

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

Angel Amado Recio Despaigne

**Estudo do perfil farmacológico
de novos complexos metálicos de hidrazonas
derivadas de piridina e imidazóis**

**Belo Horizonte
2012**

UFMG/ICEx/DQ 925^a
T. 411^a

Angel Amado Recio Despaigne

**Estudo do perfil farmacológico de novos complexos
metálicos de hidrazonas derivadas de piridina e imidazóis**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências-Química.

Belo Horizonte
2012

R294e Recio Despaigne, Angel Amado
2012 Estudo do perfil farmacológico de novos compostos
metálicos de hidrazonas derivadas de piridina e
imidazóis / Angel Amado Recio Despaigne. 2012.
T xiii, 152 f. : il.

Orientadora: Heloisa de Oliveira Beraldo.

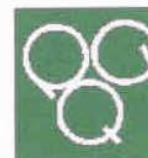
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas
Gerais. Departamento de Química.
Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica - Teses 2. Compostos metálicos -
Teses 3. Piridina - Teses 4. Imidazóis - Teses 5.
Atividade antifúngica - Teses 6. Química bioinorgânica
- Teses I. Beraldo, Heloisa de Oliveira, Orientadora
II. Título.

CDU 043



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



**"Estudo do Perfil Farmacológico de Novos Complexos Metálicos de Hidrazonas
Derivadas de Piridina e Imidazóis"**

Angel Amado Recio Despaigne

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Heloisa de Oliveira Beraldo

Profa. Heloisa de Oliveira Beraldo - Orientadora
UFMG

Ernesto Schulz Lang

Prof. Ernesto Schulz Lang
UFSM

Nicolás Adrián Rey

Prof. Nicolás Adrián Rey
PUC-Rio

Cynthia Peres Demicheli

Profa. Cynthia Peres Demicheli
UFMG

Tiago Antônio da Silva Brandão

Prof. Tiago Antônio da Silva Brandão
UFMG

Belo Horizonte, 03 de outubro de 2012.

O trabalho descrito nesta tese
foi realizado sob orientação da
Prof.^a Dr.^a Heloisa de Oliveira Beraldo.

“Quem acredita sempre alcança.”

Agradecimentos

- À Prof^a. Heloisa Beraldo pela orientação, dedicação, apoio e paciência durante todos esses anos.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.
- Aos pesquisadores Dra. Isolda Maria Castro Mendes, Dr. Willian Rocha, Dr. Nivaldo Speziali, Dr. Oscar Piro, Dr. Eduardo Castellanos, Dra. Raquel Gouvea dos Santos, Dra Sonia R.W. Louro e Dra Jacqueline Aparecida Takahashi pela colaboração na realização deste trabalho.
- As secretárias do Programa de Pós-graduação em Química da UFMG, Paulete, Lilian e Katia. Obrigado pela atenção, carinho e boa vontade.
- Aos colegas e amigos do laboratório e do Departamento de Química, Jeferson, Fabricio, Demetrio, Gaby, Karina, Débora, Josane, Anayive, Rafael, Priscila (CDTN), Fernanda, Edgar, Mariany, Sarah e Ana Carolina pela ajuda, apoio, força no nosso dia a dia.
- Aos professores do Departamento de Química pelo aprendizado e ajuda ao longo desses anos.
- A meus amigos e companheiros em Cuba, minha linda terra.
- A minha esposa Sabrina, pela força, paciência apoio, confiança e amor.
- A meus pais e minha família em Cuba, pelo carinho, confiança e apoio.
- A meus sogros, Walter e Marília e meu cunhado Fred, obrigado por ter me acolhido no seu lar, pelo carinho e a força.

RESUMO

No presente trabalho foi feita a síntese e a caracterização estrutural de hidrazonas derivadas de piridina e de imidazol. Foram também obtidos complexos das hidrazonas derivadas de piridina com zinco(II), cobre(II) e estanho(IV). O perfil farmacológico das hidrazonas e seus complexos metálicos foi investigado.

Foram obtidas doze hidrazonas derivadas de imidazol e as estruturas cristalinas de quatro compostos foram determinadas. Foi avaliada a atividade antibacteriana dos derivados de imidazol frente a bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, mas os compostos não apresentaram atividade apreciável. Foi também avaliada a atividade antifúngica, dos compostos frente aos fungos filamentosos, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus flavus* e contra leveduras *Candida albicans* e *Candida glabrata*. 4(5)imidazol-carboxaldeído-benzoilhidrazona [4(5)ImPh], 4(5)imidazol-carboxaldeído-*para*-nitro-benzoilhidrazona [4(5)ImpNO₂Ph] e 4-(imidazol-1-il)acetofenona-*para*-nitro-benzoilhidrazona [4ImAcpNO₂Ph] foram muito ativos frente a *C. glabrata*, com valores de concentração inibitória de 50% do crescimento (CIM₅₀) menores que os da nistatina, fármaco de controle. 4(5)imidazol-carboxaldeído-*para*-cloro-benzoilhidrazona [4(5)ImpClPh] e [4(5)ImpNO₂Ph] mostraram alta atividade frente a *C. cladosporioides*. Os resultados sugerem que a presença de substituintes retiradores de elétrons na posição *para* do anel fenila favorece a atividade nos compostos estudados.

Foram obtidas dez hidrazonas derivadas de piridina, sendo duas de 2-formilpiridina, quatro de 2-acetilpiridina e quatro de 2-benzoilpiridina. As estruturas cristalinas de cinco desses compostos foram determinadas. As hidrazonas apresentaram equilíbrio isomérico *Z* e *E* em solução, onde o isômero *E* está em maior proporção nos derivados de 2-formilpiridina e 2-acetilpiridina, e o isômero *Z* é o majoritário para as hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina.

Esses compostos apresentaram uma atividade antifúngica significativa frente a todos os microorganismos testados, com valores de CIM da mesma ordem ou inferior aos dos fármacos de controle (nistatina e fluconazol). Além disso, essas hidrazonas apresentaram atividade citotóxica contra células de glioblastoma U87 (que expressam a proteína pro-apoptótica p53) e T98 (que expressam a proteína p53 mutante) com valores de IC₅₀ na ordem de nanomolar, com bons índices terapêuticos. Cinco compostos mostraram-se mais ativos que o fármaco de controle (etoposídeo). Estudos SAR sugerem que propriedades estéreo-eletrônicas influenciam a atividade citotóxica das hidrazonas contra as células estudadas.

Em geral, as hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina mostraram melhor perfil farmacológico por serem mais ativas tanto frente aos microorganismos como frente às células tumorais.

Foram obtidos complexos de zinco(II) e cobre(II) das hidrazonas derivadas de piridina. Os complexos de zinco(II) são do tipo $[Zn(HL)Cl_2]$, onde o ligante neutro encontra-se coordenado ao metal de forma tridentada na configuração *E*. Seis compostos tiveram suas estruturas cristalinas determinadas. Neste caso a coordenação não fez melhorar a atividade antimicrobiana dos ligantes.

Os compostos de cobre(II) apresentaram dois tipos de estruturas, $[Cu(HL)Cl_2]$ e $[Cu(L)Cl]$. Nos primeiros, a hidrazona neutra se liga ao metal de forma tridentada juntamente com dois íons cloreto e nos últimos a hidrazona coordena-se sob a forma aniônica juntamente com um íon cloreto. De modo geral, observou-se uma melhoria da atividade antimicrobiana pela coordenação ao cobre(II). Os melhores resultados foram obtidos para os complexos $[Cu(L)Cl]$ em que HL = 2-acetilpiridina-*para*-clorofenilhidrazona e HL = 2-benzoilpiridina-*para*-clorofenilhidrazona frente a *C. albicans* os quais apresentaram valores de CIM menores que o fluconazol.

Os complexos de cobre(II) apresentaram atividade citotóxica superior às das hidrazonas livres frente às células de glioblastoma U87. Estudos de interação com DNA mostraram duas formas diferentes de interação. Três compostos apresentaram um perfil típico de intercalação enquanto seis compostos interagem provavelmente por outro mecanismo.

Foram obtidos doze complexos de estanho(IV) das hidrazonas derivadas de piridina, de fórmula geral $[RSn(HL)Cl_2]$ em que R = n-butil ou R = fenil. Em todos os casos, uma molécula de hidrazona aniônica se liga ao átomo central de modo tridentado, juntamente a um grupo felina ou butila, e dois íons cloreto. As estruturas cristalinas de sete desses compostos foram determinadas. Os complexos organoestânicos apresentaram maior atividade antifúngica que os ligantes livres frente a *A. flavus*, *C. glabrata* e *C. albicans*, com menores valores de CIM que a nistatina e o fluconazol.

Os complexos de estanho(IV) apresentaram fluorescência, com valores de rendimento quântico na ordem do sulfato de quinina em meio aquoso. Além disso, um aumento da intensidade de fluorescência foi observado com a adição de um surfactante micelar na solução. Esse resultado é interessante porque possibilitaria uma posterior aplicação desses compostos como marcadores fluorescentes.

ABSTRACT

In the present work, new pyridine and their copper(II), zinc(II), and tin(IV) complexes were obtained and characterized, imidazole-derived hydrazones were also studied. Crystal structures of different compounds were determined. The pharmacological profile of all compounds was investigated.

Twelve imidazole-derived hydrazones were obtained. Four crystal structures were determined. The antibacterial activity of the hydrazones was evaluated against *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*, but the compounds showed no appreciable activity. The antifungal activity of the compounds was evaluated against filamentous fungi *Cladosporium cladosporioides* and *Aspergillus flavus* and against *Candida albicans* and *C. glabrata* yeasts. 4(5)-imidazole-carboxaldehyde-benzoylhydrazone [4(5)ImPh], 4(5)-imidazole-carboxaldehyde-*para*-nitro-benzoylhydrazone [4(5)ImpNO₂Ph] and 4-(imidazole-1-yl)acetophenone-*para*-nitro-benzoylhydrazone [4ImAc_pNO₂Ph] showed lower MIC₅₀ values than the reference drug nistatin, whereas compounds 4(5)ImpClPh and 4(5)ImpNO₂Ph proved to be very active against *C. cladosporioides*. In this case, a possible relationship between the presence of electron withdrawing *para*-substituents and the increasing in antifungal activity was observed.

Ten pyridine-derived hydrazones were obtained from 2-formylpyridine, 2-acetylpyridine and 2-benzoylpyridine. The crystal structures of six compounds were determined. These compounds exist as *E* and *Z* isomers in solution. The *E* isomer is the major form in 2-formylpyridine- and 2-acetylpyridine-derived hydrazones, while the *Z* isomer predominates for 2-benzoylpyridine derivatives.

The pharmacological profiles of these compounds were very interesting since they showed significant antifungal activity with MIC values lower or in the same order of magnitude as the reference drugs fluconazole and nistatin. In addition, the studied hydrazones showed high cytotoxic activity against U87 (expressing wild-type p53 protein) and T98 (expressing mutant p53 protein) glioma cells. Five hydrazones showed IC₅₀ values in nanomolar concentrations with good therapeutic indexes. SAR studies suggested that stereo-electronic properties are important for cytotoxic activity. In general, the 2-acetylpyridine-derived hydrazones showed better pharmacological profile than the 2-formylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived analogues.

Copper(II) and zinc(II) complexes were obtained with the pyridine-derived hydrazones. The zinc(II) complexes presented the general formula [Zn(HL)Cl₂] with a neutral hydrazone attached in a tridentate form to the metal ion in the *E* configuration. The crystal structures of six complexes were determined. Unfortunately, these complexes were inactive against fungi and bacteria.

Copper(II) complexes were obtained with general formula $[\text{Cu}(\text{HL})\text{Cl}_2]$ or $[\text{Cu}(\text{L})\text{Cl}]$. In the first case, a neutral hydrazone is coordinated to the metal center as a tridentate chelating ligand, together with two chloride ions, while, in the second an anionic hydrazone is attached to the metal center along with one chloride ion. In all cases the hydrazone adopts the *E* configuration.

The copper(II) complexes demonstrated an important pharmacological profile. Upon coordination, significant increase of the antimicrobial activity was observed. In fact, complexes $[\text{Cu}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}]$ and $[\text{Cu}(2\text{BzpClPh})\text{Cl}]$, with 2-acetylpyridine-*para*-chlorophenylhydrazone and 2-benzoylpyridine *para*-chlorophenylhydrazone, respectively showed lower values of MIC than fluconazole against *C. albicans* fungi. Some of these complexes also showed high cytotoxicity against U87 glioma cells, with a higher cytotoxic effect than the free hydrazones. Studies of the interaction of the complexes with DNA revealed that some of the complexes showed a typical intercalation profile while others probably present a different way of interaction.

Tin(IV) complexes with the general formula $[\text{RSn}(\text{HL})\text{Cl}_2]$ R = n-butyl or R = phenyl were prepared with the pyridine-derived hydrazones. In all complexes an anionic hydrazone is coordinated to metal center as a tridentate ligand together with a phenyl or a n-butyl group and two chloride ions. The crystal structures of seven organotin complexes were determined. The complexes showed higher antifungal activity than their respective ligands against *A. flavus*, *C. glabrata* e *C. albicans*.

The tin(IV) complexes were fluorescent with quantum yield values similar to quinine sulfate. An increase in the intensity of fluorescence was observed with the addition of small amounts of micelar surfactant tween. This property could make these complexes useful as fluorescent probes.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – Química Medicinal e Química Medicinal Inorgânica.....	1
1.2 – Hidrazonas: propriedades químicas e biológicas.....	2
1.2.1 – Hidrazonas derivadas do anel imidazol.....	5
1.2.2 – Hidrazonas de piridina.....	7
1.3 – Metais.....	8
1.3.1 – Zinco.....	8
1.3.2 – Cobre.....	10
1.3.3 – Estanho.....	11
1.4 – Doenças causadas por fungos e bactérias.....	12
1.5 – Gliomas e glioblastomas.....	13
2 – PARTE EXPERIMENTAL.....	18
2.1 – Equipamentos e Procedimentos.....	18
2.2 – Sínteses de ligantes e complexos.....	21
2.2.1 – Síntese de acetil, benzoil, <i>para</i> -cloro-benzoil e <i>para</i> -nitro-benzoil hidrazonas derivadas de 2-formil- (H2FoR), 2-acetil- (H2AcR) e 2-benzoil-piridina (H2BzR): (H2FopClPh, H2FopNO ₂ Ph, H2AcMe, H2AcPh, H2AcpClPh, H2AcpNO ₂ Ph, H2BzMe, H2BzPh, H2BzpClPh e H2BzpNO ₂ Ph).....	21
2.2.2 – Síntese de acetil, benzoil, <i>para</i> -clorobenzoil e <i>para</i> -nitrobenzoil hidrazonas derivadas de 4(5)-imidazol-carboxaldeído [4(5)ImMe, 4(5)ImPh, 4(5)ImpClPh, 4(5)ImpNO ₂ Ph], 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldeído [4ImBzMe, 4ImBzPh, 4ImBzpClPh, 4ImBzpNO ₂ Ph] e 4-(imidazol-1-il)acetofenona, [4ImAcMe, 4ImAcPh, 4ImAcpClPh e 4ImAcpNO ₂ Ph].....	21
2.2.3 – Síntese dos complexos de cobre(II) e zinco(II) com as 2-formil, 2-acetil e 2-benzoil piridina hidrazonas.....	21
2.2.4 – Síntese dos complexos de estanho(IV) das hidrazonas derivadas de piridina e de imidazol a partir de SnPhCl ₃ e SnButCl ₃	22
2.3 – Testes Biológicos e avaliação farmacológica.....	22
2.3.1 – Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de macrodiluição.....	22
2.3.2 – Avaliação da atividade antifúngica pelo método de microdiluição.....	23
2.3.3 – Atividade citotóxica.....	24
2.3.4 – Estudos de ligação ao DNA.....	25
2.3.4.1 – Determinação da constante de ligação por espectroscopia de absorção eletrônica.....	25
2.3.4.2 – Determinação das constantes de ligação por fluorescência.....	25
2.4 – Determinação do rendimento quântico (Φ_F).....	26
3 – HIDRAZONAS DERIVADAS DE IMIDAZOL COMO NOVOS AGENTES ANTIFÚNGICOS.....	28

3.1 – Estruturas cristalográficas	35
3.2 – Ensaio biológico	42
3.2.1 – Atividade antimicrobiana	42
3.2.1.1 – Método de macrodiluição.....	42
3.2.2 – Atividade antifúngica	42
3.2.2.1 – Método de microdiluição.....	42
4 – HIDRAZONAS DERIVADAS DA PIRIDINA: NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS ANTITUMORAIS PARA TRATAMENTO DE GLIOMAS.....	44
4.1 – Estruturas cristalográficas	56
4.2 – Ensaio biológico	60
4.2.1 – Atividade antimicrobiana	60
4.2.1.1 – Método de macrodiluição	60
4.2.2 – Atividade antifúngica	61
4.2.2.1 – Método de microdiluição.....	61
4.2.3 – Atividade citotóxica	62
4.2.3.1 – Indução de alterações características de apoptose.	64
4.3 – Estudos de relação estrutura-atividade (SAR).....	67
5 – COMPLEXOS DE ZINCO(II) DE 2-PIRIDINA AROIL HIDRAZONAS.....	70
5.1 – Determinação da atividade antibacteriana.....	91
6 – COMPLEXOS DE COBRE(II) DE 2-PIRIDINA AROIL HIDRAZONAS: A COORDENAÇÃO AO COBRE(II) COMO ESTRATÉGIA DE OBTENÇÃO DE NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS E CITOTÓXICOS.....	92
6.1 – Estudo da atividade antimicrobiana.....	110
6.2 – Avaliação da atividade citotóxica.....	112
6.3 – Estudos de ligação ao DNA.....	113
6.3.1 – Estudos de ligação ao DNA por espectroscopia de absorção eletrônica.....	113
6.3.2 – Estudos de ligação ao DNA por fluorescência.....	116
7 – COMPLEXOS DE SN(IV) COM HIDRAZONAS DERIVADAS DE 2-ACETILPIRIDINA E 2-BENZOILPIRIDINA	119
7.1 – Estudo da fluorescência dos compostos.....	138
7.2 – Atividade antimicrobiana	143
7.2.1 – Método de macrodiluição	143
7.2.2 – Método de microdiluição.....	145
8 - CONCLUSÕES GERAIS.....	148
ANEXOS-ARTIGOS PUBLICADOS	152

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – 5-nitro-2-furil 4-hidroxibenzoildrazona (Nifuroxazida).....	4
Figura 1.2 – Isonicotinoil hidrazonas de: 2-pirinicarbaldeído (HPCIH) e di-2-piridil cetona (HPKIH) e piridoxaldeído (H ₂ PIH).....	4
Figura 1.3 – 2-hydroxil-1-naftilaldeido isonicotinoil hidrazona, composto com atividade antimalárica.....	5
Figura 1.4 – a) Doxorrubicina b) Doxorrubicina N-acilhidrazonas ²⁹	5
Figura 1.5 – Fármacos antifúngicos derivados de imidazois.....	6
Figura 1.6 – Compostos com anel imidazol usados no tratamento da hipertensão arterial a) Medoxomil de Olmesartam b) Losartanato de potássio.....	7
Figura 1.7 – 5-metil-imidazolil- 4-acilhidrazonas ⁴¹	7
Figura 1.8 – Compostos de zinco usados em formulações farmacêuticas.....	9
Figura 1.9 -Estrutura genérica das hidrazonas.....	15
Figura 3.1 – Estrutura genérica das hidrazonas derivadas do imidazol.....	28
Figura 3.2 – Espetros de ¹³ C e ¹ H de 4(5)ImMe (1) em DMSO- <i>d</i> ₆	30
Figura 3.3 – Representação dos equilíbrios isoméricos em solução do composto 4(5)ImMe (1).	30
Figura 3.4 – Espetros de ¹³ C de 4ImBzMe (5) e 4ImAcMe (9) em DMSO- <i>d</i> ₆	32
Figura 3.5 - Espetros RMN ¹ H e NOE-DIFF do composto 4ImBz <i>p</i> ClPh (7).....	32
Figura 3.6 – Diagramas ORTEP das hidrazonas 4(5)ImpClPh (3), 4ImBzPh (6), 4ImBz <i>p</i> ClPh (7) e 4ImBz <i>p</i> NO ₂ Ph (8).	38
Figura 4.1 – Estrutura genérica das hidrazonas derivadas da piridina.....	44
Figura 4.2 – Isômeros configuracionais <i>Z</i> e <i>E</i> de H ₂ FopNO ₂ Ph (14).....	46
Figura 4.3 – Espectro de RMN ¹ H de H ₂ FopNO ₂ Ph (14) em DMSO- <i>d</i> ₆	48
Figura 4.4 – Equilíbrio tautomérico ceto-enol de H ₂ AcpClPh (17) em CDCl ₃	49
Figura 4.5 – Espectro de RMN de ¹ H do composto H ₂ AcpClPh (17): a) em CDCl ₃ , b) em DMSO- <i>d</i> ₆	52
Figura 4.6 – Espectro de RMN ¹³ C das hidrazonas H ₂ AcPh (16) e H ₂ AcpClPh (17) em CDCl ₃	52
Figura 4.7 – Espectros de HMQC do composto H ₂ BzPh (20) em CDCl ₃ (esquerda) e DMSO- <i>d</i> ₆ (direita).	54
Figura 4.8 – Diagramas ORTEP das estruturas de H ₂ FopClPh (13) e H ₂ AcMe (15).....	57
Figura 4.9 – Diagramas ORTEP das estruturas de H ₂ BzMe (19), H ₂ Bz <i>p</i> ClPh (21) e H ₂ Bz <i>p</i> NO ₂ Ph (22).	58
Figura 4.10 – Efeito citotóxico das hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina frente a células de glioma U87 e T98. As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.	62

Figura 4.11 - Células tratadas com hidrazonas ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) exibem características morfológicas de apoptose. Alterações como arredondamento celular, o encolhimento das células e formação de vesículas podem ser observadas. Amplificação: 400X.	65
Figura 4.12 - Células tratadas com hidrazonas exibem características morfológicas de apoptose. Células U87 e MRC5 foram tratadas com hidrazonas ($10^{-9} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) ou diluentes (controle). Condensação da cromatina, fragmentação nuclear e corpos apoptóticos podem ser observados. Amplificação: 400X.	66
Figura 5.1 – Estrutura genérica dos complexos de zinco com hidrazonas derivadas da piridina.	71
Figura 5.2 – Espectros de infravermelho do ligante H2AcMe (15) e seu complexo de zinco(II).	73
Figura 5.3 – Comparação dos sinais de RMN de ^{13}C do anel piridina do complexo 31 e o respectivo ligante em DMSO- d_6	77
Figura 5.4 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Zn}(\text{H2FopClPh})\text{Cl}_2]$ (23).	79
Figura 5.5 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Zn}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (24a).	79
Figura 5.6 – Diagrama molecular ORTEP de $[\text{Zn}(\text{H2BzMe})\text{Cl}_2]$ (29).	84
Figura 5.7 – Diagrama molecular ORTEP de $[\text{Zn}(\text{2BzPh})_2]$ (30a). Ligações metal-ligante estão em linhas abertas.	86
Figura 5.8 – Diagrama molecular ORTEP de $[\text{Zn}(\text{H2BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (31a).	87
Figura 5.9 – Diagrama molecular ORTEP de $[\text{Zn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (32a).	87
Figura 5.10 – Empacotamento cristalino do complexo 31a	89
Figura 6.1 – Estrutura geral dos complexos de cobre(II).	93
Figura 6.2 – Espectros de IV do complexo $[\text{Cu}(\text{H2AcMe})\text{Cl}_2]$ (35) e do ligante H2AcMe (15).	94
Figura 6.3 – Espectros de IV do Complexo $[\text{Cu}(\text{2AcPNO}_2\text{Ph})\text{Cl}]$ (38) e o ligante H2AcPNO ₂ Ph (18).	97
Figura 6.4 – Termograma do composto $[\text{Cu}(\text{2AcPClPh})\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (37).	98
Figura 6.5 – Espectros de EPR dos complexos de cobre (II) no estado sólido a temperatura ambiente.	99
Figura 6.6 – Espectros de EPR dos complexos de cobre (II) em DMSO a 77K.	100
Figura 6.7 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{H2FopClPh})\text{Cl}_2]$ (33).	101
Figura 6.8 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (34a).	101
Figura 6.9 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{2AcPNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (38a).	102
Figura 6.10 – Diagrama molecular ORTEP do monômero $[\text{Cu}(\text{H2BzMe})\text{Cl}_2]$ (39).	107
Figura 6.11 – Diagrama molecular ORTEP do dímero $[\text{Cu}(\text{2BzMe})\text{Cl}]_2$ (39a).	107
Figura 6.12 – Comparação do efeito citotóxico entre os complexos de cobre (II) e as hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina frente a células de glioma U87 e T98. As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.	112
Figura 6.13 – Comparação da atividade dos complexos frente a células tumorais (U87 e T98) e células saudáveis (MRC5). As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.	113

Figura 6.14 – Espectros de absorção eletrônica dos complexos 33 , 34 , 35 , 36 , 37 , 38 , 39 e 40 ($\sim 45 \mu\text{molL}^{-1}$) na ausência e presença de quantidades de CT-DNA (4,5; 9,0; 13,5; 18,0; 22,5; 27,0; 31,5; 36,0; 40,5 e 45,0 μmolL^{-1}). As setas mostram as mudanças na absorvância em função do aumento da concentração do DNA.	115
Figura 6.15 – Gráfico de $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_b)$ vs $[\text{DNA}]$ do complexo 37	116
Figura 6.16 – Espectros de emissão do DNA-BE (10 μmolL^{-1}), na presença de 0 a 200 μmolL^{-1} dos complexos 34 , 37 e 38 . As setas indicam o sentido das mudanças na intensidade em função do aumento da concentração dos complexos.	117
Figura 6.17 – Gráficos de I_0/I vs $[Q]$ e $\log(F_0 - F/F)$ vs $\log(Q)$ do complexo 34	118
Figura 7.1 – Espectro de infravermelho de $\text{H}_2\text{AcpNO}_2\text{Ph}$ (18) e do complexo $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (48).	123
Figura 7.2 – Espectros de RMN ^1H do $\text{H}_2\text{BzpClPh}$ (22) e $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (50) em CDCl_3	124
Figura 7.3 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (43),	132
$[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (44), $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (45).	132
Figura 7.4 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (46) e $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (48).	133
Figura 7.5 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (50) e	133
$[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (51).	133
Figura 7.6 – Empacotamento molecular de $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (46) mostrando os contatos entre os átomos de $\text{Cl} \cdots \text{H}$ e $\text{O} \cdots \text{H}$	137
Figura 7.7 – Espectros de excitação e emissão dos complexos de estanho (IV) com hidrazonas.	139
Figura 7.8 - Gráficos de área de fluorescência vs absorvância dos complexos usados no cálculo do rendimento quântico.	141
Figura 7.9 – Espectros de excitação e de emissão do complexo $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (47) em meio aquoso antes e depois da adição do surfactante.	143

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Temperaturas de fusão, massa molar e rendimentos de reações para as hidrazonas derivadas do imidazol.	29
Tabela 3.2 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4(5)imidazol-carboxaldeído.	31
Tabela 3.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4-(1 <i>H</i> -imidazol-1-il)benzaldeído.	33
Tabela 3.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4-(imidazol-1-il)acetofenona.	34
Tabela 3.5 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) de hidrazonas derivadas de imidazol.	35
Tabela 3.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para as hidrazonas 4(5)ImpClPh (3), 4ImBzPh (6), 4ImBzpClPh (7) e 4ImBzpNO ₂ Ph (8).	39
Tabela 3.7 – Distâncias de ligação [Å] e ângulos [°] selecionados das estruturas moleculares das hidrazonas 4(5)ImpClPh (3), 4ImBzPh (6), 4ImBzpClPh (7) e 4ImBzpNO ₂ Ph (8).	41
Tabela 3.8 – Interações de hidrogênio [Å] e ângulos [°] das hidrazonas 4(5)ImpClPh (3), 4ImBzPh (6), 4ImBzpClPh (7) e 4ImBzpNO ₂ Ph (8).	41
Tabela 3.9 – CIM ₅₀ das hidrazonas derivadas do imidazol contra fungos fitopatogênicos e patogênicos humanos.	43
Tabela 4.1 – Temperaturas de fusão, massas molares e rendimentos de reações para hidrazonas derivadas da piridina.	45
Tabela 4.2 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , ^{13}C e Dept 135 das hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina (DMSO- <i>d</i> ₆).	47
Tabela 4.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina.	50
Tabela 4.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina.	55
Tabela 4.5 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) de hidrazonas derivadas de piridina.	56
Tabela 4.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento das hidrazonas.	58
Tabela 4.7 – Distância de ligação [Å] e ângulos [°] selecionados das estruturas moleculares das hidrazonas.	59
Tabela 4.8 – Interações de hidrogênio [Å] e ângulos [°] das hidrazonas H2FopClPh (13), H2AcMe (15), H2BzMe (19), H2BzpClPh (21) e H2BzpNO ₂ Ph (22).	59
Tabela 4.9 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas pelo método de macrodiluição.	60
Tabela 4.10 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas pelo método de microdiluição.	61
Tabela 4.11 – Valores de CI ₅₀ das hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina contra células de glioblastoma maligno U87 e T98.	64
Tabela 4.12 – Propriedades físico-química calculadas e valores experimentais de pCI ₅₀ das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.	68

Tabela 4.13 – Matrizes de correlação linear simples: A) Isômeros <i>Z</i> versus células U87, B) Isômeros <i>E</i> versus células U87, C) mistura de isômeros (<i>E</i> para as derivadas de 2-acetil e <i>Z</i> para as de 2-benzoil) versus células U87, D) Isômeros <i>Z</i> versus células T98, E) Isômeros <i>E</i> versus células T98 e F) mistura de isômeros (<i>E</i> para as derivadas de 2-acetil e <i>Z</i> para as de 2-benzoil) versus células T98	69
Tabela 5.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento e condutividade molar dos complexos de zinco(II) com hidrazonas derivadas de piridina.....	72
Tabela 5.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm ⁻¹) dos complexos de zinco(II) com hidrazonas derivadas de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr (4000-400 cm ⁻¹); CsI (400-200cm ⁻¹).	74
Tabela 5.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ¹ H e ¹³ C dos complexos 23 e 24 em DMSO- <i>d</i> ₆	75
Tabela 5.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ¹ H e ¹³ C do complexo 25 em DMSO- <i>d</i> ₆	76
Tabela 5.5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ¹ H e ¹³ C dos complexos 29 , 30 , 31 e 32 em DMSO- <i>d</i> ₆	78
Tabela 5.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para [Zn(H2FopClPh)Cl ₂] (23), [Zn(2FopNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (24a), [Zn(H2BzMe)Cl ₂] (29), [Zn(2BzPh) ₂] (30a), [Zn(H2BzpClPh)Cl ₂]·H ₂ O (31a) e [Zn(2BzpNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (32a)....	81
Tabela 5.7 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Zn(H2FopClPh)Cl ₂] (23) e [Zn(2FopNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (24a).	83
Tabela 5.8 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares [Zn(H2BzMe)Cl ₂] (29).	85
Tabela 5.9 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Zn(2BzPh) ₂] (30a), [Zn(H2BzpClPh)Cl ₂]·H ₂ O (31a) e [Zn(2BzpNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (32a). ...	90
Tabela 6.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento, condutividade molar e momentos magnéticos dos complexos de cobre(II) com hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina, 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.	95
Tabela 6.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm ⁻¹) dos complexos de cobre(II) com hidrazonas derivadas de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr (4000-400 cm ⁻¹); CsI (400-200 cm ⁻¹).	96
Tabela 6.3 – Dados cristalográficos e parâmetros do refinamento estrutural para [Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33), [Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (34a), [Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (38a), [Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39) e [Cu(2BzMe)Cl] ₂ (39a).	104
Tabela 6.4 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33), [Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (34a) e [Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl(DMSO)] (38a).....	106
Tabela 6.5 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39) e [Cu(2BzMe)Cl] ₂ (39a).	109
Tabela 6.6 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas e complexos de cobre(II) contra <i>S. Aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i> e <i>C. albicans</i>	111
Tabela 6.7 – Constantes de ligação intrínseca (K _b) para o sistema DNA-complexo.	114

Tabelas 6.8 – Constantes de supressão (K_q), aparente (K_{app}) e de ligação (K_b) e número de sítios de ligação no DNA.	116
Tabela 7.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento e condutividade molar dos complexos de Sn(IV) de hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.....	120
Tabela 7.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de Sn(IV) com hidrazonas derivadas das 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr (4000-400 cm^{-1}); CsI (400-200 cm^{-1}).	122
Tabela 7.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de 1H e ^{13}C dos complexos 43-45 em $CDCl_3$	125
Tabela 7.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de 1H e ^{13}C dos complexos 46-48 em $CDCl_3$	126
Tabela 7.5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de 1H e ^{13}C dos complexos 40-51 em $CDCl_3$	127
Tabela 7.6 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de 1H dos complexos 52-54 em $CDCl_3$	128
Tabela 7.7 – Dados dos cristais e resultados do refinamento estrutural para os complexos [(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46), [(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48), [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50) e [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51).	130
Tabela 7.7 – Dados dos cristais e resultados do refinamento estrutural para os complexos [(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46), [(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48), [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50) e [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51) (Continuação).....	131
Tabela 7.8 – Distâncias de ligação selecionadas de [(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46), [(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48), [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50) e [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51).	135
Tabela 7.9 – Ângulos selecionados de [(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44), [(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46), [(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48), [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50) e [(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51).....	136
Tabela 7.10 – Rendimento quântico (Φ_F) dos complexos de estanho(IV) com hidrazonas em acetonitrila.....	140
Tabela 7.11 – Deslocamento Stokes para o complexo [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (47).	142
Tabela 7.12 – Concentração inibitória mínima (CIM) das hidrazonas e seus complexos de estanho(IV) contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida albicans</i>	145
Tabela 7.13 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas e seus complexos de estanho(IV) para inibir 50% do crescimento (método de microdiluição).....	146

LISTA DE ABREVIATURAS

ADB: Ágar de batata
A.S.: Área superficial
ATCC: American Type Culture Collection
BE: Brometo de etídeo
BHI: Infusão Cérebro Coração
CI: Concentração inibitória
CIM: Concentração inibitória mínima
CT-DNA: ácido desoxirribonucléico (calf thymus)
d: Duplete
DAPI: 4',6-diamina-2-fenilindol
DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DFT: Teoria Funcional de Densidade
Dip: Momento dipolo
DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF: 4,4-dimetilformamida
DMSO: Dimetilsulfóxido
DMSO- d_6 : Dimetilsulfóxido deuterado
Et: etil
H: formil
HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOMO: Orbital molecular ocupado de maior energia
Hz: Hertz
LABB: Laboratório de biotecnologia e bio-ensaios
LUMO: Orbital molecular não ocupado de menor energia
RPE: Ressonância paramagnética eletrônica
m: multiplete
M: Multiplicidade
MHB: Mueller Hinton Broth
MHz: MegaHertz
M.M.: Massa Molar
MMFF: Merck Molecular Force Field
MRC5: Linhagem de células de fibroblastos de pulmão fetal humano
MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

NOE: Nuclear Overhauser Experiment

NOE-DIFF: experimento NOE difference

n-but: *n*-butil

PBS: Solução de tampão fosfato

P.F.: Ponto de fusão

Ph: Fenila

q: Quarteto

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ¹¹⁹Sn: Ressonância Magnética Nuclear de Estanho 119

s: Singleto

SAR: Structure Activity Relationship

t: Tripleto

T-98: Linhagem de células de glioblastoma multiforme humano mutante P53

TG: Análise termogravimétrica

TMS: Tetrametilsilano

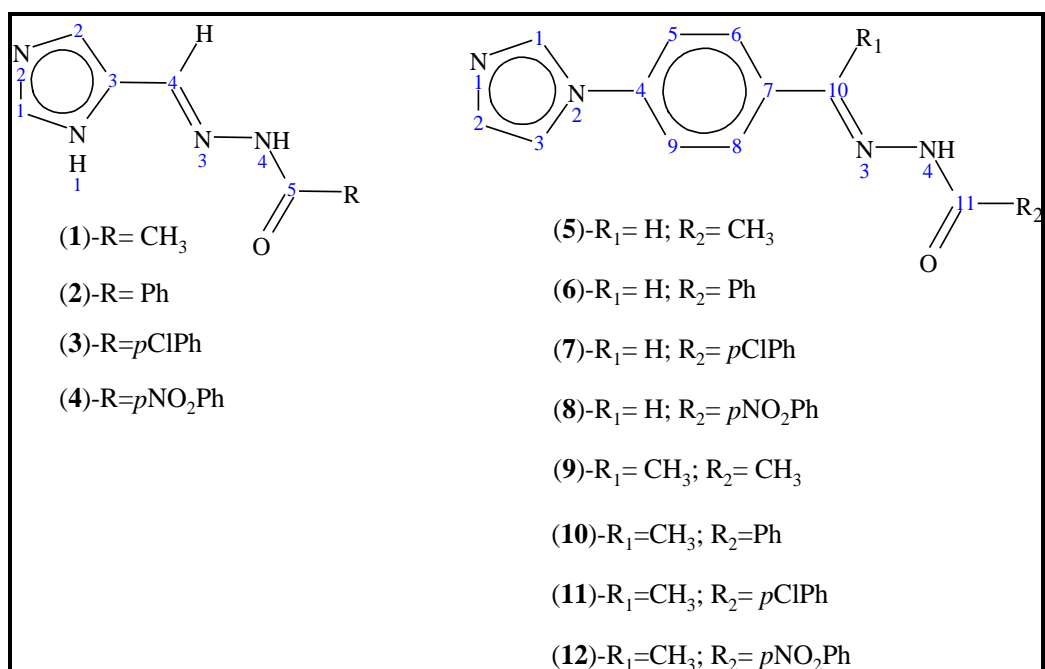
UFC: Unidades formadoras de colônias

U-87: Linhagem de células de glioblastoma multiforme humano tipo selvagem

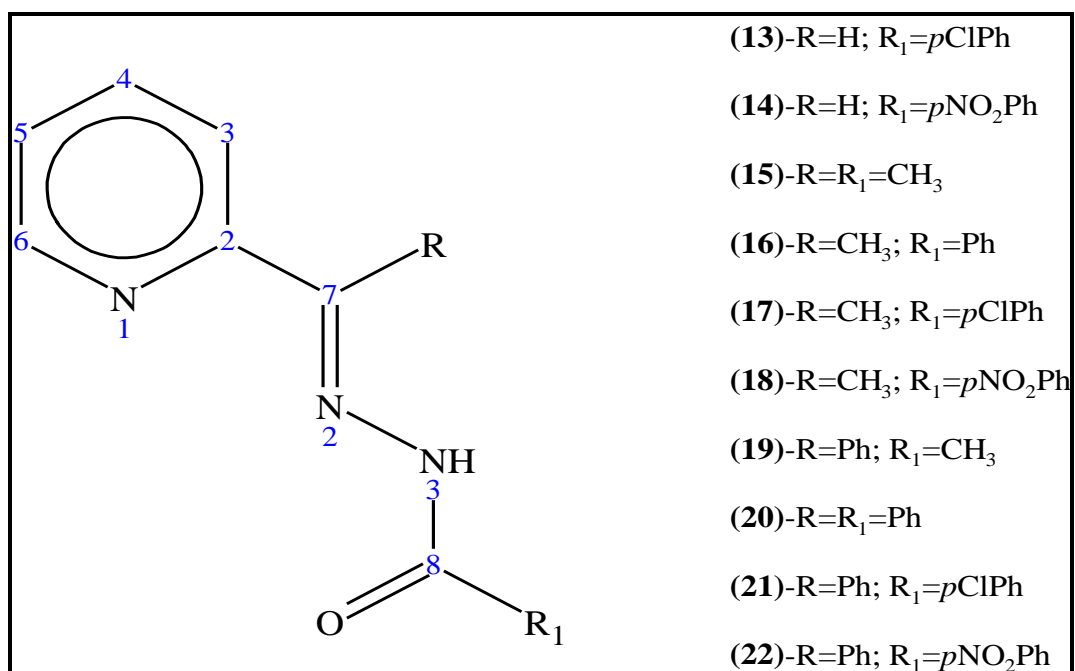
Λ_M : Condutividade molar

ϵ : Absortividade molar

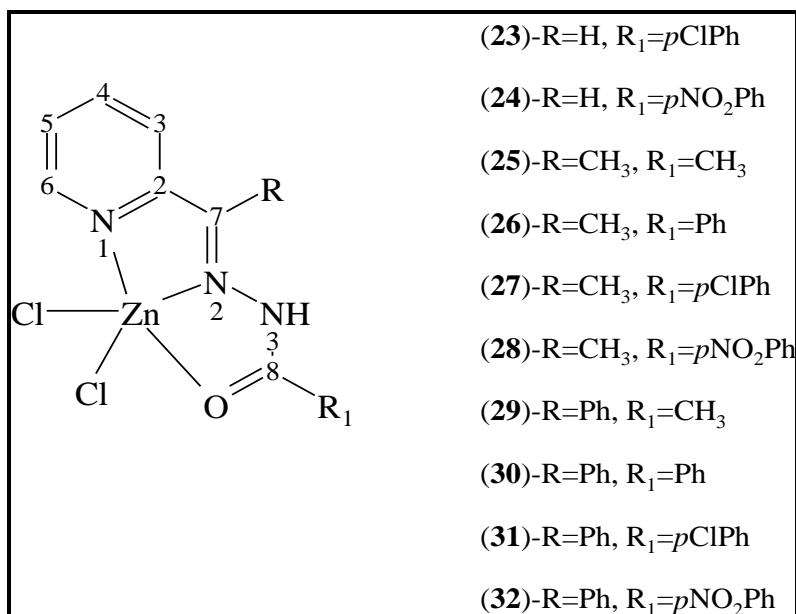
INDICE DE ESTRUTURAS



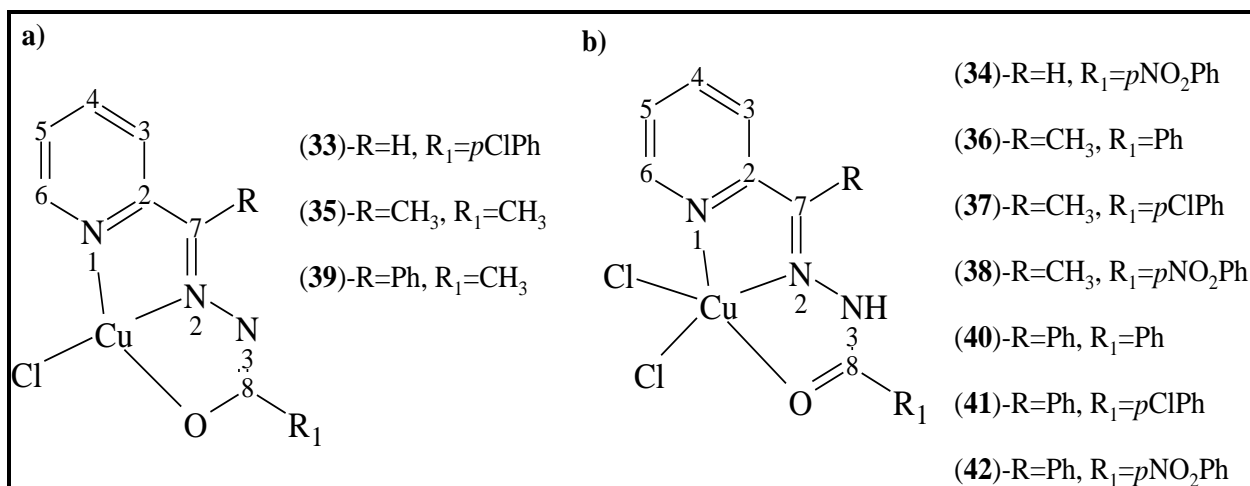
Estruturas genéricas das hidrazonas do imidazol



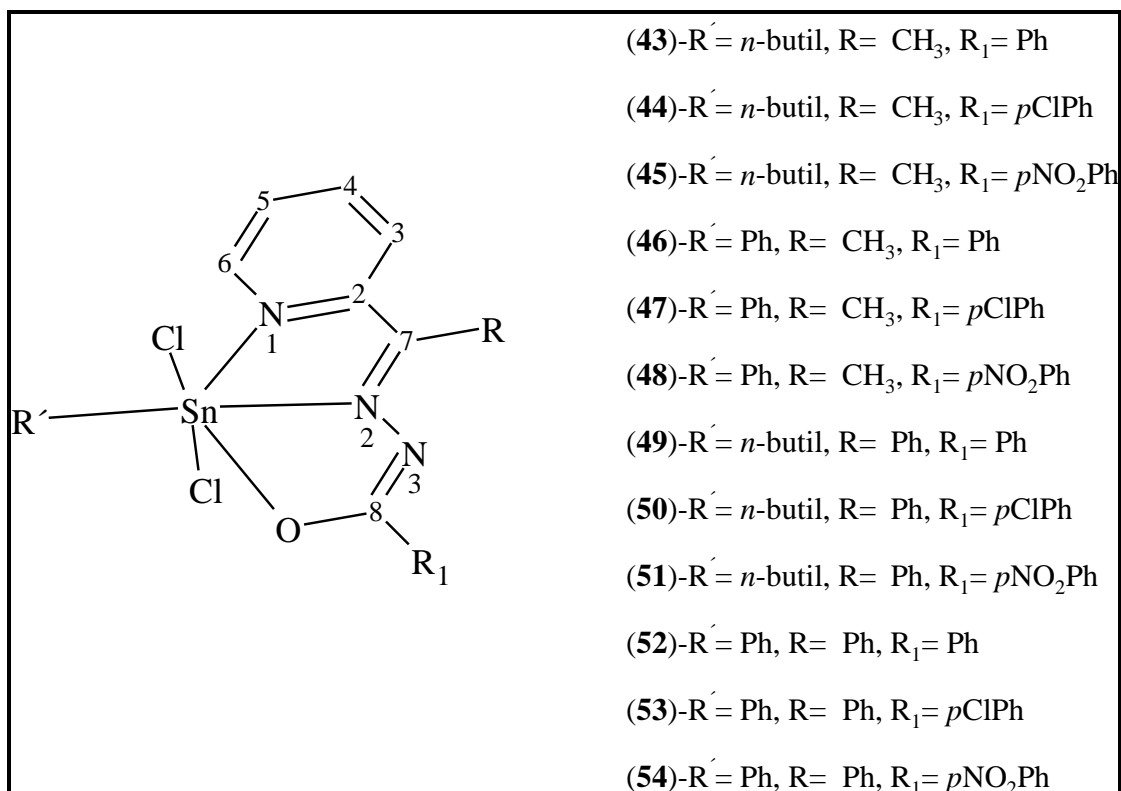
Estruturas genéricas das hidrazonas da piridina



Estruturas genéricas dos complexos de zinco das hidrazonas da piridina



Estruturas genéricas dos complexos de cobre (II) das hidrazonas da piridina



Estruturas genéricas dos complexos de estanho (IV) das hidrazonas da piridina

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Química Medicinal e Química Medicinal Inorgânica

A Química Medicinal, segundo definição da IUPAC, é uma disciplina baseada na química que envolve aspectos das ciências biológica, médica e farmacêutica, cuja missão é o planejamento, descoberta, invenção, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos (protótipos), o estudo do metabolismo, interpretação do mecanismo de ação a nível molecular e a construção das relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica (SAR)¹.

A relação dessa disciplina com outras como biofísica, biologia molecular, bioquímica, medicina, físico-química, fisiologia, neurobiologia, patologia, química biológica, inorgânica, orgânica e quântica, assim como a matemática e a computação resulta em multidisciplinaridade com partes igualmente fundamentais.

É comum que a associação entre vida, saúde e medicamentos ocorra mais com a Química Orgânica do que com a Química Inorgânica. Isto se deve ao fato que grande parte dos fármacos usados na clínica são derivados de compostos orgânicos. Embora se conheça que os íons metálicos têm um papel fundamental nos sistemas biológicos, tomando parte de processos indispensáveis para a vida, tais como: transporte de oxigênio, em proteínas que normalmente contêm ferro (hemoglobina) ou cobre (hemocianina); no transporte de elétrons (metais com mais de um estado de oxidação como manganês, cobre, ferro e molibdênio), nos centros catalíticos de processos de oxidação-redução, em que o metal constitui o centro ativo em que acontece a reação (ferro na catalase e molibdênio na sulfito-oxidase); em centros catalíticos de processos ácido-base, em que o metal é o sítio onde acontece reação do tipo ácido-base (zinco nas anidrases carbônicas e fosfatases) e na função estrutural (fosfatos de cálcio)².

Além disto, o uso de metais na medicina e no tratamento de doenças é conhecido desde a antiguidade. Por exemplo; o cobre era usado na esterilização da água 3000 anos antes de Cristo, o ouro era empregado na China e na Arábia na produção de medicamentos. Compostos de arsênio, antimônio e ouro foram utilizados, de forma racional, para o tratamento de doenças tais como, sífilis, tuberculose e leishmaniose³.

No entanto, o grande interesse por fármacos à base de metais e o desenvolvimento da Química Medicinal Inorgânica ocorreram após a descoberta da atividade antitumoral do

¹ <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/medchem/>, acessado em 16/04/2012.

² Baran, E.J.; *Química Bionorgânica*: Mc.Graw-Hill Interamericana de España S.A. 1995.

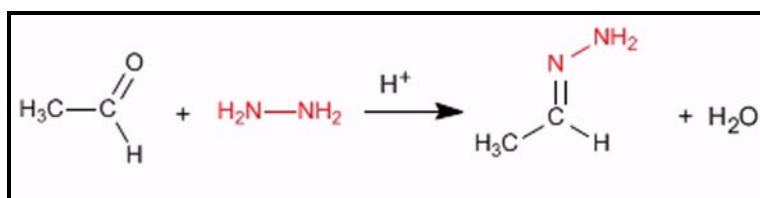
³ Beraldo H.; *Cadernos temáticos de Química Nova na Escola*. 2005, 6, 4.

cis[(diaminodicloro)platina(II)], *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], principalmente após a sua aplicação no tratamento do câncer².

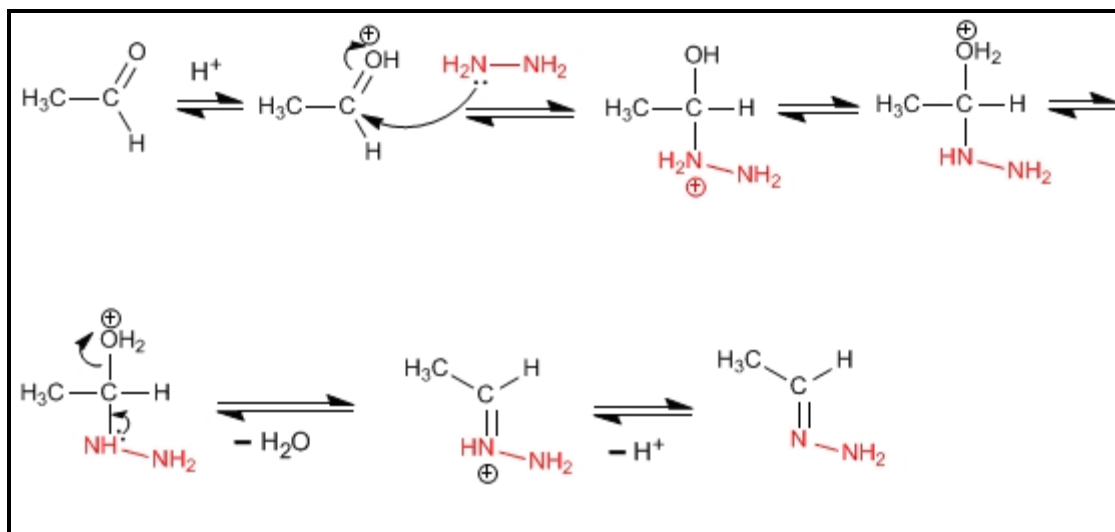
Vários compostos inorgânicos são usados na clínica médica. Além da cisplatina, a carboplatina no tratamento do câncer, nitroprussiato de sódio no tratamento de emergências hipertensivas, compostos de ouro (auranofina) no tratamento de artrite reumatóide, antimoniais usados no tratamento da *leishmanía*, compostos de bismuto para o tratamento de distúrbios gástricos, e uma série de compostos de tecnécio, gadolínio e outros metais usados diariamente em diagnóstico e como agentes de contraste².

1.2 – Hidrazonas: propriedades químicas e biológicas.

Hidrazonas são azometinas com a estrutura geral R₂C=NNR₂, caracterizadas pela presença do grupo triatômico C=N-N. Geralmente são preparadas pela reação de hidrazinas com cetonas ou aldeídos em pH próximos a 4, como mostrado na reação abaixo:



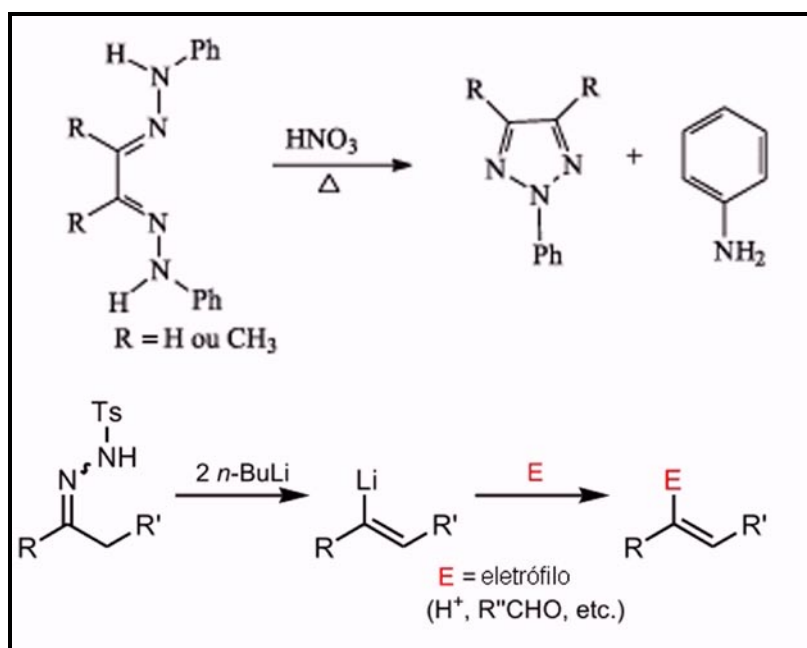
O mecanismo proposto da reação ocorre segundo abaixo⁴:



As propriedades químicas das hidrazonas têm sido estudadas em muitas áreas de pesquisa devido ao seu poder quelante e suas aplicações farmacológicas. Entre as aplicações químicas, as

⁴ <http://www.quimicaorganica.org/aldeidos-y-cetonas/formacion-de-hidrazonas.html>, acessado em 22/01/2010.

hidrazonas são usadas como reagentes na obtenção de triazóis^{5, 6} e nas reações de Shapiro⁷ e Bamford-Stevens⁸ na obtenção de compostos vinílicos segundo o seguinte diagrama de reação:



As hidrazonas são também usadas em química analítica, devido a seu poder quelante, sendo eficazes extratores de metais, reagentes cromogênicos e sensores seletivos⁹.

As hidrazonas heterocíclicas constituem uma importante classe de moléculas biologicamente ativas que tem atraído a atenção dos químicos medicinais devido a suas amplas propriedades farmacológicas^{10,11}, tais como propriedades antifúngicas¹² e antibacterianas¹¹. O melhor exemplo é o caso da nifurozaxida (Figura 1.1) antimicrobiano sintético de amplo espectro, patentado em 1966¹³, e usado como segunda ou terceira opção no tratamento de infecção entérica que não promove resistência bacteriana¹⁴.

⁵ Pechmann, H. V.; Weshsarg, K.; *Ber.*(1888), 21, 2992; Pechmann, H. V.; *Ber.* **1888**, 21, 2756.

⁶ Melo, J. O. F.; Donnici, C. L.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; de Souza, M. C. B. V.; Ferreira, M. L.G.; Cunha, A. C. *Quim. Nova.* **2006**, 29, 569.

⁷ Shapiro, R.H.; Lipton, MF; Kolonko, KJ; Buswell, RL; Capuano, L.A.; *Tetrahedron Lett.* **1975**, 1811.

⁸ Bamford, W. R.; Stevens, T.S.; *J. Chem. Society.* **1952**, 4735.

⁹ Popov, L., D.; Morozov, A.N.; Shcherbakov, I.N.; Tupolova, Y.P.; Lukov, V.V.; Kogan, V.A.; *Russ. Chem. Rev.* **2009**, 78,7, 643.

¹⁰ Rollas, S.; Kucukguzel, S. G.; *Molecules.* **2007**,12, 1910.

¹¹ Fuchareon, S; e col.; *Thalassemia: Pathophysiology and Management*, Part B; Alan R. Liss: New York. **1988**.

¹² Carcelli, M.; Mazza, P.; Pelizzi, C.; Pelizzi, G.; Zani, F.; *J. Inorg. Biochem.* **1995**, 57, 43.

¹³ [Maurice Claude Ernest Carron](#) et. al., *United States Patent No. 3290213, December 6.* **1966**.

¹⁴ Masunari, A. and Costa Tavares, L.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* **2007** 15, 4229.

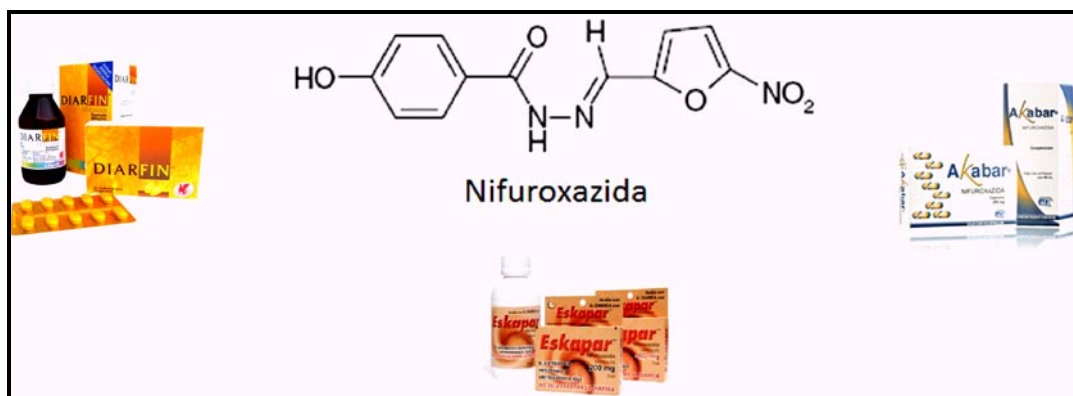


Figura 1.1 – 5-nitro-2-furil 4-hidroxibenzoildrazona (Nifuroxazida).

Hidrazonas também têm sido investigadas como possíveis agentes quelantes de ferro para o controle de distúrbios genéticos como talassemia^{15,16,17}. As isonicotinoil hidrazonas (Figura 1.2) são compostos capazes de ligar o ferro (mediante o sistema quelato N_{py},N,O) formando quelatos altamente citotóxicos e que mostram atividade seletiva contra células do câncer^{18,19}.

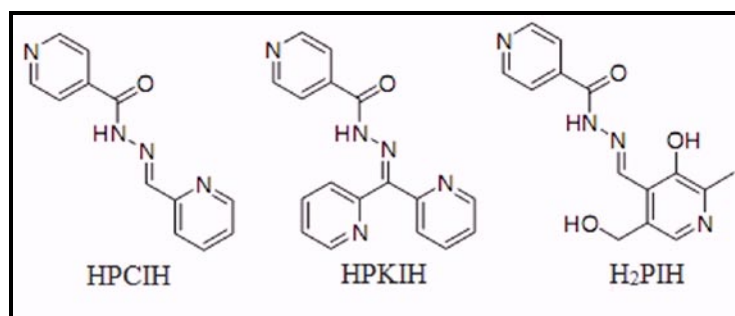


Figura 1.2 – Isonicotinoil hidrazonas de: 2-pirincarbaldéido (HPCIH) e di-2-piridil cetona (HPKIH) e piridoxaldéido (H₂PIH).

Algumas hidrazonas têm mostrado atividade significativa frente a *Micobacterium tuberculosis*²⁰ assim como atividade antimalárica²¹ (Figura 1.3). Compostos hidrazônicos com atividades anticonvulsivante²² e anti-inflamatória^{23,11} também têm sido reportados na literatura.

Acilhidrazonas derivadas de pirazolo[3,4-b]tieno[2,3-d] piridina preparadas e caracterizadas por Barreiro e col.²⁴, apresentaram perfil antitrombótico. Derivados

¹⁵ Johnson, D.K.; Murphy, T.B.; Rose, N.J.; Goodwin, W.H.; Pickart, L.; *Inorg. Chim. Acta.* **1982**, 67, 159.

¹⁶ Ranford, J.J.; e col; *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 1226.

¹⁷ Pickard, L. e col.; *Biochem. Pharmacol.* **1983**, 3868.

¹⁸ Bernhardt, P. V.; Caldwell, L.M.; Chaston, T.M.; Chin, P.; Richardson, D.R.; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2003**, 8, 866.

¹⁹ Becker, E.M.; Lovejoy, D.B.; Greer, J.M.; Watts, R.; Richardson, D.R.; *Br J Pharmacol.* **2003**, 138, 819

²⁰ Sriram, D.; Yogeewari, P.; Madhu, K.; *Bioorg. Med. Chem. Letters.* **2005**, 15, 4502.

²¹ Walcourt, A.; Loyevsky, M.; Lovejoy, D.B.; Gordeuk, V.R.; Richardson, D.R.; *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2004**, 36, 401.

²² Ragavendran, J.V.; Sriram, D.; Patel, S. K.; Reddy, I. V.; Bharathwajan, N.; Stables, J.; Yogeewari, P. *Eur.J.Chem.* **2007**, 42, 146.

²³ Yogeewari, P.; Sriram, Dharmarajan; S.;Puppala, R. e Ragavendram, J.V.; and col.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 17, 3712.

fenilpirazólicos e imidazólicos de *N*-acil e *N*-acilarilhidrazonas mostraram perfil analgésico 25,26,27,28

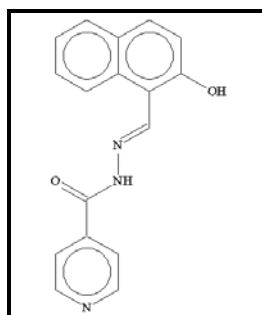


Figura 1.3 – 2-hidroxil-1-naftilaldeído isonicotinoil hidrazona, composto com atividade antimalárica.

Também, hidrazonas derivadas de fármacos usados no tratamento de tumores, como a doxorubicina, incrementaram significativamente a atividade frente a células de melanoma e câncer de colo uterino²⁹ (Figura 1.4).

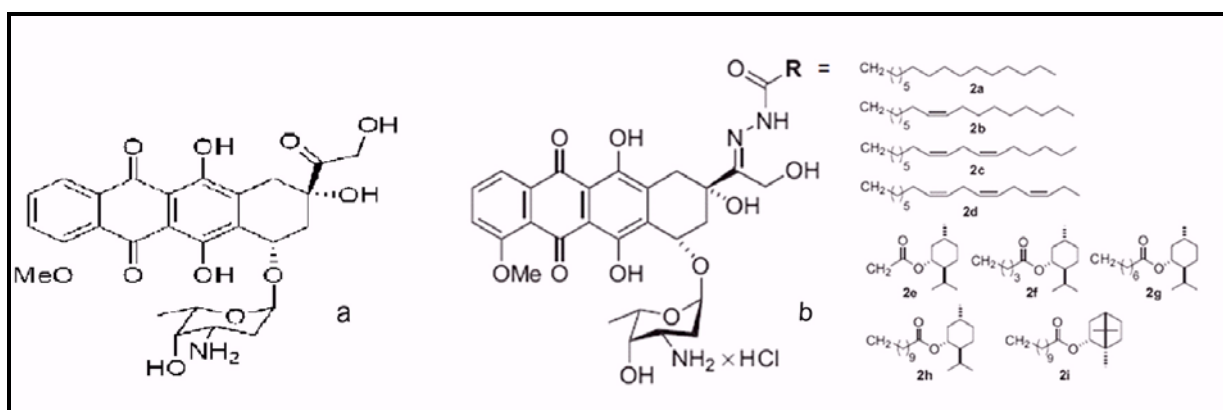


Figura 1.4 – a) Doxorubicina b) Doxorubicina *N*-acilhidrazonas²⁹.

1.2.1 – Hidrazonas derivadas do anel imidazol

A classe mais usada de compostos antifúngicos é a dos azóis, tendo como característica comum anéis imidazol ou triazol. O primeiro composto nessa classe de fármacos foi descoberto em 1960 pelo grupo de Janssen, o qual encontrou que os fenetilimidazóis têm propriedades antifúngicas³⁰.

²⁴ Fraga, A.G.M.; Rodrigues, C.; de Miranda, A.L.P.; Barreiro, E.J.; Fraga, C.; *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, 11, 285.

²⁵ Matheus, M.E.; Oliveira, L.F.; Freitas, A.C.C.; Carvalho, A.M.; Barreiro, E.J.; *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1991**, 24, 1219.

²⁶ Ribeiro, I.G.; Silva, K.C.; Parrini, S.C.; Miranda, A.L.P.; Fraga, C.A.M.; Barreiro, E.J.; *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 225.

²⁷ Dias, L.R.S.; Alvim, M.J.F.; Freitas, A.C.C.; Barreiro, E.J.; Miranda, A.L.P.; *Phar. Acta Helv.* **1994**, 69, 163.

²⁸ Lima, P.; Lima, L.; da Silva, K.C.; Leda, P.H.; Miranda, A.M.; Fraga, C.A.; Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 187.

²⁹ Effenberger, K.; Breyer, S.; Schobert, R.; *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45, 1947.

³⁰ Douglas S. Johnson; *The Art of Drug Synthesis*. Wiley. **2007**, p. 72-73.

A incorporação de núcleos de imidazóis como grupo farmacofórico em compostos medicinais, tem feito dele um dos núcleos heterocíclicos mais versáteis e com um amplo espectro de atividades biológicas. Os derivados de imidazol são isómeros estruturais de nucleotídeos naturais, o que lhes permite interagir facilmente com biopolímeros dos sistemas vivos. Esta interação é responsável por muitas das suas atividades e funções³¹. Por exemplo, vários compostos derivados de imidazol são utilizados como fármacos^{31,32} antifúngicos (Figura 1.5).

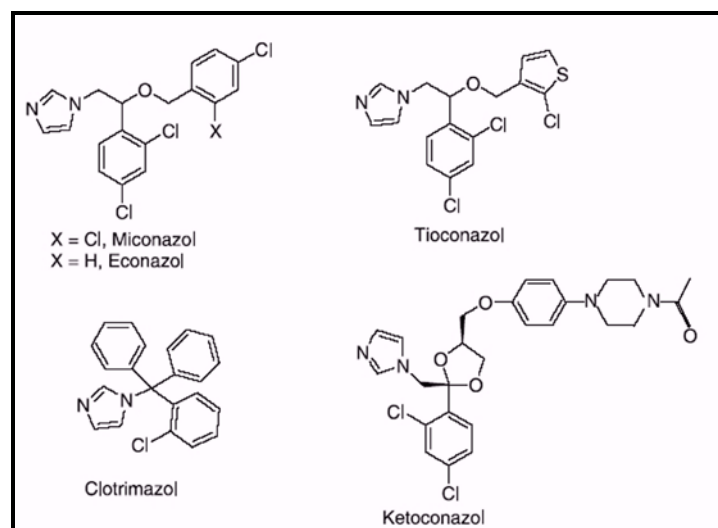


Figura 1.5 – Fármacos antifúngicos derivados de imidazóis.

Compostos imidazólicos também exibem um grande número de propriedades farmacológicas, como: antitumoral³³, atividade mimética de carboxipeptidase³⁴, antienvhecimento³⁵, antibacteriana³⁶, antidiabética³⁷, antimalária³⁸, como inibidores enzimáticos³⁹ e anti-hipertensiva⁴⁰ entre outras (Figura 1.6)³¹.

³¹ Starcevic, K.; Kralj, M.; Ester, K.; Sabol, I.; Grce, M.; Pavelic, K. and Karminski-Zamola, G.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 4419.

³² Emami, F.; Foroumadi, A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 141.

³³ Congiu, C.; Cocco, M.T.; Onnis, V.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 989.

³⁴ Han, M.S.; Kim, D.H.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1425.

³⁵ Bbiszhayev, M.A.; *Life Sci.* **2008**, 78, 2343.

³⁶ Sharma, D.; Narasimhan, P.; Balzarini, J.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 2347.

³⁷ Crane, L.; Anastassiaduor, M.; Hage, S.E.; Stigliani, J.L.; Mouysset, G.B.; Payard, M.; Leger, G.M.; Bizot-Espiard, J.; Ktorza, A.; Caingnard, D.; Renard, P.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 7419.

³⁸ Valhlhakis, J.Z.; Kinobe, R.T.; Nakatzu, K.; Szareka, W.A.; Crandall, I.E.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 2396.

³⁹ Venkatesan, A.M.; Agarwal, A.; Abe, T.; Ushirogochi, H.; Santos, O.D.; Mihira, A.; Takasaki, T.; Li, Z.; Francisco, G.; Lin, Y.I.; Peterson, P.J.; Yang, Y.; Weiss, W.J.; Shales, D.M. and Mansour, T.S. *Bioorg Med Chem.* **2008**, 16, 1890.

⁴⁰ Blancafort, P.; *Drugs Future.* **1978**, 3, 592.

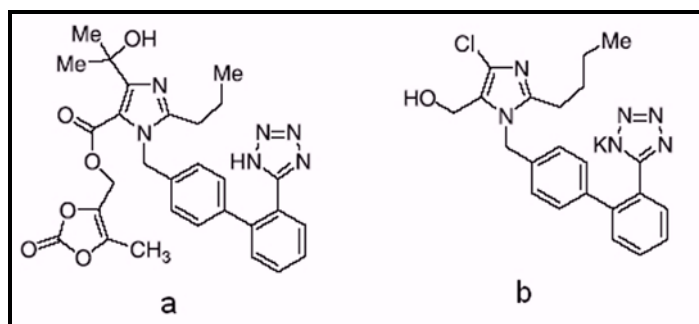


Figura 1.6 – Compostos com anel imidazol usados no tratamento da hipertensão arterial a) Medoxomil de Olmesartam b) Losartanato de potássio

Derivados de 5-metil-imidazolil-4-acilhidrazonas, Figura 1.7, mostraram melhor propriedade analgésica e antiinflamatória que a indometacina⁴¹.

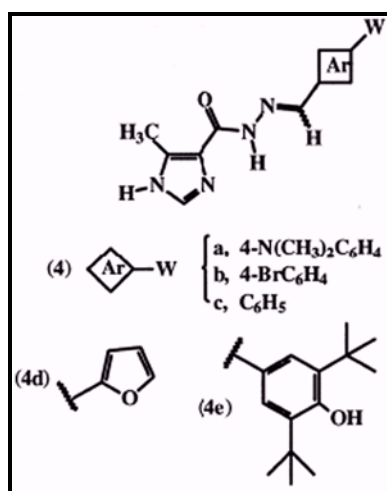


Figura 1.7 – 5-metil-imidazolil- 4-acilhidrazonas⁴¹

1.2.2 – Hidrazonas de piridina

A presença na estrutura da piridina de um átomo de nitrogênio com dois elétrons livres dá um caráter fortemente básico ao anel e a possibilidade de interagir com íons metálicos. Geralmente a existência de um anel piridina na estrutura de um composto orgânico aumenta o poder quelante do mesmo, daí a importância do sistema piridínico em complexos.

O anel piridina encontra-se em numerosos compostos com atividade biológica reconhecida^{16,23,42}. Outros autores^{43,44,45,46} e nosso grupo de pesquisa mostraram que

⁴¹ Figueiredo, J. M.; Camara, C. A.; Amarante, E. G.; Miranda, A. L. P.; Santos, F. M.; Rodrigues, C. R.; Fraga, C. A. M. and Barreiro, E. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 2243.

⁴² Ianelli, S.; Mazza, P.; Orcesi, M.; Pelizzi, C.; Pelizzi, G.; e Zani, F.; *J.Inorg.Biochem.* **1995**, 60, 89.

⁴³ Barthe, N.; Husain, K.; Garza, M. T.; Vega, D. E.; Garza, J. C.; *Eur. J. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 3475.

⁴⁴ Casas, J. S.; Arguelles-Rodriguez, M. C.; Russo, U.; Sanchez, A.; e col.; *J. Inorg. Biochem.* **1998**, 69, 283.

⁴⁵ Genova, P.; Varadinova, T.; Matesanz, A. L.; Marinova, D.; Souza, P.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, 197, 107

⁴⁶ Nia, C.; Li, J.; Doyle, T. W.; Chen, S.; *Tetrahedron.* **1998**, 54, 6311.

tiossemicarbazonas derivadas da piridina, assim como seus complexos com metais de transição apresentam uma ampla faixa de aplicações farmacológicas^{47,48,49,50,51}.

Algumas hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina, quelantes do ferro, foram sugeridas como agentes terapêuticos para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos⁴⁵. Estudos mostram que complexos de cobre com acetilpiridina benzoil hidrazonas apresentam atividade contra a *Micobacterium smegmatis*⁵², propriedades antitumorais⁵³ e antihepatite C⁴⁶.

Devido ao seu poder quelante, as hidrazonas tem a possibilidade que interagir com metais formando compostos estáveis. Esta propriedade pode ser aproveitada para preparar compostos de coordenação com o objetivo de potencializar a atividade das hidrazonas por meio de efeitos sinérgicos entre o metal e o ligante. A complexação poderia levar à obtenção de compostos com perfil farmacológico distinto daquele dos ligantes livres.

1.3 – Metais

Os metais participam de forma ativa em diversas funções nos organismos vivos. Alguns deles (sódio, potássio, manganês, cálcio, ferro, magnésio, cobre, cobalto, zinco e molibdênio) estão incluídos entre os chamados elementos essenciais. O estudo da ação farmacológica de complexos de metais com ligantes orgânicos, como aroilhidrazonas constitui uma área muito interessante dentro da química medicinal. Complexos de zinco (II), cobre (II) e estanho (IV) serão estudados.

1.3.1 – Zinco

O zinco é, entre os elementos traços, o metal mais abundante nos organismos vivos, depois do ferro. Mais de 200 metaloenzimas foram identificadas contendo esse metal: por exemplo, superóxido dismutase, enzima encarregada de dismutar o íon superóxido formado na respiração em peróxido de hidrogênio e oxigênio⁵⁴; anidrase carbônica, enzima relacionada com a conversão do ácido carbônico em dióxido de carbono e água⁴⁸; carboxipeptidase (CPA),

⁴⁷ Ferraz, K.S.O.; Ferandes, L.; Carrilho, D.; Pinto, M.C.X.; Leite, M de F.; Souza-Fagundes, E.M.; Speziali, N.L.; Mendes, I.C.; Beraldo, H.; *Bioorg.Med.Chem.* **2009**,17, 7138.

⁴⁸ Rebolledo, A.P.; Vieiteis, M.; Gambino, D.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Zani, C.L.; Souza-Fagundes, E.M.; Teixeira, L.R.; Batista, A.A.; Beraldo, H.; *J.Inorg.Biochem.* **2005**, 99, 698.

⁴⁹ Mendes, I. C.; Soares, M. A.; dos Santos, R.G.; Pinheiro, C.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 1870.

⁵⁰ Da Silva, J. G.; Azzolini, L.S.; Wardell, S. M. S. V.; Wardell, J. L.; Beraldo, H.; *Polyhedron.* **2009**, 28, 2301.

⁵¹ Perez-Rebolledo, A.; Teixeira, L. R.; Batista, A. A.; Mangrich, A. S.; Aguirre, G.; Cerecetto, H.; Gonzalez, M.; Hernandez, P.; Ferreira, A.M.; Speziali, N. L.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 939.

⁵² Patole, J.; Sandbhor, U.; Padhye, S.; Deobagkar, D.N.; Anson, C.E. e Powell, A.; *Bioorg.Med.Chem.Lett.* **2003**, 13, 51.

⁵³ EL-Hawash, S.A.M.; Abdel-Wahab, A.E.; El-Demellawy, M.A.; *Arch.Pharm.Chem.Life Sci.* **2006**, 339,14.

⁵⁴ Bertini, I.; Gray, H. B.; Stiefel, E. I.; Valentine, J. S.; *Biological Inorganic Chemistry "Structure & Reactivity"* University Science Books. **2007** p 331-333, 180-182.

enzima que hidrolisa a ligação peptídica do resíduo carboxi-terminal, sendo importante na coagulação do sangue, fator de crescimento, cicatrização de feridas, reprodução e outros⁴⁸; além da enzima conversora de angiotensina (ECA), relacionada com o controle da pressão arterial⁵⁵.

Pelas suas características químicas, eletrônicas e estruturais, o zinco é o exemplo típico de metal associado a processos catalíticos do tipo ácido-base⁵⁶. A deficiência desse metal no organismo tem um forte impacto no crescimento e cicatrização, na resposta imunológica e na reprodução, além de afetar os órgãos gustativos, a visão e o tato⁴.

Compostos de zinco apresentam uma variedade de aplicações farmacêuticas. Por exemplo, acetato e sulfato de zinco têm sido utilizados por via oral no tratamento da doença de Wilson⁵⁵; o piritionato de zinco é usado em xampus para o tratamento de seborréia⁵⁵ enquanto propionato e caprilato têm sido usados como antifúngicos tópicos (Figura 1.8)⁵⁵.

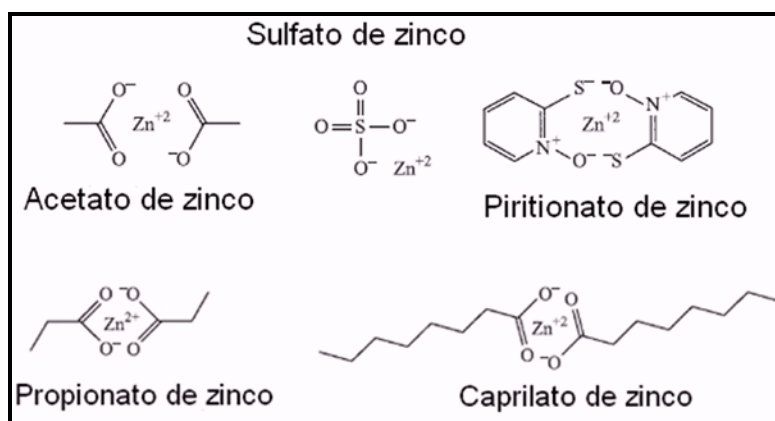


Figura 1.8 – Compostos de zinco usados em formulações farmacêuticas

Diversos complexos de zinco com atividade biológica têm sido reportados na literatura. Compostos de zinco com os antiinflamatórios não-esteroidais, indometacina e ácido acetilsalicílico, foram sintetizados com o objetivo de diminuir os efeitos adversos dos fármacos livres⁵⁷. Complexos de zinco com derivados da 6-benzilaminopurina são fortes inibidores de quinases, enzimas reguladoras da divisão celular, cuja atividade é aumentada nas células cancerígenas⁵⁸. Complexos de zinco com tio e semicarbazonas derivadas da piridina, mostraram atividade antimicrobiana frente bactérias e fungos tipos levedura⁵⁹. Outros compostos de zinco, com acilhidrazonas, resultaram ativos frente a bactérias gram positivas como *Bacillus subtilis* e

⁵⁵ Thomas Nogrady and Donald F. Weaver; *Medicinal chemistry-A molecular and biomedical approach*, Oxford university press. **2005** p.535-538.

⁵⁶ Walkpo, G.K.; Burdette, S.C.; Lippard, S.J.; Tsien, R.Y.; *J.Am.Chem.Soc.* **2000**, 122, 5644.

⁵⁷ Zhou, Q.; Hambley, T.W.; Kennedy, B.J.; Lay, P.A.; Turner, P.; Warwick, B.; Biffin, J.R. e Regtop, H.L.; *Inorg.Chem.* **2000**, 39, 3742.

⁵⁸ Trávníček, Z.; Krystof, V.; Sipl, M.; *J. Inorg. Biochem.* **2006**, 100, 214.

⁵⁹ Kasuga, N.C.; Sekino, K.; Ishikawa, M.; Honda, A.; Yokohama, M.; Nakano, S.; Shimada, N.; Koumo, C.; Nomiya, K.; *J. Inorg. Biochem.* **2003**, 96, 298.

*Staphylococcus aureus*⁶⁰; gram negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia Coli*; e fungos como, *Rizoctonia* sp., *Aspergillus* sp., *Stemphylium* sp. e *Penicillium*⁶¹.

1.3.2 – Cobre

O íon cobre participa de uma ampla gama de funções e sistemas biológicos, estando envolvido em uma grande variedade de processos enzimáticos. Ele está associado a citocromo oxidases, família de proteínas que funcionam como enzimas na cadeia respiratória⁶², tirosinases, que catalisam a oxidação de fenóis²; ceruloplasmina, uma proteína transportadora de cobre⁵⁶; superóxido dismutase, envolvida na dismutação do íon superóxido, entre outras funções). Sendo assim, sua deficiência gera inúmeros problemas e desordens. Por outro lado, pacientes que padecem de artrite reumatóide, úlceras gástricas, tumores cancerígenos ou episódios epiléticos usualmente apresentam concentrações elevadas de cobre no soro ou plasma⁴.

Os complexos que o cobre forma com uma grande variedade de aminoácidos, peptídeos de baixo peso molecular e ligantes similares são usados como miméticos de metaloproteínas. Por exemplo, complexos de cobre(II) com derivados dipeptídicos de bis-imidazóis foram preparados e caracterizados com o objetivo de mimetizar o sítio ativo das superóxido dismutases e tirosinases⁶³.

Complexos de cobre(II) com acilhidrazonas derivadas da acetofenona também têm mostrado uma atividade antifúngica potente contra *Rizoctonia* sp., *Stemphylium* sp. e moderada ação antibacteriana contra *Clostridium* sp. (gram-positiva) e *Pseudomonas* sp. (gram-negativa)⁶⁴. Complexos de cobre(II) com benzoilpiridina-2-quinolil hidrazonas resultaram fortes inibidores da ribonucleótido reductase (RR), e inibidores desta enzima são potenciais agentes antineoplásicos⁶⁵. Também são reportados compostos de cobre(II) com atividade antiinflamatória⁴⁶, antiulcerosa⁴⁶ e anticonvulsivante⁴⁶.

⁶⁰ Rodriguez-Arguelles, M.C.; Cao, R.; García-Deibe, A.M.; Pelizzi, C.; Sanmartin-Matalobos, J.; Zani, F.; *Polyhedron*. **2009**, 28, 2187.

⁶¹ Singh, V. P.; Katiyar, A.; Singh, S.; *J.Coord.Chem.* **2009**, 62, 1336.

⁶² Bertini, I.; Gray, H. B.; Stiefel, E. I.; Valentine, J. S.; *Biological Inorganic Chemistry "Structure & Reactivity"* University Science Books. **2007** p 413-425, 427.

⁶³ Osz, K.; Várnagy, K.; Suli-Vargha, H.; Csámpay, A.; Sanna, D.; Micera, G.; Sóvágó, I.; *J. Inorg. Biochem.* **2004** 98, 24; *J.Dalton. Trans.* **2003**, 2009.

⁶⁴ Singh, V. P.; Singh, A.; Singh, S.; *J. Appl. Polymer Science.* **2008**, 110, 1336.

⁶⁵ Tamasi, G.; Chiasserini, L.; Savini, L.; Sega, A.; Cini, R.; *J.Inorg.Biochem.* **2005**, 99, 1347.

1.3.3 – Estanho

O rápido crescimento das aplicações dos compostos organometálicos de estanho em áreas da indústria, agricultura e biologia durante as últimas décadas levou à sua acumulação no meio ambiente e nos sistemas biológicos⁶⁶.

Os compostos organoestânicos estão caracterizados pela presença de pelo menos uma ligação Sn-C. Esses compostos contêm centros de estanho tetravalentes e são classificados como mono-, di-, tri-, e tetraorganoestânicos, dependendo do número de substituintes alquila (R) ou arila (Ar).

É bem conhecido que os compostos organometálicos de estanho exibem forte atividade biológica, ainda que sejam geralmente, muito tóxicos até em baixas concentrações. A atividade biológica está essencialmente determinada pelo número e a natureza dos grupos orgânicos ligados ao átomo central⁴⁹.

Ultimamente, complexos organometálicos de estanho(VI) com bases de Schiff têm recebido um aumento da atenção devido a suas atividades biológicas e aplicações na biotecnologia^{53,67,68}. Por exemplo, o trifenil estanho salicilanilida tiosemicarbazona [Ph₃Sn(OSal'TSCZH)] mostrou atividade anti-leishmaniose efetiva *in vivo* e *in vitro* a concentrações mais baixas que o medicamento de referência (Gluconato sódico de antimônio)⁶⁹. O complexo de estanho(IV) com o tiofeno-2-carboxaldeído hidrazona mostrou-se ativo frente às bactérias *S. aureus*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella typhi*⁷⁰.

Em nosso grupo de pesquisa, vários compostos de estanho com tiosemicarbazonas foram sintetizados e caracterizados, e suas atividades antimicrobiana e citotóxica⁷¹ foram avaliadas. Por exemplo, Mendes e col.^{72,73} testaram complexos de estanho(IV), obtidos a partir de tricloreto de *n*-butil estanho e tetracloreto de estanho(IV), com 2-piridinaformamida tiosemicarbazona e derivados. Os compostos mostraram-se agentes citotóxicos mais potentes que a cisplatina frente a células de glioblastomas e apresentaram atividade antimicrobiana frente à *Candida albicans* e *P. aeruginosa*.

⁶⁶ Pellerito, L.; Lászlo, N.; *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 224, 111.

⁶⁷ Bregadze, V.I.; Glazun, S.A.; Petrovskii, P.V.; Starikova, Z.A.; Rochev, V.Y.; Dalil, H.; Biesemans, R.; Gielen, M.; Vos, D.D.; *Appl. Organomet. Chem.* **2003**, 17, 453.

⁶⁸ Nath, M.; Pokharia, S.; Yadav, R.; *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 215, 99.

⁶⁹ Raychaudhury, B.; Banerjee, S.; Gupta, S.; Singh, R.V.; Datta, S.C.; *Acta Tropical* . **2005**, 95, 1.

⁷⁰ Affan, M.A.; Siong, W.F.; Jusoh, I.; Hanapi, S.; Tiekink, E.R.T.; *Inorg.Chim. Acta.* **2009**, 362, 5031.

⁷¹ Perez-Rebolledo, A.; Ayala, J.D.; de Lima, G.M.; Marchini, N.; Bombieri, G.; Zani, C. L.; Souza-Fagundes, E.M.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40, 467.

⁷² Mendes, I. C.;Moreira, J.P.; Ardisson, J.D.; dos Santos, R.G.; da Silva, P.R.; Garcia, I.; Catifeiras, A.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1454.

⁷³ Mendes, I. C.; Costa, F.B.; de Lima, G.M.; Ardisson, J.D.; Garcia, I.; Catifeiras, A.; Beraldo, H.; *Polyhedron* **2009**. 28, 1179.

1.4 – Doenças causadas por fungos e bactérias.

Os fungos são seres vivos eucarióticos, com um só núcleo. Estão incluídos neste grupo organismos de dimensões consideráveis, como os cogumelos, mas também muitas formas microscópicas, como bolores e leveduras. Diversos tipos agem em seres humanos causando doenças como, por exemplo, micoses⁷⁴.

A incidência crescente de doenças emergentes e de infecções fúngicas invasivas tem se configurado como grave problema de saúde pública. Negligenciadas pelos laboratórios farmacêuticos e grupos de pesquisas mundiais, essas doenças, até inícios dos anos oitenta, eram características de países do terceiro mundo. O panorama mudou com o crescimento do número de transplantes, devido ao uso de fármacos imunossupressores, com a incidência da AIDS, cujos pacientes ficam com o sistema imunológico reprimido tornando-se vulneráveis a infecções graves. Muitos fungos apresentam de resistência intrínseca para agentes antifúngicos clássicos e isto tem levado à necessidade de novos agentes antifúngicos⁷⁵.

Entre as infecções fúngicas podemos mencionar: histoplasmose, coccidioidomicose, blastomicose, esporotricose e candidíase. Esta última é causada por cepas de *Candida ssp.*, especialmente *C. albicans*, comum nas mucosas da boca ou vagina em pessoas saudáveis. No entanto, essas infecções são mais comuns ou persistentes em indivíduos com diabetes ou AIDS e em mulheres grávidas. Os indivíduos com comprometimento do sistema imunológico normalmente apresentam uma candidíase que se dissemina por todo o corpo. Aqueles que apresentam uma baixa contagem leucocitária, a qual pode ser causada pela leucemia ou pelo tratamento de outros tipos de câncer, e aqueles com cateter instalado em vasos sanguíneos apresentam maior risco de candidemia (infecção da corrente sanguínea pela *Candida*). Muitas espécies de fungos, por exemplo, *Aspergillus* e *Candida*, são também capazes de causar doenças em plantas^{76,77,78,79,80,81}.

As bactérias são organismos unicelulares com tamanho microscópico, medindo entre 0,2 a 1,5 µm de comprimento, sendo em média dez vezes menores do que uma célula eucarionte. Elas normalmente possuem uma parede celular rígida que envolve externamente a membrana

⁷⁴ <http://www.todabiologia.com/microbiologia/fungos.htm>, acessado em 10/04/2012.

