Mónica Soto Monsalve

Síntese e Caracterização de Compostos de Coordenação Mistos de Cobre com Potencial Atividade Anti-*Mycobacterium tuberculosis*

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Química.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon.

São Carlos

2013

Agradecimentos

- Ao Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon pelo apoio e pela confiança depositada durante a realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Ulrich Abram e a Dra. Adelheid pela coleta de dados de difração de raios X.
- À Prof. Dra. Clarice Fujumira Leite e ao Prof. Dr. Fernando Rogéiro Pavan pelos testes biológicos realizados.
- Aos membros da banca, Prof. Dr. Fernando Rogeiro Pavan e Prof. Dra. Clelia de Paula Marques pelas contribuições ao trabalho.
- Ao Prof. Dr. André Gustavo de Araújo Fernandes que contribuiu muito no desenvolvimento deste trabalho com sua ajuda incondicional e boas ideias, além de me oferecer sua sincera amizade.
- Ao prof. Dr. Alzir Azevedo Batista por me conceder o ligante ácido 3hidroxipicolínico usado neste trabalho.
- Ao pessoal da pós-graduação Silvia, Andreia, Gustavo e Gislei pela prestatividade.
- Aos colegas do grupo de química inorgânica estrutural e biológica (GQIEB) Pedro Ivo, Carolina, Henrique, Viviana, Murilo, Amandha, Gabriela, Zumira pelas contribuições e discussões, e especialmente à Rafaela pela ajuda prestada dentro e fora do laboratório.
- Ao Rommel pelos cálculos teóricos.
- Ao pelo Núcleo de Computação Científica (NCC/GridUNESP) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) pelos recursos computacionais disponibilizados.
- Ao Professor Agnaldo Robinson de Souza (UNESP, Bauru) por permitir o uso do GridUnesp.
- Ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD) pelo suporte tecnológico na execução dos cálculos.
- A minha família pelo incentivo e constante apoio emocional.

- Aos meus velhos e grandes amigos Lorena, Felipe, Erika, Cristhian e Claudia pela excelente companhia.
- Ao Instituto de Química de São Carlos pelo espaço e o apoio institucional.
- À CNPq pela bolsa concedida.

Sumário

1	Intr	odug	ção	14
	1.1	Tub	perculose	14
	1.2	Col	bre	17
	1.2	.1	Cobre (II)	18
	1.3	Age	entes Complexantes	18
	1.3	.1	Ácido 3-Hidroxipicolinico	18
	1.3	.2	Ácido 2-Hidroxinicotínico	20
	1.3	.3	Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazato	22
2	Obj	etivo	DS	25
3	Par	te E	xperimental	26
	3.1	Sol	ventes	26
	3.2	Rea	agentes	26
	3.2	.1.	Cobre	26
	3.2	.2.	Agentes Complexantes	26
	3.2	.3.	Complexos Precursores de Cobre (II)	28
	3.3	Inst	trumentação e Técnicas Experimentais	31
	3.3	.1	Análise Elementar (CHN)	31
	3.3	.2	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)	31
	3.3	.3	Difração de Raios X em Monocristais	31
	3.3	.4	Pontos de Fusão	31
	3.3	.5	Susceptibilidade Magnética	31
	3.3	.6	Espectroscopia Eletrônica UV-Vis	32
	3.3	.7	Cálculos Teóricos	32
	3.4	Sín	teses	33
	3.4. [Cu	.1 (Hp	Síntese dos Complexos [Cu(Hpc3h)(tsch)] (1), [Cu(Hpc3h)(tset)] (2), c3h)(tsph)] (3) e [Cu(Hpc3h)(dtbz)] (4)	, 33
	3.4. [Cu	.2 (Hn	Síntese dos Complexos [Cu(Hnc2h)(tsch)] (5), [Cu(Hnc2h)(tset)] (6), c2h)(tsph)] (7) e [Cu(Hnc2h)(dtbz)] (8).	, 34
	3.5	Det	terminação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	37

4	Resulta	dos e Discussão	. 38		
2	4.1 Esp	pectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho			
	4.1.1	Espectroscopia Eletrônica	44		
	4.1.2	Análise Elementar	60		
	4.1.3 e Molec	Difração de Raios X em Monocristal, Determinação da Estrutura Cr cular	istalina 61		
	Cálculo	s Teóricos	73		
	4.1.4	Concentração Inibitória Mínima e Citotoxicidade	78		
5	Conclus	sões	. 80		
Re	Referências				

Lista de Figuras

Figura 1- Formula estrutural dos fármacos de primeira linha no tratamento da TB (A)	
isoniazida, (B) rifampicina, (C) pirazinamida, (D) etambutol e (E) sirturo.	16
Figura 2- Formula estrutural (A) Ácido Picolínico; (B) Ácido 3-Hidroxipicolínico; (C) Ác	cido
6-Hidroxipicolínico.	19
Figura 3- Possíveis modos de coordenação do 3-hidroxipicolinato.	20
Figura 4- Modos de coordenação do ácido 2-hidroxinicotínico.	21
Figura 5- Equilíbrio em solução do ácido 2-hidroxinicotínico.	22
Figura 6- Formula estrutural geral para (A) tiossemicarbazonas (X=S), semicarbazona	as
(X=O); (B) ditiocarbazatos.	23
Figura 7- Ligantes (A) 2-acetilpiridina-(N)-4-ciclohexiltiossemicarbazona (Htsch), (B) 2	<u>2</u> -
acetilpiridina-(N)-4-etiltiossemicarbazona (Htset), (C) 2-acetilpiridina-(N)-4-	
feniltiossemicarbazona (Htsph) e (D) 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato (Hdtbz).	24
Figura 8- Espectro na região do infravermelho do ácido 3-hidroxipicolínico.	29
Figura 9- Espectro na região do infravermelho do ácido 2-hidroxinicotínico.	29
Figura 10- Espectro na região do infravermelho do precursor [Cu(Hpc3h) ₂].	30
Figura 11- Espectro na região do infravermelho do precursor [Cu(Hnc2h)2].	30
Figura 12- Espectro na região do infravermelho do complexo 1.	40
Figura 13- Espectro na região do infravermelho do complexo 2.	40
Figura 14- Espectro na região do infravermelho do complexo 3.	41
Figura 15- Espectro na região do infravermelho do complexo 4.	41
Figura 16- Espectro na região do infravermelho do complexo 5.	42
Figura 17- Espectro na região do infravermelho do complexo 6.	42
Figura 18- Espectro na região do infravermelho do complexo 7.	43
Figura 19- Espectro na região do infravermelho do complexo 8.	43
Figura 20- Espectro eletrônico do ligante Htsch em concentração 10-5 mol/L em DMF	Ξ.
	47
Figura 21- Espectro eletrônico do ligante Htset em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF.	47
Figura 22- Espectro eletrônico do ligante Htsph em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF	.48
Figura 23- Espectro eletrônico do ligante Hdtbz em concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF	.48
Figura 24- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hpc3h) ₂] em concentração 10 ⁻² mol/l	_
em DMF.	49
Figura 25- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hpc3h) ₂] em concentração 10 ⁻³ mol/l	_
em DMF.	49
Figura 26- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hnc2h) ₂] em concentração 10 ⁻⁴ mol/l	_
em DMF.	50
Figura 27- Espectro eletrônico do complexo 1 em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF.	50
Figura 28- Espectro eletrônico do complexo 1 em concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF.	51
Figura 29- Espectro eletrônico do complexo 2 em concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF.	51
Figura 30- Espectro eletrônico do complexo 2 em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF.	52

 Figura 32- Espectro eletrônico do complexo 3 em concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF. 53 Figura 33- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10⁻³ mol/L em DMF. 53 Figura 34- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF. 54 Figura 35- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF. 54 Figura 36- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10⁻³ mol/L em DMF. 55 Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF. 55
Figura 33- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 53 Figura 34- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF. 54 Figura 35- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 54 Figura 36- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 55 Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 55
Figura 34- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF. 54 Figura 35- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 54 Figura 36- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 55 Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 55
Figura 35- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 54 Figura 36- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 55 Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 55
Figura 36- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 55 Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 55
Figura 37- Espectro eletrônico do composto 5 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 55
-
Figura 38- Espectro eletrônico do composto 6 concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF. 56
Figura 39- Espectro eletrônico do composto 6 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 56
Figura 40- Espectro eletrônico do composto 7 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 57
Figura 41- Espectro eletrônico do composto 7 concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF. 57
Figura 42- Espectro eletrônico do composto 7 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 58
Figura 43- Espectro eletrônico do composto 8 concentração 10 ⁻³ mol/L em DMF. 58
Figura 44- Espectro eletrônico do composto 8 concentração 10 ⁻⁴ mol/L em DMF. 59
Figura 45- Espectro eletrônico do composto 8 concentração 10 ⁻⁵ mol/L em DMF. 59
Figura 46- Estrutura molecular do complexo 2 [a] estrutura simples, [b] estrutura com as
ligações de hidrogênio e a cela unitária. 68
Figura 47- Estrutura molecular do complexo 5 [a] estrutura simples, [b] estrutura com as
ligações de hidrogênio e a cela unitária. 69
Figura 48- Estrutura molecular do complexo 6 [a] estrutura simples, [b] estrutura com as
ligações de hidrogênio e a cela unitária. 70
Figura 49- Estrutura molecular do complexo 7 [a] estrutura simples, [b] estrutura com as
ligações de hidrogênio e a cela unitária. 71
Figura 50- Estrutura molecular do complexo 8 [a] estrutura simples, [b] estrutura com as
ligações de hidrogênio e a cela unitária. 72
Figura 51- A diferença de energia (em kcal mol ⁻¹) obtidos para os complexos 5 a 7 [a]
na forma monodentada e [b] na forma bidentada do ligante Hnc2h pelos métodos
PBE1PBE/BS1 e (M06-2X/BS2). 74
Figura 52- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo 1 pelo
método PBE1PBE/BS1. 76
Figura 53- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo 2 pelo
método PBE1PBE/BS1. 76
Figura 54- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo 3 pelo
método PBE1PBE/BS1. 77
Figura 55- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo 4 pelo
método PBE1PBE/BS1. 77

Lista de Esquemas

Esquema 1- Síntese das tiossemicarbazonas R: -ciclohexil, -fenil, -etil.	26
Esquema 2- Síntese do ligante 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato.	27
Esquema 3- Preparação dos precursores de reação [Cu(Hpc3h) ₂] e [Cu(Hnc2h) ₂].	28
Esquema 4- Síntese dos complexos [Cu(Hpc3h)(tsR)] ; R: -ciclohexil (1), -etil (2), -fe	nil
(3) e [Cu(Hpc2h)(tsbz)] (4).	34
Esquema 5- Síntese dos complexos [Cu(Hnc2h)(tsch)] (5), [Cu(Hnc2h)(tsR)] R= -etil	l (6),
-fenil (7), e [Cu(Hnc2h)(dtbz)] (8).	36

Lista de Tabelas

Tabela 1- Concentração inibitória mínima (MIC), toxicidade (IC ₅₀) e índice de
seletividade das tiossemicarbazonas usadas24
Tabela 2- Principais bandas de IV para os precursores [Cu(Hpc3h) ₂] e [Cu(Hnc2h) ₂]28
Tabela 3- Rendimentos da obtenção e pontos de fusão dos produtos 1 a 4. 33
Tabela 4- Rendimentos da obtenção e pontos de fusão dos produtos 5 a 8. 35
Tabela 5- Bandas características do IV para os complexos de cobre derivados do ácido
3-hidroxipicolínico
Tabela 6- Dados de Espectroscopia eletrônica dos complexos 1 a 8. 46
Tabela 7- Composição porcentual dos complexos obtidos60
Tabela 8- Dados cristalográficos do complexo 2, 5, 6, 7 e 864
Tabela 9- Principais distâncias (Å) e ângulos (°) entre os átomos do complexos o 2, 5,
6 , 7 e 8 66
Tabela 10- Ligações de hidrogênio nos cristais dos complexos 2, 5, 6, 7 e 867
Tabela 11- Resultados de atividade anti- <i>M. tuberculosis</i> (MIC) da serie de complexos
derivada do ácido 3-hidrocipicolínico79

Lista de Abreviaturas

ТВ	Tuberculose
M. tuberculosis	Mycobacterium tuberculosis
INH	Isoniazida
MDR TB	Tuberculose multirresistente a drogas
XDR TB	Tuberculose extensivamente resistente
H ₂ pc3h	Ácido 3-hidroxinicotínico
H₂nc2h	Ácido 2-hidroxinicotínico
TSC	Tiossemicarbazona
SC	Semicarbazonas
DTC	Ditiocarbazatos
CIM	Concentração Inibitória Mínima
IS	Índice de Seletividade
Hdtbz	2-Acetilpiridinabenzilditiocarbazato
Htsch	2-Acetilpiridina-(N)-4-ciclohexiltiossemicarbazona
Htset	2-Acetilpiridina-(N)-4-etiltiossemicarbazona
Htsph	2-Acetilpiridina-(N)-4-feniltiossemicarbazona
[Cu(Hpc3h) ₂]	Bis-3-hiroxipicolinato de cobre (II)
[Cu(Hnc2h) ₂]	Bis-2-hidroxinicotinato de cobre (II)
IV	Espectroscopia na região de infravermelho

Análise Elementar

CHN

Resumo

No presente trabalho, foram estudadas duas series de complexos mistos de cobre (II). A primeira serie de complexos, constituída pelos ligantes 3-hidroxipicolinato e 2-acetilpiridinatiossemicarbazona N(4) substituída, sendo o substituinte variado pelos grupos ciclohexil, etil e fenil, ou o 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato. A segunda serie, constituída pelas mesmas tiossemicarbazonas e ditiocarbazato, com o ligante 2-hidroxinicotinato no lugar do 3-hidroxipicolinato. Com a finalidade de avaliar a atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Os complexos obtidos foram caracterizados em estado sólido, pelo ponto de fusão e por meio espectroscopia de absorção na região do infravermelho e difração de raios X em monocristais. Em solução foi utilizada a técnica de espectroscopia eletrônica.

