

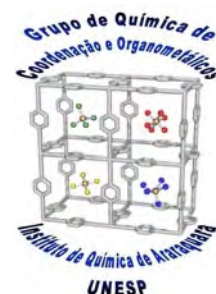
Universidade Estadual Paulista – UNESP
"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE COBRE(II) CONTENDO LIGANTES
NITROGENADOS**

Patricia Bento da Silva



PATRICIA BENTO DA SILVA

**Investigação da Atividade Biológica de Complexos de Cobre(II)
Contendo Ligantes Nitrogenados.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da UNESP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araraquara, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, Área de concentração Química Inorgânica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro

Colaborador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Araraquara
2008

FICHA CATALOGRÁFICA

S586i Silva, Patricia Bento da
Investigação da atividade biológica de complexos de Cobre(II) contendo ligantes nitrogenados / Patricia Bento da Silva. - Araraquara : [s.n], 2008
98 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Regina Célia Galvão Frem di Nardo

Co-orientador: Antônio Eduardo Mauro

1. Química inorgânica. 2. Complexos de cobre. 3. Atividade biológica. 4. Pirazóis. 5. Mycobacterium tuberculosis. I. Título.

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

PATRICIA BENTO DA SILVA

**Investigação da Atividade Biológica de Complexos de Cobre(II) Contendo
Ligantes Nitrogenados.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da UNESP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araraquara, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, Área de concentração Química Inorgânica.

Araraquara, 28 de março de 2008.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo (Orientadora)
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

Prof. Dr. Roberto Santana da Silva
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Prof. Dr. Sergio Roberto de Andrade Leite
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

Dedico este trabalho.....

Aos meus amados pais, Narcizo (in memorian) e Luzia, por todo amor, apoio, ensinamentos, palavras de incentivo, por acreditarem na minha pessoa, e fazer com que eu nunca desistisse dos meus sonhos, se eu cheguei até aqui, pode ter certeza que vocês foram fundamentais para essa conquista e ela é de vocês também.....

Aos meus irmãos, que mesmo com a distância, sempre dando amor, carinho e palavras otimistas.....

Ao meu noivo Wellyngton (Paca), pelo incentivo, carinho, ajuda nas horas em que mais precisei, por me mostrar, sempre o outro lado da vida e por ser a pessoa tão especial que és!

A toda família Kitatani, sempre se preocupando comigo, incentivando, dando apoio, dando exemplos de vida e luta, amparo e sempre trazendo os momentos de alegrias.....

Meu muito obrigado,

A Prof^ª. Dr^ª. Regina C. G. Frem, pela amizade, confiança, sinceridade, carinho, por todo o apoio e incentivo, pela paciência, conselhos, pelo convívio agradabilíssimo durante todos esses anos, pela sua orientação, por proporcionar todas as condições necessárias para realização deste trabalho e por ser minha segunda mãe;

Ao Prof. Dr. Antonio E. Mauro, pela co-orientação nesse trabalho, conselhos, amizade e confiança;

Ao Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, por todos os ensinamentos, discussões de experimentos e resultados, pela paciência, palavras de incentivo e conforto nos momentos certos, convivência, amizade e confiança;

A Prof^ª. Dr^ª. Ângela Regina Araújo e o Prof. Dr. Stanlei Ivair Klein pelas valiosas sugestões no meu exame de qualificação;

Ao Prof. Dr. Roberto Santana da Silva e o Prof. Dr. Sergio Roberto de Andrade Leite pelas valiosas sugestões na minha defesa de mestrado;

A Prof^ª. Dr^ª. Ana Maria da Costa Ferreira do Instituto de Química - USP - São Paulo-SP, pela realização dos experimentos de EPR;

A Prof^ª. Dr^ª. Regina H. A. Santos e suas alunas Miriam e Janaína do Instituto de Química - USP - São Carlos-SP, pela determinação das estruturas moleculares e cristalinas e mútua colaboração;

A Prof^ª. Dr^ª. Clarice Queico Fujimura Leite do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP - Araraquara-SP, pelos ensaios biológicos realizados, pelos ensinamentos, esclarecimentos, paciência, incentivo, pelas oportunidades oferecidas e amizade;

Ao mestrando Fernando Rogério Pavan do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP - Araraquara-SP, pelos ensaios biológicos realizados, pelos ensinamentos, pelas horas de discussões e esclarecimentos, por me socorrer nas horas do desespero, pela paciência, incentivo e amizade;

A Dr^ª. Daisy Nakamura Sato do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto pelos ensaios biológicos realizados, pelos ensinamentos, esclarecimentos e amizade;

Às funcionárias Irene e Valéria pela atenção, auxílio e convívio no Departamento de Química Geral e Inorgânica;

Aos meus amigos integrantes do grupo de Química de Coordenação e Organometálicos: Pedro (Kita), Antônio (Tonho), Alexandre, Adriano, Rodrigo, João Régis, Rafael, Talita, Alessandra, Francisco, Adriana, Katinha, Amadeu, Tiago, Ana Carolina, Natália, Carol, Filipe, Douglas, Juliana e Gislaine, que de uma forma ou de outra me auxiliaram, pela amizade, pela convivência e pelos momentos de descontração;

Ao Ernesto Gasparetto Júnior (Gaspar), pela sua amizade e dedicação na confecção dos painéis para apresentação em congressos, e principalmente nas horas de sufoco;

Aos professores Luiz Antonio, Stanlei e Vânia, pelo convívio no Departamento de Química Geral e Inorgânica e por participarem da minha formação acadêmica;

A Sandra, Patrícia, Célia e Wennia da Seção de Pós-graduação em Química do Instituto de Química, pela atenção, cordialidade e amizade;

A Bel, Valéria Novelli, Cris e demais funcionárias da Biblioteca do Instituto de Química de Araraquara, pela atenção, prestatividade, cordialidade e amizade;

A todos os funcionários e docentes do Instituto de Química que colaboraram para a minha formação acadêmica e ensinamentos;

A todos meus amigos da turma Licenciatura 2000, pelo apoio, incentivo, torcida, carinho, independente de onde cada um esteja;

A todos os meus amigos de Bebedouro pela amizade que sempre existirá.....

Aos meus amigos Camilinha, Japonês, Solange, Caçula, Estela, Beto, Vani, Ari, Gabi, Laís, Hugo, Sônia, Mascia, Nati, Noêmia, Patto, Thaísa Mary, Macaco, Alessandra, Ana Luiza, mesmo aqueles que aqui não estão citados, mas estão em meu coração, o meu muito obrigado.....

Ao casal Wando e Ângela pela amizade, momentos de descontração, oportunidades e conselhos...

A toda Família Kitatani pelo apoio e incentivo durante toda minha formação acadêmica, muito obrigada;

Aos meus sogros José e Zeza, e ao meu cunhado Vosh, pelo apoio e carinho;

A Alessandra Stevanato, por sua amizade, prestatividade, pela pessoa que és.....

Ao meu irmão Júnior, minha cunhada Roberta, e as crianças: Hideki, Hitomi, Kin e Gabriel pela força, incentivo, e torcida mesmo com essa distância que nos separa, sempre amarei vocês.....

Ao meu irmão Rodrigo, por me ouvir, incentivar, dar apoio, pelas horas e horas de conversas e risadas, e sobretudo pela amizade que sempre existirá, obrigada por tudo, te amo muito.....

A minha cunhada Elinéia, por ser a pessoa maravilhosa que és, por me incentivar nas horas que mais preciso, por ser minha amiga e mãe de uma criança linda que é o João Vitor, que a tia tanto ama, obrigada por tudo, amo muito vocês.....

A July e a Nina, pela alegria da casa.....

Ao meu querido noivo Paquinha, por todos os momentos que passamos juntos, tristes ou alegres, pela paciência, pela amizade, pelos momentos de descontração, por me ouvir, me incentivar, enfim por tudo ao longo desses anos e por tudo que há por vir ainda.....

A minha amada mama Luzia, obrigada por ser minha melhor amiga, por me apoiar, por me dar colo quando preciso, por me ouvir, por me dar conselhos, por me incentivar a continuar a caminhada e nunca desistir dos meus sonhos.....Mãe, te amo muito.....

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Narcizo (*in memorian*), por todos os ensinamentos, pela educação e caráter transmitidos, pela minha formação, pela paciência e amizade, com certeza sem você nada disso seria possível, saudades eternas.....

A CNPq e a CAPES pelas bolsas concedidas;

A Deus, por me conceder a vida.....

"Dificuldades e obstáculos são fontes valiosas de saúde e força para qualquer sociedade".

Albert Einstein

"Sábio é o ser humano que tem coragem de ir diante do espelho da sua alma para reconhecer seus erros e fracassos e utilizá-los para plantar as mais belas sementes no terreno de sua inteligência".

Augusto Cury

CURRICULUM VITAE

DADOS PESSOAIS

Nome: Patrícia Bento da Silva

Data de Nascimento: 28 de março de 1982

Naturalidade: Bebedouro - S.P.

Nacionalidade: Brasileira

Estado Civil: Solteira

Filiação:

pai - Narcizo Bento da Silva

mãe - Luzia Hideco Kitatani da Silva

Profissão: Licenciada em Química

Documento de Identidade: RG 32473649-6

Endereço para Correspondência:

Rua José do Patrocínio, 692 - Bairro: Vila Xavier - CEP: 14.810-150

Araraquara - S.P.

e-mail: patr bent@iq.unesp.br

FORMAÇÃO

Básica

Ensino Fundamental I: E.E.P.G. "José Francisco Paschoal", Bebedouro-SP

Ensino Fundamental II: E.E.P.G. "José Francisco Paschoa", Bebedouro-SP

Ensino Médio: E.E.P.S.G. "Prof. Dr. Paraíso Cavalcanti", Bebedouro-SP

Acadêmica

GRADUAÇÃO

Licenciada em Química junto ao Instituto de Química de Araraquara - UNESP.

Iniciação Científica realizada junto ao Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP- Araraquara-SP, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo.

Projeto: "Compostos pirazólicos de cádmio e pseudo-haletos: uma estratégia para obtenção de espécies supramoleculares"

Concluído em dezembro de 2004.

PÓS-GRADUAÇÃO

Mestrado em Química Inorgânica, junto ao Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP- Araraquara-SP, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Regina Célia Galvão Frem Di Nardo e co-orientação do Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro.

Projeto: "Investigação da atividade biológica de complexos de cobre(II) contendo ligantes nitrogenados"

Concluído em março de 2008.

DISCIPLINAS CURSADAS NA PÓS-GRADUAÇÃO

Disciplinas cursadas	Créditos	Carga Horária	Frequência	Conceito
Química de Coordenação	12	180	100	A
Análise Térmica	12	180	93	B
Estrutura Eletrônica e Molecular	12	180	93	A
Compostos Organometálicos e Aplicações em Química de Materiais	12	180	90	B
Seminário Geral	05		100	

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

01. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; PAVAN, F.; NEVES, T. P. DA C.; FERREIRA, A. M. FERNANDES, R. L.: "Síntese, caracterização e investigação da atividade antimicrobiana do complexo $[\text{CuSO}_4(\text{INH})]$ " IN: **XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
02. NEVES, T. P. da C.; FERNANDES, R. L.; DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; OLIVEIRA, L. A. A.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de rutênio(II) contendo ligantes pirazólicos" IN: **XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
03. FERNANDES, R. L.; NEVES, T. P. da C.; DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.: "Síntese e caracterização de compostos de coordenação de paládio(II) contendo ligantes lineares nitrogenados e oxalatos" IN: **XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
04. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; SATO, D. N.: "Síntese, caracterização e atividade antimicrobiana de complexos pirazólicos de cádmio(II)" IN: **XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-MG, 30 de maio a 2 de junho de 2005.
05. DA SILVA, P. B.; MELLO, L. P.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.: "Polímeros de Coordenação de Cádmio(II)" IN: **XVI Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, Ilha Solteira-SP, 4 a 11 de dezembro de 2004.
06. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; FERREIRA, J. G.: "Pyrazolyl coordination polymers of cadmium(II)" IN: **XII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry**, São Carlos-SP, 8 a 11 de setembro de 2004.
07. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.: "A influência da razão molar cádmio: azida na obtenção de espécies polinucleares de Cd(II) " IN: **XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, São Carlos-SP, 12 a 14 de novembro de 2003.
08. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Polímeros de coordenação de Cd(II) contendo pirazóis e tiocianato" IN: **XXXIII Semana da Química**, Araraquara-SP, 25 a 31 de outubro de 2003.
09. DA SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Complexos polímeros contendo pirazóis e tiocianato de Cd(II) " IN: **XV Congresso de Iniciação Científica da Unesp**, Marília – S.P., 18 a 24 de outubro de 2003.

10. Da SILVA, P. B.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Polímeros de coordenação de Cd(II) contendo pirazóis e tiocianato" IN: **XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-M.G., 26 a 29 de maio de 2003, Livro de Resumos, p.QI-127.
11. MELO, L. P.; DA SILVA, P. B.; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A.; SANTOS, R. H. A.: "Complexos pirazólicos de Co(II) e Cd(II) como precursores de espécies supramoleculares" IN: **XIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP - Exatas**, 2002, Presidente Prudente-SP Cd de Resumos, 2002.
12. Da SILVA, P. B.; MELO, L. P.; GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; SOARES, J. C.: "Cloro-Complexos pirazólicos de cobalto e cádmio divalentes" IN: **XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-M.G., 20 a 23 de maio de 2002.

PUBLICAÇÕES

01. SILVA, Patrícia Bento; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. "Pyrazolyl Coordination Polymers of Cadmium(II)". **Inorganic Chemistry Communications**, v. 9, p. 235-238, 2006.
02. SILVA, P. B.; TERRA, P. H.; FREM, R. C.; GODOY NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; LEITE, C. Q. F.; SATO, D. N.; PAVAN, F. R.; SANTOS, R. H. A.; FERREIRA, J. G. "Cu(II) Pyrazolyl Complexes: Preparation, characterization and antibacterial activity. X-ray studies on {Cu(NCS)₂(HPz)₂}" a ser submetido para Journal of Inorganic Biochemistry.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

01. Workshop "Global Development of New Anti-TB Drugs and Possibility to Treat M(X)-DR-TB and TB/HIV", ministrado pelo Dr. Norio Doi do Research Institute of Tuberculosis – RIT, Japan Anti-Tuberculosis Association – JATA, coordenado pela Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite – Araraquara-S.P. – Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, realizado no período de 17 a 18 de outubro de 2007.
 02. XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-S.P., de 31/05 a 03/06/2007.
 03. Workshop "A Química Bioinorgânica no Brasil", dentro das programações da XXX Reunião Anual da SBQ 2007.
 04. I Workshop "Pós-Graduação em Química: Formação de Recursos Humanos e Transferência de Tecnologia" – Araraquara-S.P. – Instituto de Química – UNESP, realizado em 5 de Outubro de 2006.
 05. Mini-Symposium "New Drugs Against Tuberculosis", ministrado pelo Dr. Scott Gary Franzblau, do Institute for Tuberculosis Research – University of Illinois at Chicago, sob coordenação da Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite – Araraquara-S.P. – Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, realizado em 7 de Abril de 2005.
 06. II EVEQ: Segundo Evento do Ensino de Química, Araraquara-S.P., maio de 2004.
 07. XXXIII Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2003.
 08. XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, São Carlos-S.P., de 12 a 14 de novembro de 2003.
 09. II TEJ: Treinamento Empresarial Júnior, "Gestão Empresarial para Empresa Júnior", Araraquara-S.P., 27 de setembro de 2003.
 10. XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-M.G., de 26 a 29 de maio de 2003.
 11. I EVEQ: Primeiro Evento do Ensino de Química, Araraquara-S.P., maio de 2003.
 12. I Encontro de Empresas de Juniores da Unesp, Bauru-S.P., abril de 2003.
-
-

13. XV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, Marília-S.P., outubro de 2003.
14. XXXII Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2002.
15. I TEJ: Treinamento Empresarial Júnior, Araraquara-S.P., setembro de 2002.
16. I CEI: Primeiro Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química, Araraquara-S.P., julho de 2002.
17. XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-M.G., de 20 a 23 de maio de 2002
18. Simpósio de Patentes, Araraquara-S.P., novembro de 2001.
19. XXXI Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2001.
20. XXX Semana da Química do Instituto de Química, Araraquara-S.P., outubro de 2000.

PARTICIPAÇÃO EM CURSOS

01. “Células Combustíveis”, duração 14 h.
02. “O Descarte de Corantes Têxteis: Problemas e Soluções”, duração 6 h.
03. “Leitura Instrumental de Textos Acadêmicos”, duração 2 h.
04. “Acertando as Contas: as Finanças da EJ”, duração 3 h.
05. “A Lei a Nosso Favor: Administração Jurídica”, duração 3 h.
06. “Violência no Ambiente Escolar: Como educar e ensinar diante deste problema”, duração 6 h.
07. “Avaliação Educacional, Escolar e de Aprendizagem”, duração 6 h.
08. “Fundamentos para Prática de Leitura e Produção de Textos, com Ênfase no Texto Científico”, duração 12 h.
09. “Poliésteres Bacterianos para Plásticos Biodegradáveis”, duração 12 h.
10. “Química Forense”, duração 8 h.
11. “Metrologia em Química ISO-Guia 17025”, duração 16 h.
12. “Cromatografia Líquida de Alto Desempenho”, duração 6 h.
13. “Aplicação em Cromatografia Líquida Preparativa e Espectrofotometria Ultra Violeta/Visível”, duração 6 h.
14. “Células Fotoeletroquímicas”, duração 6 h.
15. “Tools – MS Project”, duração 4 h.
16. “Reciclagem de Papel”, duração 4 h.
17. “Química e Meio Ambiente: Construção de relações a partir de mapas conceituais”, duração 4 h.

ATIVIDADES EXTRACURRICULARES

01. Diretora Presidente da Associação dos Ex-alunos do Instituto de Química de Araraquara, outubro de 2005 a outubro de 2007.
 02. Diretora Presidente da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2003 a julho de 2004.
 03. Diretora do Departamento de Marketing da Emprodequi-Jr – Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., setembro de 2003 a junho de 2004.
 04. Diretora do Departamento de Projetos da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2002 a junho de 2003.
 05. Gerente do Departamento de Projetos da Emprodequi-Jr - Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., de julho de 2001 a junho de 2002.
 06. Gerente do Departamento de Marketing da Emprodequi-Jr – Empresa de Projetos e Desenvolvimento em Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., junho de 2003 a dezembro de 2004.
 07. Membro da Comissão Organizadora da XXXIII Semana da Química do Instituto de Química de Araraquara-S.P., outubro de 2003.
 08. Membro da Comissão Organizadora do II CEI: Segundo Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2003.
-

09. Membro da Comissão de Seleção de Bolsa BAE do Instituto de Química de Araraquara-S.P. nos anos de 2003 e 2004.
10. Membro da Comissão Organizadora do I CEI: Primeiro Curso de Especialização de Inverno do Instituto de Química de Araraquara-S.P., julho de 2002.
11. Monitora da disciplina "Cálculo Diferencial e Integral I", primeiro semestre de 2002.
12. Representante Discente nos Conselhos dos Departamentos de Química Geral e Inorgânica em 2000, Química Analítica em 2001 e Bioquímica em Química e Biotecnologia em 2002.

ESTÁGIOS, BOLSA E AUXÍLIOS

Bolsa de Iniciação Científica (IC) concedida pela FAPESP.
Bolsa de Mestrado (MS) concedida pela CNPq e CAPES.

LÍNGUAS ESTRANGEIRAS

Inglês: nível avançado, cursando com professora particular.
Espanhol: nível intermediário, cursando com professora particular.

RESUMO

O objetivo principal deste trabalho consistiu na síntese, caracterização e investigação da atividade biológica de complexos de cobre(II) contendo ligantes pirazólicos {pirazol (HPz), 3,5-dimetilpirazol (HdmPz), 4-iodopirazol (HIPz) e 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz)} e moléculas biologicamente ativas {pirazinamida (PZA), rifampicina (RMP) e isoniazida (INH)}. Foram preparadas três séries de compostos, a primeira contendo os ligantes pirazólicos e o pseudo-haleto tiocianato: $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$ (**3**); a segunda contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol: $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_2(\text{tdmPz})_2]$ (**4**), $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**5**), $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**6**); e a terceira série, contendo como ligantes compostos atualmente usados no tratamento da tuberculose: $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**), $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**).

Os compostos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia vibracional na região no IV, espectroscopia de absorção eletrônica no UV/Visível e ressonância paramagnética eletrônica. O composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**) teve sua estrutura determinada através da análise cristalográfica via difratometria de raio-X de monocristal.

Os complexos de cobre(II) foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose humana, linhagem H37Rv ATCC – 27194. Os compostos $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**5**), $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**6**), $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**), $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**) mostraram ser bastante eficientes na inibição do crescimento dessa micobactéria, uma vez que apresentaram valores de concentração inibitória mínima (CIM) iguais a 3,25; 14; 10; 0,31; 10 e 0,62 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Os complexos **7** - **10** mostraram ser muito promissores no tocante a potencialidade de aplicação como drogas antituberculose, uma vez que apresentaram valores de IS (índice de seletividade) superiores a 4.

Palavras-chave: complexos de cobre(II), pirazóis, DRX de monocristal, atividade biológica, *Mycobacterium tuberculosis*

ABSTRACT

The main objective of this work consisted in the synthesis, spectroscopic characterization and investigation of the biological activity of copper(II) complexes containing pyrazolyl ligands {pyrazole (HPz), 3,5-dimethylpyrazole (HdmPz), 4-iodopyrazole (HIPz) and 3,5-dimethyl-1-thiocarboxamidepyrazole (HtdmPz)} and biological active molecules {pyrazinamide (PZA), rifampicin (RMP) and isoniazid (INH)}. Three series of compounds were prepared, the first one containing pyrazolyl ligands and the pseudohalide thiocyanate: $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**), $\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$ (**3**); the second series presents the 3,5-dimethyl-1-thiocarboxamidepyrazole ligand: $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_2(\text{tdmPz})_2]$ (**4**), $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**5**), $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**6**); and the third serie, involves compounds currently used in the treatment of the tuberculosis as ligands: $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**), $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**).

The compounds were characterized by elemental analysis, infrared spectroscopy, UV-Vis spectroscopy and electron paramagnetic resonance. The compound $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**) had its structure determined by single crystal X-ray diffraction.

The copper(II) complexes were submitted to the assays of inhibition of the growth of the *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC - 27194. The compounds $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**5**), $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**6**), $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**), $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**) had shown to be efficient in the inhibition of the growth of this mycobacteria, because showed minimal inhibitory concentration (MIC) values equals to 3,25; 14; 10; 0,31; 10 e 0,62 $\mu\text{g/mL}$, respectively.

The complexes **7** - **10** are promise compounds in relation to the potential application as antituberculosis drugs, because they showed SI (selectivity index) values greater than 4.

Key-words: Copper(II) complexes, pyrazoles, crystal X-ray pyrazoles, biological activity *Mycobacterium tuberculosis*

LISTA DE FIGURAS

Figura 01.	Diagrama de nível de energia para configuração d^9 em um campo octaédrico e com distorção tetragonal [2].	23
Figura 02.	Octaedro tetragonalmente distorcido, com quatro ligações curtas num arranjo quadrado planar, e duas ligações mais longas em <i>trans</i> .	24
Figura 03.	Possíveis geometrias ao redor do centro metálico cobre (II). (a) quadrado planar; (b) tetraédrica; (c) bipirâmide trigonal; (d) pirâmide de base quadrada; (e) octaédrica.	24
Figura 04.	Estrutura do complexo de Cu(II) contendo o ligante MAQ [13].	27
Figura 05.	Estrutura do composto $[Cu(mtv)_2] \cdot 2H_2O$ [14].	27
Figura 06.	A estrutura do cátion em $[Cu(TBZH)_2Cl]Cl \cdot H_2O \cdot EtOH$ [16].	28
Figura 07.	Célula unitária do composto $[Cu(PMDT)(bipy)](ClO_4)_2$ [17].	28
Figura 08.	Corte de tecido pulmonar com <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Os bacilos aparecem corados em vermelho, pelo método de Ziehl-Nielsen.	29
Figura 09.	Estruturas da isoniazida (I) e do quelato com íon cúprico (II) [23].	31
Figura 10.	Fórmulas estruturais dos 1,2-azóis.	32
Figura 11.	Modos de coordenação dos ligantes pirazólicos: neutro monodentado (a), aniônico monodentado (b), aniônico exobidentado (c), aniônico endobidentado (d), penta- hapto, η^5 (e).	33
Figura 12.	Estrutura do complexo $[CuCl_2(HPz)_4]$ [36].	33
Figura 13.	Estrutura molecular do complexo <i>trans</i> - $[Pd(SCN)_2(HPz)_2]$ [37].	34
Figura 14.	Estrutura do complexo $[Cu(sac)_2(HPz)_2(H_2O)_2]$ [38].	34
Figura 15.	Estrutura do complexo $[Cu_4(Pz)_4L_2] \cdot ClO_4$ [39].	35
Figura 16.	Estrutura do complexo $[Cu_4(prz)_4(CH_3OH)_2L_2] \cdot (ClO_4)_2$ [40].	35
Figura 17.	Estrutura cristalina do complexo $[Cu(4-Xdmpz)_2]_x$ [41-42].	36
Figura 18.	Micrografia de varredura eletrônica do polímero $[Cu(4-Hdmpz)_2]_x$ [41-42].	36
Figura 19.	Estrutura química dos compostos 1-4 [50].	37
Figura 20.	Estrutura do Fipronil® [51].	38
Figura 21.	Estrutura do Fenpyroximate® [52].	38
Figura 22.	Fórmula estrutural do complexo $[Pt_2(\mu-Pz)(\mu-OH)(NH_3)_4](NO_3)_2$ [55].	39
Figura 23.	Placa de 96 orifícios utilizada para os ensaios microbiológicos.	50
Figura 24.	Modos normais de vibração do íon tiocianato.	54
Figura 25.	Espectros vibracionais na região de $4000-400\text{ cm}^{-1}$ para os ligantes livres HPz, Hdmpz e HIPz e complexos 1-3 (pastilhas de KBr).	55
Figura 26.	Espectros de absorção eletrônica no UV/VIS dos compostos $[Cu(NCS)_2(HPz)_2]$ (1): em acetona, $[Cu(NCS)_2(Hdmpz)_4] \cdot 5H_2O$ (2): em acetonitrila e $[Cu(NCS)_2(HIPz)_2]$ (3): em acetonitrila.	59

Figura 27.	Representação de parte da cadeia polimérica do composto [Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1).	61
Figura 28.	Representação ORTEP da ligação de hidrogênio intramolecular e da interação do tipo N-H... π existente entre os anéis pirazólicos.	63
Figura 29.	Representação ORTEP da interação molecular do tipo $\pi \cdots \pi$ existente entre os anéis pirazólicos.	63
Figura 30.	Representação do arranjo supramolecular do composto <i>trans</i> -diisotiocianatobis(pirazol)cobre(II).	64
Figura 31.	Estrutura proposta para o composto 2	65
Figura 32.	Estrutura proposta para o composto 3	65
Figura 33.	Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm ⁻¹ para o ligante livre HtdmPz e para os complexos 4-6	66
Figura 34.	Estrutura do complexo 4 [58].	69
Figura 35.	Estrutura do complexo 5 [59].	69
Figura 36.	Estrutura molecular para o complexo 6 [60].	70
Figura 37.	Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm ⁻¹ para o ligante livre pirazinamida (PZA) e complexo 7 (pastilhas de KBr).	71
Figura 38.	Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm ⁻¹ para o ligante livre rifampicina (RMP) e complexo 8 (pastilhas de KBr).	73
Figura 39.	Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm ⁻¹ para o ligante livre isoniazida (INH) e complexos 9 e 10 (pastilhas de KBr).	75
Figura 40.	Espectro EPR do complexo 7 , em solução congelada de DMSO, a 77 K.	78
Figura 41.	Espectro EPR do complexo 8 , em solução congelada de DMSO, a 77 K.	79
Figura 42.	Espectro EPR do complexo 9 , em solução congelada de DMSO, a 77 K.	79
Figura 43.	Espectro EPR do complexo 10 , em solução congelada de DMSO, a 77 K.	80
Figura 44.	Estrutura proposta para o composto 7	81
Figura 45.	Estrutura proposta para o composto 9	82
Figura 46.	Estrutura proposta para o composto 10	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 01.	Principais tipos de biomoléculas de cobre [4]	25
Tabela 02.	Procedência de reagentes e solventes	41
Tabela 03.	Formulação do meio LJ.....	49
Tabela 04.	Intervalos aproximados dos modos normais de vibração (cm ⁻¹) para os diferentes tipos de coordenação do tiocianato	55
Tabela 05.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) referentes aos ligantes livres pirazol, 3,5-dimetilpirazol e 4-iodopirazol e suas respectivas atribuições	56
Tabela 06.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) de 1-3 e atribuições.....	57
Tabela 07.	Resumo dos principais dados cristalográficos do composto [Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1).....	60
Tabela 08.	Distâncias interatômicas (Å) com os respectivos desvios padrão (Å) entre parênteses para o composto [Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1).....	61
Tabela 09.	Ângulos intramoleculares (°) com os respectivos desvios padrão (°) para o composto [Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1)	62
Tabela 10.	Interações não covalentes no composto [Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1)	63
Tabela 11.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) para o ligante livre HtdmPz e para os complexos 4-6 e atribuições.....	67
Tabela 12.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) referente ao ligante livre e complexo 7 e suas respectivas atribuições.....	72
Tabela 13.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) referente ao ligante livre e complexo 8 e suas respectivas atribuições.....	74
Tabela 14.	Frequências vibracionais no IV (cm ⁻¹) referente ao ligante livre e complexos 9 e 10 e suas respectivas atribuições	76
Tabela 15.	CIM, IC ₅₀ e IS dos compostos de cobre(II), frente o <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv ATCC - 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO.....	83
Tabela 16.	Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos de Cu(II) utilizando moléculas biologicamente ativas e as concentrações efetivas destes ligantes nos complexos 7-10 frente o <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv ATCC - 27194	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DAINEs - Drogas antiinflamatórias não esteroidais (sigla em inglês: NSAIDs)