⁷⁵ Linares, M.J.; Charriel, G.; Solís, F.; Rodriguez, F.; Ibarra, A. and Casal, M.; J. Clin.Microbiol. **2005**, 43, 250.

⁷⁶ Takemoto, J. Y.; Bensaci, M.; De Lucca, A. J., Cleveland, T. E.; Gandhi, N. R.; Skebba, V. P., *Am. J. Enol. Vitic.* **2010**, 61, 210.

⁷⁷ Pitt, J. I.; Hocking, A. D.; Bhudhasamai, K.; Miscamble, B. F.; Wheeler, K. A.; Tanboon-Ek, P., *Int. J. Food Microbiol.* **1994**, 23.

⁷⁸ Sveistyte, L.; Lugauskas, A.; Vidgiryte, A., *Bot. Lith.* **2005**, 11, 179.

⁷⁹ Lugauskas, A.; Krikstaponis, A.; Sveistyte, L., *Ann. Agric. Environ. Med.* **2004**, 11, 19.

⁸⁰ Gugnani, H. C.; Gupta S.; Talwar R. S., *Mycopathologia.* **1978**, 65, 155.

⁸¹ Vesper, S. J.; Rogers, M. E.; Neely, A. N.; Haugland, R. A., *J. Water Health.* **2007**, 5, 427.

plasmática. A parede celular é constituída por uma trama de peptídeos (proteínas) interligados a polissacarídeos (açúcares), formando um complexo denominado de peptidoglicana. Essa substância é responsável pela forma, proteção física e osmótica do microorganismo.

De acordo com a forma e afinidade colonial das bactérias, elas podem ser classificadas em: cocos, bacilos, espirilo, vibriões, estafilococos, sarcina, estreptobacilos, diplococos ou estreptococos⁸². De acordo com o método de Gram, classifica-se as bactérias em *gram*-positivas ou *gram*-negativas segundo a coloração das mesmas após tratamento com agentes químicos específicos. As *gram*-negativas adquirem uma cor avermelhada e as *gram*-positivas uma cor arroxeada devido à diferenças na constituição de suas paredes celulares. As bactérias *gram*-negativas possuem uma membrana externa a mais, constituída de lipopolissacarídeos, que as tornam impermeáveis ao corante violeta usado nesse método⁸³.

Atualmente, algumas classes desses micro-organismos representam extrema preocupação para a saúde pública. Dentre os que mais provocam mortes no mundo estão o *S. aureus* *meticilina-resistente* (MRSA), *S. aureus* *vancomicina-resistente* (VRSA), *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *P. aeruginosa*, que são bactérias resistentes a múltiplos fármacos. Os processos infecciosos causados por estas classes de microorganismos geralmente estão associados com alta letalidade e custo de tratamento⁸⁴.

O fenômeno da resistência é, de fato, algo muito preocupante uma vez que existem cepas resistentes a quase todos os agentes conhecidos atualmente e, neste sentido, há uma forte necessidade de produzir novas substâncias que tenham bom espectro de atividade e que possuam novos mecanismos de ação⁷⁹. De fato, existe uma alta procura por compostos antifúngicos e antibacterianos de amplo espectro que possam ser ativos frente a microorganismos resistentes e que, ao mesmo tempo, apresentem baixa toxicidade.

1.5 – Gliomas e glioblastomas

Câncer é a designação dada ao conjunto de manifestações patológicas que se caracterizam pela perda de controle da proliferação celular, ganho de capacidade de invadir tecidos adjacentes ou de sofrer metástases para tecidos distantes⁸⁵. O câncer é um dos problemas mais comuns e intensos da medicina, sendo a principal causa de morte em países

⁸² <http://www.brasilecola.com/biologia/bacterias.htm>, acessado em 10/04/2012.

⁸³ Nishaminy, K.; Am. J. Health-Syst. Pharm. **2006**, 63, 1235.

⁸⁴ Demain, A. L.; Sanchez, S.; J. Antibiot. **2009**, 62, 5.

⁸⁵ Montesano, R; Hall, J.; Eur. J. Cancer. **2001**, 37, 67.

economicamente desenvolvidos e a segunda causa principal de morte em países em desenvolvimento⁸⁶.

Embora uma doença rara, o câncer cerebral vêm ganhando importância devido ao aparente aumento da sua incidência e por sua alta letalidade. Raramente são observados tumores nas células nervosas propriamente ditas; os tumores de cérebro desenvolvem-se, principalmente, nas células da glia, que formam a estrutura de sustentação das células nervosas. Entre os adultos, os tumores intracranianos mais freqüentes são gliomas, meningiomas e neuromas. Os gliomas são classificados em subtipos, de acordo com a semelhança histológica entre as células tumorais e as células gliais, e podem ser: astrocitomas, glioblastomas (tumores astrocíticos), oligodendrogliomas e ependimomas⁸⁷.

Gliomas, em especial, glioblastomas (GBMs), são os mais malignos tumores cerebrais primários. Caracterizam-se por uma alta taxa de proliferação celular e uma marcada propensão para se infiltrar difusamente e regiões do cérebro tornando impossível a extirpação cirúrgica e dificultando o tratamento efetivo por radioterapia local. Em virtude do seu rápido crescimento, da destruição de extensas áreas de tecido nervoso e do edema intenso que provocam, seu prognóstico é sombrio, e a maioria dos pacientes não sobrevive um ano e meio após o diagnóstico^{88,89}.

A procura de novos compostos antitumorais altamente efetivos e de baixa toxicidade constitui hoje um dos objetivos mais importantes dos grupos de pesquisa em química medicinal.

A resistência aos fármacos em uso clínico é hoje um dos grandes problemas enfrentados na Medicina. Assim, a busca de novos candidatos a protótipos de fármacos que atuem por mecanismos diferentes daqueles dos fármacos tradicionais é uma área de grande interesse. Complexos metálicos de ligantes com atividade farmacológica poderiam em princípio constituir novas classes de compostos antimicrobianos e antitumorais. Assim a hipótese do presente trabalho é:

Seriam as hidrazonas derivadas de imidazol e piridina compostos com propriedades farmacológicas adequados para serem considerados como novos protótipos de fármacos antimicrobianos e antitumorais?

⁸⁶ Jemal, A.; Bray, F.; Center, M.M.; Ferlay, J.; Ward, E. and Forman, D.; *CA Cancer J. Clin.* **2011**, 61, 69.

⁸⁷ Pereira, R. A.; Koifman, *Cad. Saúde Pública.* **2001**, 17, 1313.

⁸⁸ Nuti, E.; Casalini, F.; Santamaria, S.; Gabelloni, P.; Bendinelli, S.; Da Pozzo, E.; Costa, B.; Marinelli, L.; La Pietra, V.; Novellino, E.; Bernardo, M.M.; Fridman, R.; Da Settimo, F.; Martini, C.; Rossello, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 2617.

⁸⁹ Tabuse, M.; Ohta, S.; Ohashi, Y.; Fukaya, R.; Misawa, A.; Yoshida, K.; Kawase, T.; Saya, H.; Thirant, C.; Chneiweiss, H.; Matsuzaki, Y.; Okano, H.; Kawakami, Y. and Toda, M.; *Mol. Cancer.* **2011**, 10, 1.

Para resolver este problema e conhecendo que o anel piridina pode ser encontrado em numerosos compostos com provada atividade biológica, como a triapina e isoniazida, por exemplo, planejamos a preparação de vários compostos derivados de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoil piridinas. A diferença estrutural em cada família modifica as propriedades dos compostos obtidos. Assim as hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina são compostos com menor logP que aquelas derivadas de 2-acetilpiridina e estas são menos lipofílicas que as hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina. Na síntese das hidrazonas usamos hidrazidas com grupos diferentes (CH₃, Ph, *p*-ClPh e *p*-NO₂Ph) com o objetivo de avaliar a influência destes nas atividades testadas. Outra variação estrutural feita foi à troca do anel heterocíclico. O anel escolhido foi o imidazol, amplamente conhecido pelas suas propriedades biológicas e usado como farmacóforo em compostos medicinais. Além de apresentar isosterismo com o anel piridina. Usamos três tipos de derivados de imidazol [4(5)-imidazol-carboxaldeído, 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldeído e 4-(imidazol-1-il)acetofenona] com o objetivo de avaliar o efeito do anel imidazol nas propriedade biológicas a estudar (Figura 1.9)

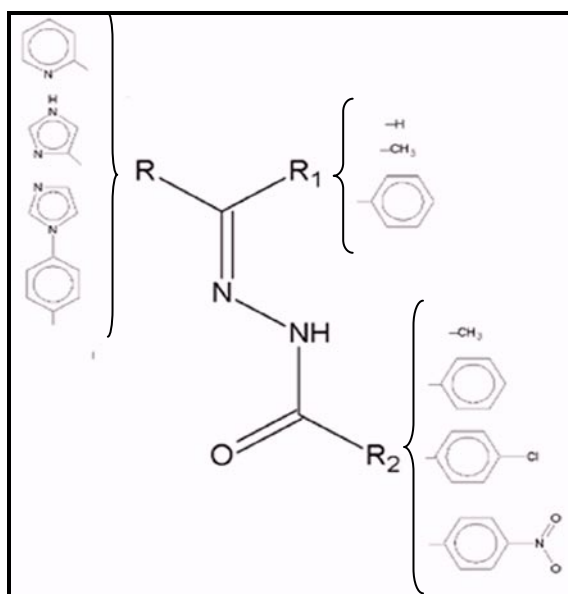


Figura 1.9-Estrutura genérica das hidrazonas

Partindo do conhecimento da atividade que apresentam vários compostos de zinco(II), cobre(II) e estanho(IV) preparamos complexos desses metais com as hidrazonas derivadas da piridinas visando melhorar as atividades antimicrobianas das mesmas. A escolha de zinco e cobre deve-se ao fato de serem metais essenciais para os sistemas biológicos e que estão envolvidos em diversos processos vitais para a vida. O estanho(IV), mesmo sendo um metal que apresenta toxicidade, também apresenta propriedades antimicrobianas importantes.

Os **objetivos específicos** deste trabalho são:

1. Obter e caracterizar novas hidrazonas derivadas de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina;
2. Obter novas hidrazonas derivadas de imidazol;
3. Preparar complexos metálicos das hidrazonas com zinco(II), cobre(II) e estanho(IV)
4. Fazer investigações estruturais de ligantes e complexos metálicos por meio de estudos de IV, RMN, TG e de cristalografia de Raios X.
5. Investigar a atividade antimicrobiana e citotóxica de ligantes e complexos metálicos.
6. Relacionar as atividades e propriedades encontradas com as estruturas dos compostos.
7. Fazer estudos da relação estrutura atividade (SAR).

2 – PARTE EXPERIMENTAL

2.1 – Equipamentos e Procedimentos

- **Determinação de temperaturas de fusão**

As temperaturas de fusão foram determinadas em um equipamento Mettler FP 90.

- **Determinação de massa**

As massas foram determinadas em uma balança Gehaka, modelo AG 200, precisão de 10mg.

- **Análise Elementar**

As análises foram feitas em um aparelho Perkin Elmer, modelo CHN-2400.

- **Análises Condutimétricas**

As medidas de condutividade molar dos complexos foram realizadas em soluções de DMF de concentração na ordem de 10^{-3} a 10^{-4} mol L⁻¹, utilizando-se um condutivímetro YSI Conductivity Bridge, modelo 31, com célula condutimétrica de constante 0,088cm⁻¹ do mesmo fabricante.

- **Espectros de Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de RMN foram determinados nos solventes DMSO-*d*₆ ou CDCl₃ usando-se TMS ($\delta=0$) como padrão interno. Os espectros foram obtidos nos espectrômetros Bruker DPX200 - (200 MHz) e Bruker DRX-400 Avance - (400MHz).

- **Espectros de Infravermelho**

Os espectros de IV foram determinados na região 400-4000 usando-se como suporte KBr cm⁻¹ e na região 200-650 cm⁻¹ em placas de CsI como suporte,. Os espectros foram obtidos em um espectrômetro Perkin Elmer FT-IR System-Spectrum GX.

- **Espectros de Ultravioleta-Visível e Fluorescência**

Os espectros de UV-Vis foram registrados utilizando-se uma cubeta de vidro de 1 a 5 cm de caminho óptico e soluções de concentração da ordem de $\sim 10^{-6}$ molL⁻¹, no espectrofotômetro CARY100 Bio – (UV1006M29) – VARIAN (Agilent Technologies). Os espectros de fluorescência foram registrados no espectrofotômetro CARY Eclipse-(FL1006m016)-VARIAN (Agilent Technologies) utilizando-se cubetas de quartzo de 1cm de caminho óptico.

- **Espectros de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)**

Os espectros de RPE foram obtidos no espectrômetro Bruker ESP300E com 100 kHz de frequência de modulação e uma amplitude de modulação de 0.4–1mT. Os espectros a temperatura ambiente, das amostras em estado sólido e as das soluções em DMSO (1 mmol L⁻¹), foram obtidos em capilares de vidro de 1,2 mm de diâmetro interno. Os espectros em solução de DMSO a baixa temperatura foram adquiridos na temperatura do N₂ líquido (77 K) em tubos de Teflon[®] de 3 mm de diâmetro. Os espectros de RPE foram medidos pela Dra. Sonia Louro, do Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

- **Estruturas Cristalográficas**

As estruturas cristalográficas foram determinadas em colaboração com os pesquisadores: Dr. Oscar E. Piro (Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata), Dr. Eduardo E. Castellano (Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo), Dr. Nivaldo Speziali (Departamento de Física, UFMG), Dra. Isolda Maria de Castro Mendes (Departamento de Química, UFMG). Detalhes e condições experimentais de cada medida estão descritos nos capítulos que se seguem.

- **Estudos de relação estrutura-atividade (SAR)**

A análise conformacional das hidrazonas foi realizada usando-se o método Merck Molecular Force Field (MMFF)¹ através do programa de modelagem molecular Tinker². Foram analisadas as conformações *E* e *Z* de todos os compostos. As energias estruturais mínimas dos isômeros foram obtidas a partir de análise conformacional por meio da Teoria do Funcional de Densidade (density functional theory, DFT)³, empregando a função híbrida B3LYP^{4,5} e usando o conjunto de bases de elétrons 6-31G(d) em todos os átomos^{6,7}. A fim de obter melhores propriedades e resultados de energias, cálculos de energia no ponto simples ao nível da teoria de perturbação de segunda ordem de Møller-Plesset^{8,9} foram então realizados para as estruturas otimizadas B3LYP/6-31G(d), usando o mesmo conjunto de bases [MP2/6-31G(d)//B3LYP/6-

¹ Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J.P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 3902.

² TINKER Software Tools for Molecular Design, 5.0, 2009; TINKER Software Tools for Molecular Design, 5.0; Jay W. Ponder Lab, Dept. of Biochemistry & Molecular Biophysics, Washington University School of Medicine: St. Louis, **2009**.

³ Parr, R.G.; Yang, W.; *Density-Functional Theory of Atoms and Molecule*, Oxford University Press, Oxford, 1989.

⁴ Becke, A.D.; *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.

⁵ Lee, C.T.; Yang, W.T.; Parr, R.G.; *Phys. Rev. B.* **1988**, 37, 785.

⁶ Ditchfield, R.; Hehre, W.J.; Pople, J.A.; *J. Chem. Phys.* **1971**, 54, 724.

⁷ Hehre, W.J.; Ditchfield, R.; Pople, J.A.; *J. Chem. Phys.* **1972**, 56, 2257.

⁸ Møller, C.; Plesset, M.S.; *Phys. Rev.* **1934**, 46, 618.

⁹ Szabo, A.; Ostlund, N.S.; *Modern quantum chemistry. Introduction to advanced electronic structure theory*, Dover Publication, Inc. New York, **1996**.

31G(d)]. A distribuição de carga dos confôrmeros mais estáveis foi calculada usando a teoria da Ligação Orbital Natural (NBO)^{10,11}. Todos os cálculos de mecânica quântica foram realizados através do programa Gaussian¹². As energias dos orbitais HOMO (highest occupied molecular orbital) e LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) e os dipolos moleculares, foram obtidos depois de uma completa otimização e foram usados como descritores para estudos SAR. As estruturas tridimensionais obtidas da otimização das hidrazonas foram usadas no software Marvin¹³ para calcular as áreas de superfície molecular. O coeficiente de partição teórico (logP) das hidrazonas foi determinado usando o programa ALOGPS 2.1¹⁴. A área de superfície molecular e o logP foram também utilizados como descritores para os estudos SAR. Os estudos SAR foram realizados pelo professor William Ricardo Rocha, do Departamento de Química, UFMG.

• Reagentes e solventes

Todos os reagentes utilizados foram de alto grau de pureza e sem tratamento previo. As procedências dos reagentes foram as seguintes: acilhidrazidas e arilhidrazidas (Aldrich), cloreto de zinco(II) (Vetec), cloreto de cobre(II) diidratado (Quimis), tricloreto de *n*-butil estanho (Aldrich), tricloreto de fenil de estanho (Aldrich), 4(5)-imidazol-carboxaldeído (Aldrich), 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldeído (Aldrich), 4-(1H-imidazol-1-il)acetofenona (Aldrich), 2-Benzoilpiridina (Aldrich), 2-formilpiridina (Aldrich), 2-acetilpiridina (Aldrich), acetilhidrazida (Aldrich), benzoilhidrazida (Aldrich), 4-cloro-benzoilhidrazida (Aldrich), 4-nitro-benzoilhidrazida (Aldrich), metanol (Synth), etanol (Synth), éter etílico (Grupo Química), acetona (Quimex), DMF (Synth) e (Merck), DMSO (Synth), acetonitrila (Vetec), TRIS-HCl (SIGMA), Ácido desoxirribonucléico (CT-DNA) (SIGMA-ALDRICH), Brometo de etídeo (SIGMA).

¹⁰ Reed, A.E.; Weinhold, F.; *J. Chem. Phys.* **1983**, 78, 4066.

¹¹ Reed, A.E.; Weinstock, R.B.; Weinhold, F.; *J. Chem. Phys.* **1985**, 83, 735.

¹² Gaussian 03, Revision C.02, M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.

¹³ Chemaxon, Budapest, Hungary

¹⁴ 2.1 Program. Available: <http://www.vcclab.org/lab/alogps> (Accessed April 2011).

2.2 – Sínteses de ligantes e complexos

2.2.1 – Síntese de acetil, benzoil, *para*-cloro-benzoil e *para*-nitro-benzoil hidrazonas derivadas de 2-formil- (H2FoR), 2-acetil- (H2AcR) e 2-benzoil-piridina (H2BzR): (H2FopClPh, H2FopNO₂Ph, H2AcMe, H2AcPh, H2Ac_pClPh, H2Ac_pNO₂Ph, H2BzMe, H2BzPh, H2Bz_pClPh e H2Bz_pNO₂Ph)

As hidrazonas foram obtidas misturando quantidades equimolares (1 mmol) de 2-formil, 2-acetil ou 2-benzol piridina com a hidrazida desejada, em metanol, adicionando-se três gotas de ácido acético glacial como catalisador. A mistura da reação foi mantida em refluxo durante 6 horas. Depois que a mistura reacional foi esfriada à temperatura ambiente, o sólido obtido foi filtrado e lavado com etanol e éter sob pressão reduzida¹⁵. Os compostos foram caracterizados por temperaturas de fusão, RMN de ¹H, ¹³C, DEPT 135 e HMQC, por seus espectros de absorção na região do infravermelho e análise de difração de raios X de monocristal.

2.2.2 – Síntese de acetil, benzoil, *para*-clorobenzoil e *para*-nitrobenzoil hidrazonas derivadas de 4(5)-imidazol-carboxaldeído [4(5)ImMe, 4(5)ImPh, 4(5)ImpClPh, 4(5)ImpNO₂Ph], 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldeído [4ImBzMe, 4ImBzPh, 4ImBz_pClPh, 4ImBz_pNO₂Ph] e 4-(imidazol-1-il)acetofenona, [4ImAcMe, 4ImAcPh, 4ImAc_pClPh e 4ImAc_pNO₂Ph]

As hidrazonas foram obtidas mediante a mistura de quantidades equimolares (1mmol) dos derivados de imidazol com as hidrazidas correspondentes, em meio etanólico, adicionando-se três gotas de ácido acético glacial como catalisador. No caso da hidrazona de 4(5)-imidazol-carboxaldeído com a acetilhidrazida, a síntese foi feita usando acetonitrila como solvente. A mistura foi colocada em refluxo de 4 a 6 horas. Depois que a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, o sólido obtido foi filtrado e lavado sob pressão reduzida com etanol e éter.

Todos os compostos foram caracterizados por temperatura de fusão, RMN de ¹H, ¹³C, DEPT 135 e HMQC, por seus espectros de absorção na região do infravermelho e análise de difração raios X de monocristal.

2.2.3 – Síntese dos complexos de cobre(II) e zinco(II) com as 2-formil, 2-acetil e 2-benzoil piridina hidrazonas

Os complexos foram obtidos adicionando 10 mL de solução etanólica do sal do metal correspondente (ZnCl₂ ou CuCl₂·2H₂O) a 10 mL de solução etanólica quente do ligante, em uma

¹⁵ Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Smith, P. E. G.; Tatchell, A. R., *Vogel's Text-book of Practical Organic Chemistry*, 5th ed.; ELBS: Longman, UK 1989, 1269.

relação metal-ligante 1:1. A solução formada foi mantida em refluxo por 2 horas. Depois de resfriamento à temperatura ambiente o sólido obtido foi filtrado e lavado com etanol e éter para ser secado sob pressão reduzida.

2.2.4 – Síntese dos complexos de estanho(IV) das hidrazonas derivadas de piridina e de imidazol a partir de SnPhCl₃ e SnButCl₃

Os compostos foram obtidos mediante a adição de uma solução do sal de estanho(IV) a uma solução etanólica quente do ligante, em uma relação metal ligante 1:1. A mistura foi mantida em refluxo por um período de 2 a 4 horas. O sólido obtido foi filtrado e lavado com etanol para ser secado sob pressão reduzida.

2.3 – Testes Biológicos e avaliação farmacológica

Os testes de atividade antibacteriana e antifúngica foram realizados nos laboratórios do Departamento de Química da UFMG.

2.3.1 – Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de macrodiluição

A atividade antimicrobiana foi avaliada mediante a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) usando o método de macrodiluição¹⁶. Para a avaliação dessa atividade foram utilizados os microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9070, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 e *Candida albicans* ATCC 18804 e 10231. *S. aureus* ATCC 6538 e *P. Aeruginosa* ATCC 9070 foram estocados no caldo Mueller Hinton Broth (MHB) enquanto que para *E. faecalis* ATCC 19433 foi empregado o caldo Brain Heart Infusion (BHI). Todos os microorganismos foram inoculados para serem testados no mesmo meio e cultivados a 37°C. As células das bactérias foram suspensas, de acordo com o protocolo McFarland¹⁷, em MHB ou BHI, para produzir uma suspensão de aproximadamente 10⁵ UFC (unidades formadoras de colônias) mL⁻¹. *C. albicans* ATCC 18804 e 10231 foi estocada em Sabouraud Broth e inoculada para ser testada no mesmo meio e cultivada a 37°C. As células das bactérias foram suspensas em MHB, de acordo com o protocolo de McFarland³, em uma solução salina, obtendo-se uma suspensão de aproximadamente 10³ células/mL⁻¹.

Para a avaliação das atividades antibacteriana e antifúngica uma série de diluições sucessivas dos compostos, previamente dissolvidos em DMSO, foram feitas em tubos de ensaio; 24 horas depois o inóculo (100 µL) foi adicionado em cada tubo. A CIM, definida como a

¹⁶ National Committee for Clinical Laboratory Standards, Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, in: NCCLS Document M7-A6, Pennsylvania, USA, 2003, ISBN: 1-56238-486-4.

¹⁷ National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, in: NCCLS Document M27eMA2 NCCLS, Pennsylvania, USA, 2002, ISBN: 1-56238-469-4.

concentração mais baixa do composto testado que inibe o crescimento visível, foi determinada depois de 20 horas de incubação a 37°C.

Como controle positivo foi usado a bactéria/ou o fungo no meio de cultura. No controle negativo foi usado o fluconazol, para a *C. albicans*; tetraciclina para o *S. aureus* e *P. aeruginosa* e ciproxacina para *E. faecalis* respectivamente. A concentração final de DMSO nunca excedeu 1%. Em todos os casos, não foi observada inibição com 5% v / v de DMSO. Todos os testes foram feitos em triplicata.

2.3.2 – Avaliação da atividade antifúngica pelo método de microdiluição

Os testes de atividade antifúngica pelo método de microdiluição foram feitos em parceria com a Profa. Jacqueline Aparecida Takahashi, do Departamento de Química da UFMG.

Fungos filamentosos, *Cladosporium cladosporioides* (LABB 6) e *Aspergillus flavus* (LABB 44) foram obtidos no Biotechnology and Bioassays Laboratory (LABB, MG, Brasil) e mantidos em ágar de batata (ADB) sob refrigeração a 7°C. As cepas de, *Candida glabrata* ATCC 2001 e *C. albicans* ATCC 18804 foram mantidas em meio BHI. Para a realização dos experimentos, os fungos foram cultivados em ADB ou BHI até a esporulação. Os esporos foram coletados e suspensos em água esterilizada, contados em câmara de Neubauer e diluídos de forma a se obter uma suspensão com a concentração final de 5×10^3 esporos/mL. A triagem inicial foi feita em micro placas para todos os compostos em uma concentração de 100 µg/poço (em DMSO). A concentração máxima de DMSO não ultrapassou 2%. Controles negativos (inóculo mais meio de cultura) e positivos (inóculo mais composto de referência, nistatina) foram feitos simultaneamente. Os compostos que mostraram atividade na etapa de triagem foram testados em uma série de microdiluição em 12 concentrações (250; 125; 62,5; 15,6; 31,3; 15,6; 7,81; 3,91; 1,95; 0,98; 0,49; 0,24 e 0,12 µg), em duplicata. A avaliação da inibição foi feita em um leitor de placas TP-reader (Thermoplate, Brazil). O valor da concentração inibitória mínima (CIM) foi definido como a menor concentração do composto que mostra 100% de inibição do crescimento do fungo, após o tempo de incubação (48h). Os valores de CIM₅₀ foram definidos e expressos como a mais baixa concentração dos compostos capaz de inibir 50% do crescimento do fungo. Todos os experimentos foram realizados seguindo o procedimento de Zacchino e Gupta¹⁸.

¹⁸ Visbal, G.; San-Blas, G. Esteroles de hongos y parásitos por cromatografía de gases y espectrometría de masas. In: Manual de técnicas in vitro para la detección de compuestos antifúngicos. Zacchino, S. A.; Gupta, M. P., Eds.; Corpus Editorial, Rosario, Argentina. 2007, 95.

2.3.3 – Atividade citotóxica

Os testes de atividade citotóxica em células tumorais foram realizados no Centro de Tecnologia Nuclear (CDTN) em parceria com a Dra. Raquel Gouvea dos Santos.

- **Linhagens de células malignas humanas.**

Foram utilizadas células do tipo glioblastoma multiforme do tipo selvagem (U87) e glioblastoma multiforme mutante P53 (T98), as quais foram obtidas a partir da American Type Culture Collection (ATCC, USA).

Linhagens de células foram cultivadas em monocamada em Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Gibco), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab) e antibióticos (50 U/mL penicilina e 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ estreptomicina), em atmosfera úmida ar/CO₂ (5% / 95%) a 37 ° C. Células 80% confluentes foram usadas em todos os experimentos.

- **Linhagens de células sadias**

Foram utilizadas células de fibroblastos de pulmão fetal humano (MRC5) as quais foram obtidas a partir da American Type Culture Collection (ATCC, USA).

As células foram cultivadas em monocamada em Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Gibco), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab) e antibióticos (50 U/mL penicilina e 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ estreptomicina), em atmosfera úmida ar/CO₂ (5% / 95%) a 37 ° C. Células 80% confluentes foram usadas em todos os experimentos.

- **Método MTT**

A atividade citotóxica foi verificada mediante o ensaio de brometo de 3-(4,5dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) que avalia a viabilidade metabólica celular¹⁹. As células foram cultivadas em placas de 96 poços e, 12 horas depois da incubação, foram tratadas com diferentes concentrações dos compostos (1×10^{-12} – 1×10^{-5} molL⁻¹). Outro grupo de células foi tratado com as mesmas concentrações de etoposídeo (controle positivo), agente antineoplásico que inibe a enzima topoisomerase II. Os compostos foram dissolvidos previamente em DMSO e as concentrações finais foram ajustadas, através de uma diluição de 8 vezes em série, em DMEM de tal forma que a concentração final de DMSO foi menor que 0,5%.

Depois de 48 h de tratamento, as células foram incubadas com MTT (0,5 mg·mL⁻¹) e os cristais de formazan foram solubilizados em DMSO. A absorbância foi medida na leitora de microplacas a 570 nm. Testes usando DMSO (0,5% em DMEM) como controle negativo foram

¹⁹ Plumb, J.A.; Miloro, R.; Kaye, S.B.; *Cancer Res.* **1989**, 49, 4435.

realizados em paralelo. Os valores de CI_{50} foram calculados quando a concentração do composto induziu 50% de morte celular.

- **Análise morfológica das células tumorais**

Células foram semeadas em placas de 96 poços e tratadas com compostos de teste. Alterações morfológicas foram analisadas 48 h após o tratamento por microscopia de contraste de fase, (Nikon).

Alterações no DNA foram detectadas mediante coloração com 4',6-diamidina-2-fenilindol (DAPI). Depois de 48 h de tratamento com 10^{-9} mol·L⁻¹ dos compostos testados, as células foram lavadas com PBS e fixadas com 70% de metanol à temperatura ambiente por 30 minutos. As células foram incubadas com 0,4 µg·mL⁻¹ DAPI (Sigma) por 1 h no escuro e depois lavadas com PBS. As alterações no DNA como fragmentação e condensação de cromatina foram observadas por microscopia de fluorescência (Nikon 385-410 nm).

2.3.4 – Estudos de ligação ao DNA

2.3.4.1 – Determinação da constante de ligação por espectroscopia de absorção eletrônica

Experimentos de titulação por absorção eletrônica foram realizados em cubetas de 1 cm de caminho óptico. Concentrações fixas dos complexos ($\sim 10^{-5}$ mol·L⁻¹) em solução tampão de Tris-HCl (pH=7,10) foram tituladas com volumes de solução de DNA (CT-DNA) no mesmo tampão até alcançar uma relação 1:1 (complexo:CT-DNA). Após cada adição o espectro de absorção foi registrado. Os dados foram ajustados com a seguinte equação²⁰:

$$[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f),$$

onde [DNA] é concentração dos pares de bases do DNA, ϵ_a corresponde a relação entre $A_{obs}/[complexo]$ (A_{obs} = absorvância observada), ϵ_f e o coeficiente de extinção do complexo livre em solução e ϵ_b é o coeficiente de extinção do complexo completamente ligado ao DNA. Do gráfico de $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ vs (DNA), a constante de ligação intrínseca (K_b) é calculada pela razão entre o coeficiente angular $[(\epsilon_b - \epsilon_f)]$ e o intercepto $[1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)]$.

2.3.4.2 – Determinação das constantes de ligação por fluorescência

A constante de ligação dos complexos foi determinada mediante a análise competitiva da de interação entre soluções dos complexos e solução de brometo de etídeo (ligado ao CT-DNA) em tampão Tris-HCl (pH=7,10). O brometo de etídeo (BE) não emite fluorescência na solução de Tris-HCl. Na presença do DNA, o BE mostra emissão de fluorescência reforçada devido à

²⁰ Wolfe, A.; Shimer Jr, G.H.; Meehan, T. *Biochemistry*. **1987**, 26, 6392.

intercalação com o DNA. A substituição competitiva de BE do CT-DNA pelo complexo metálico provoca uma diminuição na intensidade da fluorescência. As modificações na intensidade de fluorescência a 603 nm (545 nm de excitação) depois da adição de volumes constantes de solução dos complexos foram registradas.

Primeiro calculamos a constante de supressão da fluorescência (K_q) mediante a equação de Stern-Volmer²¹:

$$I_0/I = K_q [Q] + 1,$$

onde I_0 e a intensidade de emissão em ausência do supressor, I e a intensidade de emissão na presença do supressor, K_q e a constante de supressão e $[Q]$ a concentração do supressor. K_q é o coeficiente angular obtido do gráfico de I_0/I vs $[Q]$.

A constante aparente de ligação (K_{app}) foi calculada da equação:

$$K_{EB} [BE] = K_{app} [\text{complexo}],$$

onde $K_{EB} = 10^7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e $[\text{complexo}]$ é a concentração quando for suprimida 50% da fluorescência ou $I_0/I = 2$ ou $1/K_q$.

A constante de ligação do complexo no CT-DNA é obtida do gráfico $\log[(F_0-F)/F]$ vs $\log [Q]$ na equação:

$$\log[(F_0-F)/F] = \log K_b + n \log [Q]^{22,23},$$

onde F_0 e a intensidade de fluorescência inicial, F e a intensidade de fluorescência depois de adição do complexo metálico, n é igual ao número de sítios de ligação e K_b a constante de ligação. A constante é obtida do intercepto da curva.

2.4 – Determinação do rendimento quântico (Φ_F)

O método usado para determinar o rendimento quântico dos compostos foi o comparativo de Williams e col.²⁴. Este método envolve o uso de amostras de padrões muito bem caracterizados com Φ_F conhecidos. Basicamente, em soluções de amostras padrões e de amostras problema, no mesmo comprimento de onda de excitação, pode-se assumir que é absorvido o mesmo número de fótons. Assim, uma razão simples da intensidade integrada de fluorescência das duas soluções (medidas em condições idênticas) irá produzir a razão entre os valores de rendimento quântico.

²¹ Lee, M.; Rhodes, A.L.; Wyatt, M.D.; Forrow, S.; Hartley, J.A. *Biochemistry*. **1993**, 32, 4237.

²² Kandagal, P.B.; Ashoka, S.; Seeytharamappa, J.; Shaikh, S.M.T.; Jadegoud, Y.; Ijare, O.B.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, 41, 393.

²³ Feng, X.Z.; Lin, Z.; Yang, L.J.; Wang, C.; Bai, C.L.; *Talanta*. **1998**, 47, 1223.

²⁴ Williams, A.T.R.; Winfield, S.A. and Miller; *Analyst*. **1983**, 108, 1067.

- **Procedimento**

1. Registrou-se o espectro de UV-vis do fundo solvente para a amostra escolhida, padrão ou composto a estudar, anotar o valor da absorbância no comprimento de onda de trabalho.
2. Registrou-se o espectro de fluorescência da mesma solução numa cubeta de 10 mm. Calcular e anotar a intensidade integrada de fluorescência (área sob a curva).
3. Foram repetidos os passos anteriores para cinco soluções aumentando a concentração da amostra escolhida, padrão ou composto a estudar.
4. Foi feito o gráfico de intensidade de fluorescência integrada *versus* absorbância. O resultado deve ser uma linha reta com coeficiente angular m , e intercepto = 0.

Com os valores de coeficiente angular obtidos do gráfico para amostra padrão como para amostra em estudo, os valores absolutos de rendimento quântico são calculados pela seguinte equação:

$$\Phi_x = \Phi_{\text{pad}}(m_x/m_{\text{pad}})(\eta_x^2/\eta_{\text{pad}}^2)$$

Onde pad = amostra padrão, x = amostra a estudar e η = índice de refração dos solventes.

Foram preparadas soluções de sulfato de quinina ($\Phi_F=0,54$), como padrão (10 mg em 10 mL de H_2SO_4), e dos compostos (10 mg em 10 mL de acetonitrila). Tomamos uma alíquota de 1 mL das soluções anteriores e diluímos num balão volumétrico de 5 mL. Os espectros de absorção foram feitos numa cubeta de 5cm de caminho óptico, onde em 15 mL de DMF foram colocadas alíquotas de 50 μL das solução de estudo por 5 vezes. Para obter os espectros de fluorescência, 3 mL da solução usada para obter os espectros de absorção, foram passados para uma cubeta de 1cm de caminho óptico.

3 – HIDRAZONAS DERIVADAS DE IMIDAZOL COMO NOVOS AGENTES ANTIFÚNGICOS

Foram sintetizadas 12 hidrazonas derivadas de imidazol usando o método descrito na seção 2.2.2. Os compostos sintetizados foram: 4(5)imidazol-carboxaldeído-acetilhidrazona [4(5)ImMe] (**1**), 4(5)imidazol-carboxaldeído-benzoilhidrazona [4(5)ImPh] (**2**), 4(5)imidazol-carboxaldeído-*para*-cloro-benzoilhidrazona [4(5)ImpClPh] (**3**), imidazol-carboxaldeído-*para*-nitro-benzoilhidrazona [4(5)ImpNO₂Ph] (**4**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-acetilhidrazona (4ImBzMe) (**5**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-benzoilhidrazona (4ImBzPh) (**6**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-*para*-cloro-benzoilhidrazona (4ImBzpClPh) (**7**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-*para*-nitro-benzoilhidrazona (4ImBzpNO₂Ph) (**8**), 4-(imidazol-1-il)acetofenona-acetilhidrazona (4ImAcMe) (**9**), 4-(imidazol-1-il)acetofenona-benzoilhidrazona (4ImAcPh) (**10**), 4-(imidazol-1-il)acetofenona-*para*-cloro-benzoilhidrazona (4ImAcpClPh) (**11**) e 4-(imidazol-1-il)acetofenona-*para*-nitro-benzoilhidrazona (4ImAcpNO₂Ph) (**12**). As estruturas genéricas desses compostos encontram-se na Figura 3.1.

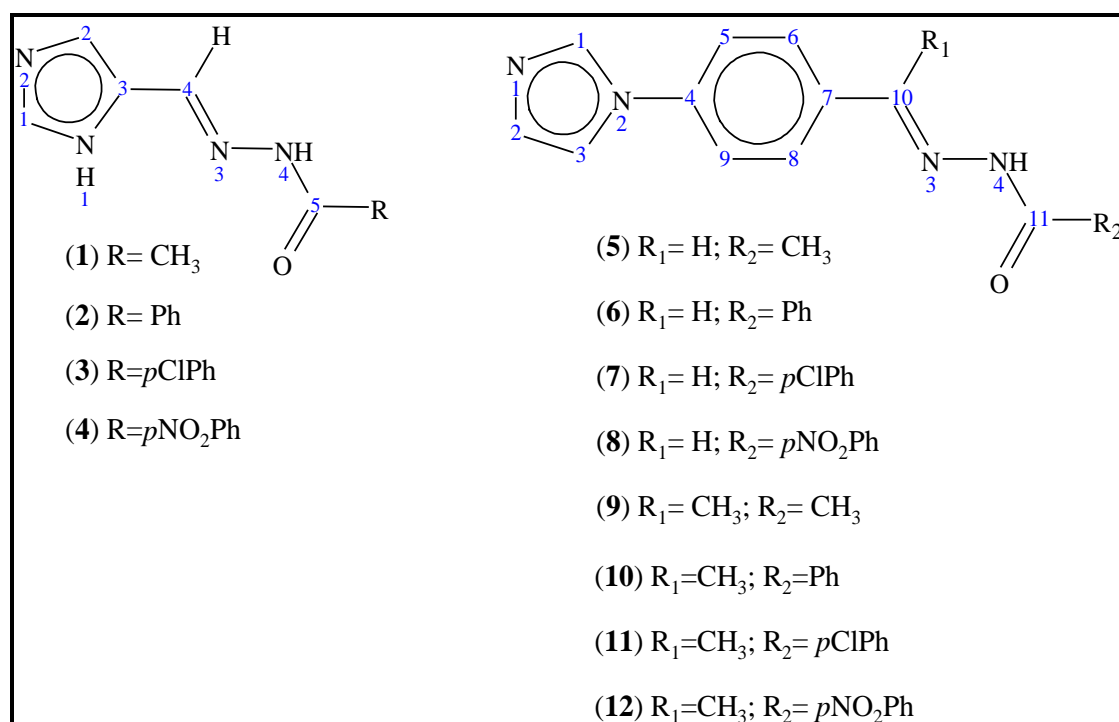


Figura 3.1 – Estrutura genérica das hidrazonas derivadas do imidazol.

Os rendimentos das reações, temperaturas de fusão e massa molar dos compostos encontram-se na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Temperaturas de fusão, massa molar e rendimentos de reações para as hidrazonas derivadas do imidazol.

Composto	Formula molecular	P.F (°C)	MM (gmol ⁻¹)	Rendimento (%)
4(5)ImMe (1)	C ₆ H ₈ N ₄ O	163-164	152,15	76
4(5)ImPh (2)	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O	276-278	214,22	81
4(5)ImpClPh (3)	C ₁₁ H ₉ ClN ₄ O	277-280	248,67	56
4(5)ImpNO ₂ Ph (4)	C ₁₁ H ₉ N ₅ O ₃	>300	259,22	76
4ImBzMe (5)	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O	148-150	228,25	65
4ImBzPh (6)	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O	250-252	290,32	84
4ImBzClPh (7)	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄ O	244-245	324,76	92
4ImBzNO ₂ Ph (8)	C ₁₇ H ₁₃ N ₅ O ₃	261-263	335,31	96
4ImAcMe (9)	C ₁₃ H ₁₄ N ₄ O	210-211	242,27	68
4ImAcPh (10)	C ₁₈ H ₁₅ N ₄ O	242-243	304,34	92
4ImAcClPh (11)	C ₁₈ H ₁₅ ClN ₄ O	240-243	338,79	96
4ImAcNO ₂ Ph (12)	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₃	279-281	349,34	76

As atribuições dos sinais de RMN de ¹H e ¹³C das hidrazonas encontram-se nas tabelas (3.2 a 3.4). As atribuições nos espectros de RMN de ¹H foram feitas com base nos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento para o espectro de cada composto. Os carbonos do tipo (C, CH) foram determinados pelo experimento DEPT 135. As atribuições dos carbonos e prótons foram feitas mediante experimentos de correlação 2D heteronuclear (HMQC) usando valores correspondentes a ¹J(C, H). Os espectros de todos os compostos foram feitos em DMSO-*d*₆.

No composto **1**, três sinais foram observados para cada hidrogênio e cada carbono nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, (Figura 3.2) o que indica a presença de três possíveis isômeros em equilíbrio na solução. O carbono C(5)=O apresenta, no espectro de RMN de ¹³C, sinais em δ 171,89, δ 171,57 e δ 165,35; os dois primeiros são característicos dos isômeros *Z* e *E*, e o último corresponde à presença do tautômero *enol*, em equilíbrio com as duas formas anteriores¹.

Os sinais em δ 11,22; δ 11,03 e δ 9,76 foram atribuídos a N(1)H do anel imidazol do *enol*, e aos isômeros *E* e *Z* respectivamente. Os sinais em δ 13,30 e δ 12,93 foram atribuídos a N(4)-H de *Z* e *E*, respectivamente. O sinal correspondente a O(5)-H do *enol* encontra-se superposto com o de N(4)-H na forma *E*.

¹ Ray, A.; Banerjee, S.; Sen, S.; Butcher, R. J.; Rosair, G. M.; Garland, M. T.; Mitra, S.; *Struct. Chem.* **2008**, *19*, 209.

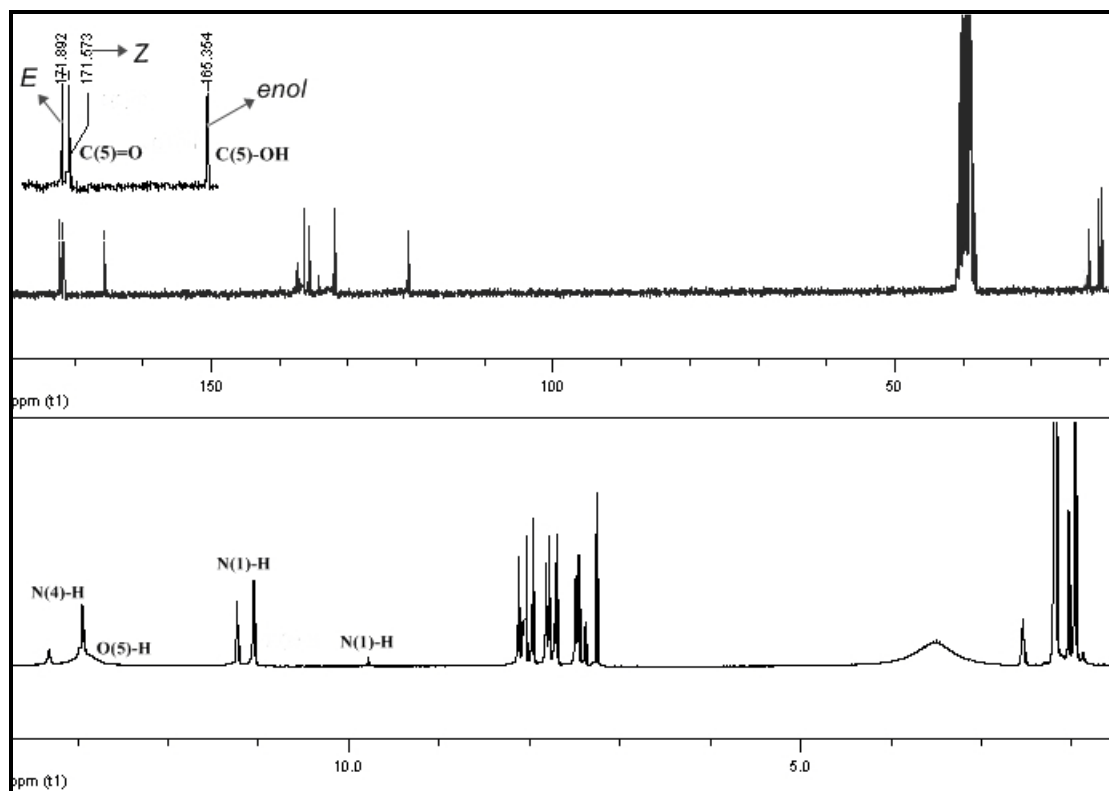


Figura 3.2 – Espectros de ^{13}C e ^1H de 4(5)ImMe (**1**) em $\text{DMSO-}d_6$.

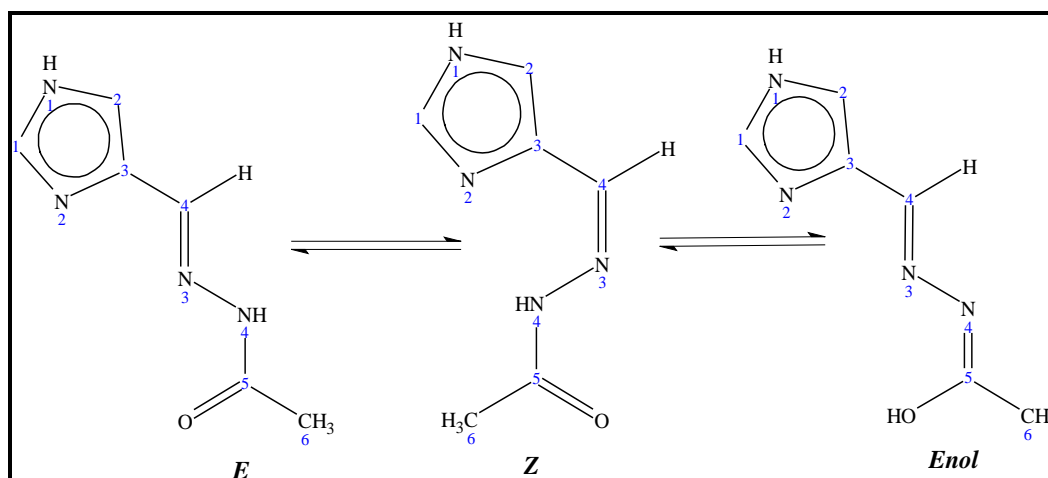


Figura 3.3 – Representação dos equilíbrios isoméricos em solução do composto 4(5)ImMe (**1**).

Nos espectros dos compostos 4(5)ImPh (**2**), 4(5)ImpClPh (**3**) e 4(5)ImpNO₂Ph (**4**) só um sinal foi observado para cada hidrogênio e carbono. Os sinais para N(4)-H e N(1)-H encontram-se em δ 14,29, δ 14,34 e δ 14,55, e δ 8,37, δ 8,39 e δ 8,37 para os compostos **2**, **3** e **4** respectivamente, indicando que os mesmos estão na configuração *Z* em solução (Tabela 3.2). Os sinais de carbono C(5)=O encontram-se em δ 162,81 e 161,26 para **2** e **3** respectivamente. No

caso do composto **4** não foi possível obter o espectro de RMN de ^{13}C devido a baixa solubilidade do mesmo em DMSO.

Tabela 3.2 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4(5)imidazol-carboxaldeído.

Atribuições	N ^o	4(5)ImMe (1)			4(5)ImPh (2)	4(5)ImpClPh (3)	4(5)ImpNO ₂ Ph (4)
		Z	E	Enol			
H1	1	7,76(s)	7,68(s)	7,43(s)	7,75(s)	7,79(s)	7,82(s)
N(1) H	1	9,76(s)	11,03(s)	11,22(s)	8,37(s)	8,39(s)	8,37(s)
H2	1	7,37(s)	7,24(s)	7,24(s)	7,51(m)	7,55(s)	7,61(s)
H4	1	8,03(s)	7,94(s)	8,10(s)	8,11(s)	8,12(s)	8,13(m)
N(4)H	1	13,30(s)	12,93(s)	-	14,29(s)	14,34(s)	14,55(s)
O(5)H	1	-	-	12,93(s)	-	-	-
C(6)H ₃	1	2,02(s)	2,16(s)	1,94(s)	-	-	-
H(7,11)	2	-	-	-	7,89(d) [6,86]	7,95(d) [8,55]	8,18(m)*
H(8,10)	2	-	-	-	7,53(m)*	7,65(d) [8,64]	8,41(d) [6,89]
H(9)	1	-	-	-	7,58(m)*	-	-
C(1)	1	-	135,74	135,53	135,03	135,59	-
C(2)	1	134,13	131,80	137,80	135,67	135,99	-
C(3)	1	137,36	120,19	121,25	121,26	121,61	-
C(4)	1	136,33	137,07	139,55	136,61	136,50	-
C(5)	1	171,57	171,89	165,35	162,81	161,26	-
C(6)	1	22,15	20,08	21,54	133,55	132,23	-
C(7,11)	2	-	-	-	127,44	128,81	-
C(8,10)	2	-	-	-	128,14	128,99	-
C(9)	1	-	-	-	131,54	136,61	-

[J]: constante de acoplamento, em Hz

*:Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Os espectros dos compostos **5** e **9** mostram sinais duplicados para cada hidrogênio e carbono, indicando a presença de duas formas isoméricas na solução. Os sinais em δ 172,00 e δ 165,67 para **5**; e δ 171,82 e δ 166,13 para **9** correspondem a C(11)=O e C(11)-OH dos tautômeros ceto e enol respectivamente (Figura 3.4). Os sinais em δ 11,49 em **5** e δ 10,51 em **9**, foram atribuídos a N(4)-H, indicando que o tautômero ceto está na configuração *E*. Os sinais correspondentes a O(11)-H da forma enol têm valores de δ 11,35 em **5** e δ 10,41 para **9** (Tabelas 3.3 e 3.4).

Nos compostos **6**, **7**, **8**, **10** e **11** um sinal é observado para cada hidrogênio e carbono. O sinal de N(4)-H é observado entre δ 10,84 e δ 12,22, característico da configuração *E*. Isto foi

confirmado mediante um experimento de Efeito Nuclear Overhauser (NOE), figura 3.5. O sinal de C(11)=O encontra-se entre δ 161,46 e δ 163,12 para os compostos **6**, **7** e **8** e entre δ 166,13 e δ 171,82 para os compostos **10** e **11** respectivamente.

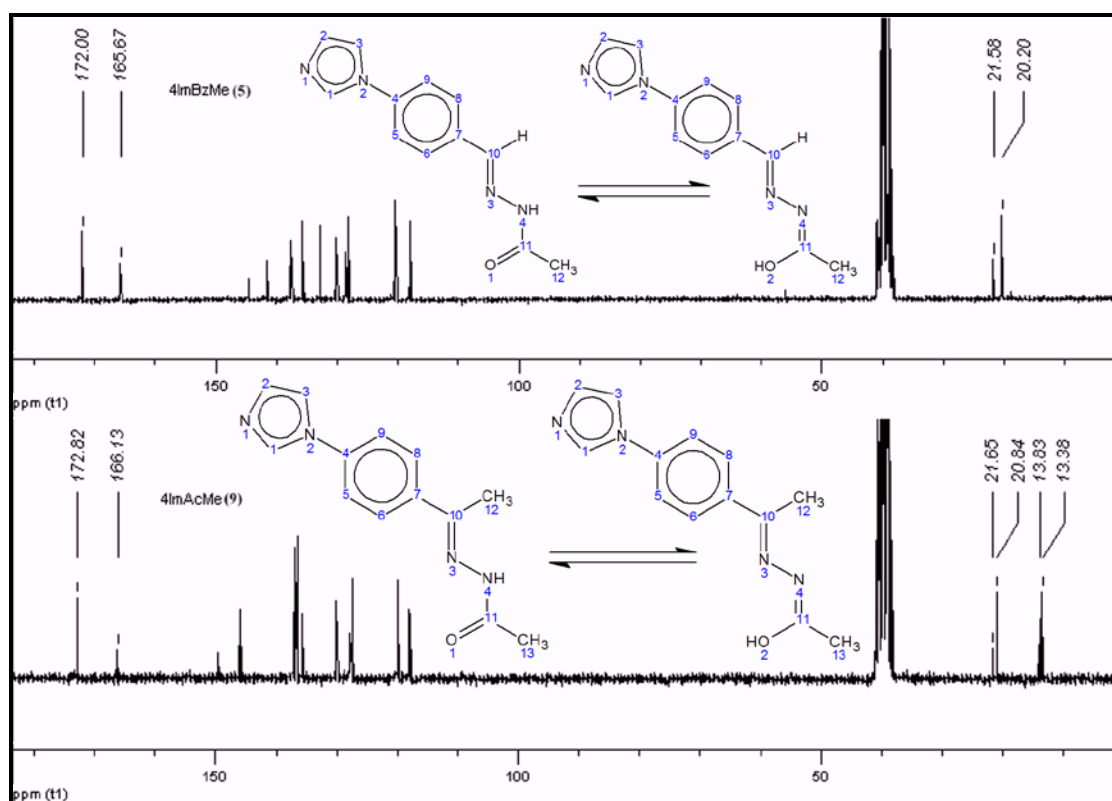


Figura 3.4 – Espectros de ^{13}C de 4ImBzMe (**5**) e 4ImAcMe (**9**) em $\text{DMSO-}d_6$.

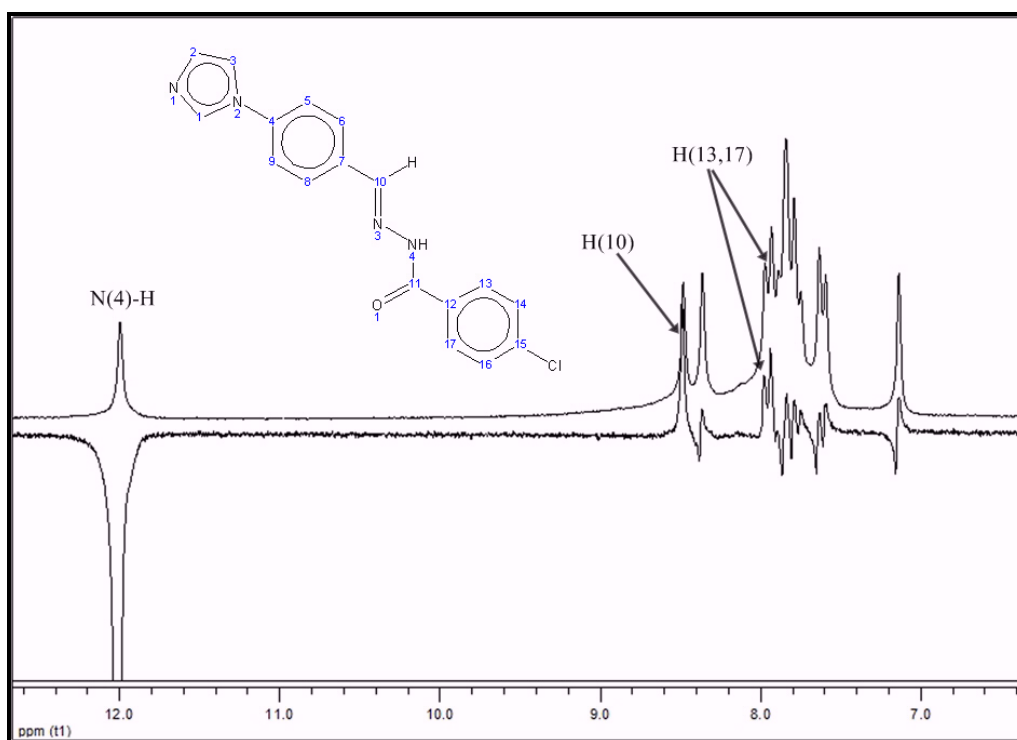


Figura 3.5- Espectros RMN ^1H e NOE-DIFF do composto 4ImBzPClPh (**7**).

Tabela 3.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído.

Atribuições	N ^o	4ImBzMe (5)		4ImBzPh (6)	4ImBz <i>p</i> ClPh (7)	4ImBz <i>p</i> NO ₂ Ph (8)
		<i>C</i>	<i>E</i>			
H(1)	1	8,36(s)		8,38(s)	8,38(s)	8,38(s)
H(2)	1	7,15(s)		7,16(s)	7,16(s)	7,16(s)
H(3)	1	7,83(s)		7,86(s)	7,85(m)	7,85(s)
H(5,9)	2	7,76(m)*		7,80(m) [8,46]	7,63(d) [8,29]	7,80(d) [8,22]
H(6,8)	2	7,81(m)*		7,90(m)*	7,89(m) [8,50]	7,91(d) [8,58]
H(10)	1	8,20(s)	8,03(s)	8,52(s)	8,51(s)	8,52(s)
N(4)-H	1	11,49(s)	-	11,95(s)	12,01(s)	12,22(s)
O(11)-H	1	-	11,35(s)	-	-	-
C(12) H ₃	3	1,99(s)	2,23(s)	-	-	-
H(14,16)	2	-		7,60(t) [7,58]	7,78(m) [8,49]	8,41(d) [7,12]
H(13,17)	2	-		7,96(d) [7,55]	7,97(d) [8,27]	8,18(d) [8,49]
H(15)	1	-		7,60(t) [7,58]	-	-
C(1)	1	135,45		135,45	135,45	135,42
C(2)	1	130,02		130,05	130,05	130,11
C(3)	1	117,75		117,72	117,71	117,70
C(4)	1	137,63		137,77	136,55	138,93
C(5,9)	2	120,30		120,27	120,29	120,30
C(6,8)	2	127,97		128,41	129,49	128,65
C(7)	1	132,70		132,66	132,54	132,34
C(10)	1	144,49	141,38	146,62	146,96	147,72
C(11)	1	172,00	165,67	163,12	162,03	161,46
C(12)	1	21,58	20,12	133,30	131,97	137,99
C(13,17)	2	-		127,58	128,49	129,10
C(14,16)	2	-		128,41	128,49	123,27
C(15)	1	-		131,70	137,84	149,19

[J]: constante de acoplamento, em Hz

*:Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Tabela 3.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 4-(imidazol-1-il)acetofenona.

Atribuições	N ^o	(4ImAcMe) (9)		(4ImAcPh) (10)	(4ImAcPhCl) (11)
		<i>C</i>	<i>E</i>		
H(1)	1	8,33(s)		8,36(s)	8,36(s)
H(2)	1	7,14(s)		7,14(s)	7,14(s)
H(3)	1	7,80(s)		7,83(s)	7,83(s)
H(5,9)	2	7,70(d) [8,64]		7,74(d) [8,07]	7,75(d) [7,60]
H(6,8)	2	7,90(d) [8,64]		7,95(d) [6,36]	7,92(m)*
NH(4)	1	10,51(s)	-	10,84(s)	10,91(s)
OH(11)	1	-	10,41(s)	-	-
CH ₃ (12)		2,27(s)	2,29(s)	2,40(s)	2,40(s)
CH ₃ (13)	3	2,26(s)	2,06(s)	-	-
H(14,18)	2	-		7,89(d) [6,62]	7,92(m)*
H(15,17)	2	-		7,56(t) [7,98]	7,60(d) [8,17]
H(16)	1	-		7,56(t) [7,98]	-
C(1)	1	135,42		135,43	135,46
C(2)	1	129,96		131,37	130,10
C(3)	1	117,76		117,73	117,76
C(4)	1	136,53		136,29	136,19
C(5,9)	2	119,84	119,70	119,75	119,76
C(6,8)	2	127,28	127,60	128,27	130,01
C(7)	1	137,00	137,14	137,37	137,49
C(10)	1	145,78	149,31	153,79	155,34
C(11)	1	171,82	166,13	168,03	167,27
C(12)	1	13,38	13,83	14,49	14,50
C(13)	1	20,84	21,65	134,02	132,66
C(14,18)	2	-		127,62	127,86
C(15,17)	2	-		128,05	128,27
C(16)	1	-		131,23	141,40

[J]: constante de acoplamento, em Hz

*: Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Devido à baixa solubilidade apresentada pelo composto **12** nos solventes testados não foi possível obter seus espectros de RMN.

As principais bandas nos espectros de infravermelho das hidrazonas encontram-se na Tabela 3.5. As bandas que normalmente são mais afetadas pela coordenação aos metais são aquelas referentes a $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{C=N})$ e $\nu(\text{C=O})$.

Tabela 3.5 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) de hidrazonas derivadas de imidazol.

Compostos	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{N-H}_{\text{imidaz}}$	CH_3		$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	$\nu\text{C=C+C=N}_{(\text{arom})}$
			ν_{ass}	ν_{s}			
4(5)ImMe (1)	3210	3097-3004	2930	2864	1675	1615	1587-1536
4(5)ImPh (2)	3213	3100-3027	-	-	1644	1626	1575-1561
4(5)ImpClPh (3)	3200	3100-3058	-	-	1660	1615	1598-1561
4(5)ImpNO ₂ Ph (4)	3159	3127-3063	-	-	1687	1619	1601-1561
4ImBzMe (5)	3171	-	2978	2863	1659	1618	1610-1531
4ImBzPh (6)	3195	-	-	-	1678	1610	1568-1526
4ImBzpClPh (7)	3189	-	-	-	1678	1608	1594-1521
4ImBzpNO ₂ Ph (8)	3194	-	-	-	1687	1606	1600-1519
4ImAcMe (9)	3183	-	2933	2873	1674	1615	1607-1522
4ImAcPh (10)	3139	-	-	-	1663	1614	1603-1523
4ImAcpClPh (11)	3240	-	-	-	1661	1611	1592-1513
4ImAcpNO ₂ Ph (12)	3136	-	-	-	1665	1616	1599-1520

3.1 – Estruturas cristalográficas

Os cristais dos compostos foram obtidos, por evaporação lenta do solvente, a partir das águas mães. O composto **3** cristalizou-se com uma molécula de água. A Figura 3.6 mostra os diagramas ORTEP das estruturas resolvidas dos compostos.

Os cristais de imidazol-carboxaldeído-*para*-cloro-benzoilhidrazona 4(5)ImpClPh (**3**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-benzoilhidrazona (4ImBzPh) (**6**), 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-*para*-cloro-benzoilhidrazona (4ImBzpClPh) (**7**) e 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldeído-*para*-nitro-benzoilhidrazona (4ImBzpNO₂Ph) (**8**) foram montados em uma fibra de vidro para coleta de dados. A coleta de dados de Raios X foi realizada em um difratômetro Oxford-Diffraction GEMINI (LabCri) usando fonte de grafite MoK α ($\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$) para **6**, **7** e **8**, e radiação Cu K α ($\lambda = 1,54180 \text{ \AA}$) para o composto **3**, todos a 293(2) K. A coleta dos dados

dos cristais foi realizada usando o programa CrysAlis². As estruturas foram resolvidas usando-se métodos diretos do programa SHELXS-97³ e refinadas pelo método de mínimos quadrados F² usando SHELXL-97⁴. Os parâmetros posicionais e deslocamentos anisotrópicos foram refinados para todos os átomos, exceto hidrogênios. Os átomos de hidrogênio foram posicionados geometricamente considerando o grupo a que estão ligados ou localizados através do mapa de diferença de Fourier. Os desenhos das estruturas moleculares foram obtidos pelo programa ORTEP⁵. A Tabela 3.6 mostra um resumo dos dados de cristais, detalhes e resultados experimentais.

Os quatro compostos cristalizaram no sistema monoclinico com uma molécula por unidade assimétrica. Os compostos **6**, **7** e **8** adotaram a configuração *E* no cristal com respeito à ligação dupla C(10)-N(3) e a conformação *E* em relação à ligação C(11)-N(4). O composto **3** adota a configuração *Z* com respeito à ligação dupla C(4)-N(3) e a conformação *E* referente à ligação C(5)-N(4), com uma fraca ligação de hidrogênio entre N(4)-H e N(2) do anel imidazol.

Os esqueletos hidrazônicos [CC(O)NNC] nas quatro estruturas são essencialmente planos, com desvios *rms* para os átomos nos planos calculados de 0,0402 Å (**3**), 0,0476 Å (**6**), 0,0287 Å (**7**) e 0,0371 Å (**8**), respectivamente. Os comprimentos de ligação são similares aos descritos anteriormente na literatura para este tipo de hidrazonas⁶.

No composto **3** o anel imidazol está quase coplanar com o esqueleto hidrazônico formando um ângulo diedro de 8,68° enquanto que o ângulo diedro formado pelo anel fenila e o plano do esqueleto hidrazônico é de 24,76°.

Entre os compostos da mesma família **6**, **7** e **8**, mesmo tendo estrutura semelhantes observam-se algumas diferenças, por exemplo, no ângulo C(16)-C(15)-C(14) com valores de 118,7° (**3**), 121,65° (**13**) e 122,04° (**19**) para **6**, **7** e **8** respectivamente. A possível explicação para este fato é que no carbono 15 encontram-se ligados diferentes substituintes em cada um destes compostos: H em **6**, Cl em **7** e NO₂ em **8**. Este fato pode estar relacionado com o aumento do efeito retirador dos substituintes ou aumento do tamanho dos mesmos. O mesmo acontece para O(1)-C(11)-C(12) onde o valor do ângulo diminui progressivamente desde o composto **6** ao **8** (Tabela 3.7), devido possivelmente ao mesmo efeito. Este efeito também pode estar associado ao

² CrysAlis RED, Oxford Diffraction Ltd., Version 1.171.32.38.SCALE3 ABSPACK scaling algorithm. CrysAlis RED, Oxford Diffraction Ltd., Version 1.171.32.38.

³ Sheldrick, G. M.; *SHELXS-97; Program for Solution of Crystal Structures*, University of Göttingen, Göttingen, Germany. 1997.

⁴ Sheldrick, G. M.; *SHELXL-97; Program for Crystal Structures Analysis*, University of Göttingen, Germany. 1997.

⁵ Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* (1999) 32, 837. Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, 30, 565.

⁶ Despaigne, A.A.R.; Parrilha, G.L.; Izidoro, J.B.; da Costa, P.R.; dos Santos, R.G.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Rocha, W.R. and Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 50, 163.

aumento progressivo do ângulo diedro formado entre o anel fenila e o plano do esqueleto hidrazônico o qual vai de 29,34 ° em **6**, 36,80 ° em **7** até 48,40 ° em **8**. O aumento do volume dos substituintes assim como das interações intermoleculares poderiam explicar este fato. O anel imidazol encontra-se quase coplanar com o esqueleto hidrazônico, formando ângulos diedros de 4,01, 5,68 e 8,73° nos compostos **6**, **7** e **8** respectivamente.

Estes compostos apresentam ligação de hidrogênio intermolecular, entre o átomo de nitrogênio N(4)-H(4) de uma molécula e o átomo de nitrogênio N(1) de outra molécula (Tabela 3.8).

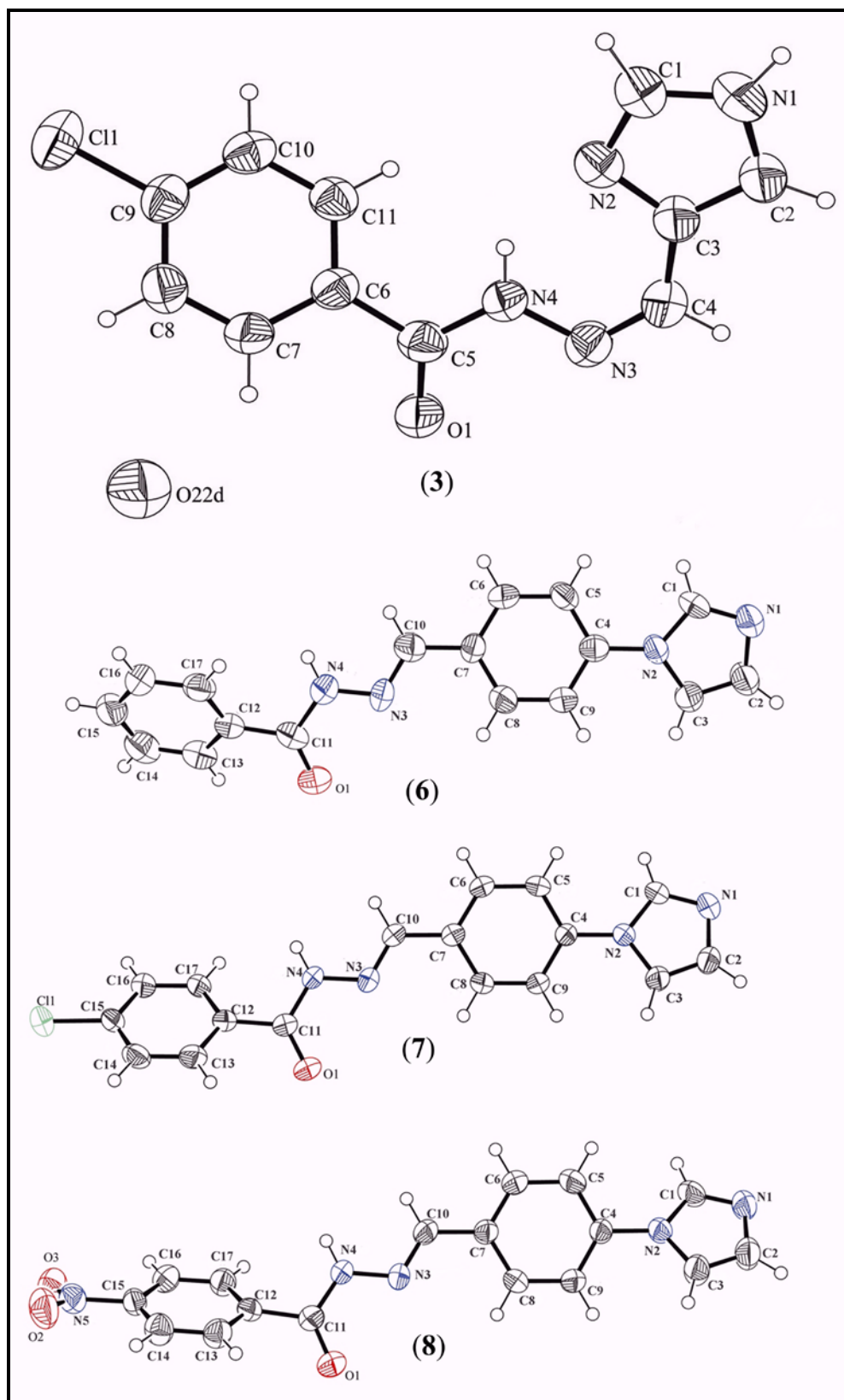


Figura 3.6 – Diagramas ORTEP das hidrazonas 4(5)ImpClPh (**3**), 4ImBzPh (**6**), 4ImBzpClPh (**7**) e 4ImBzpNO₂Ph (**8**).

Tabela 3.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para as hidrazonas 4(5)ImpClPh (**3**), 4ImBzPh (**6**), 4ImBzpClPh (**7**) e 4ImBzpNO₂Ph (**8**).

Compostos		3	6	7	8
Formula Empírica		C ₁₁ H ₉ ClN ₄ O ₂	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O	C ₁₇ H ₁₃ ClN ₄ O	C ₁₇ H ₁₃ N ₅ O ₃
Peso Molecular		264,67	290,32	324,76	335,32
Sistema Cristalino		monoclínico	monoclínico	monoclínico	monoclínico
Grupo Espacial		P2 ₁ /n	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
Dimensões da célula unitária	a, Å	3,797(5)	8,2352(7)	8,2223(9)	8,3380(4)
	b, Å	14,791(5)	19,9342(15)	20,3167(16)	20,0263(9)
	c, Å	21,238(5)	9,0910(9)	9,4160(10)	9,5716(4)
	α, °	90(5)	90	90	90
	β, °	92,163(5)	105,996(9)	108,679(12)	104,342(5)
	γ, °	90(5)	90	90	90
Volume, Å ³		1191,9(16)	1434,6(2)	1490,1(3)	1548,45(12)
Z, Densidade calc., Mg/m ³		4; 1,475	4; 1,344	4; 1,448	4; 1,438
Coefficiente de absorção, mm ⁻¹		2,864	0,088	0,266	0,103

(continua)

Tabela 3.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para as hidrazonas 4(5)ImpClPh (**3**), 4ImBzPh (**6**), 4ImBzpClPh (**7**) e 4ImBzpNO₂Ph (**8**). (continuação)

Compostos	3	6	7	8
F(000)	544	608	672	696
Dimensões do cristal, mm	-	0,36 x 0,34 x 0,28	0,37x 0,32x 0,30	0,30x 0,28x 0,26
θ Intervalo de coleta de dados	3,64 – 62,73	2,77 - 26,37	2,80 -26,37	2,72- 26,37
	-2<=h<=4	-10<=h<=10	-8<=h<=10	-10<=h<=10
Intervalos de hkl	-16<=k<=16	-20<=k<=24	-22<=k<=25	-25<=k<=19
	-24<=l<=24	-11<=l<=11	11<=l<=11	11<=l<=11
Reflexões coletadas	2379 / 2379	8232 / 2933	8389 / 3044	8896 / 3165
	[R(int) = 0,0000]	[R(int) = 0,0818]	[R(int) = 0,0218]	[R(int) =0,0521]
Completeza	96,3%	99,9 %	99,9 %	99,9
S	1,056	0,667	1,009	0,761
Dados / restrições / parâmetros	2379 / 0 / 171	2933 / 0 / 199	3044 / 0 / 208	3165 / 0 / 227
Índices finais R [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0665	R1 = 0,0398	R1 = 0,0347	R1 = 0,0410
	wR2 = 0,1845	wR2 = 0,0613	wR2 = 0,0922	wR2 = 0,0768
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0869	R1 = 0,1864	R1 = 0,0500	R1 = 0,1300
	wR2 = 0,2031	wR2 = 0,0772	wR2 = 0,0968	wR2 = 0,1452
$\Delta\rho$ max./min. (e Å ⁻³)	0,288 – 0,224	0,165 - 0,160	0,184 - 0,218	0,167 - 0,154

Tabela 3.7 – Distâncias de ligação [Å] e ângulos [°] selecionados das estruturas moleculares das hidrazonas 4(5)ImpClPh (**3**), 4ImBzPh (**6**), 4ImBz ρ ClPh (**7**) e 4ImBz ρ NO₂Ph (**8**).

Ligação	3	Ligação	6	7	8
C(3)-C(2)	1,372(6)	N(2)-C(3)	1,365(3)	1,3709(18)	1,369(2)
C(2)-N(1)	1,349(6)	C(3)-C(2)	1,336(3)	1,344(2)	1,340(3)
N(1)-C(1)	1,337(6)	C(2)-N(1)	1,366(3)	1,3698(19)	1,375(3)
C(1)-N(2)	1,309(6)	N(1)-C(1)	1,311(3)	1,3084(18)	1,300(2)
N(2)-C(3)	1,388(5)	C(1)-N(2)	1,355(3)	1,3586(18)	1,351(2)
-	-	N(2)-C(4)	1,416(3)	1,4255(16)	1,427(2)
C(3)-C(4)	1,434(6)	C(7)-C(10)	1,460(3)	1,4634(19)	1,458(3)
C(4)-N(3)	1,291(5)	C(10)-N(3)	1,295(3)	1,2718(19)	1,261(2)
N(3)-N(4)	1,374(4)	N(3)-N(4)	1,345(2)	1,3695(15)	1,373(2)
C(5)-N(4)	1,352(6)	C(11)-N(4)	1,376(3)	1,3577(17)	1,350(3)
C(5)-O(1)	1,218(5)	C(11)-O(1)	1,218(3)	1,2216(16)	1,218(2)
C(5)-C(6)	1,494(5)	C(11)-C(12)	1,485(3)	1,4930(18)	1,492(3)

Ângulos	3	Ângulos	6	7	8
C(5)-N(4)-N(3)	119.1(3)	N(3)-N(4)-C(11)	119,1(2)	117,78(11)	118,73(16)
N(4)-N(3)-C(4)	114.5(4)	N(4)-N(3)-C(10)	115,1(2)	117,23(11)	116,43(17)
N(4)-C(5)-C(6)	115.2(4)	N(4)-C(11)-C(12)	114,7(2)	116,14(12)	115,39(18)
N(4)-C(5)-O(1)	123.0(4)	N(4)-C(11)-O(1)	122,1(3)	122,59(13)	123,65(18)
C(6)-C(5)-O(1)	121.8(4)	C(12)-C(11)-O(1)	123,2(3)	121,25(13)	121,0(2)

Tabela 3.8 – Interações de hidrogênio [Å] e ângulos [°] das hidrazonas 4(5)ImpClPh (**3**), 4ImBzPh (**6**), 4ImBz ρ ClPh (**7**) e 4ImBz ρ NO₂Ph (**8**).

Compostos	D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D-H...A)	(D-H...A)
3	N(1)-H(1A)...O(1)#5	0,86	1,96	2,799(5)	164,4
	N(1)-H(1A)...N(3)#5	0,86	2,67	3,242(5)	125,4
	N(4)-H(4A)...N(2)	0,86	2,00	2,698(5)	137,0
6		0,86	2,25	3,075(3)	159,5
7	N(4)-H(4)...N(1)#1	0,86	2,30	3,1412(16)	166,9
8		0,86	2,24	3,093(2)	170,1

Códigos de simetria: #1 -x+1,y+1/2,-z+1/2; #2 -x+1,-y+1,-z+1; #3 x,y-1,z; #4 -x,-y+1,-z; #5 -x+2,y-1/2,-z+3/2.

3.2 – Ensaios biológicos

Os testes da atividade antimicrobiana foram feitos pelo método de macrodiluição e os testes de atividade antifúngica pelo método de microdiluição.

3.2.1 – Atividade antimicrobiana

3.2.1.1 – Método de macrodiluição

Os compostos foram testados contra as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), bactéria gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e o fungo *Candida albicans* (ATCC 10231 e 18804). A determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (2.3.1). Todas as hidrazonas se mostraram inativas frente a estes microorganismos.

3.2.2 – Atividade antifúngica

3.2.2.1 – Método de microdiluição

A atividade antifúngica das hidrazonas foi avaliada frente aos fungos *Candida glabrata* ATCC 2001 e *C. albicans* ATCC 18804, *Cladosporium cladosporioides* (LABB 6) e *Aspergillus flavus* (LABB 44). A determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (2.3.2). Os resultados dos testes biológicos estão apresentados na tabela 3.9.

Cinco hidrazonas não mostraram atividade frente aos quatro fungos testados. O composto **1** só apresentou atividade frente a *A. flavus* possuindo um estreito espectro de atividade. O composto **3** foi ativo contra todos os fungos testados mostrando os melhores resultados, com $MIC_{50} = 15,7$ e $7,8 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, contra *C. glabrata* e *C. cladosporioides*, respectivamente. Por outro lado, o composto **4**, substituído com o grupo *p*-NO₂Ph foi ativo contra o crescimento de todos os microorganismos testados, mostrando maior atividade do que o controle nistatina ($MIC_{50} = 1,05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) contra *C. glabrata* ($MIC_{50} < 0,9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e *C. cladosporioides* ($MIC_{50} = 1,6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). A presença do grupo *p*-NO₂Ph no composto **4** parece ser muito eficaz para aumentar tanto a atividade biológica como a eficácia dos compostos. Embora o composto **2** fosse ativo contra três dos fungos testados, foi contra *C. glabrata* que apresentou a maior atividade ($MIC_{50} < 1,2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). A atividade do composto **3** contra esse microrganismo foi menor, mas não menos importante ($MIC_{50} = 15,7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Desta forma, os substituintes: Ph, *p*-ClPh e *p*-NO₂Ph parecem estar ligados ao aumento da atividade dos compostos contra *C. glabrata*.

Tabela 3.9 –CIM₅₀ das hidrazonas derivadas do imidazol contra fungos fitopatogênicos e patogênicos humanos

Compostos	CIM ₅₀ (μmol·L ⁻¹)			
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>	<i>C. cladosporioides</i>
4(5)ImMe (1)	>1643	>1643	1643	>1643
4(5)ImPh (2)	<1,2	>1167	>1167	1167
4(5)ImpClPh (3)	15,7	1005,2	>1005,2	7,8
4(5)ImpNO ₂ Ph (4)	<0,9	>964,4	482,2	1,9
4ImBzMe (5)	>1095,2	>1095,2	>1095,2	>1095,2
4ImBzPh (6)	>861,1	>861,1	>861,1	>861,1
4ImBzpClPh (7)	769,8	>769,8	>769,8	>769,8
4ImBzpNO ₂ Ph (8)	>745,6	>745,6	>745,6	>745,6
4ImAcMe (9)	>1031,9	>1031,9	>1031,9	>1031,9
4ImAcPh (10)	>821,4	>821,4	>821,4	>821,4
4ImAcpClPh (11)	1,4	>737,9	>737,9	>737,9
4ImAcpNO ₂ Ph (12)	<0,68	>715,6	>715,6	>715,6
Nistatina	1,05	>269	>269	>269

Contra *C. albicans* só o composto **3** resultou ativo, porem sendo duas ou três vezes menos ativo que o controle. Entre a série de compostos estruturalmente relacionados **5-12**, apenas três deles (**7**, **11** e **12**) foram ativos, mas são todos consistentemente ativos contra a levedura *C. glabrata*, sugerindo um mecanismo seletivo de ação. A atividade dos compostos **11** e **12** foi muito alta em comparação com a atividade do composto **7**.

4 – HIDRAZONAS DERIVADAS DA PIRIDINA: NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS ANTITUMORAIS PARA TRATAMENTO DE GLIOMAS

Foram preparados dez hidrazonas derivadas de piridina usando o método de síntese descrito na seção 2.2.1. Os compostos são: 2-formilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2FopClPh) (**13**), 2-formilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2FopNO₂Ph) (**14**), 2-acetilpiridina acetilhidrazona (H2AcMe) (**15**), 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (H2AcPh) (**16**), 2-acetilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2AcpClPh) (**17**), 2-acetilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2AcpNO₂Ph) (**18**), 2-benzoilpiridina acetilhidrazona (H2BzMe) (**19**), 2-benzoilpiridina benzoilhidrazona (H2BzPh) (**20**), 2-benzoilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2BzpClPh) (**21**) e 2-benzoilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2BzpNO₂Ph) (**22**). A Figura 4.1 mostra as estruturas desses compostos.

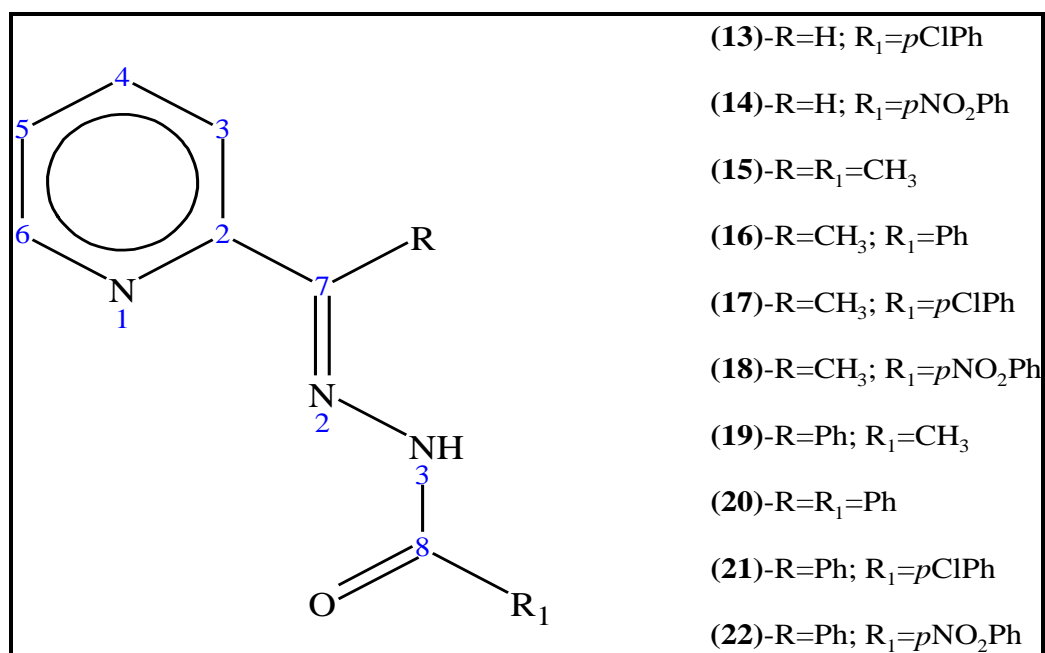


Figura 4.1 – Estrutura genérica das hidrazonas derivadas da piridina.

Os rendimentos das reações, temperaturas de fusão e massas molares dos compostos estão descritos na Tabela 4.1. Os rendimentos das reações foram satisfatórios.

Tabela 4.1 – Temperaturas de fusão, massas molares e rendimentos de reações para hidrazonas derivadas da piridina

Composto	Formula molecular	P.F (°C)	MM (g mol ⁻¹)	Rendimento (%)
H2FopClPh (13)	C ₁₃ H ₁₀ N ₃ OCl	172,0 -175,0	259,69	60
H2FopNO ₂ Ph (14)	C ₁₃ H ₁₀ N ₄ O ₃	218,0 -220,0	270,24	87
H2AcMe (15)	C ₉ H ₁₁ N ₃ O	160,3 -161,8	177,20	65
H2AcPh (16)	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O	147,4 -148,2	239,27	54
H2AcpClPh (17)	C ₁₄ H ₁₂ N ₃ OCl	167,0 -169,0	273,71	50
H2AcpNO ₂ Ph (18)	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₃	220,0 - 224,0	284,27	88
H2BzMe (19)	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O	96,8 - 99,3	239,27	36
H2BzPh (20)	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O	140,5 - 142,9	301,34	83
H2BzpClPh (21)	C ₁₉ H ₁₄ N ₃ OCl	166,3 -167,9	335,78	76
H2BzpNO ₂ Ph (22)	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₃	230,0 - 233,0	346,34	65

As atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C das hidrazonas encontram-se nas Tabelas 4.2 a 4.4. Os sinais de ¹H foram atribuídos tomando como base os deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento para o espectro de cada composto. Os carbonos C e CH foram atribuídos pelo experimento DEPT 135. As atribuições dos carbonos e hidrogênios foram feitas mediante experimentos de correlação 2D heteronuclear (HMQC) usando valores correspondentes a ¹J(C, H).

No caso das hidrazonas derivadas da 2-formil piridina, H2FopClPh (**13**) e H2FopNO₂Ph (**14**) os espectros foram feitos em DMSO-*d*₆. Só um sinal foi observado para os hidrogênios e carbonos de H2FopClPh (**13**) nos espectros de RMN ¹H e ¹³C. O sinal em δ 12,11 foi atribuído a N3-H em ligação de hidrogênio com o solvente (DMSO-*d*₆), característica de isômero na configuração *E*¹. Os sinais em δ 148,4 e δ 162,3 foram atribuídos aos carbonos C7=N e C8=O, respectivamente².

Nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C de H2FopNO₂Ph (**14**) os sinais de todos os hidrogênios e carbonos estão duplicados, indicando a existência de isômeros, nas configurações

¹Perez-Rebolledo, A.; Vieites, M.; Gambino, D.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Zani, C. L.; Souza-Fagundes, E. M.; Teixeira, L. R.; Batista, A. A.; Beraldo, H.; *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99, 698.

²Perez-Rebolledo, A., Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Teixeira, L.R.; Batista, A.A.; Beraldo, H.; *J. Mol. Struct.* **2006**, 18, 794.

E e *Z* na solução¹ (ver Figuras 4.2 e 4.3), encontrando-se o isômero *E* em maior proporção (80%). De fato, dois sinais de N3-H são observados, em δ 15,83 e δ 12,33, e foram atribuídos aos isômeros *Z* e *E*, respectivamente. No primeiro caso, N3-H, encontra-se ligado ao nitrogênio da piridina, enquanto que no segundo N(3)-H se encontra ligado ao solvente^{1,3,4,5,6,7}. De maneira similar os sinais de C8=O em δ 182,9 e δ 161,7 são atribuídos aos isômeros *Z* e *E*. Os valores altos de frequências para os sinais N3-H e C8=O são devidos à presença da ligação de hidrogênio N3-H \cdots N_{py} no isômero *Z*⁸.