Foi feito o estudo da atividade biológica dos 8 compostos obtidos contra o *Mycobacterium tuberculosis*, sendo todos eles candidatos ativos e promissores no combate à bactéria, já que apresentam todos valores baixos de concentração inibitória mínima. Sendo que os complexos 2,3, 4 e 6 apresentam atividade melhor do que alguns dos fármacos já usados no tratamento como ciprofloxacino, ácido p-aminosalicílico, cicloserina, gentamicina, etambutol, kanamicina, tobramicina, claritromicina e tiacetazona.

Abstract

In the present work were investigated two series of mixed complexes of coppe (II). The first of them is constituted by the ligands 3-hydroxypicolinate and 2-acetylpyridinedithiosemicabazate or 2-acetylpyridinethiossemicrzones N(4) substituted, were the substituted groups consist on cyclohexyl, ethyl and phenyl. The second series is formed by the same thiosemicarbazones and dithiocarbazate, but with the ligand 2-hydroxynicotinate, instead of 3-hydroxypicolinate. This, in order to evaluate the activity against *Mycobaterium tuberculosis*.

The synthetized complexes have been characterized in solid state through the melting point and infrared spectroscopy and X-ray diffraction on single crystals. The characterization in solution was done by electronic spectroscopy.

Assays were performed to determine the biological activity of the eight compounds synthetized against the *Mycobacterium tuberculosis*. All complexes have shown low minimal inhibitory concentration, being promising candidates for successive tests. It is observed that complex **2**, **3**, **4** and **6** exhibit better activity than some of the drugs used in the treatment such as ciprofloxacin, p-aminosalicylic acid, cycloserine, gentamicin, ethambutol, kanamycin, tobramycin, thiacetazone and clarithromycin.

1 Introdução

1.1 Tuberculose

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa letal, que provoca anualmente a morte de cerca de dois milhões de pessoas. É causada principalmente pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Atualmente, o tratamento desta doença é difícil, devido ao aparecimento de cepas resistentes aos fármacos usados no tratamento. A mesma ainda representa a primeira causa de morte em pacientes, quando associada com a AIDS [1].

Aproximadamente um terço da população mundial está infetada com o bacilo da TB em sua forma latente, o que representa cerca de 2,3 bilhões de pessoas [2]. A forma latente da TB consiste em uma síndrome clinica na qual a pessoa exposta a *M. tuberculosis* é contaminada, porém o sistema imune mantém o patógeno sob controle, forçando-o a ficar num estado de repouso. O *M. tuberculosis* reside nos tecidos profundos e persiste por anos, até haver uma queda nas defesas, resultando na ativação da doença. Os pacientes com *M. tuberculosis* na forma latente não transmitem a doença e não apresentam risco para a saúde pública. Das pessoas infetadas com a *M. tuberculosis*, 10% pode desenvolver a doença em algum momento de sua vida. Trata-se de uma doença associada aos baixos recursos econômicos, que afeta principalmente a adultos jovens, na idade mais produtiva. A maioria das mortes por TB acontece em países em desenvolvimento, sendo mais da metade na Ásia [3,4].

Entre os anos 1980 e 1991, a TB era a terceira principal doença associada a pacientes com AIDS, incidindo sobre quase 18 % dos casos notificados no Brasil [(5)]. No ano 2010, a incidência de TB no Brasil foi de 43 casos por cada cem mil habitantes (6) o qual representa, segundo o ministério da saúde brasileiro, uma queda de 15 % de incidência na década de 2001 a 2011 [7].

Os principais sintomas da TB são tosse, febre, sudorese, expectoração, emagrecimento, dificuldade respiratória, dor torácica e hemorragia pelo nariz [8].

A TB é, em principio, tratada com uma combinação de fármacos de primeira linha, durante vários meses, sendo estes fármacos a isoniazida (INH), que inibe a síntese da parede celular, a rifampicina, que age inibindo a síntese de RNA, a pirazinamida, a qual acredita-se que inibe a síntese de ATP e o etambutol que, de forma análoga a INH, inibe a síntese da membrana celular (figura 1). A *M. tuberculosis* pode desenvolver resistência à INH e à rifampicina em simultâneo, nestes casos é denominada tuberculose multirresistente a drogas (MDR TB). No tratamento da MDR TB, é usada uma combinação de fármacos de segunda linha, que inclui tioamidas e cicloserina, que inibem a síntese da parede celular, aminoglicosídeos e peptídeos cíclicos, que inibem a síntese de proteínas, pirazinamida, PAS e fluoroquinolonas, que inibem a replicação do DNA, e etambutol. Os medicamentos de segunda linha podem produzir efeitos colaterais mais severos que os de primeira linha. O tratamento pode ser mais longo e o custo até 100 vezes maior. Existem casos nos quais o M. tuberculosis adquire resistência simultânea a INH, rifampicina, uma fluoroquinolona e no mínimo um dos fármacos injetáveis [9], complicando ainda mais o tratamento. Este tipo de TB é conhecida como tuberculose extensivamente resistente (XDR TB). Para estes casos, o tratamento é muito difícil e, o paciente pode morrer em poucos dias [10].

No final do ano 2012, depois de mais de 40 anos sem novos medicamentos, foi aprovado o sirturo ou R207910, como fármaco de segunda linha, para uso de emergência, ou seja, em casos nos quais nenhum outro medicamento é utilizável [11]. Alguns estudos indicam que o sirturo age, inibindo a bomba de prótons da ATP sintetase do *M. tuberculosis* [12,13].

O fármaco mais usado no tratamento de TB e um dos mais fortes no grupo de primeira linha é a isoniazida (INH). Acredita-se que é possível neutralizar a resistência pelo uso de derivados deste composto [14].







Fonte: Souza et al, Andries et al [12,15]

1.2 Cobre

O cobre, elemento com número atômico 29, pertence ao grupo 11 e pode ser considerado como metal de transição devido ao fato de que seu íon Cu(II) possui nove elétrons na subcamada *d*. O cobre é um elemento considerado traço, pois sua concentração nos organismos vivos varia entre 80 e 120 µg por cada 100 mL de sangue [16]. O cobre é associado a um grande número de metaloproteínas e nos sistemas biológicos, encontra-se nos estados de oxidação I e II.

As fontes de cobre nos alimentos são variáveis, mas suas principais fontes são carnes como fígado e rim. O cobre apresenta concentrações elevadas também em alimentos como mariscos, nozes, grãos de cereais não processados e produtos que contém cacau [17].

O cobre apresenta baixa toxicidade. Em casos de ingestão, acredita-se que a dose tóxica está na faixa de 20 a 70 g de cobre. Os sintomas de intoxicação por cobre incluem dor abdominal, cefaleias, náuseas, vômitos, tonturas, diarreia, taquicardia, dificuldade respiratória, anemia hemolítica, hematúria, hemorragia digestiva maciça, insuficiência hepática e renal e morte (18). A organização mundial da saúde recomenda um consumo diário inferior a 12 mg/dia para homens adultos e 10 mg/dia para mulheres adultas. Raramente se apresenta envenenamento por cobre e, quando ocorre, é causado geralmente por ingestão de soluções de sulfato ou nitrato de cobre. Grandes quantidades de cobre são rejeitadas pelo corpo por meio de vômitos, sendo os casos de envenenamento por cobre reportados predominantemente em pessoas com doença hepática ou doença de Wilson, relacionada diretamente ao metabolismo do cobre [19,20].

O cobre é um cofator de algumas enzimas uma vez que seu ciclo redox permite a existência das espécies Cu^+ e Cu^{2+} , assim como pela afinidade que apresenta por resíduos de aminoácidos como cisteína, metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico e histidina [21]. Estas características fazem do cobre um elemento com potencial para transportar moléculas orgânicas através do organismo, na forma de complexos metálicos. Ademais, o próprio cobre tem mostrado atividade contra uma faixa ampla de bactérias, entre elas o *M. tuberculosis*, seja na forma de cobre metálico ou suas ligas [22]. Na forma de compostos de coordenação, também encontrou-se atividade com ligantes *N*-, *S*- e *O*- doadores derivados de o-aminofenol, ácido o-aminobenzoico, o-aminotiazol, tiossemicarbazida e ligantes análogos ao piruvato-isoniazida [23,24].

1.2.1 Cobre (II)

O estado de oxidação II do cobre é o mais estável, de forma que Cu(I) se oxida facilmente a Cu(II). Os estados de oxidação III e IV são pouco comuns. O íon Cu²⁺ é um ácido intermediário na escala de Pearson, fazendo com que possa formar complexos com uma ampla variedade de ligantes com diferentes átomos doadores [25].

Os compostos de Cu(II) são paramagnéticos e geralmente apresentam coloração azul ou verde, podendo existir também complexos de cor marrom ou vermelho, resultantes principalmente de bandas de transferência de carga.

O Cu(II) forma um grande número de complexos com muitos tipos de ligantes, sendo mais encontrados complexos com número de coordenação 4, 5 e 6. Estes complexos apresentam uma vasta variedade de distorções com respeito às geometrias regulares, devido ao fato de que sua estereoquímica é fortemente influenciada pela distorção de Janh-Teller.

As geometrias mais comuns observadas nos complexos de Cu(II) hexacoordenados são a octaédrica com alongamento tetragonal ou a rômbica. No caso dos complexos pentacoordenados, as geometrias dominantes são a piramidal quadrada com alongamento tetragonal no plano ou a geometria de bipirâmide trigonal distorcida. Complexos com número de coordenação quatro podem ser quadráticos planares, apresentando distorção tetraédrica, ou geometria tetraédrica, com compressão ao longo do eixo S₄ [19].

1.3 Agentes Complexantes

1.3.1 Ácido 3-Hidroxipicolinico

O ácido 3-hidroxipicolínico (H₂pc3h) é um derivado do ácido picolínico (Figura 2), um produto da degradação do aminoácido triptofano, sendo um agente quelante barato e seguro para íons metálicos. O picolinato de cromo é usado em pessoas com obesidade, como suplemento na dieta, pois provoca perca de peso além de ser pouco tóxico em relação a outros suplementos de cromo como CrCl₃ [26]. Verificou-se que o leite materno possui ácido picolínico, que ajuda na absorção de zinco nas crianças, pela formação de complexos no plasma [27]. Complexos de oxovanádio(IV) com o ácido 3-hidroxipicolínico e alguns outros derivados do ácido picolínico apresentam também atividade insulinomimética e foi constatado que a atividade insulinomimética in vitro, a metalocinética e a ação antidiabética destes complexos, estão relacionadas á estrutura química dos mesmos [28].

Infeções pelo complexo *Mycobacterium avium* são tratadas com os mesmos agentes antimicrobianos que as causadas pelo *M. tuberculosis*. O ácido picolínico apresenta atividade anti-complexo *Mycobacterium avium*, aparentemente privando o microambiente de ferro, inibindo o crescimento dos parasitas [29].

Figura 2- Formula estrutural (A) Ácido Picolínico; (B) Ácido 3-Hidroxipicolínico; (C) Ácido 6-Hidroxipicolínico.



