trimetílico e dibutílico do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	131
Tabela 6.9	Ângulos selecionados (°) dos derivados trimetílico e dibutílico do	



	ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	131
Tabela 6.10	Proteínas terapeuticamente relevantes e possuidoras de potencial para interação com o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.....	138
Tabela 7.1	Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos frente a fungos patógenos.....	148

### Lista de Quadros

Quadro 4.1	Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos do ácido cólico frente a fungos patógenos.....	92
Quadro 4.2	Concentração a partir da qual os derivados organoestânicos do ácido cólico são tóxicos às células humanas HEK 293.....	94
Quadro 6.1	Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico frente a fungos patógenos.....	135

## Siglas e Abreviaturas

$\mu\text{g}$	Microgramas
$\mu\text{L}$	Microlitros
RMN $^1\text{H}$	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN $^{13}\text{C}$	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN $^{119}\text{Sn}$	Ressonância Magnética Nuclear de Estanho 119
TCC	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
MIC	Concentração inibitória mínima
IC	Concentração inibitória
ATCC	Coleção de cepas tipo americana
Me	Metila
Bu	Butila
Ph	Fenila
Cy	Ciclohexil

## *Capítulo 1*

# *Atividade Biológica de Compostos Organoestênicos*

## 1.1. Introdução

Compostos organoestânicos são por definição compostos que possuem pelo menos uma ligação Sn-C<sup>1,2</sup>.

Em 1849, Edward Frankland relatou a síntese do primeiro composto organoestânico, o diodeto de dietilestanho [Et<sub>2</sub>SnI<sub>2</sub>]<sup>3</sup>. Porém, a atividade biocida deste composto foi observada apenas em 1954<sup>4</sup> e desde então, compostos desta natureza vêm sendo bastante estudados. Estes compostos apresentam um amplo espectro de atividade biológica, destacando as atividades antifúngica, antibacteriana<sup>5-13</sup>, antiinflamatória<sup>14,15</sup> e antineoplásica<sup>5,16-19</sup>.

Estas aplicações estão relacionadas principalmente a duas propriedades do estanho: sua ação como biocida (bactericida, fungicida, moluscicida, inseticida) e sua forte afinidade por átomos doadores de elétrons, tais como oxigênio, nitrogênio, fósforo e enxofre<sup>3</sup>.

A atividade biológica de complexos de fórmula geral R<sub>n</sub>SnX<sub>4-n</sub> (n = 1 - 3; R = Me, Et, Bu e Ph, X = halogênio) varia com R e n, sendo que os compostos organoestânicos de fórmula geral R<sub>2</sub>SnX<sub>2</sub> mostram-se mais ativos contra linhagens de células tumorais, enquanto aqueles que possuem fórmula geral R<sub>3</sub>SnX apresentam melhores atividades biocidas<sup>3,20</sup>.

Em 1972, observou-se a redução do crescimento de tumores malignos *in vivo* usando o acetato de trifenilestanho (IV) [Ph<sub>3</sub>SnOCOCH<sub>3</sub>]. Desde então, vários pesquisadores começaram a investigar a ação antitumoral de compostos estruturalmente análogos. Posteriormente, os primeiros compostos organoestânicos a apresentarem esta atividade foram os óxidos (R<sub>2</sub>SnO) e os hidróxidos [R<sub>2</sub>Sn(OH)X]<sup>20</sup>.

Vários complexos organoestânicos apresentam-se ativos, *in vitro*, contra tumores malignos. Estes são produtos resultantes de reações entre compostos de estanho (IV) com vitamina B<sub>6</sub><sup>20</sup>, esteróides<sup>21</sup>, penicilamina<sup>22</sup>, ditiocarbamatos<sup>23</sup>, ácido flufenâmico<sup>24</sup>, entre outros.

Entre os derivados organoestânicos, os compostos dialquil exibem maior atividade antitumoral que os derivados mono-, tri- e tetralquilestânicos. Em uma escala específica para compostos de Sn(IV) alquilados, em termos de atividade antitumoral, os derivados dietil- e difenil- apresentam as atividades mais altas *in vivo*. Esta atividade aumenta de Me<sub>2</sub> para Bu<sub>2</sub>. A toxicidade é paralela, ou seja, quanto mais ativo for o composto tanto mais

tóxico ele será. O equilíbrio entre uma boa atividade antitumoral e uma baixa toxicidade pode ser encontrado em compostos contendo radicais butilas e fenilas. São os mais usados em experimentos para avaliação antitumoral<sup>20</sup>.

O maior problema enfrentado na administração de compostos organoestânicos contra tumores em ensaios animais é sua limitada solubilidade em água. Alguns dos compostos mais solúveis tem em sua fórmula geral  $\text{Na}^+$  ou  $[\text{C}(\text{NH}_2)_3]^+$  e  $\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$ <sup>20</sup>. Vários compostos têm sido testados no Instituto Nacional do Câncer nos USA e têm apresentado atividade positiva contra crescimento de tumores malignos próximo a 50 %<sup>20</sup>.

Com relação ao mecanismo de ação destes complexos, a espécie  $\text{R}_2\text{Sn}^{2+}$  é apontada como responsável pela ação antitumoral dos compostos organoestânicos. Sugere-se, ainda, que um bom agente antineoplásico deva ser facilmente dissociável quando administrado. Isto requer a presença de fracas ligações, que seriam hidrolisáveis, entre o átomo de estanho e o átomo doador proveniente do composto orgânico envolvido; desta forma, os compostos orgânicos coordenados ao átomo de estanho agiriam como carreadores da espécie  $\text{R}_2\text{Sn}^{2+}$  até às células tumorais<sup>20, 25</sup>. A ação dos compostos organoestânicos no material genético tem sido objeto de inúmeros estudos. Algumas hipóteses sugerem sua ação via interação com átomos de oxigênio pertencentes a grupos fosfatos presentes na estrutura do DNA<sup>26-30</sup>. Existe a possibilidade da ação antitumoral de compostos organoestânicos ser mediada pelo gene p53<sup>18</sup>. Este gene possui como principal função a manutenção da integridade do código genético. Caso seja verificada a alteração de uma mutação, esta proteína, através do desencadeamento de um conjunto de reações, ativa as proteínas de reparação de forma a repor o DNA ao seu estado normal. No caso de o DNA se encontrar bastante danificado, cabe a esta proteína impedir que a célula complete a divisão celular. Para alcançar este objetivo, ela age induzindo a morte celular por apoptose<sup>31, 32</sup>. A apoptose é o processo de morte celular que consiste em uma série de eventos intracelulares os quais finalizam com a ruptura da membrana plasmática<sup>33</sup>.

A atividade fungicida dos organoestânicos é encontrada, principalmente, para trialkil- e triarilestânicos. Compostos do tipo  $\text{R}_3\text{SnX}$  apresentam maior potencial fungicida, seguido por  $\text{R}_2\text{SnX}_2$  e ocasionalmente,  $\text{R}_4\text{Sn}$  ( $\text{R} =$  grupo orgânico,  $\text{X} =$  halogênio). A atividade de compostos alifáticos é maior quando o número de átomos de carbono da cadeia alquila varia entre 9 e 12<sup>34</sup>.

A toxicidade de compostos organoestânicos aparentemente está relacionada ao número de átomos de carbono e ao tipo de substituinte ligado ao centro

metálico <sup>14</sup>. A ação tóxica de compostos como  $R_2SnX_2$  tem sido atribuída à sua tendência em interagir com coenzimas e enzimas. A toxicidade de compostos como  $R_2SnX_2$  e  $R_3SnX$  em mamíferos decresce com o aumento no comprimento da cadeia alquila, enquanto os radicais inorgânicos comuns, “X”, têm pouco efeito sobre a toxicidade de compostos organoestânicos de fórmula geral  $R_nSnX_{4-n}$  <sup>3, 34</sup>. A natureza do grupo alquil é de grande importância para determinar sua toxicidade em espécies particulares. A Tabela 1.1 mostra a influência do grupo orgânico R sobre a atividade antifúngica de acetatos de triorganoestânicos ( $R_3SnOCOCH_3$ ) nos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium italicum* <sup>3</sup>. Geralmente, quando o grupo orgânico R se apresenta com maior número de átomos de carbono, maior é a atividade apresentada.

Tabela 1.1 – Influência do grupo R sobre as propriedades fungicidas de acetatos de triorganoestânicos ( $R_3SnOCOCH_3$ ) <sup>3</sup>.

Composto	Concentração mínima inibitória (mg/L)	
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium italicum</i>
Me <sub>3</sub> SnOCOCH <sub>3</sub>	200	20
Et <sub>3</sub> SnOCOCH <sub>3</sub>	5	2
n-Pr <sub>3</sub> SnOCOCH <sub>3</sub>	1	0,1
i-Pr <sub>3</sub> SnOCOCH <sub>3</sub>	1	0,1
n-Bu <sub>3</sub> SnOCOCH <sub>3</sub>	0,5	≤ 0,1

Entre os compostos trialquilestânicos, a natureza do grupo orgânico também influencia a atividade biocida de alguns organismos, conforme pode ser observado na Tabela 1.2 <sup>3</sup>.

Tabela 1.2 - Relação de atividade inibitória entre o grupo orgânico R de trialquiestânicos e alguns organismos <sup>3</sup>.

Organismos	Grupo orgânico R de $R_3SnX$
Insetos	Me
Mamíferos	Et
Bactérias <i>Gram</i> -negativas	Pr
Bactérias <i>Gram</i> -positivas, fungos e moluscos	Bu

A Tabela 1.3 apresenta alguns produtos agroquímicos comercializados no ano de 2007 no Brasil, cujo princípio ativo é baseado em estanho <sup>35</sup>.

Tabela 1.3 – Agroquímicos comercializados em 2007 no Brasil<sup>35</sup>.

Marca comercial	Princípio ativo	Indústria registrante
Acarstin	cihexatin	Sipcam Agro S.A.
Brestan PM	acetato de fentina	Bayer CropScience Ltda.
Brestanid SC	hidróxido de fentina	Bayer CropScience Ltda.
Caligur	azociclotin	Bayer CropScience Ltda.
Compleat	cihexatin	Sipcam Agro S.A.
Hokko Cyhexatin 500	cihexatin	Hokko do Brasil Ind. Quím. e Agrop. Ltda
Hokko Suzu 200	acetato de fentina	Hokko do Brasil Ind. Quím. e Agrop. Ltda
Mertin 400	hidróxido de fentina	Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.
Partner	óxido de fembutatina	Sipcam Agro S.A.
Peropal 250 PM	azociclotin	Bayer CropScience Ltda.
Sipcatin 500 SC	cihexatin	Sipcam Agro S.A.
Tanger 500	óxido de fembutatin	Du Pont do Brasil S.A.
Torque 500 SC	óxido de fembutatin	Basf S.A.

Por serem bastante lipofílicos, considera-se que os compostos organoestânicos possam atuar sobre a membrana. Há evidências de que a ação dos organoestânicos possa ser tanto na membrana citoplasmática quanto no meio intracelular<sup>18</sup>.

Vários mecanismos de ação biológica para derivados de organoestânicos têm sido propostos. Porém, ainda não foram completamente entendidos.

A liberação de  $K^+$  de células, resultando em um aumento na permeabilidade da membrana citoplasmática, foi usada para monitorar a toxicidade de organoestânicos, sugerindo a membrana citoplasmática como possível local de ação<sup>36-38</sup>. O rompimento da membrana citoplasmática por derivados organoestânicos pode ser consequência de uma possível solubilidade lipídica efetuada através de fracas interações com moléculas tais como aminoácidos, proteínas<sup>39</sup>, carboidratos e esteróides<sup>40</sup>, presentes na membrana celular. Outra proposta relaciona o potencial de redox da reação  $Sn^{4+} + 2e^- \rightarrow Sn^{2+}$ , 0.154V (comparado ao eletrodo padrão de hidrogênio) aos processos fisiológicos envolvidos nas reações enzimáticas. Sendo assim, é possível que alguns processos enzimáticos estejam relacionados à atividade biológica de compostos organoestânicos<sup>37</sup>.

O rápido desenvolvimento dos estudos de genoma tem fornecido um melhor conhecimento das funções dos genes em muitas espécies<sup>41-46</sup>. Alguns grupos de pesquisa estão interessados em caracterizar a diversidade fúngica e explorar a possibilidade do uso de vários membros deste reino como sistema-modelo para o estudo de genes humanos, doenças e tratamentos relacionados<sup>47</sup>. Comparando genes humanos com os de *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Saccharomice cerevisiae* e outros do

reino fúngico, foram encontrados 989 proteínas humanas com homologia significativamente melhor em seqüências fúngicas (incluindo *C. albicans*) que em seqüências de vermes ou insetos <sup>47</sup>. É possível que tais similaridades químicas e genéticas, entre animais e fungos, expliquem porque algumas doenças fúngicas são de difícil tratamento. Por outro lado, sistemas-modelo para doenças e seus respectivos tratamentos, usando espécies fúngicas – e outros membros deste reino – são particularmente atrativos por incluírem alguns organismos eucarióticos simples e possuírem condição de crescimento simples e rápido tempo de reprodução. Resultados interessantes têm sido discutidos na literatura com relação a mecanismos de apoptose <sup>7</sup>. O uso de fungos como modelo para estudar drogas antitumorais tem ajudado na compreensão do mecanismo de ação de muitas substâncias <sup>48</sup>. A espécie *S. cerevisiae* tem sido usada para encontrar compostos com potencial quimioterapêutico <sup>49, 50</sup>.

Neste trabalho investigou-se o mecanismo de ação de compostos diorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico (Figura 1.1) no fungo *Candida albicans*, via função respiratória, extração de material genético e de lipídios, estudo morfológico por microscopias eletrônicas de varredura e transmissão; avaliou-se também a ação antibacteriana desses compostos em *Staphylococcus aureus*. Outra aplicação bastante interessante se refere a bactérias. É sabido que membranas de bactérias *Gram*-negativas possuem uma forte barreira de permeabilidade para muitos tipos de antibióticos. Conseqüentemente, elas são resistentes a muitos medicamentos ativos contra organismos *Gram*-positivos. Os derivados triorganoestânicos do ácido aminobenzóico foram testados quanto à atividade antimicrobiana contra os microorganismos *Gram*-positivos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e contra os *Gram*-negativos *Bacterioides fragilis*, *Agregatium actynomicetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenicus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenela corrodens*, com a intenção de verificar a seletividade da atuação dos complexos metálicos de Sn(IV) nestes organismos.

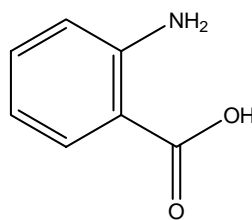


Figura 1.1 – Ácido Aminobenzóico



Outro ligante usado para complexação ao Sn(IV) foi o ácido cólico ou ácido 3, 7, 12-trihidroxi-5-colan-24-oico (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>) - Figura 1.2 - um ácido da bile.

Ácidos da bile são compostos sintetizados no fígado a partir do colesterol. A conformação do ácido cólico constitui-se de um esqueleto esteroidal, o qual possui superfície hidrofóbica de um lado e hidrofílica de outro lado. É considerado um dos principais e mais abundantes ácidos da bile humana<sup>51</sup>. Compostos derivados de ácidos da bile têm sido empregados no desenvolvimento de materiais poliméricos para uso em sistemas de carreamento de drogas, em sínteses assimétricas e biomateriais poliméricos<sup>52</sup>.

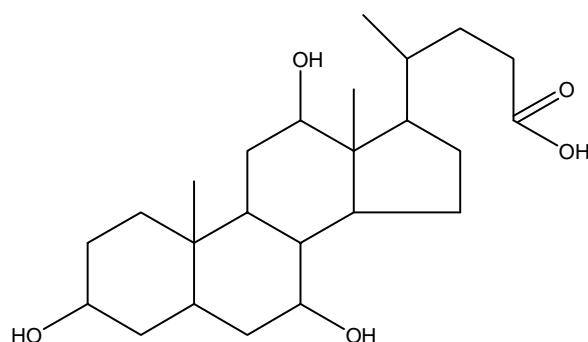


Figura 1.2 – Ácido cólico.

Várias moléculas podem ser empregadas como carreadoras no transporte de medicamentos diretamente às células, aumentando dessa forma a eficiência da quimioterapia. Este ácido tem sido avaliado no transporte celular de drogas por nanopartículas em cuja constituição ele se encontra presente<sup>53</sup>, no transporte de peptídeos<sup>54</sup> e no carreamento de compostos de platina ligados a ele<sup>55</sup>.

A literatura registra ainda a complexação de reagentes de organoestânicos contendo radicais di- e trimetilícos através dos átomos de oxigênio hidroxílicos presentes no esqueleto esteroidal deste ácido<sup>56</sup>. Compostos derivados do ácido cólico foram também sintetizados com a finalidade de se explorar a influência desse esteróide na atividade antimalárica<sup>57</sup>.

Neste estudo, seis compostos organoestânicos derivados do ácido cólico foram preparados. Com base na informação de que este ácido pode ser usado no transporte celular de compostos<sup>53-55</sup>, investigou-se seus derivados de Sn(IV) quanto à ação antifúngica em culturas de *Candida albicans*, levedura causadora de micoses sistêmicas e superficiais, *Cryptococcus neoformans*, fungo frequentemente envolvido nos casos de meningoencefalite, também responsável pela criptococose e *Cladosporium*

*sphaerospermum*, fungo agrícola. Tais compostos foram avaliados quanto a citotoxicidade frente a células HEK 293 normais (rim humano) e quanto à biotoxicidade em *Artemia salina*.

A letalidade de organismos simples tem sido utilizada para um rápido e relativamente simples monitoramento da resposta biológica, onde existe apenas um parâmetro envolvido: morte ou vida. O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto, é considerado de grande importância como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica. Um dos organismos que tem sido frequentemente utilizado nestes bioensaios é o microcrustáceo marinho, a *Artemia salina*<sup>58</sup> (Figura 1.3).

A escolha deste bioensaio de toxicidade deve-se ao fato de o experimento ser de fácil realização e baixo custo, não exigindo técnicas assépticas, equipamentos especiais ou treinamento, além de ser de rápida realização (24 h após eclosão dos ovos)<sup>58</sup>. Por possuir tais características este experimento pode ser utilizado para se obter correlações positivas entre a toxicidade sobre este crustáceo e outros ensaios. *A. salina* tem sido usado como modelo biológico para atividade antiplasmoidal<sup>59</sup>, biocida<sup>60</sup>, toxicidade de organofosforados<sup>61</sup>, de compostos orgânicos<sup>62</sup>, na ecotoxicidade<sup>63</sup>, em micotoxinas<sup>64</sup>, na avaliação da toxicidade de compostos carboxilatos derivados de organoestênicos<sup>65</sup> e ainda na avaliação da toxicidade de compostos triorganoestênicos<sup>66</sup>.



Figura 1.3 – *Artemia salina* (aumento: 50 vezes)

Um dos grandes problemas de saúde pública em países de terceiro mundo são as infecções parasitológicas. Dentre os parasitas que atacam o homem estão os nematóides.

*Strongyloides stercoralis* é um importante nematóide patogênico humano, cujas larvas em estágio adulto se concentram no sistema digestivo. A parasitose provocada por ele é denominada estrogiloidíase e apresenta-se distribuída mundialmente, principalmente

em regiões tropicais <sup>67</sup>. Infecções causadas por estes vermes chegam a ser graves ou fatais em pessoas imunodeprimidas <sup>68</sup>. Enquanto muitos pacientes com *Strongyloides* são indivíduos saudáveis, a auto-infecção pode desenvolver-se em hospedeiros que tem a imunocompetência reduzida, levando à hiperinfecção e disseminação pelo corpo <sup>69</sup>.

*Strongyloides stercoralis* não infecta ratos ou outros animais de laboratório, sendo assim, *Strongyloides venezuelensis* (Figura 1.4) é usado como modelo para o estudo da strongiloidíase <sup>67, 70</sup>. Os *Strongyloides* têm a particularidade de alternar ciclos evolutivos completos de vida livre e parasitária, podendo multiplicar-se abundantemente no meio interno e externo ao corpo humano. Seu ciclo biológico pode ser dividido em duas fases principais. A primeira fase é a infecção do hospedeiro e a segunda refere-se à fase de vida livre que se inicia com a liberação de ovos seguida do desenvolvimento das larvas de primeiro estágio (L1) em larvas infectantes (L3) no intervalo aproximado de 7 a 14 dias. Como a literatura não traz referências relacionadas à ação nematicida de compostos organoestânicos em *S. venezuelensis*, optou-se por avaliar o potencial nematicida dos derivados organoestânicos do ácido cólico neste verme.



Figura 1.4 – Larvas infectantes (L3) de *Strongyloides venezuelensis* (aumento: 100 vezes).

Neste trabalho relata-se também a síntese de uma nova base de Schiff, o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, resultante da reação entre o 2,5-tiofenodicarboxaldeído e o ácido aminobenzóico. A reação entre este ácido e haletos diorganoestânicos deu origem a três novos complexos de Sn(IV). A literatura apresenta vários estudos da coordenação de bases de Schiff a compostos organoestânicos com ênfase na potencial atividade biológica <sup>71-84</sup>. Desta forma, optou-se por avaliar o potencial da nova base de Schiff e seus derivados de Sn(IV) nos fungos *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum*. Foram realizados ainda testes de ação leishmanicida em cultura de *Leishmania chagasi* (Figura 1.5), protozoário causador da leishmaniose.

Compostos antimoniais pentavalentes têm representado a principal opção terapêutica para esta enfermidade, sendo utilizados como agentes de primeira escolha para o tratamento da doença<sup>86-88</sup>. A Organização Mundial de Saúde preconiza que as doses de antimoniais não devem ultrapassar 20 mg/kg/dia, não ultrapassando o limite de 850 mg de antimônio<sup>89</sup>, devido a sua elevada toxicidade. Estudos, em diferentes locais, sobre o índice de sucesso após um primeiro ciclo de tratamento (20 dias) com antimoniatos de meglumina é muito variado (26 a 100 %) <sup>88, 90 - 93</sup>. Associado a este índice de eficácia estão ainda os efeitos colaterais freqüentes e graves<sup>85</sup>. Relatos de resistência em algumas formas de leishmania tratadas com antimoniatos pentavalentes<sup>94 - 96</sup> instigam a busca por novos compostos que apresentem atividade satisfatória frente a este parasita. Sendo assim, a obtenção de novos agentes capazes de agir sobre estes protozoários é de grande interesse. Uma vez que é encontrada apenas uma referência sobre a ação de compostos organoestânicos em leishmania<sup>97</sup>, decidiu-se avaliar os derivados organoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico na cultura destes protozoários.

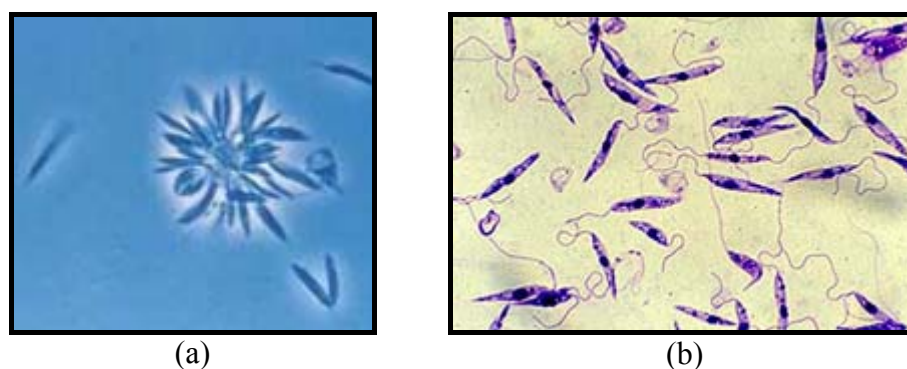


Figura 1.5 - *Leishmania in natura*<sup>70</sup> (a) *Leishmania* corada (b), aumento: 400 vezes.

Esta pesquisa também relata a obtenção de seis compostos organoestânicos inéditos, derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)benzóico, os quais tiveram o potencial biológico avaliado contra fungos e contra o protozoário *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas.

É sabido que infecções fúngicas têm aumentado nos últimos anos, afetando principalmente pacientes com o sistema imunológico deprimido, transplantados, aids e aqueles em tratamento quimioterápico<sup>98</sup>. Entre os medicamentos usados clinicamente para inibição de fungos patogênicos estão os polienos<sup>99</sup> e os azólicos<sup>100</sup>, como os representados na Figura 1.6.

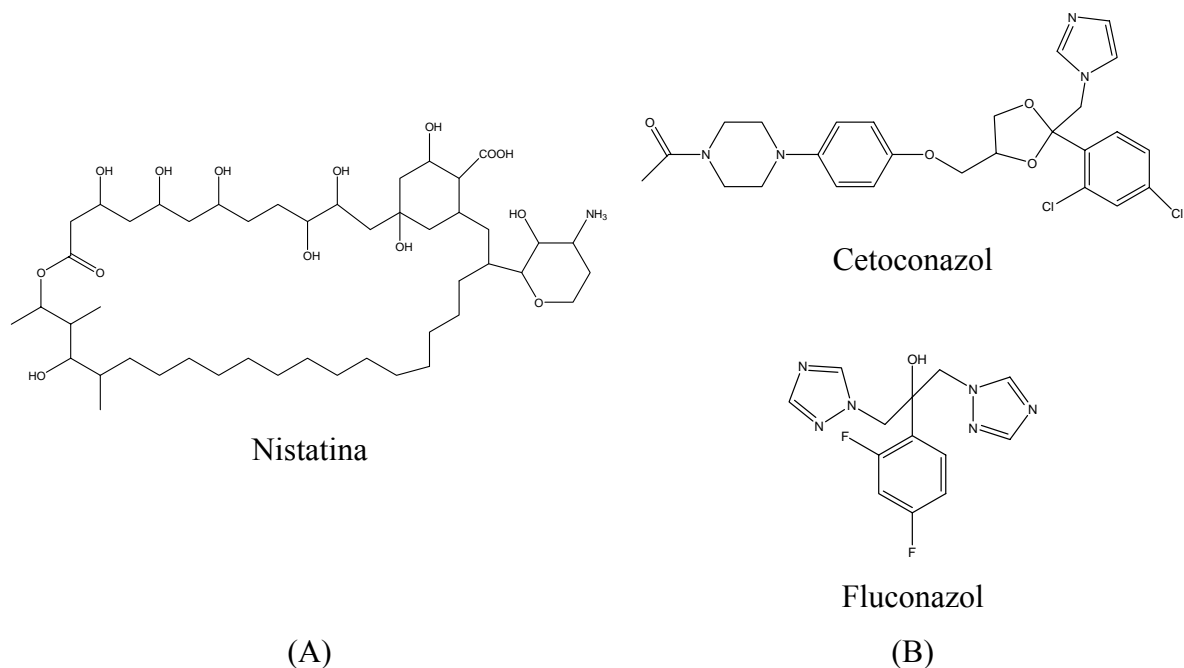


Figura 1.6 – Medicamentos usados clinicamente para inibição de fungos patógenos (A) polienos (B) azólicos.

Fármacos destas classes têm apresentado problemas, tais como o aparecimento de resistência e toxicidade<sup>101</sup>. Tais problemas têm estimulado a busca por novas alternativas. Drogas baseadas em complexos metálicos podem representar um grupo de agentes antifúngicos o qual pode levar a atuação como fármacos. Compostos organoestânicos têm sido relatados na literatura como antifúngicos e antibacterianos promissores<sup>102-108</sup>. Assim, decidiu-se estudar a atividade farmacológica *in vitro* destes complexos frente aos fungos patógenos, *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum* e ainda avaliar a atividade antichagásica *in vivo* do derivado organoestânico dibutílico do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico frente ao protozoário causador da doença de Chagas. Esta é uma infecção transmissível causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Figura 1.7), que circula no sangue e ataca o coração, bem como órgãos do aparelho digestivo. A busca por medicamentos que possam combater o parasita levando à cura vem sendo o objetivo de inúmeros pesquisadores desde a descoberta desta moléstia em 1909. Nesta tentativa, vários compostos têm sido testados, incluindo sais de bismuto, compostos iodados, antimoniais, arsenicais, acridínicos, semicarbazonas, sulfamidas, diamidinas, nitrofuranos, antibióticos, sulfonamidas, quinoleínas, fenantridínicos, piperazínicos, purínicos e imidazólicos<sup>109</sup>. Uma vez que não foram encontradas na literatura referências sobre a avaliação inibitória de

*T. cruzi* por compostos organoestânicos, decidiu-se verificar a ação *in vivo* do derivado 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano neste protozoário.



Figura 1.7 - Formas tripomastigostas de *Trypanosoma cruzi* no sangue.

Além da investigação da atividade farmacológica, um amplo estudo para a caracterização dos novos compostos foi realizado.

Esperamos contribuir com o presente trabalho para uma melhor compreensão do mecanismo de ação de compostos organoestânicos em fungos, bem como ampliar as possibilidades de ação e aplicação destes complexos em nematóides e protozoários.

## 1.2. Referências Bibliográficas

1. Pellerito, L.; Nagy, L.; *Coord. Chem. Rev.* 224 (2002) 111.
2. White, J.S.; Tobin, J.M.; Cooney, J.J.; *Can. J. Microbiol.* 45 (1999) 541.
3. Omae, I.; *Organotin chemistry*, New York, v.21, 1989.
4. Snoeij, N.J.; Penninks, A.H.; Seinen, W.; *Environ. Res.* 44 (1987) 335.
5. Beraldo, H.; de Lima, G.M.; Antifungal activity of organotin compounds. In: *Tin Chemistry – Fundamentals, Frontiers and Applications*. England: John Wiley & Sons, 2008, *in press*.
6. Carcelli, M.; Pelizzi, C.; Mazza, P.; Zani, F.; *J. Organomet. Chem.* 448 (1995) 55.
7. Perez-Rebolledo, A.; de Lima, G.M.; Gambi, L.N.; Speziali, N.L.; Maia, D.F.; Pinheiro, C.B.; Ardisson, J.D.; Cortés, M.E.; Beraldo, H.; *Appl. Organometal. Chem* 17 (2003) 945.
8. Teoh, S.; Ang, S.; Fun, H.; Ong, C.; *J. Organometal. Chem.* 580, (1999) 17.
9. Perez-Rebolledo, A.; Ayala, J.D.; de Lima, G.M.; Marchini, N.; Bombieri, G.; Zani, C.L.; Souza-Fagundes, E.M.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* 40, (2005) 467.
10. Perez-Rebolledo, A.; de Lima, G.M.; Gambi, L.N.; Speziali, N.L.; Maia, D.F.; Pinheiro, C.B.; Ardisson, J.D.; Cortés, M.E.; Beraldo, H.; *Appl. Organometal. Chem.* 17 (2003) 945.
11. Menezes, D.C.; Vieira, F.T.; de Lima, G.M.; Porto, A.O.; Cortés, M.E.; Ardisson, J.D.; Albrecht-Schmitt, T.E.; *Eur. J. Med. Chem.* 40 (2005) 1277.
12. Perez-Rebolledo, A.; de Lima, G.M.; Gambi, L.N.; Speziali, N.L.; Maia, D.F.; Pinheiro, C.B.; Ardisson, J.D.; Cortés, M.E.; Beraldo, H.; *Appl. Organomet. Chem.* 17 (2003) 945.
13. Mishra, A.K.; Manav, N.; Kaushik, N.K.; *Spectrochim. Acta Part A* 61 (2005) 3097.
14. Nath, M.; Jairath, R.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A.; *J. Organometal. Chem.* 690, (2005) 134.
15. Nath, M.; Jairath, R.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A.; *Spectrochim. Acta Part A* 62 (2005) 1179.
16. Chauhan, H.P.S.; Shaik, N.M.; *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 538.
17. Gielen, M.; Biesemans, M.; De Vos, D.; Willem, R.; *J. Inorg. Biochem.* 79 (2000) 139.
18. Tabassum, S.; Pettinari, C.; *J. Organometal. Chem.* 691 (2006) 1761.
19. Jan, C.; Jiann, B.; Lu, Y.; Chang, H.; Su, W.; Chen, W.; Yu, C.; Huang, J.; *Life Sci.* 70 (2002) 1337.

20. Tsangaris, J.M.; Williams, D.R.; *Appl. Organometal. Chem.* 6 (1992) 3.
21. Willem, R.; Dalil, H.; Broekaert, P.; Biesemans, M.; Ghys, L.; Nooter, K.; de Vos, D.; Ribot, F.; Gielen, M.; *Main Group Met. Chem.* 20 (1997) 535.
22. Huber, F.; Roge, G.; Carl, L.; Atassi, G.; Spreafico, F.; Filippeschi, S.; Barbieri, R.; Silvestri, A.; Rivarola, E.; Ruisi, G.; DiBianca, F.; Alonzo, G.; *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1985) 523.
23. Mendes, I.C.; Moreira, J.P.; Ardisson, J.D.; Santos, R.G.; da Silva, P.R.O.; Garcia, I.; Castineiras, A.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* (2007) 1-8 (*in press*).
24. Kovala-Demertzi, D.; Dokorou, V.N.; Jasinski, J.P.; Opolski, A.; Wiecek, J.; Zervou, M.; Demertzis, M.A.; *J. Organometal. Chem.* 690 (2005) 1800.
25. Pellerito, C.; Nagy, L.; Pellerito, L.; Szorcsik, A.; *J. Organometal. Chem.* 691 (2006) 1733.
26. Casini, A.; Messori, L.; Orioli, P.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Willem, R.; *J. Inorg. Biochem.* 85 (2001) 297.
27. Pellerito, L.; Nagy, L.; *Coord. Chem. Rev.* 224 (2002) 111.
28. Barbieri, R.; Silvestri, A.; Piro, V.J.; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1990) 3605.
29. Barbieri, R.; Ruisi, G.; Silvestri, A.; Giuliani, A.M.; Barbieri, A.; Spina, G.; Pieralli, F.; Del Giallo, F.; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1995) 467.
30. Nafisia, S.; Sobhanmaneshb, A.; Esm-Hosseini, M.; Alimoghaddam, K.; Tajmir-Riahi, H.A.; *J. Mol. Struct.* 750 (2005) 22.
31. Hofseth, L.J.; Hussain, S.P.; Harris, C.C.; *Trends Pharmacol. Sci.* 25 (2004) 177.
32. Watanabe, Y.; Shibata, K.; Sugimura, H.; Maekawa, M.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 364 (2007) 289.
33. Cohen, J.J.; *Immunol. Today* 14 (1993) 126.
34. Newmann, W.P.; *The organic chemistry of tin.* London: Interscience, 1970.
35. [www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/](http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/) (11/2007).
36. Bahn, Y.S.; Xue, C.; Idnurm, A.; Rutherford, J.C.; Heitman, J.; Cardenas, M.E.; *Nat. Rev. Microbiol.* 5 (2007) 57.
37. Pellerito, C.; Nagy, L.; Pellerito, L.; Szorcsik, A.; *J. Organomet. Chem.* 691 (2006) 1733.
38. Beltrán, H.I.; Damian-Zea, C.; Hernández-Ortega, S.; Nieto-Camacho, A.; Ramírez-Apan, M.T.; *J. Inorg. Biochem.* 101(2007) 1070.



39. Nath, M.; Pokharia, S.; Eng, G.; Song, X.; Kumar, A.; *Spectrochim. Acta A* 63 (2006) 66.
40. Pellerito, L.; Nagy, L.; *Coord. Chem. Rev.* 224 (2002) 11.
41. Bassett Jr, D.E.; Boguski, M.S.; Spencer, F.; Reeves, R.; Kim, S.; Weaver, T.; Hieter, P.; *Nat. Genet.* 15 (1997) 339.
42. Botstein, D.; Chervitz, S.A.; Cherry, J.M.; *Science* 277 (1997) 1259.
43. Culetto, E.; Sattelle, D.B.; *Hum. Mol. Genet.* 9 (2000) 869.
44. Schneider, D.; *Nat. Rev. Genet.* 1 (2000) 218.
45. Foury, F.; *Gene* 195 (1997) 1.
46. Lander, E.S.; Linton, L.M.; Birren, B. et al.; *Nature* 409 (2001) 860.
47. Zeng, Q.; Morales, A.J.; Cottarel, G.; *Trends Genet.* 17 (2001) 682.
48. Madeo, F.; Engelhardt, S.; Lehmann, E.H.N.; Maldener, C.; Proksch, A.; Wissing, S.; Fröhlich, K.; *Curr. Genet.* 41 (2002) 208.
49. Cardenas, M.E.; Cruz, M.C.; Del Poeta, M.; Chung, N.J.; Perfect, J.R.; Heitman, J.; *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (1999) 583.
50. Hartwell, L.H.; Szankasi, P.; Roberts, C.J.; Murray, A.W.; Friend, S.H.; *Science* 278 (1997) 1064.
51. Diaz, A.N.; Sanchez, F.G; Pareja, A.G.; *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 142 (1998) 27.
52. Hu, X.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Li, Z.; Zhu, X.X.; *Steroids.* 70 (2005) 531.
53. Kim, I.; Kim, S.; *Int. J. Pharm.* 226 (2001) 23.
54. Swaan, P.W.; Hillgren, K.M.; Szoka, F.C.; Oie, S.; *Bioconjugate Chem.* 8 (1997), 520.
55. Paschke, R.; Kalbitz, J.; Paetz, C.; Luckner, M.; Mueller, T.; Schmoll, H.; Mueller, H.; Sorkau, E.; Sinn, E.; *J. Inorg. Biochem.* 94 (2003) 335.
56. Schiesser, C.H.; Skidmore, M.A.; White, J.M.; *Australian J. Chem.* 54 (2001) 199.
57. Opsenica, D.; Pocsfalvi, G.; Juranic, Z.; Tinant, B.; Declercq, J.; Kyle, D.E.; Milhous, W.K., Solaja, B.A.; *J. Med. Chem.* 43 (2000) 3274.
58. Meyer, B.N.; Ferrigni, N.R.; Putnam, J.E.; Jacobsen, L.B.; Nichols, D.E.; *J. Med. Plant Res.* 45 (1982) 31.
59. Wanyoike, G.N.; Chabra, S.C.; Lang'at-Thoruwa, C.C.; Omar, S.A.; *J. Ethnopharmacol.* 90 (2004) 130.
60. Koutsaftis, A.; Aoyama, I.; *Sci. Total Environ.* (2007) *in press*.

61. Venkateswara Rao, J.; Kavitha, P.; Jakka, N.M.; Sridhar, V.; Usman, P.K.; Arch. Environ. Contam. Toxicol. 53 (2007) 227.
62. Cavalcante, M.F.; Oliveira, M.C.C.; Velandia, J.R.; Echevarria, A.; Qui. Nova. 23 (2000) 20.
63. Nunes, B.S.; Carvalho, F.D.; Guilhermino, L.M.; Stappen, G.V.; Environ. Pollut. 144 (2006) 453.
64. Harwing, J.; Scott, P.M.; Appl. Microbiol. 21 (6) (1971) 1011.
65. Shahzadi, S.; Shahid, K.; Ali, S.; Russ. J. Coord. Chem. 33 (2007) 403.
66. Nguyen, H.; Ogwuru, N.; Duong, Q.; Eng, G.; Appl. Organometal. Chem. 14 (2000) 349.
67. Grove, D.I.; Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man. London: Taylor and Francis, 1989.
68. Sato, Y.; Toma, H.; Int. J. Parasitol. 20 (1990) 57.
69. Kinjo, T.; Tsuhako, K.; Nakazato, I.; Ito, E.; Sato, Y.; Koyanagi, Y.; Iwamasa, T.; Int. J. Parasitol. 28 (1998) 323.
70. Li, C.; Lewis, M.R.; Gilbert, A.B.; Noel, M.D.; Scovill, D.H.; Allman, G.M.; Avage, P.B.; Antimicrob. Agents Chemother. 43 (1999) 1347.
71. Pellerito, L.; Nagy, L.; Coord. Chem. Rev. 224 (2002) 111.
72. Mishra, S.; Goyal, M.; Singh, A.; Main Group Met. Chem. 25 (2002) 437.
73. Saxena, A.; Tandon, J.P.; Crowe, A.J.; Polyhedron 4 (1985) 1085.
74. Singh, L.; Varshney, S.; Varshney, A.K.; Appl. Organomet. Chem. 13 (1999) 637.
75. Casas, J.S.; Castineiras, A.; Condori, F.; Couce, M.D.; Russo, U.; Sanchez, A.; Seoane, R.; Sordo, J.; Varela, J.M.; Polyhedron 22 (2003) 53.
76. Collinson, R.S.; Ferton, D.E.; Coord. Chem. Rev. 148 (1996) 19.
77. Gielen, M.; Coord. Chem. Rev. 151 (1996) 41.
78. Pellerito, L.; Nagy, L.; Coord. Chem. Rev. 224 (2002) 111.
79. Crowe, A.J.; Smith, P.J.; J. Organomet. Chem. 244 (1982) 223.
80. Huber, F.; Roge, G.; Carl, L.; Atassi, G.; Spreafico, F.; Filippeschi, S.; Barbieri, R.; Silvestri, A.; Rivarola, E.; Ruisi, G.; Bianca, F.D.; Alonzo, G.; J. Chem. Soc., Dalton Trans. (1985) 523.
81. Gielen, M.; Appl. Organometal. Chem. 16 (2002) 481.
82. Nath, M.; Pokharia, S.; Yadav, R.; Coord. Chem. Rev. 215 (2001) 99.
83. Yang, P.; Guo, M.; Coord. Chem. Rev. 185 (1999) 189.

84. Khoo, L.E.; Xu, Y.; Goh, N.K.; Chia, L.S.; Koh, L.L.; *Polyhedron* 16 (1997) 573.
85. Basano, S.A.; Camargo, L.M.A.; *Rev. Bras. Epidemiol.* 7 (2004) 328.
86. Fundação Nacional de Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: aspectos clínicos, de vigilância epidemiológica e de controle. Ministério da Saúde, Brasília, 1998.
87. Gontijo, B.; Carvalho, M.L.R.; *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical*, 36 (2003) 71.
88. Marsden, P.D.; *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical*, 18 (1985) 187.
89. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Ministério da Saúde, 2 ed., Brasília, 2007.
90. Azeredo-Coutinho, R.B.G.; Mendonça, S.C.F.; *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical*, 35 (2002) 477.
91. Passos, V.A.M.; Barreto, S.M.; Romanha, A.J.; Krettli, A.U.; Volpini, A.C., Gontijo, C.M.F.; Falcão, A.L.; Costa, M.F.F.L.; *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical*, 34 (2001) 5.
92. Saldanha, A.C.R.; Romero, G.A.S.; Merchan-Hamann, E.; Magalhães, A.V.; Macedo, V.O.; *Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical*, 32 (1999) 383.
93. Soto, J.; Toledo, J.; Vega, J.; Berman, J.; *Am. J. Tropical Medicine and Hygiene*, 72 (2005) 421.
94. Passos, V.A.M.; Barreto, S.M.; Romanha, A.J.; Krettli, A.U.; Volpini, A.C., Costa, M.F.F.L.; *Bull. WHO*, 78 (2000) 968.
95. Romero, G.A.S.; *Bull. WHO*, 79 (2001) 1169.
96. Romero, G.A.S.; Guerra, M.V.F.; Paes, M.G., Macedo, V.O., *Clin. Infect. Dis.* 32 (2001) 1304.
97. Raychaudhury, B.; Banerjee, S.; Gupta, S.; Singh, R.V.; Datta, S.C.; *Acta Tropica* 95 (2005) 1.
98. De Pauw, B.E.; *J. Eur. Clin. Microb. and Infect. Dis.* 16 (1997) 32.
99. Abu-Salah, K.M.; *British J. Biomed. Sci.* 53 (1996) 122.
100. Hay, R.J.; *J. Antimicrob. Chemother.* 20 (1987) 1.
101. Kontoyiannis, D.P.; Lewis, R.E.; *Lancet* 359 (2002) 1135.
102. Menezes, D.C.; Vieira, F.T.; de Lima, G.M.; Porto, A.O.; Cortés, M.E.; Ardisson, J.D.; Albrecht-Scmitt, T.E.; *European J. Med. Chem.* 40 (2005) 1277.
103. Ashfaq, M.; Khan, M.I.; Baloch, M.K.; Malik, A.; *J. Organomet. Chem.* 689 (2004) 238.
104. Carcelli, M.; Pelizzi, C.; Mazza, P.; Zani, F.; *J. Organomet. Chem.* 448 (1995) 55.
105. Teoh, S.; Ang, S.; Fun, H.; Ong, C.; *J. Organomet. Chem.* 580 (1999) 17.

106. Garnovskii, A.D.; Nivorozhkin, A.L.; Minkin, V.I.; *Coord. Chem. Rev.* 126 (1993) 1.
107. Costa, P.; Pilli, R.; Pinheiro, S.; Vasconcellos, M.; *Substâncias carboniladas e derivados*. Porto Alegre: Bookman, 2003.
108. Pettinari, C.; Marchetti, F.; Pettinari, R.; Martini, D.; Drozdov, A.; Troyanov, S.; *Inorg. Chim. Acta* 325 (2001) 103.
109. Siqueira-Batista, R.; Corrêa, A.D.; Huggins, D.W.; *Moléstia de Chagas*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1996.

## *Capítulo 2*

### *Parte Experimental*

## **2.1. Métodos Físicos, Analíticos e Espectroscópicos**

### **2.1.1. Ponto de Fusão**

Os pontos de fusão apresentados neste trabalho foram determinados no aparelho Mettler FP90, dotado de célula de aquecimento FP82HT e Microscópio Olympus CH-2 com controlador digital de temperatura (Laboratório de Química Organometálica e de Coordenação do Estanho, Departamento de Química - UFMG).

### **2.1.2. Análise Elementar**

As análises elementares foram realizadas em aparelho Perkin Elmer, modelo CHN - 2400 Elemental Analyser (Departamento de Química - UFMG).

### **2.1.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho**

Os espectros de infravermelho (IV) foram registrados em espectrômetro Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR System. Foram analisados na região de 4000 - 370  $\text{cm}^{-1}$ , em pastilhas de KBr e CsI e em emulsão de Nujol entre janelas de CsI (Departamento de Química – UFMG).

### **2.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{119}\text{Sn}$  em solução foram obtidos com o uso de equipamentos Bruker Advance DRX 400 (400 MHz) e DPX 200 (200 MHz) ambos com tratamento de dados através de transformada de Fourier. Como padrões, foram utilizados tetrametilsilano ( $\text{SiMe}_4$ ) para análise de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  ( $^1\text{H}$ : 400 e 200 MHz;  $^{13}\text{C}$ : 100 e 50,28 MHz;  $\delta=0$ , interno), e tetrametilestanho ( $\text{SnMe}_4$ ) para análise de  $^{119}\text{Sn}$  com 149,21 MHz, usando  $\delta=0$ , como padrão externo, (LAREMAR - Laboratório de Ressonância Magnética, Departamento de Química - UFMG).

### 2.1.5. Espectroscopia Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$

Para os experimentos de Mössbauer foi usada uma fonte de  $^{119}\text{Sn}$  na matriz radioativa de estanato de bário ( $\text{BaSnO}_3$ ), com ressonância a 23,9keV do  $^{119}\text{Sn}$ .

As análises foram realizadas pelo prof. Dr. José Domingos Ardisson, no Centro de Desenvolvimento em Tecnologia Nuclear (CDTN / UFMG) e no Laboratório de Mössbauer do Departamento de Química da UFMG pelo doutorando Márcio Pereira sob a orientação do prof. Dr. José Domingos Fabris.

### 2.1.6. Difração de Raios-X em Monocristal

As determinações estruturais por difração de raios-X de monocristal foram realizadas em Difratorômetro Siemens XSCANS, com o programa de resolução de estruturas SHELX97 <sup>1</sup> e programa de refino de estrutura XSCANS <sup>2</sup>, usando radiação K  $\alpha$  Mo ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ); os gráficos moleculares foram feito com SHELXTL/PC <sup>3</sup>.

As determinações foram realizadas pelo Prof. Dr. Nivaldo Lúcio Speziali (Departamento de Física –UFMG), T. E. Albrecht-Schmitt (Auburn University - USA) e pela Dra. Solange M.S.V. Wardell (Fundação Oswaldo Cruz Far Manguinhos, Centro de Pesquisas René Rachou, RJ).

### 2.1.7. Medidas de Turbidez

O espectrofotômetro utilizado nas medidas da turbidez para determinação da concentração inibitória (IC) dos compostos organoestânicos em *Candida albicans* foi o Espectrofotômetro Spectrumlab 22PC com lâmpada de halogênio – tungstênio 20W/12V, precisão de  $\pm 2\text{nm}$ , pertencente ao Laboratório de Microbiologia e Biomateriais do Departamento de Odontologia – UFMG.

### **2.1.8. Microscopia Eletrônica de Varredura**

As análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em aparelho Zeiss-DSM 950, no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de São Paulo - USP.

### **2.1.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão**

As análises em microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram realizadas em aparelho Zeiss-EM 10, usando o aparato Ultracut E - Sorvall, no Centro de Microscopia Eletrônica (CEMEL) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) - UFMG.

## **2.2. Procedimentos para Avaliação da Bioatividade dos Compostos**

### **2.2.1. Estudo do Potencial Antifúngico**

Foi avaliado o perfil de sensibilidade dos seguintes fungos, *Candida albicans* (ATCC 18804), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 24067.D2) e *Cladosporium sphaerospermum* (ATCC 1740) frente aos compostos organoestânicos bem como seus ligantes orgânicos de partida.

As culturas de *C. albicans* e *C. neoformans* foram crescidas em tubo de ensaio contendo caldo Sabouraud dextrosado (SDB - Biobrás), a 37 °C por 72 h, enquanto *C. sphaerospermum* foi cultivado em meio de cultura BDA (Biobrás), a 25 °C por 72 h.

A avaliação da atividade antifúngica dos compostos organoestânicos foi realizada pelo método de difusão em ágar e a avaliação da concentração inibitória mínima (MIC – concentração capaz de inibir 100 % o crescimento fúngico) foi realizada em microdiluição.

Os ensaios foram realizados seguindo os padrões do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) <sup>4</sup>.

Os ensaios de avaliação da atividade antifúngica foram realizados através da técnica de difusão em ágar por processo de cavidade em placa <sup>5</sup>; o qual consiste na dispersão homogênea de 100 µL de suspensão celular (1-5 x 10<sup>6</sup> UFC / mL; UFC =



unidades formadoras de colônias) dos microorganismos sobre o ágar. Em seguida, foram feitas cavidades cilíndricas de 6 mm de diâmetro, nas quais foram inoculados 50 µL de solução contendo os compostos. As culturas contendo *C. albicans* e *C. neoformans* foram incubadas a 37 °C, por um período de 72 h enquanto *C. sphaerospermum* foi incubado à 25 °C por igual período. Os grupos-controle foram submetidos a tratamento semelhante, usando como controle positivo o medicamento cetoconazol e como controle negativo DMSO. Os ensaios foram realizados em triplicata, o resultado foi determinado pela média dos halos de inibição ± o desvio padrão, sendo considerado como ativo o composto que gerou halo de inibição superior ao diâmetro da cavidade cilíndrica (6 mm).

Determinou-se a concentração mínima inibitória (MIC) dos compostos que apresentaram atividade antifúngica no teste de difusão em ágar frente o fungo *C. albicans*, fazendo uso de uma suspensão celular na concentração de  $1,0 - 5,0 \times 10^3$  UFC / mL, inoculada em poços de placa de microdiluição contendo os compostos organoestânicos em concentrações variando de 32,0 a 0,0313 µg/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h. Como controles foram utilizados soluções de DMSO a 1 e 2 %, o meio de cultura e o medicamento cetoconazol. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Os ensaios foram realizados com a colaboração do doutorando Leonardo Rodrigues, sob a orientação do Prof. Dr. Ary Correa Júnior, no Laboratório de Mecanismos Gerais de Infecções Fúngicas, Instituto de Ciências Biológicas – UFMG.

### **2.2.2. Determinação da Concentração Inibitória**

Experimentos para a determinação da concentração inibitória (IC) foram realizados com pequenas modificações do método descrito na literatura <sup>4</sup>. IC<sub>50</sub> e IC<sub>95</sub> são valores definidos como a concentração mínima de composto exigido para inibir o crescimento de 50 % e 95 % da cultura de fungos a 37 °C. Os compostos foram dissolvidos em DMSO, realizando-se diluições em série consecutivas. Como controle, uma alíquota de 10 µL de DMSO foi adicionada ao meio de cultura. Após 24 h de incubação, os dados foram coletados em espectrofotômetro (absorbância a  $\lambda = 600$  nm).

### 2.2.3. Cultura de *Candida albicans*

Células de *Candida albicans* (American Type Culture Collection - ATCC 18804) foram semeadas em meio líquido e crescidas aerobicamente em caldo Sabouraud dextrosado (SDB) a 37 °C por 24 h.

Suspensões da levedura foram preparadas na concentração de  $10^5 - 10^6$  UFC/mL (unidades formadoras de colônias), determinados pela escala de McFarland. Para os ensaios de concentração inibitória (IC) e para os experimentos de avaliação da viabilidade celular, integridade do DNA e extração de lipídios, as culturas de *C. albicans* foram crescidas em 30 °C, na concentração de  $10^9$  UFC/mL (determinado em câmara de Neubauer) com agitação constante em SDB.

### 2.2.4. Cultura de *Staphylococcus aureus*

Células de *Staphylococcus aureus* (American Type Culture Collection - ATCC 25923) foram crescidas aerobicamente em caldo nutriente (1% peptona; 0,5% extrato de soro bovino; 0,5% NaCl; pH 6,0) e ágar a 37 °C. A suspensão celular usada nos ensaios correspondeu a  $10^5 - 10^6$  mL<sup>-1</sup> de UFC/mL.

### 2.2.5. Cultura dos Microorganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos

Os ensaios para verificar a atividade dos compostos organoestânicos em microorganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos foram realizados pela técnica “pour plate”<sup>6</sup>; a qual consistiu em misturar as soluções dos compostos organoestânicos (em DMSO) ao ágar (SDB). Após solidificação, as células dos microorganismos ( $10^7 - 10^8$  UFC/mL) foram colocadas sobre esse substrato e mantidas a 37 °C por 24 h. Após este período a ação inibitória dos compostos foi verificada através da presença ou ausência do crescimento de microorganismos. Ensaio realizado em triplicata.

Os ensaios foram realizados com a colaboração da doutoranda Karina Teixeira, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Esperanza Cortés, no Laboratório de Microbiologia e Biomateriais do Departamento de Odontologia – UFMG.

### 2.2.6. Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Derivados Organoestânicos do Ácido Aminobenzóico por Difusão em Ágar

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos organoestânicos, realizou-se o ensaio de difusão em ágar, o qual consistiu em adicionar alíquotas de 10 µL de soluções previamente preparadas de todos os compostos sobre discos de papel estéreis, com diâmetro de 6 mm (Cecom) colocado sobre a cultura do microorganismo, crescido sobre 25 mL de ágar em placas de Petri estéreis.

As soluções dos compostos organoestânicos em DMSO foram preparadas nas concentrações de 8,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25 e 0,10 mg/mL. Discos-controle, contendo apenas os solventes foram incluídos. O DMSO foi usado na dissolução dos compostos para avaliação frente a *C. albicans*, enquanto o diclorometano foi usado na dissolução dos compostos para avaliação da atividade em *S. aureus*. Nenhum composto organoestânico descrito no presente trabalho foi solúvel em água; todos apresentaram-se bastante solúveis em DMSO, o qual forneceu halo de inibição de 7 mm, enquanto o diclorometano não apresentou inibição. Assim, zonas de inibição maiores que 7 mm na cultura de *C. albicans* foram consideradas indicativas de atividade antimicrobiana, enquanto foram considerados ativos os compostos que geraram halos de inibição maiores que 6 mm na cultura de *S. aureus*. Os ensaios foram realizados em triplicatas, tendo como controle positivo o medicamento Micostatin (princípio ativo: nistatina).

Os derivados triorganoestânicos foram avaliados fazendo-se uso da técnica “pour plate”<sup>6</sup>. Os compostos triorganoestânicos foram dissolvidos em DMSO e avaliados em triplicata nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3 mg/mL. O medicamento usado como controle na avaliação da atividade dos microorganismos *Gram*-positivos foi o cloridrato de clorexidina e dos microorganismos *Gram*-negativos foi a tetraciclina.

### 2.2.7. Avaliação da Integridade do DNA de *C. albicans*

Este experimento foi executado com o objetivo de se observar eventuais efeitos de apoptose celular através da fragmentação do DNA causados pelos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2(\text{Me})_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ . Células de *C. albicans* foram crescidas em meio de cultura SDB a 30 °C por 18 h em três condições diferentes:

- (a) na ausência de DMSO e dos compostos organoestânicos;
- (b) na presença de 10 µL DMSO;
- (c) na presença de cada composto na concentração de 40 µg/mL.

O meio em cultura, contendo as células crescidas nas 3 condições descritas, foi centrifugado durante 5 min, o sobrenadante foi descartado, e os sedimentos suspensos em 200 µL de tampão de lise (2 % Triton X-100; 1 % dodecilsulfato de sódio; 100 mmol/L NaCl; 10 mmol/L Tris-HCl pH = 8; 1 mmol/L EDTA pH = 8). As amostras foram imersas em nitrogênio líquido por 2 min (duas vezes) e transferidas para um sistema de banho-maria a 95 °C por 1 min. Os sedimentos foram colocados em vórtex por 30 s. Então, 200 µL de clorofórmio foram adicionados e as amostras foram agitadas vigorosamente por 2 min. As misturas foram centrifugadas por 3 min e a fase aquosa foi transferida para tubos contendo 400 µL de etanol gelado. Os precipitados foram incubados durante a noite a -20 °C então, foram centrifugados e lavados com 500 µL de etanol gelado e secos à temperatura ambiente. Finalmente, foram ressuspensos em 10 µL de tampão TE (10 mmol/L Tris-HCl pH = 8 e 1 mmol/L EDTA pH = 8). Alterações na integridade do DNA foram avaliadas pela comparação da migração eletroforética das amostras em gel de agarose 0,8% preparado em tampão TAE (40 mmol/L acetato de tris(hidroximetil)aminometano e 1 mmol/L EDTA) contendo brometo de etídio. Para cada ensaio, 5 µL das suspensões do material genético, contido no tampão de extração, foram misturados de forma homogênea a 5 µL de tampão azul de bromofenol (0,025 mg de azul de bromofenol, 1 mL de glicerol e 1 mL de água destilada) para visualização da corrida eletroforética. Estas soluções foram então pipetadas verticalmente nas canaletas do gel. Uma diferença de potencial de 70 mV foi aplicada sobre o gel durante aproximadamente 30 min e as imagens do padrão de bandas do material genético foram visualizadas sob luz ultravioleta.

Este experimento foi realizado com a colaboração da doutoranda Daniele C. Menezes sob a orientação da profa. Dra. Adlane Vilas Boas, ICB – UFMG.

### **2.2.8. Avaliação da Viabilidade Respiratória das Células Fúngicas**

O teste respiratório foi realizado com o objetivo de se detectar mudanças na capacidade respiratória de células fúngicas induzidas pelos compostos em estudo <sup>7, 8</sup>.

Culturas de *C. albicans* foram crescidas por 24 h a 37 °C na presença dos complexos organoestânicos derivados do ácido aminobenzóico nas concentrações de 10 e 40 µg/mL. A mistura foi centrifugada a  $1,3 \times 10^4$  rpm por 5 min e as células foram ressuspensas em tampão salino de fosfato, PBS, (NaCl: 137 mmol/L; KCl: 2,7 mmol/L; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 10 mmol/L; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 2 mmol/L; pH = 7,4). Cada suspensão celular (100 µL) foi espalhada sobre 15 mL de ágar Sabouraud dextrosado (SDA) em placas de Petri e incubadas por 48 h a 30 °C. Logo após, as amostras foram transferidas para placas de Petri contendo molten-ágar (2% agar; 0,5% glicose e cloreto de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio – TTC – 0,05 % w/v) e crescidos por 24 h a 30 °C. O número de colônias foi contado e expresso como porcentagem em relação ao controle (100%), os resultados foram analisados estatisticamente através do teste-t não-paramétrico com nível de significância de  $P > 0,05$ . As colônias que respiram reduzem o TTC a uma coloração vermelha enquanto as colônias com esta função reduzida não podem fazer esta redução e permanecem brancas (Figura 2.1).

Este experimento foi realizado com a colaboração da doutoranda Daniele C. Menezes sob a orientação da profa. Dra. Adlane Vilas Boas, ICB – UFMG.

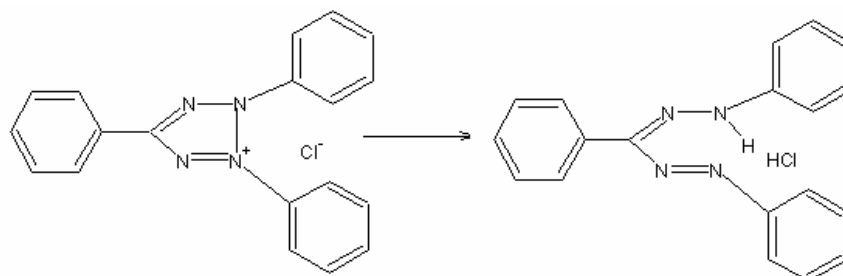


Figura 2.1 – Esquema de redução do TTC

### 2.2.9. Dosagem de Lipídios

O lipídio ergosterol e seu precursor dehidroergosterol foram extraídos das leveduras conforme metodologia descrita na literatura com pequenas alterações<sup>9</sup>. Os derivados organoestânicos do ácido aminobenzóico (na concentração de 40 µg/mL) foram acrescentados às culturas das células crescidas em 2 mL de SDB em agitação contínua a 30°C por 24 h. Uma suspensão da cultura, contendo apenas DMSO foi usada como

controle. As culturas foram transferidas para tubos de ependorfes e centrifugadas por 5 min a  $1,3 \times 10^4$  rpm. As amostras foram lavadas com água destilada, secas à temperatura ambiente e, então foram pesadas. As células resultantes foram ressuspensas em solução alcoólica de hidróxido de potássio a 25 % (25 g de KOH em 35 mL de água destilada estéril e 65 mL de etanol - dando uma densidade celular final de  $1 \times 10^9$  células.cm<sup>-3</sup>). A seguir, foram incubadas a 90 °C por 1 h e então resfriadas até temperatura ambiente, os lipídios foram extraídos ao adicionar 0,5 mL água destilada estéril, 1 mL de n-heptano e colocados em vórtex por 3 min. A camada de n-heptano foi transferida a tubos de ependorfes e permaneceu na temperatura de -20 °C por 24 h. Alíquotas de 2 µL foram diluídas em etanol e analisadas ( $\lambda = 230$  e 281,5 nm). A quantificação dos lipídios foi calculada em percentagem do peso celular, conforme descrito na literatura <sup>9</sup>. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste-t (teste de Student não paramétrico) com nível de significância de  $P > 0,05$ .

Este experimento foi realizado com a colaboração da doutoranda Daniele C. Menezes sob a orientação da profa. Dra. Adlane Vilas Boas, ICB – UFMG.

#### **2.2.10. Avaliação Morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)**

Culturas de *C. albicans* foram crescidas por 24 h a 37 °C, na presença dos compostos organoestânicos derivados do ácido aminobenzóico: [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] nas concentrações de IC<sub>50</sub> de 20,0; 17,5 e 7,5 µg/mL, respectivamente.

O composto [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] também foi empregado na concentração de 20 µg/mL, a qual corresponde a 95 % de inibição. As culturas crescidas na ausência dos compostos foram usadas como controle. As culturas foram centrifugadas a  $3 \times 10^3$  rpm durante 1 min. O primeiro passo no procedimento de fixação das células da levedura na fase estacionária foi em tampão de glutaraldeído 2,5 % com 0,1 mol/L cacodilato de sódio, pH 7,2; a 4 °C por 3 h. O sólido resultante foi lavado em tampão cacodilato 0,1 M e centrifugado, as amostras foram separadas em blocos para análise de MET na mistura com ágar (3%).

Para o experimento de MET as amostras em ágar foram acrescidas de ferrocianeto de potássio e tetróxido de ósmio 1 % durante 30 min a 4 °C. A desidratação das amostras

foi realizada em acetona (30, 50, 70, 90 e 100 %), 10 min em cada concentração. A seguir, as amostras foram infiltradas em resina epon (1:2; 1:1; 2:1, resina: acetona). O processo de polimerização ocorreu depois de 72 h a 65 °C. Seções semi-finas (80 – 90 nm) foram cortadas usando um micrótono (Ultracut E - Sorvall) com lâminas de diamante e fixadas em telas de cobre (300 mesh) contendo acetato de urânio e citrato de chumbo. As seções foram montadas e observadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss-EM10.

Para análises de MEV, as amostras foram colocadas sobre suporte contendo poli-L-lisina, após tratamento prévio descrito. A pós-fixação foi realizada com 1% de tetróxido de ósmio em tampão cacodilato por 30 min, ácido tânico a 1 %. Logo após, as amostras foram desidratadas em solução de etanol, partindo da solução a 30% (30, 50, 70, 80, 90, 95%) mantendo-se o tempo de 10 minutos para cada solução e 100% por dois períodos de 15 min. Então, foram secas a ponto crítico usando dióxido de carbono, foram cobertas com uma camada de ouro em câmara de alto vácuo e, observadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss-DSM 950.

Este ensaio foi realizado sob a orientação da Profª. Dra. Gerluza A. B. Silva, Laboratório de Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Morfologia, ICB - UFMG.

#### **2.2.11. Ensaio de Biotoxicidade sobre *Artemia salina***

Os ensaios de avaliação da biotoxicidade frente à *A. salina* foram realizados de acordo com metodologia descrita na literatura <sup>10</sup>; o qual consistiu no preparo de uma solução marinha artificial, utilizando-se 38 g de sal marinho sintético (Instant Ocean) e 1 L de água destilada. Esta solução foi filtrada e colocada em um pequeno tanque semi-aberto, com luminosidade e aquecimento artificiais, fornecidos por uma lâmpada de 60 watts. Uma porção de ovos de *A. salina* (Maramar) foi colocada neste tanque. Após o período de incubação e eclosão (24 – 48 h), as larvas foram coletadas com pipeta Pasteur, contadas e colocadas em frascos de vidro incolor. Cada frasco recebeu 10 *A. salinas*, uma alíquota da solução contendo o composto organoestânico a ser avaliado juntamente ao meio salino, totalizando um volume de 5,0 mL. Uma vez montado o ensaio, eles foram deixados em repouso sob iluminação e aquecimento artificiais por 24 h. Cessado este tempo, realizou-se a contagem do número de organismos vivos e mortos, sendo determinada a DL<sub>50</sub> (dose letal capaz de matar 50 % dos microcrustáceos).

Os compostos foram dissolvidos em metanol e diluídos em solução salina artificial não excedendo a quantidade 1,0 % deste álcool na solução final. Nesta concentração, o metanol não afetou os organismos. Foram utilizados como grupos-controle, microcrustáceos em meio salino e em solução de meio salino contendo metanol na concentração de 1 %. Foram analisadas soluções dos derivados organoestânicos em concentrações variando de 300 a 1 mg / mL.

Este ensaio foi realizado com a colaboração da doutoranda Ana Paula F. M. Urzedo sob a orientação da profa. Dra. Clésia Nascentes, Laboratório de Química Analítica, DQ – UFMG.

#### **2.2.12. Avaliação do Potencial Nematicida dos Derivados Organoestânicos do Ácido Cólico em *Strongyloides venezuelensis***

Os nematóides utilizados nos experimentos foram isolados inicialmente de *Rattus norvegicus*<sup>11</sup> e mantidos no Departamento de Parasitologia, ICB-UFMG, através de infecções sucessivas em ratos da linhagem Wistar.

Os ensaios foram realizados em larvas nos estágios de desenvolvimento L1 e L3.

A avaliação da atividade nematicida dos compostos organoestânicos frente a larvas de *S. venezuelensis*, no primeiro estágio de maturação (L1) foi realizada em quadruplicata por dois métodos distintos: Harada-Mori e coprocultura.

O método de Harada-Mori<sup>12</sup> consistiu em colocar uma porção previamente quantificada de material fecal, contendo larvas, sobre uma tira de papel de filtro e esta dentro de um tubo de ensaio contendo o meio de cultura. Este ensaio foi realizado para avaliar a morte de larvas após a eclosão e contato com o meio de cultura contendo o composto organoestânico. As culturas foram mantidas à temperatura ambiente por 5 dias, tempo suficiente para que as larvas L1 viáveis eclodissem e se dirigissem para o meio de cultura presente no tubo. Ao final deste período as larvas foram quantificadas sob microscópio.

O método de coprocultura consistiu em misturar fezes contendo ovos do parasita com vermiculita (para manter a umidade), na proporção de 2:1. Posteriormente, adicionou-se 40 µL da solução dos compostos organoestânicos em 4 mL de solução salina (NaCl a 0,85 %). Após homogeneização do material, as culturas foram incubadas em temperatura



ambiente (25 °C) por 5 dias e então as larvas foram recuperadas pelo método de Baermann e quantificadas. Este método baseia-se no hidrotropismo e no termotropismo das larvas e na tendência destas a sedimentar, quando se encontram na água <sup>13</sup>.

Este ensaio foi realizado com os compostos [Me<sub>3</sub>Sn(cho)], [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)], nas concentrações de 1000, 100 e 10 ng / mL.