SIDA - Síndrome da imunodeficiência adquirida (sigla em inglês: AIDS)

BAAR - Álcool ácido resistente

CIM - Concentração inibitória mínima (sigla em inglês: MIC)

HPz - Pirazol

Pz - Íon pirazolato

HdmPz - 3,5-dimetilpirazol

HIPz - 4-iodopirazol

HtdmPz - 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol

INH - Isoniazida (hidrazida do ácido isonicotínico)

PZA - Pirazinamida

RMP - Rifampicina

DMSO - Dimetilsulfóxido

DMF - Dimetilformamida

THF - Tetra-hidrofurano

Meio 7H9 - Meio líquido de Middlebrook 7H9

LJ - Löwenstein-Jensen

CI₅₀ - Concentração que inibe 50% de um processo (sigla em inglês: IC₅₀)

IS - Índice de seletividade

RPMI - Mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular

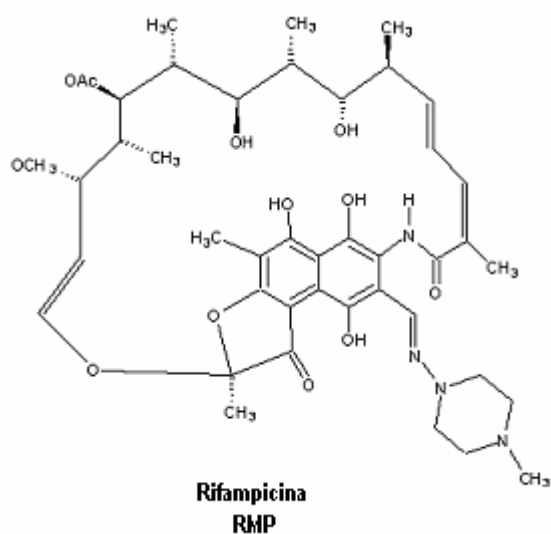
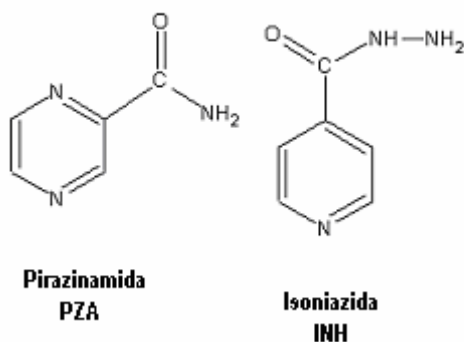
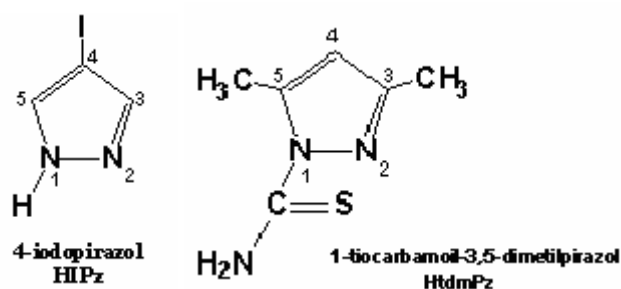
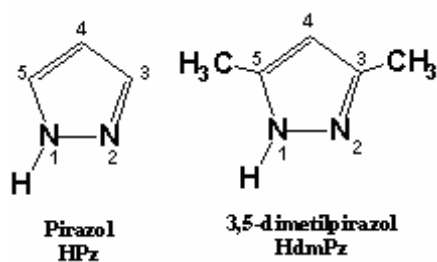
EPR - Ressonância paramagnética eletrônica

CL - Campo ligante

LMCT - Transferência de carga ligante metal

EAAM - Ensaio com azul de Alamar em microplaca (sigla em inglês: MABA)

LISTA DE FÓRMULAS ESTRUTURAIS



SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.....	22
I.1 O íon Cu(II).....	22
I.2 Propriedades biológicas do cobre.....	24
I.2.1 Atividade Antiinflamatória.....	26
I.2.2 Atividades Fungicida e Bactericida	26
I.3 Atividade antibiótica frente ao Mycobacterium tuberculosis (Bacilo de Koch).....	29
I.4 Pirazóis.....	32
I.4.1 A Química de Coordenação dos Pirazóis.....	32
I.4.2 Propriedades Biológicas do Pirazol.....	36
I.4.3 Propriedades Biológicas de Complexos Pirazólicos.....	38
II. OBJETIVOS.....	40
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	41
III.1 Procedência dos Reagentes e Solventes	41
III.2 Metodologias de Síntese	42
III.2.1 Metodologia para preparação dos complexos contendo o íon tiocianato e ligantes pirazólicos (1-3).....	42
III.2.2 Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (4-6).....	42
III.2.3 Metodologia para preparação dos compostos contendo moléculas biologicamente ativas (7-10)	43
III.3 Preparação dos Compostos	43
III.3.1 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]_n$ (1).....	44
III.3.2 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2)	44
III.3.3 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]_n$ (3).....	44
III.3.4 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})(\text{tdmPz})_2]_2$ (4) [58]	45
III.3.5 Preparação do composto $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]_2$ (5) [59].....	45
III.3.6 Preparação do composto $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]_2$ (6) [60].....	46
III.3.7 Preparação do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]_2$ (7)	46
III.3.8 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{RMP})]_2$ (8).....	46
III.3.9 Preparação do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (9) - Rota 1	47
III.3.10 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (10) - Rota 2	47
III.4 Testes Microbiológicos para Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) [61]	48
III.4.1 Preparação do caldo de Middlebrook 7H9 suplementado com OADC (ácido oléico, albumina bovina fração V, glicose e catalase).....	48
III.4.2 Preparação do meio de Löwenstein-Jensen (LJ).....	48
III.4.3 Preparação da solução reveladora.....	49
III.4.4 Preparação da suspensão bacteriana.....	49
III.4.5 Determinação da CIM em microplaca utilizando azul de Alamar como revelador ..	50

III.4.6	Leitura e obtenção dos resultados	51
III.4.6.1	Método da microdiluição em placa	51
III.4.6.2	Avaliação da ação bactericida ou bacteriostática	51
III.5	Testes Citológicos para Determinação da Citotoxicidade (IC₅₀) e Índice de Seletividade (IS).....	51
III.5.1	Citotoxicidade (IC ₅₀)	51
III.5.2	Índice de Seletividade (IS)	52
III.6	Métodos Instrumentais	52
III.6.1	Análise Elementar.....	52
III.6.2	Intervalos de Fusão.....	52
III.6.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	53
III.6.4	Espectroscopia Eletrônica na Região do UV/Vis.....	53
III.6.5	Difratometria de Raio-X de Monocristal	53
III.6.6	Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	53
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
IV.1	Compostos contendo o pseudo-haleto tiocianato e ligantes pirazólicos (1-3).....	54
IV.1.1.	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	54
IV.1.2.	Espectroscopia de Absorção Eletrônica no UV/Visível	58
IV.1.3.	Análise Cristalográfica via Difratometria de Raio-X de Monocristal do Composto 1.....	59
IV.1.4.	Proposição Estrutural para os Complexos 2 e 3.....	64
IV.2	Compostos contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol, HtdmPz (4-6).....	66
IV.2.1.	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	66
IV.2.2.	Estruturas para os Complexos 4 - 6	68
IV.3	Compostos contendo moléculas biologicamente ativas (7-10).....	70
IV.3.1	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	70
IV.3.1.1	Pirazinamida	70
IV.3.1.2	Rifampicina.....	73
IV.3.1.3	Isoniazida	75
IV.3.2	Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)	78
IV.3.3	Proposição Estrutural para os Complexos 7, 9 e 10.....	81
IV.4.	Atividade biológica frente ao bacilo de Koch	82
V.	CONCLUSÕES.....	86
VI.	PERSPECTIVAS.....	87
	REFERÊNCIAS.....	88

I. INTRODUÇÃO

I.1 O íon Cu(II)

O íon cobre (II), pelo seu baixo preço e alta disponibilidade, é facilmente obtido e empregado na síntese de compostos inorgânicos, de catalisadores, semicondutores e de compostos de coordenação [1].

A maioria dos complexos e compostos de Cu(II) apresenta uma estrutura octaédrica distorcida, e são azuis ou verdes. O íon metálico tem a configuração eletrônica $3d^9$, restando apenas um orbital para o qual um elétron pode ser promovido. Logo, a espectroscopia eletrônica deveria, a princípio, assemelhar-se a de sistemas com a configuração eletrônica d^1 (por exemplo, Ti^{3+}), com a presença de uma única banda de absorção larga. Isso realmente ocorre, e esses compostos absorvem na região de 625 a 909 nm, em geral. Contudo, os complexos de Cu(II) são apreciavelmente distorcidos, pelo efeito Jahn-Teller, provocando o aparecimento de mais de uma banda de absorção. Essas bandas se sobrepõem tornando a banda assimétrica. Não é possível atribuir cada banda de modo inequívoco. Essa distorção tetragonal é uma consequência da configuração eletrônica d^9 para o íon Cu^{2+} . O ambiente octaédrico em torno do íon provoca o desdobramento dos orbitais d do Cu em níveis de menor energia, t_{2g} , e maior energia, e_g , devido ao efeito do campo cristalino octaédrico. Os nove elétrons d se distribuem da seguinte maneira: $(t_{2g})^6(e_g)^3$. Os três elétrons e_g ocupam orbitais $d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2} : dois num orbital e o terceiro no outro, conforme ilustra a Figura 01.

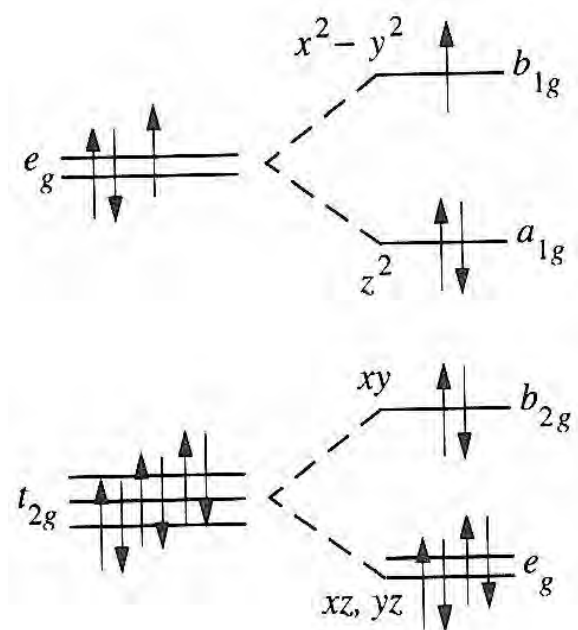


Figura 01. Diagrama de nível de energia para configuração d^9 em um campo octaédrico e com distorção tetragonal [2].

Como o preenchimento do nível e_g não é simétrico, ocorre a distorção de Jahn-Teller. Esta quebra a degenerescência dos orbitais e_g e t_{2g} (isto é, os dois orbitais e_g passam a não ter a mesma energia; o mesmo ocorrendo com os orbitais t_{2g}). Assim, o complexo será distorcido. O orbital $d_{x^2-y^2}$ está sob a influência dos quatro ligantes que se aproximam ao longo das direções x e y . Por outro lado, o orbital d_{z^2} está sob a influência de apenas dois ligantes, que se aproximam segundo a direção z . Assim, a energia do orbital $d_{x^2-y^2}$ aumenta mais do que a do orbital d_{z^2} . Por isso, os três elétrons do nível e_g passam a se distribuir como se segue: $(d_{z^2})^2(d_{x^2-y^2})^1$. Como o orbital d_{z^2} contém dois elétrons, os ligantes que se aproximam segundo a direção z são impedidos de se aproximarem do cobre tanto quanto os ligantes que se aproximam ao longo das direções x e y [3].

Esse arranjo octaédrico distorcido é comum em compostos de cobre(II). Por exemplo, os haletos CuX_2 têm a estrutura do rutilo (TiO_2) distorcida, onde o metal tem número de coordenação igual a 6. Os comprimentos de ligação nos haletos CuX_2 são:

CuF_2 4 ligações de 1,93Å e 2 ligações de 2,27Å

CuCl_2 4 ligações de 2,30Å e 2 ligações de 2,95Å

CuBr_2 4 ligações de 2,40Å e 2 ligações de 3,18Å

A Figura 03 ilustra um octaédro alongado, representativo dessa série de sais de cobre(II).

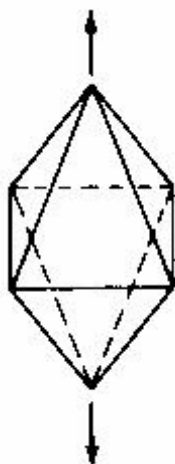


Figura 02. Octaedro tetragonalmente distorcido, com quatro ligações curtas num arranjo quadrado planar, e duas ligações mais longas em *trans*.

Os complexos de cobre (II) comumente apresentam número de coordenação 4 (tetraédrica ou quadrado planar), 5 (bipirâmide trigonal ou pirâmide de base quadrada) e 6 (octaédrica), como mostra a Figura 03 [4].

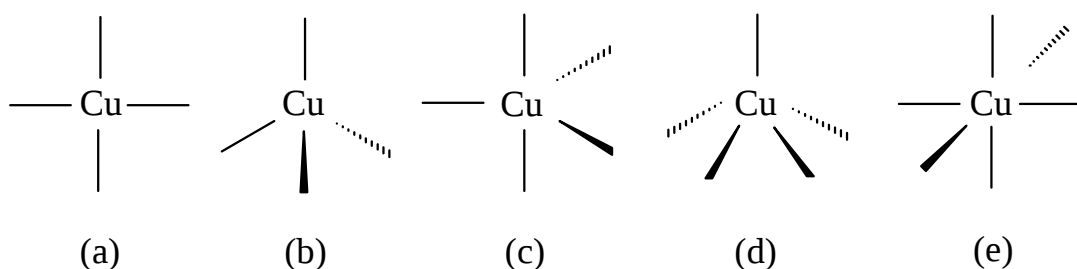


Figura 03. Possíveis geometrias ao redor do centro metálico cobre (II). (a) quadrado planar; (b) tetraédrica; (c) bipirâmide trigonal; (d) pirâmide de base quadrada; (e) octaédrica.

I.2 Propriedades biológicas do cobre

O cobre é o terceiro elemento de transição mais abundante no corpo humano (80 - 120 mg) depois do ferro (4,0 – 5,0 g) e do zinco (1,4 – 2,3 g). O cobre é um elemento vital para plantas e animais, mas algumas de suas funções não são tão bem entendidas e definidas como aquelas dos outros dois metais.

O uso medicinal do cobre é de fato, milenar. Em cerca de 3000 a.C., os egípcios utilizavam o cobre como um antisséptico para esterilizar água de beber. Em torno de 1500 a.C., há relatos do uso

medicinal de ungüentos à base de cobre. É conhecido há muito tempo, também, o uso de braceletes de cobre como um remédio popular para o tratamento de artrite.

No entanto, o cobre foi reconhecido pela primeira vez como elemento biológico essencial apenas em 1920, quando foi descoberto que dietas deficientes em cobre administradas a animais causavam anemia e que, além disso, sais de cobre corrigiam essa doença [5]. O reconhecimento do cobre como um elemento-traço para o desempenho de certas funções biológicas aconteceu nesta mesma década. Assim sendo, este metal é um componente catalítico para muitas enzimas, por exemplo, exibindo atividade redutase-oxidativa em oxidases e hidroxilases, auxiliando no transporte de elétrons na citocromo oxidase, atuando como co-fator em processos metabólicos envolvendo tecido articular/conectivo e sistema imunológico (daí seu papel como antiinflamatório), entre outros.

A Tabela 01 contempla algumas classes de biomoléculas contendo cobre, com ênfase em ocorrência e função [4].

Tabela 01. Principais tipos de biomoléculas de cobre [4]

Tipo	Ocorrência	Função
Citocromo oxidase	Mitocôndria	Oxidase terminal ($O_2 \rightarrow H_2O$)
Ceruloplasmina	Soro humano e animal	Transporte de Cu e Fe
Hemocianina	Moluscos e artrópodes	Transporte de oxigênio
Dopamina β -hidroxilase	Glândula supra-renal	Converte dopamina em norepinefrina
Superóxido dismutase	Glóbulos vermelhos	Desproporcionamento do íon O_2^{2-}

As propriedades biológicas do cobre, conhecidas há muito tempo, estimularam o desenvolvimento de numerosos complexos de Cu(II) contendo ligantes biologicamente ativos, uma vez que, em certos casos, drogas administradas na forma de compostos de coordenação apresentam uma maior atividade em relação aos derivados orgânicos livres [6-7].

Embora haja alguns relatos na literatura sobre tratamento de câncer e de doenças cardiovasculares a base de compostos de cobre(II), é sem dúvida no campo dos antiinflamatórios e dos bactericidas que estes sistemas merecem destaque.

I.2.1 Atividade Antiinflamatória

As propriedades medicinais do cobre e do agente antiinflamatório salicina, um glicosídeo do ácido salicílico (protótipo de muitas drogas antiinflamatórias não-esteroidais, NSAIDs) têm sido conhecidas por milhares de anos [9-11]. Há relatos do uso de extratos de salgueiro, fonte de salicina, para o alívio da dor e da febre pelos médicos gregos Hipócrates (πποκράτης) e Dioscórides (Διοσκορίδης).

A interação entre íons Cu(II) e drogas antiinflamatórias não-esteroidais (ácidos carboxamídicos-enólicos) conduziu à formação de complexos com elevada atividade antiinflamatória e toxicidade gastrointestinal reduzida, quando comparado com drogas puramente orgânicas. Estas drogas à base de cobre têm atraído enorme interesse devido à sua baixa toxicidade, uma vez que as terapias atuais causam efeitos colaterais de ordem renal, cardiovascular e gastrointestinal [5].

I.2.2 Atividades Fungicida e Bactericida

O uso de sais de cobre como fungicida também já é conhecido há muito tempo. A calda bordalesa, por exemplo, é obtida misturando-se uma solução de sulfato de cobre com cal (hidróxido de cálcio). A suspensão mais concentrada, conhecida como pasta bordalesa, é empregada para a proteção dos cortes resultantes das podas e da remoção de tecidos atacados por gomose e rubelose em citros.

As atividades fungicida e bactericida de compostos de Co(II), Cu(II), Zn(II) e Cd(II) contendo furazolidina foram investigadas por Narad *et al.* [12]. Dentre os complexos investigados, a espécie à base de cobre (II) apresentou uma atividade bactericida promissora frente aos microorganismos *Pseudomonas mangiferae*, *Bacillus pumillus* e *Salmonella typhi*.

Complexos de fórmula geral $[Cu(MAQ)_2X_{2-1}] \cdot nH_2O$ (MAQ = 2-metil-3-amino(3H)-quinazolin-4-ona; X = Cl⁻, Br⁻, ClO₄⁻, NO₃⁻, SCN⁻, SO₄²⁻) (ver Figura 04) foram testados como agentes fungicidas e bactericidas por Ramadan *et al.* [13]. Os resultados dos testes mostraram que os complexos de Cu(II) apresentaram uma atividade maior do que a do ligante livre frente aos fungos *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* e às bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

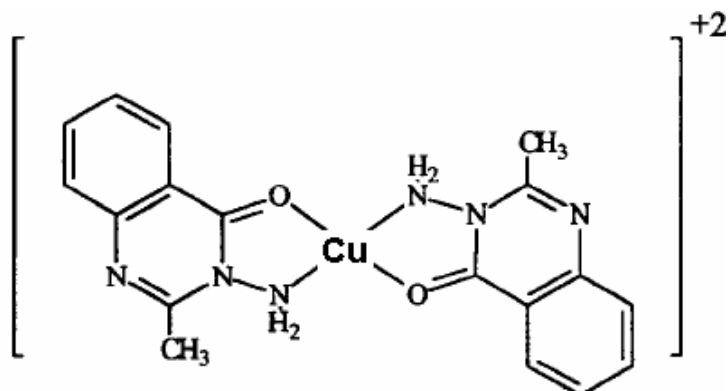


Figura 04. Estrutura do complexo de Cu(II) contendo o ligante MAQ [13].

Criado *et al.* [14] prepararam compostos de Ni(II), Cu(II) e Pt(II) contendo derivados tioureicos do éster metil-L-valina (Hetv, Hmtv). A atividade fungicida dos complexos foi testada frente aos agentes patogênicos *Colletotrichum fragariae*, *Rhizovtonia solani* e *Phoma betae*. O composto $[\text{Cu}(\text{mtv})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, cuja fórmula estrutural está representada na Figura 05, apresentou uma maior eficiência em relação aos análogos de níquel e platina.

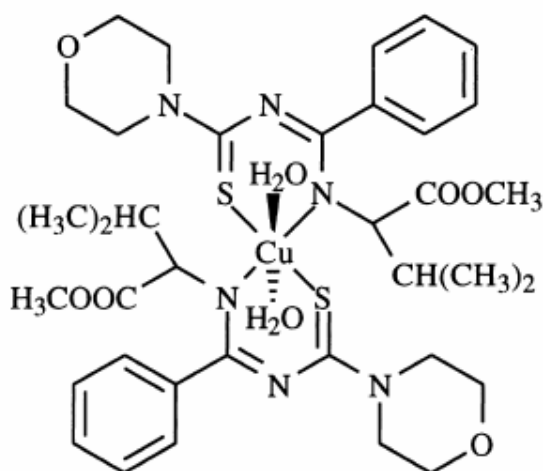


Figura 05. Estrutura do composto $[\text{Cu}(\text{mtv})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [14].

Complexos de Cu(II) e Au(I) contendo os ligantes clotrimazol (CTZ) e cetoconazol (KTZ) foram sintetizados e caracterizados por Navarro *et al.* [15]. Estes compostos apresentaram resultados superiores em relação aos ligantes livres na inibição da proliferação do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente causador do Mal de Chagas. Para o ligante CTZ, solubilizado em DMSO, foi observado 0% de inibição enquanto que para o complexo $[\text{Cu}(\text{CTZ})_4]\text{Cl}_2$, no mesmo solvente e concentração, observou-se uma inibição de 66%. Estas variações bruscas também foram relatadas quando se utiliza o ligante cetoconazol (KTZ).

Candida albicans é considerado um dos principais fungos patogênicos no corpo humano. Um estudo realizado por Devereux *et al.* [16] demonstrou que os complexos $[\text{Cu}(\text{TBZH})_2\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{EtOH}$ (Figura 06), $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2(\text{TBZH})_2]$ e $[\text{Cu}(\text{TBZH})(\text{O}_2\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CO}_2)]$ (TBZH = tiobendazol) apresentaram atividade inibitória significativa em seu crescimento.

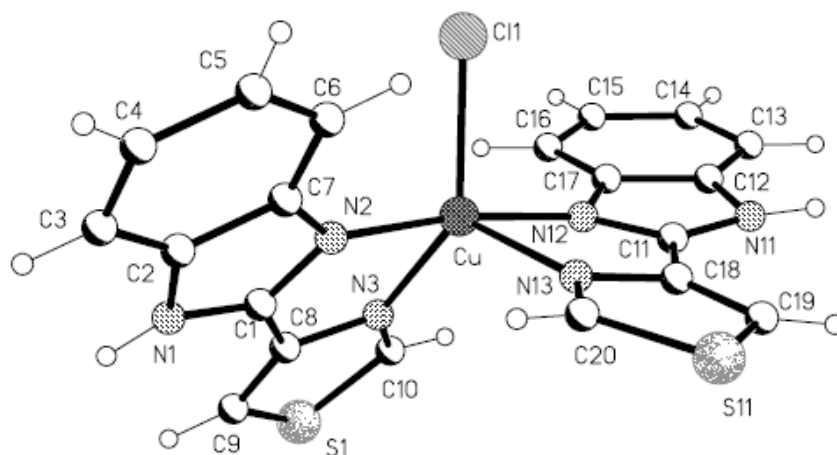


Figura 06. A estrutura do cátion em $[\text{Cu}(\text{TBZH})_2\text{Cl}]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{EtOH}$ [16].

Atividades bactericida e fungicida dos complexos de $\text{Cu}(\text{II})$ contendo os ligantes $\text{N},\text{N},\text{N}',\text{N}',\text{N}''$ -pentametildietenotriamina (PMDT) e polipiridinas [2,2'-bipiridina (bpy) e 1,10-fenantrolina (phen)] foram estudadas por Patel *et al.* [17]. O complexo $[\text{Cu}(\text{PMDT})(\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$, cuja estrutura cristalina está ilustrada na Figura 07, apresentou uma boa atividade biológica frente a *Pseudomonas pyocyanea* e *Klebsiella aerogens*.

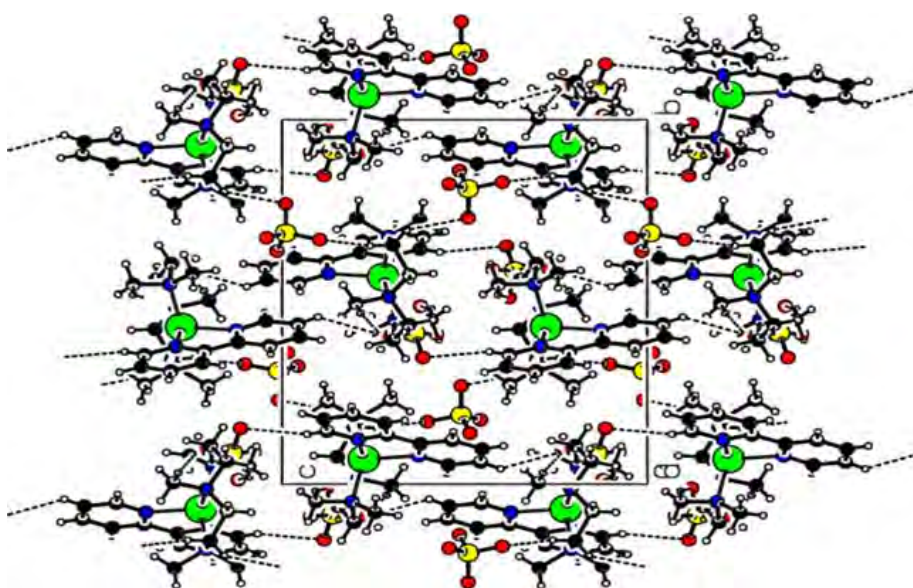


Figura 07. Célula unitária do composto $[\text{Cu}(\text{PMDT})(\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ [17].

Esse mesmo grupo de pesquisa indiano liderado por Patel [18] preparou também alguns complexos de Cu(II) ternários, contendo ligantes polipiridínicos [2,2':6',2"-terpiridina (tpy) e 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (tpzt)]. Os complexos [Cu(tpy)(phen)](ClO₄)₂ e [Cu(tpzt)(phen)](ClO₄)₂ apresentaram atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias, especialmente *Pseudomonas sp.* e *Aspergillus niger*.

I.3 Atividade antibiótica frente ao *Mycobacterium tuberculosis* (Bacilo de Koch)

A tuberculose é uma doença crônica-infecto-contagiosa, transmitida pelo bacilo de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*), que aparece na Figura 08 (micrografia obtida com microscópio óptico) como bastonetes de cor vermelha.