Fonte: Biswas et al [30].

O 3-hidroxipicolinato possui duas possíveis formas de coordenação, uma como *N*,*O*-doador e outra como *O*,*O*-doador, como é ilustrado na figura 3. A forma de coordenação mais comum é como *N*,*O*-doador devido à basicidade do nitrogênio [31].

Figura 3- Possíveis modos de coordenação do 3-hidroxipicolinato.



Fonte: Girginova et al [31]

Complexos de Rutênio contendo ácido picolínico como ligante, apresentaram alta atividade anti-*M tuberculosis*, assim como baixa citotoxicidade, com isso uma alta seletividade, sendo este tipo de complexos bons candidatos a fármacos para o tratamento da TB ou antissépticos bactericidas [32].

1.3.2 Ácido 2-Hidroxinicotínico

O ácido nicotínico é também conhecido como niacina ou vitamina B3, a deficiência desta vitamina no corpo causa pelagra, caracterizada pela aparição de erupções escuras na pele, diarreia e demência. O estudo da pelagra levou a identificar o ácido nicotínico como precursor de NAD e NADP e para evitar a sua ocorrência se recomenda o consumo de 16 e 14 mg diários de niacina em adultos homens e mulheres, respectivamente [33].

O ácido nicotínico e alguns de seus derivados são usados no tratamento de diferentes formas de dislipidemia. A terapia com ácido nicotínico é associada a uma redução significativa nos níveis de triglicerídeos e das lipoproteínas de muito baixa densidade no plasma e com menor atividade no plasma do colesterol LDL. Tais mudanças no plasma se associam a redução da mortalidade cardiovascular e diminuição das lesões coronárias [34].

Observou-se que o ácido nicotínico usado no tratamento da dislipidemia provoca vasodilatação cutânea, causando desconforto no paciente. Verificou-se que este efeito vem de um aumento na produção de prostaglandina vasodilatadora, associada às

doses de ácido nicotínico e que a vasodilatação pode se evitar com um tratamento prévio com aspirina (35). A estrutura do ácido nicotínico é similar à estrutura do ácido salicílico, sendo diferente por um átomo nitrogênio no anel aromático. Acredita-se que os derivados do ácido salicílico atuam ligando-se a metalo-enzimas. A adição de um átomo de nitrogênio no anel confere ao composto maior possibilidade de ligação ao metal [36].

A adição de um grupo hidroxila na posição 2 do ácido nicotínico, faz dele um ligante mais interessante, podendo o ácido 2-hidroxinicotínico (H₂nc2h) apresentar diferentes modos de coordenação, conforme ilustrado na figura 4. Além disso, a estrutura do H₂nc2h, assim como a do H₂pc2h, apresentam similaridade com a estrutura da isoniazida e da pirazinamida, fazendo com que resulte interessante estudar a atividade de complexos formados a partir destes ligantes.

Figura 4- Modos de coordenação do ácido 2-hidroxinicotínico.



Fonte: Zou et al [37]

Em solução, o ácido 2-hidroxinicotínico possui duas formas em equilíbrio (figura 5). Esse fato diminui a basicidade do nitrogênio, fazendo com que seja favorecida a forma do ligante *O*,*O*-doador.

Figura 5- Equilíbrio em solução do ácido 2-hidroxinicotínico.



Fonte: Miklovič et al (38)

1.3.3 Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazato

Tiossemicarbazonas (TSCs), semicarbazonas (SCs) e ditiocarbazatos (DTCs) (figura 6) são compostos que chamam a atenção devido a sua atividade antibacteriana, antiviral, antineoplásica e antimalárica. Foi avaliada a atividade biológica para vários destes compostos, por meio da concentração inibitória mínima (CIM),que representa a mínima concentração do composto capaz de inibir o 90 % do crescimento de bactérias *in vitro*, e a citotoxicidade (IC₅₀), que representa a concentração do composto necessária para inibir ou matar o 50 % de uma população celular *in vitro*. Com esses valores encontra-se o índice de seletividade (IS), definido como a razão entre o IC₅₀ e o CIM (IC₅₀ / CIM) onde resultados maiores ou iguais a 10 são considerados promissores. As tiossemicarbazonas se mostraram ativas em bactérias gram positivas e gram negativas como *Staphylococcus epidermis, Bacillus cereus, Moraxella cattarhalis, Staphylococcus saprophyticus*, assim como também em fungos como *Candida albicans* e *Aspergillus flavus*. Tratando-se de vírus, foi observada atividade de TSCs no combate a herpes simples [39–41].

Figura 6- Formula estrutural geral para (A) tiossemicarbazonas (X=S), semicarbazonas (X=O); (B) ditiocarbazatos.



Fonte: Pavan et al [42]

Neste trabalho, foram utilizadas 2-acetilpiridina-N(4)-(R)-tiossemicarbazonas, onde o substituinte R é variado, podendo ser um grupo ciclohexil, etil ou fenil. Utilizouse também o ligante 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato (Hdtbz). Os ligantes são apresentados na figura 7 e foram escolhidos pelo fato de possuírem uma destacada atividade anti-*M.tuberculosis*, baixa toxicidade relativa e, com isso, um bom índice de seletividade (tabela 1). Figura 7- Ligantes (A) 2-acetilpiridina-(N)-4-ciclohexiltiossemicarbazona (Htsch), (B) 2acetilpiridina-(N)-4-etiltiossemicarbazona (Htset), (C) 2-acetilpiridina-(N)-4feniltiossemicarbazona (Htsph) e (D) 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato (Hdtbz).



Fonte: Pavan, et al [42].

Tabela 1- Concentração inibitória mínima (CIM), toxicidade (IC₅₀) e índice de seletividade das tiossemicarbazonas usadas.

Ligante	CIM (µg/mL)	IC ₅₀ (μg/mL)	IS
Htsch	0,78	625	801
Htset	3,13	625	200
Htsph	15,6	ND*	ND*

* Não foi determinado, devido ao alto valor de CIM

Ao se ligar ao metal, o ligante TSC ou DTC perde um próton de um nitrogênio e tende a ficar planar, em sistema de duplas ligações conjugadas, estabilizado por ressonância. As tiossemicarbazonas e o ditiocarbazato usados no presente trabalho são ligantes potencialmente *N*,*N*,*S*-doadores e, por se coordenarem preferencialmente de forma tridentada, conferem alta estabilidade aos complexos formados.

2 Objetivos

- Sintetizar complexos mistos de cobre (II) com ácido 3-hidroxipicolínico e ligantes N,N,S-doadores, como tiossemicarbazonas e ditocarbazatos.
- Sintetizar complexos mistos de cobre (II) com ácido 2-hidroxinicotínico e ligantes *N*,*N*,*S*-doadores, como tiossemicarbazonas e ditocarbazatos.
- Caracterizar os complexos obtidos por análise elementar, espectroscopia no infravermelho, espectroscopia eletrônica e, quando for possível, por difração de raios X.
- Avaliar *in vitro* a atividade dos complexos obtidos contra *Mycobacterium tuberculosis.*
- Realizar estudos teóricos para melhor compreender as propriedades dos complexos obtidos, quando necessário.

3 Parte Experimental

3.1 Solventes

Os solventes utilizados nos trabalhos de síntese, diclorometano, metanol, hexano e dimetilformamida, foram adquiridos da Synth, Merck, Vetec e Reagen e utilizados sem tratamento prévio.

3.2 Reagentes

3.2.1. Cobre

Na síntese dos complexos foi usado cloreto de cobre dihidratado (CuCl₂·2H₂O) grado reagente da Sigma – Aldrich.

3.2.2. Agentes Complexantes

Os ácidos 3-hidroxipicolínico (H_2pc3h) e 2-hidroxinicotínico (H_2nc2h) foram adquiridos da empresa Aldrich, com pureza superior a 97 %, e utilizados conforme recebidos.

As tiossemicarbazonas foram sintetizadas em reações sob condições de refluxo em metanol durante uma hora, utilizando quantidades equimolares da tiossemicarbazida desejada e de 2-acetilpiridina, seguindo o método reportado por Maia *et a*l [43].

Esquema 1- Síntese das tiossemicarbazonas R: -ciclohexil, -fenil, -etil.



A síntese do 2-acetilpiridinabenzildotiocarbazato (Hdtbz) foi feita em varias etapas. Primeiramente se misturou, em um banho a -10 °C e sob agitação constante, monohidrato de hidrazina e hidróxido de potássio. A esta mistura, foi adicionado, gota a gota, dissulfeto de carbono, em quantidades equimolares, para obter hidrazinacarboditioato de potássio. Mantendo o sistema de reação, se adicionou cloreto de benzila e deixou-se sob agitação durante uma hora, para formação do hidrazonacarboditioato de benzila. Este produto foi isolado por filtração e adicionado em um balão de reação, com um equivalente de 2-acetilpiridina em metanol, sendo a mistura mantida em temperatura de refluxo, sob agitação constante, por uma hora, para produzir o 2-acetilpiridinaditiocarbazato, isolado posteriormente por filtração.

Esquema 2- Síntese do ligante 2-acetilpiridinabenzilditiocarbazato.



3.2.3. Complexos Precursores de Cobre (II)

Os precursores, bis-3-hiroxipicolinatocobre(II) ($[Cu(Hpc3h)_2]$) e bis-2hidroxinicotinatocobre(II) ($[Cu(Hnc2h)_2]$) utilizados na síntese dos novos complexos, foram obtidos a partir de cloreto de cobre (II) di-hidratado ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) e ácido 3hidroxipicolínico ou 2-hidroxinicotínico respectivamente, sob refluxo, em água, conforme a metodologia descrita por Nakai, *et al* [44] (esquema 3).

Esquema 3- Preparação dos precursores de reação [Cu(Hpc3h)₂] e [Cu(Hnc2h)₂].



A obtenção dos compostos [Cu(Hpc3h)₂] e [Cu(Hnc2h)₂] foi verificada por meio de espectroscopia na região infravermelho (IV) (figuras 8 a 11). No espectro IV se observam as mudanças nas bandas correspondentes à carbonila, assim como na piridina. As bandas são mostradas na tabela 2 [38,45,46].

Tabela 2- Principais bandas de IV	para os precursores	[Cu(Hpc3h) ₂] e [Cu(Hnc2h) ₂].
-----------------------------------	---------------------	--

Composto	v _{asim} (COO ⁻)	v(C-N)	v _{sim} (COO ⁻)	v(C-O)	v(N-H)
H ₂ pc3h	1702	1608	1323	1282	-
H₂nc2H	1740, 1630	1607	1320	1238	1550, 541
[Cu(Hpc3h) ₂]	1647	1608	1329	1274	-
[Cu(Hnc2h) ₂	1639	1583	1313	1230	1542, 544



Figura 8- Espectro na região do infravermelho do ácido 3-hidroxipicolínico.

Figura 9- Espectro na região do infravermelho do ácido 2-hidroxinicotínico.





Figura 10- Espectro na região do infravermelho do precursor [Cu(Hpc3h)₂].

Fonte: O autor

Figura 11- Espectro na região do infravermelho do precursor [Cu(Hnc2h)₂].



3.3 Instrumentação e Técnicas Experimentais

3.3.1 Análise Elementar (CHN)

Os dados de porcentagem de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram obtidos num aparelho Perkin-Elmer CHN 2400, na central analítica do Instituto de Química da USP.

3.3.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram realizados em um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21, na região compreendida entre 350 e 4000 cm⁻¹. Para todas as análises foi utilizada a técnica de pastilha, com amostra diluída em KBr, na proporção 1/150 mg. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Química Inorgânica Estrutural e Biológica, Instituto de Química de São Carlos / USP.

3.3.3 Difração de Raios X em Monocristais

Os dados de difração raios X foram coletados em difratômetros STOE IPDS 2T (Universidade Livre de Berlim) (Complexos **2**, **5**, **6** e **8**), e APEX II Duo (IQSC-USP) (complexo **7**) em ambos casos utilizando radiação Mo-K α ($\lambda = 0,71073$ Å). A solução e o refinamento das estruturas foram feitos usando-se SHELXS-97 [47] e SHELXL-97 [48], respectivamente. Os átomos de hidrogênio foram refinados em posições idealizadas, com o programa SHELXL97.