As larvas infectantes (terceiro estágio de maturação - L3) de *S. venezuelensis* utilizadas nos ensaios foram obtidas através da coleta das fezes de camundongos infectados. As larvas foram isoladas através da técnica de Baermann <sup>7</sup> e então lavadas com solução fisiológica (0,85 % de NaCl) e receberam 100 µL de estreptomicina a 0,05 %, antibiótico usado para eliminar possíveis contaminantes. Após 30 minutos neste meio, as larvas vivas foram contadas em 3 amostras de 10 µL sob microscópio estereoscópio, permitindo uma estimativa do número de larvas presentes na amostra. 10 µL de suspensão contendo estas larvas L3 e 40 µL de solução dos compostos organoestânicos foram adicionados a uma microplaca de cultura contendo 96 poços, adicionou-se a cada poço, 200 µL de meio de cultura RPMI incompleto (sem soro). A placa contendo as larvas em cultura com os organoestânicos foi incubada à temperatura de 34 °C por 48 horas. Os grupos controle foram constituídos por larvas L3 em meio de cultura; larvas L3 em meio de cultura contendo 0,02 % de DMSO e larvas L3 em meio de cultura contendo 40 µL de ivermectina (Chemitec), medicamento de uso veterinário utilizado comercialmente em animais. A viabilidade larvar foi avaliada 24 e 48 horas após a incubação. Foram consideradas viáveis as larvas que apresentaram movimentos após estímulo luminoso (60 watts) por aproximadamente 30 minutos. O ensaio foi realizado em quadriplicata.

O preparo da solução-estoque dos organoestânicos foi realizado a partir da dissolução de 5 mg dos compostos em 0,5 mL de DMSO. A partir desta, foram preparadas por dissolução seriada em solução salina as concentrações de 1000, 100 e 10 ng / mL.

Este ensaio foi realizado com a colaboração do técnico Jéferson Bernardes sob a orientação da profa. Dra. Déborah A. Negrão, ICB – UFMG.

### 2.2.13. Avaliação da Citotoxicidade dos Compostos em Células Humanas – Ensaio de MTT

Para determinação da citotoxicidade dos compostos que apresentaram atividade antifúngica no teste de difusão em ágar, utilizou-se cultura de células HEK 293 (células normais de rim humano) em meio DMEM - Meio de Eagle Modificado por Dulbecco - (Sigma), acrescido de 5% de soro fetal bovino (Cultilab), estreptomicina (0,1 g/L) incubadas em estufa 34 °C e atmosfera de 5 % de CO<sub>2</sub> por 24 h até formação de monocamada em confluência. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados em placas de cultura com 24 poços estéreis. Posteriormente, trocou-se este meio de cultura, DMEM, por RPMI, no qual foram adicionados 100 µL de solução dos compostos [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] e de cetoconazol (controle positivo), em concentrações variando entre 32,0 e 0,031 µg/ml. As placas foram novamente incubadas à 34 °C por 24 h em atmosfera de CO<sub>2</sub> por 24 h. Os controles utilizados foram a cultura das células no meio RPMI e no meio RPMI acrescido de DMSO.

Após este procedimento iniciou-se o ensaio de MTT, o qual consiste na adição de 10 µL de solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltetrazolil-2)2,5-difeniltetrazolio - MTT (Sigma) em 5 mg/mL de tampão salino PBS (134 mM de NaCl, 2,68 mM de KCl e 1,47 de fosfato diácido de potássio e 8,1 mM de fosfato monoácido de sódio, pH 7,4) em cada poço. As placas foram incubadas por 4 h a 34 °C. Após este período o sobrenadante foi removido. Adicionou-se 200 µL de 0,04 M de HCl em isopropanol (o qual solubiliza os sais de formazan formados). Em seguida, as placas foram incubadas por 16 h a 34 °C e submetidas a leitura espectrofotométrica em leitor de ELISA (SpectraMax 190 – Molecular Devices). A densidade óptica foi medida em comprimento de onda de 540 nm. O ensaio foi realizado em quadruplicata e os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste ANOVA e teste Student-Newman-Kewls (P < 0,05).

A relevância desta avaliação está na necessidade da identificação dos compostos que apresentaram boa atividade inibitória e baixa toxicidade humana.

Esta avaliação foi realizada com a colaboração do doutorando Leonardo Rodrigues e do estudante Rafael Elias, sob a orientação do prof. Dr. Ary Correa Júnior, Laboratório de Mecanismos Gerais de Infecções Fúngicas e do prof. Oscar, laboratório de Virologia, ICB – UFMG.

#### 2.2.14. Procedimento para Avaliação da Atividade Antileishmanial

As formas promastigotas do protozoário *Leishmania (leishmania) chagasi*, cepa MCAN/BR/2002/BH 400, foram isoladas de um animal infectado – hamster (*Mesocricetus auratus*) e cultivadas em meio de cultura  $\alpha$ -MEM (*Minimum Essential Medium*, Gibco BRL), pH 7,4; suplementado com 10% de soro fetal bovino estéril inativado (Cultilab), penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (50  $\mu$ g/mL) em estufa à temperatura de  $23 \pm 1$  °C, em frascos Erlenmeyers de 25 mL, com repiques semanais. O número de parasitos foi expandido por meio de repiques sucessivos em Erlenmeyers de 25, 50 e 125 mL, respectivamente.

Para a construção da curva de crescimento dos protozoários frente aos compostos organoestânicos, utilizou-se as concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/L. Os compostos foram diluídos em metanol e adicionados ao meio de cultura, considerou-se como controles as culturas crescidas em meio contendo uma alíquota de metanol (solvente usado para dissolução dos compostos, o qual não afeta o desenvolvimento deste parasita na concentração usada) e ainda culturas contendo o controle positivo, antimoniato de meglumina, nas mesmas concentrações dos compostos testados. O antimoniato de meglumina é o fármaco de primeira escolha para o tratamento das leishmanioses<sup>14</sup>.

As formas promastigotas de leishmania ( $1 \times 10^7$ ) foram inoculadas em 1 mL de meio de cultura contendo os compostos organoestânicos por 9 dias. A cada 24 h de cultivo foram retiradas alíquotas das suspensões, diluídas em solução de Paul (ácido cítrico 0,05 M; NaCl 0,12 M; formaldeído 0,5%; pH 7,2) e quantificadas em câmara de Neubauer com o auxílio de microscópio óptico. A média aritmética de duas contagens foi utilizada para calcular o número de parasitas contidos em 1 mL de cultura. O cálculo foi feito utilizando-se a fórmula:

$$\text{Número de parasitas} = \text{Média dos 4 quadrantes} \times \text{inverso da diluição da amostra} \times 10^4$$

Este ensaio foi realizado pela técnica Soraia sob a orientação da profa. Dra. Maria Norma Melo, Laboratório de Leishmanias, Departamento de Parasitologia, ICB – UFMG.

### 2.2.15. Avaliação *in vivo* da Bioatividade em Camundongos com Doença de Chagas

O objetivo deste estudo foi avaliar a bioatividade do composto organoestânico dibutílico  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{NO}_3)\text{O}]_2$ , *in vivo*, frente às formas tripomastigotas de *Trypanossoma cruzi*, em camundongos *Swiss* infectados experimentalmente.

O composto em questão foi submetido à avaliação da bioatividade *in vivo* segundo o teste de Filardi<sup>15</sup>, o qual consiste na determinação da sensibilidade de cepas de *T. cruzi* a agentes terapêuticos ativos *in vivo* em um curto espaço de tempo (4 - 6 h). Esse teste possibilita a detecção da atividade referente às formas circulantes do parasita.

Nove camundongos *Swiss* machos, pesando entre 18 e 20 g foram inoculados intraperitonealmente com 48000 parasitas na forma tripomastigota sangüínea. Ao pico da parasitemia (7 dias), doses de 250 mg/kg do composto sob investigação e do medicamento controle, o Benznidazol - (N-benzil-2-nitroimidazol-1-acetamida) - foram administrados oralmente aos camundongos. Estes foram divididos em grupos de três: o primeiro destes ingeriu o derivado organoestânico; o segundo grupo recebeu o fármaco Benznidazol, enquanto que o terceiro grupo permaneceu contaminado sem nenhum medicamento.

O número de formas tripomastigotas no sistema sangüíneo foi determinado em intervalos de 0 - 6 h após a administração dos compostos. Determinou-se o número de formas tripomastigotas sangüíneas circulantes pela contagem em câmara de Neubauer de alíquotas de sangue retirado da cauda dos camundongos.

Este ensaio foi realizado pelo técnico Afonso sob a orientação do prof. Dr. Égler Chiari do Laboratório de Doenças de Chagas, Departamento de Parasitologia, ICB – UFMG.

### 2.2.16. Análise Estatística

Os resultados dos ensaios biológicos foram expressos em valores médios  $\pm$  o desvio padrão. Os níveis de significância entre as amostras foram analisados segundo Análise de Variância (ANOVA), seguidos pelo teste de Newman-Keuls (teste de comparações múltiplas) com  $P < 0,05$ .

### **2.2.17. Cálculos semi-empíricos para verificação da estabilidade de confórmeros do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico**

Os cálculos para a verificação da estabilidade no estado gasoso, de confórmeros do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, (C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>), foram realizados a partir da otimização da geometria de ambos os tautômeros, usando o programa Spartan<sup>16</sup>.

### **2.2.18. Screening Biológico Virtual da Interação de Compostos Orgânicos com Alvos Biológicos**

O estudo da interação dos ácidos sintetizados neste trabalho - ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico e ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico - com novos alvos biológicos foi realizado virtualmente utilizando-se o sistema i-BioS - Inverse Biological Virtual Screening<sup>17</sup>, sistema para previsão de alvos biológicos para compostos orgânicos.

Ambos os compostos foram avaliados frente ao sítio ativo de 4100 alvos biológicos (proteínas), 5 % deste montante foi selecionado para análise. Os códigos bem como a nomenclatura das proteínas com maior probabilidade de ação foram relacionados às doenças mais prováveis de acordo com bancos de dados disponíveis<sup>17-20</sup>.

Este screening biológico virtual foi realizado com a colaboração do doutorando Andrelly M. José sob a orientação do Prof. Dr. Júlio César Lopes, DQ - UFMG.

### 2.3. Síntese dos Ligantes e Complexos

A síntese descrita no item 2.3.1 bem como as dos itens 2.3.2 - 2.3.4 foram anteriormente realizadas por outros grupos<sup>21-25</sup>. Os compostos foram sintetizados usando procedimentos similares aos descritos na literatura, a fim de avaliar a atividade biológica quanto ao efeito antifúngico em células da levedura *Candida albicans* e verificar o potencial antimicrobiano frente a microorganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos. Determinação do ponto de fusão e análises elementares confirmaram a identidade dos mesmos.

#### 2.3.1. Síntese da Base de Schiff Derivada do Ácido Aminobenzóico e do Salicilaldeído - Ligante do Composto [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)]

A uma solução metanólica contendo 5,48 g (40 mmol) de ácido aminobenzóico foram gotejados 4,26 mL (40 mmol) de salicilaldeído previamente solubilizado em metanol. A solução resultante permaneceu sob sistema de refluxo por 5 horas. Após este período precipitou-se um sólido de cor alaranjada. Esse material foi filtrado a vácuo e posteriormente lavado com porções de éter etílico. O produto final apresentou-se solúvel em acetona, DMSO, metanol e etanol. O esquema de reação para a obtenção da base de Schiff é descrito na Figura 2.2.

Rendimento: 72 %.

Faixa de fusão: 203 - 204 °C.

Análise Elementar para C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (%):

Calculado: 69,70 C; 4,60 H; 5,81 N

Experimental: 69,50 C; 4,85 H; 5,87 N

Massa molar calculada: 241,24 g/mol

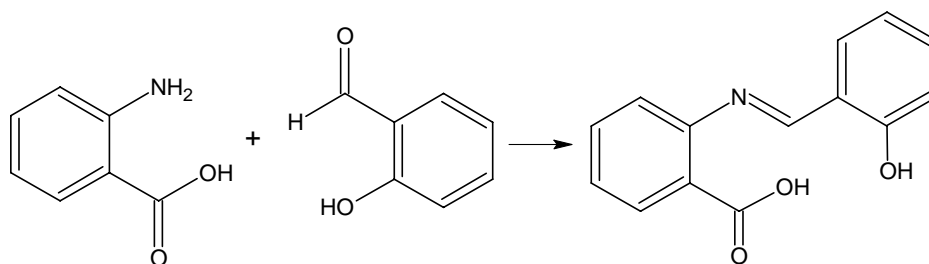


Figura 2.2 - Esquema de síntese da base de Schiff - ligante usado na síntese do composto [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)].

### 2.3.2. Síntese do Derivado Dimetílico do Ácido Aminobenzóico: $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$

A um balão tritubulado, em sistema de refluxo, adicionou-se uma solução etanólica contendo 2,5 g (10,40 mmol) da base de Schiff anteriormente sintetizada. Em seguida, adicionou-se 1,5 mL (10,77 mmol) de trietilamina. Na seqüência, acrescentou-se a esse meio uma solução etanólica contendo 2,28 g (10,40 mmol) de dicloreto de dimetilestanho ( $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$ ). Após alguns minutos, o meio reacional passou a apresentar coloração amarelada com formação de precipitado, sendo mantido sob estas condições por 2 h. Em seguida, filtrou-se e lavou-se o composto com água quente para extração do cloridrato de trietilamina formado. A recristalização foi feita em metanol. O produto obtido apresentou-se solúvel em acetona, diclorometano e dimetilsulfóxido, apresentando solubilidade parcial em metanol e clorofórmio. O esquema da síntese deste composto está representado na Figura 2.3.

Rendimento: 55 %.

Faixa de fusão: 294 - 296 °C.

Análise Elementar para  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_3\text{Sn}$  (%):

Calculado: 49,53 C; 3,90 H; 3,90 N

Experimental: 49,63 C; 3,70 H; 3,70 N

Massa molar calculada: 387,98 g/mol

IV (CsI,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1660 f ( $\nu_{\text{COO}}$ ); 1604 F ( $\nu_{\text{C=N}}$ ); 222 m ( $\nu_{\text{SnO}}$ ).

RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , ppm): 8,8 (1H, s, CH=N), 8,0; 7,9; 7,7; 7,6; 7,5; 7,3; 7,2; 6,7 (H aromáticos); 0,5 (3H,s,  $\text{CH}_3\text{-Sn}$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , ppm): 199,8 (COO); 170,2 (CH=N); 151,1; 137,0; 136,4; 132,4; 131,8; 127,7; 124,2; 122,3; 121,1; 116,6; 116,1; 114,5; 114,1 (C aromáticos); 7,3 ( $\text{CH}_3\text{-Sn}$ ). RMN de  $^{119}\text{Sn}$  (DMSO- $d_6$ , ppm): -328

Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$ :  $\delta = 1,29$  mm/s;  $\Delta = 3,76$  mm/s; área = 100%.

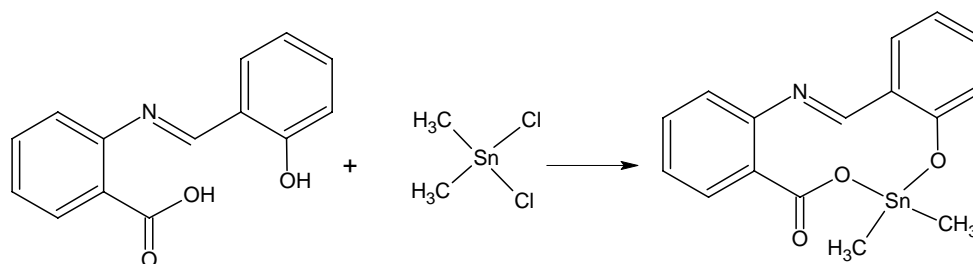


Figura 2.3 - Esquema da reação para obtenção do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ .

### 2.3.3. Síntese dos Derivados Diorganoestânicos do Ácido Aminobenzóico: $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .

Em um balão tritubulado adaptado em montagem sob refluxo, colocou-se uma solução etanólica contendo 3,00 g (21,87 mmol) de ácido aminobenzóico. Em seguida, adicionou-se 2,44 g (21,87 mmol) de tert-butóxido de potássio. Após a mistura entrar em refluxo, adicionou-se 10,90 mmol do reagente dicloreto de diorganoestânico, sendo estes o dicloreto de dimetilestanho(IV), ( $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$ ), e o dicloreto de dibutilestanho(IV), ( $\text{Bu}_2\text{SnCl}_2$ ). A mistura permaneceu sob agitação constante e refluxo por 4 horas. Após este período, houve formação de óleo no produto da reação contendo o  $\text{Bu}_2\text{SnCl}_2$  e formação de precipitado sólido na reação envolvendo o  $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$ . O derivado dibutílico teve o volume reduzido, em rotavapor, a aproximadamente  $\frac{1}{4}$  do volume inicial, foi precipitado em ultrassom com água destilada. Ambos os produtos foram lavados, filtrados e recristalizados. A recristalização foi realizada na mistura dos solventes etanol e água, originando monocristais em ambas as soluções. O esquema da reação é apresentado na Figura 2.4.

As sínteses dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  foram modificadas quanto às condições e aos reagentes de partida. Neste trabalho, a síntese partiu do dicloreto de di-*n*-butilestanho(IV) e do dicloreto de dimetilestanho(IV) e não dos óxidos de di-*n*-butilestanho e dimetilestanho, como descrito na literatura<sup>24, 25</sup>.

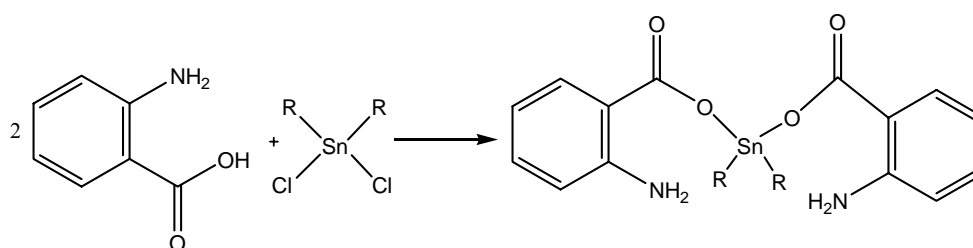


Figura 2.4 – Esquema de síntese dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ , onde R = Me, Bu.

Composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ :

Rendimento: 65 %.

Faixa de fusão: 238 - 240 °C.



Análise Elementar para  $C_{36}H_{50}N_4O_{10}Sn_4$  (%):

Calculado: 36,86 C; 4,30 H; 4,78 N

Experimental: 36,48 C; 4,19 H; 4,93 N.

Massa molar calculada: 1173,21 g/mol

IV (CsI,  $cm^{-1}$ ): 3475-3355m ( $\nu_{NH}$ ); 1616 F ( $\nu_{as\ COO}$ ); 1366 F ( $\nu_s\ COO$ ); 526<sub>as</sub>, 503<sub>s</sub>f ( $\nu_{Sn-C}$ ); 650 m ( $\nu_{Sn-O}$ )

RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ , ppm): 0,98 m; 1,0 m; 6,7 m (aromático); 5,7 s ( $NH_2$ ); 7,3 ( $CH_3$ ); 7,8 ( $CH_3$ ).

RMN de  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , ppm): 175,1 ( $COO$ ); 150,4 ( $C-N$ ); 133,7; 132,7; 116,7; 113,4; 30,1; 16,2 (aromáticos); 7,7 e 10,2 ( $Sn-CH_3$ );

RMN de  $^{119}Sn$  ( $CDCl_3$ , ppm): -190,5; -172,9

Mössbauer de  $^{119}Sn$ :  $\delta = 1,51$  e  $1,37$  mm/s;  $\Delta = 3,72$  e  $1,29$  mm/s; área = 66 e 34%.

Composto [ $Bu_2Sn(abz)_2$ ]:

Rendimento: 80 %.

Faixa de fusão: 114 - 116 °C.

Análise Elementar para  $C_{22}H_{30}N_2O_4Sn$  (%):

Calculado: 52,32 C; 5,99 H; 5,55 N

Experimental: 52,40 C; 6,24 H; 5,29 N

Massa molar calculada: 505.17 g/mol

IV (CsI,  $cm^{-1}$ ): 3464, 3356 m ( $\nu_{NH}$ ); 1623 F ( $\nu_{as\ COO}$ ); 1366 F ( $\nu_s\ COO$ ); 530<sub>as</sub>, 478<sub>s</sub> f ( $\nu_{Sn-C}$ ); 671 m ( $\nu_{Sn-O}$ )

RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ , ppm): 0,8 t (11); 1,2 m (10); 1,4 m (9); 1,7 m (8); 5,7 s ( $NH_2$ ); 6,6 m (5); 6,7 m (4); 7,3 m (6); 8,0 m (3)

RMN de  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , ppm): 177,3 ( $COO$ ); 150,3 ( $C=N$ ); 111,0; 116,3; 116,5; 132,9; 134,5 (aromáticos); 26,7 ( $CH_2-\alpha$ ); 26,3 ( $CH_2-\beta$ ); 25,5 ( $CH_2-\gamma$ ); 13,5 ( $CH_3$ ).

RMN de  $^{119}Sn$  ( $CDCl_3$ , ppm): -151,3

Mossbauer de  $^{119}Sn$ :  $\delta = 1,20$  mm/s;  $\Delta = 3,62$  mm/s; área = 100%.

### 2.3.4. Síntese dos Derivados Triorganoestânicos do Ácido Aminobenzóico: [Me<sub>3</sub>Sn(abz)], [Cy<sub>3</sub>Sn(abz)], [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)] e [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)]

Em uma solução etanólica contida em balão tritubulado, sob refluxo, colocou-se 1,0g (7,29 mmol) de ácido aminobenzóico e 0,81 g (7,29 mmol) de ter-butóxido de potássio. Após a solução entrar em refluxo, adicionou-se 7,29 mmol de cloreto de triorganoestânico, sendo estes o Me<sub>3</sub>SnCl, Bu<sub>3</sub>SnCl, Cy<sub>3</sub>SnCl e Ph<sub>3</sub>SnCl (Me = metil, Bu = butil, Ph = fenil e Cy = ciclohexil). As soluções resultantes permaneceram sob agitação constante nestas condições por 4 h. Após este período, o volume das soluções foi reduzido a aproximadamente ¼ do volume inicial em rotavapor e o sólido foi precipitado adicionando-se água destilada. Os produtos foram filtrados e recristalizados em metanol e água (9:1). O esquema de reação é representado na Figura 2.5.

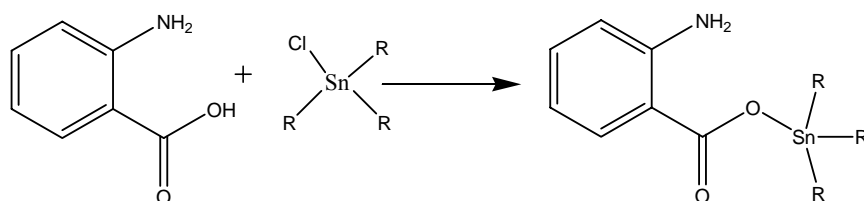


Figura 2.5 – Esquema de síntese dos compostos [Me<sub>3</sub>Sn(abz)], [Cy<sub>3</sub>Sn(abz)], [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)] e [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)], onde R = Me, Cy, Ph e Bu.

Composto [Me<sub>3</sub>Sn(abz)]:

Rendimento: 80 %.

Faixa de fusão: 135 - 136 °C.

Análise Elementar para C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>Sn (%):

Calculado: 40,06 C; 5,04 H; 4,67 N

Experimental: 40,16 C; 5,17 H; 4,72 N

Massa molar calculada: 299,92 g/mol

Composto [Cy<sub>3</sub>Sn(abz)]:

Rendimento: 78 %.

Faixa de fusão: 96 - 98 °C.

Análise Elementar para C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>2</sub>Sn (%):

Calculado: 59,56 C; 7,80 H; 2,78 N

Experimental: 59,63 C; 7,85 H; 2,83 N

Massa molar calculada: 504,26 g/mol

Composto [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)]:

Rendimento: 65 %.

Faixa de fusão: 106 - 108 °C.

Análise Elementar para C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>Sn (%):

Calculado: 61,78 C; 4,35 H; 2,88N

Experimental: 61,76 C; 4,33 H; 2,87 N

Massa molar calculada: 486,12 g/mol

Composto [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)]:

Rendimento: 82 %.

Faixa de fusão: 164 - 167 °C.

Análise Elementar para C<sub>19</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>2</sub>Sn (%):

Calculado: 53,55 C; 7,80 H; 3,29 N

Experimental: 53,02 C; 7,59 H; 3,35 N

Massa molar calculada: 426,15 g/mol

### 2.3.5. Síntese do Derivado Diorganoestânico do Ácido Cólico: [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]

13 mmol (5,38 g) de ácido cólico foram dissolvidos em etanol, sob refluxo. À solução, adicionaram-se 13 mmol (1,8 mL) de trietilamina e logo após, 6,5 mmol (1,44 g) de Me<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub> previamente dissolvidos em etanol. A solução foi mantida em refluxo por 4 h. Então, foi concentrada em rotavapor até aproximadamente ¼ do volume inicial e em seguida o produto foi precipitado com a adição de éter etílico. O produto foi lavado com água quente, para extração do cloridrato de trietilamina e recristalizado em metanol / água.

Rendimento: 73 %

Ponto de fusão: 146 – 148 °C

Análise Elementar para C<sub>50</sub>H<sub>84</sub>O<sub>10</sub>Sn (%):

Calculado: 62,30 C; 8,78 H

Experimental: 62,52 C; 9,07 H

Massa molar calculada: 963,85 g/mol

### 2.3.6. Síntese do Derivado Diorganoestânico do Ácido Cólico: [Bu<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]

Este composto foi preparado conforme procedimento descrito no item anterior, usando 13 mmol (5,38 g) de ácido cólico, 13 mmol (1,84 mL) de trietilamina e 6,5 mmol (2,0 g) de Bu<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>. O produto foi precipitado com adição de acetona.

Rendimento: 64 %

Ponto de fusão: 170 - 180 °C

Análise Elementar para C<sub>56</sub>H<sub>96</sub>O<sub>10</sub>Sn (%):

Calculado: 64,18 C; 9,23 H

Experimental: 64,78 C; 9,57 H

Massa molar calculada: 1048,01 g/mol

### 2.3.7. Síntese do Derivado Diorganoestânico do Ácido Cólico [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]

Este composto foi preparado conforme procedimento descrito no item 2.3.5, usando 13 mmol (5,38 g) de ácido cólico, 13 mmol (1,84 mL) de trietilamina e 6,5 mmol (2,2 g) de Ph<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>. O produto foi precipitado com a adição de água.

Rendimento: 57 %

Ponto de fusão: 210 – 213 °C

Análise Elementar para C<sub>60</sub>H<sub>88</sub>O<sub>10</sub>Sn (%):

Calculado: 66,23 C; 8,15 H

Experimental: 66,40 C; 8,40 H

Massa molar calculada: 1087,99 g/mol

### 2.3.8. Síntese do Derivado Triorganoestânico do Ácido Cólico: [Me<sub>3</sub>Sn(cho)]

2,4 mmol (1,00 g) de ácido cólico foram dissolvidos em etanol, sob refluxo. À solução resultante adicionou-se 2,4 mmol (0,3 mL) de trietilamina e 2,4 mmol (0,5 g) de Me<sub>3</sub>SnCl. A solução foi mantida em refluxo por 4 horas. O volume foi reduzido em rotavapor a aproximadamente ¼ do volume inicial, seguindo a precipitação do produto sólido com a adição de éter etílico. O produto foi filtrado, lavado com água quente, recristalizado em metanol / água.

Rendimento: 55 %

Ponto de fusão: 196 – 198 °C

Análise Elementar para C<sub>27</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub>Sn (%):

Calculado: 56,76 C; 8,47 H

Experimental: 56,67 C; 8,64 H

Massa molar calculada: 571,34 g/mol

### 2.3.9. Síntese do Derivado Triorganoestânico do Ácido Cólico: [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)]

Este composto foi preparado de maneira semelhante à descrita no item 2.3.8, fazendo uso de 2,4 mmol (1,0 g) de ácido cólico, 2,4 mmol (0,35 mL) de trietilamina e 2,4 mmol (1,35 mL) de Bu<sub>3</sub>SnCl. O produto resultante foi precipitado com a adição de acetona.

Rendimento: 61 %

Ponto de fusão: 190 - 193 °C

Análise Elementar para C<sub>36</sub>H<sub>66</sub>O<sub>5</sub>Sn (%):

Calculado: 61,98 C; 9,54 H

Experimental: 62,26 C; 9,69 H

Massa molar calculada: 697,57 g/mol

### 2.3.10. Síntese do Derivado Triorganoestânico do Ácido Cólico: [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)]

O derivado trifenílico do ácido cólico foi sintetizado de modo similar ao descrito no item 2.3.8, onde foram utilizados 7,3 mmol (3,0 g) de ácido cólico, 7,3 mmol (1,0 mL) de trietilamina e 7,3 mmol (2,8 g) de Ph<sub>3</sub>SnCl. O produto resultante foi precipitado com a adição de tolueno.

Rendimento: 67 %

Ponto de fusão: 184 – 187 °C

Análise Elementar para C<sub>42</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>Sn (%):

Calculado: 66,59 C; 7,18 H

Experimental: 66,54 C; 7,27 H

Massa molar calculada: 757,54 g/mol

Todos os produtos resultantes das sínteses entre o ácido cólico e os organoestânicos apresentaram coloração branca, com solubilidade em metanol e DMSO, apresentando-se parcialmente solúveis em clorofórmio, acetona e diclorometano. Foram várias as tentativas de obtenção de monocristal, mas nenhuma foi satisfatória.

Entre os seis compostos trabalhados, os derivados [Bu<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] já haviam sido anteriormente sintetizados e caracterizados<sup>26</sup>. Tais complexos foram preparados a partir do óxido de di-n-butilestanho, acetato de tri-n-butilestanho e hidróxido de trifenilestanho respectivamente. Neste trabalho, os citados compostos foram sintetizados a partir do dicloreto de di-n-butilestanho e dos cloretos de tri-n-butilestanho e trifenilestanho, em procedimentos semelhantes aos descritos na literatura e análises que confirmam a obtenção destes derivados foram realizadas.

O esquema de reação é representado na Figura 2.6.

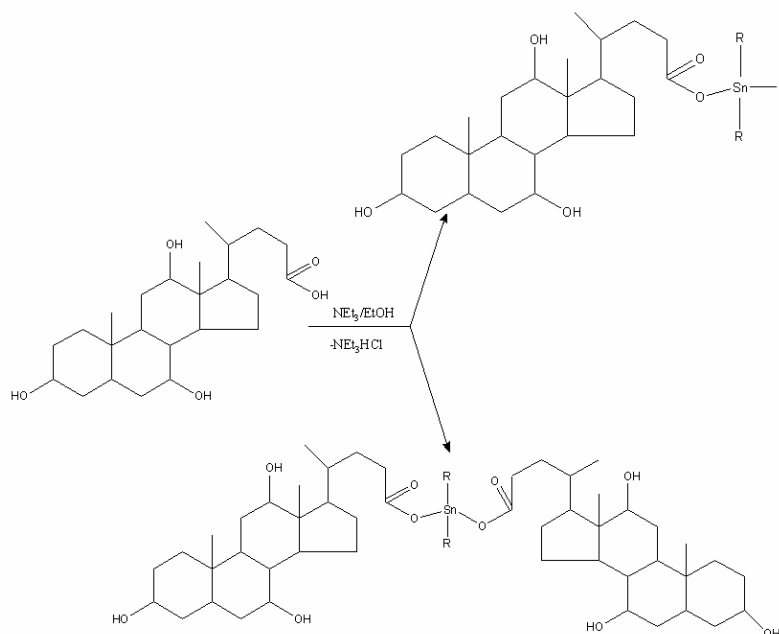


Figura 2.6 – Esquema de síntese dos derivados organoestânicos do ácido cólico (R = Me, Bu, Ph)

### 2.3.11. Síntese do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L)

A uma solução etanólica contendo 13,5 mmol (1,90 g) de 2,5-tiofenodicarboxaldeído foram adicionados 27,1 mmol (3,72 g) de ácido aminobenzóico. Após 15 minutos de reação houve a precipitação de um sólido de coloração amarela. O sistema foi mantido por 2 h em refluxo. O material foi filtrado, lavado com etanol e seco à temperatura ambiente.

O esquema de síntese deste novo ligante está representado na Figura 2.7. A referida substância apresentou-se solúvel, à temperatura ambiente, apenas em DMSO, apresentando-se parcialmente solúvel em DMF, éter etílico e na mistura (1:1:1) dos solventes metanol, acetona e tolueno.

Rendimento: 60 %

Ponto de fusão: 251 – 252 °C

Análise Elementar para C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (%):

Calculado: 63,48 C; 3,73 H; 7,40 N

Experimental: 63,69 C; 3,74 H; 7,63 N

Massa molar calculada: 376,37 g/mol

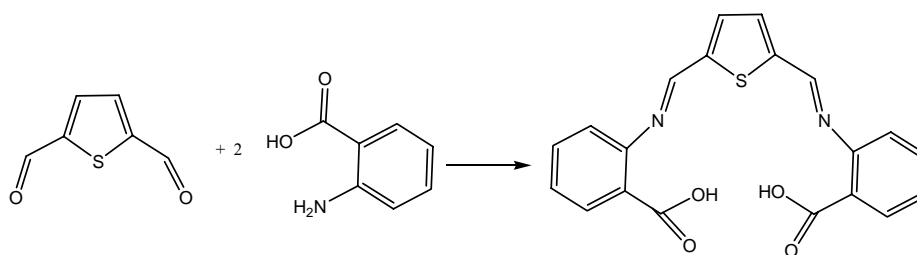


Figura 2.7 - Esquema de síntese para obtenção do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, ( $H_2L$ ).

### 2.3.12. Síntese do Derivado Dimetílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: $[Me_2Sn(L)]$

A uma solução etanólica contendo 2,0 mmol (0,76 g) da base de Schiff ( $H_2L$ ), foram adicionados 4,0 mmol (0,6 mL) de trietilamina. Na seqüência, gotejou-se uma solução etanólica contendo 2,0 mmol (0,45 g) de dicloreto de dimetilestanho ( $Me_2SnCl_2$ ). O volume da solução foi reduzido em rotavapor a aproximadamente  $\frac{1}{4}$  do volume inicial. O produto foi precipitado com água á temperatura ambiente, em seguida acrescentou-se água quente para extração do cloridrato de trietilamina, filtrou-se e lavou-se o produto com porções de acetona e álcool etílico. O composto foi secado em linha de vácuo, dando origem a um produto de coloração amarela, estável ao ar.

Rendimento: 48 %

Ponto de fusão: 219 – 220 °C

Análise Elementar para  $C_{22}H_{18}N_2O_4SSn$  (%):

Calculado: 50,31 C; 3,45 H; 5,33 N

Experimental: 49,35 C; 3,42 H; 5,00 N

Massa molar calculada: 525,13 g/mol



### 2.3.13. Síntese do Derivado Dibutílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: [Bu<sub>2</sub>Sn(L)]

Esta síntese foi realizada com procedimentos semelhantes aos descritos anteriormente, usando-se 2,0 mmol (0,76 g) da base de Schiff (H<sub>2</sub>L), 4,0 mmol (0,6 mL) de trietilamina e 2,0 mmol (0,61 g) de dicloreto de dibutilestanho (Bu<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>).

Rendimento: 50 %

Ponto de fusão: 91 – 93 °C

Análise Elementar para C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>SSn (%):

Calculado: 55,19 C; 4,96 H; 4,60 N

Experimental: 54,61 C; 4,79 H; 4,49 N

Massa molar calculada: 609,29 g/mol

### 2.3.14. Síntese do Derivado Difenílico do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico: [Ph<sub>2</sub>Sn(L)]

Procedimento similar ao descrito no item 2.3.12, foi usado para a síntese do derivado difenílico. A partir de 2,0 mmol (0,76 g) da base de Schiff (H<sub>2</sub>L), 4,0 mmol (0,6 mL) de trietilamina e 2,0 mmol (0,7 g) de dicloreto de difenilestanho (Ph<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>).

Rendimento: 47 %

Ponto de decomposição: 308 °C

Análise Elementar para C<sub>32</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>SSn (%):

Calculado: 59,01 C; 3,71 H; 4,30 N

Experimental: 57,83 C; 3,69 H; 4,23 N

Massa molar calculada: 649,26 g/mol

O esquema de reação é dos diorganoestânicos é representado na Figura 2.8.

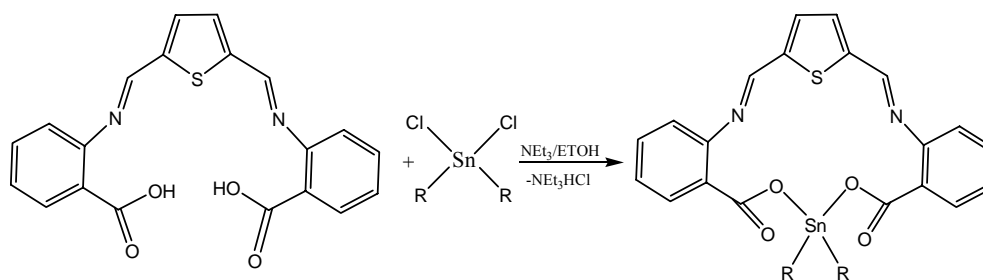


Figura 2.8 - Esquema de síntese para obtenção dos derivados organoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (R = Me, Bu, Ph).

### 2.3.15. Síntese do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico

A síntese do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, (Hboz), foi mencionada na literatura em uma reação de condensação com isopropilideno arilidenomalonato<sup>27</sup>, na qual o composto foi obtido com o rendimento de 37 %. Não foi realizada nenhuma determinação de estrutura de raios-X de monocristal. No presente estudo, ele foi sintetizado de forma diferente da descrita na literatura, obtendo-se o produto com o dobro de rendimento.

O preparo deste ácido foi realizado em um balão volumétrico sob refluxo, no qual colocou-se 0,02 mol (2,74 g) de ácido aminobenzóico dissolvido em 20 mL de metanol. Sobre esta solução foram gotejados 0,02 mol (2,24 g) de 1,3-ciclohexadiona previamente solubilizados em 20 mL de metanol. A mistura reacional foi mantida em refluxo e agitação constante por 4 h, sendo observada mudança na intensidade da coloração da solução. Posteriormente esta solução foi resfriada à temperatura ambiente e seu volume foi reduzido a aproximadamente  $\frac{1}{4}$  do volume inicial em rotavapor. O sólido foi precipitado em acetona, filtrado e lavado com éter etílico, resultando em um produto de cor amarela, solúvel em metanol e DMSO, insolúvel em acetona e éter etílico. O produto foi recristalizado na mistura de metanol e água (9:1) à temperatura ambiente e cristais para análise em difração de raios-X em monocristal foram obtidos. O esquema da reação para obtenção do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico ( $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ ), encontra-se na Figura 2.9.

Rendimento: 75 %

Ponto de fusão: 184,0 – 185,5 °C

Análise Elementar para  $C_{13}H_{13}NO_3$  (%):

Calculado: 67,52 C; 5,66 H; 6,05 N

Experimental: 67,21 C; 5,43 H; 5,96 N

Massa molar calculada: 231,24 g/mol

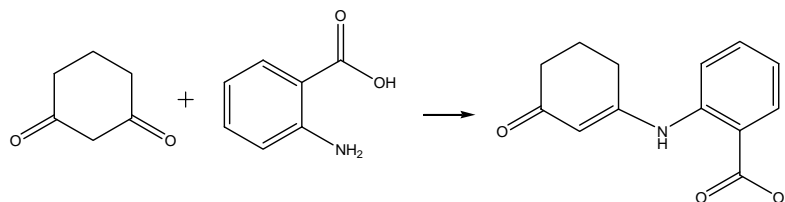


Figura 2.9 – Esquema de síntese do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico ( $C_{13}H_{13}NO_3$ ).

### 2.3.16. Síntese do Derivado Dimetílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: $[Me_2Sn(boz)O]_2$

O derivado organoestânico dimetílico do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico foi sintetizado pela reação entre solução metanólica de 1 g (4,3 mmol) deste composto em balão volumétrico, no qual adicionou-se 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina e 0,48 g (2,2 mmol) de  $Me_2SnCl_2$  em metanol. A solução permaneceu em refluxo por 4 h, em seguida foi concentrada, em rotavapor, a  $\frac{1}{4}$  do volume inicial e precipitada mediante adição de hexano e éter etílico. Os produtos foram lavados com água quente, para extração do cloridrato de trietilamina. Os compostos foram recristalizados em metanol e água (9:1) à temperatura ambiente.

Rendimento: 70 %

Ponto de fusão: 140 – 142 °C

Análise Elementar para  $C_{15}H_{18}NO_4Sn$  (%):

Calculado: 45,61 C; 4,59 H; 3,55 N

Experimental: 45,27 C; 4,39 H; 3,49 N

Massa molar calculada: 394,99 g/mol

### 2.3.17. Síntese do Derivado Dibutílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$

A metodologia para a síntese do derivado dibutílico foi similar a anteriormente descrita, utilizando-se 1 g (4,3 mmol) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina e 0,7 g (2,2 mmol) de  $\text{Bu}_2\text{SnCl}_2$ . O sólido foi precipitado com adição de acetona. O composto foi recristalizado e cristais com qualidade para análise de difração de raios-X foram obtidos.

Rendimento: 72 %

Ponto de fusão: 126 – 128 °C

Análise Elementar para  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{NO}_4\text{Sn}$  (%):

Calculado: 52,64 C; 6,31 H; 2,92 N

Experimental: 52,28 C; 6,10 H; 2,87 N

Massa molar calculada: 479,15 g/mol

### 2.3.18. Síntese do Derivado Difenílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$

A síntese do derivado difenílico seguiu o procedimento semelhante ao descrito no item 2.3.16. Adicionou-se 1 g (4,3 mmol) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina e 0,8 g (2,2 mmol) de  $\text{Ph}_2\text{SnCl}_2$ . O sólido foi precipitado com adição de água.

Rendimento: 65 %

Ponto de fusão: 131 – 133 °C

Análise Elementar para  $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{NO}_4\text{Sn}$  (%):

Calculado: 57,84 C; 4,27 H; 2,70 N

Experimental: 57,48 C; 4,17 H; 2,59 N

Massa molar calculada: 519,12 g/mol

O esquema de síntese para obtenção dos derivados di- e triorganoestânicos é apresentado na Figura 2.10.

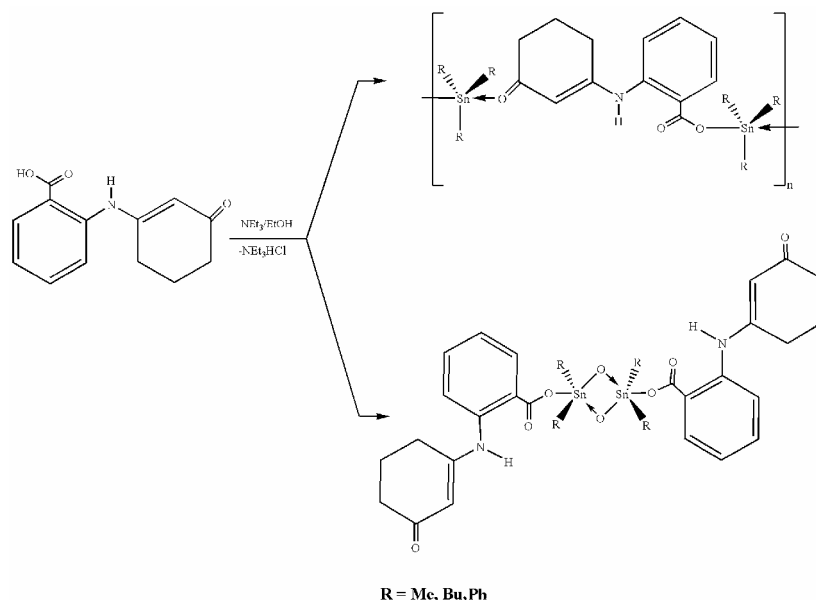


Figura 2.10 – Esquema de síntese dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

### 2.3.19. Síntese do Derivado Trimetílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: [Me<sub>3</sub>Sn(boz)]

A um balão volumétrico acrescentou-se 1,0 g (4,3 mmol) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico dissolvido em metanol, em seguida acrescentou-se 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina. Logo após esta solução entrar em refluxo adicionou-se 0,86 g (4,3 mmol) de cloreto de trimetilestanho (Me<sub>3</sub>SnCl). Após a mistura reacional ser mantida nestas condições por 4 h, seu volume foi concentrado a ¼ do inicial em rotavapor e o precipitado surgiu após a adição acetona. O produto foi lavado com água quente, para extração do cloridrato de trietilamina. O sólido obtido foi recristalizado em metanol e água (9:1) à temperatura ambiente e cristais com qualidade para análise de difração de raios-X foram obtidos.

Rendimento: 72 %

Ponto de fusão: 167 – 170 °C

Análise Elementar para  $C_{16}H_{21}NO_3Sn$  (%):

Calculado: 48,78 C; 5,37 H; 3,56 N

Experimental: 48,41 C; 5,33 H; 3,46 N

Massa molar calculada: 394,03 g/mol

### **2.3.20. Síntese do Derivado Tributílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: $[Bu_3Sn(boz)]$**

Este composto foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita anteriormente no item 2.3.19, fazendo uso de 1,0 g (4,3 mmol) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina e 1,4 g (4,3 mmol) de cloreto de tri-n-butilestanho ( $Bu_3SnCl$ ), o produto foi precipitado com a adição de éter etílico.

Rendimento: 74 %

Ponto de fusão: 179 – 181 °C

Análise Elementar para  $C_{25}H_{39}NO_3Sn$  (%):

Calculado: 57,72 C; 7,56 H; 2,69 N

Experimental: 57,69 C; 7,48 H; 2,54 N

Massa molar calculada: 520,26 g/mol

### **2.3.21. Síntese Derivado Trifenílico do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico: $[Ph_3Sn(boz)]$**

De maneira semelhante à síntese descrita no item 2.3.19, este composto foi produzido. Utilizou-se de 1,0 g (4,3 mmol) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico; 0,6 mL (4,3 mmol) de trietilamina e 1,7 g (4,3 mmol) de cloreto de trifenilestanho ( $Ph_3SnCl$ ). O produto foi precipitado com a adição de éter etílico.

Rendimento: 68 %

Ponto de fusão: 122 – 124 °C

Análise Elementar para  $C_{31}H_{27}NO_3Sn$  (%):

Calculado: 64,18 C; 4,69 H; 2,41 N

Experimental: 64,22 C; 4,54 H; 2,29 N

Massa molar calculada: 580,22 g/mol

## 2.4. Reagentes e Solventes Utilizados

A relação dos principais solventes e reagentes utilizados e suas respectivas origens encontram-se na Tabela 2.1 Os solventes foram utilizados sem prévia purificação ou secagem.

Tabela 2.1 - Relação dos principais solventes e reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho.

Solventes e Reagentes	Origem
Álcool metílico e etílico (P.A.)	Synth
Éter etílico (P.A.)	Synth
Clorofórmio (P.A.)	Merck
Dimetilsulfóxido (P.A.)	Vetec
Acetona (P.A.)	Synth
Trietilamina	Vetec
Dicloreto de difenilestanho(IV)	Aldrich Chemical Company
Dicloreto de dimetil- e dibutilestanho(IV)	Stream Chemical
Cloreto de trimetil-, tributil- e trifenilestanho(IV)	Stream Chemical
Ácido aminobenzóico	Johnson Matthey
Salicilaldeído	Aldrich Chemical Company
Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolium e agarose	Aldrich
Poli-L-lisina	Sigma
Dióxido de carbono	Balzer
Hidróxido de potássio	Synth
Brometo de etídio	Merck
Tert-butóxido de potássio	Acros Organics

---

Continua . . .

---

---

Solventes e Reagentes	Origem
Ácido cólico	Acros Organics
Micostatin (Nistatina)	Cristália Genéricos
Cetoconazol	Galena Química e Farmacêutica
Clorexidina	Aldrich
Tetraciclina	Merck
Ágar Bacto e BDA	Biobrás Diagnósticos
Ágar e Caldo Sabouraud Dextrosado	Biobrás Diagnósticos
Caldo Nutriente Difco e Caldo Mueller Hinton	Biobrás Diagnósticos
MTT	Sigma
NiCl <sub>2</sub>	Alfa Aesar
Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	Vetec
Iodofórmio	Acros Organics
Ivermectina	Ivomec

---

---



## 2.5. Referências Bibliográficas

1. Sheldrick, G. M. (1997). SHELXS97 and SHELXL97. University of Gottingen, Germany.
2. Siemens (1991). XSCANS (Version 5.0). Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
3. Sheldrick, G. M. (1990). SHELXTL/PC. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard-Second Edition. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, Pennsylvania, USA 2002.
5. Bertini, L.M.; Pereira, A.F.; Oliveira, C.L.L.; Menezes, E.A.; Morais, S.M.; Cunha, F.A.; Cavalcanti, E.S.B.; Infarma 17 (2005) 80.
6. Black, J.G.; Microbiologia – Fundamentos e Perspectives. 4 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
7. Berridge, M.V.; Herst, P.M.; Tan, A.S.; Biotechnol. Annu. Rev. 11 (2005) 127.
8. Mosmann, T.; J. Immunol. Methods 65 (1983) 55.
9. Arthington-Skaggs, B.A.; Jradi, H.; Desai, T.; Morrison, C.J.; J. Clin. Microbiol. 37 (1999) 3332.
10. Meyer, B.N.; Ferrigni, N.R.; Putnam, J.E.; Jacobsen, L.B.; Nichols, D.E.; J. Medicinal Plant Research. 45 (1982) 31.
11. Brener, Z.; Chaia, G.; Rev. Brasil. Biol. 20 (1925) 447.
12. Harada, T.; Mori, O.; Yonago; Acta Med (1955) 177.
13. Rey, L.; Parasitologia. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
14. Silva Jr, J.B.; Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 34 (2001)103.
15. Filardi, L. S.; Brener, Z.; Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 79(2), (1984) 221.
16. Spartan 04 Windows: Tutorial and User's Guide, 2003. W., Inc. 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612, USA.
17. <http://www.nequim.qui.ufmg.br/publicações.html> (11/2007)
18. <http://www.rcsb.org/pdb.do> (11/2007)
19. <http://www.geneontology.org/go.doc.shtml> (11/2007)
20. <http://www.brenda.uni-koeln.de/> (11/2007)

21. Chandrasekhar, V.; Day, R.O.; Holmes, J.M.; Holmes, R.R.; *Inorg. Chem.* 27 (1988) 958.
22. Dey, D.K.; Saha, M.K.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Biesemans, M.; Willem, R.; Gramlich, V.; Mitra, S.J.; *J. Organomet. Chem.* 590 (1999) 88.
23. Gielen, M.; Meunier-Piret, J.; Biesemans, M.; Willem, R.; Khloufi, A.E.; *Appl. Organometal. Chem.* 6 (1992) 59.
24. Narula, S.P.; Bhradwaj, S.K.; Sharma, H.K.; Sharda, Y.; Mairesse, G.; *J. Organometal. Chem.*, 415 (1991) 203.
25. Sandhu, G.K.; Verma, S.P.; Moore, L.S.; Parish, R.V.; *J. Organometal. Chem.* 321 (1987) 15.
26. Willem, R.; Dalil, H.; Broekaert, P.; Biesemans, M.; Ghys, L.; Nooter, K.; Vos, D.; Ribot, F.; Gielen, M.; *Main Group Metal Chem.* 20 (8), (1997) 535.
27. Strozhev, M. F.; Lielbriedis, I.; *Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii*, 7 (1990) 947-949.

## *Capítulo 3*

### *Investigação in vitro da Atividade Antimicrobiana de Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico*

### 3.1. Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico

Os compostos organoestânicos sob investigação neste capítulo constituem-se em derivados di- e triorganosubstituídos obtidos a partir do ácido aminobenzóico, sendo o ligante aminobenzoato, aqui simbolizado por (abz), com reagentes de estanho(IV):  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ ,  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ ,  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ ,  $[\text{Cy}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ ,  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  e  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ , Figuras 3.1 e 3.2, os quais foram anteriormente sintetizados e caracterizados por outros grupos <sup>1-5</sup>.

O composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  é ativo *in vitro* frente às linhagens de tumores humanos MCF-7 (tumor mamário) e WiDr (carcinoma de cólon) <sup>6</sup>. No presente capítulo relata-se a investigação do mecanismo de ação dos derivados diorganoestânicos do ácido aminobenzóico em células da levedura *Candida albicans*, ainda não realizado.

A avaliação do potencial antimicrobiano dos derivados triorganoestânicos, frente aos microorganismos Gram-positivos *Enterococcus faecali* (ATCC 14508), *Staphylococcus aureus* (ATCC 27664), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 49456) e frente aos microorganismos Gram-negativos *Agregatium actynomicetemcomitans* (Y4FDC), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 49417), *Eikenella corrodens* (Fundação Oswaldo Cruz, lote 1187109/293), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25589), *Bacterioides fragilis* (INCQ 89968 lote 8389668) e *Prevotella melaninogenicus* (ATCC 24945), também foi investigada por nós. Desta forma, os citados compostos foram novamente sintetizados em procedimentos similares aos descritos na literatura. Determinação do ponto de fusão e análises elementares confirmaram a identidade dos mesmos.

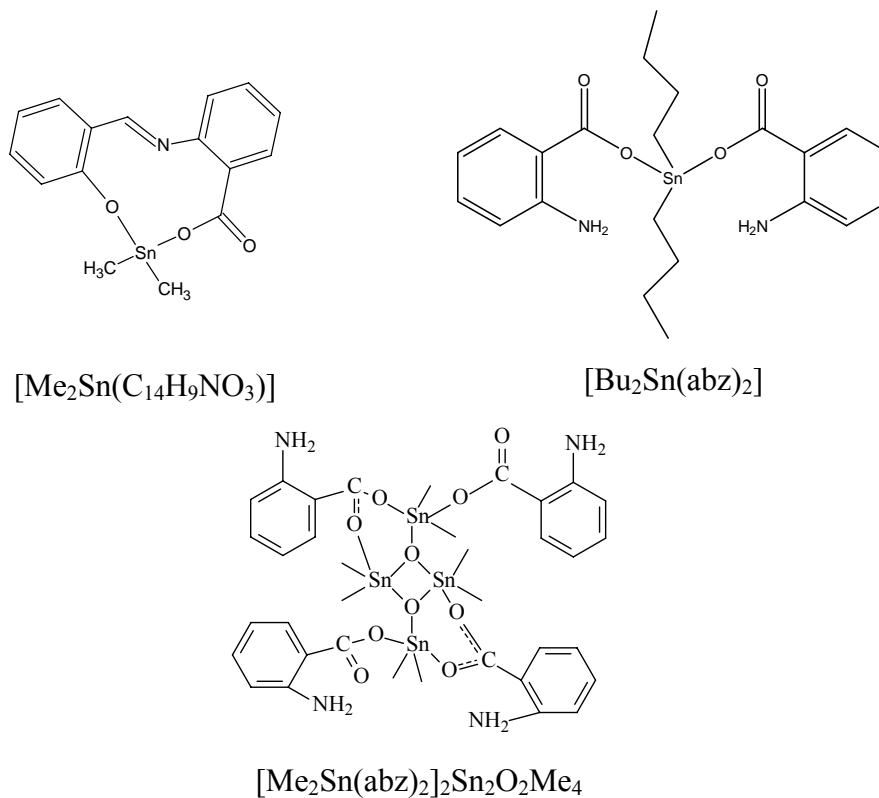


Figura 3.1 – Fórmulas estruturais dos compostos diorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico

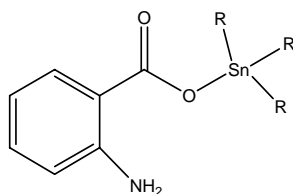


Figura 3.2 – Fórmulas estruturais dos compostos triorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico, R = Me, Bu, Ph, Cy.

### 3.2. Caracterização Complementar dos Compostos Diorganoestânicos $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$

#### 3.2.1. Espectroscopia Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$

Os compostos diorganoestânicos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2(\text{Me})_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  tiveram a caracterização complementada neste trabalho por espectroscopia Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$ , Figuras 3.3 e 3.4.

Os valores de deslocamento isomérico e desdobramento quadrupolar para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ ,  $\delta = 1,51 \text{ mm/s}$ ;  $\Delta = 3,72 \text{ mm/s}$  e  $\delta = 1,37 \text{ mm/s}$ ;  $\Delta = 1,29 \text{ mm/s}$  com 66 e 33 % de área, respectivamente, sugerem a presença de dois centros metálicos com número de oxidação igual a +4 <sup>7</sup>, o que é confirmado mais tarde com o auxílio da difração de raios-X de monocristal.

O desvio isomérico e o desdobramento quadrupolar fornecidos para o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ ,  $\delta = 1,20 \text{ mm/s}$  e  $\Delta = 3,62 \text{ mm/s}$ , respectivamente, sugerem que o átomo de estanho neste composto também possui número de oxidação +4 no estado sólido <sup>8</sup>.

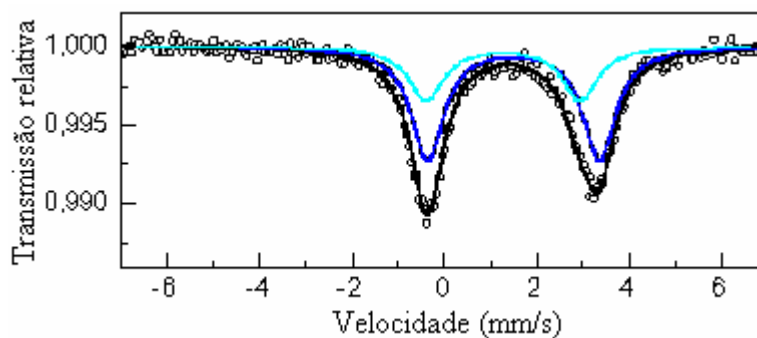


Figura 3.3 - Espectro Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .

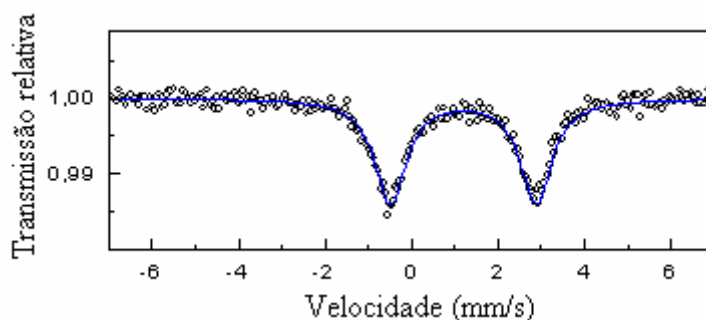


Figura 3.4 - Espectro Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  do composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .

### 3.2.2. Estrutura Cristalográfica de $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$

Embora as sínteses dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  tenham sido planejadas na proporção de dois ligantes orgânicos para um átomo metálico, não foi assim o ocorrido para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . O material foi recristalizado e monocristais, com qualidade para análise por difração de raios-X, foram obtidos da solução etanol / água (9:1).

A estrutura determinada por difração de raios-X está apresentada na Figuras 3.5 (a), as principais distâncias e ângulos de ligação nas Tabelas 3.1 e 3.2. O complexo cristaliza-se no sistema triclinico (P-1), com duas moléculas equivalentes por célula unitária (Z=2), Figura 3.5 (b). A estrutura molecular deste complexo é formada por um anel de quatro membros  $\text{Sn}_2\text{O}_2$ , onde cada átomo de estanho se encontra pentacoordenado em uma geometria bipiramidal trigonal distorcida, com dois grupos metilas e três átomos de oxigênio coordenados assimetricamente; as posições equatoriais são ocupadas por dois grupos metilas e um átomo de oxigênio, dando origem a uma estrutura estanoxânica por célula unitária. Uma das posições axiais é ocupada pelo grupo carboxílico monodentado, Sn1-O3: 2,168(4) Å, a outra é ocupada por este grupo ligado de modo bidentado, Sn1 – O1: 2,324(6) Å.

Os ângulos entre Sn1-O5-Sn2 e O5-Sn2-O2, Tabela 3.2, são próximos a 120° e 180° como esperado para uma bipirâmide trigonal distorcida.

Tabela 3.1 - Distâncias de ligação selecionadas (Å) do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Desvios padrão entre parênteses.

Distâncias			
Sn1-O5	2,005 (3)	Sn2-O5	2,134 (4)
Sn1-O3	2,168 (4)	Sn2-O2	2,261 (6)
Sn1-O1	2,324 (6)	Sn2-Sn2	3,2958 (6)

Tabela 3.2 - Ângulos de ligação selecionados (Å) do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Desvios padrão entre parênteses.

Ângulos			
O5-Sn1-O1	93,2 (2)	O5-Sn2-O5	75,79 (14)
O5-Sn1-O3	80,35 (13)	O5-Sn2-O2	163,7 (2)
O3-Sn1-O1	169,3 (2)	O2-Sn2-Sn2	127,91 (18)
Sn1-O5-Sn2	123,82 (15)		

A Tabela 3.3 apresenta as principais informações técnicas e dados cristalográficos obtidos na resolução da estrutura; as demais informações, tais como comprimento de ligação e ângulos, encontram-se no Anexo I. Estes dados foram depositados no Cambridge Crystallographic Data Centre - CCDC<sup>9</sup>. O aceite encontra-se no Anexo VI.

Tabela 3.3 - Informações técnicas e dados obtidos da estrutura cristalina do composto [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub>

---

Fórmula empírica	C <sub>36</sub> H <sub>49</sub> N <sub>4</sub> O <sub>10</sub> Sn <sub>4</sub>	
Massa molar	1172,55	
Temperatura	193 (2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino	Triclínico	
Grupo espacial	P-1	
Parâmetros de cela	a = 8,7063(7) Å	α = 90,1960(10)°
	b = 14,0697(11) Å	β = 103,3840(10)°
	c = 18,2051(14) Å	γ = 94,677(2)°
Volume	2161,7 (3) Å <sup>3</sup>	
Z	2	
Densidade calculada	1,801 Mg/m <sup>3</sup>	
Coefficiente de absorção	2,340 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	1146	
Tamanho do cristal	2,000 x 0,263 x 0,096	
Varição de θ	1,45 – 28,33°	
Reflexões coletadas	10355	
Método de refinamento	Matriz total mínimos quadrados em F <sup>2</sup>	

---



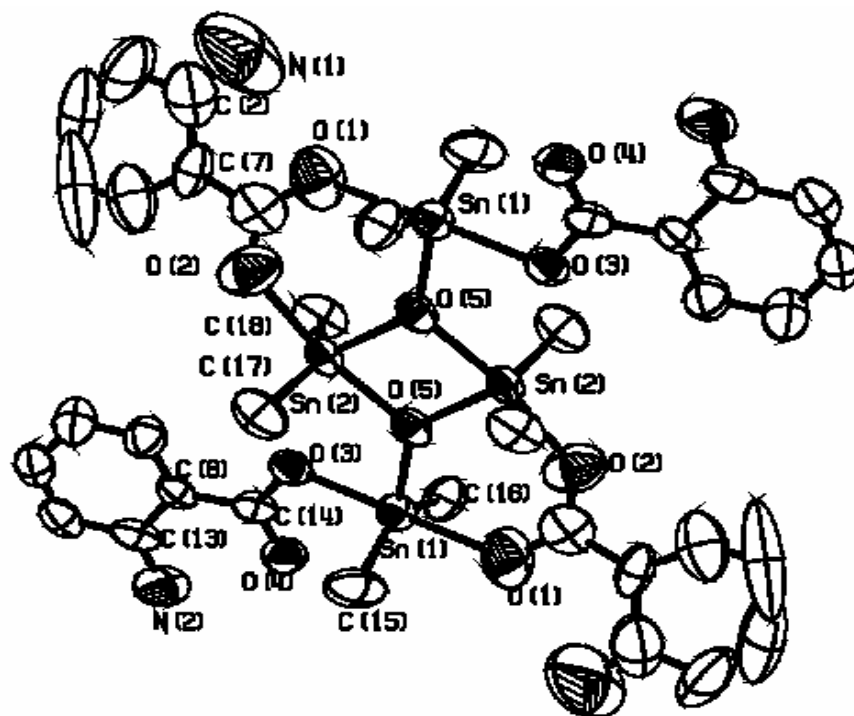


Figura 3.5 – Estrutura molecular determinada por difração de raios-X do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .

### 3.3. Avaliação da Atividade Antimicrobiana dos Compostos Diorganoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico.

#### 3.3.1. Avaliação da Atividade Antimicrobiana

A atividade antibacteriana e antifúngica dos compostos sob investigação foi avaliada em termos de diâmetro de halos de inibição (mm) utilizando o teste de difusão em ágar. Os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  e  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  não foram ativos contra a *S. aureus*, apenas o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  apresentou potencial inibitório frente a esta bactéria, Tabela 3.4.

Na avaliação da atividade antifúngica frente à levedura *C. albicans*, o solvente utilizado (DMSO) não interferiu no desenvolvimento do fungo e todos os compostos apresentaram comportamento semelhante, produzindo zonas de inibição de 10 mm nas concentrações 8,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg/mL, bem menores que o halo produzido pelo medicamento-controle Micostatin (nistatina), 18 mm.

Tabela 3.4 – Valores de halos de inibição (mm) para os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  frente à bactéria *S. aureus* e ao fungo *C. albicans*.

Compostos	<i>S. aureus</i>						
	$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$	*	*	*	*	*	*
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$	*	*	*	*	*	*	*
$[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$	13,0	13,0	13,0	12,0	**	*	*
	<i>C. albicans</i>						
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$	**	**	**	**	**	**	**
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$	**	**	**	**	**	**	**
$[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$	**	**	**	**	**	**	**
Concentração (µg/mL)	8,0	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25	0,125

\* Valores correspondentes a zona de inibição de 7,0 mm.

\*\* Valores correspondentes a zona de inibição de 10,0 mm.

### 3.3.2. Determinação da Concentração Inibitória (IC) contra *C. albicans*.

Todos os compostos diorganoestânicos inibiram o crescimento de *C. albicans*, em solução, na faixa de concentração de 7,5 a 20,0 µg/mL. As concentrações que inibem o crescimento do fungo em 50 % (IC<sub>50</sub>) para os derivados estão descritas na Tabela 3.5.

A concentração que inibe o crescimento fúngico em 95 % (IC<sub>95</sub>) foi de 20,0 µg/mL (39,59 mmol/L) para o composto [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>].

Tabela 3.5 – Concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) para os compostos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>].

Compostos	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (mmol/L)
[Me <sub>2</sub> Sn(C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub> )]	20,0	51,54
[Me <sub>2</sub> Sn(abz) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> Sn <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Me <sub>4</sub>	17,5	14,94
[Bu <sub>2</sub> Sn(abz) <sub>2</sub> ]	7,5	14,84

Observaram-se diferenças na ação inibitória dos compostos de estanho quando em solução (meio líquido) e em ágar (soluções pseudo-sólidas). A literatura infere que há a possibilidade de os compostos organoestânicos não se difundirem bem no ágar, assim como outras drogas, devido à mobilidade estar limitada por interações fracas entre eles e o meio (ágar), sendo requeridas concentrações mais altas para evidenciar atividade <sup>10</sup>.

### 3.3.3. Ensaio da Integridade do DNA

Foi empregado o método descrito na literatura para verificação da degradação do material genético <sup>11</sup>. O DNA foi extraído das leveduras-controle e das leveduras expostas aos compostos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] na concentração de 40,0 µg/mL. Degradação de alto peso molecular no DNA não foi evidenciada pelo método empregado (Figura 3.6). As concentrações usadas não induziram a degradação do DNA das células fúngicas, ou as células foram capazes de sanar o dano dentro do período de tempo do experimento. Este ensaio foi bom o bastante para evidenciar fragmentação do DNA de células expostas a compostos de Cu(II), Mn(II) e

Ag(I) derivados da 1,10-fenantrolina <sup>11</sup>. Porém, para assegurar que os compostos diorganoestânicos em estudo realmente não comprometam o código genético, são necessários métodos mais sensíveis, tal como o teste denominado “comet assay” <sup>12</sup>.

O ensaio de extração de DNA de *C. albicans*, realizado neste trabalho não foi conclusivo para determinar que a atuação dos compostos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] não afeta a integridade da célula em nível de material genético mas, mostrou que estes compostos organoestânicos exibem alguma seletividade e menor toxicidade se comparados a outros compostos metálicos avaliados por análise semelhante, os quais causaram fragmentação no DNA <sup>11, 13</sup>.

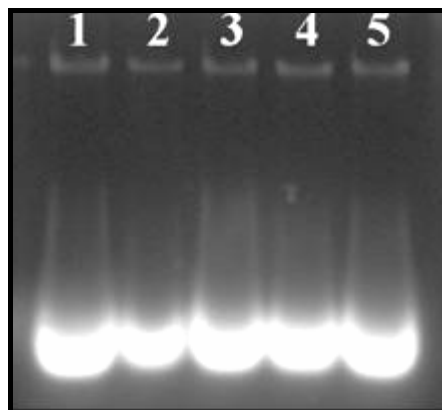


Figura 3.6 – Diagrama de eletroforese mostrando o padrão de bandas do DNA de *C. albicans*. 1: controle, 2: composto [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], 3: composto [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub>, 4: composto [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] e 5: DMSO.