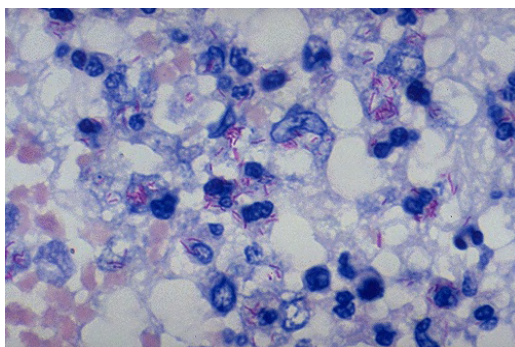


Figura 08. Corte de tecido pulmonar com *Mycobacterium tuberculosis*. Os bacilos aparecem corados em vermelho, pelo método de Ziehl-Nielsen.

Quando uma pessoa infectada tosse, elimina gotículas que contêm o bacilo. Se ele for aspirado por pessoas que estejam próximas ao paciente, o microorganismo distribui-se pelos pulmões e a doença pode se desenvolver, caso os mecanismos de defesa do organismo não estejam perfeitos. Caso contrário, esta bactéria permanece em estado de latência fisiológica durante longo tempo, assumindo o poder de parasitismo intracelular. A tuberculose se caracteriza anatomo-patologicamente pela presença de granulomas e de necrose caseosa central e é ainda uma enfermidade muito comum. Só no Brasil, ocorrem mais de 1000 novos casos por ano. Acredita-se que 30% da população mundial esteja infectada, o que não significa necessariamente que todos desenvolverão a doença (estima-se que de cada 100 pessoas que se infectam com o bacilo, cerca de 10 a 20 adoecerão). Essa micobactéria se caracteriza por ser álcool-ácido-resistente (BAAR) em colorações feitas no exame de

escarro ou outros líquidos, possuindo taxa de crescimento lento, levando seu cultivo em laboratório, cerca de seis semanas.

Com o aparecimento da AIDS (síndrome da imunodeficiência adquirida) ocorreu um novo surto da tuberculose, principalmente nos países desenvolvidos. Isso porque com a queda da imunidade do organismo, o bacilo encontra condições favoráveis para multiplicar-se e formar colônias, provocando as manifestações clínicas da doença. A tuberculose, portanto, constitui-se hoje uma ameaça à saúde mundial, posto que se trata de uma doença de alta mortalidade quando não tratada. Ocorre que a maioria das drogas usadas atualmente foram desenvolvidas no período entre as décadas de 1940 e 1960 (estreptomicina, etambutol, etionamida, etc.) [19], porque como a tuberculose era considerada uma doença do Terceiro Mundo, as indústrias farmacêuticas não tiveram interesse em desenvolver novas drogas para beneficiar países que não teriam recursos financeiros para comprá-las.

O tratamento é feito hoje com três fármacos diferentes: rifampicina, isoniazida e pirazinamida (RIP), sendo necessários seis meses de terapia para a erradicação do bacilo e diminuir a possibilidade de resistência às drogas. De qualquer modo, a resistência do *Mycobacterium tuberculosis* às drogas usuais vem crescendo lentamente e, portanto, o fracasso no tratamento tem ocorrido com certa frequência, especialmente em países que carecem de um sistema de saúde adequado para prover e acompanhar o tratamento, que é longo. Por essa razão, estima-se que dois milhões de pessoas tenham morrido de tuberculose só neste último ano de 2007 [20].

Não se pode esquecer, ainda, o fato de que mesmo com a eficácia do tratamento, em função de efeitos colaterais da quimioterapia (náuseas, vômitos e icterícia), uma parte não desprezível dos pacientes não completa o longo esquema de tratamento, preconizado pela Organização Mundial da Saúde.

Convém destacar, ainda, que só nos últimos vinte anos, é que apareceram novos medicamentos e formas de tratamento para essa enfermidade, particularmente úteis para os casos em que exista resistência dos bacilos às drogas clássicas dentre os quais destacam-se ciprofloxacina, moxifloxacina, levofloxacina, rifapentina e linezolida [20]. Porém, estes compostos também produzem diversos efeitos colaterais, e dessa forma, o acompanhamento médico é imperativo.

Portanto, o desenvolvimento de novas drogas sintéticas e menos tóxicas ao homem, reduzindo o tempo de tratamento e os efeitos colaterais, tem sido o foco de pesquisa de muitos cientistas de várias instituições de pesquisa.

O composto metálico $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{INH})]^{3-}$, um ferrocianeto associado à molécula da isoniazida (INH), por exemplo, exibiu um valor de CIM (concentração inibitória mínima) igual a 0,2 µg/mL [21]. Ele foi patenteado no Brasil e está em fase final de testes pré-clínicos com camundongos.

A resistência à droga é um fator limitante para o sucesso da quimioterapia da tuberculose e a avaliação da atividade bacteriostática e bactericida é essencial para estimar a susceptibilidade a drogas micobactericidas antes do tratamento [22].

Testes *in vitro* realizados frente ao *Mycobacterium tuberculosis* demonstraram que a atividade antimicobacteriana é aumentada quando cobre é fornecido em excesso com relação àquele normalmente presente no meio [23]. Erlenmeyer *et al.* [24-25] demonstraram que a ação tuberculostática da INH se potencializa na presença do íon cúprico, com o qual forma um quelato de estequiometria 1:1 (Figura 09).

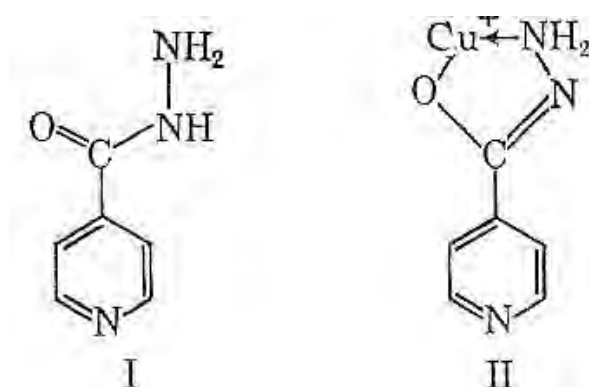


Figura 09. Estruturas da isoniazida (I) e do quelato com íon cúprico (II) [23].

Neste contexto, Bottari et al. [26] sintetizaram complexos de Cu(II) e Ni(II) de fórmula geral $[ML_2(H_2O)_2]$ (L = isonicotinoilhidrazona). A atividade antimicobacteriana in vitro destes complexos foi testada frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv e comparada com aquela apresentada pelos ligantes livres, que são derivados da isoniazida. Grande parte dos compostos submetidos ao ensaio exibiu valores de CIM $\leq 0,2 \mu\text{g/mL}$, que são considerados extremamente satisfatórios.

Craciunescu [27] sintetizou e caracterizou complexos de Cu(II) e Co(II) de fórmula geral $[M(INH)(C_6H_5COO)_2]$ $\{(C_6H_5COO) = \text{benzoato}\}$. Testes in vitro foram realizados frente a cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, determinando assim a resistência ou a sensibilidade dos bacilos frente a estes compostos. Para ambos os compostos, as cepas mostraram ser sensíveis para as concentrações de 0,2 e 0,5 $\mu\text{g/mL}$.

I.4 Pirazóis

I.4.1 A Química de Coordenação dos Pirazóis

Azóis são heterociclos aromáticos contendo um átomo de nitrogênio e um outro heteroátomo, dispostos na posição-1,2 de um anel de cinco membros. Os pirazóis pertencem à família dos 1,2-azóis, juntamente com os isotiazóis e isoxazóis [28-30], cujas fórmulas estruturais estão ilustradas na Figura 10.

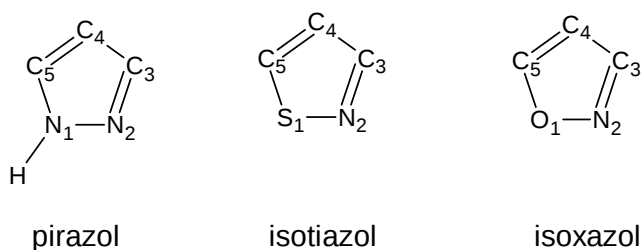


Figura 10. Fórmulas estruturais dos 1,2-azóis.

A química dos compostos de coordenação contendo pirazóis permaneceu quase esquecida até a década de 1950, mas a partir de 1960 os complexos pirazólicos voltaram a receber uma maior atenção. Em 1972, Trofimenko [31] publicou o primeiro trabalho de revisão relatando a química de coordenação dos pirazóis e, desde então, os complexos pirazólicos vêm atraindo bastante atenção da comunidade científica no que diz respeito às suas propriedades físico-químicas e biológicas. Visto o expressivo número de publicações envolvendo complexos pirazólicos nos principais periódicos internacionais, Trofimenko [32] novamente abordou a química de coordenação dos pirazóis em 1986 detalhando o desenvolvimento da área após o seu primeiro trabalho de revisão. Em 1996, Sadimenko *et al.* [33] reportaram os avanços na química de compostos organometálicos contendo pirazóis e Ardizzoia *et al.* [34] publicaram um trabalho de revisão em 1997 reportando o desenvolvimento da química de coordenação dos pirazóis nas últimas décadas.

Os pirazóis possuem uma rica química de coordenação pela capacidade de atuarem como ligantes neutros monodentados (a), aniônicos monodentados (b), aniônicos exobidentados (c), aniônicos endobidentados (d) ou penta-hapto - η^5 (e), conforme mostra a Figura 11.

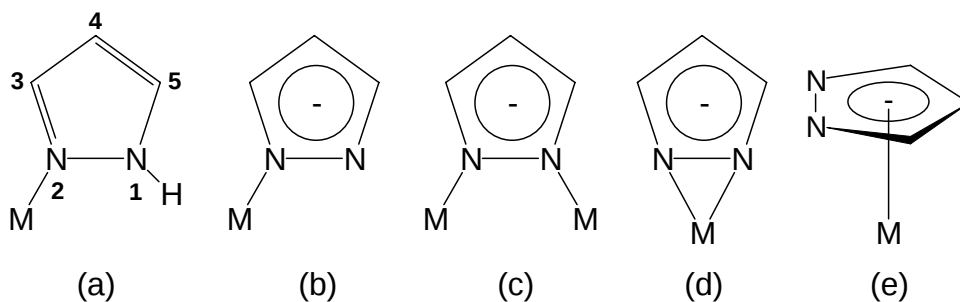


Figura 11. Modos de coordenação dos ligantes pirazólicos: neutro monodentado (a), aniônico monodentado (b), aniônico exobidentado (c), aniônico endobidentado (d), penta-hapto, η^5 (e).

O número de pirazóis coordenados depende de fatores como a capacidade coordenante do ânion abandonador X, a natureza do íon metálico e a substituição no anel pirazólico. Sun *et al.* [35] prepararam os complexos $[\text{CuCl}_2(\text{pz})_4]$ (Figura 12), $[\text{CuCl}_2(\text{pz}^{\text{tert-but}})_4]$ e $[\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2(\text{pz}^{\text{tert-but}})_4]$. Vale ressaltar que a determinação da estrutura do complexo $[\text{CuCl}_2(\text{pz})_4]$ já havia sido feita por Mighell *et al.* [36], em 1975, pelo método de difração de nêutrons.

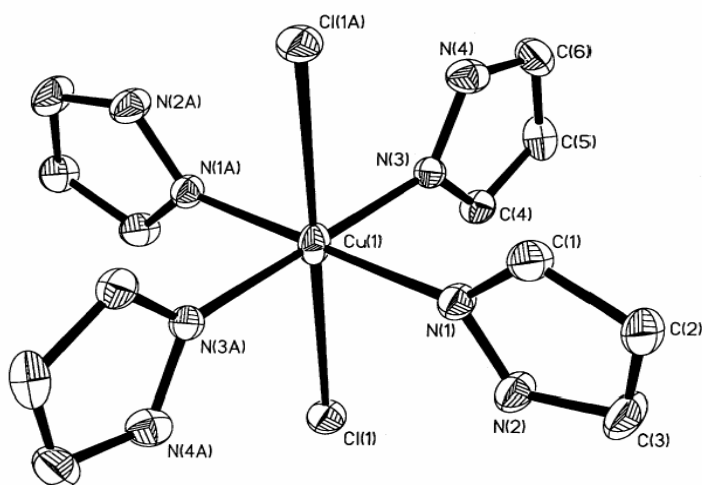


Figura 12. Estrutura do complexo $[\text{CuCl}_2(\text{HPz})_4]$ [36].

Outro exemplo do modo de coordenação monodentado neutro para o pirazol é observado no trabalho de Godoy Netto *et al.* [37], no qual foram descritas a obtenção e caracterização estrutural do complexo *trans*- $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HPz})_2]$ (Figura 13) a partir da reação entre $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$, pirazol (HPz) e subsequente adição de tiocianato de potássio em uma mistura de clorofórmio-metanol.

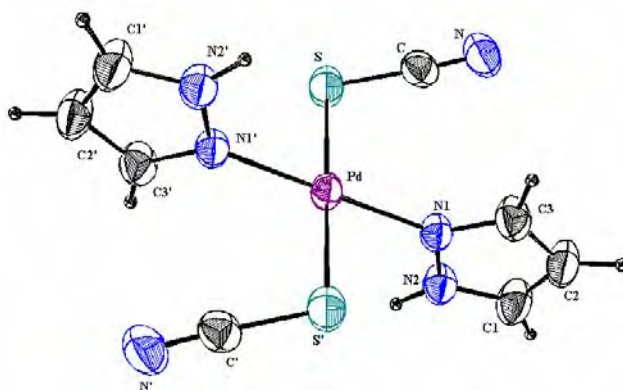


Figura 13. Estrutura molecular do complexo *trans*-[Pd(SCN)₂(HPz)₂] [37].

Bourrouet *et al.* [38] sintetizaram e caracterizaram um complexo octaédrico de Cu(II) contendo sacarinato e pirazol (Figura 14). Os sítios de coordenação do centro metálico estão ocupados por duas moléculas de pirazol, duas moléculas de água e dois ligantes sacarinato na configuração *trans*. O grupo –NH forma ligações de hidrogênio com o átomo de oxigênio da molécula de água coordenada.

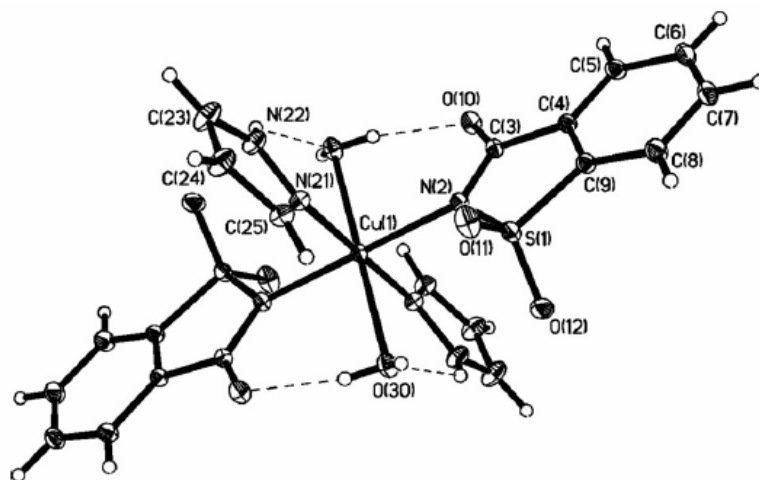


Figura 14. Estrutura do complexo [Cu(sac)₂(HPz)₂(H₂O)₂] [38].

O comportamento exobidentado do grupo pirazolato é observado nos estudos de Kavlakoglu *et al.* [39] que sintetizaram um complexo tetranuclear de cobre, mostrado na Figura 15, no qual duas unidades diméricas estão ligadas através de dois grupos pirazolato em ponte. A fórmula molecular do composto é [Cu₄(pz)₄L₂].ClO₄ (LH = 1,3-diamino-2-propanol, HPz = pirazol).

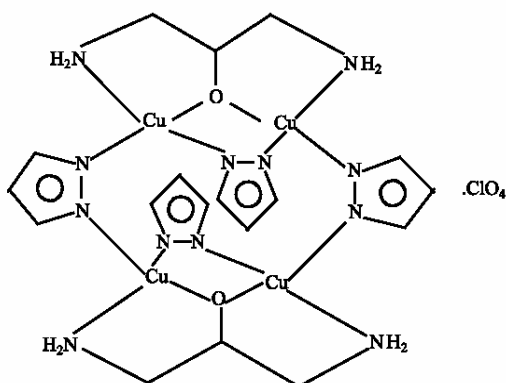


Figura 15. Estrutura do complexo $[Cu_4(Pz)_4L_2].ClO_4$ [39].

O tetrâmero $[Cu_4(prz)_4(CH_3OH)_2L_2](ClO_4)_2$ (LH = 1,1-di-(2-piridina)-1-metoximetanol) e (Przh = pirazol)), descrito por Manzur *et al.* [40], apresenta em sua estrutura íons Cu^{2+} com duas geometrias de coordenação distintas, quadrado planar e pirâmide de base quadrada, conforme ilustrado na Figura 16.

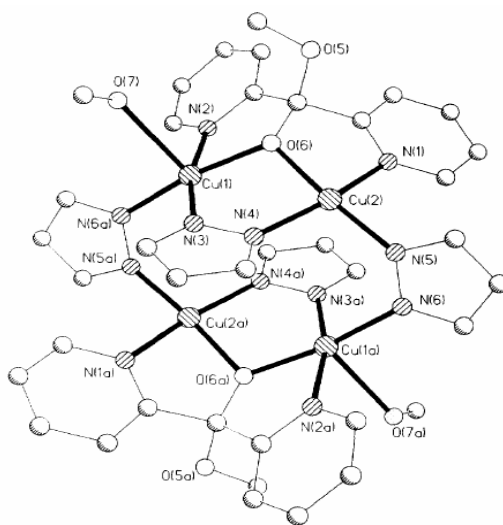


Figura 16. Estrutura do complexo $[Cu_4(prz)_4(CH_3OH)_2L_2].(ClO_4)_2$ [40].

Compostos pirazólicos de maior dimensionalidade também podem ser obtidos. Ehlert *et al.* [41-42] sintetizaram e caracterizaram os polímeros de coordenação de cobre (II) $[Cu(4-Xpz)_2]_n$ (X = H, CH₃, Cl, Br) e $[Cu(Xdmpz-4)_2]_n$ (X = H, Cl, Br, I, CH₃; dmpz = 3,5-dimetilpirazol). As Figuras 17 e 18 ilustram, respectivamente, a estrutura cristalina do complexo $[Cu(4-Xdmpz)_2]_x$ e a micrografia de varredura eletrônica do polímero $[Cu(4-Hdmpz)_2]_x$.

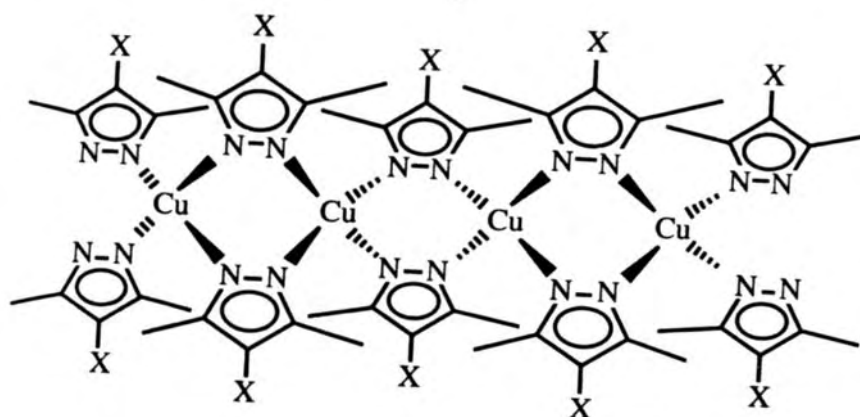


Figura 17. Estrutura cristalina do complexo $[Cu(4-Xdmpz)_2]_x$ [41-42].

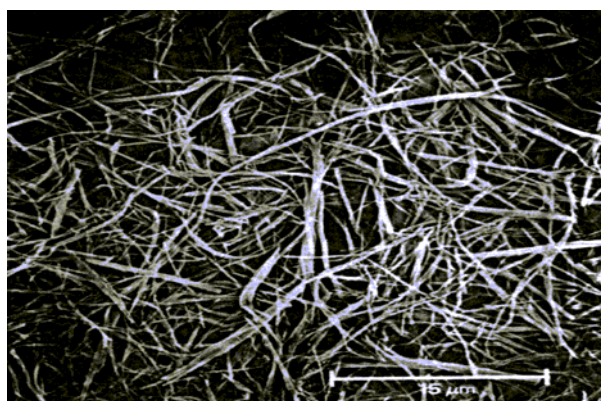


Figura 18. Micrografia de varredura eletrônica do polímero $[Cu(4-Hdmpz)_2]_x$ [41-42].

I.4.2 Propriedades Biológicas do Pirazol

Derivados de pirazol e pirimidina têm atraído o interesse dos químicos devido a suas importantes propriedades biológicas e quimioterápicas, como por exemplo, atividades antiinflamatória, antipirética, hipnótica, antiartrite, bactericida, fungicida, entre outras [43].

Ésteres do ácido 1*H*-pirazol-3-carboxílico incorporados em nucleosídeos pirazólicos mostraram uma potente atividade seletiva anti-tumoral/anti-viral [44]. Tsutomu *et al.* descobriram que o éster do ácido 1*H*-pirazol-4-carboxílico atua como herbicida e microbiocida agrícolas [45]. Além disso, foi observado que o ácido 1*H*-pirazol-4-carboxílico e seus ésteres quando expostos aos testes bacteriológicos *in vitro* mostraram atividade contra algumas espécies de bactérias Gram-positivas [46-47].

Alguns compostos derivados do 3(5)-aminopirazol, patenteados por Paolo *et al.* [48], apresentaram promissora atividade no tratamento de câncer, do Mal de Alzheimer, doenças neurodegenerativas, doenças auto-imunes e de células autoproliferativas.

Derivados de benzopirranopirazol também apresentam uma larga gama de propriedades farmacológicas como analgésica, antiinflamatória, antimicrobiana e atividades imunomoduladoras [49]. Há relatos na literatura sobre derivados do 4-carbohidrazidapirazol, um análogo da 4-carbohidrazidapiridina (isoniazida), apresentando potenciais atividades farmacológicas.

Zalaru *et al.* [50] sintetizaram moléculas farmacologicamente ativas análogas à lidocaína, contendo anéis pirazólicos em suas estruturas, conforme está ilustrado na Figura 19.

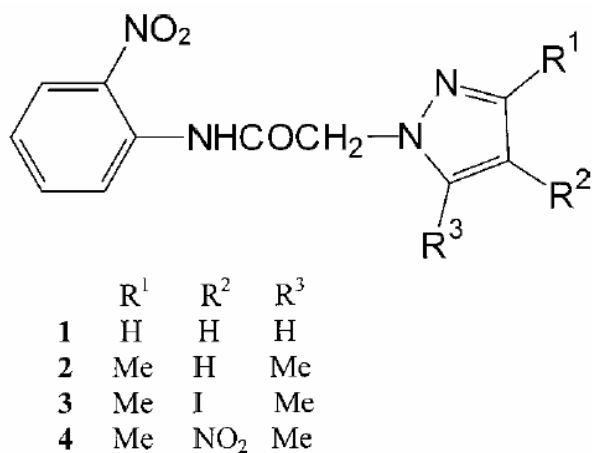


Figura 19. Estrutura química dos compostos 1-4 [50].

Estudos farmacológicos indicaram que estes compostos pirazólicos apresentaram atividade anestésica na seqüência 3 > 4 > 1 > 2. O composto 2 foi o mais efetivo nos testes de ação antiarrítmica, possuindo atividades de 88 % e 56 % relativas à lidocaína e à quinidina, respectivamente.

Há, também, moléculas pirazólicas com comprovada ação inseticida, como o composto licenciado para uso comercial Fipronil®, um derivado do fenilpirazol (Figura 20). As formulações do Fipronil® têm sido desenvolvidas para solo, folhagem, isca para insetos e aplicações para tratamento de semente, apresentando atividade para uma vasta ordem de insetos, incluindo *Blattaria*, *Díptera*, *Hymenoptera*, *Orthoptera* e *Lepidoptera*. Uma formulação de Fipronil® foi recentemente introduzida para controlar insetos do milho [51].

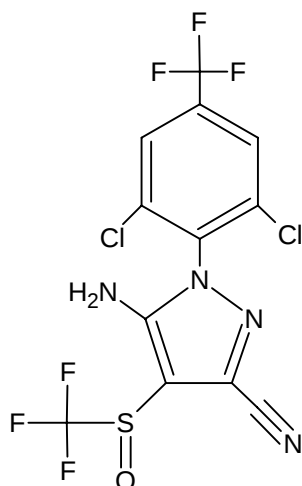


Figura 20. Estrutura do Fipronil® [51].

Fenpyroximate® (*terc-butil(E)-α-(1,3-dimetil-5-fenoxipirazol-4-ilmetilenoamino-oxi)-p-toluato*) (Figura 21) é um potente acaricida desenvolvido pela Nihon Nohyaku Co. Ltda. Esse composto exibe atividade contra ácaros fitófagos, como *Tetranychus urticae* Koch e *Panonychus citri*. Esse composto é altamente seletivo e apresenta pouca ou nenhuma toxicidade para insetos, ácaros parasitas de animais e ácaros que vivem no solo [52].

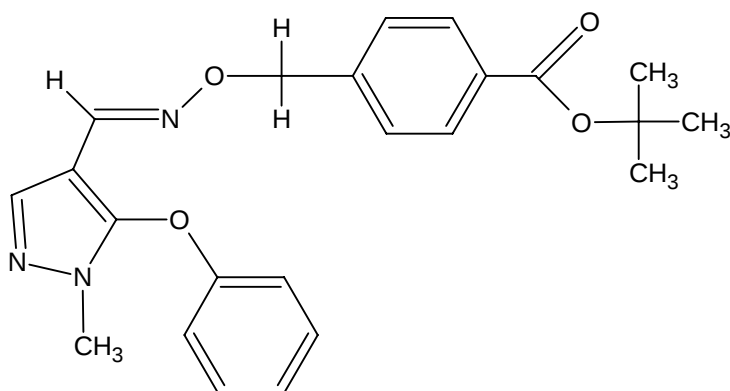


Figura 21. Estrutura do Fenpyroximate® [52].

I.4.3 Propriedades Biológicas de Complexos Pirazólicos

Compostos de fórmula geral $[Au(L)(PPh_3)]$ (L = pirazol, imidazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol) demonstraram atividade antimicrobiana seletiva e efetiva contra duas bactérias Gram-positivas, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, e atividade relativamente baixa contra a levedura *Candida albicans*.

[53]. Na busca de novos quimioterápicos, Sakai et al. [54] demonstraram que o complexo cis-[PtCl₂(HPz)₂] apresentou fraca atividade anti-tumoral frente às células humanas cancerosas colo-retais (DLD-1, HCT15 e HT29) e gástricas (AGS). Komeda et al. [55] compararam a citotoxicidade de alguns complexos azólicos de Pt(II) com a cisplatina frente às linhagens de células humanas cancerosas MCF7 e EVSA-T (câncer de bexiga), WIDR (câncer de cólon), IGROV (câncer de ovário), M19 (melanoma), A498 (câncer renal) e H226 (câncer de células pulmonares). Dentre os compostos estudados, destaca-se o complexo catiônico [Pt₂(μ-Pz)(μ-OH)(NH₃)₄](NO₃)₂ (Figura 22) que demonstrou ser 39 vezes mais efetivo que a cisplatina frente a linhagem MCF7 e 37 vezes mais citotóxico do que a cisplatina frente à M19.

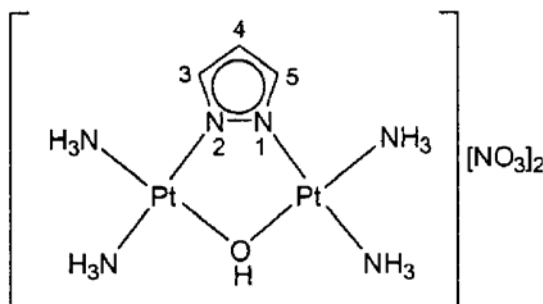


Figura 22. Fórmula estrutural do complexo [Pt₂(μ-Pz)(μ-OH)(NH₃)₄](NO₃)₂ [55].