3.3.4 Pontos de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho MELT-TEMP II até a temperatura máxima de 300 °C.

3.3.5 Susceptibilidade Magnética

A susceptibilidade magnética foi medida em uma balança JOHNSON MATTHEY a 298 K e transformada a susceptibilidade molar usando as equações típicas. As correções diamagnéticas foram calculadas por meio das constantes padrão de Pascal [49]. As medidas foram realizadas no grupo de Síntese, Reações e Mecanismos de Compostos Inorgânicos do departamento de química da UFSCar.

3.3.6 Espectroscopia Eletrônica UV-Vis

Os espectros na região do UV-Visível foram obtidos em um espectrofotômetro SHIMADZU UV-1800. As análises foram realizadas no Laboratório de Química Inorgânica Estrutural e Biológica, Instituto de Química de São Carlos / USP.

As amostras foram preparadas em faixas de concentração entre 10⁻³ M e 10⁻⁵ M usando como solvente dimetilformamida.

3.3.7 Cálculos Teóricos

Os cálculos foram realizados no programa *Gaussian* nas versões 09 [50] e 03 [51]. Os pontos estacionários na superfície de energia potencial do sistema foram otimizados, e subsequentemente foi realizado uma avaliação das frequências vibracionais harmônicas, onde foi observada a ausência de frequências imaginárias em todas as estruturas analisadas nesta tese. Na otimização das estruturas foi empregado o método PBE1PBE [52] com a função de base 6-31G(d,p) para o ligante [53,54], enquanto que para o metal foi empregado a função de base LANL2TZ+ [55,56]. Na analise das energias relativas foi também o utilizado o funcional M06-2X [57] empregando as funções de base 6-311++G(3df,3pd) para os átomos que compõem o ligante [58,59]a função de base cc-pVTZ [60] para o cobre e a adição do pseudopotencial (PP) de efeito relativístico ECP10MDF [61]. No decorrer do texto, para o conjunto de base 6-31G(d,p)/LANL2TZ(f) será chamado de BS1, enquanto que o conjunto de funções de base 6-311++G(3df,3pd)/ cc-pVTZ-PP será indicado pela abreviação BS2. No caso do método M06-2X/BS2, foi utilizado a geometria obtida com o método PBE1PBE/BS1. Na análise da Teoria dos Orbitais de Ligação (NBO) foi utilizado o programa NBO6.0 [62].

3.4 Sínteses

3.4.1 Síntese dos Complexos [Cu(Hpc3h)(tsch)] (1), [Cu(Hpc3h)(tset)] (2), [Cu(Hpc3h)(tsph)] (3) e [Cu(Hpc3h)(dtbz)] (4)

Os complexos **1** a **4** foram preparados utilizando como precursor o bis(3hidroxipicolinato)cobre(II), [Cu(Hpc3h)₂], obtido como descrito na sessão 3.2.2. Em solução metanólica, se misturaram o [Cu(Hpc3h)₂] e o ligante tiossemicarbazona ou ditiocarbazato, em proporção equimolar. A mistura foi agitada sob refluxo por 4 horas. As sínteses são ilustradas no esquema 4. Os rendimentos das reações são satisfatórios e a pureza é alta, baseando-se na faixa de temperatura de fusão, assim como nos dados de microanálise (tabela 3).

Tabela 3- Rendimentos da obtenção, pontos de fusão e susceptibilidade magnética dos produtos 1 a 4.

Complexo	Rendimento (%)	Ponto de Fusão (°C)	Susceptibilidade Magnética (BM)
1	70,7	263-266	1,30
2	53,9	125-129	1,07
3	82,5	281-283	1,66
4	89,8	207-209	1,08

Esquema 4- Síntese dos complexos [Cu(Hpc3h)(tsR)] ; R: -ciclohexil (1), -etil (2), -fenil (3) e [Cu(Hpc2h)(tsbz)] (4).



3.4.2 Síntese dos Complexos [Cu(Hnc2h)(tsch)] (5), [Cu(Hnc2h)(tset)] (6), [Cu(Hnc2h)(tsph)] (7) e [Cu(Hnc2h)(dtbz)] (8).

Os complexos **6** a **8** foram preparados utilizando-se como precursor o bis(2hidroxinicotinato)cobre(II), [Cu(Hnc2h)₂], obtido como descrito na sessão 3.2.2. Em solução metanólica, se misturaram o [Cu(Hnc2h)₂] e o ligante tiossemicarbazona ou ditiocarbazato, em proporção equimolar, a mistura foi agitada sob refluxo por 10 horas, as sínteses são ilustradas no esquema 5. A pureza dos complexos obtidos considera-se alta, baseando-se nos pontos de fusão (tabela 4) e nos dados obtidos na análise elementar.

Complexo	Rendimento (%)	Ponto de Fusão (°C)	Susceptibilidade Magnética (BM)
5	30,5	206-209	2,30
6	59,0	239-241	1,21
7	40,1	247-249	1,35
8	41,6	188-190	0,92

Tabela 4- Rendimentos da obtenção e pontos de fusão dos produtos 5 a 8.

Esquema 5- Síntese dos complexos [Cu(Hnc2h)(tsch)] (5), [Cu(Hnc2h)(tsR)] R= -etil (6), -fenil (7), e [Cu(Hnc2h)(dtbz)] (8).


3.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As determinações da CIM foram realizadas seguindo o método de Franzblau, *et al* [63]. Usou-se como padrão o fármaco INH. As medidas foram feitas por triplicata, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, em Araraquara, em trabalho de colaboração com a Prof. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e o Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan. A determinação da CIM foi realizada usando o Ensaio Azul de Alamar de Microplacas (MABA). Como corante vital fluorescente foi empregado o Azul de Alamar. A suspensão bacteriana usada foi preparada regulando a turbidez de escala de McFarland N ° 1, e ulterior diluição (1:25 v / v) no meio de cultura 7H9.

As concentrações de complexo e INH em DMSO variaram na faixa entre 1,00 e 100 μ g / mL e entre 0,50 e 0,015 μ g/ mL respectivamente. Para determinar se há reação dos complexos com o azul de Alamar, foi medido um controle negativo sem a presença de bactérias no meio.

A fluorescência do corante azul de Alamar foi medida em um leitor de microplacas SPECTRAfluor (TECAN®) em modo de leitura com excitação em 530 nm e emissão em 590 nm.

4 Resultados e Discussão

4.1 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.

Esta técnica foi importante para confirmar a formação dos complexos, assim como também os modos de coordenação, devido aos deslocamentos das bandas com respeito aos ligantes livres, assim como também a aparição de bandas e o desaparecimento de outras. Por meio do IV, se verificou a desprotonação dos ligantes do tipo tiossemicarbazonas e ditiocarbazato, isso pelo desaparecimento de uma banda na região próxima aos 3200 cm⁻¹. A formação da ligação C=N, que gera conjugação de duplas ligações, é observada através do aumento da frequência da banda, de 1580 para 1600 cm⁻¹. A ligação entre o enxofre e o cobre é comprovada com a inobservância da banda correspondente à dupla ligação C=S, entre 800 e 835 cm⁻¹, com a consequente aparição da banda correspondente à ligação simples C-S, encontrada na região entre 820 e 840 cm⁻¹ [64]. A presença do Hpc3h nos complexos 1, 2, 3 e 4 é verificada também pela inobservância de mudanças significativas nas bandas correspondentes as vibrações C=O e v(O-H) em comparação com complexo precursor, e uma diferença grande em relação ao H₂pc3h livre, verificando que sua forma de coordenação não mudou e continuou sendo N,O-doador. Nos complexos 5 e 8 observase também a banda relacionada à vibração C=O próxima de 1640 cm⁻¹, variando pouco com respeito ao precursor, indicando a ligação do Hnc2h através da carbonila. No entanto, nos complexos 6 e 7, a banda da carbonila é deslocada a uma região mais próxima de 1740 cm⁻¹, mesma região onde esta ocorre no H₂nc2h, indicando que a carbonila nestes complexos não se encontra coordenada. Verifica-se a mudança na forma de coordenação do ligante também pela banda de respiração (expansão / contração) do anel de piridina, observada no precursor em 1583 cm⁻¹. Esta banda, nos complexos com ligação metal-nitrogênio pridiníco, aparece em torno de 1600 cm⁻¹, podendo-se superpor à banda C=N da tiossemicarbazona [65,66]. Os dados são apresentados na tabela 5 e nas figuras 12 a 19.

Composto	ν(N–H)	ν(C=N)	ν(C=S)	ν(C–S)	ν(C=O)	ν(O–H)
Composio	cm⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm ⁻¹	cm⁻¹	cm⁻¹
H₂pc3h	-	-	-	-	1702	3391
H₂nc2h	ND*	-	-	-	1740	3434
Htsch	3329	1580	836	-	-	-
	3222					
Htset	3349	1580	825		-	-
moor	3211	1000	010			
Htsph	3330	1580	836	-	_	-
порп	3225	3225				
Hdtbz	3175	1580	802	841	-	-
[Cu(Hpc3h)₂]	-	-	-	-	1647	3447
[Cu(Hnc2h)₂]	3076	-	-	-	1640	3447
1	3340	1600	-	833	1642	3428
2	3318	1599	-	833	1642	3442
3	3346	1597	-	841	1638	3462
4	-	1600	-	822	1643	3432
5	3071	1602	-	832	1653	3431
•	2929			001	1000	0.01
6	3340	1603	-	834	1731	3433
7	3316	1603	-	824	1741	ND*
8	3067	1605	-	834	1653	3442

Tabela 5- Bandas características do IV para os complexos de cobre derivados do ácido 3-hidroxipicolínico.

*ND: Não detectado devido à banda da água do KBr.



Figura 12- Espectro na região do infravermelho do complexo 1.

Fonte: O autor

Figura 13- Espectro na região do infravermelho do complexo 2.





Figura 14- Espectro na região do infravermelho do complexo 3.

Fonte: O autor

Figura 15- Espectro na região do infravermelho do complexo 4.







Figura 16- Espectro na região do infravermelho do complexo 5.

Fonte: O autor

Figura 17- Espectro na região do infravermelho do complexo 6.





Figura 18- Espectro na região do infravermelho do complexo 7.

Fonte: O autor

Figura 19- Espectro na região do infravermelho do complexo 8.



Fonte: O autor

4.1.1 Espectroscopia Eletrônica

Os ligantes nos complexos de cobre (II) geram no centro metálico desdobramentos dos níveis de energia, possibilitando as transições de elétrons entre os níveis, isto faz com que se apresente absorção de radiação na região do UV-Vis, podendo ser observadas bandas no espectro eletrônico.

No espectro eletrônico podem-se observar transições eletrônicas internas do metal, chamadas transições *d-d*, estas bandas se caracterizam por uma absortividade molar baixa e um perfil alargado, isso, devido ao fato de serem proibidas por geometria. No entanto, elas acontecem graças a diminuição da simetria, causadas pelas diferenças entre os ligantes ou por distorções na molécula, como o caso do efeito Jahn Teller, comumente observado em complexos de cobre (II) devido ao preenchimento não simétrico dos orbitais *d* [25]. Esta banda foi observada nos complexos obtidos, em uma faixa entre 590 e 650 nm, com absortividade molar entre 70 e 900 L/(mol·cm), sendo estes valores considerados baixos, são condizentes com as transições *d-d*.

E esperado também observar nos espectros eletrônicos, bandas de transferência de carga que pode ser do ligante para o metal ou do metal para o ligante, estas transições possuem alta energia e uma probabilidade alta de acontecer, com isso o valor de absortividade molar é alto (> 10^3 L/(mol·cm)). Nos complexos obtidos neste trabalho, foi possível observar transição de transferência de carga do ligante para o metal, na faixa entre 400 e 415 nm. Estas bandas apresentaram intensidade alta, característica deste tipo de transição, com absortividade molar entre 2000 e 17300 L/(mol·cm). Esta transferência de carga é atribuída como sendo dos átomos de S e N das tiossemicarbazonas ao centro metálico, já que esta banda não é observada no espectro dos complexos precursores [67,68]. Nos complexos 5 a 8 observou-se também transferência de carga do ligante para o metal, entre 267 e 282 nm, com absortividade molar entre 1x10⁴ e 8x10⁴ M⁻¹cm⁻¹. A observação desta banda confirma a formação do complexo tridentado com o ligante sendo N,N,S- doador, sendo este resultado condizente com o observado nos espectros na região do infravermelho. Nos complexos 1 a 4, não se observa esta transição, isto pode dever-se a que a transferência é dada pelo átomo de oxigênio, e no caso dos complexos 5 a 8 há dois átomos de O, e nos

compostos **1** a **4** há só um, fazendo com que ocorra a transferência em menor proporção, dificultando a observação da banda [69].