### 3.3.4. Viabilidade Respiratória das Células

A coloração de colônias de *C. albicans* varia entre o amarelo e o branco <sup>34</sup>. Durante o processo de respiração, a glicose é consumida enquanto provoca a redução do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) causando uma mudança na cor das colônias para vermelho <sup>15</sup>. Nenhuma mudança de cor é observada quando agentes externos comprometem a função respiratória, pois as células perdem a habilidade de promover a redução química <sup>16</sup>. Depois de 24 h de exposição aos compostos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>], o número de colônias de *C. albicans* foi contado (Figura 3.7) e expresso como porcentagem em relação ao controle (100%), nas concentrações de 10 e 40 µg/mL

(Tabela 3.6). Os resultados mostram que todos os compostos de estanho exibiram alguma atividade inibitória nestas concentrações. Em seguida, as colônias foram colocadas em placas contendo molten-ágar (2% ágar e 0.5% de glicose) e cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC, 0.05% w/v) disperso na superfície, sendo novamente incubadas a 30 °C durante 24 h. Uma mudança na coloração de branco para vermelho foi evidenciada (Figura 3.8), sugerindo que muitas das células tratadas com os compostos mantiveram a normalidade da função respiratória. Em ambas as concentrações avaliadas, os derivados organoestânicos não interferiram na função mitocondrial de um número significativo de colônias. A literatura relata que os compostos  $[\text{Mn}(\text{phen})_2(\text{mal})\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Ag}_2(\text{phen})_3(\text{mal})\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[\text{Cu}(\text{phen})_2(\text{mal})\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  – mal = ácido malônico, phen = fenilalanina - cisplatina e alguns compostos de paládio causam alterações significantes na captação de oxigênio em células de *C. albicans*<sup>11, 13, 17</sup>. No presente estudo foram observadas mudanças mínimas nesta função, indicando que a toxicidade dos derivados organoestânicos não está relacionada à função respiratória.

O número de colônias foi contado e expresso como porcentagem em relação ao controle (100 %) e os resultados foram estatisticamente analisados por teste-t não paramétrico com nível de significância,  $P > 0.05$ . As colônias que respiram reduzem o TTC a coloração vermelha enquanto as colônias que tem a função respiratória comprometida permanecem na cor branca, Figura 3.8.

Tabela 3.6 – Crescimento de colônias de *C. albicans* em ágar contendo 10 e 40 µg/mL dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ . Contagem das unidades (UFC) seguida do cálculo da porcentagem com relação ao controle.

Controle	DMSO	$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$	$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2$ Sn <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Me <sub>4</sub>	$[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$	Concentrações
126,33±7,09 (100 %)	118,67±1,15 (94 %)	93,67±3,79 (74 %)	86,00±3,61 (68 %)	53,33±3,51 (42 %)	10 µg/mL
		4,33±1,15 (3 %)	3,33±0,58 (3 %)	1,67±0,58 (1 %)	40 µg/mL

A análise qualitativa da coloração das colônias foi realizada após incubação com os compostos diorganoestânicos em questão. A metodologia abordada<sup>13</sup> foi aplicada para compostos metálicos, os quais comprometeram o processo respiratório da levedura *C. albicans*. No referido trabalho, não houve alterações significativas de coloração das colônias em meio aos derivados testados em relação à cultura-controle (células crescidas

na ausência dos compostos) e os resultados positivos obtidos foram confirmados a partir da determinação dos níveis de oxigênio consumido pela levedura durante a respiração celular em meios aos compostos em estudo, tornando a metodologia aplicada confiável<sup>13</sup>. O fato de o aspecto das colônias de *C. albicans* em meio aos compostos diorganoestânicos apresentarem similaridades ao controle utilizado, sugere que estes derivados não causam comprometimento da capacidade respiratória de um número considerável de colônias.

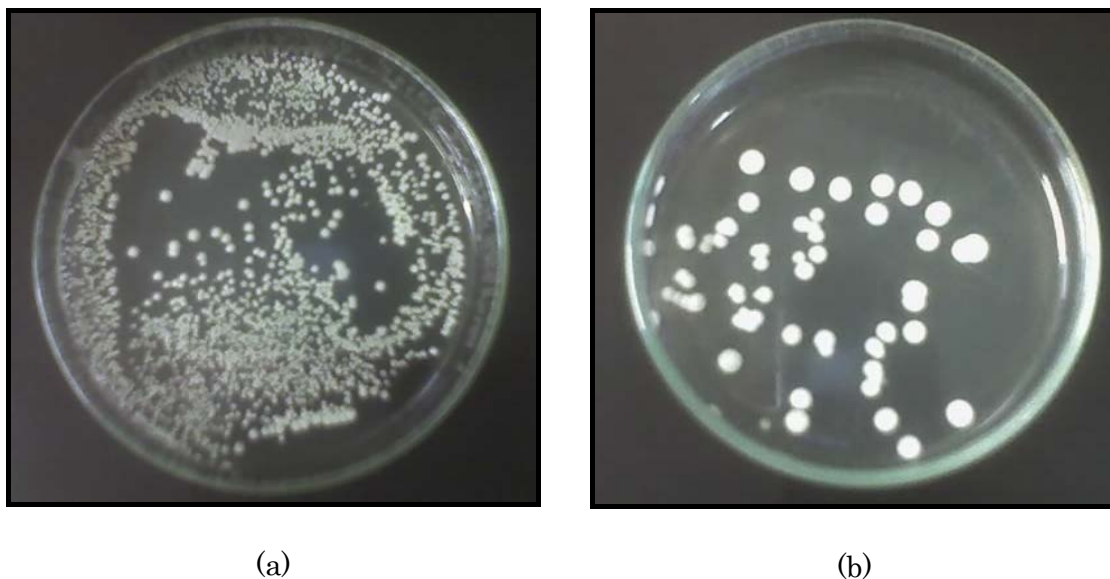


Figura 3.7 – Formação das colônias de *C. albicans* em placas com ágar. (a) Cultura-controle (b) Na presença de 10 µg/mL do composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .



Figura 3.8 – Teste respiratório evidenciando poucas alterações na coloração das colônias de *Candida albicans*, em relação ao controle.

### 3.3.5. Extração de Lipídios

O conteúdo de ergosterol das células-controle e das células tratadas foi determinado e está ilustrado na Figura 3.9. Todos os derivados organoestânicos levaram a um decréscimo do nível de ergosterol da membrana celular, quando comparados ao controle. Os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  e  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  causaram reduções de 35 e 44 %, respectivamente, enquanto o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  reduziu em 76 % este lipídio. Esta é uma evidência da interferência dos compostos avaliados na biossíntese de lipídios. Os resultados foram estatisticamente analisados pelo teste-t não paramétrico (teste não paramétrico de Student) com nível de significância,  $P > 0.05$ .

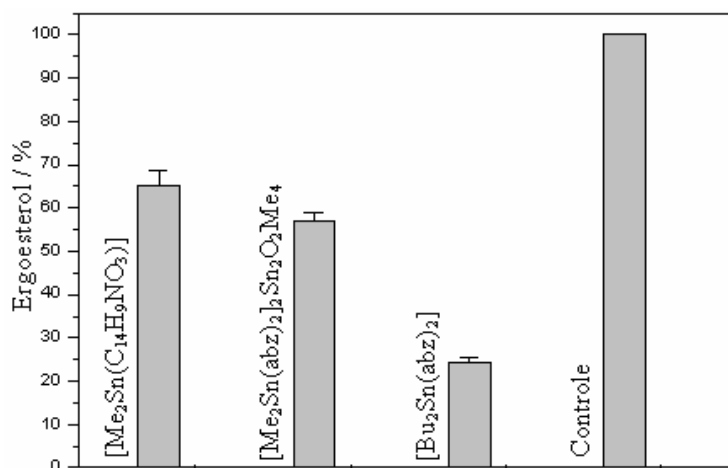


Figura 3.9 – Conteúdo relativo de ergosterol das células fúngicas tratadas com os compostos organoestânicos (40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

### 3.3.6. Avaliação Morfológica das Células Fúngicas por Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV) e de Transmissão (MET)

Os experimentos de MEV e MET foram realizados a fim de investigar a morfologia das células de *C. albicans* previamente expostas aos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ .

Para os estudos de MEV foram empregadas amostras de *C. albicans* expostas a estes compostos nas concentrações que correspondem à  $\text{IC}_{50}$ , Figura 3.10. Um experimento extra de MEV foi realizado com as colônias de *C. albicans* expostas ao composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  na concentração de  $\text{IC}_{95}$ , Figura 3.10 (g).

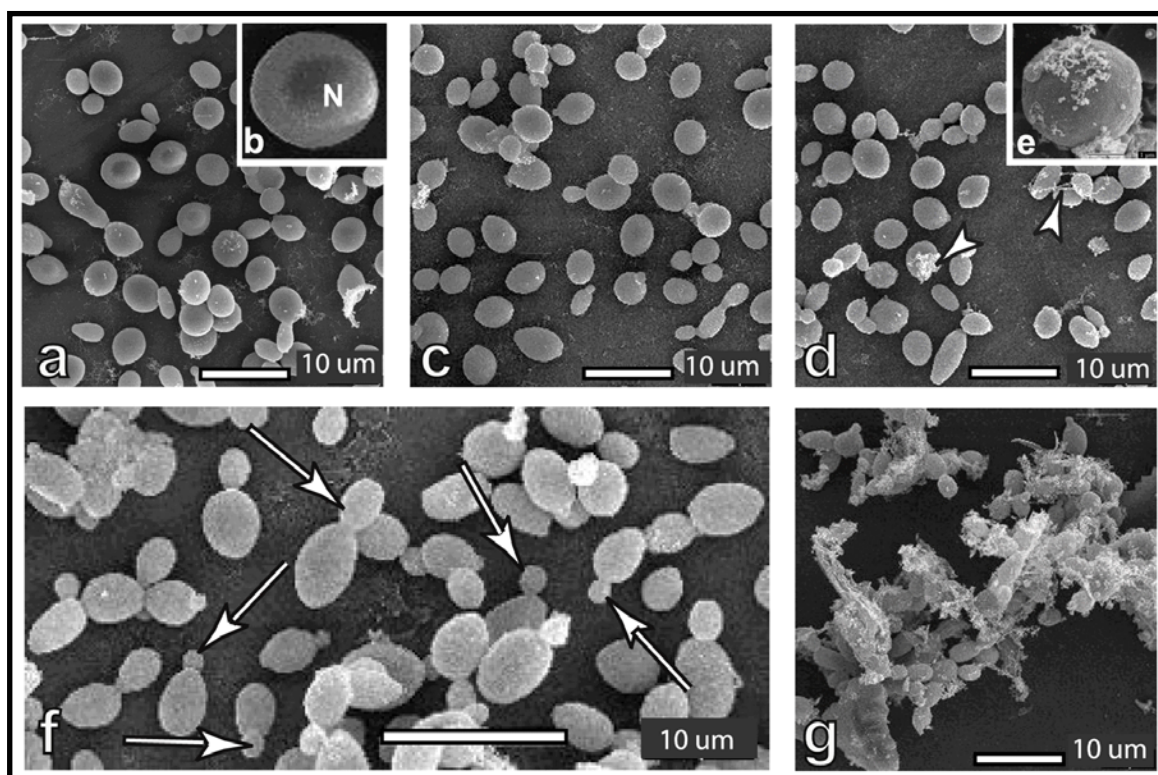


Figura 3.10 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura: (a) Cultura-controle; (b) Projeção do núcleo na superfície celular; (c) Células tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  na  $\text{IC}_{50}$ ; (d) Células tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  na  $\text{IC}_{50}$ ; (e) Detalhe da deposição de resíduos sobre a superfície de células tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  na  $\text{IC}_{50}$ ; (f) Células tratadas com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  na  $\text{IC}_{50}$ . Observe os brotamentos celulares (setas); (g) Células tratadas com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  na  $\text{IC}_{95}$ .



As amostras-controle exibiram aspecto normal, como relacionado na literatura <sup>18</sup>. Elas apresentam a morfologia oval e superfície uniforme <sup>19</sup>, Figura 3.10 (a, b). As imagens de MEV revelaram a projeção do núcleo grande e regular na superfície de algumas células, Figura 3.10 b. As colônias fúngicas submetidas aos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  e  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  apresentaram morfologia semelhante ao grupo-controle (Figura 3.10 c, d, e). Entretanto, a presença de resíduos livres ou conectados a um pequeno número de células tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ , Figura 3.10 d, pode indicar rompimento celular.

Células tratadas com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  apresentaram mais brotamentos quando comparadas àquelas tratadas com  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  e  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ , Figura 3.10 f. Esta análise sugere também, que os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  e  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  não afetaram fortemente a proliferação e crescimento celular. A análise da morfologia das células tratadas com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  na concentração de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $\text{IC}_{95}$ ) mostrou um alto nível de dano celular (Figura 3.10 g), inclusive com extravasamento de material citoplasmático, o que poderia ter sido causado por alterações na permeabilidade da membrana, levando à formação de poros. A liberação de  $\text{K}^+$  e a conseqüente alteração na membrana citoplasmática é apontada por alguns autores como um possível mecanismo de ação para derivados organoestânicos <sup>20-22</sup>. A provável interação dos compostos organoestânicos com esteróis presentes na membrana e uma possível solubilidade lipídica <sup>23, 24</sup>, pode causar alterações no transporte iônico através da mesma levando à formação de poros.

A projeção do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ , Figura 3.11, no eixo o-b, originada a partir dos dados cristalográficos de raios-X do monocristal, evidencia os grupamentos metílicos, os quais podem estar contribuindo para a lipossolubilidade dos compostos organoestânicos e sua atuação na membrana plasmática de microorganismos.

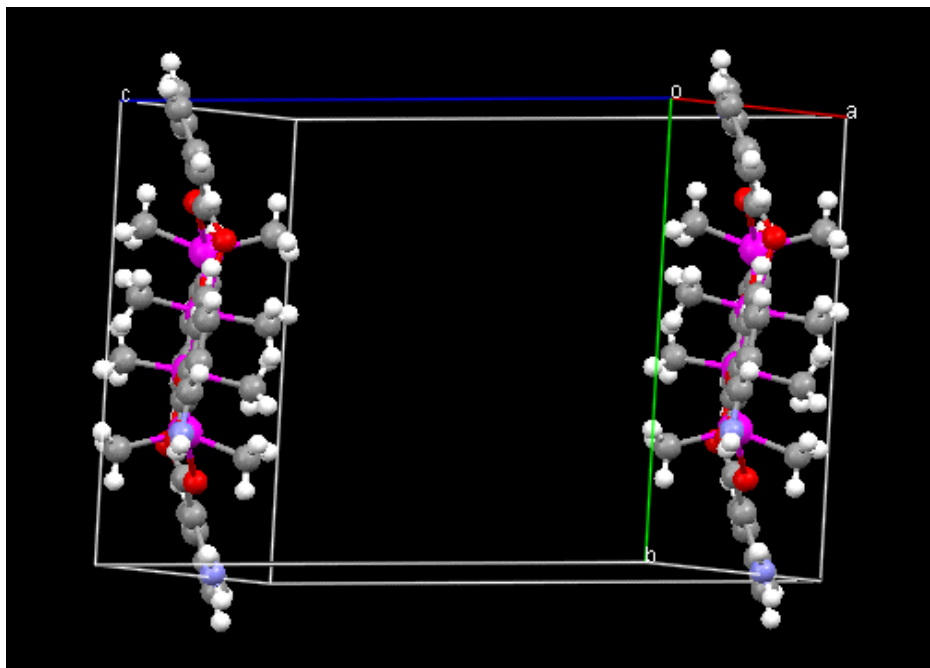


Figura 3.11 – Projeção em “perfil” (eixo o-b) do composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .

As análises por MET tiveram como finalidade a visualização de possíveis danos internos causados nas células fúngicas, ocasionados pelos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ . Seções ultrafinas das células-controle exibiram estrutura normal em termos de citoplasma, membrana celular, Figura 3.12 (a, b) e núcleo, Figura 3.12 (c). Todas as imagens de MET foram obtidas usando amostras expostas aos compostos citados nas concentrações que correspondem a  $\text{IC}_{50}$ .

As imagens de MEV mostram as células expostas aos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  com aspecto interno aparentemente normal; já as análises dos resultados de MET revelaram colônias no limiar da toxicidade com alterações intracelulares significantes. As imagens de MET das culturas de *C. albicans* tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  mostraram que a maioria das células permaneceu preservada. Porém, foram observadas células com algum rompimento citoplasmático, Figura 3.12 (e), e material nuclear irregular, Figura 3.12 (f). Os aspectos internos das células mostrados para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  não diferem muito dos tratados com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ , Figura 3.13 (a – c). Por outro lado, o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ , Figura 3.13 (d – f), produz uma forte deterioração da membrana celular, como apontado pelas imagens de MEV e os testes de ergosterol.

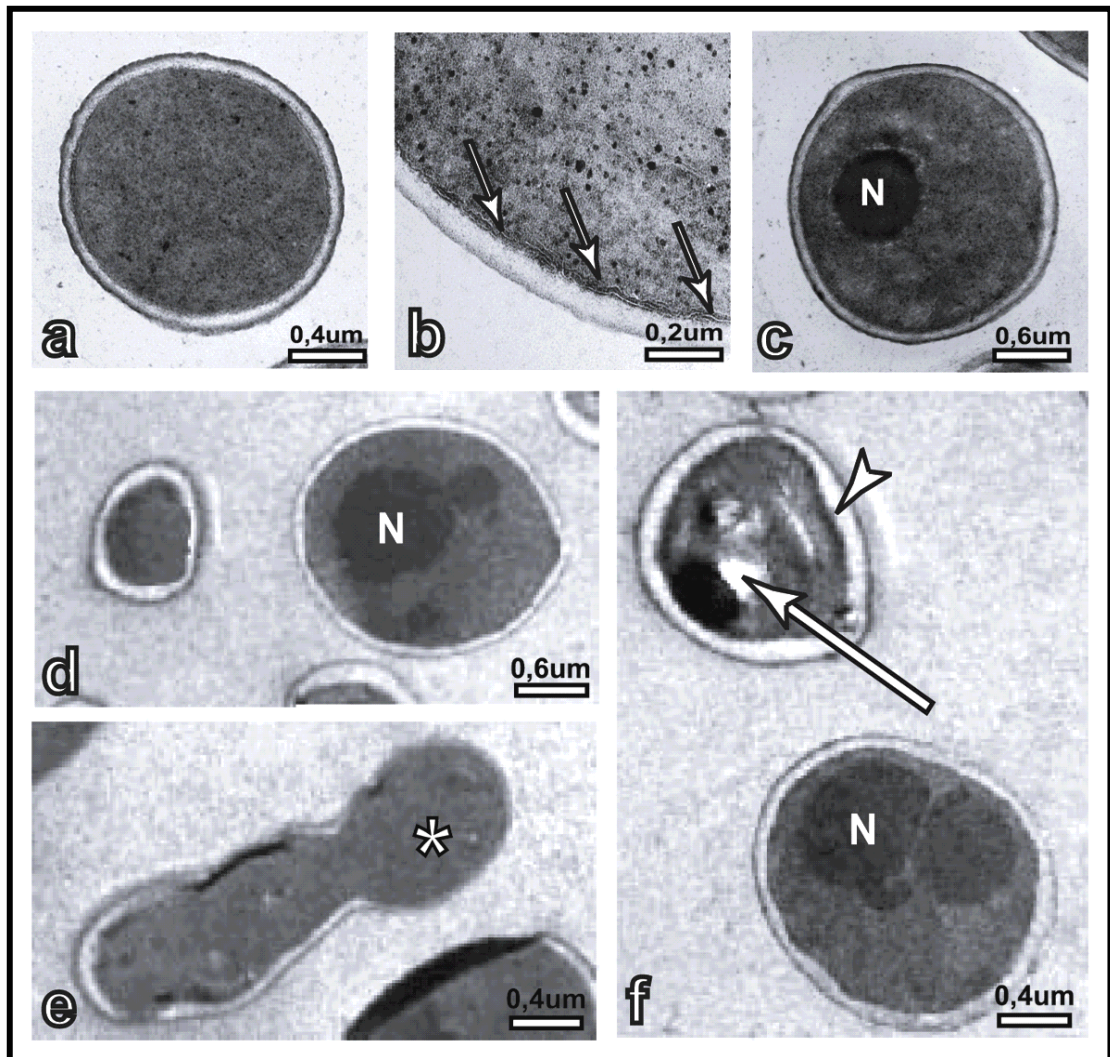


Figura 3.12 – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão. Controle: (a) *C. albicans* em cultura-controle; (b) Parede celular e membrana plasmática dupla; (c) Célula-controle com núcleo evidente. Células expostas ao composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$  na  $\text{IC}_{50}$ : (d) Material nuclear disforme e irregular; (e, f) Células com membrana irregular.

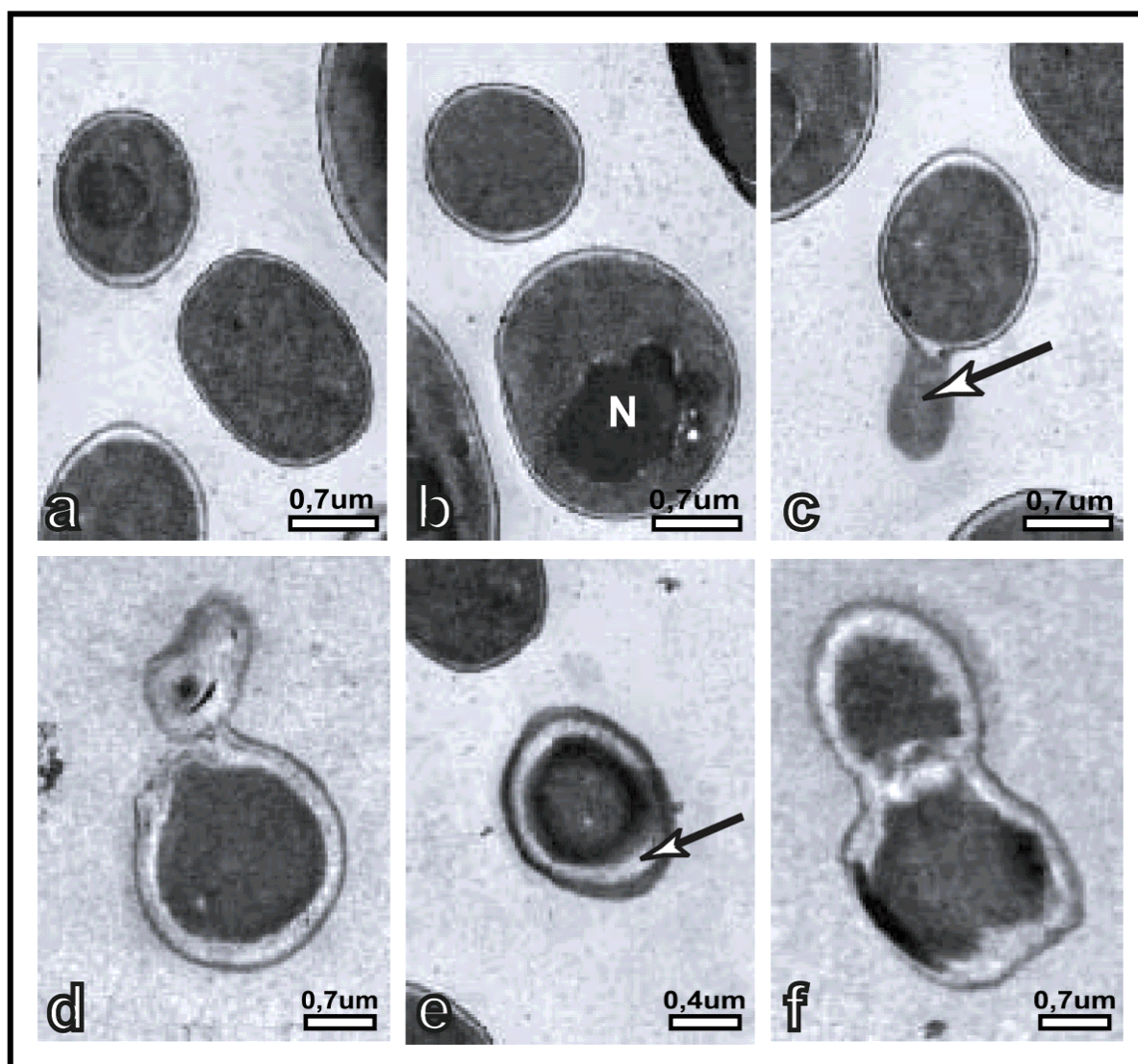


Figura 3.13 – Imagens de microscopia eletrônica de transmissão. Células tratadas com o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  na  $\text{IC}_{50}$ : (a) Células com aspecto normal; (b) núcleos irregulares; (c) Célula com extravasamento do conteúdo celular. Células tratadas com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$ : (e) Células com escoamento do conteúdo citoplasmático; (d, f) Células com membrana irregular.

Um artigo envolvendo o estudo do mecanismo de ação dos compostos diorganoestânicos em células de *Candida albicans* foi aceito para publicação. A carta de aceite e o manuscrito do referido trabalho podem ser encontrados no Anexo VI.

### 3.4. Atividade Antimicrobiana dos Triorganoestânicos Derivados do Ácido Aminobenzóico

Os compostos triorganoestânicos foram avaliados frente a microorganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos, sendo a atividade antimicrobiana avaliada pela presença ou não de colônias de microorganismos presentes nas placas após contato de 48 h com os compostos triorganoestânicos.

Os compostos [Me<sub>3</sub>Sn(abz)], [Cy<sub>3</sub>Sn(abz)], [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)] e [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)] foram dissolvidos em DMSO e avaliados nas concentrações de 300, 200 e 100 µg/mL, em triplicata, Tabela 3.7.

Os compostos [Me<sub>3</sub>Sn(abz)], [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)] apresentaram maior seletividade na inibição do crescimento dos microorganismos. Os compostos [Me<sub>3</sub>Sn(abz)] e [Bu<sub>3</sub>Sn(abz)] mostraram-se ativos frente aos microorganismos *Gram*-negativos, enquanto o composto [Ph<sub>3</sub>Sn(abz)] mostrou-se ativo frente aos microorganismos *Gram*-positivos. Já o composto [Cy<sub>3</sub>Sn(abz)] agiu tanto nos microorganismos *Gram*-positivos quanto nos *Gram*-negativos, não exibindo qualquer seletividade.

Tabela 3.7 – Atividade inibitória dos derivados triorganoestânicos do ácido aminobenzóico em microrganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos.

Microorganismos <i>Gram</i> -positivos	[Me <sub>3</sub> Sn(abz)]				[Cy <sub>3</sub> Sn(abz)]				[Ph <sub>3</sub> Sn(abz)]				[Bu <sub>3</sub> Sn(abz)]			
<i>Streptococcus mutans</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Streptococcus sanguis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Microorganismos <i>Gram</i> -negativos																
<i>Bacterioides fragilis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Agregatium actynomicetemcomitans</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Prevotella melaninogenicus</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Eikenela corrodens</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Concentrações (µg/mL)	0,3	0,2	0,1	0,05	0,3	0,2	0,1	0,05	0,3	0,2	0,1	0,05	0,3	0,2	0,1	0,05

+ Concentração que apresentou inibição de 100 %.

- Concentração que não apresentou inibição.

### **3.5. Referências Bibliográficas**

1. Chandrasekhar, V.; Day, R.O.; Holmes, J.M.; Holmes, R.R.; *Inorg. Chem.* 27 (1988) 958.
2. Dey, D.K.; Saha, M.K.; Gielen, M.; Kemmer, M.; Biesemans, M.; Willem, R.; Gramlich, V.; Mitra, S.J.; *J. Organomet. Chem.* 590 (1999) 88.
3. Gielen, M.; Meunier-Piret, J.; Biesemans, M.; Willem, R.; Khouloufi, A.E.; *Appl. Organometal. Chem.* 6 (1992) 59.
4. Narula, S.P.; Bhradwaj, S.K.; Sharma, H.K.; Sharda, Y.; Mairesse, G.; *J. Organometal. Chem.* 415 (1991) 203.
5. Sandhu, G.K.; Verma, S.P.; Moore, L.S.; Parish, R.V.; *J. Organometal. Chem.* 321 (1987) 15.
6. Khoo, L.E.; Smith, F.E.; *Inorg. Chim. Acta* 53 (1981) L83.
7. Fenton, D.E.; Zuckerman, J.J.; *Inorg. Chem.*, 8 (1969) 1771.
8. Bahn, Y.S.; Xue, C.; Idnurm, A.; Rutherford, J.C.; Heitman, J.; Cardenas, M.E.; *Nat. Rev. Microbiol.* 5 (2007) 57.
9. de Lima, G.M.; Vieira, F.T.; Menezes, D.C.; Albrecht-Schmitt, T.E.; Private Communication for CCDC, 2007, Cambridge. p. 1078 v. <http://www.cam.ccdc.ac.uk>. Accepted.
10. Menezes, D.C.; de Lima, G.M.; Oliveira, G.S.; Vilas Boas, A.; Nascimento, A.M.A.; Vieira, F.T.; *Main Group Metal Chem.* 2007. Accepted.
11. Coyle, B.; Kinsella, P.; McCann, M.; Devereux, M.; O'Connor, R.; Clynes, M.; Kavanagh, K.; *Toxicol. in Vitro* 18 (2004) 63.
12. Fairbairn, D.W.; Olive, P.L.; O'Neil, K.L.; *Mutation Research* 339 (1995) 37.
13. Coyle, B.; Kavanagh, K.; McCann, M.; Devereux, M.; Geraghty, M.; *BioMetals* 16 (2003) 321.
14. Eggimann, P.; Garbino, J.; Pittet, D.; *Lancet Infect. Dis.* 3 (2003) 685.
15. Reeves, E.; Kavanagh, K.; Whitaker, P.A.; *Biomed. Lett.* 46 (1991) 253.
16. Kontoyiannis, D.P.; Lewis, R.E.; *Lancet* 359 (2002) 1135.
17. Moussa, N.M.; Ghannoum, M.A.; Whittaker, P.A.; El-Ezaby, M.S.; Quraman, S.; *Microbios* 62 (1990) 165.
18. Osumi, M.; *Micron* 29 (1998) 207.

19. Goldman, G.H.; Ferreira, M.E.S.; Marques, E.R.; Savoldi, M.; Perli, D.; Park, S.; Martinez, P.C.G.; Goldman, M.H.S.; Colombo, A.L.; *Infect. Dis.* 50 (2004) 25.
20. Tobin, J.M.; Cooney, J.J.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36 (1999) 7.
21. White, J.S.; Tobin, J.M.; *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 3877.
22. White, J.S.; Tobin, J.M.; *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (2004) 445.
23. Laurence, O.S.; Cooney, J.J.; Gadd, G.M.; *Microb. Ecol.* 17 (1989) 275.
24. White, J.S.; Tobin, J.M.; Cooney, J.J.; *Canadian J. Microbiol.* 45 (1999) 54.



## *Capítulo 4*

# *Síntese, Caracterização e Avaliação da Bioatividade de Compostos Organoestênicos Derivados do Ácido Cólico*

#### 4.1. Caracterização dos Compostos Organoestânicos Derivados do Ácido Cólico

Os compostos  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  já haviam sido previamente caracterizados por outros autores <sup>1</sup>, já os derivados  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  são inéditos, estão sendo descritos e caracterizados pela primeira vez.

##### 4.1.1. Análise Elementar

A composição estequiométrica dos compostos originados das reações entre os organoestânicos e o ácido cólico foi confirmada pelos resultados das análises elementares.

##### 4.1.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A interpretação dos espectros dos compostos organoestânicos derivados do ácido cólico na região do infravermelho foi feita através de comparações das principais absorções do ligante livre às de seus derivados organoestânicos. Foram observadas pequenas variações no deslocamento da banda referente ao grupo carbonílico e o surgimento de bandas com intensidades fracas, as quais foram atribuídas à absorção de vibrações Sn-O e Sn-C.

As principais bandas de absorção do ácido cólico e seus derivados organoestânicos estão na região da frequência de estiramento da carbonila, em aproximadamente  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, os espectros dos derivados organoestânicos apresentaram bandas entre  $600 - 400\text{ cm}^{-1}$  <sup>2,3</sup> onde ocorrem os estiramentos relativos a absorção de vibrações entre o átomo metálico e átomos de carbono provenientes de grupos alquila ( $\nu_{\text{Sn-C}}$ ); já para os grupamentos fenílicos, estas absorções estão localizadas na região de  $400 - 200\text{ cm}^{-1}$  <sup>2,3</sup>. A região de absorção característica para estiramentos de ligações entre os átomos de estanho e oxigênio ( $\nu_{\text{Sn-O}}$ ) é  $575 - 550\text{ cm}^{-1}$  <sup>3</sup>.

Os espectros dos compostos organoestânicos apresentaram uma variação de 12 a  $15\text{ cm}^{-1}$  para maiores números de onda nas bandas referentes às ligações C=O sugerindo coordenação do estanho através deste centro. Foram observadas bandas com fraca

intensidade em 613, 680 e 612  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  respectivamente, as quais foram atribuídas ao estiramento da ligação Sn-C referentes aos radicais orgânicos coordenados ao átomo de estanho. As bandas em 577 e 550  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ , nesta ordem, foram atribuídas ao estiramento da ligação Sn-O, e confirma a coordenação do átomo de oxigênio da carbonila do ácido cólico ao átomo metálico, porém, esta absorção não foi visível para o composto fenílico.

#### 4.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear

No estudo dos espectros de ressonância magnética multinuclear, os átomos do ligante, ácido cólico, foram numerados de acordo com a Figura 4.1 para uma melhor explanação dos deslocamentos químicos.

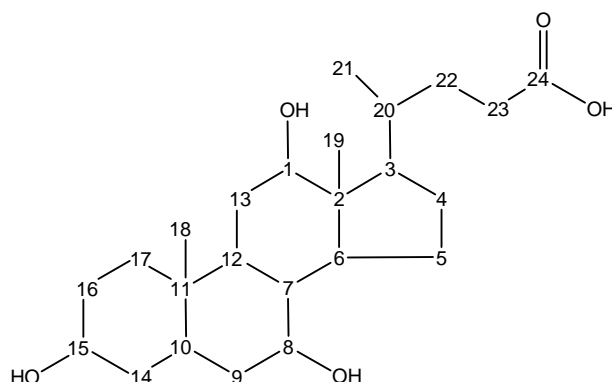


Figura 4.1 – Fórmula estrutural do ácido cólico com os átomos de carbono numerados.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos organoestânicos apresentaram padrões onde a multiplicidade dos sinais não pôde ser totalmente determinada, com exceção dos simples em aproximadamente  $\delta$  0,69; 0,88 e 1,04 referentes aos átomos de hidrogênio dos grupamentos metilas dos carbonos de números 19, 18 e 21, respectivamente. Os multipletos localizados entre  $\delta$  1,49 e 2,47 referem-se aos átomos de hidrogênios dos grupamentos  $-\text{CH}$  e  $-\text{CH}_2$ . O multipletto em  $\delta$  3,47 está relacionado ao hidrogênio ligado ao átomo de carbono 8, os simples em  $\delta$  3,88 e 4,01 correlacionam-se aos hidrogênios ligados aos átomos de carbono de números 1 e 15. Um simpleto largo centrado em  $\delta$  5,99 com valor de integração igual a 4 é relacionado à presença das 4 hidroxilas presentes no

ácido cólico nos átomos de carbonos número 1, 8, 15 e 24. Este sinal não foi evidenciado nos espectros dos compostos metálicos, provavelmente devido à troca isotópica que pode ter acontecido entre o deutério presente no solvente usado na dissolução dos compostos organoestânicos com os átomos de hidrogênio das hidroxilas do esqueleto esteroideal. O simpleto relacionado a estas hidroxilas no ligante livre não foi visível quando este foi analisado em metanol deuterado, da mesma forma como nos compostos organoestânicos. O metanol é mais polar que o clorofórmio e talvez isto tenha proporcionado uma troca entre o deutério do metanol com os hidrogênios das hidroxilas no ligante livre quando em meio alcoólico o que não ocorre no meio de clorofórmio. Os derivados organoestânicos não foram solúveis o suficiente em  $\text{CDCl}_3$  para a realização das análises de ressonância, por este motivo as análises foram realizadas em metanol deuterado.

A feição dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  nos compostos organoestânicos foi bastante semelhante à do espectro do ácido cólico, Figura 4.2. Por apresentarem sinais sobrepostos, não foi possível determinar a multiplicidade dos sinais e atribuí-los aos respectivos átomos nos espectros dos compostos organoestânicos. Os átomos de hidrogênio apresentaram comportamento semelhante, com pequenas alterações nos deslocamentos químicos, apresentando os sinais referentes às metilas provenientes dos reagentes de partida  $\text{Me}_2\text{SnCl}_2$  e  $\text{Me}_3\text{SnCl}$  centrados em  $\delta$  1,36 e 1,24, sugerindo a formação dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e, ainda, a presença de sinais em  $\delta$  7,52 – 6,99 relacionado à presença de fenilas no espectro do composto  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ .

Com relação aos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi verificado, em todos eles, as mesmas feições espectrais, adicionados à presença dos sinais referentes aos átomos de carbono presentes nos radicais orgânicos provenientes dos precursores estanilados utilizados no preparo dos compostos.

A Tabela 4.1 apresenta os valores dos deslocamentos químicos referentes aos átomos de carbono nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante livre e de seus derivados organoestânicos.

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  referentes aos compostos organoestânicos apresentaram uma leve variação com relação ao deslocamento da carbonila do ligante livre (Figura 4.3). O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto dimetílico  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ , apresentou os sinais correspondentes ao ligante livre com leve aumento no deslocamento químico e um sinal, com forte intensidade, em  $\delta$  8,8 referente à presença de metilas originárias do reagente de estanho usado na síntese; já no espectro do composto

[Me<sub>3</sub>Sn(cho)] as metilas foram atribuídas ao sinal em  $\delta$  7,9. Aos carbonos fenílicos do composto [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] foram atribuídos os sinais em  $\delta$  134,4; 134,5; 133,0 e 133,4.

Os espectros de RMN de <sup>119</sup>Sn dos compostos [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] e [Me<sub>3</sub>Sn(cho)] mostraram um único sinal de <sup>119</sup>Sn em  $\delta$  -208,2; 38,9 e 97,7 respectivamente. Estes valores de deslocamento químico sugerem que o átomo de estanho encontra-se tetracoordenado nos compostos [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] e [Me<sub>3</sub>Sn(cho)] e hexacoordenado no composto [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]<sup>4</sup>. O átomo de estanho presente neste último composto pode ter interagido com ambos os átomos de oxigênio presentes no grupamento (-COO) do ácido cólico.

Tabela 4.1 – Atribuição e deslocamento químico dos átomos de carbono do ácido cólico e dos derivados organoestânicos ( $\delta$ /ppm).

N <sup>o</sup> Carbono	CHO* <sup>a</sup>	[(cho) <sub>2</sub> SnMe <sub>2</sub> ] <sup>b</sup>	[(cho)SnMe <sub>3</sub> ] <sup>c</sup>	[(cho) <sub>2</sub> SnPh <sub>2</sub> ] <sup>d</sup>
24	176,3	181,6	180,8	178,5
1	71,9	73,3	72,5	74,2
15	70,9	71,9	70,1	73,0
8	67,2	68,5	57,7	69,2
3	46,2	41,9	46,0	43,3
2	45,7	41,9	45,9	43,1
6	41,1	39,7	41,1	41,1
10	41,0	38,5	41,1	40,6
7	39,1	37,5	38,6	40,6
14	34,8	35,6	38,7	36,9
17	34,8	35,8	35,0	36,7
20	34,2	35,6	34,8	36,0
9	34,1	35,1	34,2	35,9
11	30,9	34,8	34,0	32,4
22	30,5	31,8	30,5	32,1
23	30,5	31,8	30,5	32,1
16	30,9	30,2	30,4	31,3
13	27,8	28,4	27,6	30,7
4	26,9	27,9	27,1	28,7
12	25,8	26,7	25,8	27,9
5	22,5	23,5	22,6	24,3
18	21,9	22,7	21,8	23,3
21	16,6	17,4	16,4	17,8
19	11,9	12,7	11,8	13,1
		C- $\alpha$ 8,8	C- $\alpha$ 7,9	134,4 134,5 133,0 133,4

\*Solventes deuterados usados para a análise de RMN: <sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>, <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub> + MeOD, <sup>c</sup>CDCl<sub>3</sub> + acetona, <sup>d</sup>DMSO.

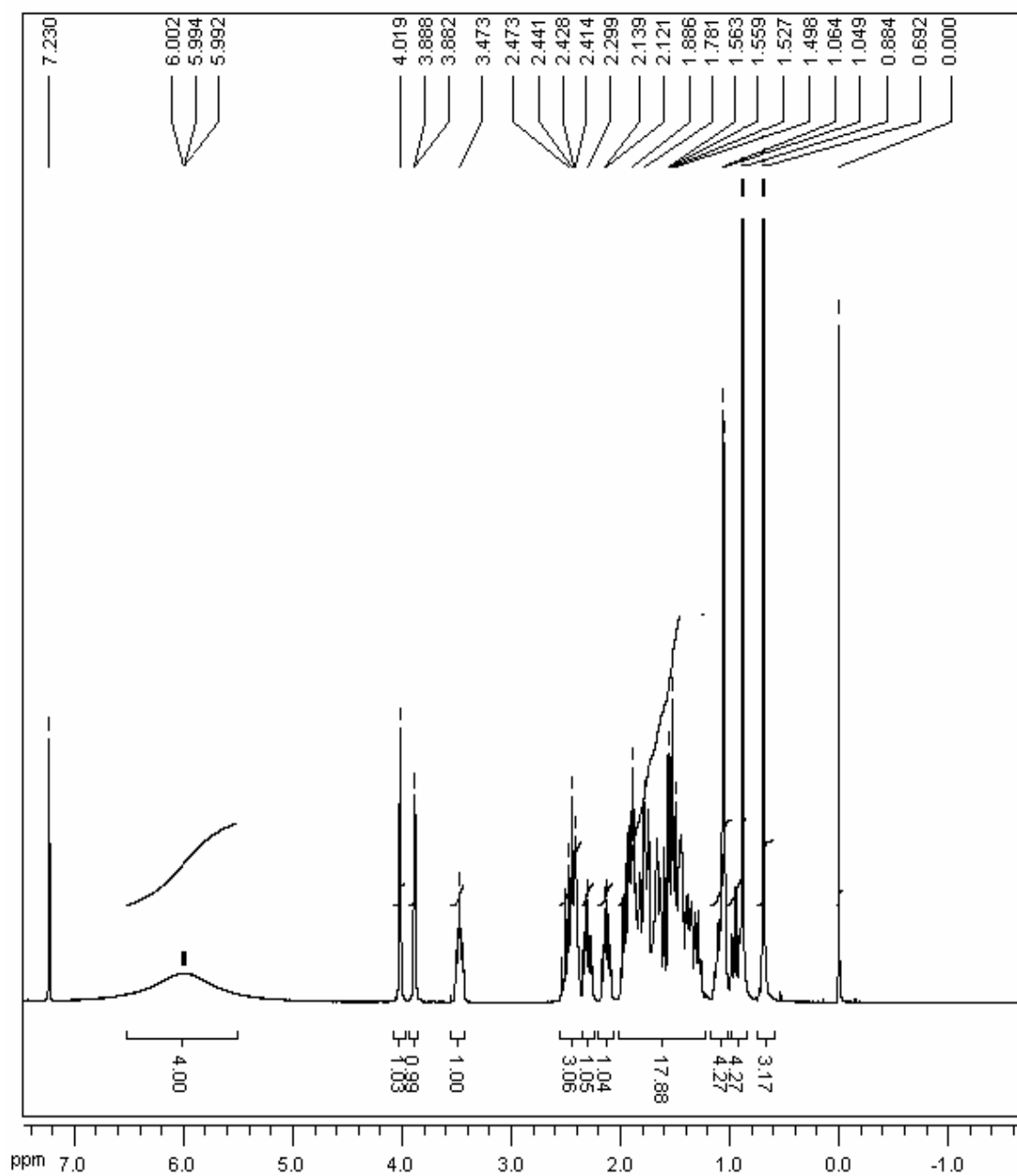


Figura 4.2 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ácido cólico ( $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5$ ), em  $\text{CDCl}_3$ .

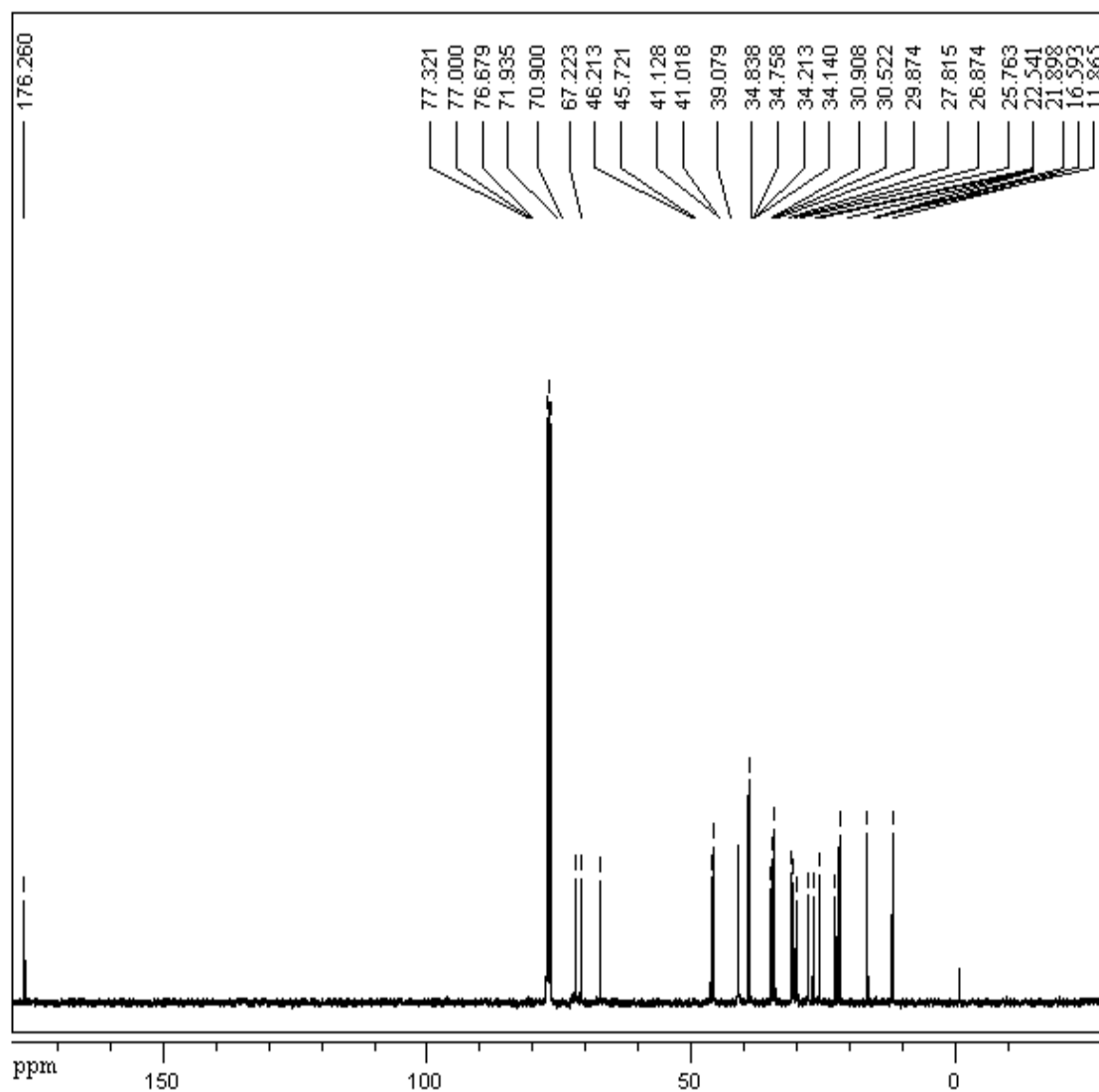


Figura 4.3 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ácido cólico ( $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5$ ), em  $\text{CDCl}_3$ .

#### 4.1.4. Espectroscopia Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$

Os estados de oxidação (+2) e (+4) para compostos de estanho são distinguidos por uma linha divisória baseada no desvio isomérico ( $\delta$ ) do estanho na sua forma alotrópica  $\beta$  ( $\delta = 2,65$  mm/s com relação ao  $\text{BaSnO}_3$ ). Basicamente compostos de estanho que apresentem  $\delta < 2,65$  mm/s são considerados compostos de Sn(IV) e aqueles que apresentarem desvio isomérico ( $\delta$ ) maior que este valor são considerados Sn(II) <sup>3</sup>. Os compostos organoestânicos derivados do ácido cólico mostraram valores de desvio isomérico condizentes com o átomo de estanho no estado de oxidação (IV). Mostraram ainda uma redução dos valores de desvio isomérico ( $\delta$ ) e desdobramento quadrupolar ( $\Delta$ ) quando comparados aos precursores metálicos, com exceção apenas do composto  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ , o qual apresentou um ligeiro aumento no valor do desdobramento quadrupolar, conforme pode ser observado na Tabela 4.2 e nos espectros da Figura 4.4.

Em geral, a redução do valor de desvio isomérico ocorre após complexação, como resultado da variação do caráter *s*.

Os espectros dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  mostraram dois dubletes, evidenciando a presença de dois sítios de estanho inequivalentes no estado sólido, sendo o sítio I o mais abundante para ambos os compostos (Figura 4.4). Como a espectroscopia de RMN de  $^{119}\text{Sn}$  mostrou apenas um tipo de átomo de estanho em solução e a análise por espectroscopia Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$ , a qual é realizada em estado sólido, mostrou dois sítios de estanho ligeiramente diferentes, é possível que esteja ocorrendo uma associação intermolecular no estado sólido, como a formação de estanoxanos.

Na Tabela 4.2 podem ser observados os valores de desdobramento quadrupolar extraídos dos espectros de Mössbauer dos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ , indicando uma redução na simetria da distribuição da densidade eletrônica em torno do átomo de estanho nestes compostos, comparativamente aos precursores metálicos que lhes deram origem. O valor de desdobramento quadrupolar para o composto  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  é ligeiramente superior ( $\Delta = 15$  mm/s) ao seu precursor, sugerindo uma maior distorção da distribuição eletrônica que pode estar relacionada à menor simetria em torno do átomo de estanho levando, conseqüentemente a um maior desdobramento quadrupolar.



Tabela 4.2 - Parâmetros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  dos derivados organoestânicos do ácido cólico a 110 K.

Compostos	Sítio I		Sítio II	
	$\delta/\text{mms}^{-1}$	$\Delta/\text{mms}^{-1}$	$\delta/\text{mms}^{-1}$	$\Delta/\text{mms}^{-1}$
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$	1,13 (67%)	3,19	1,35 (35%)	3,50
$[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$	0,63 (61%)	1,92	0,03 (39%)	0,67
$[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$	1,39	3,56	-	-
$\text{Me}_2\text{SnCl}_2$	1,52 *	3,62 *		
$\text{Ph}_2\text{SnCl}_2$	1,34 *	2,76 *		
$\text{Me}_3\text{SnCl}$	1,41 *	3,41 *		

\* Referência 4.

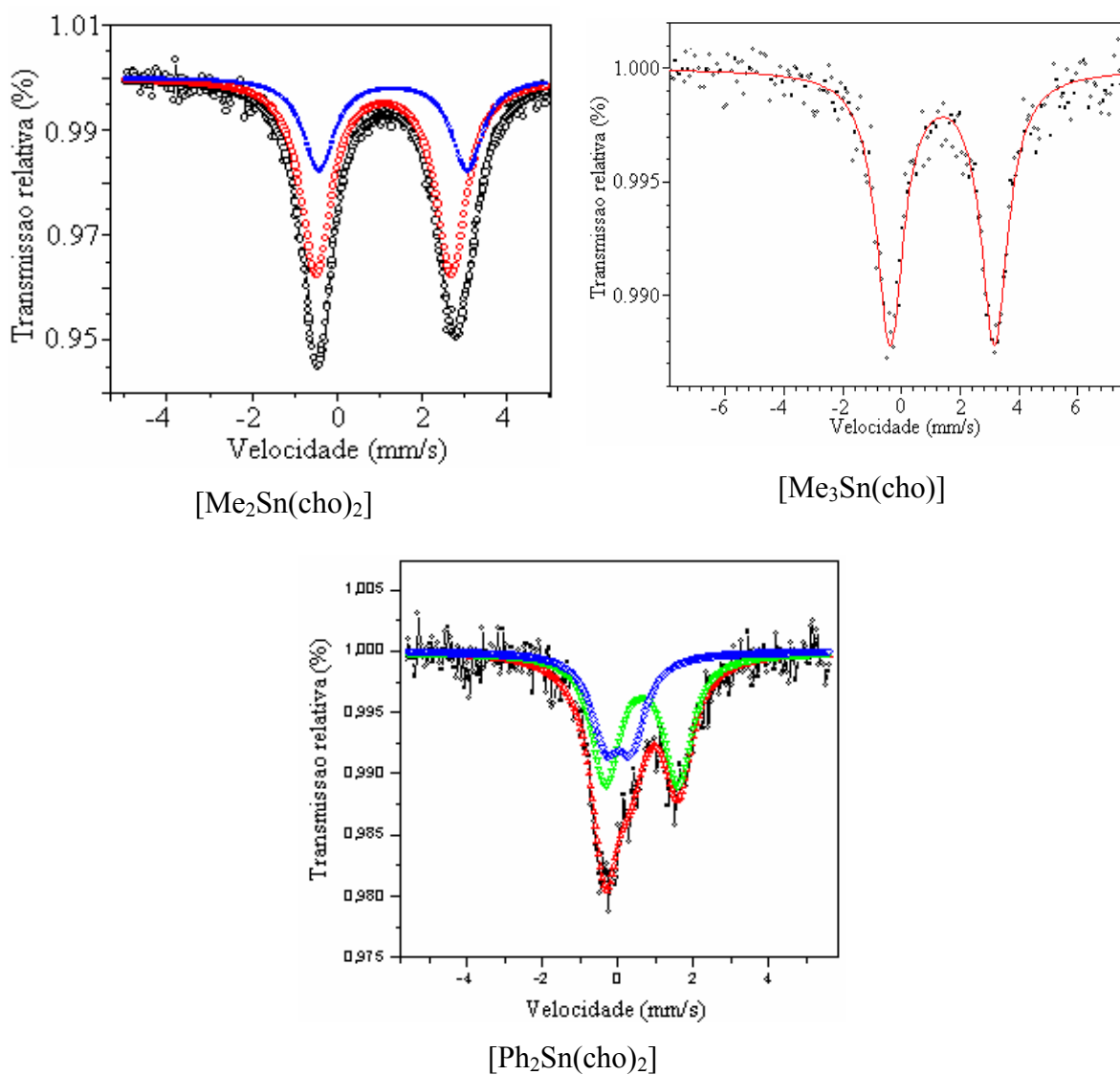


Figura 4.4 - Espectros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  dos derivados do ácido cólico.

A análise dos espectros dos compostos na região do infravermelho sugeriu a ligação do átomo de estanho ao átomo de oxigênio do grupamento carbonílico. A ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  evidencia a presença dos radicais orgânicos provenientes dos reagentes de estanho usados como material de partida das sínteses bem como o deslocamento do sinal referente ao carbono carbonílico. Já as análises do núcleo metálico, em solução sugeriram que nos compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  o átomo de estanho se encontra tetracoordenado e no composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  ele está com número de coordenação igual a seis. A análise no estado sólido, espectroscopia Mössbauer, sugere que todos os átomos metálicos estão no estado de oxidação +4 e ainda, que os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  possuem dois sítios metálicos e pode estar ocorrendo uma interação intermolecular neste estado. A análise elementar confirma a relação estequiométrica entre os reagentes. As propostas de estrutura para os compostos estão representadas na Figura 4.5.

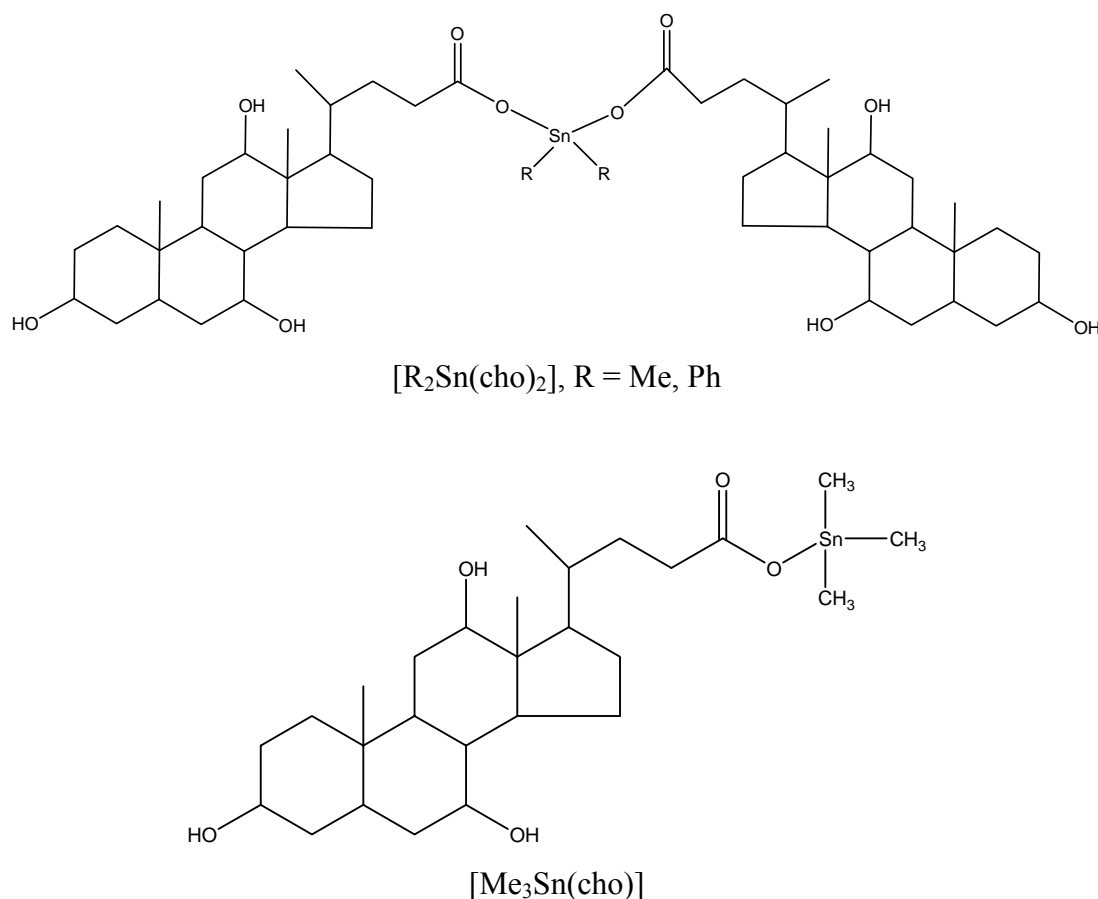


Figura 4.5 – Fórmulas estruturais propostas para os derivados organoestânicos do ácido cólico.

#### 4.4. Avaliação Biológica

##### 4.4.1. Teste de Toxicidade em *Artemia salina*

A bioatividade dos complexos sob investigação foi monitorada pelo teste de letalidade em *A. salina* <sup>6</sup>. A Tabela 4.3 indica os valores de concentração (mg/mL) referentes à dose letal de 50% da população, DL<sub>50</sub>, obtidos frente a *A. salina* para os compostos em estudo. Observa-se uma relação entre o grau de toxicidade (valores de DL<sub>50</sub>) e o tipo de radical orgânico diretamente ligado ao íon metálico, grupamentos metila, butila ou fenila. A partir dos valores de DL<sub>50</sub>, a maior toxicidade foi apresentada por ambos os derivados butílicos. Os derivados metílicos, mostraram-se menos tóxicos em relação aos demais, seguidos pelos derivados fenílicos, concordando com dados de toxicidade já relatados para compostos organoestânicos derivados de ligantes diferentes, mas contendo os mesmos radicais (Me, Bu e Ph) <sup>7</sup>.

Tabela 4.3. - Valores médios de DL<sub>50</sub> ± desvio padrão (D.P.) obtidos no bioensaio de toxicidade em *A. salina* para os compostos organoestânicos derivados do ácido cólico.

Compostos	DL <sub>50</sub> (mmol/L)	DL <sub>50</sub> ± D.P. (mg/mL)
[Me <sub>2</sub> Sn(cho) <sub>2</sub> ]	155,6	150,0 ± 0,3
[Bu <sub>2</sub> Sn(cho) <sub>2</sub> ]	4,8	5,0 ± 0,2
[Ph <sub>2</sub> Sn(cho) <sub>2</sub> ]	73,5	80,0 ± 0,3
[Me <sub>3</sub> Sn(cho)]	175,0	100,0 ± 0,3
[Bu <sub>3</sub> Sn(cho)]	1,4	1,0 ± 0,5
[Ph <sub>3</sub> Sn(cho)]	33,0	25,0 ± 0,4

O bioensaio utilizando o microcrustáceo *A. salina* como parâmetro para avaliação da toxicidade dos compostos organoestânicos derivados do ácido cólico em questão revelou o seguinte potencial de toxicidade (em mg/mL): [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Bu<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] > [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] > [Me<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>].

A maior toxicidade dos derivados organoestânicos do ácido cólico foi apresentada pelos compostos trissubstituídos em detrimento aos dissustituídos. Este resultado concorda com a seqüência relatada para os precursores trissubstituídos usados nas sínteses dos compostos [Me<sub>3</sub>Sn(cho)], [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)], quando avaliados frente ao

fungo *Penicillium funiculosum*, a toxicidade aumentou no seguinte sentido: butila > fenila > metila <sup>8</sup>.

#### 4.4.2. Avaliação da Atividade Nematicida

##### 4.4.2.1. Ensaio em Larvas de *S. venezuelensis* (L3)

A viabilidade larvar foi verificada após estímulo do movimento por fonte luminosa por cerca de 30 minutos. Foram consideradas mortas ou não viáveis as larvas que não manifestaram movimento após este estímulo. Os derivados dibutílico, di- e trimetílicos não alteraram a viabilidade das larvas em relação ao controle. A ação dos complexos [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] resultou em um aumento significativo da mortalidade das larvas nas primeiras 24 h de cultura, sendo que o composto [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] demonstrou maior atividade, reduzindo em 100 % a viabilidade das larvas na fase infectante (L3), Tabela 4.4. Além disso, o derivado trifenílico [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] induziu elevada mortalidade tardia (48 h), reduzindo em 36, 70 e 73 % a viabilidade larvar nas concentrações de 10, 100 e 1000 ng/mL respectivamente.

Como a cutícula dos nematóides possui uma reduzida permeabilidade, as trocas nutritivas e a eliminação de produtos são feitas principalmente através de aberturas do tubo digestivo, do poro excretor ou de aberturas glandulares <sup>9</sup>. Não foi observada, com o auxílio de microscópio, nenhuma alteração na cutícula dos vermes. Desta forma, uma hipótese a ser considerada é a possibilidade de os compostos em análise terem sido ingeridos pelas larvas por via oral.

Tabela 4.4 – Viabilidade das larvas (L3) de *S. venezuelensis* após contato com os derivados organoestânicos do ácido cólico em ng/mL e em (mmol/L).

Compostos	1000	100	10
[Bu <sub>3</sub> Sn(cho)]	0	0	0
[Ph <sub>2</sub> Sn(cho) <sub>2</sub> ]	0	0	62 (5,7 x 10 <sup>-5</sup> )
[Ph <sub>3</sub> Sn(cho)]	73 (9,6 x 10 <sup>-5</sup> )	70 (9,2 x 10 <sup>-5</sup> )	36 (4,7 x 10 <sup>-5</sup> )

#### 4.4.2.2. Ensaio em Larvas de *S. venezuelensis* (L1)

Os compostos que apresentaram melhores atividades frente às larvas infectantes (L3),  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  foram avaliados frente às larvas no primeiro estágio de desenvolvimento (L1).

Os dados resultantes do ensaio realizado estão representados na Figura 4.6. Os valores de viabilidade foram plotados com a média de um total de 4 repetições mais ou menos o desvio padrão. (Média  $\pm$  D.P.,  $n = 4$ ).

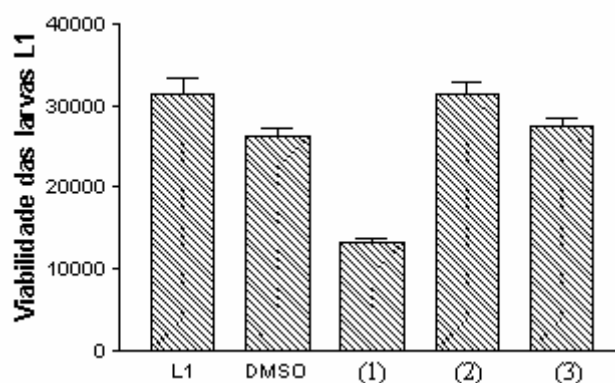


Figura 4.6 – Viabilidade das larvas L1 de *S. venezuelensis* em coprocultura frente aos compostos organoestânicos (1000 ng/mL):  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  (1),  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  (2) e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  (3), após 5 dias de contato (média  $\pm$  D.P.,  $n = 4$ ).

O composto  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  apresentou comportamento semelhante ao controle, não exercendo nenhuma atividade aparente sobre as larvas L1. O composto  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  expressou uma redução de apenas 9 %, enquanto o composto  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  apresentou o melhor percentual de redução, 58 %.

Os ovos de nematóides possuem membrana de natureza lipídica<sup>9</sup>; como compostos organoestânicos possuem caráter lipossolúvel<sup>10</sup>, uma hipótese de ação poderia ser a penetração destes através da membrana causando paralisação no desenvolvimento larvar.

#### 4.4.3. Avaliação da Atividade Antifúngica

Os derivados metílicos e o derivado dibutílico não apresentaram atividade inibitória frente aos fungos *C. sphaerospermum*, *C. albicans* e *C. neoformans* na concentração de 1,0 mg/mL. Entretanto os derivados difenílico, tributílico e trifenílico apresentaram-se ativos frente a todos os fungos citados, produzindo halos médios de inibição de  $33,67 \pm 1,63$  mm;  $41,67 \pm 2,16$  mm e  $32,33 \pm 1,63$  mm respectivamente frente ao fungo *C. sphaerospermum*. Estes valores de halo diferiram estatisticamente do cetoconazol com  $P < 0,001$ ; quando analisados entre si, a diferença estatística foi de  $P < 0,05$ ; no entanto os compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  não diferiram estatisticamente entre si ( $P > 0,05$ ).

Em *C. albicans* apenas os compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  apresentaram ação inibitória com halos médios de  $9,67 \pm 1,75$  mm;  $17,17 \pm 2,04$  mm e  $7,67 \pm 3,88$  mm respectivamente. Todos os compostos apresentaram-se com atividade significativamente menor que o cetoconazol ( $P < 0,001$ ), na concentração de 1 mg/mL. O derivado tributílico diferiu significativamente dos demais, apresentando-se com maior ação inibitória. Os derivados fenílicos não apresentaram comportamento inibitório significativamente diferente entre si ( $P > 0,05$ ).

O fungo *C. neoformans* foi inibido pelos compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  nos valores médios de halos de  $25,67 \pm 1,63$  mm;  $33,17 \pm 2,23$  mm e  $24,33 \pm 1,63$  mm, respectivamente. Estes compostos apresentaram halos de inibição significativamente menores que o cetoconazol ( $P < 0,001$ ), o qual produziu o valor médio de halo de inibição de  $33,33 \text{ mm} \pm 1,15$  mm. O halo de inibição gerado pelo derivado tributílico foi semelhante ao do medicamento controle ( $P > 0,05$ ), diferindo significativamente dos derivados fenílicos ( $P < 0,001$ ).

Entre todos os fungos avaliados, o composto  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  apresentou maior halo de inibição, sendo seguido pelos compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  nesta ordem.

Estes dados podem ser visualizados na Figura 4.7. O experimento foi realizado em *sexplicata*, fazendo-se o cálculo da média e do desvio padrão.

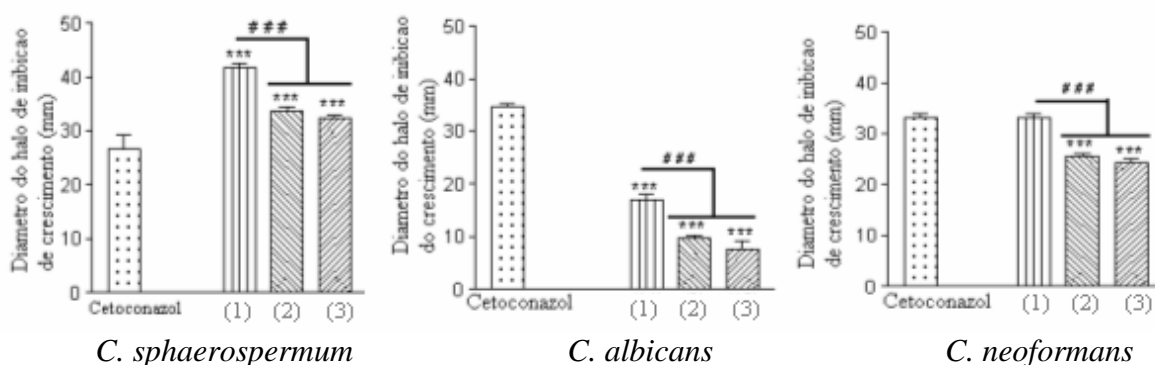


Figura 4.7 – Valores médios do diâmetro dos halos de inibição do crescimento produzidos por 1 mg/mL dos compostos  $[Bu_3Sn(cho)]$  (1),  $[Ph_2Sn(cho)_2]$  (2) e  $[Ph_3Sn(cho)]$  (3) frente aos fungos *C. sphaerospermum*, *C. albicans* e *C. neoformans*. \*\*\* Diferença entre os tratamentos e o controle positivo; ### Diferença entre os tratamentos; com  $P < 0,001$ .

#### 4.4.3.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima.

O Anexo II, mostra uma placa na qual foram realizados os testes de microdiluição para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) dos compostos organoestânicos para o fungo *C. albicans*.