Fan et al. [56] sintetizaram e caracterizaram espectroscopicamente os compostos [Au(pz)Cl₂]₂ e [Au(mpz)Cl₂]₂, que foram submetidos a testes *in vitro* contra as linhagens de células MOLT-4 (leucemia humana) e C2C12 (tumor de camundongo). Os resultados obtidos desses ensaios demonstraram que estes complexos são ligeiramente mais citotóxicos do que a cisplatina.

II. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivos:

- i. Síntese, caracterização espectroscópica e estrutural de complexos de cobre(II) contendo ligantes pirazólicos {HL = pirazol (HPz), 3,5-dimetilpirazol (HdmPz), 4-iodopirazol (HIPz), 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz)} e o pseudo-haleta tiocianato como co-ligante;
- ii. Síntese e caracterização espectroscópica de complexos de cobre(II) contendo moléculas biologicamente ativas {L = isoniazida (INH), pirazinamida (PZA), rifampicina (RMP)};
- iii. Investigação da inibição do crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* mediada pelos compostos obtidos.

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1 Procedência dos Reagentes e Solventes

Os reagentes (p.a.) foram utilizados nas sínteses sem purificação prévia. Os ligantes 3,5-dimetilpirazol (HdmPz) e 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz) foram preparados de acordo com métodos descritos na literatura [57-58]. Os solventes (p.a.) empregados nas reações foram tratados com peneira molecular e armazenados em frascos de vidro escuro. A procedência dos reagentes e solventes utilizados neste trabalho está compilada na Tabela 02.

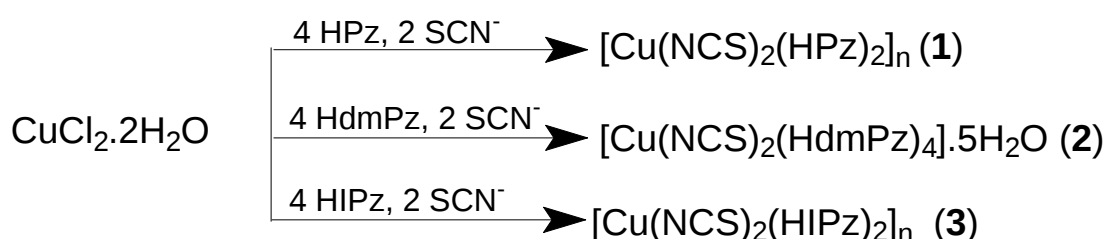
Tabela 02. Procedência de reagentes e solventes

Reagentes	Procedência	Solventes	Procedência
Brometo de cobre	Riedel-de-Haen	Acetonitrila	Merck
Cloreto de cobre dihidratado	Riedel-de Haen	Acetona	Merck
Sulfato de cobre pentahidratado	Cromato Produtos Químicos	Álcool etílico	Merck
Pirazol	Aldrich	Álcool metílico	Merck
4-Iodopirazol	Aldrich	Benzeno	Merck
Tiocianato de potássio	Riedel-de Haen	Clorofórmio	Merck
Isoniazida	Merck	Diclorometano	Merck
Pirazinamida	Merck	Pentano	Merck
Rifampicina	Merck	Tetra-hidrofurano	Merck
		Dimetilsulfóxido	Merck

III.2 Metodologias de Síntese

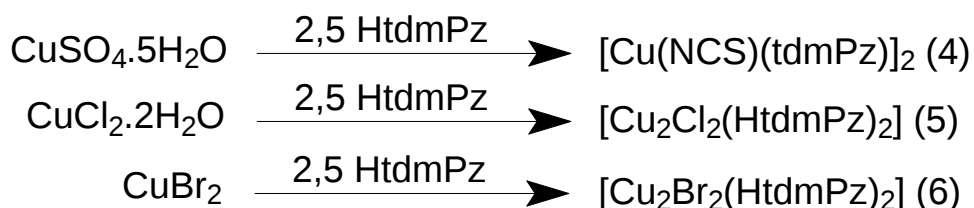
III.2.1 Metodologia para preparação dos complexos contendo o íon tiocianato e ligantes pirazólicos (1-3)

Os complexos de cobre, foram preparados em metanol, à temperatura ambiente, conforme o esquema abaixo:



III.2.2 Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (4-6)

Os complexos contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz) foram preparados conforme procedimento da literatura, com algumas modificações [58-60], conforme o esquema abaixo:

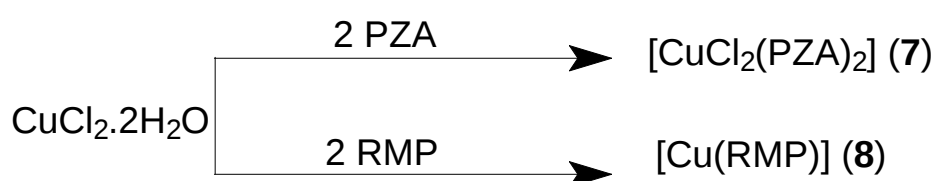


Cabe destacar que apesar de já serem conhecidos da literatura, esses compostos foram preparados neste trabalho por serem potencialmente relevantes para a realização dos ensaios biológicos.

III.2.3 Metodologia para preparação dos compostos contendo moléculas biologicamente ativas (7-10)

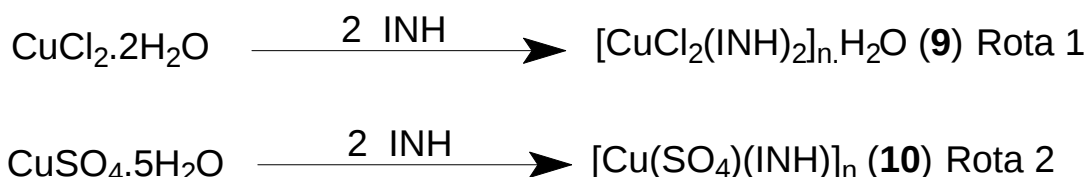
✓ *Complexos de Cu(II) contendo pirazinamida e rifampicina*

Os complexos de cobre(II) contendo as moléculas biologicamente ativas pirazinamida e rifampicina, foram preparados em metanol, conforme o esquema abaixo:



✓ *Complexos de Cu(II) contendo isoniazida*

Dois procedimentos sintéticos foram adotados na preparação dos derivados de Cu(II) com a isoniazida, conforme o esquema abaixo:



III.3 Preparação dos Compostos

Os ligantes utilizados nas sínteses dos complexos foram o pirazol (HPz), 3,5-dimetilpirazol (HdmPz), 4-iodopirazol (HIPz), 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz) e as moléculas biologicamente ativas isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) e a rifampicina (RMP) (ver lista de fórmulas estruturais no início dessa Dissertação).

III.3.1 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]_n$ (1)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob intensa agitação magnética e temperatura próxima a 25°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,160 g (2,35 mmol) de pirazol (HPz), obtendo-se uma solução azul. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução metanólica contendo 0,114 g (1,17 mmol) de tiocianato de potássio (KSCN), resultando em uma solução verde escura. A agitação magnética foi mantida durante 1h e 20 minutos. A partir da evaporação lenta do solvente, observou-se a formação de cristais verdes. Rendimento: 47,4%.

III.3.2 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob intensa agitação magnética e temperatura próxima a 25°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,160 g (2,35 mmol) de 3,5-dimetilpirazol (HdmPz), obtendo-se uma solução azul. Em seguida, gotejou-se cerca de 5,0 mL de uma solução metanólica contendo 0,114 g (1,17 mmol) de tiocianato de potássio (KSCN) e o meio reacional foi mantido sob agitação durante 1h e 45 minutos, não tendo sido observada a formação de suspensão. A evaporação da solução conduziu a obtenção de um composto viscoso de cor verde escura. Esta massa viscosa foi solubilizada em clorofórmio e precipitada na forma de um sólido não cristalino verde musgo, após a adição de pentano. O composto obtido é bastante solúvel em acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano e etanol. Rendimento: 77,5%. P.f. (°C) = 216. Análise elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_{22}\text{N}_{10}\text{H}_{42}\text{O}_5\text{S}_2$) %C = 39,4 (40,4); %N = 21,9 (21,4); %H = 3,73 (3,57).

III.3.3 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]_n$ (3)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob intensa agitação magnética e temperatura próxima a 25°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,160 g (2,35 mmol) de 4-iodopirazol (HIPz), obtendo-se uma solução azul. Em seguida, gotejou-se

cerca de 5,0 mL de uma solução metanólica contendo 0,114 g (1,17 mmol) de tiocianato de potássio (KSCN), resultando em uma solução verde escura. A agitação magnética foi mantida durante 1h e 45 minutos. A partir da evaporação lenta do solvente, foram obtidos cristais de cor verde bandeira. O composto cristalino apresentou solubilidade em acetonitrila, DMSO e THF. Rendimento: 63,0%. P.f. (°C) = 207 (dec.). Análise elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_8\text{N}_6\text{H}_6\text{S}_2\text{I}_2$) %C = 16,7 (16,9); %N = 13,8 (14,6); 1,01 (1,06).

III.3.4 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})(\text{tdmPz})]_2$ (4) [58]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (4,00 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,243 g (1,56 mmol) de 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz), obtendo-se uma suspensão de cor verde oliva. Após 10 min de agitação, suspendeu-se o aquecimento e manteve-se a agitação magnética por mais 1 h, obtendo-se um sólido marrom, que foi isolado a partir de uma filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e THF. Rendimento: 56,0%. P.f. (°C) = 46,0 (dec.). Análise Elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_7\text{N}_4\text{H}_8\text{S}_2$) %C = 28,9 (30,5); %N = 18,3 (20,3); %H = 2,55 (2,92). Convém destacar que a presença do grupo NCS^- na esfera de coordenação desse composto está associada a uma provável decomposição parcial do ligante HtdmPz.

III.3.5 Preparação do composto $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (5) [59]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,228 g (1,47 mmol) de 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz), obtendo-se uma suspensão de cor verde-amarelada; após 10 min de agitação, desligou-se o aquecimento. A agitação magnética foi mantida por 3 h, obtendo-se uma suspensão alaranjada, da qual o sólido foi isolado a partir de uma filtração, lavado com metanol gelado e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em acetonitrila, DMSO e DMF. Rendimento: 58,0%. P.f. (°C) = 62,0 (dec.). Análise Elementar: *obtido* (calculado para $\text{Cu}_2\text{C}_{12}\text{N}_6\text{H}_{18}\text{S}_2\text{Cl}_2$) %C = 28,1 (28,4); %N = 16,4 (16,5); %H = 3,19 (3,57).

III.3.6 Preparação do composto $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (6) [60]

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,448 mmol) de brometo de cobre (CuBr_2), dissolvido em 20 mL de água (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50°C , foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,174 g (1,12 mmol) de 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz), obtendo-se uma suspensão de cor verde amarronzado. Após cessado o aquecimento, a agitação magnética foi mantida por mais 3 h, após as quais obteve-se um sólido amarelo alaranjado, que foi isolado via filtração simples, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e DMF. Rendimento: 61,0%. P.f. ($^\circ\text{C}$) = 78,0 (dec.). Análise Elemental: *obtido* (calculado para $\text{Cu}_2\text{C}_{12}\text{N}_6\text{H}_{18}\text{S}_2\text{Br}_2$) %C = 23,1 (24,1); %N = 14,0 (14,1); %H = 3,09 (3,04).

III.3.7 Preparação do composto $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (7)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 25°C , foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,144 g (1,17 mmol) da molécula biologicamente ativa pirazinamida, resultando em uma suspensão de cor verde água. A agitação magnética foi mantida durante 3 h, o composto foi isolado a partir da filtração da suspensão, em seguida foi lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel apenas em DMSO. Rendimento: 45,0%. P.f. ($^\circ\text{C}$) > 250. Análise Elemental: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_{10}\text{N}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{Cl}_2$) %C = 30,0 (31,8); %N = 21,5 (22,2); %H = 2,60 (2,13).

III.3.8 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (8)

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de cloreto de cobre dihidratado ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob intensa agitação magnética e temperatura próxima a 25°C , foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,965 g (1,17 mmol) de rifampicina (RMP), obtendo-se uma suspensão marrom. A agitação magnética foi mantida durante 3 h, o composto foi isolado a partir de uma filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em acetona, dicloroetano, DMSO, THF, DMF. Rendimento:

65,0%. P.f. (°C) > 250. Análise Elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_{43}\text{N}_4\text{H}_{56}\text{O}_{12}$) %C = 57,4 (58,4); %N = 6,20 (6,33); %H = 6,07 (6,38).

III.3.9 Preparação do composto $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (9) – Rota 1

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,100 g (0,587 mmol) de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dissolvido em 20 mL de metanol (solução verde clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 25°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,161 g (1,17 mmol) da molécula isoniazida, conduzindo à formação de uma suspensão de cor mostarda. A agitação magnética foi mantida durante 3 h, o composto de cor verde-musgo obtido foi isolado a partir de uma filtração, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto obtido é solúvel em DMSO e DMF. Rendimento: 52,0%. P.f. (°C) = 153 (dec.). Análise Elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_{12}\text{N}_6\text{O}_3\text{H}_{16}\text{Cl}_2$) %C = 31,8 (33,8); %N = 21,4 (19,7); %H = 2,47 (2,38).

III.3.10 Preparação do composto $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (10) – Rota 2

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,200 g (0,801 mmol) de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dissolvido em 30 mL de metanol (solução azul clara), sob agitação magnética e temperatura próxima a 50°C, foi gotejada uma solução metanólica contendo 0,220 g (1,60 mmol) da molécula biologicamente ativa isoniazida, conduzindo a formação de uma suspensão de cor verde-água. Após 1 h de agitação e aquecimento, observou-se a formação de uma suspensão verde escura, em seguida, desligou-se o aquecimento e manteve a agitação magnética por 24 h. O composto verde escuro obtido foi filtrado, lavado com metanol e seco sob vácuo. O composto é solúvel em DMF e DMSO. Rendimento: 52,0%. P.f. (°C) = 260 (dec.). Análise Elementar: *obtido* (calculado para $\text{CuC}_6\text{N}_3\text{H}_7\text{O}_5\text{S}$) %C = 25,5 (24,3); %N = 14,0 (14,2); %H = 2,47 (2,38).

III.4 Testes Microbiológicos para Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) [61]

Em colaboração com a Prof^a. Dr^a. Clarice Queico Fujimura Leite e o pós-graduando Fernando Rogério Pavan, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP e Dr^a. Daisy Nakamura Sato, do Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto, foram realizados ensaios microbiológicos para os complexos **1 – 10** com o intuito de determinar sua capacidade de inibir a reprodução do *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose humana, linhagem H37Rv ATCC – 27194.

III.4.1 Preparação do caldo de Middlebrook 7H9 suplementado com OADC (ácido oléico, albumina bovina fração V, glicose e catalase).

Uma massa de 4,7 g do meio 7H9 foi diluída em 900 mL de água destilada, acrescentando-se 2,0 mL de glicerol. Após homogeneização, o meio foi esterilizado a 121 °C por 15 minutos. Após resfriamento, adicionou-se ao meio a mistura enriquecedora (OADC).

III.4.2 Preparação do meio de Löwenstein-Jensen (LJ)

O meio de LJ é uma mistura preparada para proporcionar a produção das bactérias que são usadas nos testes. Ovos caipiras frescos, esterilizados com álcool 70%, foram quebrados e adicionados à base do meio, que possui a formulação apresentada na Tabela 03.

Tabela 03. Formulação do meio LJ

Componente	Massa (g) ou volume (mL)
Fosfato monopotássico	2,5 g
Sulfato de magnésio	0,24 g
Citrato de magnésio	0,60 g
L-asparagina	3,6 g
Água destilada	600 mL
Glicerol	12,0 mL
Verde malaquita	0,40 g

A base do meio foi esterilizada a 120 °C durante 15 minutos. Após o resfriamento, 1000 mL de ovos caipiras foram adicionados. O meio foi transferido para tubos de rosca e coagulado a 85 °C por 40 minutos.

III.4.3 Preparação da solução reveladora

Foi preparada uma mistura 1:1 v/v contendo azul de Alamar (ACCUMED INTERNATIONAL) e solução de Tween 80 (INTERLAB) a 10%. Esta mistura foi preparada imediatamente antes da adição aos orifícios da microplaca.

III.4.4 Preparação da suspensão bacteriana

Foi transferida uma alçada cheia de bactérias, proveniente do meio de LJ, para um tubo de ensaio contendo esferas de vidro e 0,50 mL de água destilada estéril (120°C, em autoclave). Após agitação para a desagregação da massa celular, foi adicionada um volume adicional de 2,0 – 3,0 mL de água estéril. Após nova agitação, gotas desta suspensão foram transferidas para um outro tubo contendo água, até turvação equivalente à escala McFarland nº 1. A partir desta suspensão, foram feitas diluições sucessivas, conforme descrito a seguir: para uma diluição igual a 10^{-1} , um volume de 0,50 mL desta suspensão foi transferido para um tubo contendo 4,50 mL de água estéril; para uma diluição igual a 10^{-2} , foi transferido um volume de 0,50 mL da suspensão obtida anteriormente para outro tubo contendo 4,5 mL de água estéril e assim sucessivamente até obtenção das diferentes diluições da suspensão.

III.4.5 Determinação da CIM em microplaca utilizando azul de Alamar como revelador

A determinação da CIM frente às cepas padrões de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv foi realizada segundo técnica proposta por Franzblau [61]. Em uma microplaca estéril BECTON DICKINSON de 96 orifícios, distribuídos em oito fileiras horizontais e doze verticais, conforme ilustra a Figura 23, foram depositados 200 µL de água destilada estéril em todos os orifícios da periferia da microplaca, para evitar a evaporação durante a incubação na estufa. Cada orifício recebeu um volume total igual a 200 µL entre o meio 7H9, o complexo sólido e a suspensão bacteriana. Os orifícios restantes foram usados para os controles necessários: controle do meio (200 µL de meio 7H9, sem bactérias), controle positivo (100 µL de meio 7H9 + 100 µL de suspensão bacteriana) e controle da droga (150 µL de meio 7H9 + 50 µL da droga a ser testada). As placas foram, então, seladas com parafilme e incubadas a 37 °C, e após o 5º dia de incubação, foram adicionados 25 µL do indicador azul de Alamar em cada um dos orifícios que continha o controle positivo.

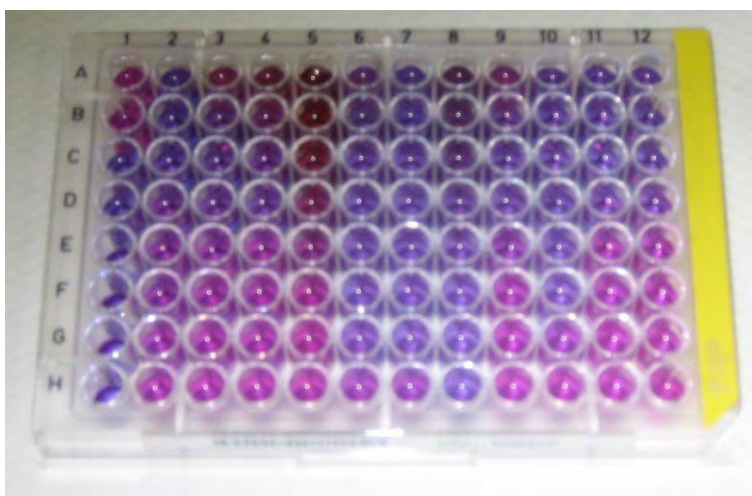


Figura 23. Placa de 96 orifícios utilizada para os ensaios microbiológicos.

III.4.6 Leitura e obtenção dos resultados

III.4.6.1 Método da microdiluição em placa

A manutenção da cor azul nos orifícios é interpretada como ausência de crescimento bacteriano, enquanto que o desenvolvimento de uma coloração rósea, como presença de crescimento bacteriano. Isto significa que quando as bactérias aeróbicas estão vivas e, portanto, consumindo oxigênio molecular, o indicador azul de Alamar adquire a cor rosa, pois está em sua forma reduzida. Por outro lado, se ocorrer a inibição do crescimento bacteriano, o meio de cultura estará rico em O₂, que irá, então, oxidar o indicador e este adquirirá a cor azul. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) é, então, definida como a menor concentração da droga capaz de impedir a mudança de cor de azul para rosa.

III.4.6.2 Avaliação da ação bactericida ou bacteriostática

Baseando-se nos valores de CIM obtidos após o período de experimentação, foi inoculada uma alçada da primeira solução, onde não foi observado crescimento bacteriano, em um tubo contendo o meio de LJ. Após o período de incubação necessário, foi observado o aparecimento ou a ausência de colônias de micobactérias.

III.5 Testes Citológicos para Determinação da Citotoxicidade (IC₅₀) e Índice de Seletividade (IS)

III.5.1 Citotoxicidade (IC₅₀)

Os ensaios foram realizados *in vitro* frente a macrófagos da linhagem J774 para determinação do Índice de Citotoxicidade (IC) ou Viabilidade Celular. A linhagem J774 foi mantida a 37°C, com 5% de CO₂, em garrafas com superfície de 12,5 cm², contendo 10 mL de meio de cultura RPMI 1640 (GIBCO), suplementado com 10% de soro fetal bovino. A técnica consiste em coletar linhagens celulares por raspagem (utilizando *scraper*), centrifugação e contagem do número de células ajustando

para 1×10^{-5} células/mL em meio RPMI. As células foram incubadas a 37°C em atmosfera de 5 % de CO₂ por 24 a 48 horas. Em seguida, foram preparadas diluições dos complexos a serem testados, os quais foram adicionados às células após a retirada do meio, sendo novamente incubadas. A citotoxicidade do complexo foi determinada pela adição do revelador Resazurina. O revelador age como indicador de crescimento celular e/ou viabilidade, sendo que a cor azul representa a ausência de crescimento/inviabilidade celular, enquanto que a rosa indica crescimento ou viabilidade [62]. A leitura final foi baseada na medida da luminescência no microfluorímetro SpectraFluor Plus da TECAN®.

III.5.2 Índice de Seletividade (IS)

O índice de seletividade (IS) pode ser calculado pela divisão dos valores de IC₅₀ pelos valores de CIM.

Cabe destacar que se forem obtidos valores de índice de seletividade (IS) superiores a 10, os compostos são bastante promissores, sendo recomendável, portanto, a continuidade do protocolo de análises [63].

III.6 Métodos Instrumentais

III.6.1 Análise Elementar

As análises elementares foram realizadas pela Central Analítica do IQ-USP-SP usando um microanalisador ELEMENTAR ANALYSER CHN modelo 2400 Perkin-Elmer, que permite a determinação de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio com precisão de 0,01 %.

III.6.2 Intervalos de Fusão

Intervalos de fusão foram determinados no aparelho MQAPF-302, que alcança a temperatura máxima de 350°C.

III.6.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Nicolet Impact 400 (4000 – 400 cm^{-1}), usando pastilhas de KBr.

III.6.4 Espectroscopia Eletrônica na Região do UV/Vis

Os espectros de absorção eletrônica na região do UV/Vis foram obtidos no espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 14P (190 – 1100 nm), utilizando cubetas de 1,0 cm de caminho óptico.

III.6.5 Difratometria de Raio-X de Monocristal

As reflexões foram coletadas no difratômetro automático CAD4, ENRAF-NONIUS utilizando-se a radiação de K_{α} (Mo) ($\lambda=0,71073 \text{ \AA}$), monocromatizada por um cristal de grafite no modo, ω - 2θ , pertencente ao Departamento de Química e Física Molecular do Instituto de Química de São Carlos – USP. Os dados obtidos foram refinados pela pós-graduanda Janaina Gomes Ferreira, orientada pela Prof^ª. Dr^ª. Regina Helena de Almeida Santos.

III.6.6 Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

Esta parte do trabalho foi realizada em colaboração com a Prof^ª. Dr^ª. Ana Maria da Costa Ferreira, do Instituto de Química de São Paulo – USP. Os espectros de EPR foram obtidos no espectrômetro BRUKER, modelo EMX, operando na banda X (9,33 GHz), com potência de 20 mW e frequência de modulação de 100 kHz. Os experimentos foram realizados à 77K, em solução congelada de DMSO ou DMF.

IV.RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 Compostos contendo o pseudo-haleto tiocianato e ligantes pirazólicos (1-3)

IV.1.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

O íon tiocianato possui três modos normais de vibração, ambos sendo ativos no IV e Raman. A frequência de estiramento assimétrico (ν_1) corresponde a frequência de estiramento CN (ν_{CN}); o estiramento simétrico (ν_3) correlaciona-se ao estiramento CS (ν_{CS}) e a deformação duplamente degenerada está associada à frequência de deformação (δ_{NCS}) [64-66]. A Figura 24 apresenta os modos normais de vibração do íon NCS⁻.

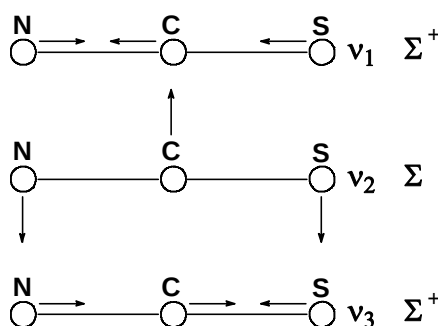


Figura 24. Modos normais de vibração do íon tiocianato.

Por se tratar de um ligante bem versátil, o tiocianato pode apresentar vários modos de coordenação, como N-terminal, S-terminal, em ponte, entre outros, e a espectroscopia vibracional no IV pode, muitas vezes, auxiliar no diagnóstico do modo de coordenação desse pseudo-haleto. Sendo assim, a Tabela 04 lista os intervalos aproximados dos modos fundamentais para os diferentes tipos de coordenação do tiocianato.

Tabela 04. Intervalos aproximados dos modos normais de vibração (cm^{-1}) para os diferentes tipos de coordenação do tiocianato

Coordenação	ν_{asNCS}	ν_{sNCS}	δNCS
NCS ⁻	2053	746	486, 471
M-NCS	2100-2050	870-820	485-475
M-SCN	2130-2085	760-700	470-430
M-NCS-M	2165-2065	800-750	470-440

A Figura 25 apresenta os espectros vibracionais no IV dos ligantes livres e dos complexos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**2**) e $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$ (**3**) obtidos neste trabalho, cujas frequências e atribuições estão contidas nas Tabelas 05 e 06, para ligantes e complexos, respectivamente.

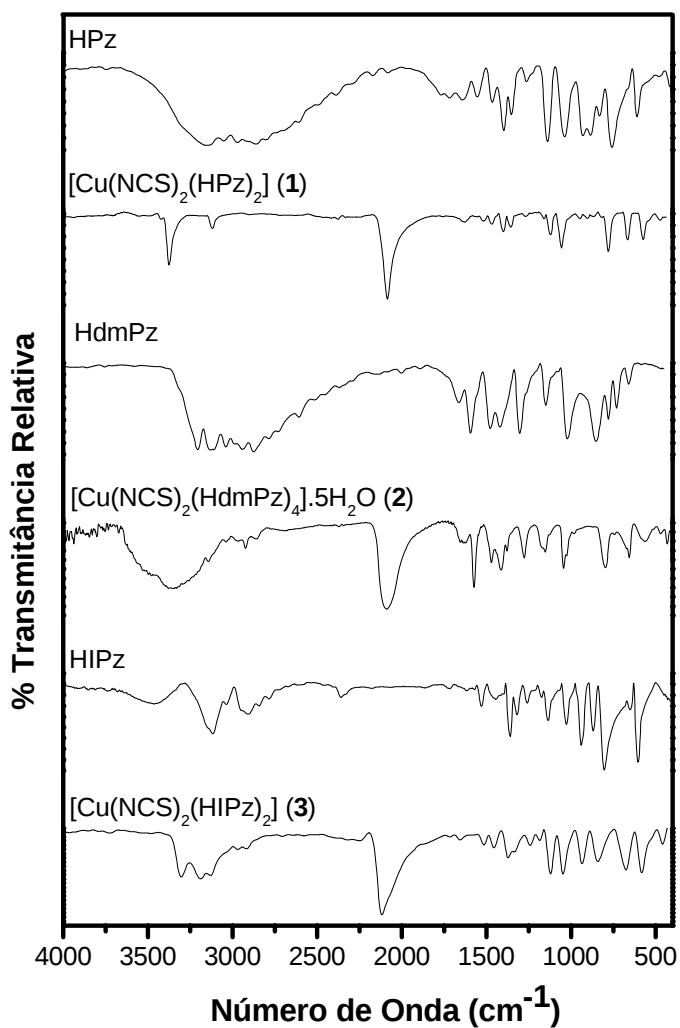


Figura 25. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm^{-1} para os ligantes livres HPz, HdmPz e HIPz e complexos **1-3** (pastilhas de KBr).