Em moléculas que possuem conjugação de duplas ligações é possível observar transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, cuja intensidade é alta. Neste caso, os ligantes possuem este tipo de conjugação, observaram-se na região entre 305 e 320 nm com absortividade molar entre 1,5 x10⁴ e 7,8 x10⁴ L/(mol·cm), ao ligar-se ao centro metálico, estas bandas permanecem na mesma região, entre 300 e 323 nm, com uma leve diminuição a intensidade, apresentam absortividade molar entre 4 x10³ e 8,5 x10⁴ L/(mol·cm) [22,26].

Os dados da espectroscopia eletrônica se encontram na tabela 6. Os espectros se apresentam nas figuras 20 a 45.

	т	ransição d `) d	Tra	Transferência de carga L → M		Transição π→π*	
		3		3		3	
Complexo	λ(nm)	(L/(mol·cm))	λ(nm)	(L/(mol·cm))	λ(nm)	(L/(mol·cm))	
		x10 ²		x10 ³		x10 ⁴	
Htsch	-	-	-	-	318	5,40	
Htset	-	-	-	-	319	7,82	
Htsph	-	-	-	-	308	1,58	
Hdtbz	-	-	-	-	312	2,65	
[Cu(Hpc3h) ₂]	654	0,082	284	0,42	300	0,46	
[Cu(Hnc2h) ₂]	646	2,99	273	0,05	299,5	0,09	
1	607	1,12	413	4,81	305	0,87	
2	615	0,70	411	2,36	303	0,44	
3	609	8,87	414	25,8	302	5,19	
4	646	9,42	405	4,40	310	8,47	
5	594	3 15	415	17,3	302.5	2 01	
Ū	001	0,10	281,5	81,0	002,0	2,01	
6	594	3.08	413	15,2	301 5	2 69	
	004	0,00	267,5	12,6	001,0	2,00	
7	592	1.87	402	7,95	_	_	
	002	1,07	270	14,8			
8	503	4 29	405	5,33	322.5	1 52	
U U	000	7,20	267,5	10,9	022,0	1,02	

Tabela 6- Dados de Espectroscopia eletrônica dos complexos 1 a 8.



Figura 20- Espectro eletrônico do ligante Htsch em concentração 10-5 mol/L em DMF.

Fonte: O autor







Figura 22- Espectro eletrônico do ligante Htsph em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.

Fonte: O autor

Figura 23- Espectro eletrônico do ligante Hdtbz em concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF.



Figura 24- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hpc3h)₂] em concentração 10⁻² mol/L em DMF.



Fonte: O autor

Figura 25- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hpc3h)₂] em concentração 10⁻³ mol/L em DMF.





Figura 26- Espectro eletrônico do precursor [Cu(Hnc2h)₂] em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.



Fonte: O autor

Figura 27- Espectro eletrônico do complexo **1** em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.





Figura 28- Espectro eletrônico do complexo **1** em concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF.









Fonte: O autor

Figura 30- Espectro eletrônico do complexo **2** em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.



Fonte: O autor





Figura 32- Espectro eletrônico do complexo **3** em concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF.





Figura 33- Espectro eletrônico do complexo 4 em concentração 10⁻³ mol/L em DMF.



Fonte: O autor

Figura 34- Espectro eletrônico do complexo **4** em concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.









Fonte: O autor



Figura 36- Espectro eletrônico do composto **5** concentração 10⁻³ mol/L em DMF.







Figura 38- Espectro eletrônico do composto 6 concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.





Figura 39- Espectro eletrônico do composto 6 concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF.





Figura 40- Espectro eletrônico do composto 7 concentração 10⁻³ mol/L em DMF.









Figura 42- Espectro eletrônico do composto 7 concentração 10⁻⁵ mol/L em DMF.





Figura 43- Espectro eletrônico do composto 8 concentração 10⁻³ mol/L em DMF.



Figura 44- Espectro eletrônico do composto 8 concentração 10⁻⁴ mol/L em DMF.









4.1.2 Análise Elementar

Com os dados obtidos a partir das diferentes análises utilizadas, envolvendo diversas técnicas, se propõem estruturas para o compostos obtidos. A fim de verificar a composição porcentual dos complexos obtidos e, desta forma verificar sua pureza, foi realizada a análise elementar dos mesmos. Na tabela 7 são apresentados os valores calculados e experimentais das análises, assim como o erro encontrado para cada uma delas. Os valores encontrados foram satisfatórios e condizentes com as estruturas propostas, os erros maiores se apresentaram nas porcentagens de hidrogênio dos complexos **4** e **8**, isto se atribui ao fato de que o átomo de hidrogênio possui uma massa pequena e com isso, pequenas diferenças levam a erros maiores, os resultados obtidos sugerem que a pureza dos complexos é alta.

	Amostra	%Carbono	%Hidrogênio	%Nitrogênio
	Anostra	Enc/Cal	Enc/Cal	Enc/Cal
	1	50,31/50,36	4,99/4,86	14,61/14,68
%Erro	•	0,10	2,61	0,48
	2	45,51/45,44	4,18/4,05	16,46/16,56
%Erro		0,15	3,11	0,61
	3	51,11/51	3,74/3,64	14,83/14,87
%Erro	5	0,22	2,67	0,27
	4	50,24/49,22	3,72/3,3	11,16/11,48
%Erro	.	2,03	11,29	2,87
	5	48,04/50,36	5,12/4,86	13,98/14,68
%Erro		4,83	5,08	5,01
	6	45,63/45,33	4,16/4,28	16,35/16,52
%Erro	Ū	0,66	2,88	1,04
	7	50,84/51,00	3,73/3,64	14,77/14,87
%Erro		0,31	2,41	0,68
	8	50,41/49,22	3,76/3,3	11,31/11,48
%Erro	5	2,36	12,23	1,50

Tabela 7- Composição porcentual dos complexos obtidos.

4.1.3 Difração de Raios X em Monocristal, Determinação da Estrutura Cristalina e Molecular.

Uma vez obtidos e purificados, os complexos **1** a **4** foram colocados em misturas de solventes para a obtenção de monocristais. Só foi possível obter monocristal do complexo **2**, a partir de uma solução de diclorometano:metanol 9:1, deixando a solução evaporar lentamente. Na tabela 8, são apresentados os dados cristalográficos. Os complexos **5** a **8** foram levemente solúveis em metanol, de forma que, dessas soluções foram obtidos monocristais, por evaporação lenta. Os dados cristalográficos dos complexos **5** a **8** podem ser consultados na tabela 14.

Os complexos **2**, **5** e **8** são pentacoordenados. E sua geometria pode ser descrita como piramidal de base quadrada ou bipiramidal trigonal. Para determinar qual geometria se ajusta melhor aos dados experimentais, pode-se usar o parâmetro τ , definido como $\tau = (\beta - \alpha)/60$, sendo β o maior dos ângulos entre átomos do plano basal, α o ângulo entre os átomos do plano basal da molécula que não participam do ângulo β . Para valores de τ próximos a zero, a geometria é melhor descrita como piramidal de base quadrada, enquanto valores próximos a um, indicam uma geometria bipiramidal trigonal descreve melhor o complexo [71].

O complexo **2** (figura 46), apresenta geometria piramidal de base quadrada distorcida ($\tau = 0,20$). No plano, o cobre se encontra ligado à tset⁻¹, por meio dos átomos N(1), N(2) e S, e ao ligante Hpc3h, pelo átomo N(5). No eixo axial, se liga ao átomo O(1) do Hpc3h. Os complexos **5** e **8** (figuras 47 e 50 respectivamente) apresentam também geometria piramidal de base quadrada distorcida ($\tau = 0,07$ e 0,082 respectivamente). Nos complexos **5** e **8**, no plano basal encontra-se o átomo O(2) ao invés do N(5), e o átomo O(1) no eixo axial. A distorção com respeito a uma geometria ideal apresenta-se, devido à geometria dos ligantes, assim como à rigidez dos mesmos que, por possuírem duplas ligações, não conseguem se contorcer para obter as distâncias e ângulos de ligações ideais. O efeito Jahn Teller é também um fator que influencia a geometria do complexo, alongando a ligação no eixo axial [72].

Os Complexos 6 e 7 (figuras 48 e 49 respectivamente) apresentam uma mudança na esfera de coordenação, nestes casos é quatro. Estes são quadráticos planares. Nestes complexos, o ligante Hnc2h se comporta como um ligante monodentado *N*-doador. Esta mudança não pode ser atribuída a influencia do ligante TSC ou DTC, pois em todos os casos, as TSC's e DTC, são ligantes *N*,*N*,*S*-doadores. Também não é possível atribuir esta mudança ao grupo R dos ligantes TSC's, já que no caso do complexo 6, o grupo R, é etila, doador de carga, e no caso do complexo 7 é fenila, grupo retirador de carga, de forma que se justifica um estudo teórico para explicar o fato de que o Hnc2h se comporte como um ligante monodentado ao invés de bidentado.

O comprimento da ligação Cu–N(1), nos cinco complexos, encontra-se em torno de 2,0 Å, Cu–N(2), entre 1,95 e 2 Å e a ligação Cu–S apresenta um comprimento entre 2,2 e 2,3 Å. Estes valores são típicos da formação de complexos de cobre (II) com tiossemicarbazonas, sendo elas N,N,S-doadoras [73].

Nos complexos **5** e **8**, o comprimento da ligação Cu–O(1) está entre 2,0 e 2,2 Å e a distância de ligação Cu–O(2), entre 1,9 e 2,0 Å. Estes valores são próximos dos encontrados em outros complexos reportados onde o Hnc2h se comporta como ligante O,O-doador [74].

A ligação Cu–N(5), no caso do complexo **2** é de 1,95 Å, enquanto que nos complexos **6** e **7**, esta fica em torno de 1,99 Å. Estes valores são típicos da ligação através do átomo de nitrogênio piridínico do Hpc3h ou Hnc2h ao cobre (II). No caso do complexo **2**, a ligação é mais curta devido ao fato de que o ligante se encontra na forma bidentada. Desta forma, a ligação com o metal é mais forte [75].

Os dados cristalográficos são apresentados na tabela 8 e os dados de comprimentos e ângulos de ligação na tabela 9.

Ligações de hidrogênio constituem interações supramoleculares importantes em cristais. No complexo **2**, estas ligações de hidrogênio são formadas entre as moléculas de complexo **2** e moléculas de etanol, por meio do átomo O(1) do ligante Hpc3h e o O(4) do solvente e, pelo NH(4) do ligante tset⁻¹ e o O(4) do solvente, formando anéis de 16 membros, sua simetria pode-se chamar de $R_4^4(16)$. Obtém-se assim pares de

moléculas. Estas ligações de hidrogênio são formadas entre os eixos a e b da cela unitária. No complexo 5, as ligações de hidrogênio apresentam-se entre as moléculas de complexo, entre os átomos O(3) e NH(5), formando cadeias onde a unidade é repetida a cada 6 átomos, com isso a ligação de hidrogênio recebe o nome de $C_1^1(6)$. O crescimento do cristal se dá ao longo do eixo a da cela unitária e cada cela contém duas moléculas de complexo 5. No complexo 6, as ligações de hidrogênio são formadas aos pares entre duas moléculas de complexo, entre os átomos S e NH(4) do ligante tset⁻¹, formando um anel de 8 membros, a ligação de hidrogênio é do tipo $R_2^2(8)$, a ligação é formada entre os eixos a e b. As ligações de hidrogênio no complexo 7 são formadas entre o átomo O(6) da molécula H2nc2h e o NH(4) do ligante tsph⁻¹ ao longo do eixo c, e entre o átomo O(2) do ligante Hnc2h e o NH(6) da molécula H₂nc2h ao longo do eixo a, formando cadeias em zig-zag nas quais a mesma unidade se repete a cada 14 átomos, sendo a simetria das ligações de hidrogênio, do tipo $C_2^2(14)$. No complexo 8, a formação de ligações de hidrogênio é dada através dos átomos O(3) e NH(5) do ligante Hnc2h, formando cadeias entre os eixos a e c, nas quais a mesma unidade se repete a cada 6 átomos, sendo as ligações de hidrogênio do tipo $C_2^2(6)$ [76]. Os comprimentos e ângulos das ligações de hidrogênio são apresentadas na tabela 10.