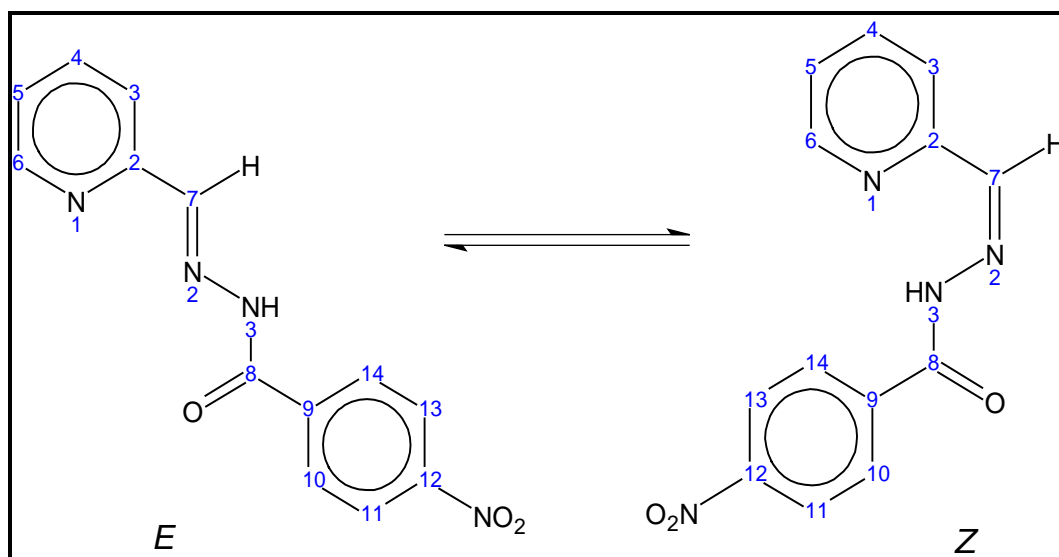


Figura 4.2 – Isômeros configuracionais *Z* e *E* de H₂FopNO₂Ph (**14**)

³ Bastos, A.M.B.; Alcântara, A.F.C.; Beraldo, H.; *Tetrahedron*. **2005**, 61, 7045.

⁴ Pérez-Rebolledo, A.; de Lima, G.M.; Speziali, N.L.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Ardisson, J.D.; Beraldo, H.; *J. Organomet. Chem.* **2006**, 691, 3919.

⁵ Rebolledo, A.P.; de Lima, G.M.; Gambi, L.N.; Speziali, N.L.; Maia, D.F.; Pinheiro, C.B.; Ardisson, J.D.; Cortés, M.E.; Beraldo, H.; *Appl. Organometal. Chem.* **2003**, 17, 945.

⁶ Costa, R.F.F.; Rebolledo, A.P.; Matencio, T.; Callado, H.D.R.; Ardisson, J.D.; Cortés, M.E.; Rodrigues, B.L.; Beraldo, H.; *J. Coord. Chem.* **2005**, 58, 1307.

⁷ Mendes, I. C.; Moreira, J.P.; Mangrich, A.S.; Balena, S.P.; Rodrigues, B.L.; Beraldo, H.; *Polyhedron*. **2007**, 26, 3263.

⁸ Recio-Despaigne, A. A.; da Silva, J. G.; do Carmo, A. C. M.; Sives, F.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Polyhedron*. **2009**, 28, 3797.

Tabela 4.2 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H , ^{13}C e Dept 135 das hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina (DMSO- d_6)

Atribuições	Nº	H2FopClPh (13)	H2FopNO ₂ Ph (14)	
			Z	E
H3	1	7,96(d)	-	8,01(d)
H4	1	7,88(t)	7,99(t)	7,91(t)
H5	1	7,42(t)	7,63(t)	7,45(t)
H6	1	8,62(d)	8,92(d)	8,64(d)
H7	1	8,48(s)	-	8,50(s)
H(10,14)	2	7,96(d) [7,53]	-	8,17(d) [8,57]
H(11,13)	2	7,62(d) [8,26]	-	8,39(d) [8,61]
N3-H	1	12,11(s)	15,83(s)	12,33(s)
C2	1	153,08	-	152,90
C3	1	119,88	-	120,01
C4	1	136,81	138,83	136,90
C5	1	124,40	-	124,60
C6	1	148,28	149,64	149,05
C7=N	1	149,45	-	149,53
C8=O	1	162,23	182,87	161,69
C9	1	131,80	-	138,74
C(10,14)	2	129,58	128,82	129,20
C(11,13)	2	128,56	124,71	123,70
C12	1	136,74	-	149,31

[]: constante de acoplamento, em Hz.

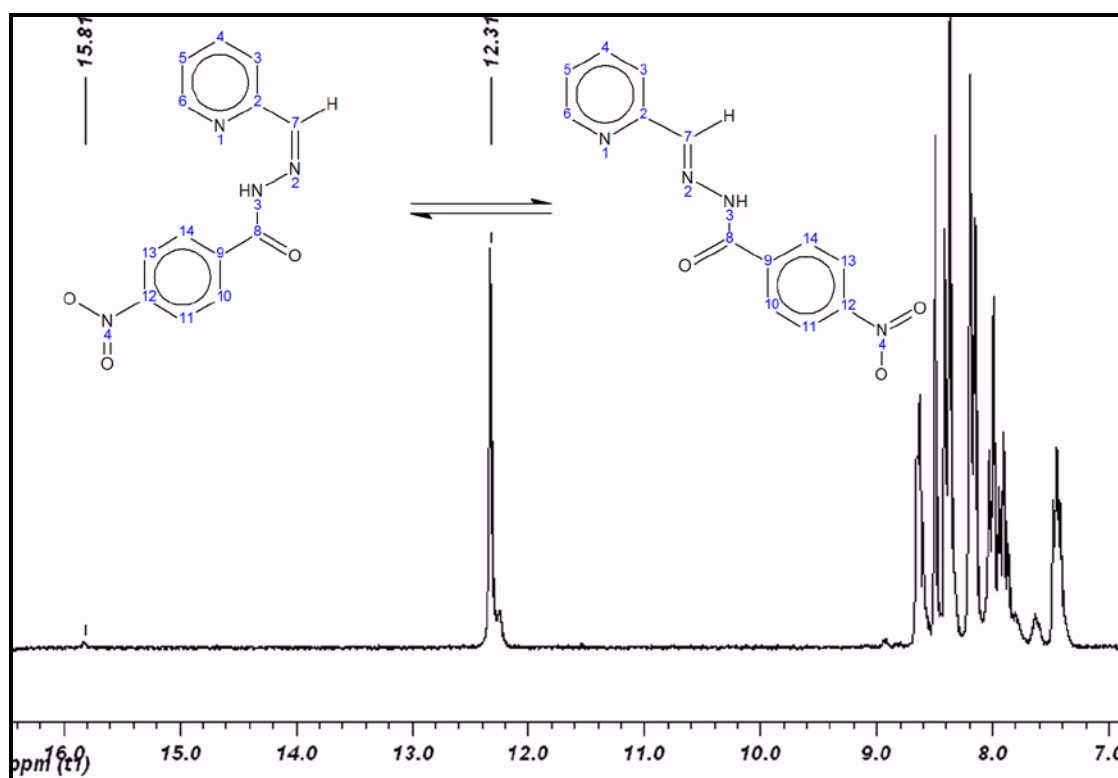


Figura 4.3 – Espectro de RMN ^1H de $\text{H}_2\text{FopNO}_2\text{Ph}$ (**14**) em $\text{DMSO-}d_6$.

Os espectros de ^1H e ^{13}C RMN das hidrazonas derivadas da 2-acetilpiridina: H_2AcMe (**15**), H_2AcPh (**16**), $\text{H}_2\text{Ac}p\text{ClPh}$ (**17**) e $\text{H}_2\text{Ac}p\text{NO}_2\text{Ph}$ (**18**), foram feitos em $\text{DMSO-}d_6$ e CDCl_3 , à exceção do composto **6** que é insolúvel em CDCl_3 .

O composto **15** mostrou apenas um sinal nos espectros de RMN nos dois solventes. O sinal de N(3)-H observado em δ 10,61 ($\text{DMSO-}d_6$) e δ 8,95 (CDCl_3) sugere que ele encontra-se na forma *E* nas duas soluções (Tabela 4.4).

O espectro de RMN do composto **16** em CDCl_3 mostrou apenas um sinal para cada hidrogênio e carbono, indicando a presença de um só isômero configuracional. O sinal de N3-H foi observado em δ 9,22, sugerindo a presença do isômero *E*. Outro espectro feito 24 h depois do preparo da amostra e não apresentou alterações nos sinais em comparação ao primeiro indicando e estável nas condições do análise. No espectro de **16** realizado em $\text{DMSO-}d_6$ dois sinais para cada hidrogênio e carbono foram observados, em concordância com a presença dos isômeros *E* e *Z* na solução⁹. Os sinais de N(3)-H em δ 10,90 e δ 15,80 foram atribuídos aos isômeros *E* e *Z* respectivamente (97% de *E* e 3% de *Z*). A alta frequência do sinal no isômero *Z* é característica da ligação de hidrogênio de N(3)-H como nitrogênio da piridina, o que foi observado em trabalhos anteriores^{8,9,10}.

⁹ Recio-Despaigne, A. A.; Vieira, L. F.; Mendes, I. C.; Da Costa, F. B.; Speziali, N. L.; Beraldo, H.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, 21, 1247.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de H2Ac p ClPh (**17**) em DMSO- d_6 mostram sinais duplicados para cada hidrogênio e carbono, em concordância com a presença de dois isômeros configuracionais (Figura 4.5). Os sinais em δ 10,96 e δ 15,86 foram atribuídos aos isômeros *E* (98%) e *Z* (2%), respectivamente^{8,9}. Devido à proporção do isômero *Z* na solução, só foi possível efetuar atribuição para alguns sinais de hidrogênio.

O espectro do composto H2Ac p ClPh (**17**) em CDCl_3 também mostrou sinais duplicados, mas neste caso o espectro mostra características da presença do equilíbrio ceto-enol¹⁰ (Figura 4.4). De fato o sinal de N(3)-H não é observado para um dos isômeros, que se encontra na forma enol. Além disso, o sinal de C-O é observado em δ 167,44. A semelhança da posição dos sinais dos carbonos do composto **17** com o composto H2AcPh (**16**) no mesmo solvente sugere que o isômero enol está na forma *E*. Como exemplo, o sinal de C15 (acetil) foi observado em δ 11,36 para **17** e em δ 10,89 para o isômero *E* de **16** no mesmo solvente. O isômero ceto exibe o sinal de N(3)-H em δ 15,83, característico da configuração *Z*, e um sinal para C=O em δ 163,40 (Figuras 4.5 e 4.6).

Nos espectros de H2Ac p NO $_2$ Ph (**18**) em DMSO- d_6 apenas um sinal foi observado para hidrogênio e carbono. O sinal de N(3)-H foi identificado em δ 11,22 sugerindo a presença do isômero configuracional *E*, onde N(3)-H encontra-se ligado por ligação de hidrogênio ao solvente.

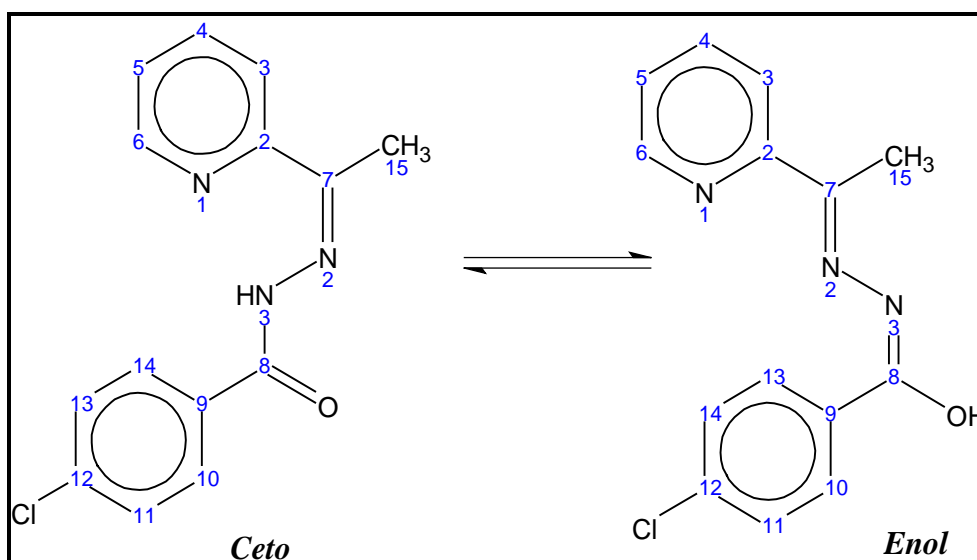


Figura 4.4 – Equilíbrio tautomérico ceto-enol de H2Ac p ClPh (**17**) em CDCl_3

¹⁰ Ray, A.; Banerjee, S.; Sen, S.; Butcher, R. J.; Rosair, G. M.; Garland, M. T.; Mitra, S.; *Struct. Chem.* **2008**, 19, 209.

Tabela 4.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina

Atribuições	Nº	H2AcMe (15)	H2AcMe (15)	H2AcPh (16)	H2AcPh (16)		H2AcpClPh (17)		H2AcpClPh (17)		H2AcpNO ₂ Ph (18)
		DMSO- <i>d</i> ₆	CDCl ₃	CDCl ₃	DMSO- <i>d</i> ₆	DMSO- <i>d</i> ₆	CDCl ₃	CDCl ₃	DMSO- <i>d</i> ₆	DMSO- <i>d</i> ₆	DMSO- <i>d</i> ₆
		<i>E</i>	<i>E</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	Enol(<i>E</i>)	Ceto(<i>Z</i>)	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>E</i>
H3	1	8,05(d)	8,05(d)	7,87(d)	7,86(m)	8,14(m)	7,66(m)	7,72(m)	-	8,10(m)	8,16(d)
H4	1	7,83(t)	7,69(t)	7,66(t)	8,12(m)	7,85(m)	7,94(m)	7,72(m)	-	7,84(m)	7,91(t)
H5	1	7,39(t)	7,26(t)	7,25(m)	7,61(m)	7,42(m)	7,26(m)	7,44(m)	-	7,43(t)	7,47(t)
H6	1	8,59(d)	8,58(d)	8,56(d)	8,91(d)	8,66(d)	8,58(d)	8,73(d)	8,92(d)	8,62(d)	8,64(d)
N3-H	1	10,61(s)	8,95(s)	9,22(s)	15,80(s)	10,90(s)	-	15,83(s)	15,86(s)	10,96(s)	11,21(s)
C(9)H ₃	3	2,28(s)	2,36(s)	-	-	-	-	-	-	-	-
H(10,14)	2	-	-	7,87(d) [6,77]	7,93(m)*		7,92(d) [8,42]		-	7,92(m)*	8,19(d) [8,32]
H(11,13)	2	-	-	7,47(d) [7,37]	7,54(d) [7,42]		7,45(m)*		-	7,60(d) [8,41]	8,38(d) [8,58]
H12	1	-	-	7,47(m)*	7,61(m)*		-		-	-	-
C(15)H ₃	3	2,33(s)	2,41(s)	2,47(s)	2,49(s)	2,46(s)	2,48(s)	2,55(s)	-	2,47(s)	2,50(s)

[]:Constante de acoplamento

(continua)

*:Desdobramento padrão, no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Tabela 4.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina (continuação)

Atribuições	Nº	H2AcMe (15)	H2AcMe (15)	H2AcPh (16)	H2AcPh (16)		H2AcPhClPh (17)		H2AcPhClPh (17)	H2AcPhNO ₂ Ph (18)
		DMSO- <i>d</i> ₆	CDCl ₃	CDCl ₃	DMSO- <i>d</i> ₆	<i>Z</i>	<i>E</i>	Enol (<i>E</i>)	Ceto (<i>Z</i>)	DMSO- <i>d</i> ₆
		<i>E</i>	<i>E</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>			<i>E</i>	<i>E</i>
C2	1	147,50	148,40	144,99	144,60	143,43	144,63	143,58	144,35	149,10
C3	1	123,70	123,57	121,15	124,75	120,25	124,30	128,34	120,22	120,43
C4	1	136,51	136,09	136,24	138,63	136,49	136,33	138,05	136,52	136,61
C5	1	119,75	120,14	123,90	124,70	123,98	124,19	124,02	124,25	124,25
C6	1	148,50	148,49	148,39	147,68	148,52	148,52	147,30	148,53	148,57
C7=N	1	155,12	155,17	154,83	152,43	155,04	154,74	153,40	154,91	154,76
C8=O	1	172,97	173,85	163,12	164,00	162,47	167,44	163,40	163,14	162,69
C9	1	20,84	20,56	131,90	131,93	131,46	131,06	132,30	132,53	134,06
C(10,14)	2	-	-	127,24	128,15		128,94		129,98	129,52
C(11,13)	2	-	-	128,60	128,15		128,92		128,19	123,30
C12	1	-	-	133,26	133,28	133,87	138,02		138,13	139,61
C15	1	11,74	10,86	10,89	12,43	22,07	11,36	22,56	12,57	12,82

[]: Constante de acoplamento

*: Desdobramento padrão, no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

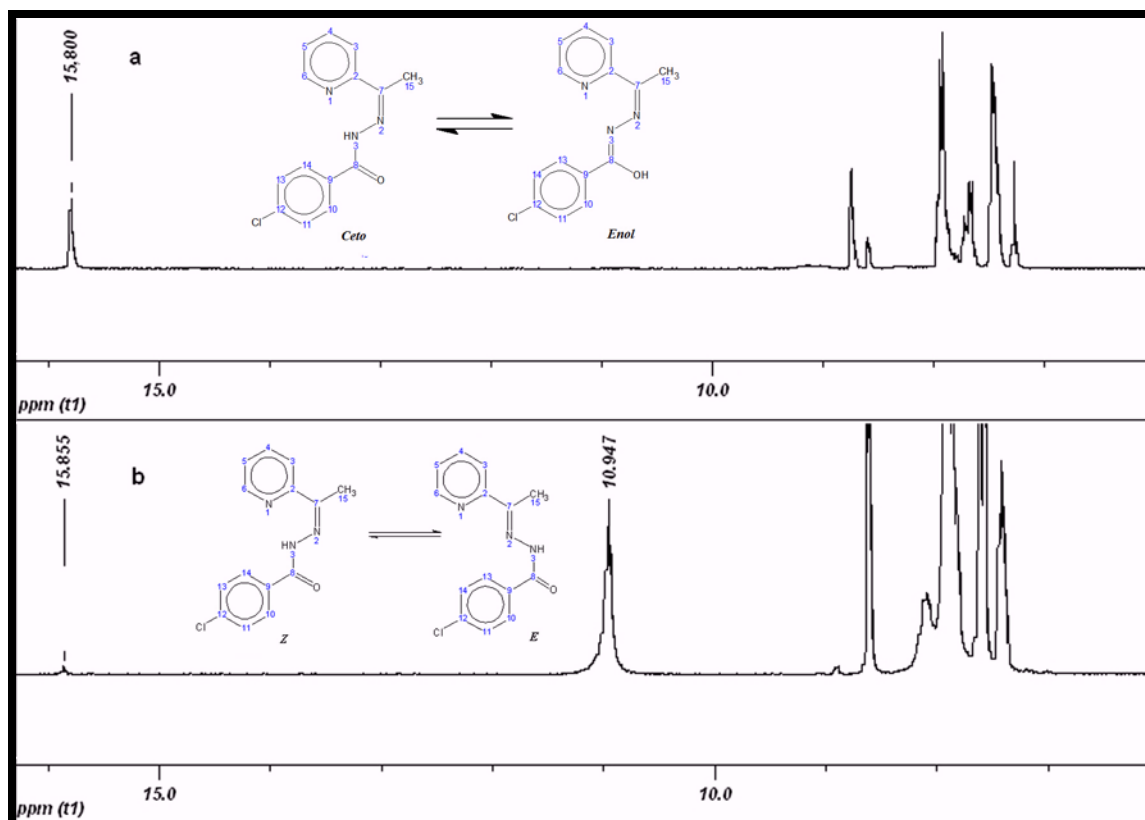


Figura 4.5 – Espectro de RMN de ^1H do composto H2AcpClPh (17): a) em CDCl_3 , b) em $\text{DMSO}-d_6$

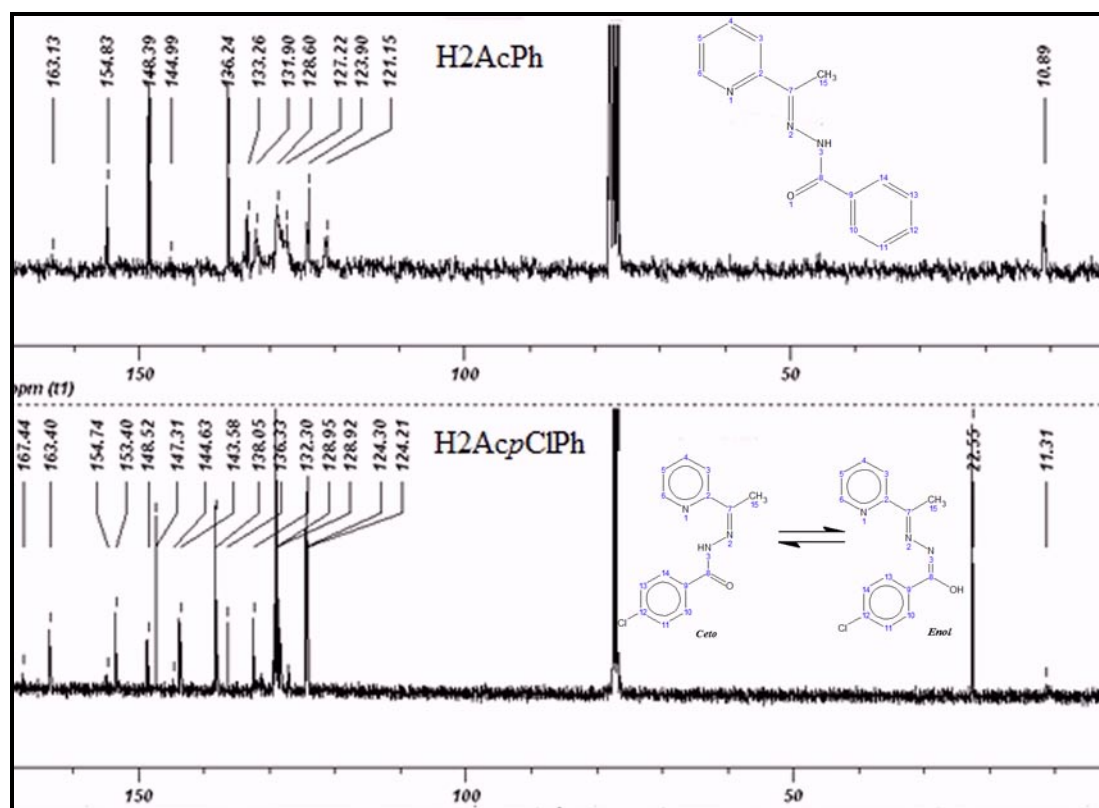


Figura 4.6 – Espectro de RMN ^{13}C das hidrazonas H2AcPh (16) e H2AcpClPh (17) em CDCl_3

Os espectros das hidrazonas da 2-benzoilpiridina (**19-22**) foram feitos em CDCl₃ e DMSO-*d*₆, exceto para o composto H2BzpNO₂Ph (**22**) que não foi solúvel em DMSO-*d*₆ (Tabela 4.5). Em todas as hidrazonas os sinais dos hidrogênios estão duplicados em DMSO-*d*₆, indicando a presença de duas formas isoméricas. Dois sinais são observados para N(3)-H entre δ 14-15 e δ 10-12, sugerindo a existência dos isômeros configuracionais *Z* e *E* (Tabela 4.5). No primeiro caso N(3)-H encontra-se ligado ao átomo de nitrogênio da piridina e no segundo ao solvente^{1,11, 12}.

Nos espectros de RMN ¹H dos compostos H2BzMe (**7**) e H2BzpClPh (**9**) em CDCl₃, os sinais de todos os hidrogênios estão duplicados. Os sinais de N(3)-H em δ 15,21 e δ 13,85 foram atribuídos aos isômeros *Z* e os sinais em δ 12,77 e δ 13,18 aos isômeros *E*, respectivamente. Para H2BzPh (**20**) e H2BzpNO₂Ph (**22**) apenas um sinal é observado para cada hidrogênio em CDCl₃, sugerindo a existência de uma forma isomérica. O sinal para N(3)-H de δ 15,12 e δ 15,50 é característico do isômero *Z*.

Os espectros de RMN ¹³C dos compostos H2BzPh (**20**), em DMSO-*d*₆, H2BzMe (**19**) e H2BzpClPh (**21**) em CDCl₃ também mostram sinais duplicados para quase todos os carbonos. Os compostos H2BzPh (**20**) e H2BzpNO₂Ph (**22**), em CDCl₃ apresentam um sinal para cada carbono, em concordância com o isômero *Z*.

Na Figura 4.7 encontram-se ilustrados os espectros de HMQC de H2BzPh (**20**) nos solventes CDCl₃ e DMSO-*d*₆, respectivamente. Observa-se a presença de um isômero no primeiro solvente e de dois no segundo. Isto é esperado devido ao DMSO-*d*₆ que favorece a formação de ligações de hidrogênio em solução.

No composto **7** o isômero *E* encontra-se em maior proporção, em uma relação 10:1 em CDCl₃. Nos outros casos predomina o isômero *Z* em uma proporção 10:3,2 e 10:1,2, para **19** e **20**, em DMSO-*d*₆, respectivamente; assim como 10: 1,6 e 10: 0,5 no composto **21**, em DMSO-*d*₆ e CDCl₃, respectivamente.

¹¹ Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *J. Molec. Struct.* **2009**, 97, 920.

¹² Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Inorg. Chim. Acta.* **2009**, 362, 2117.

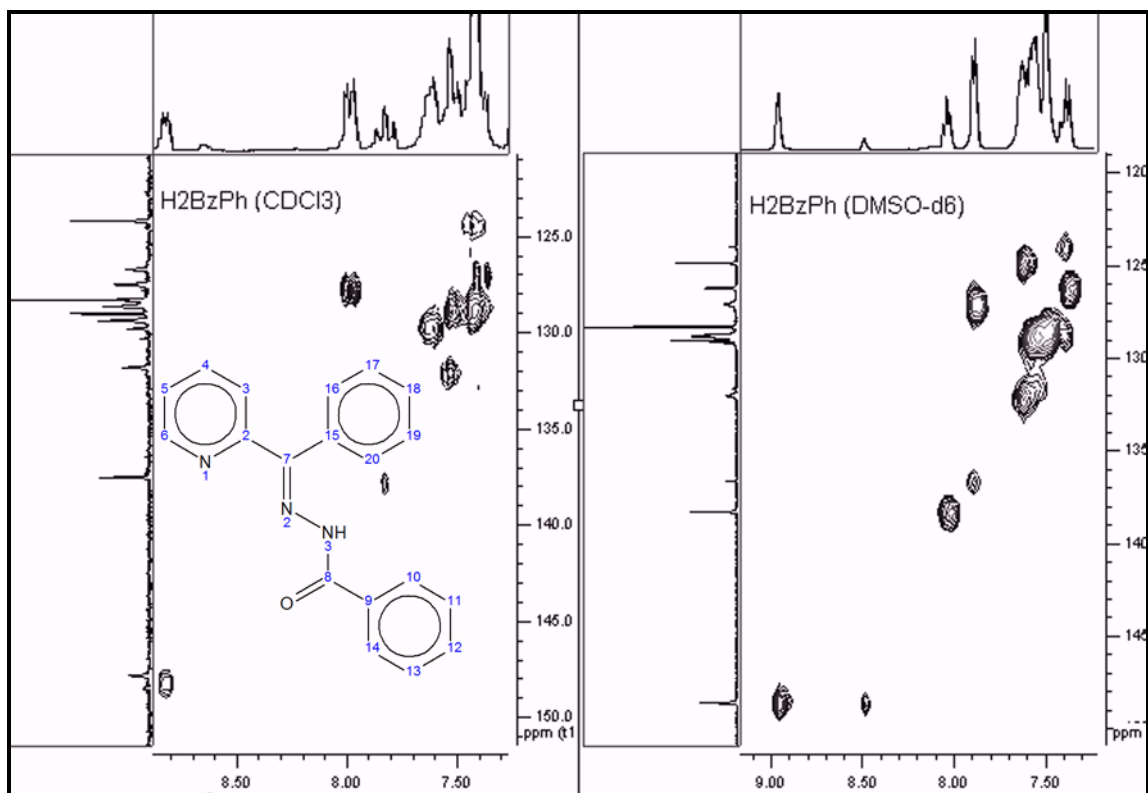


Figura 4.7 – Espectros de HMQC do composto H2BzPh (**20**) em CDCl₃ (esquerda) e DMSO-*d*₆(direita).

Tabela 4.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina

Atribuições	N ^o	H2BzMe (19) DMSO- <i>d</i> ₆		H2BzMe (19) CDCl ₃		H2BzPh (20) DMSO- <i>d</i> ₆		H2BzPh (20) CDCl ₃	H2BzpClPh (21) DMSO- <i>d</i> ₆		H2BzpClPh (21) CDCl ₃		H2BzpNO ₂ Ph (22) CDCl ₃
		<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>		<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	
H3	1	7,60(m)	-	7,39(m)	8,00(d)	7,62(m)	7,89(d)	7,98(d)	7,64(m)	-	7,61(m)	7,92(d)	8,32(m)
H4	1	7,99(t)	-	7,71(m)	7,78(m)	8,03(t)	7,90(t)	7,81(t)	8,05(t)	7,91(m)	7,83(t)	7,83(t)	7,87(t)
H5	1	7,46(m)	-	7,36(m)	7,29(m)	7,40(m)	7,37(m)	7,42(m)	7,38(m)	-	7,60(m)	7,38(m)	7,45(m)
H6	1	8,84(d)	-	8,76(d)	8,57(d)	8,95(d)	8,48(d)	8,82(d)	8,97(d)	8,48(d)	8,81(d)	8,54(d)	8,83(d)
N3-H	1	12,33(s)	11,99(s)	13,85(s)	12,77(s)	14,72(s)	10,15(s)	15,12(s)	14,75(s)	10,37(s)	15,21(s)	13,18(s)	15,46(s)
C(9)H ₃	3	2,26	1,98	2,48(s)	2,37(s)	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	1	151,40	151,71	152,33	154,56	151,75	155,10	153,03	151,73	-	153,01	-	153,05
C3	1	124,56	124,46	123,99	121,64	127,11	124,93	127,50	124,92	124,05	126,15	124,33	124,24
C4	1	137,96	137,73	137,23	136,99	138,32	136,68	137,57	138,37	136,72	137,61	136,42	137,90
C5	1	125,62	125,28	125,82	123,80	126,29	123,99	124,19	126,27	125,97	126,88	124,50	124,62
C6	1	148,97	149,41	148,83	148,66	148,71	148,53	147,82	148,78	148,66	149,08	147,77	147,81
C7=N	1	144,37		144,33	146,99	148,07	-	147,89	148,56	-	148,26	148,54	149,86
C8=O	1	172,65	166,27	174,33	172,92	162,87	-	164,29	161,93	-	163,28	-	162,41
C9	1	2,27	1,98	20,57	19,92	133,11	133,36	133,75	131,95	132,28	132,26	132,90	137,34
C12	1	-	-	-	-	132,01	131,64	131,82	137,29	-	137,66	138,14	149,25
C15	1	137,34		137,71	137,48	137,37		137,67	136,80	-	137,61	137,04	139,50

As principais bandas nos espectros de infravermelho das hidrazonas encontram-se na Tabela 4.5. As bandas que normalmente são mais afetadas pela coordenação aos metais são aquelas referentes a $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{C}=\text{O})$.

Tabela 4.5 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) de hidrazonas derivadas de piridina

Compostos	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	$\rho(\text{py})$
H2FopClPh (13)	3175	1651	1592	618
H2FopNO ₂ Ph (14)	3227	1663	1601	618
H2AcMe (15)	3193	1681	1618	624
H2AcPh (16)	3181	1655	1616	620
H2AcpClPh (17)	3287	1659	1607	623
H2AcpNO ₂ Ph (18)	3188	1675	1601	619
H2BzMe (19)	3054	1663	1587	619
H2BzPh (20)	3063	1687	1601	614
H2BzpClPh (21)	3064	1686	1603	615
H2BzpNO ₂ Ph (22)	3105	1680	1592	615

4.1 – Estruturas cristalográficas

As estruturas cristalinas e moleculares das hidrazonas **13**, **15**, **19**, **21** e **22** (Figura 4.8 e 4.9) foram determinadas a partir dos monocristais obtidos por evaporação lenta em etanol. Os parâmetros cristalográficos destes compostos encontram-se na Tabela 4.6.

Os compostos **13** e **15** apresentam-se nos sistemas cristalinos ortorrômbico (Pbca) e monoclinico (P2₁/c) com oito e quatro moléculas por cela unitária, (Z=8) e (Z=4), respectivamente. Eles encontram-se na forma *E* no cristal, em concordância com os dados de RMN que mostram maior proporção em solução desse isômero.

Os valores das distâncias C8=O e C7-N2 de 1,225(2) e 1,266(2) Å para **13**, e de 1,235(3) e 1,281(2) Å para **15** são característicos de ligação dupla. A ligação N2-N3 tem o mesmo valor 1,376(2) Å para os dois compostos, indicando a presença de uma ligação simples (Tabela 4.7 e Figura 4.8).

A conformação destes compostos é estabilizada por uma forte ligação N-H...O intermolecular [$d(\text{N3}\cdots\text{O1}^*) = 2,904(2) \text{ \AA}$, $\angle(\text{N3-H}\cdots\text{O1}^*) = 163,1^\circ$] para H2FopClPh (**13**), e [$d(\text{N3}\cdots\text{O1}^{**}) = 2,982(2) \text{ \AA}$, $\angle(\text{N3-H}\cdots\text{O1}^{**}) = 163,2^\circ$] para H2AcMe (**15**).

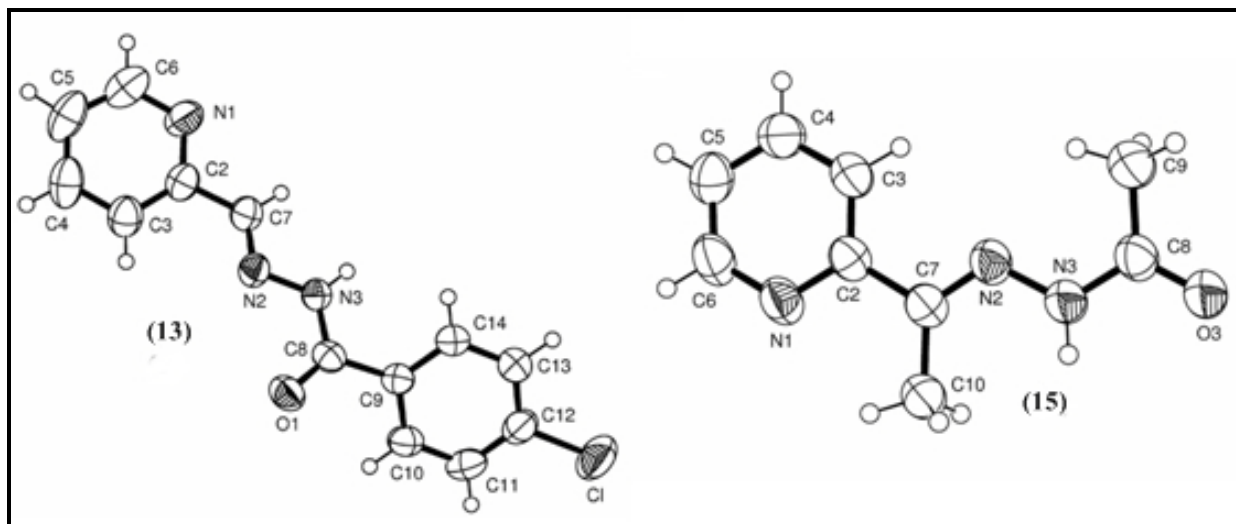


Figura 4.8 – Diagramas ORTEP das estruturas de H2FopClPh (**13**) e H2AcMe (**15**)

Nas hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina, o composto **21** está no sistema cristalino triclinico (P-1), com duas moléculas por cela unitária ($Z=2$), enquanto que **19** e **22** encontram-se nos sistemas ortorrômbico ($Pna2_1$) e monoclinico ($P2_1/a$) com quatro moléculas por célula unitária ($Z=4$), respectivamente (Tabela 4.6). As distâncias e ângulos das ligações não mostram diferenças significativas para esses compostos (Tabela 4.7). Os três compostos apresentam conformações similares, encontrando-se na forma *Z* no cristal, ver Figura 4.9. Este resultado é compatível com o determinado por RMN onde o isômero *Z* está em maior proporção em solução. Os valores das distâncias C8=O1 e C7=N2 são de 1,217(2) e 1,286 Å para **19**, 1,215(2) e 1,302(2) Å para **21** e 1,214(2) e 1,297(2) Å no composto **22**, valores esperados para dupla ligações. O valor do comprimento de N2-N3 é de 1,369(2) para os três compostos, de acordo com o caráter simples dessa ligação.

Os valores 120,2°(2) e 119,0°(2) para os ângulos C(7)-N(2)-N(3) e O(1)-C(8)-N(3) no composto **19** são diferentes dos observados nos outros compostos da série, cujos valores são 117,7°(2) e 124,3°(2) para **21** e 117,5°(2) e 124,1°(2) em **22**, respectivamente. Estas diferenças se devem à presença de um grupo metila ligado ao carbono C(8) na hidrazona **19** e de grupos fenila nos outros compostos.

A conformação destas moléculas é estabilizada por uma forte ligação N-H...N intramolecular [$d(\text{N3}\cdots\text{N1}) = 2,677(2) \text{ \AA}$, $\angle(\text{N3-H}\cdots\text{N1}) = 133,1^\circ$ para H2BzMe (**19**), 131,6° para

H2BzpClPh (**21**) e 135,3° para H2BzpNO₂Ph (**22**)] (Tabela 4.8). O esqueleto N_{Py}-C7=N2-(N3H)-(C8=O1) é quase planar com desvio médio quadrático para os átomos do esqueleto de 0,176 Å em **21** e 0,102 Å em **22**^{11,13}.

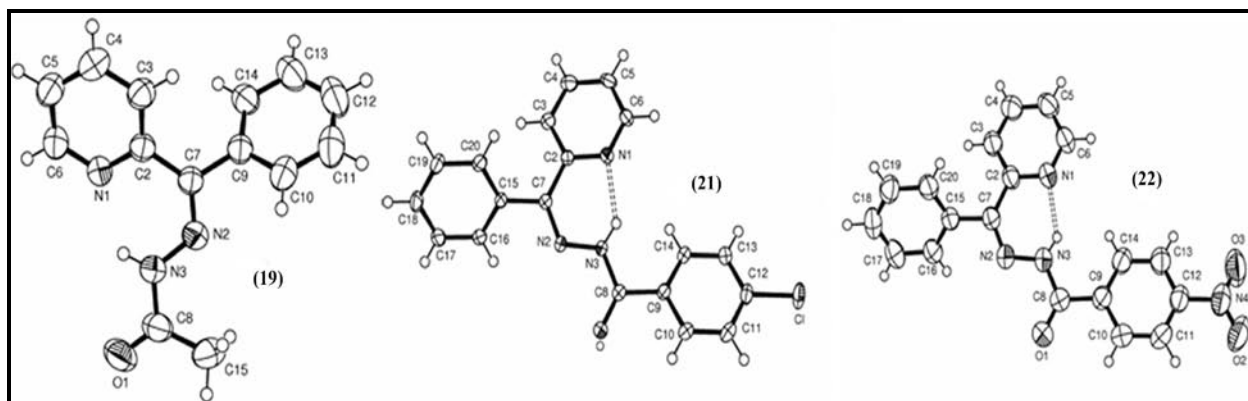


Figura 4.9 – Diagramas ORTEP das estruturas de H2BzMe (**19**), H2BzpClPh (**21**) e H2BzpNO₂Ph (**22**).

Tabela 4.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento das hidrazonas

Compostos	(13)	(15)	(19)	(21)	(22)	
Formula Empírica	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₃ O	C ₉ H ₁₁ N ₃ O	C ₁₄ H ₁₃ N ₄ O	C ₁₉ H ₁₄ ClN ₃ O	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₃	
Formula Molecular	259,69	177,20	239,27	335,78	346,34	
Sistema Cristalino	Ortorrômbico	Monoclínico	Ortorrômbico	Triclínico	Monoclínico	
Grupo Espacial	Pbca	P 2 ₁ /c	Pna2 ₁	P-1	P 2 ₁ /a	
Dimensões da célula unitária	a(Å)	10,3547(3)	3,9946(2)	7,7909(4)	8,680(1)	13,9890(1)
	b, Å	7,7494(2)	12,4528(8)	15,285(1)	8,844(1)	7,4240(10)
	c, Å	30,5063(9)	18,184(1)	10,6247(4)	11,376(2)	15,680(2)
	α, °	90	90	90	78,73(1)	90
	β, °	90	94,525(4)	90	88,12(1)	92,610(10)
γ, °	90	90	90	69,99(2)	90	
Volume, Å ³	2447,91	901,725	1265,2	804,20	1626,7	
Z, Densidade calc., Mg/m ³	8; 1,409	4; 1,099	4; 1,256	2; 1,387	4; 1,414	
Coefficiente de absorção, mm ⁻¹	0,302	0,099	0,082	0,248	0,099	
F(000)	1072	708	504	348	720	
θ Intervalo de coleção de dados, °	3,32-25,99	2,80-25,50	3,51-26,00	2,79-26,00	2,92-25,02	
Intervalos de hkl	-12 ≤ h ≤ 8,	-14 ≤ h ≤ 14	-9 ≤ h ≤ 9,	-10 ≤ h ≤ 10	-16 ≤ h ≤ 14	
	-9 ≤ k ≤ 9,	-8 ≤ k ≤ 8,	-18 ≤ k ≤ 18,	-10 ≤ k ≤ 10,	-7 ≤ k ≤ 8,	
	-37 ≤ l ≤ 30	-18 ≤ l ≤ 18	-13 ≤ l ≤ 13	-14 ≤ l ≤ 14	-18 ≤ l ≤ 18	

(continua)

¹³Recio Despaigne, A.A.; Parrilha, G.L.; Izidoro, J.B.; da Costa, P.R.; dos Santos, R.G.; Piro, O.E.; Castellano, E.E; Roch, W.R.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 50, 163.

Tabela 4.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento das hidrazonas (continuação).

Compostos	(13)	(15)	(19)	(21)	(22)
Correção da absorção	None	None	None	None	None
Max. e min. transm.	0,967-0,923	0,9825-0,9662	0,990–0,984	-	0,9853-0,9671
S	0,994	1,050	1,045	1,082	1,077
Dados / restrições / parâmetros	2395/0/163	1676/0/120	1303/1/165	3097/0/217	2797/0/236
R1(obs.), R(todos)e	0,0410	0,0637	0,0369	0,0596	0,0553
	0,0812	0,0828	0,1009	0,0631	0,0665
wR2(obs.),	0,0994	0,0996	0,0424	0,1590	0,1513
wR2(todos)e	0,1147	0,1695	0,1067	0,1636	0,1658
Coeficiente de extinção	-	-	0,07(1)	-	0,21(3)

Tabela 4.7 – Distância de ligação [Å] e ângulos [°] selecionados das estruturas moleculares das hidrazonas.

Ligação	13	15	19	21	22
C(2)-N(1)	1,334(2)	1,331(2)	1,351(3)	1,353(2)	1,353(2)
C(2)-C(7)	1,469(2)	1,493(2)	1,488(3)	1,484(2)	1,489(2)
C(6)-N(1)	1,338(2)	1,342(3)	1,337(3)	1,339(2)	1,335(2)
C(7)-N(2)	1,266(2)	1,281(2)	1,286(3)	1,302(2)	1,296(2)
N(2)-N(3)	1,376(2)	1,376(2)	1,369(3)	1,369(2)	1,369(2)
C(8)-O(1)	1,225(2)	1,235(3)	1,217(3)	1,215(2)	1,212(2)
C(8)-N(3)	1,347(2)	1,345(2)	1,361(3)	1,366(2)	1,360(2)
Ângulo					
N(1)-C(2)-C(7)	114,8(2)	116,8(2)	117,8(2)	118,3(2)	118,0(2)
N(2)-C(7)-C(2)	120,5(2)	114,9(2)	126,7(2)	127,2(2)	128,0(2)
O(1)-C(8)-N(3)	122,9(2)	119,5(2)	119,0(2)	124,3(2)	124,1(2)
C(7)-N(2)-N(3)	115,8(2)	118,4(2)	120,2(2)	117,7(2)	117,9(2)
C(8)-N(3)-N(2)	119,4(2)	120,2(2)	120,4(2)	119,7(2)	119,6(2)

Tabela 4.8 – Interações de hidrogênio [Å] e ângulos [°] das hidrazonas H2FopClPh (13), H2AcMe (15), H2BzMe (19), H2BzpClPh (21) e H2BzpNO₂Ph (22).

Compostos	D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D-H...A)	(D-H...A)
13	N(3)-H...O(1)*	0,860(2)	2,106(2)	2,904(2)	163,1(2)
15	N(3)-H...O(1)*	0,860(2)	2,148(2)	2,982(2)	163,2 (2)
19		0,860(2)	2,015(2)	2,677(2)	133,1(2)
21	N(3)-H...N(1)	0,860(2)	1,928(2)	2,612(2)	131,6(2)
22		0,860(2)	1,932(2)	2,613(2)	135,3(2)

Transformação de simetria usada para gerar átomo equivalente : * = 3/2-x, y-1/2, z; 2-x, -1-y, -z.

4.2 – Ensaios biológicos

Os testes da atividade antimicrobiana foram feitos pelo método de macrodiluição e os testes de atividade antifúngica pelo método de microdiluição. A avaliação da atividade citotóxica contra células tumorais foi feita pelo método de MTT.

4.2.1 – Atividade antimicrobiana

4.2.1.1 – Método de macrodiluição

Os compostos foram testados contra as bactérias *gram*-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), bactéria *gram*-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e fungo *Candida albicans* (ATCC 10231 e 18804). A determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (2.3.1). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas pelo método de macrodiluição.

Compostos	CIM / μmolL^{-1}				
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	
				ATCC 10231	ATCC 18804
H2FopClPh (13)	240	>770	>739	1116	962
H2FopNO ₂ Ph (14)	>740	>754	>725	>462	ND
H2AcMe(15)	>1173	>844	>1106	>719	ND
H2AcPh (16)	428	422	>819	179	213
H2AcpClPh (17)	197	383	>738	86	46
H2AcpNO ₂ Ph (18)	353	337	>696	111	179
H2BzMe(19)	>834	>1094	>852	>532	ND
H2BzPh (20)	177	>670	>657	105	ND
H2BzpClPh (21)	>619	>613	>601	69	ND
H2BzpNO ₂ Ph (22)	>600,5	>577	>577	750	ND
Tetraciclina	0,36	15	-	-	-
Fluconazol	-	-	-	79	33
Ciproxacina	-	-	0,25	-	-

ND: Não determinado

As hidrazonas mostraram fraca atividade contra bactérias *gram* positivas e *gram* negativas com valores de CIM maiores que os dos fármacos de controle. Não obstante, algumas hidrazonas apresentaram uma atividade significativa contra *C. albicans*. De fato, os valores de

CIM determinados para H2AcpClPh (**17**) ($86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e H2BzpClPh (**21**) ($69 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), são comparáveis ao do fluconazol (CIM= $79 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), fármaco de controle. Conseqüentemente, a presença do substituinte *para*-cloro no anel fenílico parece contribuir ao aumento da atividade antifúngica nesses compostos.

4.2.2 – Atividade antifúngica

4.2.2.1 – Método de microdiluição

Foi avaliada a atividade antifúngica das hidrazonas frente aos fungos *Candida glabrata* ATCC 2001 e *C. albicans* ATCC 18804 e os fungos filamentosos *Cladosporium cladosporioides* (LABB 6) e *Aspergillus flavus* (LABB 44). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas pelo método de microdiluição.

Compostos	CIM ₅₀ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$			
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>	<i>C. cladosporioides</i>
H2FopClPh (13)	120	120	30	120
H2FopNO ₂ Ph (14)	>925	>925	925	115
H2AcPh (16)	<1	130,7	NA	1046
H2AcpClPh (17)	<0,87	57	457	914
H2AcpNO ₂ Ph (18)	<0,86	440,1	880,2	27,6
H2BzPh (20)	NA	NA	414,8	3,2
H2BzpClPh (21)	NA	NA	372,2	372,2
H2BzpNO ₂ Ph (22)	<0,7	>722,5	>722,5	1,4
Nistatina	1,05	269	269	269

NA: Não ativo

Os compostos **15**, **17**, **18** e **22** mostraram-se muito ativos frente a *C. glabrata*, com valores de CIM₅₀ menores que $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, com maior destaque dos derivados acetilados. No caso da *C. albicans* os compostos **13**, **16** e **17** foram os mais ativos com atividade superior ao fármaco de controle (nistatina). Novamente os derivados de 2-acetilpiridina resultaram ter maior atividade. Só o composto **13** mostrou uma atividade interessante frente a *A. flavus*, com valor de CIM₅₀ quase 9 vezes menor que a nistatina. Os compostos **13**, **14**, **18**, **20** e **22** foram mais ativos que a nistatina frente a *C. cladosporioides*, com destaques para os compostos **18**, **20** e **22** que apresentaram uma atividade entre 9 e 192 vezes superior ao fármaco de referência.

A partir da análise geral das atividades pode-se observar que a presença de substituintes retiradores de elétrons no anel fenila parece aumentar a atividade antifúngica dos compostos.

4.2.3 – Atividade citotóxica

O efeito citotóxico das hidrazonas foi testado em células de glioma maligno U87 (que expressam a proteína pró-apoptótica p53 selvagem) e T98 (que expressam a proteína pró-apoptótica p53 mutante). Controle negativo foi tomado como sobrevivência de 100%. A Figura 4.10 apresenta a porcentagem de sobrevivência das células na presença dos compostos estudados na concentração de $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A porcentagem de sobrevivência das células U87 frente às hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina foi de 18-79 % enquanto que frente àquelas derivadas de 2-formil e 2-benzoilpiridina foram acima do 73%. Frente às células T98 só foi possível testar seis compostos. A porcentagem de sobrevivência de células T98 frente às hidrazonas derivadas da 2-acetilpiridina (**16**, **17** e **18**) foi de 14-32 % enquanto e frente àquelas derivadas de benzoilpiridina de 54 %. Em geral as hidrazonas derivadas das 2-acetilpiridina apresentaram melhor perfil de inibição frente a ambas as linhagens celulares na concentração estudada.

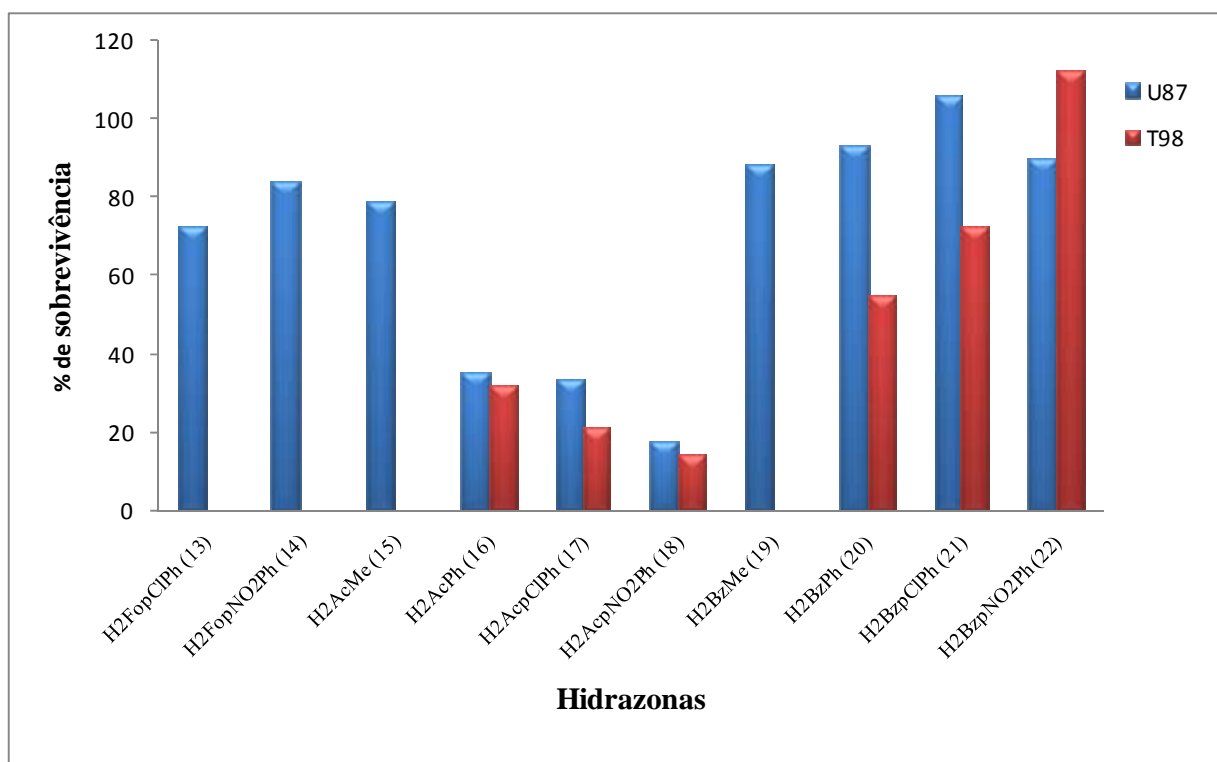


Figura 4.10 – Efeito citotóxico das hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina frente a células de glioma U87 e T98. As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.

Os resultados preliminares obtidos de sobrevivência das células nos instigaram a determinar a concentração necessária para inibir 50% do crescimento das células (CI_{50}) dos compostos estudados. Como comparação, os valores de CI_{50} foram também obtidos frente à linhagem de células MRC5 (fibroblastos de pulmão fetal humano) como modelo de células saudáveis. O etoposídeo, fármaco antineoplásico usado na clínica, foi usado como controle positivo.

A Tabela 4.11 apresenta os valores CI_{50} das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina- e 2-benzoilpiridina contra células U87, T98 e MRC5. As hidrazonas derivadas das 2-formilpiridina só foram testadas frente a células U87.

As hidrazonas **16**, **17**, **18**, **20** e **21** mostraram-se altamente ativas frente a células de glioma maligno com valores de CI_{50} entre 0,07 e 26,1 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ contra células U87 e entre 0,43 e 415 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ frente a células T98. As hidrazonas derivadas da 2-acetilpiridina apresentaram maior atividade que as análogas derivadas de 2-benzoilpiridina frente às linhagens de células tumorais. Os compostos H2AcpClPh (**17**) mostrou maior efeito citotóxico contra células U87 enquanto que H2AcpNO₂Ph (**18**) foi a hidrazona mais citotóxica contra células T98. Todas as hidrazonas foram mais ativas que o fármaco de controle.

Estas hidrazonas apresentaram valores de IC_{50} muito mais altos frente às células saudáveis MRC5 em relação às células tumorais. De fato, os índices terapêuticos ($IT = CI_{50MRC5}/CI_{50}$ glioma) foram 2-660 em células T98 e 28-5000 em células U87, indicando que os compostos poderiam ser bons candidatos a protótipos de fármacos para tratar tumores cerebrais.

As hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina (**13** e **14**), assim como as hidrazonas **15**, **19** e **22** mostraram-se pouco ativas. H2BzpNO₂Ph (**22**) apresentou este comportamento frente a ambas às células.

Tabela 4.11 – Valores de CI_{50} das hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina contra células de glioblastoma maligno U87 e T98.

Compostos	Linhagem das células de glioblastoma (CI_{50} , $nmol \cdot L^{-1}$)			Índice Terapêutico	
	U87	T98	MRC5	U87	T98
H2FopClPh (13)	>500	ND	ND	ND	ND
H2FopNO ₂ Ph (14)	>500	ND	ND	ND	ND
H2AcMe (15)	>500	ND	ND	ND	ND
H2AcPh (16)	0,94 ± 0,01	0,80 ± 0,07	284±15	302	355
H2AcpClPh (17)	0,07 ± 0,01	1,17 ± 0,32	348±37	4971	297
H2AcpNO ₂ Ph (18)	0,57 ± 0,07	0,43 ± 0,04	283±33	496	658
H2BzMe (19)	>500	ND	ND	ND	ND
H2BzPh (20)	8,26 ± 1,1	7,41 ± 0,42	1180± 127	143	159
H2BzpClPh (21)	26,1 ± 14,6	415 ± 31	738± 13	28	1,8
H2BzpNO ₂ Ph (22)	> 500	> 500	551±53	ND	ND
Etoposídeo	620 ± 15	460 ± 25	-	-	-

ND: Não determinado

4.2.3.1 – Indução de alterações características de apoptose.

Sob microscópio invertido, mudanças nas formas das células podem ser claramente observadas. Após exposição das células aos compostos estudados uma vasta gama de modificações fenotípicas, com clara tendência dose-resposta foi observada em ambas as linhagens de células tumorais, mas não nas células MRC5. Como se mostra na Figura 4.11 as células de controle apresentam expansão citoplasmática. O tratamento com as hidrazonas provocou retratação dessas expansões, o encolhimento das células e formação de vesículas em ambas as linhagens de glioma. A redução do número de células depois do tratamento também foi observada. Para as células T98 essas alterações são observadas a maiores concentrações dos compostos H2BzpClPh (**21**) e H2BzpNO₂Ph (**22**) indicando que essas células devem ser um pouco mais resistentes que as U87. As modificações morfológicas observadas encontram-se associadas com a morte celular programada (apoptose).

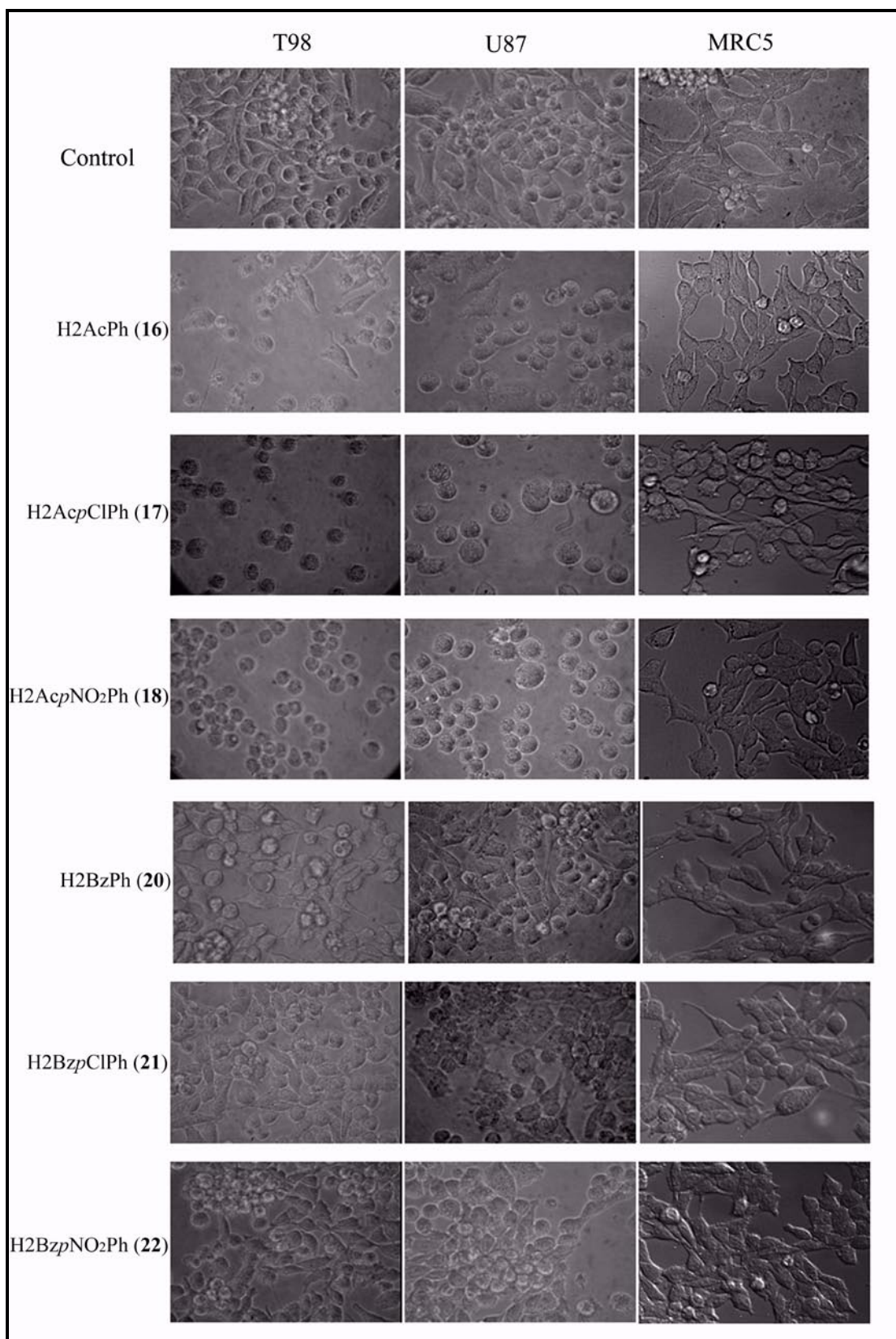


Figura 4.11 - Células tratadas com hidrazonas ($1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) exibem características morfológicas de apoptose. Alterações como arredondamento celular, o encolhimento das células e formação de vesículas podem ser observadas. Amplificação: 400X.

O desencadeamento programado de morte celular (apoptose) induz fragmentação do DNA através da ativação de nucleases. A ativação das nucleases pode ser identificada mediante a coloração do DNA com 4',6-diamidina-2-fenilindol (DAPI), que detecta os fragmentos do DNA e a cromatina condensada. Nenhuma fragmentação do DNA foi observada em células tumorais não tratadas e células MRC5, mas após a exposição às hidrazonas, as células U87 mostraram extensa fragmentação do DNA (Figura 4.12). Estes resultados sugerem que a redução da sobrevivência celular, depois do tratamento com os compostos estudados, acontece, pelo menos em parte, pela indução de apoptose.

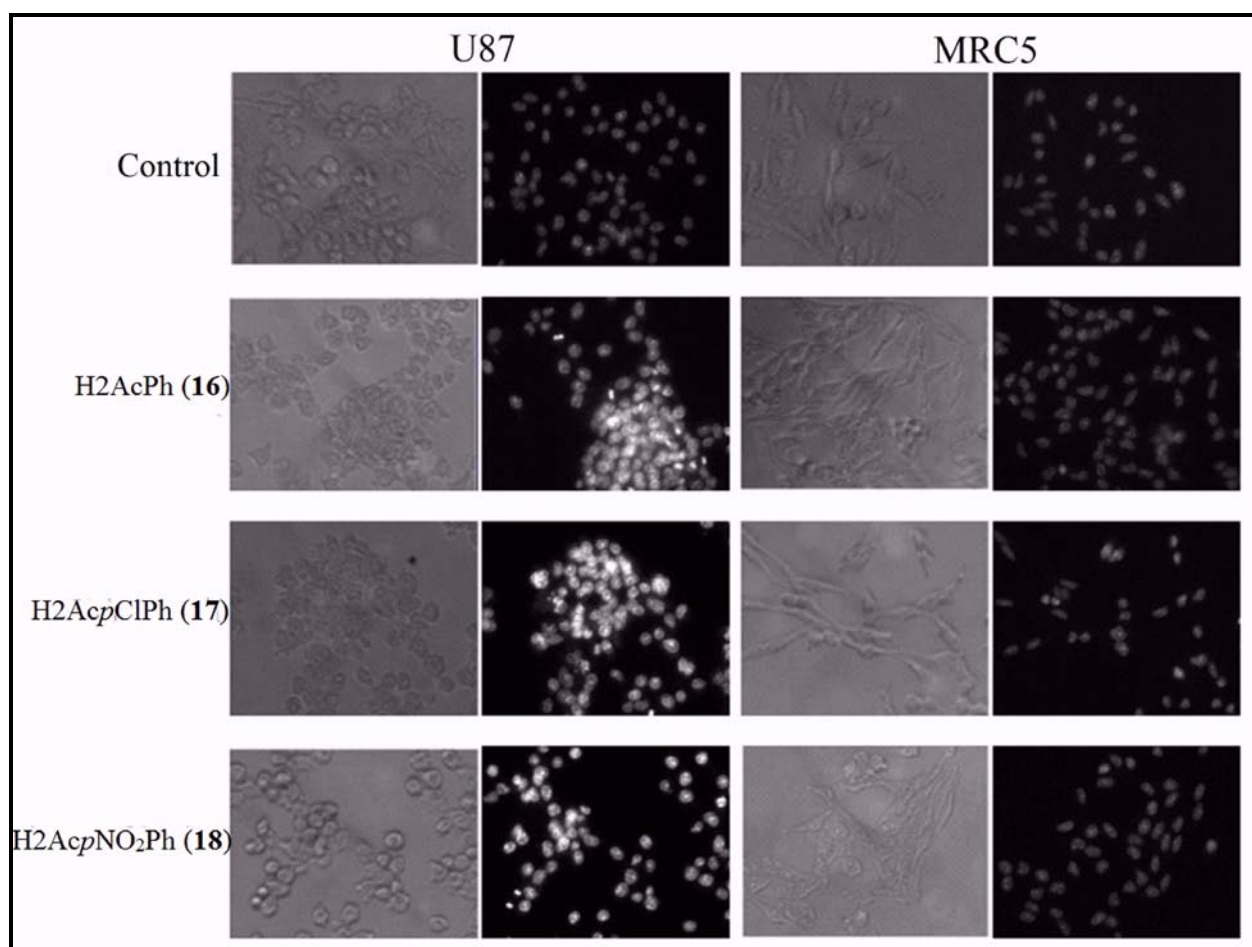


Figura 4.12 - Células tratadas com hidrazonas exibem características morfológicas de apoptose. Células U87 e MRC5 foram tratadas com hidrazonas (10^{-9} mol·L⁻¹) ou diluentes (controle). Condensação da cromatina, fragmentação nuclear e corpos apoptóticos podem ser observados. Amplificação: 400X.

4.3 – Estudos de relação estrutura-atividade (SAR)

Estudos de relação estrutura atividade (SAR) foram feitos para identificar as propriedades físico-químicas que podem estar relacionadas com o mecanismo de ação dos compostos.

As propriedades de interesse neste estudo foram: o orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), o orbital molecular não ocupado de menor energia (LUMO), momento dipolo (Dip), área superficial (AS) e logP. Estas propriedades foram correlacionadas, mediante matrizes de correlação linear simples, com os valores na forma logarítmica do CI_{50} (pCI_{50}). Na tabela 4.12 estão apresentados os valores dessas propriedades.

Para a obtenção das matrizes (Tabela 4.13), foi considerada a existência de isômeros *Z* e *E* em solução em todos os compostos. Foram feitas três matrizes para cada linhagem de células. Nas matrizes **A** e **E** estão correlacionadas as propriedades tendo em conta só o isômero *Z* dos compostos, nas matrizes **B** e **D** esta feita a correlação considerando o isômero *E* dos compostos enquanto que nas matrizes **C** e **F** consideramos os isômeros de maior proporção para cada grupo de compostos, o isômero **E** para as acetil e o isômero **Z** para as benzoilhidrazonas, respectivamente.

Analisando as matrizes **A**, **B**, **D** e **E** (tabela 4.13) verifica-se a presença de correlações inversas entre o logP e área superficial com a atividade citotóxica das hidrazonas frente as células T98 e U87 com $R = -0,94$ e $R = -0,73$ para o log P e $R = -0,82$ e $R = -0,83$ para a área superficial. Considerando-se os isômeros majoritários (matrizes **C** e **F** na tabela 4.13), uma nova correlação inversa é observada entre o momento dipolo e a atividade das hidrazonas, $R = -0,84$ para U87 e T98. Correlação inversa foi também obtida entre o logP e área superficial e pCI_{50} . Destes resultados pode-se concluir que compostos com maiores valores de logP, área superficial e momento dipolar apresentam menor atividade citotóxica. De fato, as hidrazonas derivadas da 2-acetilpiridina são as que menores valores destas propriedades apresentaram e resultaram ser as mais ativas (tabela 4.12).

Tabela 4.12 – Propriedades físico-química calculadas e valores experimentais de pCI₅₀ das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina

Composto	ϵ (HOMO) (eV)*	ϵ (LUMO) (eV)	Momento dipolo (db)	LogP	Área superficial (Å ²)	pCI ₅₀	
						U87	T98
H2AcPh (16)	-8,560 (isômero <i>E</i>)	1,978 (isômero <i>E</i>)	3,365 (isômero <i>E</i>)	1,92	342,28	9,026	9,096
	-8,545 (isômero <i>Z</i>)	1,780 (isômero <i>Z</i>)	5,308 (isômero <i>Z</i>)				
H2Ac _p ClPh (17)	-8,692 (isômero <i>E</i>)	1,813 (isômero <i>E</i>)	3,381 (isômero <i>E</i>)	2,53	359,09	10,154	8,931
	-8,689 (isômero <i>Z</i>)	1,632 (isômero <i>Z</i>)	6,672 (isômero <i>Z</i>)				
H2Ac _p NO ₂ Ph (18)	-8,898 (isômero <i>E</i>)	0,803 (isômero <i>E</i>)	4,717 (isômero <i>E</i>)	2,15	383,15	9,244	9,366
	-8,933 (isômero <i>Z</i>)	0,998 (isômero <i>Z</i>)	8,855 (isômero <i>Z</i>)				
H2BzPh (20)	-6,801 (isômero <i>E</i>)	1,558 (isômero <i>E</i>)	3,104 (isômero <i>E</i>)	3,10	419,37	8,083	8,130
	-6,620 (isômero <i>Z</i>)	1,344 (isômero <i>Z</i>)	4,976 (isômero <i>Z</i>)				
H2Bz _p ClPh (21)	-8,639 (isômero <i>E</i>)	1,814 (isômero <i>E</i>)	3,440 (isômero <i>E</i>)	3,68	436,41	7,583	6,381
	-8,346 (isômero <i>Z</i>)	1,527 (isômero <i>Z</i>)	6,386 (isômero <i>Z</i>)				
H2Bz _p NO ₂ Ph (22)	-8,832 (isômero <i>E</i>)	0,833 (isômero <i>E</i>)	5,072 (isômero <i>E</i>)	3,31	459,15	< 6,301	< 6,301
	-8,549 (isômero <i>Z</i>)	0,955 (isômero <i>Z</i>)	8,585 (isômero <i>Z</i>)				

* eV = 627,51 Kcal·mol⁻¹

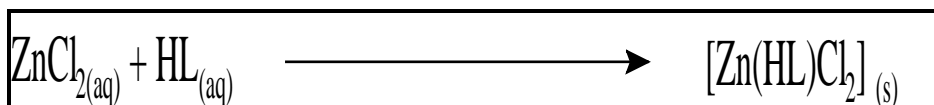
Tabela 4.13 – Matrizes de correlação linear simples: **A)** Isômeros *Z* versus células U87, **B)** Isômeros *E* versus células U87, **C)** mistura de isômeros (*E* para as derivadas de 2-acetil e *Z* para as de 2-benzoil) versus células U87, **D)** Isômeros *Z* versus células T98, **E)** Isômeros *E* versus células T98 e **F)** mistura de isômeros (*E* para as derivadas de 2-acetil e *Z* para as de 2-benzoil) versus células T98

A							B							C							
	PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS		PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS		PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS	
PIC ₅₀	1						PIC ₅₀	1						PIC ₅₀	1						
HOMO	-0,54	1					HOMO	-0,43	1					HOMO	-0,54	1					
LUMO	0,08	-0,04	1				LUMO	-0,11	0,1	1				LUMO	0,16	-0,05	1				
Dip	0,36	-0,67	-0,69	1			Dip	0,27	0,55	-0,87	1			Dip	-0,85	0,28	-0,46	1			
logP	-0,73	0,46	-0,01	-0,25	1		logP	-0,73	0,35	0,22	-0,41	1		logP	-0,73	0,47	-0,06	0,83	1		
AS	-0,82	0,51	-0,38	-0,05	0,9	1	AS	-0,83	0,42	-0,14	-0,11	0,91	1	AS	-0,83	0,52	-0,43	0,95	0,9	1	

D							E							F							
	PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS		PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS		PCI ₅₀	HOMO	LUMO	Dip	logP	AS	
PIC50	1						PIC50	1						PIC ₅₀	1						
HOMO	-0,3	1					HOMO	-0,16	1					HOMO	-0,29	1					
LUMO	-0,16	-0,04	1				LUMO	-0,36	0,1	1				LUMO	-0,08	-0,05	1				
Dip	0,29	-0,67	-0,69	1			Dip	0,41	-0,55	-0,87	1			Dip	-0,83	0,28	-0,46	1			
logP	-0,94	0,47	-0,01	-0,25	1		logP	-0,94	0,35	0,22	-0,41	1		logP	-0,94	0,47	-0,06	0,83	1		
AS	-0,82	0,51	-0,38	-0,05	0,9	1	AS	-0,82	0,42	-0,14	-0,11	0,91	1	AS	-0,82	0,52	-0,43	0,95	0,9	1	

5 – COMPLEXOS DE ZINCO(II) DE 2-PIRIDINA AROIL HIDRAZONAS.

Os complexos de zinco(II) foram sintetizados por meio da reação entre cloreto de zinco(II) com 2-formilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2FopClPh), 2-formilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2FopNO₂Ph), 2-acetilpiridina acetilhidrazona (H2AcMe), 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (H2AcPh), 2-acetilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2AcpClPh), 2-acetilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoilpiridina acetilhidrazona (H2BzMe), 2-benzoilpiridina benzoilhidrazona (H2BzPh), 2-benzoilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2BzpClPh), 2-benzoilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2BzpNO₂Ph), representada no seguinte esquema:



Foram obtidos os complexos: [dicloro(2-formilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**23**), [dicloro(2-formilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2FopNO₂Ph)Cl₂] (**24**), [dicloro(2-acetilpiridina-acetilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2AcMe)Cl₂] (**25**), [dicloro(2-acetilpiridina-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2AcPh)Cl₂] (**26**), [dicloro(2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2AcpClPh)Cl₂] (**27**), [dicloro(2-acetilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**28**), [dicloro(2-benzoilpiridina-acetilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2BzMe)Cl₂] (**29**), [dicloro(2-benzoilpiridina-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2BzPh)Cl₂] (**30**), [dicloro(2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2BzpClPh)Cl₂] (**31**) e [dicloro(2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazona)zinco(II)] [Zn(H2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**32**).

Estes complexos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutimetria, espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C, DEPT e HMQC. As estruturas em estado sólido foram determinadas mediante o método de difração de raios x de monocristal.

A fórmula geral proposta para os compostos (Fig. 5.1) está de acordo com os resultados de análise elementar quantitativa e medidas de condutimetria. As condutividades molares revelam que todos os compostos não são eletrolíticos com a hidrazona coordenada como ligante neutro (Tabela 5.1).

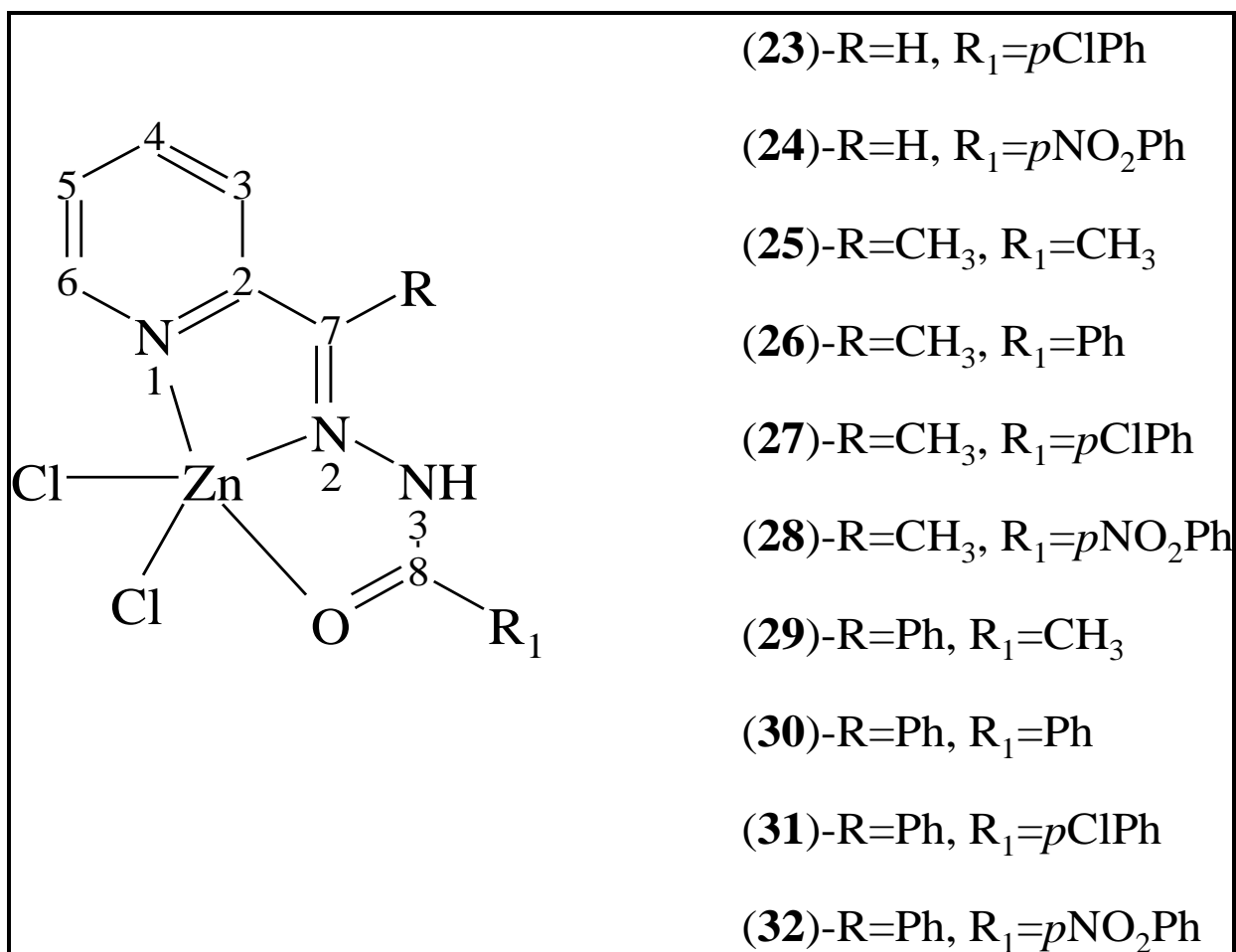


Figura 5.1 – Estrutura genérica dos complexos de zinco com hidrazonas derivadas da piridina.

Tabela 5.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento e condutividade molar dos complexos de zinco(II) com hidrazonas derivadas de piridina.

Composto	Rendimento (%)	% C	% H	%N	MM (g/mol)	$\Lambda_M \Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$
[Zn(H2FopClPh)Cl ₂] (23)	76	39,34(39,43)	2,06(2,55)	10,47(10,61)	395,99	14,70
[Zn(H2FopNO ₂ Ph)Cl ₂] (24)	78	38,42(38,41)	2,10(2,48)	13,81(13,78)	406,54	17,78
[Zn(H2AcMe)Cl ₂] (25)	85	34,86(34,48)	3,06(3,54)	13,35(13,40)	313,49	10,38
[Zn(H2AcPh)Cl ₂] (26)	84	44,67(44,77)	2,84(3,49)	11,18(11,19)	375,59	17,42
[Zn(H2AcpClPh)Cl ₂] (27)	88	40,95(41,01)	2,53(2,95)	10,21(10,25)	410,01	19,18
[Zn(H2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (28)	79	39,92(39,98)	2,39(2,88)	13,35(13,32)	420,56	0,44
[Zn(H2BzMe)Cl ₂] (29)	80	44,83(44,77)	3,53(3,49)	11,25(11,19)	375,57	13,67
[Zn(H2BzPh)Cl ₂] (30)	89	51,83(52,14)	3,42(3,45)	9,52(9,60)	437,30	22,18
[Zn(H2BzpClPh)Cl ₂] (31)	49	46,79(48,34)	2,30(2,99)	8,87(8,90)	471,80	20,42
[Zn(H2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (32)	79	45,05(47,28)	2,31(2,92)	11,58(11,61)	482,30	22,18

As principais bandas nos espectros de infravermelho das hidrazonas e dos complexos de zinco(II) encontram-se na Tabela 5.2. A vibração encontrada entre 1587 e 1618 cm^{-1} , atribuída a $\nu(\text{C}=\text{N})$ nos espectros das hidrazonas livres, se desloca para 1593 e 1601 cm^{-1} nos complexos de zinco(II) indicando a coordenação pelo nitrogênio azometínico (N_2)¹. A vibração $\nu(\text{C}=\text{O})$, observada em 1651-1681 cm^{-1} nos espectros das hidrazonas, desloca-se para 1634-1664 cm^{-1} nos complexos, sugerindo a coordenação pelo oxigênio carbonílico² (Figura 5.2).

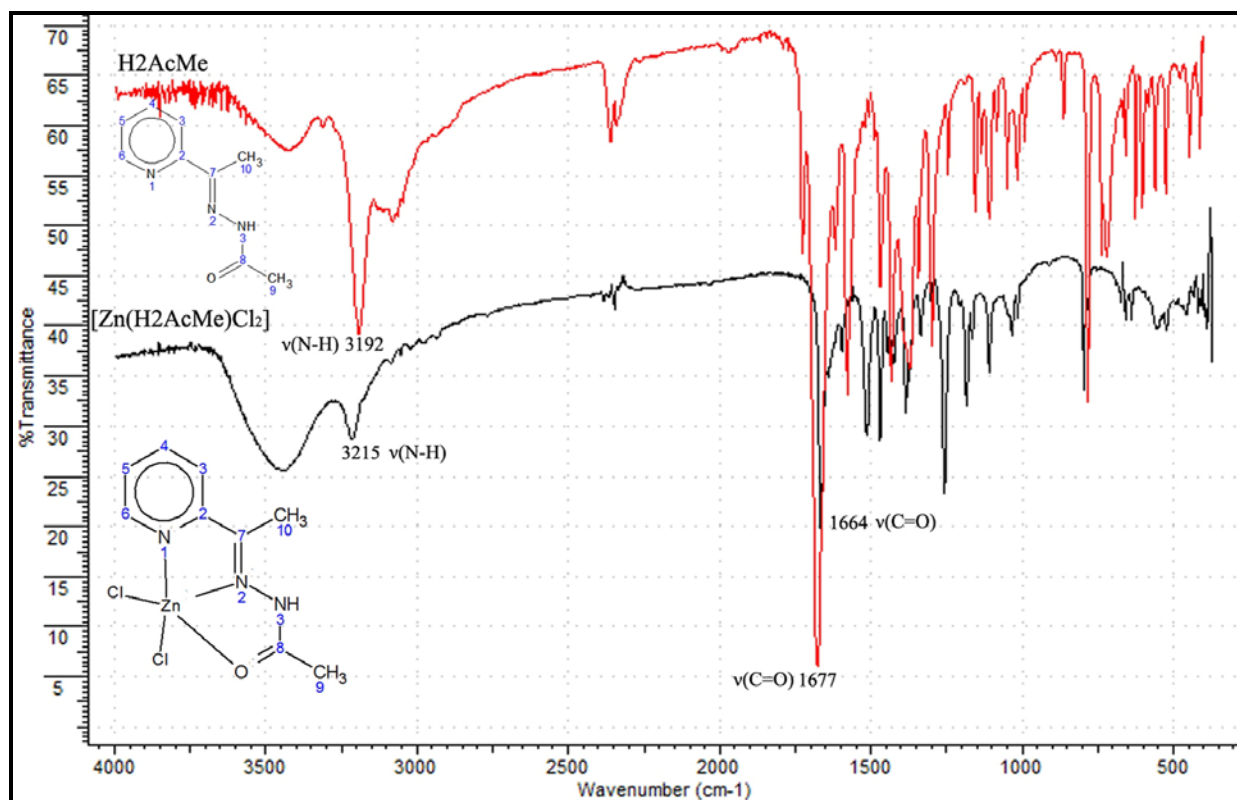


Figura 5.2 – Espectros de infravermelho do ligante H2AcMe (**15**) e seu complexo de zinco(II).

A deformação do anel piridina no plano, que se encontra em 618 - 624 cm^{-1} nos espectros das hidrazonas, desloca-se para 637-641 cm^{-1} nos espectros dos complexos, sugerindo coordenação no nitrogênio heteroarômico^{1,3,4,5}. Assim os espectros de infravermelho indicam a coordenação pelo sistema quelante Npy–N–O.

¹ Perez-Rebolledo, A.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Teixeira, L.R.; Batista, A.A.; Beraldo, H.; *J. Mol. Struct.* **2006**, 18, 794.

² Nakamoto, K.; *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, fourth ed., Wiley, New York. **1986**.

³ Recio Despaigne, A.A.; Da Silva, J.G.; Do Carmo, A.C.M.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Beraldo, H.; *Polyhedron*. **2009**, 28, 3797.

⁴ Recio Despaigne, A.A.; da Silva, J.G.; Do Carmo, A.C.M.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Beraldo, H.; *Inorg. Chim. Acta.* **2009**, 362, 2117.

⁵ Recio Despaigne, A.A.; da Silva, J.G.; do Carmo, A.C.M.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Beraldo, H.; *J. Mol. Struct.* **2009**, 920, 97

Tabela 5.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de zinco(II) com hidrazonas derivadas de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$); CsI ($400\text{-}200\text{ cm}^{-1}$).

Compostos	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	$\rho(\text{py})$	$\nu\text{M-N}$
H2FopClPh (13)	3175	1651	1592	618	-
[Zn(H2FopClPh)Cl ₂] (23)	3201	1646	1593	640	408
H2FopNO ₂ Ph (14)	3227	1663	1601	618	-
[Zn(H2FopNO ₂ Ph)Cl ₂] (24)	3227	1656	1598	641	409
H2AcMe (15)	3193	1676	1618	624	-
[Zn(H2AcMe)Cl ₂] (25)	3214	1664	1595	637	407
H2AcPh (16)	3181	1655	1616	620	-
[Zn(H2AcPh)Cl ₂] (26)	3252	1634	1601	640	412
H2AcpClPh (17)	3287	1659	1607	623	-
[Zn(H2AcpClPh)Cl ₂] (27)	3252	1645	1597	637	409
H2AcpNO ₂ Ph (18)	3188	1681	1601	619	-
[Zn(H2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (28)	3229	1642	1599	639	410
H2BzMe (19)	3054	1663	1587	619	-
[Zn(H2BzMe)Cl ₂] (29)	3070	1655	1595	640	412
H2BzPh (20)	3063	1687	1601	614	-
[Zn(H2BzPh)Cl ₂] (30)	3065	1638	1598	638	410
H2BzpClPh (21)	3064	1686	1603	615	-
[Zn(H2BzpClPh)Cl ₂] (31)	3063	1646	1593	638	410
H2BzpNO ₂ Ph (22)	3105	1680	1603	615	-
[Zn(H2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (32)	3070	1651	1600	639	411

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos complexos de zinco(II) foram realizados em DMSO- d_6 . As atribuições foram feitas tomando por base os deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento para o espectro de cada composto. Os carbonos do tipo C, CH foram determinados pelo experimento DEPT 135. As atribuições dos carbonos e hidrogênios foram feitas mediante experimentos de correlação 2D heteronuclear (HMQC) usando valores correspondentes a $^1\text{J}(\text{C}, \text{H})$.

Nos espectros dos complexos **23** e **24** há grandes variações na posição dos sinais com relação aos ligantes livres. A hidrazona H2FopClPh (**13**) (capítulo 4) adota a configuração *E* em solução de DMSO- d_6 , enquanto que H2FopNO₂Ph (**14**) existe como uma mistura dos isômeros *E* e *Z*. Os sinais nos espectros dos complexos indicam que os ligantes encontram-se na configuração *E*, que é a forma adequada para a coordenação da hidrazona de modo tridentado.

De fato, os sinais para C8=O em δ 163,2 e δ 162,5 e os sinais de N3-H observados em δ 12,02 e δ 12,26 (característicos de N3-H em ligação de hidrogênio com o DMSO) nos complexos **1** e **2** respectivamente, confirmam isto (Tabela 5.3). As hidrazonas encontram-se na forma neutra nos compostos em solução³.

Para os complexos das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina foi feita a caracterização por ressonância apenas para o complexo **25**. Para os compostos **26**, **27** e **28** não foi possível obter os espectros de RMN, pois eles apresentaram baixa solubilidade nos solventes utilizados. Nos espectros de ¹H e ¹³C do complexo **25**, os sinais indicam que o ligante encontra-se na configuração *E* igual à adotada pelo ligante livre, H2AcMe (**15**), em DMSO (capítulo 4), como confirmado pelos sinais para C8=O e N3-H observados em δ 171,4 e δ 10,45, respectivamente (Tabela 5.4).

Tabela 5.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ¹H e ¹³C dos complexos **23** e **24** em DMSO-*d*₆.