Tabela 05. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referentes aos ligantes livres pirazol, 3,5-dimetilpirazol e 4-iodopirazol e suas respectivas atribuições

Composto			Atribuição
Pirazol (HPz)	3,5-dimetilpirazol (HdmPz)	4-iodopirazol (HIPz)	
3400-2700 <i>F</i>	3380-2200 <i>F</i>	3300-2400 <i>F</i>	νNH
1558 <i>f</i>	1595 <i>F</i>	1534 <i>f</i>	ϕ (Respiração do anel)
1468 <i>mf</i>	1483 <i>F</i>	1473 <i>f</i>	$\nu\text{anel} + \beta\text{NH} + \beta\text{CH}$
-	1467 <i>F</i> , 1423 <i>F</i>	-	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
1396 <i>F</i>	-	1363 <i>F</i>	$\nu\text{anel} + \beta\text{anel} + \beta\text{NH}$
1356 <i>mF</i>	1306 <i>F</i>	1323 <i>m</i>	$\nu\text{anel} + \beta\text{CH} + \beta\text{NH}$
1261 <i>f</i>	1265 <i>f</i>	1263 <i>mf</i>	$\beta\text{CH} + \nu\text{anel} + \beta\text{NH}$
1136 <i>F</i>	1151 <i>m</i>	1175 <i>f</i> , 1140 <i>m</i>	$\nu\text{anel} + \beta\text{CH} + \beta\text{NH}$
1055 <i>F</i> , 1032 <i>F</i>	1028 <i>F</i>	1031 <i>m</i>	βCH
-	1009 <i>F</i>	-	βanel
936 <i>F</i>	-	936 <i>F</i>	βanel
877 <i>F</i> , 839 <i>F</i> , 758 <i>F</i>	854 <i>F</i>	870 <i>F</i> , 808 <i>F</i>	$\gamma\text{CH} + \gamma\text{NH}$
-	779 <i>F</i> , 735 <i>F</i>	-	βanel
652 <i>f</i> , 615 <i>F</i>	661 <i>f</i>	649 <i>f</i> , 608 <i>F</i>	$\gamma\text{anel} + \gamma\text{NH}$

ν_{as} =estiramento assimétrico, ν_{s} =estiramento simétrico, ϕ =respiração do anel, β =deformação no plano, δ_{as} =deformação angular assimétrica no plano, γ = deformação fora do plano. Intensidades: *F* = forte, *mF* = média-forte, *m* = média, *mf* = média-fraca, *f* = fraca, *om*=ombro

Tabela 06. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) de **1-3** e atribuições

Composto			Atribuição
1	2	3	
-	3356 <i>F</i>	-	νOH
3369 <i>m</i>	3143 <i>F</i>	3302 <i>m</i>	νNH
3116 <i>f</i>	3041 <i>f</i>	3130 <i>m</i>	νCH
-	2975 <i>f</i>	-	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
2089 <i>mF</i>	2083 <i>mF</i>	2117 <i>mF</i>	$\nu_{\text{as}}\text{NCS}$
-	1656 <i>m</i>	-	δOH
1522 <i>f</i>	1572 <i>F</i>	1514 <i>f</i>	ϕ (Respiração do anel)
1461 <i>f</i>	1470 <i>f</i>	1455 <i>f</i>	$\nu_{\text{anel}} + \beta\text{NH} + \beta\text{CH}$
-	1414 <i>mf</i>	-	$\delta_{\text{as}}\text{CH}_3$
1353 <i>f</i>	1334 <i>f</i>	1375 <i>mf</i>	$\nu_{\text{anel}} + \beta\text{CH} + \beta\text{NH}$
1268 <i>f</i>	1275 <i>m</i>	1248 <i>f</i>	$\beta\text{CH} + \nu_{\text{anel}} + \beta\text{NH}$
1111 <i>m</i>	1159 <i>m</i>	1119 <i>m</i>	$\nu_{\text{anel}} + \beta\text{CH} + \beta\text{NH}$
1063 <i>m</i>	1043 <i>mf</i>	1047 <i>m</i>	βCH
858 <i>f</i> , 785 <i>m</i> , 677 <i>f</i>	801 <i>m</i> , 653 <i>f</i>	935 <i>m</i> , 843 <i>m</i> , 679 <i>m</i>	γCH
658 <i>mf</i>	659 <i>mf</i>	583 <i>m</i>	$\gamma_{\text{anel}} + \gamma\text{NH}$
471 <i>f</i>	429 <i>f</i>	461 <i>f</i>	δNCS

A coordenação neutra monodentada dos pirazóis nos compostos **1 - 3** é evidenciada pelo aparecimento das bandas associadas aos modos vibracionais νNH na região de $3300\text{-}3150\text{ cm}^{-1}$ e pelo deslocamento da banda respiração do anel (ϕ) para frequências mais baixas ($\Delta\bar{\nu} \approx 26\text{ cm}^{-1}$) em relação aos ligantes livres. Nos espectros no IV de **1** e **2**, nota-se a presença de uma banda $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$ intensa em 2089 e 2083 cm^{-1} , respectivamente, característica de grupos tiocianato coordenados via átomo de nitrogênio (Cu-NCS) [65]. A banda $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$ observada em 2117 cm^{-1} no espectro de **3** encontra-se no intervalo espectral típico da coordenação em ponte do tipo *end-to-end* ($\text{M} - \text{NCS} - \text{M}$) deste pseudo-haleta [65, 67]. Cabe mencionar que a presença de água de hidratação no composto **2** foi diagnosticada pelo aparecimento de uma banda larga em 3356 cm^{-1} (νOH) junto da ocorrência da banda em 1656 cm^{-1} (δHOH).

IV.1.2. Espectroscopia de Absorção Eletrônica no UV/Visível

Os espectros eletrônicos no UV/Vis para os compostos **1** - **3** estão representados na Figura 26. O composto verde $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**) apresenta geometria de coordenação octaédrica tanto no estado sólido quanto em solução. Uma solução de cor verde-amarelada é obtida quando se dissolve este complexo em acetona, cor esta sendo atribuída à presença de uma banda intensa em 404 nm, referente a transições de transferência de carga ligante-metal (LMCT) do tipo $\text{NCS}^- \rightarrow \text{Cu}$. No espectro eletrônico desta solução é observada, ainda, uma banda larga, de baixa intensidade, centrada em 691 nm, atribuída a uma transição CL do tipo $^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{T}_{2g}$, característica de sistema d^9 octaédrico [68].

O composto **2** é um sólido verde-musgo que, quando solubilizado em acetonitrila, gera uma solução amarela. No espectro, é observada uma banda intensa em 417 nm, atribuída à transições LMCT $\text{NCS}^- \rightarrow \text{Cu}$ [69]. Observa-se ainda, uma banda larga, pouca intensa, em 718 nm, que pode ser tentativamente atribuída a transições de campo ligante associadas à espécies de Cu(II) formadas pela dissociação de moléculas de HdmPz em solução.

O composto **3** mantém sua coloração verde quando dissolvido em acetonitrila, DMSO ou THF. No espectro, pode ser observada uma banda intensa em 391 nm, atribuída à transições LMCT do tipo $\text{NCS}^- \rightarrow \text{Cu}$. Está presente, também, uma banda de baixa intensidade, centrada em 735 nm, que provavelmente está associada a uma transição de campo ligante do tipo $^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{T}_{2g}$, característica de sistema d^9 octaédrico.

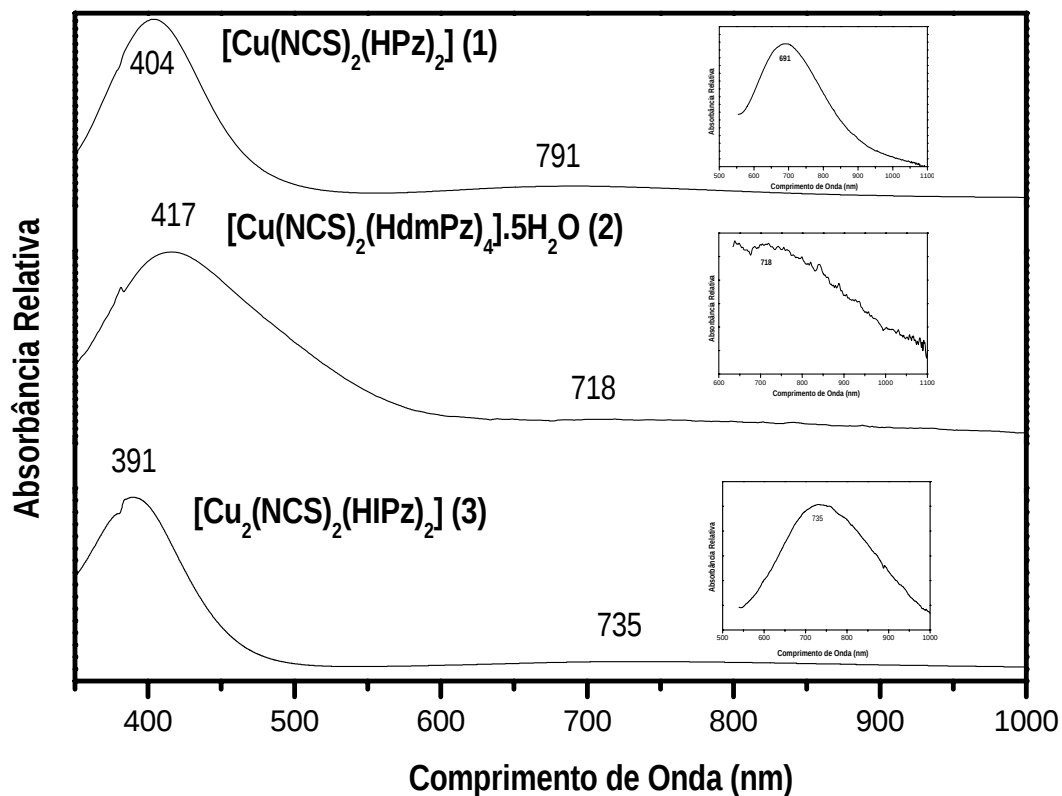


Figura 26. Espectros de absorção eletrônica no UV/VIS dos compostos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (1): em acetona, $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (2): em acetonitrila e $[\text{Cu}_2(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$ (3): em acetonitrila.

IV.1.3. Análise Cristalográfica via Difratometria de Raio-X de Monocristal do Composto 1

Após muitas tentativas, foram obtidos monocristais do composto 1 adequados à determinação estrutural através da técnica de difração de raio-X, a partir da evaporação lenta da solução metanólica.

Os principais dados cristalográficos obtidos para o composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (1) estão contemplados na Tabela 07.

Tabela 07. Resumo dos principais dados cristalográficos do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**)

Fórmula Molecular	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_6\text{S}_2\text{Cu}$
Massa Molecular	315,89
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	$\text{P2}_1/\text{c}$
a (Å)	8,242 (5)
b (Å)	9,128 (5)
c (Å)	8,281 (5)
β (°)	103,759 (5)
Z (moléculas/cela unitária)	2
V (Å ³)	605,1 (3)
D_c (Mg.m ⁻³)	1,734
Dimensão do cristal (mm)	0,25 x 0,20 x 0,20
Cor do cristal	Verde
μ (mm ⁻¹) ($K\alpha\text{Mo}$)	2,135
λ (Å) ($K\alpha\text{Mo}$)	0,71073
Modo de coleta	ω -20
Temperatura de coleta (K)	293
Varredura (°/min) máx.; mín.	16,48; 3,30
Intervalo de θ (°)	3,4 – 30
hkl máx.: mín.	$\overline{11}:11; \overline{12}:0; \overline{11}:0$
Reflexões coletadas; únicas; R (int)	1867; 1756; 0,028
Observadas [$ I > 2\sigma(I)$]; N_{par}	1111; 79
R_{obs} ; R_{all} ; GOF	0,038; 0,094; 1,03
Dens. Residual (e/ Å ³) máx.; mín.	0,451; -0,348

Os resultados obtidos por difração de raio-X mostram que o complexo consiste de unidades quadrado-planares de $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ que se conectam axialmente pelo átomo de enxofre do pseudo-haleto, originando um arranjo polimérico 1D no cristal. O átomo do cobre apresenta um ambiente octaédrico tetragonalmente distorcido: o plano basal é formado por quatro átomos de nitrogênio, dois provenientes dos grupos tiocianato e os outros dois dos ligantes pirazólicos, arranjados em uma configuração *trans*, enquanto que as posições axiais são ocupadas por átomos de enxofre de unidades vizinhas. A Figura 27 mostra a conectividade dos monômeros de $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ no cristal.

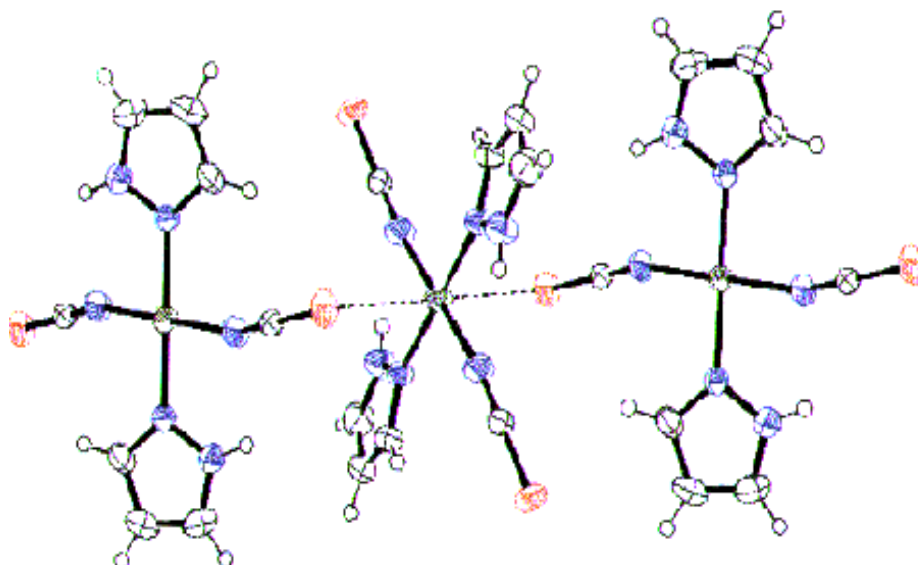


Figura 27. Representação de parte da cadeia polimérica do composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**).

As Tabelas 08 e 09 apresentam, respectivamente, as distâncias e ângulos interatômicos encontrados para o complexo **1**.

Tabela 08. Distâncias interatômicas (Å) com os respectivos desvios padrão (Å) entre parênteses para o composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**)

Cu	N	1,966(3)	S	C	1,626(3)
Cu	N1	1,992(3)	N	C	1,148(4)
Cu	N ^a	1,966(3)	C1	C2	1,345(5)
Cu	N1 ^a	1,992(3)	C2	C3	1,387(5)
N1	N2	1,340(4)	N2	C1	1,340(4)
N1	C3	1,323(4)			

Operação de simetria: a = 1-x, 1-y, -z

Tabela 09. Ângulos intramoleculares (°) com os respectivos desvios padrão (°) para o composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**)

N	Cu	N1	89,9(1)	Cu	N	C	161,0(2)
N	Cu	N ^a	180	S	C	N	179,7(3)
N	Cu	N1 ^a	90,1(1)	N2	C1	C2	107,3(3)
Na	Cu	N1	90,1(1)	C1	C2	C3	105,5(3)
N1	Cu	N1 ^a	180	N1	C3	C2	110,6(3)
Na	Cu	N1 ^a	89,9(1)	N2	N1	C3	105,2(2)
Cu	N1	N2	122,5(2)	N1	N2	C1	111,3(3)
Cu	N1	C3	132,5(2)				

Operação de simetria: a = 1-x, 1-y, -z

Os grupos isotiocianato do complexo $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ são praticamente lineares ($\text{S-C-N} = 179,7(3)^\circ$) e adotam o modo de coordenação *end-to-end*; o átomo de nitrogênio ocupa o sítio equatorial de um átomo de cobre ($\text{Cu-N}_{\text{NCS}} = 1,966(3) \text{ \AA}$) e o átomo de enxofre situa-se na posição axial de um centro metálico vizinho. De fato, a distância de $3,051(2) \text{ \AA}$ para $\text{Cu}\cdots\text{S}$ é menor do que a soma dos raios de van der Waals dos átomos de Cu e S ($3,4 \text{ \AA}$). A distância de ligação Cu-N_{NCS} do complexo $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ é significativamente maior que aquela observada para os complexos $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{py})_4]$ ($1,943 \text{ \AA}$) [70] e $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{pic})_2]$ ($1,945(8) \text{ \AA}$) [71]. A dominância da forma mesomérica $\text{S-C}\equiv\text{N}$ é evidenciada pelo comprimento das ligações S-C e C-N de $1,626(3)$ e $1,148(4) \text{ \AA}$, respectivamente, bem como pelo ângulo Cu-N-C de $161,0(2)^\circ$, indicativo da coordenação do nitrogênio hibridizado *sp*. A distância de ligação Cu-N1HPz encontrada para o complexo $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]_n$ ($1,992(3) \text{ \AA}$) é $0,017 \text{ \AA}$ mais curta que a encontrada para o composto *trans*- $[\text{CuCl}_2(\text{HPz})_4]$ [35].

Analisando a estrutura cristalina do $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$, nota-se a presença de interações intermoleculares que participam na auto-montagem das espécies monoméricas em um arranjo supramolecular tridimensional. Observa-se, nas Figuras 28 e 29, respectivamente, que os anéis pirazólicos de monômeros adjacentes participam de interações do tipo $\text{N-H}\cdots\pi$ e $\pi\cdots\pi$, cujas distâncias e ângulos estão indicados na Tabela 10.

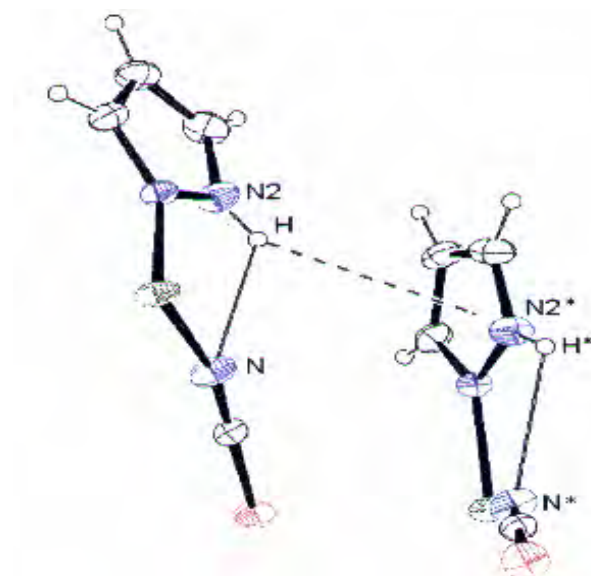


Figura 28. Representação ORTEP da ligação de hidrogênio intramolecular e da interação do tipo N-H... π existente entre os anéis pirazólicos.

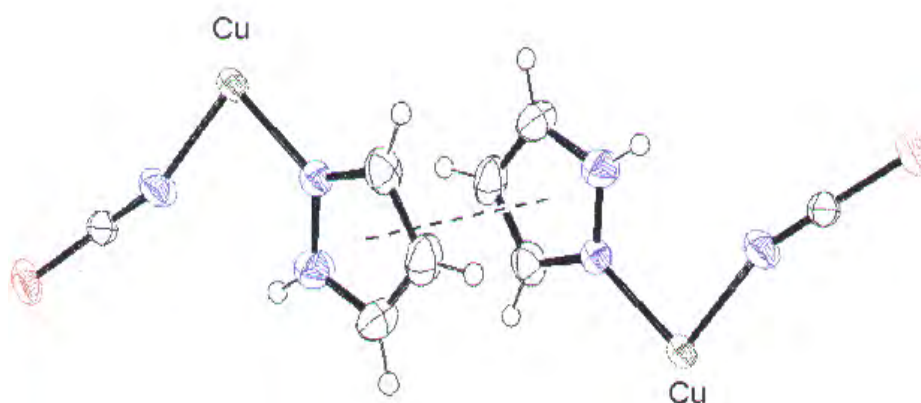


Figura 29. Representação ORTEP da interação molecular do tipo $\pi \cdots \pi$ existente entre os anéis pirazólicos.

Tabela 10. Interações não covalentes no composto $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (1)

Átomo doador		Átomo receptor	dD-H (Å)	dH-A (Å)	dD-A (Å)	Ângulo D-H...A	Operação de simetria
N2	H	N	0,8600	2,4700	2,886(4)	110,00	---
N2	H	Anel	---	3,0483	3,818(4)	150,10	$x, \frac{1}{2}-y, \frac{1}{2}+z$
Anel	---	Anel	---	---	3,710(3)	0	$2-x, 1-z, -z$
Anel	---	Anel	---	---	4,859(4)	59,06	$x, \frac{1}{2}-y, \frac{1}{2}+z$

Observa-se também na Figura 28 a existência de ligações de hidrogênio intramoleculares entre o N-H do pirazol e o átomo de nitrogênio do pseudo-haleta coordenado.

A agregação das unidades de $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ no estado sólido pelo reconhecimento molecular dos synthons moleculares $\pi\cdots\pi$ e $\text{N-H}\cdots\pi$, bem como da coordenação end-to-end do tiocianato, resulta na formação de uma arquitetura supramolecular tridimensional ilustrada na Figura 30.

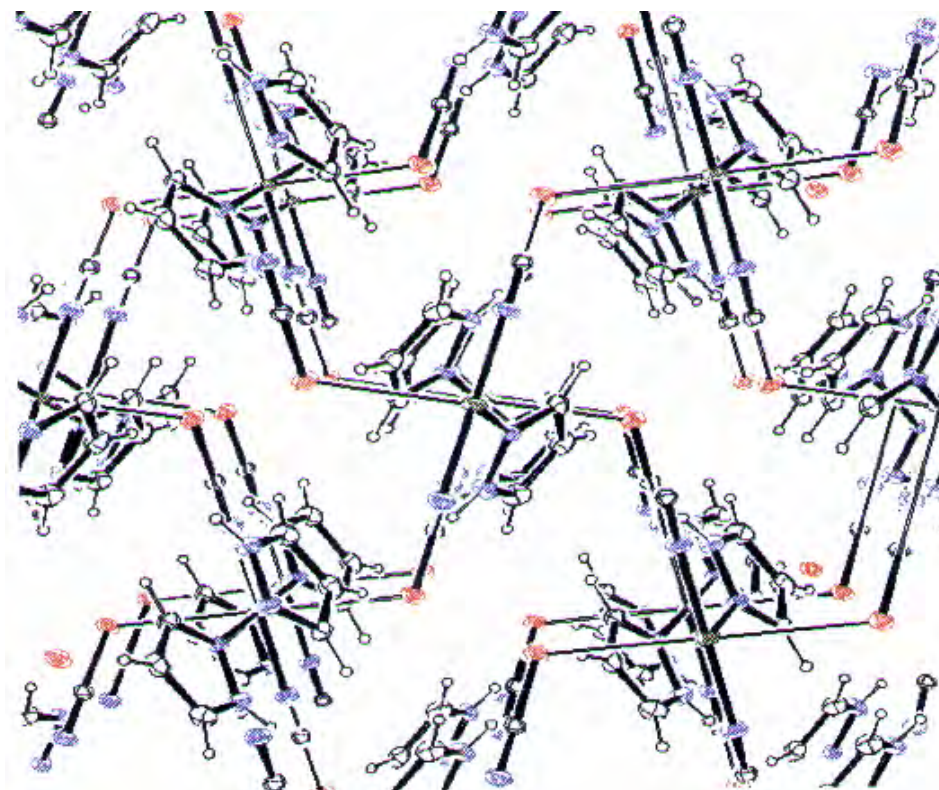


Figura 30. Representação do arranjo supramolecular do composto *trans*-diisotiocianatobis(pirazol)cobre(II).

IV.1.4. Proposição Estrutural para os Complexos 2 e 3

Para o composto **2**, é proposta uma estrutura no estado sólido, na qual o íon de cobre encontra-se em uma geometria octaédrica distorcida, com os sítios de coordenação equatoriais e axiais ocupados, respectivamente, por 4 ligantes 3,5-dimetilpirazol e 2 grupos isotiocianato, coordenados, nesse caso, de modo terminal através dos átomos de nitrogênio (Figura 31).

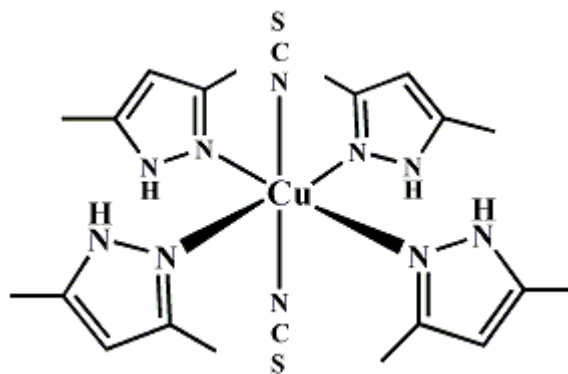


Figura 31. Estrutura proposta para o composto 2.

Com base nos resultados obtidos a partir da espectroscopia no infravermelho e em concordância com os resultados de análise elementar, sugere-se que o complexo **3** consiste de unidades quadrado planares de $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$, que se conectam axialmente pelo átomo de enxofre do pseudo-haleto, originando um arranjo polimérico. O átomo de cobre apresenta um ambiente octaédrico tetragonalmente distorcido: o plano basal é formado por quatro átomos de nitrogênio, dois provenientes dos grupos tiocianato e os outros dois dos ligantes pirazólicos, arranjados em uma configuração *trans*, enquanto que as posições axiais são ocupadas por átomos de enxofre de unidades vizinhas (Figura 32).

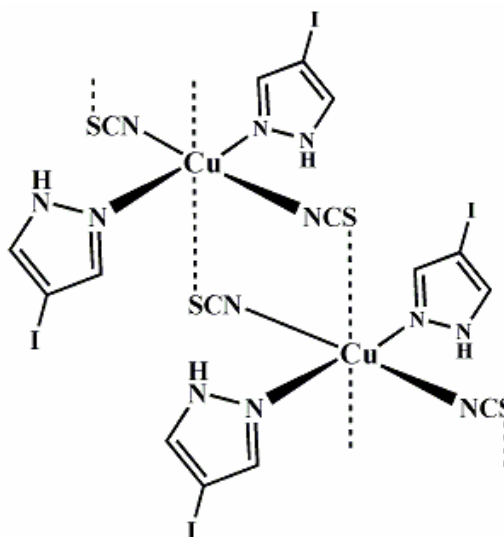


Figura 32. Estrutura proposta para o composto 3.

IV.2 Compostos contendo o ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol, HtdmPz (4-6)

IV.2.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Dentre as drogas empregadas no tratamento da tuberculose, destacam-se também as tiacetazonas [19]. Neste contexto, a similaridade estrutural entre o ligante HtdmPz e as tiacetazonas nos impulsionou a preparar e investigar a atividade antimicobacteriana de uma série de complexos de Cu(II) contendo esse ligante. Apesar de a síntese e caracterização dos complexos $[\text{Cu}(\text{NCS})(\text{tdmPz})]_2$ (4), $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (5) e $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (6) já terem sido reportados na literatura [58-60], o nosso interesse nesses compostos está direcionado nas suas potenciais atividades biológicas e, por essa razão, foram re-preparados neste trabalho.

A Figura 33 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre HtdmPz e dos complexos $[\text{Cu}(\text{NCS})(\text{tdmPz})]_2$ (4), $[\text{Cu}_2\text{Cl}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (5) e $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (6), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 11.