Complexo	2·EtOH	5	6	7·H₂nc2h	8
Fórmula Molecular	$C_{17}H_{19}CuN_5O_4S$	$C_{20}H_{23}CuN_5O_3S$	$C_{16}H_{17}CuN_5O_3S$	$C_{26}H_{21}CuN_6O_6S$	$C_{21}H_{18}CuN_4O_3S_2$
Massa Molar g·mol⁻¹	469,02	477,04	422,95	609,09	502,08
Comprimento	0 71073 / MoKa	0,71073 /	0,71073 /	0,71073 /	0 71073 / MoKa
(Å)/Radiação	0,71073710000	ΜοΚα	ΜοΚα	ΜοΚα	0,7 107 5 7 100104
Temperatura (K)	200	200	200	296	200
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	\overline{P}	P 2 ₁	\overline{P}	C2/c	P2 ₁ /n
a (Å)	8,182(5)	7,3341	8,5841	13,9294(4)	13,014(13)
b (Å)	9,643(5)	23,0370	8,8700	26,2376(8)	7,3069(6)
c (Å)	13.453(5)	13,1652	12,4231	14,3830(4)	22,1970(3)
α (°)	95,684(5)	90	80,637	90	90
β (°)	93,683(5)	92,406	75,467	97,264(2)	95,622(9)
γ (°)	108,661(5)	90	75,315	90	90
Volume (Å ³)	995,5(9)	2222,0	880,8	5214,4(3)	2100,6(4)
Z	2	2	2	8	2
Coeficiente de	1 239	1 107	1 386	0 972	1 271
absorção (mm ⁻¹)	1,200	1,101	1,000	0,012	1,271
Tamanho do	01x01x04	0,04 x 0,30 x	0,30 x 0,30 x	0,42 x 0,31 x	
Cristal (mm ³)	0,1 x 0,1 x 0,1	0,18	0,30	0,20	
Forma e Cor do Cristal	Agulha, marrom	Placa, marrom	Bloco, marrom escuro	Agulha,marrom	
Método/Variação θ (°)	Rotação	Rotação	Rotação	Rotação	Rotação
	-9 → 11,	-10 → 9	-11→9	-11→16	-17 → 17
Índices (h, k, l)	-13 → 13,	-31→31	-12 → 12	-31→23	-9→10
	-18 → 18	-18 → 18	-16→16	-17→16	-30→30
Reflexões Coletadas	5268	17100	9234	9715	3779
Reflexões Independentes/R _{int}	11493 / 5268	17100 / 11793	9234 / 4541	4574	24545 / 11242
Reflexões Observadas	4183	4548	2581	2610	2423

[l>2σ (l)]					
Correção de Absorção	Integração		Integração	Semi-empírica de equivalentes	
Transmissão	0,6589		0,6882	0.6474	
Min./Max	0,8754		0,7657	0.7452	
Refinamento da Estrutura	Matriz completa dos mínimos quadrados em F ²	Matriz completa dos mínimos quadrados em F ²	Matriz completa dos mínimos quadrados em F ²	Matriz completa dos mínimos quadrados em F ²	Matriz completa dos mínimos quadrados em F ²
Tratamento dos Hidrogênios	Calculado	Calculado	Calculado	Calculado	Calculado
Parâmetros de					
Refinamento	259	541	236	365	559
Refinamento Fatores R Finais	259 R ₁ = 0,0516,	541 R ₁ = 0,1155	236 R ₁ = 0,0736	365 R ₁ = 0,0333	559 R ₁ = 0,0656
Refinamento Fatores R Finais [I>2s(I)]	259 R ₁ = 0,0516, WR ₂ = 0,1456	541 R ₁ = 0,1155 WR ₂ = 0,2913	236 R ₁ = 0,0736 WR ₂ = 0,1818	365 R ₁ = 0,0333 WR ₂ = 0,0891	559 R ₁ = 0,0656 WR ₂ = 0,1063
Refinamento Fatores R Finais [I>2s(I)] Goodness-of-fit, S	259 $R_1 = 0,0516,$ $WR_2 = 0,1456$ 1,049	541 R ₁ = 0,1155 WR ₂ = 0,2913 0.954	236 R ₁ = 0,0736 WR ₂ = 0,1818 1,008	365 R ₁ = 0,0333 WR ₂ = 0,0891 1,031	559 R ₁ = 0,0656 WR ₂ = 0,1063 0,818
Refinamento Fatores R Finais [I>2s(I)] <i>Goodness-of-fit</i> , S Programas	259 R ₁ = 0,0516, WR ₂ = 0,1456 1,049 SHELXS97 e	541 R ₁ = 0,1155 WR ₂ = 0,2913 0.954 SHELXS97 e	236 R ₁ = 0,0736 WR ₂ = 0,1818 1,008 SHELXS97 e	365 R ₁ = 0,0333 WR ₂ = 0,0891 1,031 SHELXS97 e	559 R ₁ = 0,0656 WR ₂ = 0,1063 0,818 SHELXS97 e

Distâncias	2·EtOH	5	6	7·H₂nc2h	8
Cu-O(1)	2,2710(3)	2,00(2)	2,831	2,731	2,180(4)
Cu-O(2)	-	2,00(17)	-	-	1,917(4)
Cu-N(2)	1,9540(3)	2,00(13)	1,977(4)	1,9560(18)	1,956(4)
Cu-N(1)	2,0400(3)	2,00(2)	2,019(4)	2,0080(2)	2,027(6)
Cu-N(5)	1,9540(3)	-	1,989(4)	1,9837(19)	
Cu-S(1)	2,2753(13)	2,20(15)	2,254(17)	2,2725(7)	2,294(2)
Ângulos					
N(2)-Cu-N(5)	174,98(11)	-	176.85(18)	165.79(8)	-
N(2)-Cu-O(1)	106,77(10)	112(10)	-	-	113.92(17)
N(2)-Cu-O(2)	-	161(10)	-	-	157.99(18)
N(2)-Cu-N(1)	80,77(11)	84(10)	81.05(16)	80.60(8)	79.8(2)
N(5)-Cu-N(1)	98,94(11)	-	96.77(16)	96.88(8)	-
O(2)-Cu-N(1)	-	95(10)	-	-	94.6(2)
O(2)-Cu-O(1)	-	87(10)	-	-	87.14(16)
N(1)-Cu-O(1)	88,91(10)	91(10)	-	-	90.04(18)
N(2)-Cu-S(1)	84,66(8)	84(10)	84.11(12)	84.24(6)	84.03(16)
O(2)-Cu-S(1)	-	94(10)	-	-	98.45(16)
N(1)-Cu-S(1)	162,48(8)	165(3)	164.11(13)	164.80(6)	162.91(15)
N(5)-Cu-S(1)	94,72(8)	-	98.28(12)	97.56(6)	-
O(1)-Cu-S(1)	104,66(7)	102(10)	-	-	101.59(13)

Tabela 9- Principais distâncias (Å) e ângulos (°) entre os átomos do complexos o 2, 5, 6, 7 e 8.

Complexo	D–H…A	d(H…A)	<d–h…a< th=""><th>d(D…A)</th><th>Operador de simetria usado</th></d–h…a<>	d(D…A)	Operador de simetria usado
2	N(4)-H(4)O(10)	2.01	174.2	2.862(4)	-x+1,-y+1,-z+1
5	N(5)-H(5)O(3)	1.91	149.4	3(5)	x-1,y,z
6	N(4)-H(4)S(1)	2.69	174.9	3.545(6)	-x,-y,-z+2
	N(4)-H(41)O(6)	2.27	169.6	3.122(3)	-x+1/2,y-1/2,-z+1/2
7	N(6)-H(61)O(2)	1.98	166.6	2.819(3)	-x+1,-y+1,-z
	N(6)-H(61)O(2)	1.74(4)	153(3)	2.552(4)	
8	N(5)-H(5)O(3)	1.91	155.0	2.711(6)	x,y+1,z

Tabela 10- Ligações de hidrogênio nos cristais dos complexos 2, 5, 6, 7 e 8

Figura 46- Estrutura molecular do complexo **2** [a] estrutura simples, [b] estrutura com as ligações de hidrogênio e a cela unitária.



Figura 47- Estrutura molecular do complexo **5** [a] estrutura simples, [b] estrutura com as ligações de hidrogênio e a cela unitária.



Figura 48- Estrutura molecular do complexo **6** [a] estrutura simples, [b] estrutura com as ligações de hidrogênio e a cela unitária.



Figura 49- Estrutura molecular do complexo **7** [a] estrutura simples, [b] estrutura com as ligações de hidrogênio e a cela unitária.



Figura 50- Estrutura molecular do complexo **8** [a] estrutura simples, [b] estrutura com as ligações de hidrogênio e a cela unitária.


Cálculos Teóricos

Os cálculos químicos quânticos foram realizados com a finalidade de explicar a estabilidade dos complexos com o ligante Hnc2h⁻ em suas duas formas de coordenação. As análises de cada caso apontam a diferença de energia para os complexos, envolvendo o ligante complexado como, *N*,*O*-doador, (modo de coordenação A, com uma ligação N–Cu covalente de coordenação e uma interação O…Cu mais fraca) ou *O*,*O*-doador (modo de coordenação B, com duas ligações O–Cu covalentes de coordenação). Nas simulações computacionais com o método DFT. A energia eletrônica foi avaliada com dois métodos diferentes: PBE1PBE/BS1 e M06-2X/BS2. Ambos os métodos foram empregados para os complexos **5** a **7**, no entanto, no caso dos complexos **1** a **4**, a diferença de energia foi avaliada apenas com o método PBE1PBE/BS1.

A figura 51 apresenta os resultados obtidos para os complexos 5 a 7; sendo o complexo com coordenação via átomo de nitrogênio piridínico (modo A) utilizado como referência. No complexo 5, a diferença de energia entre o complexo com modo de coordenação A e aquele com o modo de coordenação B é de 4.57 e 0.04 kcal mol⁻¹ com os métodos PBE1PBE/BS1 e M06-2X/BS2, respectivamente. No caso do complexo 7, a diferença de energia com o método PBE1PBE/BS1 foi bastante semelhante com ao do complexo 5, enquanto que com o funcional M06-2X o complexo mais estável foi o que apresenta modo de coordenação B, onde a diferença de energia foi menor que 1 kcal mol⁻¹. Já no complexo 6, é importante ressaltar que a diferença de energia foi menor que 1 kcal mol⁻¹ independente do método empregado. Neste ponto vale comentar que o método M06-2X/BS2 é mais eficiente na comparação das energias, tanto em vista da melhor eficiência do funcional M06-2X que o método PBE1PBE para avaliações da energia relativa, pelo fato de que no funcional M06-2X é feito uso de funções de base de caráter triple- ζ para o ligante e para o metal, que são mais apropriadas para uma análise da energia eletrônica. Portanto, esta diferença de energia menor que 1 kcal mol⁻¹ com o método M06-2X/BS2 entre as duas formas de complexação é um bom indicativo que há a probabilidade de obter tanto uma forma como a outra, como demonstrado nos resultados de difração de raios X.

Figura 51- A diferença de energia (em kcal mol⁻¹) obtidos para os complexos **5** a **7** [a] na forma monodentada e [b] na forma bidentada do ligante Hnc2h pelos métodos **PBE1PBE/BS1** e (**M06-2X/BS2**).



Fonte: O autor

Analisando a energia de perturbação de segunda ordem (E_2), é possível observar as diferentes contribuições em cada um dos complexos para a estabilidade de cada uma das estruturas. A energia E_2 é composta principalmente pelos seguintes parâmetros (Eq. 1):

$$E_2 = \Delta E_{ij} = q_{ij} \frac{F^2(i,j)}{\varepsilon_i - \varepsilon_j}$$
 Eq. 1

onde q_{ij} é o orbital ocupado do doador, $\varepsilon_i \in \varepsilon_j$ são os elementos da diagonal (energia dos orbitais i e j) enquanto que o termo F(i,j) representa o elemento da matriz de Fock. Por exemplo, nos complexos **5** a **7** onde Hnc2h se coordena do modo A, a doação do par de elétrons desemparelhados do enxofre para o cobre (LPS→Cu) representa uma das

maiores contribuições para estabilidade, cerca de 65% da energia total para estabilizar a estrutura. As interações que participam na ligação intramolecular O-H...O chegam a representar uma contribuição de 15% para a estabilidade do complexo, enquanto que a doação LPO-Cu contribui com aproximadamente 0,4% na energia de estabilização. Já a contribuição do par de elétrons desemparelhados dos nitrogênios ligados ao metal (LPN-Cu), apresenta uma contribuição de uma ordem de magnitude abaixo da mesma observada pela interação LPS-Cu. No entanto, quando comparado a magnitude da interação LPS-Cu entre os complexos com o Hpc3h no modo A e no modo B, é visto um valor de uma ordem de magnitude a menos para o modo B. Nos complexos com coordenação via modo B, a interação LPS-Cu é caracterizada por uma contribuição de apenas 20% para a estabilidade dos complexos, enquanto que as interações LPO-Cu é de 16%. Já o valor da contribuição LPN-Cu nos complexos com Hpc3h coordenado no modo B é em torno de 11% da energia de estabilização.