Atribuições	Nº	[Zn(H2FopClPh)Cl ₂] (23)	[Zn(H2FopNO ₂ Ph)Cl ₂] (24)
H3	1	7,98(m)	7,99(m)
H4	1	7,98(m)	7,99(m)
H5	1	7,51(t)	7,51(t)
H6	1	8,62(d)	8,64(d)
H7	1	8,52(s)	8,52(s)
H(10,14)	2	7,98(d) [7,54]	8,18(d) [8,54]
H(11,13)	2	7,63(d) [8,30]	8,38(d) [8,49]
N3-H	1	12.02(s)	12,26(s)
C2	1	151,60	151,85
C3	1	121,60	121,29
C4	1	137,26	137,94
C5	1	125,32	125,23
C6	1	149,33	148,09
C7=N	1	147,13	149,28
C8=O	1	163,19	162,47
C9	1	131,20	138,50
C(10,14)	2	129,80	129,39
C(11,13)	2	128,81	123,79
C12	1	138,00	149,52

Tabela 5.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C do complexo **25** em $\text{DMSO-}d_6$.

Atribuições	Nº	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{AcMe})\text{Cl}_2]$ (25)
H3	1	8,14(m)
H4	1	7,99(m)
H5	1	7,74(t)
H6	1	8,56(d)
N3-H	1	10,45(s)
C(9)H ₃	3	2,56(s)
C(15)H ₃	3	2,24(s)
C2	1	155,34
C3	1	124,02
C4	1	140,99
C5	1	127,51
C6	1	148,91
C7=N	1	150,56
C8=O	1	171,44
C9	1	20,69
C15	3	13,91

A análise dos espectros de ressonância dos complexos de zinco das hidrazonas derivadas de 2-benzoilpiridina mostraram resultados diferentes. Por exemplo: nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C do complexo **29** observou-se apenas um sinal para todos os átomos de carbono e hidrogênio. Os sinais de N3-H e C8=O foram encontrados em δ 12,15 e δ 173,1 respectivamente, indicando que o ligante adota a configuração *E* no complexo (Tabelas 5.5). O ligante, H2BzMe (**19**), existe como uma mistura dos isômeros *E* e *Z* em solução de $\text{DMSO-}d_6$. Os sinais do C7 e dos átomos de carbono da piridina deslocam-se depois da coordenação. A análise dos espectros de RMN sugere a coordenação do ligante (**19**) pelo sistema quelato Npy-N2-O, no complexo⁵.

Nos espectros dos complexos **30-32** o sinal para N3-H em valores de δ 14,71-14,81 sugere a presença da ligação de hidrogênio com o nitrogênio piridínico, característica da forma *Z* do ligante, indicando que a hidrazona coordena-se num sistema quelato bi-dentado. De fato, no espectro de RMN ^{13}C dos complexos **30** e **31**, os sinais dos carbonos do anel da piridina não mostram mudanças significativas em relação com as posições nas hidrazonas livres, H2BzPh (**20**) e H2BzpClPh (**21**), em $\text{DMSO-}d_6$, sugerindo que o nitrogênio heteroaromático não está ligado ao centro metálico⁴ (Figura 5.3).

Com base no que foi abordado, conclui-se que o deslocamento observado no modo de deformação do anel piridina no plano no espectro de infravermelho nos complexos (**30-32**) com

respeito ao espectro dos ligantes livres, deve-se provavelmente ao efeito da coordenação pelo nitrogênio N2 e não à coordenação do nitrogênio heteroaromático com o centro metálico⁴.

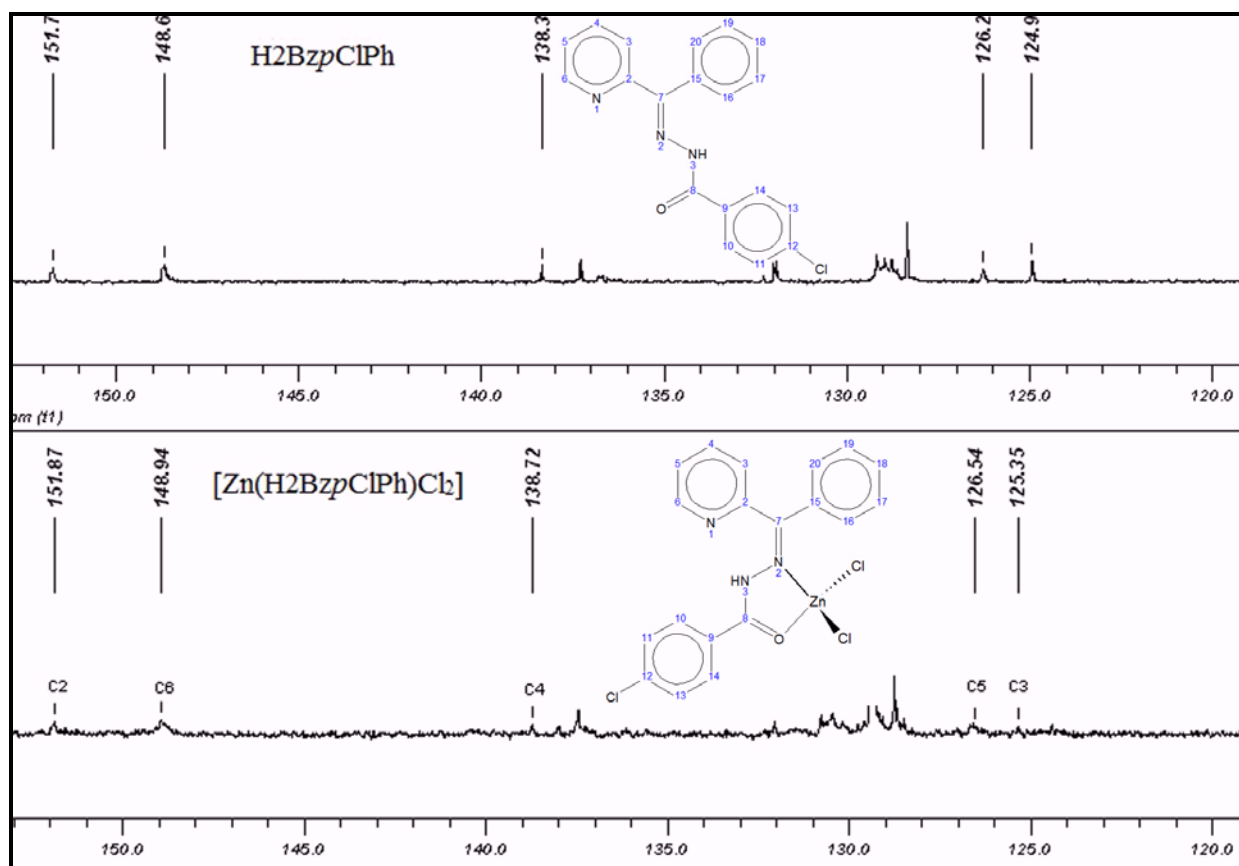


Figura 5.3 – Comparação dos sinais de RMN de ¹³C do anel piridina do complexo **31** e o respectivo ligante em DMSO-*d*₆.

Tabela 5.5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C dos complexos **29**, **30**, **31** e **32** em $\text{DMSO-}d_6$.

Atribuições	Nº	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzMe})\text{Cl}_2]$ (29)	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzPh})\text{Cl}_2]$ (30)	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (31)	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (32)
H3	1	7,76(d)	7,64(t)	7,92(t)	7,98(t)
H4	1	7,98(t)	8,10(t)	8,03(t)	8,07(t)
H5	1	7,32(m)	7,41(t)	7,58(t)	7,40(t)
H6	1	8,68(d)	8,99(d)	8,92(d)	8,97(d)
N3-H	1	12,19(s)	14,71(s)	14,76(s)	14,81(s)
CH ₃	3	2,16(s)	-	-	-
C2	1	151,5	151,8	151,8	150,9
C3	1	125,4	125,0	125,4	123,6
C4	1	138,2	138,5	138,7	138,0
C5	1	124,9	126,4	126,6	124,5
C6	1	149,1	148,7	148,9	149,0
C7=N	1	149,7	146,1	146,5	147,2
C8=O	1	173,1	162,6	162,6	164,8
C9	1	20,4	-	-	-

Na Tabela 5.6 estão apresentados os dados dos cristais e os resultados dos refinamentos das estruturas cristalográficas de alguns dos complexos de zinco(II).

Depois da recristalização em DMSO:acetona, acontece a conversão do complexo **24** em [clorodimetilsulfóxido(2-formilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)zinco(II)] [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**24a**). As estruturas cristalinas dos complexos **23** e **24a** foram determinadas³ (Figuras 5.4 e 5.5).

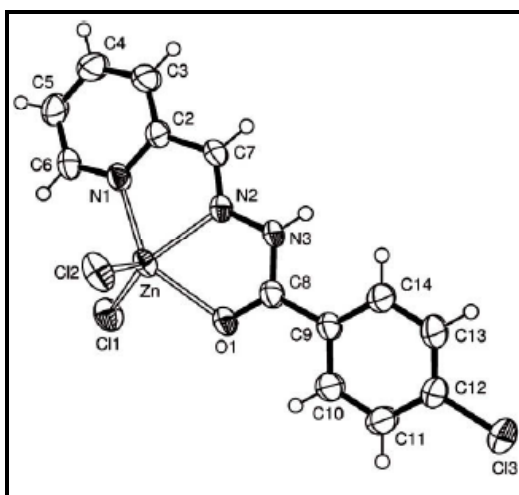


Figura 5.4 – Diagrama ORTEP do complexo [Zn(H₂FopClPh)Cl₂] (**23**).

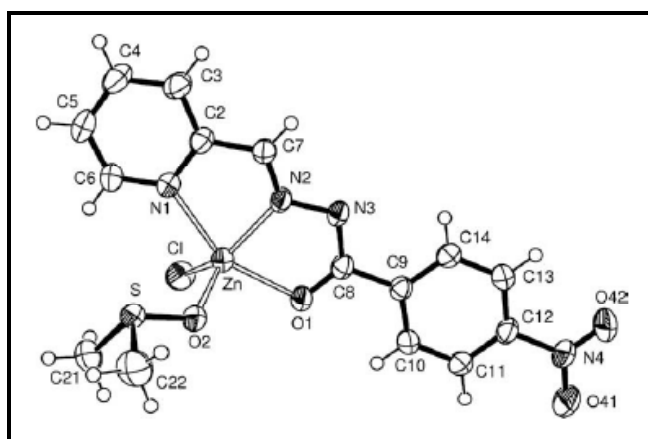


Figura 5.5 – Diagrama ORTEP do complexo [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**24a**).

A determinação estrutural do complexo **24a** revela a presença da hidrazona em forma aniônica ligada ao centro metálico, conjuntamente com um íon cloreto e uma molécula de DMSO. Em **24** a hidrazona encontra-se ligada ao metal em forma neutra, conjuntamente com dois íons cloreto. A conversão de **24** em **24a** deve-se, além da presença do DMSO-*d*₆, ao efeito retirador de elétrons do grupo nitro, que favorece a desprotonação em N3, com liberação de HCl e a subsequente coordenação do DMSO. A Tabela 5.6 mostra os dados de distância de ligação e ângulos nas estruturas cristalinas dos compostos **23** e **24a**.

O íon de zinco(II) apresentam número de coordenação 5 e as moléculas das hidrazonas encontram-se ligadas ao metal como ligantes tridentados através do nitrogênio da piridina, do nitrogênio imínico e do oxigênio carbonílico. No complexo **23** a hidrazona encontra-se na forma neutra, enquanto que em **24a** o ligante se coordena na forma aniônica, como mencionado nos parágrafos anteriores. Os complexos apresentam geometria de pirâmide quadrada distorcida com valores de $\tau = 0,13$ para o composto **23** e de 0,28 para **24a**.

Em todos os compostos, o fragmento do esqueleto hidrazônico $\text{Py}(\text{C}=\text{N})\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{N}$ define o plano de coordenação (os átomos apresentam desvio com respeito ao plano menor que 0,040 Å) com o íon metálico colocado mais perto do plano no complexo **24a**, que no complexo **23** [zinco(II) a 0,358(2) e 0,105(2) Å em **23** e **24a**, respectivamente]. Em **24a** provavelmente acontece uma competição pela carga positiva do metal entre o ligante cloreto e a hidrazona em forma aniônica. A interação entre o centro metálico e a hidrazona na forma aniônica faz com que o metal fique mais perto do plano do esqueleto hidrazônico em **24a** que em **23**, onde o efeito de atração dos dois íons cloreto pelas cargas positivas do centro metálico predomina ante a interação entre o metal e a hidrazona em forma neutra. O anel fenila e o plano de coordenação formam um ângulo diedro de 9,5(2)°, e 2,5(1)° em **23** e **24a** respectivamente. Em **24a** o grupo NO_2 terminal está quase coplanar com o anel fenila [ângulo de 0,2(6)°]

Para o complexo **23** a distância de ligação C8-O1 na hidrazona tem valor de 1,231(4) Å enquanto que em **24a** esta distância de ligação é de 1,268(3) Å. Isto é devido ao fato de que a hidrazona está em forma aniônica, em **24a**, apresentando a ligação C8-O1 certo caráter de ligação simples. Analogamente a distância da ligação N3-C8 é 1,366(4) Å no complexo **23**, e de 1,337(3) Å para o complexo **24a**, em concordância com certo caráter de ligação dupla no último. Interessantemente, as distâncias de ligação O1-M são de 2,250(2) Å para **23**, 2,098(2) Å para **24a**, em concordância com a presença da carga negativa no átomo de oxigênio que aumenta a força da ligação M-O1 no complexo **24a**.

Analisando os complexos **23** e **24a** os ângulos N1-M-N2 e N2-M-O1 apresentam pequenas mudanças (Tabela 5.7). O ângulo N1-M-O1 muda de 143,18(9) em **23** a 149,56(7) em **24a** devido à maior deslocalização dos elétrons após desprotonação do nitrogênio N3. Similarmente os ângulos N3-C8-O1 vão de 120,5(3) em **23** ate 126,0(2) em **24a** devido ao mesmo efeito.

Comparações entre **23** e **24a** revelam que as distancias de ligações dentro dos ligantes hidrazonas não são muito diferentes. De forma similar, os ângulos das ligações dentro do esqueleto hidrazona não mudam significativamente.

Tabela 5.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**23**), [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**24a**), [Zn(H2BzMe)Cl₂] (**29**), [Zn(2BzPh)₂] (**30a**), [Zn(H2BzpClPh)Cl₂]·H₂O (**31a**) e [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**32a**).

	23	24a	29	30a	31a	32a
Formula empírica	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₂ N ₃ O ₂ SZn	C ₁₅ H ₁₅ ClN ₄ O ₄ SZn	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ OZn	C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₂ Zn	C ₁₉ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂ Zn	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₄ SZn
Peso molecular	474,09	448,19	375,54	666,03	490,12	524,28
Sistema cristalino, grupo espacial	Monoclínico, P2 ₁ /c	Triclínico,P1	Monoclínico, P2 ₁ /a	Triclínico, P1(#2)	Triclínico, P1(#2)	Triclínico. P1(#2)
Dimensões da célula unidade						
a(Å)	9,6792(3)	7,9935(3)	11,669	10,6412(6)	8,797(1)	8,1886(5)
b(Å)	10,8687(4)	9,7127(3)	11,483	12,6026(9)	11,223(1)	11,1335(5)
c(Å)	18,8839(5)	12,1858(4)	11,750	13,0396(9)	11,261(2)	14,2504(6)
α(*)		71,688(2)	90,00	66,512(3)	67,89(1)	99,769(2)
β(*)	99,397	88,947(2)	98,13	83,723(4)	72,17(1)	105,863(2)
γ(*)		84,009(2)	90,00	83,779(4)	76,95(2)	111,263(2)
Volume (Å ³)	1959,9(1)	893,17(5)	1558,6	1590,2(2)	972,8(2)	1111,0(1)
Z, densidade calculada (Mg/m ³)	4; 1,607	2; 1,667	4; 1,600	2; 1,391	2; 1,673	2; 1,567
Coeficiente de absorção (mm ⁻¹)	1,782	1,671	1,919	0,817	1,695	1,356
F(000)	960	456	760	688	496	536
Dimensões do cristal (mm ³)	0,26x0,22x0,12	0,25x0,12x0,06	0,22x 0,13x0,03	0,16x0,06x0,04	0,245x0,203x0,163	0,20x0,06x0,06
Cor e forma do cristal	Incolor/poliedro	Amarelo/prisma	Incolor/ placas	Amarelo/prismas	Amarelo/prismas	Incolor/prismas
Intervalo de coleta de dados θ	3,17-26,00°	3,09-26,00°	2,91-25,99	2,67-24,14	2,95-26,00	2,71-25,00
Intervalos de hkl	-11 ≤ h ≤ 11 -13 ≤ k ≤ 12 -21 ≤ l ≤ 23	-9 ≤ h ≤ 9 -11 ≤ k ≤ 11 -15 ≤ l ≤ 15	-14 ≤ h ≤ 10 -14 ≤ k ≤ 10 -14 ≤ l ≤ 14	-12 ≤ h ≤ 11 -14 ≤ k ≤ 14 -14 ≤ l ≤ 14	-10 ≤ h ≤ 10 -13 ≤ k ≤ 13 -13 ≤ l ≤ 13	-9 ≤ h ≤ 9 -13 ≤ k ≤ 13 -16 ≤ l ≤ 16

(Continua)

Tabela 5.6 – Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento estrutural para [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**23**), [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**24a**), [Zn(H2BzMe)Cl₂] (**29**), [Zn(2BzPh)₂] (**30a**), [Zn(H2BzpClPh)Cl₂]·H₂O (**31a**) e [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**32a**) (continuação).

	23	24a	29	30a	31a	32a
Reflexões coletadas [R _{int} =0,0618]	16239/3829	10777/3482	7946/3043	13647/5036	6700/3612	8737/3905
Reflexões observadas [I>2σ(I)]	3210	3012	2220	3737	3346	3334
Completeza	99,5%(to θ=26,00°)	99,7%(to θ=26,00°)	99,1%	99,4(para θ=24,14°)	93,5(para θ=26,00°)	99,7(para θ=25,00°)
Métodos de refinamento	Mínimos quadrados com matriz completa					
Dados/restrições/parâmetros	3829/0/224	3482/0/237	3043/0/191	5036/0/424	3612/0/253	3905/0/291
S	1,063	1,084	1,020	1,014	1,047	1,171
Pesos, w	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,0361P)^2+0,91P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,0481P)^2+0,32P]^{-1}$	$\sigma^2(F_o^2)+(0,048P)^2+0,50P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,025P)^2+0,59P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,108P)^2+0,48P]6-1$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$[\sigma^2(F_o^2)+1,14P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3
Índices finais R [I>2σ(I)]	R ₁ =0,0420, wR ₂ =0,1154	R ₁ =0,0342, wR ₂ =0,0864	0,0398; 0,0618	0,0438; 0,0727	0,0554; 0,0582	0,0785; 0,0917
Índices R (all data)	R ₁ =0,0523, wR ₂ =0,1229	R ₁ =0,0412, wR ₂ =0,0908	0,0942; 0,1056	0,0795; 0,0877	0,1519; 0,1563	0,2103; 0,2156
Δρ max./min. (e Å ⁻³)	2,300 e -0,621	0,325 e -0,610	0,294 e -0,504	0,276 e -0,267	1,274 e -1,528	1,412 e -0,749

Tabela 5.7 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**23**) e [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**24a**).

Atribuições	23	24a
N1-C2	1,352(4)	1,348(3)
C2-C7	1,463(5)	1,464(3)
N2-C7	1,278(4)	1,278(3)
N2-N3	1,359(4)	1,371(3)
N3-C8	1,366(4)	1,337(3)
O1-C8	1,231(4)	1,268(3)
M-N1	2,182(3)	2,259(2)
M-N2	2,125(3)	2,059(2)
M-O1	2,250(2)	2,098(2)
M-Cl1	2,2337(9)	
M-Cl2	2,249(1)	
M-Cl		2,2516(7)
M-O2		2,008(2)
Ângulos de ligação		
N1-C2-C7	114,8(3)	115,7(2)
C2-C7-N2	115,8(3)	117,0(2)
C7-N2-N3	122,4(3)	120,8(2)
N2-N3-C8	114,1(3)	108,3(2)
N3-C8-O1	120,5(3)	126,0(2)
C6-N1-M	126,5(2)	130,2(2)
C2-N1-M	114,8(2)	111,6(2)
C7-N2-M	119,3(2)	120,5(2)
N3-N2-M	118,0(2)	118,7(1)
C8-O1-M	115,2(2)	112,1(2)
N1-M-N2	73,9(1)	74,95(7)
N2-M-O1	71,30(9)	74,90(7)
N1-M-O1	143,18(9)	149,56(7)
N1-M-Cl1	98,75(8)	
N1-M-Cl2	103,48(8)	
N2-M-Cl1	135,35(8)	
N2-M-Cl2	108,07(8)	
O1-M-Cl1	97,65(7)	
O1-M-Cl2	98,27(8)	
Cl1-M-Cl2	116,39(4)	
N1-M-Cl		98,89(5)
N1-M-O2		98,26(7)
N2-M-Cl		134,73(6)
N2-M-O2		117,62(8)
O1-M-Cl		105,19(6)
O1-M-O2		91,98(7)
O2-M-Cl		107,65(5)

Os cristais do composto **29** foram obtidos da mistura 1:9 DMSO-acetona. Na tabela 5.8 apresentam-se distâncias de ligação e ângulos da estrutura cristalina desse composto e a Figura 5.6 mostra seu diagrama ORTEP⁵. Na estrutura de **29** o íon zinco(II) está pentacoordenado, ligado a uma molécula neutra da hidrazona, que atua como ligante tridentado, ligando-se ao centro metálico através dos nitrogênios piridínico e imínico e pelo oxigênio carbonílico. Dois íons cloreto ocupam as posições de coordenação remanescentes. Os átomos N1, N2, Cl1 e O1 formam base de uma pirâmide quadrada distorcida ($\tau = 0,21$), onde o átomo Cl2 ocupa a posição apical.

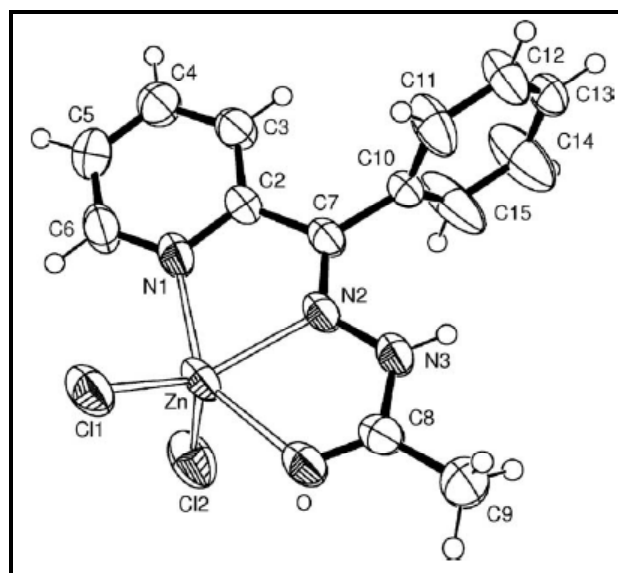


Figura 5.6 – Diagrama molecular ORTEP de $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzMe})\text{Cl}_2]$ (**29**).

O fragmento do esqueleto hidrazônico $\text{Py}(\text{C}=\text{N})\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{N}$ define o plano de coordenação [desvio rms dos átomos do plano de 0,052 Å] com o íon metálico situado perto deste plano 0,209(2). O anel fenílico e o plano de coordenação formam ângulos diedros de 85,5(1)°. No complexo **29** a distância de ligação C8-O1 é de 1,225(4) Å, sendo que no ligante H2BzMe (**19**) esta distância é 1,217 (ver capítulo 4 seção 4.1). Isto se deve à formação da ligação M-O que debilita a ligação C-O. As distâncias de ligação N2-N3 e N3-C8, que no ligante (**19**) tem valores de 1,369(3) e 1,361(3) Å, respectivamente, tem valores de 1,367(4) e 1,357(4) em **29**.

O ângulo C2-C7-N2 tem valor de 113,3(3)° no composto **29** e de 126,7(2)° para o ligante (**19**). A grande variação é devida a uma mudança na configuração da hidrazona, da forma *Z* como ligante livre a *E* nos complexos. O mesmo acontece com o ângulo C7-N2-N3, que muda de 120,2(2)° no ligante livre, até 121,8(3)° em **29**, devido à formação do anel quelato N1-M-N2. De forma similar o ângulo N2-N3-C8 muda de 120,4(2)°, no ligante (**19**), a 116,1(3)° em **29** em razão da formação do anel quelato N2-M-O1.

Tabela 5.8 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares [Zn(H2BzMe)Cl₂] (**29**).

Atribuições	7
N1-C2	1,346(4)
C2-C7	1,479(4)
N2-C7	1,294(4)
N2-N3	1,367(4)
N3-C8	1,357(4)
O1-C8	1,225(4)
M-N1	2,159(3)
M-N2	2,123(3)
M-O1	2,313(2)
M-Cl1	2,2258(9)
M-Cl2	2.234(1)
Ângulos de ligação	
N1-C2-C7	115,9(3)
C2-C7-N2	113,3(3)
C7-N2-N3	121,8(3)
N2-N3-C8	116,1(3)
N3-C8-O	120,3(3)
C6-N1-M	125,8(2)
C2-N1-M	115,9(2)
C7-N2-M	120,7(2)
N3-N2-M	117,4(2)
C8-O1-M	114,1(2)
N1-M-N2	74,1(1)
N2-M-O1	71,05(9)
N1-M-O1	144,04(9)
N1-M-Cl1	100,77(8)
N1-M-Cl2	101,90(8)
N2-M-Cl1	131,18(8)
N2-M-Cl2	110,62(8)
O1-M-Cl1	65,57(7)
O1-M-Cl2	98,30(7)
Cl1-M-Cl2	117,81(4)

Durante a síntese do complexo **30** outro produto cristalizou-se após a filtração, sendo este caracterizado como [*bis*(2-benzoilpiridina-benzoilhidrazonato)]zinco(II), [Zn(2BzPh)₂] (**30a**); contendo o ligante na forma aniônica adotando a configuração *E*⁴ (Figura 5.7).

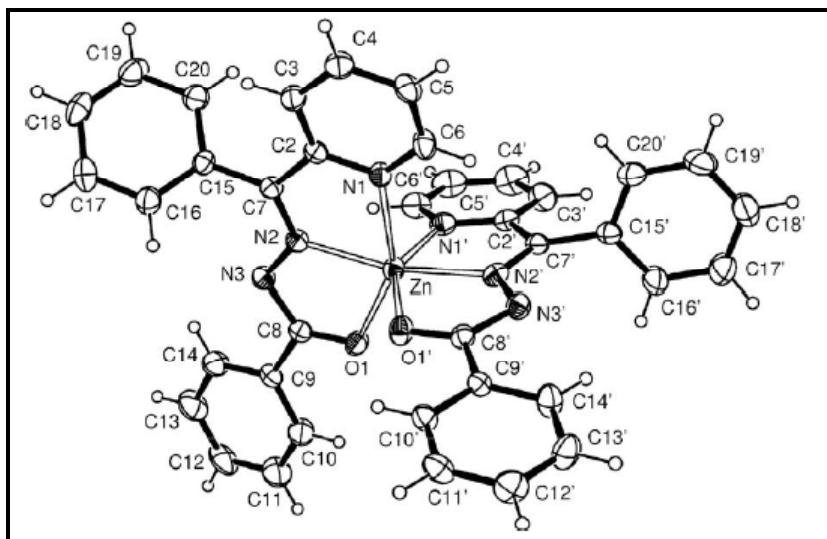


Figura 5.7 – Diagrama molecular ORTEP de $[Zn(2BzPh)_2]$ (**30a**). Ligações metal-ligante estão em linhas abertas.

Como foi mostrado nos estudos de RMN nos complexos **31** e **32** a hidrazona adota a configuração *Z* e está ligada ao centro metálico como ligante bidentado⁴. A cristalização de **31** a partir de uma mistura 1:9 DMSO-acetona resultou no [dicloro(2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazona)zinco(II)] monohidratado $[Zn(H_2BzpClPh)Cl_2] \cdot H_2O$ (**31a**), com a mesma fórmula molecular, mas com a hidrazona atuando como ligante tridentado e adotando a configuração *E* quando ligada ao centro metálico (Figura 5.8). A hidratação provavelmente ocorreu pela presença de água no DMSO. A cristalização de **32** em 1:9 DMSO : acetona levou à ligação de uma molécula de DMSO ao centro metálico com a liberação de HCl e a formação de [clorodimetilsulfóxido(2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)zinco(II)] $[Zn(2BzpNO_2Ph)Cl(DMSO)]$ (**32a**), em que a hidrazona sob a forma aniônica adota a configuração *E* (Figura 5.9). Ambos apresentam uma geometria de pirâmide de base quadrada distorcida com valores de τ de 0,01 e 0,25 para **31a** e **32a** respectivamente.

Como mencionado anteriormente, também neste caso a presença do grupo nitro, retirador de elétrons, favorece a desprotonação em N3 com a liberação de HCl e a entrada do ligante DMSO. A Tabela 5.9 mostra as distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas cristalinas de **30a**, **31a**, e **32a**. Nas Figuras 5.7 a 5.9 encontram-se apresentados os diagramas ORTEP dos complexos.

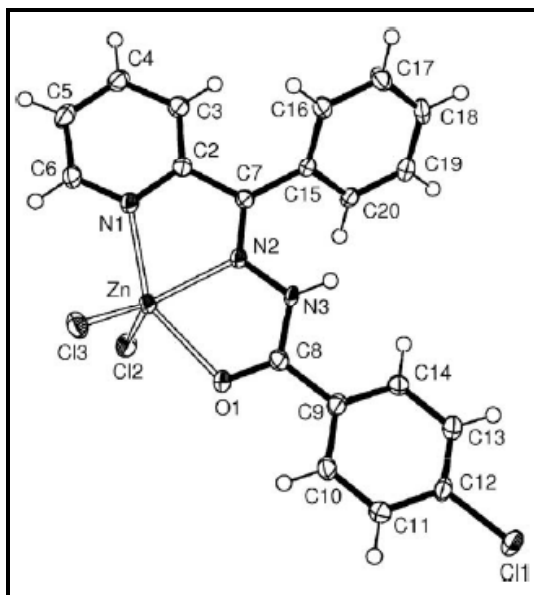


Figura 5.8 – Diagrama molecular ORTEP de $[Zn(H_2BzpClPh)Cl_2]$ (**31a**).

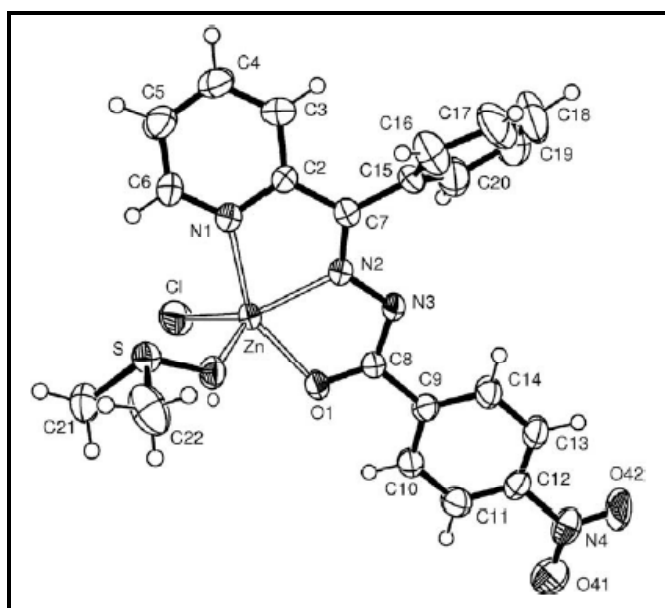


Figura 5.9 – Diagrama molecular ORTEP de $[Zn(2BzpNO_2Ph)Cl(DMSO)]$ (**32a**).

No complexo **30a** o cátion zinco(II) encontra-se em um ambiente octaédrico distorcido e está coordenado a duas moléculas da hidrazona aniônica que atuam como ligantes tridentados formando um sistema $N_{py}-N-O$. Nos complexos **31a** e **32a** o íon zinco(II) encontra-se em um ambiente pentacoordenado, com uma molécula de hidrazona (neutra em **31a** e aniônica em **32a**) ligada ao centro metálico pelos nitrogênios piridínico e imínico e pelo oxigênio ligado ao carbono C8. As posições remanescentes de coordenação estão ocupadas por dois íons cloreto em **31a** e por um íon cloreto e o átomo oxigênio do DMSO em **32a**. Em todos os complexos, o fragmento do esqueleto hidrazona $Py(C=N)N-(C=O)$ define o plano de coordenação [desvio rms dos átomos do plano de $0,110\text{Å}$ (**30a**), $0,071\text{ Å}$ (**31a**) e $0,047\text{ Å}$ (**32a**)], com o íon metálico situado próximo a este plano [a $0,023(2)\text{ Å}$ (**30a**), $0,142(2)\text{Å}$ (**31a**) e $0,045(6)\text{Å}$ (**32a**)]. O anel

fenílico e o plano de coordenação formam ângulos diedros de $54,1(1)^\circ$ (**30a**), $51,37(7)^\circ$ (**31a**) e $59,7(4)^\circ$ (**32a**).

No complexo **30a** as distâncias de ligações N1-C2, O1-C8 e Zn-N1 são similares para as duas moléculas da hidrazona, mas variações significativas são observadas para as distâncias C2-C7, N2-C7, N3-N2 e N3-C8. Também as distâncias Zn-N2 e Zn-O1 são consideravelmente diferentes nas duas moléculas ligadas. Os ângulos das ligações variam aproximadamente $1-2^\circ$ nas moléculas de hidrazona, mas diferenças significativas são observadas para $N1-Zn-N2'/N1'-Zn-N2$ (7°) e $N2-Zn-O1'/N2'-Zn-O1$ ($5,5^\circ$). Essas diferenças levaram a um arranjo octaédrico distorcido no centro metálico.

A distância de ligação C8-O1 tem valores de $1,241(4)$ Å, no complexo **31a** e $1,262(9)$ Å em **32a** em concordância, no último caso, indicando um maior caráter de ligação simples. Similarmente, a distância C2-C7 possui valores de $1,493(4)$ Å em **31a** e $1,47(1)$ Å em **32a**, de acordo com maior caráter dupla dessa ligação em **32a** que é devido a maior deslocalização eletrônica na cadeia da hidrazona aniônica. Pela mesma razão, a distância de ligação, C7-N2 é de $1,285(4)$ Å em **31a** e $1,30(1)$ Å em **32a**.

Interessantemente, a distância de ligação O1-Zn é de $2,255(2)$ Å e $2,080(6)$ Å para os compostos **31a** e **32a**, respectivamente, em concordância com a presença, no último caso, de carga negativa no átomo de oxigênio, que aumenta a força da ligação M-O1.

Indo do complexo **31a** ao **32a** o valor do ângulo N1-M-N2 não muda apreciavelmente. Nos ângulos N2-M-O1 e N1-M-O1 os valores mudam de $72,63(9)^\circ$ e $146,52(9)^\circ$, em **31a**, para $75,5(2)^\circ$ e $149,7(2)^\circ$ em **32a** respectivamente, devido à alta deslocalização eletrônica neste último. O mesmo acontece para o ângulo N3-C8-O1, que vai de $121,0(3)^\circ$ em **31a** a $128,8(7)^\circ$ em **32a**.

O composto **31a** encontra-se estabilizado, no cristal, através de uma rede de ligações de hidrogênio. Uma vista deste empacotamento cristalino é mostrada na Figura 5.10.

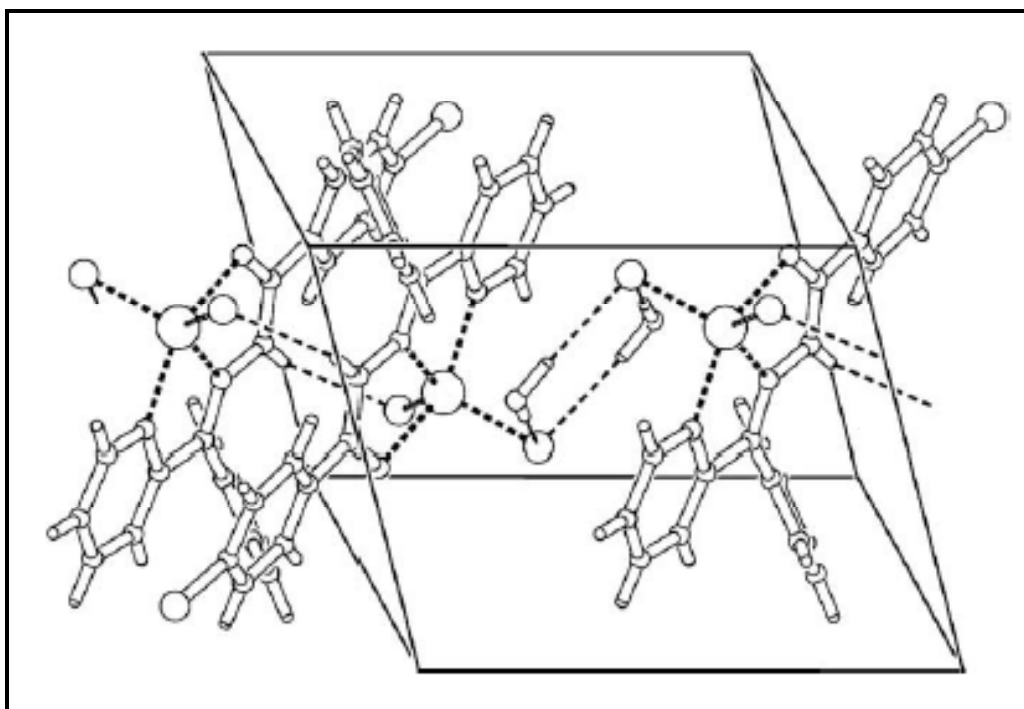


Figura 5.10 – Empacotamento cristalino do complexo **31a**.

Tabela 5.9 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Zn(2BzPh)₂] (**30a**), [Zn(H2BzpClPh)Cl₂]·H₂O (**31a**) e [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**32a**).

Atribuições	30a	31^a	32a
N1-C2	1,346(3)	1,358(4)	1,35(1)
N1'-C2'	1,341(4)		
C2-C7	1,491(4)	1,493(4)	1,47(1)
C2'-C7'	1,480(4)		
N2-C7	1,292(3)	1,285(4)	1,30(1)
N2'-C7'	1,301(4)		
N2-N3	1,376(3)	1,370(3)	1,370(9)
N2'-N3'	1,351(3)		
N3-C8	1,353(3)	1,350(4)	1,34(1)
N3'-C8'	1,368(4)		
O1-C8	1,262(3)	1,241(4)	1,262(9)
O1'-C8'	1,257(3)		
Zn-N1	2,224(2)	2,163(3)	2,219(7)
Zn-N1'	2,226(3)		
Zn-N2	2,077(2)	2,110(3)	2,073(7)
Zn-N2'	2,082(2)		
Zn-O1	2,057(2)	2,255(2)	2,081(6)
Zn-O1'	2,106		
Zn-Cl2		2,2513(9)	
Zn-Cl3		2,294(1)	
Zn-Cl			2,243(3)
Zn-O			2,032(6)
Ângulos de ligação			
N1-C2-C7	115,9(2)	114,6(3)	115,9(7)
N1'-C2'-C7'	116,6(3)		
C2-C7-N2	114,0(2)	113,5(3)	114,4(7)
C2'-C7'-N2'	113,3(3)		
C7-N2-N3	121,3(2)	121,7(3)	120,6(7)
C7'-N2'-N3'	119,8(3)		
N2-N3-C8	108,2(2)	115,6(2)	108,1(6)
N2'-N3'-C8'	108,1(2)		
N3-C8-O1	125,7(3)	121,0(3)	126,8(7)
N3'-C8'-O1'	126,5(3)		
C6-N1-Zn	127,5(2)	125,7(2)	127,5(7)
C6'-N1'-Zn	128,1(2)		
C2-N1-Zn	113,0(2)	115,5(2)	113,3(5)
C2'-N1'-Zn	113,4(2)		
C7-N2-Zn	121,6(2)	121,1(2)	121,7(6)
C7'-N2'-Zn	121,3(2)		
N3-N2-Zn	117,0(2)	116,9(2)	117,7(5)
N3'-N2'-Zn	118,2(2)		
C8-O1-Zn	113,1(2)	113,9(2)	111,9(5)

(continua)

Tabela 5.9 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de $[\text{Zn}(\text{2BzPh})_2]$ (**30a**), $[\text{Zn}(\text{H2BzpClPh})\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ (**31a**) e $[\text{Zn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**32a**) (continuação).

Atribuições	30a	31^a	32a
C8'-O1'-Zn	111,5(2)		
N1-Zn-N2	74,73(9)	73,97(9)	74,4(3)
N1-Zn-N2'	93,58(9)		
N1'-Zn-N2	100,77(9)		
N1'-Zn-N2'	74,2(1)		
N2-Zn-O1	75,63(8)	72,63(9)	75,5(2)
N2-Zn-O1'	110,54(9)		
N2'-Zn-O1	116,09(8)		
N2'-Zn-O1'	75,13(9)		
N1-Zn-O1	150,30(8)	146,52(9)	149,7(2)
O1'-Zn-N1	91,97(9)		
O1-Zn-N1'	91,11(9)		
N1'-Zn-O1'	148,69(9)		
O1-Zn-O1'	96,70(8)		
N1-Zn-N1'	96,09(9)		
N2-Zn-N2'	166,9(1)		
N1-Zn-Cl2		102,11(7)	
N1-Zn-Cl3		101,40(8)	
N2-Zn-Cl2		113,98(8)	
N2-Zn-Cl3		127,03(8)	
O1-Zn-Cl2		93,45(7)	
O1-Zn-Cl3		96,74(7)	
Cl2-Zn-Cl3		118,43(3)	
N1-Zn-Cl			98,4(2)
N1-Zn-O			99,1(3)
N2-Zn-Cl			135,2(2)
N2-Zn-O			119,7(3)
O1-Zn-Cl			104,9(2)
O1-Zn-O			93,3(3)
O-Zn-Cl			105,1(2)

5.1 – Determinação da atividade antibacteriana.

Foram realizados testes quantitativos para determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos complexos de zinco(II) com as hidrazonas derivadas da piridina contra bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), e fungo *Candida albicans* (ATCC 18804 e ATCC 10231). Os complexos de zinco(II) mostraram-se inativos em todos os casos avaliados.

6 – COMPLEXOS DE COBRE(II) DE 2-PIRIDINA AROIL HIDRAZONAS: A COORDENAÇÃO AO COBRE(II) COMO ESTRATÉGIA DE OBTENÇÃO DE NOVOS AGENTES ANTIMICROBIANOS E CITOTÓXICOS

Neste capítulo foram obtidos os complexos de cobre(II) de 2-formilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2FopClPh), 2-formilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2FopNO₂Ph), 2-acetilpiridina acetilhidrazona (H2AcMe), 2-acetilpiridina benzoilhidrazona (H2AcPh), 2-acetilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2AcpClPh), 2-acetilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoilpiridina acetilhidrazona (H2BzMe), 2-benzoilpiridina benzoilhidrazona (H2BzPh), 2-benzoilpiridina *para*-cloro-benzoilhidrazona (H2BzpClPh), 2-benzoilpiridina *para*-nitro-benzoilhidrazona (H2BzpNO₂Ph), usando cloreto de cobre(II) como sal de partida. A equação da reação é representada da seguinte forma:



As sínteses foram feitas de acordo com o procedimento descrito na sessão 2.2.3. Os compostos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutimetria, por espectroscopia de infravermelho, momento magnético, espectroscopia paramagnética eletrônica e as estruturas em estado sólido mediante o método de difração de raios X de monocristal.

Os complexos obtidos e caracterizados foram testados para determinar sua atividade antibacteriana frente a bactérias, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9070, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 e fungos *Candida albicans* ATCC 18804 e 10231.

Foram obtidos dez complexos: [dicloro(2-formilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazona)cobre(II)] [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (33), [cloro(2-formilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2FopNO₂Ph)Cl] (34), [dicloro(2-acetilpiridina acetilhidrazona)cobre(II)] [Cu(H2AcMe)Cl₂] (35), [cloro(2-acetilpiridinabenzoilhidrazonato)cobre(II)] dihidratado [Cu(2AcPh)Cl]·2H₂O (36), [cloro(2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] dihidratado [Cu(2AcpClPh)Cl]·2H₂O (37), [cloro(2-acetilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl] (38), [dicloro(2-benzoilpiridina-acetilhidrazona)cobre(II)] [Cu(H2BzMe)Cl₂] (39), [cloro(2-benzoilpiridina-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2BzPh)Cl] (40), [cloro(2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2BzpClPh)Cl] (41) e [cloro(2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2BzpNO₂Ph)Cl] (42).

Os resultados de análise elementar quantitativa e medidas de condutimetria sugerem a formação dos compostos anteriormente descritos (Tabela 6.1). Nos complexos **33**, **35** e **39** a hidrazona coordena-se como ligante neutro, mas nos outros o ligante encontra-se na forma aniônica. As condutividades molares revelam que todos os compostos não são eletrolíticos, de acordo com as formulações propostas. Os valores do momento magnético para os compostos entre 1,76-1,88 MB são característicos do íon cobre(II)^{1,2}.

A estrutura geral desses compostos está representada na Figura 6.1.

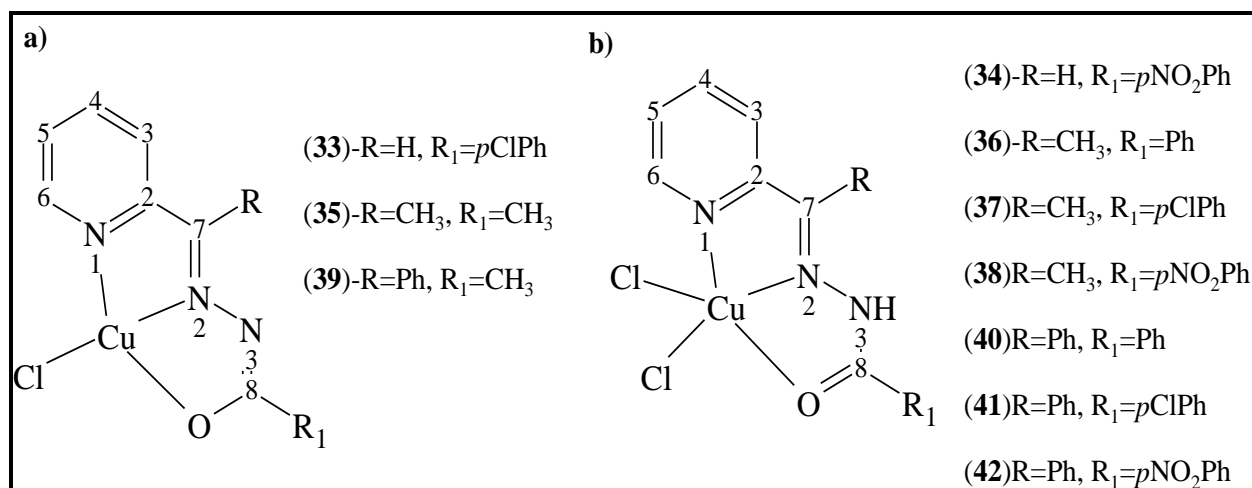


Figura 6.1 – Estrutura geral dos complexos de cobre(II).

As principais bandas nos espectros de infravermelho das hidrazonas e seus complexos de cobre(II) encontram-se na Tabela 6.2. A vibração encontrada entre 1587 e 1618 cm⁻¹, atribuída à $\nu(\text{C}=\text{N})$ nos espectros das hidrazonas livres, se desloca para 1595 - 1609 cm⁻¹ nos espectros dos complexos de cobre(II) indicando a coordenação pelo nitrogênio azometínico (N2)³. A vibração $\nu(\text{C}=\text{O})$, observada em 1651 e 1663 cm⁻¹ nos espectros das hidrazonas, desloca-se para 1600-1630 cm⁻¹ nos complexos **33**, **35** e **39**, sugerindo a coordenação pelo oxigênio carbonílico⁴ (Figura 6.2).

¹ Sulek, C.; Kumar, A.; *Spectrochimica acta*, A. **2007**, 68, 469

² Sulek, C.; Kumar, A.; *Spectrochimica acta*, A. **2007**, 68, 1410

³ Perez-Rebolledo, A.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Teixeira, L.R.; Batista, A.A.; Beraldo, H.; *J. Mol. Struct.* **2006**, 18, 794

⁴ Nakamoto, K.; *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, fourth ed., Wiley, New York. **1986**.

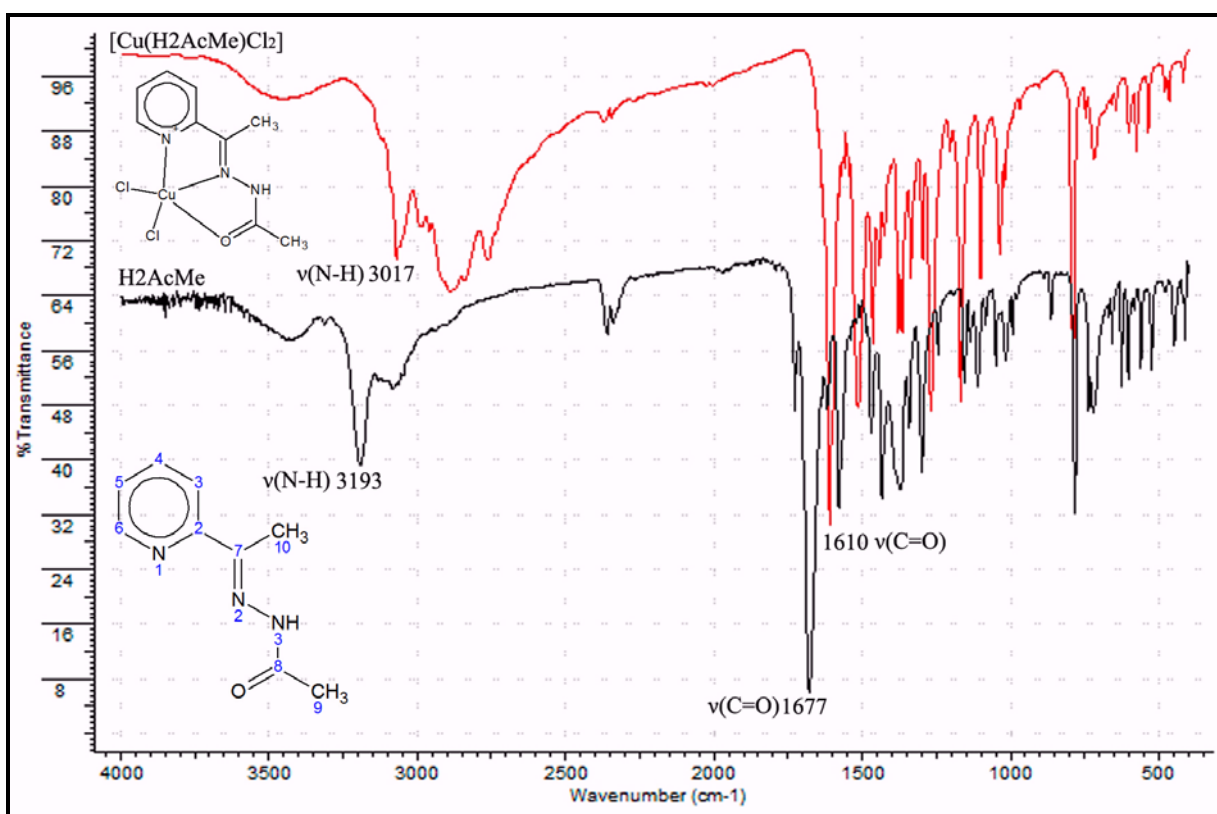


Figura 6.2 – Espectros de IV do complexo $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{AcMe})\text{Cl}_2]$ (35) e do ligante H_2AcMe (15).

Tabela 6.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento, condutividade molar e momentos magnéticos dos complexos de cobre(II) com hidrazonas derivadas de 2-formilpiridina, 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.

Composto	Rendimento (%)	% C	% H	%N	MM (g/mol)	$\Lambda_M \Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$	μ_{eff} (MB)
[Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33)	70	39,18(39,61)	2,11(2,56)	10,57(10,66)	394,15	33,32	1,76
[Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl] (34)	77	42,00(42,20)	2,05(2,46)	15,36(15,21)	368,24	13,38	1,82
[Cu(H2AcMe)Cl ₂] (35)	92	34,33(34,68)	3,20(3,56)	13,27(13,48)	311,65	31,50	1,78
[Cu(2AcPh)Cl].2H ₂ O (36)	90	44,99(45,04)	4,29(4,32)	11,24(11,26)	373,29	37,50	1,88
[Cu(2AcpClPh)Cl].2H ₂ O (37)	90	41,50(41,24)	3,66(3,71)	10,26(10,31)	407,73	36,66	1,84
Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl] (38)	87	43,55(43,99)	2,84(2,90)	14,30(14,66)	382,26	5,28	1,88
[Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39)	71	44,79(44,99)	3,47(3,51)	11,17(11,24)	372,72	16,28	1,77
[Cu(2BzPh)Cl] (40)	86	57,22(57,15)	3,41(3,53)	10,40(10,52)	399,33	21,56	1,82
[Cu(2BzpClPh)Cl] (41)	86	52,61(52,75)	2,99(3,02)	9,85(9,69)	433,77	37,40	1,88
[Cu(2BzpNO ₂ Ph)Cl] (42)	74	51,21(51,36)	2,94(2,95)	12,15(12,61)	444,33	20,68	1,88

Tabela 6.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de cobre(II) com hidrazonas derivadas de 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$); CsI ($400\text{-}200\text{ cm}^{-1}$).

Compostos	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=N}$	$\nu\text{N=C}$	$\rho(\text{py})$	$\nu\text{M-N}$	$\nu\text{M-O}$
H2FopClPh (13)	3175	1651	1592		618	-	
[Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33)	3074	1600	1598	1491	629	412	330
H2FopNO ₂ Ph (14)	3227	1663	1601		618	-	
[Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl] (34)	-	-	1607	1491	649	411	329
H2AcMe (15)	3193	1676	1618		624	-	
[Cu(H2AcMe)Cl ₂] (35)	3070	1610	1598	-	644	417	333
H2AcPh (16)	3181	1655	1616		620	-	
[Cu(2AcPh)Cl].2H ₂ O (36)	-	-	1602	1493	647	415	332
H2AcpClPh (17)	3287	1659	1607		623	-	
[Cu(2AcpClPh)Cl].2H ₂ O (37)	-	-	1602	1495	644	416	333
H2AcpNO ₂ Ph (18)	3188	1681	1601		619	-	
[Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl] (38)	-	-	1600	1495	649	417	326
H2BzMe (19)	3054	1663	1587		619	-	
[Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39)	3094	1630	1600	-	646	415	337
H2BzPh (20)	3063	1687	1601		614	-	
[Cu(2BzpPh)Cl] (40)	-	-	1596	1494	645	421	304
H2BzpClPh (21)	3064	1686	1603		615	-	
[Cu(2BzpClPh)Cl] (41)	-	-	1594	1495	645	424	314
H2BzpNO ₂ Ph (22)	3105	1680	1603		615	-	
[Cu(2BzpNO ₂ Ph)Cl] (42)	-	-	1595	1497	647	424	307

Nos complexos **34,36-38** e **40-42** não foi encontrada absorção atribuível a $\nu(\text{C=O})$, mas uma banda adicional foi encontrada entre $1491\text{-}1497\text{ cm}^{-1}$, correspondente a vibração $\nu(\text{C=N})$,

em razão da presença da nova ligação N=C formada após coordenação e desprotonação do ligante¹, Figura 6.3.

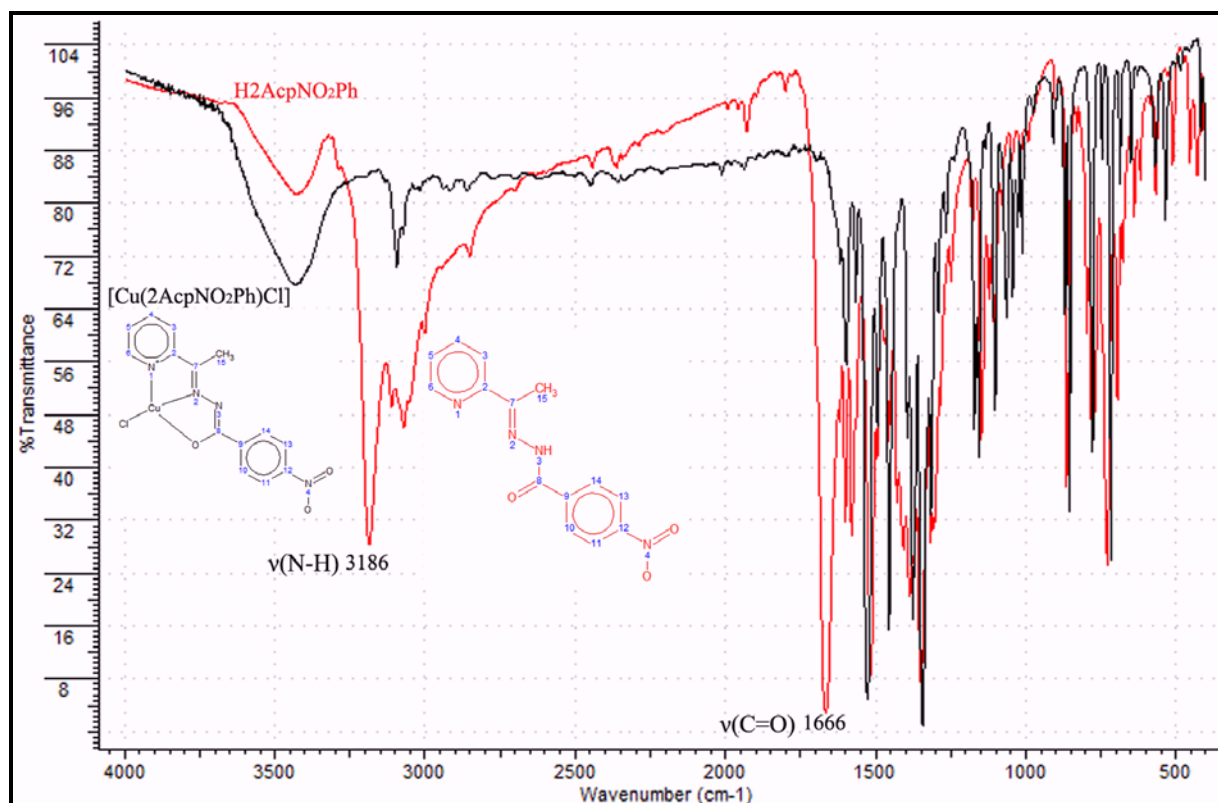


Figura 6.3 – Espectros de IV do Complexo [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl] (**38**) e o ligante H₂AcpNO₂Ph (**18**).

A deformação no plano no anel piridina que se encontra-se em 614 - 624 cm⁻¹, nos espectros das hidrazonas, desloca-se para 629-649 cm⁻¹ nos espectros dos complexos, sugerindo coordenação no nitrogênio heterocromático^{5,6,7}. A análise dos espectros de infravermelho indica a coordenação pelo sistema quelante Npy-N-O.

A presença das duas moléculas de água nos compostos **36** e **37** foi confirmado mediante análise termogravimétrica. Processos endotérmicos em 237,9 e 253,7°C foram observados nos termogramas dos compostos, com perdas de massa associada de 9,83 e 8,84 % para os complexos **36** e **37**. A porcentagem da perda de água calculada para os compostos é de 9,64 e 8,82 %, respectivamente, Figura 6.4.

⁵ Sreeja, P.B.; Prathapachandra, M.R.K.; Kishore, A.; Jasmin, C.; *Polyhedron*. **2004**, 23, 575.

⁶ Recio Despaigne, A.A.; Da Silva, J.G.; Do Carmo, A.C.M.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Beraldo, H.; *Polyhedron*. **2009**, 28, 3797.

⁷ Recio Despaigne, A.A.; Da costa, F.B.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Louro, S.R.W.; Beraldo, H.; *Polyhedron*. **2012**, 38, 285.

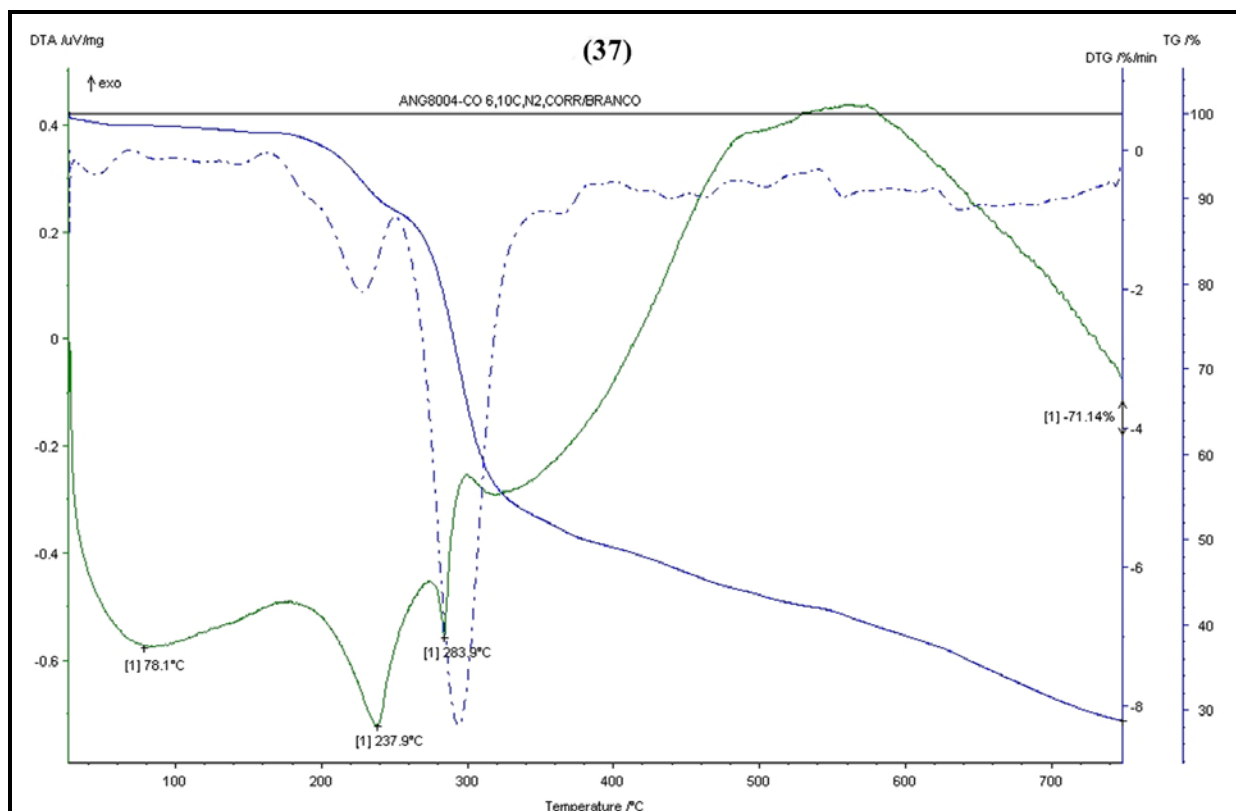


Figura 6.4 – Termograma do composto $[\text{Cu}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**37**).

Os espectros de RPE dos complexos **36**, **37**, **38**, **40**, **41** e **42** em estado sólido (300 K) estão representados na Figura 6.5. Estes espectros são característicos de complexos mononucleares de cobre(II) com simetria axial. Os valores de g_{\parallel} e g_{\perp} , 2,24 e 2,08, respectivamente, são característicos desse tipo de compostos⁸. Os valores são consistentes com o estado fundamental $d_{x^2-y^2}$. Nos espectros falta a estrutura hiperfina de 4 linhas devido à interação com o momento magnético nuclear do íon cobre (II) ($I = 3/2$), como é frequente em casos de amostras sólidas concentradas em que interações de troca estão presentes^{9,10}. Dado que esses sistemas são magneticamente não-diluídos, as linhas são marcadamente largas em razão das interações magnéticas dipolo-dipolo.

⁸ Bontchev, P.R.; Ivanova, B.B.; Mehandjiev, D.R.; *Polyhedron*. **2001**, 20, 231.

⁹ Hathaway, B.J.; Billing, D.E.; *Coord. Chem. Rev.* **1970**, 5, 143.

¹⁰ K. O. Ferraz; S. M. S. V. Wardell; J. L. Wardell; S. R. W. Louro; H. Beraldo, *Spectrochimica Acta Part A* 73. **2009**, 140.

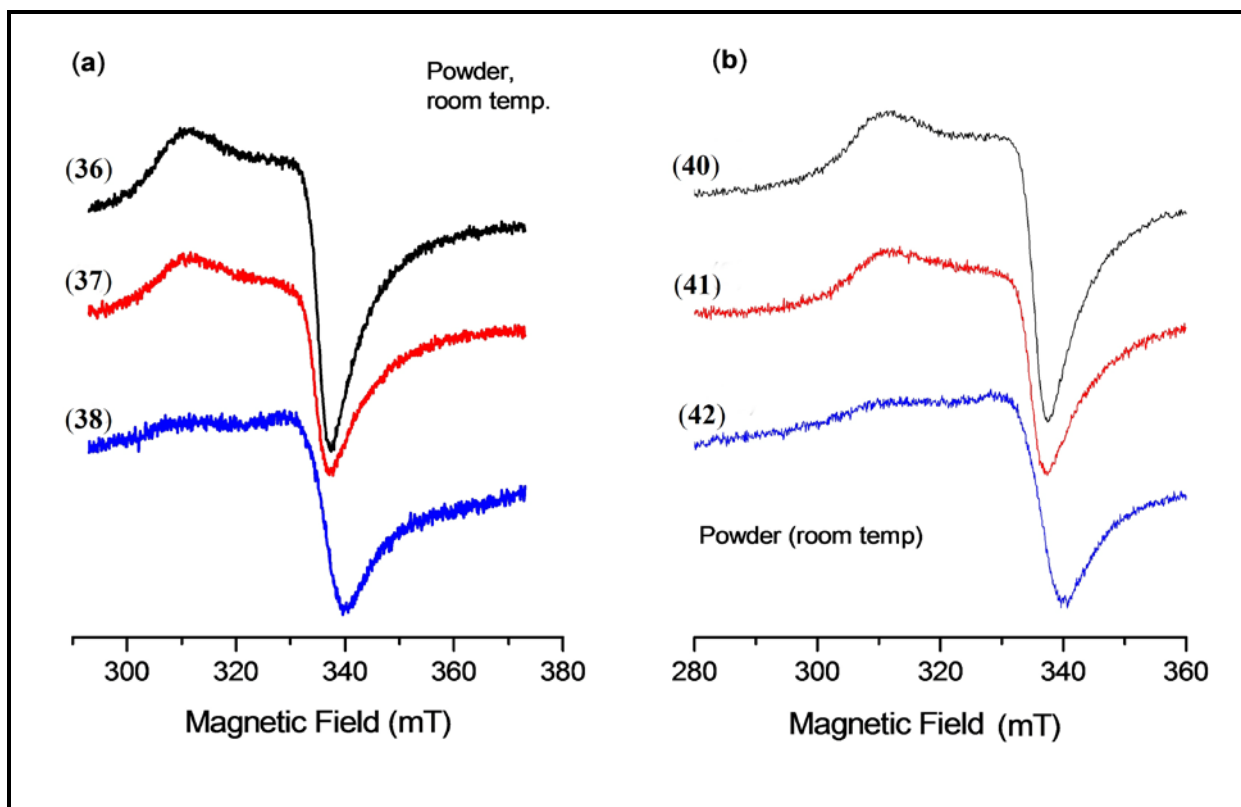


Figura 6.5 – Espectros de EPR dos complexos de cobre (II) no estado sólido a temperatura ambiente.

Os espectros dos complexos em solução de DMSO foram feitos a 77 K (Fig. 6.6). O espectro do composto **36** mostra uma superposição entre um componente de simetria axial, a qual mostra três das quatro linhas de desdobramento hiperfino com parâmetros de $g_{\parallel} = 2,25$, $g_{\perp} = 2,08$ e $A_{\parallel} = 17,0$ mT; e um componente largo. Os compostos **37** e **38** mostram apenas o componente largo, sendo pouco notada a região paralela. Esse alargamento se deve ao fato de que os compostos estão mais agregados o que aumenta a interação dipolar magnética e as interações de troca entre os íons cobre nos complexos.

Os espectros dos complexos **40**, **41** e **42** não apresentam o componente amplo e mostram um desdobramento hiperfino na região paralela. Estes resultados indicam que, ao contrário dos complexos derivados da 2-acetilpiridina, os derivados de 2-benzoilpiridina não estão agregados em DMSO devido provavelmente à presença de substituintes volumosos. Em solução, a presença do grupo mais volumoso 2-benzoil piridina afasta os íons paramagnéticos. Com isso, as linhas são mais estreitas do que os complexos com 2-acetilpiridina, visto que o grupo volumoso faz diminuir a interação dipolar magnética entre os íons de cobre (que alarga as linhas). A presença do benzoil também impede a interação de troca, e então as 4 linhas do desdobramento hiperfino aparecem bem definidas na região de g_{\parallel} . O complexo **8** apresenta um componente simples com

$g_{\parallel} = 2,265$, $g_{\perp} = 2,064$, e $A_{\parallel} = 16,3$ mT. Os complexos **41** e **42** exibem um segundo componente menor com $g_{\parallel} = 2,194$ e $A_{\parallel} = 15,6$ mT, indicando dois microambientes para os íons cobre(II).

Ainda que os íons cobre(II) interajam nos complexos, com ao menos dois átomos de nitrogênio não equivalentes (N_{py} e N) os espectros dos complexos **36-38** não exibem a estrutura super-hiperfina do nitrogênio (Figura 6.6a). Esta estrutura é observada na região perpendicular dos espectros dos complexos **40-42**. No gráfico inserido, na Figura 6.6 b, observa-se a segunda derivada do espectro do complexo **40** nesta região, com uma constante de desdobramento super-hiperfino $A_N = 1,65$ mT. Contudo, o número de linhas nesse espectro não está claro, uma vez que o desdobramento hiperfino não está bem resolvido.

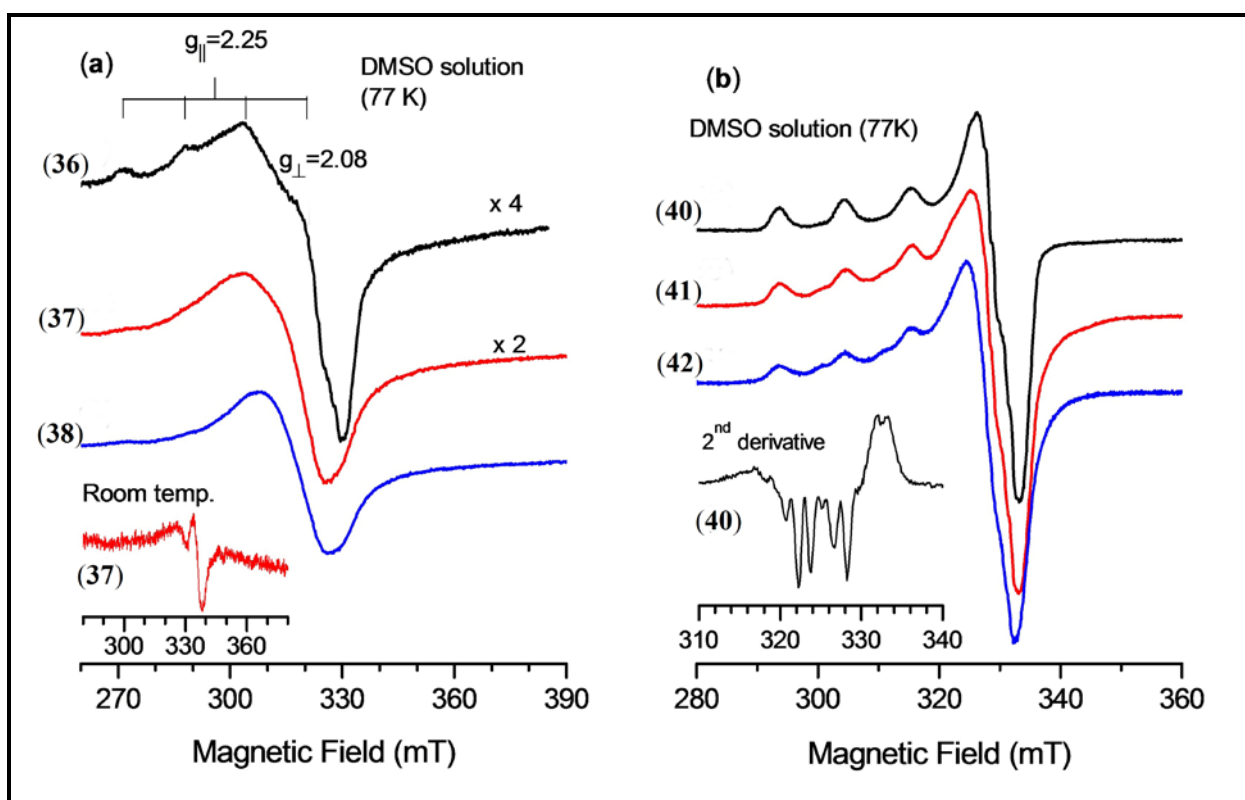


Figura 6.6 – Espectros de EPR dos complexos de cobre (II) em DMSO a 77K.

Os dados dos cristais e resultados dos refinamentos dos complexos estão mostrados na Tabela 6.3. Depois da recristalização em DMSO : acetona, acontece a conversão dos complexos **34** e **38** em [cloro(O-dimetilsulfóxido)(2-formilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**34a**) e [cloro(O-dimetilsulfóxido)(2-acetilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)cobre(II)] [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**38a**), respectivamente. As estruturas cristalinas dos complexos **33**, **34a** e **38a** estão representadas nas Figuras 6.7, 6.8 e 6.9^{6,7}. A Tabela 6.4 mostra os dados de distância de ligação e ângulos nas estruturas cristalinas dos compostos **33**, **34a** e **38a**.

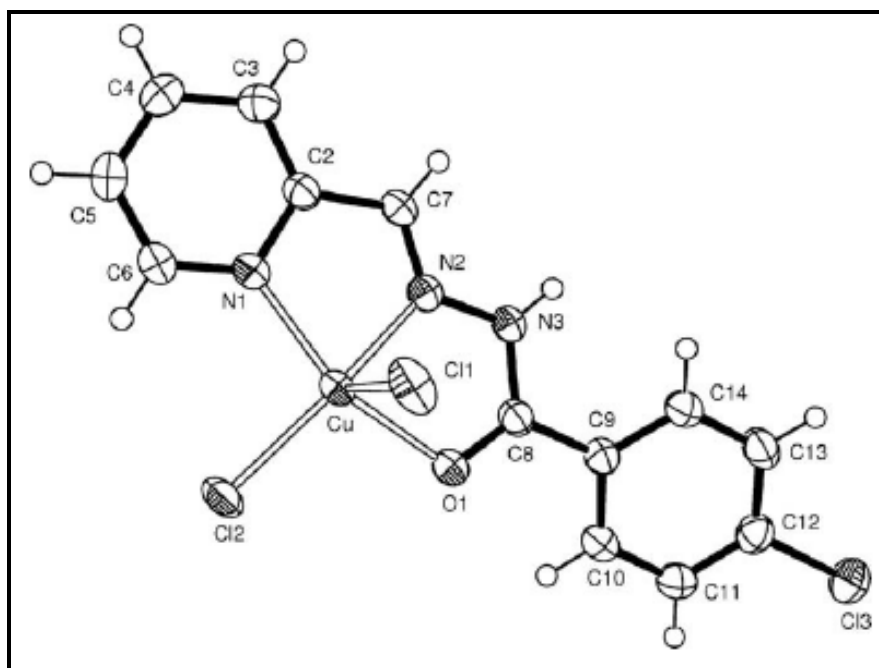


Figura 6.7 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**33**).

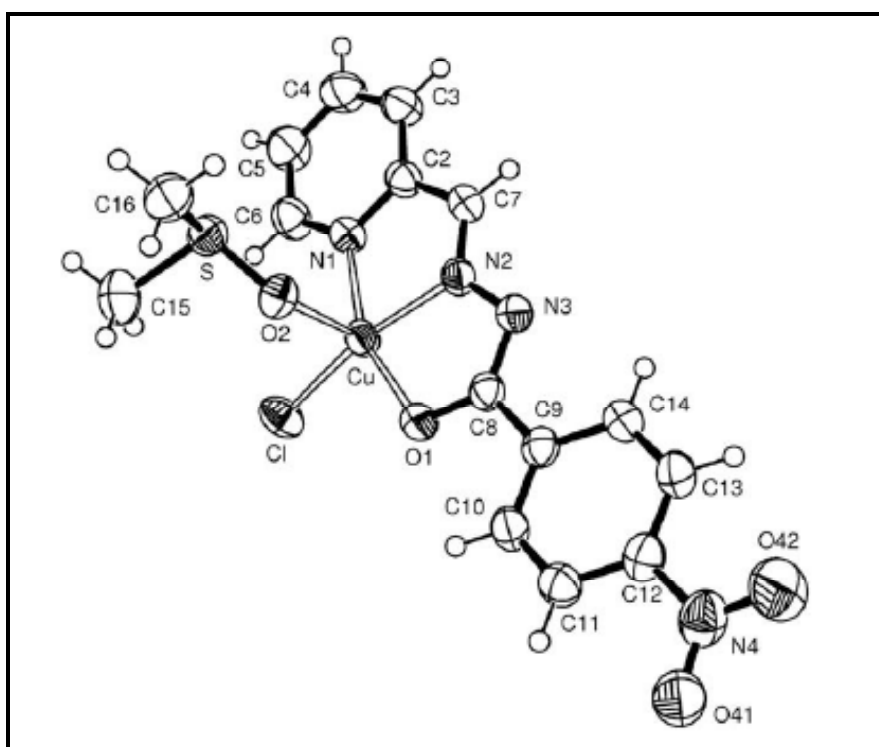


Figura 6.8 – Diagrama ORTEP do complexo $[\text{Cu}(2\text{FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**34a**).

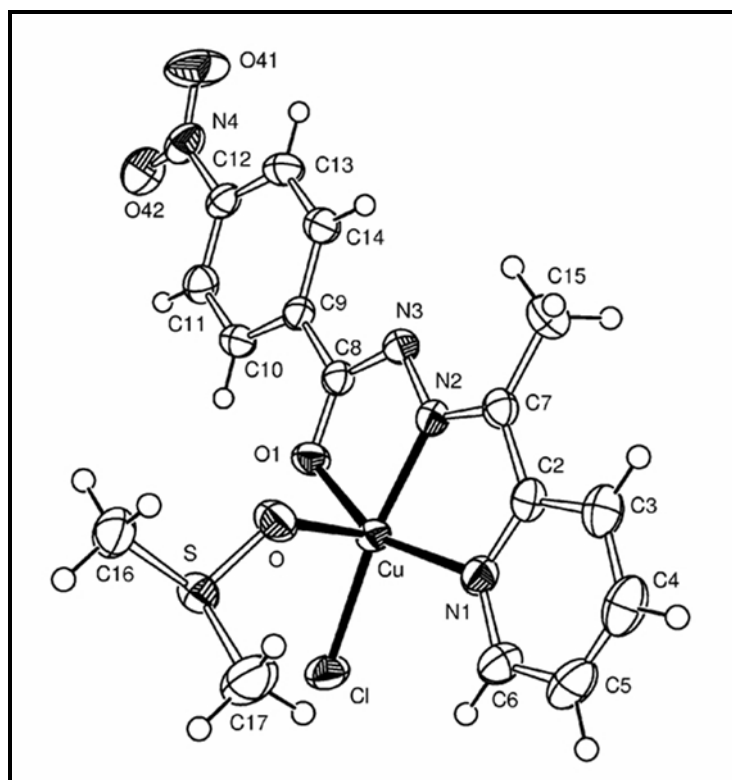


Figura 6.9 – Diagrama ORTEP do complexo [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**38a**).

No complexo **33** a hidrazona encontra-se na forma neutra ligada ao átomo de cobre(II) com dois íons cloreto, enquanto que em **34a** e **38a** o ligante se coordena na forma aniônica ao centro metálico, conjuntamente com um íon cloreto e uma molécula de DMSO. Em todos os complexos o metal encontra-se numa geometria de pirâmide de base quadrada distorcida com valores de τ de 0,21 para **33**, 0,07 em **34a** e 0,20 no complexo **38a**, respectivamente.

Em todos os compostos, o fragmento do esqueleto hidrazônico Py(C=N)N(C=O)N define o plano de coordenação (os átomos apresentam desvio com respeito ao plano menor que 0,040 Å) com o íon metálico situado mais perto do plano nos complexos **34a** e **38a** que no complexo **33** [cobre(II) a 0,382(2), 0,104(1) e 0,233(1) Å em **33**, **34a** e **38a**, respectivamente]. Em **34a** e **38a**, provavelmente, acontece uma competição pela carga positiva do metal entre o átomo de cloro e a hidrazona em forma aniônica. A interação entre o centro metálico e a hidrazona aniônica faz com que o metal fique mais perto do plano do esqueleto hidrazônico em **34a** e **38a** que em **33**, onde o efeito de atração dos dois íons cloreto pela carga positiva do centro metálico predomina ante a interação entre o metal e a hidrazona neutra. Em **34a** e **38a** o grupo NO₂ terminal está quase coplanar com o anel fenila [ângulo de 7,1(5)° e 9,08(2)°, respectivamente].

Para o complexo **33** a distância de ligação C8-O1 na hidrazona tem valores de 1,243(3) Å enquanto nos complexos **34a** e **38a** esta distância de ligação é de 1,285(3) e 1,284(2) Å,

respectivamente. Isto é devido ao fato de que a hidrazona está em forma aniônica, em **34a** e **38a**, apresentando a ligação C8-O1 certo caráter de ligação simples. A distância da ligação N3-C8 tem valores de 1,359(3) Å no complexo **33**, e de 1,331(3) e 1,327(3) Å nos complexos **34a** e **38a**, em concordância com maior caráter de ligação dupla dos últimos. Interessantemente, as distâncias de ligação O1-M são de 2,137(2) Å para **1**, e de 1,988(2) e 1,994(1) Å para **34a** e **38a**, em concordância com a presença da carga negativa no átomo de oxigênio que aumenta a força da ligação M-O1 nos complexos **34a** e **38a**.

Analisando os complexos **33**, **34a** e **38a** verifica-se que os ângulos N1-M-N2 e N2-M-O1 apresentam pequenas mudanças (Tabela 5.7). O ângulo N1-M-O1 muda de 150,28(8) em **33** a 158,06(8) e 156,81(6) em **34a** e **38a**, respectivamente, pela maior deslocalização eletrônica após a desprotonação do nitrogênio N3 nos complexos **34a** e **38a**. Analogamente, os ângulos N3-C8-O1 vão de 120,4(2) em **33** a 125,1(2) e 125,25(18) em **34a** e **38a**, respectivamente, devido ao mesmo efeito.

Comparações entre **33**, **34a** e **38a** revelam que as distâncias de ligações dentro dos ligantes hidrazonas não são muito diferentes, mas, como esperado, as distâncias M-L [M = cobre(II)], variam apreciavelmente. De forma similar, os ângulos das ligações dentro do esqueleto hidrazona não mudam significativamente.

A estrutura do composto **35** foi determinada e publicada por outro grupo de pesquisa¹¹. Nossos resultados, obtidos da caracterização do pó desse composto, estão em correspondência com a estrutura reportada previamente.

¹¹Datta, A.; Das, Kuheli.; Yan-Ming, J.; Jui-Hsien, H. and Lee H. M.; *Acta Crystallographica*. **2011**, E67, m123.

Tabela 6.3 – Dados cristalográficos e parâmetros do refinamento estrutural para [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**33**), [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**34a**), [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**38a**), [Cu(H2BzMe)Cl₂] (**39**) e [Cu(2BzMe)Cl]₂ (**39a**).

	33	34a	38a	39	39a
Formula empírica	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₃ CuN ₃ O ₂ S	C ₁₅ H ₁₅ ClCuN ₄ O ₄ S	C ₁₆ H ₁₇ ClCuN ₄ OS	C ₁₄ H ₁₅ Cl ₂ CuN ₃ O ₂	C ₂₈ H ₂₄ Cl ₂ Cu ₂ N ₆ O ₂
Peso molecular	470,24	446,36	460,39	391,73	674,51
Temperatura	296(2)	296(2)	296(2)	-	-
Comprimento de onda	0,71073	0,71073	0,71073	-	-
Sistema cristalino, grupo espacial	Monoclínico, P2 ₁ /c	Monoclínico, P2 ₁ /n	Monoclínico, P 21/c	Monoclínico, P2 ₁ /a	Monoclínico, P 21/n
Dimensões da célula unidade					
a(Å)	8,4375(3)	9,4069(3)	12,8481(4)	8,4631	7,3876
b(Å)	11,9811(3)	8,1714(3)	7,8598(2)	21,7169	13,323
c(Å)	18,5793(6)	23,7042(9)	19,0296(5)	9,3480	13,7890
α(*)			90,00	90,00	90,00
β(*)	94,219(1)	91,782(2)	107,587(2)	104,132	92,556
γ(*)			90,00	90,00	90,00
Volume (Å ³)	1873,1(1)	1821,2(1)	1831,85	1658,60	1355,8
Z, densidade calculada (Mg/m ³)	4; 1,668	4; 1,628	4; 1,669	4; 1,569	2; 1,652
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	1,719	1,489	1,483	1,647	1,805
F(000)	948	908	940	796	684
Dimensões do cristal (mm ³)	0,16x0,13x0,05	0,20x0,11x0,04	-	0,31x 0,27x 0,11	0,28x 0,06x 0,05

(continua)

Tabela 6.3 – Dados cristalográficos e parâmetros do refinamento estrutural para [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**33**), [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**34a**), [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**38a**), [Cu(H2BzMe)Cl₂] (**39**) e [Cu(2BzMe)Cl]₂ (**39a**) (continuação).

	33	34a	38a	39	39a
Cor e forma do cristal	Amarelo/prisma	Amarelo/placa	-	Verde, prismático	Vermelho, prismático
Intervalo de coleta de dados θ	2,96-26,00°	2,64-26,00°	2,82-25,74	3,12-26,00	3,06-25,99
Intervalos de hkl	-10 ≤ h ≤ 10	-11 ≤ h ≤ 11	-15 ≤ h ≤ 15	-10 ≤ h ≤ 9	-9 ≤ h ≤ 8
	-14 ≤ k ≤ 14	-9 ≤ k ≤ 10	-9 ≤ k ≤ 9	-24 ≤ k ≤ 26	-14 ≤ k ≤ 16
	-22 ≤ l ≤ 22	-28 ≤ l ≤ 29	-23 ≤ l ≤ 23	-11 ≤ l ≤ 8	-16 ≤ l ≤ 16
Reflexões coletadas [R _{int} =0,0618]	20540/3675[R _{int} =0,0598]	14912/3565	18528 /3478[R _{int} =0,0500]	10367/3239[R(int)=0,0375]	6797/2665[R(int)=0,0703]
Reflexões observadas [I>2σ(I)]	3004	2771	2981	2818	1819
Completeza	99,8%(to $\theta=26,00^\circ$)	99,6%(to $\theta=26,00^\circ$)	-	99,1%	99,7%
Métodos de refinamento					
Dados/restrições/parâmetros	3675/0/245	3565/0/237	3478/0/224	3229/3/208	2665/0/182
S	1,056	1,080	1,037	1,034	0,986
Pesos, w	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,048P)^2+1,49P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$[\sigma^2(F_o^2)+(0,047P)^2+0,39P]^{-1}$	$1/[\sigma^2(F_o^2)+(0,0469P)^2+0,5645P]$ P=(F _o ² +2F _c ²)/3'	$\sigma^2(F_o^2)+(0,044P)^2+0,79P]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3	$\sigma^2(F_o^2)+(0,039P)^2]^{-1}$ P=[Max(F _o ² ,0)+2F _c ²]/3
Índices finais R [I>2σ(I)]	R ₁ =0,0352, wR ₂ =0,0922	R ₁ =0,0372, wR ₂ =0,0875	R ₁ = 0,0292, wR ₂ =0,0754	0,0311; 0,0381	0,0391; 0,0715
Índices R (all data)	R ₁ =0,0466, wR ₂ =0,0983	R ₁ =0,0550, wR ₂ =0,0962	R ₁ =0,0364, wR ₂ =0,0800	0,0820; 0,0867	0,0843; 0,0959
$\Delta\rho$ max./min. (e Å ⁻³)	0,524 e -0,501	0,299 e -0,512	-	0,268 e -0,381	0,351 e -0,585

Tabela 6.4 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**33**), [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**34a**) e [Cu(2Ac_pNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**38a**).