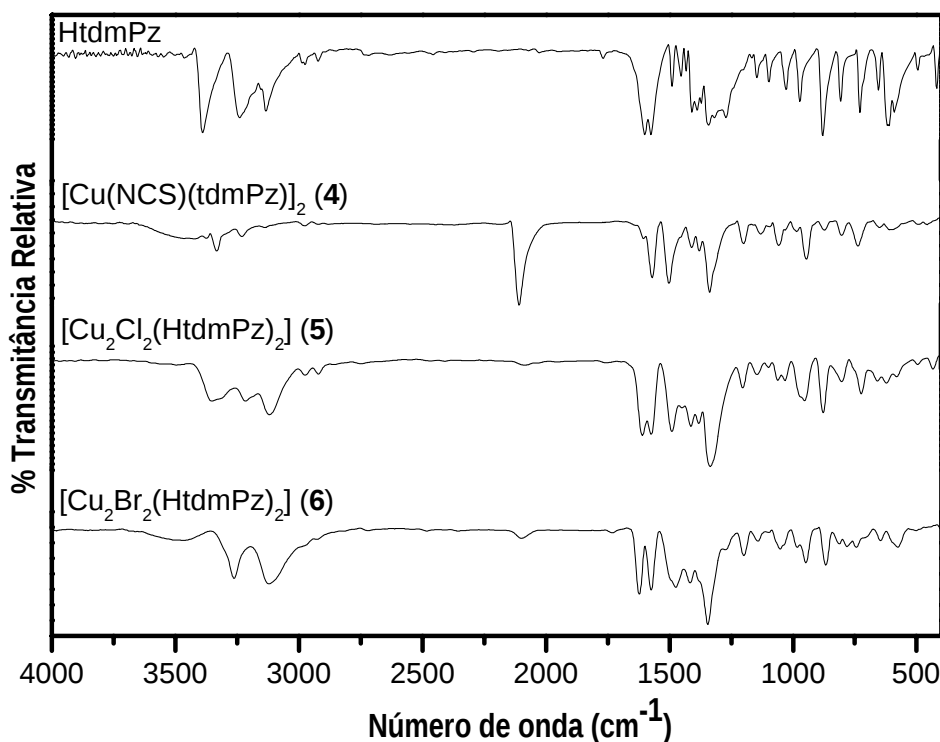


Figura 33. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm^{-1} para o ligante livre HtdmPz e para os complexos 4-6.

Tabela 11. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) para o ligante livre HtdmPz e para os complexos **4-6** e atribuições

Composto				Atribuição
HtdmPz	4	5	6	
3391 <i>F</i>	3331 <i>f</i>	3354 <i>mF</i>	3483 <i>f</i>	νNH
3240 <i>F</i>	3230 <i>f</i>	3221 <i>mF</i>	3261 <i>mF</i>	νNH
3132 <i>F</i>	3132 <i>f</i>	3117 <i>mF</i>	3122 <i>mF</i>	νNH
-	2108 <i>F</i>	-	-	$\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$
1601 <i>F</i>	1607 <i>om</i>	1610 <i>mF</i>	1622 <i>mF</i>	tioamida II + $\nu\text{CN}_{\text{tioamida}}$
1578 <i>F</i>	1570 <i>mF</i>	1574 <i>mF</i>	1576 <i>mF</i>	$\nu\text{CC}_{\text{anel}} + \nu\text{CN}_{\text{anel}}$
1488 <i>m</i>	1502 <i>mF</i>	1491 <i>mF</i>	1499 <i>om</i>	$\nu\text{CC}_{\text{anel}} + \nu\text{CN}_{\text{anel}}$
1452 <i>m</i>	1450 <i>om</i>	1452 <i>om</i>	1477 <i>mF</i>	$\nu\text{CC}_{\text{anel}} + \nu\text{CN}_{\text{anel}}$
1408 <i>F</i>	1408 <i>f</i>	1414 <i>m</i>	1417 <i>m</i>	$\nu\text{CN}_{\text{tioamida}} + \beta\text{CH}_3$
1389 <i>F</i>	1380 <i>f</i>	1381 <i>m</i>	-	$\nu\text{CN}_{\text{tioamida}} + \beta\text{CH}_3$
1340 <i>F</i>	1340 <i>mF</i>	1347 <i>F</i>	1346 <i>F</i>	$\nu\text{C}=\text{S} + \delta_{\text{s}}\text{CH}_3 + \delta\text{NH}_2$
1319 <i>F</i>	1313 <i>om</i>	-	-	$\nu\text{C}=\text{S} + \delta_{\text{s}}\text{CH}_3 + \delta\text{NH}_2$
-	1242 <i>om</i> , 1201 <i>mf</i>	1206 <i>f</i>	1271 <i>om</i> , 1200 <i>f</i>	$\beta\text{CH} + \nu\text{CC}_{\text{anel}} + \beta\text{NH}$
1148 <i>m</i>	1128 <i>f</i>	1144 <i>f</i>	1140 <i>f</i>	$\nu\text{CN}_{\text{anel}} + (\text{Pz})$
1099 <i>m</i>	1090 <i>om</i> , 1058 <i>f</i>	1101 <i>om</i> , 1064 <i>f</i>	1097 <i>om</i> , 1053 <i>mf</i>	$\nu\text{NN}_{\text{anel}} + \delta\text{NH}_2$
1028 <i>m</i>	1030 <i>om</i>	1030 <i>f</i>	1033 <i>om</i>	γCH_3
972 <i>m</i>	987 <i>f</i> , 945 <i>m</i>	966 <i>mf</i> , 955 <i>mf</i>	985 <i>om</i> , 947 <i>m</i>	γCH_3
879 <i>F</i>	876 <i>f</i>	879 <i>m</i>	870 <i>m</i>	$\delta\text{NH}_2 + \nu\text{C}=\text{S} + \nu\text{NN}_{\text{anel}}$
808 <i>F</i>	804 <i>f</i>	800 <i>f</i>	812 <i>f</i> , 781 <i>f</i>	γCH
730 <i>F</i>	737 <i>mf</i>	723 <i>mf</i>	744 <i>f</i>	$\nu\text{C}=\text{S} + \nu\text{C}-\text{CH}_3$
654 <i>m</i>	650 <i>f</i>	663 <i>f</i> , 621 <i>f</i>	646 <i>f</i>	$\nu\text{C}-\text{CH}_3$
609 <i>F</i>	606 <i>f</i>	577 <i>f</i>	577 <i>f</i>	$\gamma(\text{N}-\text{CS}-\text{N})$
497 <i>m</i>	496 <i>om</i>	499 <i>f</i>	498 <i>om</i>	γNH_2

A análise dos espectros no IV dos compostos **4 - 6** (Figura 33) permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol (HtdmPz) bem como da estrutura dos complexos. As bandas observadas na região de $3400\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ no espectro no IV do HtdmPz livre são típicas de tioamidas primárias $\{3391\text{ cm}^{-1} (\nu\text{NH}_2), 3240\text{ cm}^{-1} (\nu_{\text{as}}\text{NH}_2) \text{ e } 3132\text{ cm}^{-1} (\nu_{\text{s}}\text{NH}_2)\}$ [65, 72].

No espectro no IV do complexo **4**, observa-se um deslocamento da banda νNH_2 de 3391 (ligante livre) para 3331 cm^{-1} , além da redução da intensidade dessa banda em relação ao ligante livre, o que indica a desprotonação do grupo NH_2 [58].

Na região de 1622-1600 cm^{-1} nos espectros de tioamidas primárias, encontra-se a banda tioamida II [72] resultante da deformação angular do NH_2 . Esta vibração encontra-se acoplada às vibrações de estiramento do grupo tionila ($\text{C}=\text{S}$) e de estiramento $\text{C}-\text{N}$. No espectro no IV do complexo **4** essa banda praticamente desapareceu, sugerindo também a desprotonação do grupo amida. Para os complexos **5** e **6**, nota-se que a banda de tioamida II não sofre nenhum deslocamento significativo em relação à do ligante livre (1601 cm^{-1}). Este fato é uma forte evidência da não coordenação do grupo $-\text{NH}_2$ do ligante 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol para os complexos **5** e **6**.

Todas as tioamidas apresentam a banda de absorção correspondente à deformação axial da tiocarbonila, mais conhecida como banda de tioamida I. O grupo $\text{C}=\text{S}$ é menos polar do que o grupo $\text{C}=\text{O}$ e a ligação é consideravelmente mais fraca. Em consequência, a banda não é intensa e localiza-se em frequências mais baixas do que a da carbonila, sendo, portanto, mais susceptível a efeitos de acoplamento. As bandas encontradas no intervalo de 1570-1395 cm^{-1} , 1420-1260 cm^{-1} e 1140-940 cm^{-1} possuem caráter $\nu\text{C}=\text{S}$ [72]. A coordenação do ligante via átomo de enxofre da carbonila é diagnosticada, por exemplo, pelo deslocamento da banda $\nu\text{C}=\text{S}$ (1340 cm^{-1} para HtdmPz livre) para regiões de frequências mais altas (1347 e 1346 cm^{-1} para **5** e **6**, respectivamente) nos espectros no IV dos complexos.

No espectro no IV do complexo **4** observa-se uma banda $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$ intensa em 2108 cm^{-1} , característica de grupos tiocianato coordenados via átomo de nitrogênio ($\text{Cu}-\text{NCS}$) [65]. Cabe mencionar que a presença do grupo NCS^- na esfera de coordenação desse composto está associada a uma provável decomposição parcial do ligante HtdmPz [58].

IV.2.2. Estruturas para os Complexos 4 – 6

Para o composto **4**, é proposta uma estrutura no estado sólido, de um dímero de cobre(II), no qual os dois íons cobre encontram-se coordenados a dois grupos isotiocianato em ponte de forma *end-to-end*, e a duas moléculas de 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol coordenadas aos íons metálicos pelo nitrogênio piridínico e pelo nitrogênio do grupo $-\text{NH}_2$, conforme ilustra a Figura 34.

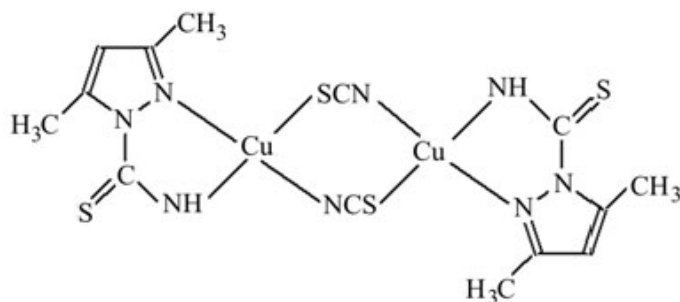


Figura 34. Estrutura do complexo **4** [58].

Para o composto **5**, é também proposta a formação de uma estrutura dimérica, porém envolvendo íons cobre(I), pois o excesso do ligante provavelmente promoveu a redução do Cu(II). Cada átomo de cobre está coordenado a uma molécula de 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazol coordenada via átomo de enxofre e nitrogênio piridínico e a um íon cloreto que irá atuar em ponte entre os centros de cobre (ver Figura 35).

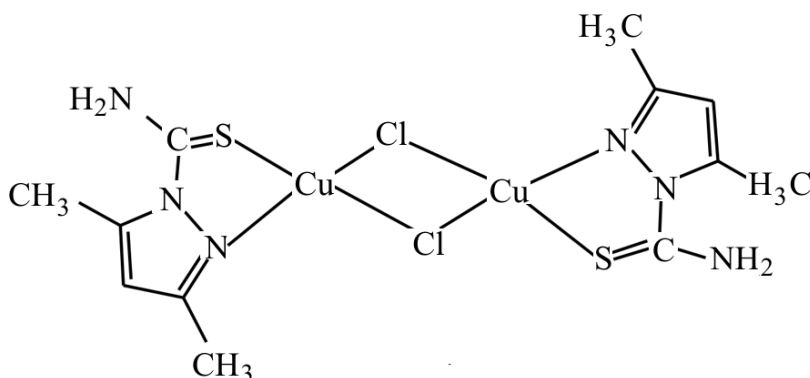


Figura 35. Estrutura do complexo **5** [59].

De acordo com os dados de análise elementar bem como as evidências espectroscópicas obtidas para o composto $[\text{Cu}_2\text{Br}_2(\text{HtdmPz})_2]$ (**6**) neste trabalho, confirma-se a estrutura proposta na literatura por Evans *et al.* [60]. O complexo consiste de espécies discretas envolvendo dímeros de Cu(I), com átomos de enxofre em ponte. Cada átomo de cobre está coordenado a um átomo de nitrogênio do anel pirazólico, a dois átomos de enxofre dos grupos tiocarbamoil e um átomo de bromo terminal, em um ambiente tetraédrico distorcido (Figura 36).

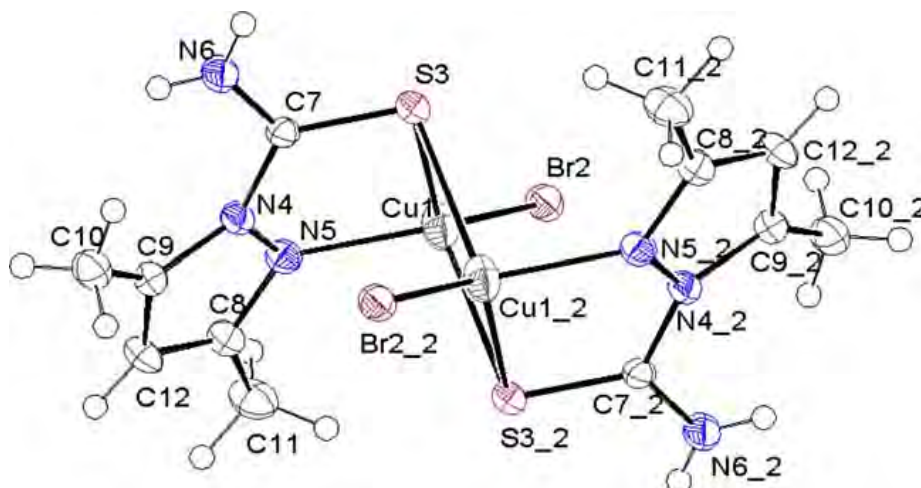


Figura 36. Estrutura molecular para o complexo 6 [60].

IV.3 Compostos contendo moléculas biologicamente ativas (7-10)

IV.3.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

IV.3.1.1 Pirazinamida

A pirazinamida (PZA) pode se coordenar pelos nitrogênios do anel da pirazina, pelo oxigênio do grupo C=O e/ou pelo grupo NH₂. Quando o nitrogênio do anel aromático está envolvido na formação do complexo, as bandas relativas a certos modos vibracionais do anel, particularmente o modo respiração do anel e dois modos de estiramento em torno de 1400-1600 cm⁻¹, deslocam-se para frequências mais altas devido ao acoplamento com a vibração M-N(ligante) [73-75]. Quando o nitrogênio do NH₂ está envolvido na coordenação, ocorrem mudanças drásticas nos números de ondas das vibrações envolvendo o grupo amino [76-79], e quando ocorre a coordenação através do oxigênio do grupo carbonila, observa-se um deslocamento negativo do modo vibracional $\nu(\text{C=O})$ ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [80].

A Figura 37 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e do complexo [CuCl₂(PZA)₂] (7), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 12.

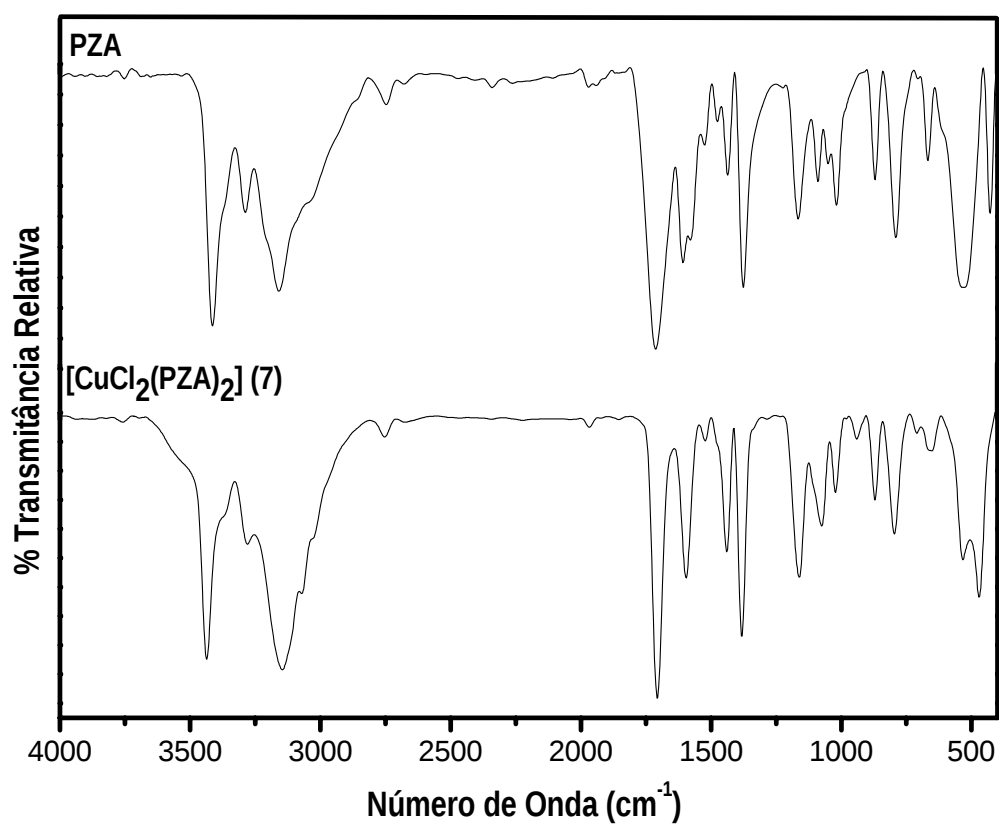


Figura 37. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm⁻¹ para o ligante livre pirazinamida (PZA) e complexo **7** (pastilhas de KBr).

Tabela 12. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexo **7** e suas respectivas atribuições

Composto		Atribuição
PZA	7	
3413 <i>F</i>	3439 <i>F</i>	νNH
3028 <i>om</i>	3022 <i>om</i>	νCH
1713 <i>F</i>	1707 <i>F</i>	$\nu(\text{C}=\text{O})$, amida I
1608 <i>m</i>	1595 <i>m</i>	δNH_2
1580 <i>m</i>	-	νanel
1524 <i>mf</i>	1522 <i>f</i>	νanel
1475 <i>f</i>	-	νanel
1437 <i>mf</i>	1439 <i>m</i>	νanel
1377 <i>F</i>	1383 <i>mF</i>	νCN
1165 <i>m</i>	1161 <i>mF</i>	νanel
1090 <i>mf</i>	1074 <i>mf</i>	Twisting NH_2
1051 <i>mf</i>	-	δCH
1018 <i>m</i>	1020 <i>mf</i>	ϕ (Respiração do anel)
-	943 <i>f</i>	γCH
870 <i>m</i>	870 <i>mf</i>	δanel
791 <i>m</i>	795 <i>m</i>	γCH
706 <i>om</i>	712 <i>f</i>	γanel
667 <i>mf</i>	652 <i>f</i>	Wagging NH_2
532 <i>F</i>	532 <i>F</i>	δanel
430 <i>mF</i>	471 <i>F</i>	$\nu\text{C-NH}_2$

A análise dos espectros no IV do ligante livre e do composto **7** permitiu obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante pirazinamida (PZA) ao centro metálico. No espectro no IV do complexo **7**, nota-se que apesar da banda $\nu\text{C}=\text{O}$ (1707 cm^{-1}) não ter sofrido um deslocamento significativo quando comparada a do ligante livre (1713 cm^{-1}), sugere-se, neste trabalho, que a carbonila participa da coordenação. De fato, Akyuz *et al.* [81] relata valores de $\nu\text{C}=\text{O}$ muito próximos àqueles encontrados no nosso trabalho (1704 cm^{-1}), para complexos de outros metais da primeira série de transição, nos quais a coordenação da pirazinamida ocorre através do átomo de oxigênio do grupo carbonila. Observa-se, ainda, que as bandas δNH_2 e $\nu\text{C-NH}_2$ apresentam deslocamentos de 1608 (ligante livre) para 1595 cm^{-1} ($\Delta\bar{\nu} = +13\text{ cm}^{-1}$) e de 430 para 471 cm^{-1} ($\Delta\bar{\nu} = -43\text{ cm}^{-1}$), respectivamente, sendo que essas alterações são típicas da coordenação do metal ao átomo de nitrogênio do grupo amino [78]. As absorções no IV associadas às vibrações νCN e γ_{anel} do anel da

pirazinamida não sofrem modificações após a coordenação (1018 cm^{-1}) quando comparada ao ligante livre (1020 cm^{-1}). Este fato sugere que o nitrogênio do anel heterocíclico próximo ao grupo $-\text{CONH}_2$ não deva estar interagindo com o metal (ver Figura 44, a seguir).

IV.3.1.2 Rifampicina

A Figura 38 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e do complexo $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 13.

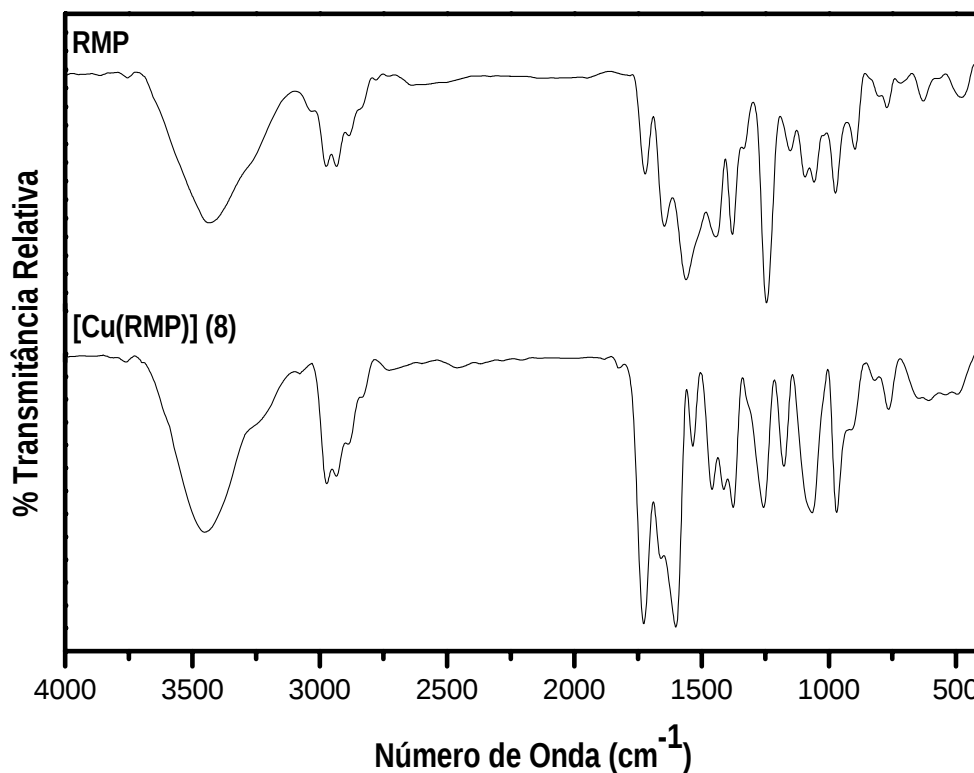


Figura 38. Espectros vibracionais na região de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ para o ligante livre rifampicina (RMP) e complexo **8** (pastilhas de KBr).

Tabela 13. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexo **8** e suas respectivas atribuições

Composto		Atribuição
RMP	8	
3435 <i>F</i>	3450 <i>F</i>	νOH
2976 <i>m</i>	2970 <i>mF</i>	νasCH
2887 <i>m</i>	2885 <i>m</i>	νsCH
1722 <i>mF</i>	1728 <i>F</i>	$\nu\text{C=O}$
1647 <i>F</i>	1661 <i>mF</i>	$\nu\text{anel} + \delta_{\text{as}}\text{C=N}$
-	1601 <i>F</i>	νanel
1562 <i>F</i>	1535 <i>mf</i>	$\nu\text{anel} + \nu\text{NN}$
1444 <i>mF</i>	1460 <i>m</i>	$\delta\text{CH}_3 + \delta\text{OH} + \nu\text{anel}$
-	1414 <i>m</i>	$\nu\text{anel} + \nu\text{CN}$
1379 <i>mF</i>	1377 <i>m</i>	δCH_3
1246 <i>F</i>	1255 <i>m</i>	$\nu\text{C-O}$
1153 <i>mf</i>	1178 <i>m</i>	$\nu\text{C-O}$
1093 <i>m</i> , 1057 <i>m</i>	1065 <i>m</i>	$\nu\text{C-O}$
974 <i>m</i>	970 <i>m</i>	ϕ (Respiração do anel)
897 <i>mf</i>	906 <i>mf</i>	δCH
804 <i>f</i>	819 <i>f</i>	δCH
773 <i>f</i>	767 <i>mf</i>	δCH

A análise dos espectros no IV do ligante livre e do composto **8** permitiu concluir que o íon Cu(II) se coordenou ao ligante, pois notam-se deslocamentos significativos em diversas bandas. Por exemplo, a banda $\nu\text{C=O}$ (1728 cm^{-1}) observada no espectro no IV do complexo **8** sofreu um pequeno deslocamento para frequências mais baixas quando comparada a do ligante livre (1722 cm^{-1}). Já a banda associada ao νanel (1661 cm^{-1}) sofreu um deslocamento mais pronunciado quando comparada ao ligante livre (1647 cm^{-1}). A banda intensa atribuída às vibrações $\nu\text{anel} + \nu\text{NN}$ em 1562 cm^{-1} no espectro da RMP sofre um deslocamento para 1535 cm^{-1} após a interação do ligante com o íon Cu(II) , sendo também forte indicativo da coordenação.

IV.3.1.3 Isoniazida

A Figura 39 apresenta os espectros vibracionais no IV do ligante livre e dos complexos $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**), cujas frequências e atribuições estão contidas na Tabela 14.

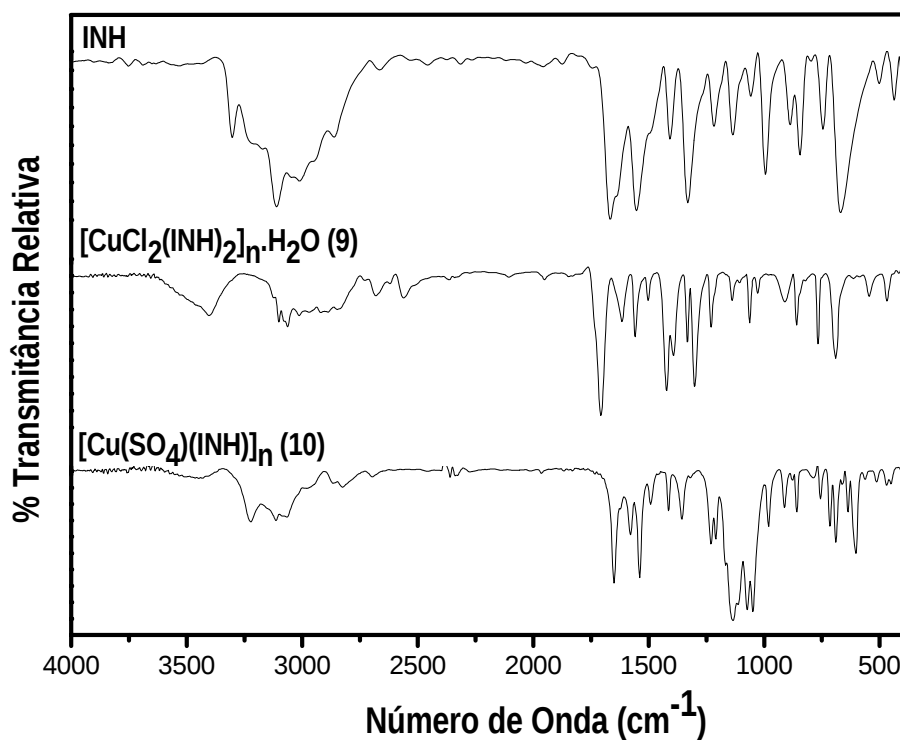


Figura 39. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm^{-1} para o ligante livre isoniazida (INH) e complexos **9** e **10** (pastilhas de KBr).