Aspectos diferentes são observados guando analisado a estabilidade dos complexos 1 a 4, como pode ser visto nas Figuras 52 a 55. No complexo 1, a diferença de energia entre as quatro diferentes conformações apenas confirma os resultados experimentais. Como exemplo, a diferença de energia entre os complexos com o ligante bidentado nos modos N,O-doador e O,O-doador, i.e. entre as estruturas 1a e 1c, é de 6.94 kcal mol⁻¹. Vale mencionar que esta diferença de energia atinge um valor de 10 kcal mol⁻¹ para os demais complexos. No entanto, avaliando a contribuição das interações $_{LP}S \rightarrow Cu$, $_{LP}N \rightarrow Cu$ e $_{LP}O \rightarrow Cu$ dos átomos ligados ao cobre é observado valores de 5, 6 e 2% para a estabilidade dos complexos onde o ligante Hpc3h se comporta como N,O-doador, respectivamente. Estes valores são bastante semelhantes no caso dos complexos onde o ligante Hpc3h é O,O-doador. Por exemplo, nos complexos nos quais Hpc3h é O,O-doador é observado uma contribuição de 6, 5 e 5% para as interações $_{LP}S \rightarrow Cu$, $_{LP}N \rightarrow Cu$ e $_{LP}O \rightarrow Cu$, respectivamente. Um outro aspecto é a diferença de estabilidade entre os tautômeros. Nos complexos com as conformações **a** e **b** a diferença de energia é menor que 1 kcal mol⁻¹, ao passo que entre as conformações **c** e **d** é de aproximadamente 2 kcal mol⁻¹.

Figura 52- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo **1** pelo método PBE1PBE/BS1.



Fonte: O autor

Figura 53- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo 2 pelo método PBE1PBE/BS1.



Fonte: O autor

Figura 54- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo **3** pelo método PBE1PBE/BS1.



Fonte: O autor

Figura 55- A diferença de energia (em kcal mol-1) obtidos para o complexo **4** pelo método PBE1PBE/BS1.



Fonte: O autor

4.1.4 Concentração Inibitória Mínima e Citotoxicidade.

Foram medidos os valores de CIM, tanto para os ligantes e precursores, como para os complexos formados, com a finalidade de verificar o efeito da formação dos complexos metálicos mistos na atividade dos ligantes e precursores metálicos. Um Valor de CIM aceitável deve ser menor que 12,5 µg/mL. Pode-se observar na tabela 11 que as atividades dos complexos 1 a 8 são satisfatórias e melhores, se comparados com a dos precursores de cobre (II) utilizado, podendo-se afirmar que a complexação de uma TSC ou DTC pode potencializar a ação anti-M. tuberculosis dos compostos obtidos. No caso do ligante Htsch, a complexação não levou a aumento da atividade, pelo contrario a atividade é menor. No entanto, o complexo também é ativo. A atividade dos ligantes Htset e Htsph é menor que a observada em seus compostos de coordenação, podendo-se afirmar que a complexação, nesses dois casos, contribui na ação anti-Mycobacterium tuberculosis. Em todos os casos melhorando ou não a atividade com a complexação, os compostos não devem ser descartados, já que o principal problema no tratamento da TB é a resistência e diferentes compostos podem ter diferentes mecanismos de ação, podendo agir em casos nos quais algum outro fármaco não é mais eficiente, nesse caso seria necessário em um trabalho futuro fazer a avaliação da CIM em bactérias que tem desenvolvido resistência, já que neste trabalho, a avalição foi realizada em bactérias não resistentes.

Comparando a serie de complexos contendo o ligante Hpc3h com a serie contendo o ligante Hnc2h, observa-se que os valores de CIM são semelhantes, mostrando que não há uma influência significativa deste ligante na atividade do complexo contra o *M. tuberculosis*, porem na serie de complexos contendo o ligante Hnc2h observa-se que os menores valores de CIM são para os complexos **6** e **7**, complexos com número de coordenação 4 e geometria quadrática planar, indicando que pode haver uma relação da atividade do complexo com a estrutura neste tipo de composto ou com a forma de coordenação do ligante Hnc2h.

Os valores de CIM encontrados fazem dos complexos, bons candidatos para continuar os estudos de atividade, sendo o próximo passo determinar a sua toxicidade (IC_{50}) e desta forma determinar a seletividade dos mesmos. Os complexos **2**, **3**, **4** e **6**

apresentam CIM <2,0 µg/mL, respectivamente, valores melhores que os de alguns agentes já utilizados no tratamento da TB, tais como, ciprofloxacino (CIM = 2,00 µg/mL), ácido p-aminosalicílico (CIM = 0.5–>2.0 µg/mL), cicloserina (MIC = 12.5–50 µg/mL), gentamicina (MIC = 2.0–4.0 µg/mL), etambutol (MIC = 0.94–1.88 µg/mL), kanamicina (CIM = 1.25–5.0 µg/mL), tobramicina (CIM = 4.0–8.0 µg/mL), claritromicina (CIM = 8.0–16 µg/mL) e tiacetazona (CIM = 0.125–>2.0 µg/mL) [7,28].

Tabela 11- Resultados de atividade anti-*M. tuberculosis* (CIM) da serie de complexos derivada do ácido 3-hidrocipicolínico.

Complexo	CIM (µg/mL)	CIM (µM)
Htsch	0,78	2,81
Htset	3,13	14,08
Htsph	15,6	57,03
[Cu(Hpc3h)₂]	5,8	17,07
[Cu(Hnc2h)₂]	11,4	33,55
[Cu(Hpc3h)(tsch)] (1)	3,1	6,94
[Cu(Hpc3h)(tset)] (2)	2,1	4,97
[Cu(Hpc3h)(tsph)] (3)	1,3	2,76
[Cu(Hpc3h)(dtbz)] (4)	1,5	2,99
[Cu(Hnc2h)(tsch)] (5)	4,4	9,84
[Cu(Hnc2h)(tset)] (6)	1,8	4,24
[Cu(Hnc2h)(tsph)] (7)	1,5	3,19
[Cu(Hnc2h)(dtbz)] (8)	3,0	5,97
INH*	0,03	0,22

* Dado obtido de dos Santos et al [78].

5 Conclusões

Foram obtidas duas novas séries de complexos de cobre(II), de quatro complexos cada. A primeira série derivada da reação do precursor [Cu(hpc3h)₂], a segunda, derivada da reação do precursor [Cu(hnc2h)₂], com os ligantes do tipo TSC, Htsch, Htset, Htsph e o ligante tipo DTC, Hdtbz. Os 8 complexos obtidos foram caracterizados por diversas técnicas, em estado sólido e em solução.

Neste trabalho foi mostrado como o 2-hidroxinicotinato ligou-se de duas diferentes formas ao centro metálico, por meio de difração de raios X e espectroscopia na região do infravermelho.

Os 8 complexos apresentados neste trabalho, são promissores no combate à *M. tuberculosis,* pois apresentam valores de CIM satisfatório, sendo eles bons candidatos para continuar seu estudo de atividade biológica.

Dos 8 complexos obtidos, 6 apresentam geometria piramidal quadrática e dois apresentam geometria quadrática planar, sendo estes últimos os mais ativos contra *M. tuberculosis*.

Referências

- 1. Borrero R, Álvarez N, Reyes F, Sarmiento ME, Acosta A. Mycobacterium tuberculosis: factores de virulencia. Vaccimonitor. 2011 Apr;20(1):34–8.
- Sussmann O. Tuberculosis: el gran reto de este milenio. Infectio [Internet]. 2013 Feb 14 [cited 2013 Mar 25];16(3). Available from: http://revistainfectio.org/site/portals/0/ojs/index.php/infectio/article/view/552
- 3. WHO | 10 facts about tuberculosis [Internet]. WHO. [cited 2013 Feb 7]. Available from: http://www.who.int/features/factfiles/tuberculosis/en/index.html
- 4. Parrish NM, Dick JD, Bishai WR. Mechanisms of latency in Mycobacterium tuberculosis. Trends Microbiol. 1998 Mar;6(3):107–12.
- Laguardia J, Merchán-Hamann E. Factores de riesgo para la enfermedad tuberculosa en los casos de sida notificados en Brasil, 1980 a 2000. Revista Española de Salud Pública. 2003 Oct;77(5):553–65.
- 6. Saita NM, Oliveira HB de. Tuberculosis, AIDS and tuberculosis-AIDS co-infection in a large city. Revista Latino-Americana de Enfermagem. 2012 Aug;20(4):769–77.
- Rojahn M. Tuberculose: Brasil reduz casos em 3,54% em 2011 [Internet]. Portal da Saúde. 2012 [cited 2013 Jul 11]. Available from: http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4567/162/tuberculose:-brasilreduz-numero-de-casos-em-354-no-ultimo-ano.html
- Job JRPP, Gozzano JOA, Bernardes Júnior OR, Garcia RH, Miralhes OJC, Miranda MAP de. Information relating to health before the diagnosis of pulmonary tuberculosis and time lag before beginning of treatment in patients enrolled at health center in S. Paulo, Brazil. Revista de Saúde Pública. 1986 Feb;20(1):21–5.
- 9. Mendoza-Ticona A, Asencios-Solís L, Quispe-Torres N, Leo-Hurtado E. Evidencia de tuberculosis con resistencia extendida a drogas de segunda línea (TB XDR) en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2007;24(3):313–4.
- Townsend K. Drug-Resistant TB—A Visual Tour [Internet]. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. 2007 [cited 2013 Aug 2]. Available from: http://www.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/Understanding/WhatIsTB/VisualTour/Pa ges/firstLine.aspx
- 11. FDA. FDA NEWS RELEASE [Internet]. 2012 [cited 2013 Feb 14]. Available from: http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm333695.htm ?source=govdelivery

- Andries K, Verhasselt P, Guillemont J, Göhlmann HWH, Neefs J-M, Winkler H, et al. A Diarylquinoline Drug Active on the ATP Synthase of Mycobacterium tuberculosis. Science. 2005 Jan 14;307(5707):223–7.
- De Jonge MR, Koymans LHM, Guillemont JEG, Koul A, Andries K. A computational model of the inhibition of Mycobacterium tuberculosis ATPase by a new drug candidate R207910. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 2007;67(4):971–80.
- Sriram D, Yogeeswari P, Madhu K. Synthesis and in vitro and in vivo antimycobacterial activity of isonicotinoyl hydrazones. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2005 Oct 15;15(20):4502–5.
- 15. Souza MVN de, Vasconcelos TRA. Drugs against tuberculose: past, present and future. Química Nova. 2005 Aug;28(4):678–82.
- ANDRIGUETTO JM, PERLY L. Nutrição animal: bases e fundamentos. NBL Editora;
- 17. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Tietz NW. Tietz fundamentals of clinical chemistry. 5th ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier; 2008.
- 18. Barcelos TD de J. Cobre: vital ou prejudicial para a saúde humana? [Internet]. 2008 Jun [cited 2013 Jul 16]; Available from: http://ubithesis.ubi.pt/handle/10400.6/747
- Susana BB. Química de coordinación de iones metálicos en estado de oxidación II derivados de alfa-hidroxicarboxilatos. [Santiago de Compostela]: Univ Santiago de Compostela; 2007.
- 20. Rodrigues ACT, Dalgalarrondo P. Neuropsychiatric disturbances in Wilson's disease and use of electroconvulsive therapy: case report. Arquivos de Neuro-Psiquiatria. 2003 Sep;61(3B):876–80.
- 21. Festa RA, Thiele DJ. Copper at the Front Line of the Host-Pathogen Battle. PLoS Pathog. 2012 Sep 20;8(9):e1002887.
- 22. Mehtar S, Wiid I, Todorov SD. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and Mycobacterium tuberculosis isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an in-vitro study. J. Hosp. Infect. 2008 Jan;68(1):45–51.
- 23. Joseph J, Nagashri K, Janaki GB. Novel metal based anti-tuberculosis agent: synthesis, characterization, catalytic and pharmacological activities of copper complexes. Eur J Med Chem. 2012 Mar;49:151–63.
- 24. Shingnapurkar D, Dandawate P, Anson CE, Powell AK, Afrasiabi Z, Sinn E, et al. Synthesis and characterization of pyruvate–isoniazid analogs and their copper

complexes as potential ICL inhibitors. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2012 May 1;22(9):3172–6.