Os valores de MIC dos derivados tributílico, di- e trifenílicos do ácido cólico estão apresentados no Quadro 4.1. O cetoconazol, medicamento utilizado como controle positivo, apresentou MIC de 0,24 mmol/L, com redução de 80 % de crescimento de *C. albicans*, como recomendado no NCCLS <sup>11</sup>.

Quadro 4.1 – Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos do ácido cólico frente a fungos patógenos ( $\times 10^{-3}$  mmol/L).

	$[Bu_3Sn(cho)]$	$[Ph_2Sn(cho)_2]$	$[Ph_3Sn(cho)]$	Cetoconazol
<i>C. albicans</i>	11,44	7,36	10,56	0,24
<i>C. neoformans</i>	5,72	14,72	0,041	0,06

Observa-se que a concentração do derivado trifenílico capaz de inibir 100 % das colônias de *C. neoformans* foi menor que a exibida pelo cetoconazol.

#### 4.4.4. Avaliação da Citotoxicidade

Este ensaio de citotoxicidade foi desenvolvido em 1983<sup>12</sup>, reavaliado e otimizado em 1989<sup>13</sup> para estimativa de proliferação e sobrevivência celular, é definido na literatura como apropriado para estimativa de citotoxicidade<sup>14</sup>. Baseia-se na capacidade da succinato desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs que é ativa em mitocôndrias de células viáveis, de converter o sal de tetrazolium (MTT ou brometo de [3-(4,5-dimetiltiazolil]-2,5-difeniltetrazolio), que é hidrossolúvel e de cor amarelada, em cristais de formazan, que são de cor azul escura (Figura 4.8). Esta capacidade, que somente células vivas possuem, indica atividade mitocondrial e conseqüente viabilidade celular. Uma vez reduzido a cristais de formazan, o MTT (inicialmente com coloração amarela) torna-se insolúvel e com coloração azulada no meio de cultura, sendo possível sua mensuração por meio de espectrofotometria.

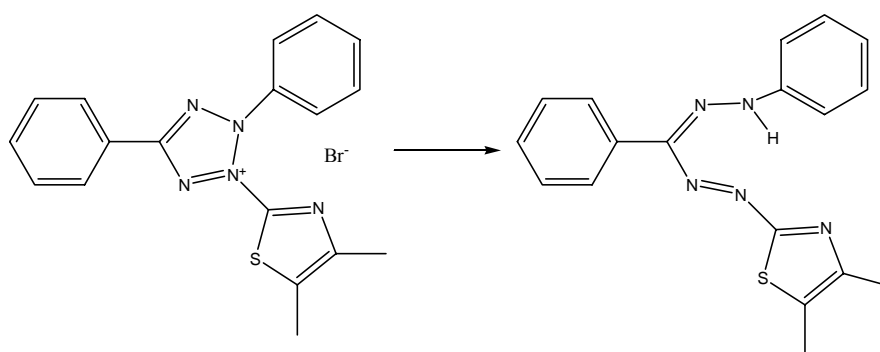


Figura 4.8 – Redução do MTT a cristais de formazan.

Este ensaio é uma forma de ordenar os materiais avaliados de acordo com a citotoxicidade. Ele foi realizado com os compostos que se apresentaram ativos na avaliação da atividade antifúngica anteriormente descrita. Os compostos foram ordenados de acordo com a redução da função mitocondrial, considerando-se o grupo-controle negativo (células não expostas aos compostos) como 100%. Quanto maior a função mitocondrial, maior a viabilidade celular e menor a citotoxicidade.

A Figura 4.9 ilustra a camada de confluências das células. Após 24 h de contato com o composto [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)], observa-se o decréscimo gradativo no número de células aderidas.



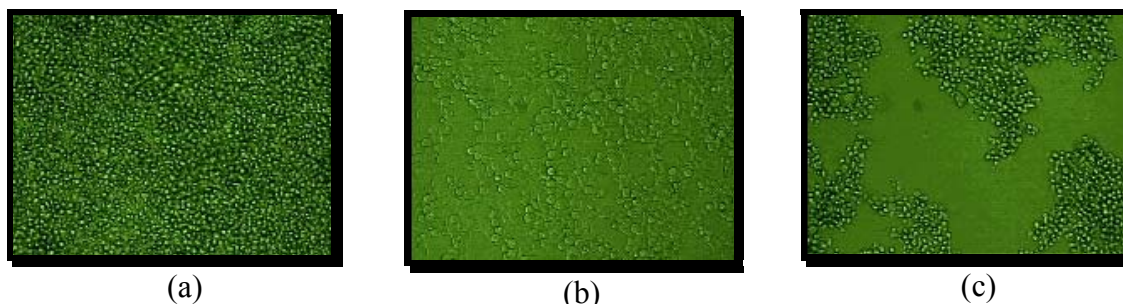


Figura 4.9 – Monocamada de células HEK 293 na presença do composto  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  nas seguintes concentrações: (a) 0,054 mmol/L (b) 1,72  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (c) 55,04 mmol/L (aumento: 100 vezes).

O Quadro 4.2 mostra os valores de concentração a partir dos quais os derivados organoestânicos do ácido cólico se mostraram tóxicos às células de rim humano, HEK 293, após exposição pelo período de 24 h.

Quadro 4.2 – Concentração a partir da qual os derivados organoestânicos do ácido cólico são tóxicos às células humanas HEK 293 ( $\times 10^{-3}$  mmol/L).

	$[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$	$[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$	$[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$	Cetoconazol
HEK 293	22,88	7,36	0,66	30,08

A citotoxicidade apresentada pelos derivados de estanho (IV) do ácido cólico em células humanas normais (HEK 293) foi menor que a do medicamento usado como controle nos ensaios, podendo ser colocada na seguinte ordem de citotoxicidade: cetoconazol >  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$  >  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$  >  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ .

#### 4.5. Referências Bibliográficas

1. Willem, R.; Dalil, H.; Broekaert, P.; Biesemans, M.; Ghys, L.; Nooter, K.; Vos, D.; Ribot, F.; Gielen, M.; *Main Group Metal Chem.* 20 (8), (1997) 535.
2. Omae, I.; *Organotin chemistry.* 21 New York: 1989.
3. Poller, R.C.; *The chemistry of organotin compounds.* Britain: 1970.
4. Fenton, D.E.; Zuckerman, J.J.; *Inorg. Chem.* 8 (1969).
5. Nguyen, H.; Ogwuru, N.; Duong, Q.; Eng, G.; *Appl. Organometal. Chem.* 14 (2000) 349.
6. Meyer, B.N.; Ferrigni, N.R.; Putnam, J.E.; Jacobsen, L.B.; Nichols, D.E.; *J. Med. Plant Res.* 45 (1982) 31.
7. Li, C.; Lewis, M.R.; Gilbert, A.B.; Noel, M.D.; Scovill, D.H.; Allman, G.M.; Avage, P.B.; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43 (1999) 1347.
8. Grove, D.I.; *Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man.* London, Taylor and Francis, 1989.
9. Rey, L.; *Parasitologia.* 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
10. Schweikh, H.; *Eur. J. Oral Sci.* 104 (3) (1996) 302.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard-Second Edition. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56235-469-4]. NCCLS, Pennsylvania, USA 2002.
12. Mossaman, T.; *J. Immunol Methods*, 65 (1983) 55.
13. Hansen, H.B.; Nielsen, S.E.; Berg, K.; *J. Immunol. Methods.* 49 (1989) 203.
14. Schweikh, H.; *Eur. J. Oral Sci.* 104 (3) (1996) 302.

## *Capítulo 5*

*Síntese, Caracterização e Estudo das  
Atividades Antifúngica e Leishmanicida de  
Compostos de Sn(IV) Derivados do Ácido  
2,2'-[2,5-tiofenodil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.*

## 5.1. Caracterização dos Derivados Organoestânicos do Ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.

### 5.1.1. Análise Elementar

As temperaturas de fusão estão indicando uma boa pureza tanto para o ligante livre como para seus derivados organoestânicos. Os dados elementares são consistentes com os valores que foram calculados para as fórmulas mínimas propostas.

### 5.1.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os principais dados extraídos das análises de espectroscopia na região do infravermelho do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, codificado aqui como (H<sub>2</sub>L), e de seus complexos metálicos de estanho (IV) são listados na Tabela 5.1. Os espectros de infravermelho dos complexos foram comparados ao do ligante livre, em busca do sítio de coordenação envolvido na reação.

As posições das bandas se alteram após a complexação. O estiramento referente a  $\nu_{(C=N)}$ , encontrada em 1605 cm<sup>-1</sup> no ligante livre, deslocou-se para maiores números de onda (10 – 16 cm<sup>-1</sup>) nos complexos.

A absorção referente a  $\nu_{(C=O)}$  é observada em forte intensidade em 1700 cm<sup>-1</sup> no espectro do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L), sendo deslocada para menores números de onda nos derivados metálicos. A participação do átomo de oxigênio da carbonila na formação dos complexos é evidenciada no surgimento de novas bandas na região de 632 – 695 cm<sup>-1</sup> e 420 – 449 cm<sup>-1</sup>, as quais foram atribuídas às absorções das vibrações  $\nu_{(Sn-C)}$  e  $\nu_{(Sn-O)}$  respectivamente. Geralmente, a absorção em 830 cm<sup>-1</sup> referente ao anel de tiofeno, quando presente em ligantes com base de Schiff, como o é o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, é deslocada para maiores números de onda após coordenação a metais<sup>1</sup>. Os espectros dos compostos diorganoestânicos derivados da nova base de Schiff, o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L), exibiram esta absorção com fraca intensidade em 870 cm<sup>-1</sup>.

Não foi verificada, em nenhum dos compostos, a existência de bandas referentes aos estiramentos da ligação  $\nu_{(\text{Sn-Cl})}$ , a qual absorve no comprimento de onda que varia de  $325 - 355 \text{ cm}^{-1}$  para compostos de dicloretos de diorganoestânicos <sup>2</sup>.

Com os dados de infravermelho pôde-se sugerir que o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico interage com o átomo de estanho via átomo de oxigênio do grupo carboxilato.

Tabela 5.1 – Frequências de vibração das principais ligações do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ) e de seus derivados organoestânicos, em  $\text{cm}^{-1}$ .

Composto	$\nu_{(\text{O-H})}$	$\nu_{(\text{C-S-C})}$	$\nu_{(\text{C=O})}$	$\nu_{(\text{C=N})}$	$\nu_{(\text{Sn-C})}$	$\nu_{(\text{Sn-O})}$
( $\text{H}_2\text{L}$ )	3410 f*	830 f	1700 F	1605 F	-	-
[ $\text{Me}_2\text{Sn(L)}$ ]	3471 f	870 f	1673 F	1616 F	631 m	414 f
[ $\text{Bu}_2\text{Sn(L)}$ ]	3470 f	871 f	1670 m	1614 F	632 m	420 f
[ $\text{Ph}_2\text{Sn(L)}$ ]	3470 f	870 f	1700 f	1610 m	697 m	448 m

\*F = forte, m = media, f = fraca

### 5.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear

Os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios pertencentes ao anel aromático proveniente do ácido aminobenzóico situaram-se entre  $\delta 8,5 - 7,3$ ; os hidrogênios do anel tiofênico apresentaram o deslocamento em  $\delta 2,0$  no ligante livre, deslocando-se para números de onda mais baixos após coordenação ao estanho. A presença do hidrogênio do grupamento  $-\text{CH}=\text{N}$  foi atribuída ao simpleto em  $\delta 2,88$ . Observou-se nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  que o sinal em  $\delta 10,07$  - atribuído ao próton do grupo  $-\text{COOH}$  presente no espectro do ligante livre ( $\text{H}_2\text{L}$ ) - permanece nos espectros dos derivados organoestânicos. Avaliações dos compostos através de outras técnicas, como RMN no estado sólido, e novas tentativas de recristalização serão realizadas para melhor determinar as estruturas dos derivados organoestânicos deste ácido.

O sinal caracterizando a presença dos hidrogênios correspondentes as metilas do composto [ $\text{Me}_2\text{Sn(L)}$ ] surgiu em  $\delta 0,97$ ; os deslocamentos do grupo butila do composto [ $\text{Bu}_2\text{Sn(L)}$ ] foram identificados em  $\delta 0,31 - 1,18$ ; já os deslocamentos referentes às fenilas do composto [ $\text{Ph}_2\text{Sn(L)}$ ] se encontraram em superposição com os sinais referentes ao anel

aromático do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $H_2L$ ), entre  $\delta$  8,22 – 6,64.

Os espectros de RMN de  $^{13}C$  dos compostos organoestânicos apresentaram, além de pequenos deslocamentos nos sinais correspondentes ao ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $H_2L$ ), sinais pertencentes aos radicais orgânicos provenientes dos reagentes de estanho de origem. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do ligante livre ( $H_2L$ ) e de seus derivados organoestânicos são apresentados na Tabela 5.2.

Os átomos de carbono da base de Schiff ( $H_2L$ ) foram numerados de acordo com a Figura 5.1 para melhor identificação destes átomos no espectro e na tabela. Devido à simetria do composto, apenas um lado da molécula foi numerado.

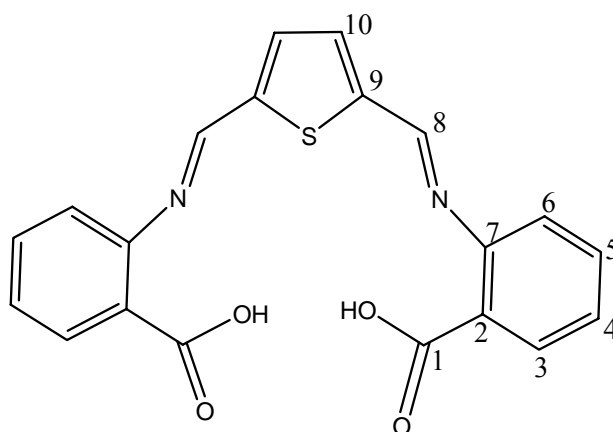


Figura 5.1 – Fórmula estrutural da base de Schiff ( $H_2L$ )

As análises dos derivados  $[Me_2Sn(L)]$  e  $[Bu_2Sn(L)]$  foram realizadas em solução de clorofórmio ( $CDCl_3$ ), enquanto a análise do composto  $[Ph_2Sn(L)]$  foi realizada em solução de dimetilsulfóxido ( $DMSO-d_6$ ).

Tabela 5.2 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) e de seus derivados de Sn(IV) (δ/ppm).

Atribuição Nº C	RMN <sup>13</sup> C (δ /ppm)			
	(H <sub>2</sub> L) <sup>a</sup>	[Me <sub>2</sub> Sn(L)] <sup>b</sup>	[Bu <sub>2</sub> Sn(L)] <sup>b</sup>	[Ph <sub>2</sub> Sn(L)] <sup>a</sup>
1	185,8	183,6	183,4	186,2
2	109,3	114,7	110,9	112,1
3	137,5	135,2	136,1	137,9
4	114,6	116,4	116,3	115,0
5	131,8	133,0	132,9	134,2
6	116,4	116,8	116,5	116,6
7	169,6	176,7	177,4	179,8
8	151,5	150,7	150,5	151,7
9	133,2	134,4	134,6	136,6
10	148,4	149,3	149,5	148,7
		CH <sub>3</sub> 13,8	C-α 13,6 C-β 25,6 C-δ 26,3 C-γ 26,6	126,2 127,6 128,0 128,7

<sup>a</sup> DMSO; <sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub>

O deslocamento químico dos átomos de estanho na ressonância magnética nuclear de <sup>119</sup>Sn fornece informações acerca das alterações no número de coordenação adotado pelo metal. Os espectros de RMN de <sup>119</sup>Sn dos compostos sintetizados evidenciaram a presença de um sinal para cada composto organometálico. Os compostos [Me<sub>2</sub>Sn(L)], [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(L)] apresentaram os deslocamentos de estanho em δ 68,02; 97,40 e -29,40 respectivamente. De acordo com a literatura, deslocamentos químicos que ocorram no intervalo de δ + 200 a - 60 sugerem a tetracoordenação para o átomo de estanho <sup>4</sup> e assim os complexos derivados da base de Schiff (H<sub>2</sub>L) apresentaram deslocamentos químicos compatíveis com esta coordenação.

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C em solução (DMSO-d<sub>6</sub>) da base de Schiff (H<sub>2</sub>L) são apresentados nas Figuras 5.2 e 5.3.

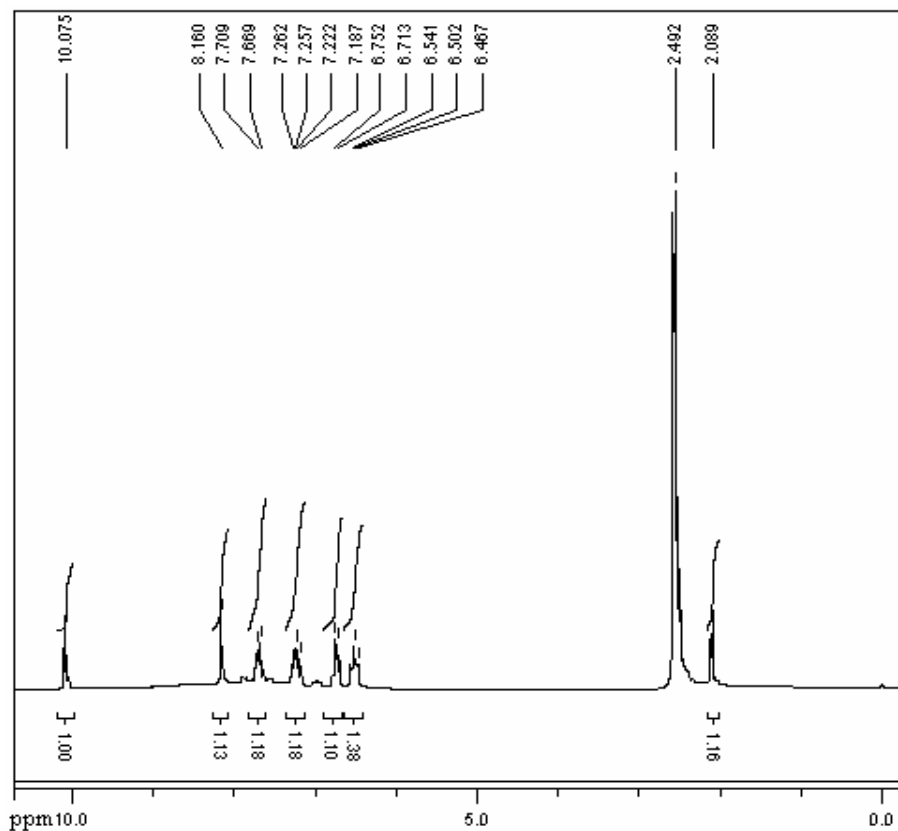


Figura 5.2 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ), em  $\text{DMSO-d}_6$ .

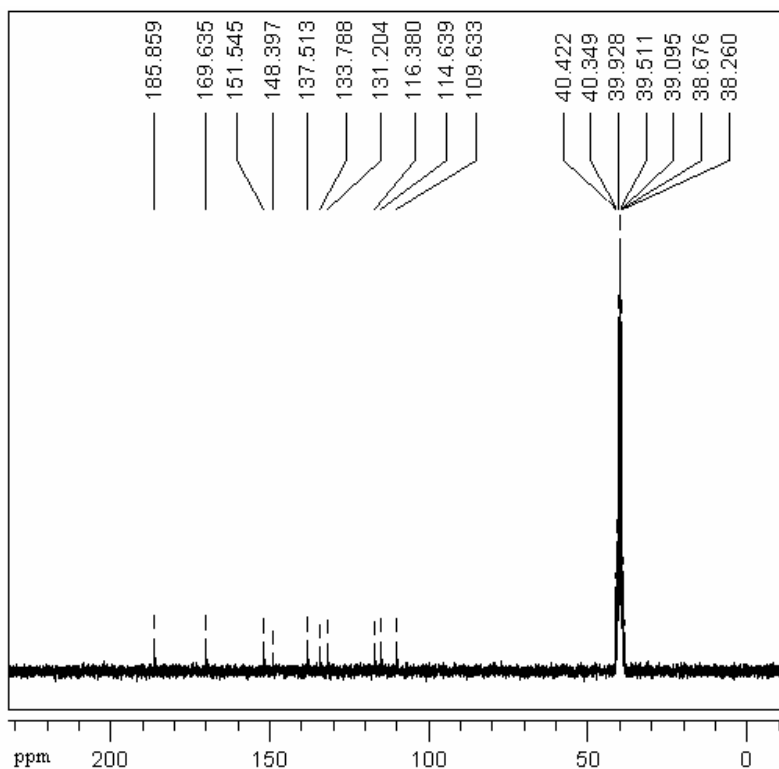


Figura 5.3 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ), em  $\text{DMSO-d}_6$ .



#### 5.1.4. Espectroscopia Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$

Os resultados obtidos através da espectroscopia Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$ , apresentados na Tabela 5.3 e os respectivos espectros expostos na Figura 5.4, permitem observar pequenas variações nos parâmetros desvio isomérico ( $\delta$ ) e desdobramento quadrupolar ( $\Delta$ ) para os compostos de Sn(IV) derivados da base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ), quando comparados aos precursores estanilados.

A literatura cita a existência de uma linha divisória entre o deslocamento isomérico de átomos de estanho (II) e estanho (IV) na espectroscopia Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$ , onde a faixa de  $-0,5$  a  $+2,7$  mm/s sugere a presença do átomo de estanho no estado de oxidação (IV), enquanto o intervalo entre  $+3,28$  a  $-3,84$  mm/s sugere a presença do átomo de estanho (II) <sup>4</sup>. Observa-se que os dados resultantes das análises para os derivados organoestânicos da base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ) estão entre os valores correspondentes ao átomo de estanho no estado de oxidação (IV).

Os valores de desvio isomérico foram menores nos compostos, implicando em uma redução na densidade de elétrons ( $s$ ) sobre o núcleo de estanho. Ocorreu também uma leve distorção na simetria na distribuição eletrônica levando a uma redução no desdobramento quadrupolar.

Os parâmetros obtidos por meio desta espectroscopia, ao serem comparados com os dados dos reagentes de partida sugerem fortemente a manutenção do número de coordenação no estado sólido para estes compostos.

Os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{L})]$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{L})]$  apresentaram sinal característico da presença de apenas um centro metálico em suas respectivas estruturas. O composto fenílico  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{HL})]$  apresentou um espectro sugerindo a presença de dois sítios de estanho, sendo grande parte (88 %) relacionada a um dos sítios, enquanto o outro sítio pode estar relacionado à formação de uma estrutura estanoxânica.

Tabela 5.3 – Parâmetros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  para os derivados organoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ) e de seus precursores\*.

Compostos	$\delta$ (mm/s) (0,05)	$\Delta$ (mm/s) (0,05)	Area (%) (1)	Wid (mm/s) (0,05)
$\text{Me}_2\text{SnCl}_2^*$	1,54	3,55		
$\text{Bu}_2\text{SnCl}_2^*$	1,63	3,45		
$\text{Ph}_2\text{SnCl}_2^*$	1,48	2,80		
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{L})]$	1,15	3,22	100	0,91
$[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{L})]$	1,40	3,39	100	0,90
$[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]$				
Sítio 1	0,58	1,99	88	0,90
Sítio 2	0,95	2,77	22	0,90

\* Referências 4 e 5.

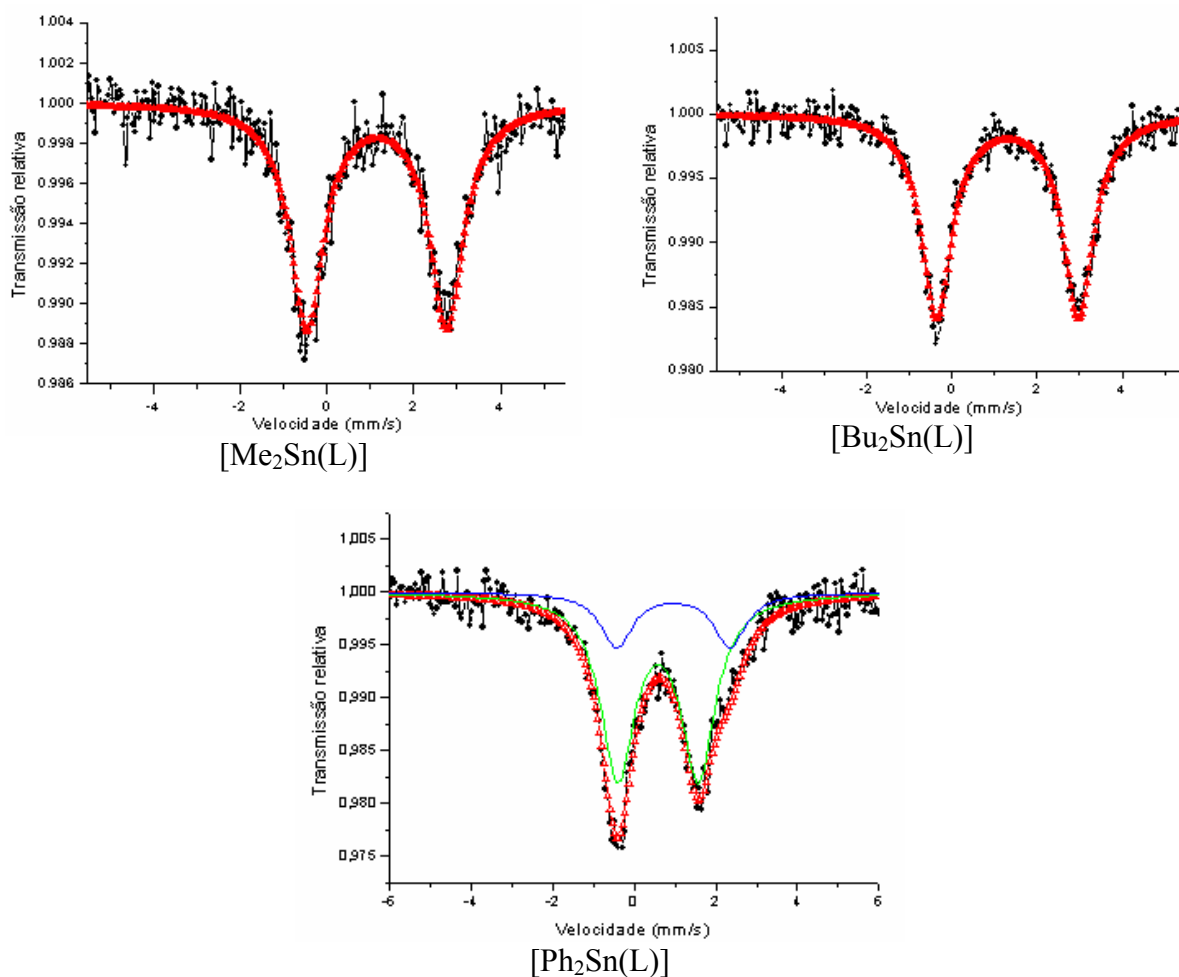


Figura 5.4 - Espectros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  dos derivados diorganoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ )

Os resultados espectroscópicos na região do infravermelho e os de ressonância magnética nuclear são consistentes com as considerações anteriores e permitem a proposição estrutural apresentada na Figura 5.5.

Os dados de espectroscopia na região do infravermelho, mostrados na Tabela 5.1, permitem constatar a presença do estiramento  $\nu_{(\text{Sn-O})}$  em 414, 420 e 448  $\text{cm}^{-1}$  para os compostos diorganoestânicos, caracterizando a interação entre o átomo de estanho do reagente diorganoestânico e o átomo de oxigênio presente na base de Schiff ( $\text{H}_2\text{L}$ ). A análise dos RMN de  $^1\text{H}$  de todos os complexos mostra a permanência do átomo de hidrogênio carboxílico na estrutura molecular dos compostos. A RMN de  $^{119}\text{Sn}$  sugere a presença de átomos de estanho tetracoordenados nas estruturas em solução. A espectroscopia Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  sugere a presença de átomo de estanho no estado de oxidação +4, sugerindo ainda, para o derivado difenílico a presença de duas estruturas moleculares ligeiramente diferentes, sendo possível sugerir a formação de estanoxanos em menor proporção.

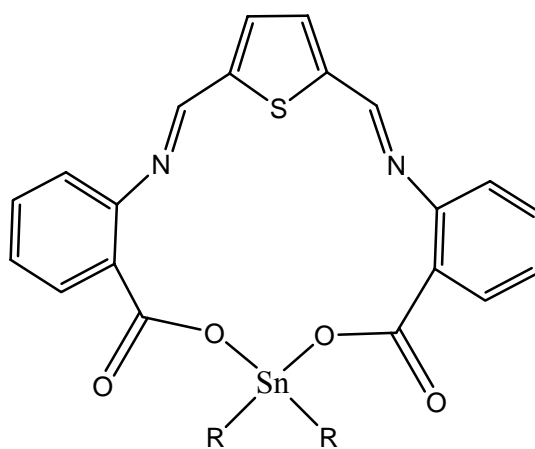


Figura 5.5 – Fórmula estrutural proposta para os derivados diorganoestânicos do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico ( $\text{H}_2\text{L}$ ), R = Me, Bu, Ph.

## 5.2. Avaliação da Bioatividade

### 5.2.1. Atividade Antifúngica

Os compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{L})]$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{L})]$ , bem como o ligante livre ( $\text{H}_2\text{L}$ ), foram inativos frente a culturas dos fungos *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum* em ágar na concentração de 1,0 mg/mL. Este ensaio foi realizado em triplicata.

O derivado difenílico  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]$  apresentou-se ativo na concentração de 1,0 mg/mL, com a formação de um halo médio de  $21,67 \pm 2,08$  mm de diâmetro frente a cultura de *C. neoformans*, diferindo-se estatisticamente do medicamento usado como controle, cetoconazol, o qual apresentou halo médio de inibição de  $34,67 \pm 1,15$  mm.

Este mesmo composto produziu halo de inibição com valor médio de  $24,67 \pm 1,21$  mm frente à cultura do fungo *C. sphaerospermum*. No entanto, este valor não diferiu significativamente do medicamento usado como controle, cetoconazol, o qual apresentou valor médio de  $26,67 \pm 4,73$  mm ( $P < 0,05$ ). Os gráficos resultantes são apresentados na Figura 5.6.

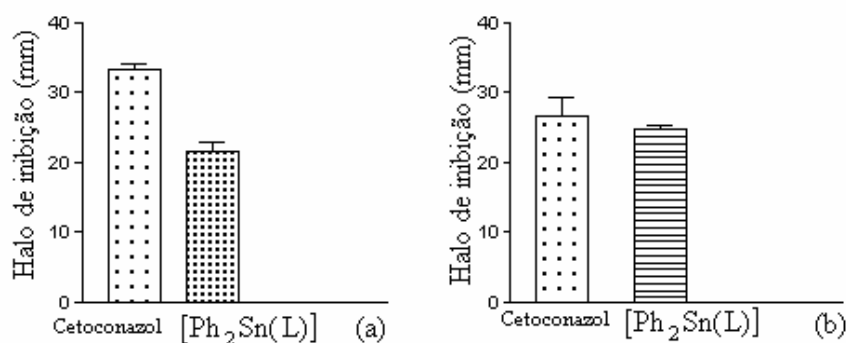


Figura 5.6 - Valores médios dos diâmetros dos halos de inibição produzidos por 1 mg/mL do composto  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]$  frente à cultura dos fungos (a) *C. neoformans* e (b) *C. sphaerospermum*.

O composto difenílico inibiu o crescimento da levedura *C. albicans* apenas em solução. Em ágar, este complexo não apresentou qualquer inibição. Uma explicação para este fato pode estar na solubilidade deste derivado. Como não apresenta solubilidade em

água, suas moléculas podem ter apresentado dificuldade de difusão no ágar, que é um meio semi-sólido (gel), o que tornaria sua atividade reduzida. Por outro lado, ao ser dissolvido em DMSO e adicionado ao meio de cultura, suas moléculas encontravam-se com maior grau de liberdade para inibir o fungo e neste caso, o composto [Ph<sub>2</sub>Sn(L)] apresentou MIC de  $24,64 \times 10^{-3}$  mmol/L frente a *C. albicans*.

A concentração mínima inibitória apresentada pelo derivado fenílico frente ao fungo *C. neoformans* foi de  $0,19 \times 10^{-3}$  mmol/L.

O Anexo II, mostra uma placa de cultura, contendo o fungo *C. albicans* e a determinação da concentração mínima inibitória do composto [Ph<sub>2</sub>Sn(L)] frente à levedura citada.

### 5.2.2. Avaliação da Atividade Antileishmanial

Para a avaliação da viabilidade celular das formas promastigostas de *Leishmania (leishmania) chagasi*, cepa MCAN/BR/2002/BH 400, cultivadas em contato com o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) e seus derivados organoestânicos usou-se o ensaio colorimétrico, adicionando-se o corante azul de tripan, para que fossem contadas sob microscópio óptico.

Os compostos foram dissolvidos em alíquotas de metanol e logo após foram adicionados ao meio de cultura de forma a se ter a concentração de 195 µg/mL.

Previamente, realizou-se um ensaio com o parasita a fim de avaliar a influência de solventes. O metanol não afetou o crescimento dos microorganismos na concentração que foi usado.

A cultura de *L. chagasi* foi mantida em contato com a base de Schiff (H<sub>2</sub>L) e os derivados organoestânicos durante 20 h. A viabilidade dos parasitas foi avaliada nos intervalos de 2, 4, 6 e 20 h após o início do contato com os compostos em teste. A Tabela 5.4 evidencia a viabilidade dos parasitas após o tempo de contato estipulado. Observa-se que a base de Schiff (H<sub>2</sub>L), tem ação leishmanicida causando a morte de 10 % dos parasitas após 2 h de contato. Esta porcentagem aumenta 2,5 vezes quando o período de contato duplica. O composto dibutílico [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] reduz em 40 % a viabilidade celular depois de 2 h; após 6 h apenas 20 % dos parasitas permanecem vivos. Já o composto fenílico [Ph<sub>2</sub>Sn(L)] age após 4 h em todos os parasitas, inclusive desintegrando-os. O

composto metílico [Me<sub>2</sub>Sn(L)] inibe a viabilidade dos parasitas, reduzindo a aproximadamente 40% após 2 h, 60% depois de 4 h, 80% após 6 h. Após 20 horas de interação entre os protozoários leishmânicos e os compostos organoestânicos, a mortalidade dos parasitas foi 100 %.

Tabela 5.4 – Viabilidade das formas promastigotas de *L. chagasi* (%) após incubação com o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) e seus derivados diorganoestânicos.

Compostos	Concentração = 195 µg/mL			
(H <sub>2</sub> L)	89	75	73	*
[Me <sub>2</sub> Sn(L)]	64	39	19	0
[Bu <sub>2</sub> Sn(L)]	59	40	22	0
[Ph <sub>2</sub> Sn(L)]	50	0	0	0
Meio de cultura + solvente	100	100	100	100
Intervalo de tempo (horas)	2,0	4,0	6,0	20,0

\* Medida não realizada.

Devido à semelhança comportamental dos compostos [Me<sub>2</sub>Sn(L)] e [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] em culturas de *L. chagasi*, optou-se por acompanhar a atuação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) e de seu derivado metílico [Me<sub>2</sub>Sn(L)] na viabilidade dos protozoários.

1 µg/mL de ambos os compostos foi adicionado a culturas de *L. chagasi* e mantidas em condições favoráveis ao desenvolvimento destes protozoários por nove dias. A avaliação da viabilidade foi realizada em intervalos de 24 h. Como controle do experimento foi utilizado culturas de *L. chagasi* em: meio nutritivo, meio nutritivo contendo alíquota de metanol e meio nutritivo contendo o composto antimoniato de meglumina na mesma concentração dos compostos citados.

Os resultados desta avaliação foram plotados em forma de curva de crescimento conforme representado na Figura 5.7.

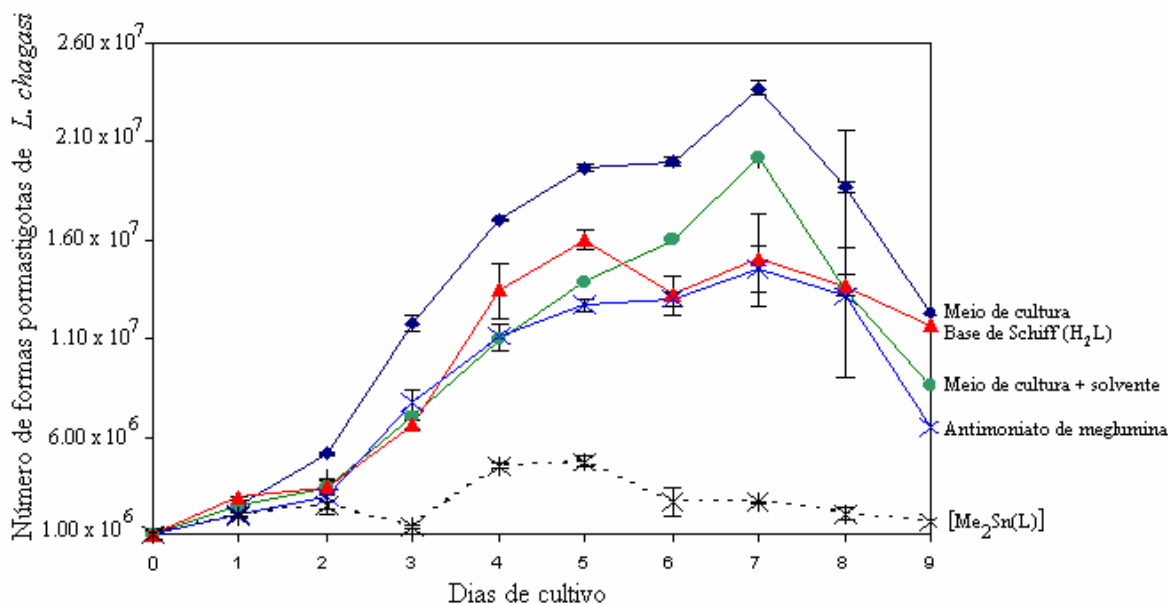


Figura 5.7 - Curva de crescimento das formas promastigotas de *L. chagasi* por 9 dias em contato com 1 µg/mL da base de Schiff (H<sub>2</sub>L) e do derivado dimetilico [Me<sub>2</sub>Sn(L)].

A cultura contendo o derivado organoestânico [Me<sub>2</sub>Sn(L)] apresentou um perfil de crescimento distinto das demais a partir do terceiro dia de incubação. Esta cultura permaneceu em fase ascendente de crescimento entre o 1º e o 2º dias de incubação, a partir de então, foi observada uma variação no comportamento dos protozoários viáveis, o número de parasitas vivos manteve-se bem abaixo dos apresentados pelas demais culturas, incluindo a cultura contendo o medicamento controle, antimoniato de meglumina.

Nas condições de cultivo utilizadas neste trabalho as culturas atingem a fase de declínio, após o 8º dia de incubação. No entanto, entre o 5º e 7º dia, algumas células apresentaram-se com mobilidade restrita e outras mostraram-se desintegradas.

Os compostos apresentaram inibição significativa na viabilidade dos parasitos ( $P < 0,05$ ). Tanto o composto organoestânico [Me<sub>2</sub>Sn(L)] quanto a base de Schiff (H<sub>2</sub>L) apresentaram comportamento semelhante ao antimoniato de meglumina,  $P < 0,05$ .

O estudo da dosagem do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) e do composto dimetilico [Me<sub>2</sub>Sn(L)], Figuras 5.1 e 5.5, tendo como medicamento controle o antimoniato de meglumina, frente ao crescimento das formas promastigotas de *L. chagasi* foi realizado nas seguintes concentrações: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 µg/mL. A Figura 5.8 exemplifica os resultados encontrados.

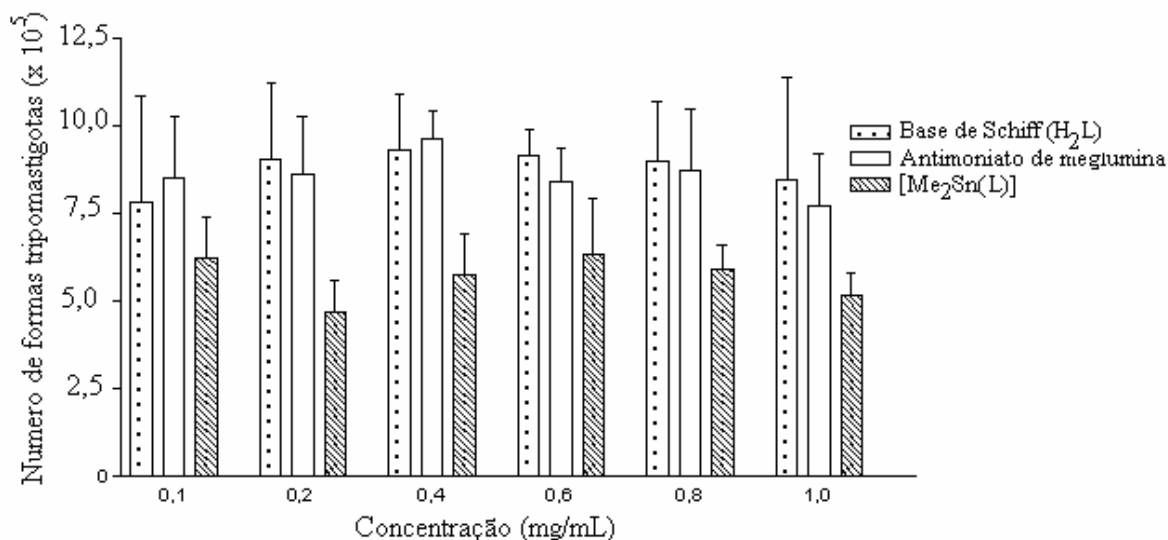


Figura 5.8 – Viabilidade das formas promastigotas de *L. chagasi* frente a variadas concentrações da base de Schiff (H<sub>2</sub>L) e do composto [Me<sub>2</sub>Sn(L)].

Observa-se o aumento da atividade leishmanicida do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico pela coordenação do átomo de estanho.

A literatura registra alguns relatos sobre a resistência apresentada por algumas formas de leishmania tratadas com derivados antimoniais<sup>6-8</sup>. Este fato instiga a busca por novos compostos que apresentem atividade satisfatória frente a este parasita. Tanto a base de Schiff (HL) quanto o composto organoestânico [Me<sub>2</sub>Sn(L)] avaliados neste trabalho podem representar nova opção de estudo para o desenvolvimento de drogas efetivas contra leishmanioses causadas por *L. chagasi*.



### 5.3. Screening Virtual de Alvos Biológicos com Possibilidades de Interação com o Ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico.

Técnicas computacionais permitem estudos prévios sobre a interação de moléculas orgânicas com alvos biológicos relevantes. Foi realizado o estudo de Docking Inverso a partir da estrutura do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) a fim de se conhecer outros alvos em potencial para a ação deste composto e seus derivados organoestânicos.

A estrutura desta base de Schiff (H<sub>2</sub>L) foi avaliada frente a 4100 alvos biológicos, 5 % deste montante foi selecionado para análise. Os códigos bem como a nomenclatura das proteínas com maior probabilidade de ação deste composto foram relacionados às doenças mais prováveis de acordo com bancos de dados disponíveis<sup>9-11</sup>.

A Tabela 5.5 apresenta um resumo dos principais alvos, as doenças associadas bem como o código do banco de dados de proteínas (PDB) associado.

Entre os alvos com maior probabilidade de ação estão o DNA ligase e a fosforilase, proteínas presentes na doença de Bloom e na Diabete, Figura 5.9. As Figuras 5.10 e 5.11 ilustram a interação da base de Schiff (H<sub>2</sub>L) com estas proteínas. As interações moleculares envolvidas na ligação entre o composto orgânico e o bioreceptor são principalmente interações de van der Waals e ligação hidrogênio.

No entanto, investigações *in vitro* e *in vivo* fazem-se necessárias a fim de confirmar este estudo.

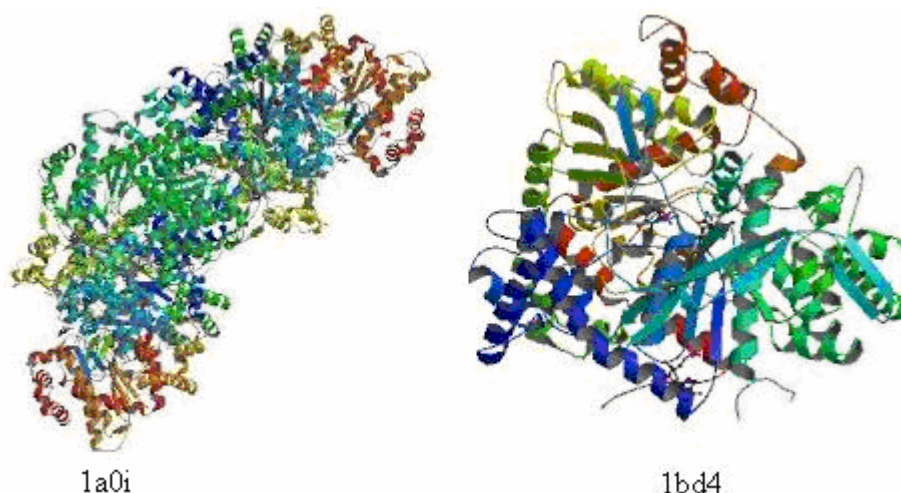


Figura 5.9 - Proteínas-alvo para o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, 1a0i (Doença de Bloom) e 1bd4 (Diabete).

Tabela 5.5 – Principais alvos relacionados com a previsão de ação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenoitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L).

<b>Proteína</b>	<b>Doença relacionada</b>	<b>PDB associado</b>
DNA ligase (ATP)	- Síndrome de Bloom	1a0i
Fosforilase	- Acidose láctica - Diabete	1b4d, 1kti, 1hlf, 115s
Glucose-6-fosfato 1-dehidrogenase	- Anemia	1qki
Gliceraldehido-3-fosfato dehidrogenase	- Adrenoleucodistrofia - Hiperglicemia	1cf2
Beta-lactamase	- Uretrite gonococal - Gonorreia	1bls
Exo-alfa-sialidase	- Acne vulgaris - Artrite	1eus, 1a4q
Fosfolipase A2	- Pancreatite aguda - Asma	1b4w
Glucose-6-fosfato isomerase	- Diabetes	1hox
Argininosuccinato sintase	- Citrullinemia	1j20
Citrato sintase	- Hidroxiacil-CoA dehidrogenase	2cts
Glutationa transferase	- Hepatite - Claudicação intermitente	3gst
Colesterol oxidase	- Hypercolesterolemia	3cox
Proteína kinase	- Pacreatite aguda - Infecções por adenovírus - Doença de Alzheimer	1bl6, 1ouy
Dihidrofolato redutase	- Infecções por adenovírus	1kmv
Trombin	- Síndrome coronária aguda	1ghw
Celulase	- Asma	1ece
Aspartato transaminase	- Infarto agudo do miocárdio - Adrenoleucodistrofia	1ama
Thimidina kinase	- AIDS - Anemia - Infecções por adenovírus	1p7c, 1e2j
Síntese do óxido nítrico	- Doenças cardiovasculares - Isquemia cerebral	1fol
Adenosina deaminase	- Hepatite viral aguda	1ndz
Ribonuclease T2	- Falência dos rins	1j1f

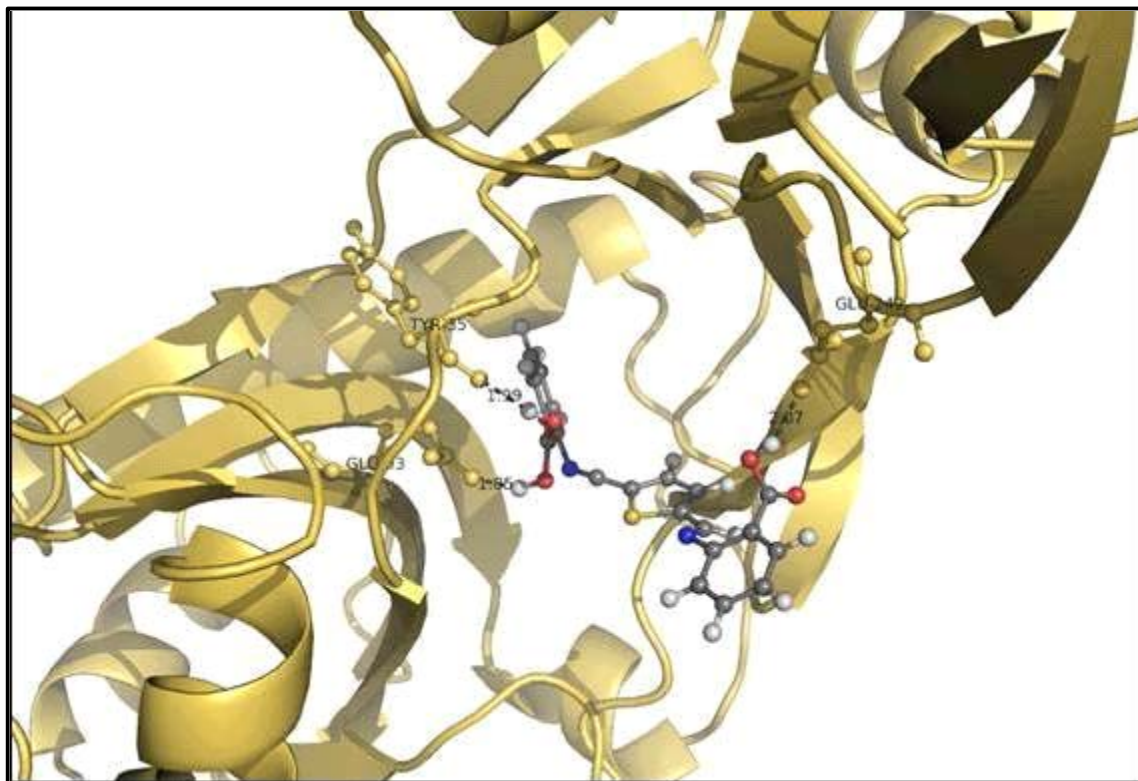


Figura 5.10 – Interação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) com a proteína DNA ligase.

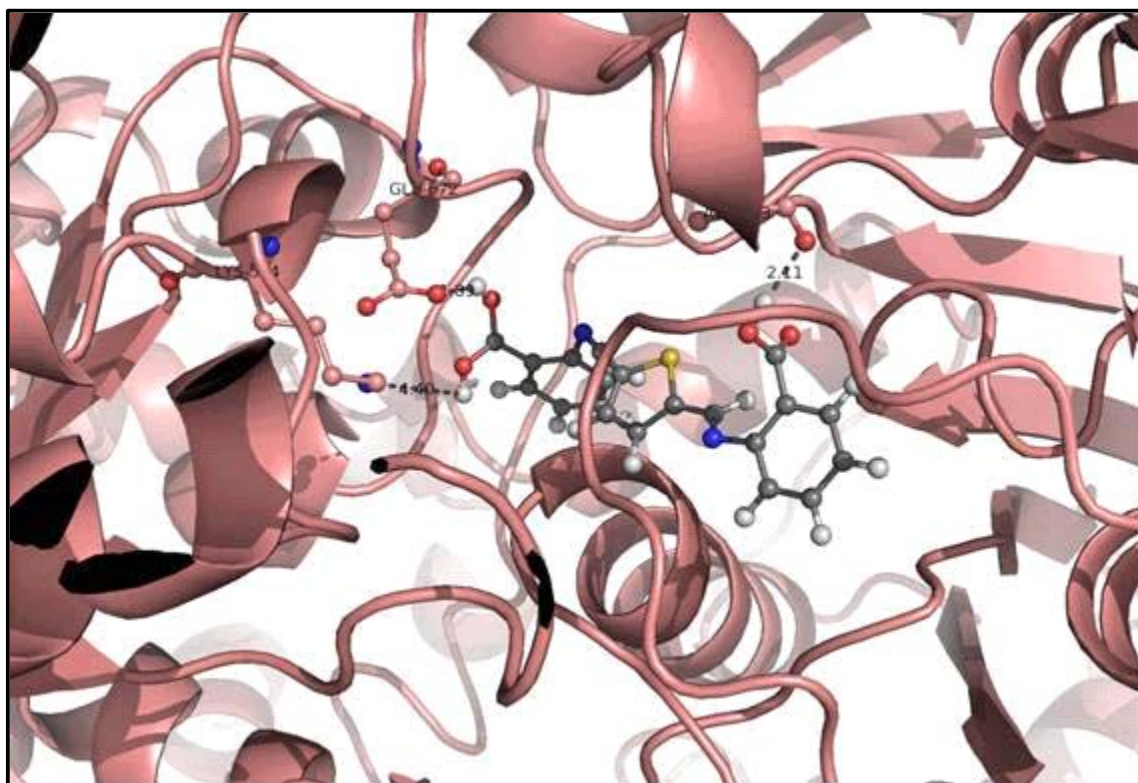


Figura 5.11 - Interação do ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico (H<sub>2</sub>L) com a proteína fosforilase.

#### **5.4. Referências Bibliográficas**

1. Spinu, C.; Kriza, A.; Spinu, L.; Acta Chim. Slov. 48 (2001) 257.
2. Neumann, W.P.; The organic chemistry of tin. Londres: 1970.
3. Mohamed, G.G.; Omar, M.M.; Hindy, M.M.; Spectrochim. Acta A, 62 (2005) 1140.
4. Omae, I.; Organotin chemistry. New York: 1987.
5. Poller, R.C.; The chemistry of organotin compounds. Britain: 1970.
6. Passos, V.A.M.; Barreto, S.M.; Romanha, A.J.; Krettli, A.U.; Volpini, A.C., Costa, M.F.F.L.; Bull. WHO, 78 (2000) 968.
7. Romero, G.A.S.; Bull. WHO, 79 (2001) 1169.
8. Romero, G.A.S.; Guerra, M.V.F.; Paes, M.G., Macedo, V.O.; Clinical of Infectious Disease, 32 (2001) 1304.
9. <http://www.rcsb.org/pdb.do>
10. <http://www.geneontology.org/Go.doc.shtml>
11. <http://www.brenda.uni-koeln.de/>

## *Capítulo 6*

*Síntese, Caracterização e Avaliação da  
Bioatividade de Compostos de Sn(IV)*

*Derivados do*

*Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico*

### 6.1. Caracterização do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico

O preparo do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, ( $C_{13}H_{13}NO_3$ ), aqui codificado como (Hboz), foi mencionado na literatura em uma reação de condensação com isopropilideno arilidenomalonato<sup>1</sup>, na qual o composto foi obtido com o rendimento de 37 %. Não foi realizada nenhuma determinação de estrutura de raios-X de monocristal. Neste estudo, ele foi sintetizado de forma diferente da descrita na literatura, obtendo-se o produto com rendimento de 75 % com a faixa de fusão de 184 -185,5 °C. A análise elementar confirmou a proposta de fórmula molecular esperada para este ligante.

A reação entre o ácido antranílico e o 1,3-ciclohexadiona tem, em princípio, a possibilidade de produzir o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico em duas formas tautoméricas, conforme mostrado na Figura 6.1.

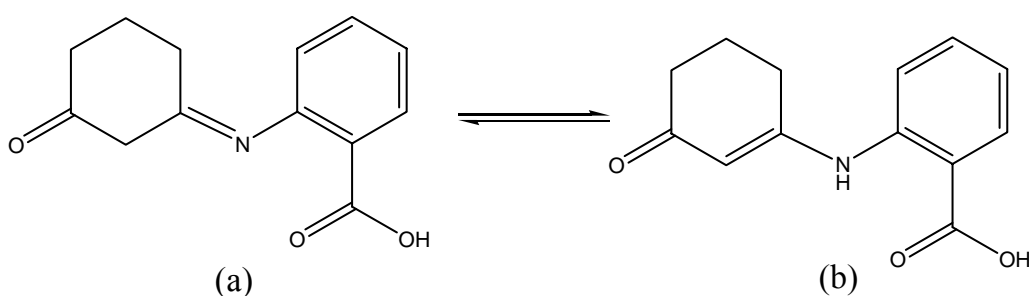


Figura 6.1 - Formas tautoméricas do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, (Hboz): (a) imina e (b) enamina.

#### 6.1.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A banda de média intensidade em  $1376\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à absorção de  $\nu_{C-N}$ , evidenciando a formação deste composto.

A vibração  $\nu_{C=O}$  foi atribuída à banda de absorção com intensidade mediana em  $1675\text{ cm}^{-1}$ . O surgimento de fracas bandas em  $3470$  e  $3365\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas respectivamente aos estiramentos assimétrico  $\nu_{as(N-H)}$  e simétrico  $\nu_{s(N-H)}$ , sugere a forma tautomérica enamina, representada na Figura 6.1 (b), como o tautômero mais provável no estado sólido.

### 6.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear

Para o estudo dos espectros de ressonância magnética multinuclear, os átomos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>), foram numerados de acordo com a Figura 6.2 para uma melhor explanação dos deslocamentos químicos.

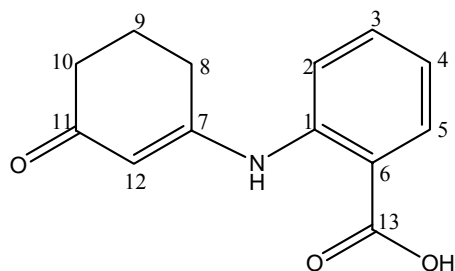


Figura 6.2 - Estrutura do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H deste composto, em solução metanólica deuterada, observou-se a presença de dois simpletos localizados em  $\delta$  3,20 e 5,58; os quais foram atribuídos aos átomos de hidrogênios ligados aos átomos de carbono (C12) e ao átomo de nitrogênio (N-H). Estes dados dão sustentação aos sugeridos pela espectroscopia na região do infravermelho, indicando a manutenção da estrutura molecular como enamina também em solução. O sinal característico do hidrogênio pertencente ao grupo -COOH não foi observado. Este átomo pode estar envolvido em troca rápida com o deutério do solvente usado na dissolução do composto para esta análise. Os átomos de hidrogênio presentes no anel aromático apresentaram deslocamento dos prótons na faixa de  $\delta$  7,09 – 7,97 (C 2, 3, 4 e 5), enquanto os sinais provenientes do anel ciclohexanodiônico foram evidentes na faixa de  $\delta$  1,92 – 2,17 (C 8, 9, 10 e 12).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C deste ligante apresentou sinais referentes aos carbonos aromáticos em  $\delta$  141,93 – 122,94 (C1-C6); o sinal em  $\delta$  201,89 foi atribuído ao grupo -C=O (C11), pertencente ao anel ciclohexanodiônico, enquanto o sinal em  $\delta$  170,38 foi atribuído ao carbono do grupo -COOH (C13), pertencente ao anel aromático. O sinal em  $\delta$  165,43 foi atribuído ao átomo de carbono C7 o qual encontra-se ligado ao átomo de nitrogênio. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C podem ser observados nas Figuras 6.3 e 6.4, respectivamente.

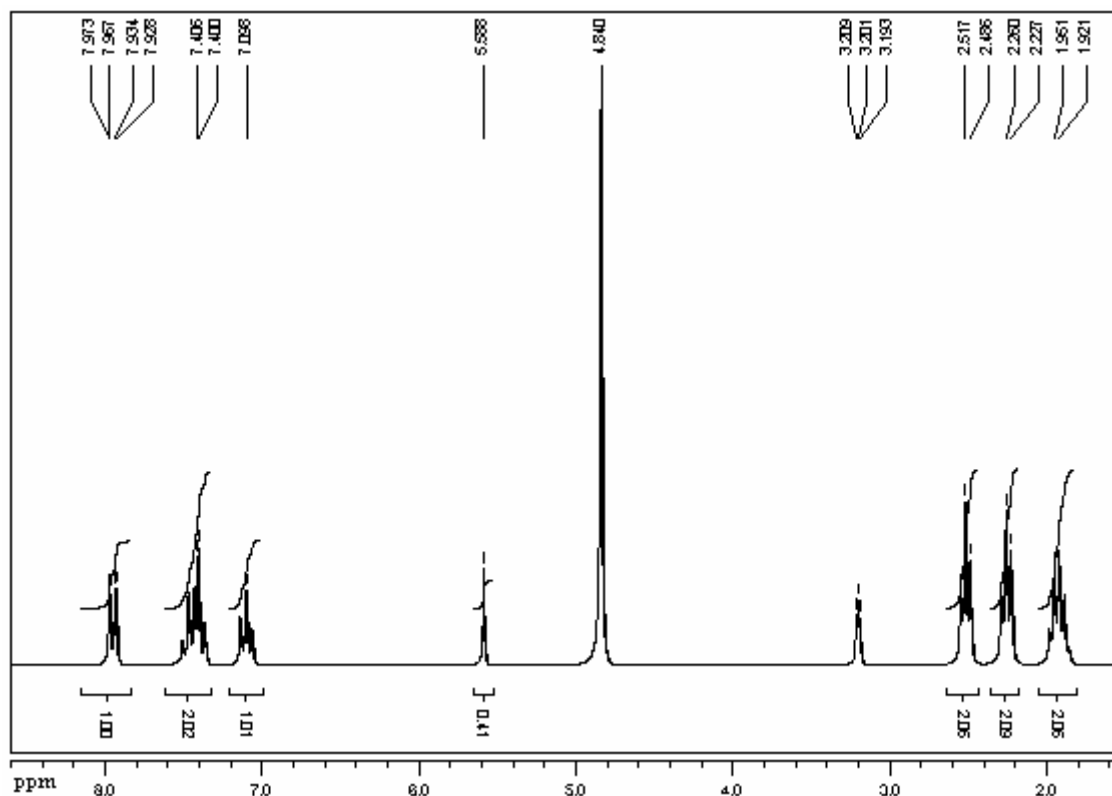


Figura 6.3 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz), em MeOD.

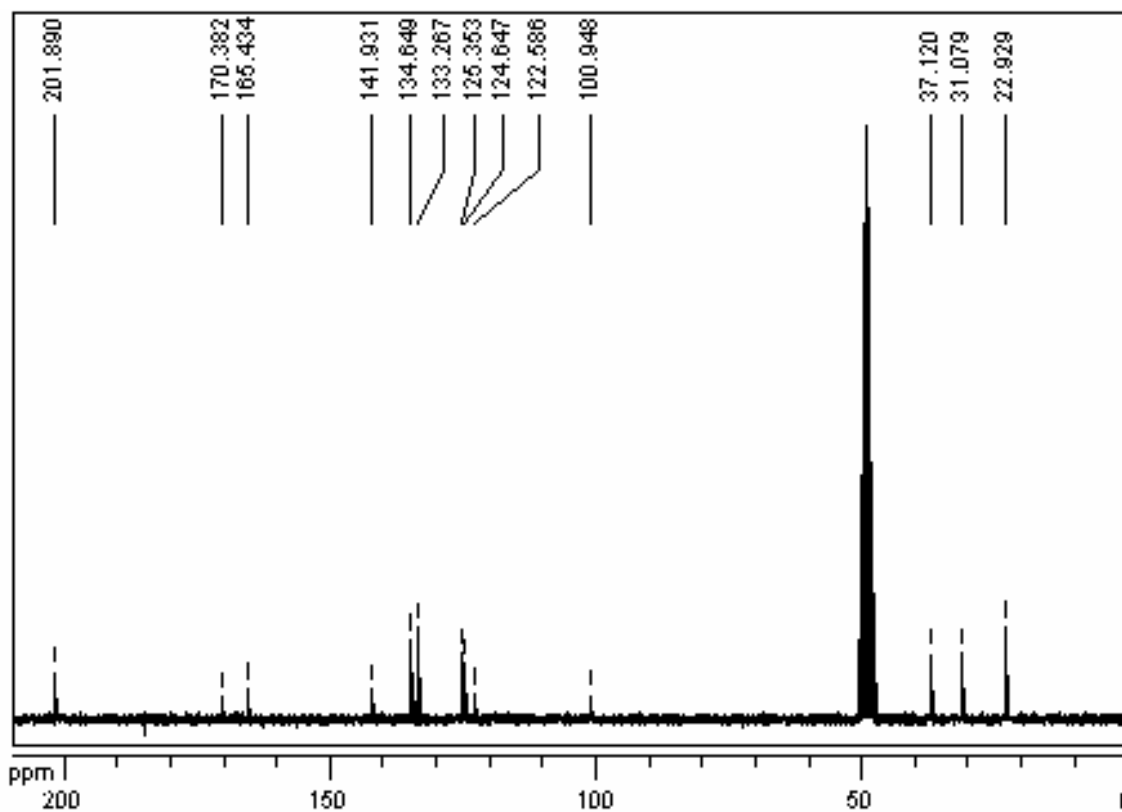


Figura 6.4 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz), em MeOD.



### 6.1.3. Cálculos semi-empíricos para verificação da estabilidade de confórmeros do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)benzóico (Hboz)

Ao ser analisado no estado sólido, por absorção na região do infravermelho, os dados sugeriram que neste estado físico o composto orgânico exista, em maior proporção, na forma tautomérica enamina, Figura 6.1 (b). Em solução, por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ , os dados espectrais também sugeriram a predominância do tautômero enamina. Para a especulação da conformação mais estável deste composto no estado gasoso, fez-se o uso de cálculos computacionais semi-empíricos. Tais cálculos foram realizados a partir da otimização da geometria de ambos os tautômeros, usando o programa Spartan <sup>2</sup>. A conformação imina, Figura 6.1 (a), apresentou energia de formação igual a -96,261 kcal/mol, enquanto a energia de formação para a conformação enamina foi de -94,789 kcal/mol. Estes cálculos sugerem que o confórmero de menor energia e, portanto o mais estável, no estado gasoso, seja o confórmero imina, Figura 6.1 (a).

### 6.1.4. Estrutura Cristalográfica do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Cristais do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz), foram obtidos por evaporação lenta em solução de metanol e água na proporção de 9:1. Este ácido foi cristalizado com duas moléculas por unidade assimétrica. Em cada molécula o anel ciclohexano adotou a conformação distorcida. As distâncias de ligação C1-N, N-C7, C7=C12, C12-C11, C1'-N', N'-C7', C7'=C12' e C12'-C11', Tabela 6.1, sugerem que o tautômero enamina, Figura 6.1 (b), está presente na estrutura cristalina preferivelmente à imina, normalmente esperada em reações de base de Schiff. Os ângulos de ligação C-N-C, 131,6 (3)<sup>o</sup> e 130,7 (3)<sup>o</sup> são típicos de N sp <sup>3</sup>.

Tabela 6.1 – Distâncias de ligação selecionadas (Å) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. Desvios padrão entre parênteses.

C1-N	1,407 (5)	C1'-N'	1,396 (5)
N-C7	1,359 (5)	N'-C7'	1,366 (5)
C7=C12	1,364 (5)	C7'=C12'	1,358 (5)
C12-C11	1,433 (5)	C12'-C11'	1,425 (5)

A determinação cristalográfica revelou que este ácido existe em um arranjo pseudo-polimérico no estado sólido, mantido por ligações de hidrogênio intermoleculares O-H...O. As moléculas se conectam via grupos carboxilas e C=O vizinhos, Figura 6.5.

Observou-se que a distância entre os carbonos C7 - C12 foi de 1,364 Å no grupamento ciclohexano, apresentando-se com menor comprimento quando comparado às outras ligações entre carbonos, as quais variam de 1,429 a 1,520 Å, evidenciando que a primeira distância citada indica a formação de dupla ligação entre os átomos. Os dados cristalográficos são concordantes com os dados de infravermelho e de ressonância magnética nuclear, os quais sugerem a predominância da forma tautomérica enamina, Figura 6.1 (b).

O método usado para refinamento da estrutura cristalográfica encontra-se descrito na literatura<sup>3-5</sup>.

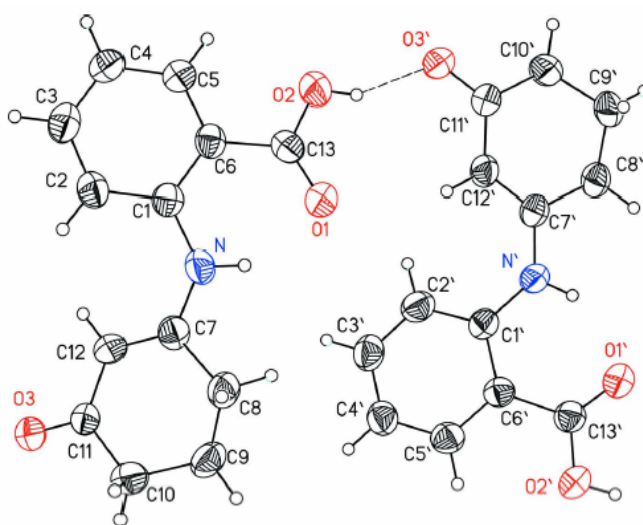


Figura 6.5 - Arranjo pseudo-polimérico mantido por ligações de hidrogênio intermoleculares, determinado por difração de raios-X em monocristal do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz).

A Tabela 6.2 apresenta as principais informações técnicas e dados cristalográficos obtidos na resolução da estrutura, as demais informações, tais como comprimento de ligação e ângulos, encontram-se no Anexo III.

Um trabalho contendo a determinação da estrutura cristalográfica deste composto foi publicado. O artigo encontra-se no Anexo VII.

Tabela 6.2 - Informações técnicas e dados obtidos da estrutura cristalina do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

---

Fórmula empírica	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	
Massa molar	231,24	
Temperatura	293 (2) K	
Comprimento de onda	0,7173 Å	
Sistema cristalino	ortorrômbico	
Parâmetros de cela	a = 11,3867 (11) Å	α = 90,0 °
	b = 13,0719 (9) Å	β = 90,0 °
	c = 15,3389 (14) Å	γ = 90,0 °
Volume	2283,2 (3) Å <sup>3</sup>	
Z	8	
Densidade calculada	1,345 mg / m <sup>3</sup>	
Coefficiente de absorção	2,340 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	976	
Tamanho do cristal	0,2 x 0,2 x 0,2	
Varição de θ	4,76 – 12,51°	
Reflexões coletadas	2266	
Método de refinamento	Matriz total mínimos quadrados em F <sup>2</sup>	

---

## 6.2. Caracterização dos Derivados Organoestânicos do Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz).

### 6.2.1. Análise Elementar

A composição estequiométrica calculada para os compostos foi confirmada pelos resultados fornecidos por esta análise.