Tabela 14. Frequências vibracionais no IV (cm^{-1}) referente ao ligante livre e complexos **9** e **10** e suas respectivas atribuições

Composto			Atribuição
INH	9	10	
-	3402 m	-	νOH
3306 m	-	-	νNH
3213 om	-	3225 m	νNH
3111 F	3101 m	3115 m	νNH
3017 mF	3065 m	3063 m	νCH
1668 F	1707 F	1651 mF	$\nu\text{C=O}$
1635 om	1616 m	1624 om	Scissoring NH_2
1553 F	1558 m	1578 m	νanel
-	-	1539 mF	νanel
1489 om	1502 mf	1491 f	$\delta\text{CH} + \nu\text{anel} + \delta\text{NH}$
1408 m	1421 F	1414 mf	$\delta\text{CH} + \nu\text{anel}$
-	1392 mF, 1332 mF	1356 mf	$\delta\text{CH} + \nu\text{anel}$
1331 F	1302 F	-	Rocking NH_2
1219 mf	1228 m	1230 m, 1209 m	$\delta\text{CH} + \nu\text{anel}$
-	-	1169 F	$\nu_3(\text{SO}_4^{2-})$
1136 m	1138 mf	1136 F	$\delta\text{CH} + \nu\text{anel} + \nu\text{CN} + \nu_3(\text{SO}_4^{2-})$
1057 f	1063 m	1074 F	$\nu\text{anel} + \delta\text{CH} + \delta\text{anel}$
-	-	1049 F	$\nu_3(\text{SO}_4^{2-})$
995 mF	-	980 mf	$\nu\text{anel} + \delta\text{anel} + \nu_1(\text{SO}_4^{2-})$
-	908 mf	912 mf	$\nu\text{anel} + \delta\text{anel}$
887 m, 845 mF	860 m	860 mf	$\gamma\text{CH} + \gamma\text{CONHNNH}_2$
746 m	768 mF	787 mf, 756 f	$\gamma\text{CH} + \tau\text{anel} + \gamma\text{CO}$
-	-	714 mf	$\tau\text{anel} + \gamma\text{CO} + \gamma\text{CH}$
669 F	690 mF	690 m	$\delta\text{anel} + \nu\text{C-CONHNNH}_2 + \delta\text{NCO}$
501 f	546 mf	513 f	$\tau\text{HNNH} + \gamma\text{NH} + \delta\text{NCC} +$ $\delta\text{CONHNNH}_2 + \delta\text{OCC}$
438 f	469 mf	471 f	$\tau\text{anel} + \delta\text{OCC} + \gamma\text{CH} + \delta\text{NCC}$

A molécula de isoniazida (INH) pode se coordenar pelos átomos de nitrogênio do grupo $-\text{NH}_2$ e/ou do anel piridínico bem como através do oxigênio da carbonila. A espectroscopia no IV permite obter informações valiosas no que diz respeito à participação destes grupos na coordenação. Quando o nitrogênio do grupo NH_2 está envolvido na coordenação, observa-se um deslocamento negativo do modo νNH ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [82]. Verifica-se também um deslocamento positivo do modo νNN

próximo a 1015 cm^{-1} , sendo esse deslocamento um indicativo da redução na repulsão entre os pares de elétrons isolados dos átomos de nitrogênio [83]. Já a coordenação via oxigênio do grupo carbonila é diagnosticada pelo deslocamento positivo do modo $\nu(\text{C=O})$ ($\Delta = \nu_{\text{ligante}} - \nu_{\text{complexo}}$) [84]. Algumas vibrações do anel da piridina observadas no intervalo de $1600\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ sofrem ligeiros deslocamentos para frequências mais altas durante a formação do complexo [81].

A análise dos espectros no IV do ligante livre e dos compostos **9** e **10** permitiram obter informações relevantes a respeito da coordenação do ligante isoniazida (INH) ao centro metálico. No espectro no IV do complexo **9** observa-se que as bandas *scissoring* e *rocking* do NH_2 apresentaram deslocamentos de 1635 para 1616 cm^{-1} ($\Delta\bar{\nu} = +19\text{ cm}^{-1}$) e de 1331 para 1302 cm^{-1} ($\Delta\bar{\nu} = 29\text{ cm}^{-1}$), respectivamente. Essas alterações são típicas da coordenação do metal ao nitrogênio do grupo amino. As absorções no IV relacionadas às vibrações associadas ao anel piridínico da isoniazida (ver Tabela 14) sofrem pequenos deslocamentos após a coordenação. Por exemplo, a banda associada ao acoplamento das vibrações $\delta\text{CH} + \nu_{\text{anel}}$ desloca-se de 1408 para 1421 cm^{-1} após a coordenação, sugerindo a participação do nitrogênio heterocíclico na coordenação. Sugere-se que a carbonila não participa da coordenação, embora a banda $\nu(\text{C=O})$ sofra um deslocamento de 1668 (ligante livre) para 1707 cm^{-1} (complexo **9**). Ocorre que, segundo Pasaoglu *et al.* [85], quando o nitrogênio da piridina está envolvido na coordenação, a densidade eletrônica no ligante desloca-se para o nitrogênio piridínico, resultando em um efeito indutivo ou uma combinação de efeito indutivo e ressonância, que leva a um aumento do caráter de ligação dupla da C=O e consequentemente um deslocamento da banda $\nu(\text{C=O})$ para frequências mais altas. Cabe mencionar que a presença de água de hidratação no composto **9** foi diagnosticada pelo aparecimento de uma banda larga em 3402 cm^{-1} (νOH).

No espectro no IV do complexo **10**, nota-se que a banda $\nu\text{C=O}$ (1651 cm^{-1}) sofre um deslocamento significativo quando comparada a do ligante livre (1668 cm^{-1}), sugerindo que a carbonila participa da coordenação do ligante ao centro metálico. No que diz respeito ao grupo amino, nota-se que a banda *scissoring* NH_2 sofre um deslocamento de 1635 para 1624 cm^{-1} , sendo um indicativo da coordenação do metal via grupo $-\text{NH}_2$. A participação do nitrogênio piridínico da isoniazida na formação do complexo é sugerida pelo deslocamento da vibração ν_{anel} de 1553 para 1578 cm^{-1} . Quanto à presença do íon sulfato, sugere-se uma coordenação tridentada para esse grupo pela observação de bandas no IV em 1169 , 1136 e 980 cm^{-1} [86]. As estruturas propostas para os compostos **9** e **10** serão apresentadas a seguir (Figuras 45 e 46, respectivamente).

IV.3.2 Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

É bem sabido que os espectros de EPR podem auxiliar no diagnóstico da geometria de coordenação de sistemas paramagnéticos bem como elucidar a natureza das distorções das simetrias ideais [87]. O cobre (^{63}Cu ou ^{65}Cu) tem spin nuclear $I = 3/2$, o qual dá origem ao desdobramento hiperfino, entre o elétron desemparelhado e o próprio núcleo. Assim, um espectro de EPR de complexos de Cu(II) consiste de quatro linhas largas $\{(2I + 1) = 2(3/2) + 1 = 4\}$. Mas, para muitos compostos, os elétrons d estão deslocalizados, em uma considerável extensão, por sobre os ligantes e, assim, se os átomos dos ligantes tiverem, eles mesmos um spin nuclear, então se pode esperar por padrões de desdobramento superhiperfino sobrepostos a estas linhas [88, 89].

Os espectros EPR em banda X dos complexos de cobre (II) contendo moléculas biologicamente ativas investigados neste trabalho, obtidos em solução congelada de DMSO ou DMF a 77 K, estão representados nas Figuras 40 – 43.

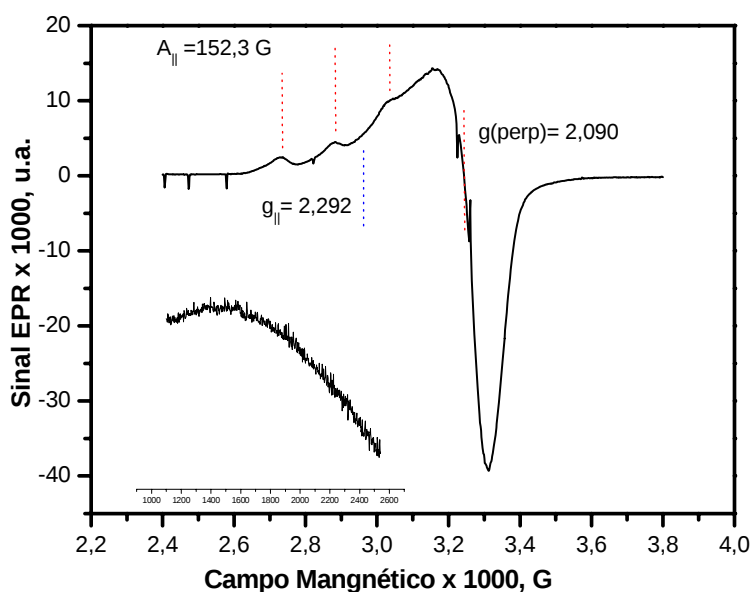


Figura 40. Espectro EPR do complexo **7**, em solução congelada de DMSO, a 77 K.

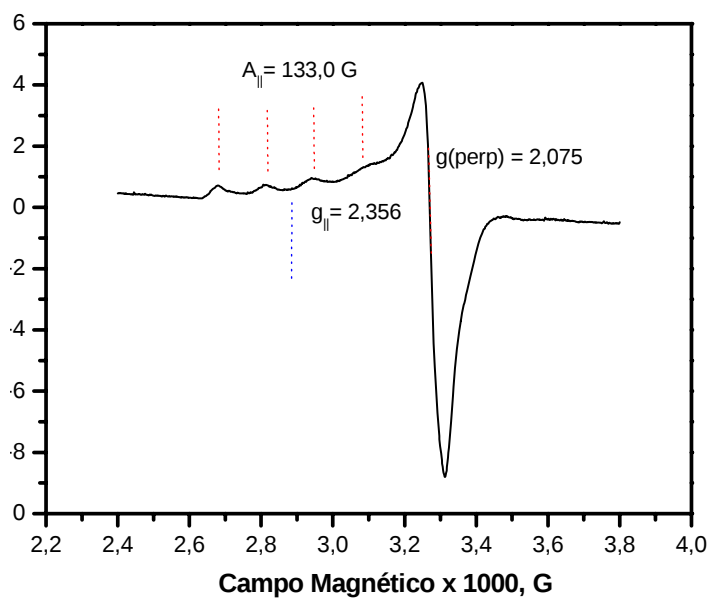


Figura 41. Espectro EPR do complexo **8**, em solução congelada de DMSO, a 77 K.

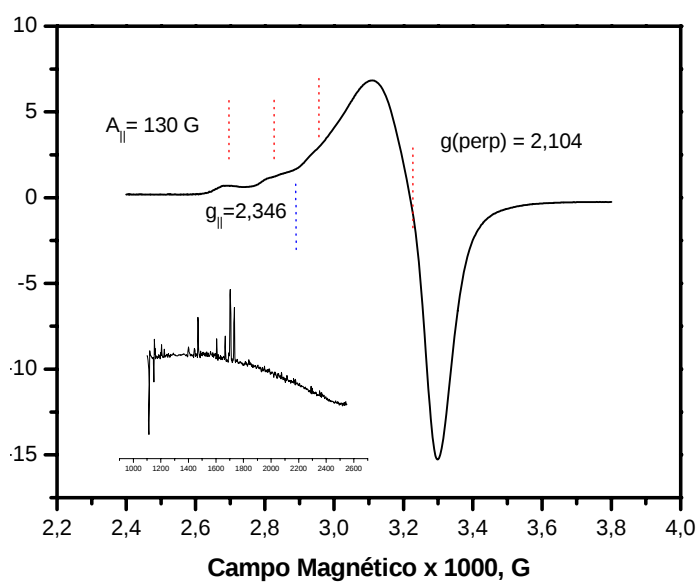


Figura 42. Espectro EPR do complexo **9**, em solução congelada de DMSO, a 77 K.

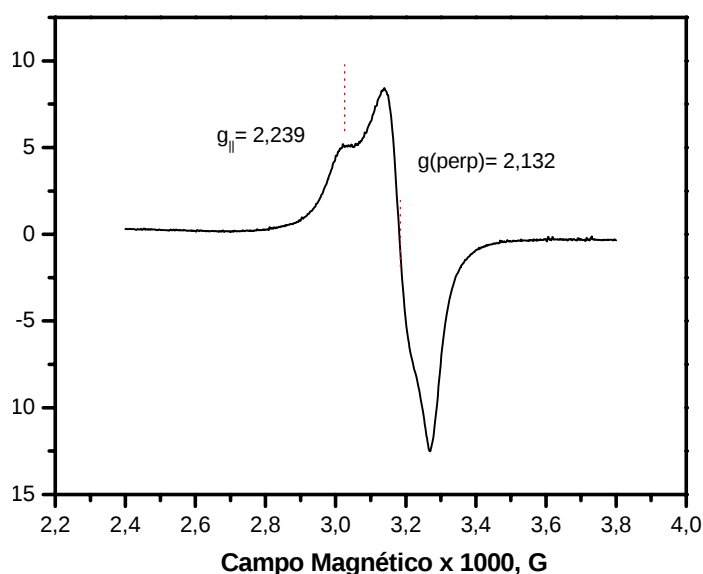


Figura 43. Espectro EPR do complexo **10**, em solução congelada de DMSO, a 77 K.

De um modo geral, os espectros de todos os complexos permitem sugerir a presença de íons Cu(II) octaédricamente coordenados, com o octaedro alongado na direção axial, uma vez que nenhum dos dois valores de g , em cada espectro, é igual a $g = 2,00$ [90]. De fato, a literatura tem reportado que espectros de EPR de espécies de cobre divalente, obtidos em solução e a temperatura de 77 K, que apresentam $g_{||} > g_{\perp} > g_0$ são típicos de Cu (II) (d^9) em simetria axial com o elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$ [91]. Os espectros de EPR obtidos para os compostos de **7** – **10** apresentam $g_{||} > g_{\perp}$ que sugere estrutura octaédrica com uma forte distorção tetragonal devido ao efeito de distorção Jahn Teller dos íons Cu(II) de configuração d^9 [91].

Nenhuma banda correspondente para as transições $\Delta M_s = \pm 2$ (em campo ~ 1500 G) foi observada nos espectros, sugerindo que não há interação Cu...Cu, ou seja, os complexos **7** - **10** são monoméricos [92].

Comparando o valor de $g_{||}$ dos compostos **9** e **10**, que possuem a mesma molécula biologicamente ativa INH complexada, pode-se observar que o valor de $g_{||}$ igual a 2,346 para o composto **9** é maior do que para o composto **10** ($g_{||} = 2,239$), o que sugere uma diminuição na força do campo ligante no plano equatorial do composto **9**. Isto corresponderia, então, a uma superposição fraca dos orbitais dos átomos de nitrogênio das moléculas isoniazida com os orbitais do íon Cu^{2+} nesse composto.

O desdobramento hiperfino pode ser observado nos espectros EPR dos complexos **7** – **9**, e os valores de A são de 152,3, 133,0 e 130 G, respectivamente.

IV.3.3 Proposição Estrutural para os Complexos 7, 9 e 10

Para o complexo 7, com base nos resultados obtidos a partir da espectroscopia no infravermelho, ressonância paramagnética eletrônica e em concordância com os resultados obtidos de análise elementar, sugere-se que ao redor do átomo de cobre encontra-se um ambiente octaédrico com uma forte distorção tetragonal devido ao efeito de Jahn Teller, com seus sítios de coordenação ocupados por dois átomos de cloro nas posições axiais e por duas moléculas de pirazinamida no plano equatorial coordenadas via átomos de oxigênio dos grupos carbonilas e nitrogênios dos grupos -NH_2 , formando um monômero (Figura 44).

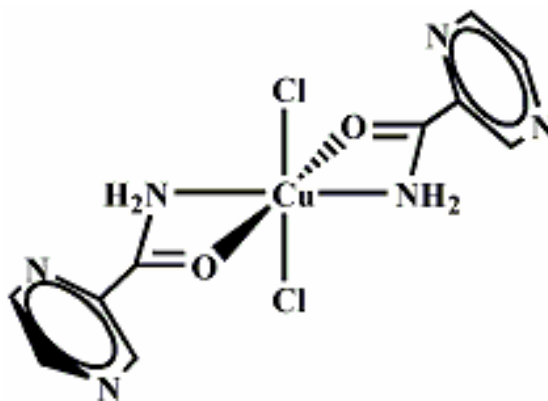


Figura 44. Estrutura proposta para o composto 7.

A estrutura proposta para o complexo 9 concorda com os dados obtidos na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, ressonância paramagnética eletrônica e microanálise (Figura 45). Sugere-se uma estrutura polimérica, com unidades monoméricas constituídas por um átomo de cobre, no qual seus sítios de coordenação estão ocupados por dois átomos de cloro nas posições axiais e por duas moléculas de isoniazida no plano equatorial coordenadas via átomos de nitrogênio piridínicos do anel heterocíclico e do grupo -NH_2 .

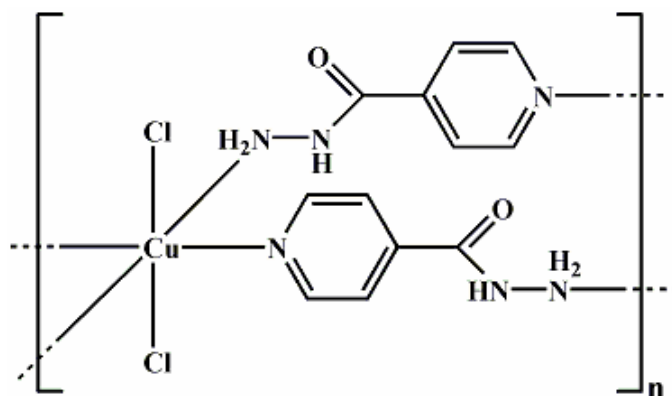


Figura 45. Estrutura proposta para o composto **9**.

Para o complexo **10**, com base nos resultados obtidos a partir da espectroscopia no infravermelho, ressonância paramagnética eletrônica e em concordância com os resultados de análise elementar, sugere-se uma estrutura polimérica, com unidades monoméricas constituída por um átomo de cobre, no qual seus sítios de coordenação estão ocupados por um átomo de oxigênio do íon sulfato coordenado de modo tridentado, e uma molécula de isoniazida, coordenada via átomos de oxigênio do grupo carbonila e nitrogênio do grupo -NH_2 (Figura 46).

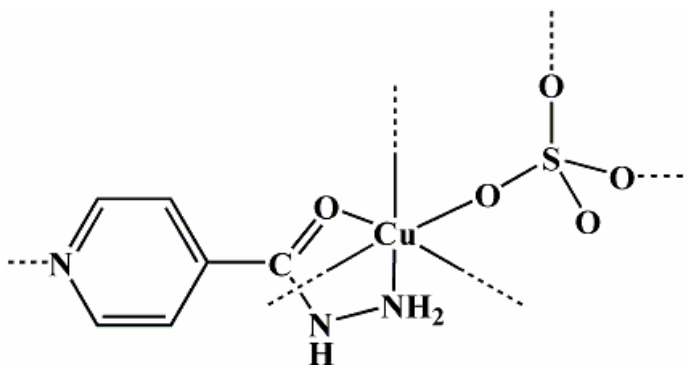


Figura 46. Estrutura proposta para o composto **10**.

IV.4. Atividade biológica frente ao bacilo de Koch

Os complexos de cobre(II) **1** – **10** foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose humana, linhagem H37Rv ATCC – 27194. Os valores de CIM, IC_{50} e IS dos ensaios estão apresentados na Tabela 15. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima (CIM) representam a menor concentração da droga capaz de impedir a multiplicação da micobactéria.

Tabela 15. CIM, IC₅₀ e IS dos compostos de cobre(II), frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC - 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO

Composto	MM (g/mol)	CIM (µg/mL)	CIM (µM)	IC ₅₀	IS
[Cu(NCS) ₂ (HPz) ₂] (1)	315,9	50,0	158,3	78,2	1,56
[Cu(NCS) ₂ (HdmPz) ₄].5H ₂ O (2)	654,3	25,0	38,2	39,1	1,56
[Cu(NCS) ₂ (HIPz) ₂] (3)	440,8	25,0	56,7	78,2	3,13
[Cu(NCS)(tdmPz)] ₂ (4)	551,7	22,0	39,9	9,80	0,447
[Cu ₂ Cl ₂ (HtdmPz) ₂] (5)	508,4	3,25	6,39	7,80	2,40
[Cu ₂ Br ₂ (HtdmPz) ₂] (6)	597,4	14,0	23,4	< 9,80	0,70
[CuCl ₂ (PZA) ₂] (7)	380,7	10,0	26,3	78,2	7,82
[Cu(RMP)] (8)	884,9	0,31	0,35	39,0	126,0
[CuCl ₂ (INH) ₂] _n .H ₂ O (9)	426,8	10,0	23,4	78,2	7,82
[Cu(SO ₄)(INH)] _n (10)	296,8	0,62	2,09	78,2	126,0
HPz	68,10	NHIC	NHIC	312,0	-
HdmPz	96,10	NHIC	NHIC	625,0	-
HIPz	194,0	NHIC	NHIC	312,0	-
NaSCN	81,10	> 125,0	> 1541	> 1250	-
Rifampicina (droga padrão) [93]	819,4	0,06	0,07	38,3	638,0
Pirazinamida (droga padrão) [94-95]	123,1	50,0-100,0	406,0-812,0	16,0	0,320
Isoniazida (droga padrão) [26]	137,1	0,03	0,22	> 1000	33333

MM = massa molar; NHIC = não houve inibição do crescimento

De um modo geral, pode-se observar que os valores de CIM obtidos para os compostos de cobre (II), são bastante satisfatórios, uma vez que valores de CIM $\leq 31,25$ µg/mL são considerados promissores para substâncias sintéticas. Atividades com CIM abaixo de 10µg/mL são comparáveis a drogas de segunda linha utilizadas no tratamento da tuberculose, como a etionamida, viomicina, *d*-cicloserina e capreomicina. Portanto, os compostos **5 - 10** mostraram ser bastante eficientes na inibição do crescimento da micobactéria utilizada. Os valores de CIM encontrados neste trabalho, principalmente para os compostos **5, 8 e 10** são inferiores àqueles determinados para algumas drogas sintéticas, como os derivados da hidrazida do ácido benzóico ou compostos de prata com mandelato de prata ou tartarato, cuja CIM está na faixa de 4 - 16 µg/mL [96].

Comparando os resultados de CIM obtidos neste trabalho, com dados recentemente publicados na literatura para compostos sintéticos de níquel, [Ni(sulfapiridina)₂] e [Ni(sulfisoxazole)₂(H₂O)₄].2H₂O, cuja CIM foram > 250 e 250 µg/mL, respectivamente, os resultados para os complexos de cobre foram extremamente satisfatórios, uma vez que a CIM está na faixa de

0,31-50,0 µg/mL, resultados bem inferiores aos complexos de níquel apresentados na literatura por Mondelli *et al.* [97].

Analisando a Tabela 15, observa-se que os ligantes livres HPz, HdmPz e HIPz não apresentaram atividade antimicobacteriana e o ligante NaSCN apresentou um CIM > 125 µg/mL. Observa-se também que os valores de CIM para os complexos **1 - 3** (50 µg/mL, 25 µg/mL, 25 µg/L) são inferiores quando comparados àqueles dos ligantes livres. Estes resultados constituem um indicativo da importância da coordenação dos ligantes ao centro metálico, potencializando a ação dos mesmos, frente ao *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo causador da tuberculose. No entanto, os mecanismos de atuação destes complexos ainda precisam ser devidamente elucidados.

A partir dos valores de CIM obtidos para os compostos contendo as moléculas biologicamente ativas (**7 - 10**), calculou-se a quantidade de ligante no complexo e, então, a concentração ativa dos referidos ligantes nos complexos. As concentrações calculadas estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos de Cu(II) utilizando moléculas biologicamente ativas e as concentrações efetivas destes ligantes nos complexos **7-10** frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC - 27194

Composto	MM (g/mol)	CIM (µg/mL)	CIM da molécula no complexo (µg/mL)
[CuCl ₂ (PZA) ₂] (7)	380,7	10,0	6,47
[Cu(RMP)] (8)	884,9	0,31	0,29
[CuCl ₂ (INH) ₂] _n .H ₂ O (9)	426,8	10,0	6,43
[Cu(SO ₄)(INH)] _n (10)	296,8	0,62	0,29

Comparando-se os valores de CIM dos complexos com aqueles dos ligantes PZA e INH nos complexos **7, 8, 9 e 10**, pode-se verificar o efeito da complexação sobre a atividade antimicobacteriana frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC - 27194.

O complexo **7** mostrou ser muito eficiente na atividade antimicobacteriana frente ao *Mycobacterium tuberculosis*, pois a CIM obtida para esse complexo foi de 10 µg/mL (compare-se com a da pirazinamida livre, na faixa de 50-100 µg/mL) e a calculada da PZA ativa no complexo é de 6,47 µg/mL, ou seja, tanto o CIM do complexo quanto a da PZA no complexo são menores do que a do ligante livre. Isso mostra que o centro metálico está potencializando a atividade tuberculostática da molécula, o que significa que o íon Cu(II) não atua apenas como um carregador da droga.

Por outro lado, a isoniazida quando complexada ao cobre não apresentou uma melhora na atividade antimicobacteriana. Aliás, o efeito foi inverso, pois tanto os valores de CIM obtidos para os complexos **9 e 10** (10 e 0,62 µg/mL, respectivamente), quanto aqueles calculados para a molécula de

INH nesses complexos (6,43 e 0,29 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) são maiores do que a CIM da INH livre, que é igual a 0,03 $\mu\text{g/mL}$. Por outro lado, o fato de a coordenação estar prejudicando a atividade tuberculostática da isoniazida pode, de uma certa forma, auxiliar a entender o mecanismo de ação dessa droga, uma vez que a complexação pode ter bloqueado alguma das reações que ocorram no seu mecanismo de ação. Sabe-se que a INH é uma pró-droga e que sua ativação depende de uma reação enzimática que a transforma em uma espécie radicalar. É possível que sua complexação com o Cu^{2+} dificulte tal ativação, resultando na diminuição da atividade tuberculostática.

Quanto ao complexo **8**, a complexação do cobre na molécula de rifampicina também não melhorou a atividade tuberculostática dessa droga, pois o valor de CIM obtido para o complexo **8** foi de 0,31 $\mu\text{g/mL}$ e o calculado para a RMP ativa no complexo 0,29 $\mu\text{g/mL}$, ambos mais elevados do que o valor de CIM da rifampicina livre, a saber, 0,06 $\mu\text{g/mL}$.

Cabe destacar que, apesar de os complexos **8**, **9** e **10** não terem apresentado valores de CIM menores do que aqueles das respectivas moléculas usadas na complexação, existe a possibilidade de que sejam ativos contra os bacilos multi-droga resistentes, o que deverá ser investigado posteriormente.

Quanto à citotoxicidade, os compostos **4** - **6** demonstraram ser mais tóxicos do que os demais, ou seja, esses complexos provocam a morte de 50% das células em concentrações menores do que as espécies de **1** a **3** e de **7** a **10**.

O índice de seletividade ($\text{IS} = \text{IC}_{50}/\text{CIM}$), é um cálculo realizado com a finalidade de selecionar as melhores substâncias para dar continuidade a ensaios e estudos mais aprofundados, uma vez que muitos compostos tanto sintéticos quanto naturais são testados frente ao *Mycobacterium tuberculosis*. Segundo Orme *et al.* [63], uma substância promissora é aquela que possui um IS maior que 10, mas no laboratório aonde os compostos **1** - **10** foram analisados, considera-se um IS promissor o composto com resultado > 4 , consequentemente nesse trabalho temos quatro compostos promissores, **7** - **10**, cujo IS foram: 7,82; 126; 7,82 e 126, respectivamente.

Logo, estas espécies de cobre(II) podem, em um primeiro momento, ser úteis na esterilização de locais e/ou materiais que se encontram em contato com essa micobactéria, ou até mesmo no tratamento de secreções (particularmente o esputo) de pacientes tuberculosos, antes de seu descarte, além de serem novos candidatos para o tratamento da tuberculose.

V. CONCLUSÕES

Foram preparados dez complexos de cobre(II), sete dos quais inéditos: $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HdmPz})_4] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HIPz})_2]$ (**3**), $[\text{CuCl}_2(\text{PZA})_2]$ (**7**), $[\text{Cu}(\text{RMP})]$ (**8**), $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2]_n \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**9**) e $[\text{Cu}(\text{SO}_4)(\text{INH})]_n$ (**10**). Tratam-se de espécies estáveis em condições ambientes e, na maioria dos casos, solúveis em solventes polares.

A técnica de espectroscopia vibracional no IV foi importante no diagnóstico dos modos de coordenação dos ligantes pirazólicos, das moléculas biologicamente ativas e dos ânions tiocianato e sulfato.

A determinação da estrutura molecular e cristalina do complexo $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{HPz})_2]$ confirmou a coordenação monodentada neutra do pirazol e mostrou que o pseudo-haleta tiocianato encontra-se coordenado no modo *end-to-end*, apesar do espectro vibracional no infravermelho mostrar uma absorção $\nu_{\text{as}}\text{NCS}$ (vide Figura 25) em uma região espectral típica de grupos tiocianato coordenados terminalmente via átomo de nitrogênio. O empacotamento cristalino mostrou a formação de um arranjo supramolecular tridimensional constituído de unidades monoméricas $[\text{Cu}(\mu\text{-NCS})_2(\text{HPz})_2]$ auto montadas por pontes de ligantes NCS no modo *end-to-end* e por *synthons* supramoleculares do tipo $\text{N-H} \cdots \pi$ e $\pi \cdots \pi$.