Atribuições	33	34a	38a
N1-C2	1,361(3)	1,363(3)	1.356(3)
C2-C7	1,459(4)	1,459(4)	1.474(3)
N2-C7	1,277(3)	1,284(3)	1.290(3)
N2-N3	1,361(3)	1,363(3)	1.365(2)
N3-C8	1,359(3)	1,331(3)	1.327(3)
O1-C8	1,243(3)	1,285(3)	1.284(2)
M-N1	2,044(2)	2,043(2)	2.049(2)
M-N2	1,971(2)	1,942(2)	1.936(2)
M-O1	2,137(2)	1,988(2)	1.994(1)
M-Cl1	2,4344(8)		
M-Cl2	2,2212(8)		
M-Cl		2,2354(7)	2.2364(6)
M-O2		2,242(2)	2.267(2)
Ângulos de ligação			
N1-C2-C7	114,4(2)	114,2(2)	115.00(17)
C2-C7-N2	144,4(2)	114,8(2)	112.55(18)
C7-N2-N3	124,7(2)	122,9(2)	122.01(17)
N2-N3-C8	113,5(2)	107,3(2)	107.91(16)
N3-C8-O1	120,4(2)	125,1(2)	125.45(18)
C6-N1-M	128,6(2)	129,2(2)	127.86(16)
C2-N1-M	112,4(2)	112,3(2)	112.19(13)
C7-N2-M	118,5(2)	118,6(2)	120.32(14)
N3-N2-M	116,8(2)	118,5(2)	117.66(12)
C8-O1-M	112,0(2)	110,6(2)	109.70(13)
N1-M-N2	78,91(9)	79,86(9)	79.24(7)
N2-M-O1	76,17(8)	78,52(8)	79.15(6)
N1-M-O1	150,28(8)	158,06(8)	156.81(6)
N1-M-Cl1	105,26(7)		
N1-M-Cl2	97,71(7)		
N2-M-Cl1	92,90(7)		
N2-M-Cl2	163,28(7)		
O1-M-Cl1	92,00(6)		
O1-M-Cl2	101,48(6)		
Cl1-M-Cl2	103,76(3)		
N1-M-Cl		98,88(6)	99.38(5)
N1-M-O2		93,78(8)	88.56(6)
N2-M-Cl		162,64(7)	168.92(5)
N2-M-O2		95,06(8)	93.12(6)
O1-M-Cl		100,63(5)	100.21(4)
O1-M-O2		91,80(7)	100.91(6)
O2-M-Cl		102,29(5)	97.84(4)

Os cristais dos compostos $[\text{Cu}(\text{H}2\text{BzMe})\text{Cl}_2]$ (**39**) e $\text{bis}[(\mu\text{-cloro-2-benzoil-piridina-acetilhidrazonato)cobre(II)]$ $[\text{Cu}(2\text{BzMe})\text{Cl}]_2$ (**39a**) foram obtidos da mistura 1:9 DMSO-acetona. Os complexos **39** e **39a** co-cristalizam da mesma solução de DMSO-acetona. Como havia uma quantidade muito pequena de **39a** não foi possível estudá-lo por meio de outras técnicas, a não ser através de difração de raios X de monocristal. Na tabela 6.5 apresenta-se as distâncias de ligação e ângulos das estruturas cristalinas dos compostos **39** e **39a**. Figuras 6.10 e 6.11 mostram os diagramas ORTEP desses complexos¹².

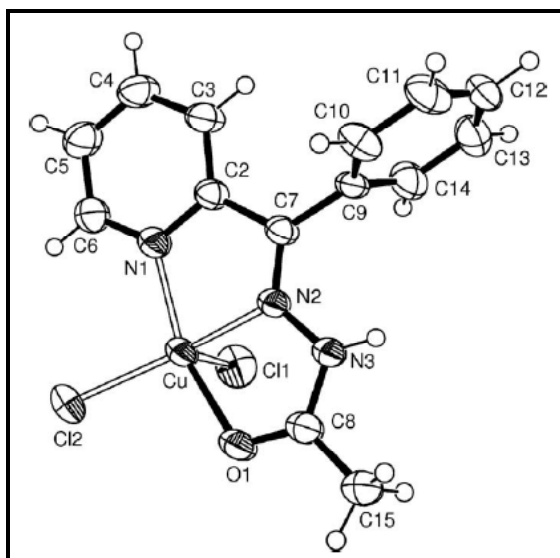


Figura 6.10 – Diagrama molecular ORTEP do monômero $[\text{Cu}(\text{H}2\text{BzMe})\text{Cl}_2]$ (**39**).

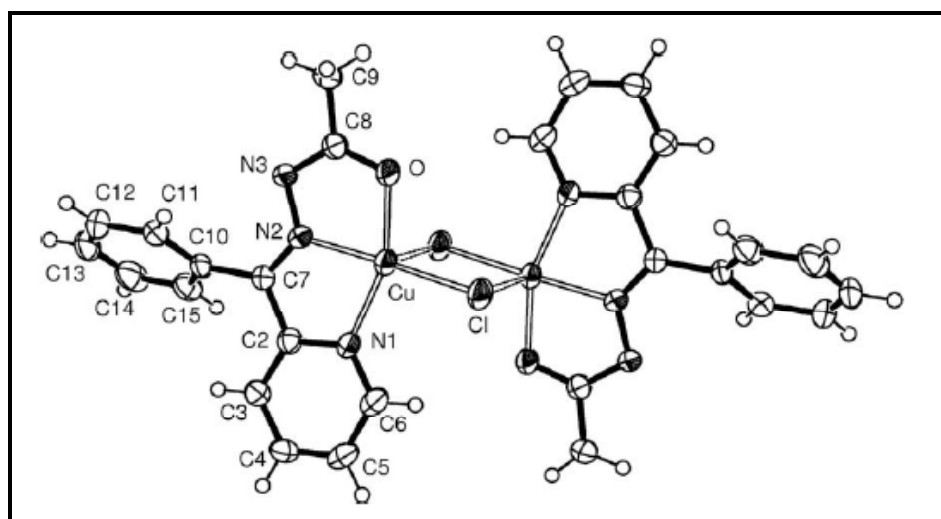


Figura 6.11 – Diagrama molecular ORTEP do dímero $[\text{Cu}(2\text{BzMe})\text{Cl}]_2$ (**39a**).

¹² Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *J. Molec. Struct.* **2009**, 97, 920.

Na estrutura de **39** o íon de cobre(II) está pentacoordenado, ligado a uma molécula neutra da hidrazona, que atua como ligante tridentado, coordenando-se ao centro metálico através dos nitrogênios piridínico e imínico e pelo oxigênio carbonílico, dois íons cloreto ocupam as posições de coordenação remanescentes. Neste complexo os átomos N1, N2, O e Cl2 ocupam o plano basal de uma pirâmide quadrada distorcida, e o átomo Cl1 está localizado na posição apical com valor de $\tau = 0,13$. No dímero $[\text{Cu}(\text{2BzMe})\text{Cl}]_2$ (**39a**) cada átomo de cobre(II), no centro de uma pirâmide quadrada distorcida, está ligado a uma hidrazona aniônica e a dois íons cloretos que atuam como ligantes pontes conectando os dois íons de cobre(II) um com o outro [$d(\text{Cu}-\text{Cl}) = 2,260(1)\text{Å}$, $d(\text{Cu}-\text{Cl}') = 2,723(1)\text{Å}$]. O complexo **39a** é centrossimétrico.

Em todos os compostos o fragmento do esqueleto hidrazônico $\text{Py}(\text{C}=\text{N})\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{N}$ define o plano de coordenação [desvio rms dos átomos do plano de $0,045\text{ Å}$ (**39**) e $0,086\text{ Å}$ (**39a**)] com o íon metálico situado perto deste plano $0,273(1)\text{ Å}$ (**39**) e $0,228(2)\text{ Å}$ (**39a**). O anel fenílico e o plano de coordenação formam ângulos diedros de $82,53(7)^\circ$ (**39**) e $53,2(10)^\circ$ (**39a**).

No complexo **39** a distância de ligação C8-O1 é de $1,243(3)\text{ Å}$, sendo que no ligante H2BzMe (**19**) esta distância é $1,217\text{ Å}$ (ver capítulo 4 seção 4.1). Isto se deve à formação da ligação M-O que debilita a ligação C-O. No complexo **39a** a distância da ligação C8-O é de $1,271(4)\text{ Å}$, porque a desprotonação em N3 faz aumentar o caráter de ligação simples da ligação (C8-O).

As distâncias de ligação N2-N3 e N3-C8, que no ligante (**19**) tem valores de $1,369(3)$ e $1,361(3)\text{ Å}$, respectivamente, são $1,361(2)$ e $1,347(3)\text{ Å}$ em **39** e $1,377(3)$ e $1,322(4)\text{ Å}$ em **39a**.

O ângulo C2-C7-N2 tem valores de $112,0(2)^\circ$ e $112,0(3)^\circ$ para os compostos **7** e **7a**, respectivamente. Comparando esses valores com o do ligante (**19**), $126,7(2)^\circ$, verifica-se a existência de uma grande variação devida a uma mudança na configuração da hidrazona, da forma *Z* como ligante livre para *E* nos complexos. O mesmo acontece com o ângulo C7-N2-N3 que varia de $120,2(2)^\circ$ em **19** a $124,9(2)^\circ$ e $124,2(3)^\circ$ em **39** e **39a**, respectivamente, devido à formação do anel quelato N1-M-N2. De forma similar o ângulo N2-N3-C8 muda de $120,4(2)^\circ$, no ligante **19** para $113,9(2)^\circ$ e $107,8(3)^\circ$ em **39** e **39a**, respectivamente, em razão da formação do anel quelato N2-M-O1.

Tabela 6.5 – Distâncias de ligações e ângulos selecionados nas estruturas moleculares de [Cu(H2BzMe)Cl₂] (**39**) e [Cu(2BzMe)Cl]₂ (**39a**).

Atribuições	39	39a
N1-C2	1,356(3)	1,356(4)
C2-C7	1,481(3)	1,488(4)
N2-C7	1,279(3)	1,287(4)
N2-N3	1,361(2)	1,377(3)
N3-C8	1,347(3)	1,322(4)
O1-C8	1,243(3)	1,271(4)
M-N1	2,028(2)	2,006(3)
M-N2	1,962(2)	1,951(3)
M-O1	2,062(2)	1,958(2)
Cu-Cl	-	2,260(1)
M-Cl1	2,4628(7)	-
M-Cl2	2,2098(7)	-
Cu-Cl#1	-	2,723(1)
M#1-Cl	-	2,723(1)
Ângulos de ligação		
N1-C2-C7	114,8(2)	114,7(3)
C2-C7-N2	112,0(2)	112,0(3)
C7-N2-N3	124,9(2)	124,2(3)
N2-N3-C8	113,9(2)	107,8(3)
N3-C8-O	120,4(2)	125,3(3)
C6-N1-M	127,7(2)	127,8(2)
C2-N1-M	113,4(2)	113,3(2)
C7-N2-M	120,6(2)	119,4(2)
N3-N2-M	114,5(1)	116,4(2)
C8-O1-M	112,4(1)	11,2(2)
N1-M-N2	78,65(7)	79,8(1)
N2-M-O1	78,02(7)	79,23(9)
N1-M-O1	153,45(7)	158,0(1)
N1-M-Cl1	97,46(6)	-
N1-M-Cl2	99,92(6)	-
N2-M-Cl1	93,33(6)	-
N2-M-Cl2	161,39(6)	-
O1-M-Cl2	98,15(5)	-
Cl1-M-Cl2	105,23(3)	-
N2-Cu-Cl	-	169,39(8)
O1-Cu-Cl	-	99,28(7)
N1-Cu-Cl	-	100,06(8)
N2-Cu-Cl#1	-	100,24(8)
O1-Cu-Cl#1	-	94,74(8)
N1-Cu-Cl#1	-	95,48(8)
Cl-Cu-Cl#1	-	90,34(3)
Cu-Cl-Cu#1	-	89,66(3)

6.1 – Estudo da atividade antimicrobiana.

Foram realizados testes quantitativos da atividade antimicrobiana *in vitro* dos complexos de cobre(II) com as hidrazonas contra bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9070 e contra fungos *Candida albicans* (ATCC 18804 e 10231). A determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental. Na Tabela 5.22 mostram-se, comparativamente, os resultados obtidos nos experimentos.

Pode-se observar que, em geral, a coordenação dos ligantes com cobre(II) faz aumentar a atividade dos compostos. Os melhores resultados foram obtidos para os complexos **33** (CIM = 82 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **36** (CIM = 49 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **37** (CIM = 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **40** (CIM = 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) frente a *S. aureus*, e **40** (CIM = 62 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) frente a *E. faecalis*, respectivamente. Os valores de CIM são maiores que os da tetraciclina (CIM = 0,36 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ contra *S. aureus*) e ciprofloxacina (CIM = 0,25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ contra *E. faecalis*), ambos fármacos de controle. Assim, o aparecimento de resistência a esses antibióticos torna os resultados deste estudo interessantes.

Os complexos **37** (CIM = 52 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **41** (CIM = 47 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) foram mais ativos que as hidrazonas (CIM = 86 e 69 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente) frente a *C. albicans*. Os valores de CIM destas hidrazonas são similares ao do fármaco de controle (fluconazol, CIM = 79 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), enquanto o CIM dos complexos é menor, sugerindo que os complexos podem ser interessantes como novos candidatos a fármacos antifúngicos.

Tabela 6.6 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas e complexos de cobre(II) contra *S. Aureus*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* e *C. albicans*.

Compostos	CIM (μmolL^{-1})				
	<i>C. albicans</i>		<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>
	ATCC 10231	ATCC 18804			
H2FopClPh (13)	1116	962	240	> 770	> 739
[Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33)	> 320	ND	82	> 497	> 487
H2FopNO ₂ Ph (14)	> 740	ND	> 740	> 754	> 725
[Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl] (34)	> 353	ND	138	> 532	> 553
H2AcMe (15)	> 719	ND	> 1773	> 844	> 1106
[Cu(H2AcMe)Cl ₂] (35)	> 463	ND	> 741	> 726	> 712
H2AcPh (16)	179	213	428	422	> 819
[Cu(2AcPh)Cl]·2H ₂ O (36)	229	147	49	> 535	131
H2AcpClPh (17)	86	46	197	383	> 738
[Cu(2AcpClPh)Cl]·2H ₂ O (37)	52	115	10	> 505	122
H2AcpNO ₂ Ph (18)	111	179	353	337	> 696
[Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl] (38)	220	ND	> 673	> 554	> 523
H2BzMe (19)	> 532	ND	> 834	> 1094	> 852
[Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39)	> 345	ND	273	> 525	> 525
H2BzPh (20)	105	> 829	177	> 670	> 657
[Cu(2BzPh)Cl] (40)	107	ND	20	> 510	62
H2BzpClPh (21)	69	ND	> 619	> 613	> 601
[Cu(2BzpClPh)Cl] (41)	47	ND	114	232	237
H2BzpNO ₂ Ph (22)	750	ND	> 600,5	> 577	> 577
[Cu(2BzpNO ₂ Ph)Cl] (42)	306	ND	140	> 441	112
CuCl ₂ ·2H ₂ O	> 1671	338	> 656	> 1255	> 2322
Tetraciclina	-	-	0,36	15	
Fluconazol	79	33	-		
Ciproxacina					0,25

ND: Não determinado

6.2 – Avaliação da atividade citotóxica.

Foram feitos estudos de avaliação citotóxica dos compostos frente a células de glioma maligno U87 e T98. O controle negativo foi tomado como sobrevivência de 100%. A Figura 6.12 apresenta a porcentagem de sobrevivência das células na presença dos compostos estudados na concentração de $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Como se pode observar os compostos (33, 34, 35, 39, 40, 41 e 42) apresentaram melhor perfil de inibição que as respectivas hidrazonas com valores de porcentagem de sobrevivência entre 44-74 % frente a células U87. Enquanto que frente a células T98 os compostos 36, 37, 38, 40, 41 e 42, apresentaram melhor perfil que as respectivas hidrazonas livres com valores de sobrevivência entre 0,4 e 31%. Todos os complexos foram mais ativos que o sal de partida (CuCl_2). Os complexos das 2-benzoilpiridina apresentaram melhor perfil de inibição que as respectivas hidrazonas frente as duas linhagens de células tumorais.

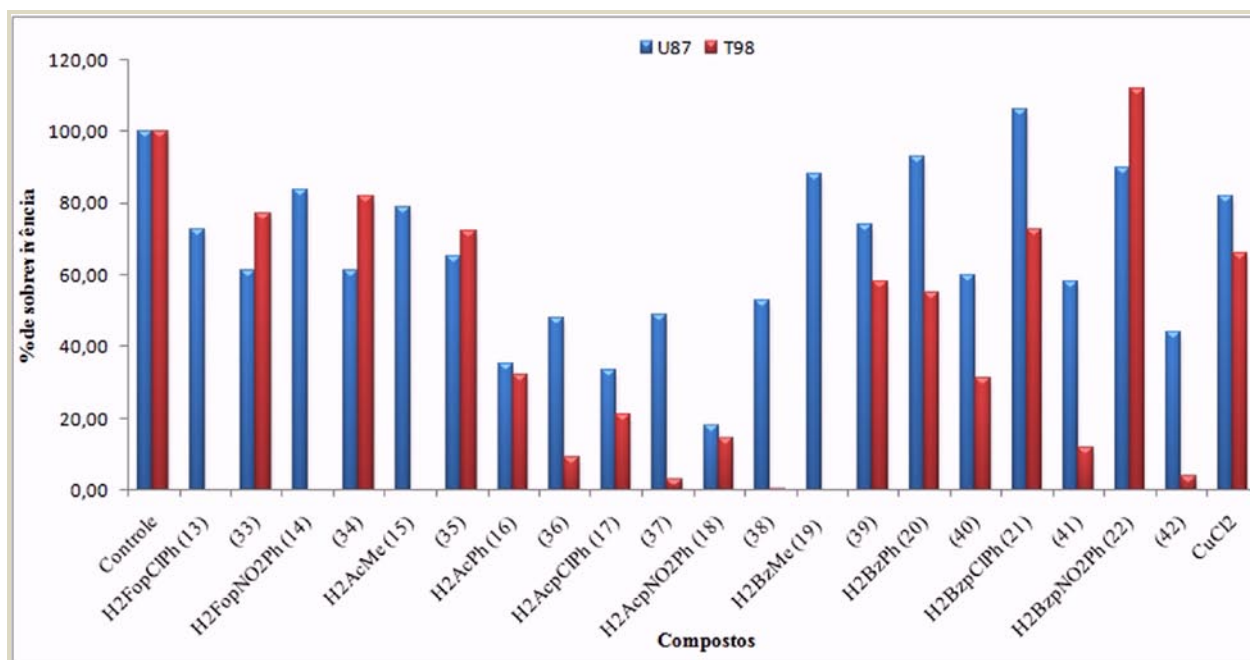


Figura 6.12 – Comparação do efeito citotóxico entre os complexos de cobre (II) e as hidrazonas derivadas da 2-formil, 2-acetil e 2-benzoilpiridina frente a células de glioma U87 e T98. As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.

Para avaliar como se comportam estes compostos frente a células não tumorais testamos os complexos frente a células MRC5 (fibroblastos de pulmão fetal humano) como modelo de células saudáveis, Figura 6.13. Os compostos, 35 e 39 mostraram menos atividade frente a células MRC5 mas os compostos 36, 37, 38, 40, 41 e 42 foram muito mais ativos frente a células T98 que frente as células saudáveis, indicando a preferência desses composto pelas células tumorais o que dá uma idéia sobre a toxidez destes complexos

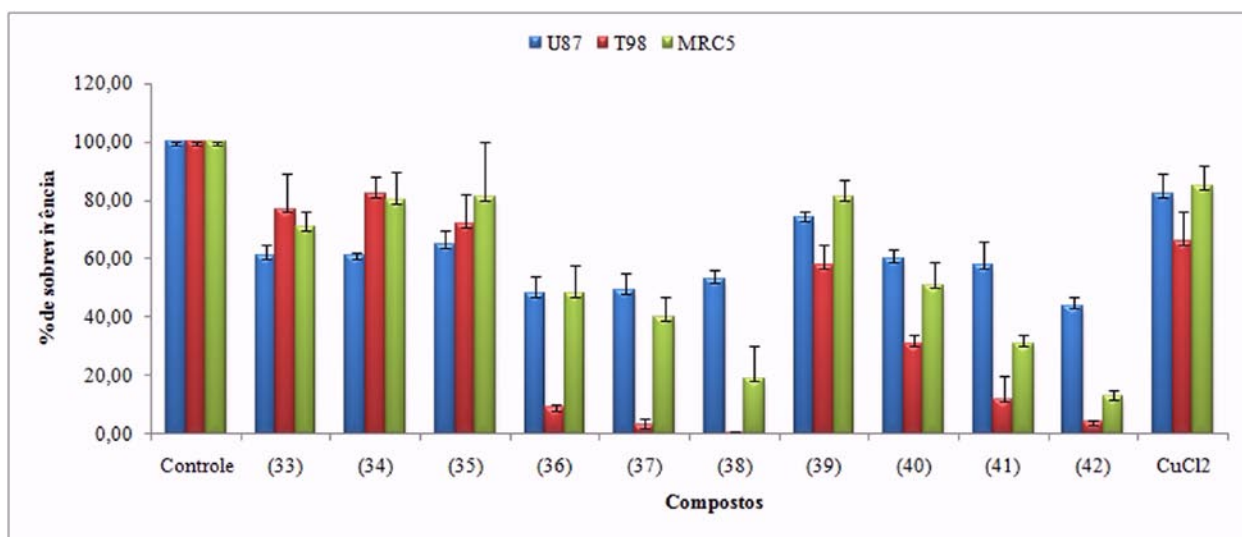


Figura 6.13 – Comparação da atividade dos complexos frente a células tumorais (U87 e T98) e células sadias (MRC5). As células foram tratadas com os compostos por 48h e a sobrevivência das células foi medida mediante o ensaio de MTT.

6.3 – Estudos de ligação ao DNA

Um dos possíveis mecanismos de ação citotóxica e antimicrobiana dos complexos de cobre (II) com hidrazonas seria a possibilidade de interação desses compostos com o DNA dos microorganismos e células estudados. Pensando nisto, foram realizados estudos para avaliar a possível interação dos complexos com DNA por dois métodos diferentes.

6.3.1 – Estudos de ligação ao DNA por espectroscopia de absorção eletrônica.

Todos os complexos estudados apresentaram duas bandas na região de 250-400 nm nos espectros de absorção, a banda correspondente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do ligante encontra-se abaixo de 300 nm enquanto que a encontrada entre os 350-400 nm foi atribuída à transferência de carga metal-ligante. Em todos os complexos observou-se um efeito de hipocromismo pela adição de DNA, assim como um pequeno deslocamento para o azul, exceto nos composto **38** e **40** onde acontece um deslocamento para o vermelho. Nos espectros dos complexos **34**, **37** e **38** observa-se uma queda progressiva da intensidade de absorção de todas as bandas com o aumento da concentração do DNA. Este comportamento é similar ao de compostos metálicos intercaladores reportados na literatura^{13,14} (Figura 6.14). Dos valores das constantes calculadas (ver parte experimental, capítulo 2) se deduz que o complexo **34** ($K_b = 2,24 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$)

¹³ Mei, W. J.; Liu, J.; Kang Zheng, C.; Lin, L. J.; An X, H. Ch.; Feng, C. Li.; Liang, N. Y.; *Dalton Trans.* **2003**, 1352.

¹⁴ Krishnamoorthy, P.; Sathyadevi, P.; Cowley, Alan H.; . Butorac, Rachel R.; Dharmaraj, N. *European Journal of Medicinal Chemistry.* **2011**, 46, 3376.

esta mais fortemente ligado ao DNA que os complexos **38** ($K_b = 1,75 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) e **37** ($K_b = 1,62 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), (Tabela 6.7 e figura 6.15).

Nos complexos **33**, **35**, **36** e **39**, observa-se que o aumento da concentração de DNA leva aum aparecimento de uma nova banda perto de 300 nm. Efeito similar é observado no complexo **40** com uma banda próxima à 450 nm (Figura 6.14). Este resultado sugere que o perfil de interação desses compostos não se corresponde ao de intercalação.

Os complexos **41** e **42** não foram estudados porque suas soluções tampão de análise causavam instabilidade e precipitação no decorrer do tempo.

Tabela 6.7 – Constantes de ligação intrínseca (K_b) para o sistema DNA-complexo.

Compostos	$K_b \times 10^4 \text{ M}^{-1}$
[Cu(H2FopClPh)Cl ₂] (33)	1,19
[Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl] (34)	2,24
[Cu(H2AcMe)Cl ₂] (35)	0,74
[Cu(2AcPh)Cl] (36)	1,52
[Cu(2Ac ρ ClPh)Cl] (37)	1,62
[Cu(2Ac ρ NO ₂ Ph)Cl] (38)	1,75
[Cu(H2BzMe)Cl ₂] (39)	1,25
[Cu(2BzPh)Cl ₂] (40)	0,46

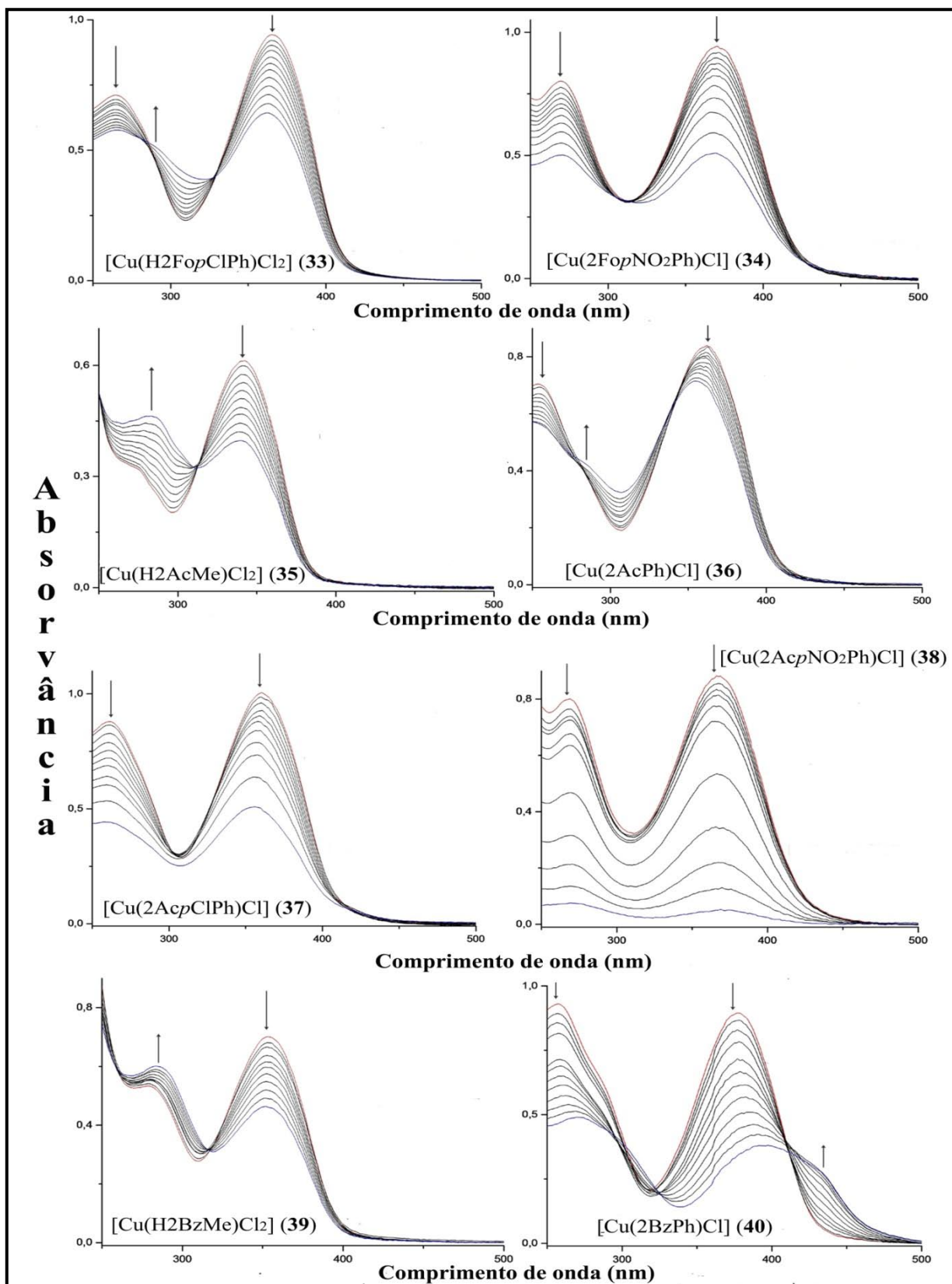


Figura 6.14 – Espectros de absorção eletrônica dos complexos **33**, **34**, **35**, **36**, **37**, **38**, **39** e **40** ($\sim 45 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e presença de quantidades de CT-DNA (4,5; 9,0; 13,5; 18,0; 22,5; 27,0; 31,5; 36,0; 40,5 e $45,0 \mu\text{mol L}^{-1}$). As setas mostram as mudanças na absorvância em função do aumento da concentração do DNA.

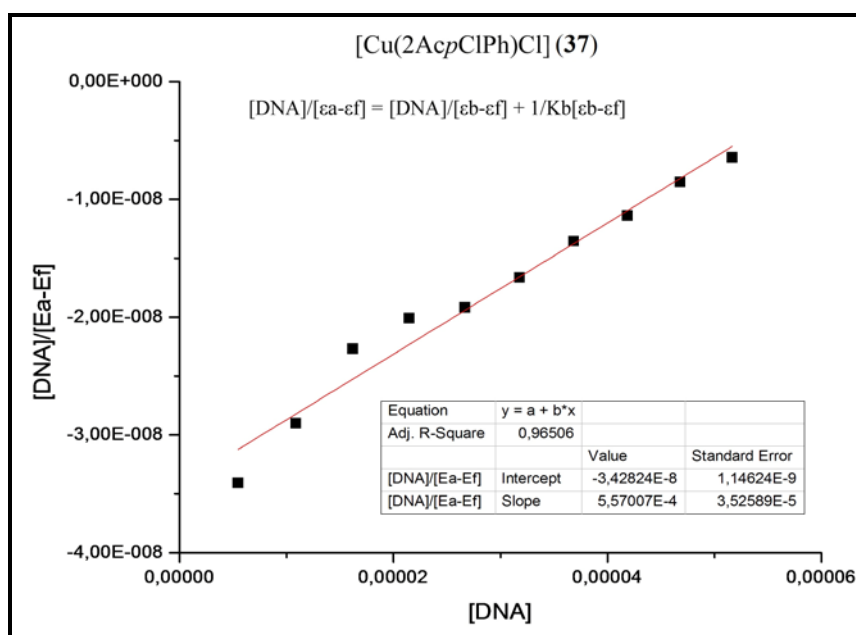


Figura 6.15 – Gráfico de $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_b)$ vs $[DNA]$ do complexo 37.

6.3.2 – Estudos de ligação ao DNA por fluorescência.

Baseando-nos dos resultados obtidos por espectroscopia de absorção eletrônica, escolhemos os complexos que apresentaram um comportamento típico de intercalação com o DNA para serem estudados pelo método de ligação competitiva por fluorescência (ver capítulo 2, parte experimental).

Os espectros de supressão da fluorescência do DNA ligado ao BE pelos complexos 34, 37 e 38 encontram-se na Figura 6.16. Dos resultados obtidos a partir da análise desses espectros (seção 2.3.4.2), obtiveram-se os valores da constante de supressão da fluorescência (K_q), de ligação aparente (K_{app}) e de ligação (K_b) assim como o número de ligação no DNA (Tabela 6.8 e figura 6.16).

Pode-se observar que, como nos estudos de UV-Vis, o composto 34 apresentou maior valor nas constantes calculadas, o que indica que este composto parece ter maior tendência a intercalarmos com o DNA que os complexos 37 e 38; que apresentaram valores de constantes de ligação muito próximos.

Tabelas 6.8– Constantes de supressão (K_q), aparente (K_{app}) e de ligação (K_b) e número de sítios de ligação no DNA.

Compostos	K_q (M^{-1})	K_{app} (M^{-1})	K_b (M^{-1})	n
[Cu(2FopNO ₂ Ph)Cl] (34)	$0,41 \times 10^4$	$3,98 \times 10^4$	$1,06 \times 10^4$	1,11
[Cu(2AcpClPh)Cl] (37)	$0,38 \times 10^4$	$3,71 \times 10^4$	$0,74 \times 10^4$	1,08
[Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl] (38)	$0,37 \times 10^4$	$3,63 \times 10^4$	$0,69 \times 10^4$	1,07

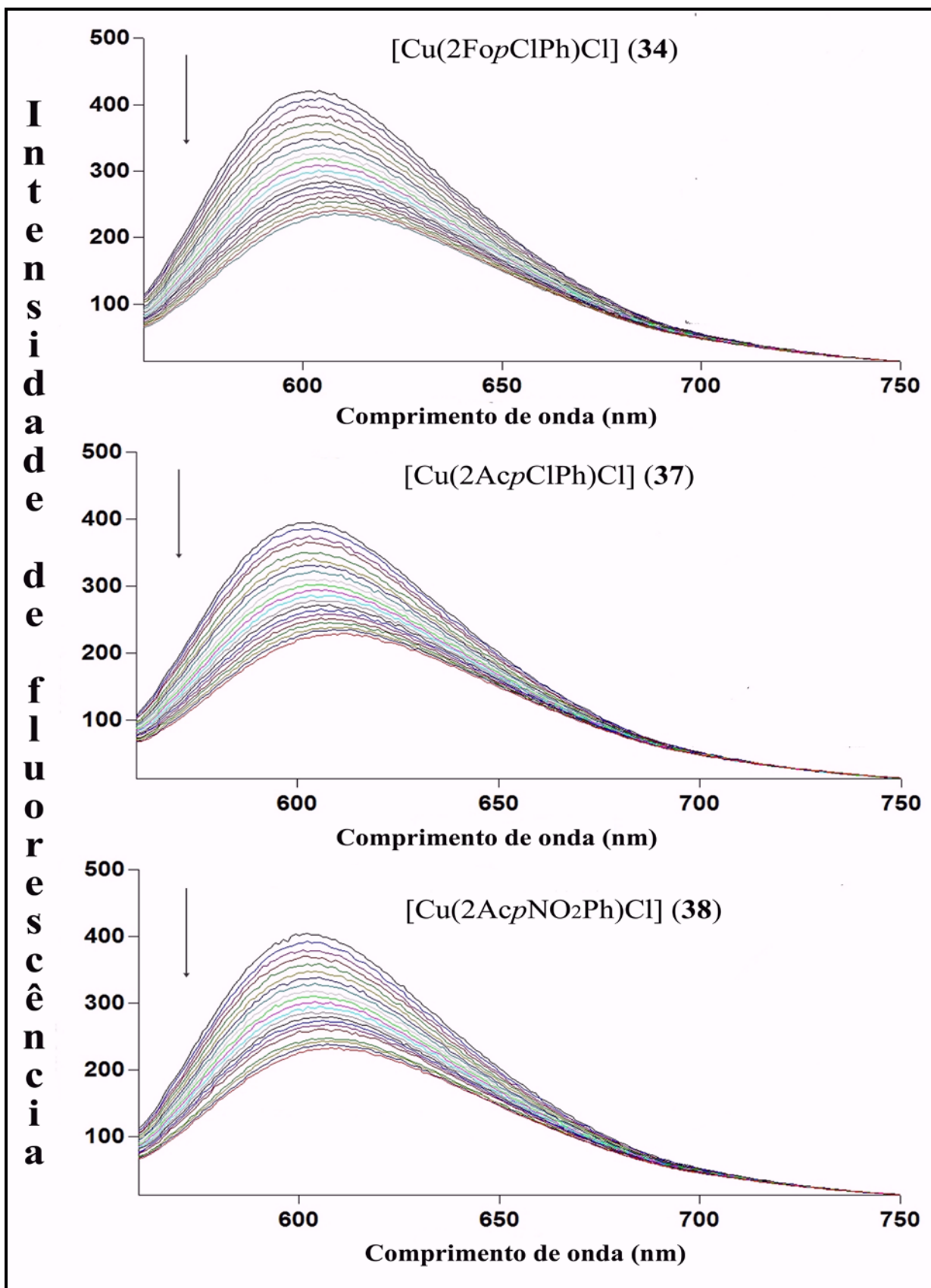


Figura 6.16 – Espectros de emissão do DNA-BE ($10 \mu\text{molL}^{-1}$), na presença de 0 a $200 \mu\text{molL}^{-1}$ dos complexos **34**, **37** e **38**. As setas indicam o sentido das mudanças na intensidade em função do aumento da concentração dos complexos.

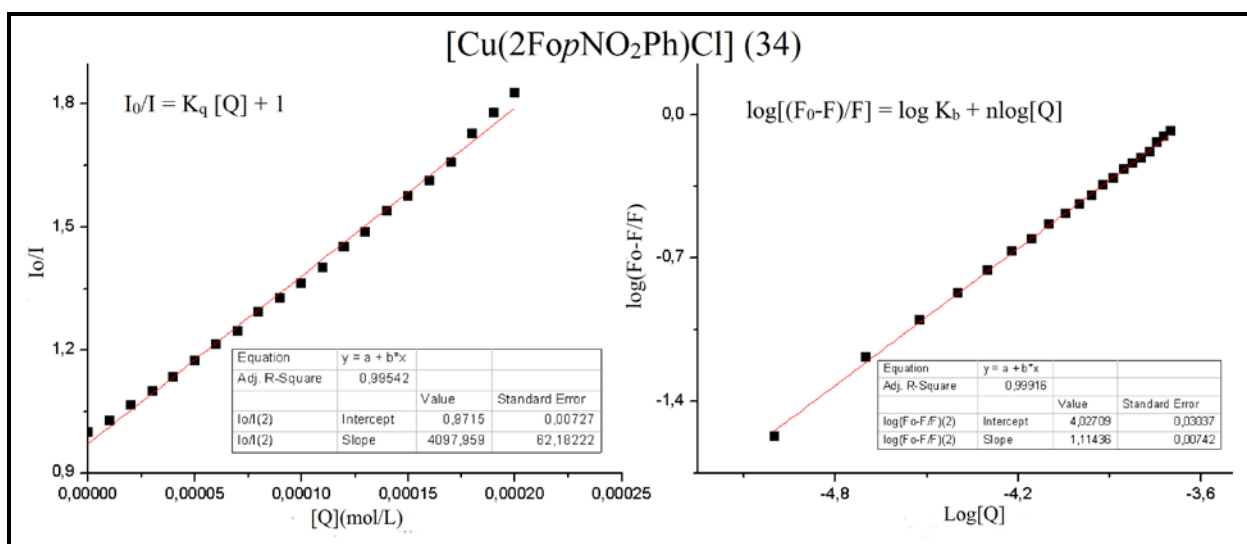


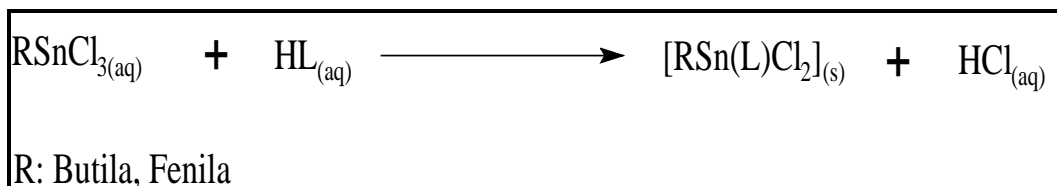
Figura 6.17– Graficos de I_0/I vs $[Q]$ e $\log(F_0-F/F)$ vs $\log(Q)$ do complexo **34**.

Os resultados obtidos destes estudos resultaram lógicos se observamos as características estruturais dos complexos. Os compostos intercaladores com o DNA se caracterizam por apresentar uma estrutura planar, tal qual o brometo de etídeo. Isto permite a entrada do intercalador no sulco do DNA.

Analisando as estruturas dos compostos testados observamos que nos três complexos com maior constante de ligação e que apresentaram um comportamento característico de intercalação, a hidrazona encontra-se ligada ao metal na forma aniônica, o que provoca um aumento na conjugação no esqueleto da hidrazona e também, na planaridade do ligante no complexo; conforme mencionamos ao fazer a análise das estruturas de raios-x dos compostos **34** e **38**^{6,7}, respectivamente. O maior valor na constante de ligação para o composto **34** pode estar relacionada com a característica do ligante, onde um átomo de hidrogênio encontra-se ligado ao carbono 7 da cadeia da hidrazona (Figura 6.8), enquanto nos complexos **37** e **38** há um grupo metila (Figura 6.9). O maior volume deste último poderia ser a causa do menor valor da constante de intercalação causando um aumento do impedimento estérico. Isto também explicaria porque o composto **40**, mesmo tendo o ligante na forma aniônica não apresentou um espectro de UV com características de intercalação. Neste caso a presença do grupo fenila ligado a C7 do esqueleto da hidrazona dificulta a intercalação no DNA.

7 – COMPLEXOS DE Sn(IV) COM HIDRAZONAS DERIVADAS DE 2-ACETILPIRIDINA E 2-BENZOILPIRIDINA

As reações de tricloreto de *n*-butilestanho, [(*n*-but)SnCl₃], e de tricloreto de fenilestanho, [(Ph)SnCl₃], com 2-acetilpiridina benzoil hidrazona (H2AcPh), 2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoil hidrazona (H2AcpClPh), 2-acetilpiridina-*para*-nitro benzoil hidrazona (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoilpiridina benzoil hidrazona (H2BzPh), 2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoil hidrazona (H2BzpClPh) e 2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoil hidrazona (H2BzpNO₂Ph) deram como produtos os complexos: [*n*-butil(dicloro) (2-acetilpiridina-benzoilhidrazonato) estanho(IV)] [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (43), [*n*-butil(dicloro)(2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (44), [*n*-butil(dicloro)(2-acetilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (45), [fenil(dicloro)(2-acetilpiridina-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (46), [fenil(dicloro)(2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (47), [fenil(dicloro)(2-acetilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (48), [*n*-butil(dicloro) (2-benzoilpiridina-benzoilhidrazonato)] estanho(IV) [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (49), [*n*-butil(dicloro)(2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (50), [*n*-butil(dicloro)(2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (51), [fenil(dicloro)(2-benzoilpiridina-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (52), [fenil(dicloro)(2-benzoilpiridina-*para*-cloro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (53) e [fenil(dicloro)(2-benzoilpiridina-*para*-nitro-benzoilhidrazonato)estanho(IV)] [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (54).



Os resultados de microanálises e condutividade molar estão de acordo com as formulações propostas, mostrando que a hidrazona encontra-se na forma aniônica. A hidrazona está ligada ao centro metálico conjuntamente com um grupo butila ou fenila e íons cloretos nos outros dois sítios de coordenação. A Tabela 7.1 mostra os resultados das análises.

Tabela 7.1 – Análise elementar (valores teóricos em parêntesis), massa molar, rendimento e condutividade molar dos complexos de Sn(IV) de hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.

Composto	Rendimento (%)	% C	% H	%N	MM (gmol ⁻¹)	Λ_M ($\Omega^{-1}\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$)
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43)	71	44,87(44,58)	4,16(4,36)	8,96(8,66)	484,99	11,56
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44)	83	41,77(41,62)	3,41(3,88)	8,39(8,09)	519,44	14,33
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45)	74	40,92(40,79)	3,72(3,80)	10,48(10,57)	529,99	10,66
[(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46)	85	46,66(47,57)	3,06(3,39)	8,80(8,32)	504,98	20,51
[(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (47)	86	43,57(44,53)	2,82(2,99)	7,99(8,04)	539,43	20,53
[(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48)	82	43,23(43,68)	3,00(2,93)	10,28(10,19)	549,98	18,75
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzPh)Cl ₂] (49)	75	50,77(50,50)	4,10(4,24)	7,46(7,68)	547,06	12,70
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50)	83	47,34(47,51)	3,33(3,81)	7,63(7,23)	581,51	12,76
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51)	75	46,54(46,66)	3,72(3,75)	9,47(9,46)	592,06	17,78
[(Ph)Sn(2BzPh)Cl ₂] (52)	37	52,99(52,95)	3,15(3,38)	7,20(7,41)	567,05	14,08
[(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (53)	80	49,80(49,92)	2,92(3,02)	6,63(6,99)	601,50	13,94
[(Ph)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (54)	60	48,98(49,06)	2,58(2,96)	9,28(9,15)	612,05	13,07

Nos espectros de infravermelho dos complexos **43-54** observou-se que as bandas correspondentes às vibrações $\nu(\text{N-H})$ e $\nu(\text{C=O})$ das hidrazonas livres, em $3100\text{-}3287\text{ cm}^{-1}$ e $1655\text{-}1687\text{ cm}^{-1}$, respectivamente (ver capítulo 4), não são observadas, o que indica que o ligante encontra-se ligado na forma aniônica. As bandas $\nu(\text{C=C}) + \nu(\text{C=N})$ observadas em $1590\text{-}1460\text{ cm}^{-1}$ nas hidrazonas livres sofrem pequena variação nos complexos, mas uma nova banda correspondente à vibração $\nu(\text{C=N})$, devida à formação de uma segunda ligação N=C , é observada em $1625\text{-}1632\text{ cm}^{-1}$ (Figura 7.1).

As bandas correspondentes à deformação do anel da piridina no plano, em $614\text{-}625\text{ cm}^{-1}$ para os ligantes livres, deslocam-se para $647\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ em todos os complexos sugerindo a coordenação pelo nitrogênio heteroaromático.^{1,2,3} Além disso, novas absorções em $495\text{-}457\text{ cm}^{-1}$ e $450\text{-}342\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas a $\nu(\text{Sn-N}_{\text{imina}})$ e $\nu(\text{Sn-C})$, respectivamente (ver tabela 7.2). Bandas em $230\text{-}215\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas a $\nu(\text{Sn-Npy})$ ^{4, 5, 6}, e bandas em $405\text{-}380\text{ cm}^{-1}$ à vibração $\nu(\text{Sn-O})$. Uma absorção em $260\text{-}240\text{ cm}^{-1}$ foi atribuída a $\nu(\text{Sn-Cl})$.^{4,5,6} Portanto os espectros de infravermelho indicam a coordenação das hidrazonas através do sistema quelato Npy-N-O.

¹Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *J. Molec. Struct.* **2009**, 920, 97.

²Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Inorg. Chim. Acta.* **2009**, 362, 2117.

³Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Sives, F.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Polyhedron.* **2009**, 28, 3797.

⁴Mendes, I. C.; Costa, F. B.; De Lima, G. M.; Ardisson, J. D.; Garcia-Santos, I.; Castiñeiras, A.; Beraldo, H.; *Polyhedron.* **2009**, 28, 1179.

⁵ Mendes, I. C.; Moreira, J. P.; Ardisson, J. D.; Gouvêa, Dos Santos R.; Da Silva, P. R. O.; Garcia, I.; Castiñeiras, A.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 431, 454.

⁶ Pérez-Rebolledo, A.; De Lima, G. M.; Speziali, N. L.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Ardisson, J. D.; Beraldo, H.; *J. Organomet. Chem.* **2006**, 18, 3919.

Tabela 7.2 – Bandas nos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de Sn(IV) com hidrazonas derivadas das 2-acetilpiridina e 2-benzoilpiridina.– suportes: KBr ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$); CsI ($400\text{-}200\text{ cm}^{-1}$).

Compostos	$\nu\text{C=N}$	$\rho(\text{py})$	$\nu\text{Sn-C}$	$\nu\text{Sn-N}_{\text{imi}}$	$\nu\text{Sn-O}$	$\nu\text{Sn-Cl}$		$\nu\text{Sn-N}_{\text{py}}$
						ν_{as}	ν_{s}	
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (43)	1599	647	349	492	392	250	202	228
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (44)	1597	647	364	494	395	242	205	229
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (45)	1599	649	360	481	402	250	206	228
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (46)	1600	650	443	476	403	260	212	233
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (47)	1596	649	441	479	394	249	208	214
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (48)	1596	649	450	486	394	250	210	231
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzPh})\text{Cl}_2]$ (49)	1599	649	342	467	381	259	202	231
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (50)	1595	648	345	468	393	246	203	225
$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (51)	1586	649	350	457	383	252	212	226
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{BzPh})\text{Cl}_2]$ (52)	1599	649	443	466	405	250	207	228
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (53)	1595	647	445	457	401	250	202	229
$[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (54)	1584	647	445	465	390	248	215	230

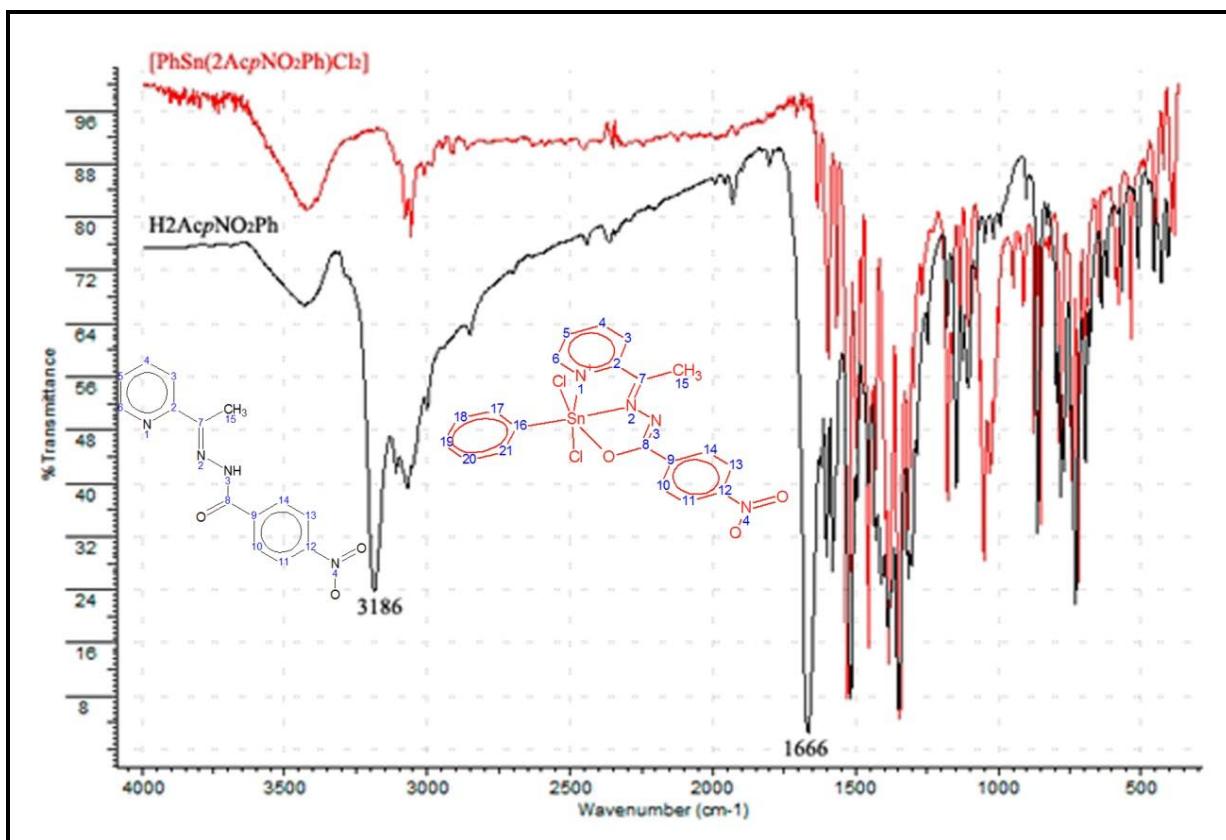


Figura 7.1 – Espectro de infravermelho de H₂AcpNO₂Ph (**18**) e do complexo [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**).

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos complexos de Sn(IV) foram feitos em CDCl₃. A ressonância de ¹H foi atribuída tomando como base os deslocamentos químicos, as multiplicidades e as constantes de acoplamento. Os carbonos do tipo (C, CH) foram determinados pelo experimento DEPT135. As atribuições dos carbonos e hidrogênios foram feitas mediante experimentos de correlação 2D heteronuclear (HMQC) usando valores correspondentes a ¹J(C, H). As Tabelas 7.3 a 7.6 mostram os valores de deslocamento químico dos carbonos e hidrogênios nos espectros para os complexos **43-54**.

Só um sinal foi observado para cada hidrogênio e carbono nos espectros dos complexos (**43-54**), sugerindo a presença de um isômero configuracional. Os sinais de C=N, C=O e dos carbonos da piridina sofreram mudanças significativas nos complexos, indicando a coordenação através do sistema quelato N_{py}-N-O. Por isso as hidrazonas adotam a configuração *E* nos complexos. O sinal de N3-H não foi observado nos espectros de RMN ¹H dos complexos, de acordo com a desprotonação das hidrazonas pela coordenação (Figura 7.2).

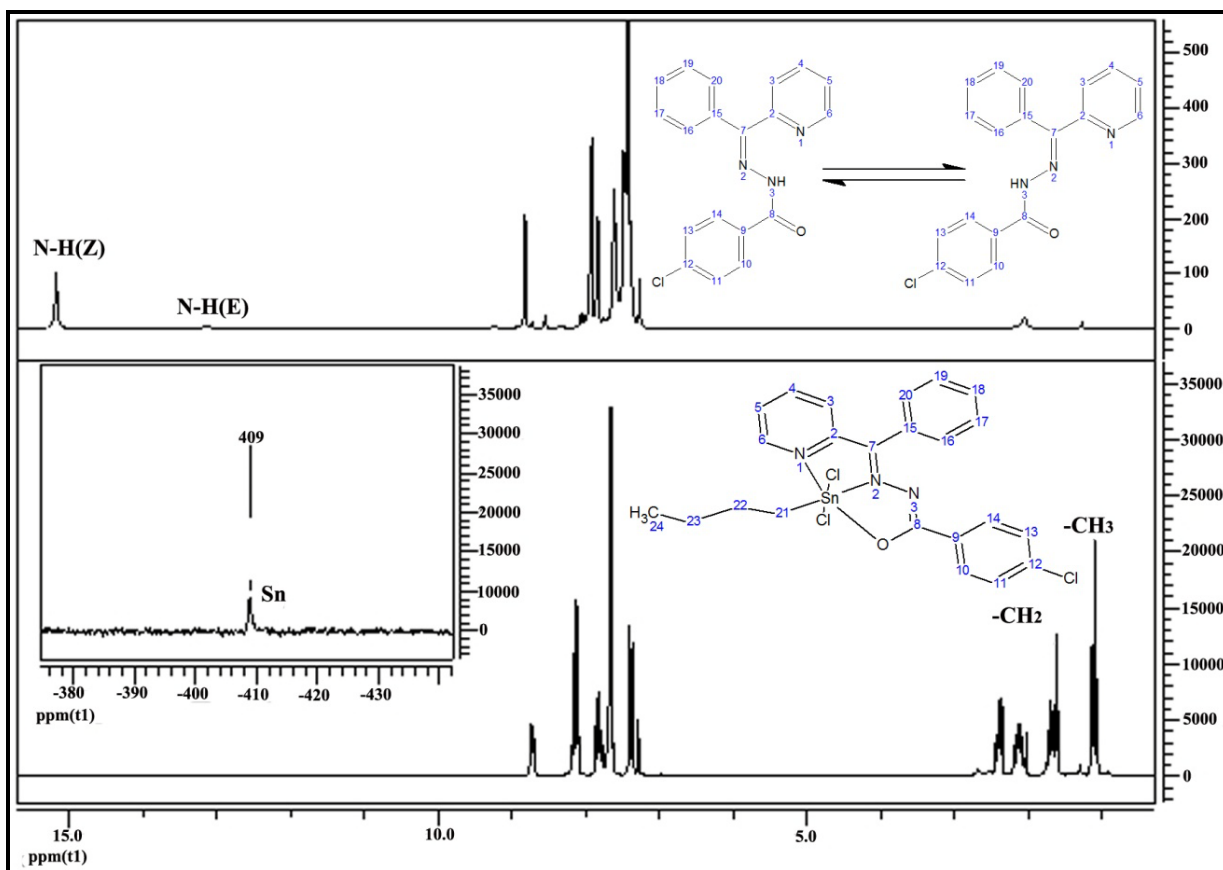


Figura 7.2 – Espectros de RMN ^1H do $\text{H}_2\text{BzpClPh}$ (**22**) e $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (**50**) em CDCl_3 .

Nos espectros dos complexos (**43-45** e **49-51**) sinais entre δ 2,39-1,05 e δ 13,66-35,79 foram atribuídos aos hidrogênios e carbonos dos grupos *n*-butila ligados ao metal⁵. Nos espectros dos complexos (**46-48** e **52-54**) os sinais de δ 8,45-7,59 e de δ 136,62 -129,08 foram atribuídos aos hidrogênios e carbonos do grupo fenila coordenado ao metal.⁶

Nos espectros de RMN de ^{119}Sn dos complexos **43-54** (CDCl_3) um sinal foi observado em $\delta = -414$ (**43**), $\delta = -413$ (**44**), $\delta = -412$ (**45**), $\delta = -443$ (**46**), $\delta = -442$ (**47**), $\delta = -441$ (**48**), $\delta = -410$ (**49**), $\delta = -409$ (**50**), $\delta = -408$ (**51**), $\delta = -439$ (**52**), $\delta = -438$ (**53**) e $\delta = -437$ (**54**) ppm compatível com a presença de um sítio de estanho em solução. Os valores dos sinais de RMN de ^{119}Sn estão de acordo com dados reportados na literatura para complexos hexacoordenados de estanho⁷.

⁷ Yin, H. D.; Chen, S. W.; *Inorg. Chim. Acta.* **2006**, 10, 3330.

Tabela 7.3 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C dos complexos **43-45** em CDCl_3 .

Atribuições	N ^o	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (43)	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{Ac}p\text{ClPh})\text{Cl}_2]$ (44)	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{Ac}p\text{NO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (45)
H3	1	8,01(d)	8,02(d)	8,11(d)
H4	1	8,20(t)	8,20(m)	8,28(m)
H5	1	7,74(t)	7,67(t)	7,84(t)
H6	1	8,62(d)	8,63(d)	8,68(d)
N3-H	1	-	-	-
H(10,14)	2	8,34(d) [6,91]	8,24(d) [8,53]	8,49(d) [9,02]
H(11,13)	2	7,49(m)*	7,44(d) [8,54]	8,30(m)*
H12	1	7,49(m)*	-	-
C(15)H ₃	3	2,82(s)	2,81(s)	2,87(s)
H16	2	2,33(t)	2,32(t)	2,34(t)
H17	2	2,07(m)	2,08(m)	2,05(m)
H18	2	1,61(m)	1,60(m)	1,61(m)
C(19)H ₃	3	1,06(s)	1,05(s)	1,05(t)
C2	1	144,16	144,14	146,89
C3	1	125,06	125,26	125,45
C4	1	142,49	142,56	142,62
C5	1	127,06	127,26	127,60
C6	1	145,13	145,28	145,41
C7=N	1	144,68	145,02	150,00
C8=O	1	171,38	170,50	169,36
C9	1	132,42	130,98	138,41
C(10,14)	2	129,00	128,13	129,85
C(11,13)	2	128,15	130,43	123,21
C12	1	132,51	138,66	143,93
C15	1	13,53	13,56	13,68
C16	2	35,50	35,60	35,79
C17	2	27,51	27,52	27,52
C18	2	25,60	25,61	25,61
C19	3	13,68	13,68	13,73

[]: constante de acoplamento, Hz

*:Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Tabela 7.4 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C dos complexos **46-48** em CDCl_3 .

Atribuições	Nº	$[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (46)	$[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (47)	$[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (48)
H3	1	8,04(d)	8,06(d)	8,13(d)
H4	1	8,41(m)	8,40(m)	8,41(m)
H5	1	7,60(m)	7,63(t)	7,70(t)
H6	1	8,40(m)	8,42(m)	8,42(m)
N3-H	1	-	-	-
H(10,14)	2	8,21(d) [7,96]	7,41(d) [8,56]	8,25(m)*
H(11,13)	2	7,44(m)*	8,21(d) [8,30]	8,50(d) [8,58]
H12	1	7,50(m)*	-	-
C(15)H ₃	3	2,88(s)	2,88(s)	2,93(s)
H(17,21)	2	8,33(d) [7,52]	8,27(d) [8,66]	8,28(m)*
H(18,20)	2	7,59(m)*	7,59(m)*	7,61(m)*
H19	1	7,59(m)*	7,59(m)*	7,61(m)*
C2	1	144,11	144,07	146,32
C3	1	124,04	125,04	123,27
C4	1	142,61	142,77	142,79
C5	1	126,99	127,12	125,38
C6	1	145,06	145,11	145,28
C7=N	1	144,30	144,46	150,06
C8=O	1	171,53	170,58	169,41
C9	1	132,16	131,00	138,43
C(10,14)	2	129,08	128,50	127,56
C(11,13)	2	128,17	129,13	129,21
C12	1	132,59	138,76	146,32
C15	1	13,45	13,47	13,64
C16	2	139,92	139,75	139,48
C(17,21)	2	136,62	136,50	136,45
C(18,20)	2	129,08	130,47	129,99
C19	3	131,13	131,22	131,36

[]: constante de acoplamento, Hz

*:Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Tabela 7.5 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H e ^{13}C dos complexos **40-51** em CDCl_3 .

Atribuições	N ^o	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzPh})\text{Cl}_2]$ (49)	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{Bz}p\text{ClPh})\text{Cl}_2]$ (50)	$[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{Bz}p\text{NO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (51)
H3	1	7,82(m)	7,77(m)	7,86(m)
H4	1	8,10(d)	8,10(m)	8,17(d)
H5	1	7,81	7,77(m)	7,86(m)
H6	1	8,69(d)	8,69(d)	8,74(d)
N3-H	1	-	-	-
H(10,14)	2	7,43(m)*	7,35(d) [8,64]	8,26(d) [8,94]
H(11,13)	2	8,19(d) [7,09]	8,10(d) [8,61]	8,34(d) [8,95]
H12	1	7,49(m)*	-	-
H(16,20)	2	7,65(m)*	7,63(m)*	7,66(m)*
H(17,19)	2	7,66(m)*	7,64(m)*	7,66(m)*
H18	1	7,43(m)*	7,63(m)*	7,66(m)*
H21	2	2,39(t)	2,33(t)	2,39(t)
H22	2	2,11(m)*	2,09(m)*	2,09(m)*
H23	2	1,64(m)*	1,66(m)*	1,64(m)*
H24	3	1,08(t)	1,06(t)	1,07(t)
<hr/>				
C2	1	144,26	144,52	146,55
C3	1	127,56	127,58	128,07
C4	1	142,10	142,32	142,36
C5	1	126,83	127,01	127,44
C6	1	145,43	145,43	145,56
C7=N	1	144,62	144,70	149,98
C8-O	1	172,24	171,32	170,13
C9	1	132,35	130,88	138,32
C(10,14)	2	128,05	128,66	123,16
C(11,13)	2	129,27	130,51	130,03
C12	1	132,68	138,72	144,30
C15	1	128,68	128,54	128,26
C(16,20)	2	128,53	128,41	128,74
C(17,19)	2	130,00	129,89	129,80
C18	1	130,98	131,04	131,33
C21	2	35,30	35,34	35,52
C22	2	27,52	27,56	27,55
C23	2	25,71	25,67	25,66
C24	3	13,66	13,70	13,69

[]: constante de acoplamento, Hz

*:Desdobramento padrão;no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Tabela 7.6 – Atribuições e deslocamentos químicos dos sinais de RMN de ^1H dos complexos **52-54** em CDCl_3 .

Atribuições	N ^o	[(Ph)Sn(2BzPh)Cl ₂] (52)	[(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (53)	[(Ph)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (54)
H3	1	7,85(d)	7,84(d)	7,91(d)
H4	1	8,08(d)	8,11(m)	8,17(d)
H5	1	7,59(m)	7,64(m)	7,69(d)
H6	1	8,32(d)	8,32(m)	8,36(m)
N3-H	1	-	-	-
H(10,14)	2	7,37(d) [7,47]	7,33(d) [8,61]	8,21(d) [8,98]
H(11,13)	2	8,18(d) [7,27]	8,11(d) [8,58]	8,33(d) [8,53]
H12	1	7,46(m)*	-	-
H(16,20)	2	7,64(m)*	7,64(m)*	7,70(m)*
H(17,19)	2	7,72(m)*	7,72(m)*	7,71(m)*
H18	1	7,64(m)*	7,64(m)*	7,61(m)*
H(22,26)	2	8,45(m)*	8,45(m)*	8,45(m)*
H(23,25)	2	7,61(m)*	7,63(m)*	7,61(m)*
H24	1	7,64(m)*	7,64(m)*	7,70(m)*
C2	1	144,13	144,23	146,08
C3	1	127,35	127,51	127,97
C4	1	142,18	142,36	142,51
C5	1	126,77	126,95	127,36
C6	1	145,18	145,27	145,42
C7=N	1	144,46	144,32	150,00
C8-O	1	172,26	171,32	170,12
C9	1	139,85	130,89	138,32
C(10,14)	2	128,06	128,44	123,18
C(11,13)	2	129,12	130,60	130,07
C12	1	132,62	138,79	139,38
C15	1	132,37	128,48	128,20
C(16,20)	2	128,67	128,76	128,83
C(17,19)	2	130,06	129,99	129,87
C18	1	131,03	131,14	131,40
C21	1	143,77	139,66	144,07
C(22,26)	2	136,60	136,61	136,59
C(23,25)	2	129,28	129,17	129,83
C24	1	131,16	131,27	131,40

[J]: constante de acoplamento, Hz

*: Desdobramento padrão; no entanto, devido à sobreposição de sinais são apenas observados multipletos

Os cristais de [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (**43**), [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**44**), [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**45**), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**), [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**), [(*n*-but)Sn(2BzpClPh)Cl₂] (**50**) e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**51**) foram montados em uma fibra de vidro para coleta de dados. A coleta de dados de Raios X foi realizada em um difratômetro Oxford-Diffraction GEMINI (LabCri) usando fonte de grafite MoK α radiation ($\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$) a 293(2) K. As estruturas foram resolvidas usando métodos diretos do programa SHELXS-97⁸ e refinadas pelo método de mínimos quadrados F² usando SHELXL-97⁹. Os parâmetros posicionais e deslocamentos anisotrópicos foram refinados para todos os átomos não hidrogênios. Os dígramas moleculares foram obtidos do ORTEP¹⁰. A Tabela 7.7 mostra um resumo dos dados de cristais, detalhes e resultados experimentais.

⁸ Sheldrick, G. M.; *SHELXS-97; Program for Solution of Crystal Structures*, University of Göttingen, Göttingen, Germany. **1997**.

⁹ Sheldrick, G. M.; *SHELXL-97; Program for Crystal Structures Analysis*, University of Göttingen, Germany. 1997.

¹⁰ Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, 32, 837. Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, 30, 565.

Tabela 7.7 – Dados dos cristais e resultados do refinamento estrutural para os complexos [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (**43**), [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**44**), [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**45**), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**), [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**), [(*n*-but)Sn(2BzpClPh)Cl₂] (**50**) e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**51**).

Compostos	(43)	(44)	(45)	(46)	(48)	(50)	(51)	
Formula Empírica	C ₁₈ H ₂₁ Cl ₂ N ₃ OSn	C ₁₈ H ₂₀ Cl ₃ N ₃ OSn	C ₁₉ H ₂₀ Cl ₂ N ₄ O ₃ Sn	C ₂₀ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ OSn	C ₂₂ H ₂₂ Cl ₂ N ₄ O ₄ SSn	C ₂₃ H ₂₂ Cl ₃ N ₃ OSn	C ₂₃ H ₂₂ Cl ₂ N ₄ O ₃ Sn	
Massa Molecular	484,97	519,41	529,97	504,96	628,09	581,48	592,04	
Sistema cristalino	ortorrômbico	ortorrômbico	triclínico	triclínico	monoclínico	ortorrômbico	monoclínico	
Grupo espacial	F d d 2	F d d 2	P-1	P-1	P 1 2 ₁ /c 1	P b c a	P 2 ₁ /c	
Dimensões da cela unidade	a, Å	27,440(4)	26,6226(17)	12,9843(4)	11,4662(3)	14,4967(4)	13,6377(5)	13,7835(6)
	b, Å	22,024(4)	23,9627(18)	13,3554(6)	12,5545(3)	13,4617(4)	16,4045(8)	15,6131(6)
	c, Å	13,316(2)	13,3438(7)	14,1000(7)	16,2705(4)	13,3607(3)	21,8412(13)	11,9340(5)
	α, °	90	90	111,487(4)	112,147(2)	90	90	90
	β, °	90	90	94,407(3)	95,650(2)	102,523(3)	90	108,435(4)
	γ, °	90	90	105,649(3)	101,670(2)	90	90	90
Volume, Å ³	8047(2)	8512,7(10)	2148,31(16)	2084,75(9)	2545,31(12)	4886,3(4)	2436,44(17)	
Z, Densidade calculada., Mg/m ³	16; 1,601	16; 1,621	4; 1,639	4; 1,609	4; 1,639	8; 1,581	4; 1,614	
Coefficiente de absorção, mm ⁻¹	1,546	1,589	1,464	1,496	1,332	1,394	1,300	
F(000)	3872	4128	1056	1000	1256	2320	1184	
Intervalo de coleta de dados θ	2,86 à 26,37	3,07 à 26,37	2,76 à 26,37	2,61 à 26,37	2,79 à 26,37	2,69 à 26,37	3,02 à 26,37	
Intervalos de hkl	-34 ≤ h ≤ 31	-24 ≤ h ≤ 33	-16 ≤ h ≤ 16	-14 ≤ h ≤ 11	-18 ≤ h ≤ 18	-17 ≤ h ≤ 14	-16 ≤ h ≤ 17	
	-27 ≤ k ≤ 23	-29 ≤ k ≤ 29	-13 ≤ k ≤ 16	-14 ≤ k ≤ 15	-16 ≤ k ≤ 16	-20 ≤ k ≤ 16	-18 ≤ k ≤ 19	
	-15 ≤ l ≤ 16	-13 ≤ l ≤ 16	-17 ≤ l ≤ 16	-20 ≤ l ≤ 19	-16 ≤ l ≤ 13	-26 ≤ l ≤ 27	-14 ≤ l ≤ 14	
Completeza θ = 26.37	99,9 %	99,6 %	99,9 %	99,9 %	99,9 %	99,9	99,9	
Correção de absorção	none	none	none	none	none	none	none	
S	0,927	1,072	0,814	0,869	0,829	0,875	0,979	

Tabela 7.7 – Dados dos cristais e resultados do refinamento estrutural para os complexos [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (**43**), [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**44**), [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**45**), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**), [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**), [(*n*-but)Sn(2BzpClPh)Cl₂] (**50**) e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**51**) (Continuação).

Compostos	(43)	(44)	(45)	(46)	(48)	(50)	(51)
Reflexões coletadas (R_{int})	12047 / 3852 (0,0647)	6718 / 3555 (0,0319)	19702 / 8769(0,0474)	18566 / 8525 (0,0295)	14702 / 5212 (0,0447)	24127 / 4991 (0,0492)	21641 / 4972 (0,0385)
Parâmetro de estrutura absoluto	0,03 (5)	0,06(5)	-	-	-	-	-
Dados /restrições /parâmetros	3852 / 11 / 224	3555 / 6 / 235	8769 / 8 / 470	8525 / 0 / 487	5212 / 0 / 307	4991 / 0 / 280	4972 / 0 / 299
Reflexões observadas, $I > 2\sigma(I)$	2232	2405	4288	5929	3261	-	-
Índices finais $R [I > 2\sigma(I)]$	$R_1 = 0,0477,$	$R_1 = 0,0483,$	$R_1 = 0,0442,$	$R_1 = 0,0257,$	$R_1 = 0,0324,$	$R_1 = 0,0325$	$R_1 = 0,0337$
	$wR_2 = 0,1077$	$wR_2 = 0,1335$	$wR_2 = 0,0963$	$wR_2 = 0,0441$	$wR_2 = 0,0543$	$wR_2 = 0,0668$	$wR_2 = 0,0849$
Índices R (todos os dados)	$R_1 = 0,0879,$	$R_1 = 0,0740,$	$R_1 = 0,1028,$	$R_1 = 0,0469,$	$R_1 = 0,0655,$	$R_1 = 0,0680$	$R_1 = 0,0483$
	$wR_2 = 0,1166$	$wR_2 = 0,1460$	$wR_2 = 0,1055$	$wR_2 = 0,0463$	$wR_2 = 0,0580$	$wR_2 = 0,0720$	$wR_2 = 0,0892$
Diferença pico burac. Å^{-3}	1,047 / -0,660	0,739/-1,179	0,951 /-0,490	0,309/-0,279	0,968 /-0,569	0,913/-0,471	1,265/-0,632

As Figuras 7.3, 7.4 e 7.5 são diagramas ORTEP de $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (**43**), $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**44**), $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**45**), $[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (**46**), $[(\text{Ph})\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**48**), $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (**50**) e $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**51**). Distâncias de ligação intra-molecular e ângulos dos complexos estão nas Tabelas 7.8 e 7.9. As distâncias e ângulos em todos os complexos são similares. Em todos os complexos o átomo de estanho(IV) encontra-se coordenado por um ligante tridentado aniônico a grupos *n*-butila (**43-45**, **50** e **51**) ou fenila (**46** e **48**) e dois íons cloreto em posição *trans*, em um ambiente octaédrico distorcido.

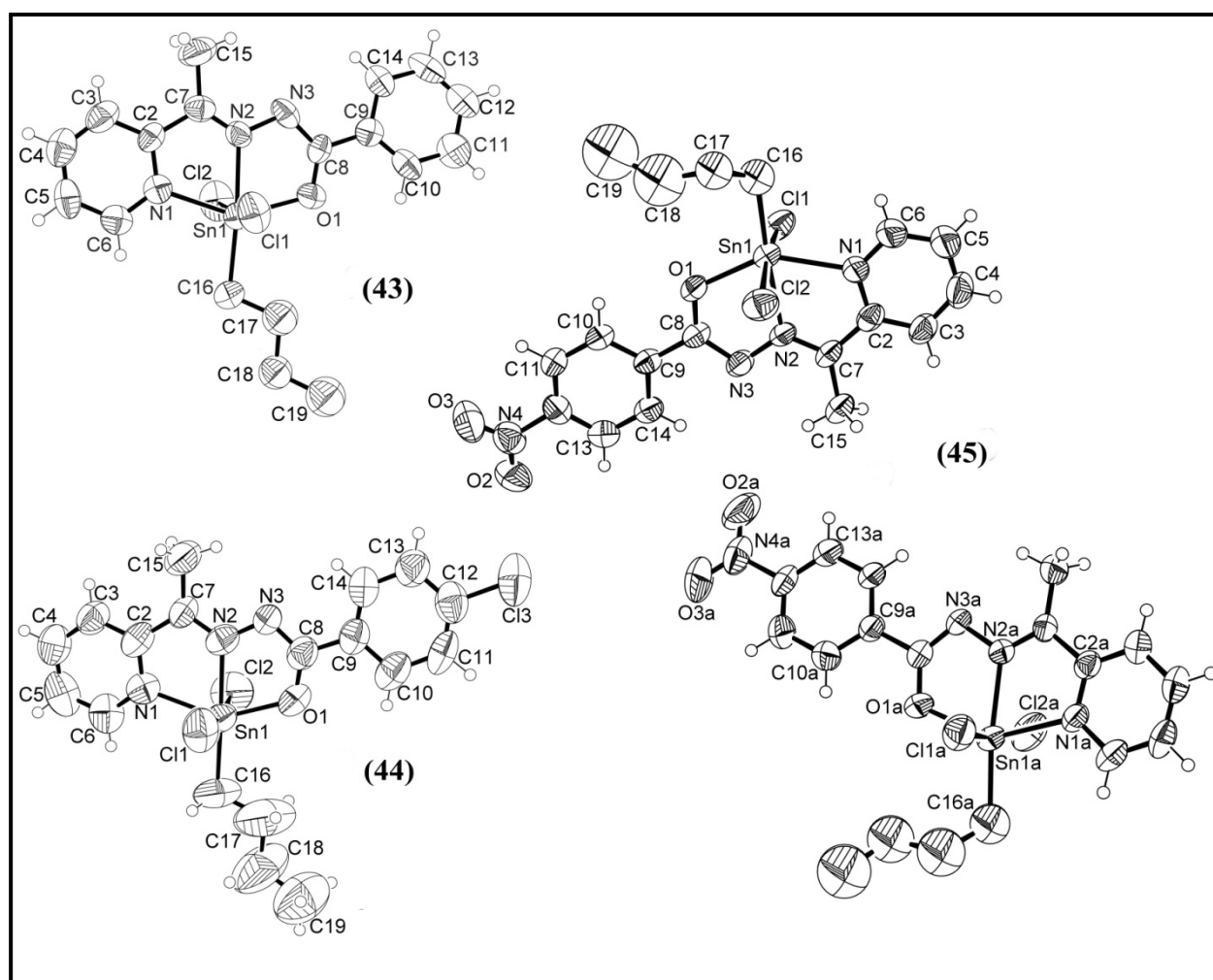


Figura 7.3 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (**43**), $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**44**), $[(n\text{-but})\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**45**).

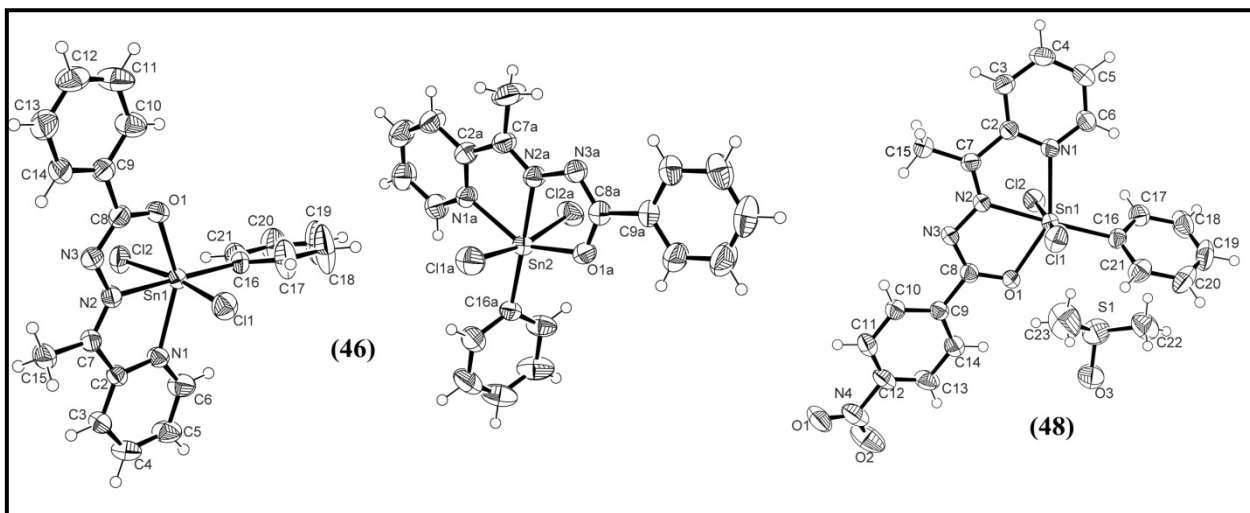


Figura 7.4 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**46**) e $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcPhNO}_2)\text{Cl}_2]$ (**48**).

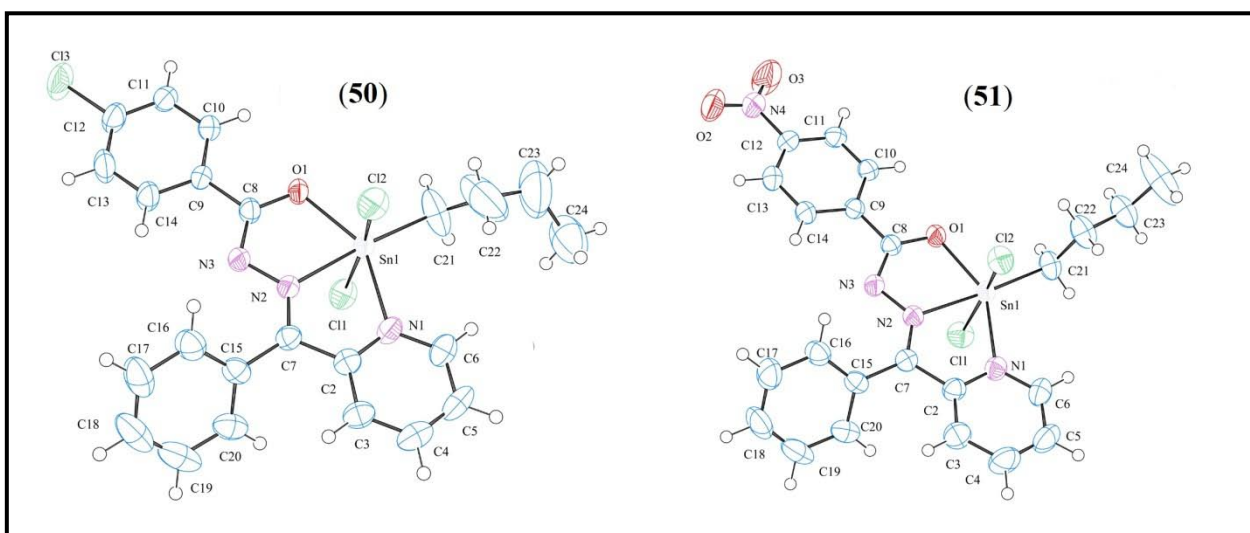


Figura 7.5 – Diagramas ORTEP dos complexos $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (**50**) e $[(n\text{-but})\text{Sn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**51**).

O ângulo N1–Sn–O1 com valores entre $144,3\text{--}146,7^\circ$ nos complexos **43-46** e **48** e de $145,7^\circ$ e $145,35^\circ$ em **50** e **51**, respectivamente, se desvia acentuadamente do valor ideal de 180° devido, provavelmente, aos requerimentos espaciais do sistema quelante. Em contraste, os ângulos Cl1–Sn–Cl2 e N2–Sn–C16, que não implicam impedimento estérico, têm valores entre $167,3\text{--}171,4^\circ$ e $172,5\text{--}179,1^\circ$ para os compostos **43-46** e **48** respectivamente. O mesmo ocorre nos complexos **50** e **51** com os ângulos Cl1–Sn–Cl2 e N2–Sn–C21, os quais são de $169,63^\circ$ e $166,93^\circ$, e de $173,91^\circ$ e $174,69^\circ$, respectivamente (Tabela 7.9). Nos complexos **43-46** e **48** o átomo metálico se situa no plano dos átomos N1N2O1C16. Nos complexos **43-45** a distância do átomo de estanho ao plano calculado varia de $0,023\text{Å}$ a $0,059\text{Å}$, enquanto que nos compostos de

46 e **48** essa distâncias são menores (0,002 e 0,009 Å). Nos compostos **50** e **51** átomo metálico se situa no plano dos átomos N1N2O1C21, sendo a distância do átomo metálico ao plano de 0,072 e 0,026 Å, respectivamente.

Em todas as estruturas o esqueleto da hidrazona (C7(C15)N2N3C8O1) é planar, com desvio médio dos átomos a partir do plano calculado de 0,0055-0,0266 Å. Nos compostos a hidrazona adota a configuração *E* em relação à ligação dupla C7=N2. O ângulo entre a piridina e o plano da hidrazona varia de 1,5(6) até 7,87(3)°, enquanto o ângulo entre a hidrazona e o plano fenila varia de 0,5(2) até 14,9(2)°. Os complexos **45**, **48** e **51** mostram o maior desvio da planaridade para o ângulo entre a cadeia e o anel fenila.

A formação dos complexos leva a um alongamento da ligação C8–O1 da hidrazona livre, de 1,219 Å em H2AcPh¹¹, para 1,279 Å em **1** e 1,292 e 1,302 Å em **46**. Assim como de 1,215 e 1,2136 Å em H2BzpCIPh e H2BzpNO₂Ph¹², para 1,297 e 1,287 Å em **50** e **51** respectivamente. Ocorreu igualmente uma diminuição da distância da ligação N3–C8, de 1,347 Å em H2AcPh, para 1,336 Å em **43** e 1,321 e 1,327 Å em **46**; do mesmo modo essa distância variou de 1,366 e 1,360 Å em H2BzpCIPh e H2BzpNO₂Ph, para 1,325 e 1,324 Å em **50** e **51** (Tabela 7.8). Portanto a ligação C8–O1 adquire caráter de ligação simples, considerando que N3–C8 adquire caráter de ligação dupla. As distâncias de ligação entre o átomo de estanho e o nitrogênio imínico nos complexos, 2,190-2,161 Å, são ligeiramente menores que as distâncias entre o átomo de estanho e o nitrogênio piridínico, 2,288-2,235 Å. A distância de ligação Sn–O fica no intervalo de 2,108 – 2,092 Å.

¹¹Patole, J.; Sandbhor, U.; Padhye, S.; Deobagkar, D. N.; Anson, C. E.; Powell, A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 51.

¹²Despaigne, A.A.R.; Parrilha, G.L.; Izidoro, J.B.; da Costa P.R.; dos Santos, R.G.; Piro, O.E.; Castellano, E.E.; Rocha, W.R.; Beraldo, H.; *Eur.J.Med.Chem.* **2012**, 50, 163.

Tabela 7.8 – Distâncias de ligação selecionadas de [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (**43**), [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**44**), [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**45**), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**), [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**), [(*n*-but)Sn(2BzpClPh)Cl₂] (**50**) e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**51**).

Distância de ligação	(43) (Å)	(44) (Å)	^a (45) (Å)	^a (46) (Å)	(48) (Å)	(50) (Å)	(51) (Å)		
C2–C7	1,495(11)	1,504(13)	1,456(7)	1,483(7)	1,487(3)	1,467(4)	1,478(4)	1,487(4)	1,492(5)
C7–C15	1,505(12)	1,474(12)	1,484(7)	1,474(7)	1,479(3)	1,486(3)	1,479(4)	1,475(4)	1,478(4)
C7–N2	1,253(11)	1,298(10)	1,283(6)	1,279(6)	1,285(3)	1,285(3)	1,282(4)	1,296(4)	1,288(4)
N2–N3	1,381(9)	1,363(10)	1,381(6)	1,390(5)	1,381(2)	1,369(3)	1,375(3)	1,371(3)	1,373(3)
N3–C8	1,337(12)	1,305(11)	1,346(6)	1,308(7)	1,321(3)	1,327(3)	1,313(4)	1,325(4)	1,324(4)
C8–C9	1,455(12)	1,475(13)	1,471(7)	1,480(7)	1,490(3)	1,470(3)	1,487(4)	1,479(4)	1,471(4)
C8–O1	1,279(11)	1,309(11)	1,275(6)	1,305(6)	1,292(3)	1,302(3)	1,293(3)	1,297(3)	1,287(4)
Sn1–O1	2,108(6)	2,105(7)	2,096(4)	2,108(3)	2,099(14)	2,091(17)	2,104(2)	2,100(2)	2,099(2)
Sn1–N1	2,246(8)	2,280(8)	2,278(4)	2,288(4)	2,235(18)	2,248(19)	2,264(3)	2,271(3)	2,260(3)
Sn1–N2	2,171(7)	2,161(7)	2,184(4)	2,175(4)	2,165(2)	2,171(18)	2,170(3)	2,173(2)	2,190(2)
Sn1–C11	2,456(2)	2,460(2)	2,445(2)	2,445(2)	2,458(7)	2,470(7)	2,477(9)	2,4999(10)	2,4739(9)
Sn1–C12	2,494(3)	2,455(3)	2,500(2)	2,473(2)	2,453(7)	2,447(7)	2,445(9)	2,4459(10)	2,4690(9)
Sn1–C16	2,119(9)	2,166(12)	2,140(7)	2,137(8)	2,138(3)	2,124(2)	2,135(3)	-	-
Sn1–C21	-	-	-	-	-	-	-	2,126(4)	2,130(3)

^aHá duas moléculas diferentes por unidade assimétrica.

Tabela 7.9 – Ângulos selecionados de [(*n*-but)Sn(2AcPh)Cl₂] (**43**), [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**44**), [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**45**), [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**), [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**48**), [(*n*-but)Sn(2BzpClPh)Cl₂] (**50**) e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**51**).

Ângulo	(43) (°)	(44) (°)	^a (45) (°)	^a (46) (°)	(48) (°)	(50) (°)	(51) (°)		
C2–C7–N2	116,4(7)	114,1(8)	114,5(5)	113,6(5)	114,0(2)	115,0(2)	114,7(3)	113,7(3)	114,1(3)
N2–C7–C15	125,7(8)	123,9(8)	123,4(5)	124,6(5)	124,0(2)	122,5(2)	123,6(3)	124,4(3)	124,7(3)
C7–N2–N3	123,0(7)	120,2(7)	121,5(4)	119,7(4)	121,5(2)	122,2(2)	121,7(3)	121,5(3)	122,0(2)
C8–N3–N2	110,7(7)	111,2(7)	109,6(4)	109,3(4)	109,5(2)	109,8(2)	110,1(3)	110,6(2)	110,3(2)
N3–C8–C9	116,6(9)	117,2(9)	115,5(5)	115,5(5)	116,0(2)	117,6(2)	115,9(3)	116,3(3)	116,3(3)
N3–C8–O1	125,7(8)	124,0(8)	125,5(5)	127,1(5)	126,4(2)	125,2(2)	126,5(3)	125,7(3)	125,7(3)
C9–C8–O1	117,6(8)	118,8(8)	119,0(4)	117,3(5)	117,7(2)	117,6(2)	117,6(3)	118,0(3)	118,0(2)
N2–Sn1–C16	175,5(3)	176,1(5)	174,7(2)	172,5(2)	179,06(8)	178,82(9)	176,71(11)	-	-
N2–Sn1–C21	-	-	-	-	-	-	-	173,91(17)	174,69(12)
N1–Sn1–O1	146,7(2)	145,3(3)	144,96(16)	144,32(15)	146,12(7)	145,88(6)	145,97(9)	145,72(9)	145,32(9)
Cl1–Sn1–Cl2	167,76(12)	169,41(13)	168,97(5)	171,36(6)	169,54(2)	167,30(2)	170,75(3)	169,63(3)	166,93(3)

^aHá duas moléculas diferentes por unidade assimétrica.