- 25. Douglas BE, Alexander JJ. Conceptos y modelos de química inorgánica. Reverte; 1987.
- 26. John B V. The Potential Value and Toxicity of Chromium Picolinate as a...: Sports Medicine. Sports Med. 2003;33(3):213–30.
- 27. Gary W E, Phyllis E J. Characterization and Quantitation of a Zinc-Binding Ligand in Human Milk. Pediatr. Res. 1980;14(7):876–80.
- Kiss E, Bényei A, Kiss T. VO(IV) complexes of 3-hydroxypicolinic acid: a solution study and the structure of a supramolecular assembly in the solid state. Polyhedron. 2003 Jan 1;22(1):27–33.
- 29. Cai S, Sato K, Shimizu T, Yamabe S, Hiraki M, Sano C, et al. Antimicrobial activity of picolinic acid against extracellular and intracellular Mycobacterium avium complex and its combined activity with clarithromycin, rifampicin and fluoroquinolones. J. Antimicrob. Chemother. 2006 Jan;57(1):85–93.
- Biswas C, Mukherjee P, Drew MGB, Gómez-García CJ, Clemente-Juan JM, Ghosh A. Anion-Directed Synthesis of Metal–Organic Frameworks Based on 2-Picolinate Cu(II) Complexes: A Ferromagnetic Alternating Chain and Two Unprecedented Ferromagnetic Fish Backbone Chains. Inorg. Chem. 2007 Dec 1;46(25):10771–80.
- Girginova PI, Almeida Paz FA, Nogueira HIS, Silva NJO, Amaral VS, Klinowski J, et al. Synthesis, characterisation and magnetic properties of cobalt (II) complexes with 3-hydroxypicolinic acid (HpicOH): [Co(picOH)2(H2O)2] and mer-[N(CH3)4][Co(picOH)3] · H2O. Polyhedron. 2005 Mar 10;24(4):563–9.
- 32. Queico Fujumira C, Azevedo Batista A, Von Poelhsitz G, Frazão Barbosa MI, Pavan FR. METHODS FOR PREPARING RUTHENIUM PHOSPHINE COMPLEXES WITH A STRUCTURE CONTAINING PICOLINATE AND/OR DIIMINE AND/OR BIPHOSPHINE IONS, RUTHENIUM PHOSPHINE COMPLEXES OBTAINED BY THESE METHODS AND USES THEREOF [Internet]. WO2011137503 A1, 2011. p. 24. Available from: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument;jsessionid=4D EEE2E664772CC21A028D06AE8990F5.espacenet_levelx_prod_0?CC=WO&NR= 2011137503A1&KC=A1&FT=D&ND=3&date=2011110&DB=EPODOC&locale=en _EP
- Bogan KL, Brenner C. Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD+ precursor vitamins in human nutrition. Annu. Rev. Nutr. 2008;28:115–30.
- 34. Franceschini G, Werba JP, Calabresi L. Drug control of reverse cholesterol transport. Pharmacol. Ther. 1994;61(3):289–324.

- Cheng K, Wu T-J, Wu KK, Sturino C, Metters K, Gottesdiener K, et al. Antagonism of the prostaglandin D2 receptor 1 suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. PNAS. 2006 Apr 25;103(17):6682–7.
- 36. Foye WO, Baum MD, Williams DA. Stability of metal complexes of salicylic acid derivatives and analogs III. 3, 6-dialkyl derivatives and pyridine analogs. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1967;56(3):332–6.
- 37. Zou HH, Zhang SH, Xiao Y, Feng C, Wang YG. Solvothermal synthesis and structures of three novel heterometallic microporous coordination polymers assembled from 2-hydroxy-nicotinic acid. Struct Chem. 2011 Feb 1;22(1):135–40.
- Miklovič J, Segľa P, Mikloš D, Titiš J, Herchel R, Melník M. Copper(II) and cobalt(II) hydroxypyridinecarboxylates: Synthesis, crystal structures, spectral and magnetic properties. Chem. Pap. 2008 Oct 1;62(5):464–71.
- 39. Negui P, Nandy S, Mahato A. Antimicrobial Activity of Different Thiosemicarbazone Compunds Against Microbial Pathogens. IRJP. 2012;3(5):350–63.
- 40. Hall IH, Chen SY, Rajendran KG, West DX. The Anti-inflammatory Activity of Metal Complexes of Heterocyclic Thiosemicarbazones, 2-Substituted Pyridine N-Oxides and 2-Pyridylthioureas. Applied Organometallic Chemistry. 1996;10(7):485–93.
- Enyedy ÉA, Zsigó É, Nagy NV, Kowol CR, Roller A, Keppler BK, et al. Complex-Formation Ability of Salicylaldehyde Thiosemicarbazone towards ZnII, Cull, Fell, FellI and GallI lons. European Journal of Inorganic Chemistry. 2012;2012(25):4036–47.
- 42. Pavan FR, da S Maia PI, Leite SRA, Deflon VM, Batista AA, Sato DN, et al. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: anti-Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. Eur J Med Chem. 2010 May;45(5):1898–905.
- 43. Da S. Maia PI, Pavan FR, Leite CQF, Lemos SS, de Sousa GF, Batista AA, et al. Vanadium complexes with thiosemicarbazones: Synthesis, characterization, crystal structures and anti-Mycobacterium tuberculosis activity. Polyhedron. 2009 Feb 3;28(2):398–406.
- 44. Nakai M, Sekiguchi F, Obata M, Ohtsuki C, Adachi Y, Sakurai H, et al. Synthesis and insulin-mimetic activities of metal complexes with 3-hydroxypyridine-2-carboxylic acid. J. Inorg. Biochem. 2005 Jun;99(6):1275–82.
- Girginova PI, Paz FAA, Nogueira HIS, Silva NJO, Amaral VS, Klinowski J, et al. Synthesis, characterisation and magnetic properties of copper(II) complexes with 3hydroxypicolinic acid (HpicOH): the crystal structure of [Cu(picOH)2(BPE)]2·[Cu(picOH)2(BPE)2]·8H2O. Journal of Molecular Structure. 2005 Mar 4;737(2–3):221–9.

- 46. Suksrichavalit T, Prachayasittikul S, Nantasenamat C, Isarankura-Na-Ayudhya C, Prachayasittikul V. Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities. Eur J Med Chem. 2009 Aug;44(8):3259–65.
- 47. Sheldrik GM. SHELXL-97. University Gottingen, Germany; 1997.
- 48. Sheldrik GM. SHELXL-97; Programa de Refinamento de Estrutura Cristalina. University Gottingen, Germany; 1997.
- 49. Earnshaw A. Introduction to magnetochemistry. Academic P.; 1968.
- 50. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 09. Pittsburg PA: Gaussian, Inc.; 2009.
- 51. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 03. Pittsburg PA: Gaussian, Inc.; 2003.
- Adamo C, Barone V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. The Journal of Chemical Physics. 1999 Apr 1;110(13):6158–70.
- 53. Krishnan R, Binkley JS, Seeger R, Pople JA. Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. The Journal of Chemical Physics. 1980 Jan 1;72(1):650–4.
- McLean AD, Chandler GS. Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z=11–18. The Journal of Chemical Physics. 1980 May 15;72(10):5639–48.
- 55. Hay PJ, Wadt WR. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. The Journal of Chemical Physics. 1985 Jan 1;82(1):299–310.
- 56. Roy LE, Hay PJ, Martin RL. Revised Basis Sets for the LANL Effective Core Potentials. J. Chem. Theory Comput. 2008 Jul 1;4(7):1029–31.
- 57. Zhao Y, Truhlar DG. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06class functionals and 12 other functionals. Theor Chem Account. 2008 May 1;120(1-3):215–41.
- Frisch MJ, Pople JA, Binkley JS. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. The Journal of Chemical Physics. 1984 Apr 1;80(7):3265–9.

- 59. Clark T, Chandrasekhar J, Spitznagel GW, Schleyer PVR. Efficient diffuse functionaugmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li–F. Journal of Computational Chemistry. 1983;4(3):294–301.
- Peterson KA, Puzzarini C. Systematically convergent basis sets for transition metals. II. Pseudopotential-based correlation consistent basis sets for the group 11 (Cu, Ag, Au) and 12 (Zn, Cd, Hg) elements. Theor Chem Acc. 2005 Oct 1;114(4-5):283–96.
- 61. Figgen D, Rauhut G, Dolg M, Stoll H. Energy-consistent pseudopotentials for group 11 and 12 atoms: adjustment to multi-configuration Dirac–Hartree–Fock data. Chemical Physics. 2005 Apr 25;311(1–2):227–44.
- 62. Glending ED, Badenhoop JK, Reed AE, Carpenter JE, Bohmann JA, Morales CM, et al. NBO 6.0. University of Wisconsin: MAdison, WI: Theoretical chemistry institute; 2013.
- Franzblau SG, Witzig RS, McLaughlin JC, Torres P, Madico G, Hernandez A, et al. Rapid, Low-Technology MIC Determination with Clinical Mycobacterium tuberculosis Isolates by Using the Microplate Alamar Blue Assay. J. Clin. Microbiol. 1998 Feb 1;36(2):362–6.
- 64. Wiles DM, Gingras BA, Suprunchuk T. The C=S stretching vibration in the infrared spectra of some thiosemicarbazones. Canadian Journal of Chemistry. 1967 Mar;45(5):469–73.
- 65. Gill NS, Nuttall RH, Scaife DE, Sharp DWA. The infra-red spectra of pyridine complexes and pyridinium salts. Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry. 1961 Mar;18:79–87.
- Ataç A, Yurdakul Ş, İde S. Synthesis and vibrational spectroscopic studies of isonicotinamide metal(II) halide complexes. Journal of Molecular Structure. 2006 Feb 6;783(1–3):79–87.
- Joseph M, Suni V, Prathapachandra Kurup MR, Nethaji M, Kishore A, Bhat SG. Structural, spectral and antimicrobial studies of copper(II) complexes of 2benzoylpyridine N(4)-cyclohexyl thiosemicarbazone. Polyhedron. 2004 Dec 2;23(18):3069–80.
- Philip V. Copper(II) complexes derived from di-2-pyridyl ketone N(4),N(4)-(butane-1,4-diyl)thiosemicarbazone: Crystal structure and spectral studies. Polyhedron. 25(9):1931–8.
- 69. Lever ABP. Inorganic electronic spectroscopy. Elsevier; 1984.
- Albanese NF, Haendler HM. Magnetic and electronic characterization of 2:1 copper(II) complexes of a series of aminocarboxylic acids. Polyhedron. 1983;2(11):1131–40.

- Addison AW, Rao TN, Reedijk J, Rijn J van, Verschoor GC. Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(Nmethylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1984 Jan 1;(7):1349–56.
- Henke W, Kremer S, Reinen D. Copper(2+) in five-coordination: a case of a pseudo-Jahn-Teller effect.
 Structure and spectroscopy of the compounds Cu(terpy)X2.nH2O. Inorg. Chem. 1983 Sep 1;22(20):2858–63.
- West DX, Gebremedhin H, Butcher RJ, Jasinski JP. Molecular structure and spectral properties of bromo(2-acetylpyridine4 Nmethylthiosemicarbazonato)copper(II). Transition Met Chem. 1995 Feb 1;20(1):84– 7.
- Xu N, Wang C, Cheng P, Liao D-Z. Ferro-/antiferromagnetic interactions in two onedimensional Cu(II) complexes: Syntheses, crystal structures and magnetic studies. Inorganic Chemistry Communications. 2012 Sep;23:85–9.
- 75. Kukovec B-M, D.Vaz P, Calhorda MJ, Popović Z. Structural preferences and isomerism in nickel(II) and copper(II) complexes with 3-hydroxypicolinic acid. Polyhedron. 2012 May 30;39(1):66–75.
- Aaker y CB, Seddon KR. The hydrogen bond and crystal engineering. Chemical Society Reviews. 1993;22(6):397.
- Collins L, Franzblau SG. Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium. Antimicrob. Agents Chemother. 1997 May 1;41(5):1004–9.
- Dos Santos ER, Mondelli MA, Pozzi LV, Corrêa RS, Salistre-de-Araújo HS, Pavan FR, et al. New ruthenium(II)/phosphines/diimines complexes: Promising antitumor (human breast cancer) and Mycobacterium tuberculosis fighting agents. Polyhedron. 2013 Mar 4;51:292–7.