### 6.2.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

As bandas dos espectros no infravermelho que caracterizam o modo de coordenação do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico ao átomo de estanho, bem como as atribuições destas, são mostradas na Tabela 6.3.

Tabela 6.3 - Frequência de vibração das principais ligações dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, em  $\text{cm}^{-1}$ .

Fórmula mínima	$\nu_{\text{C-N}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{Sn-O}}$	$\nu_{\text{Sn-C}}$
(Hboz)	1376 F*	1675 m	-	-
[Me <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	1373 m	1686 f	447 m	527 m
[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	1376 F	1674 m	472 m	561 m
[Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	1377 m	1673 m	453 m	526 m
[Me <sub>3</sub> Sn(boz)]	1366 m	1668 F	473 m	529 m
[Bu <sub>3</sub> Sn(boz)]	1374 m	1672 F	471 m	506 f
[Ph <sub>3</sub> Sn(boz)]	1376 F	1563 f	453 f	563 f

\* F = forte, m = media, f = fraca

Os espectros no infravermelho dos compostos organoestânicos apresentam bandas na região entre 1366 - 1377  $\text{cm}^{-1}$  que foram atribuídas ao estiramento da ligação  $\nu_{(\text{C-N})}$ . Absorções na região entre 1668 – 1686  $\text{cm}^{-1}$ , foram atribuídas ao estiramento  $\nu_{(\text{C=O})}$  presente nos compostos. As bandas entre 506 - 561  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a  $\nu_{(\text{Sn-C})}$ , enquanto as absorções entre 430 – 473  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à vibração  $\nu_{(\text{Sn-O})}$ . Bandas nestas regiões são características das absorções anteriormente citadas<sup>6</sup>. A variação entre os deslocamentos das absorções relacionadas a  $\nu_{(\text{C-N})}$  e a  $\nu_{(\text{C=O})}$  entre o ligante e os derivados organoestânicos foi muito pequena, a indicação de coordenação do ligante ao íon metálico foi sugerida pelo surgimento de bandas na região de absorção da vibração entre o átomo de estanho e o átomo de oxigênio,  $\nu_{(\text{Sn-O})}$ . Nenhuma banda na região de aproximadamente 300  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída à vibração  $\nu_{(\text{Sn-Cl})}$ <sup>6</sup>, foi encontrada nos espectros dos derivados organoestânicos.

### 6.2.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Multinuclear

As Tabelas 6.4 e 6.5 relacionam os sinais de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C para o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico e seus derivados de Sn(IV).

As atribuições dos hidrogênios bem como dos átomos de carbonos presentes nos espectros dos compostos foram feitas com base nos deslocamentos químicos atribuídos aos átomos do ligante. Todos os compostos exibiram semelhança nas feições espectrais do

ligante, com o acréscimo de sinais caracterizando a presença dos radicais orgânicos provenientes dos reagentes de estanho.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos observa-se a ausência do sinal correspondente ao hidrogênio do grupo carboxílico. Este fato acontece no ligante, possivelmente pela ocorrência da troca do átomo de hidrogênio deste grupo por um deutério presente no solvente usado para realização da análise. A ausência deste sinal nos espectros dos complexos pode sugerir a interação do átomo metálico com o oxigênio deste grupo. Para os demais sinais de hidrogênio, não foram observados grandes diferenças de deslocamentos químicos após complexação, em relação ao ligante, Tabela 6.4. Os hidrogênios provenientes dos radicais orgânicos ligados ao átomo de estanho se encontram em  $\delta$  1,6 e 2,1 para os radicais metilas nos compostos  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$  e  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ , respectivamente. Os hidrogênios dos radicais butila presentes nos compostos  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$  e  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ , se encontram no intervalo  $\delta$  0,8 – 1,3; enquanto os deslocamentos dos hidrogênios fenílicos dos compostos  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$  e  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{boz})]$  estão localizados entre  $\delta$  7,0 e 7,9.

De acordo com os resultados dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos de Sn(IV) pôde-se observar pequenos deslocamentos dos sinais dos átomos de carbono com relação às suas posições no ligante livre, Tabela 6.5. Os espectros dos compostos mostraram valores de deslocamento de carbono metílico em  $\delta$  11,7 para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$  e em  $\delta$  18,3 para o composto trimetílico  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ . Os átomos de carbonos butílicos, presente nos compostos  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$  e  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ , apresentaram-se com valores de deslocamento químico entre  $\delta$  9,3 – 26,9. Os espectros dos derivados fenílicos mostraram os átomos de carbono característico deste grupo em  $\delta$  134,0 – 138,0. Foi observada a presença de satélites de estanho no espectro do derivado trifenílico, fazendo-se possível o cálculo das constantes de acoplamento  $^1\text{J}$  e  $^2\text{J}$  ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{119}\text{Sn}$ ), as quais correspondem a 460,8 e 48,3 Hz, respectivamente. Os valores de acoplamento  $^1\text{J}$  ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{119}\text{Sn}$ ) para os demais compostos não puderam ser obtidos, por não serem observados satélites nos espectros de  $^{13}\text{C}$ .

Os sinais referentes aos átomos de estanho presentes nos espectros de RMN de  $^{119}\text{Sn}$  dos compostos derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico se deslocaram para frequências menores com relação aos compostos de partida usados na síntese. O átomo de estanho apresentou deslocamento químico em  $\delta$  -36 no derivado dimetílico; no derivado trimetílico em  $\delta$  97. O espectro do complexo dibutílico apresentou

sinal em  $\delta$  -82, enquanto o tributílico apresentou este deslocamento em  $\delta$  69. O espectro do composto trifenílico mostrou este deslocamento em  $\delta$  -193, o composto difenílico, apresentou  $\delta$  -161

De acordo com a literatura <sup>7</sup>, valores de deslocamento químico para átomos de estanho em espectros de RMN de <sup>119</sup>Sn no intervalo de  $\delta$  +200 a -60; de -90 a -190 e de -210 a -400 indicam o número de coordenação de 4, 5 e 6 respectivamente para o átomo de estanho em solução. Os espectros de RMN de <sup>119</sup>Sn dos compostos di- e trimetílico mostraram apenas um sinal para cada composto ( $\delta$  -36 e 97, respectivamente) típico de espécies tetracoordenadas, o espectro do composto dibutílico apresentou sinal em  $\delta$  -82 valor próximo aos sugeridos para espécies pentacoordenadas. O valor de deslocamento químico para o átomo de estanho no composto trifenílico ( $\delta$  = -193) está próximo a valores que sugerem a pentacoordenação do estanho.

Os pequenos deslocamentos químicos apresentados para os átomos de estanho presente nas estruturas em solução dos derivados diorganoestânicos podem ser causados pela blindagem deste núcleo promovido pela doação de densidade eletrônica a partir do ligante.

Tabela 6.4 - Deslocamento químico dos átomos de hidrogênio dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz), ( $\delta$ /ppm).

Nº C	(Hboz)* <sup>a</sup>	[Me <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>b</sup>	[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>c</sup>	[Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>d</sup>	[Me <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>	[Bu <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>	[Ph <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>
1	-	-	-	-	-	-	-
2	7,9 m	8,6 m	7,9 m	10,6 m	9,3 m	8,2 m	8,1 m
3	7,1 m	8,1 m	7,5 m	10,1 m	8,6 m	7,5 m	7,4 m
4, 5	7,4 m	7,7 m	7,1 m	10,0 m	8,3 m	7,1 m	7,0 m
NH	5,6 s	6,2 s	5,6 s	5,8 s	5,7 s	6,1 s	5,6 s
7	-	-	-	-	-	-	-
8	2,3 m	3,0 m	3,5 m	3,9 m	3,7 m	3,7 m	3,7 m
9	1,9 m	2,8 m	2,7 m	2,4 m	3,2 m	3,4 m	2,2 m
10	2,5 m	2,4 m	2,3 m	2,0 m	3,3 m	2,0 m	2,1 m
11	-	-	-	-	-	-	-
12	3,2 s	3,8 s	1,9 s	1,9 s	2,4 m	1,8 m	1,8 m
13	-	-	-	-	-	-	-
R	-	1,6 s	1,6 m 1,4 m 0,8 m 0,7 t	5,2 m 4,9 m 4,7 m	1,9 s	1,6 m 1,4 m 1,3 m 0,9 t	5,3 m 5,0 m 4,5 m

\*Solventes deuterados usados para a análise de RMN: <sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>, <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub> e MeOD, <sup>c</sup>CDCl<sub>3</sub> e acetona, <sup>d</sup>DMSO.

Tabela 6.5 – Deslocamento químico dos átomos de carbono do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico (Hboz) e dos derivados organoestânicos ( $\delta$ /ppm).

N° C	(Hboz)* <sup>a</sup>	[Me <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>b</sup>	[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>c</sup>	[Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub> <sup>d</sup>	[Me <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>	[Bu <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>	[Ph <sub>3</sub> Sn(boz)] <sup>d</sup>
13	201,9	199,5	201,1	200,3	199,7	201,8	199,2
7	170,4	173,4	170,5	169,6	171,5	173,9	173,1
9	165,4	162,6	168,1	166,3	160,7	164,9	162,4
8	141,9	141,8	137,9	140,8	141,6	140,9	142,8
5	134,6	133,9	132,6	133,2	133,1	132,7	134,0
3	133,3	133,6	131,3	131,9	132,5	132,2	133,7
2	125,4	124,4	127,9	129,3	122,4	124,4	125,3
4	124,6	124,2	126,9	123,0	120,9	122,5	124,0
6	122,6	101,6	126,0	121,6	119,4	126,0	122,6
1	100,9	101,6	96,6	101,9	101,9	96,6	102,6
12	37,1	37,6	36,9	35,7	58,4	31,5	48,3
10	31,1	31,2	28,0	31,9	36,3	29,3	38,8
11	22,9	22,8	27,7	21,2	21,4	28,0	23,5
R		11,7	26,9 20,9 17,4 13,6	162,1 135,9 129,1 116,5	18,3	22,9 20,2 14,1 9,3	138,8 130,9 130,1 129,4

\*Solventes deuterados usados para a análise de RMN: <sup>a</sup>CDCl<sub>3</sub>, <sup>b</sup>CDCl<sub>3</sub> e MeOD, <sup>c</sup>CDCl<sub>3</sub> e acetona, <sup>d</sup>DMSO.



#### 6.2.4. Espectroscopia Mössbauer de $^{119}\text{Sn}$

Os parâmetros dos espectros de Mössbauer obtidos para os compostos organoestânicos derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico são apresentados na Tabela 6.6.

Os valores de desvio isomérico ( $\delta$ ) dos complexos de Sn(IV) variaram entre 0,66 e 1,42 mm/s, confirmando a presença de Sn(IV) em todos os compostos, de acordo com a literatura <sup>8</sup>. Estes valores dependem da densidade eletrônica  $s$  em torno do núcleo de  $^{119}\text{Sn}$ , os quais podem ser modificados com a polaridade dos ligantes coordenados ao estanho. O desvio isomérico também depende da eletronegatividade dos grupos ligados ao estanho, variando inversamente com a eletronegatividade dos ligantes <sup>9, 10</sup>. Observou-se que os valores de desvio isomérico, para os compostos organoestânicos derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, apresentaram-se menores quando comparados aos dos reagentes de partida usados nas sínteses, Tabela 6.6, ocorrendo uma mudança na hibridação  $sp^3$  para  $dsp^3$  ou  $d^2sp^3$  diminuindo a densidade de elétrons  $s$  e conseqüentemente o  $\delta$  (mm/s).

O desdobramento quadrupolar ( $\Delta$ ) está relacionado à assimetria na distribuição eletrônica no átomo de estanho. Nos espectros obtidos para os compostos triorganoestânicos observou-se um aumento dos valores de assimetria em torno do centro metálico, com relação aos valores atribuídos aos reagentes de partida encontrados na literatura <sup>11</sup>; por outro lado, observou-se uma redução nestes valores de desdobramento quadrupolar para os derivados dibutílico e difenílico quando comparados aos valores dos reagentes de partida encontrados na literatura <sup>12</sup>. O derivado dimetílico apresentou desdobramento quadrupolar maior que seu reagente de partida. Os demais diorganoestânicos apresentam-se um pouco mais simétricos na distribuição eletrônica em torno do átomo metálico quando comparados aos respectivos reagentes de partida.

Os espectros obtidos para os derivados fenílicos, indicaram a presença de dois sítios de Sn(IV). Os parâmetros  $\delta = 0,59$  mm/s e  $\Delta = 2,08$  mm/s (78 %) são atribuído à formação do composto,  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ , enquanto os parâmetros  $\delta = 1,34$  mm/s e  $\Delta = 3,00$  mm/s (24%) podem ser atribuídos à formação do composto distanoxano  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ . Os maiores valores de desdobramento quadrupolar foram atribuídos ao composto distanoxano, que estruturalmente pode apresentar maior assimetria na distribuição de cargas em torno do estanho.

Os valores  $\delta = 1,22$  mm/s e  $\Delta = 3,16$  mm/s, correspondentes a 85 % das fases obtidas no espectro do derivado trifenílico foram atribuídas à formação de compostos como representado na Figura 5.14. Observa-se uma redução da assimetria em torno do átomo metálico para o sítio correspondente ao  $\delta = 0,66$  mm/s e  $\Delta = 2,04$  mm/s (15 %) em relação ao reagente de partida.

Na Figura 6.6 encontram-se os espectros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  para os compostos organoestânicos derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Tabela 6.6 – Parâmetros de Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Compostos	Sítio I		Sítio II	
	$\delta/\text{mms}^{-1}$	$\Delta/\text{mms}^{-1}$	$\delta/\text{mms}^{-1}$	$\Delta/\text{mms}^{-1}$
$[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$	1,27	4,19	-	-
$[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$	1,25	3,16	-	-
$[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$	0,59 (78%)	2,08	1,34 (24%)	3,00
$[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$	1,32	3,52	-	-
$[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{boz})]$	1,42	3,57	-	-
$[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{boz})]$	1,22 (85%)	3,16	0,66 (15%)	2,04
$\text{Me}_2\text{SnCl}_2$	1,54*	3,55*		
$\text{Bu}_2\text{SnCl}_2$	1,63*	3,45*		
$\text{Ph}_2\text{SnCl}_2$	1,48*	2,80*		
$\text{Me}_3\text{SnCl}$	1,41**	3,41**		
$\text{Bu}_3\text{SnCl}$	1,58**	3,40**		
$\text{Ph}_3\text{SnCl}$	1,35**	2,50**		

\* Referência 13; \*\* Referência 14.

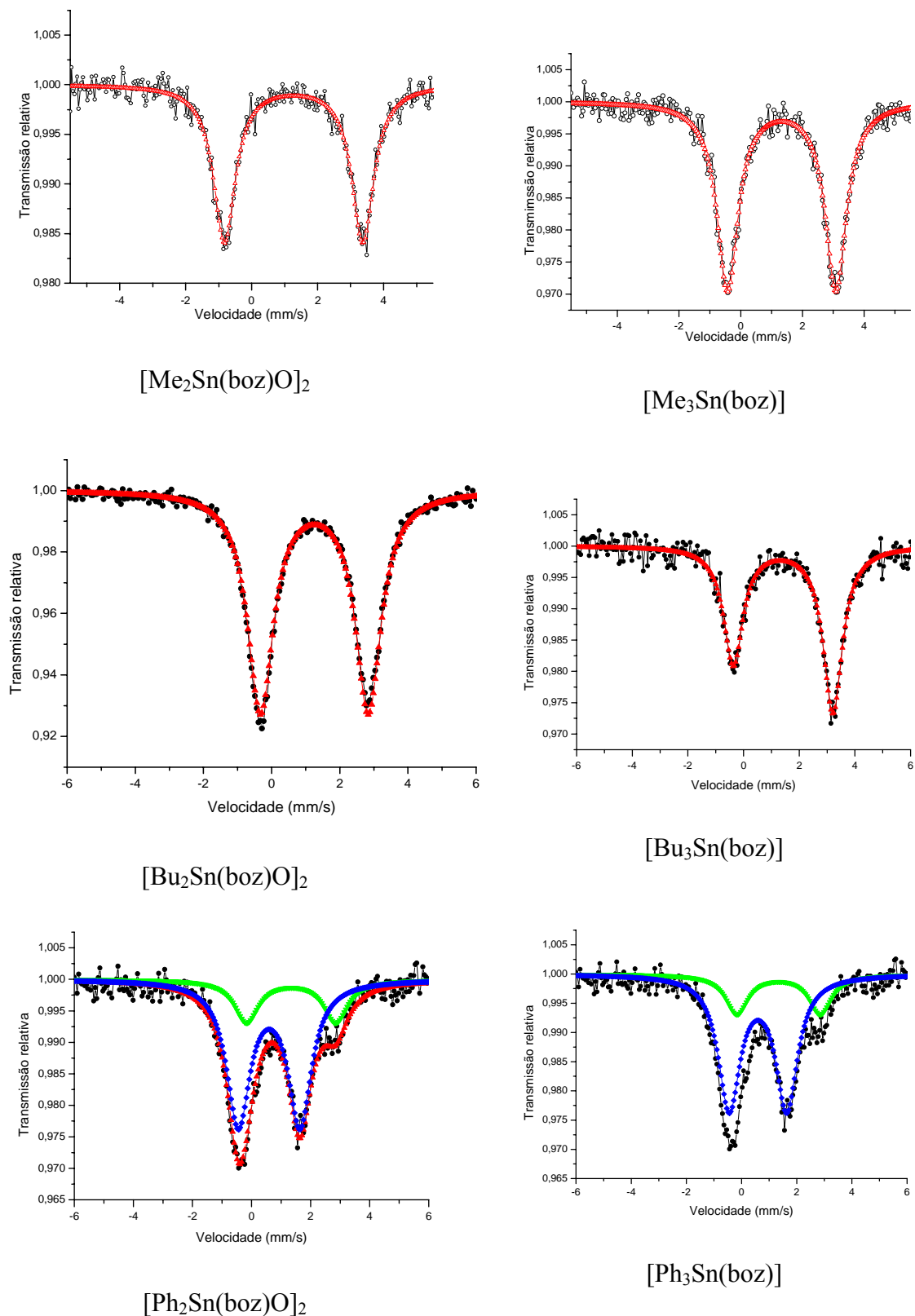


Figura 6.6 – Espectros Mössbauer de  $^{119}\text{Sn}$  dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

### 6.2.5. Difração de Raios – X em Monocristal.

Cristais dos compostos organoestânicos trimetílico e dibutílico derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico foram obtidos a partir da evaporação lenta de soluções dos complexos na mistura de metanol e água (9:1). Os dados cristalográficos e de refinamento destas estruturas estão apresentados na Tabela 6.7.

Tabela 6.7 - Informações técnicas e dados obtidos das estruturas cristalinas dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

	[Me <sub>3</sub> Sn(boz)]	[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>
Fórmula empírica	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> Sn	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>4</sub> Sn
Peso molecular	394,03	479,15
Temperatura (K)	273 (2)	293 (2)
Comprimento de onda (Å)	0,1073	0,71073
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Monoclínico
Grupo espacial	Fdd2	P 21/N
Parâmetros de cela		
a (Å)	30,626 (5)	15,007 (2)
b (Å)	12,981 (2)	10,2490 (10)
c (Å)	17,164 (2)	16,2130 (10)
α (°)	90,00	90,00
β (°)	90,00	116,290 (10)
γ (°)	90,00	90,00
Volume (Å <sup>3</sup> )	6823,6 (19)	2235,7 (4)
Z	16	4
Coefficiente de absorção	1,506	1,986
F(000)	3168	1190
Tamanho do cristal (mm <sup>3</sup> )	0,2 x 0,2 x 0,2	0,2 x 0,2 x 0,2
Varição de θ (°)	2,08 – 24,98	5,36 - 11,74
Reflexões coletadas	2329	5702
Método de refinamento	Matriz total mínimos quadrados em F <sup>2</sup>	

O estudo por difração de raios-X de monocristal, do derivado organoestânico trimetílico, o qual se cristalizou no sistema ortorrômbico de hábito prismático, revelou que este complexo, no cristal, forma uma cadeia estrutural polimérica, onde os ligantes interagem com o átomo de estanho via oxigênio carboxílico de modo monodentado e ainda com átomos de oxigênio do anel ciclohexanodiônico, Figura 6.7.

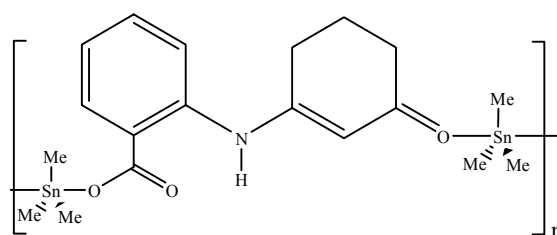


Figura 6.7 – Estrutura monomérica do  
*poli*-[trimetilestanho-3-{(carboxifenil)amino}ciclohexen-2-ona]

A estrutura cristalina apresenta o átomo metálico no centro de três grupos metilas e dois átomos de oxigênio, descrevendo uma bipirâmide trigonal. Os eixos equatoriais são ocupados por grupos metilas e as posições axiais por átomos de oxigênio.

As distâncias de ligação entre Sn-O1 e Sn-O3 são 2,174 (4) e 2,496 (4) Å, Tabela 6.8. Os ângulos entre C1-Sn-C2 e O1-Sn-O3, Tabela 6.9, são próximos a 120° e 180° como esperado para uma bipirâmide trigonal; pode-se dizer que no sólido, o átomo de estanho encontra-se pentacoordenado em um meio bipiramidal trigonal. A estrutura cristalina da Figura 6.8 mostra o sítio de estanho interagindo com ambos os átomos de oxigênio presentes no ligante, dando origem a uma estrutura polimérica.

Um estudo sobre a determinação estrutural desta molécula, por difração de raios-X, foi publicado. O artigo encontra-se no Anexo VII

A estrutura molecular do composto organoestânico dibutílico, determinada por difração de raios-X, Figura 6.9, é formada por um anel de quatro membros Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, onde cada átomo de estanho se encontra com número de coordenação igual a cinco, com dois grupos butilas e três átomos de oxigênio coordenados assimetricamente. Em cada unidade celular o átomo de estanho ocupa o centro da bipirâmide trigonal, as posições equatoriais são ocupadas por dois grupos butilas e um átomo de oxigênio, Sn-O4 2,029 Å, dando origem uma estrutura estanoxânica, na qual uma das posições axiais é ocupada pelo grupo carboxílico monodentado, Sn-O2 2,177(4). Este complexo dibutílico cristalizou-se no

sistema monoclinico de hábito prismático. Ele apresenta ainda os ângulos Sn-O4-Sn e O4-Sn-O4 de aproximadamente 70 e 110°, formando uma geometria bipiramidal trigonal distorcida.

Todos os comprimento e ângulos de ligação apresentados pelos derivados trimetílico e dibutílico estão dispostos nos Anexos IV e V, respectivamente.

Tabela 6.8 - Distâncias de ligação selecionadas (Å) dos derivados trimetílico e dibutílico do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. Desvios padrão entre parênteses

[Me <sub>3</sub> Sn(boz)]		[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	
Sn-C1	2,112 (5)	Sn-C14	2,110 (8)
Sn-C2	2,111 (6)	Sn-C18	2,121 (6)
Sn-C3	2,113 (6)	Sn-O4	2,029 (4)
Sn-O1	2,174 (4)	Sn-O2	2,177 (4)
Sn-O3	2,496 (4)		

Tabela 6.9 – Ângulos selecionados (°) dos derivados trimetílico e dibutílico do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. Desvios padrão entre parênteses.

[Me <sub>3</sub> Sn(boz)]		[Bu <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	
C1-Sn-C2	120,1 (3)	Sn-O4-Sn	108,13 (17)
O1-Sn-O3	174,13 (13)	O4-Sn-O4	71,87 (17)
C1-Sn-C3	125,5 (3)	O2-Sn-O4	155,03 (16)
C2-Sn-C3	112,5 (3)	C18-Sn-O4	93,3 (2)
C1-Sn-O1	94,73 (19)	O4-Sn-O2	83,47 (16)
C2-Sn-O1	90,8 (2)	C18-Sn-C14	140,8 (3)
C3-Sn-O1	97,9 (2)	O4-Sn-C14	107,1 (3)
C1-Sn-O3	79,46 (19)	C14-Sn-O2	98,3 (2)
C2-Sn-O3	91,4 (2)	C18-Sn-O2	92,2 (2)
C3-Sn-O3	86,3 (2)	O4-Sn-C18	111,6 (3)

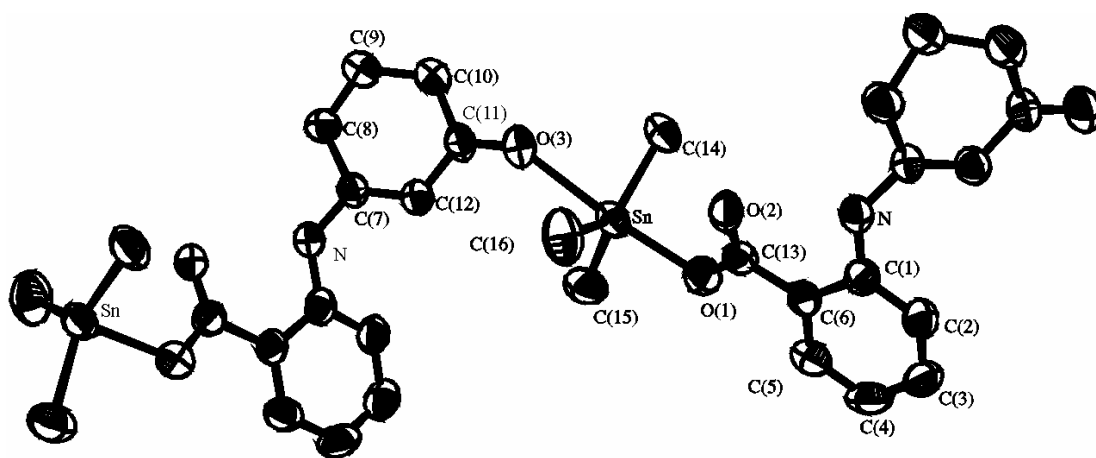


Figura 6.8 – Estrutura do composto [Me<sub>3</sub>Sn(boz)], determinada por estudo de difração de raios-X em monocristal.

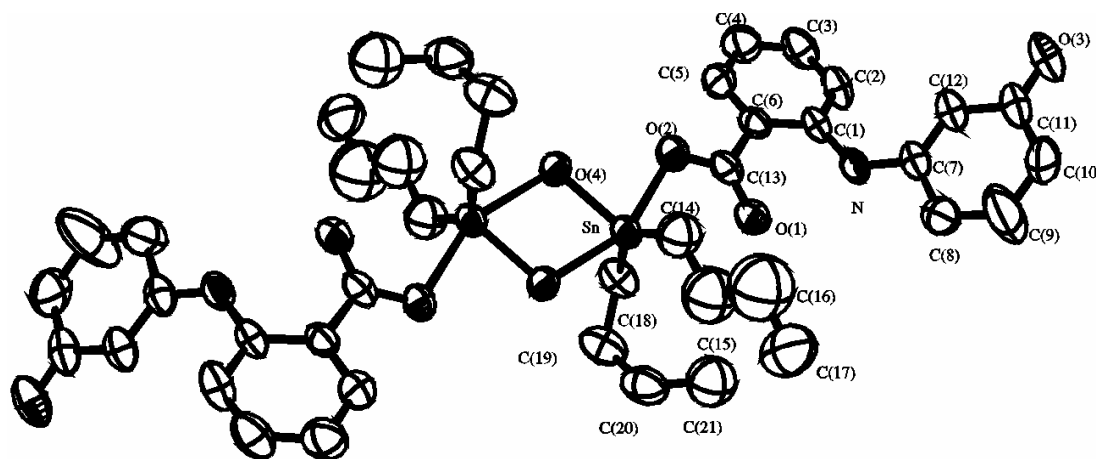


Figura 6.9 – Estrutura do composto [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>, determinada por estudo de difração de raios-X em monocristal.

### 6.2.6. Fórmulas Estruturais Propostas

De acordo com a análise na região de absorção do infravermelho, o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico interage com o átomo de estanho através do átomo de oxigênio carboxílico, não tendo sido evidenciada a presença de cloro nos compostos. As análises elementares e de RMN sugerem que as reações ocorreram na proporção de 1:1 entre o ligante e o átomo metálico. A espectroscopia Mössbauer sugere a presença de um átomo de estanho(IV) nos derivados metílicos e butílicos e a presença de uma estrutura secundária para os derivados fenílicos, a qual pode estar relacionada à formação de uma um anel Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no centro estrutural.

Um composto monoclorado era esperado como produto da reação entre o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico e os dicloreto de diorganoestânicos (Me<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>, Bu<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub> e Ph<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>) na presença de trietilamina, porém a determinação estrutural por difração de raios-X do derivado dibutílico, revelou a formação de uma estrutura estanoxânica, a qual vem complementar os resultados fornecidos pelas demais técnicas espectroscópicas. Uma sugestão para este fato pode ser a água adicionada no estágio final do método sintético, para remoção do cloridrato de trietilamina (NEt<sub>3</sub>HCl), que é um produto secundário desta reação, que talvez tenha promovido a hidrólise do produto esperado, gerando um derivado estanoxano como o principal produto da reação. Sendo assim, sugere-se que as estruturas dos derivados diorganoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico sejam estanoxânicas também, Figura 6.10 (a).

Para os derivados triorganoestânicos, sugere-se a estrutura representada na Figura 6.10 (b), a qual se encontra em concordância com os resultados obtidos pelos métodos de caracterização espectroscópica.



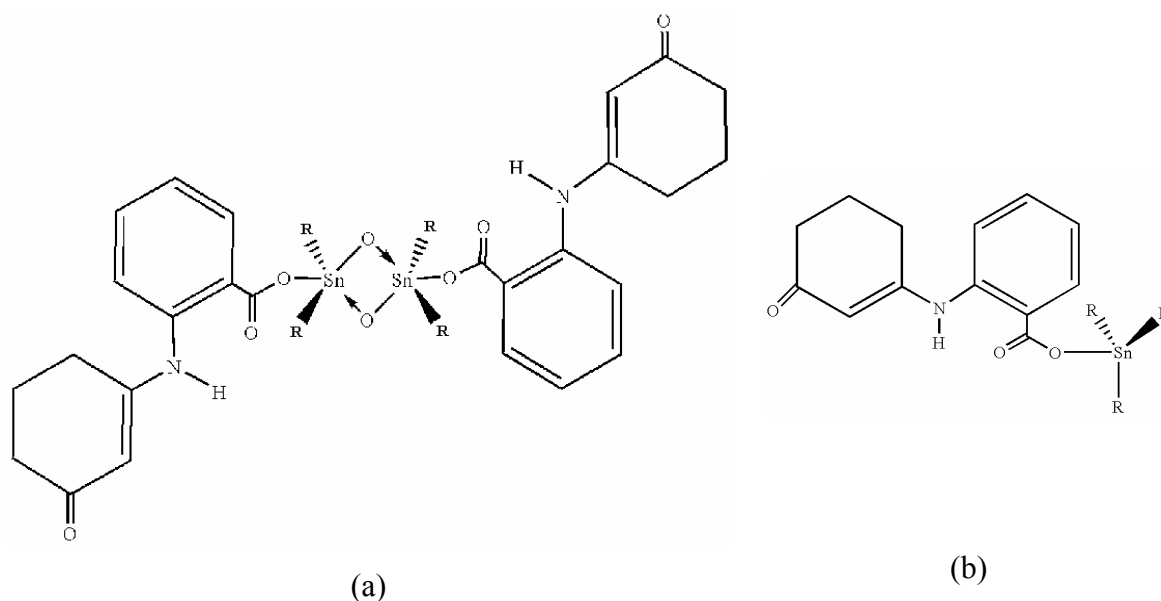


Figura 6.10 – Fórmulas estruturais propostas para os compostos diorganoestânicos (a) e triorganoestânicos (b) derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. R = Me, Bu, Ph.

### 6.3. Avaliação da Bioatividade

#### 6.3.1. Atividade Antifúngica

O composto orgânico 2-(3-oxociclohex-1-enil)benzóico (Hboz), bem como seus derivados dibutílico, di- e trimetílicos foram inativos frente aos fungos *C. neoformans*, *C. sphaerospermum* e *C. albicans* na concentração de 1,0 mg/mL.

Os derivados tributílico, di- e trifenílicos inibiram o crescimento do fungo *C. neoformans*. Estes compostos apresentaram os seguintes halos-médios de inibição  $22,33 \pm 2,25$  mm;  $22,00 \pm 3,85$  mm e  $22,83 \pm 2,56$  mm, respectivamente. Todos os compostos apresentaram halo de inibição significativamente menor que o cetoconazol, o qual apresentou halo médio de  $33,33 \pm 1,15$  mm (teste -t de Student,  $P < 0,001$ ).

Os compostos tributílico, di- e trifenílicos apresentaram halos médios de inibição de  $28,83 \pm 4,02$  mm;  $30,17 \pm 3,19$  mm e  $29,50 \pm 2,88$  mm, respectivamente frente a *C. sphaerospermum* na concentração de 1 mg/mL; no entanto estes valores não diferiram

estatisticamente do cetoconazol, medicamento usado como controle, o qual apresentou halo médio de inibição de  $26,67 \pm 4,73$  mm, com  $P < 0,001$ .

Apenas o derivado tributílico apresentou-se ativo frente a *C. albicans* produzindo halo de inibição de  $14,33 \pm 4,84$  mm. Este resultado foi significativamente menor quando comparado ao cetoconazol ( $P < 0,001$ ), com valor médio de  $34,67 \text{ mm} \pm 1,15$  mm.

### 6.3.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima.

O Anexo II, mostra uma placa na qual foram realizados os testes de microdiluição para determinação da concentração inibitória mínima (MIC) dos compostos organoestânicos para o fungo *C. albicans*.

Embora apenas o composto tributílico tenha apresentado inibição do crescimento de colônias de *C. albicans* em ágar; três dos derivados organoestânicos do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico foram ativos em solução, Quadro 6.1. Esta diferença de comportamento inibitório produzido pelos compostos organoestânicos quando em meio de cultura pseudo-sólido (ágar) pode ser devida à baixa mobilidade dos compostos em ágar, limitado por fracas interações entre os compostos metálicos e o meio pseudo-sólido, não se difundindo tão bem quanto o cetoconazol.

Quadro 6.1 – Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos do ácido cólico frente a fungos patógenos ( $\times 10^{-3}$  mmol/L).

	[Bu <sub>3</sub> Sn(boz)]	[Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	[Ph <sub>3</sub> Sn(boz)]	Cetoconazol
<i>C. albicans</i>	30,72	15,36	55,04	0,24
<i>C. neoformans</i>	0,24	0,03	0,05	0,06

Os compostos organoestânicos derivados do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico apresentaram atividade antifúngica frente ao fungo patógeno *C. albicans*, menores que o medicamento-controle, entretanto, a atividade apresentada pelo derivado difenílico foi melhor que a do cetoconazol, enquanto a inibição produzida pelo trifenílico foi semelhante ao medicamento-controle.

### 6.3.3. Bioatividade *in vivo* do composto 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano frente a *Trypanossoma cruzi*.

A literatura não tem relatado a atividade de compostos organoestânicos frente ao protozoário *Trypanossoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas, assim foram realizados ensaios para inibição do parasita com o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ , através da inoculação de formas tripomastigotas deste parasita em camundongos *Swiss*.

Os ensaios mostraram que este complexo não tem potencial com agente antichagásico, as formas tripomastigotas apresentaram-se resistentes ao complexo.

### 6.4. Screening Virtual de Alvos Biológicos com Possibilidades de Interação com o Ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

O ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico, (Hboz), sintetizado e utilizado neste capítulo como ligante na síntese de organoestânicos, foi submetido a screening virtual a bancos de dados de proteínas por métodos computacionais levando à identificação de novos alvos terapêuticos. Sua atividade foi avaliada frente a 4100 alvos biológicos; aqueles com maior probabilidade de serem inibidos estão descritos na Tabela 6.10.

Entre as proteínas terapeuticamente relevantes e possuidoras de potencial para interação com o composto orgânico, duas delas estão representadas na Figura 6.11. Estas figuras são baseadas em estruturas cristalinas de proteínas depositadas em bancos de dados disponíveis<sup>16-18</sup>.

Um modelo de interação entre o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico e a proteína HIV-1 retropepsin (1mtr), presente no vírus da imunodeficiência humana, bem como a proteína mRNA guanililtransferase (1ckm) presente na placa dentária e na artrite reumatóide, está representado em uma ampliação do sítio de interação das respectivas proteínas, Figuras 6.12 e 6.13, nas quais é apresentado um modelo tridimensional da interação das proteínas com o ácido em análise. Tanto (1ckm) quanto (1mtr) interagem com o ácido via átomos de hidrogênio ligado ao nitrogênio com o átomo de hidrogênio presente no resíduo de aspargina e ainda com o átomo de hidrogênio carboxílico do ácido com átomos de oxigênio arginina. As interações estão representadas por linhas tracejadas.

As interações moleculares envolvidas na ligação entre o composto orgânico e o bioreceptor podem ser interações de van der Waals, eletrostáticas, ligação hidrogênio e hidrofóbicas.

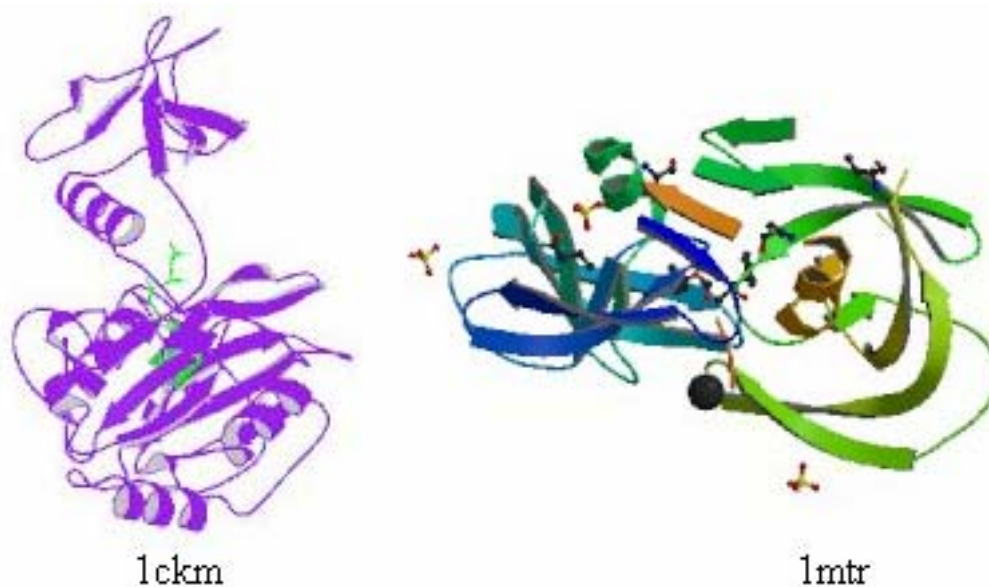


Figura 6.11 - Estrutura cristalográfica das proteínas-alvo, mRNA guanililtransferase (1ckm) e HIV-1 retropepsin (1mtr), para o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Tabela 6.10 - Proteínas terapeuticamente relevantes e possuidoras de potencial para interação com o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Proteína	Doença relacionada	PDB associado
Transferase	- <i>Escherichia coli</i> - <i>Toxoplasma gondii</i> - <i>Oryctolagus cuniculus</i> - <i>Thermophilic bacterium ps3</i> - <i>Herpes simplex</i> (tipo 1) - <i>Bacillus subtilis</i> - <i>Haemophilus influenzae</i>	1kdt, iaia, 1i1m, 1cq6, 1hlf, 1qkh, 1ftw, 1ftq, 1fty, 1e2n, 1n1d, 1vh3
HIV-1 Retropepsin	- Vírus da Imunodeficiência Humana	1mtr
mRNA Guanililtransferase	- Placa dentária - Artrite reumatóide	1ckm
Diidrofolato Redutase	- Infecções por adenovírus	1d1g
Frutose-bisfosfato aldolase	- Hepatite aguda	1ado
Acil-Coa dehidrogenase	- Aciduria	1egc
Timidina Kinase	- Anemia	1e2n
Carbonato Dehidratase	- Acidosis	1bnq
Beta-N-acetilhexosaminidase	- Gangliosidose juvenil Gm2 - Doença do fígado - Osteoartrite	1np0
Malate dehidrogenase	- Adrenoleucodistrofia	1mld
Glutathiona transferase	- Hepatite - Claudicação intermitente	1k3l
Fosfoglicerato mutase	- Deficiência de lactato dehidrogenase	1bq4, 1bq3
Aspartato transaminase	- Infarto agudo do miocárdio - Adrenoleucodistrofia crônica do fígado	1asc, 1aia, 1maq, 1cq6
Síntese do óxido nítrico	- Artrite - Asma - Isquemia cerebral - Doenças cardiovasculares	1p6n, 1d1x, 1lzz, 1df1, 1p6k, 1d1y, 1ed5, 7nse
Fosforilase	- Acidose - Diabete	1a8i, 1hlf, 1ftw, 1ftq, 1fty
Exo-alfa-sialidase	- Acne vulgaris	1ivb, 1ivf, 1f8c, 1a4g, 1inf, 1nnb, 1ivc
DNA ligase (ATP)	- Síndrome de Bloom	1a0i

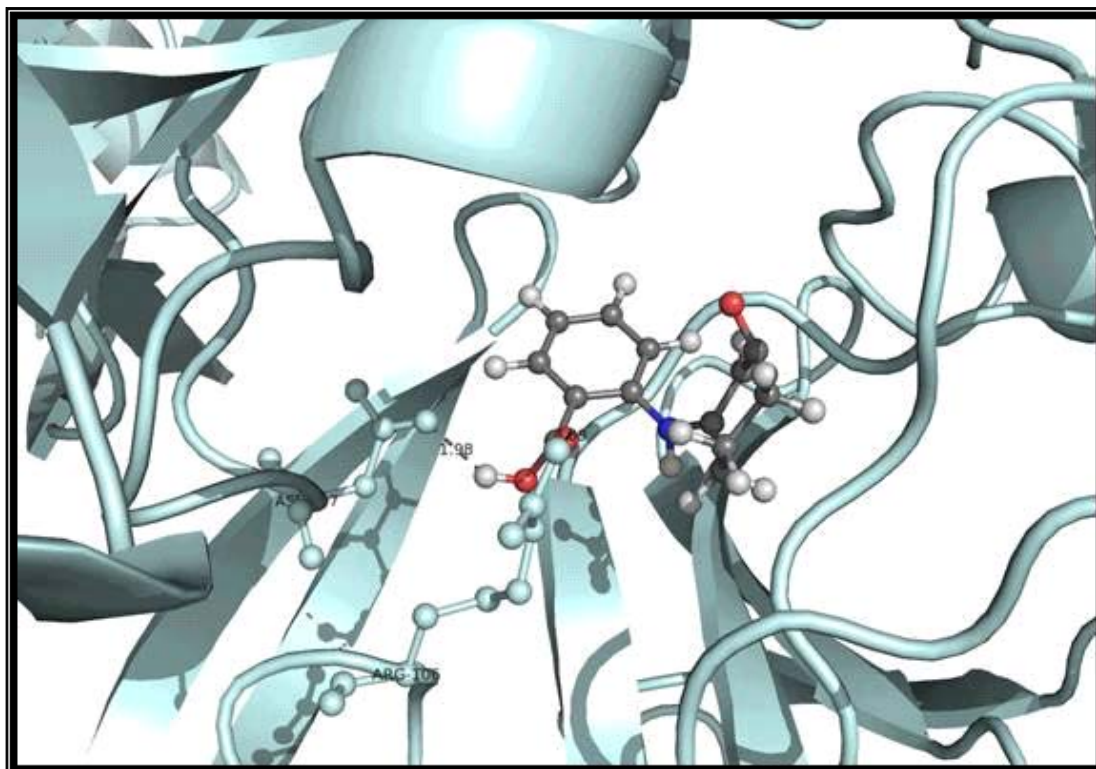


Figura 6.12 – Modelo de interação do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com a proteína mRNA guanililtransferase (1ckm), presente na artrite reumatóide e na placa dentária.

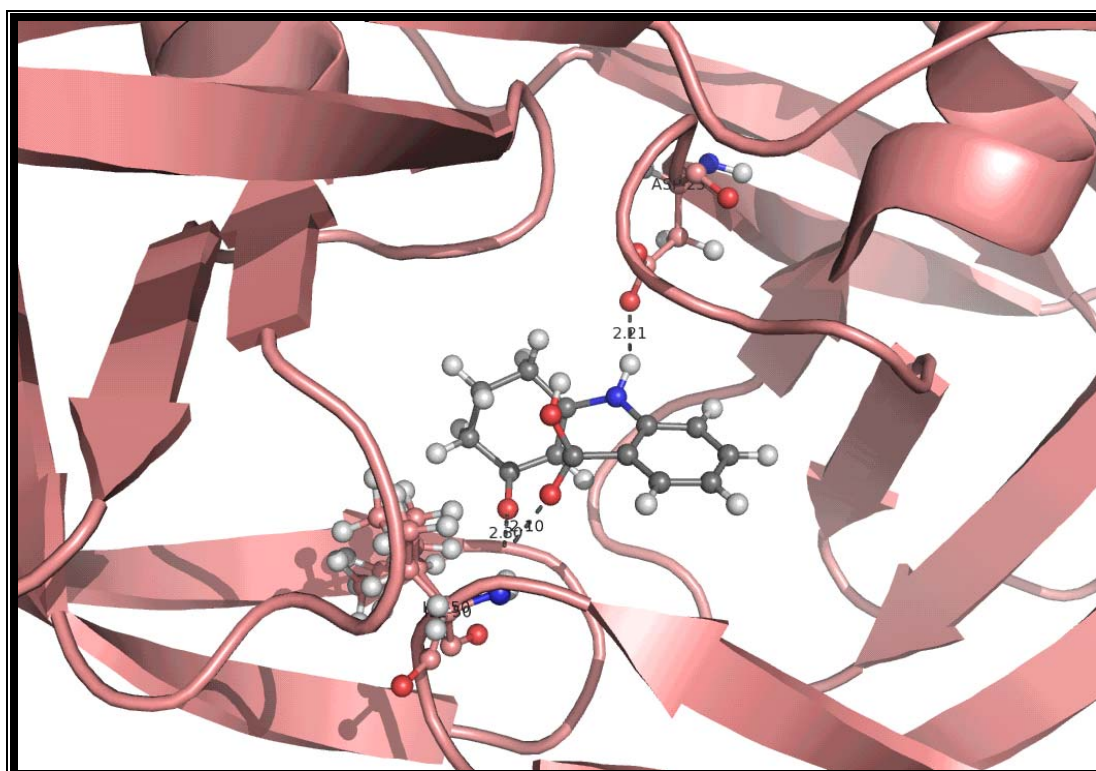


Figura 6.13 – Modelo de interação do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com a proteína HIV-1 retropepsin (1mtr), presente no vírus da imunodeficiência humana.

## 6.5. Referências Bibliográficas

1. Strozhev, M. F.; Lielbriedis, I.; Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii, 7 (1990) 947.
2. Spartan 04 Windows: Tutorial and User's Guide, 2003. W., Inc. 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612, USA.
3. Sheldrick, G. M. (1990). SHELXTL/PC. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
4. Sheldrick, G. M. (1997). SHELXS97 and SHELXL97. University of Gottingen, Germany.
5. Siemens (1991). XSCANS (Version 5.0). Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.
6. Nakamoto, K.; Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry. 5 ed., Wiley, New York, 1997.
7. Holecek, J.; Handlir, K.; Nadvornik, M.; Lyka, A.; J. Organomet. Chem. 258 (1983) 147.
8. Fenton, D.E.; Zuckerman, J.; J. Inorg. Chem. 8 (1969).
9. Teles, W.M.; Allain, L.R.; Filgueiras, C.A.L.; Abras, A.; Hyperfine Interact. 83 (1994) 175.
10. Filgueiras, C.A.L.; Quim. Nova, 21(2), (1998) 176.
11. Omae, I.; Organotin Chemistry. 21 New York: 1989.
12. Poller, R.C.; The Chemistry of Organotin Compounds. Britain: 1970.
13. Pettinari, C.; Marchetti, F.; Pettinari, R.; Martini, D.; Drozdov, A.; Troyanov, S.; Inorg. Chim. Acta 325 (2001) 103.
14. Filardi, L. S.; Brener, Z.; Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 79 (2), (1984) 221.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard-Second Edition. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, Pennsylvania, USA 2002.
16. <http://www.rcsb.org/pdb.do>
17. <http://www.geneontology.org/Go.doc.shtml>
18. <http://www.brenda.uni-koeln.de/>

## *Capítulo 7*

### *Discussão e Conclusões*



Este trabalho consistiu em uma investigação do mecanismo de ação de derivados diorganoestânicos do ácido aminobenzóico em células de *C. albicans* por determinação do IC<sub>50</sub>, extração de material genético e de lipídios, avaliação da função mitocondrial e análise morfológica das células. Abordou também, a síntese, caracterização e estudos estruturais de derivados organoestânicos de outros ácidos contendo o grupo carboxílico, como o ácido cólico, o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico. Investigou ainda, as propriedades farmacológicas oriundas destes compostos realizando um “screening” de diferentes atividades, com resultados interessantes.

A atividade inibitória *in vitro* dos compostos diorganoestânicos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>], derivados do ácido aminobenzóico (Habz) foi estudada, de modo inédito, em colônias do fungo *Candida albicans* e da bactéria *Staphylococcus aureus*. Os três compostos citados apresentaram atividade inibitória frente ao fungo, mas apenas o derivado butílico inibiu a multiplicação da bactéria. Uma investigação do mecanismo de ação destes compostos em células de *C. albicans* foi iniciada a partir da determinação da concentração inibitória de 50 % do crescimento fúngico. O IC<sub>50</sub> apresentado foi de 51,54; 14,94 e 14,84 mmol/L para os complexos [Me<sub>2</sub>Sn(C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>)], [Me<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>Sn<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Me<sub>4</sub> e [Bu<sub>2</sub>Sn(abz)<sub>2</sub>] respectivamente. Estes complexos foram colocados em contato com as células da levedura por 18 h para extração do material genético, com o intuito de observar possíveis alterações no DNA. A análise do material não evidenciou degradação do código genético das células, sugerindo que estes organoestânicos apresentam alguma seletividade e uma menor toxicidade se comparados a complexos de outros metais avaliados de modo similar<sup>1, 2</sup>. A viabilidade respiratória das células fúngicas foi verificada qualitativamente após incubação por 24 h em placas contendo moten-ágar e TTC (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio)<sup>2</sup>. Conforme mencionado, durante o processo de respiração, a glicose é consumida enquanto a redução do TTC ocorre, causando uma alteração na coloração das colônias; de amareladas para avermelhadas. Tais mudanças de coloração das leveduras foram observadas após o contato com os compostos diorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico, sugerindo que as células mantiveram a habilidade de promover a redução química, ou seja, os complexos de Sn(IV) não induziram o comprometimento da capacidade respiratória, mantendo a normalidade na função mitocondrial de um número significativo de colônias. A metodologia abordada neste experimento foi aplicada por outros pesquisadores a

derivados metálicos de Mn, Ag, Cu, Pd e Pt. No caso destes complexos, houve alteração significativa na captação de oxigênio pelas células de *C. albicans*<sup>1-3</sup>. Após estas análises, realizou-se a extração e dosagem de lipídios contidos na membrana celular da levedura<sup>4</sup>. Todos os derivados causaram decréscimo no nível de lipídios, evidenciando a interferência dos compostos na biossíntese deste componente celular. As avaliações morfológicas por microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão dão suporte a esta evidência. As imagens revelam a presença de vários danos celulares, incluindo extravasamento de material citoplasmático. Alterações na permeabilidade da membrana, por uma provável interação de compostos organoestânicos com esteróides presentes no envoltório celular e uma possível solubilidade lipídica<sup>5,6</sup>, poderiam estar induzindo a formação de poros<sup>7-9</sup>. Esta investigação sugere que o mecanismo de ação dos complexos organoestânicos derivados do ácido aminobenzóico,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_3)]$ ,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$  e  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{abz})_2]$  em células de *C. albicans* seja similar ao dos compostos poliênicos, os quais são prescritos em clínicas médicas para tratamento de infecções causadas por este microorganismo.

Em adição ao perfil promissor dos compostos diorganoestânicos derivados do ácido aminobenzóico e, considerando que não foram encontrados na literatura estudos sobre o aspecto farmacológico dos derivados triorganoestânicos do ácido aminobenzóico,  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ ,  $[\text{Cy}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ ,  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  e  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{abz})]$ , foram realizados testes qualitativos destes derivados frente a 10 microorganismos *Gram*-positivos e *Gram*-negativos. A avaliação experimental dos complexos revelou a importância das modificações estruturais desta série analisada frente aos citados microorganismos. A inserção dos substituintes metila, butila, fenila e ciclohexila, resultou em variação da seletividade quanto à inibição de microorganismos. Os compostos  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  e  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  apresentaram atividade inibitória frente aos microorganismos *Gram*-negativos, enquanto o composto  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  foi ativo frente aos *Gram*-positivos. Entretanto o composto  $[\text{Cy}_3\text{Sn}(\text{abz})]$  inibiu o crescimento de ambas as classes de microorganismos, ou seja, inibiu tanto os microorganismos *Gram*-positivos quanto os *Gram*-negativos.

Seis compostos organometálicos de Sn(IV) foram sintetizados a partir do ácido cólico (Hcho) e dos cloretos de di- e triorganoestânicos, com a finalidade de unir a propriedade carreadora do ligante às propriedades biológicas do metal. Três compostos entre eles foram sintetizados e caracterizados pela primeira vez,  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\text{cho})_2]$ ,

[Me<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]. Todos foram submetidos à avaliação da biotoxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, resultando na seguinte ordem de potência (em mg/mL): [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Bu<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] > [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] > [Me<sub>3</sub>Sn(cho)] > [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>]. A maior toxicidade dos derivados organoestânicos em *A. salina* foi apresentada pelos compostos trissubstituídos em detrimento aos dissubstituídos, considerando-se o mesmo radical orgânico. Estes resultados concordam com dados de toxicidade já mencionados para compostos organoestânicos contendo os radicais metila, butila e fenila <sup>10</sup>.

Os compostos metílicos [Me<sub>3</sub>Sn(cho)], [Me<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] e o composto dibutílico [Bu<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] são inativos frente aos nematóides e aos fungos. O composto [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] apresentou-se altamente ativo, com 100 % de eficiência, frente às larvas L3 de *S. venezuelensis* em todas as concentrações avaliadas (1000, 100 e 10 ng/mL). Os nematóides se nutrem, principalmente através de aberturas glandulares e do tubo digestivo, possuindo reduzida permeabilidade da cutícula que envolve seu corpo <sup>11</sup>. Não foram observadas alterações na cutícula dos *S. venezuelensis* quando observados sob microscópio, uma hipótese a ser melhor investigada é a de que os compostos organoestânicos tenham sido ingeridos pelas larvas e então causado a morte dos vermes. As larvas L1 foram mais susceptíveis ao composto [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], o qual mostrou uma redução próximo a 60 % na viabilidade larvar.

Os compostos [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] apresentaram atividade antifúngica, em ágar, frente aos fungos *C. sphaerospermum*, *C. albicans* e *C. neoformans*, na concentração de 1 mg/mL. Todos os três compostos apresentaram halo inibitório em *C. sphaerospermum* melhor que o produzido pelo medicamento-controle, cetoconazol. Os halos de inibição apresentados por estes compostos frente a *C. albicans* foram menores que o apresentado pelo medicamento-controle. Quanto aos halos de inibição produzidos em culturas de *C. neoformans*, estes foram inferiores para os compostos [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] comparados ao halo de atividade apresentado pelo cetoconazol; entretanto o halo de inibição gerado pelo composto [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)] foi semelhante ao do medicamento-controle na concentração de 1 mg/mL. A determinação do MIC destes compostos para o fungo *C. albicans* foi de 11,44; 7,36; 10,56 e 0,24 x 10<sup>-3</sup> mmol para [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)], [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] e cetoconazol, respectivamente. Enquanto que para o fungo *C. neoformans* foi de 5,72; 14,72; 0,041 e 0,06 x 10<sup>-3</sup> mmol/L para estes derivados na mesma seqüência citada acima. Estes dados mostram que a atividade do cetoconazol foi superior

em colônias de *C. albicans*, porém o derivado difenílico do ácido cólico apresentou-se como melhor antifúngico em colônias de *C. neoformans*. O ensaio de citotoxicidade em células de rim humano, HEK 293, revelou que, o medicamento usado como controle nos ensaios antifúngicos apresenta-se mais citotóxico às células e rim humano que os compostos organoestânicos derivados do ácido cólico. Desta forma, sugere-se como candidatos a estudos mais aprofundados com relação à atividade antifúngica, os derivados [Bu<sub>3</sub>Sn(cho)], [Ph<sub>2</sub>Sn(cho)<sub>2</sub>], [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)], por terem apresentado boa atividade como antifúngicos e baixa citotoxicidade para as células de rim humano, com relação ao cetoconazol.

A reação entre o ácido aminobenzóico e o 2,5-tiofenodicarboxaldeído originou o novo ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, codificado como (H<sub>2</sub>L). Preparou-se, a partir deste ácido, três novos complexos diorganoestânicos [Me<sub>2</sub>Sn(L)], [Bu<sub>2</sub>Sn(L)] e [Ph<sub>2</sub>Sn(L)]. De acordo com a análise elementar as reações ocorreram na proporção estequiométrica de 1:1 entre o ligante e os precursores de estanho, sendo estabelecida a ligação entre os átomos de oxigênio proveniente da carboxila do ligante e o átomo de estanho, confirmada pela análise de absorção na região do infravermelho. A espectroscopia d Mössbauer de <sup>119</sup>Sn confirmou o estado de oxidação +4 para todos os derivados, a espectroscopia de RMN de <sup>119</sup>Sn sugeriu a tetracoordenação do átomo de estanho em solução. Estes compostos foram avaliados quanto a ação fungicida e leishmanicida. Os complexos [Me<sub>2</sub>Sn(L)] e [Bu<sub>2</sub>Sn(L)], bem como o ligante livre (H<sub>2</sub>L) não inibiram o crescimento em ágar dos fungos *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum*. Apenas o derivado [Ph<sub>2</sub>Sn(L)] foi ativo contra a cultura de *C. albicans* em solução (MIC = 24,64 x 10<sup>-3</sup> mmol/L) e em *C. neoformans* (MIC = 0,19 x 10<sup>-3</sup> mmol/L), ambas as atividades foram menores que a do cetoconazol. A bioatividade dos derivados organometálicos de Sn(IV) foi também investigada quanto à ação leishmanicida em formas promastigotas de *Leishmania chagasi*. O composto [Me<sub>2</sub>Sn(L)], na concentração de 1 µg/mL, se destacou dos demais, apresentando atuação semelhante à do medicamento-controle, antimoniato de meglumina, após 24 h de contato. Porém, a cultura dos protozoários contendo o ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico e seu derivado dimetílico, por 9 dias, revelou a superioridade da ação do complexo diorganoestânico sobre a atuação do medicamento-controle após o terceiro dia de cultura. Estes compostos precisam ser melhores investigados com relação à bioatividade contra

fungos e leishmania, pois apresentaram inibições comparáveis estatisticamente às exibidas pelos medicamentos-controle.

O ácido 2-(3-oxociclohexen-1-enil)aminobenzóico, (Hboz), foi sintetizado a partir da reação entre o ácido aminobenzóico e a ciclohexanodiona. Este ácido apresentou a possibilidade estrutural da existência das formas tautoméricas imina e enamina. Análises na região do infravermelho e por difração de raios-X sugeriram a forma enamina para o composto no estado sólido. Estudos por RMN de  $^1\text{H}$  também sugerem a presença do mesmo tautômero em solução; entretanto, estudos teóricos para a determinação de entalpias de formação, apontam a forma imina como a mais estável no estado gasoso.

A presença do átomo de estanho ligado ao oxigênio do grupo carboxílico do ácido 2-(3-oxociclohexen-1-enil)benzóico deu origem a novas moléculas, sobre as quais iniciou-se um trabalho de caracterização e avaliação da ação antifúngica desta série contendo seis derivados organoestânicos em culturas de *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum*. Como a literatura não relata trabalhos sobre a ação de compostos de Sn(IV) contra *T. cruzi*, escolheu-se o derivado dibutílico para ter o potencial inibidor avaliado neste protozoário.

O estudo cristalográfico do derivado trimetílico revelou que o ligante interage com o átomo de estanho de modo monodentado via oxigênio carboxílico formando uma cadeia polimérica, na qual outro átomo metálico interage com o oxigênio do anel ciclohexanodiônico, dando ao estanho a pentacoordenação.

Outra estrutura cristalográfica determinada neste trabalho foi a do derivado dibutílico deste ácido (Hboz). A difração de raios-X mostrou a formação de um anel estanoxânico composto por 4 membros,  $\text{Sn}_2\text{O}_2$ , na estrutura deste produto. Os átomos de estanho se encontram pentacoordenados, interagindo com dois grupos butila e três átomos de oxigênio. Os demais complexos não apresentaram monocristais com qualidade para determinação por difração de raios-X e as estruturas sugeridas envolvem a coordenação de um átomo de estanho a uma unidade do ácido 2-(3-oxociclohexen-1-enil)benzóico para os derivados trissubstituídos e, para os derivados dissubstituídos é proposta a estrutura semelhante ao do derivado dibutílico, contendo um anel estanoxano na estrutura cristalográfica. Estes compostos foram avaliados frente a fungos patogênicos. O ácido 2-(3-oxociclohexen-1-enil)benzóico bem como seus derivados dibutílico, di- e trimetílico não apresentaram inibição aos fungos *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum* na concentração de 1 mg/mL. Os derivados tributílico, di- e trifenílicos inibiram o

crescimento de *C. neoformans* mas, apresentaram menores halos de inibição comparados ao exibido pelo cetoconazol. A produção de halos por estes compostos frente ao fungo *C. sphaerospermum* foi semelhante à do medicamento-controle. O MIC apresentado pelos compostos [Bu<sub>3</sub>Sn(boz)], [Ph<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>, [Ph<sub>3</sub>Sn(boz)] em cultura de *C. albicans* foi de 30,72; 15,36 e 55,04 x 10<sup>-3</sup> mmol respectivamente, e em cultura de *C. neoformans* foi de 024; 0,03 e 0,05 x 10<sup>-3</sup> mmol/L, nesta mesma ordem. O medicamento usado como controle, cetoconazol, possui melhor atividade antifúngica em *C. albicans* (MIC = 0,24 mmol/L), já os derivados di- e trifenílicos apresentaram melhores resultados que esta referência.

O composto 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano não apresentou atividade antichagásica *in vivo* frente ao protozoário *T. cruzi* na dose de 250 mg/Kg em camundongos.

Empenhou-se, também, na realização de um screening biológico virtual dos ácidos 2-(3-oxociclohexen-1-enil)aminobenzóico e 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico a banco de dados contendo alvos biológicos em potencial<sup>12-14</sup>. Foram encontrados vários sítios propensos à interação com os ácidos em estudo, alguns deles serão experimentalmente avaliados. Considera-se interessante avaliar também, as propriedades farmacológicas dos derivados de Sn(IV) destes ácidos, frente aos alvos mais convenientes.

O ácido cólico; ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico, ácido 2-(3-oxociclohexen-1-enil)benzóico e todos os seus derivados organoestânicos foram submetidos a ensaios de atividade antifúngica frente a *C. albicans*, *C. neoformans* e *C. sphaerospermum*. A técnica de difusão em ágar foi empregada, avaliando-se o diâmetro de halos de inibição produzidos pelos compostos. Dos 18 compostos avaliados, 7 produziram halos inibitórios. Estes foram então submetidos à determinação da concentração inibitória mínima (MIC) em *C. albicans* e *C. neoformans*. Todos os compostos apresentaram valores de MIC maiores que o gerado pelo cetoconazol em culturas de *C. albicans*, porém em culturas de *C. neoformans*, 3 deles - [Ph<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>, [Ph<sub>3</sub>Sn(boz)] e [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] - apresentaram MIC menores que o medicamento-controle. A determinação do MIC em *C. sphaerospermum* não foi realizada por este ser um fungo filamentoso e exigir diferentes protocolos experimentais não disponíveis no momento. A citotoxicidade dos compostos organoestânicos derivados do ácido cólico foi avaliada em células de rim humano (HEK 293) indicando que todos os derivados deste ácido apresentaram menor citotoxicidade às

células humanas em relação ao cetoconazol. A citotoxicidade dos demais compostos será avaliada posteriormente.

De acordo com os resultados antifúngicos e de citotoxicidade, sugere-se que o composto [Ph<sub>3</sub>Sn(cho)] seja o mais indicado para estudos futuros, por este apresentar semelhante inibição antifúngica em culturas de *C. neoformans* e menor citotoxicidade para células humanas (HEK 293) que o cetoconazol – medicamento usado em clínicas médicas.

A avaliação da relação estrutura-atividade para os derivados organoestânicos dos ácidos cólico, 2-(3-oxociclohexen-1-enil)aminobenzóico e ácido 2,2'-[2,5-tiofenodiil-bis-(metilenonitrilo)]-dibenzóico frente à inibição do fungo patógeno *C. albicans* e *C. neoformans*, revelaram que, entre os 15 derivados de Sn(IV) dos citados ácidos, os possuidores de radicais metilas, apresentaram-se inativos. A atividade antifúngica dos compostos frente a estes fungos parece estar diretamente relacionada com a presença de grupos fenilas e butilas. Observou-se também outra alteração estrutural, que ampliou a atividade inibitória dos compostos, o número de grupamentos fenilas e butilas na estrutura, Tabela 7.1. A presença de 2 grupamentos fenílicos junto ao átomo de Sn(IV) na estrutura dos ácidos favoreceu um melhor desempenho na atividade inibitória frente ao fungo *C. albicans*. Enquanto que para inibir o fungo *C. neoformans* as estruturas que apresentaram a menor concentração inibitória foram as que continham 3 grupamentos fenílicos.

Tabela 7.1 - Concentração inibitória mínima (MIC) para os derivados organoestânicos frente a fungos patógenos.

Compostos	<i>C. albicans</i> (x 10 <sup>-3</sup> mmol/L)	<i>C. neoformans</i> (x 10 <sup>-3</sup> mmol/L)
[Bu <sub>3</sub> Sn(boz)]	30,72	0,24
[Ph <sub>2</sub> Sn(boz)O] <sub>2</sub>	15,36	0,03
[Ph <sub>3</sub> Sn(boz)]	55,04	0,05
[Bu <sub>3</sub> Sn(cho)]	11,44	5,72
[Ph <sub>3</sub> Sn(cho)]	10,56	0,04
[Ph <sub>2</sub> Sn(cho) <sub>2</sub> ]	7,36	14,72
[Ph <sub>2</sub> Sn(L)]	24,64	0,19
Cetoconazol	0,24	0,06

Sabe-se que infecções fúngicas têm aumentado nos últimos anos, afetando principalmente pacientes com o sistema imunológico deprimido, transplantados, aidéticos

e aqueles em tratamento quimioterápico <sup>15</sup>. Entre os medicamentos usados clinicamente para inibição de fungos patógenos estão os polienos <sup>16</sup>. Estes fármacos têm apresentado problemas com resistência e toxicidade <sup>17</sup>. Tais problemas têm estimulado a busca por novas alternativas de fármacos.

Neste estudo, os resultados estão de acordo com os encontrados na literatura, os quais apresentam melhores atividades biocidas para compostos organoestânicos contendo na fórmula geral o grupamento  $R_3Sn$  <sup>18-20</sup>.

Nosso grupo de pesquisa descreveu recentemente compostos organoestânicos derivados de ditiocarbamatos <sup>21</sup> com atividade inibitória frente a *C. albicans* (ATCC 18804), comparando os MICs dos derivados difenílicos destes compostos com os que trabalhamos nesta tese, observa-se que os compostos aqui trabalhados apresentam menores concentrações inibitórias, enquanto que os derivados organoestânicos de ditiocarbamatos contendo 3 grupos fenílicos mostraram-se com melhor atividade frente a este fungo.

Os ensaios antifúngicos quantitativos (MICs) realizados frente ao fungo patógeno *C. neoformans* apresentaram resultados bastante próximos aos encontrados para o medicamento de uso clínico que foi usado como referência, o cetoconazol. Estes resultados sugerem que os derivados fenílicos  $[Ph_3Sn(cho)]$ ,  $[Ph_3Sn(boz)]$  e  $[Ph_2Sn(boz)O]_2$  possuam um potencial significativo para continuação dos estudos envolvendo cepas de diferentes microorganismos, além de avaliações farmacológicas e toxicológicas *in vitro* e *in vivo*.

A literatura propõe que a correlação da toxicidade de compostos que contém  $R_3Sn$  com a superfície molecular total, sendo que os substituintes que possuem as maiores áreas de superfície molecular como os radicais n-butyl e o fenil podem ser mais tóxicos que os grupamentos metilas, resultando em uma maior interação lipofílica com a membrana celular fúngica <sup>22</sup>.

Os compostos organoestânicos estudados neste trabalho podem vir a representar um novo grupo de agentes antifúngicos o qual pode levar a atuação como fármacos, constituindo uma nova opção para o controle deste tipo de infecção.