Devido a coordenação de modo tridentado da hidrazona ao metal no complexos alguns ângulos no ligante sofreram mudanças significativas. O ângulo C8–N3–N2 muda de 117,02° em H2AcPh¹¹ para 110,7° em **43** e para 109,5° e 109,8° em **46**. Assim como de 119,64° e 112,69° em H2BzpClPh e H2BzpNO₂Ph¹² para 110,6 e 110,3° em **50** e **51** respectivamente. O ângulo N3–C8–O varia de 123,32° na base livre¹¹ para 125,7° em **43** e para 126,4 ° e 125,2° em **46**; tal como de 124,33 e 124,01° em H2BzpClPh e H2BzpNO₂Ph para 125,7° nos complexos **50** e **51**.

O empacotamento molecular de todos os complexos mostra interações fracas envolvendo átomos de Cl, H e O, com a formação de cadeias moleculares, como mostrado na figura 7.6. Os compostos **43-46** e **51** mostram interações entre moléculas adjacentes envolvendo Cl[⋯]H_{py}. Em **46**, **48** e **50** interações Cl[⋯]H são observadas envolvendo cloretos e hidrogênios do anel fenila da hidrazona. Em **48** as interações Cl[⋯]H também são observadas junto com pequenas interações H[⋯]O, envolvendo oxigênios do DMSO e do grupo nitro e hidrogênios da piridina e do DMSO.

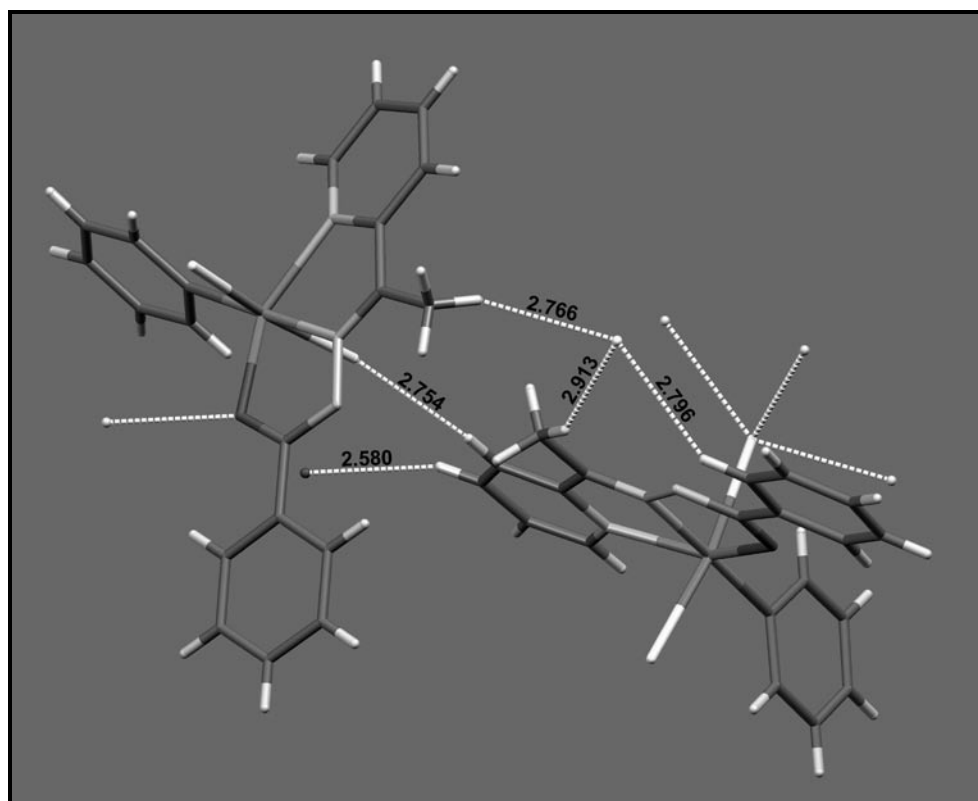


Figura 7.6 – Empacotamento molecular de [(Ph)Sn(2AcPh)Cl₂] (**46**) mostrando os contatos entre os átomos de Cl[⋯]H e O[⋯]H.

7.1 – Estudo da fluorescência dos compostos.

As cores dos complexos de estanho com hidrazonas emitiam fluorescência quando expostos a luz UV (254nm). Baseado nisto, espectros de fluorescência de todos os compostos (figura 7.7) e determinação do rendimento quântico foi realizado.

Da análise dos espectros da figura 7.7 pode-se observar que, em geral, os complexos das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina apresentaram maior intensidade de fluorescência que os derivados de 2-benzoilpiridina. Isto se deve ao fato que o anel fenila ligado ao carbono C(7) dos complexos de estanho com as 2-benzoilpiridina hidrazonas pode sofrer livre rotação provocando a perda de energia do estado excitado em forma de energia não-luminescente. Observa-se também a seguinte ordem de intensidade de fluorescência com respeito ao substituinte na posição *para* do anel fenila, $p\text{-Cl} > \text{H} > p\text{-NO}_2$, onde o efeito de diminuição da intensidade de fluorescência do grupo nitro foi maior nos complexos das 2-acetilpiridina hidrazonas que nos das 2-benzoilpiridina hidrazonas. Estes resultados estão de acordo com os valores de rendimento quântico obtidos para os compostos (Tabela 7.10 e Figura 7.8).

O composto $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**47**) foi o que apresentou maior rendimento quântico, com valor próximo de um. Neste composto determinamos o deslocamento Stokes em diferentes solventes; estes resultados encontram-se na tabela 7.11. Como se pode observar ocorre um incremento do valor de deslocamento com a polaridade dos solventes; indicando que a polaridade no estado excitado é maior que no estado fundamental¹³.

O fato de os ligantes não apresentarem fluorescência apreciável nestas condições é muito significativo, pois isto indica que esta propriedade é devida à coordenação do metal com as hidrazonas. Após a coordenação há um aumento da conjugação no ligante pela perda de um próton no nitrogênio alifático da cadeia da hidrazona e aliado à rigidez do ligante no complexo faz com que os complexos apresentem fluorescência.

¹³Valeur, B.; *Molecular Fluorescence: Principles and applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Federal Republic of German, 2001.

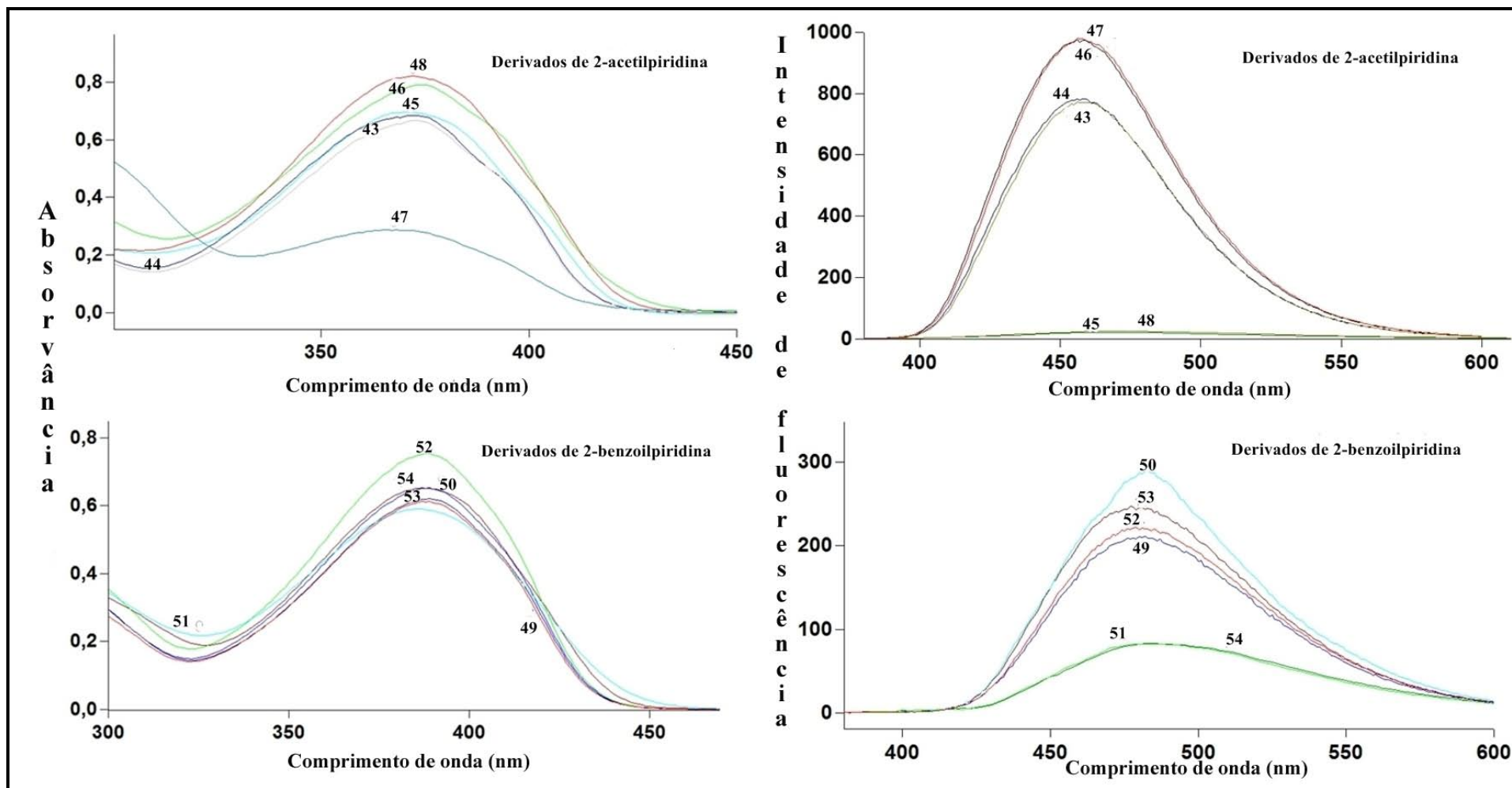


Figura 7.7 – Espectros de excitação e emissão dos complexos de estanho (IV) com hidrazonas.

Tabela 7.10 – Rendimento quântico (Φ_F) dos complexos de estanho(IV) com hidrazonas em acetonitrila.

Composto	Absorção(nm)	$\epsilon(\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1})$	Excitação (λ , nm)	Emissão (λ_{max} , nm)	Φ_F	Luminosidade ($\epsilon \cdot \Phi_F$)
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43)	373	99611	370	458	0,36	35859
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44)	373	107089	370	458	0,38	40693
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45)	372	111929	370	472	0,00318	355
[(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46)	374	95523	370	458	0,48	45851
[(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (47)	371	50369	370	458	1,00	50369
[(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48)	372	137516	370	472	0,00368	506,05
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzPh)Cl ₂] (49)	388	102393	370	480	0,15	15358
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50)	388	116765	370	482	0,14	16347
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51)	385	104115	370	485	0,017	1769
[(Ph)Sn(2BzPh)Cl ₂] (52)	388	105882	370	480	0,14	14823
[(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (53)	389	113316	370	480	0,16	18130
[(Ph)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (54)	387	121127	370	485	0,0152	1841
H2AcPh (16)	295	23051	-	-	-	-
	371	628				
H2AcpClPh (17)	235	13781	-	-	-	-
	294	23060				
H2AcpNO ₂ Ph* (18)	-	-	-	-	-	-
	236	17720				
H2BzPh (20)	270	15183	-	-	-	-
	321	17517				
	242	18996				
H2BzpClPh (21)	268	14905	-	-	-	-
	322	17331				
H2BzpNO ₂ Ph* (22)	-	-	-	-	-	-

*pouco soluvel em acetonitrila

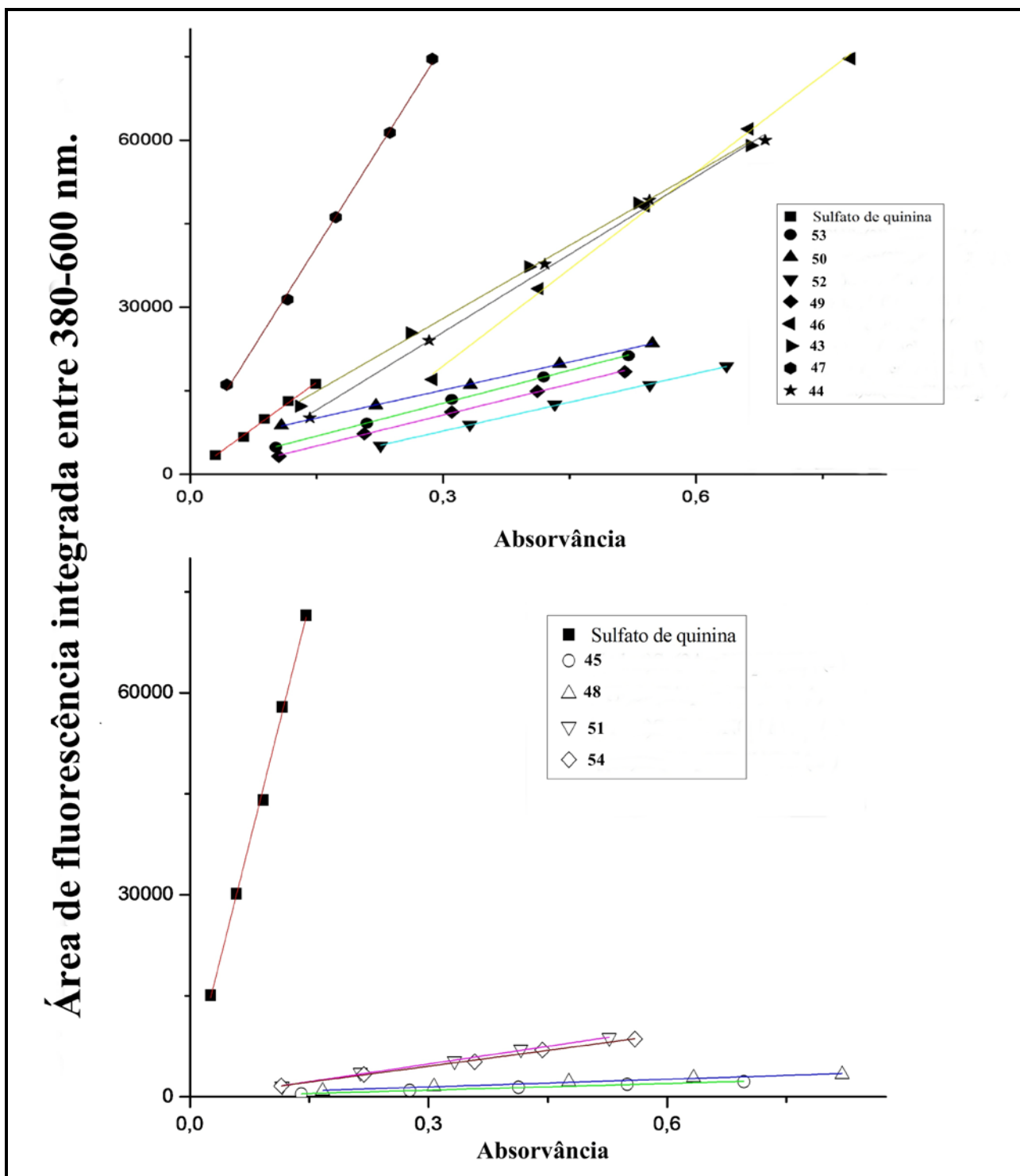


Figura 7.8 - Gráficos de área de fluorescência vs absorvância dos complexos usados no cálculo do rendimento quântico.

Tabela 7.11 – Deslocamento Stokes para o complexo [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂] (**47**).

Solvente	Constante dielétrica ¹⁴	Momento Dipolar(D) ¹⁴	Excitação (λ_{\max} , nm)	Emissão (λ_{\max} , nm)	Intensidade de fluorescência	% relativo	Deslocamento Stokes (cm ⁻¹)
Dimetilsulfóxido	46,7	3,96	375	473	215	41,6	98
Dimetilformamida	38	3,82	373	456	22	4,26	83
Acetonitrila	37,5	3,92	372	458	507,2	98,26	86
Metanol	32,63	1,70	368	462	63,2	12,24	94
Etanol	24,3	1,69	374	458	314,4	60,92	84
Diclorometano	9,08	1,60	381	460	516,2	100	79
Clorofórmio	4,806	1,04	386	461	465	90,08	74
Tolueno	2,38	0,36	386	459	420,3	81,42	73

¹⁴ *Handbook of Chemistry and Physics*, 52 ed, Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio, EUA.1971-1972.

Com o intuito de inferir sobre a propriedade de fluorescência desses compostos no meio biológico, um estudo de avaliação da intensidade de fluorescência de um complexo frente ao aumento da concentração de um composto formador de micelas (tween) foi realizado. O tween pode formar micelas que mimetizam as membranas celulares.

Como pode se observar na Figura 7.9 a intensidade de fluorescência do complexo $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**47**) aumenta com a adição do surfactante micelar, sugerindo que o composto passa da solução aquosa (tris) para interior da micela, um meio mais lipofílico que favorece o processo de emissão de energia. Este resultado parece promissor ao estudo com células, em que experimentos de fluorescência podem ser utilizados para identificar para onde os compostos são dirigidos no interior de célula. Além disto, os compostos ligados a proteínas específicas poderiam ser usados como marcadores fluorescentes em análise *in vitro*.

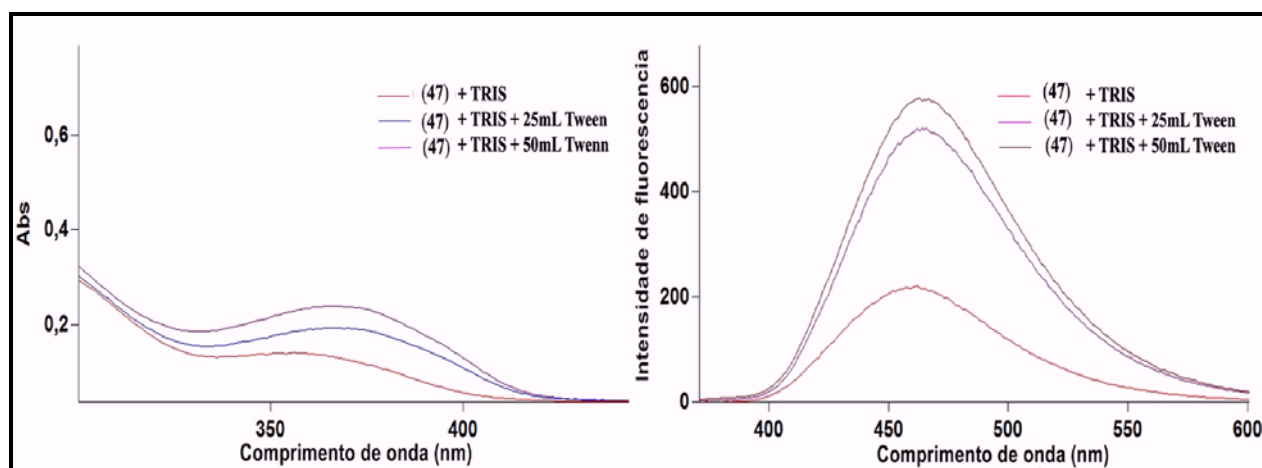


Figura 7.9 – Espectros de excitação e de emissão do complexo $[(\text{Ph})\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**47**) em meio aquoso antes e depois da adição do surfactante.

7.2 – Atividade antimicrobiana

7.2.1 – Método de macrodiluição

A determinação das concentrações inibitórias mínimas (CIM) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (2.3.1). Os compostos foram testados contra *S. aureus* ATCC 6538 e *C. albicans* (ATCC 18804 e 10231). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 7.12.

As hidrazonas em geral apresentaram baixa atividade frente a bactérias gram-positivas, como mencionamos no capítulo 4, mas depois da complexação observou-se uma mudança na atividade dos novos compostos. Todos os complexos, exceto **49** e **52**, foram mais ativos que as hidrazonas livres, destacando-se os compostos **44** (CIM = $59 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **47** (CIM = $57 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **51** (CIM = $86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **53** (CIM = $86 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) que foram entre 3,3 - 6,9 vezes mais ativos. Apesar da atividade mais alta dos complexos em relação às hidrazonas livres, os valores

de CIM para os compostos de estanho foram superiores ao do fármaco de referência, a tetraciclina (CIM = 0,36 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Nos testes frente a *C.albicans* ATCC 18804 só foi possível realizar o experimento com as hidrazonas dos complexos derivados da 2-acetipiridina. Neste caso H2AcpClPh (**17**) mostrou-se um composto muito ativo (CIM = 46 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), com valor de CIM da mesma ordem de grandeza que o fármaco de controle fluconazol (CIM = 33 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). As outras hidrazonas foram muito menos ativas. Depois da complexação não foi observada uma melhoria significativas nos novos complexos de estanho(IV) com as hidrazonas H2AcPh (**16**) e **17**, mas no caso da H2AcpNO₂Ph (**18**) (CIM > 179 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), observou-se um aumento da atividade para os complexos **45** (CIM = 96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **48** (CIM = 93 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) ainda que os valores de CIM tenham sido quase três vezes maiores que o fluconazol (CIM = 33 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Analisando os resultados frente a *C.albicans* (ATCC 10231), observa-se que os valores de CIM dos complexos **44** (CIM = 49 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **45** (CIM = 96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **46** (CIM = 47 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) são menores que os das hidrazonas **17** (CIM = 86 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **18** (CIM = 111 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), e são também melhores que do fármaco de referência, fluconazol (CIM = 79 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Esses compostos também apresentaram maior atividade que o sal de estanho de partida. Os complexos **50** (CIM = 83 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **53** (CIM = 82 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) apresentaram valores de CIM na mesma ordem que o fluconazol, as hidrazonas livres e o sal de partida. Podemos concluir que a coordenação de sais organoestânicos com hidrazonas é uma estratégia interessante para melhorar o perfil farmacológico de ambos, metal e ligantes¹⁵.

¹⁵Viñuelas-Zahínos, E.; Maldonado, M. A.; Luna-Giles, F.; Barros-García, F. J. *Polyhedron*. **2008**, *27*, 871.

Tabela 7.12 – Concentração inibitória mínima (CIM) das hidrazonas e seus complexos de estanho(IV) contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

Compostos	CIM / μmolL^{-1}		
	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	
		ATCC 18804	ATCC 10231
H2AcPh (16)	428	213	179
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43)	255	210	>208
[(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46)	132	206	>198
H2AcpClPh (17)	197	46	86
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44)	59	45	49
[(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (47)	57	46	47
H2AcpNO ₂ Ph (18)	353	>179	111
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45)	125	96	96
[(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48)	114	93	>181
H2BzPh (20)	177	ND	105
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzPh)Cl ₂] (49)	330	ND	>186
[(Ph)Sn(2BzPh)Cl ₂] (52)	323	ND	>174
H2BzpClPh (21)	>619	ND	79
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50)	330	ND	83
[(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (53)	86	ND	82
H2BzpNO ₂ Ph (22)	>600	ND	>750
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51)	86	ND	>170
[(Ph)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (54)	323	ND	>163
[(<i>n</i> -but)SnCl ₃]	>1880	>860	>860
[(Ph)SnCl ₃]	249	158	81,7
Tetraciclina	0,36	-	-
Fluconazol	-	33	79

ND: Não determinado

7.2.2 – Método de microdiluição

Foi avaliada a atividade antifúngica das hidrazonas frente aos fungos *Candida glabrata* ATCC 2001 e *C. albicans* ATCC 18804 e os fungos filamentosos *Cladosporium cladosporioides* (LABB 6) e *Aspergillus flavus* (LABB 44). A determinação das concentrações inibitórias mínimas de 50% do crescimento (CIM₅₀) foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (2.3.2). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 7.13.

Tabela 7.13 – Concentração inibitória mínima das hidrazonas e seus complexos de estanho(IV) para inibir 50% do crescimento (método de microdiluição).

Compostos	CIM ₅₀ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)			
	<i>A. flavus</i>	<i>C. cladosporioides</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>
H2AcPh (16)	NA	1046	<1	130,7
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcPh)Cl ₂] (43)	NA	>515,4	0,5	121,8
[(Ph)Sn(2AcPh)Cl ₂] (46)	61,8	495	<0,48	30,9
H2AcpClPh (17)	457	914	<0,87	57
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (44)	60,1	240,6	<0,47	15
[(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl ₂] (47)	115,8	>463,4	<0,45	11,4
H2AcpNO ₂ Ph (18)	880,2	27,6	<0,86	440,1
[(<i>n</i> -but)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (45)	117,9	471,7	<0,46	471,7
[(Ph)Sn(2AcpNO ₂ Ph)Cl ₂] (48)	113,6	113,6	<0,44	113,6
H2BzPh (20)	414,8	3,2	NA	NA
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzPh)Cl ₂] (49)	114,2	456,9	<0,44	57,1
[(Ph)Sn(2BzPh)Cl ₂] (52)	220,4	110,2	<0,43	110,2
H2BzpClPh (21)	372,2	372,2	NA	NA
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (50)	6,7	429,9	<0,4	107,4
[(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl ₂] (53)	207,8	NA	<0,4	103,9
H2BzpNO ₂ Ph (22)	>722,5	1,4	<0,7	>722,5
[(<i>n</i> -but)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (51)	52,7	3,2	28	101,5
[(Ph)Sn(2BzpNO ₂ Ph)Cl ₂] (54)	>408,4	NA	<0,39	204,2
(Ph)SnCl ₃	221,4	NA	55,3	221,4
(<i>n</i> -but)SnCl ₃	>827,3	NA	103,4	206,8
Nistatina	269	269	1,05	269

NA: Não ativo

Depois da complexação com os sais de estanho (IV) observou-se, na maioria dos casos, um incremento significativo na atividade dos compostos frente ao fungo *A. flavus*, sendo que quase todos os complexos apresentaram valores de CIM₅₀ na mesma ordem de grandeza ou superior ao do fármaco de referência, nistatina (CIM₅₀ = 269 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Os complexos mais destacados foram, **44** (CIM₅₀ = 60,1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **46** (CIM₅₀ = 61,8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), **50** (CIM₅₀ = 6,7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e **51** (CIM₅₀ = 52,7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Em geral os complexos formados a partir de [(*n*-but)SnCl₃] apresentaram maior atividade que aqueles obtidos a partir de [(Ph)SnCl₃]. Este resultado é interessante, pois [(*n*-but)SnCl₃] mostrou uma atividade muito baixa contra *A. flavus*,

ao contrário de [(Ph)SnCl₃], que apresentou uma atividade na mesma ordem de grandeza que o fármaco de referência.

Os complexos de estanho(IV) em geral não foram mais ativos que as hidrazonas livres frente a *C. cladosporioides*. Os valores de CIM foram superiores ao valor encontrado para a nistatina (CIM₅₀ = 269 μmolL⁻¹), exceto nos compostos **48** (CIM₅₀ = 113,6 μmolL⁻¹), **51** (CIM₅₀ = 3,2 μmolL⁻¹) e **54** (CIM₅₀ = 110,2 μmolL⁻¹).

Os resultados obtidos frente a *C. glabrata* foram muito significativos. Todos os complexos tiveram valores de CIM₅₀ muito menores que o fármaco de referência, entre 9 e 600 vezes, além de superar em atividade as respectivas hidrazonas. Exceção é o composto **51** (CIM₅₀ = 28 μmolL⁻¹), que foi o menos ativo mas mostrou uma atividade 9 vezes superior a da nistatina (CIM₅₀ = 269 μmolL⁻¹). Os complexos também foram mais ativos que os sais de partida.

Com respeito ao fungo *C. albicans*, constatou-se uma melhoria significativa depois da coordenação com os sais de estanho em alguns compostos. Por exemplo, os compostos **44** (CIM₅₀ = 15 μmolL⁻¹), **46** (CIM₅₀ = 30,9 μmolL⁻¹), **47** (CIM₅₀ = 11,4 μmolL⁻¹) e **49** (CIM₅₀ = 57,1 μmolL⁻¹) foram quatro vezes mais ativos que as hidrazonas, entre 3,6-14,3 vezes que os sais de partida e entre 4,8-23,6 vezes que o fármaco de controle, nistatina (CIM₅₀ = 269 μmolL⁻¹).

Da análise dos resultados das atividades destes complexos e seus compostos precursores (sais e ligantes) em alguns casos, exceto frente a *C. cladosporioides*, podem ser observados efeitos de sinergismo, uma vez que tanto os sais como os ligantes são ativos. Nos casos onde só o sal mostrou atividade, a hidrazona pode atuar como um carregador do metal para o interior das células do fungo. De qualquer forma a estratégia da formação desses complexos visando melhorar as propriedades antifúngicas das hidrazonas pode se qualificar de adequada.

8 - CONCLUSÕES GERAIS.

No presente trabalho foi proposta a síntese e caracterização de novos compostos com o objetivo de avaliar suas propriedades biológicas e potenciais. Foi planejada a preparação de duas famílias de compostos orgânicos, especificamente hidrazonas, com certa similaridade estrutural: a primeira, derivada de imidazol e a segunda derivada de piridina. Também foram preparados os compostos metálicos das mesmas com o objetivo de melhorar suas atividades. A seguir será feita uma avaliação geral dos resultados obtidos no trabalho.

Um total de 54 compostos, sendo 22 hidrazonas e 32 complexos, foram obtidos. Foram determinadas estruturas cristalográficas de 27 dos 54 compostos sintetizados no presente trabalho.

No total foram preparadas 12 hidrazonas derivadas do anel imidazol e 10 derivadas da piridina. Estes compostos têm características estruturais similares, sobretudo porque foram usadas as mesmas hidrazidas nas sínteses de ambas as famílias. Avaliamos a atividade antimicrobiana das mesmas pelo método de macrodiluição e a atividade antifúngica pelo método de microdiluição. Dos resultados obtidos das análises podemos chegar às seguintes conclusões.

As hidrazonas derivadas com anel imidazol não apresentaram atividade antibacteriana apreciável, mas ao serem testadas contra fungos filamentosos e patogênicos, como do gênero *candida*, observou-se uma atividade antifúngica bastante significativa. Dos doze compostos testados cinco [4(5)ImPh, 4(5)ImpClPh, 4(5)ImpNO₂Ph, 4ImAcpClPh e 4ImAcpNO₂Ph] mostraram-se ativos frente a *Candida glabrata*, e quatro deles apresentaram CIM₅₀ na ordem ou menor que a nistatina, fármaco usado no tratamento de infecções fúngicas. Além disto, os compostos 4(5)ImpClPh e 4(5)ImpNO₂Ph foram altamente ativos frente ao fungo *Cladosporium cladosporioides* sendo entre 140 e 35 vezes mais ativos que a nistatina. Analisando as estruturas dos derivados ativos, podemos concluir que a presença de grupos retiradores de elétrons (como Cl e NO₂), na posição para do anel fenila ligado à carbonila, potencializa a atividade antifúngica desses compostos.

As hidrazonas derivadas da piridina apresentaram uma atividade antibacteriana pobre, com valores de MIC muito superiores aos fármacos de referência, mas apresentaram uma forte atividade antifúngica. Os compostos H2AcPh, H2AcpClPh, H2AcpNO₂Ph e H2BzpNO₂Ph foram significativamente ativos frente a *C. glabrata*. H2AcpClPh apresentou atividade contra a *Candida albicans* na ordem do fluconazol enquanto que H2AcPh e H2FopClPh resultaram mais ativos que a nistatina contra *C. albicans*. Esta última hidrazona foi muito ativa frente a *Aspergillus flavus* superando em nove vezes a atividade da nistatina. Por último, as hidrazonas

H2FopNO₂Ph, H2AcpClPh, H2AcpNO₂Ph, H2BzPh e H2BzpNO₂Ph mostraram-se mais ativas que a nistatina frente a *C. cladosporioides*, sendo os dois últimos entre 85 e 190 vezes mais ativo que o fármaco de referência. Observa-se nesta família de compostos algo parecido com a anterior quanto a importância dos grupos *para* substituídos com respeito à atividade, onde parece que os substituintes retiradores de elétrons têm um papel importante.

Da comparação dos resultados obtidos para as duas famílias frente aos mesmos microorganismos podemos concluir que as hidrazonas derivadas da piridina têm melhor perfil antifúngico que as derivadas do anel imidazol, por mostrarem-se ativas frente a um maior número de fungos. Dentro das derivadas da piridina aquelas derivadas de 2-acetilpiridina são as de maior atividade. Portanto podemos concluir que a melhor combinação estrutural para a manifestação da atividade antifúngica é das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina com substituintes retiradores de elétrons em posição *para* do anel fenila.

Da análise dos resultados obtidos na atividade antimicrobiana para os complexos das hidrazonas, encontramos que os complexos de zinco(II) não apresentaram atividade antimicrobiana, mas os compostos de cobre(II) e estanho(IV) tiveram um comportamento bem diferente.

Depois da coordenação com cobre(II) houve um incremento na atividade de vários compostos frente a todos os microorganismos. O pior caso foi frente a *Pseudomonas aeruginosa* onde só um complexo, [Cu(2BzpClPh)Cl], teve melhor CIM que o ligante, mas o valor 15 vezes maior que o da tetraciclina, pelo que podemos concluir que frente a este tipo de bactéria as hidrazonas e os complexos não se mostraram eficientes. Seis complexos mostraram-se mais ativos que as hidrazonas livres frente as bactéria *gram* positiva *Staphylococcus aureus* e cinco frente a *Enterococcus faecalis*. No entanto, todos os valores de CIM foram entre 27 e 524 vezes maiores que os dos fármacos de referência. Podemos destacar os compostos [Cu(H2FopClPh)Cl₂], [Cu(2AcPh)Cl], [Cu(2AcpClPh)Cl] e [Cu(2BzPh)Cl] que foram entre 3-20 vezes mais ativos que os ligantes livres frente a *S. Aureus*. Também estes últimos três compostos juntamente com [Cu(2BzpNO₂Ph)Cl] foram entre 6-11 vezes mais ativos que as hidrazonas livres frente a *E. faecalis*. O fato de que as hidrazonas não apresentam atividade apreciável frente a estas bactérias e os complexos de cobre(II) serem ativos constitui um resultado muito interessante.

Frente ao fungo *C. albicans* os complexos [Cu(2BzpClPh)Cl] e [Cu(2AcpClPh)Cl] tiveram melhor atividade que as hidrazonas mas neste caso os valores de CIM dos complexos foi menor que o do fluconazol o que os qualifica como futuros candidatos a fármacos antifúngicos.

Os complexos das hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina apresentaram-se como os de melhor perfil antimicrobiano. Por fim pode-se dizer que há uma melhora significativa da atividade dos compostos quando coordenados.

Os complexos de estanho(IV) foram preparados a partir de dois sais diferentes [(*n*-but)SnCl₃] e [(Ph)SnCl₃]. Neste caso preparamos os complexos de hidrazonas derivadas de 2-acetil- e 2-bezoilpiridina com grupos fenila, que foram as que exibiram melhor perfil biológico. Do estudo da atividade frente a *S. aureus* vimos uma melhoria significativa da atividade com a complexação, com destaque para os compostos [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂], [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂], [(*n*-but)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂], [(Ph)Sn(2AcpNO₂Ph)Cl₂], [(Ph)Sn(2BzpClPh)Cl₂] e [(*n*-but)Sn(2BzpNO₂Ph)Cl₂], que foram entre 3-7 vezes mais ativos que os ligantes livres, exibindo valores de CIM superiores aos da tetraciclina. Com relação à atividade antifúngica frente a *C. albicans*, os complexos apresentaram bons resultados ainda que, só os compostos [(*n*-but)Sn(2AcpClPh)Cl₂] e [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂] tenham apresentado alguma melhoria com respeito aos ligantes livres no método de macrodiluição. Os valores de CIM foram menores que os do fluconazol nestas condições. Ao serem avaliados pelo método de microdiluição houve uma melhoria geral na atividade dos compostos depois da complexação, exceto, frente a *C. cladosporioides*, os valores de CIM são menores que os da nistatina

Este incremento da atividade antimicrobiana com a coordenação das hidrazonas com metais poderia ser explicado pelo fato de que a hidrazona se comportaria como um carreador do metal para o interior dos microorganismos. Isto ocorreria, por exemplo, nos casos em que a hidrazona e os sais livres resultaram pouco ativos. Sais como o cloreto de cobre são pouco lipossolúveis o que dificulta sua passagem pela membrana celular, o que explicaria sua baixa atividade. A complexação com os ligantes pode formar compostos com maior lipofilia que podem atravessar as membranas dos microorganismos permitindo a ação contra os mesmos.

Outra propriedade mostrada pelos complexos de estanho(IV) foi a fluorescência. Obtivemos valores de rendimento quântico maiores que 0,1 para oito complexos, destacando-se significativamente o composto [(Ph)Sn(2AcpClPh)Cl₂] com valor de 1. A adição de tween, surfactante, levou a um aumento na intensidade de fluorescência dos compostos, indicado que os complexos poderiam ter o mesmo comportamento frente a células e microorganismos devido à similaridade nas características lipofílicas das micelas com as membranas celulares.

A atividade citotóxica foi avaliada para as hidrazonas derivadas de piridina. O estudo preliminar mostrou que na concentração de 1,0 μmol L⁻¹ as hidrazonas apresentaram boa atividade citotóxica contra as células de glioblastomas U87 e T98. Ao serem estudadas mais a

fundo encontramos que todas, exceto H2BzpNO₂Ph, mostraram valores de CI₅₀ em concentrações nanomolar e inferiores, mas o mais importante é que estes compostos tiveram um índice terapêutico (IT= CI₅₀ células tumorais/CI₅₀ células saudáveis), entre 2-660, para as células T98 e 28-5000 frente a células U87, o que indica que estes compostos podem ser considerados como candidatos a protótipos de fármacos antitumorais. Estudos realizados mostraram a morte por apoptose das células tumorais. As hidrazonas derivadas de 2-acetilpiridina mostraram-se mais ativas que as derivadas de 2-benzoilpiridina. Estudos da relação estrutura atividade (SAR) mostraram que isto pode estar relacionado com o caráter lipofílico dos compostos, porque se encontrou uma correlação entre os valores de LogP com a atividade. Sendo que valores não muito elevados desta propriedade contribuem positivamente com a atividade citotóxica. Também estes estudos mostraram que existe uma correlação inversa entre a área superficial e momento dipolo com a atividade citotóxica.

Os complexos de cobre(II) destas hidrazonas apresentaram bom perfil de inibição frente a células U87 na concentração de 1 μmol·L⁻¹, em alguns casos melhores que os ligantes livres (hidrazonas). Estudos de interação mostraram que os compostos têm capacidade para interagir com o DNA tanto de microorganismos como das células estudadas. Três destes compostos apresentaram perfil de intercalação, como possível mecanismo de ação, com o DNA.

Depois da análise de todos os resultados obtidos neste trabalho podemos responder a hipótese formulada. Foi possível obter candidatos a protótipos de fármacos a partir de hidrazonas derivadas do anel imidazol e de piridina assim como de seus compostos metálicos.

Assim como, os resultados obtidos dos estudos de fluorescência são muito interessantes pelo fato de que os compostos têm a possibilidade de serem usados para estudos de imagens *in vitro*.

Alem disto, os resultados deste trabalho possibilitaram a publicação de seis artigos. (ver anexo)

ANEXOS-ARTIGOS PUBLICADOS



Structural studies on zinc(II) complexes with 2-benzoylpyridine-derived hydrazones

Angel A. Recio Despaigne^a, Jeferson G. Da Silva^a, Ana Cerúlia M. do Carmo^a, Oscar E. Piro^b,
Eduardo E. Castellano^c, Heloisa Beraldo^{a,*}

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^bDepartamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata and Instituto IFLP(CONICET), C.C. 67, 1900 La Plata, Argentina

^cInstituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, C.P. 369, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 July 2008

Received in revised form 12 September 2008

Accepted 16 September 2008

Available online 24 September 2008

Keywords:

2-Benzoylpyridine

Hydrazones

Zinc(II) complexes

Structural studies

ABSTRACT

2-Benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2-BzpClPh), and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenyl (H2BzpNO₂Ph) hydrazone were obtained and fully characterized, as well as their zinc(II) complexes [Zn(H2BzPh)Cl₂] (**1**), [Zn(H2BzClPh)Cl₂] (**2**) and [Zn(H2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**3**). During the syntheses of complex **1** a second product crystallized, which was characterized as [Zn(2BzPh)₂] (**1a**). Upon re-crystallization in 1:9 DMSO:acetone conversion of **2** into [Zn(H2BzpClPh)Cl₂] · H₂O (**2a**) and of **3** into [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**) occurred. The crystal structures of **1a**, **2a** and **3a** were determined. In **1a** the two nearly perpendicular H2BzPh ligands give rise to a distorted octahedral environment around the metal. The 5-fold coordination around the metal is completed with two chloride ions in **2a** and with one chloride and one oxygen atom from DMSO in **3a**.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Hydrazones are a versatile class of compounds with several applications. Due to their chelating behavior, hydrazones are used in analytical chemistry as selective metal extracting agents as well as in spectroscopic determination of certain transition metals [1]. Hydrazone derivatives are found to possess antimicrobial [2,3], anti-tubercular [4], anti-convulsant [2,5] and anti-inflammatory activities [2,6,7]. Moreover, the copper(II) complex of salicylaldehyde benzoylhydrazone was shown to be a potent inhibitor of DNA synthesis and cell growth [8]. Some hydrazone analogues have been investigated as potential oral iron chelating drugs for the treatment of genetic disorders such as thalassemia [9,10] and have also been suggested as possible metal chelating agents for treating neurodegenerative disorders such as Alzheimer disease [11,12].

In the present work a first investigation on the chelating ability of 2-benzoylpyridine-derived hydrazones towards zinc(II) was carried out. To this purpose, 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2-BzpClPh) and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone

(H2BzpNO₂Ph) (Fig. 1) were prepared and fully characterized, as well as a series of their zinc(II) complexes.

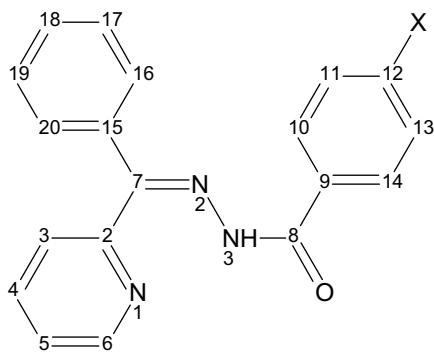
2. Experimental

2.1. Materials and equipment

Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using CsI/nujol; an YSI model 31 conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements. NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker DPX-200 Avance (200 MHz) spectrometer using deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-*d*₆) or deuterated chloroform (CDCl₃) as solvent and tetramethylsilane (TMS) as internal reference. Crystal structures of the zinc(II) complexes were investigated using single-crystal X-ray diffraction methods. Data were collected at room temperature on a Kappa CCD diffractometer working in the ϕ and ω scan mode. Crystal data, data collection procedure, structure determination methods and refinement results are summarized in Table 1 [13–17]. The hydrogen atoms of the hydrazones were included in the molecular models at stereo-chemical positions and refined with the riding model. The DMSO methyl H-atoms were optimized by treating them as a rigid group allowed to rotate around the C–S bond. The water hydrogen atoms were

* Corresponding author.

E-mail address: hberaldo@ufmg.br (H. Beraldo).



X= H (in H2BzPh) or Cl (in H2BzpClPh) or NO₂ (in H2BzpNO₂Ph)

Fig. 1. Structural representation for the 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2BzpClPh) and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2BzpNO₂Ph).

located in a difference Fourier map and refined at their found positions.

2.2. Syntheses of 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2BzpClPh) and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2BzpNO₂Ph)

The hydrazones were prepared by mixing equimolar amounts of 2-benzoylpyridine with the desired hydrazide in methanol with addition of three drops of acetic acid as catalyst. The reaction mixture was kept under reflux for 6 h. After cooling to room temperature the resulting solids were filtered off, washed with ethanol and ether and dried *in vacuo*.

2.2.1. H2BzPh

Color: white. Yield: 83%. M.P.: 140.5–142.9 °C. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1685 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1600 m; $\rho(\text{py})$ 614 m. ¹H RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 14.72 (Z), 10.15 (E) [s, 1H, N3H (Z and E isomers)]; 8.95 (Z), 8.49 (E) [d, 1H, H6 (Z and E isomers)]; 8.04 (Z), 7.90 (E) [t, 1H, H4 (Z and E isomers)]; 7.89 (E) [d, 1H, H3 (E isomers)]. ¹³C RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 162.9 (E) (C8); 155.1 (E), 151.8 (Z) [C2 (Z and E isomers)]; 148.7 (Z), 148.5 (E) [C6 (Z and E isomers)]; 148.1 (Z) (C7); 138.3 (Z), 136.7 (E) [C4 (Z and E isomers)]; 127.1 (Z), 124.9 (E) [C3 (Z and E isomers)]; 126.3 (Z), 124.0 (E) [C5 (Z and E isomers)].

2.2.2. H2BzpClPh

Color: white. Yield: 76%. M.P.: 166.3–167.9 °C. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1689 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1592 m; $\rho(\text{py})$ 615 m. ¹H RMN [200 MHz, CDCl₃, δ (ppm)] main signals: 15.21 (Z), 13.18 (E) [s, 1H, N3H (Z and E isomers)]; 8.81 (Z), 8.54 (E) [d, 1H, H6 (Z and E isomers)]; 7.83 (E,Z) [t, 2H, H4 (Z and E isomers)]; 7.92 (E), 7.61 (Z) [d, 1H, H3 (Z and E isomers)]; 7.60 (Z), 7.38 (E) [d, 2H, H5 (Z and E isomers)]. ¹³C RMN [200 MHz, CDCl₃, δ (ppm)] main signals: 163.3 (Z) (C8); 153.0 (Z) (C2); 149.1 (Z), 147.8 (E) [C6 (Z and E isomers)]; 148.3 (Z), 148.5 (E) [C7 (Z and E isomers)]; 137.6 (Z), 136.4 (E) [C4 (Z and E isomers)]; 126.9 (Z), 124.5 (E) [C5 (Z and E isomers)]; 126.2 (Z), 124.3 (E) [C3 (Z and E isomers)].

2.2.3. H2BzpNO₂Ph

Color: yellow. Yield: 65%. M.P.: 230–233 °C. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1682 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1603 m; $\rho(\text{py})$ 615 m. ¹H RMN [200 MHz, CDCl₃, δ (ppm)] main signals: 15.49 (s, 1H, N3H); 8.83 (d, 1H, H6); 7.87 (t, 1H, H4); 7.62 (m, 2H, H3, H5). ¹³C RMN [200 MHz, CDCl₃, δ (ppm)] main signals: 162.4 (C8); 153.1 (C2); 149.9 (C7); 147.8 (C6); 137.9 (C4); 124.3 (C5); 124.0 (C3).

2.3. Syntheses of the zinc(II) complexes with H2BzPh, H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph

The zinc(II) complexes were obtained by refluxing an ethanol solution of the desired ligand with zinc chloride (ZnCl₂) in 1:1 ligand-to-metal molar ratio. The solids were washed with ethanol followed by diethylether and then dried *in vacuo*.

2.3.1. Dichloro(2-benzoylpyridine-phenylhydrazone)zinc(II) [Zn(H2BzPh)Cl₂] (**1**)

Light yellow solid. Yield: 89%. Anal. Calc. (C₁₉H₁₅Cl₂N₃OZn): C, 52.14; H, 3.45; N, 9.60. Found: C, 51.83; H, 3.42; N, 9.52%. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1638 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1593 m; $\rho(\text{py})$ 639 m; $\nu(\text{Zn}-\text{N})$ 410 m. ¹H RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 14.71 (s, 1H, N3H); 8.99 (d, 1H, H6); 8.10 (t, 1H, H4); 7.64 (t, 1H, H3); 7.41 (t, 1H, H5). ¹³C RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 162.6 (C8); 151.8 (C2); 148.7 (C6); 146.1 (C7); 138.5 (C4); 126.4 (C5); 125.0 (C3). Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 22.18 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

2.3.2. Dichloro(2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone)zinc(II) [Zn(H2BzpClPh)Cl₂] (**2**)

Light yellow solid. Yield: 49%. Anal. Calc. (C₁₉H₁₄Cl₃N₃OZn): C, 48.34; H, 2.99; N, 8.90. Found: C, 46.79; H, 2.30; N, 8.87%. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1646 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1585 m; $\rho(\text{py})$ 638 m; $\nu(\text{Zn}-\text{N})$ 410 m. ¹H RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 14.76 (s, 1H, N3H); 8.92 (d, 1H, H6); 8.03 (t, 1H, H4); 7.92 (t, 1H, H3); 7.58 (t, 1H, H5). ¹³C RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 165.8 (C8); 154.6 (C2); 148.9 (C6); 146.5 (C7); 138.7 (C4); 126.6 (C5); 125.4 (C3). Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 20.42 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

2.3.3. Dichloro(2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone)zinc(II) [Zn(H2BzpNO₂Ph)Cl₂] (**3**)

Yellow solid. Yield: 79 %. Anal. Calc. (C₁₉H₁₄Cl₂N₄O₃Zn): C, 47.28; H, 2.92; N, 11.61. Found: C, 45.07; H, 2.31; N, 11.58%. Selected IR bands (cm⁻¹): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1651 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1593 m; $\rho(\text{py})$ 640 m; $\nu(\text{Zn}-\text{N})$ 411 m. ¹H RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 14.81 (s, 1H, N3H); 8.97 (d, 1H, H6); 8.07 (t, 1H, H4); 7.98 (t, 1H, H3); 7.40 (t, 1H, H5). ¹³C RMN [200 MHz, DMSO-*d*₆, δ (ppm)] main signals: 164.8 (C8); 150.9 (C2); 149.0 (C6); 147.2 (C7); 138.0 (C4); 124.4 (C5); 123.6 (C3). Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, dimethylformamide, DMF): 22.18 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

During the syntheses of complex **1** a second product crystallized after filtration, which was characterized as [Zn-(2BzPh)₂], [bis(2-benzoylpyridine-phenylhydrazonato)zinc(II)] (**1a**). As shown by NMR studies (see Section 3.2) in complexes **2** and **3** the hydrazone adopts the *Z* configuration and is attached to the metal center as a bidentate ligand. Crystallization of **2** from a mixture of 1:9 DMSO:acetone gave dichloro(2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone)zinc(II) monohydrate [Zn(H2BzpClPh)Cl₂] · H₂O (**2a**), with the same molecular formula but in which the hydrazone acts as a tridentate ligand and adopts the *E* configuration to attach to the metal center (see Section 3.3). Hydration was probably due to water from DMSO. Crystallization of **3** in 1:9 DMSO:acetone lead to the attachment of one DMSO molecule to the metal center with release of a chloride and formation of chlorodimethylsulf-oxide(2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazonato)zinc(II) [Zn-(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**), in which the hydrazone adopts the *E* configuration as shown by crystal structure determinations (Section 3.3).

Table 1Crystal data and refinement results for [Zn(2BzPh)₂] (**1a**), [Zn(2BzPhClPh)Cl₂] · H₂O (**2a**) and [Zn(2BzPhNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**)

Compound	1a	2^a	3^a
Empirical formula	C ₃₈ H ₂₈ N ₆ O ₂ Zn	C ₁₉ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂ Zn	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₄ SZn
Formula weight	666.03	490.12	524.28
Crystal system, S.G.	triclinic, P $\bar{1}$ (#2)	triclinic, P $\bar{1}$ (#2)	triclinic, P $\bar{1}$ (#2)
<i>Unit cell dimensions^a</i>			
<i>a</i> (Å)	10.6412(6)	8.797(1)	8.1886(5)
<i>b</i> (Å)	12.6026(9)	11.223(1)	11.1335(5)
<i>c</i> (Å)	13.0396(9)	11.261(2)	14.2504(6)
α (°)	66.512(3)	67.89(1)	99.769(2)
β (°)	83.723(4)	72.17(1)	105.863(2)
γ (°)	83.799(4)	76.95(2)	111.263(2)
<i>V</i> (Å ³)	1590.2(2)	972.8(2)	1111.0(1)
<i>Z</i> , <i>D</i> _{calc} (Mg/m ³)	2, 1.391	2, 1.673	2, 1.567
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.817	1.695	1.356
<i>F</i> (000)	688	496	536
Crystal size (mm)	0.16 × 0.06 × 0.04	0.245 × 0.203 × 0.163	0.20 × 0.06 × 0.06
Crystal color, shape	yellow, prism	yellow, prism	Colorless, prism
Rad., graph. monoch.		Mo K α (λ = 0.71073 Å)	
θ -Range data collection (°)	2.67–24.14	2.95–26.00	2.71–25.00
Index ranges	–12 ≤ <i>h</i> ≤ 11, –14 ≤ <i>k</i> ≤ 14, –14 ≤ <i>l</i> ≤ 14	–10 ≤ <i>h</i> ≤ 10, –13 ≤ <i>k</i> ≤ 13, –13 ≤ <i>l</i> ≤ 13	–9 ≤ <i>h</i> ≤ 9, –13 ≤ <i>k</i> ≤ 13, –16 ≤ <i>l</i> ≤ 16
Completeness (%)	99.4 (to θ = 24.14°)	93.5 (to θ = 26.00°)	99.7 (to θ = 25.00°)
Absorption correction		numerical [13]	
Maximum and minimum transmission	0.965, 0.880	0.6892, 0.7945	0.9231, 0.7732
Observed reflection [<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)]	3737	3346	3334
Data collection		COLLECT [14]	
Data red. and reduct. ^b		DENZO and SCALEPACK [15]	
Structure solution ^c		SHELXS-97 [16]	
Refinement ^d		SHELXL-97 [17]	
Refinement method		full-matrix least-squares on <i>F</i> ²	
Weights, <i>w</i>	$[\sigma^2(F_o^2) + (0.025P)^2 + 0.59P]^{-1}$, $P = [\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$	$[\sigma^2(F_o^2) + (0.108P)^2 + 0.48P]^{-1}$, $P = [\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$	$[\sigma^2(F_o^2) + 14.4P]^{-1}$, $P = [\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.014	1.047	1.171
Reflection collected/unique	13647/5036	6700/3612	8737/3905
<i>R</i> (int) ^e	0.0731	0.1037	0.0624
Data/restraints/parameter	5036/0/424	3612/0/253	3905/0/291
<i>R</i> ₁ (obs), <i>R</i> ₁ (all) ^f	0.0438, 0.0727	0.0554, 0.0582	0.0785, 0.0917
<i>wR</i> ₂ (obs), <i>wR</i> ₂ (all) ^f	0.0795, 0.0877	0.1519, 0.1563	0.2103, 0.2156
Large peak and hole (e Å ⁻³)	0.276 and –0.267	1.274 and –1.528	1.412 and –0.749

^a Least-squares refinement of the angular settings for 13647 reflections in the 2.67° < θ < 24.14° range for **1a**, 6700 reflections in the 2.95° < θ < 26.00° range for **2a** and 8737 reflections in the 2.71° < θ < 25.00° range for **3a**.

^b Corrections: Lorentz and polarization and absorption.

^c Neutral scattering factors and anomalous dispersion corrections.

^d Structure solved by direct and Fourier methods. The final molecular model obtained by anisotropic full-matrix least-squares refinement of the non-hydrogen atoms.

^e The somewhat large value of *R*(int) for **2a** is due to unavoidable diffraction contribution of small crystals embedded in the bulk sample.

^f *R* indices defined as: $R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR_2 = [\sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sigma w(F_o^2)]^{1/2}$.

3. Results and discussion

Microanalyses suggest the formation of [Zn(H₂BzPh)Cl₂] (**1**) [Zn(H₂BzPhClPh)Cl₂] (**2**) and [Zn(H₂BzPhNO₂Ph)Cl₂] (**3**), containing a neutral hydrazone as ligand. The molar conductivity data reveal that the complexes are non-electrolytes, in accordance with the proposed formulations.

3.1. Infrared spectra

The ν (C=N) mode at 1592–1603 cm⁻¹ in the spectra of the free hydrazones shifts 7–10 cm⁻¹ to lower frequencies in the spectra of the zinc(II) complexes, indicating coordination of the azomethine nitrogen N2 [18–20].

The ν (C=O) absorption at 1682–1685 cm⁻¹ in the spectra of the uncomplexed hydrazones is observed at 1638–1650 cm⁻¹ in those of the complexes, in accordance with coordination through the carbonyl oxygen [18,20,21].

The pyridine in-plane deformation mode at ca. 615 cm⁻¹ in the spectra of the hydrazones shifts to ca. 640 cm⁻¹ in those of complexes **1–3**, which suggests possible coordination through

the hetero-aromatic nitrogen [18–20]. However, NMR studies (see Section 3.2) revealed that the pyridine nitrogen is not involved in coordination.

3.2. NMR spectra

The ¹H and ¹³C NMR assignments for the hydrazones and their zinc(II) complexes in DMSO-*d*₆ are reported in Sections 2.2 and 2.3. The ¹H resonances were attributed based on chemical shifts, multiplicities and coupling constants. The carbon type (C, CH) was determined by using DEPT135 experiments. The assignments of the protonated carbons were made by 2D heteronuclear-correlated experiments (HMQC) using delay values which correspond to ¹J(C, H).

The NMR spectra of the three hydrazones were initially recorded in DMSO-*d*₆. However H₂BzPhClPh and H₂BzPhNO₂Ph were only enough soluble for ¹H NMR measurements. Therefore the spectra of the latter were recorded as well in CDCl₃. For the three hydrazones the signals of all hydrogens are duplicated in DMSO-*d*₆, indicating the presence of two isomeric forms. Two signals were observed for N3-H at δ 14–15 and at δ 10–11, suggesting the

existence of the *Z* and *E* configurational isomers. In the first N3–H is hydrogen-bonded to the pyridine nitrogen while in the latter N3–H is hydrogen bonded to the solvent [18,19,22].

In the ^1H NMR spectrum of H2BzpCIPh in CDCl_3 the signals of all hydrogens are duplicated, as for example the signals of N3–H at δ 15.21 and at δ 13.18, indicating the presence of the *Z* and *E* isomers, respectively [18,19,22]. For H2BzpNO₂Ph only one signal was observed for each hydrogen in CDCl_3 , suggesting the presence of only one isomeric form. The N3–H signal at δ 15.50 is characteristic of the *Z* isomer.

The ^{13}C NMR spectra of H2BzPh (DMSO-*d*₆) and H2BzpCIPh (CDCl_3) also show duplicated signals for most of the carbons, with predominance of the signals characteristic of the *Z* isomer [18,22]. The spectrum of H2BzpNO₂Ph (in CDCl_3) showed only one signal for all carbons, in accordance with the presence of the *Z* isomer.

The zinc(II) complexes were soluble in DMSO-*d*₆ but insoluble in CDCl_3 . In the ^1H NMR spectra of **1–3** the presence of a signal for N3–H at δ 14.71–14.81 suggests hydrogen bonding to the pyridine nitrogen, characteristic of the *Z* form, indicating that the hydrazone coordinates as a bidentate chelating system. In fact, in the ^{13}C NMR spectrum of complex **1** the signals of the pyridine carbons do not undergo significant changes in relation to their position in free H2BzPh (both in DMSO-*d*₆), suggesting that the heteroaromatic nitrogen is not attached to the metal center.

Hence the shifts observed for the pyridine in-plane deformation mode in the infrared spectra of complexes **1–3** relative to its position in the spectra of the free bases is probably attributable to the effect of coordination of N2, which is attached to the pyridine ring through the C7=N2 bond, and not to coordination of the heteroaromatic nitrogen.

3.3. Structural properties of [Zn(2BzPh)₂] (**1a**), [Zn(H2BzpCIPh)Cl₂] · H₂O (**2a**) and [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**)

Table 2 shows selected bond distances and angles in the crystal structures of **1a**, **2a** and **3a**. Figs. 2–4 are ORTEP [23] drawings of the complexes.

In **1a** the zinc(II) cation in a distorted octahedral environment, is coordinated to two anionic hydrazone molecules acting as tridentate N_{py}–N–O systems. In **2a** and **3a** the zinc(II) ion in a fivefold environment is coordinated to a hydrazone molecule (neutral in **2a** and anionic in **3a**) which binds to the metal center through the pyridine and imine nitrogens, and the oxygen attached to C8. The remaining coordination positions are occupied by two chloride ions in **2a** and by a chloride and one O-bonded DMSO in **3a**.

In all complexes, the hydrazone Pyr(C=N)N–(C=O) skeletal fragment defines a coordination plane [rms deviation of atoms from the least-squares plane of 0.110 Å (**1a**), 0.071 Å (**2a**) and 0.047 Å (**3a**)] with the metal ion laying close onto this plane [at 0.023(2) Å (**1a**), 0.142(2) Å (**2a**) and 0.045(6) Å (**3a**)]. The phenyl ring and the coordination plane subtend dihedral angles of 54.1(1)° (**1a**), 51.37(7)° (**2a**) and 59.7(4)° (**3a**).

In **1a** the N1–C2, O1–C8 and Zn–N1 bond distances are similar for the two hydrazone molecules, but significant variations were observed for C2–C7, N2–C7, N3–N2, and N3–C8 bond distances. Also Zn–N2 and Zn–O1 are considerably different in the two ligand molecules. The bond angles also vary approximately 1–2° within the two hydrazone molecules, but significant differences were observed for N1–Zn–N2'/N1'–Zn–N2 (7°) and N2–Zn–O1'/N2'–Zn–O1 (5.5°). These differences lead to a distorted octahedral arrangement around the zinc center.

The C8–O1 bond distance is 1.241(4) Å in complex **2a** and 1.262(9) Å in **3a**, in accordance with a higher single bond character of the C–O bond in the latter. Similarly, the C2–C7 bond distances are 1.493(4) Å in **2a** and 1.47(1) Å in **3a** in agreement with a higher double bond character of this bond in **3a** due to a more extensive

Table 2

Selected bond distances (Å) and angles (°) in the molecular structures of [Zn(2BzPh)₂] (**1a**), [Zn(2BzpCIPh)Cl₂] · H₂O (**2a**) and [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**)

Attribution	1a	2a	3a
<i>Bond lengths</i>			
N1–C2	1.346(3)	1.358(4)	1.35(1)
N1'–C2'	1.341(4)		
C2–C7	1.491(4)	1.493(4)	1.47(1)
C2'–C7'	1.480(4)		
N2–C7	1.292(3)	1.285(4)	1.30(1)
N2'–C7'	1.301(4)		
N2–N3	1.376(3)	1.370(3)	1.370(9)
N2'–N3'	1.351(3)		
N3–C8	1.353(3)	1.350(4)	1.34(1)
N3'–C8'	1.368(4)		
O1–C8	1.262(3)	1.241(4)	1.262(9)
O1'–C8'	1.257(3)		
Zn–N1	2.224(2)	2.163(3)	2.219(7)
Zn–N1'	2.226(3)		
Zn–N2	2.077(2)	2.110(3)	2.073(7)
Zn–N2'	2.082(2)		
Zn–O1	2.057(2)	2.255(2)	2.080(6)
Zn–O1'	2.106(2)		
Zn–Cl2		2.2513(9)	
Zn–Cl3		2.294(1)	
Zn–Cl			2.243(3)
Zn–O			2.032(6)
<i>Bond angles</i>			
N1–C2–C7	115.9(2)	114.6(3)	115.9(7)
N1'–C2'–C7'	116.6(3)		
C2–C7–N2	114.0(2)	113.5(3)	114.4(7)
C2'–C7'–N2'	113.3(3)		
C7–N2–N3	121.3(2)	121.7(3)	120.6(7)
C7'–N2'–N3'	119.8(3)		
N2–N3–C8	108.2(2)	115.6(2)	108.1(6)
N2'–N3'–C8'	108.1(2)		
N3–C8–O1	125.7(3)	121.0(3)	126.8(7)
N3'–C8'–O1'	126.5(3)		
C6–N1–Zn	127.5(2)	125.7(2)	127.5(7)
C6'–N1'–Zn	128.1(2)		
C2–N1–Zn	113.0(2)	115.5(2)	113.3(5)
C2'–N1'–Zn	113.4(2)		
C7–N2–Zn	121.6(2)	121.1(2)	121.7(6)
C7'–N2'–Zn	121.3(2)		
N3–N2–Zn	117.0(2)	116.9(2)	117.7(5)
N3'–N2'–Zn	118.2(2)		
C8–O1–Zn	113.1(2)	113.9(2)	111.9(5)
C8'–O1'–Zn	111.5(2)		
N1–Zn–N2	74.73(9)	73.97(9)	74.4(3)
N1'–Zn–N2'	93.58(9)		
N1'–Zn–N2	100.77(9)		
N1'–Zn–N2'	74.2(1)		
N2–Zn–O1	75.63(8)	72.63(9)	75.5(2)
N2–Zn–O1'	110.54(9)		
N2'–Zn–O1	116.09(8)		
N2'–Zn–O1'	75.13(9)		
N1–Zn–O1	150.30(8)	146.52(9)	149.7(2)
O1'–Zn–N1	91.97(9)		
O1–Zn–N1'	91.11(9)		
N1'–Zn–O1'	148.69(9)		
O1–Zn–O1'	96.70(8)		
N1–Zn–N1'	96.09(9)		
N2–Zn–N2'	166.9(1)		
N1–Zn–Cl2		102.11(7)	
N1–Zn–Cl3		101.40(8)	
N2–Zn–Cl2		113.98(8)	
N2–Zn–Cl3		127.03(8)	
O1–Zn–Cl2		93.45(7)	
O1–Zn–Cl3		96.74(7)	
Cl2–Zn–Cl3		118.43(3)	
N1–Zn–Cl			98.4(2)
N1–Zn–O			99.1(3)
N2–Zn–Cl			135.2(2)
N2–Zn–O			119.7(3)
O1–Zn–Cl			104.9(2)
O1–Zn–O			93.3(3)
O–Zn–Cl			105.1(2)

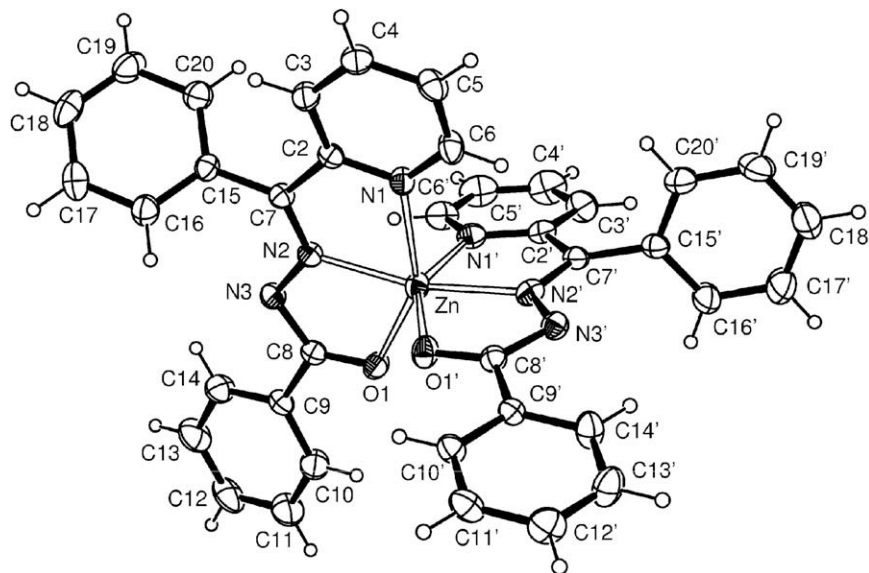


Fig. 2. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzPh})_2]$ (**1a**) showing the labeling scheme of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 50% probability level. Metal–ligand bonds are indicated by open lines.

delocalization within the hydrazone chain in the anionic ligand. For the same reason, C7–N2 is 1.285(4) Å in **2a** and 1.30(1) Å in **3a**.

Interestingly, the O1–Zn bond distances are 2.255(2) and 2.080(6) Å for **2a** and **3a**, respectively, in accordance with the presence of a negative charge at the oxygen in the latter, which increases the strength of the M–O1 bond.

In going from complex **2a** to complex **3a** the N1–M–N2 angle does not change appreciably but the N2–M–O1 and the N1–M–O1 angles change from 72.63(9)° and 146.52(9)° in **2a** to 75.5(2)° and 149.7(2)° in **3a**, respectively, due to higher delocalization in the latter and to the change of the N3 hybridization from sp^3 in **2a** to sp^2 in **3a**. Similarly the N3–C8–O1 angle goes from 121.0(3)° in **2a** to 128.8(7)° in **3a** due to the same effect.

The crystal **2a** is further stabilized by a net of H-bonds. The hydrazone molecules are arranged with their coordination planes piled-up along the [111] direction. A given complex on the stack is linked to the neighboring molecule on one side through a pair of inversion-related $\text{Cl}_2 \cdots \text{H} \cdots \text{Ow} \cdots \text{H} \cdots \text{Cl}_2'$ bonds [$d(\text{Ow} \cdots \text{Cl}_2) =$

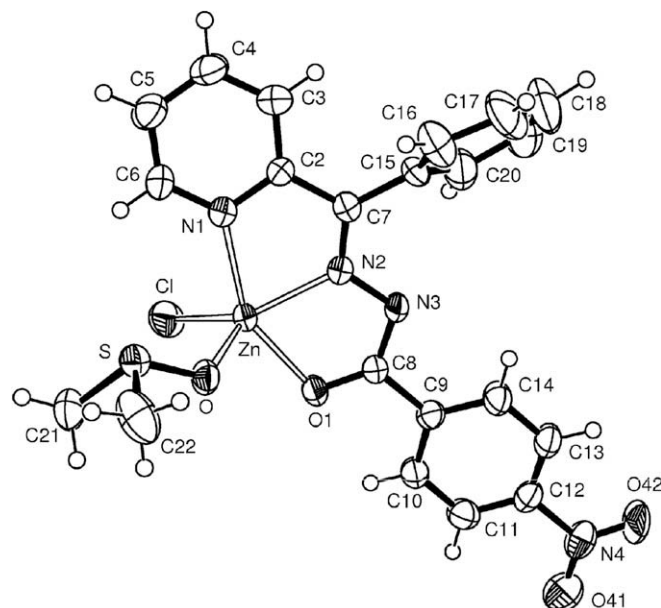


Fig. 4. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**3a**).

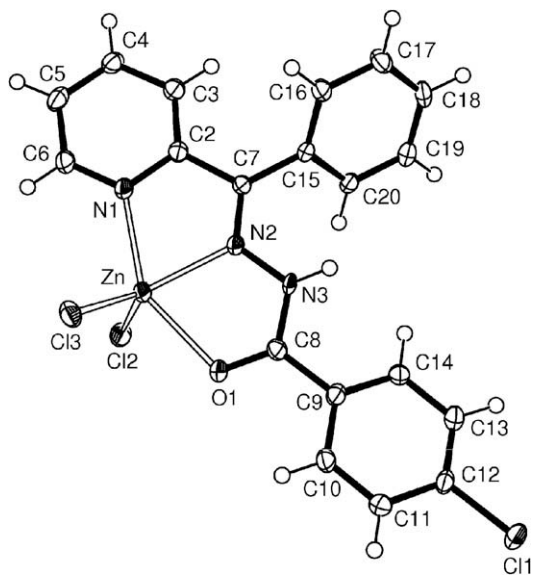


Fig. 3. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (**2a**).

3.433 Å, $d(\text{Ow} \cdots \text{Cl}_2') = 3.237$ Å] and to the molecule on the opposite side by a pair of N3–H \cdots Cl3'' [$d(\text{N}_3 \cdots \text{Cl}_3'') = 3.261$ Å] bonds. A PLATON [13] view of this crystal packing arrangement is shown in Fig. 5.

4. Conclusions

We demonstrated that H2BzPh, H2BzpClPh exist as *Z* and *E* isomers in solution ($\text{DMSO}-d_6$ or CDCl_3) while H2BzpNO₂Ph adopts the *Z* configuration. Since the up-field signal of N(3)–H characteristic of the *Z* form has been observed in the ¹H NMR spectra of $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2]$ (**2**) and $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**3**), we may suggest that the hydrazones adopt the *Z* configuration in these complexes, which leads to coordination of the ligands as bidentate N–O species. In $[\text{Zn}(\text{2BzPh})_2]$ (**1a**) two

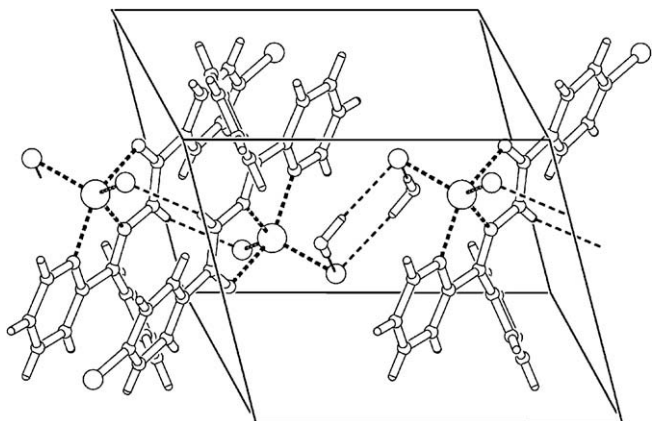


Fig. 5. Crystal packing of **2a** as seen down the *c*-axis. The *b*-axis is horizontal. H-bonds are indicated by dashed lines. The largest open disks are Zn(II) ions, the ones of intermediate size are chlorine ions.

molecules of the hydrazone in the *E* configuration are attached to the metal as tridentate ligands. Upon slow diffusion of **2** and **3** in 1:9 DMSO:acetone with formation of $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{BzpClPh})\text{Cl}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**2a**) and $[\text{Zn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**3a**) respectively, conversion of the hydrazones from the *Z* to the *E* configuration occur, along with the additional coordination of the pyridine nitrogen, forming a tridentate $\text{N}_{\text{py}}\text{-N-O}$ chelating system. In the case of **2a** a hydration water molecule probably from DMSO binds to the complex to further stabilize the structure. During the conversion of **3** into **3a** attachment of one DMSO molecule to the metal center occurs, with release of one chloride from the metal coordination sphere and deprotonation at N3 in the hydrazone chain.

Acknowledgments

The authors are grateful to Capes and CNPq (Brazil) and to CONICET (Argentina) for financial support. O.E.P. is a research fellow of CONICET, Argentina.

Appendix A. Supplementary material

CCDC 695521, 695522 and 695523 contain the supplementary crystallographic data for **1a**, **2a** and **3a**. These data can be obtained

free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre via http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif. Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.ica.2008.09.040](https://doi.org/10.1016/j.ica.2008.09.040).

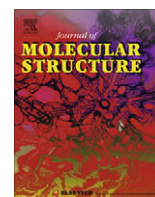
References

- [1] P.B. Sreeja, A. Sreekanth, C.R. Nayar, M.R.P. Kurup, A. Usman, I.A. Razak, S. Chanttrapomma, H.K. Fun, *J. Mol. Struct.* 645 (2003) 221. and references cited therein.
- [2] E. Viñuelas-Zahinos, M.A. Maldonado-Rogado, F. Luna-Giles, F.J. Barros-García, *Polyhedron* 27 (2008) 879.
- [3] P. Vicini, F. Zani, P. Cozzini, I. Doytchinova, *Eur. J. Med. Chem.* 37 (2002) 553.
- [4] B. Kocyigit-Kaymakcioglu, S. Rollas, *Farmaco* 57 (2002) 595.
- [5] J.V. Ragavendran, D. Sriram, S.K. Patel, I.V. Reddy, N. Bharathwajan, J. Stables, P. Yogeeswari, *Eur. J. Med. Chem.* 42 (2007) 146.
- [6] H.J.C. Bezerra-Netto, D.I. Lacerda, A.L.P. Miranda, H.M. Alves, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Bioorg. Méd. Chem.* 4 (2006) 7924. and references therein.
- [7] S. Rollas, Ş.G. Küçükğüzel, *Molecules* 12 (2007) 1910. and references cited therein.
- [8] E.W. Ainscough, A.M. Brodie, A.J. Dobbs, J.D. Ranford, J.M. Waters, *Inorg. Chim. Acta* 267 (1998) 27. and references cited therein.
- [9] J.D. Ranford, J.J. Vittal, Y.M. Wang, *Inorg. Chem.* 37 (1998) 1226.
- [10] J.L. Buss, B.T. Greene, J. Turner, F.M. Torti, S.V. Torti, *Curr. Top. Med. Chem.* 4 (2004) 1623.
- [11] M. Whitnall, R. Richardson, *Sem. Ped. Neurol.* 13 (2006) 186.
- [12] P.S. Donnelly, A. Caragounis, T. Du, K.M. Laughton, I. Volitakis, R.A. Cherny, R.A. Sharples, A.F. Hill, Q.-X. Li, C.L. Masters, K.J. Barnham, A.R. White, *J. Biol. Chem.* 283 (2008) 4568.
- [13] A.L. Spek, *PLATON*, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1998.
- [14] Enraf-Nonius *COLLECT*. Nonius BV, Delft, The Netherlands (1997–2000).
- [15] Z. Otwinowski, W. Minor, in: C.W. Carter, R.M. Sweet (Eds.), *Methods in Enzymology*, 276, Academic Press, New York, 1997, p. 307.
- [16] G.M. Sheldrick, *SHELXS-97*, Program for the Solution of Crystal Structures, University of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.
- [17] G.M. Sheldrick, *SHELXL-97*, Program for Crystal Structures Analysis, University of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.
- [18] A. Perez-Rebolledo, O.E. Piro, E.E. Castellano, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Mol. Struct.* 794 (2006) 18.
- [19] A.P. Rebolledo, M. Vieites, D. Gambino, O.E. Piro, E.E. Castellano, C.L. Zani, E.M. Souza-Fagundes, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 698.
- [20] A.M.B. Bastos, J.G. Silva, P.I.S. Maia, V.M. Deflon, A.A. Batista, A.V.M. Ferreira, L.M. Botion, E. Niquet, H. Beraldo, *Polyhedron* 27 (2008) 1787.
- [21] M. Bakir, O. Green, W.H. Mulder, *J. Mol. Struct.* 873 (2008) 17.
- [22] A. Pérez-Rebolledo, G.M. Lima, N.L. Speziali, O.E. Piro, E.E. Castellano, J.D. Ardisson, H. Beraldo, *J. Organometal. Chem.* 691 (2006) 3919.
- [23] C.K. Johnson, *ORTEP*. Report ORNL-5138, Oak Ridge, TN, 1976.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: www.elsevier.com/locate/molstruc

Copper(II) and zinc(II) complexes with 2-benzoylpyridine-methyl hydrazone

Angel A. Recio Despaigne^a, Jeferson G. Da Silva^a, Ana Cerúlia M. Do Carmo^a, Oscar E. Piro^b, Eduardo E. Castellano^c, Heloisa Beraldo^{a,*}^a Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antonio Carlos 6627, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil^b Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata and Instituto IFLP(CONICET- CCT La Plata), C.C. 67, 1900 La Plata, Argentina^c Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, C.P. 369, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 September 2008

Received in revised form 16 October 2008

Accepted 21 October 2008

Available online 26 October 2008

Keywords:

Hydrazones

Crystal structures

Metal complexes

Spectral studies

ABSTRACT

2-Benzoylpyridine-methyl hydrazone (HBzMe) has been obtained as well as its copper(II) [Cu(HBzMe)Cl₂] (**1**) and zinc(II) [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**) complexes. Upon re-crystallization in 1–9 DMSO:acetone conversion of **1** into dimeric [Cu(BzMe)Cl]₂ (**1a**) occurred. The crystal structures of HBzMe, **1**, **1a**, and **2** were determined. HBzMe adopts the *Z**E* conformation in the solid. In all complexes the hydrazone adopts the *E* configuration to attach to the metal through the N_{py}–N2–O chelating system. In **1** and **2** a neutral hydrazone coordinates to the metal center while in **1a** deprotonation occurs with coordination of an anionic ligand. **1a** presents a dimeric structure, having two copper(II) ions per asymmetric unit. Two chlorides are also present in the copper coordination sphere, which act as bridging ligands and connect the copper centers to each other.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Hydrazones are a versatile class of compounds with innumerable chemical as well as pharmacological applications. In fact, hydrazones have shown to possess antimicrobial, anticonvulsant, analgesic, anti-inflammatory, and antitumoral properties [1–3]. Moreover, aromatic hydrazone molecules dispersed in a binder polymer are used as the main constituent of electrophotographic photoreceptors of laser printers due to their excellent hole-transporting properties and relatively simple synthesis [4]. Also, di-2-pyridyl ketone benzoyl hydrazone (dpkbh) is widely used as a sensitive analytical reagent for the determination of trace amounts of metal ions in solutions [5,6]. Recently hydrazone-based molecular glasses for solid-state dye-sensitized solar cells have been obtained [7].

Metal complexes of hydrazones proved to have potential applications as catalysts [8], luminescent probes [9], and molecular sensors [10]. In addition, it has been recently shown that hydrazones such as pyridoxal isonicotinoyl hydrazone analogues are effective iron chelators *in vivo* and *in vitro*, and may be of value for the treatment of iron overload [11]. Furthermore, some 2-formylpyridine-derived hydrazones which behave as iron chelators were suggested as therapeutic agents for the treatment of neurodegenerative disorders [12].

In the present work 2-benzoylpyridine methyl hydrazone (HBzMe, Fig. 1) and its copper(II) and zinc(II) complexes were pre-

pared. Spectral and structural investigations on the studied compounds were performed.

2. Experimental

2.1. Materials and equipment

Partial elemental analyses were performed on a Perkin–Elmer CHN 2400 analyzer. Infrared spectra were recorded on a Perkin–Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using CsI/nujol; an YSI model 31 conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements. Electronic spectra were acquired with a Hewlett–Packard 8453 spectrometer in dimethyl formamide (DMF) solutions using 1 cm cells. NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker DPX-200 Avance (200 MHz) spectrometer using deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-*d*₆) as the solvent and tetramethylsilane (TMS) as internal reference. Crystal structures were investigated using single-crystal X-ray diffraction methods. Data were collected at room temperature on a Kappa CCD diffractometer working in the φ and ω scan mode.

2.2. X-ray crystallography

Crystal data, data collection procedure, structure determination methods and refinement results are summarized in Table 1 [13–17]. The ligand hydrogen atoms were included in the molecular models at stereo-chemical positions and refined with the riding model. The methyl H-atoms were optimized by treating them as rigid group allowed to rotate around the corresponding C–C bond.

* Corresponding author. Tel.: +55 31 3409 5740; fax: +55 31 3409 5700.

E-mail address: hberaldo@ufmg.br (H. Beraldo).

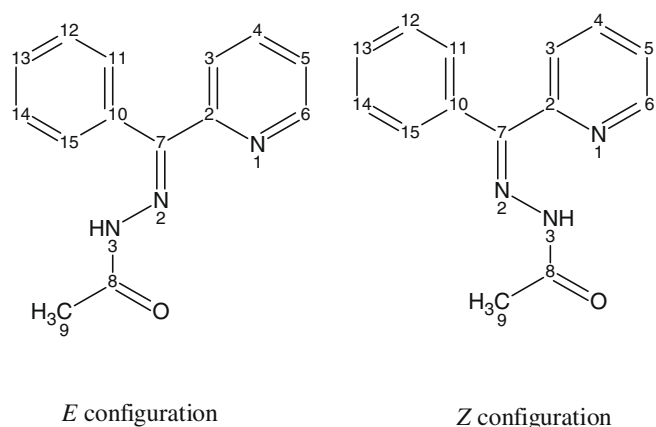


Fig. 1. Structural representation for 2-benzoylpyridine-methyl hydrazone (HBzMe).

Table 1
Crystal data and refinement results for HBzMe, [Cu(HBzMe)Cl₂]-H₂O (**1**), [Cu(BzMe)Cl]₂ (**1a**) and [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**).

Compound	HBzMe	1	1a	2
Empirical formula	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O	C ₁₄ H ₁₅ Cl ₂ CuN ₃ O ₂	C ₂₈ H ₂₄ Cl ₂ Cu ₂ N ₆ O ₂	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ OZn
Formula weight	239.27	391.73	674.51	375.54
Crystal system	Orthorhombic	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic
Space group	<i>Pna</i> 2 ₁ (#33)	<i>P</i> 2 ₁ / <i>a</i> (#14)	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i> (#13)	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i> (#14)
<i>Unit cell dimensions</i> ^a				
<i>a</i> (Å)	7.7909(4)	8.4631(2)	7.3876(5)	11.669(1)
<i>b</i> (Å)	15.285(1)	21.6179(8)	13.323(1)	11.483(1)
<i>c</i> (Å)	10.6247(4)	9.3480(3)	13.7890(1)	11.750(1)
α (°)	90.00	90.00	90.00	90.00
β (°)	90.00	104.132(2)	92.556(5)	98.13(1)
γ (°)	90.00	90.00	90.00	90.00
Volume (Å ³)	1265.2(1)	1658.50(9)	1355.8(2)	1558.6(2)
Z, density calc. (Mg/m ³)	4, 1.256	4, 1.569	2, 1.652	4, 1.600
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.082	1.647	1.805	1.919
<i>F</i> (000)	504	796	684	760
Crystal size (mm)	0.20 × 0.16 × 0.12	0.31 × 0.27 × 0.11	0.28 × 0.06 × 0.05	0.22 × 0.13 × 0.03
Crystal color, shape	Colorless, prism	Green, prism	Red, prism	Colorless, plate
Diffractometer, scan	KappaCCD/ φ and ω	KappaCCD/ φ and ω	KappaCCD/ φ and ω	KappaCCD/ φ and ω
Rad., graph. Monoch.	Mo K α , λ = 0.71073 Å	Mo K α , λ = 0.71073 Å	Mo K α , λ = 0.71073 Å	Mo K α , λ = 0.71073 Å
ϑ range for data coll. (°)	3.51–26.00	3.12–26.00	3.06–25.99	2.91–25.99
Index range (θ)	−9 ≤ <i>h</i> ≤ 9, −18 ≤ <i>k</i> ≤ 18, −13 ≤ <i>l</i> ≤ 13	−10 ≤ <i>h</i> ≤ 9, −24 ≤ <i>k</i> ≤ 26, −11 ≤ <i>l</i> ≤ 8	−9 ≤ <i>h</i> ≤ 8, −14 ≤ <i>k</i> ≤ 16, −16 ≤ <i>l</i> ≤ 16	−14 ≤ <i>h</i> ≤ 10, −14 ≤ <i>k</i> ≤ 10, −14 ≤ <i>l</i> ≤ 14
Completeness (to ϑ = 26°)	99.4%	99.1%	99.7%	99.1%
Reflections collected/unique (<i>R</i> _{int})	2335/1303 [<i>R</i> (int) = 0.0151]	10367/3239 [<i>R</i> (int) = 0.0375]	6797/2665 [<i>R</i> (int) = 0.0703]	7946/3043 [<i>R</i> (int) = 0.0791]
Absorption correction	None	Numerical [13]	Numerical [13]	Numerical [13]
Max. and min. transm.	0.990–0.984	0.840–0.629	0.915–0.632	0.933–0.729
Obs. Refs. [<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)]	1157	2818	1819	2220
Data collection	COLLECT [14]	COLLECT [14]	COLLECT [14]	COLLECT [14]
Data reduction ^b	DENZO and SCALEPACK [15]	DENZO and SCALEPACK [15]	DENZO and SCALEPACK [15]	DENZO and SCALEPACK [15]
Structure solution ^c	SHELXS-97 [16]	SHELXS-97 [16]	SHELXS-97 [16]	SHELXS-97 [16]
Structure refinement ^d	SHELXL-97 [17]	SHELXL-97 [17]	SHELXL-97 [17]	SHELXL-97 [17]
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Weights, <i>w</i>	$\sigma^2(F_0^2) + (0.076P)^2 + 0.04P^{-1}$, $P = [\text{Max}(F_0^2, 0) + 2F_0^2]/3$	$\sigma^2(F_0^2) + (0.044P)^2 + 0.79P^{-1}$, $P = [\text{Max}(F_0^2, 0) + 2F_0^2]/3$	$\sigma^2(F_0^2) + (0.039P)^2$, $P = [\text{Max}(F_0^2, 0) + 2F_0^2]/3$	$\sigma^2(F_0^2) + (0.048P)^2 + 0.50P^{-1}$, $P = [\text{Max}(F_0^2, 0) + 2F_0^2]/3$
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.045	1.034	0.986	1.020
Data/restraints/parameters	1303/1/165	3239/3/208	2665/0/182	3043/0/191
<i>R</i> ₁ (obs), <i>R</i> (all) ^e	0.0369, 0.1009	0.0311, 0.0381	0.0391, 0.0715	0.0398, 0.0618
<i>wR</i> ₂ (obs), <i>wR</i> ₂ (all) ^e	0.0424, 0.1067	0.0820, 0.0867	0.0843, 0.0959	0.0942, 0.1056
Extinction coefficient	0.07(1)	–	–	–
Largest peak and hole (e Å ⁻³)	0.137 and −0.121	0.268 and −0.381	0.351 and −0.585	0.294 and −0.504

^a Least-squares refinement of the angular settings for 2335 reflections in the 3.51 < ϑ < 26.00° range for HBzMe, 10367 reflections in the 3.12 < ϑ < 26.00° range for **1**, 6797 reflections in the 3.06 < ϑ < 25.99° range for **1a** and 7946 reflections in the 2.91 < ϑ < 25.99° range for **2**.

^b Corrections: Lorentz, polarization, extinction (HBzMe) and absorption (**1**, **1a** and **2**).

^c Neutral scattering factors and anomalous dispersion corrections. Because this later correction was too small for HBzMe, its molecular chirality could not be determined reliably.

^d Structure solved by direct and Fourier methods. The final molecular model obtained by anisotropic full-matrix least-squares refinement of the non-hydrogen atoms.

^e *R* indices defined as: $R_1 = \sum ||F_0| - |F_c|| / \sum |F_0|$, $wR_2 = [\sum w(F_0^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_0^2)^2]^{1/2}$.

The water hydrogen atoms of complex **1** were located in a difference Fourier map and refined at their found positions with *O*w–*H* and *H*..*H* distances restrained to target values of 0.86(1) and 1.41(1) Å, respectively.