Com relação aos ensaios de atividade biológica frente ao bacilo de Koch, responsável pela tuberculose, destaque deve ser dado aos compostos **5 - 10**, que mostraram ser bastante eficientes na inibição da multiplicação desta micobactéria, e como novos candidatos para o tratamento da tuberculose os compostos **7 - 10**.

VI.PERSPECTIVAS

- Determinação do valor de CIM para o composto 7 em meio ácido;
- Realização de ensaios biológicos intracelular para os compostos 7 - 10;
- Determinação dos valores de CIM dos compostos 7 - 10 frente a cepas multi-Droga resistentes;
- Preparação de compostos inéditos de Cu(II) contendo a droga hidrazida do ácido 2-tiofeno carboxílico (TCH) para realização de ensaios biológicos frente ao Mycobacterium tuberculosis;
- Estudos de modelagem molecular para investigar o tipo de interação entre os complexos de Cu(II) e o sítio ativo da enzima responsável pela formação da parede celular do bacilo de Koch;
- Estudos de modelagem molecular para investigar o tipo de interação entre os complexos de Cu(II) e a unidade 16S do RNA-ribossômico da bactéria.

REFERÊNCIAS

- 1 TUCZEK, F.; BENSCH, W. Strong antiferromagnetic coupling in cis- μ -1,3-azide-bridge copper (II) dimers-trigonal-bipyramidal vs quadratic planar coordination with a nearly identical binucleating ligand system. **Inorganic Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 1482-1486, 1995.
- 2 HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. **Inorganic chemistry principles of structure and reactivity**. 4th ed. New York: Harper Collins College Publishers, 1993. 964 p.
- 3 LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2000. 527 p.
- 4 COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced inorganic chemistry**. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 1988. 1455 p.
- 5 WEDER, J. E.; DILLON, C. T.; HAMBLEY, T. W.; KENNEDY, B. J.; LAY, P. A.; BIFFIN, J. R.; REGTOP, H. L.; DAVIES, N. M. Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, p. 95-126, 2002.
- 6 WEST, D. X.; PADHYE, S. B.; SONAWANE, P. B. Structural and physical correlations in the biological properties of transition metal heterocyclic thiosemicarbazone and S-alkyldithiocarbazate complexes. **Structure & Bonding**, v. 76, p. 1-50, 1991.
- 7 WILLIAM, D. R. Metals, ligands, and cancer. **Chemical Reviews**, v. 72, n. 3, p. 203-213, 1972.
- 8 RODNAN, G. P.; BENEDEK, T. G. Ancient therapeutic arts in the gout. **Arthritis & Rheumatism**, v. 6, n. 4, p. 317-340, 1963.
- 9 RODNAN, G. P.; BENEDEK, T. G. The early history of antirheumatic drugs. **Arthritis & Rheumatism**, v. 13, n. 2, p. 145-165, 1970.
- 10 VANE, J. R.; FLOWER, R. J.; BOTTING, R. M. History of aspirin and its mechanism of action. **Stroke: A Journal of Cerebral Circulation**, v. 21, n. 12, p. IV12-IV13, 1990.
- 11 HAAS, H. 4-aminopyridine and fiber potentials in rat and human hippocampal slices. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 39, n. 1, p. 114-115, 1983.

- 12 NARAD, S.; MISHRA, N. N.; PANDEY, P.; KUMAR, A.; PITRE, K. S. Electroanalytical and bacterial effect on N-(5-Nitro-2-Furfuryldine)3-amino-2-oxazolidone (furazolidone) and its metal complexes. **Analytical Letters**, v. 28, p. 2005-2016, 1995.
- 13 RAMADAN, A. M. Structural and biological aspects of copper(II) complexes with 2-methyl-3-amino-(3H)-quinazolin-4-one. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 65, p. 183-189, 1997.
- 14 CRIADO, J. J.; FERNÁNDEZ, E. R.; GARCÍA, E.; HERMOSA, M. R.; MONTE, E. Thiourea Derivates of α -aminoacids. Synthesis and characterization of Ni(II), Cu(II) and Pt(II) complexes with L-valinate derivates antifungal activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 69, p. 113-119, 1998.
- 15 NAVARRO, M.; FAJARDO, E. J. C.; LEHMANN, T.; DELGADO, R.; ATENCIO, R.; SILVA, P.; LIRA, R.; URBINA, J. A. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical disease. 6. Synthesis and characterization of new copper(II) and gold(I) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*. **Inorganic Chemistry**, v. 40, p. 6879-6884, 2001.
- 16 DEVEREUX, A.; McCANN, M.; SHEA, D. O.; KELLY, R.; EGAN, D.; DEEGAN, C.; KAVANAGH, K.; MCKEE, V.; FINN, G. Synthesis, antimicrobial activity and chemotherapeutic potencial of inorganic derivates of 2-(4'-thiazolyl)benzimidazole{thiabendazole}: X-ray crystal structures of [Cu(TBZH)₂Cl]Cl.H₂O.EtOH and TBZH₂NO₃ (TBZH = thiabendazole). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, p. 1023-1031, 2004.
- 17 PATEL, R. N.; SINGH, N.; SHUKLA, K. K.; CHAUHAN, U. K.; GUTIÉRREZ, J. N.; CASTIÑEIRAS, A. Magnetic spectroscopic, structural and biological properties of mixed-ligand complexes of copper(II) with N,N,N',N'',N''-pentamethyldiethylenetriamine and polypyridine ligands. **Inorganica Chimica Acta**, v. 357, n. 9, p. 2469-2476, 2004.
- 18 PATEL, R. N.; SINGH, N.; SHUKLA, K. K.; GUNDLA, V. L. N.; CHAUHAN, U. K. Synthesis, characterization and biological activity of ternary copper(II) complexes containing polypyridyl ligands. **Spectrochimica Acta, Part A**, v. 63, p. 21-26, 2006.
- 19 SOUZA, M. V.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, v. 28, p. 678-682, 2005.
- 20 JANIN, Y. L. Antituberculosis drugs: ten years of research. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 2479-2513, 2007.
- 21 OLIVEIRA, J. S.; SOUSA, E. H. S.; BASSO, L. A.; PALACI, M.; DIETZE, R.; SANTOS, D. S.; MOREIRA, I. S. An inorganic iron complex that inhibits wild-type and an isoniazid-resistant mutant 2-trans-enoyl-ACP (CoA) reductase from *Mycobacterium tuberculosis*. **Chemical Communications**, p. 312-313, 2004.

22 KANTOR, I. N.; LAZLO, A. Tuberculosis laboratory procedures for developing countries. In: GANGADHARAN, P.; JENKINS, P. A. (Ed.). **Mycobacteria I basic aspects**. New York: Chapman & Hall, 1997, p. 351-399.

23 VOYATZAKIS, V. A. E.; VASILIKIOTIS, G. S.; KARAGEORGIOU, G.; KASSAPOGLOU, I. Influence of mettalic ions on the antituberculous activity of isonicotinoyl hydrazones. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, n. 7, p. 1255-1257, 1968.

24 SORKIN, V. E.; ROTH, W.; ERLLENMEYER, H. Über die beeinflussung tuberkulostatischer wirkungen durch Cu. **Helvetica Chimica Acta**, v. 35, n. 5, p. 1736-1741, 1952.

25 FALLAB, S.; ERLLENMEYER, H. Zur kenntnis des isonikotinsäurehydrazid-Cu-komplexes. **Experientia**, v. 8, p. 298-299, 1952.

26 BOTTARI, B.; MACCARI, R.; MONFORTE, F.; OTTANAÁ, R.; ROTONDO, E.; VIGORITA, M. G. Isoniazid-related copper(II) and nickel(II) complexes with antimycobacterial in vitro activity. Part 9. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, p. 657-660, 2000.

27 CRACIUNESCU, D. G. Relaciones entre la estructura y la actividad antituberculósica de los complejos formados por los metales de transición con los derivados de isoniacida. **Anales de La Real Academia de Farmacia**, v. 43, n. 1, p. 107-132, 1977.

28 DAVIES, D. T. Isoxazoles, pyrazoles, and isothiazoles. In: _____. **Aromatic heterocyclic chemistry**, Oxford: Oxford Science Publication, 1992. cap. 4, p. 28-35.

29 JOULE, J. A.; MILLS, K.; SMITH, G. F. 1,2-Azoles: pyrazoles, isothiazoles and isoxazoles: reactions and synthesis. In: _____. **Heterocyclic chemistry**. 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1995. cap. 22, p. 394-407.

30 ELGUERO, J. Pyrazoles and their benzo derivatives. In: KATRITZKY, A. R.; REES, C. W. (Ed.). **Comprehensive heterocyclic chemistry: the structure, reactions, synthesis and uses of heterocyclic compounds**. Oxford: Pergamon Press, 1984. v. 5. cap. 404, p.167-302.

31 TROFIMENKO, S. The coordination chemistry of pyrazole-derived ligands. **Chemical Reviews**, v. 72, p. 497-509, 1972.

32 TROFIMENKO, S. The coordination chemistry of pyrazole-derived ligands. **Progress in Inorganic Chemistry**, v. 34, p. 115-210, 1986.

- 33 SADIMENKO, A. P.; BASSON, S. S. Organometallic complexes of heterocycles II. Complexes of pyrazoles. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 147, p. 247-297, 1996.
- 34 ARDIZZOIA, G. A.; LA MONICA, G. The role of the pyrazolate ligand in building polynuclear transition metal systems. **Progress in Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 151-238, 1997.
- 35 SUN, Y-J.; CHENG, P.; YAN, S-P.; LIAO, D-Z.; JIANG, Z-H.; SHEN, P-W. Synthesis, crystal structure and properties of copper(II) complexes with different axial ligands and substituted pyrazoles. **Journal of Molecular Structure**, v. 597, p. 191-198, 2001.
- 36 MIGHELL, A.; SANTORO, A.; PRINCE, E.; REIMANN, C. Neutron diffraction structure determination of dichlorotetrapyrazolocopper(II), $\text{Cu}(\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2)_4\text{Cl}_2$. **Acta Crystallographica**, B31, p. 2479-2482, 1975.
- 37 GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; ZOIA, J. R. Crystallographic and spectroscopic studies on palladium(II) complexes containing pyrazole and thiocyanate ligands. **Transition Metal Chemistry**, v. 27, p. 279-283, 2002.
- 38 BOURROUET, G. V.; PINEDA, L. W.; FALVELLO, L. R.; LUSAR, R.; WEYHERMUELLER, T. Synthesis, structure and spectroscopic characterization of Ni(II), Co(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with saccharinate and pyrazole. **Polyhedron**, v. 26, p. 4470-4478, 2007.
- 39 KAVLAKOGLU, E.; ELMALI, A.; ELERMAN, Y.; SVOBODA, I. Magneto-structural characterization of tetranuclear copper(II) complex $[\text{Cu}_4(\text{pz})_4\text{L}_2](\text{ClO}_4)$ (LH = 1,3-diamino-2-propanol, HPz = pyrazole). **Polyhedron**, v. 21, p. 1539-1545, 2002.
- 40 MANZUR, J.; GARCIA, A. M.; GARLAND, M. T.; ACUÑA, V. Magneto-structural characterization of $[\text{Cu}_4(\text{prz})_4(\text{CH}_3\text{OH})_2\text{L}_2](\text{ClO}_4)_2$ ($\text{L}''\text{H}$ = 1,1-Di-(2-Pyridyl)-1-methoximethanol, Przh = Pyrazole). **Polyhedron**, v. 15, n. 5-6, p. 821-827, 1996.
- 41 EHLERT, M. K.; STORR, A.; THOMPSON, R. C. Low-temperature X-ray diffraction studies on $[\text{Cu}(4\text{-Xpz})_2]_x$ linear chain polymers (where X = Cl, Br, CH_3 , H; pz = pyrazolate). **Canadian Journal of Chemistry**, v. 71, p. 331-334, 1992.
- 42 EHLERT, M. K.; STORR, A.; THOMPSON, R. C. Metal pyrazole polymers. Part 3. Synthesis and study of Cu(I) and Cu(II) complexes of 4-Xdmpz (where X = H, Cl, Br, I, and CH_3 for Cu(I) and X = H, Cl, Br and CH_3 for Cu(II); dmpz = 3,5-dimethylpyrazolate). **Canadian Journal of Chemistry**, v. 70, p. 1121-1128, 1991.
- 43 HOLLA, B. S.; MAHALINGA, M.; KARTHIKEYAN, M. S.; AKBERALI, P. M.; SHETTY, N. S. PATEL, M. G.; DESAI, S. B.; DESAI, K. R. Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives as potential antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 2040-2047, 2005.

- 44 MANFREDINI, S.; BAZZANINI, R.; BARALDI, P. G.; BONORA, M.; MARANGONI, M.; SIMONI, D.; PANI, A.; SCINTU, F.; PINNA, E.; PISANO, L.; COLLA, P. L. Pyrazole related nucleosides 4-synthesis and tumor activity of some 1-tetrahydropyranyl-4-substituted pyrazoles. **Anti-Cancer Drug Design**, v. 11, n. 3, p. 193-204, 1996.
- 45 MITSUI TOATSU CHEMICALS (Japan). Tsutomi Ishii; Hideo Yamazaki; Toshiaki Kuwazuka; Hitoshi Shimotori; Yoshinori Tanaka; Katsutoshi, Ishikawa. **Pyrazole-4-carboxylic acids as intermediates for agrochemical microbicides**. JP 01113371, 23 Oct. 1987, 02 May 1989. In: AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder Scholar. Version 2006. Columbus, c2005. CAN 111:214479.
- 46 CECCHI, L.; MELANI, F.; PALAZZINO, G.; FILACCHIONI, G.; PORRETTA, G. Pyrrolnitrin analogues. IX. Synthesis and biological activity of 1-tolyl-3-nitrophenyl-5-methyl pyrazole- 4-carboxylic acids and 1-tolyl-3-methyl-5-nitrophenylpyrazole-4-carboxylic acids. **Il Farmaco**, v. 39, p. 888, 1984.
- 47 CECCHI, L.; MELANI, F.; PALAZZINO, G.; FILACCHIONI, G. Pyrrolnitrin analogues. X. Synthesis and biological activity of 1-chlorophenyl-3- or 5-nitrophenyl pyrazole -4 -carboxylic acids. **Il Farmaco**, v. 39, p. 953, 1984.
- 48 PHARMACIA & UPJOHN S.P.A (Italy). PAOLO PEVARELLO; PAOLO ORSINI; GABRIELA TRAQUANDI; MARIO VARASI; EDWARD L. FRITZEN; MARTHA A. WARPEHOSKI, BETSY S. PIERCE; MARIA GABRIELA BRASCA. **3(5)-amino-pyrazole derivatives, process for their preparation and their use as antitumor agents**. WO 2001012189, 22 Feb. 2001, 17 Abr. 2001. CAN 134:178552.
- 49 DAIDONE, G.; MAGGIO, B.; RAFFA, D.; PLESCIA, S.; BENETOLLO, F.; BOMBIERI, G. Consecutive pschorr-sandmeyer reactions in a pyrazole series. Part 2. Access to the [2]benzopyrano[4,3-c]pyrazole system of pharmaceutical interest. **Journal of the Chemical Society Perkin Transactions**, v. 1, p. 2891-2897, 1998.
- 50 ZALARU, C.; CAIRA, M. R.; IOVU, M.; CRISTEA, E. X-ray structures of new substituted 2-(pyrazol-1-yl)-2'-nitroacetanilides with pharmacological activity. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 34, n. 5, p. 317-324, 2004.
- 51 DURHAM, E. W.; SCHARF, M. E.; SIEGFRIED, B. D. Toxicity and neurophysiological effects of fipronil and Its oxidative sulfone metabolite on european Corn Borer Larvae (Lepidoptera: Crambidae). **Pesticide Biochemical Physiological**, v. 71, p. 97-106, 2001.
- 52 MOTOKA, K.; NISHIZAWA, H.; SUZUKI, T.; HAMAGUCHI, H.; UCHIDA, M.; FUNAYAMA, S. Species-specific detoxification metabolism of Fenpyroximate, a potent acaricide. **Pesticide Biochemical Physiological**, v. 77, p. 73-84, 2000.

- 53 NOMIYA, K.; NOGUCHI, R.; OHSAWA, K.; TSUDA, K.; ODA, M. Synthesis, crystal structure and antimicrobial activities of two isomeric gold(I) complexes with nitrogen-containing heterocycle and triphenylphosphine ligands, $[\text{Au}(\text{L})(\text{PPh}_3)]$ (HL = pyrazole and imidazole). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 78, p. 363-370, 2000.
- 54 SAKAI, K.; TOMITA, Y.; UE, T.; GOSHIMA, K.; OHMINATO, M.; TSUBOMURA, T.; MATSUMOTO, T.; OHMURA, K.; KAWAKAMI, K. Synthesis, antitumor activity, and molecular mechanics studies of *cis*- $\text{PtCl}_2(\text{pzH})_2$ (pzH = pyrazole) and related complexes. Crystal structure of a novel magnus-type double-salt $[\text{Pt}(\text{pzH})_4][\text{PtCl}_4][\text{cis-PtCl}_2(\text{pzH})_2]_2$ involving two perpendicularly aligned 1D chains. **Inorganica Chimica Acta**, v. 297, p. 64-71, 2000.
- 55 KOMEDA, S.; LUTZ, M.; SPEK, A. L.; CHIKUMA, M. New antitumor-active azole-bridged dinuclear platinum(II) complexes: synthesis, characterization, crystal structures, and cytotoxic studies. **Inorganic Chemistry**, v. 39, p. 4230-4236, 2000.
- 56 FAN, D.; YANG, C-T.; RANFORD, J. D.; VITTAL, J. J. Chemical and biological studies of gold(III) complexes with uninegative bidentate N—N ligands. **Journal of Chemical Society Dalton Transactions**, v. 24, p. 4749-4753, 2003.
- 57 WILEY, R. H.; HEXNER, P. E. 3,5-dimethylpyrazole (pyrazole, 3,5-dimethyl-). **Organic Synthesis**, v. 31, p. 43-44, 1951.
- 58 SZÈCSÈNYI, K. M.; LEOVAC, V. M.; JACIMOVIC, Z. K.; POKOL, G. Transition metal complexes with pyrazole based ligands, Part 15. Cobalt(III)-, nickel(II)- and copper(II)-complexes with 3,5-dimethyl-1-thiocarboxamidepyrazole. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 74, p. 943-952, 2003.
- 59 SZÈCSÈNYI, K. M.; LEOVAC, V. M.; KOVÁCS, A.; POKOL, G.; JACIMOVIC, Z. K. Transition metal complexes with pyrazole-based ligands, Part 21. Thermal decomposition of copper and cobalt halide complexes with 3,5-dimethyl-1-thiocarboxamidepyrazole. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 85, n. 2, p. 289-293, 2006.
- 60 EVANS, I. R.; HOWARD, J. A. K.; HOWARD, L. E. M.; EVANS, J. S. O.; JACIMOVIC, Z. K.; JEVTOMIC, V. S.; LEOVAC, V. M. Transition metal complexes with pyrazole base ligands, part 18: new binuclear Cu(I), Cu(II) and Co(II) complexes with 3,5-dimethyl-1-thiocarboxamide pyrazole: synthesis, structural and magnetic studies. **Inorganica Chimica Acta**, v. 357, p. 4528-4536, 2004.
- 61 FRANZBLAU, S. G. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, p. 362-366, 1998.

62 AHMED, S. A.; GOGAL, R. M.; WALSH, J. E. A new rapid simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [^3H]thymidine incorporation assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 170, n. 2, p. 211-214, 1994.

63 ORME, I.; SECRIST, J.; ANATHAN, S.; KWONG, C.; MADDRY, J.; REYNOLDS, R.; POFFENBERGER, A.; MICHAEL, M.; MILLER, L.; KRAHENBUH, J.; ADAMS, L.; BISWAS, A.; FRANZBLAU, S. G.; ROUSE, D.; WNFIELD, D.; BROOKS, J. Search for new drugs for treatment of tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 7, p. 1943-1946, 2001.

64 NORBURY, A. H. Coordination chemistry of cyanate, thiocyanate and selenocyanate ions. **Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry**, v. 17, p. 231-386, 1975.

65 NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 496 p.

66 BAILEY, R. A.; KOZAK, S. L.; MICHELSEN, T. W.; MILLS, W. N. Infrared spectra of complexes of the thiocyanate and related ions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 6, p. 407-445, 1971.

67 SERNA, Z. E.; COTES, R.; URTIGA, M. K.; BARANDIKA, M. G.; LEZAMA, L.; ARRIORTUA, M. I.; ROJO, T. Investigation of the $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{NCS}^-/\text{dpk}$ reactions magnetic properties of a dimer and a 1D polymer with the same empirical formula $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{dpk}\cdot\text{CH}_3\text{OH})]$. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2001, n. 3, p. 865-872, 2001.

68 LEVER, A. B. P. **Inorganic electronic spectroscopy**. 2nd ed. New York: Elsevier, 1986. 420 p.

69 DOCKUM, B. W.; REIFF, W. M. Thiocyanate-bridged transition-metal polymers. 1. Structure and low-temperature magnetic behavior of (bipyridyl)iron(II) thiocyanate: $\text{Fe}(\text{2,2'-(bpy)})(\text{NCS})_2$. **Inorganic Chemistry**, v. 21, p. 391-398, 1982.

70 SOLDÁNOVÁ, J.; KABESOVÁ, M.; GAZO, J. Refinement of the crystal structure of $\text{Cu}(\text{py})_2(\text{NCS})_2$. **Inorganica Chimica Acta**, v. 76, p. L203-204, 1983.

71 KOZÍSKOVÁ, Z.; KOZIZEK, J.; KABESOVÁ, M. Three different copper(II) coordination polyhedra in the crystal structure of bis(4-picoline)dithiocyanato copper(II) complex, $[\text{Cu}(\text{4-pic})_2(\text{NCS})_2]$; experimental evidence of a new type of mutual influence of ligands in complexes. **Polyhedron**, v. 9, n. 8, p. 1029-1034, 1990.

72 SÓCRATES, G.; NAKAMOTO, K. **Infrared characteristic group frequencies**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1994. 249 p.

73 AKYUZ, S.; DEMPSTER, A. B.; MOREHOUSE, R. L.; SUZUKI, S. An infrared and raman spectroscopic study of some metal pyridine tetracyanonickelate complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 17, p. 105-125, 1973.

74 AKYUZ, T.; AKYUZ, S.; DAVIES, J. E. D. Vibrational spectroscopic studies of three dimensional host lattices formed by pyrazine bridges between tetracyanonickelate layers. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 9, p. 349-354, 1990.

75 EKICI, N.; ZANTARCI, Z.; AKYUZ, S. An infrared and raman spectroscopic study of pyrazinecadmium (II) tetracyanometalate (II) Benzene (1/1) clathrates: $\text{Cd}(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)\text{Cd}(\text{CN})_4\text{C}_6\text{H}_6$ and $\text{Cd}(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)\text{Hg}(\text{CN})_4\text{C}_6\text{H}_6$. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 10, p. 9-18, 1991.

76 AKYUZ, S.; DAVIES, J. E. D. Solid-state vibrational spectroscopy Part 11: An infrared and raman vibrational spectroscopic study of metal(II). **Journal of Molecular Structure**, v. 95, p. 157-168, 1982.

77 AKYUZ, S. An infrared spectroscopic study of dianiline-metal(II) tetracyanometalate complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 68, p. 41-49, 1980.

78 AKALIN, E.; AKYUZ, S. Force field and IR intensity calculations of aniline and transition metal(II) aniline complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 482-483, p. 175-181, 1999.

79 AKALIN, E.; AKYUZ, S. Experimental and theoretical study of the vibrational spectra of paraphenylenediamine transition metal(II) complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 563-564, p. 579-586, 2001.

80 RAO, C. **Chemical applications of infrared spectroscopy**. New York: Academic Press, 1963. 681 p.

81 AKYUZ, S. The FT-IR spectra of pyrazinamide complexes of transition metal(II) tetracyanonickelate. **Journal of Molecular Structure**, v. 651-653, p. 541-545, 2003.

82 YADAV, H. D. S.; SENGUPTA, S. K.; TRIPATHI, S. C. Oxozirconium(IV) complexes of terephthalic acid dihydrazide and their reactions with β -diketones. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 17, p. 115-127, 1987.

83 LANFREDI, A. M. M.; TIRIPICCHIO, A.; CAMELLINI, M. T. X-Ray and infrared structural studies on the methyl ester of dithiocarbazic acid and its N-substituted derivatives. **Journal of Chemical Society Dalton Transactions**, v. 1, p. 417-422, 1977.

- 84 DONIA, A. M.; EL-RAYES, M. Thermochromism of the cobalt(II)-isoniazid complex in the solid state. **Thermochimica Acta**, v. 147, p. 65-70, 1989.
- 85 PASAOGLU, H.; GÜVEN, S.; HEREN, Z.; BÜYÜKGÜNGÖR, O. Synthesis, spectroscopic and structural investigation of $\text{ZnI}_2(\text{nicotinamide})_2$, $\text{ZnI}_2(\text{isonicotinamide})_2$ and $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{picolinamide})_2]\text{I}_2$. **Journal of Molecular Structure**, v. 794, p. 270-276, 2006.
- 86 RAHMANI, A.; ROMERO, M. A.; SALAS, J. M.; QUIRÓS, M.; CIENFUEGOS, G. A. A new example of μ_3 -sulfato coordination in a Cd(II) complex of 5,7-dimethyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine (dmtp). Characterisation and biological activity of several metal complexes of dmtp containing the sulfato anion. **Inorganica Chimica Acta**, v. 247, p. 51-55, 1996.
- 87 REEDIJK, J.; WINDHORST, C. A.; VAN HAM, N. H. M.; GROENEVELD, W. L. Pyrazoles and imidazoles as ligands. Part IX. Some adducts formed between Cu (II) salts and substituted pyrazoles. **Recueil**, v. 111, p. 234-251, 1971.
- 88 SIGEL, H. **Metal ions in biological systems**. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 12, p. 1-30.
- 89 PILBROW, J. R. **Transition ion electron paramagnetic resonance**. New York: Oxford, 1990. 717 p.
- 90 VAN OOIJEN, J. A. C.; VAN DER PUT, P. J.; REEDIJK, J. Compressed tetragonal geometry in Cu (II) doped dichlorobis(pyrazole)cadmium. **Chemical Physics Letters**, v. 51, n. 2, p. 380-382, 1977.
- 91 CHANDRA, S.; GUPTA, L. K. EPR and electronic spectral studies on Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes with a new tetradentate $[\text{N}_4]$ macrocyclic ligand and their biological activity. **Spectrochimica Acta, Part A**, v. 60, p. 1563-1571, 2004.
- 92 CHANDRA, S.; GUPTA, L. K.; SHARMA, S. Synthesis and spectral studies of transition metal complexes with 5,7,12,14-tetrametil-1,4,8,11-tetraazacyclotetradeca-4,7,11,14-tetraene, a fourteen membered tetradentate macrocyclic ligand. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 31, n. 7, p. 1205-1215, 2001.
- 93 FALZARI, K.; ZHU, Z.; PAN, D.; LIU, H.; HONGMANEE, P.; FRANZBLAU, S. G. *In vitro* and *in vivo* activities of macrolide derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 4, p. 1447-1454, 2005.
- 94 SOMOSKOVI, A.; WADE, M. M.; SUN, Z.; ZHANG, Y. Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, p. 192-196, 2004.

95 RANKIN, P. W.; JACOBSON, E. L.; BENJAMIN, R. C.; MOSS, J.; JACOBSON, M. K. Quantitative studies of inhibitors of ADP-ribosylation *in vitro* and *in vivo*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 8, p. 4312-4317, 1989.

96 SATO, D. N. **Avaliação rápida do perfil de sensibilidade do agente da tuberculose às drogas sintéticas ou extratos vegetais empregando *Mycobacterium tuberculosis* contendo o gene da luciferase**. 2003. 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

97 MONDELLI, M.; BRUNÉ, V.; BORTHAGARAY, G.; ELLENA, J.; NASCIMENTO, O. R.; LEITE, C. Q. F.; BATISTA, A. A.; TORRE, M. H. New Ni(II)-sulfonamide complexes: Synthesis, structural characterization and antibacterial properties. X-ray diffraction of $[\text{Ni}(\text{sulfisoxazole})_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Ni}(\text{sulfapyridine})_2]$. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 285-292, 2008.