### 7.1. Referências Bibliográficas

1. Coyle, B.; Kinsella, P.; McCann, M.; Devereux, M.; O'Connor, R.; Clynes, M.; Kavanagh, K.; *Toxicol. in Vitro* 18 (2004) 63.
2. Coyle, B.; Kavanagh, K.; McCann, M.; Devereux, M.; Geraghty, M.; *BioMetals* 16 (2003) 321.
3. Moussa, N.M.; Ghannoum, M.A.; Whittaker, P.A.; El-Ezaby, M.S.; Quraman, S.; *Microbios* 62 (1990) 165.
4. Arthington-Skaggs, B.A., Jradi, H., Desai, T.; Morrison, C.J.; *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999) 3332.
5. Laurence, O.S.; Cooney, J.J.; Gadd, G.M.; *Microb. Ecol.* 17 (1989) 275.
6. White, J.S.; Tobin, J.M.; Cooney, J.J.; *Canadian J. Microbiol.* 45 (1999) 54.
7. Tobin, J.M.; Cooney, J.J.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36 (1999) 7.
8. White, J.S.; Tobin, J.M.; *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 3877.
9. White, J.S.; Tobin, J.M.; *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (2004) 445.
10. Li, C.; Lewis, M.R.; Gilbert, A.B.; Noel, M.D.; Scovill, D.H.; Allman, G.M.; Avage, P.B.; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43 (1999) 1347.
11. Rey, L.; *Parasitologia*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
12. <http://www.rcsb.org/pdb.do>
13. <http://www.geneontology.org/Go.doc.shtml>
14. <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
15. De Pauw, B.E.; *J. Eur. Clin. Microb. Infect. Dis.* 16 (1997) 32.
16. Abu-Salah, K.M.; *British J. Biomed. Sci.* 53 (1996) 122.
17. Kotoyiannis, D.P.; Lewis, R.E.; *Lancet* 359 (2002) 1135.
18. Omae, I.; *Organotin chemistry*, New York, v.21, 1989.
19. Tsangaris, J.M.; Williams, D.R.; *Appl. Organometal. Chem.* 6 (1992) 3.
20. Newmann, W.P.; *The organic chemistry of tin*. London: Interscience, 1970.
21. Menezes, D.C.; Vieira, F.T.; de Lima, G.M.; Wardell, J.L.; Cortés, M.E.; Ferreira, M.P.; Soares, M.A.; Vilas Boas, A. *Appl. Organometal. Chem.* 22 (2008) 221.
22. White, J.S.; Tobin, J.M.; Cooney, J.J. *Can. J. Microbiol.* 45 (1999) 541.

## **ANEXOS**

---

## ANEXO I

### Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto $[\text{Me}_2\text{Sn}(\mu\text{-O})\text{O}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ .

Tabela I.1: Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros vibracionais isotrópicos  $U(\text{eq})$  ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ), para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\mu\text{-O})\text{O}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
Sn1	1.33658(4)	0.70113(2)	0.958238(19)	0.05266(11)
C1	1.1931(7)	0.1397(5)	0.9135(3)	0.0728(17)
N1	1.3067(15)	0.0099(13)	0.9920(10)	0.271(10)
H1A	1.2969	-0.0490	1.0073	0.325
H1B	1.3946	0.0464	1.0100	0.325
O1	1.4338(6)	0.2014(5)	0.9921(4)	0.119(2)
Sn2	1.34707(3)	0.44322(2)	0.941281(15)	0.04693(10)
O2	1.3196(8)	0.2893(4)	0.9008(4)	0.1128(18)
N2	0.7604(7)	0.7288(4)	0.7800(4)	0.105(2)
H2A	0.8365	0.7638	0.8111	0.126
H2B	0.6774	0.7554	0.7538	0.126
C2	1.1973(13)	0.0415(9)	0.9454(6)	0.129(4)
Sn3	0.90445(3)	1.08467(2)	0.527013(14)	0.03978(10)
O3	1.1499(4)	0.5971(3)	0.9005(2)	0.0578(8)
N3A	0.7573(15)	1.3807(7)	0.5468(6)	0.088(4)
H3D	0.7960	1.3256	0.5590	0.106
H3E	0.7056	1.4081	0.5761	0.106
C3	1.0598(16)	-0.0186(9)	0.9182(7)	0.147(5)
H60A	1.0545	-0.0840	0.9308	0.176
Sn4	0.87441(3)	0.85847(2)	0.621575(16)	0.04327(10)
N4	0.4845(6)	0.9966(4)	0.7936(3)	0.0764(14)
H4A	0.4308	1.0021	0.8286	0.092
H4B	0.5260	0.9428	0.7880	0.092
O4	1.0393(5)	0.7302(3)	0.8781(2)	0.0691(10)
C4	0.934(2)	0.0196(14)	0.8729(8)	0.181(9)
H63A	0.8360	-0.0189	0.8633	0.217
O5	1.4421(3)	0.5810(3)	0.98742(18)	0.233(12)
C5	0.9300(13)	0.116(2)	0.8361(8)	0.0528(7)
H71A	0.8475	0.1404	0.7994	0.279
C6	1.0546(11)	0.1515(9)	0.8644(5)	0.118(3)

Continua...

Continuação...

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
H40A	1.0620	0.2140	0.8452	0.142
O6	0.9736(6)	1.2591(3)	0.3949(3)	0.0889(15)
O7	0.8982(6)	1.2399(3)	0.5001(2)	0.0779(12)
C7	1.3250(9)	0.2156(7)	0.9376(5)	0.090(2)
O8	0.7474(3)	0.9840(2)	0.62679(16)	0.0433(6)
C8	0.9004(5)	0.5884(3)	0.8128(2)	0.0500(10)
O9	0.6544(4)	0.9058(2)	0.71393(18)	0.0551(8)
C9	0.9000(7)	0.4920(4)	0.8025(4)	0.0708(14)
H20A	0.9870	0.4608	0.8305	0.085
O10	0.9462(3)	0.9361(2)	0.54119(16)	0.0459(6)
C10	0.7818(8)	0.4385(6)	0.7545(4)	0.0846(18)
H45A	0.7837	0.3714	0.7495	0.102
C11	0.6577(7)	0.4863(5)	0.7131(3)	0.0696(14)
H24A	0.5753	0.4503	0.6782	0.083
C12	0.6481(6)	0.5790(5)	0.7196(3)	0.0675(15)
H34A	0.5607	0.6078	0.6894	0.081
C13	0.7704(6)	0.6373(4)	0.7726(3)	0.0617(13)
C14	1.0357(6)	0.6436(3)	0.8669(3)	0.0530(10)
C15	1.3879(9)	0.7556(6)	0.8588(5)	0.093(2)
H47A	1.3073	0.7291	0.8152	0.139
H47B	1.4923	0.7380	0.8549	0.139
H47C	1.3879	0.8253	0.8599	0.139
C16	1.2473(7)	0.7405(5)	1.0510(4)	0.0727(15)
H21A	1.1416	0.7079	1.0466	0.109
H21B	1.2405	0.8097	1.0516	0.109
H21C	1.3182	0.7222	1.0979	0.109
C17	1.3776(9)	0.4678(6)	0.8316(3)	0.0832(19)
H22A	1.2887	0.4351	0.7947	0.125
H22B	1.4769	0.4434	0.8264	0.125
H22C	1.3815	0.5365	0.8224	0.125
C18	1.1757(6)	0.4137(5)	1.0034(4)	0.0771(18)
H28A	1.0815	0.3797	0.9710	0.116
H28B	1.1471	0.4736	1.0221	0.116
H28C	1.2182	0.3740	1.0462	0.116
C19	0.8532(5)	1.3849(3)	0.4381(3)	0.0509(10)
C20	0.7752(8)	1.4190(5)	0.4894(4)	0.0787(17)

Continua...

Continuação...

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
C21	0.7311(12)	1.5129(7)	0.4830(6)	0.125(4)
H42A	0.6813	1.5369	0.5196	0.150
C22	0.7553(12)	1.5685(6)	0.4292(6)	0.122(4)
H43A	0.7208	1.6310	0.4264	0.146
H46A	0.8460	1.5789	0.3382	0.133
C24	0.8812(8)	1.4449(4)	0.3810(3)	0.0751(16)
C25	0.9126(5)	1.2885(3)	0.4447(3)	0.0498(10)
C26	0.5889(5)	1.0659(3)	0.6912(2)	0.0408(8)
C27	0.5031(5)	1.0707(3)	0.7484(3)	0.0510(10)
C28	0.4362(6)	1.1564(4)	0.7579(3)	0.0618(13)
H35A	0.3786	1.1613	0.7959	0.074
C29	0.4531(6)	1.2335(4)	0.7125(3)	0.0624(13)
H33A	0.4079	1.2909	0.7202	0.075
C30	0.5325(6)	1.2281(3)	0.6578(3)	0.0590(11)
H29A	0.5419	1.2810	0.6264	0.071
C31	0.6004(5)	1.1455(3)	0.6475(3)	0.0486(9)
H6A	0.6573	1.1430	0.6090	0.058
C32	0.6659(5)	0.9795(3)	0.6781(2)	0.0413(8)
C33	1.0378(7)	1.1351(4)	0.6335(3)	0.0675(15)
H26A	0.9847	1.1859	0.6517	0.101
H26B	1.1437	1.1601	0.6292	0.101
H26C	1.0471	1.0826	0.6691	0.101
C34	0.6748(5)	1.0606(4)	0.4577(3)	C 0.0569(11)
H3A	0.6079	1.1083	0.4699	0.085
H3B	0.6297	0.9966	0.4664	0.085
H3C	0.6796	1.0656	0.4046	0.085
C35	1.0454(6)	0.8862(5)	0.7229(3)	0.0674(14)
H7A	1.0172	0.9399	0.7501	0.101
H7B	1.1493	0.9020	0.7118	0.101
H7C	1.0497	0.8295	0.7543	0.101
C36	0.6758(7)	0.7679(4)	0.5700(3)	0.0600(12)
H9A	0.5795	0.8002	0.5682	0.090
H9B	0.6725	0.7096	0.5992	0.090
H9C	0.6823	0.7513	0.5186	0.090
N3B	0.9540(17)	1.4296(8)	0.3355(7)	0.110(5)
H3BA	0.9974	1.3753	0.3355	0.132
H3BB	0.9647	1.4726	0.3016	0.132

Tabela I.2: Parâmetros de deslocamentos anisotrópicos ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\mu\text{-O})\text{O}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
Sn(1)	0.04003(17)	0.0611(2)	0.05774(19)	0.00644(15)	0.01250(13)	0.00603(13)
C(1)	0.059(3)	0.097(4)	0.064(3)	0.029(3)	0.029(3)	0.028(3)
N(1)	0.114(9)	0.35(2)	0.297(19)	0.145(18)	0.036(11)	0.025(11)
O(1)	0.060(3)	0.165(6)	0.122(5)	0.005(4)	0.007(3)	0.007(3)
Sn(2)	0.03539(15)	0.0670(2)	0.03881(15)	0.00859(13)	0.00916(11)	0.00478(12)
O(2)	0.149(5)	0.085(4)	0.113(4)	0.010(3)	0.048(4)	0.009(3)
N(2)	0.059(3)	0.085(4)	0.156(6)	0.037(4)	0.010(3)	0.019(3)
C(2)	0.111(7)	0.177(11)	0.088(6)	0.006(6)	0.012(5)	0.021(7)
Sn(3)	0.03636(15)	0.04858(17)	0.03723(15)	0.00249(11)	0.01225(11)	0.00958(11)
O(3)	0.0479(17)	0.065(2)	0.0583(19)	0.0142(16)	0.0066(14)	0.0067(15)
N(3)A	0.145(10)	0.047(5)	0.106(8)	0.000(5)	0.097(8)	0.011(5)
C(3)	0.166(11)	0.135(9)	0.129(9)	0.028(7)	0.047(8)	0.089(8)
Sn(4)	0.04318(16)	0.04960(17)	0.04391(16)	0.01159(12)	0.01957(12)	0.01678(12)
N(4)	0.092(4)	0.078(3)	0.078(3)	0.009(2)	0.055(3)	0.013(3)
O(4)	0.066(2)	0.059(2)	0.080(3)	0.0109(18)	0.0108(19)	0.0092(17)
C(4)	0.142(12)	0.28(2)	0.105(9)	0.102(11)	0.030(8)	0.080(14)
O5	0.0352(14)	0.071(2)	0.0524(17)	0.0098(15)	0.0080(12)	0.0116(13)
C5	0.067(6)	0.50(3)	0.117(10)	0.168(16)	0.020(6)	0.054(12)
C6	0.098(6)	0.176(9)	0.081(5)	0.041(6)	0.012(4)	0.036(6)
O6	0.121(4)	0.087(3)	0.090(3)	0.039(2)	0.067(3)	0.070(3)
O7	0.119(4)	0.056(2)	0.075(2)	0.0097(18)	0.051(2)	0.023(2)
C7	0.077(4)	0.116(6)	0.085(5)	0.011(4)	0.032(4)	0.010(4)
O8	0.0436(15)	0.0450(15)	0.0463(15)	0.0031(12)	0.0184(12)	0.0094(11)
C8	0.039(2)	0.064(3)	0.047(2)	0.0169(19)	0.0087(17)	0.0096(18)
O9	0.075(2)	0.0456(16)	0.0514(17)	0.0092(13)	0.0253(16)	0.0116(14)
C9	0.066(3)	0.067(3)	0.075(4)	0.008(3)	0.005(3)	0.011(3)
O10	0.0447(15)	0.0554(17)	0.0452(15)	0.0138(12)	0.0218(12)	0.0163(12)
C10	0.075(4)	0.091(5)	0.079(4)	0.018(3)	0.004(3)	0.002(3)
C11	0.058(3)	0.091(4)	0.054(3)	0.000(3)	0.006(2)	0.005(3)
C12	0.045(2)	0.100(4)	0.056(3)	0.026(3)	0.011(2)	0.002(3)
C13	0.053(3)	0.070(3)	0.069(3)	0.031(3)	0.024(2)	0.016(2)
C14	0.054(3)	0.054(3)	0.056(2)	0.014(2)	0.021(2)	0.0113(19)
C15	0.079(4)	0.092(5)	0.115(6)	0.041(4)	0.039(4)	0.003(3)

Continua...

Continuação...

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
C16	0.069(3)	0.073(4)	0.078(4)	0.016(3)	0.022(3)	0.000(3)
C17	0.095(5)	0.113(5)	0.052(3)	0.011(3)	0.031(3)	0.028(4)
C18	0.048(3)	0.110(5)	0.083(4)	0.034(4)	0.031(3)	0.014(3)
C19	0.049(2)	0.054(2)	0.050(2)	0.0009(19)	0.0062(18)	0.0179(19)
C20	0.085(4)	0.078(4)	0.079(4)	0.012(3)	0.022(3)	0.029(3)
C21	0.127(7)	0.129(7)	0.108(6)	0.057(6)	0.021(5)	0.081(6)
C22	0.133(7)	0.076(5)	0.119(7)	0.041(5)	0.062(6)	0.059(5)
C23	0.127(7)	0.061(4)	0.111(6)	0.023(4)	0.045(5)	0.020(4)
C24	0.090(4)	0.071(4)	0.064(3)	0.021(3)	0.008(3)	0.031(3)
C25	0.049(2)	0.055(2)	0.049(2)	0.0042(18)	0.0149(18)	0.0205(19)
C26	0.0388(19)	0.0426(19)	0.0413(19)	0.0077(15)	0.0106(15)	0.0029(15)
C27	0.049(2)	0.058(3)	0.048(2)	0.0086(19)	0.0166(18)	0.0033(19)
C28	0.055(3)	0.077(3)	0.059(3)	0.020(2)	0.022(2)	0.011(2)
C29	0.059(3)	0.054(3)	0.075(3)	0.023(2)	0.014(2)	0.014(2)
C30	0.064(3)	0.045(2)	0.067(3)	0.006(2)	0.011(2)	0.010(2)
C31	0.052(2)	0.045(2)	0.052(2)	0.0043(18)	0.0167(19)	0.0088(18)
C32	0.042(2)	0.044(2)	0.0381(18)	0.0000(15)	0.0093(15)	0.0065(15)
C33	0.065(3)	0.083(4)	0.047(2)	0.004(2)	0.008(2)	0.021(3)
C34	0.042(2)	0.083(3)	0.046(2)	0.004(2)	0.0076(18)	0.017(2)
C35	0.051(3)	0.102(4)	0.053(3)	0.022(3)	0.013(2)	0.019(3)
C36	0.074(3)	0.049(2)	0.057(3)	0.001(2)	0.017(2)	0.006(2)
N3B	0.185(14)	0.084(7)	0.103(9)	0.055(7)	0.096(10)	0.075(8)

Tabela I.3: Distâncias dos afastamentos interatômicos (Å) no composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\mu\text{-O})\text{O}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

Distâncias			
Sn(1)-O(5)	2.005(3)	Sn2-C17	2.101(6)
Sn1-C15	2.095(7)	Sn2-O5	2.134(4)
Sn1-C16	2.105(6)	Sn2-O2	2.261(6)
Sn1-O3	2.168(4)	Sn2-Sn2	3.2958(6)
Sn1-O1	2.324(6)	O2-C7	1.234(9)
C1-C6	1.347(11)	N2-C13	1.307(8)
C1-C7	1.488(10)	C2-C3	1.396(14)
C1-C2	1.501(14)	Sn3-O10	2.031(3)
N1-C2	1.234(14)	Sn3-C33	2.103(5)
O1-C7	1.233(9)	Sn3-C34	2.103(5)
O1-Sn1	2.324(6)	Sn3-O10	2.157(3)
Sn2-O5	2.042(3)	Sn3-O7	2.242(4)
Sn2-C18	2.088(5)	Sn3-Sn3	3.2865(6)
O3-C14	1.272(6)	N3A-C20	1.213(11)
C3-C4	1.36(2)	Sn4-O10	2.012(3)
Sn4-C36	2.092(5)	Sn4-C35	2.098(5)
Sn4-O8	2.173(3)	Sn4-O6	2.261(3)
N4-C27	1.353(7)	O4-C14	1.231(6)
C4-C5	1.51(3)	O5-Sn2	2.042(3)
C5-C6	1.160(16)	O6-C25	1.239(6)
O6-Sn4	2.261(3)	O7-C25	1.245(6)
O8-C32	1.296(5)	C8-C9	1.369(8)
C8-C13	1.427(6)	C8-C14	1.506(7)
O9-C32	1.236(5)	C9-C10	1.357(9)
O10-Sn3	2.031(3)	C10-C11	1.391(9)
C11-C12	1.320(9)	C12-C13	1.454(8)
C19-C20	1.381(8)	C19-C24	1.394(8)
C19-C25	1.485(6)	C20-C21	1.403(11)
C21-C22	1.300(16)	C22-C23	1.343(15)
C23-C24	1.417(9)	C24-N3B	1.182(12)
C26-C31	1.386(6)	C26-C27	1.420(6)
C26-C32	1.479(5)	C27-C28	1.408(7)
C28-C29	1.385(8)	C29-C30	1.342(8)
C30-C31	1.377(6)		



Tabela I.4: Ângulos de ligação (°) observados no para o composto  $[\text{Me}_2\text{Sn}(\mu\text{-O})\text{O}_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2)_2]_2\text{Sn}_2\text{O}_2\text{Me}_4$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

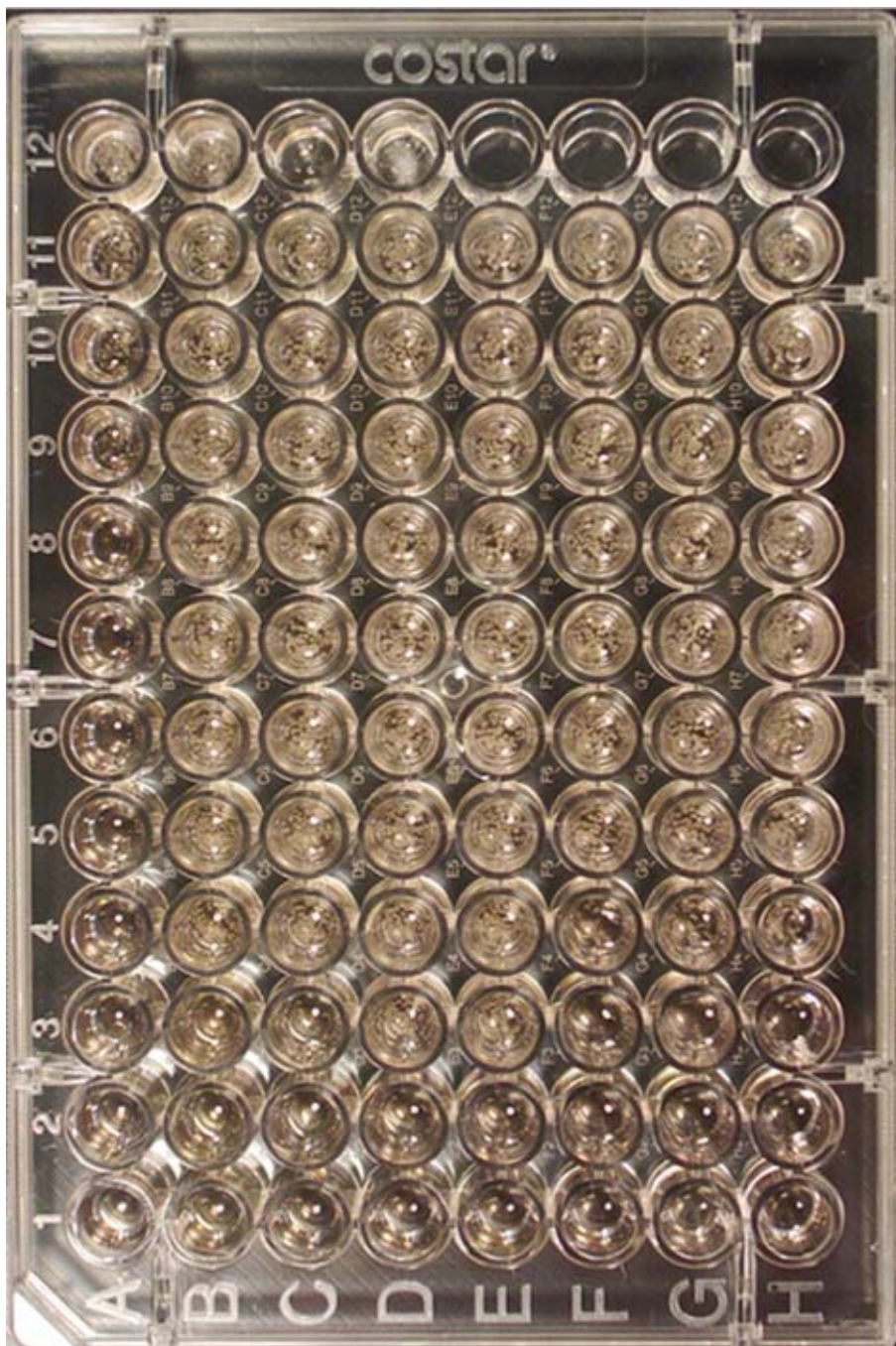
<b>Ângulos</b>			
O5 Sn1 C15	111.3(2)	O5 Sn1 C16	105.9(2)
C15 Sn1 C16	141.5(3)	O5 Sn1 O3	80.35(13)
C15 Sn1 O3	94.7(3)	C16 Sn1 O3	101.2(2)
O5 Sn1 O1	93.2(2)	C15 Sn1 O1	79.6(3)
C16 Sn1 O1	88.8(2)	O3 Sn1 O1	169.3(2)
C6 C1 C7	124.9(9)	C6 C1 C2	112.1(8)
C7 C1 C2	122.8(7)	C7 O1 Sn1	128.5(6)
O5 Sn2 C18	105.47(19)	O5 Sn2 C17	110.5(2)
C18 Sn2 C17	143.2(3)	O5 Sn2 O5	75.79(14)
C18 Sn2 O5	99.8(2)	C17 Sn2 O5	96.5(2)
O5 Sn2 O2	89.3(2)	C18 Sn2 O2	90.4(3)
C17 Sn2 O2	82.4(3)	O5 Sn2 O2	163.7(2)
O5 Sn2 Sn2	38.87(10)	C18 Sn2 Sn2	106.0(2)
C17 Sn2 Sn2	106.9(2)	O5 Sn2 Sn2	36.92(8)
O2 Sn2 Sn2	127.91(18)	C7 O2 Sn2	129.6(6)
N1 C2 C3	118.3(14)	N1 C2 C1	127.2(11)
C3 C2 C1	114.5(11)	O10 Sn3 C33	109.10(19)
O10 Sn3 C34	105.54(16)	C33 Sn3 C34	144.9(2)
O10 Sn3 O10	76.64(12)	C33 Sn3 O10	97.6(2)
C34 Sn3 O10	95.80(18)	O10 Sn3 O7	92.45(13)
C33 Sn3 O7	84.2(2)	C34 Sn3 O7	88.7(2)
O10 Sn3 O7	168.96(13)	O10 Sn3 Sn3	39.68(8)
C33 Sn3 Sn3	106.81(19)	C34 Sn3 Sn3	103.41(15)
O10 Sn3 Sn3	36.96(7)	O7 Sn3 Sn3	132.11(10)
C14 O3 Sn1	106.8(3)	C4 C3 C2	118.0(13)
O10 Sn4 C36	108.49(17)	O10 Sn4 C35	107.42(18)
C36 Sn4 C35	143.3(2)	O10 Sn4 O8	80.41(11)
C36 Sn4 O8	96.20(17)	C35 Sn4 O8	96.73(19)
O10 Sn4 O6	91.14(13)	C36 Sn4 O6	88.0(2)
C35 Sn4 O6	84.2(2)	O8 Sn4 O6	171.40(13)
C3 C4 C5	127.9(13)	Sn1 O5 Sn2	131.94(18)
Sn1 O5 Sn2	123.82(15)	Sn2 O5 Sn2	104.21(14)
C6 C5 C4	101.6(15)	C5 C6 C1	145.1(18)

Continua...

Continuação...

C25 O6 Sn4	138.1(3)	C25 O7 Sn3	134.9(3)
O1 C7 O2	123.6(9)	O1 C7 C1	118.8(8)
O2 C7 C1	117.6(8)	C32 O8 Sn4	113.1(2)
C9 C8 C13	119.8(5)	C9 C8 C14	120.7(4)
C13 C8 C14	119.5(5)	C10 C9 C8	123.4(6)
Sn4 O10 Sn3	133.89(15)	Sn4 O10 Sn3	121.77(14)
Sn3 O10 Sn3	103.36(12)	C9 C10 C11	117.0(7)
C12 C11 C10	123.6(6)	C11 C12 C13	120.4(5)
N2 C13 C8	123.7(6)	N2 C13 C12	120.6(5)
C8 C13 C12	115.7(5)	O4 C14 O3	120.4(5)
O4 C14 C8	122.5(4)	O3 C14 C8	117.1(4)
C20 C19 C24	118.2(5)	C20 C19 C25	121.5(5)
C24 C19 C25	120.2(5)	N3A C20 C19	126.5(7)
N3A C20 C21	113.9(8)	C19 C20 C21	118.9(8)
C22 C21 C20	122.9(8)	C21 C22 C23	120.2(7)
C22 C23 C24	120.4(8)	N3B C24 C19	127.1(7)
N3B C24 C23	113.5(8)	C19 C24 C23	119.3(7)
O6 C25 O7	122.3(4)	O6 C25 C19	119.0(4)
O7 C25 C19	118.7(4)	C31 C26 C27	118.0(4)
C31 C26 C32	120.2(4)	C27 C26 C32	121.8(4)
N4 C27 C28	119.5(4)	N4 C27 C26	122.5(4)
C28 C27 C26	118.0(4)	C29 C28 C27	121.0(4)
C30 C29 C28	120.8(5)	C29 C30 C31	119.6(5)
C30 C31 C26	122.6(4)	O9 C32 O8	120.7(4)
O9 C32 C26	122.4(4)	O8 C32 C26	116.9(3)

**ANEXO II:** Determinação do MIC em placa de microdiluição contendo cultura de *Candida albicans* (ATCC 18804).



Concentrações utilizadas na avaliação do MIC frente a cultura de *C. albicans* segundo a sequência de colunas:  
1 = 32,0; 2 = 16,0; 3 = 8,0; 4 = 4,0; 5 = 2,0; 6 = 1,0; 7 = 0,5; 8 = 0,25; 9 = 0,125; 10 = 0,0625; 11 = 0,0313  $\mu\text{g/mL}$ .

Posco-controle: A12 e B12 = DMSO

Compostos organostânicos segundo a sequência das linhas:

A = Cetozazol; B =  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]$ ; C =  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ ; D =  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ ;  
E =  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ ; F =  $[\text{Bu}_3\text{Sn}(\text{cho})]$ ; G =  $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{cho})]$ ; H =  $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cho})]$

### ANEXO III

#### Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico.

Tabela III.1 - Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros vibracionais isotrópicos  $U(eq)$  ( $\text{Å}^2 \times 10^3$ ), com respectivos desvios padrão entre parênteses.

	x	y	z	U(eq)
O1	0.5835 (3)	0.4550 (2)	0.7105 (2)	0.0678(9)
O2	0.4210(2)	0.4172(2)	0.7836(2)	0.0644(9)
H2O	0.4113	0.4792	0.7804	0.097
C13	0.5183(3)	0.3924(3)	0.7441(3)	0.0452(9)
C6	0.5421(3)	0.2797(3)	0.7469(2)	0.0402(8)
C5	0.4676(3)	0.2177(3)	0.7959(3)	0.0465(9)
H5	0.4034	0.2471	0.8238	0.056
C4	0.4865(3)	0.1147(3)	0.8043(3)	0.0502(10)
H4	0.4359	0.0743	0.8373	0.060
C3	0.5822(3)	0.0721(3)	0.7627(3)	0.0499(10)
H3	0.5964	0.0024	0.7688	0.060
C2	0.6568(3)	0.1297(3)	0.7128(2)	0.0426(8)
H2	0.7204	0.0990	0.6852	0.051
C1	0.6372(3)	0.2350(3)	0.7033(2)	0.0376(8)
N	0.7126(3)	0.2982(2)	0.6544(2)	0.0455(8)
H1	0.7075	0.3621	0.6671	0.055
C7	0.7918(3)	0.2764(3)	0.5909(2)	0.0403(8)
C8	0.8719(3)	0.3646(3)	0.5703(3)	0.0443(9)
H8A	0.9332	0.3678	0.6142	0.053
H8B	0.8273	0.4277	0.5736	0.053
C9	0.9286(4)	0.3574(3)	0.4812(3)	0.0530(11)
H9A	0.9899	0.4086	0.4760	0.064
H9B	0.8704	0.3704	0.4364	0.064
C10	0.9808(4)	0.2511(3)	0.4687(3)	0.0519(11)
H10A	1.0105	0.2450	0.4096	0.062
H10B	1.0464	0.2424	0.5083	0.062
C11	0.8926(3)	0.1686(3)	0.4848(3)	0.0394(8)
C12	0.8009(3)	0.1860(3)	0.5470(3)	0.0400(8)
H12	0.7463	0.1346	0.5577	0.048
O3	0.9019(2)	0.08747(19)	0.4442(2)	0.0554(7)
O1'	0.6639(3)	0.9504(2)	0.5383(2)	0.0723(10)

Continua...

Continuação...

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
O2'	0.8124(2)	0.9080(2)	0.4533(2)	0.0649(9)
H2O'	0.8278	0.9690	0.4585	0.097
C13'	0.7225(3)	0.8857(3)	0.5014(3)	0.0429(9)
C6'	0.6979(3)	0.7738(3)	0.5042(2)	0.0382(8)
C5'	0.7693(3)	0.7071(3)	0.4574(2)	0.0453(9)
H5'	0.8350	0.7327	0.4288	0.054
C4'	0.7451(3)	0.6040(3)	0.4525(3)	0.0484(9)
H4'	0.7951	0.5602	0.4223	0.058
C3'	0.6461(4)	0.5666(3)	0.4926(3)	0.0505(10)
H3'	0.6276	0.4976	0.4874	0.061
C2'	0.5738(3)	0.6299(3)	0.5405(3)	0.0483(10)
H2'	0.5075	0.6029	0.5675	0.058
C1'	0.5988(3)	0.7339(3)	0.5491(3)	0.0393(8)
N'	0.5268(2)	0.8004(2)	0.5962(2)	0.0455(8)
H1'	0.5340	0.8638	0.5824	0.055
C7'	0.4468(3)	0.7814(3)	0.6606(2)	0.0382(8)
C8'	0.3695(3)	0.8713(3)	0.6803(3)	0.0442(9)
H8'A	0.3073	0.8746	0.6372	0.053
H8'B	0.4155	0.9336	0.6755	0.053
C9'	0.3153(4)	0.8663(3)	0.7703(3)	0.0522(10)
H9'A	0.2570	0.9199	0.7766	0.063
H9'B	0.3754	0.8766	0.8142	0.063
C10'	0.2581(3)	0.7627(3)	0.7830(3)	0.0554(12)
H10C	0.2285	0.7577	0.8421	0.066
H10D	0.1918	0.7566	0.7436	0.066
C11'	0.3422(3)	0.6767(3)	0.7664(2)	0.0408(8)
C12'	0.4342(3)	0.6921(3)	0.7048(3)	0.0414(8)
H12'	0.4872	0.6393	0.6946	0.050
O3'	0.3271(2)	0.5937(2)	0.8042(2)	0.0561(8)

Tabela III.2 - Parâmetros de deslocamentos anisotrópicos ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) do ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
O1	0.0716(18)	0.0402(15)	0.092(2)	0.0043(16)	0.0372(18)	0.0011(13)
O2	0.0588(17)	0.0435(16)	0.091(2)	-0.0018(16)	0.0285(17)	0.0050(13)
C13	0.0461(19)	0.045(2)	0.045(2)	-0.0055(18)	0.0071(18)	0.0024(17)
C6	0.0461(19)	0.0359(18)	0.038(2)	-0.0062(17)	-0.0044(17)	-0.0023(17)
C5	0.049(2)	0.041(2)	0.049(2)	0.0007(18)	0.0085(19)	-0.0028(17)
C4	0.060(2)	0.044(2)	0.046(2)	0.0064(18)	0.008(2)	-0.0035(18)
C3	0.063(2)	0.0385(19)	0.048(2)	0.0031(18)	-0.007(2)	0.0012(17)
C2	0.0444(19)	0.0402(19)	0.043(2)	-0.0013(17)	-0.0017(17)	0.0068(15)
C1	0.0384(17)	0.0371(17)	0.037(2)	-0.0030(16)	-0.0024(17)	-0.0025(14)
N	0.0464(17)	0.0346(15)	0.0555(19)	-0.0099(15)	0.0066(15)	-0.0008(13)
C7	0.0339(17)	0.0378(17)	0.049(2)	-0.0041(18)	-0.0030(16)	-0.0029(14)
C8	0.0448(19)	0.0363(18)	0.052(2)	-0.0042(17)	-0.0018(17)	-0.0058(15)
C9	0.065(2)	0.042(2)	0.052(3)	-0.0043(19)	0.008(2)	-0.0191(19)
C10	0.049(2)	0.047(2)	0.059(3)	0.0035(19)	-0.0076(18)	-0.015(2)
C11	0.0401(17)	0.0319(18)	0.046(2)	0.0001(16)	0.0026(16)	-0.0004(14)
C12	0.0359(16)	0.0380(17)	0.046(2)	0.0014(17)	0.0041(17)	-0.0066(14)
O3	0.0650(17)	0.0355(14)	0.0656(18)	-0.0052(14)	0.0215(15)	0.0000(12)
O1'	0.0770(19)	0.0384(15)	0.101(3)	-0.0025(17)	0.037(2)	-0.0051(14)
O2'	0.0670(18)	0.0403(15)	0.087(2)	-0.0014(15)	0.0299(18)	-0.0120(13)
C13'	0.0424(19)	0.041(2)	0.045(2)	0.0038(17)	0.0018(18)	0.0014(16)
C6'	0.0377(17)	0.0398(18)	0.037(2)	0.0032(17)	-0.0006(16)	0.0003(15)
C5'	0.049(2)	0.048(2)	0.038(2)	0.0046(17)	0.0035(18)	-0.0001(17)
C4'	0.063(2)	0.0412(18)	0.041(2)	-0.0007(17)	0.004(2)	0.0035(17)
C3'	0.066(2)	0.0405(19)	0.045(2)	-0.0029(18)	-0.001(2)	-0.0042(17)
C2'	0.046(2)	0.049(2)	0.050(2)	0.001(2)	0.0038(18)	-0.0092(16)
C1'	0.0395(17)	0.0369(17)	0.041(2)	0.0038(17)	-0.0009(18)	-0.0013(14)
N'	0.0452(16)	0.0347(15)	0.057(2)	0.0070(14)	0.0130(16)	0.0013(13)
C7'	0.0365(17)	0.0368(18)	0.041(2)	-0.0014(17)	-0.0048(16)	-0.0046(15)
C8'	0.0465(19)	0.0352(18)	0.051(2)	0.0052(17)	-0.0039(17)	0.0062(15)
C9'	0.063(2)	0.036(2)	0.058(3)	0.0006(19)	0.008(2)	0.0126(18)
C10'	0.051(2)	0.048(2)	0.067(3)	0.003(2)	0.020(2)	0.0101(18)
C11'	0.0426(19)	0.0365(19)	0.043(2)	0.0003(17)	-0.0009(17)	-0.0018(15)
C12'	0.0393(17)	0.0324(17)	0.053(2)	0.0022(17)	0.0028(18)	0.0041(14)
O3'	0.0614(17)	0.0407(15)	0.0662(19)	0.0095(13)	0.0232(16)	0.0029(12)

Tabela III.3 - Distâncias (Å) interatômicas (°) para o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Distâncias			
O1 - C13	1.219(5)	C5 - H5	0.9300
O2 - C13	1.304(4)	C4 - H4	0.9300
O2 - H2O	0.8200	C3 - H3	0.9300
C13 - C6	1.498(5)	C2 - H2	0.9300
C6 - C5	1.393(5)	C1 - N	1.407(5)
C6 - C1	1.401(5)	N - C7	1.359(5)
C5 - C4	1.370(6)	N - H1	0.8600
C4 - C3	1.379(6)	C8 - H8A	0.9700
C3 - C2	1.370(5)	C8 - H8B	0.9700
C2 - C1	1.402(5)	C9 - H9A	0.9700
C7 - C12	1.364(5)	C9 - H9B	0.9700
C7 - C8	1.504(5)	C10 - H10A	0.9700
C8 - C9	1.514(6)	C10 - H10B	0.9700
C9 - C10	1.524(6)	C12 - H12	0.9300
C10 - C11	1.494(5)	O2' - H2O'	0.8200
C11 - O3	1.234(4)	C5' - H5'	0.9300
C11 - C12	1.433(5)	C4' - H4'	0.9300
O1' - C13'	1.216(4)	C3' - H3'	0.9300
O2' - C13'	1.295(4)	C2' - H2'	0.9300
C13' - C6'	1.490(5)	N' - H1'	0.8600
C6' - C5'	1.392(5)	C8' - H8'A	0.9700
C6' - C1'	1.421(5)	C8' - H8'B	0.9700
C5' - C4'	1.378(5)	C9' - H9'A	0.9700
C4' - C3'	1.374(6)	C9' - H9'B	0.9700
C3' - C2'	1.380(6)	C10' - H10C	0.9700
C2' - C1'	1.395(5)	C10' - H10D	0.9700
C1' - N'	1.396(5)	C12' - H12'	0.9300
N' - C7'	1.366(5)	C10' - C11'	1.499(5)
C7' - C12'	1.358(5)	C9' - C10'	1.515(5)
C7' - C8'	1.500(5)	C11' - O3'	1.242(4)
C8' - C9'	1.513(6)	C11' - C12'	1.425(5)

Tabela III.4 - Ângulos interatômicos (°) para o ácido 2-(3-oxociclohex-1-enil)aminobenzóico com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Ângulos			
C13 O2 H2O	109.5	O1 C13 C6	124.3(4)
O1 C13 O2	123.1(4)	O2 C13 C6	112.6(3)
C5 C6 C1	119.0(4)	C5 C6 C13	118.5(3)
C1 C6 C13	122.4(3)	C4 C5 C6	121.8(4)
C4 C5 H5	119.1	C6 C5 H5	119.1
C5 C4 C3	118.5(4)	C5 C4 H4	120.8
C3 C4 H4	120.8	C2 C3 C4	121.8(4)
C2 C3 H3	119.1	C4 C3 H3	119.1
C3 C2 C1	119.9(4)	C3 C2 H2	120.0
C1 C2 H2	120.0	C6 C1 C2	118.9(4)
C6 C1 N	118.7(3)	C2 C1 N	122.3(3)
C7 N C1	131.6(3)	C7 N H1	114.2
C1 N H1	114.2	N C7 C12	125.9(3)
N C7 C8	113.2(3)	C12 C7 C8	121.0(3)
C7 C8 C9	113.6(3)	C7 C8 H8A	108.8
C9 C8 H8A	108.8	C7 C8 H8B	108.8
C8 C9 C10	109.7(4)	C9 C8 H8B	108.8
C11 C10 C9	112.0(3)	H8A C8 H8B	107.7
C11 C10 H10A	109.2	C8 C9 H9A	109.7
C9 C10 H10A	109.2	C10 C9 H9A	109.7
C11 C10 H10B	109.2	C8 C9 H9B	109.7
C9 C10 H10B	109.2	C10 C9 H9B	109.7
H10A C10 H10B	107.9	H9A C9 H9B	108.2
O3 C11 C12	122.3(3)	O3 C11 C7	118.6(3)
C12 C11 C10	119.0(3)	C12 C11 C10	121.4(3)
C7 C12 H12	119.3	C11 C12 H12	119.3
C13' O2' H2O'	109.5	O1' C13' O2'	122.8(3)
O1' C13' C6'	124.5(3)	O2' C13' C6'	112.7(3)
C5' C6' C1'	119.0(3)	C5' C6' C13'	119.4(3)
C1' C6' C13'	121.6(3)	C4' C5' C6'	121.6(4)
C4' C5' H5'	119.2	C6' C5' H5'	119.2
C3' C4' C5'	119.1(4)	C3' C4' H4'	120.4
C5' C4' H4'	120.4	C4' C3' C2'	121.0(4)

Continua...



Continuação...

C4' C3' H3'	119.5	C2' C3' H3'	119.5
C3' C2' C1'	120.8(4)	C3' C2' H2'	119.6
C1' C2' H2'	119.6	C2' C1' N'	122.4(3)
C2' C1' C6'	118.3(3)	N' C1' C6'	119.2(3)
C7' N' C1'	130.7(3)	C7' N' H1'	114.6
C1' N' H1'	114.6	C12' C7' N'	126.0(3)
C12' C7' C8'	120.7(3)	N' C7' C8'	113.3(3)
C7' C8' C9'	112.9(3)	C7' C8' H8'A	109.0
C9' C8' H8'A	109.0	C7' C8' H8'B	109.0
C9' C8' H8'B	109.0	H8'A C8' H8'B	107.8
C8' C9' C10'	109.3(4)	C8' C9' H9'A	109.8
H9'A C9' H9'B	108.3	C10' C9' H9'A	109.8
C11' C10' C9'	112.0(3)	C8' C9' H9'B	109.8
C11' C10' H10C	109.2	C10' C9' H9'B	109.8
C9' C10' H10C	109.2	C9' C10' H10D	109.2
C11' C10' H10D	109.2	H10C C10' H10D	107.9
O3' C11' C12'	122.3(3)	O3' C11' C10'	119.2(3)
C12' C11' C10'	118.4(3)	C7' C12' C11'	122.0(3)
C7' C12' H12'	119.0	C11' C12' H12'	119.0

## ANEXO IV

### Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto Poli-[trimetilestanho-3-((carboxifenil)amino)ciclohexen-2-ona], [Me<sub>3</sub>Sn(boz)].

Tabela IV.1: Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros vibracionais isotrópicos U(eq) ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ), para o composto [Me<sub>3</sub>Sn(boz)] Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	x	y	z	U(eq)
Sn	0.411524(8)	-0.002008(19)	0.26150(5)	0.05087(14)
C(1)	0.43775(19)	0.1345(4)	0.2137(4)	0.0718(15)
C(2)	0.4509(2)	-0.0989(5)	0.3309(4)	0.0772(16)
C(3)	0.3535(2)	-0.0753(5)	0.2245(4)	0.089(2)
O(1)	0.38557(11)	0.0726(2)	0.3650(2)	0.0602(8)
O(2)	0.33660(11)	0.1547(2)	0.2914(2)	0.0616(9)
O(3)	0.44514(15)	-0.0706(3)	0.1396(2)	0.0771(11)
C(4)	0.35365(15)	0.1367(3)	0.3546(3)	0.0513(10)
C(5)	0.33861(13)	0.1881(3)	0.4283(3)	0.0444(10)
C(6)	0.35136(15)	0.1499(3)	0.5001(3)	0.0558(11)
C(7)	0.33636(18)	0.1936(5)	0.5696(3)	0.0673(15)
C(8)	0.3084(2)	0.2772(5)	0.5656(3)	0.0643(15)
C(9)	0.29629(16)	0.3184(4)	0.4959(3)	0.0561(11)
C(10)	0.31093(15)	0.2770(4)	0.4268(3)	0.0474(10)
N	0.29828(13)	0.3157(3)	0.3544(3)	0.0510(9)
C(11)	0.45673(14)	-0.3331(3)	0.0821(3)	0.0449(10)
C(12)	0.47411(17)	-0.3229(4)	0.0014(3)	0.0594(12)
C(13)	0.4631(2)	-0.2201(4)	-0.0352(3)	0.0703(15)
C(14)	0.47305(19)	-0.1322(4)	0.0200(4)	0.0665(14)
C(15)	0.45398(15)	-0.1476(3)	0.1002(3)	0.0528(11)
C(16)	0.44788(16)	-0.2510(3)	0.1278(3)	0.0490(11)
H1A	0.4312	0.1915	0.2474	0.108
H1B	0.4251	0.1466	0.1634	0.108
H1C	0.4688	0.1276	0.2087	0.108
H2A	0.4442	-0.0880	0.3848	0.116

Continua. . .

Continuação. . .

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
H2B	0.4811	-0.0832	0.3218	0.116
H2C	0.4454	-0.1695	0.3175	0.116
H3A	0.3308	-0.0634	0.2622	0.134
H3B	0.3585	-0.1480	0.2196	0.134
H3C	0.3447	-0.0477	0.1751	0.134
H6A	0.3703	0.0939	0.5021	0.067
H7A	0.3450	0.1670	0.6176	0.081
H8A	0.2977	0.3059	0.6115	0.077
H9A	0.2778	0.3753	0.4950	0.067
H1N	0.3021(18)	0.279(5)	0.310(3)	0.061
H12A	0.4622	-0.3776	-0.0306	0.071
H12B	0.5056	-0.3310	0.0026	0.071
H13A	0.4799	-0.2115	-0.0827	0.084
H13B	0.4323	-0.2187	-0.0488	0.084
H14A	0.4616	-0.0688	-0.0018	0.080
H14B	0.5045	-0.1247	0.0245	0.080
H16A	0.4376	-0.2617	0.1782	0.059

Tabela IV.2: Parâmetros de deslocamentos anisotrópicos ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
Sn	0.05684(19)	0.03705(18)	0.0587(2)	0.00251(11)	-0.00554(2)	0.00106(12)
C(1)	0.098(4)	0.039(2)	0.079(4)	0.005(2)	0.014(3)	0.003(2)
C(2)	0.094(4)	0.064(3)	0.073(4)	0.020(3)	0.001(3)	0.011(3)
C(3)	0.084(4)	0.072(4)	0.112(6)	-0.026(4)	-0.016(4)	-0.009(3)
O(1)	0.071(2)	0.0529(19)	0.057(2)	0.0016(15)	-0.0044(17)	0.0084(15)
O(2)	0.091(3)	0.0457(16)	0.049(2)	-0.0075(14)	-0.0092(17)	0.0143(15)
O(3)	0.117(3)	0.0449(18)	0.069(2)	-0.0108(19)	0.007(2)	0.0005(19)
C(4)	0.068(3)	0.042(2)	0.044(3)	0.001(2)	0.001(2)	-0.012(2)
C(5)	0.051(3)	0.038(2)	0.045(2)	-0.005(2)	-0.0020(18)	-0.0123(16)
C(6)	0.059(2)	0.049(2)	0.059(3)	0.011(2)	-0.010(2)	-0.0073(18)
C(7)	0.087(4)	0.072(4)	0.042(3)	0.016(3)	-0.006(2)	-0.023(3)
C(8)	0.083(4)	0.063(3)	0.047(3)	-0.006(3)	0.019(3)	-0.020(3)
C(9)	0.066(3)	0.048(2)	0.054(3)	-0.009(2)	0.002(2)	-0.009(2)
C(10)	0.049(2)	0.043(2)	0.049(3)	-0.005(2)	0.004(2)	-0.0119(18)
N	0.067(2)	0.0390(19)	0.047(2)	-0.0048(17)	-0.0032(18)	-0.0001(16)
C(11)	0.047(2)	0.038(2)	0.049(3)	-0.0043(19)	0.0002(18)	-0.0034(17)
C(12)	0.077(3)	0.049(2)	0.053(3)	0.003(3)	0.016(3)	0.000(2)
C(13)	0.102(4)	0.049(3)	0.061(4)	0.006(3)	0.007(3)	-0.003(3)
C(14)	0.089(4)	0.047(2)	0.064(4)	0.002(3)	0.009(3)	-0.008(2)
C(15)	0.059(3)	0.038(2)	0.061(3)	-0.008(2)	0.004(2)	-0.0014(18)
C(16)	0.054(3)	0.043(2)	0.050(3)	-0.0017(17)	0.004(2)	0.0021(16)

Tabela IV.3: Distâncias dos afastamentos interatômicos (Å) no composto [Me<sub>3</sub>Sn(boz)]. Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

Distâncias			
Sn-C(1)	2.112(5)	C(1)-H(1A)	0.9600
Sn-C(2)	2.111(6)	C(1)-H(1B)	0.9600
Sn-C(3)	2.113(6)	C(1)-H(1C)	0.9600
Sn-O(1)	2.174(4)	C(2)-H(2A)	0.9600
Sn-O(3)	2.496(4)	C(2)-H(2B)	0.9600
O(1)-C(4)	1.296(5)	C(2)-H(2C)	0.9600
O(2)-C(4)	1.227(6)	C(3)-H(3A)	0.9600
O(3)-C(15)	1.237(6)	C(3)-H(3C)	0.9600
C(4)-C(5)	1.503(7)	C(6)-H(6A)	0.9300
C(5)-C(6)	1.384(7)	C(7)-H(7A)	0.9300
C(6)-C(7)	1.400(8)	C(8)-H(8A)	0.9300
C(7)-C(8)	1.384(9)	C(9)-H(9A)	0.9300
C(8)-C(9)	1.362(8)	C(12)-H(12A)	0.9700
C(9)-C(10)	1.377(7)	C(12)-H(12B)	0.9700
C(11)-C(12)	1.489(7)	C(13)-H(13A)	0.9700
C(12)-C(13)	1.513(8)	C(13)-H(13B)	0.9700
C(11)-C(16)	1.351(6)	C(14)-H(14A)	0.9700
C(13)-C(14)	1.515(8)	C(14)-H(14B)	0.9700
C(14)-C(15)	1.508(8)	C(14)-H(14A)	0.9700
C(15)-C(16)	1.436(6)	C(14)-H(14B)	0.9700
C(10)-N	1.396(7)	C(16)-H(16A)	0.9300
C(11)-N	1.376(6)	N-H(1N)	0.91(6)
N-C(11)	1.376(6)		

Tabela IV.4: Ângulos de ligação ( $^{\circ}$ ) observados no composto  $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{boz})]$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

<b>Ângulos</b>			
C(1)-Sn-O(1)	94.73(19)	Sn-C(1)-H(1A)	109.5
C(2)-Sn-O(1)	90.8(2)	Sn-C(1)-H(1B)	109.5
C(3)-Sn-O(1)	97.9(2)	Sn-C(1)-H(1C)	109.5
C(1)-Sn-O(3)	79.46(19)	Sn-C(2)-H(2A)	109.5
C(2)-Sn-O(3)	91.4(2)	Sn-C(2)-H(2B)	109.5
C(3)-Sn-O(3)	86.3(2)	Sn-C(2)-H(2C)	109.5
C(1)-Sn-C(2)	120.1(3)	Sn-C(3)-H(3A)	109.5
C(1)-Sn-C(3)	125.5(3)	Sn-C(3)-H(3B)	109.5
C(2)-Sn-C(3)	112.5(3)	Sn-C(3)-H(3C)	109.5
C(5)-C(6)-C(7)	121.4(4)	O(1)-Sn-O(3)	174.13(13)
C(8)-C(7)-C(6)	118.6(5)	O(2)-C(4)-O(1)	124.4(4)
C(9)-C(8)-C(7)	121.3(5)	C(4)-O(1)-Sn	116.7(3)
C(8)-C(9)-C(10)	121.0(5)	O(1)-C(4)-C(5)	113.6(4)
C(10)-C(5)-C(4)	121.6(4)	O(2)-C(4)-C(5)	122.0(4)
C(6)-C(5)-C(10)	118.1(4)	C(5)-C(6)-H(6A)	119.3
C(6)-C(5)-C(4)	120.2(4)	C(7)-C(6)-H(6A)	119.3
C(9)-C(10)-C(5)	119.5(5)	C(8)-C(7)-H(7A)	120.7
C(9)-C(10)-N	122.4(5)	C(6)-C(7)-H(7A)	120.7
C(10)-N-H(1N)	122(4)	C(9)-C(8)-H(8A)	119.3
C(10)-C(9)-H(9A)	119.5	C(7)-C(8)-H(8A)	119.3
C(11)-N-C(10)	128.5(4)	C(8)-C(9)-H(9A)	119.5
C(11)-N-H(1N)	106(4)	C(11)-C(12)-H(12B)	109.1
C(11)-C(16)-C(15)	121.3(4)	C(11)-C(16)-H(16A)	119.4
C(11)-C(12)-C(13)	112.7(4)	C(11)-C(12)-H(12A)	109.1
C(14)-C(13)-C(12)	111.0(5)	C(12)-C(13)-H(13A)	109.4
C(16)-C(11)-C(12)	122.8(4)	C(12)-C(13)-H(13B)	109.4
C(16)-C(15)-C(14)	118.4(4)	C(13)-C(12)-H(12B)	109.1
C(13)-C(14)-C(15)	113.1(4)	C(13)-C(14)-H(14A)	109.0
C(16)-C(11)-N	124.6(4)	C(13)-C(14)-H(14B)	109.0

Continua . . .

Continuação . . .

N-C(11)-C(12)	112.6(4)	C(13)-C(12)-H(12A)	109.1
N-C(10)-C(5)	118.1(4)	C(14)-C(13)-H(13A)	109.4
C(15)-O(3)-Sn	146.8(4)	C(14)-C(13)-H(13B)	109.4
O(3)-C(15)-C(16)	123.1(5)	C(15)-C(14)-H(14B)	109.0
O(3)-C(15)-C(14)	118.5(4)	C(15)-C(14)-H(14A)	109.0
H(1A)-C(1)-H(1B)	109.5	C(15)-C(16)-H(16A)	119.4
H(1A)-C(1)-H(1C)	109.5	H(3A)-C(3)-H(3B)	109.5
H(1B)-C(1)-H(1C)	109.5	H(3B)-C(3)-H(3C)	109.5
H(2A)-C(2)-H(2B)	109.5	H(12A)-C(12)-H(12B)	107.8
H(2A)-C(2)-H(2C)	109.5	H(13A)-C(13)-H(13B)	108.0
H(2B)-C(2)-H(2C)	109.5	H(14A)-C(14)-H(14B)	107.8
H(3A)-C(3)-H(3C)	109.5		

## ANEXO V

### Dados cristalográficos obtidos por difração de raios-X em monocristal do composto 3-[(carboxifenil)amino]ciclohexen-2-ona-dibutilestanoxano, [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>.

Tabela V.1: Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros vibracionais isotrópicos U(eq) ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ), para o composto [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>. Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
Sn	0.11440(3)	0.53705(4)	0.00465(3)	0.04794(19)
C(1)	0.2528(5)	0.4824(7)	- 0.0727(4)	0.0555(16)
C(2)	0.3013(4)	0.4067(6)	-0.1206(4)	0.0476(13)
C(3)	0.2654(5)	0.2825(7)	-0.1548(4)	0.0624(17)
O(1)	0.2958(4)	0.5744(5)	-0.0200(3)	0.0715(14)
O(2)	0.1647(3)	0.4461(5)	-0.0887(3)	0.0663(13)
O(3)	0.5267(4)	0.7455(5)	-0.3103(3)	0.0789(14)
O(4)	-0.0111(3)	0.4329(4)	-0.0685(3)	0.0609(12)
C(4)	0.3102(6)	0.2058(7)	-0.1943(5)	0.075(2)
C(5)	0.3963(6)	0.2507(7)	-0.1966(5)	0.0698(19)
C(6)	0.4333(5)	0.3713(7)	-0.1645(5)	0.0647(18)
C(7)	0.3861(5)	0.4527(6)	- 0.1278(4)	0.0476(14)
C(8)	0.4620(4)	0.6696(6)	-0.1289(4)	0.0524(15)
C(9)	0.4851(7)	0.7943(7)	- 0.0779(5)	0.082(2)
C(10)	0.5244(13)	0.8968(12)	-0.1097(10)	0.199(8)
N	0.4209(4)	0.5778(5)	-0.0954(4)	0.0555(13)
C(11)	0.5371(7)	0.8870(9)	-0.1898(5)	0.091(3)
C(12)	0.5168(5)	0.7598(7)	-0.2393(5)	0.0627(18)
C(13)	0.4797(5)	0.6549(7)	- 0.2036(4)	0.0592(16)
C(14)	0.0900(6)	0.7270(7)	-0.0513(5)	0.084(2)
C(15)	0.1343(8)	0.8388(11)	0.0064(7)	0.131(4)
C(16)	0.1279(12)	0.9640(13)	-0.0459(11)	0.178(6)
C(17)	0.1537(19)	1.090(2)	0.0064(14)	0.308(12)
C(18)	0.2178(6)	0.4295(7)	0.1187(4)	0.0652(18)
C(19)	0.2363(7)	0.4788(8)	0.2140(5)	0.083(2)
C20	0.2641(6)	0.6207(9)	0.2315(5)	0.088(3)

Continua . . .



Continuação . . .

	<b>x</b>	<b>y</b>	<b>z</b>	<b>U(eq)</b>
C(21)	0.3559(6)	0.6563(11)	0.2209(7)	0.119(4)
H1SA	0.1118	0.7275	-0.0994	0.100
H1SI	0.0187	0.7410	-0.0811	0.100
H1SB	0.2037	0.8199	0.0457	0.157
H1SC	0.1017	0.8524	0.0457	0.157
H1SD	0.1713	0.9547	-0.0756	0.214
H1SE	0.0606	0.9715	-0.0943	0.214
H1SF	0.1455	1.1611	-0.0351	0.462
H1SG	0.2214	1.0875	0.0527	0.462
H1SH	0.1105	1.1034	0.0352	0.462
H2SA	0.1947	0.3400	0.1126	0.078
H2SB	0.2808	0.4285	0.1154	0.078
H2SC	0.1767	0.4643	0.2219	0.099
H2SD	0.2891	0.4272	0.2600	0.099
H2SE	0.2748	0.6425	0.2934	0.105
H2SF	0.2089	0.6730	0.1891	0.105
H2SG	0.3690	0.7479	0.2324	0.179
H2SH	0.3457	0.6364	0.1594	0.179
H2SI	0.4115	0.6072	0.2640	0.179
H2A	0.4908	0.3995	-0.1672	0.078
H3A	0.4293	0.1974	-0.2205	0.084
H4A	0.2836	0.1251	-0.2192	0.090
H5A	0.2095	0.2512	-0.1505	0.075
H0A	0.4156	0.6005	-0.0467	0.067
H8A	0.4245	0.8257	-0.0771	0.098
H8B	0.5319	0.7761	-0.0147	0.098
H9A	0.4824	0.9722	-0.1173	0.239
H9B	0.5890	0.9175	-0.0601	0.239
H10A	0.6052	0.9109	-0.1743	0.109
H10B	0.4948	0.9521	-0.2328	0.109
H12A	0.4676	0.5742	-0.2329	0.071

Tabela V.2: Parâmetros de deslocamentos anisotrópicos ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{23}$	$U^{13}$	$U^{12}$
Sn	0.0485(3)	0.0512(3)	0.0557(3)	-0.0081(2)	0.0336(2)	-0.0029(2)
C(1)	0.060(4)	0.068(4)	0.054(4)	-0.005(3)	0.039(3)	0.002(3)
C(2)	0.046(3)	0.058(3)	0.046(3)	-0.002(3)	0.027(3)	0.005(3)
C(3)	0.060(4)	0.068(4)	0.067(4)	-0.011(4)	0.036(3)	-0.006(3)
O(1)	0.079(3)	0.081(3)	0.077(3)	-0.027(3)	0.055(3)	-0.018(3)
O(2)	0.054(3)	0.087(4)	0.075(3)	-0.026(2)	0.044(2)	-0.014(2)
O(3)	0.095(4)	0.084(3)	0.087(3)	0.033(3)	0.066(3)	0.015(3)
O(4)	0.050(2)	0.074(3)	0.074(3)	-0.032(2)	0.041(2)	-0.017(2)
C(4)	0.095(6)	0.061(4)	0.082(5)	-0.012(4)	0.051(5)	0.000(4)
C(5)	0.095(5)	0.057(4)	0.084(5)	0.008(4)	0.063(4)	0.018(4)
C(6)	0.070(4)	0.063(4)	0.086(5)	0.019(4)	0.058(4)	0.016(4)
C(7)	0.054(4)	0.054(4)	0.049(3)	0.011(3)	0.035(3)	0.006(3)
C(8)	0.049(3)	0.061(4)	0.054(3)	0.017(3)	0.029(3)	0.006(3)
C(9)	0.121(7)	0.063(4)	0.073(5)	-0.009(4)	0.054(5)	-0.022(5)
C(10)	0.40(2)	0.104(8)	0.228(14)	-0.052(9)	0.265(17)	-0.097(12)
N	0.069(3)	0.056(3)	0.059(3)	0.003(2)	0.044(3)	-0.006(3)
C(11)	0.103(6)	0.085(6)	0.089(6)	0.012(5)	0.046(5)	-0.034(5)
C(12)	0.051(4)	0.076(5)	0.073(4)	0.028(4)	0.038(3)	0.009(3)
C(13)	0.063(4)	0.060(4)	0.068(4)	0.017(3)	0.042(3)	0.006(3)
C(18)	0.081(5)	0.058(4)	0.069(4)	0.011(3)	0.045(4)	0.017(4)
C(19)	0.093(6)	0.092(6)	0.068(5)	0.002(4)	0.041(4)	0.024(5)
C(20)	0.069(5)	0.123(8)	0.074(5)	-0.021(5)	0.034(4)	0.015(5)
C(21)	0.075(6)	0.145(9)	0.136(8)	-0.044(7)	0.046(6)	-0.006(6)

Tabela V.3: Distâncias dos afastamentos interatômicos (Å) no composto [Bu<sub>2</sub>Sn(boz)O]<sub>2</sub>. Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

Distâncias			
Sn-O4	2.029(4)	C1-O1	1.243(8)
Sn-O2	2.177(4)	C1-O2	1.284(8)
C12-C13	1.444(8)	C13-H12A	0.9300
C11-C12	1.490(11)	C12-O3	1.233(7)
C10-C11	1.398 (11)	C11-H10B	0.9700
Sn-C14	2.110(8)	C11-H10A	0.9700
Sn-C18	2.121(6)	C10-H9B	0.9700
C14-C15	1.442(11)	C10-H9A	0.9700
C15-C16	1.517(12)	C9-H8B	0.9700
C16-C17	1.502(17)	C14-H1SA	0.9700
C17-H1SF	0.9600	C14-H1SI	0.9700
C17-H1SG	0.9600	C15-H1SB	0.9700
C17-H1SH	0.9600	C15-H1SC	0.9700
C18-C19	1.530(9)	C16-H1SD	0.9700
C19-C20	1.505(12)	C16-H1SE	0.9700
C20-C21	1.507(11)	C18-H2SA	0.9700
C4-H4A	0.9300	C18-H2SB	0.9700
N-C8	1.363(7)	C3-C2	1.398(9)
C8-C13	1.359(8)	C19-H2SC	0.9700
C8-C9	1.478(9)	C3-H5A	0.9300
C9-C10	1.409(11)	N-H0A	0.8600
C2-C1	1.495(8)	C9-H8A	0.9700
C19-H2SD	0.9700	C20-H2SE	0.9700
C21-H2SH	0.9600	C20-H2SF	0.9700
C21-H2SI	0.9600	C21-H2SG	0.9600
C7-C6)	1.387(8)	C7-N	1.396(8)
C7-C2	1.409(8)	C6-H2A	0.9300
C6-C5	1.360(10)	C5-C4	1.388(10)
C5-H3A	0.9300	C4-C3	1.364(9)

Tabela V.4: Ângulos de ligação ( $^{\circ}$ ) observados no composto  $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{boz})\text{O}]_2$ . Os desvios padrão encontram-se entre parênteses.

<b>Ângulos</b>			
Sn-O4-Sn	108.13(17)	O1-C1-C2	121.7(6)
C1-O2-Sn	112.3(4)	O1-C1-O2	122.2(6)
O2-C1-C2	116.1(6)	C12-C13-H12A	118.8
C8-C13-C12	120.9(7)	C8-C13-H12A	118.8
O3-C12-C13	122.5(7)	C13-C12-C11	117.3(6)
H10A-C11-H10B	107.0	O3-C12-C11	121.7(6)
C10-C11-H10A	107.6	C12-C11-H10B	107.6
C15-C14-Sn	120.8(6)	C10-C11-H10B	107.6
O2-Sn-O4	155.03(16)	C12-C11-H10A	107.6
C18-Sn-O4	93.3(2)	C15-C14-H1SA	107.1
O4-Sn-O2	83.47(16)	C14-Sn-O4	92.8(3)
C18-Sn-C14	140.8(3)	O4-Sn-O4	71.87(17)
O4-Sn-C14	107.1(3)	C14-Sn-O2	98.3(2)
Sn-C14-H1SA	107.1	C18-Sn-O2	92.2(2)
C15-C14-H1SI	107.1	O4-Sn-C18	111.6(3)
Sn-C14-H1SI	107.1	H1SA-C14-H1SI	106.8
C14-C15-C16	114.5(9)	C16-C15-H1SB	108.6
C14-C15-H1SB	108.6	C14-C15-H1SC	108.6
C17-C16-C15	118.5(15)	C16-C15-H1SC	108.6
C17-C16-H1SD	107.7	H1SB-C15-H1SC	107.6
C17-C16-H1SE	107.7	H1SD-C16-H1SE	107.1
C15-C16-H1SE	107.7	C16-C17-H1SF	109.5
H1SF-C17-H1SG	109.5	C16-C17-H1SG	109.5
C16-C17-H1SH	109.5	H1SG-C17-H1SH	109.5
H1SF-C17-H1SH	109.5	C19-C18-Sn	116.3(5)
C19-C18-H2SA	108.2	C19-C18-H2SB	108.2
Sn-C18-H2SA	108.2	Sn-C18-H2SB	108.2
H2SA-C18-H2SB	107.4	C20-C19-C18	114.9(7)
N-C8-C9	114.2(5)	H8A-C9-H8B	107.1
C13-C8-C9	120.3(6)	C13-C8-N	125.5(6)
C20-C19-H2SC	108.5	C18-C19-H2SC	108.5

Continua . . .

Continuação . . .

C18-C19-H2SD	108.5	H2SC-C19-H2SD	107.5
C19-C20-C21	113.8(7)	C19-C20-H2SE	108.8
C21-C20-H2SE	108.8	C19-C20-H2SF	108.8
H2SE-C20-H2SF	107.7	C21-C20-H2SF	108.8
C20-C21-H2SG	109.5	H2SG-C21-H2SH	109.5
C20-C21-H2SH	109.5	C20-C21-H2SI	109.5
H2SG-C21-H2SI	109.5	H2SH-C21-H2SI	109.5
C6-C7-N	122.5(5)	N-C7-C2	118.5(5)
C6-C7-C2	119.0(6)	C5-C6-C7	120.8(6)
C5-C6-H2A	119.6	C7-C6-H2A	119.6
C4-C5-H3A	119.4	C6-C5-C4	121.2(6)
C3-C4-C5	118.7(7)	C6-C5-H3A	119.4
C3-C4-H4A	120.7	C5-C4-H4A	120.7
C4-C3-C2	121.8(6)	C4-C3-H5A	119.1
C3-C2-C7	118.4(5)	C2-C3-H5A	119.1
C3-C2-C1	119.2(6)	C7-C2-C1	122.3(6)
C8-N-C7	130.1(5)	C8-N-H0A	115.0
C20-C19-H2SD	108.5	C15-C16-H1SD	107.7
C10-C9-C8	118.2(6)	C10-C11-C12	118.9(7)
C10-C9-H8A	107.8	H9A-C10-H9B	106.6
C8-C9-H8A	107.8	C9-C10-H9B	106.7
C10-C9-H8B	107.8	C11-C10-H9B	106.7
C8-C9-H8B	107.8	C9-C10-H9A	106.7
C11-C10-C9	122.6(9)	C11-C10-H9A	106.7
C7-N-H0A	115.0		

## ANEXO VI - Cartas de Aceite de Trabalhos.

1.