2.3. Syntheses of 2-benzoylpyridine-methyl hydrazone (HBzMe)

2-Benzoylpyridine-methyl hydrazone (HBzMe) was prepared by mixing equimolar amounts (1.0 mmol) of 2-benzoylpyridine with methyl hydrazide in methanol with addition of three drops of acetic acid as catalyst. The reaction mixture was kept under reflux for 6 h. After cooling to room temperature the resulting solid was filtered off, washed with ethanol and ether and dried *in vacuo*.

2.3.1. 2-Benzoylpyridine-methyl-hydrazone (HBzMe)

Color: white. Yield: 30% M.P.: 96.8–99.3 °C. Selected IR bands (cm⁻¹): ν (C=O) 1663 s, ν (C=N) 1585 m; δ (py) 620 m. UV–vis

Table 2

Selected bond distances (Å) and angles (°) in the molecular structures of HBzMe, [Cu(HBzMe)Cl₂·H₂O] (**1**), [Cu(BzMe)Cl₂] (**1a**) and [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**).

Attribution	HBzMe	1	1a	2
Bond lengths				
N1–C2	1.351(3)	1.356(3)	1.356(4)	1.346(4)
C2–C7	1.488(3)	1.481(3)	1.488(4)	1.479(4)
N2–C7	1.286(3)	1.279(3)	1.287(4)	1.294(4)
N2–N3	1.369(3)	1.361(2)	1.377(3)	1.367(4)
N3–C8	1.361(3)	1.347(3)	1.322(4)	1.357(4)
O–C8	1.217(3)	1.243(3)	1.271(4)	1.225(4)
M–N1	–	2.028(2)	2.006(3)	2.159(3)
M–N2	–	1.962(2)	1.951(3)	2.123(3)
M–O1	–	2.062(2)	1.958(2)	2.313(2)
Cu–Cl	–	–	2.260(1)	–
M–Cl1	–	2.4628(7)	–	2.2258(9)
M–Cl2	–	2.2098(6)	–	2.234(1)
Cu–Cl#1	–	–	2.723(1)	–
M#1–Cl	–	–	2.723(1)	–
Bond angles				
N1–C2–C7	117.8(2)	114.8(2)	114.7(3)	115.9(3)
C2–C7–N2	126.7(2)	112.0(2)	112.0(3)	113.3(3)
C7–N2–N3	120.2(2)	124.9(2)	124.2(3)	121.8(3)
N2–N3–C8	120.4(2)	113.9(2)	107.8(3)	116.1(3)
N3–C8–O	119.0(2)	120.4(2)	125.3(3)	120.3(3)
C6–N1–M	–	127.7(2)	127.8(2)	125.8(2)
C2–N1–M	–	113.4(2)	113.3(2)	115.9(2)
C7–N2–M	–	120.6(2)	119.4(2)	120.7(2)
N3–N2–M	–	114.5(1)	116.4(2)	117.4(2)
C8–O1–M	–	112.4(1)	111.2(2)	114.1(2)
N1–M–N2	–	78.65(7)	79.8(1)	74.1(1)
N2–M–O1	–	78.02(7)	79.23(9)	71.05(9)
N1–M–O1	–	153.45(7)	158.0(1)	144.04(9)
N1–M–Cl1	–	97.46(6)	–	100.77(8)
N1–M–Cl2	–	99.92(6)	–	101.90(8)
N2–M–Cl1	–	93.33(6)	–	131.18(8)
N2–M–Cl2	–	161.39(6)	–	110.62(8)
O1–M–Cl1	–	96.36(6)	–	95.57(7)
O1–M–Cl2	–	98.15(5)	–	98.30(7)
Cl1–M–Cl2	–	105.23(3)	–	117.81(4)
N2–Cu–Cl	–	–	169.39(8)	–
O1–Cu–Cl	–	–	99.28(7)	–
N1–Cu–Cl	–	–	100.06(8)	–
N2–Cu–Cl#1	–	–	100.24(8)	–
O1–Cu–Cl#1	–	–	94.74(8)	–
N1–Cu–Cl#1	–	–	95.48(8)	–
Cl–Cu–Cl#1	–	–	90.34(3)	–
Cu–Cl–Cu#1	–	–	89.66(3)	–

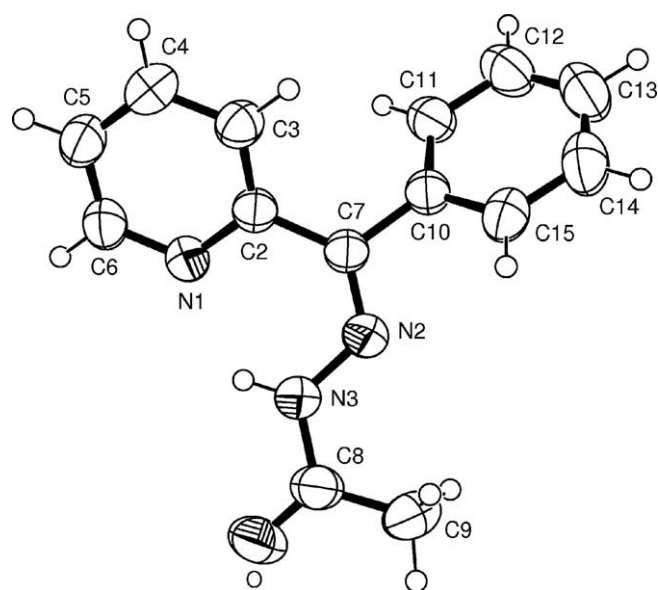


Fig. 2. Molecular plot of HBzMe showing the labeling scheme of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 50% probability level.

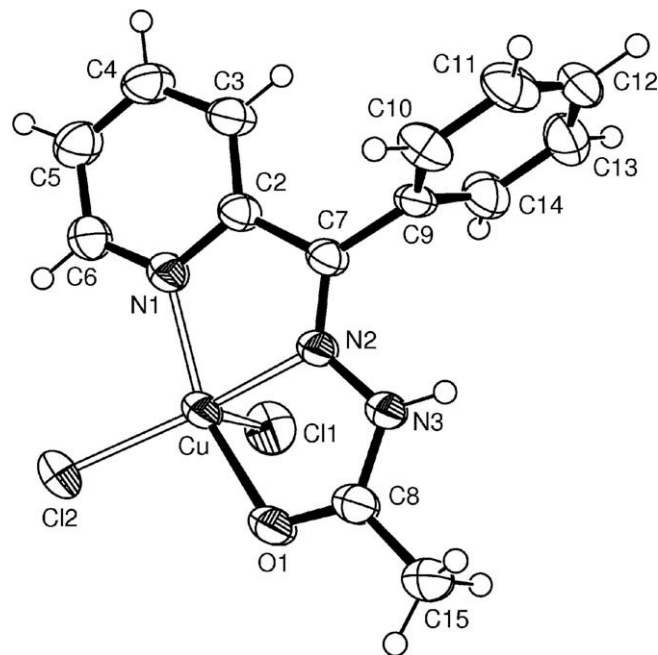


Fig. 3. Molecular plot of monomeric [Cu(HBzMe)Cl₂] (**1**). Metal–ligand bonds are indicated by open lines.

(DMF, cm⁻¹): 32890. ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) [δ (ppm)] main signals: 13.85 (*Z*), 12.77 (*E*) [s, 1H, N3H (*Z* and *E* isomers)]; 8.77 (*Z*), 8.57 (*E*) [d, 1H, H6 (*Z* and *E* isomers)]; 7.39 (*Z*), 8.01 (*E*) [d, 1H, H3 (*E* isomer)]; 7.78 (*Z* and *E*) [m, 2H, H4 (*Z* and *E* isomers)]; 7.36 (*Z*), 7.29 (*E*) [m, H5 (*Z* and *E* isomers)]; 2.16 (*Z*), 2.38 (*E*) [s, 3H, CH₃ (*Z* and *E* isomers)]. ¹³C NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆) [δ (ppm)] main signals: 174.3 (*Z*), 172.9 (*E*) [C8 (*Z* and *E* isomers)]; 152.3 (*Z*), 154.6 (*E*) [C2 (*Z* and *E* isomers)]; 148.8 (*Z*), 148.7 (*E*) [C6 (*Z* and *E* isomers)]; 144.3 (*Z*), 148.0 (*E*) [C7 (*Z* and *E* isomers)]; 137.2 (*Z*), 137.0 (*E*) [C4 (*Z* and *E* isomers)]; 125.8 (*Z*), 123.8 (*E*) [C5 (*Z* and *E* isomers)]; 124.0 (*Z*), 121.6 (*E*) [C3 (*Z* and *E* isomers)]; 20.7 (*Z*), 20.0 (*E*) [C9 (*Z* and *E* isomers)].

2.4. Syntheses of the zinc(II) and copper(II) complexes with HBzMe

The zinc(II) and copper(II) complexes (**1** and **2**) were obtained by refluxing an ethanol solution of HBzMe with the metal chloride (ZnCl₂ or CuCl₂·2H₂O) in 1:1 ligand-to-metal molar ratio (1.0 mmol). After cooling to room temperature the resulting solids were filtered off and washed with ethanol followed by diethylether and then dried *in vacuo*.

2.4.1. Dichloro(2-benzoylpyridine-methyl-hydrazone)copper(II) [Cu(HBzMe)Cl₂] (**1**)

Green solid. Yield: 71%. Anal. Calc. (C₁₄H₁₃Cl₂CuN₃O): C, 44.99%; H, 3.51%; N, 11.24%. Found: C, 44.79%; H, 3.47%; N, 11.17%. FW: 373.72 g mol⁻¹. Selected IR bands (cm⁻¹): ν(C=O) 1630 m; ν(C=N) 1600 m; δ(py) 646 m; ν(Cu–N) 415 m. UV-vis (DMF, cm⁻¹): 34010, 26100, 22200 and 11173. Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 16.28 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

2.4.2. Dichloro(2-benzoylpyridine-methyl-hydrazone)zinc(II) [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**)

White solid; Yield: 80%. Anal. Calc. (C₁₄H₁₃Cl₂N₃OZn): C, 44.77%; H, 3.49%; N 11.19%. Found: C, 44.83%; H, 3.53%; N,

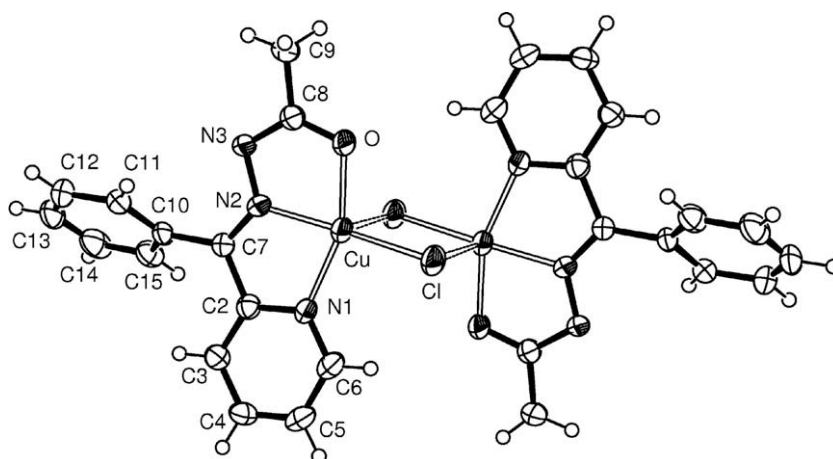


Fig. 4. Diagram showing dimeric $[\text{Cu}(\text{BzMe})\text{Cl}]_2$ (**1a**). The molecular halves are related through a crystallographic inversion center.

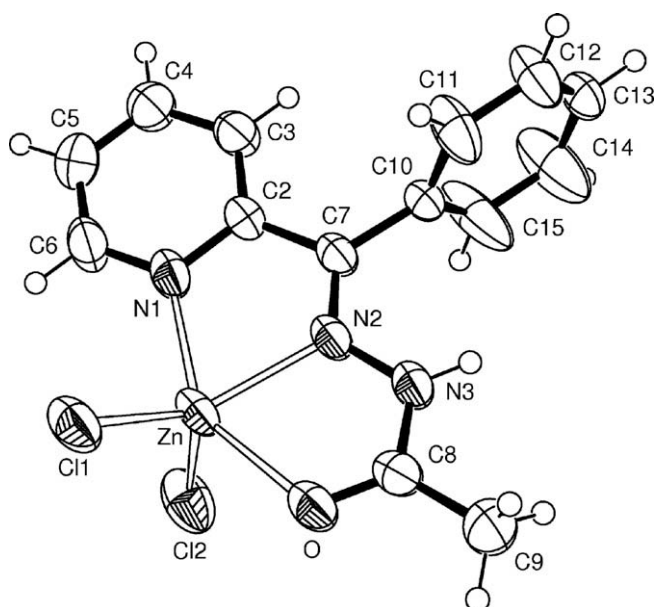


Fig. 5. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{HBzMe})\text{Cl}_2]$ (**2**).

11.25%. FW: 375.57 g mol^{-1} . Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1655 s; $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1594 m; $\delta(\text{p}_y)$ 640 m; $\nu(\text{Zn}-\text{N})$ 412 m. UV-vis (DMF, cm^{-1}): 34250 and 27000. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, DMF): $13.67 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. ^1H NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) [δ (ppm)] main signals: 12.19 (s, 1H, N3H); 8.68 (d, 1H, H6); 7.76 (d, 1H, H3); 7.98 (t, 2H, H4); 7.32 (m, 1H, H5); 2.16 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) [δ (ppm)] main signals: 173.1 (C8); 151.5 (C2); 149.5 (C7); 149.1 (C6); 138.2 (C4); 124.9 (C5); 125.4 (C3); 20.4 (C9).

Crystals of HBzMe, **1**, $[\text{Cu}(\text{BzMe})\text{Cl}]_2$, bis[(μ -chloro)-2-benzoylpyridine-methyl-hydrazone]copper(II) (**1a**) and **2** were obtained from a mixture of 1:9 DMSO-acetone and were stable in the air. Crystals of **1** and **1a** co-crystallized from the same DMSO-acetone solution. We were unable to obtain enough quantity of complex **1a** to perform any experiments other than crystal structure determinations.

3. Results and discussion

Microanalyses (powder) suggest the formation of $[\text{Cu}(\text{HBzMe})\text{Cl}_2]$ (**1**) and $[\text{Zn}(\text{HBzMe})\text{Cl}_2]$ (**2**) in which the hydrazone coordi-

nates as a neutral ligand. The molar conductivity data reveal that the complexes are non-electrolytes, indicating that in both cases two chlorides are attached to the metal center, in accordance the proposed formulations.

3.1. Infrared spectra

The $\nu(\text{C}=\text{N})$ mode at 1585 cm^{-1} in the spectrum of the free hydrazone shifts to 1600 cm^{-1} in the spectrum of complex **1** and to 1594 cm^{-1} in that of complex **2**, suggesting coordination of the azomethine nitrogen N2 [18].

The $\nu(\text{C}=\text{O})$ absorption at 1663 cm^{-1} in the spectrum of the uncomplexed hydrazone shifts to 1630 and 1655 cm^{-1} in the spectra of complexes **1** and **2**, respectively, in accordance with coordination through the carbonyl oxygen [18,19].

The pyridine in-plane deformation mode at 620 cm^{-1} in the spectrum of HBzMe shifts to 646 and 640 cm^{-1} in those of complexes **1** and **2**, respectively, indicating coordination of the hetero-aromatic nitrogen [18]. Therefore, the infrared data for the complexes indicate coordination of the hydrazones through the $\text{N}_{\text{py}}-\text{N}-\text{O}$ chelating system.

3.2. NMR spectra

The ^1H and ^{13}C NMR assignments for HBzMe and its zinc(II) complex (**2**) in $\text{DMSO}-d_6$ are reported in Sections 2.2 and 2.3. The ^1H resonances were attributed based on chemical shifts, multiplicities and coupling constants. The carbon type (C, CH) was determined by using DEPT135 experiments. The assignments of the protonated carbons were made by 2D heteronuclear-correlated experiments (HMQC) using delay values which correspond to $^1J(\text{C}, \text{H})$.

In the ^1H and ^{13}C NMR spectra of HBzMe the signals of all hydrogens and carbons are duplicated suggesting the existence of the *E* and *Z* configurations in solution [20–24] (see Fig. 1). In fact, two signals of N3–H were observed at δ 13.85 and 12.77, which were attributed to the *Z* and *E* forms, respectively. In the first N3–H is hydrogen bonded to the pyridine nitrogen, while in the latter it is hydrogen bonded to the solvent [20–24]. Similarly, the signals of C8=O at δ 174.3 and 172.9 were attributed to the *Z* and *E* isomers, respectively.

In the ^1H and ^{13}C NMR spectra of **2** only one signal was observed for all hydrogens and carbons. The signals of N3–H and C8=O were found at δ 12.15 and 173.1, respectively, indicating that the hydrazone adopts the *E* configuration in the complex as confirmed by crystal structure determinations. The signals of C7 and those of

the pyridine carbons undergo shifts upon coordination. Therefore, the NMR spectra suggest coordination of HBzMe through the $N_{py}-N2-O$ chelating system, forming a complex in which HBzMe adopts the *E* configuration.

3.3. Electronic spectra

In the electronic spectrum of HBzMe the $n-\pi^*$ transitions associated to the azomethine and carbonyl functions overlap at 32890 cm^{-1} [18]. In the spectra of complexes **1** and **2** two absorptions attributed to these transitions were observed at 34010 and 26100 cm^{-1} (**1**) and at 34250 and 27000 cm^{-1} (**2**). In the spectrum of **1** a shoulder at 22200 cm^{-1} is associated to a ligand-to-metal charge transfer transition and a broad new band at 11173 cm^{-1} to a combination of ligand-field transitions [25,26].

3.4. Structural study of HBzMe, $[Cu(HBzMe)Cl_2]$ (**1**) $[Cu(BzMe)Cl_2]$ (**1a**) and $[Zn(HBzMe)Cl_2]$ (**2**)

Table 2 shows selected bond distances and angles in the crystal structures of HBzMe, **1**, **1a** and **2**. Figs. 2–5 are ORTEP [27] drawings of the complexes.

HBzMe crystallizes in the *ZE* conformation (see Fig. 2). In the structures of **1** and **2** the copper(II) and zinc(II) ions in a fivefold environment are attached to a neutral hydrazone molecule acting as a tridentate ligand which binds the metal center through the pyridine and imine nitrogens, and the carbonyl oxygen. Two chloride ions occupy the remaining coordination positions. In complex **1** N1, N2, O and Cl2 occupy the basal plane of a distorted square pyramid, and Cl1 is located in the apical position. In **2** N2, Cl1 and Cl2 form the equatorial plane of a distorted trigonal bipyramid, and N1 and O occupy the axial positions. In dimeric $[Cu(BzMe)Cl_2]$ (**1a**) each copper(II) center in a distorted square pyramidal arrangement is attached to an anionic hydrazone and to two chloride ions which act as bridging ligands and connect the two copper(II) ions to each other [$d(Cu-Cl) = 2.260(1)\text{ \AA}$, $d(Cu-Cl') = 2.723(1)\text{ \AA}$]. Complex **1a** is centrosymmetric.

In all complexes, the hydrazone $Pyr(C=N)N-(C=O)$ skeletal fragment defines a coordination plane [rms deviation of atoms from the least-squares plane of 0.045 \AA (**1**), 0.086 \AA (**1a**) and

0.052 \AA (**2**)] with the metal ion laying close onto this plane [at $0.273(1)\text{ \AA}$ (**1**), $0.228(2)\text{ \AA}$ (**1a**) and $0.209(2)\text{ \AA}$ (**2**)]. The phenyl ring and the coordination plane subtend dihedral angles of $82.53(7)^\circ$ (**1**), $53.2(10)^\circ$ (**1a**) and $85.5(1)^\circ$ (**2**).

In HBzMe the C8–O1 bond distance is $1.217(3)\text{ \AA}$ while in complexes **1** and **2** this distance is $1.243(3)$ and $1.225(4)\text{ \AA}$, respectively, due to the formation of the M–O bond which makes the C–O bond weaker. In complex **1a** the C8–O1 bond distance is $1.271(4)\text{ \AA}$ due to deprotonation at N3 which leads to a higher single bond character for C8–O. In HBzMe the N2–N3 and N3–C8 bond distances are $1.369(3)$ and $1.361(3)\text{ \AA}$. These distances are $1.361(2)$ and $1.347(3)\text{ \AA}$ in **1**, and $1.367(4)$ and $1.357(4)\text{ \AA}$ in **2**. In complexes **1** and **2** Cu–L bonds are stronger than Zn–L bonds (see Table 2). In fact, while complex **1** exhibits ligand field stabilization energy (LFSE), in the case of **2**, the d^{10} configuration of Zn^{2+} leads to no LFSE. In **1a** N2–N3 and N3–C8 bond distances are $1.377(3)$ and $1.322(4)\text{ \AA}$ and the Cu–L distances are $2.006(3)\text{ \AA}$ (M–N1), $1.951(3)\text{ \AA}$ (M–N2), $1.958(2)\text{ \AA}$ (M–O), $2.260(1)\text{ \AA}$ (M–Cl), $2.723(1)\text{ \AA}$ (M–Cl#1) and $2.723(1)\text{ \AA}$ (M#1–Cl).

In going from HBzMe to **1**, **1a** and **2** the C2–C7–N2 angle undergoes a great variation from $126.7(2)^\circ$ to $112.0(2)^\circ$, $112.0(3)^\circ$ and $113.3(3)^\circ$, respectively, due to the change in configuration of the hydrazone, from *Z* when uncomplexed to *E* in the complexes. The C7–N2–N3 angle goes from $120.2(2)^\circ$ in HBzMe to $124.9(2)^\circ$, $124.2(3)^\circ$ and $121.8(3)^\circ$ in **1**, **1a** and **2**, due to the formation of the N1–M–N2 chelate ring. Similarly N2–N3–C8 changes from $120.4(2)^\circ$ in HBzMe to $113.9(2)^\circ$, $107.8(3)^\circ$ and $116.1(3)^\circ$ in **1**, **1a** and **2**, respectively, due to the formation of the N2–M–O1 chelate ring.

The N2–M–Cl2 and N2–M–Cl1 angles are $161.39(6)^\circ$ and $93.33(6)^\circ$ in **1** and $110.62(8)^\circ$ and $131.18(8)^\circ$ in **2** indicating that **1** adopts a distorted square pyramidal structure whereas **2** adopts a distorted trigonal bipyramidal arrangement. In fact the M–Cl1 and M–Cl2 distances are $2.2098(6)\text{ \AA}$ and $2.4628(7)\text{ \AA}$ in **1** and $2.2258(9)$ and $2.234(1)\text{ \AA}$ in **2** as a consequence of the presence of two electrons in the d_z^2 orbital in the first case, which makes the M–Cl bond longer as a consequence of repulsion along the *z* axis [28].

The $[Cu(HBzMe)Cl_2]\cdot H_2O$ (**1**) crystal is further stabilized by a net of N–H...Ow [$d(N...Ow) = 2.740\text{ \AA}$, $\angle(N-H...Ow) = 164.2^\circ$] and

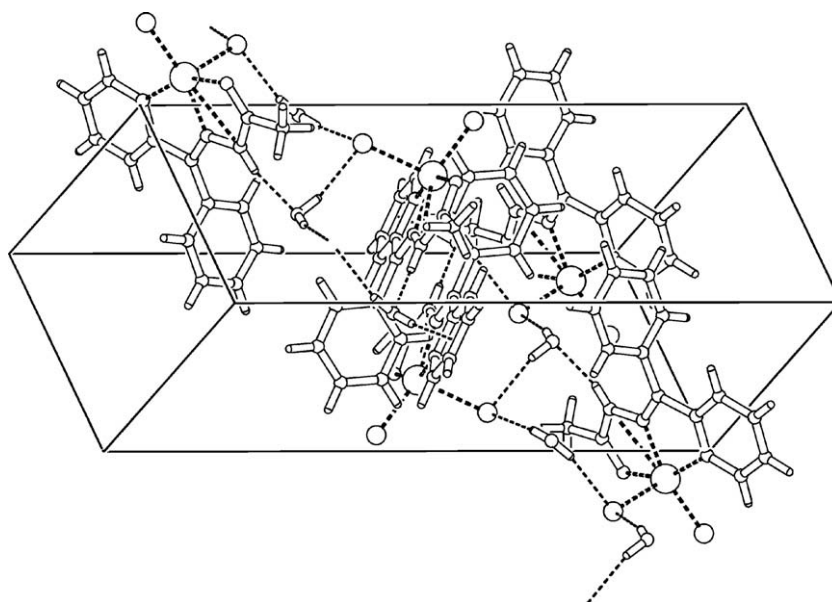


Fig. 6. Crystal packing of **1** as seen down the *c*-axis. The *b*-axis is along the horizontal. H-bonds are indicated by dashed lines. The largest open disks are Cu(II) ions, the ones of intermediate size are chloride ions.

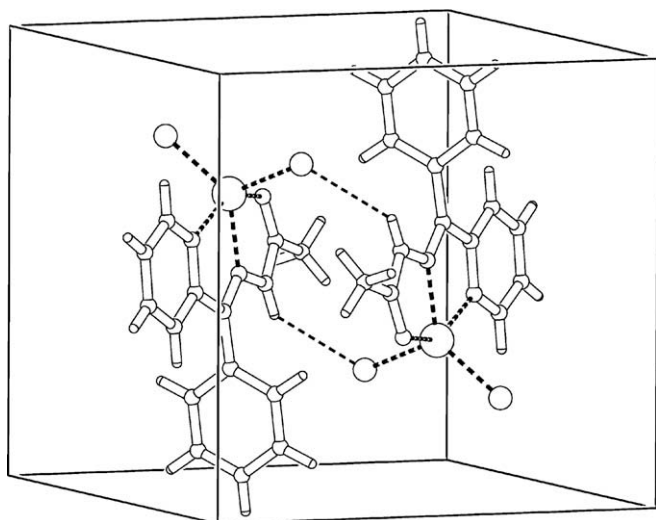


Fig. 7. Crystal packing of **2** as seen down the *a*-axis showing the H-bonded dimeric structure. The *b*-axis is along the vertical. H-bonds are indicated by dashed lines. The largest open disks are Zn(II) ions, the ones of intermediate size are chloride ions.

Ow—H...Cl [Ow...Cl1 distances of 3.152 and 3.202 Å, Ow—H...Cl1 angles of 167.30° and 169.07°, respectively] bonds. These are shown in the PLATON [1] [13] packing diagram in Fig. 6. Further details of the H-bonding structure are provided as [Supplementary material](#).

The [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**) molecules are arranged in the lattice as centrosymmetric dimers. The complexes within a dimer are linked to each other by a pair of N—H...Cl bonds [*d*(N3...Cl2') = 3.422 Å, ∠(N3—H...Cl2') = 138.6°]. A view of this H-bonded structure is shown in Fig. 7.

4. Conclusions

2-Benzoylpyridine-methyl hydrazone (HBzMe, HL) forms [M(HL)Cl₂] complexes [M = Cu(II), Zn(II)] in which the hydrazone acts as a tridentate ligand and binds to the metal through the N_{py}—N—O chelating system. In [Cu(HBzMe)Cl₂] (**1**) the coordination geometry around the metal is distorted square pyramidal, with one chloride occupying the apical position. In [Zn(HBzMe)Cl₂] (**2**) the arrangement around the metal is distorted trigonal, with the pyridine nitrogen and the oxygen occupying the axial positions. Re-crystallization of **1** in 1:9 DMSO–acetone gives dimeric [Cu(BzMe)Cl]₂ (**1a**) in which a tridentate N_{py}—N—O anionic ligand is attached to the metal center, along with two chlorides acting as bridging ligands and connecting the copper centers to each other.

Acknowledgements

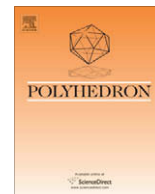
The authors are grateful to Capes, CNPq and FAPESP (Brazil) and CONICET (Argentina) for financial support. O.E.P. is a research fellow of CONICET.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.molstruc.2008.10.025](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2008.10.025).

References

- [1] S. Rollas, Ş.G. Küçüküzgel, *Molecules* 12 (2007) 1910 (and references therein).
- [2] P. Vicini, M. Incerti, I.A. Doytchinova, P. La Colla, B. Busonera, R. Loddò, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 624 (and references therein).
- [3] H.J.C. Bezerra-Netto, D.I. Lacerda, A.L.P. Miranda, H.M. Alves, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Bioorg. Med. Chem.* 4 (2006) 7924 (and references therein).
- [4] V. Getautis, M. Daskeviciene, T. Malinauskas, V. Jankauskas, J. Sidaravicius, *Thin Solid Films* 516 (2008) 8979.
- [5] J.J. Pinto, C. Moreno, M. García-Vargas, *Talanta* 64 (2004) 562.
- [6] L.H.S.A. Terra, M. Guekezián, I. Gaubeur, J.R. Matos, M.E.V. Suárez-Iha, *Polyhedron* 21 (2002) 2375.
- [7] R. Aich, F. Tran-Van, F. Goubard, L. Beouch, A. Michaleviciute, J.V. Grazulevicius, B. Ratier, C. Chevrot, *Thin Solid Films* 516 (2008) 7260.
- [8] O. Pouralimardan, A.-C. Chamayou, C. Janiak, H. Hosseini-Monfared, *Inorg. Chim. Acta* 360 (2007) 1599.
- [9] C. Basu, S. Chowdhury, R. Banerjee, H.S. Evans, S. Mukherjee, *Polyhedron* 26 (2007) 3617.
- [10] M. Bakir, O. Green, W.H. Mulder, *J. Mol. Struct.* 873 (2008) 17.
- [11] J.L. Buss, J. Neuzil, P. Ponka, *Biochem. Soc. Trans.* 30 (2002) 755.
- [12] M. Whitnall, D.R. Richardson, *Semin. Pediatr. Neurol.* 13 (3) (2006) 186.
- [13] A.L. Spek, PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1998.
- [14] Enraf-Nonius COLLECT. B.V. Nonius, Delft, The Netherlands, 1997–2000.
- [15] Z. Otwinowski, W. Minor, in: C.W. Carter, R.M. Sweet (Eds.), *Methods in Enzymology*, vol. 276, Academic Press, New York, 1997, p. 307.
- [16] G.M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for the Solutions of Crystal Structures, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [17] G.M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for Crystal Structures Analysis, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [18] A. Pérez-Rebolledo, O.E. Piro, E.E. Castellano, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Mol. Struct.* 794 (2006) 18.
- [19] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, fourth ed., Wiley, New York, 1986.
- [20] A.P. Rebolledo, M. Vieites, D. Gambino, O.E. Piro, E.E. Castellano, C.L. Zani, E.M. Souza-Fagundes, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 698.
- [21] A.M.B. Bastos, A.F.C. Alcântara, H. Beraldo, *Tetrahedron* 61 (2005) 7045.
- [22] A. Pérez-Rebolledo, G.M. de Lima, N.L. Speziali, O.E. Piro, E.E. Castellano, J.D. Ardisson, H. Beraldo, *J. Organometall. Chem.* 691 (2006) 3919.
- [23] A.P. Rebolledo, G.M. de Lima, L.N. Gambi, N.L. Speziali, D.F. Maia, C.B. Pinheiro, J.D. Ardisson, M.E. Cortés, H. Beraldo, *Appl. Organometal. Chem.* 17 (2003) 945.
- [24] R.F.F. Costa, A.P. Rebolledo, T. Matencio, H.D.R. Callado, J.D. Ardisson, M.E. Cortés, B.L. Rodrigues, H. Beraldo, *J. Coord. Chem.* 58 (2005) 1307.
- [25] I.C. Mendes, J.P. Moreira, A.S. Mangrich, S.P. Balena, B.L. Rodrigues, H. Beraldo, *Polyhedron* 26 (13) (2007) 3263.
- [26] I.C. Mendes, J.P. Moreira, N.L. Speziali, A.S. Mangrich, J.A. Takahashia, H. Beraldo, *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 1571.
- [27] C.K. Johnson, ORTEP. Report ORNL-5138, Oak Ridge, TN, 1976.
- [28] P.B. Sreeja, M.R. Prathapachandra Kurup, A. Kishore, C. Jasmin, *Polyhedron* 23 (2004) 575.



Copper(II) and zinc(II) complexes with 2-formylpyridine-derived hydrazones

Angel A. Recio Despaigne^a, Jeferson G. da Silva^a, Ana Cerúlia M. do Carmo^a, Flavio Sives^b, Oscar E. Piro^b, Eduardo E. Castellano^c, Heloisa Beraldo^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata and Instituto IFLP (CONICET, CCT-La Plata), C.C. 67, 1900 La Plata, Argentina

^c Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, C.P. 369, 13560-970 São Carlos (SP), Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 January 2009

Accepted 31 July 2009

Available online 7 August 2009

Keywords:

Hydrazones

Metal complexes

Crystal structure

ABSTRACT

In the present work 2-formylpyridine-*para*-chloro-phenyl hydrazone (H2FopClPh) and 2-formylpyridine-*para*-nitro-phenyl hydrazone (H2FopNO₂Ph) were obtained, as well as their copper(II) and zinc(II) complexes [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**1**), [Cu(2FopNO₂Ph)Cl] (**2**), [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**3**) and [Zn(H2FopNO₂Ph)Cl₂] (**4**). Upon re-crystallization in DMSO:acetone conversion of **2** into [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**2a**) and of **4** into [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**4a**) occurred. The crystal structures of **1**, **2a**, **3** and **4a** were determined.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Hydrazones are an important class of compounds which present innumerable pharmacological applications as antimicrobial, anti-convulsant, analgesic, antiinflammatory, antiplatelet, antitubercular, and antitumoral agents [1–3].

Metal complexes of hydrazones proved to have potential applications as catalysts [4], luminescent probes [5], and molecular sensors [6]. Moreover, it has been recently shown that hydrazones such as pyridoxal isonicotinoyl hydrazone (PIH) analogs are effective iron chelators *in vivo* and *in vitro*, and may be of value for the treatment of iron overload [7].

In the present work 2-formylpyridine-*para*-chloro-phenyl hydrazone (H2FopClPh) and 2-formylpyridine-*para*-nitro-phenyl hydrazone (H2FopNO₂Ph) were obtained as well as their copper(II) and zinc(II) complexes. The spectral and structural properties of the complexes were investigated (see structural representation of the hydrazones in Fig. 1).

2. Experimental

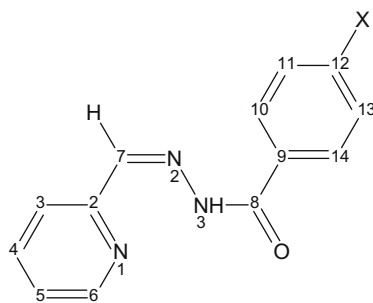
2.1. Materials and equipment

Partial elemental analyses were performed on a Perkin–Elmer CHN 2400 analyzer. Infrared spectra were recorded on a Perkin–

Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using CsI/nujol; an YSI model 31 conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements. Electronic spectra were acquired with a Hewlett–Packard 8453 spectrometer in dimethyl formamide (DMF) solutions using 1 cm cells. Magnetic susceptibility measurements were carried out at room temperature on a Johnson Matthey MSB/AUTO balance and as a function of temperature in a Lake-Shore 7130 susceptometer with an a.c. excitation field of 1 Oe in amplitude and a frequency of 825 Hz at null static magnetic field. NMR spectra were obtained at room temperature with a Bruker DRX-400 Avance (400 MHz) spectrometer using deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-*d*₆) as the solvent and tetramethylsilane (TMS) as internal reference.

The molecular structures of the copper(II) and zinc(II) complexes were investigated using single-crystal X-ray diffractometry. The measurements were performed on an Enraf-Nonius Kappa-CCD diffractometer with graphite-monochromated Mo K α ($\lambda = 0.71073$ Å) radiation. Diffraction data were collected (φ and ω scans with κ -offsets) with COLLECT [8]. Integration and scaling of the reflections were performed with HKL DENZO-SCALEPACK suite of programs. The unit cell parameters were obtained by least-squares refinement based on the angular settings for all collected reflections using HKL SCALEPACK [9]. The data were corrected numerically for absorption with PLATON [10]. The structures were solved by direct methods with SHELXS-97 [11] and the molecular model refined by full-matrix least-squares procedure on F^2 with SHELXL-97 [12]. The crystallization DMSO solvent of **1** (and to a much less degree also **3**) showed positional disorder which was modeled in terms of a two-split molecules refined such as their site

* Corresponding author. Tel.: +55 31 3499 5740; fax: +55 31 3499 5700.
E-mail address: hberaldo@ufmg.br (H. Beraldo).



X = Cl (for H2FopClPh) or NO₂ (for H2FopNO₂Ph)

Fig. 1. Structural representation for 2-formylpyridine-*para*-chloro-phenyl hydrazone (H2FopClPh) and 2-formylpyridine-*para*-nitro-phenyl hydrazone (H2FopNO₂Ph).

occupancy factors summed up to one. The hydrogen atoms of the hydrazones were included in the molecular models at stereochemical positions and refined with the riding model. The DMSO ligand methyl H-atoms of complexes **2a** and **4a** were optimized by treating them as a rigid group which was allowed to rotate around the corresponding C–S bond. A similar treatment was given to the CH₃ groups of the crystallization DMSO of **3**. Crystal data and refinement results are summarized in Tables 1a and b.

2.2. Syntheses of 2-formylpyridine-*para*-chloro-phenyl hydrazone (H2FopClPh) and 2-formylpyridine-*para*-nitro-phenyl hydrazone (H2FopNO₂Ph)

The hydrazones were prepared by mixing equimolar (1 mmol) amounts of 2-formylpyridine with the desired hydrazide in methanol with addition of three drops of acetic acid as catalyst. The reaction mixture was kept under reflux for 6 h. After cooling to room temperature the resulting solids were filtered off, washed with ethanol and ether and dried *in vacuo*.

Table 1a

Crystal data and structure refinement results for [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**1**) and [Cu(H2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**2a**).

	(1)	(2a)
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₄ Cl ₃ CuN ₃ O ₂ S	C ₁₅ H ₁₅ ClCuN ₄ O ₄ S
Formula weight	470.24	446.36
Temperature (K)	296(2)	296(2)
Wavelength (Å)	0.71073	0.71073
Crystal system, space group	monoclinic, P2 ₁ /c	monoclinic, P2 ₁ /n
Unit cell dimensions		
a (Å)	8.4375(3)	9.4069(3)
b (Å)	11.9811(3)	8.1714(3)
c (Å)	18.5793(6)	23.7042(9)
β (°)	94.219(1)	91.782(2)
Volume (Å ³)	1873.1(1)	1821.2(1)
Z, calculated density (Mg/m ³)	4, 1.668	4, 1.628 Mg/m ³
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	1.719	1.489
F(0 0 0)	948	908
Crystal size (mm ³)	0.16 × 0.13 × 0.05	0.20 × 0.11 × 0.04
Crystal color/shape	yellow/prism	yellow/plate
θ range for data collection	2.96–26.00°	2.64–26.00°
Index ranges	–10 ≤ h ≤ 10, –14 ≤ k ≤ 14, –22 ≤ l ≤ 22	–11 ≤ h ≤ 11, –9 ≤ k ≤ 10, –28 ≤ l ≤ 29
Reflections collected/unique [R _{int} = 0.0618]	20 540/3675 [R _{int} = 0.0598]	14 912/3565
Observed reflections [I > 2σ(I)]	3004	2771
Completeness	99.8% (to θ = 26.00°)	99.6% (to θ = 26.00°)
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²
Data/restraints/parameters	3675/0/245	3565/0/237
Goodness-of-fit on F ²	1.056	1.080
Weights, w	[σ ² (F _o ²) + (0.048P) ² + 1.49P] ⁻¹ P = [Max(F _o ² , 0) + 2F _c ²]/3	[σ ² (F _o ²) + (0.0472P) ² + 0.39P] ⁻¹
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0352, wR ₂ = 0.0922	R ₁ = 0.0372, wR ₂ = 0.0875
R indices (all data)	R ₁ = 0.0466, wR ₂ = 0.0983	R ₁ = 0.0550, wR ₂ = 0.0962
Largest difference in peak and hole (e Å ⁻³)	0.524 and –0.501	0.299 and –0.512

^a R₁ = Σ||F_o – |F_c||/Σ|F_o|, wR₂ = [Σw(|F_o|² – |F_c|²)²/Σw(|F_o|²)²]^{1/2}.

2.2.1. 2-Formylpyridine-*para*-chloro-phenyl hydrazone (H2FopClPh)

Color: White. Yield: 76% M.P: 166.3–167.9 °C. Selected IR Bands (cm⁻¹): ν(NH) 3175 m; ν(C=O) 1651 s; ν(C=N) 1592 m; ρ(py) 618 m. UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 33 110. ¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 12.15 (s, 1H, NH); 8.65 (d, 1H, H6); 8.51 (s, 1H, H7); 8.01 (d, 1H, H3); 7.97 [d, 2H, H(10,14)]; 7.91 (t, 1H, H4); 7.66 [d, 2H, H(11,13)]; 7.44 (t, 1H, H5). ¹³C NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 162.3 (C8); 153.2 (C2); 149.6 (C6); 148.4 (C7); 136.9 (C4); 131.9 (C9); 129.7 [C(10,14)]; 128.7 [C(11,13)]; 124.5 (C5); 120.0 (C3).

2.2.2. 2-Formylpyridine-*para*-nitro-phenyl hydrazone mono hydrate [H2FopNO₂Ph]₂·2H₂O

Color: Beige Yield: 87% M.P: 218–220 °C. Selected IR Bands (cm⁻¹): ν(NH) 3227 m; ν(C=O) 1664 s; ν(C=N) 1601 m; ρ(py) 619 m. UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 32 890. ¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 15.83(Z), 12.33(E) [s, 1H, NH(Z and E isomers)]; 8.92 (Z), 8.64 (E) [d, 1H, H6(Z and E isomers)]; 8.31–8.52 (Z,E) [m, 1H, H3(Z and E isomers)]; 8.49 (E) [s, 1H, H7(E isomers)]; 8.39 (E) [d, 2H, H(11,13) (E isomers)]; 8.17 [d, 2H, H(10,14) (E isomers)]; 7.99(Z), 7.87(E) [t, 1H, H4(Z and E isomers)]; 7.63(Z), 7.45(E) [t, 1H, H5 (Z and E isomers)]. ¹³C NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 182.9 (Z), 161.8 (E) [C8 (Z and E isomers)]; 153.0 (E) [C2(E isomer)]; 149.6 (Z), 149.2 (E) [C6 (Z and E isomers)]; 149.4 (E) [C7 (E isomer)]; 148.5 (E) [C12 (E isomer)]; 138.8 (Z), 137.0 (E) [C4 (Z and E isomers)]; 128.8 (Z), 129.3 (E) [C(10,14)(Z and E isomers)]; 124.8(E) [C5 (E isomer)]; 124.7 (Z), 123.8 (E) [C(11,13) (Z and E isomers)]; 120.1(E) [C3 (E isomer)].

2.3. Syntheses of the zinc(II) and copper(II) complexes with H2FopClPh and H2FopNO₂Ph

The zinc(II) and copper(II) complexes (**1–4**) were obtained by refluxing an ethanol solution of the desired ligand with the metal chloride (ZnCl₂ or CuCl₂·2H₂O) in 1:1 ligand-to-metal molar ratio (1 mmol). The solids were washed with ethanol followed by diethylether and then dried *in vacuo*.

Table 1bCrystal data and structure refinement results for [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**3**) and [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**4a**).

	(3)	(4a)
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂ SZn	C ₁₅ H ₁₅ ClN ₄ O ₄ SZn
Formula weight	474.09	448.19
Temperature (K)	296(2)	296(2)
Wavelength (Å)	0.71073	0.71073
Crystal system, space group	monoclinic, P2 ₁ /c	triclinic, P $\bar{1}$
Unit cell dimensions		
<i>a</i> (Å)	9.6792(3)	7.9935(3)
<i>b</i> (Å)	10.8687(4)	9.7127(3)
<i>c</i> (Å)	18.8839(5)	12.1858(4)
α (°)		71.688(2)
β (°)	99.397(2)	88.947(2)
γ (°)		84.009(2)
Volume (Å ³)	1959.9(1)	893.17(5)
Z, calculated density (Mg/m ³)	4, 1.607	2, 1.667
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	1.782	1.671
<i>F</i> (0 0 0)	960	456
Crystal size (mm ³)	0.26 × 0.22 × 0.12	0.25 × 0.12 × 0.06
Crystal color/shape	colorless/polyhedral	yellow/prism
θ Range for data collection	3.17–26.00°	3.09–26.00°
Index ranges	−11 ≤ <i>h</i> ≤ 11, −13 ≤ <i>k</i> ≤ 12, −21 ≤ <i>l</i> ≤ 23	−9 ≤ <i>h</i> ≤ 9, −11 ≤ <i>k</i> ≤ 11, −15 ≤ <i>l</i> ≤ 15
Reflections collected/unique	16 239/3829 [<i>R</i> _{int} = 0.0392]	10 777/3482 [<i>R</i> _{int} = 0.0340]
Observed reflections [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	3210	3012
Completeness	99.5% (to θ = 26.00°)	99.7% (to θ = 26.00°)
Refinement method	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²	Full-matrix least-squares on <i>F</i> ²
Data/restraints/parameters	3829/0/224	3482/0/237
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.063	1.084
Weights, <i>w</i>	[σ ² (<i>F</i> _o ²) + (0.0361 <i>P</i>) ² + 0.91 <i>P</i>] ⁻¹ <i>P</i> = [Max(<i>F</i> _o ² , 0) + 2 <i>F</i> _c ²]/3	[σ ² (<i>F</i> _o ²) + (0.048 <i>P</i>) ² + 0.32 <i>P</i>] ⁻¹
Final <i>R</i> indices [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0420, <i>wR</i> ₂ = 0.1154	<i>R</i> ₁ = 0.0342, <i>wR</i> ₂ = 0.0864
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> ₁ = 0.0523, <i>wR</i> ₂ = 0.1229	<i>R</i> ₁ = 0.0412, <i>wR</i> ₂ = 0.0908
Largest difference in peak and hole (e Å ⁻³)	2.300 ^a and −0.621	0.325 and −0.610

^a Near a positionally disordered DMSO crystallization solvent molecule.**2.3.1. Dichloro(2-formylpyridine-para-chloro-phenylhydrazone) copper(II) [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**1**)**

Green solid. Yield: 70%. Anal. Calc. for C₁₃H₁₀Cl₃CuN₃O: C, 39.61; H, 2.56; N, 10.66. Found: C, 39.18; H, 2.11; N, 10.57%. Selected IR bands (cm⁻¹): ν (C=O) 1600 m; ν (C=N) 1598 m; ν (N=C) 1490 s; ρ (py) 629 m; ν (Cu–N) 411 m. UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 25 550, 24 330 (shoulder) and 13 000 (broad). Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 33.32 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹. Magnetic moment = 1.76 BM.

2.3.2. Chloro(2-formylpyridine-para-nitro-phenylhydrazonato) copper(II) [Cu(2FopNO₂Ph)Cl] (2**)**

Green solid. Yield: 77%. Anal. Calc. for C₁₃H₉ClCuN₄O₃: C, 42.20; H, 2.46; N, 15.21. Found: C, 42.00; H, 2.05; N, 15.36%. Selected IR bands (cm⁻¹): ν (C=N) 1607 m; ν (N=C) 1491 s; ρ (py) 649 m; ν (Cu–N) 412 m. UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 25 510, 24 390 (shoulder) and 13 050 (broad). Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 13.38 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹. Magnetic moment = 1.82 BM.

2.3.3. Dichloro(2-formylpyridine-para-chloro-phenylhydrazone) zinc(II) [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (3**)**

White solid. Yield: 76%. Anal. Calc. for C₁₃H₁₀Cl₃N₃OZn: C, 39.43; H, 2.55; N, 10.61. Found: C, 39.34; H, 2.06; N, 10.47%. Selected IR bands (cm⁻¹): ν (NH) 3201 m; ν (C=O) 1649 s; ν (C=N) 1593 m; ρ (py) 640 m; ν (Zn–N) 408 m. ¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 12.02 (s, 1H, NH); 8.63 (d, 1H, H₆); 8.52 (s, 1H, H₇); 7.98 [m, 4H, H₃, H₄, H(10,14)]; 7.63 [d, 2H, H(11,13)]; 7.51 (t, 1H, H₅). ¹³C NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 163.2 (C₈); 151.6 (C₂); 149.3 (C₆); 147.1 (C₇); 138.0 (C₁₂); 137.3 (C₄); 131.2 (C₉); 129.8 [C(10,14)]; 128.8 [C(11,13)]; 125.3 (C₅); 121.6 (C₃). UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 33 220 and 26 110. Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 14.70 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

2.3.4. Dichloro(2-formylpyridine-para-nitro-phenylhydrazone)zinc(II) [Zn(H2FopNO₂Ph)Cl₂] (4**)**

Yellow solid. Yield: 78%. Anal. Calc. for C₁₃H₁₀Cl₂N₄O₃Zn: C, 38.41; H, 2.48; N, 13.78. Found: C, 38.42; H, 2.10; N, 13.81%. Selected IR bands (cm⁻¹): ν (NH) 3227 m; ν (C=O) 1656 s; ν (C=N) 1598 m; ρ (py) 641 m; ν (Zn–N) 409 m. ¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 12.26 (s, 1H, NH); 8.64 (d, 1H, H₆); 8.52 (s, 1H, H₇); 8.38 [d, 2H, H(11,13)]; 8.18 [d, 2H, H(10,14)]; 7.99 (m, 2H, H₃, H₄); 7.51 (t, 1H, H₅). ¹³C NMR [400 MHz, DMSO-d₆, δ (ppm)]: 162.5 (C₈); 151.8 (C₂); 149.5 (C₁₂); 149.3 (C₇); 148.1 (C₆); 138.5 (C₉); 138.0 (C₄); 129.4 [C(10,14)]; 125.2 (C₅); 123.8 [C(11,13)]; 121.3 (C₃). UV–Vis (DMF, cm⁻¹): 32 890 and 25 310. Molar conductivity (1 × 10⁻³ mol L⁻¹, DMF): 17.78 Ω⁻¹ cm² mol⁻¹.

Crystals of the complexes were obtained from a mixture of 1:9 DMSO:acetone and were stable in the air. As shown by crystal structure determinations (see Section 3.4) in the case of the complexes with H2FopNO₂Ph one DMSO molecule attached to the metal center during the crystallization process, with release of a chloride ligand and formation of chloro(dimethylsulfoxide)(2-formylpyridine-para-nitrophenylhydrazonato)copper(II), [Cu(2FopNO₂Ph)-Cl(DMSO)] (**2a**) and chloro(dimethylsulfoxide)(2-formylpyridine-para-nitrophenylhydrazonato)zinc(II), [Zn(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**4a**).

3. Results and discussion

Microanalyses suggest the formation of [Cu(H2FopClPh)Cl₂] (**1**), [Cu(2FopNO₂Ph)Cl] (**2**), [Zn(H2FopClPh)Cl₂] (**3**), and [Zn(H2FopNO₂Ph)Cl₂] (**4**). In complexes **1**, **3**, and **4** the hydrazone coordinates a neutral ligand while in **2** an anionic hydrazone is attached to the metal. The molar conductivity data reveal that the complexes are non-electrolytes, in accordance with the proposed formulations. The magnetic moments 1.76 and 1.82 BM found for complexes **1**

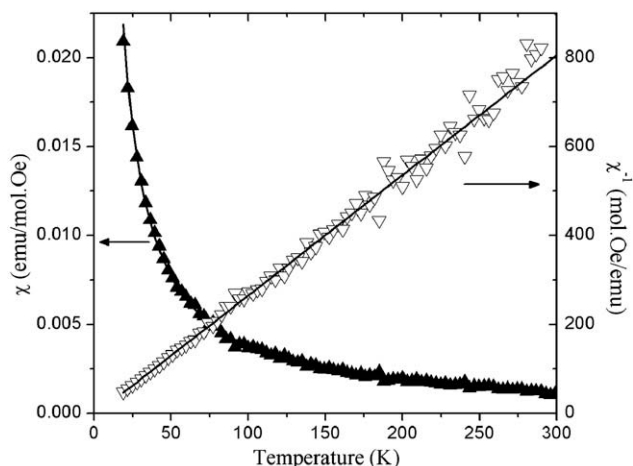


Fig. 2. Plots of magnetic susceptibilities χ and $1/\chi$ vs T for compound **2** in the 15–300 K temperature range. The open and full triangles represent experimental data, the curves the best least-squares fit of the data below 175 K with the Curie–Weiss law.

and **2**, respectively, at room temperature are characteristic of copper(II).

Lacking of adequate single-crystal for structural X-ray diffraction work, we explored the possibility that compound **2** could be described as penta-coordinated copper(II) in a chloro-bridged $[\text{Cu}_2(\text{2FopNO}_2\text{Ph})_2\text{Cl}_2]$ dimeric complex. To this purpose we performed magnetic susceptibility measurements as a function of absolute temperature (T) in the 15–300 K range. The molar susceptibility $\chi(T)$ data of Fig. 2 shows a Curie–Weiss behavior that can be described by:

$$\chi(T) = \frac{N(\mu_{\text{eff}}\beta)^2}{3k(T - \vartheta)},$$

where N is the Avogadro number, β is the Bohr magneton, μ_{eff} in the effective number of magnetons per molecule, and k the Boltzman constant. Positive ϑ -values correspond to ferromagnetic (FM) exchange interaction between the unpaired Cu(II) electrons, negative ones to anti-ferromagnetic (AF) coupling. A least-squares fit of the less noisy data up to 175 K with the above equation leads to $\vartheta = 2(1)$ K and $\mu_{\text{eff}} = 1.72(1)$ BM, close to the theoretical spin-only ($S = 1/2$) value $\mu_{\text{eff}} = g\sqrt{S(S+1)} = 1.73 g = 2.0023$ is the free-electron gyromagnetic factor). Though the ϑ -value is zero within two standard deviation of experimental error, therefore suggesting a monomeric copper(II) complex, the possibility of an association in the lattice of two such monomers through a pair of $\text{Cu}-\text{Cl}\cdots\text{Cu}$ bridges with a strong intra-monomer $\text{Cu}-\text{Cl}$ bond and a much weaker inter-monomer $\text{Cu}\cdots\text{Cl}$ bond can not be ruled out. In fact, feeble exchange interactions both FM and AF between the unpaired $S = 1/2$ spins of the metal ions are reported to exist in several chloro-bridged Cu(II) dimers [13–15].

3.1. Infrared spectra

The $\nu(\text{C}=\text{N})$ vibration mode at 1592 and 1601 cm^{-1} in the spectra of the free hydrazones shifts to 1598 and 1607 cm^{-1} in the spectra of the copper(II) complexes and to 1593 and 1598 cm^{-1} in the spectra of the zinc(II) complexes, indicating coordination of the azomethine nitrogen N2 [16].

The $\nu(\text{C}=\text{O})$ absorption at 1650–1665 cm^{-1} in the spectra of the uncomplexed hydrazones is observed at 1600–1655 cm^{-1} in those of the complexes, in accordance with coordination through the carbonyl oxygen [16,17]. In complex **2** no absorption attributable to $\nu(\text{C}=\text{O})$ was observed, but an additional band was found at

1491 cm^{-1} , in accordance with the presence of a $\nu(\text{N}=\text{C})$ vibration, due to the formation of a new $\text{N}=\text{C}$ bond upon coordination with deprotonation of the hydrazone ligand [18].

The pyridine in-plane deformation mode at 618 and 619 cm^{-1} in the spectra of the hydrazones shifts to 629–649 cm^{-1} in those of the complexes, suggesting coordination of the heteroaromatic nitrogen [16,19]. Therefore, the infrared data for the complexes indicate coordination through the $\text{N}_{\text{py}}-\text{N}-\text{O}$ chelating system.

3.2. NMR spectra

The ^1H and ^{13}C NMR assignments for the hydrazones and their zinc(II) complexes in $\text{DMSO}-d_6$ are reported in Sections 2.2 and 2.3. The ^1H resonances were attributed based on chemical shifts, multiplicities and coupling constants. The carbon type (C, CH) was determined by using DEPT 135 experiments. The assignments of the protonated carbons were made by 2D heteronuclear-correlated experiments (HMQC) using delay values which correspond to $^1J(\text{C}, \text{H})$.

Signals from only the *E* configuration were observed for the hydrogens in the ^1H NMR spectrum of H2FopClPh. The signal at δ 12.15 was attributed to N3–H hydrogen bonded to the solvent ($\text{DMSO}-d_6$) [19,20]. Upon coordination to zinc(II) this signal appears at δ 12.01, suggesting that the hydrazone remains in the *E* configuration in complex **3**, to attach to the metal as a tridentate system, as confirmed by crystal structure determinations (see Section 3.4). The other hydrogen signals undergo small shifts upon coordination.

Similarly, signals from only the *E* configuration were observed for the carbons of H2FopClPh in the ^{13}C NMR spectrum. The signals at δ 148.4 and δ 162.3 were attributed to C7=N and C8=O, respectively [19,20]. These signals shift to δ 147.1 and δ 163.2, respectively in the spectrum of **3**, indicating coordination through the oxygen and the imine nitrogen. The carbons of the pyridine ring also undergo shifts upon coordination. Therefore, the NMR study clearly indicates coordination of H2FopClPh through the $\text{N}_{\text{py}}-\text{N}-\text{O}$ chelating system.

The ^1H and ^{13}C NMR spectra of H2FopNO₂Ph contain two sets of signals due to the presence of both the *E* and *Z* configurations in solution [19,20], with predominance (80%) of the *E* isomer. In fact, two signals of N3–H were observed at δ 15.83 and δ 12.33, which were attributed to the *Z* and *E* forms respectively. In the first N3–H is hydrogen bonded to the pyridine nitrogen, while in the latter it is hydrogen bonded to the solvent [19–24]. Similarly, the signals of C8=O at δ 182.9 and δ 161.8 were attributed to the *Z* and *E* isomers. The high frequency signals of N3–H and C8=O are a consequence of the presence of a $\text{N3}-\text{H}\cdots\text{N}_{\text{py}}$ hydrogen bond in the *Z* isomer.

Upon coordination to zinc(II) only the ^1H and ^{13}C signals due to the *E* configuration were observed. In fact, the signal of C8=O at δ 162.5, indicates that the hydrazone adopts the *E* configuration in the complex, as confirmed by crystal structure determinations. The signal of N3–H has not been observed, suggesting deprotonation in the $\text{DMSO}-d_6$ solution. Crystal structure determination of complex **4a**, obtained upon dissolution of **4** in 1:9 $\text{DMSO}:\text{acetone}$, reveals the presence of an anionic hydrazone attached to the metal center, along with one chloride and one DMSO acting as a ligand. Since in **4** a neutral hydrazone is attached to the metal along with two chloride ions, conversion of **4** into **4a** must have occurred as well in $\text{DMSO}-d_6$ (see Section 3.4). It is worth noticing that complex **2** also contains an anionic *para*-nitrophenyl hydrazone. Upon crystallization in 1:9 $\text{DMSO}:\text{acetone}$ a DMSO coordinates to the metal, with formation of **2a**. Therefore we may suggest that the electron-withdrawing nitro group favors deprotonation at N3 with formation of a highly delocalized system, with the subsequent coordination of DMSO . Formation of complex **4a** from complex **4**

occurred with deprotonation at N3 followed by the release of a chloride ligand.

3.3. Electronic spectra

The $n-\pi^*$ transitions associated to the azomethine and carbonyl functions are overlapped at $33\,100\text{ cm}^{-1}$ in the electronic spectra of the free hydrazones [16]. In the spectra of the zinc(II) complexes two absorptions attributed to these transitions were observed at ca. $33\,100\text{ cm}^{-1}$ and $25\,300\text{--}26\,100\text{ cm}^{-1}$. In the spectra of the copper(II) complexes the $n-\pi^*$ transitions overlap at $25\,500\text{ cm}^{-1}$. A new absorption at $24\,400\text{ cm}^{-1}$ was attributed to a ligand-to-metal charge transfer transition, and a broad band at $13\,000\text{ cm}^{-1}$ to a combination of ligand field transitions [19,25].

3.4. Structural study of $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**1**) $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**2a**) $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**3**) and $[\text{Zn}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**4a**)

Table 2 shows selected bond distances and angles in the crystal structures of **1**, **2a**, **3** and **4a**. Figs. 3–6 are ORTEP [26] drawings of the complexes.

Table 2

Selected bond distances (Å) and angles ($^\circ$) in the molecular structures of $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**2a**), $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**3**), and $[\text{Zn}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**4a**).

Attribution	1	2a	3	4a
<i>Bond lengths</i>				
N1–C2	1.361(3)	1.363(3)	1.352(4)	1.348(3)
C2–C7	1.459(4)	1.459(4)	1.463(5)	1.464(3)
N2–C7	1.277(3)	1.284(3)	1.278(4)	1.278(3)
N2–N3	1.361(3)	1.363(3)	1.359(4)	1.371(3)
N3–C8	1.359(3)	1.331(3)	1.366(4)	1.337(3)
O1–C8	1.243(3)	1.285(3)	1.231(4)	1.268(3)
M–N1	2.044(2)	2.043(2)	2.182(3)	2.259(2)
M–N2	1.971(2)	1.942(2)	2.125(3)	2.059(2)
M–O1	2.137(2)	1.988(2)	2.250(2)	2.098(2)
M–Cl1	2.4344(8)		2.2337(9)	
M–Cl2	2.2212(8)		2.249(1)	
M–Cl		2.2354(7)		2.2516(7)
M–O2		2.242(2)		2.008(2)
<i>Bond angles</i>				
N1–C2–C7	114.4(2)	114.2(2)	114.8(3)	115.7(2)
C2–C7–N2	114.4(2)	114.8(2)	115.8(3)	117.0(2)
C7–N2–N3	124.7(2)	122.9(2)	122.4(3)	120.8(2)
N2–N3–C8	113.5(2)	107.3(2)	114.1(3)	108.3(2)
N3–C8–O1	120.4(2)	125.1(2)	120.5(3)	126.0(2)
C6–N1–M	128.6(2)	129.2(2)	126.5(2)	130.2(2)
C2–N1–M	112.4(2)	112.3(2)	114.8(2)	111.6(2)
C7–N2–M	118.5(2)	118.6(2)	119.3(2)	120.5(2)
N3–N2–M	116.8(2)	118.5(2)	118.0(2)	118.7(1)
C8–O1–M	112.0(2)	110.6(2)	115.2(2)	112.1(2)
N1–M–N2	78.91(9)	79.86(9)	73.9(1)	74.95(7)
N2–M–O1	76.17(8)	78.52(8)	71.30(9)	74.90(7)
N1–M–O1	150.28(8)	158.06(8)	143.18(9)	149.56(7)
N1–M–Cl1		105.26(7)	98.75(8)	
N1–M–Cl2	97.71(7)		103.48(8)	
N2–M–Cl1	92.90(7)		135.35(8)	
N2–M–Cl2	163.28(7)		108.07(8)	
O1–M–Cl1	92.00(6)		97.65(7)	
O1–M–Cl2	101.48(6)		98.27(8)	
Cl1–M–Cl2	103.76(3)		116.39(4)	
N1–M–Cl		98.88(6)		98.89(5)
N1–M–O2		93.78(8)		98.26(7)
N2–M–Cl		162.64(7)		134.73(6)
N2–M–O2		95.06(8)		117.62(8)
O1–M–Cl		100.63(5)		105.19(6)
O1–M–O2		91.80(7)		91.98(7)
O2–M–Cl		102.29(5)		107.65(5)

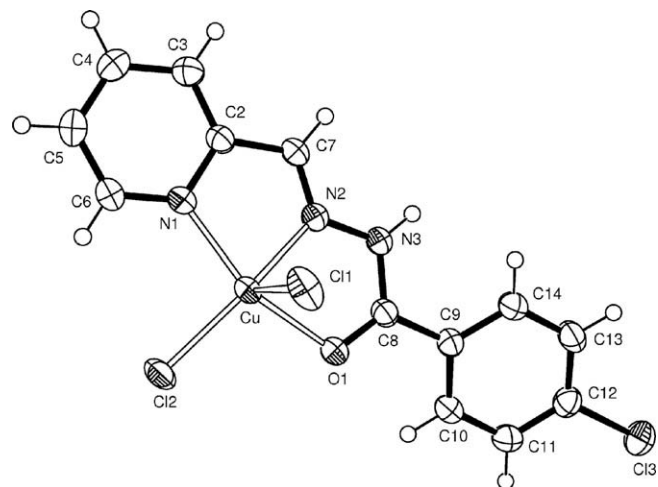


Fig. 3. Molecular plot of $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**1**) showing the labeling of the non-H atoms and their displacement parameters at the 50% probability level. Metal–ligand interactions are indicated by open bonds.

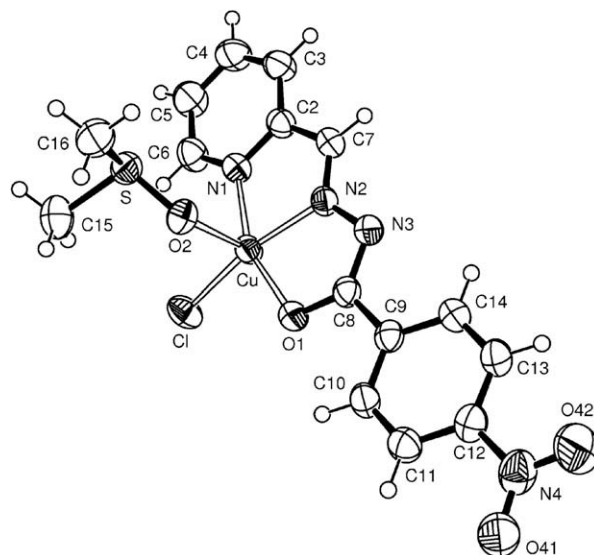


Fig. 4. Molecular plot of $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**2a**).

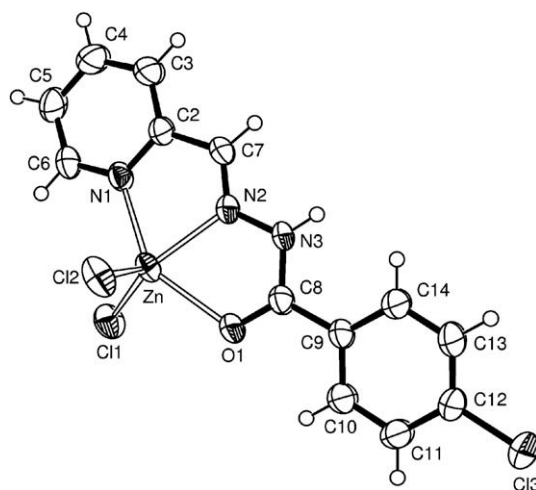


Fig. 5. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**3**).

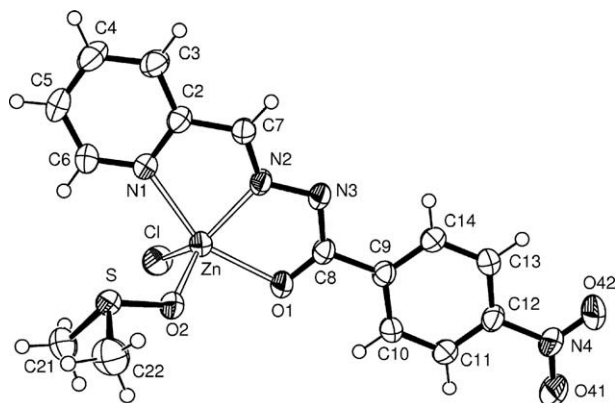


Fig. 6. Molecular plot of $[\text{Zn}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**4a**).

The copper(II) and zinc(II) ions present coordination number five, and are attached to a hydrazone molecule acting as a tridentate ligand through the pyridine and imine nitrogens, and the carbonyl oxygen. Two chloride ions occupy the remaining coordination positions in the complexes with H2FopClPh. In the complexes with H2FopNO₂Ph one chloride and one O-bonded DMSO are attached to the metal, along with an anionic hydrazone.

In all compounds, the hydrazone $\text{Pyr}(\text{C}=\text{N})\text{N}(\text{C}=\text{O})\text{N}$ skeletal fragment defines the coordination plane [rms deviation of atoms from the least-squares plane less than 0.040 Å] with the metal ion laying closer onto this plane in complexes **2a** and **4a** than in complexes **1** and **3** [Cu(II) ions at 0.382(2) and 0.104(1) Å in **1** and **2a** and Zn(II) ions at 0.358(2) and 0.105(2) Å in **3** and **4a**, respectively]. In **2a** and **4a** a competition between one chloride ion and the anionic hydrazone for the positively charged metal probably occurs. The interaction between the metal center and the anionic hydrazone results in the metal laying closer to the hydrazone skeleton plane in **2a** and **4a** than in **1** and **3**, where the attraction effect of two chloride ions for the positive metal center predominates over the interaction between the metal and a neutral hydrazone. The phenyl ring and the coordination plane in complexes **1**, **2a**, **3** and **4a** subtend dihedral angles of 22.0(1), 9.5(1), 9.5(2), and 2.5(1)°. In **2a** and **4a** the terminal NO₂ group is nearly coplanar with the phenyl ring [angled at 7.1(5) and 0.2(6)°, respectively].

For complexes **1** and **3** the hydrazone C8–O1 bond distances are 1.243(3) and 1.231(4) Å, respectively, while in complexes **2a** and **4a** the C8–O1 bond distances are 1.285(3) and 1.268(3) Å respectively, in accordance with a higher single bond character for the latter which present an anionic hydrazone ligand. Similarly, the N3–C8 bond distances are 1.359(3) and 1.366(4) Å for **1** and **3** respectively and 1.331(3) and 1.337(3) Å for **2a** and **4a** respectively, in agreement with a higher double bond character in the latter. Interestingly, the O1–M bond distances are 2.137(2) and 2.250(2) Å for **1** and **3** and 1.988(2) and 2.098(2) Å for **2a** and **4a**, in accordance with the presence of a negative charge at the oxygen in the latter, which increases the strength of the M–O1 bond.

In going from complexes **1** and **3** to complexes **2a** and **4a** the N1–M–N2 and N2–M–O1 angles undergo small changes (ca. 1–3°, see Table 2); the N1–M–O1 changes from 150.28(8) and 143.18(9)° in **1** and **3**, respectively, to 158.06(8) and 149.56(7)° in **2a** and **4a** due to higher delocalization in the latter and to the change of the N3 hybridization from sp³ to sp². Similarly the N3–C8–O1 angles goes from 120.4(2) and 120.5(3)° in **1** and **3** to 125.1(2) and 126.0(2)° in **2a** and **4a** due to the same effect.

Comparison between **1** and **3** and between **2a** and **4a** reveals that the bond distances within the hydrazone ligand are not very different but, as expected, the M–L [M = Cu(II), Zn(II)] distance var-

ies appreciably with the metal ion. Similarly, the bond angles within the hydrazone backbone do not change significantly but the angles around the metal undergo appreciable variations upon changing the metal center.

The crystallization DMSO solvent molecule in crystals **1** and **3** acts as acceptor of a N3–H···O bond [N3···O length and N3–H···O angle of 2.685 Å and 149.6° for **1** and 2.706 Å and 161.6° for **3**].

4. Conclusions

2-Formylpyridine-*para*-chloro-phenyl-hydrazone (H2FopClPh) and 2-formylpyridine-*para*-nitro-phenyl-hydrazone (H2FopNO₂Ph) react with copper chloride and with zinc chloride with formation of $[\text{Cu}(\text{H2FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}]$ (**2**), $[\text{Zn}(\text{H2FopClPh})\text{Cl}_2]$ (**3**) and $[\text{Zn}(\text{H2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**4**), in which the hydrazones coordinate to the metal center as N_{py}–N–O chelating systems. Upon crystallization in DMSO:acetone conversion of **2** into $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**2a**) and of **4** into $[\text{Zn}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**4a**) occurs. In the case of **2a** the coordinating ability of DMSO leads to its attachment to the metal center with expansion of the metal coordination number. The electron-withdrawing effect of the *para*-nitro group probably makes the metal center more positive and more able to accept the fifth ligand. In the case of **4a** the electron-withdrawing effect of the *para*-nitro group favors deprotonation at N3, with release of HCl, and attachment of a DMSO molecule to the metal. Interestingly, as we showed in a previous work, crystallization of $[\text{Zn}(\text{H2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (H2BzpNO₂Ph = 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenyl-hydrazone) in DMSO:acetone lead to the formation of $[\text{Zn}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$, also promoted by the presence of the *para*-nitro group [20].

Supplementary data

CCDC 714806, 714807, 714808, and 714809 contain the supplementary crystallographic data for complexes **1**, **2a**, **3** and **4a**. These data can be obtained free of charge via <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>, or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (+44) 1223-336-033; or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

Acknowledgements

The authors are grateful to Capes and CNPq (Brasil) and to CONICET (Argentina) for financial support. O.E.P. is a research fellow of CONICET, Argentina.

References

- [1] S. Rollas, Ş.G. Küçükgüzel, *Molecules* 12 (2007) 1910 (and references therein).
- [2] P. Vicini, M. Incerti, I.A. Doytchinova, P. La Colla, B. Busonera, R. Loddo, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 624 (and referentes therein).
- [3] H.J.C. Bezerra-Netto, D.I. Lacerda, A.L.P. Miranda, H.M. Alves, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Bioorg. Méd. Chem.* 4 (2006) 7924 (and references therein).
- [4] O. Pouralimardan, A.-C. Chamayou, C. Janiak, H. Hosseini-Monfared, *Inorg. Chim. Acta* 360 (2007) 1599.
- [5] C. Basu, S. Chowdhury, R. Banerjee, H.S. Evans, S. Mukherjee, *Polyhedron* 26 (2007) 3617.
- [6] M. Bakir, O. Green, W.H. Mulder, *J. Mol. Struct.* 873 (2008) 17.
- [7] J.L. Buss, J. Neuzil, P. Ponka, *Biochem. Soc. Trans.* 30 (2002) 755.
- [8] Enraf-Nonius (1997–2000), COLLECT, Nonius BV, Delft, The Netherlands.
- [9] Z. Otwinowski, W. Minor, in: C.W. Carter Jr., R.M. Sweet (Eds.), *Methods in Enzymology*, vol. 2, Academic Press, New York, 1997, p. 307.
- [10] A.L. Spek, PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1998.
- [11] G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Resolution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [12] G.M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for Crystal Structures Analysis, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
- [13] W.E. Marsh, W.E. Hatfield, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 21 (1982) 2679.

- [14] W.E. Marsh, K.C. Patel, W.E. Hatfield, D.J. Hodgson, *Inorg. Chem.* 22 (1983) 511.
- [15] S. Mandal, F. Lloret, R. Mukherjee, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 27.
- [16] A. Perez-Rebolledo, O.E. Piro, E.E. Castellano, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Mol. Struct.* 794 (2006) 18.
- [17] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, fourth ed., Wiley, New York, 1986.
- [18] P.B. Sreeja, M.R. Prathapachandra Kurup, A. Kishore, C. Jasmin, *Polyhedron* 23 (2004) 575.
- [19] A.A. Recio Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *J. Mol. Struct.* 920 (2009) 97.
- [20] A.A. Recio Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *Inorg. Chim. Acta* 362 (7) (2008) 2122.
- [21] A.P. Rebolledo, M. Vieites, D. Gambino, O.E. Piro, E.E. Castellano, C.L. Zani, E.M. Souza-Fagundes, L.R. Teixeira, A.A. Batista, H. Beraldo, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 698.
- [22] A.M.B. Bastos, A.F.C. Alcântara, H. Beraldo, *Tetrahedron* 61 (2005) 7045.
- [23] A. Pérez-Rebolledo, G.M. de Lima, N.L. Speziali, O.E. Piro, E.E. Castellano, J.D. Ardisson, H. Beraldo, *J. Organomet. Chem.* 691 (2006) 3919.
- [24] A.P. Rebolledo, G.M. de Lima, L.N. Gambi, N.L. Speziali, D.F. D.F. Maia, C.B. Pinheiro, J.D. Ardisson, M.E. Cortés, H. Beraldo, *Appl. Organomet. Chem.* 17 (2003) 945.
- [25] I.C. Mendes, J.P. Moreira, A.S. Mangrich, S.P. Balena, B.L. Rodrigues, H. Beraldo, *Polyhedron* 26 (13) (2007) 3263.
- [26] C.K. Johnson, ORTEP-II. A Fortran Thermal-Ellipsoid Plot Program. Report ORNL-5318, Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, USA, 1976.

Organotin(IV) Complexes with 2-Acetylpyridine Benzoyl Hydrazones: Antimicrobial Activity

Angel A. R. Despaigne,^{a,*} Lorena F. Vieira,^a Isolda C. Mendes,^a
Fernanda B. da Costa,^a Nivaldo L. Speziali^b and Heloisa Beraldo^{*,a}

^aDepartamento de Química and ^bDepartamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901 Belo Horizonte-MG, Brazil

Reações de tricloreto de *n*-butilestanho, [BuⁿSnCl₃], e tricloreto de fenilestanho, [PhSnCl₃], com 2-acetilpiridina benzoil hidrazona (H2AcPh), 2-acetilpiridina-*para*-cloro-benzoil hidrazona (H2AcpClPh) e 2-acetilpiridina-*para*-nitro benzoil hidrazona (H2AcpNO₂Ph) produziram os complexos [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (1), [BuⁿSn(2AcpClPh)Cl₂] (2), [BuⁿSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (3), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (4), [PhSn(2AcpClPh)Cl₂] (5) e [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (6). H2AcpClPh revelou-se a hidrazona mais ativa contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Pela coordenação a atividade antibacteriana tanto do metal quanto das hidrazonas aumenta significativamente. Os complexos 2 e 5 revelaram-se os mais ativos como agentes antimicrobianos.

Reaction of *n*-butyltin trichloride, [BuⁿSnCl₃], and phenyltin trichloride, [PhSnCl₃], with 2-acetylpyridine benzoyl hydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine *para*-chloro-benzoyl hydrazone (H2AcpClPh) and 2-acetylpyridine *para*-nitro-benzoyl hydrazone (H2AcpNO₂Ph) gave [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (1), [BuⁿSn(2AcpClPh)Cl₂] (2), [BuⁿSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (3), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (4), [PhSn(2AcpClPh)Cl₂] (5) and [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (6) as products. Among the hydrazones H2AcpClPh proved to be the most active against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Upon coordination the antibacterial activity of both tin and the hydrazones significantly increases. Complexes 2 and 5 revealed to be the most active as antimicrobial agents.

Keywords: 2-acetylpyridine benzoyl hydrazones, organotin(IV) complexes, crystal structures, antimicrobial activity

Introduction

Hydrazones are a versatile class of compounds which present a wide range of biological applications as antimicrobial,¹ antitubercular,² anticonvulsant,³ anti-inflammatory,⁴ cytotoxic⁵ and vasodilator⁶ agents. Moreover, 9-acridanone-hydrazones proved to be active against *Schistosoma mansoni*⁷ and quinoxaline-*N*-acylhydrazones showed trypanocidal activity.⁸ In addition, methyl pyrazinylketone isonicotinoyl hydrazones have been synthesized in an attempt to develop novel chelators with high affinity for iron for the treatment of iron overload disease.⁹

Hydrazones also proved to be useful as sensitive analytical reagents for the determination of trace amounts of metal ions.^{10,11} Metal complexes with hydrazones have

potential applications as catalysts,¹² luminescent probes,¹³ and molecular sensors.¹⁴ Moreover, metal complexes with hydrazones present antimicrobial,¹⁵⁻¹⁷ DNA-binding and cytotoxic activities.¹⁷ It has also been shown that metal complexes with hydrazones can be potent inhibitors of cell growth and DNA syntheses.¹⁸

Tin compounds present applications as PVC stabilizers,¹⁹ for chemical vapor decomposition (CVD),²⁰ in non-linear optics²¹ and in catalyses.²² Organotin complexes present innumerable pharmacological applications as antitumorals,²³ antimicrobials^{24,25} and biocides.²⁶ The cytotoxic activity of a variety of organotin complexes against tumor cell lines has been demonstrated by some of us.^{27,28}

In recent works we started an investigation on metal complexes of pyridine-derived hydrazones.²⁹⁻³¹ In the present paper organotin(IV) complexes were prepared by reacting [BuⁿSnCl₃] and [PhSnCl₃] with 2-acetylpyridine-benzoyl hydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine *para*-chloro-benzoyl hydrazone (H2AcpClPh) and 2-acetylpyridine

*e-mail: hberaldo@ufmg.br

[#]On leave from Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

para-nitro-benzoyl hydrazone (H2AcpNO₂Ph) (see Figure 1). The antimicrobial activity of the hydrazones and their organotin(IV) complexes was evaluated against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*.

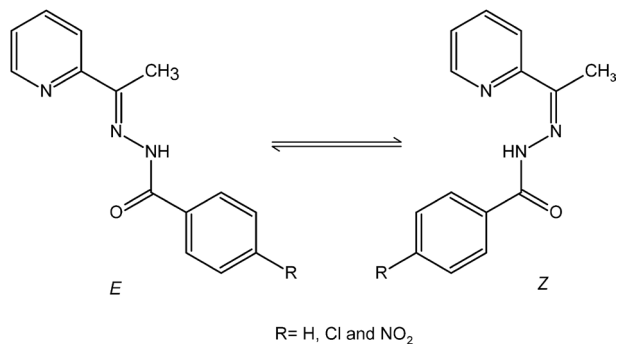


Figure 1. Generic structure of 2-acetylpyridine benzoyl hydrazones (*E* and *Z* configurational isomers).

Experimental

Apparatus

Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using CsI pellets; an YSI model 31 conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements; NMR spectra were obtained with a Bruker DPX-200 (200 MHz) spectrometer or with a Bruker DRX-400 Avance (400 MHz) spectrometer using deuterated dimethylsulfoxide (dms-*d*₆) or deuterated chloroform (CDCl₃). The ¹H and ¹³C NMR chemical shifts in ppm are reported from internal tetramethylsilane (tms) on the % scale. The ¹¹⁹Sn NMR spectra were measured relative to Sn(CH₃)₄. Bruker standard experiments were performed using decoupling sequences for ¹³C and ¹¹⁹Sn. Splitting patterns are designated as follows: s singlet; d doublet; t triplet; q quartet; m multiplet.

n-Butyltin trichloride, phenyltin trichloride, 2-acetylpyridine, benzoyl hidrazide, 4-chloro benzoyl hidrazide, and 4-nitro benzoyl hidrazide were purchased from Sigma-Aldrich and used without further purification. All other chemicals and solvents were of analytical grade.

Syntheses of 2-acetylpyridine-benzoylhydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine-para-chloro-benzoyl hydrazone (H2AcpClPh) and 2-acetylpyridine-para-nitro-benzoyl hydrazone (H2AcpNO₂Ph)

2-Acetylpyridine-benzoyl hydrazone (H2AcPh) and 2-acetylpyridine-*para*-chloro-benzoyl hydrazone

(H2AcpClPh) were prepared as described in the literature.^{32,33} 2-Acetylpyridine-*para*-nitro-benzoyl hydrazone (H2AcpNO₂Ph) was obtained by mixing equimolar amounts of 2-acetylpyridine with the *para*-nitro-benzoyl hydrazide in methanol with addition of three drops of acetic acid as catalyst. The reaction mixture was kept under reflux for 6 h. After cooling to room temperature the resulting solid was filtered off, washed with ethanol and ether and dried *in vacuuum*.

H2AcpNO₂Ph: Color: Beige; Yield: 88%; mp 220-224 °C. Selected IR bands (ν_{\max} /cm⁻¹): ν (NH) 3188 m; ν (C=O) 1676 s; ν (C=C) + ν (CN) 1580 m; 1458 m; 1429 m; ρ (py) 615 m. ¹H NMR (dms-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): 11.21 (s, 1H, NH); 8.64 (d, 1H, H6); 8.38 [d, 2H, H(11,13)]; 8.19 [d, 2H, H(10,14)]; 8.16(d,1H, H3); 7.91 (t, 2H, H4); 7.47(t, 1H, H5); 2.50 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (dms-*d*₆, 400 MHz, ppm): δ 162.69(C6); 154.76 (C7); 149.10 (C2); 148.57(C6); 139.61(C12); 136.61 (C4); 134.06(C9); 129.52(C10,14); 124.25 (C5); 123.30(C11,13); 120.43 (C3).