From: **CCDC Deposit** <[deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk)>

Date: 13/06/2007 09:10

Subject: Re: deposit of structure - CCDC 650424

To: [delima.geraldo@gmail.com](mailto:delima.geraldo@gmail.com)

Dear Depositor

The following crystal structure has been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Centre and allocated the deposition number

CCDC 650424

If we have any queries relating to these data then we will contact you later.

Summary of Data CCDC 650424

Authors: G.M. de Lima, F.T. Vieira, D.C. Menezes, T.E. Albrecht-Schmitt

Journal: Private Communication (1078), Y: 2007

Formula: C<sub>36</sub> H<sub>49</sub> N<sub>4</sub> O<sub>10</sub> Sn<sub>4</sub>

Unit cell parameters: a 8.7063(7) b 14.0697(11) c 18.2051(14)  
alpha 90.1960(10) beta 103.3840(10) gamma 94.677(2)  
space group P-1

Any publication carrying this CCDC number will refer to the most recent set of deposited data; previous depositions carrying this number will not be retained.

Many thanks for your help.

Best wishes

Data Acquisition Team

Data Acquisition - the Cambridge Crystallographic Data Centre

[deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk) <http://www.ccdc.cam.ac.uk/deposit>

Telephone: (44) 01223 762910 Facsimile: (44) 01223 336033

Postal Address: CCDC, 12 Union Road, CAMBRIDGE CB2 1EZ, UK

2.

From: **mgielen@vub.ac.be** <mgielen@vub.ac.be>

Date: 09/04/2008 12:05

Subject: Applied Organometallic Chemistry - Acceptance of Manuscript ID AOC-08-0026.R2

To: gmlima@ufmg.br

Cc: mgielen@vub.ac.be

April 9, 2008

Dear Dr. de Lima,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Effect of diorganotin(IV) carboxylate complexes, [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV), on the membrane of *Candida albicans* cells – a mechanistic investigation of the antifungal activity of organotin complexes" in its current form for publication in Applied Organometallic Chemistry.

A signed copyright transfer agreement is needed for publication. If you have not already provided us with one you can access the copyright transfer agreement at:  
<http://www3.interscience.wiley.com/homepages/central/cta/UKscta.pdf>

To enable the publisher to disseminate the author's work to the fullest extent, the author must sign a Copyright Transfer Agreement, transferring the copyright of the article from the author to the publisher.

If you have not yet uploaded a CTA, please ensure that you have identified the form with the manuscript ID number; scan your signed CTA and e-mail to [cta@wiley.co.uk](mailto:cta@wiley.co.uk) stating the manuscript ID number in the subject line of the e-mail. If you do not have access to a scanner then please forward your signed CTA to the following address:

John Wiley and Sons Ltd.  
The Atrium  
Southern Gate  
Chichester  
West Sussex  
PO19 8SQ  
UK

Please note that this does not take away your rights to reuse your own article after publication, and that if the copyright belongs to your employing institution, they should sign the form instead of you.

If you have already provided us with the signed form, you do not need to do anything at this stage. You will be contacted by our typesetters/copyeditors shortly.

Thank you for your fine contribution.

Sincerely,  
Marcel.

Effect of diorganotin(IV) carboxylate complexes, [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV), on the membrane of *Candida albicans* cells – a mechanistic investigation of the antifungal activity of organotin complexes

**F. T. Vieira<sup>a</sup>, D. C. Menezes<sup>a</sup>, G. M. de Lima<sup>a\*</sup>, J. L. Wardell<sup>b\*\*</sup>,  
M. E. Cortés<sup>c</sup>, G. A. B. Silva<sup>d</sup>, A. Vilas-Boas<sup>e</sup> and J. R. da S.  
Maia<sup>f</sup>.**

<sup>a</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte – MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>b</sup> Department of Chemistry, University of Aberdeen, Meston Walk, Old Aberdeen AB9 2UE, Scotland, U.K.

<sup>c</sup> Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte – MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte – MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>e</sup> Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte – MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>f</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Avenida P.H.Rolfs, s/n, Viçosa – MG CEP 36571-000, Brazil

\* Corresponding author. Tel.: 0055-3499-5744, delima.gerald@gmail.com (Geraldo Magela de Lima)

\*\* Present address: Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte – MG CEP 31270-901, Brazil



## ABSTRACT

The *in vitro* anti-fungal activity of diorganotin(V) carboxylate complexes, [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV) (**1**), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] (**2**) and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV) (**3**) has been screened against *Candida albicans*. The complexes, prepared by minor modifications of a literature method, have been fully characterised. The biological activities of complexes (**1**) - (**3**) on cultures of *Candida albicans* have been studied and the related mechanism has been investigated. No changes in DNA integrity or in the mitochondria function have been observed. However, all the tin compounds were found to reduce the ergosterol biosynthesis. The compounds have inhibitory concentrations ( $IC_{50}$ ) in the range of 7.5 - 20.0  $\mu\text{g/mL}$ , with compound (**3**) the most active. These results have been compared with those provided by the literature, using myconazole, amphotericin B and fluconazole as standards. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) of the cells treated with complexes (**1**) – (**3**), revealed severe damage on the *C. albicans* cells compromising the cellular integrity, suggesting that the organotin complexes act on the cell membrane, in view of cytoplasm leaking and cellular deformation. The data indicate for (**1**) – (**3**) a mechanism of action similar to that of azole drugs, such as ketoconazole or fluconazole, normally used in *Candida* infections.

**Keywords:** Organotin compounds, *Candida albicans*, antifungal activity.

## INTRODUCTION

Despite some fungi infections being difficult to treat in humans and other mammals, some fungi species are useful in the research of new anti-neoplastic drugs, providing invaluable insights to the mechanism of their action<sup>1</sup>. *S. cerevisiae* has indeed been used as a test for new chemotherapeutic agents<sup>2,3</sup>. Many compounds which display antifungal activity have also been found to have an anticancer effect<sup>3,4</sup>.

The range of potential biological applications of organotin compounds has been widely reported<sup>5</sup>. Anti-oxidant<sup>6</sup>, anti-inflammatory and vasodepressor<sup>7</sup> activities are among those described in the literature<sup>8</sup>. Other activities include (i) schizonticidal and antimalarial activities exhibited by aminoquinoline-tin complexes<sup>9</sup>, (ii) and amoebicidal activity of tin-Schiff base complexes<sup>10</sup>. Tin-2-alkylindole derivatives have been tested against *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*<sup>11</sup> and dioctyltin maleate has been found active against *leishmaniasis* in mice and *helminthes* in cats. One of the more interesting biological activities of organotin(IV) complexes is their antitumour activity<sup>12-14</sup>.

The interaction of organotin derivatives with biologic systems has been well documented<sup>15, 16</sup>. A number of mechanisms for the biological action of organotin derivatives have been proposed<sup>17</sup>. However, a complete understanding has still to be found. Release of K<sup>+</sup> from cells, resulting from increased cytoplasmic membrane permeability points out the cytoplasmic membrane as possible site of action<sup>18-20</sup>. The crossing of the cytoplasmic membrane by organotin derivatives might be a consequence of lipid-solubility<sup>21, 22</sup> effected by weak interactions involving amino-acids, proteins<sup>23</sup>, nucleosides, carbohydrates and steroids<sup>24</sup>, or by anionic carboxylates, hydroxyl and phosphate groups present in the cell membrane binding cationic organotin fragments at the cell surface<sup>25</sup>. Nevertheless, the effectiveness of the biologic activity of organotin derivatives depends on the structure<sup>26</sup>. The toxicity of organotin compounds has been found to be a function of the number, as well as, of the nature of the organic groups attached to the metal centre. Normally tri-organotin compounds have higher biocidal actions than di-organotin species, although the latter have good antitumor activity. On the other hand, mono-organotin compounds possess little effect on biologic systems. Some authors have proposed that toxicity in the R<sub>3</sub>Sn series correlates with total molecule surface (TSA) and hence n-propyl-, n-butyl-, n-pentyl-, phenyl-, and cyclohexyl-substituted tin compounds should be more toxic than ethyl- and methyl-tin, supporting a toxicity and lipophilicity correlation<sup>25</sup>.

In this paper, we report some results involving organotin carboxylic derivatives (previously screened for their antitumour activity), [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV) (1), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] (2) and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV) (3), and cultures of *C. albicans*. We have (i) determined the inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) for compounds (1), (2) and (3), (ii) examined the integrity of the genetic material and respiratory functions of drug-treated colonies of *C. albicans*, (iii) measured the levels of ergosterol in the cell membrane and (iv) observed the morphology of the cells through Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM). Compound (3) has been screened and showed remarkable *in vitro* antitumour activity against the human tumour cell lines, MCF-7 (mammary tumour) and WiDr (colon carcinoma)<sup>27</sup>.

## MATERIALS AND METHODS

The diorganotin (IV) carboxylates investigated in this study, [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV) (1), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] (2) and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV) (3), Fig. 1, have been prepared and characterised according to the literature procedure with minor modifications<sup>28-30</sup>. The ligand (2-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH=NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOH) was prepared according to a literature procedure<sup>23</sup>. Complex (1) was obtained by reacting 2-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH=NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOH with SnMe<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, in methanol, in the presence of Et<sub>3</sub>N. The other complexes were prepared in a similar manner using 2-aminobenzoic acid and the appropriate organotin derivative SnMe<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2) or SnBu<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3). All compounds were authenticated using appropriate techniques. Elemental analyses were performed using a Perkin-Elmer Model PE 2400CHN. Melting points were determined with a digital melting point from Mettler model FP90 with cell of heating model FP82 HT and microscopy from Olympus CH-2. IR spectra were obtained as KBr plates on a Mattson Galaxy model ST 3000 spectrometer in the 4000-200 cm<sup>-1</sup> range. NMR spectra were recorded in CDCl<sub>3</sub> at 25°C on a Bruker Avance DRX 400. The chemical shift values were referenced to internal SiMe<sub>4</sub> and SnMe<sub>4</sub>. <sup>119</sup>Sn Mössbauer measurements were performed using a conventional apparatus with the samples at liquid N<sub>2</sub> temperature and a CaSnO<sub>3</sub> source kept at room temperature. We have also reviewed the structural determination of compound (2) and the structure has been deposited at CCDC (ref. 650424).

*[N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV)* (**1**): Yield 55 %. Mp. 294.4 – 295.6 °C. IR (CsI, cm<sup>-1</sup>): 1660 w (ν<sub>COO</sub>); 1604 s (ν<sub>C=N</sub>); 222 w (ν<sub>SnO</sub>). <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400.13 MHz), δ 8.8 s (1H, CH=N), 8.0 - 6.7 m (8H, aromatic), 0.5 (6H, s, {CH<sub>3</sub>}<sub>2</sub>Sn). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100.61 MHz), δ 199.8 (COO); 170.2 (CH=N); 151.1 – 114.1 m (12 C, aromatic); 7.3 {CH<sub>3</sub>}<sub>2</sub>Sn. <sup>119</sup>Sn{<sup>1</sup>H} NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 149.21 MHz), δ -328. <sup>119</sup>Sn-Mössbauer (mm s<sup>-1</sup>), δ 1.29, Δ 3.76. Analysis for C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>Sn, found (calc.): C 49.63 (49.53), H 3.70 (3.89), N 3.69 (3.61).

*bis(μ<sub>3</sub>-oxo)bis(μ-O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)]* (**2**): Yield 65 %. Mp. 238.0 – 240.0 °C. IR (CsI, cm<sup>-1</sup>): 1616 s (ν<sub>COO</sub>); 1366 s (ν<sub>s COO</sub>); 650 w (ν<sub>SnO</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400.13 MHz), δ 7.8 - 6.7 m (4H, aromatic), 1.0 s (CH<sub>3</sub>), 5.7 s (NH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.61 MHz), δ 175.1 (COO); 150.4 – 113.1 m (6C, aromatic); 7.3 (CH<sub>3</sub>). <sup>119</sup>Sn{<sup>1</sup>H} NMR (CDCl<sub>3</sub>, 149.21 MHz), δ -190.5 and -172.9. <sup>119</sup>Sn-Mössbauer (mm s<sup>-1</sup>), δ 1.51, Δ 3.72 and δ 1.37, Δ 1.29. Analysis for C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Sn<sub>4</sub>, found (calc.): C 46.48 (46.28), H 5.09 (5.17), N 5.93 (5.99).

*bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV)* (**3**): Yield 80 %. Mp. 114.4 – 116.0 °C. IR (CsI, cm<sup>-1</sup>): 1623 s (ν<sub>COO</sub>); 1366 s (ν<sub>s COO</sub>); 671 w (ν<sub>SnO</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400.13 MHz), δ 8.0 - 6.7 m (4H, aromatic ring), 5.7 s (NH<sub>2</sub>), 1.7 – 0.8 (C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>),. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100.61 MHz), δ 177.3 (COO); 150.3 – 111.0 m (6C, aromatic); 26.7 (CH<sub>2</sub>-α); 26.3 (CH<sub>2</sub>-β); 25.5 (CH<sub>2</sub>-γ); 13.5 (CH<sub>3</sub>). <sup>119</sup>Sn{<sup>1</sup>H} NMR (CDCl<sub>3</sub>, 149.21 MHz), δ -151.3. <sup>119</sup>Sn-Mössbauer (mm s<sup>-1</sup>), δ 1.20, Δ 3.62. Analysis for C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Sn, found (calc.): C 52.40 (52.30), H 6.04 (5.98), N 5.59 (5.54).

### Insert Figure 1

#### Chemicals for the biological tests

2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, agarose, ethidium bromide, potassium hydroxide, solvents, and reagents for the preparation of cultures were obtained from Aldrich, Merck and Synth and used as received. The chemicals for culture media, agar and dextrose broth Sabouraud were obtained from Biobrás S.A., MG, Brazil. Poly-L-lysine and carbon dioxide were purchased from Sigma and Balzer, respectively.

### **Yeast strain and culture conditions**

Yeast cells of *Candida albicans*, ATCC 18804, were seeded and grown aerobically in Sabouraud dextrose agar (SDA) at 37 °C for 24 h and stored at 4 °C. Suspensions were prepared in concentration range of  $10^5 - 10^6$  CFU/mL (determined by the McFarland scale, CFU = colonies formed unit) in Sabouraud dextrose broth (SDB) for IC experiments, and grown at 37°C for 24h. For yeast cell viability, DNA integrity assays and lipid extractions *C. albicans* cultures were grown on stationary phases at 30 °C ( $10^9$  CFU/mL, determined by Neubauer cell apparatus) with continuous shaking in SDB. The complexes were dissolved in DMSO and all experiments were carried out in triplicate.

### **Inhibitory Concentrations (IC)**

Inhibitory concentration experiments were performed with minor modifications of the method described in the literature<sup>31</sup>. IC<sub>50</sub> and IC<sub>95</sub> are values defined as the minimum concentration of drug required to inhibit the growth of 50% and 95% of the fungal culture at 37 °C. An aliquot of 10 µL of DMSO were mixed to the culture medium as control. After 24 h of incubation data were collected by spectroscopic analysis (absorbance at  $\lambda = 600$  nm).

### **DNA integrity assays from *C. albicans***

This was performed in order to observe any possible cellular apoptosis effect by DNA fragmentation. We based our strategy on a method used in previous studies<sup>32</sup>. *C. albicans* cells were grown in SDB medium at 30 °C, with shaking, for 24 h in two different conditions: (i) presence of 10 µL DMSO (control sample); (ii) presence of each complex at a concentration of 40 µg/mL. The liquid cultures were centrifuged for 5 min. The liquid phase was eliminated and pellets were re-suspended in 200 µL lysis buffer (2 % Triton X-100; 1 % sodium dodecylsulphate; 100 mmol/L NaCl; 10 mmol/L Tris-HCl pH = 8; 1 mmol/L EDTA pH = 8). The tubes were then immersed in liquid nitrogen for 2 min (twice) and transferred to a hot bath at 95 °C for 1 min. The tubes were vortexed for 30 s. Then, 200 µL of chloroform were added and the tube was agitated for 2 min. Then they were centrifuged again for 3 min and the aqueous phase was transferred to tubes containing 400 µL of cold ethanol. The tubes were incubated overnight at -20 °C, centrifuged and the pellets washed with 500 µL cold ethanol (70 %) and dried at room temperature. Finally,

the pellets were re-suspended in 10  $\mu$ L TE buffer (10 mmol/L Tris-HCl pH = 8 and 1 mmol/L EDTA pH = 8). Alterations in DNA integrity was assessed by comparing electrophoretic migration of the samples in a 0.8 % agarose gel prepared in TAE buffer (40 mmol/L tris(hydroxymethyl)aminomethane acetate and 1 mmol/L EDTA). For each assay 5  $\mu$ L of the TE suspensions were mixed with 5  $\mu$ L of loading buffer (0.025 mg bromophenol blue; 1 mL glycerol and 1mL distilled water) and transferred to wells in the horizontal gel. A potential difference of 70 mV was applied over the gel for approximately 0.5 h and the bands were stained with ethidium bromide and visualised under UV light.

### **Yeast cell respiratory viability**

A respiratory test was carried out to detect any drug-induced change in the respiratory function of the fungus<sup>33, 34</sup>. Cultures of *C. albicans* were grown for 24 h at 37 °C in the presence of the organotin compounds at concentrations of 10 and 40  $\mu$ g/mL. Then, the mixture was centrifuged at  $1.3 \times 10^4$  rpm for 5 min and the cells were suspended in phosphate buffered saline, PBS, (NaCl, 137 mmol/L; KCl, 2.7 mmol/L; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10 mmol/L; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 mmol/L; pH = 7.4). Each cell suspension (100  $\mu$ L) was spread over 15 mL of Sabouraud dextrose agar (SDA) on Petri-dishes and incubated for 48 h at 30 °C. Then the samples were transferred to Petri-dishes with molten-agar (2 % agar, 0.5 % glucose and 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride, TTC, 0.05 % w/v) and grown for 24 h at 30 °C. The number of colonies was ascertained and expressed as a percentage with respect to the control (100 %) and the results were statistically analysed by non-paired t-test with significance level, P>0.05. Colonies undergoing active respiration reduce TTC to a dark red colour while those with reduced respiratory function remain white.

### **Ergosterol extraction**

Ergosterol and dehydroergosterol were extracted employing a methodology described in the literature with minor modifications<sup>35</sup>. Briefly, the organotin compounds (at concentration of 40  $\mu$ g/mL) were added to cells grown on 2 mL of SDB with continuous shaking at 30 °C for 24 h. A suspension of the culture containing DMSO was used as control. The liquid cultures were transferred to eppendorf tubes and centrifuged for 5 min at  $1.3 \times 10^4$  rpm. The pellets were washed with distilled water, dried at room temperature and weighed. The resulting cells were re-suspended in 25 % alcoholic potassium hydroxide solution (25g of KOH in 35 mL of sterile distilled water and 65mL of ethanol - giving a

final cell density of  $1 \times 10^9$  cells  $\text{cm}^{-3}$ ), incubated at 90 °C for 1 h, and cooled to room temperature. The lipids were extracted by adding 0.5 mL sterile distilled water, 1 mL of *n*-heptane and vortexed for 3 min. The *n*-heptane layer was transferred to eppendorf tubes and kept at -20 °C for 24 h. Aliquots of 2  $\mu\text{L}$  were diluted in ethanol and analysed ( $\lambda = 230$  and 281.5 nm). The concentration of lipids was calculated according to the published methodology<sup>35</sup> by measuring the difference in the absorbance values at 281.5 and 230 nm. Finally, the results were statistically analysed by t-test (non-paired Student's test) with significance level,  $P > 0.05$ .

### **Scanning electron microscopy (SEM) and Transmission electron microscopic (TEM) evaluation**

Cultures of *C. albicans* were grown for 24 h at 37 °C, in the presence of each compound, at concentrations of 20.0, 17.5 and 7.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to complexes (1)-(3) ( $\text{IC}_{50}$ ) respectively. Compound (3) was also employed at a concentration of 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (95 % of inhibition). Cultures grown in the absence of the compounds were used as control. The cultures were centrifuged at  $3 \times 10^3$  rpm for 1 min. Primary fixation procedure of stationary phase yeast cells was in 2.5 % glutaraldehyde buffered with 0.1 mol/L sodium cacodylate, pH 7.2, at 4 °C for 3 h. The resulting solid was rinsed with cacodylate buffer, centrifuged and the samples allocated to TEM analysis were mixed with agar (3 %). For TEM experiments the samples were post-fixed in potassium ferrocyanide-reduced 1 % osmium tetroxide in the same buffer for 30 min at 4 °C. Dehydration of samples was achieved in acetone (30, 50, 70, 90, and 100 %), each one for 10 min. The samples were infiltrated (1:2; 1:1; 2:1) in epon (resin:acetone). The polymerisation process occurred after 72 h at 65 °C. Semi-thin sections were stained with toluidine blue and ultra-thin sections about 80 to 90 nm thick were double-stained with uranyl acetate and lead citrate, the samples were cut using an Ultracut E – Sorvall apparatus with diamond blades. The specimens were examined in a Zeiss-EM 10 transmission electron microscope. For the SEM analysis, small drops of the samples were placed on a specimen support with poly-L-lysine. Post-fixation was carried out with 1 % of osmium tetroxide in cacodylate buffer for 30 min, with 1 % of tannic acid. Subsequently, the specimens were dehydrated in graded ethanol solution in which the concentration was increased from 30 % (30, 50, 70, 80, 90, 95 %) for 30 min and 100 % for two periods of 15 min. Then, it was dried using liquid

carbon dioxide (critical), and coated with a thin gold film and analysed in a scanning electron microscope (Zeiss-DSM 950).

## RESULTS AND DISCUSSION

The reaction between carboxylic acids with the appropriate organotin chloride in the presence of  $\text{NEt}_3$  yielded the complexes **(1)**-**(3)**, which were fully characterised.

*Inhibitory concentrations ( $\text{IC}_{50}$ ) of [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV) (1), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] (2) and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV) (3).*

The inhibitory concentrations,  $\text{IC}_{50}$ , for the compounds were 20.0  $\mu\text{g/mL}$  **(1)**, 17.5  $\mu\text{g/mL}$  **(2)** and 7.5  $\mu\text{g/mL}$  **(3)**, and  $\text{IC}_{95}$  for the compound **(3)** was 20.0  $\mu\text{g/mL}$  and can be compared with the  $\text{IC}_{50}$  values of the clinical agents in use, myconazole, amphotericin B and fluconazole, 110.8  $\mu\text{g/mL}$ , 1.00  $\mu\text{g/mL}$  and 8.00  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

### DNA integrity assay

A well known literature method used previously to indicate DNA fragmentation of cells exposed to Cu(II), Mn(II) and Ag(I) 1,10-phenanthroline complexes was employed<sup>32</sup>. In our work, DNA was extracted from the control cell and cultures exposed to **(1)**, **(2)** and **(3)**, each at a concentration of 40  $\mu\text{g/mL}$ . Little difference was observed between the results of the control and test cultures for each of the tin complexes. Degradation of high molecular weight DNA was not evident. Either the organotin concentrations were not sufficient to induce fungal cell DNA degradation, or the cells were capable of repairing the damage over the timeframe of the experiment. However the concentrations were higher than that corresponding to  $\text{IC}_{50}$ . Our results provide no evidence for the interaction between organotin complexes and DNA.

### Yeast cell respiratory viability

*C. albicans* colonies display colours ranging from yellow to off-white<sup>36</sup>. During the respiration process, glucose is consumed, resulting in the reduction of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC), causing a colour change to red. No colour change is



observed when external agents compromise the respiratory function, since the cells lose the ability to promote the chemical reduction<sup>33, 37</sup>. Studies have revealed that some organotin derivatives interact with mitochondria inducing cytochrome c release by a mechanism inhibited by cyclosporine A and bongkrekic acid<sup>15c</sup>. It was expected that complexes (1) – (3) would provide similar results.

After 24 h of exposure to (1), (2) or (3), at concentrations of 10 and 40 µg/mL, *C. albicans* colonies were counted and expressed as a percentage with respect to the control (100 %). Colour changes from white to red were detected, suggesting that most of the drug-treated cells, at fungicidal concentration of complexes, preserve the respiratory function. It has been reported that that [Mn(phen)<sub>2</sub>(mal).2H<sub>2</sub>O], [Ag<sub>2</sub>(phen)<sub>3</sub>(mal).2H<sub>2</sub>O], [Cu(phen)<sub>2</sub>(mal).2H<sub>2</sub>O], cisplatin or palladium complexes cause a significant alteration in oxygen uptake in *C. albicans* cells<sup>32, 37</sup>. In the present study minimal changes were observed in the respiratory function, indicating that the antifungal activity of the organotin derivatives is not related to it.

### **Ergosterol content**

The relative ergosterol contents of drug-treated and control cells have been determined, Fig. 2. All three organotin derivatives (40 µg/ml) decrease the ergosterol levels in the cell membrane, compared to that of the untreated control group - a suspension of the culture in DMSO. Compounds (1) and (2) caused reductions of about 35 and 44 %, respectively, and compound (3) 76 %. This is an evidence of the interference of the tested compounds on the biosynthesis of lipids.

The literature describes ergosterol reduction of 38, 57, 73, and 99% after exposure of *C. albicans* cells to 1, 4, 16, and 64 µg of fluconazole/ml respectively<sup>35</sup>. Voriconazole treatment led to a decrease in the total sterol content of fluconazole resistant *C. albicans* strains<sup>38</sup>. Our best result was displayed by complex (3), but, this was not as good as that of fluconazole or voriconazole.

### **Insert Figure 2**

### **Electron Microscopy Results (SEM and TEM)**

SEM and TEM experiments were carried out in order to investigate the morphology of *C. albicans* cells previously exposed to compounds (1) - (3). Samples of *C. albicans*

exposed to complexes (1) - (3) at concentrations corresponding to their IC<sub>50</sub> values were employed, Fig. 3. An additional SEM experiment was performed using compound (3) at the IC<sub>95</sub> concentration, Fig. 3 (g).

### Insert Figure 3

Normal aspects were observed for the cells in the control samples. The SEM images revealed normal egg-shaped morphologies, uniform surfaces and projections of regular and large nucleus on the surfaces of some cells<sup>36</sup>, Fig. 3 (a, b). Colonies subjected to compound (1) and (2) present morphologies similar to those of the control group (Figure 3c, d, e). However, the presence of residues, either free or connected to a minor number of cells treated with (2) indicate minor cellular leaking, Fig 3 d. Cells treated with (3) presented more budding, compared to control sample and also to those submitted to (1) and (2), Fig. 3 f. In addition the SEM experiments suggest that (1) and (2) do not affect greatly the proliferation and cellular growth. The sample subjected to (3) at the IC<sub>95</sub> showed high level of cellular damage (Fig. 3 g). The SEM experiments failed to show details of the internal structure of the cell after contact with the organotin compounds. Therefore, we performed TEM experiments in order to visualise internal cell damages. Ultra-thin sections of control cells displayed normal structure in terms of cytoplasm, cellular membrane and nucleus, Fig. 4 (a, b and c). The TEM results revealed colonies at the toxicity threshold with significant intracellular alterations. The TEM images of the *C. albicans* cultures treated with compound (1) showed that most of the cells remain preserved. However cells are observed with cytoplasm leaking, and irregular nuclear material, Fig. 4 e - 4 f. The inner aspects of the cells exposed to (2) is not very different from those treated with (1), Fig. 5 a – 5 c. On the other hand, (3) produce strong deterioration in the cellular membrane, as pointed out by the SEM images and the ergosterol tests, Fig. 5 d – 5 f.

### Insert figures 4 and 5

The antifungal activities of azole derivatives such as miconazole, clotrimazole, bifonazole, ketoconazole, itraconazole, fluconazole, and voriconazole arise from a complex multimechanistic process initiated by the inhibition of a cytochrome P450 (CYP)

involved in the biosynthesis of ergosterol, namely, enzyme sterol-14 $\alpha$ -demethylase (CYP51)<sup>39</sup>.

Amphotericin and nystatin, classical examples of polyene drugs for *candida* infections, act on the membrane of the fungi cells by linking to ergosterol. These drugs interfere with the permeability of the cellular membrane, causing losses of macromolecules and ions essential for cell survival<sup>40, 41</sup>. Interaction with CYP51 results in a decreased mitochondrial function and availability of ergosterol and accumulation of 14-methylsterols. Changes in ergosterol levels and sterol structures influence the activity of several metabolic pathways and also membrane permeability<sup>42</sup>.

All three organotin compounds examined in this work show antifungal activity with the di-butyltin derivative (**3**), being the most active. Our results agree with those found in the literature for similar species, which show for butyl-containing species higher biologic activity than the methyl analogues. We believe that the antifungal activity of complex (**3**) relates to a higher molecular surface (TSA) of the R<sub>2</sub>Sn fragment<sup>25</sup>, resulting in a greater lipophilic interactions with cellular membranes. This activity is not related to the respiratory viability, as observed for complexes of other metals or even for some organotin derivatives<sup>15c</sup>. No mitochondrial changes were detected in this work. The interaction of organotin derivatives with lipids is documented in the literature<sup>17</sup>, therefore, the interference of complexes (**1**) – (**3**) with the ergosterol biosynthesis is not an unexpected result. The DNA assay indicates that (**1**) – (**3**) did not affect cellular integrity at the level of genetic material. Morphological studies performed using SEM and TEM techniques confirmed the results, revealing that the organotin complexes induce damage of the cellular membrane and modified internal aspects of the cells. It is in agreement with the results obtained by the ergosterol content analyses, which revealed that all three complexes inhibit the biosynthesis of lipids, which is important for the integrity of the cell membrane.

Finally, we conclude that the actions of the organotin complexes are apparently similar to those of azole drugs such as fluconazole and ketoconazole. Therefore, the organotin complexes (**1**) - (**3**) may represent a new class of drugs to be employed alone or in new formulations with others in current use to overcome resistance of *C. albicans* isolates. The close relationship between antifungal and antitumour activity highlighted in recent publication<sup>1</sup> add a greater significance to the present study, as it is anticipated that investigations of antifungal activities can lead to a better understanding of anti-neoplastic action, as shown, for example, by compound (**3**).

### **Acknowledgements**

The authors are grateful to the Brazilian Agency CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico) and FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais) for financial support as well as for granting a scholarship to Flaviana Tavares Vieira and Daniele Cristiane Menezes. The authors also appreciate the kind help from Centro de Microscopia Eletrônica (CEMEL) of Instituto de Ciências Biológicas (UFMG) and Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de São Paulo (USP) for SEM and TEM experiments.

## References

- <sup>1</sup> Cardenas ME, Cruz MC., Del Poeta M, Chung NJ, Perfect JR, Heitman J. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; **12**: 583.
- <sup>2</sup> Hartwell LH, Szankasi P, Roberts CJ, Murray AW, Friend SH. *Science*, 1997; **278**: 1064.
- <sup>3</sup> Weinstein JN, Myers TG, O'Connor PM, Friend SH, Fornace AJ, Kohn KW, Fojo T, Bates SE, Rubinstein LV, Anderson NL, Buolamwini JK, van Osdol WW, Monks AP, Scudiero DA, Sausville EA, Zaharevitz DW, Bunow B, Viswanadhan VN, Johnson GS, Wittes RE, Paull KD. *Science*, 1997; **275**: 343.
- <sup>4</sup> Bahn YS, Xue C, Idnurm A, Rutherford JC, Heitman J, Cardenas ME. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; **5**: 57.
- <sup>5</sup> Pellerito C, Nagy L, Pellerito L, Szorcik A. *J. Organomet. Chem.* 2006; **691**: 1733.
- <sup>6</sup> Beltrán HI, Damian-Zea C, Hernández-Ortega S, Nieto-Camacho A, Ramírez-Apan MT. *J. Inorg. Biochem.* 2007; **101**: 1070.
- <sup>7</sup> Nath M, Pokharia S, Eng G, Song X, Kumar A. *Spectrochim. Acta A* 2006; **63**: 66.
- <sup>8</sup> Pellerito L, Nagy L. *Coord. Chem. Rev.* 2002, **224**: 11.
- <sup>9</sup> Wasi N, Singh HB, Gajanana A, Raichowdary AN. *Inorg. Chim. Acta*, 1987; **135**: 133.
- <sup>10</sup> Saxena AK, Koacher JK, Tandon JP, Das SR, *J. Toxicol. Environ. Health*, 1982; **10**: 709.
- <sup>11</sup> Sengupta AK, Gupta AA. *Ind. J. Chem. Sect. B Org.-Med. Chem.* 1983; **22**: 263.
- <sup>12</sup> Gielen M, Biesemans M, Willem R. *Appl. Organomet. Chem.* 2005; **19**: 440.
- <sup>13</sup> Gielen M, *J. Braz. Chem. Soc.* 2003; **14**: 870.
- <sup>14</sup> Tabassum S, Pettinari C. *J. Organomet. Chem.* 2006; **691**: 1761.
- <sup>15</sup> (a) Musmeci MT, Madonia G, Logiudice MT, Silvestri A, Ruisi G, Barbieri R, *Appl. Organomet. Chem.* 1992; **6**: 127. (b) Santroni AM, Fadeli D, Zolese G, Gabbianelli R, Falcioni G, *Appl. Organomet. Chem.* 1999; **13**: 777. (c) Nishikimi A, Kira Y, Kasahara E, Sato EF, Kanno T, Utsumi K, Inoue M, *Biochem. J.* 2001; **356**: 621.
- <sup>16</sup> (a) Sen Sarma, Mazumder S, Ghosh D, Roy A, Duthie A, Tiekink ERT, *Appl. Organomet. Chem.* 2007; **21**: 890. (b) Zamudio-Rivera LS, George-Tellez R, Lopez-Mendoza G, Morales-Pacheco A, Flores E, Hopfl H, Barba V, Fernandez FJ, Cabirol N, Beltran HI, *Inorg. Chem.*, 2005; **44**: 5370. (c) Lascourreges JF, Caumette P, Donard OFX, *Appl. Organomet. Chem.* 2000; **14**: 98.
- <sup>17</sup> (a) Olzynska A, Przybylo M, Gabrielska J, Trela Z, Przystalski S, Langner M, *Appl. Organomet. Chem.* 2005; **19**: 1073. (b) Ambrosini A, Bertoli E, Zolese G, *Appl. Organomet. Chem.* 1996; **10**: 53. (c) Burda K, Lekki J, Cieslak J, Kruk J, Lekka M,

- Dubiel S, Stanek J, Stachura Z, *Appl. Organomet. Chem.* 2002; **16**: 148. (d) Cullen WR, Herring FG, Nwata BU, *Appl. Organomet. Chem.* 1997; **11**: 369. (e) Langner M, Gabrielska J, Przystalski S, *Appl. Organomet. Chem.* 2000; **14**: 152.
- <sup>18</sup> Tobin JM, Cooney JJ. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1999; **36**: 7.
- <sup>19</sup> White JS, Tobin JM. *Environ. Sci. Technol.* 2004; **38**: 3877.
- <sup>20</sup> White JS, Tobin JM. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2004; **63**: 445.
- <sup>21</sup> Laurence OS, Cooney JJ, Gadd GM. *Microb. Ecol.* 1989; **17**: 275.
- <sup>22</sup> Cooney JJ and Wuertz S, *J. Industrial Microbiol and Biotechnol* 2005; **4**:375.
- <sup>23</sup> Buck-Koehntop BA, Porcelli F, Lewin JL, Cramer CJ, Veglia G. *J. Organomet. Chem.* 2006; **691**: 1748.
- <sup>24</sup> Molloy KC. *Bioorganotin compounds*. Hartley and Wiley: Chichester, 1989; 5.
- <sup>25</sup> White JS, Tobin JM, and Cooney JJ, *Can. J. Microbiol.*, 1999; **45**:541.
- <sup>26</sup> (a) Song XQ, Zapata A, Eng G, *J. Organomet. Chem.* 2006; **691**: 1756. (b) Samuel PM, de Vos D, Raveendra D, Sarma JARP, Roy S, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 2002; **12**: 61. (c) Nakanishi, T, *J. Health Sci.*, 2007; **53**: 1.
- <sup>27</sup> Meriem A, Biesemans M, Willem R, Mahieu B, de Vos D, Lelieveld P, Gielen M. *Soc. Chim. Belg.* 1991; **100**: 367.
- <sup>28</sup> Chandrasekhar V, Day RO, Holmes JM, Holmes RR, *Inorg. Chem.* 1988; **27**: 958.
- <sup>29</sup> Dey DK, Saha MK, Gielen M, Kemmer M, Biesemans M, Willem R, Gramlich V, Mitra S. *J. Organomet. Chem.* 1999; **590**: 88.
- <sup>30</sup> Gielen M, Biesemans M, De Vos D, Willem R. *J. Inorg. Biochem.* 2000; **79**: 139.
- <sup>31</sup> National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard-Second Edition NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4], Pennsylvania, USA 2002.
- <sup>32</sup> Coyle B, Kinsella P, McCann M, Devereux M, O'Connor R, Clynes M, Kavanagh K. *Toxicol. in Vitro* 2004; **18**: 63.
- <sup>33</sup> Berridge MV, Herst PM, Tan AS, Scarlet DJG. *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.* 2004; **1656**: 79.
- <sup>34</sup> Mosmann T. *J. Immunol. Methods* 1983; **65**: 55.
- <sup>35</sup> Arthington-Skaggs BA, Jradi H, Desai T, Morrison CJ. *J. Clin. Microbiol.* 1999; **37**: 3332.
- <sup>36</sup> Osumi M. *Micron* 1998; **29**: 207.

- <sup>37</sup> Moussa NM, Ghannoum MA, Whittaker PA, El-Ezaby MS, Quraman S. *Microbios.* 1990; **62**: 165.
- <sup>38</sup> Sanati H, Belanger P, Fratti R, Ghannoum M, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 1997; **41**: 2492
- <sup>39</sup> Bossche HV, Ausma J, Bohets H, Vermuyten K, Willemsens G, Marichal P, Meerpoel L, Odds F and Borgers M, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004; **48**: 3272.
- <sup>40</sup> Hay RJ. *J. Antimicrob. Chemother.* 1987; **20**: 1.
- <sup>41</sup> Burgess DS, Hastings RW, Summers KK, Hardin TC, Rinaldi MG. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2000; **36**: 13.
- <sup>42</sup> Barry AL, Brown SD. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996; **40**: 1948.

## Figure Captions

**Figure 1** – Structures of the compounds: [N-(2-carboxyphenyl)salicylideneiminato]dimethyltin(IV) (**1**), bis( $\mu_3$ -oxo)bis( $\mu$ -O-aminobenzoato-O,O')bis(O-aminobenzoato)tetrakis[dimethyltin(IV)] (**2**) and bis(O-aminobenzoato-O,O')di-n-butyltin(IV) (**3**).

**Figure 2** – Relative ergosterol contents of compound-treated and control cells.

**Figure 3** – Scanning Electron Microscopic images: (a) Control culture; (b) Projection of the nucleus on the cell surface; (c) Cells treated with compound (**1**); (d) Cells treated with compound (**2**); (e) Detail of the deposition of residues on the surface of cells treated with compound (**2**); (f) Cells treated with compound (**3**) at IC<sub>50</sub>. Observe cell budding (arrows); (g) Cells treated with compound (**3**) at IC<sub>95</sub>.

**Figure 4** - Transmission Electron Microscopic images obtained. Control: (4a) *C. albicans* in control culture; (4b) Cell wall and double plasmatic membrane; (4c) Control cell with evident nucleus. Cells exposed to compound (**1**) at IC<sub>50</sub>: (4d) shapeless and irregular nuclear material; (4e, 4f) cells with irregular membrane.

**Figure 5** - Transmission Electron Microscopic images obtained at IC<sub>50</sub>. Cells treated with compound (**2**): (5a) Cell with normal aspect; (5b) irregular nucleus; (5c) cell with leaking of cytoplasm content. Cells treated with compound (**3**): (5e) cell with leaking of cytoplasm content; (5d, 4f) cells with irregular membrane



Figure 1

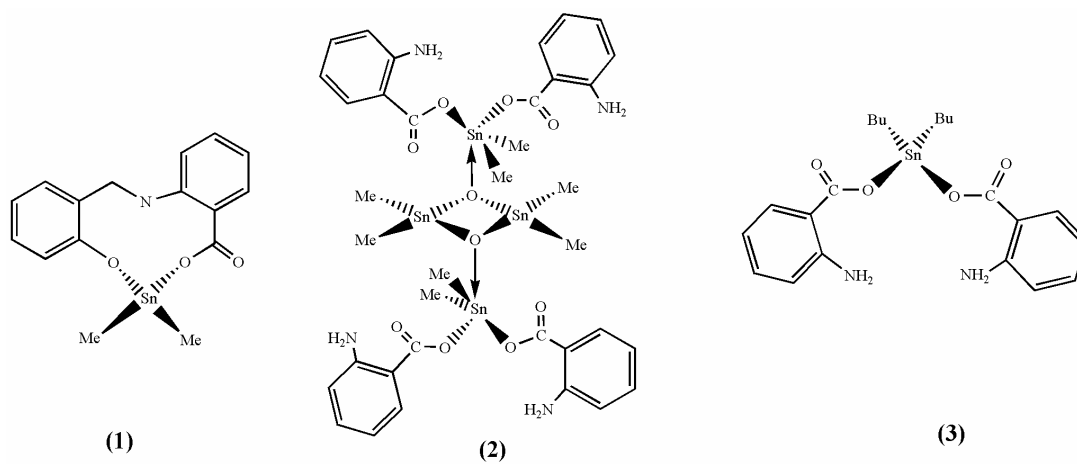


Figure 2

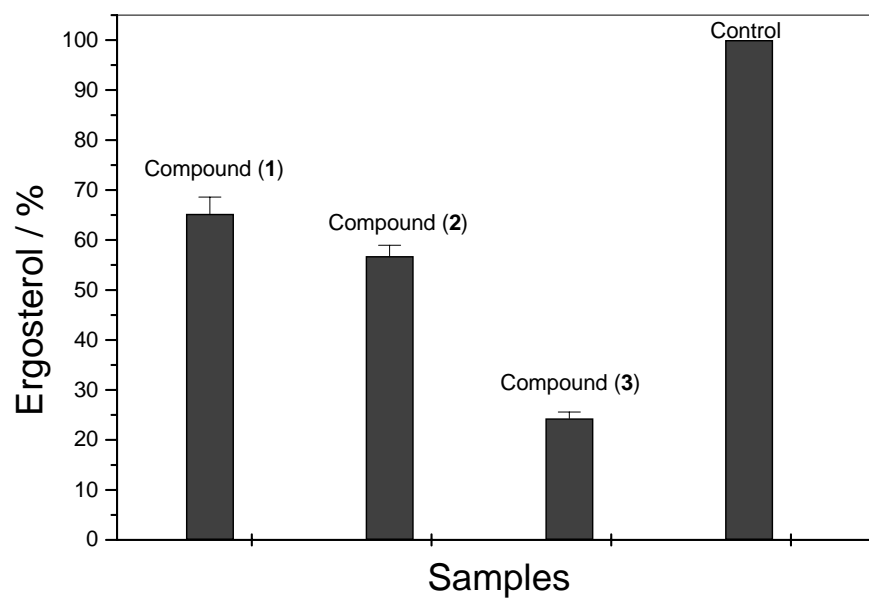


Figure 3

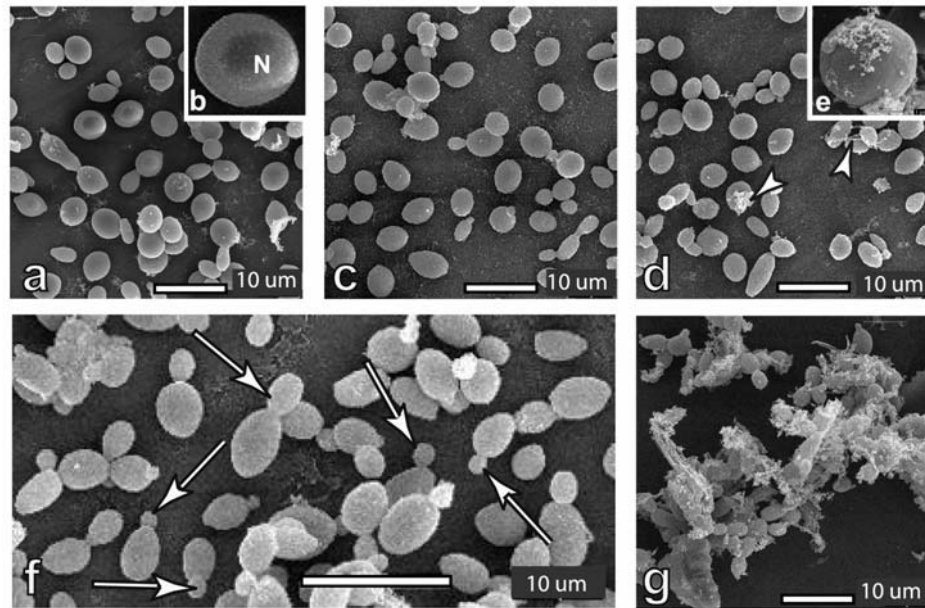


Figure 4

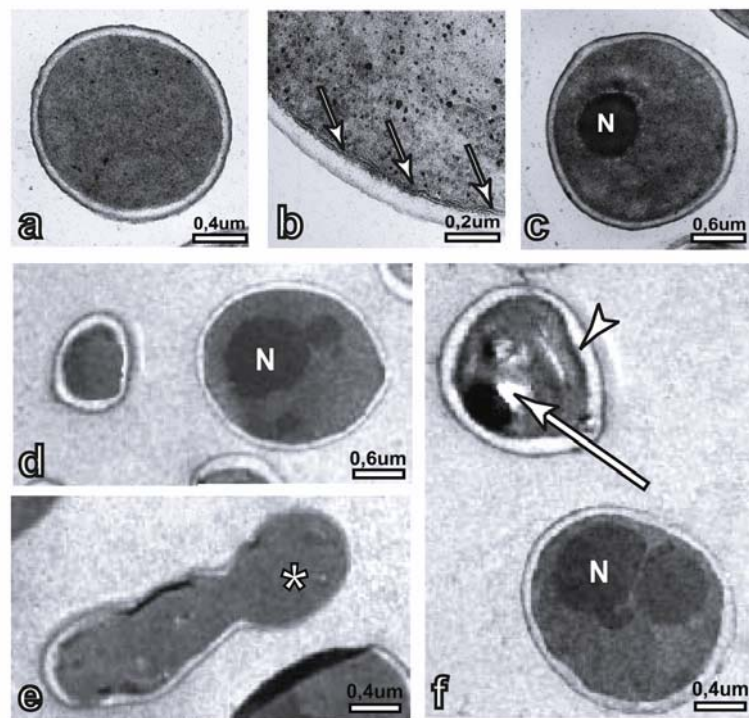
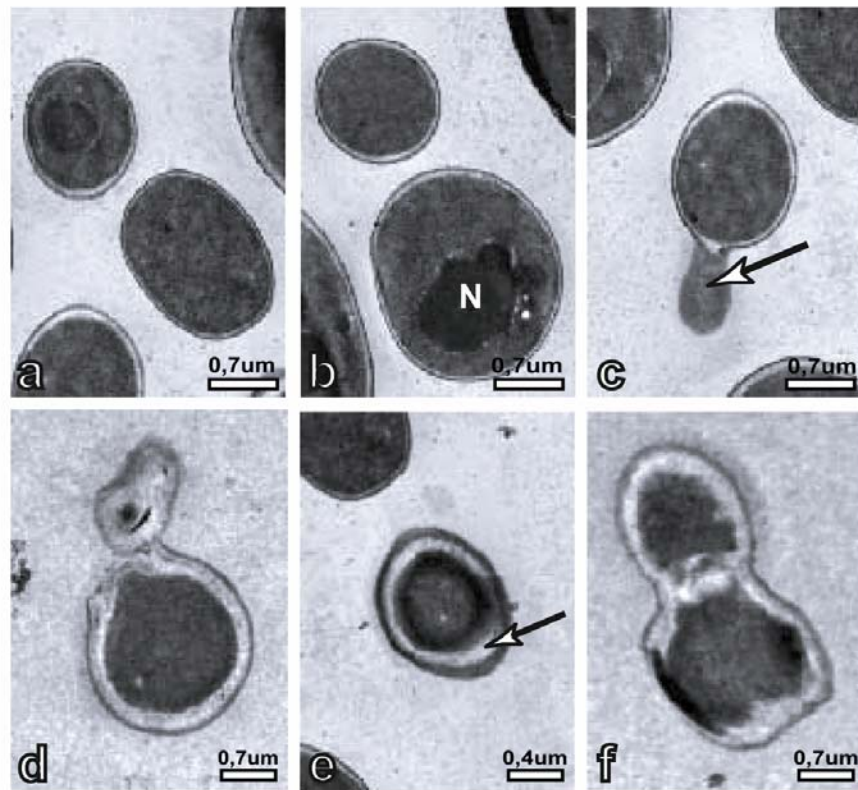


Figure 5



**ANEXO VII – ARTIGOS PUBLICADOS**

Acta Crystallographica Section E

**Structure Reports**

**Online**

ISSN 1600-5368

Editors: **W. Clegg** and **D. G. Watson**

## **2-(3-Oxocyclohex-1-enyl)benzoic acid**

**Flaviana T. Vieira, Daniele C. Menezes, Geraldo M. de Lima and Nivaldo L. Speziali**

Copyright © International Union of Crystallography

Author(s) of this paper may load this reprint on their own web site or institutional repository provided that this cover page is retained. Republication of this article or its storage in electronic databases other than as specified above is not permitted without prior permission in writing from the IUCr.

For further information see <http://journals.iucr.org/services/authorrights.html>

## 2-(3-Oxocyclohex-1-enyl)benzoic acid

Flaviana T. Vieira,<sup>a</sup> Daniele C. Menezes,<sup>a</sup> Geraldo M. de Lima<sup>a</sup> and Nivaldo L. Speziali<sup>b\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, ICEx–UFMG, Brazil, and <sup>b</sup>Departamento de Física, ICEx–UFMG, Brazil

Correspondence e-mail: nspezial@fisica.ufmg.br

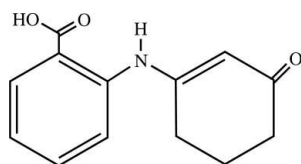
Received 30 May 2007; accepted 19 June 2007

Key indicators: single-crystal X-ray study;  $T = 293$  K; mean  $\sigma(\text{C}–\text{C}) = 0.006$  Å;  $R$  factor = 0.046;  $wR$  factor = 0.132; data-to-parameter ratio = 7.4.

The title compound,  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ , crystallizes with two molecules in the asymmetric unit. The values of the relevant C–C, C=C and C–N bond lengths indicate that the molecules exist in the enamine tautomeric form. In each molecule, the cyclohexene ring adopts a slightly distorted envelope conformation. Molecules are linked by intermolecular O–H...O hydrogen bonds between carboxyl and C=O groups. There is also an intramolecular N–H...O hydrogen bond in each molecule.

### Related literature

For related literature, see: Allen (2002); Strozhev & Lielbriedis (1990).



### Experimental

#### Crystal data

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3$

$M_r = 231.24$

Orthorhombic,  $Pna2_1$

$a = 11.3867$  (11) Å

$b = 13.0719$  (9) Å

$c = 15.3389$  (14) Å

$V = 2283.2$  (3) Å<sup>3</sup>

$Z = 8$

Mo  $K\alpha$  radiation

$\mu = 0.10$  mm<sup>-1</sup>

$T = 293$  (2) K

$0.2 \times 0.2 \times 0.2$  mm

#### Data collection

Siemens P4 diffractometer

Absorption correction: none

2549 measured reflections

2266 independent reflections

1800 reflections with  $I > 2\sigma(I)$

$R_{\text{int}} = 0.015$

3 standard reflections

every 247 reflections

intensity decay: 4%

#### Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.046$

$wR(F^2) = 0.132$

$S = 0.93$

2266 reflections

307 parameters

1 restraint

H-atom parameters constrained

$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.18$  e Å<sup>-3</sup>

$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.25$  e Å<sup>-3</sup>

Table 1

Selected bond lengths (Å).

C1–N	1.407 (5)	C1'–N'	1.396 (5)
N–C7	1.359 (5)	N'–C7'	1.366 (5)
C7–C12	1.364 (5)	C7'–C12'	1.358 (5)
C11–C12	1.433 (5)	C11'–C12'	1.425 (5)

Table 2

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D–H\cdots A$	$D–H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D–H\cdots A$
O2–H2O <sup>i</sup> ...O3'	0.82	1.81	2.562 (4)	151
N–H1...O1	0.86	1.98	2.665 (4)	136
O2'–H2O' <sup>i</sup> ...O3 <sup>i</sup>	0.82	1.78	2.562 (4)	160
N'–H1'...O1'	0.86	1.98	2.659 (4)	135

Symmetry code: (i)  $x, y + 1, z$ .

Data collection: XSCANS (Siemens, 1991); cell refinement: XSCANS; data reduction: XSCANS; program(s) used to solve structure: SHELXS97 (Sheldrick, 1997); program(s) used to refine structure: SHELXL97 (Sheldrick, 1997); molecular graphics: SHELXTL/PC (Sheldrick, 1990); software used to prepare material for publication: SHELXL97.

This work was partially supported by the Brazilian agencies CAPES, CNPq and FAPEMIG.

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: WN2148).

### References

- Allen, F. H. (2002). *Acta Cryst.* **B58**, 380–388.  
 Sheldrick, G. M. (1990). *SHELXTL/PC*. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.  
 Sheldrick, G. M. (1997). *SHELXS97* and *SHELXL97*. University of Göttingen, Germany.  
 Siemens (1991). *XSCANS* (Version 5.0). Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.  
 Strozhev, M. F. & Lielbriedis, I. (1990). *Khim. Get. Soedin.* **7**, 947–949.

## **supplementary materials**

*Acta Cryst.* (2007). E63, o3376 [ doi:10.1107/S1600536807029959 ]

## 2-(3-Oxocyclohex-1-enyl)benzoic acid

F. T. Vieira, D. C. Menezes, G. M. de Lima and N. L. Speziali

### Comment

The preparation of the title compound has been reported in the literature in a condensation reaction with isopropylidene malonate (Strozhev & Lielbriedis, 1990). The compound was obtained in 37% yield and no X-ray crystallographic determination has hitherto been performed. A search of the Cambridge Structural Database (Version 5.28; Allen, 2002) yielded no hits.

The title compound crystallizes with two molecules per asymmetric unit. In each molecule the cyclohexene ring adopts a slightly distorted envelope conformation, with C9 and C9' as flap atoms. The bond distances C1—N, N—C7, C7=C12, C12—C11, C1'—N, N'—C7', C7'=C12' and C12'—C11' (Table 1 and Fig. 1) clearly indicate that the enamine tautomer is present in the crystal structure, rather than the imine normally expected from a Schiff base reaction. The C—N—C bond angles, 131.6 (3)° and 130.7 (3)°, are typical of Nsp<sup>3</sup>.

The X-ray crystallographic determination has revealed that the title compound exists in the solid state in a pseudo-polymeric arrangement, held together by intermolecular O—H...O hydrogen bonds. These connect carboxyl and C=O groups of neighbouring molecules.

### Experimental

To a round-bottomed flask charged with 2-aminobenzoic acid (2.74 g, 0.02 mol) dissolved in methanol (20 ml) was slowly added a solution of 1,3-cyclohexadione (2.24 g, 0.02 mol) in 20 ml of methanol. The mixture was refluxed and stirred for 4 h; it was observed that the colour changed from colourless to yellow. The solution was cooled to room temperature and the solvent was removed in vacuum; the yellow solid was washed with diethyl ether. X-ray quality crystals were obtained after slow evaporation of a methanol/water (9:1) solution. Yield 75%. IR (ν/cm<sup>-1</sup>): 1376 (ν<sub>C—N</sub>). <sup>1</sup>H-NMR: (δ): 7.97–7.92 d (C3), 7.4 m (C5, C6), 7.09 t (C4), 2.51–2.48 m (C11), 2.26–2.27 m (C9), 1.95–1.92 m (C10). <sup>13</sup>C-NMR (δ): 201.9 (C12), 170.4 (C1), 165.4 (C8), 141.9 (C7), 134.6 (C3), 133.6 (C5), 125.5 (C6), 124.64 (C4), 122.58 (C2), 100.94 (C13), 37.12 (C11), 31.07 (C9), 22.92 (C10). Elemental analysis(%) for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub> found (calc.): C 67.21 (67.52), H 5.43 (5.66), N 5.96 (6.05).

### Refinement

Most H atoms were detected in a Fourier difference map; nevertheless, their positions were subsequently calculated and they were constrained to ride on their parent atoms, with O—H = 0.82 Å, N—H = 0.86 Å, C—H = 0.93 Å for Csp<sup>2</sup> and C—H = 0.97 Å for methylene.  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = xU_{\text{eq}}(\text{carrier atom})$ , where  $x = 1.2$  for C, N and 1.5 for O. In the absence of significant anomalous scattering effects, Friedel pairs were merged.



## Figures

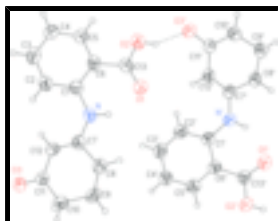


Fig. 1. Molecular structure of the title compound, showing the atom-numbering scheme and the intermolecular hydrogen bond (dashed line) Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level.

## 2-(3-Oxocyclohex-1-enyl)benzoic acid

### Crystal data

$C_{13}H_{13}NO_3$

$M_r = 231.24$

Orthorhombic,  $Pna2_1$

$a = 11.3867$  (11) Å

$b = 13.0719$  (9) Å

$c = 15.3389$  (14) Å

$V = 2283.2$  (3) Å<sup>3</sup>

$Z = 8$

$F_{000} = 976$

$D_x = 1.345$  Mg m<sup>-3</sup>

Mo  $K\alpha$  radiation

$\lambda = 0.71073$  Å

Cell parameters from 38 reflections

$\theta = 4.8$ – $12.5^\circ$

$\mu = 0.10$  mm<sup>-1</sup>

$T = 293$  (2) K

Prismatic, colorless

$0.2 \times 0.2 \times 0.2$  mm

### Data collection

Siemens P4  
diffractometer

Radiation source: fine-focus sealed tube

Monochromator: graphite

$T = 293$ (2) K

$\omega / 2\theta$  scans

Absorption correction: none

2549 measured reflections

2266 independent reflections

1800 reflections with  $I > 2\sigma(I)$

$R_{int} = 0.015$

$\theta_{max} = 25.5^\circ$

$\theta_{min} = 2.1^\circ$

$h = -1 \rightarrow 13$

$k = -3 \rightarrow 15$

$l = -4 \rightarrow 18$

3 standard reflections

every 247 reflections

intensity decay: 4%

### Refinement

Refinement on  $F^2$

Least-squares matrix: full

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.046$

$wR(F^2) = 0.132$

$S = 0.93$

Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites

H-atom parameters constrained

$$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1P)^2]$$

where  $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$

$(\Delta/\sigma)_{max} = 0.018$

$\Delta\rho_{max} = 0.18$  e Å<sup>-3</sup>

2266 reflections  $\Delta\rho_{\min} = -0.25 \text{ e \AA}^{-3}$   
 307 parameters Extinction correction: none  
 1 restraint  
 Primary atom site location: structure-invariant direct methods  
 Secondary atom site location: difference Fourier map

*Special details*

**Geometry.** All e.s.d.'s (except the e.s.d. in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell e.s.d.'s are taken into account individually in the estimation of e.s.d.'s in distances, angles and torsion angles; correlations between e.s.d.'s in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell e.s.d.'s is used for estimating e.s.d.'s involving l.s. planes.

**Refinement.** Refinement of  $F^2$  against ALL reflections. The weighted  $R$ -factor  $wR$  and goodness of fit  $S$  are based on  $F^2$ , conventional  $R$ -factors  $R$  are based on  $F$ , with  $F$  set to zero for negative  $F^2$ . The threshold expression of  $F^2 > 2\sigma(F^2)$  is used only for calculating  $R$ -factors(gt) *etc.* and is not relevant to the choice of reflections for refinement.  $R$ -factors based on  $F^2$  are statistically about twice as large as those based on  $F$ , and  $R$ -factors based on ALL data will be even larger.

*Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.5835 (3)	0.4550 (2)	0.7105 (2)	0.0678 (9)
O2	0.4210 (2)	0.4172 (2)	0.7836 (2)	0.0644 (9)
H2O	0.4113	0.4792	0.7804	0.097*
C13	0.5183 (3)	0.3924 (3)	0.7441 (3)	0.0452 (9)
C6	0.5421 (3)	0.2797 (3)	0.7469 (2)	0.0402 (8)
C5	0.4676 (3)	0.2177 (3)	0.7959 (3)	0.0465 (9)
H5	0.4034	0.2471	0.8238	0.056*
C4	0.4865 (3)	0.1147 (3)	0.8043 (3)	0.0502 (10)
H4	0.4359	0.0743	0.8373	0.060*
C3	0.5822 (3)	0.0721 (3)	0.7627 (3)	0.0499 (10)
H3	0.5964	0.0024	0.7688	0.060*
C2	0.6568 (3)	0.1297 (3)	0.7128 (2)	0.0426 (8)
H2	0.7204	0.0990	0.6852	0.051*
C1	0.6372 (3)	0.2350 (3)	0.7033 (2)	0.0376 (8)
N	0.7126 (3)	0.2982 (2)	0.6544 (2)	0.0455 (8)
H1	0.7075	0.3621	0.6671	0.055*
C7	0.7918 (3)	0.2764 (3)	0.5909 (2)	0.0403 (8)
C8	0.8719 (3)	0.3646 (3)	0.5703 (3)	0.0443 (9)
H8A	0.9332	0.3678	0.6142	0.053*
H8B	0.8273	0.4277	0.5736	0.053*
C9	0.9286 (4)	0.3574 (3)	0.4812 (3)	0.0530 (11)
H9A	0.9899	0.4086	0.4760	0.064*
H9B	0.8704	0.3704	0.4364	0.064*
C10	0.9808 (4)	0.2511 (3)	0.4687 (3)	0.0519 (11)
H10A	1.0105	0.2450	0.4096	0.062*
H10B	1.0464	0.2424	0.5083	0.062*
C11	0.8926 (3)	0.1686 (3)	0.4848 (3)	0.0394 (8)

## supplementary materials

---

C12	0.8009 (3)	0.1860 (3)	0.5470 (3)	0.0400 (8)
H12	0.7463	0.1346	0.5577	0.048*
O3	0.9019 (2)	0.08747 (19)	0.4442 (2)	0.0554 (7)
O1'	0.6639 (3)	0.9504 (2)	0.5383 (2)	0.0723 (10)
O2'	0.8124 (2)	0.9080 (2)	0.4533 (2)	0.0649 (9)
H2O'	0.8278	0.9690	0.4585	0.097*
C13'	0.7225 (3)	0.8857 (3)	0.5014 (3)	0.0429 (9)
C6'	0.6979 (3)	0.7738 (3)	0.5042 (2)	0.0382 (8)
C5'	0.7693 (3)	0.7071 (3)	0.4574 (2)	0.0453 (9)
H5'	0.8350	0.7327	0.4288	0.054*
C4'	0.7451 (3)	0.6040 (3)	0.4525 (3)	0.0484 (9)
H4'	0.7951	0.5602	0.4223	0.058*
C3'	0.6461 (4)	0.5666 (3)	0.4926 (3)	0.0505 (10)
H3'	0.6276	0.4976	0.4874	0.061*
C2'	0.5738 (3)	0.6299 (3)	0.5405 (3)	0.0483 (10)
H2'	0.5075	0.6029	0.5675	0.058*
C1'	0.5988 (3)	0.7339 (3)	0.5491 (3)	0.0393 (8)
N'	0.5268 (2)	0.8004 (2)	0.5962 (2)	0.0455 (8)
H1'	0.5340	0.8638	0.5824	0.055*
C7'	0.4468 (3)	0.7814 (3)	0.6606 (2)	0.0382 (8)
C8'	0.3695 (3)	0.8713 (3)	0.6803 (3)	0.0442 (9)
H8'A	0.3073	0.8746	0.6372	0.053*
H8'B	0.4155	0.9336	0.6755	0.053*
C9'	0.3153 (4)	0.8663 (3)	0.7703 (3)	0.0522 (10)
H9'A	0.2570	0.9199	0.7766	0.063*
H9'B	0.3754	0.8766	0.8142	0.063*
C10'	0.2581 (3)	0.7627 (3)	0.7830 (3)	0.0554 (12)
H10C	0.2285	0.7577	0.8421	0.066*
H10D	0.1918	0.7566	0.7436	0.066*
C11'	0.3422 (3)	0.6767 (3)	0.7664 (2)	0.0408 (8)
C12'	0.4342 (3)	0.6921 (3)	0.7048 (3)	0.0414 (8)
H12'	0.4872	0.6393	0.6946	0.050*
O3'	0.3271 (2)	0.5937 (2)	0.8042 (2)	0.0561 (8)

### Atomic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
O1	0.0716 (18)	0.0402 (15)	0.092 (2)	0.0011 (13)	0.0372 (18)	0.0043 (16)
O2	0.0588 (17)	0.0435 (16)	0.091 (2)	0.0050 (13)	0.0285 (17)	-0.0018 (16)
C13	0.0461 (19)	0.045 (2)	0.045 (2)	0.0024 (17)	0.0071 (18)	-0.0055 (18)
C6	0.0461 (19)	0.0359 (18)	0.038 (2)	-0.0023 (17)	-0.0044 (17)	-0.0062 (17)
C5	0.049 (2)	0.041 (2)	0.049 (2)	-0.0028 (17)	0.0085 (19)	0.0007 (18)
C4	0.060 (2)	0.044 (2)	0.046 (2)	-0.0035 (18)	0.008 (2)	0.0064 (18)
C3	0.063 (2)	0.0385 (19)	0.048 (2)	0.0012 (17)	-0.007 (2)	0.0031 (18)
C2	0.0444 (19)	0.0402 (19)	0.043 (2)	0.0068 (15)	-0.0017 (17)	-0.0013 (17)
C1	0.0384 (17)	0.0371 (17)	0.037 (2)	-0.0025 (14)	-0.0024 (17)	-0.0030 (16)
N	0.0464 (17)	0.0346 (15)	0.0555 (19)	-0.0008 (13)	0.0066 (15)	-0.0099 (15)
C7	0.0339 (17)	0.0378 (17)	0.049 (2)	-0.0029 (14)	-0.0030 (16)	-0.0041 (18)

## supplementary materials

C8	0.0448 (19)	0.0363 (18)	0.052 (2)	-0.0058 (15)	-0.0018 (17)	-0.0042 (17)
C9	0.065 (2)	0.042 (2)	0.052 (3)	-0.0191 (19)	0.008 (2)	-0.0043 (19)
C10	0.049 (2)	0.047 (2)	0.059 (3)	-0.0076 (18)	0.015 (2)	-0.0035 (19)
C11	0.0401 (17)	0.0319 (18)	0.046 (2)	-0.0004 (14)	0.0026 (16)	0.0001 (16)
C12	0.0359 (16)	0.0380 (17)	0.046 (2)	-0.0066 (14)	0.0041 (17)	0.0014 (17)
O3	0.0650 (17)	0.0355 (14)	0.0656 (18)	0.0000 (12)	0.0215 (15)	-0.0052 (14)
O1'	0.0770 (19)	0.0384 (15)	0.101 (3)	-0.0051 (14)	0.037 (2)	-0.0025 (17)
O2'	0.0670 (18)	0.0403 (15)	0.087 (2)	-0.0120 (13)	0.0299 (18)	-0.0014 (15)
C13'	0.0424 (19)	0.041 (2)	0.045 (2)	0.0014 (16)	0.0018 (18)	0.0038 (17)
C6'	0.0377 (17)	0.0398 (18)	0.037 (2)	0.0003 (15)	-0.0006 (16)	0.0032 (17)
C5'	0.049 (2)	0.048 (2)	0.038 (2)	-0.0001 (17)	0.0035 (18)	0.0046 (17)
C4'	0.063 (2)	0.0412 (18)	0.041 (2)	0.0035 (17)	0.004 (2)	-0.0007 (17)
C3'	0.066 (2)	0.0405 (19)	0.045 (2)	-0.0042 (17)	-0.001 (2)	-0.0029 (18)
C2'	0.046 (2)	0.049 (2)	0.050 (2)	-0.0092 (16)	0.0038 (18)	0.001 (2)
C1'	0.0395 (17)	0.0369 (17)	0.041 (2)	-0.0013 (14)	-0.0009 (18)	0.0038 (17)
N'	0.0452 (16)	0.0347 (15)	0.057 (2)	0.0013 (13)	0.0130 (16)	0.0070 (14)
C7'	0.0365 (17)	0.0368 (18)	0.041 (2)	-0.0046 (15)	-0.0048 (16)	-0.0014 (17)
C8'	0.0465 (19)	0.0352 (18)	0.051 (2)	0.0062 (15)	-0.0039 (17)	0.0052 (17)
C9'	0.063 (2)	0.036 (2)	0.058 (3)	0.0126 (18)	0.008 (2)	0.0006 (19)
C10'	0.051 (2)	0.048 (2)	0.067 (3)	0.0101 (18)	0.020 (2)	0.003 (2)
C11'	0.0426 (19)	0.0365 (19)	0.043 (2)	-0.0018 (15)	-0.0009 (17)	0.0003 (17)
C12'	0.0393 (17)	0.0324 (17)	0.053 (2)	0.0041 (14)	0.0028 (18)	0.0022 (17)
O3'	0.0614 (17)	0.0407 (15)	0.0662 (19)	0.0029 (12)	0.0232 (16)	0.0095 (13)

### Geometric parameters ( $\text{\AA}$ , $^\circ$ )

O1—C13	1.219 (5)	O1'—C13'	1.216 (4)
O2—C13	1.304 (4)	O2'—C13'	1.295 (4)
O2—H2O	0.8200	O2'—H2O'	0.8200
C13—C6	1.498 (5)	C13'—C6'	1.490 (5)
C6—C5	1.393 (5)	C6'—C5'	1.392 (5)
C6—C1	1.401 (5)	C6'—C1'	1.421 (5)
C5—C4	1.370 (6)	C5'—C4'	1.378 (5)
C5—H5	0.9300	C5'—H5'	0.9300
C4—C3	1.379 (6)	C4'—C3'	1.374 (6)
C4—H4	0.9300	C4'—H4'	0.9300
C3—C2	1.370 (5)	C3'—C2'	1.380 (6)
C3—H3	0.9300	C3'—H3'	0.9300
C2—C1	1.402 (5)	C2'—C1'	1.395 (5)
C2—H2	0.9300	C2'—H2'	0.9300
C1—N	1.407 (5)	C1'—N'	1.396 (5)
N—C7	1.359 (5)	N'—C7'	1.366 (5)
N—H1	0.8600	N'—H1'	0.8600
C7—C12	1.364 (5)	C7'—C12'	1.358 (5)
C7—C8	1.504 (5)	C7'—C8'	1.500 (5)
C8—C9	1.514 (6)	C8'—C9'	1.513 (6)
C8—H8A	0.9700	C8'—H8'A	0.9700
C8—H8B	0.9700	C8'—H8'B	0.9700
C9—C10	1.524 (6)	C9'—C10'	1.515 (5)

## supplementary materials

---

C9—H9A	0.9700	C9'—H9'A	0.9700
C9—H9B	0.9700	C9'—H9'B	0.9700
C10—C11	1.494 (5)	C10'—C11'	1.499 (5)
C10—H10A	0.9700	C10'—H10C	0.9700
C10—H10B	0.9700	C10'—H10D	0.9700
C11—O3	1.234 (4)	C11'—O3'	1.242 (4)
C11—C12	1.433 (5)	C11'—C12'	1.425 (5)
C12—H12	0.9300	C12'—H12'	0.9300
C13—O2—H2O	109.5	C13'—O2'—H2O'	109.5
O1—C13—O2	123.1 (4)	O1'—C13'—O2'	122.8 (3)
O1—C13—C6	124.3 (4)	O1'—C13'—C6'	124.5 (3)
O2—C13—C6	112.6 (3)	O2'—C13'—C6'	112.7 (3)
C5—C6—C1	119.0 (4)	C5'—C6'—C1'	119.0 (3)
C5—C6—C13	118.5 (3)	C5'—C6'—C13'	119.4 (3)
C1—C6—C13	122.4 (3)	C1'—C6'—C13'	121.6 (3)
C4—C5—C6	121.8 (4)	C4'—C5'—C6'	121.6 (4)
C4—C5—H5	119.1	C4'—C5'—H5'	119.2
C6—C5—H5	119.1	C6'—C5'—H5'	119.2
C5—C4—C3	118.5 (4)	C3'—C4'—C5'	119.1 (4)
C5—C4—H4	120.8	C3'—C4'—H4'	120.4
C3—C4—H4	120.8	C5'—C4'—H4'	120.4
C2—C3—C4	121.8 (4)	C4'—C3'—C2'	121.0 (4)
C2—C3—H3	119.1	C4'—C3'—H3'	119.5
C4—C3—H3	119.1	C2'—C3'—H3'	119.5
C3—C2—C1	119.9 (4)	C3'—C2'—C1'	120.8 (4)
C3—C2—H2	120.0	C3'—C2'—H2'	119.6
C1—C2—H2	120.0	C1'—C2'—H2'	119.6
C6—C1—C2	118.9 (4)	C2'—C1'—N'	122.4 (3)
C6—C1—N	118.7 (3)	C2'—C1'—C6'	118.3 (3)
C2—C1—N	122.3 (3)	N'—C1'—C6'	119.2 (3)
C7—N—C1	131.6 (3)	C7'—N'—C1'	130.7 (3)
C7—N—H1	114.2	C7'—N'—H1'	114.6
C1—N—H1	114.2	C1'—N'—H1'	114.6
N—C7—C12	125.9 (3)	C12'—C7'—N'	126.0 (3)
N—C7—C8	113.2 (3)	C12'—C7'—C8'	120.7 (3)
C12—C7—C8	121.0 (3)	N'—C7'—C8'	113.3 (3)
C7—C8—C9	113.6 (3)	C7'—C8'—C9'	112.9 (3)
C7—C8—H8A	108.8	C7'—C8'—H8'A	109.0
C9—C8—H8A	108.8	C9'—C8'—H8'A	109.0
C7—C8—H8B	108.8	C7'—C8'—H8'B	109.0
C9—C8—H8B	108.8	C9'—C8'—H8'B	109.0
H8A—C8—H8B	107.7	H8'A—C8'—H8'B	107.8
C8—C9—C10	109.7 (4)	C8'—C9'—C10'	109.3 (4)
C8—C9—H9A	109.7	C8'—C9'—H9'A	109.8
C10—C9—H9A	109.7	C10'—C9'—H9'A	109.8
C8—C9—H9B	109.7	C8'—C9'—H9'B	109.8
C10—C9—H9B	109.7	C10'—C9'—H9'B	109.8
H9A—C9—H9B	108.2	H9'A—C9'—H9'B	108.3
C11—C10—C9	112.0 (3)	C11'—C10'—C9'	112.0 (3)

## supplementary materials

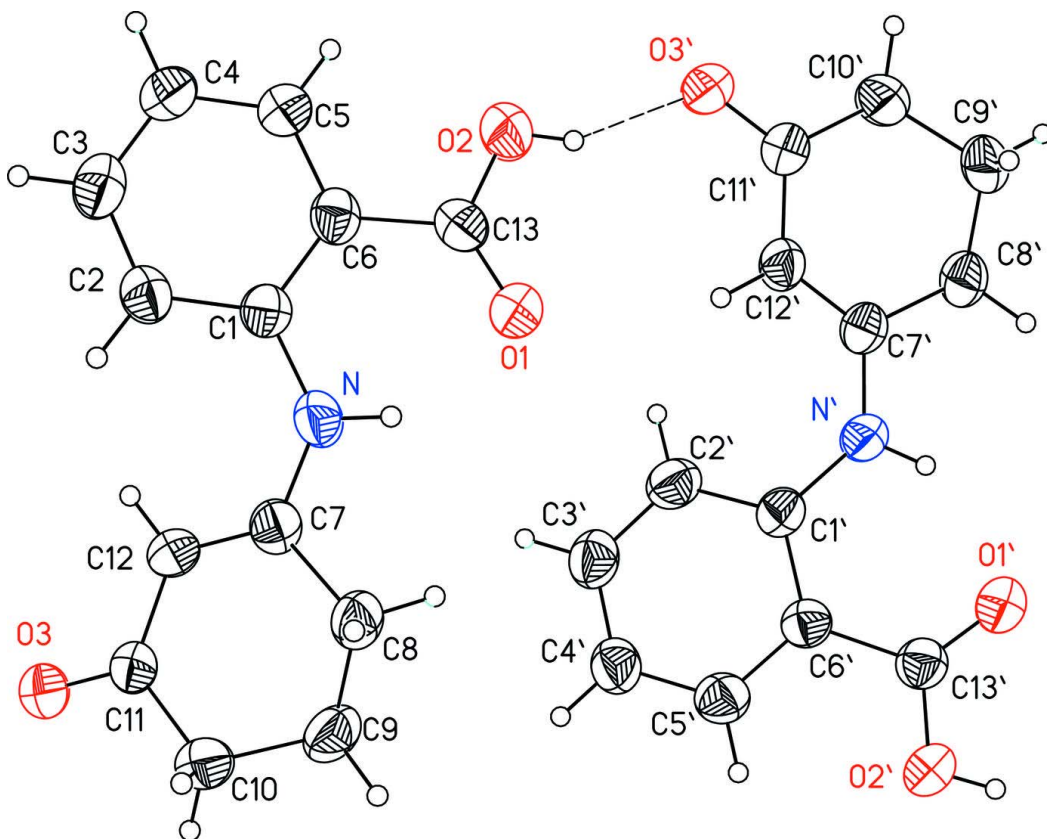
C11—C10—H10A	109.2	C11'—C10'—H10C	109.2
C9—C10—H10A	109.2	C9'—C10'—H10C	109.2
C11—C10—H10B	109.2	C11'—C10'—H10D	109.2
C9—C10—H10B	109.2	C9'—C10'—H10D	109.2
H10A—C10—H10B	107.9	H10C—C10'—H10D	107.9
O3—C11—C12	122.3 (3)	O3'—C11'—C12'	122.3 (3)
O3—C11—C10	118.6 (3)	O3'—C11'—C10'	119.2 (3)
C12—C11—C10	119.0 (3)	C12'—C11'—C10'	118.4 (3)
C7—C12—C11	121.4 (3)	C7'—C12'—C11'	122.0 (3)
C7—C12—H12	119.3	C7'—C12'—H12'	119.0
C11—C12—H12	119.3	C11'—C12'—H12'	119.0

### Hydrogen-bond geometry ( $\text{\AA}$ , $^\circ$ )

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
O2—H2O $\cdots$ O3'	0.82	1.81	2.562 (4)	151
N—H1 $\cdots$ O1	0.86	1.98	2.665 (4)	136
O2'—H2O' $\cdots$ O3 <sup>i</sup>	0.82	1.78	2.562 (4)	160
N'—H1' $\cdots$ O1'	0.86	1.98	2.659 (4)	135

Symmetry codes: (i)  $x, y+1, z$ .

Fig. 1



Acta Crystallographica Section E

Structure Reports

Online

ISSN 1600-5368

Editors: W. Clegg and D. G. Watson

***catena*-Poly[[trimethyltin(IV)]- $\mu$ -2-[(3-oxocyclohex-1-enyl)amino]benzoato- $\kappa^2$ O:O]**

**Flaviana T. Vieira, Daniele C. Menezes, Geraldo M. de Lima, José R. da S. Maia and Nivaldo L. Speziali**

Copyright © International Union of Crystallography

Author(s) of this paper may load this reprint on their own web site or institutional repository provided that this cover page is retained. Reproduction of this article or its storage in electronic databases other than as specified above is not permitted without prior permission in writing from the IUCr.

For further information see <http://journals.iucr.org/services/authorrights.html>



Acta Crystallographica Section E

## Structure Reports

Online

ISSN 1600-5368

**catena-Poly[[trimethyltin(IV)]- $\mu$ -2-[(3-oxocyclohex-1-enyl)amino]-benzoato- $\kappa^2$ O:O']**Flaviana T. Vieira,<sup>a</sup> Daniele C. Menezes,<sup>a</sup> Geraldo M. de Lima,<sup>a\*</sup> José R. da S. Maia<sup>b</sup> and Nivaldo L. Speziali<sup>c</sup><sup>a</sup>Departamento de Química, ICEx, UFMG, Brazil, <sup>b</sup>Departamento de Química, UFV, Brazil, and <sup>c</sup>Departamento de Física, ICEx, UFMG, Brazil

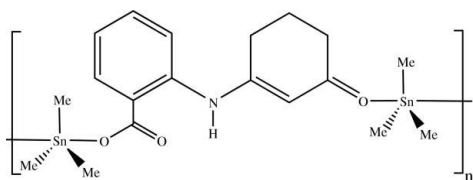
Correspondence e-mail: gmlima@ufmg.br

Received 8 August 2007; accepted 11 September 2007

Key indicators: single-crystal X-ray study;  $T = 273$  K; mean  $\sigma(C-C) = 0.007$  Å;  $R$  factor = 0.024;  $wR$  factor = 0.087; data-to-parameter ratio = 12.1.

The Sn atom in the title compound,  $[\text{Sn}(\text{CH}_3)_3(\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3)]_n$ , is five-coordinate in a trigonal-bipyramidal environment. An intramolecular  $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$  hydrogen bond is present.

## Related literature

For related literature, see: Vieira *et al.* (2007).

## Experimental

## Crystal data

$[\text{Sn}(\text{CH}_3)_3(\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_3)]_n$   
 $M_r = 394.03$   
 Orthorhombic,  $Fdd2$   
 $a = 30.626$  (5) Å  
 $b = 12.981$  (2) Å  
 $c = 17.164$  (2) Å

$V = 6823.6$  (19) Å<sup>3</sup>  
 $Z = 16$   
 Mo  $K\alpha$  radiation  
 $\mu = 1.51$  mm<sup>-1</sup>  
 $T = 273$  (2) K  
 $0.2 \times 0.2 \times 0.2$  mm

## Data collection

Siemens P4 diffractometer  
 Absorption correction: none  
 7294 measured reflections  
 2329 independent reflections  
 2099 reflections with  $I > 2\sigma(I)$

$R_{\text{int}} = 0.039$   
 3 standard reflections  
 every 97 reflections  
 intensity decay: 4%

## Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.024$   
 $wR(F^2) = 0.087$   
 $S = 0.74$   
 2329 reflections  
 193 parameters  
 1 restraint

H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement  
 $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.26$  e Å<sup>-3</sup>  
 $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.37$  e Å<sup>-3</sup>  
 Absolute structure: Flack (1983), with 1560 Friedel pairs  
 Flack parameter:  $-0.04$  (4)

Table 1

Selected geometric parameters (Å, °).

Sn—C1	2.112 (5)	Sn—O3	2.496 (4)
Sn—C2	2.111 (6)	C10—N	1.396 (7)
Sn—C3	2.113 (6)	N—C11 <sup>i</sup>	1.376 (6)
Sn—O1	2.174 (4)		
C1—Sn—C2	120.1 (3)	C1—Sn—O3	79.46 (19)
C1—Sn—C3	125.5 (3)	C2—Sn—O3	91.4 (2)
C2—Sn—C3	112.5 (3)	C3—Sn—O3	86.3 (2)
C1—Sn—O1	94.73 (19)	O1—Sn—O3	174.13 (13)
C2—Sn—O1	90.8 (2)	C11 <sup>i</sup> —N—C10	128.5 (4)
C3—Sn—O1	97.9 (2)		

Symmetry code: (i)  $-x + \frac{3}{4}, y + \frac{3}{4}, z + \frac{1}{4}$ .

Table 2

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
N—H1N <sup>i</sup> ···O2	0.91 (6)	1.96 (6)	2.631 (5)	129 (5)

Data collection: XSCANS (Siemens, 1991); cell refinement: XSCANS; data reduction: XSCANS; program(s) used to solve structure: SHELXS97 (Sheldrick, 1997); program(s) used to refine structure: SHELXL97 (Sheldrick, 1997); molecular graphics: SHELXTL/PC (Sheldrick, 1990); software used to prepare material for publication: SHELXL97.

This work was supported by the Brazilian agency CNPq.

Supplementary data and figures for this paper are available from the IUCr electronic archives (Reference: GW2023).

## References

- Flack, H. D. (1983). *Acta Cryst.* **A39**, 876–881.  
 Sheldrick, G. M. (1990). *SHELXTL/PC*. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.  
 Sheldrick, G. M. (1997). *SHELXS97* and *SHELXL97*. University of Göttingen, Germany.  
 Siemens (1991). *XSCANS User's Manual*. Siemens Analytical X-ray Instruments Inc., Madison, Wisconsin, USA.  
 Vieira, F. T., Menezes, D. C., Lima, G. M. de & Speziali, N. L. (2007). *Acta Cryst.* **E63**, o3376.

## **supplementary materials**

*Acta Cryst.* (2007). E63, m2587 [ doi:10.1107/S1600536807044273 ]

**catena-Poly[[trimethyltin(IV)]-2-[(3-oxocyclohex-1-enyl)amino]benzoato- $\mu^2$ O:O']**

**F. T. Vieira, D. C. Menezes, G. M. de Lima, J. R. da S. Maia and N. L. Speziali**

**Comment**

The reaction of 2-(3-oxocyclohex-1-enyl)benzoic acid (Vieira *et al.*, 2007) with  $\text{Sn}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$  in the presence of triethylamine yielded the title complex. The X-ray crystallographic study revealed that it crystallizes forming an infinity double-polymeric chain structure, where the anionic ligand bridges two tin centre *via* the monodentate carboxylic moiety and the C=O fragment, Fig. 1. The structure possess one tin atom surrounded by three methyl groups and two oxygen atoms, describing an almost perfect trigonal bipyramid. The equatorial corners are occupied by the methyl groups and the axial positions by the oxygen atoms. The angles C1—Sn—C2 and O1—Sn—O3 are all near  $120^\circ$  and  $180^\circ$  as expected for a trigonal bipyramid.

**Experimental**

To a round-bottom flask charged with 3-[(carboxyphenyl)amino]cyclohexen-2-one (1.0 g, 4.32 mmol) and triethylamine (0.6 ml, 4.32 mmol) dissolved in methanol (20 ml), was added trimethyltin chloride (0.86 g, 4.32 mmol). The X-ray quality crystals were obtained from a methanol/water (3:1) solution. IR ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 473 ( $\nu_{\text{Sn—O}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.63 d (C6), 8.0 m (C8, C9), 7.7 m (C7) 6.23 s (C16), 3.0 m (C14), 2.8 m (C12), 2.47 m (C13), 1.58 s (C1, 2, 3).  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 199.5 (C15), 173.4 (C4), 162.5 (C11), 141.8 (C10), 133.9 (C6), 133.6 (C8), 124.3 (C5), 124.2 (C2), 101.58 (C7), 101.56 (C16), 37.5 (C14), 31.2 (C12), 22.8 (C13), 11.7 (C1, 2, 3),  $^{119}\text{Sn}$ -NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 97.6,  $^{119}\text{Sn}$  Mossbauer ( $\text{mm.s}^{-1}$ ):  $\delta$  1.32,  $\Delta$  3.52, Elemental Analysis (%) for  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{Sn}$  found (calc.): C 48.41 (48.76), H 5.37 (5.38), N 3.46 (3.55).

**Refinement**

Fourier difference in the structure determination stage evidenced most of the H atoms in the structure; nevertheless, their positions were subsequently calculated and refined using a riding model approximation. All non-H atoms were refined anisotropically.

**Figures**

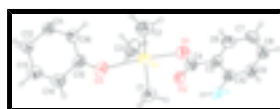


Fig. 1. Monomeric structure of poly-[trimethyltin-3-[(carboxyphenyl)amino] cyclohexen-2-one]

## supplementary materials

---

<it>catena</it>-Poly[[trimethyltin(IV)]- $\mu$ -2-[(3-oxocyclohex-1-enyl)amino]benzoato- $\kappa^2$ <it>O</it>:<it>O</it>]

### Crystal data

[Sn(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> (C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub> )]	$D_x = 1.534 \text{ Mg m}^{-3}$
$M_r = 394.03$	Melting point: 440-443 K
Orthorhombic, $Fdd2$	Mo $K\alpha$ radiation
	$\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
	Cell parameters from 26 reflections
$a = 30.626 (5) \text{ \AA}$	$\theta = 11.8\text{--}12.5^\circ$
$b = 12.981 (2) \text{ \AA}$	$\mu = 1.51 \text{ mm}^{-1}$
$c = 17.164 (2) \text{ \AA}$	$T = 273 (2) \text{ K}$
$V = 6823.6 (19) \text{ \AA}^3$	Prismatic, colourless
$Z = 16$	$0.2 \times 0.2 \times 0.2 \text{ mm}$
$F_{000} = 3168$	

### Data collection

Siemens P4 diffractometer	$R_{\text{int}} = 0.039$
Radiation source: fine-focus sealed tube	$\theta_{\text{max}} = 25.0^\circ$
Monochromator: graphite	$\theta_{\text{min}} = 2.1^\circ$
$T = 273(2) \text{ K}$	$h = -36 \rightarrow 36$
$2\theta/\omega$ scans	$k = -15 \rightarrow 11$
Absorption correction: none	$l = -19 \rightarrow 12$
7294 measured reflections	3 standard reflections
2329 independent reflections	every 97 reflections
2099 reflections with $I > 2\sigma(I)$	intensity decay: 4%

### Refinement

Refinement on $F^2$	Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
Least-squares matrix: full	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.024$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1P)^2]$
$wR(F^2) = 0.087$	where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$S = 0.74$	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
2329 reflections	$\Delta\rho_{\text{max}} = 0.26 \text{ e \AA}^{-3}$
193 parameters	$\Delta\rho_{\text{min}} = -0.37 \text{ e \AA}^{-3}$
1 restraint	Extinction correction: none
Primary atom site location: structure-invariant direct methods	Absolute structure: Flack (1983), with how many Friedel pairs?
Secondary atom site location: difference Fourier map	Flack parameter: $-0.04 (4)$

*Special details*

**Geometry.** All e.s.d.'s (except the e.s.d. in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell e.s.d.'s are taken into account individually in the estimation of e.s.d.'s in distances, angles and torsion angles; correlations between e.s.d.'s in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell e.s.d.'s is used for estimating e.s.d.'s involving l.s. planes.

**Refinement.** Refinement of  $F^2$  against ALL reflections. The weighted  $R$ -factor  $wR$  and goodness of fit  $S$  are based on  $F^2$ , conventional  $R$ -factors  $R$  are based on  $F$ , with  $F$  set to zero for negative  $F^2$ . The threshold expression of  $F^2 > 2\text{sigma}(F^2)$  is used only for calculating  $R$ -factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement.  $R$ -factors based on  $F^2$  are statistically about twice as large as those based on  $F$ , and  $R$ -factors based on ALL data will be even larger.

*Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
Sn	0.411524 (8)	-0.002008 (19)	0.26150 (5)	0.05087 (14)
C1	0.43775 (19)	0.1345 (4)	0.2137 (4)	0.0718 (15)
H1A	0.4312	0.1915	0.2474	0.108*
H1B	0.4251	0.1466	0.1634	0.108*
H1C	0.4688	0.1276	0.2087	0.108*
C2	0.4509 (2)	-0.0989 (5)	0.3309 (4)	0.0772 (16)
H2A	0.4442	-0.0880	0.3848	0.116*
H2B	0.4811	-0.0832	0.3218	0.116*
H2C	0.4454	-0.1695	0.3175	0.116*
C3	0.3535 (2)	-0.0753 (5)	0.2245 (4)	0.089 (2)
H3A	0.3308	-0.0634	0.2622	0.134*
H3B	0.3585	-0.1480	0.2196	0.134*
H3C	0.3447	-0.0477	0.1751	0.134*
O1	0.38557 (11)	0.0726 (2)	0.3650 (2)	0.0602 (8)
O2	0.33660 (11)	0.1547 (2)	0.2914 (2)	0.0616 (9)
O3	0.44514 (15)	-0.0706 (3)	0.1396 (2)	0.0771 (11)
C4	0.35365 (15)	0.1367 (3)	0.3546 (3)	0.0513 (10)
C5	0.33861 (13)	0.1881 (3)	0.4283 (3)	0.0444 (10)
C6	0.35136 (15)	0.1499 (3)	0.5001 (3)	0.0558 (11)
H6A	0.3703	0.0939	0.5021	0.067*
C7	0.33636 (18)	0.1936 (5)	0.5696 (3)	0.0673 (15)
H7A	0.3450	0.1670	0.6176	0.081*
C8	0.3084 (2)	0.2772 (5)	0.5656 (3)	0.0643 (15)
H8A	0.2977	0.3059	0.6115	0.077*
C9	0.29629 (16)	0.3184 (4)	0.4959 (3)	0.0561 (11)
H9A	0.2778	0.3753	0.4950	0.067*
C10	0.31093 (15)	0.2770 (4)	0.4268 (3)	0.0474 (10)
N	0.29828 (13)	0.3157 (3)	0.3544 (3)	0.0510 (9)
H1N	0.3021 (18)	0.279 (5)	0.310 (3)	0.061*
C11	0.45673 (14)	-0.3331 (3)	0.0821 (3)	0.0449 (10)
C12	0.47411 (17)	-0.3229 (4)	0.0014 (3)	0.0594 (12)
H12A	0.4622	-0.3776	-0.0306	0.071*
H12B	0.5056	-0.3310	0.0026	0.071*

## supplementary materials

C13	0.4631 (2)	-0.2201 (4)	-0.0352 (3)	0.0703 (15)
H13A	0.4799	-0.2115	-0.0827	0.084*
H13B	0.4323	-0.2187	-0.0488	0.084*
C14	0.47305 (19)	-0.1322 (4)	0.0200 (4)	0.0665 (14)
H14A	0.4616	-0.0688	-0.0018	0.080*
H14B	0.5045	-0.1247	0.0245	0.080*
C15	0.45398 (15)	-0.1476 (3)	0.1002 (3)	0.0528 (11)
C16	0.44788 (16)	-0.2510 (3)	0.1278 (3)	0.0490 (11)
H16A	0.4376	-0.2617	0.1782	0.059*

### Atomic displacement parameters ( $\text{\AA}^2$ )

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
Sn	0.05684 (19)	0.03705 (18)	0.0587 (2)	0.00106 (12)	-0.00554 (19)	0.00251 (11)
C1	0.098 (4)	0.039 (2)	0.079 (4)	0.003 (2)	0.014 (3)	0.005 (2)
C2	0.094 (4)	0.064 (3)	0.073 (4)	0.011 (3)	0.001 (3)	0.020 (3)
C3	0.084 (4)	0.072 (4)	0.112 (6)	-0.009 (3)	-0.016 (4)	-0.026 (4)
O1	0.071 (2)	0.0529 (19)	0.057 (2)	0.0084 (15)	-0.0044 (17)	0.0016 (15)
O2	0.091 (3)	0.0457 (16)	0.049 (2)	0.0143 (15)	-0.0092 (17)	-0.0075 (14)
O3	0.117 (3)	0.0449 (18)	0.069 (2)	0.0005 (19)	0.007 (2)	-0.0108 (19)
C4	0.068 (3)	0.042 (2)	0.044 (3)	-0.012 (2)	0.001 (2)	0.001 (2)
C5	0.051 (3)	0.038 (2)	0.045 (2)	-0.0123 (16)	-0.0020 (18)	-0.005 (2)
C6	0.059 (2)	0.049 (2)	0.059 (3)	-0.0073 (18)	-0.010 (2)	0.011 (2)
C7	0.087 (4)	0.072 (4)	0.042 (3)	-0.023 (3)	-0.006 (2)	0.016 (3)
C8	0.083 (4)	0.063 (3)	0.047 (3)	-0.020 (3)	0.019 (3)	-0.006 (3)
C9	0.066 (3)	0.048 (2)	0.054 (3)	-0.009 (2)	0.002 (2)	-0.009 (2)
C10	0.049 (2)	0.043 (2)	0.049 (3)	-0.0119 (18)	0.004 (2)	-0.005 (2)
N	0.067 (2)	0.0390 (19)	0.047 (2)	-0.0001 (16)	-0.0032 (18)	-0.0048 (17)
C11	0.047 (2)	0.038 (2)	0.049 (3)	-0.0034 (17)	0.0002 (18)	-0.0043 (19)
C12	0.077 (3)	0.049 (2)	0.053 (3)	0.000 (2)	0.016 (3)	0.003 (3)
C13	0.102 (4)	0.049 (3)	0.061 (4)	-0.003 (3)	0.007 (3)	0.006 (3)
C14	0.089 (4)	0.047 (2)	0.064 (4)	-0.008 (2)	0.009 (3)	0.002 (3)
C15	0.059 (3)	0.038 (2)	0.061 (3)	-0.0014 (18)	0.004 (2)	-0.008 (2)
C16	0.054 (3)	0.043 (2)	0.050 (3)	0.0021 (16)	0.004 (2)	-0.0017 (17)

### Geometric parameters ( $\text{\AA}$ , $^\circ$ )

Sn—C1	2.112 (5)	C7—H7A	0.9300
Sn—C2	2.111 (6)	C8—C9	1.362 (8)
Sn—C3	2.113 (6)	C8—H8A	0.9300
Sn—O1	2.174 (4)	C9—C10	1.377 (7)
Sn—O3	2.496 (4)	C9—H9A	0.9300
C1—H1A	0.9600	C10—N	1.396 (7)
C1—H1B	0.9600	N—C11 <sup>i</sup>	1.376 (6)
C1—H1C	0.9600	N—H1N	0.91 (6)
C2—H2A	0.9600	C11—C16	1.351 (6)
C2—H2B	0.9600	C11—N <sup>ii</sup>	1.376 (6)
C2—H2C	0.9600	C11—C12	1.489 (7)

## supplementary materials

C3—H3A	0.9600	C12—C13	1.513 (8)
C3—H3B	0.9600	C12—H12A	0.9700
C3—H3C	0.9600	C12—H12B	0.9700
O1—C4	1.296 (5)	C13—C14	1.515 (8)
O2—C4	1.227 (6)	C13—H13A	0.9700
O3—C15	1.237 (6)	C13—H13B	0.9700
C4—C5	1.503 (7)	C14—C15	1.508 (8)
C5—C6	1.384 (7)	C14—H14A	0.9700
C5—C10	1.432 (7)	C14—H14B	0.9700
C6—C7	1.400 (8)	C15—C16	1.436 (6)
C6—H6A	0.9300	C16—H16A	0.9300
C7—C8	1.384 (9)		
C1—Sn—C2	120.1 (3)	C6—C7—H7A	120.7
C1—Sn—C3	125.5 (3)	C9—C8—C7	121.3 (5)
C2—Sn—C3	112.5 (3)	C9—C8—H8A	119.3
C1—Sn—O1	94.73 (19)	C7—C8—H8A	119.3
C2—Sn—O1	90.8 (2)	C8—C9—C10	121.0 (5)
C3—Sn—O1	97.9 (2)	C8—C9—H9A	119.5
C1—Sn—O3	79.46 (19)	C10—C9—H9A	119.5
C2—Sn—O3	91.4 (2)	C9—C10—N	122.4 (5)
C3—Sn—O3	86.3 (2)	C9—C10—C5	119.5 (5)
O1—Sn—O3	174.13 (13)	N—C10—C5	118.1 (4)
Sn—C1—H1A	109.5	C11 <sup>i</sup> —N—C10	128.5 (4)
Sn—C1—H1B	109.5	C11 <sup>i</sup> —N—H1N	106 (4)
H1A—C1—H1B	109.5	C10—N—H1N	122 (4)
Sn—C1—H1C	109.5	C16—C11—N <sup>ii</sup>	124.6 (4)
H1A—C1—H1C	109.5	C16—C11—C12	122.8 (4)
H1B—C1—H1C	109.5	N <sup>ii</sup> —C11—C12	112.6 (4)
Sn—C2—H2A	109.5	C11—C12—C13	112.7 (4)
Sn—C2—H2B	109.5	C11—C12—H12A	109.1
H2A—C2—H2B	109.5	C13—C12—H12A	109.1
Sn—C2—H2C	109.5	C11—C12—H12B	109.1
H2A—C2—H2C	109.5	C13—C12—H12B	109.1
H2B—C2—H2C	109.5	H12A—C12—H12B	107.8
Sn—C3—H3A	109.5	C14—C13—C12	111.0 (5)
Sn—C3—H3B	109.5	C14—C13—H13A	109.4
H3A—C3—H3B	109.5	C12—C13—H13A	109.4
Sn—C3—H3C	109.5	C14—C13—H13B	109.4
H3A—C3—H3C	109.5	C12—C13—H13B	109.4
H3B—C3—H3C	109.5	H13A—C13—H13B	108.0
C4—O1—Sn	116.7 (3)	C13—C14—C15	113.1 (4)
C15—O3—Sn	146.8 (4)	C13—C14—H14A	109.0
O2—C4—O1	124.4 (4)	C15—C14—H14A	109.0
O2—C4—C5	122.0 (4)	C13—C14—H14B	109.0
O1—C4—C5	113.6 (4)	C15—C14—H14B	109.0
C6—C5—C10	118.1 (4)	H14A—C14—H14B	107.8
C6—C5—C4	120.2 (4)	O3—C15—C16	123.1 (5)
C10—C5—C4	121.6 (4)	O3—C15—C14	118.5 (4)

## supplementary materials

---

C5—C6—C7	121.4 (4)	C16—C15—C14	118.4 (4)
C5—C6—H6A	119.3	C11—C16—C15	121.3 (4)
C7—C6—H6A	119.3	C11—C16—H16A	119.4
C8—C7—C6	118.6 (5)	C15—C16—H16A	119.4
C8—C7—H7A	120.7		

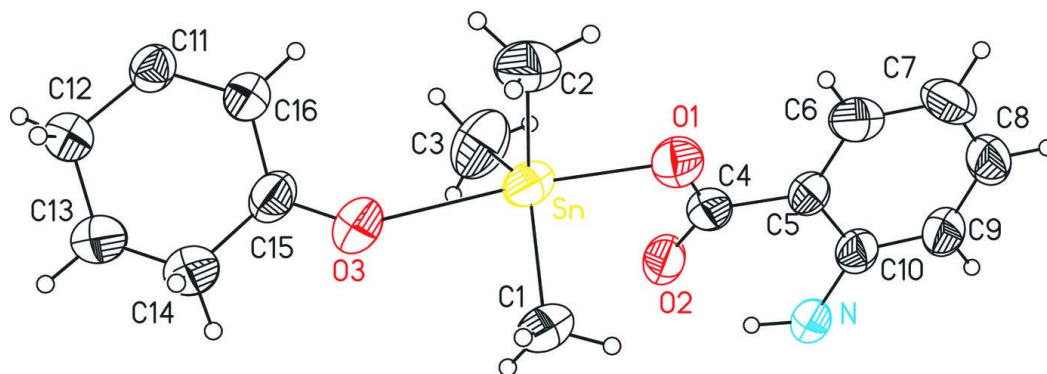
Symmetry codes: (i)  $-x+3/4, y+3/4, z+1/4$ ; (ii)  $-x+3/4, y-3/4, z-1/4$ .

### Hydrogen-bond geometry ( $\text{\AA}$ , $^\circ$ )

<i>D</i> —H $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> —H	H $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> $\cdots$ <i>A</i>	<i>D</i> —H $\cdots$ <i>A</i>
N—H1N $\cdots$ O2	0.91 (6)	1.96 (6)	2.631 (5)	129 (5)



Fig. 1



Original article

## Tin(IV) complexes of pyrrolidinedithiocarbamate: synthesis, characterisation and antifungal activity

D.C. Menezes<sup>a</sup>, F.T. Vieira<sup>a</sup>, G.M. de Lima<sup>a,\*</sup>, A.O. Porto<sup>a</sup>, M.E. Cortés<sup>b</sup>,  
J.D. Ardisson<sup>c</sup>, T.E. Albrecht-Schmitt<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Química de Coordenação e Organometálica do Estanho, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>b</sup> Laboratório de Microbiologia e Biomateriais, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>c</sup> Laboratório de Física Aplicada, CDTN/CNEN, Belo Horizonte, MG, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG CEP 31270-901, Brazil

<sup>d</sup> Department of Chemistry, Auburn University, 179 Chem Building, Auburn, AL 36849, USA

Received 27 April 2005; received in revised form 22 June 2005; accepted 18 July 2005

Available online 31 August 2005

### Abstract

The reaction of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate,  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$ , with  $\text{SnCl}_2$ ,  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Cl}_2]$ ,  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Cl}]$ ,  $[\text{Sn}(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{Cl}_2]$  and  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_{11})_3\text{Cl}]$  produced in good yield the compounds  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Cl}_2]$  (**1**),  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Ph}_2]$  (**2**),  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{Ph}_3]$  (**3**),  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2n\text{-Bu}_2]$  (**4**) and  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{Cy}_3]$  (**5**). The complexes were characterised by infrared, multinuclear NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  and  $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$ ) and  $^{119}\text{Sn}$  Mössbauer spectroscopies. In addition, the crystal structure of **4** was determined by X-ray crystallography. The in vitro antifungal activity of the tin(IV) complexes as well of the ligand was performed on human pathogenic fungi, *Candida albicans*, in concentrations of 0.025; 0.050; 0.100; 0.200; 0.400; 0.800; 1.600 and 3.200 mM. The microorganism presented resistance to the dithiocarbamate ligand and all tin(IV) complexes tested were actives. The highest activity was found for compounds **1** and **4**. © 2005 Elsevier SAS. All rights reserved.

**Keywords:** Tin(IV) complexes; Dithiocarbamate complexes; Spectroscopic studies; Antifungal activity; *Candida albicans*

### 1. Introduction

Fungal infections have increased in the last years affecting mainly those patients immuno-compromised [1]. These infections are ordinary in patients whom subdue to immuno-suppressive therapy, as in the cases of organ transplantation, critical diseases and patients with AIDS [2,3]. *Candida albicans*, the microorganism in study, can infect the oral and vaginal cavities, skin and, more seriously essential organs [4].

Antifungal therapies include two main classes of compounds: polyene [5] and azole drugs [6]. The former class, which comprises nystatin and amphotericin, act in the membrane of the fungal cell linking to ergosterol. These drugs interfere with the permeability of the membrane, causing losses of macromolecules and ions essentials to the survival

process of the fungal cell [7]. The antifungal activity of azole arises from interaction with the sterol-14 $\alpha$ -demethylase (CYP51), involved in the biosynthesis of ergosterol. Interaction CYP51 results in a decreased availability of ergosterol and an accumulation of 14-methylsterols. Changes in ergosterol levels and sterol structure influence the membrane permeability and the activity of several metabolic pathways [7].

The drugs used nowadays normally present problems with resistance and toxicity [8]. Metal-based drugs might represent an alternative therapeutic route. A large number of studies have been reported concerning metal-complexes of 1,10-phenanthroline [9–11], thiosemicarbazones [12,13] and carboxylates [14].

Tin complexes [15–18] as well as dithiocarbamates ligands [19] are known for their biological interest as antifungal, antibacterial and biocide agents. Therefore, the coordination of tin with dithiocarbamates would enhance such biological aspects. Thus, in order to investigate the in vitro antifungal

\* Corresponding author. Tel.: +55 31 3499 5744; fax: +55 31 3499 5720.  
E-mail address: [gmlima@ufmg.br](mailto:gmlima@ufmg.br) (G.M. de Lima).

activity towards *C. albicans* we have synthesised and characterised a series of tin(IV) complexes with pyrrolidinedithiocarbamate. Here in we describe the outcomes of our investigation.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

Carbon disulphide, pyrrolidine, ammonium hydroxide, tin compounds, dichloromethane, diethylether and ethanol were purchased from Merck, Aldrich, Synth and Quimex and used with no previous treatment. Solvents such as tetrahydrofuran (THF) and hexane, purchased from Synth. were previously dried by standard methods.

### 2.2. Instruments and techniques

Elemental analyses were performed using a Perkin–Elmer Model PE 2400CHN. Melting points were determined with a digital melting point from Mettler model FP90 with cell of heating model FP82 HT and microscopy from Olympus CH-2.

IR spectra were obtained as KBr plates on a Mattson Galaxy model ST 3000 spectrometer in the 4000–200  $\text{cm}^{-1}$  range. NMR spectra were recorded in  $\text{CDCl}_3$  at 25 °C on a Bruker Avance DRX 400. The values were referenced to internal  $\text{SiMe}_4$  and  $\text{SnMe}_4$ .  $^{119}\text{Sn}$  Mössbauer measurements were performed on a conventional apparatus with the samples at liquid  $\text{N}_2$  temperature and a  $\text{CaSnO}_3$  source kept at room temperature.

### 2.3. Synthesis of $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$

To a solution of pyrrolidine (0.64 g, 9 mmol, in 20  $\text{cm}^3$  of diethylether), at 0 °C, was dropped carbon disulphide (0.68 g, 9 mmol). This mixture was stirred for 1 h and ammonium hydroxide was added. The white solid formed,  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$ , was filtered and re-crystallised from a mixture of water and THF. Yield 85%. Analysis for:  $\text{NH}_4\text{S}_2\text{C}_5\text{H}_8\text{N}$ . Found: C, 36.51%; H, 7.28%; N, 8.41%. Calc.: C, 36.59%; H, 7.32%; N, 8.54%. M.p. 142–143 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 998 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1240 and 1325 (m,  $\nu_{\text{C-N}}$ ); 1450 (s,  $\nu_{\text{C-N}} + \nu_{\text{C=N}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 1.85 (m, 2 $\text{CH}_2$ ); 3.58 (t, 2 $\text{NCH}_2$ ).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 25.01 (2 $\text{CH}_2$ ); 55.27 (2  $\text{NCH}_2$ ); 202.80 (SCN).

### 2.4. Syntheses of complexes

#### 2.4.1. $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Cl}_2]$ (1)

In a Schlenk flask,  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$  (0.98 g, 6 mmol) was dissolved in 50  $\text{cm}^3$  of THF and added to a solution of  $\text{SnCl}_2$  (0.57 g, 3 mmol) in the same solvent. The mixture was kept stirring for 2 h in an atmosphere of nitrogen. The white solid formed, composed of  $\text{SnO}$  and  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , was separated by filtration from an orange solution. The solvent was removed

yielding an orange solid,  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Cl}_2]$ . It was re-crystallised in a mixture of hexane/THF and dried *in vacuum*. Yield 80%. Elemental analysis for:  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{SnN}_2\text{S}_4\text{Cl}_2$ . Found: C, 24.72%; H, 3.30%; N, 5.65%. Calc.: C, 24.91%; H, 3.32%; N, 5.81%. M.p. (decomposition) = 200 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 303 (m,  $\nu_{\text{Sn-Cl}}$ ); 315 (w,  $\nu_{\text{Sn-S}}$ ); 949 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1327 (m,  $\nu_{\text{C-N}}$ ); 1459 (s,  $\nu_{\text{C-N}} + \nu_{\text{C=N}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.86 (m, 2 $\text{CH}_2$ ); 3.63 (t, 2 $\text{NCH}_2$ ).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 26.01 (2 $\text{CH}_2$ ); 55.32 (2 $\text{NCH}_2$ ); 202.85 (SCN).  $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): -521.

#### 2.4.2. $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Ph}_2]$ (2)

$[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$  (0.98 g, 6 mmol) was dissolved in 20  $\text{cm}^3$  of ethanol and added to a solution of  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Cl}_2]$  (1.03 g, 3 mmol) in the same solvent. The mixture was stirred for 2 h and then the solvent was removed by filtration and a white solid  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Ph}_2]$  (2), was obtained. The ammonium salt was washed with water at 80 °C. Yield 85%. Elemental analysis for:  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{SnN}_2\text{S}_4$ . Found: C, 46.62%; H, 4.54%; N, 4.84%. Calc.: C, 46.75%; H, 4.60%; N, 4.95%. M.p.: 222.5–223.1 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 385 (m,  $\nu_{\text{Sn-S}}$ ); 943 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1247 and 1328 (m,  $\nu_{\text{C-N}}$ ); 1495 (s,  $\nu_{\text{C-N}} + \nu_{\text{C=N}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): 1.99 (m, 2 $\text{CH}_2$ ); 3.64 (t, 2 $\text{NCH}_2$ ); 7.23–7.90 (m, 2  $\text{C}_6\text{H}_5$ ).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 26.72; 54.88; 128.10 ( $^4J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 83$  Hz); 128.34; 134.30 ( $^2J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 621$  Hz); 151.62; 194.49.  $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): -500 ( $^1J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 811$  Hz).

#### 2.4.3. $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{Ph}_3]$ (3)

Prepared accordingly using  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$  (0.49 g, 3 mmol) and  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Cl}]$  (1.26 g, 3 mmol) dissolved in 20  $\text{cm}^3$  of ethanol. Yield 89%. Elemental analysis for:  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{SnNS}_2$ . Found: C, 55.47%; H, 4.73%; N, 2.81%. Calc.: C, 55.68%; H, 4.64%; N, 2.82%. M.p.: 171–171.4 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 349 (m,  $\nu_{\text{Sn-S}}$ ); 949 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1246 (m,  $\nu_{\text{C-N}}$ ); 1479 (s,  $\nu_{\text{C-N}} + \nu_{\text{C=N}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.91 (m, 2 $\text{CH}_2$ ); 3.67 (t, 2 $\text{NCH}_2$ ); 7.28–7.90 (m, 3  $\text{C}_6\text{H}_5$ ).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 26.64; 55.05; 128.46; 129.07 ( $^3J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 105$  Hz); 136.72 ( $^2J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 276$  Hz); 142.07 ( $^1J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 1737$  Hz); 191.57.  $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): -173 ( $^1J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 1897$  Hz).

#### 2.4.4. $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2n\text{-Bu}_2]$ (4)

Prepared accordingly employing  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$  (0.98 g, 6 mmol) and  $[\text{Sn}(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{Cl}_2]$  (0.91 g, 3 mmol) dissolved in 20  $\text{cm}^3$  of dichloromethane. X-ray quality colourless crystals were obtained by cooling an ethanol solution of the compound. Yield 75%. Elemental analysis for:  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{SnN}_2\text{S}_4$ . Found: C, 40.99%; H, 6.38%; N, 5.28%. Calc.: C, 41.17%; H, 6.48%; N, 5.34%. M.p.: 110–111 °C. IR ( $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 347 (m,  $\nu_{\text{Sn-S}}$ ); 949 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1010 and 1038 (s,  $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1643 (m,  $\nu_{\text{C-N}}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 0.93 (t, 2 $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1.34 (m, 2 $\text{CH}_3$ ); 1.86 (m,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.97 (t,  $\text{SnCH}_2$ ); 2.05 (m, 2 $\text{CH}_2$ ); 3.76 (t, 2 $\text{NCH}_2$ ).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 13.81; 26.23; 26.48; 28.53 ( $^2J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 144$  Hz); 34.21 ( $^1J^{119}\text{Sn}-^{13}\text{C} = 1168$  Hz); 54.01; 196.04.  $^{119}\text{Sn}\{^1\text{H}\}$  NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): -307.

#### 2.4.5. $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{C}_y\text{z}_3]$ (**5**)

Similarly prepared using  $[\text{NH}_4\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}]$  (0.49 g, 3 mmol) and  $[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Cl}]$  (1.32 g, 3 mmol) dissolved in 20 cm<sup>3</sup> of ethanol. Yield 88%. Elemental analysis for:  $\text{C}_{23}\text{H}_{41}\text{SnNS}_2$ . Found: C, 53.57%; H, 7.89%; N, 2.59%. Calc.: C, 53.73%; H, 7.98%; N, 2.73%. M.p. 145.2–147 °C. IR (cm<sup>-1</sup>, KBr): 350 ( $\nu_{\text{Sn-S}}$ ); 958 ( $\nu_{\text{C-S}}$ ); 1215 and 1249 ( $\nu_{\text{C-N}}$ ); 1489 (s,  $\nu_{\text{C-N}} + \nu_{\text{C=N}}$ ). <sup>1</sup>H NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 1.90 (m, 2CH<sub>2</sub>); 3.60 (t, 2NCH<sub>2</sub>); 1.20–2.01 (m, 3C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ ): 23.4; 25.5; 25.6; 26.3; 29.9; 30.6 (<sup>2</sup>J<sup>119</sup>Sn–<sup>13</sup>C = 250 Hz); 39.4 (<sup>1</sup>J<sup>119</sup>Sn–<sup>13</sup>C = 1680 Hz). <sup>119</sup>Sn{<sup>1</sup>H} NMR ( $\delta$ ,  $\text{CHCl}_3$ ): –165 (<sup>1</sup>J<sup>119</sup>Sn–<sup>13</sup>C = 1700 Hz).

#### 2.5. Crystal data collection and processing of complex (**4**)

Crystals of compound **4** are triclinic with space group *P*-1. The Intensity data for the X-ray crystallographic determination of **4** were collected at 193(2) K on a Bruker APEX diffractometer with Mo K $\alpha$ ,  $\lambda = 0.71073$  Å, radiation. Programs used: COLLECT, HKL Denzo-Scalepack, WINGX, SHELXS-97 [20], SHELXL-97 and ORTEP-3 [21] and the refinements were carried out on F<sup>2</sup> using SHELXL-97 software [22]. Further details are given in Table 1. All non-H

Table 1  
Crystal data for  $[\text{Sn}(\text{C}_4\text{H}_9)_2\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2]$  (**4**)

Empirical formula	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Sn
Molecular weight	525.40
Temperature	193(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclinic
Space group	<i>P</i> -1
Unit cell dimensions	$a = 6.9117(4)$ Å, $b = 8.9556(6)$ Å, $c = 10.3905$ [7] Å $\alpha = 79.2110(10)^\circ$ , $\beta = 85.9880(10)^\circ$ , $\gamma = 69.3410$ [10] <sup>o</sup>
Volume	591.16 [7] Å <sup>3</sup>
Z	1
Density (calculated)	1.476 Mg m <sup>-3</sup>
Absorption coefficient	1.439 mm <sup>-1</sup>
<i>F</i> (000)	270
Crystal size	0.290 (max), 0.052 (mid), 0.050 (min)
Theta range for data collection	2.47–28.30°
Reflections collected	5215
Independent reflections	5175
Max. and min. transmission	0.65855 (min), 0.87708 (max)
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> <sup>2</sup>
Data/restraints/parameters	5215/8/227
Goodness-of-fit on <i>F</i> <sup>2</sup>	1.013
Final <i>R</i> indices [ <i>I</i> > 2σ( <i>I</i> )]	<i>R</i> 1 = 0.0202 w <i>R</i> 2 = 0.0492
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> 1 = 0.0203 w <i>R</i> 2 = 0.0493
CCDC reference	267182

atoms were refined anisotropic. The carbons' H atoms were positioned stereochemically and were refined with fixed individual displacement parameters [*U*iso (H) = 1.2 *U*eq (C)] using the SHELXL riding model.

#### 2.6. Biological data

##### 2.6.1. Materials and methods

*C. albicans* (ATCC 18804) was kindly donated by Microbial Laboratory of ICB-UFMG, Sabouraud dextrose agar and broth was obtained from Biobrás S.A. MG, Brazil. The compounds obtained as well as the ligand were studied against *C. albicans* at concentrations of 0.025; 0.050; 0.100; 0.200; 0.400; 0.800; 1.600 and 3.200 mM. The solvent employed was a mixture of dichloromethane/heptane (molar ratio: 2:1).

##### 2.6.2. Antifungal tests

The liquid cultures of *C. albicans* (ATCC 18804) were seeded aerobically in Sabouraud dextrose broth with the cultures incubated at 37 °C for 24 h. Agar disk diffusion test was performed by agar diffusion according the National Committee of Clinical Laboratory Standard Guidelines—NCCLS—(1997). A 0.1 mL aliquot of over-night culture of this microorganism strain corresponding to 0.5 turbidity on the McFarland scale was placed onto 30 mL of Sabouraud dextrose agar. The commercial antifungal agent nystatin (which is about 22 mM) and ethanol were used as positive control. The solvents employed in the experiments, dichloromethane and heptane were tested as a negative control as well as water. The inhibition zone for the commercial nystatin was 14 mm. All the experiments were carried out in sixplicates. The inhibition zones size were considered as sensitive ≥ 11 mm, which could be 3 mm smaller in relation with the control zone diameter, intermediate between 11 and 9 mm and resistant ≤ 9 mm [23]. Finally, the results were statistically analysed by non-parametric test Kruskal Wallis with significance level,  $\alpha = 0.05$ .

### 3. Results and discussion

The ligand was prepared by a Lewis acid and base condensation, producing the so-called Schiff Base system, which was satisfactorily characterised. Dithiocarbamates can co-ordinate to metal centres as monodentate ligand, resonance forms **I** and **II**, or in a bidentate fashion **III** and **IV** (Fig. 1) [24].

The complexes were isolated as mixture-free derivatives and showed acceptable melting points, as well as elemental analysis. Compounds **2–5** were obtained as white crystalline solids and **1** was isolated as an orange product. All deriva-

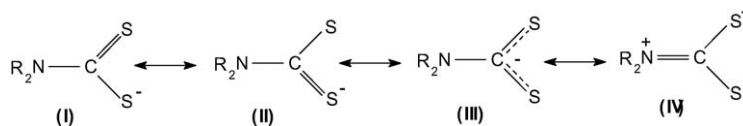


Fig. 1. Possible resonance structures for a generic dithiocarbamate ligand.

tives were air and moisture-stable and readily soluble in polar organic solvents.

The  $^1\text{H}$  NMR spectra of the complexes in  $\text{CDCl}_3$  revealed signals for the organic fragments, phenyl, *n*-butyl and cyclohexyl groups in each case. Moreover, the expected  $^{13}\text{C}$  resonances revealed first, second, third and fourth-order  $^{119}\text{Sn}$ – $^{13}\text{C}$  couplings, with values not very different from those found in the literature for organotin compounds [25]. Unlike other reported examples, which normally describe more than one isomer, detected in solution by  $^{119}\text{Sn}$  NMR experiments, in our work only one signal was observed in  $\text{CHCl}_3$  for each compound:  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Cl}_2]$  (**1**),  $\delta$   $-521$ ;  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Ph}_2]$  (**2**),  $\delta$   $-500$ ;  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{Ph}_3]$  (**3**),  $\delta$   $-173$ ;  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2n\text{-Bu}_2]$  (**4**),  $\delta$   $-307$  and  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}\text{Cy}_3]$  (**5**),  $\delta$   $-165$ . The coordination number (NC) of the tin centre is one of the interferences in the  $^{119}\text{Sn}$  chemical shift. It is suggested in the literature ranges for it, as follows: NC = 6 { $\delta$   $-300$  and  $-550$ }; NC = 5 { $\delta$   $-150$  and  $-250$ }; and NC = 4 {higher to  $\delta$   $-150$ }, [26]. However, it must be carefully analysed since tin resonance is strongly dependent upon other factors, such as electronegativity of the ligands, temperature and concentration employed in the experiments. In our case, an increase in the coordination number of the tin atom has effected a large upfield change in  $^{119}\text{Sn}$   $\delta$  values, comparing complexes **2**, **3** and **5**. In spite of a hexacoordination of the tin atom in complex **1**, the Sn(IV) centre is de-shielded by the two electronegative chlorine, which can shift the resonance to lower frequency. For complex **4**, the  $^{119}\text{Sn}$  NMR technique suggests a hexacoordination rather than a tetrahedral complex. It is an indication that the structure in solution is different from that one obtained by X-ray crystallographic experiment.  $^{13}\text{C}$  NMR results can be used to estimate the C–Sn–C angle, by employing methods encountered in the literature, which correlates this angle with the first order  $^{119}\text{Sn}$ – $^{13}\text{C}$  coupling constant, in solution [27]. The methods have provided the C(11)–Sn–C(15) angle for compound **4** ranging from  $187.9$  to  $195.9^\circ$ , which is in a total disagreement with the experimental data,  $139.35^\circ$ . It confirms that compound **4** behave differently in solution from solid state. It is possible that in solution compound **4** experience a dynamic exchange going from tetra to hexacoordination through the free sulphur atom of the ligand.

The infrared spectra of the compounds show little changes in the C–S and C–N vibration modes, which was comparable to the free ligand. The  $\nu_{\text{C-S}}$  and  $\nu_{\text{C=N}}$  stretching frequencies indicate whether the dithiocarbamate acts as a mono or bidentate ligand [28–30]. For compounds **1–3** and **5** it was observed a single band centred in the range of  $1000$ – $960\text{ cm}^{-1}$ , suggesting that the carbon–sulphur bond is in fact something between a double and a single bond, which imply that both sulphur coordinates the metal centre. On the other hand for complex **4** it is clearly observed for the carbon–sulphur connection two signals,  $1010$  and  $1038\text{ cm}^{-1}$ , indicating a mono-coordination of the ligand throughout one S donor atom, which is according to the X-ray experiment. The Sn–S bands ranged between  $300$  and  $390\text{ cm}^{-1}$  and Sn–Cl for **1** was observed at  $303\text{ cm}^{-1}$  [30].

The structure of **2** have been published and **3** has been reviewed recently, both by us [31]. In **2** the Sn atom situates at the centre of an almost perfect octahedral and **3** displays a distorted bipyramidal trigonal geometry. A similar derivative,  $[\text{Sn}\{\text{S}_2\text{CN}(\text{CH}_2)_4\}_2\text{Me}_2]$  have been previously published, and presents hexacoordinated tin atom [32]. In all of them, the ligand presents a bidentate form. Likewise the phenyl derivative prepared by us, complex **4** crystallises in the triclinic system with *P*-1 as space group. X-ray crystallographic study of compound **4**, Table 1 has clearly shown that the Sn(IV) atom locates at the centre of a distorted tetrahedral, where it is surrounded by two butyl groups and two dithiocarbamate ligand, bonded to one sulphur of each one (Fig. 2).

Table 2 comprises the selected bond length and angles. The Sn–S distances, Sn–S(3) =  $2.532\text{ \AA}$  and Sn–S(1) =  $2.534\text{ \AA}$ , in **4** are close to those values found for the methyl derivative and shorter those values found for the phenyl complex. The two Sn–C bonds, Sn–C(11) =  $2.132\text{ \AA}$  and Sn–C(15) =  $2.138\text{ \AA}$ , are very close to the same chemical bond detected in the methyl compound.

The angles S(3)–Sn–S(1), C(11)–Sn–C(15) are quite different from those found in the literature, because of the tetrahedral environment at the Sn atom.

The  $^{119}\text{Sn}$  Mössbauer spectra of the compounds were fitted supposing the existence of one tin site. Table 3 comprises the hyperfine parameters obtained for the complexes, and for comparison those related to the starting materials [33].

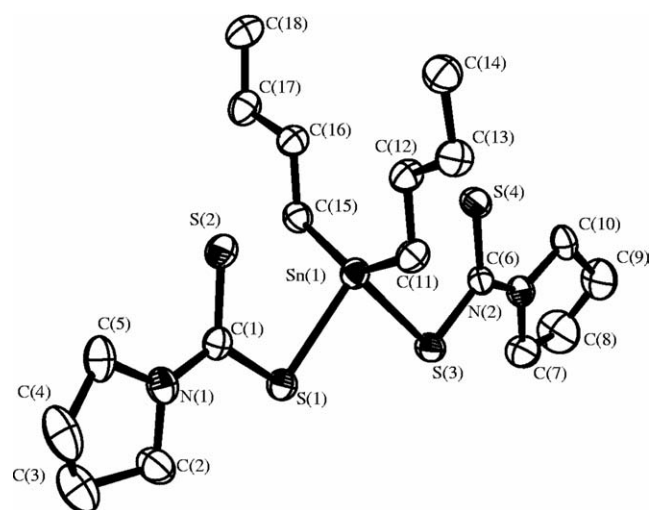


Fig. 2. The molecular structure of **4** and the atom numbering scheme.

Table 2  
Selected bond lengths ( $\text{\AA}$ ) and angles ( $^\circ$ ) for complex (**4**)

Sn–S(1)	2.534(6)	Sn–C(11)	2.132(3)
Sn–S(3)	2.532(6)	Sn–C(15)	2.138(2)
C(1)–S(1)	1.732(4)	C(6)–S(4)	1.703(4)
C(1)–S(2)	1.702(4)	C(1)–N(1)	1.332(4)
C(6)–S(3)	1.741(3)	C(6)–N(2)	1.324(4)
C(11)–Sn–C(15)	139.35(9)	C(11)–Sn–S(1)	104.51(7)
S(3)–Sn–S(1)	85.88(2)	C(15)–Sn–S(3)	103.05(7)
C(11)–Sn–S(3)	106.79(7)	C(15)–Sn–S(1)	104.57(7)

Table 3  
 $^{119}\text{Sn}$  Mössbauer parameters, IS and QS

Compounds	IS ( $\text{mm s}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	QS ( $\text{mm s}^{-1}$ )	Area (%)	Width ( $\text{mm s}^{-1}$ )
1	0.78	1.72	100	0.90
$\text{SnCl}_2$	3.71	0.95		
2	1.09	1.72	100	0.90
$[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Cl}_2]$	1.38	2.82		
3	1.26	1.65	100	0.90
$[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Cl}]$	1.34	2.56		
4	1.58	2.94	100	0.90
$[\text{Sn}(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{Cl}_2]$	1.62	3.45		
5	1.37	1.80	100	0.90
$[\text{Sn}(\text{C}_6\text{H}_{11})_3\text{Cl}]$ <sup>a</sup>	1.41	2.65		

<sup>a</sup> The errors associated to IS, QS and width are  $0.05 \text{ mm s}^{-1}$  and 1% for the area. The value for width parameter is  $0.90 \text{ mm s}^{-1}$  for all complexes.

It is observed a decrease in the isomer shifts ( $\delta$ ) and quadrupole splitting (QS) values for all complexes compared to parent salts, with the exception of complex **1** for which the second parameter increases. All compounds presents spectra characteristic of tin(IV).

The isomer shifts decrease upon coordination due to the variation in the contribution of *s* character in the tin molecular orbital arrangements. The smaller value of the  $\delta$  parameter in complex **1** might be explained accounting for the withdraw effect of the chlorine atom. The quadrupole splitting is related with the symmetry of electronic density distribution around the Mössbauer atom. In complex **1** the coordination process causes a great deformation in the electronic density

at the Sn(IV) centre, resulting in an increase in the quadrupole splitting compared to  $\text{SnCl}_2$ . In complex **4**, the high value of this parameter with relation to other compounds relates to presence of hindering buthyl groups.

### 3.1. Biological test

The *C. albicans* exhibited resistance against pyrrolidinedithiocarbamate ligand. On the other hand, all complexes have shown remarkable antifungal activity in the screened concentration, 0.025; 0.050; 0.100; 0.200; 0.400; 0.800; 1.600 and 3.200 mM (Table 4 and Fig. 3). The solvents have not shown activity against the microorganism in study.

Some compounds present less active than commercial nystatin, employing the agar disk diffusion method. However the activity exhibited by these tin(IV) complexes might be of interest, since the employed concentration of the compounds is far smaller than that of the commercially available nystatin, which is about 22 mM.

Compounds **2–4** display stable inhibition zones from 0.800 mM. For complexes **1** and **5** the inhibition zones remain stable from 1.600 and 0.200 mM, respectively (see Fig. 3). The large size of the complexes can probably frustrate their penetration through the yeast membrane. In complex **1**, the presence of two chlorine atoms possibly leads to a less hydrophobic compound, which could easily cross the cell membrane compared to the others. The higher activity of complex

Table 4  
 Inhibition zone (mm) for complexes **1–5** against *C. albicans* (ATCC 18804)

	Inhibition zone (mm)								Complex
	$11.0 \pm 1$	$11.4 \pm 1$	$12.0 \pm 1$	$12.0 \pm 1$	$13.6 \pm 1$	$13.8 \pm 1$	$19.5 \pm 1$	$19.7 \pm 1$	<b>1</b>
	$8.4 \pm 1$	$8.5 \pm 1$	$9.0 \pm 1$	$9.3 \pm 1$	$9.3 \pm 1$	$10.3 \pm 1$	$10.5 \pm 1$	$10.5 \pm 1$	<b>2</b>
	$9.4 \pm 1$	$9.8 \pm 1$	$10.0 \pm 1$	$10.2 \pm 1$	$10.3 \pm 1$	$11.2 \pm 1$	$11.6 \pm 1$	$11.6 \pm 1$	<b>3</b>
	$11.7 \pm 1$	$12.0 \pm 1$	$11.8 \pm 1$	$13.2 \pm 1$	$14.3 \pm 1$	$14.8 \pm 1$	$14.5 \pm 1$	$14.4 \pm 1$	<b>4</b>
	$9.0 \pm 1$	$9.8 \pm 1$	$10.0 \pm 1$	$10.8 \pm 1$	$10.7 \pm 1$	$10.7 \pm 1$	$10.7 \pm 1$	$10.7 \pm 1$	<b>5</b>
Concentration (mM)	<b>0.025</b>	<b>0.050</b>	<b>0.100</b>	<b>0.200</b>	<b>0.400</b>	<b>0.800</b>	<b>1.600</b>	<b>3.200</b>	

Inhibition zone for nystatin = 14 mm.

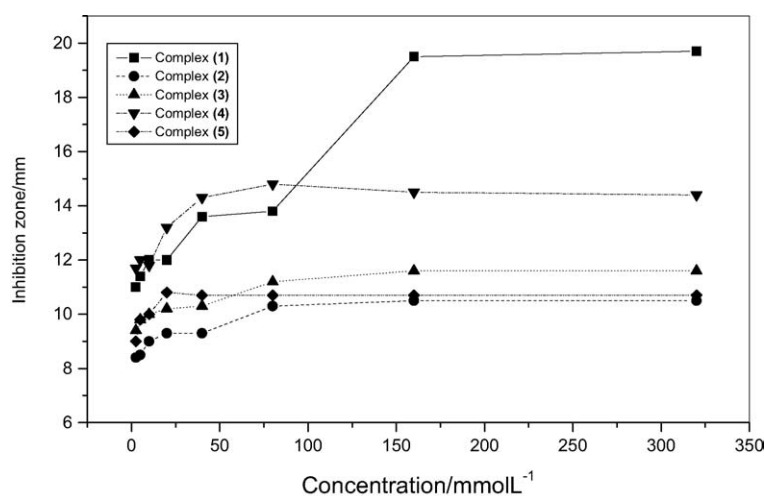


Fig. 3. Inhibition zone versus concentration for complexes **1–5** against *C. Albicans* (ATCC 18804).

**4**, is probably related to the presence of a monodentate ligand. The two free S atoms might co-ordinate to a molecule in the membrane essentials to the survival of the fungal cell.

#### 4. Supplementary data

Crystallographic data for the structural analysis for complex **4** have been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge, CB2 1EZ, UK, and are available on request quoting the deposition numbers CCDC 267182.

#### Acknowledgements

This work was supported by Capes (fellowship for D.C. Menezes) and CNPq-Brazil. We would like to thank the Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise (LMA) for performing part of the EPMA analysis—financed by FAPEMIG (Project CEX 1074/95).

#### References

- [1] B.E. De Pauw, J. European, of Clinical Microb. and Infect, Disease 16 (1997) 32.
- [2] G.P. Bodey, Am. J. Med. 80 (1986) 112.
- [3] G.P. Bodey, Am. J. Med. 77 (1984) 13.
- [4] F.M. Lunel, F.G. Meis, A. Voss, Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 34 (1999) 213.
- [5] K.M. Abu-Salah, British J. of Biomed. Science 53 (1996) 122.
- [6] R.J. Hay, J. Antimicrob. Chemother. 20 (1987) 1.
- [7] H. Van den Bossche, F. Dromer, I. Improvissi, M. Lozane-Chiu, J.H. Hex, D. Sanglard, Med. Mycol. 36 (1998) 119.
- [8] D.P. Kontoyiannis, R.E. Lewis, Lancet 359 (2002) 1135.
- [9] B. Coyle, K. Kavanagh, M. McCann, M. Devereux, M. Geraghty, Biometals 16 (2003) 321.
- [10] M. Devereux, M. McCann, V. Leon, M. Geraghty, V. McKee, J. Wikaira, Polyhedron 19 (2000) 1205.
- [11] M. Devereux, M. McCann, V. Leon, M. Geraghty, V. McKee, J. Wikaira, Metal-Based Drugs 7 (2000) 275.
- [12] M. Geraghty, M. McCann, M. Devereux, J.F. Cronin, M. Curran, V. McKee, Metal-Based Drugs 6 (1999) 41.
- [13] A. Perez-Rebolledo, G.M. de Lima, L.N. Gambi, N.L. Speziali, D.F. Maia, C.B. Pinheiro, J.D. Ardisson, M.E. Cortés, H. Beraldo, Appl. Organomet. Chem. 17 (2003) 945.
- [14] E.M. Jouad, G. Larcher, M. Allain, A. Riou, G.M. Bouet, M.A. Khan, X.D. Thanh, J. Inorg. Biochem. 65 (1997) 267.
- [15] M. Geraghty, J.F. Cronin, M. Devereux, M. McCann, Biometals 13 (2000) 1.
- [16] D. Kovala-Demertzi, P. Tairidou, U. Urso, M. Gielen, Inorg. Chim. Acta 239 (1995) 177.
- [17] M. Kremmer, M. Gielen, M. Biesemans, D. de Vos, R. Willem, Metal-Based Drugs 5 (1998) 189.
- [18] M. Gielen, H. Dalil, B. Mahieu, D. De Vos, M. Biesemans, R. Willem, Metal-Based Drugs 5 (1998) 275.
- [19] G.D. Thorn, R.A. Ludwing, The dithiocarbamates and related compounds, Elsevier, New York, 1962.
- [20] G.M. Sheldrick, SHELXS-97. Program for crystal structure resolution, Univ. of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [21] G.M. Sheldrick, SHELXL-97. Program for crystal structures analysis, Univ. of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [22] L.J. Farrugia, ORTEP3 for Windows, J. Appl. Crystallogr. 30 (1997) 565.
- [23] C.H. Collins, P.M. Lyne, in: Microbial methods, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1995, pp. 61 (Chapter 5).
- [24] A.C. Fabretti, A. Giusti, C. Preti, G. Tosi, P. Zannini, Polyhedron 5 (1985) 871.
- [25] J. Holeček, M. Nádvořník, K. Handlíř, A. Lyčka, J. Organomet. Chem. 315 (1986) 299.
- [26] I. Omae, J. Organomet. Chem. Libr. 21, Elsevier, Tokyo (1989).
- [27] (a) T. P. Lockhart, W.F. Manders, J.J. Zuckerman, JACS 107 (1985) 4546. (b) J. Holeček, M. Nádvořník, K. Handlíř, S.M. Tebeš, A. Lyčka, J. Organomet. Chem. 339 (1988) 61.
- [28] C. O'Connor, J.D. Gibert, G. Wilkinson, J. Chem. Soc. A (1969) 84.
- [29] T.S. Srivastava, V. Kumar, J. Organomet. Chem. 107 (1976) 55.
- [30] F. Bonati, R. Ugo, J. Organometal. Chem. 10 (1967) 257.
- [31] D.C. Menezes, G.M. de Lima, A.O. Porto, C.L. Donnici, J.D. Ardisson, A.C. Dorigueto, J. Ellena, Polyhedron 23 (2004) 2103.
- [32] P.F. Lindley, P.J. Carr, Cryst. Mol. Struct. 4 (1974) 173.
- [33] W.P. Neumann, The organic chemistry of Tin, Interscience, London, 1970.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)