Synthesis of [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (1), [BuⁿSn(2AcpClPh)Cl₂] (2), [BuⁿSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (3), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (4), [PhSn(2AcpClPh)Cl₂] (5) and [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (6)

The organotin(IV) complexes were obtained by refluxing an ethanol solution of the desired hydrazone with [BuⁿSnCl₃] or [PhSnCl₃] in 1:1 ligand-to-metal molar ratio. The solids were washed with ethanol followed by diethylether and then dried *in vacuuum*. Crystals of complexes **1**, **2**, **3** and **5** were obtained from their ethanolic solutions and were stable in the air. Slow evaporation of **6** in 1:9 dms-*d*₆:acetone solution gave crystals of [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂]*dms-*d*₆*, (**6a**).

n-Butyl(dichloro)(2-acetylpyridine-phenylhydrazonato)tin(IV), [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (**1**): Color: Yellow. Yield: 71%. Anal. Calc. (C₁₈H₂₁Cl₂N₃OSn): C, 44.88; H, 4.36; N, 8.66. Found: C, 44.87; H, 4.16; N, 8.96%. Selected IR bands (ν_{\max} /cm⁻¹): ν_{as} (CH₃) 2952 m; ν_s (CH₃) 2869 m; ν_{as} (CH₂) 2925 m; ν_s (CH₂) 2853 m; ν (C-H)_{ar} 3060 m; ν (C=N) 1599 m; σ_{as} (CH₂) 1460; σ_{as} (CH₃) 1421; σ_s (CH₃) 1380; ρ (py) 649 m; ν (M-N_{imine}) 492; ν (M-O) 392; ν (M-C) 349; ν (M-Cl) 250; ν (M-N_{py}) 228. ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz, ppm): δ 8.62 (d, 1H, H6); 8.34 (d, 2H, H10,14); 8.20 (t, 1H, H4); 8.01(d, 1H, H3); 7.74 (t, 1H, H5); 7.49(m, 3H, H11,13, H12); 2.82 (s, 3H, H15); 2.33(t, 2H, H16); 2.07(m, 2H, H17); 1.61(m, 2H, H18); 1.05(t, 3H, H19). ¹³C NMR (CDCl₃, 200 MHz, ppm): δ 171.38(C8); 145.13(C6); 144.68(C7); 144.16(C2); 142.49(C4); 132.51(C12); 132.42(C9); 129.00(C10,14);

128.15(C11,13); 127.05(C5); 125.06(C3); 35.50(C16); 27.51(C17); 25.60(C18); 13.68(C19); 13.53(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -414.39. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $11.56 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

n-Butyl(dichloro)(2-acetylpyridine-para-chlorophenylhydrazonato)tin(IV), [$\text{Bu}^n\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2$] (2): Color: Yellow. Yield: 83%. Anal. Calc. ($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{OSn}$): C, 41.62; H, 3.88; N, 8.09. Found: C, 41.77; H, 3.41; N, 8.39%. Selected IR bands ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ 2957 m; $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ 2870 m; $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ 2928 m; $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$ 2859 m; $\nu(\text{C-H})$ ar 3081 m; $\nu(\text{C=N})$ 1599 m; $\sigma_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ 1448; $\sigma_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ 1448; $\sigma_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ 1386; $\rho(\text{py})$ 647 m; $\nu(\text{M-N}_{\text{imine}})$ 481; $\nu(\text{M-O})$ 402; $\nu(\text{M-C})$ 360; $\nu(\text{M-Cl})$ 250; $\nu(\text{M-N}_{\text{py}})$ 228. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 8.63(d, 1H, H6); 8.24(d, 2H, H10,14); 8.20(m, 1H, H4); 8.02(d, 1H, H3); 7.67(t, 1H, H5); 7.44(d, 2H, H11,13); 2.81(s, 3H, H15); 2.32(t, 2H, H16); 2.08(m, 2H, H17); 1.60(m, 2H, H18); 1.05(s, 3H, H19). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 170.50 (C8); 145.28(C6); 145.05(C7); 144.14(C2); 142.56(C4); 138.66(C12); 130.98(C9); 130.43(C11,13); 128.13(C10,14); 127.26(C5); 125.20(C3); 35.60(C16); 27.52(C17); 25.61(C18); 13.68(C19); 13.56(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -413.66. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $14.33 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

n-Butyl(dichloro)(2-acetylpyridine-para-nitrophenylhydrazonato)tin(IV), [$\text{Bu}^n\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2$] (3): Color: Yellow. Yield: 74%. Anal. Calc. ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{Sn}$): C, 40.79; H, 3.80; N, 10.57. Found: C, 40.92; H, 3.72; N, 10.48%. Selected IR bands ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ 2956 m; $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ 2869 m; $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ 2927 m; $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$ 2858 m; $\nu(\text{C-H})$ ar 3077 m; $\nu(\text{C=N})$ 1596 m; $\sigma_{\text{as}}(\text{CH}_2)$ 1456; $\sigma_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ 1443; $\sigma_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ 1384; $\rho(\text{py})$ 649 m; $\nu(\text{M-N}_{\text{imine}})$ 479; $\nu(\text{M-O})$ 394; $\nu(\text{M-C})$ 364; $\nu(\text{M-Cl})$ 249; $\nu(\text{M-N}_{\text{py}})$ 214. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 8.68(d, 1H, H6); 8.49(d, 2H, H10,14); 8.30(m, 2H, H11,13); 8.28(m, 1H, H4); 8.11(d, 1H, H3); 7.84(t, 1H, H5); 2.87(s, 3H, H15); 2.34(t, 2H, H16); 2.05(m, 2H, H17); 1.61(m, 2H, H18); 1.05(t, 3H, H19). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): 169.36(C8); 150.00(C7); 146.89(C2); 145.51(C6); 143.93(C12); 142.62(C4); 138.41(C9); 129.85(C10,14); 127.60(C5); 125.45(C3); 123.21(C11,13); 35.79(C16); 27.52(C17); 25.61(C18); 13.73(C19); 13.68(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -412.33. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $10.66 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

Phenyl(dichloro)(2-acetylpyridine-phenylhydrazonato)tin(IV), [$\text{PhSn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2$] (4): Color: Yellow. Yield: 85%. Anal. Calc. ($\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OSn}$): C, 47.57; H, 3.39; N, 8.32. Found: C, 46.66; H, 3.06; N, 8.80%. Selected

IR bands ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{C-H})$ ar 3061 m; $\nu(\text{C=N})$ 1600 m; $\rho(\text{py})$ 650 m; $\nu(\text{M-N}_{\text{imine}})$ 494; $\nu(\text{M-C})$ 441; $\nu(\text{M-O})$ 395; $\nu(\text{M-Cl})$ 242; $\nu(\text{M-N}_{\text{py}})$ 229. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm) main signals: δ 8.41(m, 1H, H4); 8.40(m, 1H, H6); 8.33(d, 2H, H17,21); 8.21(d, 2H, H10,14); 8.04(d, 1H, H3); 7.60(m, 1H, H5); 7.59(m, 3H, H18,19,20); 7.50(m, 1H, H12); 7.44(m, 2H, H11,13); 2.88(s, 3H, H15). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm) main signals: δ 171.53(C8); 145.06(C6); 144.11(C2); 142.61(C4); 139.92(C16); 136.62(C17,21); 132.59(C12); 132.16(C9); 131.13(C19); 129.08(C10,14,18,19); 128.17(C11,13); 126.99(C5); 124.04(C3); 13.45(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -443.37. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $20.51 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

Phenyl(dichloro)(2-acetylpyridine-para-chlorophenylhydrazonato)tin(IV), [$\text{PhSn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2$] (5): Color: Yellow. Yield: 86%. Anal. Calc. ($\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_3\text{N}_3\text{OSn}$): C, 44.53; H, 2.99; N, 7.99. Found: C, 43.57; H, 2.82; N, 8.04%. Selected IR bands ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{C-H})$ ar 3050 m; $\nu(\text{C=N})$ 1597 m; $\rho(\text{py})$ 647 m; $\nu(\text{M-N}_{\text{imine}})$ 476; $\nu(\text{M-C})$ 443; $\nu(\text{M-O})$ 403; $\nu(\text{M-Cl})$ 260; $\nu(\text{M-N}_{\text{py}})$ 233. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 8.42(m, 1H, H6); 8.40(m, 1H, H4); 8.27(d, 2H, H17,21); 8.21(d, 2H, H11,13); 8.06(d, 1H, H3); 7.63(t, 1H, H5); 7.59(m, 3H, H18,19,20); 7.41(d, 2H, H10,14); 2.88(s, 3H, C15). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 170.58(C8); 145.11(C6); 144.46(C7); 144.07(C2); 142.77(C4); 139.75(C16); 138.76(C12); 136.50(C17,21); 131.22(C19); 131.00(C9); 130.47(18,20); 129.13(C11,13); 128.50(C10,14); 127.12(C5); 125.04(C3); 13.47(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -442.65. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $20.53 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

Phenyl(dichloro)(2-acetylpyridine-para-nitrophenylhydrazonato)tin(IV), [$\text{PhSn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2$] (6): Color: Yellow. Yield: 82%. Anal. Calc. ($\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{Sn}$): C, 43.68; H, 2.93; N, 10.19. Found: C, 43.23; H, 3.00; N, 10.28%. Selected IR bands ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{C-H})$ ar 3058 m; $\nu(\text{C=N})$ 1596 m; $\rho(\text{py})$ 649 m; $\nu(\text{M-N}_{\text{imine}})$ 486; $\nu(\text{M-C})$ 450; $\nu(\text{M-O})$ 394; $\nu(\text{M-Cl})$ 250; $\nu(\text{M-N}_{\text{py}})$ 231. ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 8.50(d, 2H, H11,13); 8.42(m, 1H, H6); 8.41(m, 1H, H4); 8.28(m, 2H, H17,21); 8.25(m, 2H, H10,14); 8.13(d, 1H, H3); 7.70(t, 1H, H5); 7.61(m, 3H, H18,19,20); 2.93(s, 3H, H15). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ 169.41(C8); 150.06(C7); 146.32(C2,C12); 145.28(C6); 142.79(C4); 139.48(C16); 138.43(C9); 136.45(C17,21); 131.36(C19); 129.99(C18,20); 129.21(C11,13); 127.56(C10,14); 125.38(C5); 123.27(C3); 13.64(C15). ^{119}Sn NMR (CDCl_3 , 200 MHz, ppm): δ -441.42. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dmf): $18.75 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

X-ray crystallography

Crystals of [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (**1**), [BuⁿSn(2AcPClPh)Cl₂] (**2**), [BuⁿSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂] (**3**), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (**4**) and [PhSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂].dmsO (**6a**) were mounted on glass fibers and used for data collection. X-ray diffraction data collection was performed on a Oxford-Diffraction GEMINI diffractometer (LabCri) using graphite-Enhance Source MoK_α radiation ($\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$) at 293(2) K. Data integration and scaling of the reflections were performed with the Crystalis suite.³⁴ Final unit cell parameters were based on the fitting of all reflections positions. The structures were solved by direct methods using the program SHELXS-97³⁵ and refined by full-matrix least-squares techniques against F² using SHELXL-97.³⁶ Positional and anisotropic atomic displacement parameters were refined for non hydrogen

atoms, except for those involved in disorder systems for which isotropic ADP was used. Although some hydrogen atoms could be identified in a Fourier difference map, in the final model they were geometrically positioned and refined using a riding model. Criteria of a satisfactory complete analysis were the ratios of rms shift to standard deviation less than 0.001 and no significant features in final difference maps. Molecular graphics were obtained from ORTEP.³⁷ A summary of the crystal's data, experimental details and refinement results are listed in Table 1.

In vitro antimicrobial activity

Antimicrobial activity was evaluated by minimum inhibitory concentration (MIC) using the macrodilution test.³⁸ *S. aureus* ATCC6538 stored in Brain Heart Infusion

Table 1. Crystal data and refinement results for [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (**1**), [BuⁿSn(2AcPClPh)Cl₂] (**2**), [BuⁿSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂] (**3**), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (**4**) and [PhSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂].dmsO (**6a**)

Compound	1	2	3	4	6a
Empirical Formula	C ₁₈ H ₂₁ Cl ₂ N ₃ OSn	C ₁₈ H ₂₀ Cl ₃ N ₃ OSn	C ₁₈ H ₂₀ C ₁₂ N ₄ O ₃ Sn	C ₂₀ H ₁₇ C ₁₂ N ₃ OSn	C ₂₂ H ₂₂ Cl ₂ N ₄ O ₄ SSn
Formula Weight	484.97	519.41	529.97	504.96	628.09
Crystal System	orthorhombic	orthorhombic	triclinic	triclinic	monoclinic
Space Group	F d d 2	F d d 2	P-1	P-1	P2 ₁ /c
Unit cell dimensions					
<i>a</i> , Å	27.440(4)	26.6226(17)	12.9843(4)	11.4662(3)	14.4967(4)
<i>b</i> , Å	22.024(4)	23.9627(18)	13.3554(6)	12.5545(3)	13.4617(4)
<i>c</i> , Å	13.316(2)	13.3438(7)	14.1000(7)	16.2705(4)	13.3607(3)
α , °	90	90	111.487(4)	112.147(2)	90
β , °	90	90	94.407(3)	95.650(2)	102.523(3)
γ , °	90	90	105.649(3)	101.670(2)	90
Volume, Å ³	8047(2)	8512.7(10)	2148.31(16)	2084.75(9)	2545.31(12)
Z / Density calc., Mg/m ³	16 / 1.601	16 / 1.621	4 / 1.639	4 / 1.609	4 / 1.639
Absorption coefficient, mm ⁻¹	1.546	1.589	1.464	1.496	1.332
F(000)	3872	4128	1056	1000	1256
Crystal size, mm	0.27 × 0.24 × 0.12	0.29 × 0.24 × 0.18	0.28 × 0.25 × 0.10	0.24 × 0.18 × 0.09	0.19 × 0.19 × 0.05
θ range for data collection, °	2.86 to 26.37	3.07 to 26.37	2.76 to 26.37	2.61 to 26.37	2.79 to 26.37
Index range, θ	-34 ≤ <i>h</i> ≤ 31 -27 ≤ <i>k</i> ≤ 23 -15 ≤ <i>l</i> ≤ 16	-24 ≤ <i>h</i> ≤ 33 -29 ≤ <i>k</i> ≤ 29 -13 ≤ <i>l</i> ≤ 16	-16 ≤ <i>h</i> ≤ 16 -13 ≤ <i>k</i> ≤ 16 -17 ≤ <i>l</i> ≤ 16	-14 ≤ <i>h</i> ≤ 11 -14 ≤ <i>k</i> ≤ 15 -20 ≤ <i>l</i> ≤ 19	-18 ≤ <i>h</i> ≤ 18 -16 ≤ <i>k</i> ≤ 16 -16 ≤ <i>l</i> ≤ 13
Completeness to $\theta = 26.37^\circ$	99.9%	99.6%	99.9%	99.9%	99.9%
Absorption correction	none	none	none	none	none
Goodness-of-fit on F ²	0.927	1.072	0.814	0.869	0.829
Reflections collected/unique (<i>R</i> _{int})	12047 / 3852 (0.0647)	6718 / 3555 (0.0319)	19702 / 8769 (0.0474)	18566 / 8525 (0.0295)	14702 / 5212 (0.0447)
Absolute structure parameter	0.03(5)	0.06(5)	-	-	-
Data / restraints / parameters	3852 / 11 / 224	3555 / 6 / 235	8769 / 8 / 470	8525 / 0 / 487	5212 / 0 / 307
Observed reflections, I > 2 σ (I)	2232	2405	4288	5929	3261
Final <i>R</i> indices [I > 2 σ (I)]	<i>R</i> ₁ = 0.0477, <i>wR</i> ₂ = 0.1077	<i>R</i> ₁ = 0.0483, <i>wR</i> ₂ = 0.1335	<i>R</i> ₁ = 0.0442, <i>wR</i> ₂ = 0.0963	<i>R</i> ₁ = 0.0257, <i>wR</i> ₂ = 0.0441	<i>R</i> ₁ = 0.0324, <i>wR</i> ₂ = 0.0543
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> ₁ = 0.0879, <i>wR</i> ₂ = 0.1166	<i>R</i> ₁ = 0.0740, <i>wR</i> ₂ = 0.1460	<i>R</i> ₁ = 0.1028, <i>wR</i> ₂ = 0.1055	<i>R</i> ₁ = 0.0469, <i>wR</i> ₂ = 0.0463	<i>R</i> ₁ = 0.0655, <i>wR</i> ₂ = 0.0580
Larg. peak and hole, e Å ⁻³	1.047 / -0.660	0.739 / -1.179	0.951 / -0.490	0.309 / -0.279	0.968 / -0.569

(BHI) broth were subcultured for testing in the same medium and grown at 37 °C. Then the bacterial cells were suspended in BHI, according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines,³⁹ to produce a suspension of about 10⁵ CFU (colony forming units) mL⁻¹. *C. albicans* ATCC18804 stored in Sabouraud broth was sub-cultured for testing in the same medium and grown at 37 °C. Then the yeast cells were suspended according to the McFarland protocol³⁹ in saline solution to produce a suspension of about 10³ cells mL⁻¹.

For both the antibacterial and antifungal activity evaluations serial dilutions of the compounds, previously dissolved in dmsO, were prepared in test tubes. A 24-h old inoculum (100 µL) was added to each tube. The MIC, defined as the lowest concentration of the test compound which inhibits the visible growth after 20 h, was determined after incubation at 37 °C. Tests using tetracycline (in the case of *S. aureus*) or fluconazole (in the case of *C. albicans*) as reference and dmsO as negative control were carried out in parallel. The final dmsO concentration never exceeded 1%. In all cases no inhibition was observed with 5% v/v dmsO. All tests were performed in triplicates with full agreement between the results.

Results and Discussion

Microanalyses and molar conductivity data suggest the formation of the following complexes: [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] (**1**), [BuⁿSn(2AcpClPh)Cl₂] (**2**), [BuⁿSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**3**), [PhSn(2AcPh)Cl₂] (**4**), [PhSn(2AcpClPh)Cl₂] (**5**) and [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂] (**6**), in which an anionic hydrazone is attached to the metal centre along with a *n*-butyl or a phenyl group and the remaining coordination sites are occupied by two chloride ions. X-ray diffraction analysis confirms the structures of **1-4** and **6** (as its dmsO solvate, [PhSn(2AcpNO₂Ph)Cl₂]*·*dmsO, **6a**).

Spectroscopic characterization

Infrared spectra

The ν(N-H) and ν(C=O) absorptions at 3180-3287 cm⁻¹ and 1655-1676 cm⁻¹ in the spectra of the uncomplexed hydrazones were not found in the spectra of complexes (**1-6**), in accordance with the presence of anionic ligands in the products.

The ν(C=C) + ν(C=N) composed mode observed at 1590-1460 cm⁻¹ in the spectra of the hydrazones undergoes small shifts in the spectra of the complexes. However a new ν(C=N) absorption due to the formation of a second C=N bond was observed at 1625-1632 cm⁻¹ in the spectra of **1-6**, indicating coordination of an anionic hydrazone.

The pyridine in-plane deformation mode at 620-625 cm⁻¹ in the spectra of the hydrazones shifts to 647-650 cm⁻¹ in those of the complexes, suggesting coordination of the heteroaromatic nitrogen.²⁹⁻³¹ In addition, new absorptions at 495-475 cm⁻¹ and 450-350 cm⁻¹ have been attributed to ν(Sn-N_{imine}) and ν(Sn-C) respectively; absorptions at 230-215 cm⁻¹ were assigned to ν(Sn-N_{py}),^{25,28,40} and bands in the 405-390 cm⁻¹ range have been assigned to ν(Sn-O). An absorption at 260-250 cm⁻¹ has been attributed to ν(Sn-Cl).^{25,28,40} Therefore, the infrared data for the complexes indicate coordination of the hydrazones through the N_{py}-N-O chelating system, as confirmed by the X-ray structure determinations for **1-4** and **6a**.

NMR spectra

The ¹H and ¹³C NMR spectra of the hydrazones were recorded in dmsO-*d*₆ as well as in CDCl₃ except in the case of H2AcpNO₂Ph, which is insoluble in CDCl₃. The spectra of complexes **1-6** were recorded only in CDCl₃ since some of them interact with dmsO-*d*₆.

The ¹H resonances were assigned on the basis of chemical shifts, multiplicities and coupling constants. The carbon type (C, CH) was determined by using distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT135) experiments. The assignments of the protonated carbons were made by 2D heteronuclear multiple quantum coherence experiments (HMQC). A ¹¹⁹Sn NMR study was performed for all complexes.

The NMR spectra of H2AcPh in CDCl₃ show only one signal for each hydrogen and each carbon, indicating the presence of only one configurational isomer. The signal of N3-H was observed at δ 9.22, suggesting the presence of the *E* isomer. The spectra recorded after 24 h do not show any changes. The spectra recorded in dmsO-*d*₆ show two signals for each hydrogen and carbon, in accordance with the presence of the *E* and *Z* isomers (see Figure 1) in solution.²⁹⁻³¹ The signals of N3-H at δ 10.90 and δ 15.80 were attributed to the *E* and *Z* isomers respectively (97% of *E* and 3% of *Z*). The high frequency signal of the *Z* isomer is characteristic of N3-H hydrogen-bonded to the heteroaromatic nitrogen while the signal at δ 10.90 is characteristic of N3-H hydrogen-bonded to the solvent, as previously observed by us.²⁹⁻³¹

H2AcpNO₂Ph is soluble in dmsO-*d*₆ but insoluble in CDCl₃. In the ¹H and ¹³C NMR spectra (dmsO-*d*₆) of H2AcpNO₂Ph only one signal has been observed for each hydrogen and each carbon. The signal of N3-H was found at δ 11.22, suggesting the presence of the *E* configurational isomer, in which N3-H is hydrogen-bonded to the solvent.²⁹⁻³¹

The ^1H and ^{13}C NMR spectra of $\text{H}_2\text{AcpClPh}$ in $\text{dms}\text{-}d_6$ show duplicated signals for the hydrogens, in accordance with the presence of two configurational isomers. The signals of N3-H at δ 10.96 and δ 15.86 were attributed to the *E* (98%) and *Z* (2%) isomers, respectively.²⁹⁻³¹ Due to the low solubility of $\text{H}_2\text{AcpClPh}$ in $\text{dms}\text{-}d_6$ only some of the signals of hydrogens could be attributed and no attribution was possible for the carbons of the *Z* isomer.

The spectra of this compound in CDCl_3 also show duplicated signals. However in this case the spectra are characteristic of the presence of the keto and enol forms.⁴¹ In fact no signal of N3-H was observed for the first isomer, according to the presence of the enol form. In addition, the signal of C=O was observed at δ 167.44. The resemblance in position of the carbon signals of $\text{H}_2\text{AcpClPh}$ with those of H_2AcPh in the same solvent suggests that the enol isomer adopts the *E* configuration. As an example, the signal of C15 (acetyl) was observed at δ 11.36, close to the signal for the same hydrogen at δ 10.89 observed for the *E* isomer of H_2AcPh in CDCl_3 . The keto isomer exhibits the signal of N3-H at δ 15.83, characteristic of the *Z* configuration, and the signal of C=O at δ 163.40.

Only one signal was observed for each hydrogen and each carbon in the spectra of complexes **1-6**, suggesting the presence of only one configurational isomer. The signals of C=N, C=O and the pyridine carbons undergo significant shifts in the complexes indicating coordination through the

$\text{N}_{\text{py}}-\text{N}-\text{O}$ chelating system. Hence the hydrazones adopt the *E* configuration in the complexes, as confirmed by crystal structure determinations of complexes **1-4** and **6a**. Moreover, the signal of N3-H was not observed in the ^1H NMR spectra of the complexes, according to deprotonation of the hydrazones upon coordination.

In the spectra of complexes **1-3**, new signals at δ 2.35-1.05 and at δ 35.80-13.60 were attributed to the hydrogens and carbons, respectively, of the *n*-butyl group attached to the metal.²⁸ In the spectra of complexes **4-6**, the signals at δ 8.33-7.59 and at δ 136.62-129.08 were attributed to the hydrogens and carbons, respectively, of the phenyl group coordinated to tin.⁴⁰

In the ^{119}Sn NMR spectra of complexes **1-6** (CDCl_3) only one signal was observed at δ -414 (**1**), δ -413 (**2**), δ -412 (**3**), δ -443 (**4**), δ -442 (**5**) and δ -441 (**6**) ppm, compatible with the presence of one tin site in solution. The values of the ^{119}Sn signals are at the boundary between six- and seven-coordinated tin(IV) as reported in the literature.⁴² However, considering that the spectra were recorded in a non-coordinating solvent (CDCl_3), only six-coordinated species must be present in solution. The shielding effect on ^{119}Sn of the chloride ions could explain the lower frequencies observed for the ^{119}Sn signals with respect to that expected for a six-coordinated monorganotin(IV).⁴²

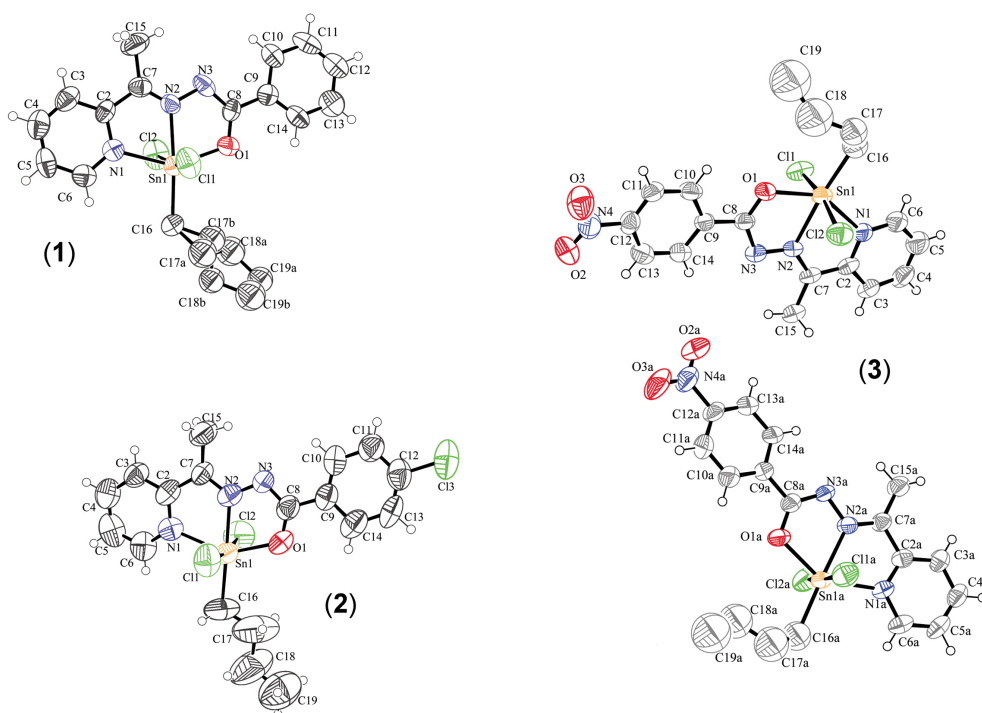


Figure 2. Molecular plot of the asymmetric units of $[(\text{Bu}^u)\text{Sn}(2\text{AcPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[(\text{Bu}^u)\text{Sn}(2\text{AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**2**) and $[(\text{Bu}^u)\text{Sn}(2\text{AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**3**) showing the labeling scheme of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 50% probability level.

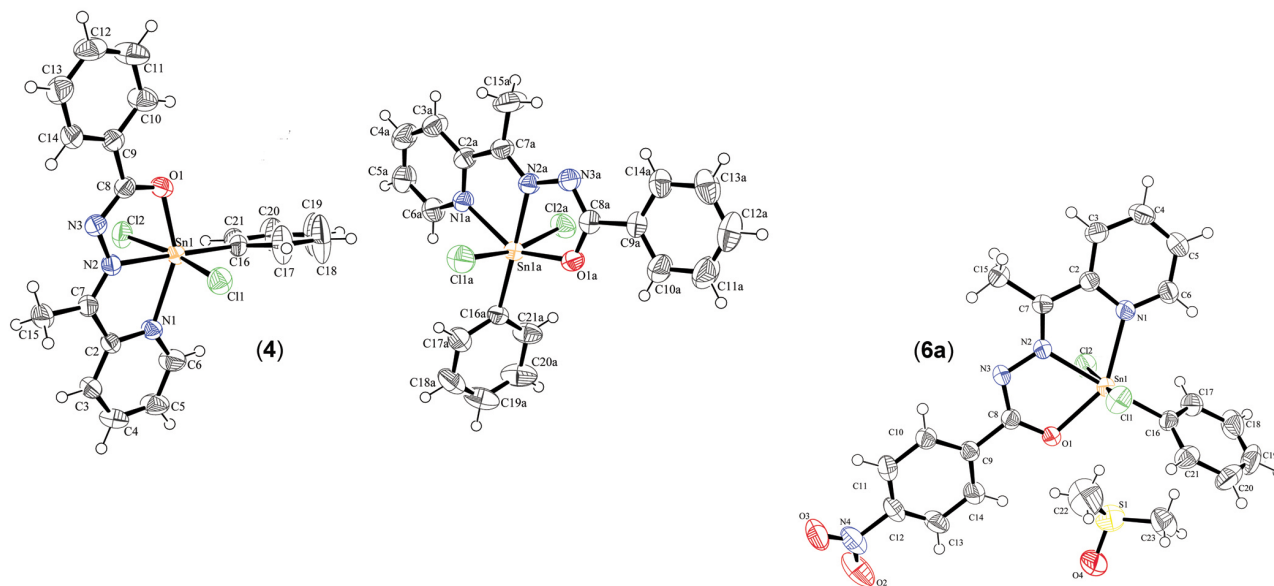


Figure 3. Molecular plot of the asymmetric units of $[\text{PhSn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**4**) and $[\text{PhSn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]\cdot\text{dmsO}$ (**6a**) showing the labeling scheme of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 50% probability level.

X-ray diffraction analysis

Figures 2 and 3 are perspective views of $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}_2]$ (**2**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**3**), $[\text{PhSn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**4**) and $[\text{PhSn}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]\cdot\text{dmsO}$ (**6a**). Selected intramolecular bond distances and angles of the complexes are given in Tables 2 and 3. The distances and angles in all complexes are similar. In all complexes tin(IV) is coordinated to a tridentate anionic ligand, a *n*-butyl (**1-3**) or a phenyl (**4** and **6a**) group and two chloride ions *trans* to each other in a distorted octahedral environment. In the crystal structures of **3** and **4**, two symmetrically independent molecules were found in the asymmetric unit (see Figure 2 and Figure 3).

In complexes **1-4** and **6a** the N1-Sn-O1 angle of *ca.* $144.3\text{-}146.7^\circ$ deviates markedly from the ideal value of 180° , probably due to the spatial requirements of the ligand chelating system. By contrast, the Cl1-Sn-Cl2 and N2-Sn-C16 angles, which do not involve sterical hindrance, are approximately $167.3\text{-}171.4^\circ$ and $172.5\text{-}179.1^\circ$ (see Table 3). In all complexes the metal atom lies in the plane calculated for the N1N2O1C16 atoms. In structures **1-3** the distance of the tin atom to the calculated plane varies from 0.023 \AA to 0.059 \AA ; in structures **4** and **6a** this distance is smaller (0.002 to 0.009 \AA).

In all structures the hydrazone skeleton ($\text{C7}(\text{C15})\text{N2N3C8O1}$) is planar, with medium deviation of the fitted atoms from the calculated plane ranging from 0.0055 to 0.0266 \AA . In **1-4** and **6a** the hydrazone adopts the *E* configuration in relation to the $\text{C7}=\text{N2}$ double bond. The

angle between the pyridine and the hydrazone planes varies from $1.5(6)$ to $7.5(3)^\circ$, while the angle between the hydrazone and the phenyl planes varies in the $0.5(2)$ to $14.9(2)^\circ$ range. Therefore the hydrazone ligand in all complexes is almost planar. Complexes **3** and **6a** show the highest deviation from planarity for the angle between the hydrazone chain and the phenyl ring.

The molecular structure of H2AcPh has been determined previously by other authors.⁴³ The hydrazone adopts the *EZ* conformation in relation to the $\text{C7}=\text{N2}$ and N3-C8 bonds. The expected lengthening of the C8-O1 bonds from $1.219(2)\text{ \AA}$ in H2AcPh ⁴³ to $1.279(11)\text{ \AA}$ in **1** and $1.292(3)$ and $1.302(3)\text{ \AA}$ in **4**, together with the shortening of the N3-C8 bond from $1.347(3)\text{ \AA}$ in H2AcPh ⁴³ to $1.337(12)\text{ \AA}$ in **1** and $1.321(3)$ and $1.327(3)\text{ \AA}$ in **4**, were observed (see Table 2). Therefore the C8-O1 bond changes from a double to a predominantly single bond whereas N3-C8 acquires some double bond character. The bond distances between tin and the imine nitrogen in the complexes, $2.184(4)\text{-}2.161(7)\text{ \AA}$, are slightly shorter than the distance between tin and the pyridine nitrogen, $2.288(4)\text{-}2.2354(18)\text{ \AA}$. The Sn-O bond lengths lie in the $2.0916(17)\text{-}2.108(3)\text{ \AA}$ range.

Bond distances in the five complexes are similar to those found in other tin(IV) complexes with hydrazones, as in *trans*-dimethyl[2,6-diacetylpyridinebis(2-theoylhydrazone)] tin(IV)⁴⁴, where N3-C8 and C8-O1 bond distances of $1.322(8)\text{ \AA}$ and $1.286(7)\text{ \AA}$, respectively, and Sn-C , Sn-N_{py} , $\text{Sn-N}_{\text{imine}}$ and Sn-O bond distances of $2.102(6)$, $2.327(4)$, $2.255(5)$ and $2.209(4)\text{ \AA}$, respectively, were observed.

A twisting of approximately 180° in the C2–C7 bond of the hydrazone to match the steric requirements of tridentate coordination was evidenced. Hence some angles undergo significant changes on complexation. The C8–N3–N2 angle goes from $117.02(13)^\circ$ in H2AcPh⁴³ to $110.7(7)^\circ$ in **1** and to $109.5(2)^\circ$ and $109.8(2)^\circ$ in **4**; N3–C8–O goes from $123.32(15)^\circ$ in the free base⁴³ to $125.7(8)^\circ$ in **1** and to $126.4(2)^\circ$ and $125.2(2)^\circ$ in **4**.

The molecular packings of all complexes show weak interactions involving Cl, H and O atoms with formation of molecular chains as shown in Figure 4. **1–4** show interactions between adjacent molecules involving $\text{Cl}\cdots\text{H}_{\text{py}}$. In **4** and **6a** short $\text{Cl}\cdots\text{H}$ contacts are observed involving chlorides and hydrogens from the hydrazone phenyl ring. In **6a** $\text{Cl}\cdots\text{H}$ interactions were observed as well, along with short $\text{H}\cdots\text{O}$ contacts involving the oxygens from dmsol and from the nitro group and hydrogens from pyridine and dmsol.

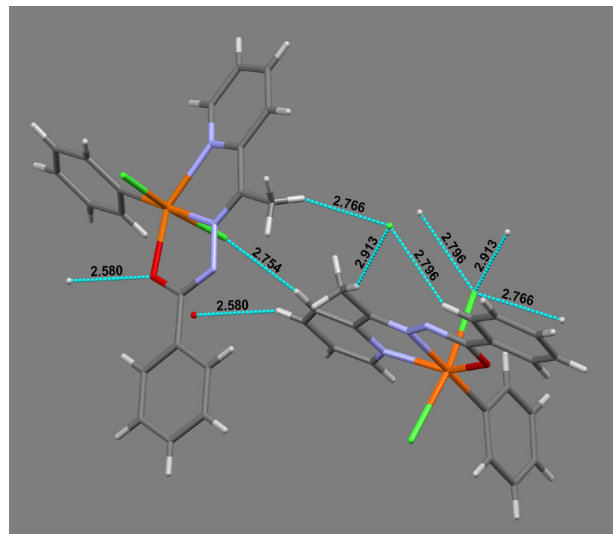


Figure 4. Molecular structure scheme of $[\text{PhSn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**4**) showing short intermolecular contacts between $\text{Cl}\cdots\text{H}$ and $\text{O}\cdots\text{H}$ atoms.

Table 2. Selected bond lengths (Å) for $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPhClPh})\text{Cl}_2]$ (**2**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPhNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**3**), $[\text{PhSn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**4**) and $[\text{PhSn}(\text{2AcPhNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]\cdot\text{dmsol}$ (**6a**)

Bond	1	2	3	4	6a		
C2–C7	1.495(11)	1.504(13)	1.456(7)	1.483(7)	1.487(3)	1.467(4)	1.478(4)
C7–C15	1.505(12)	1.474(12)	1.484(7)	1.474(7)	1.479(3)	1.486(3)	1.479(4)
C7–N2	1.253(11)	1.298(10)	1.283(6)	1.279(6)	1.285(3)	1.285(3)	1.282(4)
N2–N3	1.381(9)	1.363(10)	1.381(6)	1.390(5)	1.381(2)	1.369(3)	1.375(3)
N3–C8	1.337(12)	1.305(11)	1.346(6)	1.308(7)	1.321(3)	1.327(3)	1.313(4)
C8–C9	1.455(12)	1.475(13)	1.471(7)	1.480(7)	1.490(3)	1.470(3)	1.487(4)
C8–O1	1.279(11)	1.309(11)	1.275(6)	1.305(6)	1.292(3)	1.302(3)	1.293(3)
Sn1–O1	2.108(6)	2.105(7)	2.096(4)	2.108(3)	2.0996(14)	2.0916(17)	2.104(2)
Sn1–N1	2.246(8)	2.280(8)	2.278(4)	2.288(4)	2.2354(18)	2.2484(19)	2.264(3)
Sn1–N2	2.171(7)	2.161(7)	2.184(4)	2.175(4)	2.165(2)	2.1713(18)	2.170(3)
Sn1–Cl1	2.456(2)	2.460(2)	2.445(2)	2.445(2)	2.4584(7)	2.4705(7)	2.4771(9)
Sn1–Cl2	2.494(3)	2.455(3)	2.500(2)	2.473(2)	2.4532(7)	2.4471(7)	2.4452(9)
Sn1–C16	2.119(9)	2.166(12)	2.140(7)	2.137(8)	2.138(3)	2.124(2)	2.135(3)

Table 3. Selected angles ($^\circ$) for $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**1**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPhClPh})\text{Cl}_2]$ (**2**), $[\text{Bu}^n\text{Sn}(\text{2AcPhNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]$ (**3**), $[\text{PhSn}(\text{2AcPh})\text{Cl}_2]$ (**4**) and $[\text{PhSn}(\text{2AcPhNO}_2\text{Ph})\text{Cl}_2]\cdot\text{dmsol}$ (**6a**)

Angle	1	2	3	4	6a		
C2–C7–N2	116.4(7)	114.1(8)	114.5(5)	113.6(5)	114.0(2)	115.0(2)	114.7(3)
N2–C7–C15	125.7(8)	123.9(8)	123.4(5)	124.6(5)	124.0(2)	122.5(2)	123.6(3)
C7–N2–N3	123.0(7)	120.2(7)	121.5(4)	119.7(4)	121.5(2)	122.2(2)	121.7(3)
C8–N3–N2	110.7(7)	111.2(7)	109.6(4)	109.3(4)	109.5(2)	109.8(2)	110.1(3)
N3–C8–C9	116.6(9)	117.2(9)	115.5(5)	115.5(5)	116.0(2)	117.6(2)	115.9(3)
N3–C8–O1	125.7(8)	124.0(8)	125.5(5)	127.1(5)	126.4(2)	125.2(2)	126.5(3)
C9–C8–O1	117.6(8)	118.8(8)	119.0(4)	117.3(5)	117.7(2)	117.6(2)	117.6(3)
N2–Sn1–C16	175.5(3)	176.1(5)	174.7(2)	172.5(2)	179.06(8)	178.82(9)	176.71(11)
N1–Sn1–O1	146.7(2)	145.3(3)	144.96(16)	144.32(15)	146.12(7)	145.88(6)	145.97(9)
Cl1–Sn1–Cl2	167.76(12)	169.41(13)	168.97(5)	171.36(6)	169.54(2)	167.30(2)	170.75(3)

Antimicrobial activity

The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the hydrazones and their organotin complexes against *S. aureus* and *C. albicans* are reported in Table 4. Among the hydrazones the antibacterial activity follows the order H2AcPh < H2AcPNO₂Ph < H2AcPClPh, suggesting that the electron-withdrawing effect of the nitro and chloro groups probably favors the antibacterial effect. The calculated values of log P⁴⁵ were: 1.98 for H2AcPh, 2.58 for H2AcPClPh and 1.92 for H2AcPNO₂Ph. Therefore the higher lipophilicity of H2AcPClPh probably accounts in part for its higher activity.

Table 4. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the hydrazones and their organotin complexes against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*

Compound	MIC / (μmol mL ⁻¹) <i>C. albicans</i>	MIC / (μmol mL ⁻¹) <i>S. aureus</i>
H2AcPh	0.213	0.428
[Bu ⁿ Sn(2AcPh)Cl ₂] (1)	0.210	0.255
[PhSn(2AcPh)Cl ₂] (4)	0.206	0.132
H2AcPClPh	0.046	0.197
[Bu ⁿ Sn(2AcPClPh)Cl ₂] (2)	0.045	0.059
[PhSn(2AcPClPh)Cl ₂] (5)	0.046	0.057
H2AcPNO ₂ Ph	> 0.179	0.353
[Bu ⁿ Sn(2AcPNO ₂ Ph)Cl ₂] (3)	0.096	0.125
[PhSn(2AcPNO ₂ Ph)Cl ₂] (6)	0.093	0.114
[Bu ⁿ SnCl ₃]	> 0.86	> 1.88
[PhSnCl ₃]	0.158	0.249
Tetracycline	-	0.020
Fluconazole	0.033	-

[BuⁿSnCl₃] proved to be inactive against *S. aureus* while [PhSnCl₃] exhibited antibacterial activity in the assayed concentrations. The hydrazones showed antibacterial activity with MIC values similar to the phenyltin salt. Upon coordination the antibacterial activities of both the hydrazones and tin substantially increase. A synergistic effect involving tin and the hydrazone might be responsible for this enhancement.

The complex of H2AcPh with phenyltin is more active than its *n*-butyltin analogue, but the *n*-butyltin and phenyltin complexes with the other two hydrazones are equally active. The activities of the *n*-butyltin complexes with the different hydrazones follows the order [BuⁿSn(2AcPh)Cl₂] < [BuⁿSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂] < [BuⁿSn(2AcPClPh)Cl₂], which is the same order of activity of the free hydrazones. However, the activities of the phenyltin complexes are [PhSn(2AcPh)Cl₂] =

[PhSn(2AcPNO₂Ph)Cl₂] < [PhSn(2AcPClPh)Cl₂]. The most active complexes were those with H2AcPClPh (2 and 5), with MIC values similar to that determined for tetracycline.

Among the hydrazones H2AcPClPh exhibited the highest activity against *C. albicans*. Upon coordination the antifungal activity of the hydrazones increased in complexes 3 and 6, but remained the same in the other cases. The antifungal activity increased in complexes 2, 3, 5 and 6 relative to the organotin salts.

Like in the case of the antibacterial activity, the best results were obtained for the organotin complexes with H2AcPClPh. The MIC values for complexes 2 and 5 (0.045 μmol mL⁻¹) were the same, suggesting that the *n*-butyl or the phenyl group in the metal coordination sphere have the same effect. This value of MIC is of the same order of magnitude of that obtained for fluconazole. Likewise, the MIC values are the same for complexes 3 and 6.

Conclusions

Organotin compounds are known for their innumerable bioactivities but are also often rather toxic.^{46,47} Coordination of organotin salts with organic ligands could be an interesting strategy for activity improvement⁴⁸ or toxicity reduction. In the present work we demonstrated that coordination of organotin salts to hydrazones might improve the pharmacological profile of both metal and ligands.⁴⁹

Supplementary Information

Crystallographic data have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre (deposition numbers CCDC 747621 (1), CCDC 747620 (2), CCDC 747624 (3), CCDC 747623 (4) and CCDC 747622 (6a)). Copies of available material can be obtained by request to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK (fax 44-1223-336033 or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

Acknowledgments

This work was supported by FAPEMIG, CNPq and Instituto do Milênio em Inovação e Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos (IM-INOFAR) (Proc. CNPq 573.564/2008-6), Brazil.

References

- Vicini, P.; Zani, F.; Cozzini, P.; Doytchinova, I.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 553.

2. Kocyigit-Kaymakcioglu, B.; Rollas, S.; *Farmaco* **2002**, *57*, 595.
3. Ragavendran, J. V.; Sriram, D.; Patel, S. K.; Reddy, I. V.; Bharathwajan, N.; Stables, J.; Yogeewari, P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 146.
4. Bezerra-Netto, H. J. C.; Lacerda, D. I.; Miranda, A. L. P.; Alves, H. M.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *4*, 7924.
5. Avaji, P. G.; Kumar, C. H. V.; Patil, S. A.; Shivananda, K. N.; Nagaraju, C.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3552.
6. Kümmerle, A. E.; Raimundo, J. M.; Leal, C. M.; Da Silva, G. S.; Balliano, T. L.; Pereira, M. A.; De Simone, C. A.; Sudo, R. T.; Zapata-Sudo, G.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4004.
7. Coelho, P. M. Z.; Pereira, L. H.; *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* **1991**, *33*, 50.
8. Romeiro, N. C.; Aguirre, G.; Hernández, P.; González, M.; Cerecetto, H.; Aldana, I.; Pérez-Silanes, S.; Monge, A.; Barreiro, E. J.; Lima, L. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 641.
9. Stadler, A.; Harrowfield, J.; *Inorg. Chim. Acta* **2009**, *362*, 4298.
10. Pinto, J. J.; Moreno, C.; García-Vargas, M.; *Talanta* **2004**, *64*, 562.
11. Terra, L. H. S. A.; Guekezian, M.; Gaubeur, I.; Matos, J. R.; Suárez-Iha, M. E. V.; *Polyhedron* **2002**, *21*, 2375.
12. Pournalimardan, O.; Chamayou, A. C.; Janiak, C.; Hosseini-Monfared, H.; *Inorg. Chim. Acta* **2007**, *360*, 1599.
13. Basu, C.; Chowdhury, S.; Banerjee, R.; Evans, H. S.; Mukherjee, S.; *Polyhedron* **2007**, *26*, 3617.
14. Bakir, M.; Green, O.; Mulder, W. H.; *J. Mol. Struct.* **2008**, *17*, 873.
15. Bacchi, A.; Carcelli, M.; Pelagatti, P.; Pelizzi, C.; Pelizzi, G.; Zani, F.; *J. Inorg. Biochem.* **1999**, *9*, 133.
16. Carcelli, M.; Mazza, P.; Pelizi, C.; Zani, F.; *J. Inorg. Biochem.* **1995**, *57*, 43.
17. Banerjee, S.; Mondal, S.; Chakraborty, W.; Sem, S.; Gachhui, R.; Butcher, R. J.; Slawin, A. M. Z.; Mandal, C.; Mitra, S.; *Polyhedron* **2009**, *28*, 2785.
18. Johnson, D. K.; Murphy, T. B.; Rose, N. J.; Goodwin, W. H.; Pickart, L.; *Inorg. Chim. Acta* **1982**, *67*, 159.
19. Arkis, E. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 312.
20. De Lima, G. M. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 285.
21. Lacroix, P. G.; Farfán, R. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 351.
22. Otera, J.; Biesemans, M.; Pinoie, V.; Poelmans, K.; Willem, R.; Blank, W. J.; Hessell, E. T.; Kinart, W. J.; Kinart, C. M. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 667.
23. Pettinari, C.; Marchetti, F. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 454.
24. Beraldo, H.; De Lima G. M.; In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 443.
25. Mendes, I. C.; Costa, F. B.; De Lima, G. M.; Ardisson, J. D.; Garcia-Santos, I.; Castiñeiras, A.; Beraldo, H.; *Polyhedron* **2009**, *28*, 1179.
26. Eng, G.; Song, X. In *Tin Chemistry: Fundamentals Frontiers, and Applications*; Gielen, M.; Davies, A.; Pannell, K.; Tiekink, E., eds., Wiley: West Sussex, 2008, p. 430.
27. Perez-Rebolledo, A.; Ayala, J. D.; De Lima, G. M.; Marchini, N.; Bombieri, G.; Zani, C. L.; Souza-Fagundes, E. M.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 467.
28. Mendes, I. C.; Moreira, J. P.; Ardisson, J. D.; Gouvêa, Dos Santos R.; Da Silva, P. R. O.; Garcia, I.; Castiñeiras, A.; Beraldo, H.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1454.
29. Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *J. Mol. Struct.* **2009**, *920*, 97.
30. Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Inorg. Chim. Acta* **2009**, *362*, 2117.
31. Recio-Despaigne, A. A.; Da Silva, J. G.; Do Carmo, A. C. M.; Sives, F.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Beraldo, H.; *Polyhedron* **2009**, *28*, 3797.
32. Khalil, T.E.; Labib L.; Iskander, M. F.; *Polyhedron* **1994**, *13*, 2569
33. Choudhary, S.; Morrows, J. R.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4096.
34. CrysAlis RED, Oxford Diffraction Ltd., Version 1.171.32.38. SCALE3 ABSPACK scaling algorithm. CrysAlis RED, Oxford Diffraction Ltd., Version 1.171.32.38.
35. Sheldrick, G. M.; *SHELXS-97; Program for Solution of Crystal Structures*, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997.
36. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-97; Program for Crystal Structures Analysis*, University of Göttingen, Germany, 1997.
37. Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837; Farrugia, L. J.; *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Method for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*, NCCLS Document M7-A6, Pennsylvania, USA, 2003, ISBN: 1-56238-486-4.
39. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, NCCLS Document M27eMA2 NCCLS, Pennsylvania, USA, 2002, ISBN: 1-56238-469-4.
40. Pérez-Rebolledo, A.; De Lima, G. M.; Speziali, N. L.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Ardisson, J. D.; Beraldo, H.; *J. Organomet. Chem.* **2006**, *691*, 3919.

41. Ray, A.; Banerjee, S.; Sen, S.; Butcher, R. J.; Rosair, G. M.; Garland, M. T.; Mitra, S.; *Struct. Chem.* **2008**, *19*, 209.
42. Yin, H. D.; Chen, S. W.; *Inorg. Chim. Acta* **2006**, *359*, 3330.
43. Patole, J.; Sandbhor, U.; Padhye, S.; Deobagkar, D. N.; Anson, C. E.; Powell, A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 51.
44. Sousa, G. F.; Mangas, M. B. M.; Francisco, R. H. P.; Gambardella, M. T. P.; Rodrigues, A. M. G. D.; Abras, A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, *10*, 222.
45. <http://www.chemaxon.com/marvin>, accessed in March 2010.
46. Jacobson, A. H.; Willingham, G. L.; *Sci. Total Environ.* **2000**, *258*, 103.
47. Abbott, A.; Abel, P. D.; Arnold, D.W.; Milne, A.; *Sci. Total Environ.* **2000**, *258*, 5.
48. Khan, M. I.; Baloch, M.K.; Ashfaq, M.; Gul, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 341.
49. Viñuelas-Zahínos, E.; Maldonado, M. A.; Luna-Giles, F.; Barros-García, F. J.; *Polyhedron* **2008**, *27*, 871.

Received: September 14, 2009

Web Release Date: April 12, 2010



Original article

2-Acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones and their gallium(III) complexes are highly cytotoxic to glioma cells

Angel A.R. Despaigne^a, Gabrieli L. Parrilha^a, Jans B. Izidoro^b, Priscila R. da Costa^b, Raquel G. dos Santos^b, Oscar E. Piro^c, Eduardo E. Castellano^d, Willian R. Rocha^a, Heloisa Beraldo^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, CDTN, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata and Instituto IFLP (CONICET – CCT La Plata), C.C. 67, 1900 La Plata, Argentina

^d Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 October 2011

Received in revised form

20 January 2012

Accepted 24 January 2012

Available online 2 February 2012

Keywords:

Hydrazones

Gallium(III) complexes

Crystal structures

Glioma cells

Cytotoxic activity

SAR studies

ABSTRACT

2-Acetylpyridine-phenylhydrazone (H2AcPh), its *para*-chlorophenylhydrazone (H2AcpClPh) and *para*-nitrophenylhydrazone (H2AcpNO₂Ph) analogues, the corresponding 2-benzoylpyridine-derived hydrazones (H2BzPh, H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph) and their gallium(III) complexes were assayed for their cytotoxic activity against U87 (expressing wild-type p53 protein) and T98 (expressing mutant p53 protein) glioma cells. IC₅₀ values against both glioma cells and against the MRC5 (human fetal lung fibroblast) lineage were obtained for the hydrazones, but not for their gallium(III) complexes, due to their low solubility. Hydrazones were highly cytotoxic at nanomolar doses against U87 and T98 cells. The therapeutic indexes (TI = IC₅₀MRC5/IC₅₀glioma) were 2–660 for T98 cells and 28–5000 for U87 cells, indicating that the studied hydrazones could be good antitumor drug candidates to treat brain tumors.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Cancer is the leading cause of death in economically developed countries and the second leading cause of death in developing countries [1]. Although brain tumors constitute only 1–2% of the tumors in adults, they have a poor prognosis and the patients' chance of survival is generally very low. Moreover, brain tumors represent one of the most common solid tumors in children, being responsible for 20% of childhood neoplasms [2,3].

Gliomas, especially glioblastomas (GBMs), represent the most malignant primary brain tumors. GBMs have a high rate of cellular proliferation and a marked propensity to infiltrate diffusely into normal brain regions rendering impossible total surgical extirpation and difficult effective local radiotherapy. Such aggressive and invasive growth is the main characteristic which results in their high morbidity and mortality, the median survival of a patient with GBMs being 15 months [4,5].

Hydrazones and their metal complexes are an important class of compounds which present innumerable pharmacological

applications as antimicrobial [6,7], anticonvulsant [8,9], analgesic and anti-inflammatory [10–12], and anticancer [13–15] agents.

Gallium, as Ga(NO₃)₃, is the second metal ion, after platinum, to be used in cancer treatment, but its unfavorable pharmacokinetics has prevented its widespread use in systemic chemotherapy of cancer [16]. Hence, coordination of gallium with organic ligands has been recognized as a promising strategy for the design of new antitumor agents with higher bioavailability and hydrolytic stability, and better membrane penetration ability [17,18].

Gallium's activity against tumors is thought to be due to its anti-proliferative and antimitotic effects. Once gallium gets into the cell it exerts its anti-proliferative effects by inhibiting the catalytic activity of ribonucleoside diphosphate reductase (RDR), a key enzyme in DNA biosyntheses, which is involved in the conversion of ribonucleotides into deoxyribonucleotides. Due to competitive binding of gallium(III) and iron(III), gallium affects intracellular iron availability, but it also interacts directly with RDR, displacing iron from the enzyme [19–21].

In a previous work some of us demonstrated that gallium(III) complexes with 2-pyridineformamide-derived thiosemicarbazones exhibit potent cytotoxic activity against glioblastoma cells [18]. In the context of a research program that aims to contribute to the

* Corresponding author. Tel.: +55 31 3499 5740; fax: +55 31 3499 5700.

E-mail address: hberaldo@ufmg.br (H. Beraldo).

discovery of new anticancer drug candidates with activity against gliomas, in the present work 2-acetylpyridine-phenylhydrazone (H2AcPh), its *para*-chlorophenylhydrazone (H2AcpClPh) and *para*-nitrophenylhydrazone (H2AcpNO₂Ph) analogues, the corresponding 2-benzoylpyridine-derived hydrazones (H2BzPh, H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph) (see Fig. 1) and their gallium(III) complexes were assayed for their cytotoxic activity against malignant glioma cells.

It is well known that glioma cells express wild-type proapoptotic p53 protein [22]. Two glioma cell lines were used in the present investigation: U87 cells, which express wild-type p53, and T98 cells, expressing mutant p53. Previous characterization of p53 genotype and drug sensitivity of human cancer cell lines has revealed that cells with mutant or absent p53 are less sensitive than cells with wild-type p53 to the majority of clinically used anticancer agents [22].

Structure–activity relationships (SAR) studies were carried out.

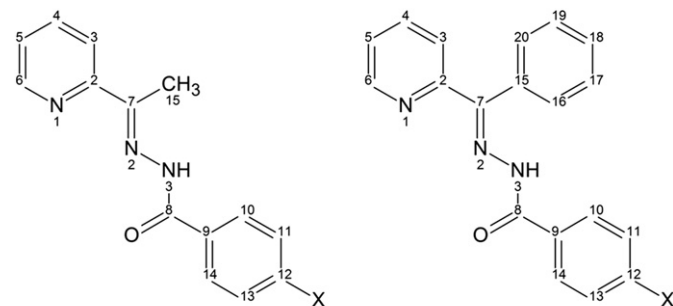
2. Results and discussion

2.1. Formation of the gallium(III) complexes

Microanalyses and molar conductivity data are compatible with the formation of [Ga(2AcPh)₂]NO₃·H₂O (**1**), [Ga(2AcpClPh)₂]NO₃·H₂O (**2**), [Ga(2AcpNO₂Ph)₂]NO₃·1.5H₂O (**3**), [Ga(2BzPh)₂]NO₃·2H₂O (**4**), [Ga(2BzpClPh)₂]NO₃·2H₂O (**5**) and [Ga(2BzpNO₂Ph)₂]NO₃·H₂O (**6**), in which two anionic hydrazones are attached to the metal center. The presence of crystallization water molecules in complexes (**1–6**) was confirmed by their thermogravimetric curves.

2.2. Spectroscopic characterization

The vibrations attributed to $\nu(\text{C}=\text{N})$ at 1603–1576 cm⁻¹ in the infrared spectra of the free hydrazones shift to 1603–1597 cm⁻¹ in the spectra of the complexes, in agreement with coordination of the azomethine nitrogen [23–26]. The $\nu(\text{C}=\text{O})$ absorption at 1687–1654 cm⁻¹ in the spectra of the uncomplexed hydrazones disappear in those of the complexes, indicating coordination of the enolate oxygen. The in-plane deformation mode of the pyridine ring at 654–614 cm⁻¹ in the spectra of the hydrazones shifts to 653–648 cm⁻¹ in the complexes, suggesting coordination of the hetero-aromatic nitrogen [23–25]. In addition, new absorptions at 423–410 cm⁻¹ and 235–219 cm⁻¹ in the spectra of the complexes were attributed to the $\nu(\text{Ga}-\text{N})$ and $\nu(\text{Ga}-\text{N}_{\text{py}})$ vibrations, respectively [18,27] and bands in the 327–298 cm⁻¹ range were assigned to $\nu(\text{Ga}-\text{O})$ [28]. In the spectra of the complexes, broad bands at 3409–3420 cm⁻¹ were attributed to the $\nu(\text{OH}_2)$ vibration, in



X = H, Cl or NO₂

Fig. 1. Structural representation for 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones.

agreement with the presence of crystallization water. Absorptions attributed to nitrate were observed at 1385–1384 cm⁻¹ [28].

The NMR spectra of the hydrazones and their gallium(III) complexes were recorded in DMSO-*d*₆. The ¹H resonances were assigned on the basis of chemical shifts and multiplicities. The carbon type (C, CH) was determined by using distortion-less enhancement by polarization transfer (DEPT 135) experiments. The assignments of the protonated carbons were made by 2D hetero-nuclear multiple quantum coherence experiments (HMQC).

In the ¹H NMR spectra of the hydrazones, except for H2AcpNO₂Ph, all signals were duplicated, indicating the presence of the *Z* and *E* configurational isomers in the DMSO-*d*₆ solution. In the first, N(3)-H is hydrogen bonded to the hetero-aromatic nitrogen (δ 14.72–15.86), while in the second N(3)-H is hydrogen bonded to the solvent (δ 10.15–10.96) [7,23]. In the ¹H NMR spectrum of H2AcpNO₂Ph only one signal was observed for each hydrogen (N(3)-H at δ 11.22), suggesting the presence of only the *E* isomer [7].

In the spectra of the gallium(III) complexes (DMSO-*d*₆) only one signal was observed for all hydrogens, indicating the presence of only one configuration in solution. The signals of N(3)-H observed in the spectra of free hydrazones were absent in the spectra of complexes (**1–6**), in accordance with the presence of anionic ligands upon deprotonation. In the spectra of the complexes the signals of all hydrogens undergo significant shifts in relation to their positions in the uncomplexed hydrazones. Similarly, the signals of C=N, C=O and the pyridine carbons undergo significant shifts, indicating coordination through the N_{py}-N-O chelating system. Hence, in the gallium(III) complexes the hydrazones adopt the *E* configuration.

2.3. X-ray crystallography

Fig. 2 shows ORTEP [29] drawings of H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph, while the ORTEP drawing of [Ga(2AcPh)₂]⁺ is shown in Fig. 3. Crystal data and refinement results are listed in Table 1. The crystal structure of H2AcPh has been previously determined by other authors [30]. Tables 2 and 3 present selected intra-molecular bond distances and angles for H2BzpClPh, H2BzpNO₂Ph, H2AcPh [30] and complex [Ga(2AcPh)₂]⁺.

H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph show similar molecular conformations. The C8=O1 and C7=N2 distances were 1.215(2) and 1.302(2) Å for H2BzpClPh, and 1.214(2) and 1.297(2) Å for H2BzpNO₂Ph, as expected for formally double bonds. The N2-N3 length of 1.369(2) Å for both compounds agrees with the single character of this bond.

The molecules' conformation is stabilized by a strong intra-molecular N–H···N bond [$d(\text{N}3\cdots\text{N}1) = 2.612(2)$ Å, $\angle(\text{N}3-\text{H}\cdots\text{N}1) = 131.6^\circ$ for H2BzpClPh and $d(\text{N}3\cdots\text{N}1) = 2.613(2)$ Å, $\angle(\text{N}3-\text{H}\cdots\text{N}1) = 135.3^\circ$ for H2BzpNO₂Ph]. Subjected to intra-molecular steric hindrance and crystal packing interactions, this H-bond tends to produce a nearly planar Py–C7=N2–(N3H)–(C8=O1)- skeleton [*rms* distance of atoms from the least-squares plane of 0.176 Å (Cl) and 0.102 Å (NO₂)]. Interestingly, the conformer obtained by 180° rotation around the C7–N2 bond affords the neutral molecule or its deprotonated (at N3) anion which act as tridentate ligands of metal ions. In fact, this is the case of complexes [Zn(H2BzpClPh)Cl₂].H₂O and [Zn(2BzpNO₂Ph)Cl(DMSO)] [23].

A difference Fourier map phased on the [Ga(2AcPh)₂]⁺ complex (**1a**) showed that the nitrate counter ion and possible solvent molecules are severely disordered in the lattice. In [Ga(2AcPh)₂]⁺ (**1a**), the Ga(III) ion is in a distorted octahedral environment (GaN₄O₂) coordinated to two nearly planar (*rms* deviation of atoms from the least-squares plane of 0.017 and 0.035 Å) and mutually

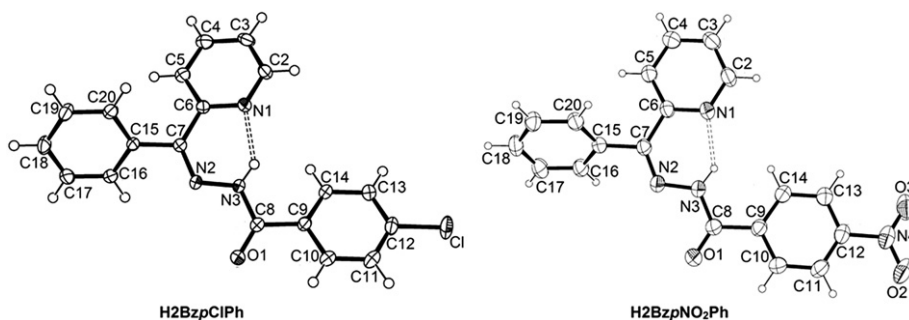


Fig. 2. View of H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph showing the labeling of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 30% probability level.

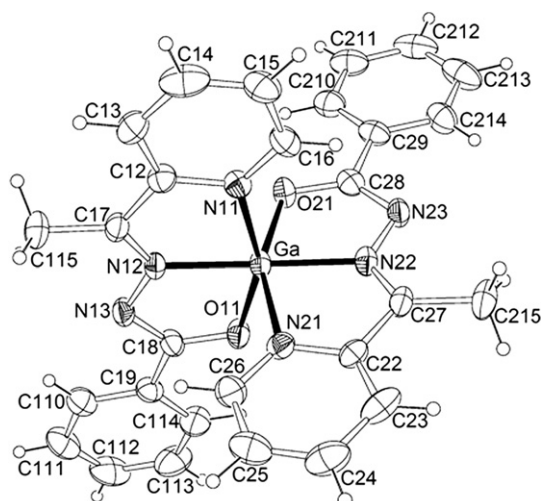


Fig. 3. View of [Ga(2AcPh)₂]⁺ showing the labeling of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 30% probability level.

Table 1
Crystal data and structure refinement for H2BzpClPh, H2BzpNO₂Ph and [Ga(2AcPh)₂]⁺ (**1a**).

Compound	H2BzpClPh	H2BzpNO ₂ Ph	1a
Empirical formula	C ₁₉ H ₁₄ ClN ₃ O	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₃	C ₂₈ H ₂₄ GaN ₆ O ₂
Formula weight (g mol ⁻¹)	335.78	346.34	546.25
Temperature (K)	150(2)	296(2)	293(2)
Crystal system, space group	Triclinic, P1	Monoclinic, P2 _{1/a}	Triclinic, P1
Crystal size (mm)	0.32 × 0.27 × 0.24	0.34 × 0.34 × 0.15	0.245 × 0.079 × 0.070
Unit cell dimensions			
a (Å)	8.6803(4)	13.9892(5)	11.632(1)
b (Å)	8.8436(3)	7.4240(4)	12.137(1)
c (Å)	11.3764(5)	15.6813(6)	12.161(1)
α (°)	78.734(2)	90	95.624(5)
β (°)	88.121(2)	92.611(3)	103.179(5)
γ (°)	69.995(3)	90	111.515(4)
Volume (Å ³)	804.26(6)	1626.90(12)	1523.6(2)
Z, Calculated density (Mg m ⁻³)	2, 1.387	4, 1.414	2
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.2500	0.099	0.935
F(000)	348	720	562
θ range for data collection (°)	3.65–26.00°	3.25–25.02°	2.79–25.99°
Limiting indices	–10 ≤ h ≤ 10 –10 ≤ k ≤ 10 –14 ≤ l ≤ 14	–16 ≤ h ≤ 14 –7 ≤ k ≤ 8 –18 ≤ l ≤ 18	–13 ≤ h ≤ 14 –14 ≤ k ≤ 14 –14 ≤ l ≤ 14
Reflections collected/unique (R _{int})	7319/3093 (0.1144)	9023/2792 (0.0465)	14431/5938 (0.0640)
Completeness	98.2%, θ = 26.0°	97.1%, θ = 25.02°	99.3%, θ = 25.99°
Absorption correction	Gaussian	None	None
Data/restraints/parameters	3093/0/217	2792/0/235	5938/0/336
Goodness-of-fit on F ²	1.055	1.035	1.011
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0582, wR2 = 0.1533	R1 = 0.0492, wR2 = 0.1325	R1 = 0.0494, wR2 = 0.1220
R indices (all data)	R1 = 0.0612, wR2 = 0.1579	R1 = 0.0608, wR2 = 0.1457	R1 = 0.0769, wR2 = 0.1318
Largest diff. peak and hole (e ⁻ Å ⁻³)	0.543 and –0.509	0.142 and –0.169	0.302 and –0.403

perpendicular (2AcPh)⁻ ligands [angled at 87.61(3)° from each other]. The hydrazones behave as tridentate N–N–O chelating systems. In **1a** the imine N-atoms are in *trans* position to each other, and the carbonyl oxygen and the pyridine nitrogen are *cis* to each other (see Fig. 4). *Trans* L–Ga–L angles are in the range from 159.9(1) to 170.9(1)° and *cis* L–Ga–L angles from 76.8(1) to 107.92(9)°.

In complex (**1a**) there is a slight shortening of the bond distance between the gallium center and the imine nitrogen, 1.975(2) and 1.988(2) Å, compared to the distance between the metal and the hetero-aromatic nitrogen, 2.139(3) and 2.115(3) Å. The Ga–O distances are 1.956(2) and 1.960(2) Å.

The expected lengthening of the C8–O1 bonds from 1.219(2) Å in H2AcPh [30] to 1.295(4) and 1.296(4) Å in **1a**, together with the shortening of the N3–C8 bond from 1.347(3) Å in H2AcPh [30] to 1.321(4) and 1.326(4) Å in **1a** were observed (see Table 2). Therefore, the C8–O1 bond changes from a double to a predominantly single bond whereas N3–C8 acquires some double bond character due to deprotonation at N3 and formation of a highly delocalized system [7,30].

Table 2
Selected bond lengths (Å) for H2BzpClPh, H2BzpNO₂Ph, H2AcPh [30] and [Ga(2AcPh)₂]⁺ (**1a**).

Atoms	H2BzpClPh	H2BzpNO ₂ Ph	H2AcPh [30]	Atoms	1a
C(2)–C(7)	1.484(2)	1.488(2)	1.487(2)	C(12)–C(17)	1.461(5)
C(7)–N(2)	1.302(2)	1.2969(19)	1.264(3)	C(22)–C(27)	1.481(5)
N(2)–N(3)	1.3693(19)	1.3691(16)	1.375(2)	C(17)–N(12)	1.287(4)
N(3)–C(8)	1.366(2)	1.360(2)	1.347(3)	C(27)–N(22)	1.281(4)
C(8)–O(1)	1.215(2)	1.2136(19)	1.219(2)	N(12)–N(13)	1.378(3)
C(12)–Cl	1.7411(17)	–	–	N(22)–N(23)	1.379(3)
C(12)–N(4)	–	1.477(2)	–	N(13)–C(18)	1.321(4)
				N(23)–C(28)	1.326(4)
				C(18)–O(11)	1.295(4)
				C(28)–O(21)	1.296(4)
				Ga–O(11)	1.956(2)
				Ga–O(21)	1.960(2)
				Ga–N(11)	2.139(3)
				Ga–N(21)	2.115(3)
				Ga–N(12)	1.975(2)
				Ga–N(22)	1.988(2)

2.4. Cytotoxic activity

The cytotoxic effects of the hydrazones and their gallium(III) complexes were assayed on U87 and T98 malignant glioma cells. Negative control was taken as 100% survival. Fig. 4 presents the percentage of cell survival in the presence of the studied compounds at 1 μmol L⁻¹. The survival of U87 and T98 cells in the presence of 2-acetylpyridine-derived hydrazones was found to be 14.4–35.1%, while the percentage of survival in the presence of 2-benzoylpyridine-derived hydrazones was above 54.8%. All gallium(III) complexes exerted higher cytotoxic activity than the free hydrazones against U87 cells. In contrast, the cytotoxic effect of the 2-acetylpyridine-derived hydrazones and their gallium(III) complexes against T98 cells was comparable, indicating that coordination did not improve the activity. Coordination to gallium(III) improved the activity of the 2-benzoylpyridine-derived hydrazones against T98 cells. Ga(NO₃)₃ showed no cytotoxic effect against the tested cell lineages.

Table 3
Selected bond angles (°) for H2BzpClPh, H2BzpNO₂Ph, H2AcPh [30] and [Ga(2AcPh)₂]⁺ (**1a**).

Atoms	H2BzpClPh	H2BzpNO ₂ Ph	H2AcPh [30]	Atoms	1A
C(2)–C(7)–N(2)	127.25(15)	128.03(13)	114.47(15)	C(12)–C(17)–N(12)	113.3(3)
C(7)–N(2)–N(3)	117.65(14)	117.97(13)	119.02(14)	C(22)–C(27)–N(22)	113.3(3)
N(2)–N(3)–C(8)	119.64(14)	119.69(13)	117.02(13)	C(17)–N(12)–N(13)	121.4(3)
N(3)–C(8)–O(1)	124.33(16)	124.01(14)	123.32(15)	C(27)–N(22)–N(23)	122.5(3)
N(3)–C(8)–C(9)	113.34(14)	113.60(13)	115.99(13)	N(12)–N(13)–C(18)	108.0(2)
O(1)–C(8)–C(9)	122.33(14)	122.38(14)	120.68(18)	N(22)–N(23)–C(28)	108.4(2)
				N(13)–C(18)–O(11)	125.1(3)
				N(23)–C(28)–O(21)	124.6(3)
				N(13)–C(18)–C(19)	116.3(3)
				N(23)–C(28)–C(29)	117.6(3)
				O(11)–C(18)–C(19)	118.7(3)
				O(21)–C(28)–C(29)	117.8(3)
				O(11)–Ga–O(21)	94.72(10)
				O(11)–Ga–N(12)	79.10(9)
				O(21)–Ga–N(12)	106.78(10)
				O(11)–Ga–N(22)	107.92(9)
				O(21)–Ga–N(22)	78.88(10)
				N(12)–Ga–N(22)	170.87(10)
				O(11)–Ga–N(21)	92.47(10)
				O(21)–Ga–N(21)	156.00(10)
				N(12)–Ga–N(21)	97.05(10)
				N(22)–Ga–N(21)	77.11(10)
				O(11)–Ga–N(11)	155.86(10)
				O(21)–Ga–N(11)	92.98(10)
				N(12)–Ga–N(11)	76.77(10)
				N(22)–Ga–N(11)	96.01(10)
				N(21)–Ga–N(11)	89.69(10)

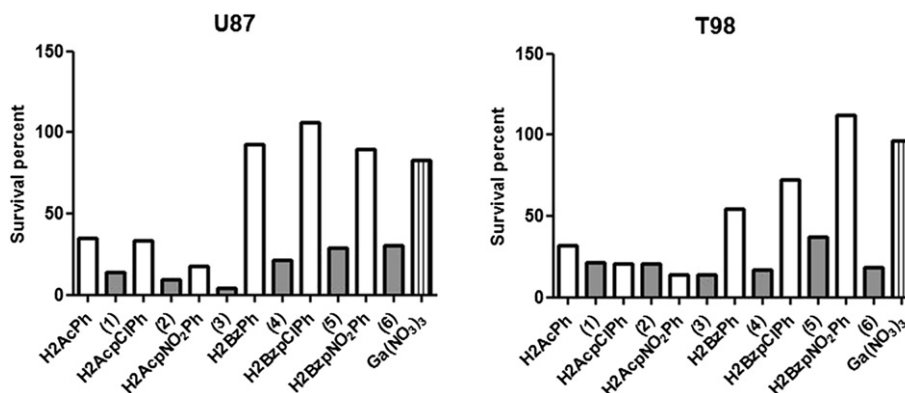


Fig. 4. Cytotoxic effect of 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine- derived hydrazones and their gallium(III) complexes on U87 and T98 glioma cells. Cells were treated with compounds (1 μmol L⁻¹) for 48 h and the cell survival was measured by the MTT assay.

Table 4

Experimental IC₅₀ values (nmol L⁻¹) for 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones and etoposide reference drug against U87, T98 and MRC5 cells.

Compounds	Glioblastoma cell lines		Human fetal lung fibroblast (MRC5) cells
	U87	T98	
H2AcPh	0.94 ± 0.01	0.80 ± 0.07	284 ± 15
H2AcpClPh	0.07 ± 0.01	1.17 ± 0.32	348 ± 37
H2AcpNO ₂ Ph	0.57 ± 0.07	0.43 ± 0.04	283 ± 33
H2BzPh	8.26 ± 1.1	7.41 ± 0.42	1180 ± 127
H2BzpClPh	26.1 ± 14.6	415 ± 31	738 ± 13
H2BzpNO ₂ Ph	>500	>500	551 ± 53
Etoposide	620 ± 15	460 ± 25	–

Results are expressed as mean ± SD, *n* = 4.

The obtained preliminary results of cell survival stimulated the determination of the compounds' concentration able to kill 50% of the glioma cells (IC₅₀). For comparison, IC₅₀ values were also obtained against the MRC5 (Human Fetal Lung Fibroblast) lineage, as a model of healthy cells. Etoposide, an antineoplastic drug in clinical use, was employed as positive control. IC₅₀ values of the gallium(III) complexes were not determined due to their low solubility.

Table 4 presents IC₅₀ values of the 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones against U87, T98 and MRC5 cells. All hydrazones, except H2BzpNO₂Ph, were highly active against malignant glioma cells with IC₅₀ values between 0.07 and 26.1 nmol L⁻¹ against U87 (p53 wild-type) cells and between 0.43 and 415 nmol L⁻¹ against T98 cells (p53 mutant).

2-Acetylpyridine-derived hydrazones were more active than the 2-benzoylpyridine analogues against both cell lineages. H2AcpClPh proved to be the most cytotoxic compound against U87 cells while H2AcpNO₂Ph was the most cytotoxic compound against T98 cells. All hydrazones except H2BzpNO₂Ph, were more potent than the reference drug etoposide.

Interestingly, the IC₅₀ values against MRC5 cells, which act as a model of healthy cells, were much higher. In fact, the therapeutic indexes (TI = IC₅₀MRC5/IC₅₀glioma) were 2–660 for T98 cells and 28–5000 for U87 cells, indicating that the studied hydrazones could be good antitumor drug candidates to treat brain tumors.

2.5. Induction of membrane DNA changes characteristics of apoptosis

Under inverted microscope, cell shape and its changes can be clearly observed. A wide range of phenotypic modifications, with a clear concentration-response tendency was observed in both glioma cell lines but not in MRC5 cells after exposure to all tested compounds. As shown in Fig. 5, cells in the control groups present cytoplasmic expansions, and treatment with all compounds caused retraction of cytoplasmic expansions, leading to round shaped cells, cell shrinkage and blebs formation in both p53 wild-type and mutant cell lines. Reduction of the number of cells after treatment was also observed. T98 cells seem to be slightly more resistant than U87 cells. In fact T98 cells presented such alterations at higher concentrations of H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph. All of the observed morphological changes are associated with programmed cell death (apoptosis).

Triggering programmed cell death (apoptosis) induces DNA fragmentation through the activation of specific DNA endonucleases. Activation of nucleases can be identified through the use of DNA staining with 4',6-diamidine-2-phenylindole (DAPI), which detects fragmented DNA and condensed chromatin. No DNA fragmentation was observed in untreated and MRC5 cells, but after exposure to the hydrazones, U87 cells showed extensive DNA fragmentation as seen in Fig. 6. These results suggest that reduction

of cell survival after treatment with the studied compounds occurred, at least in part, due to apoptosis induction.

2.6. SAR studies

Theoretical calculations were performed in order to investigate stereo-electronic properties of the studied hydrazones. Since the number of molecules was not enough for a QSAR investigation, SAR studies were carried out, to identify physico-chemical properties that might be involved in the mechanism of cytotoxic action of these compounds.

Properties of interest in this study were the highest occupied molecular orbital (HOMO) and the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) energies, the dipole moment, logP and surface area (SA), which were correlated to IC₅₀. HOMO and LUMO energies are related to ionization potential and electron affinity, respectively. These frontier orbitals are associated to the molecule's reactivity. The HOMO energy is closely related to susceptibility to electrophilic attack, while LUMO energy is closely related to susceptibility to nucleophilic attack. Dipole moment may give some insight on the degree of hydrophobicity/hydrophilicity of the compounds. Additionally, logP is often used as a measure of lipophilicity of the compounds. Surface area may offer information on stereo features for drug–receptor interactions.

pIC₅₀ (–log IC₅₀) values against U87 and T98 malignant glioma cells and stereo-electronic parameters of the free hydrazones are displayed in Table 5. Stereo-electronic parameters were obtained for the hydrazones' *E* and *Z* isomers.

Attempting to establish some correlation between stereo-electronic parameters and the cytotoxic effect we built a single correlation matrix (data not show) for the hydrazones, considering the possibility of existence of the *E* and *Z* isomers.

Considering separately the *E* and *Z* isomers the results suggest that an inverse correlation between logP and the activity against U87 cells (*R* = –0.73 for *E* and *Z* isomers, *p* > 0.05) could exist. An inversion correlation between logP and the activity against T98 cells (*R* = –0.93 for *E* and *Z* isomers, *p* < 0.05) was observed.

Likewise, an inverse correlation could exist between SA and the activity against the tested cells (*R* = –0.83, *p* > 0.05 for *E* and *Z* isomers against U87, and *R* = –0.82, *p* > 0.05, for *E* and *Z* isomers against T98). Thus, lower values of logP or SA could contribute to higher cytotoxic effect. Indeed, 2-acetylpyridine-derived hydrazones were more active than the corresponding 2-benzoylpyridine-derived hydrazones.

Analyzing the major isomers (*E* isomer for H2AcPh, H2AcpClPh and H2AcpNO₂Ph and *Z* isomer for H2BzPh, H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph), we found inverse correlations between logP or SA and the activity of the hydrazones against U87 and T98 glioma cells (The obtained *R* values do not change appreciably in relation to the values determined by considering the *E* and *Z* isomers separately). Considering the major isomers, there could be an inverse correlation between the dipole moment and the cytotoxic activity (*R* = –0.84, *p* > 0.05 for U87 and T98 cells).

3. Conclusions

Due to their high therapeutic indexes, the studied hydrazones revealed to be good as anticancer drug candidates to treat brain tumors. In some cases coordination of the hydrazones to gallium(III) proved to be an interesting strategy of cytotoxicity improvement. The low solubility of the gallium(III) complexes precluded the determination of their IC₅₀ values. However, since the complexes were highly active at 1 μmol L⁻¹, they should be further investigated as metal-based anticancer drug candidates as well.

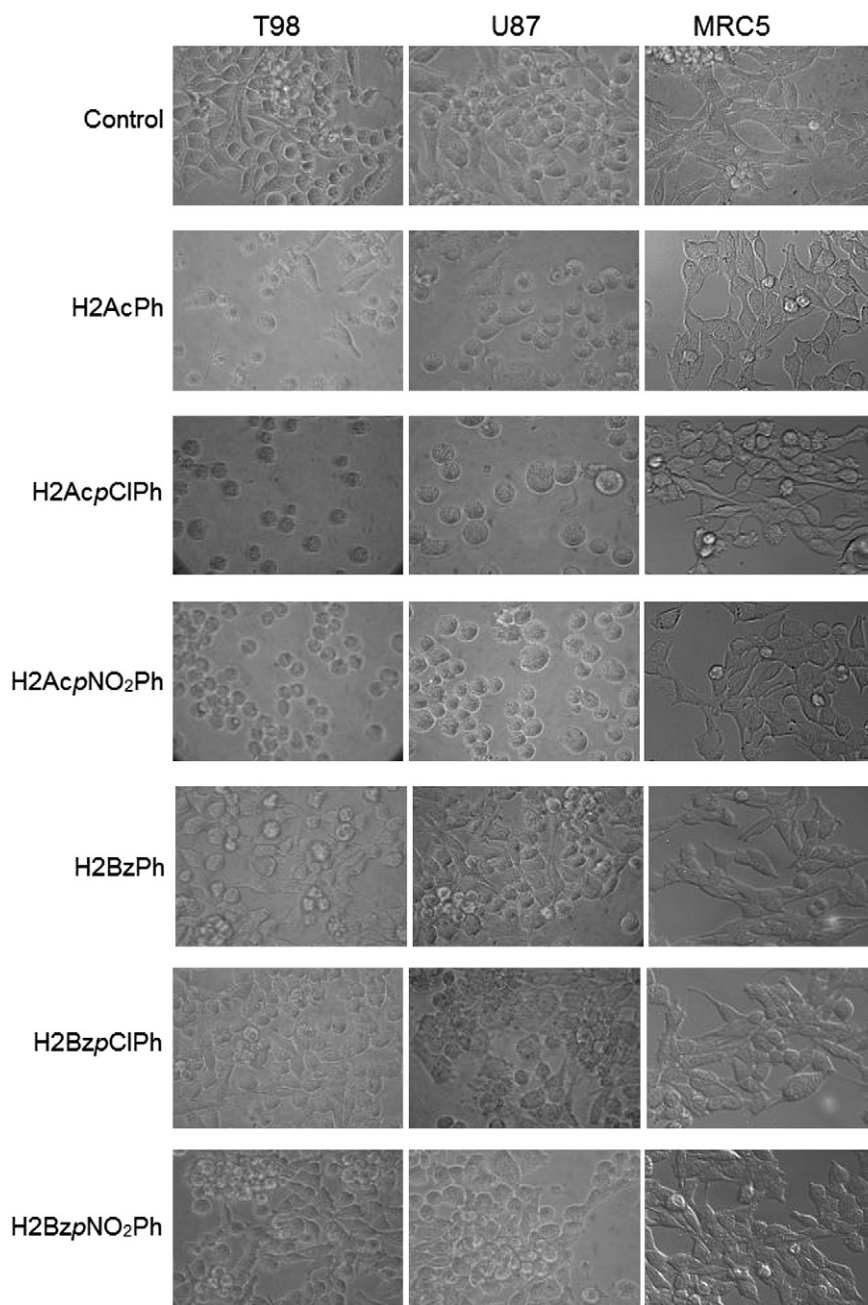


Fig. 5. Cells treated with hydrazones ($1 \mu\text{mol L}^{-1}$) exhibit characteristic morphological changes of apoptosis. Control or treated T98, U87 and MRC5 cells were incubated in culture dishes. After 48 h treatment the dishes were observed under phase contrast and membrane morphology was photographed. Changes such as cell rounding, cell shrinkage and blebs formation can be observed. Amplification: $400\times$.

Hydrazones derived from pyridoxal and from salicylaldehyde were shown to be good iron chelators and to present anti-proliferative effect against tumor cell lines [14]. Iron is essential for the function of many key proteins such as RDR, being vital for cellular replication. Interestingly, addition of a saturating amount of iron to hydrazone chelators prevented their anti-proliferative effects, suggesting that these ligands disrupt normal cellular iron metabolism [14]. It has also been shown that gallium potentiates the anti-proliferative effect of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone [14].

The studied hydrazones are good chelators of both gallium and iron [31]. In addition coordination to gallium(III) resulted in increased cytotoxic activity, indicating that the mode of action of the studied compounds could involve disruption of iron metabolism.

4. Materials and methods

4.1. Chemistry

4.1.1. Synthesis of 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones

2-Acetylpyridine-phenylhydrazone, its *para*-chlorophenylhydrazone and *para*-nitrophenylhydrazone analogues and the corresponding 2-benzoylpyridine-derived hydrazones were prepared previously by some of us [7,23] and by other authors [32,33]. Their syntheses were carried out as described before [7,23,32,33]. Crystals of H2BzpClPh and H2BzpNO₂Ph suitable for X-ray diffraction were obtained by slow evaporation from an ethanol solution.

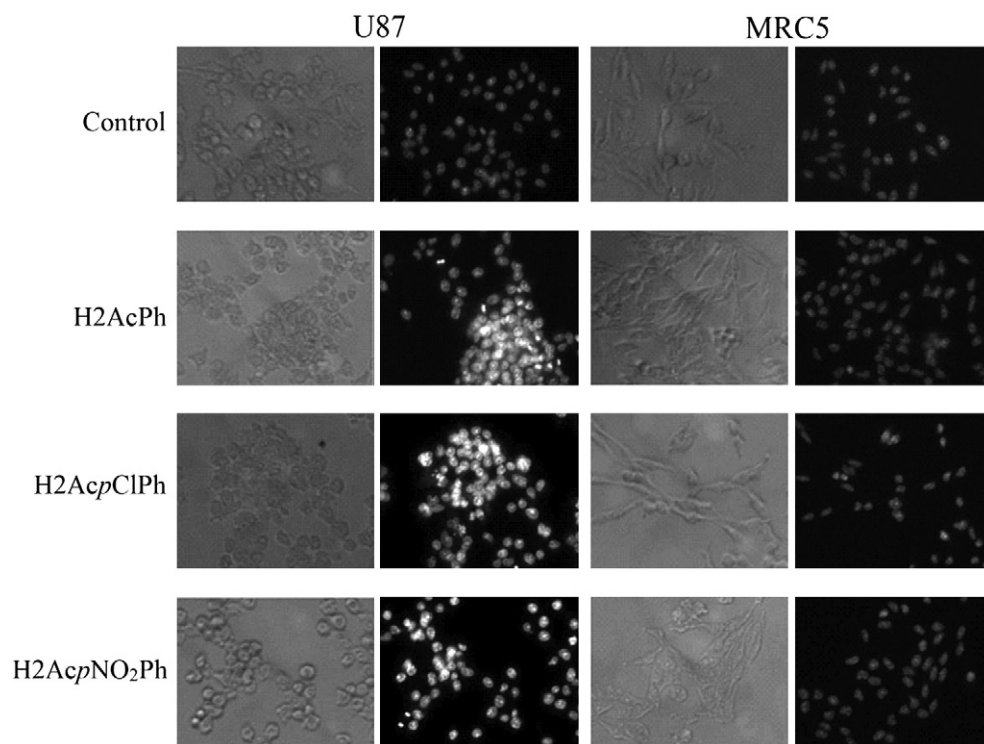


Fig. 6. Cells treated with hydrazones exhibit nuclear changes characteristic of apoptosis. U87 (on the left column) and MRC5 (on the right column) cells were treated with hydrazones (10^{-9} mol L $^{-1}$) or diluent (Control). After 48 h treatment, cells were fixed and stained with DAPI as described in Section 4.6. Chromatin condensation, nuclear fragmentation and apoptotic bodies can be observed. Magnification: 400 \times .

4.1.2. Synthesis of the gallium(III) complexes

The gallium(III) complexes were obtained by stirring under reflux an ethanol solution of the desired hydrazone with gallium nitrate in 2:1 ligand-to-metal molar ratio for 7 h (see Scheme 1). The obtained solids were washed with ethanol, diethylether and then dried *in vacuo*.

Upon recrystallization of [Ga(2AcPh) $_2$]NO $_3$ ·H $_2$ O (**1**) in ethanol, single crystals containing the complex [Ga(2AcPh) $_2$] $^+$ (**1a**) suitable for structural X-ray diffraction were obtained.

4.1.2.1. Bis(2-acetylpyridinephenylhydrazonato)gallium(III) nitrate monohydrate [Ga(2AcPh) $_2$]NO $_3$ ·H $_2$ O (1**).** Yellow solid. Anal. Calc. for C $_{28}$ H $_{26}$ GaN $_7$ O $_6$ (FW = 626.27 g mol $^{-1}$): C, 53.70%; H, 4.18%; N, 15.66%. Found: C, 53.43%; H, 4.21%; N, 15.66%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. weight loss of one water molecule: 2.87%.

Found: 2.53%. Molar conductivity (1×10^{-3} mol L $^{-1}$ DMF): 73.30 Ω^{-1} cm 2 mol $^{-1}$. IR (KBr, cm $^{-1}$): ν (C=N) 1602, ν (py) 648, ν (NO $_3$) 1384. IR (Csl/nujol, cm $^{-1}$): ν (M–N) 442, ν (M–O) 327, ν (M–Npy) 246, 235. The main signals in 1 H NMR (DMSO- d_6) [δ (ppm), J (Hz)]: 8.48 (d, 1H, H6), 7.74; 8.42 (t, 1H, H5), 7.80; 8.23 (d, 1H, H3), 5.06; 7.76 (t, 1H, H4), 6.36; 3.06 (s, 3H, H15). The main signals in 13 C NMR (DMSO- d_6): δ (ppm) = 172.9 (C8), 154.4 (C2), 146.2 (C6), 145.5 (C7), 143.8 (C4), 128.2 (C5), 125.6 (C3), 13.7 (C15). Yield 59%.

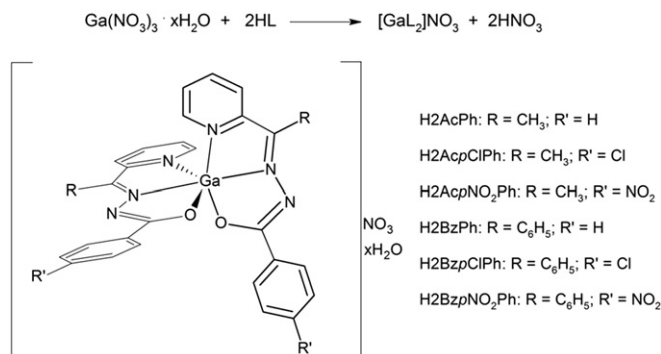
4.1.2.2. Bis(2-acetylpyridine-para-chloro-phenylhydrazonato)gallium(III) nitrate monohydrate [Ga(2AcpClPh) $_2$]NO $_3$ ·H $_2$ O (2**).** Yellow solid. Anal. Calc. for C $_{28}$ H $_{24}$ Cl $_2$ GaN $_7$ O $_6$ (FW = 695.16 g mol $^{-1}$): C, 48.38%; H, 3.48%; N, 14.10%. Found: C, 48.15%; H, 3.61%; N, 14.14%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. weight loss of

Table 5

Calculated physico-chemical properties and experimental pIC $_{50}$ values for 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones.

Compound	ϵ (HOMO) (eV) ^a	ϵ (LUMO) (eV)	Dipole (db)	LogP	Surface area (A 2)	Glioblastoma cell lines (pIC $_{50}$)	
						U87	T98
H2AcPh	–8.560 (<i>E</i> isomer)	1.978 (<i>E</i> isomer)	3.365 (<i>E</i> isomer)	1.92	342.28	9.026	9.096
	–8.545 (<i>Z</i> isomer)	1.780 (<i>Z</i> isomer)	5.308 (<i>Z</i> isomer)				
H2AcpClPh	–8.692 (<i>E</i> isomer)	1.813 (<i>E</i> isomer)	3.381 (<i>E</i> isomer)	2.53	359.09	10.154	8.931
	–8.689 (<i>Z</i> isomer)	1.632 (<i>Z</i> isomer)	6.672 (<i>Z</i> isomer)				
H2AcpNO $_2$ Ph	–8.898 (<i>E</i> isomer)	0.803 (<i>E</i> isomer)	4.717 (<i>E</i> isomer)	2.15	383.15	9.244	9.366
	–8.933 (<i>Z</i> isomer)	0.998 (<i>Z</i> isomer)	8.855 (<i>Z</i> isomer)				
H2BzPh	–6.801 (<i>E</i> isomer)	1.558 (<i>E</i> isomer)	3.104 (<i>E</i> isomer)	3.10	419.37	8.083	8.130
	–6.620 (<i>Z</i> isomer)	1.344 (<i>Z</i> isomer)	4.976 (<i>Z</i> isomer)				
H2BzpClPh	–8.639 (<i>E</i> isomer)	1.814 (<i>E</i> isomer)	3.440 (<i>E</i> isomer)	3.68	436.41	7.583	6.381
	–8.346 (<i>Z</i> isomer)	1.527 (<i>Z</i> isomer)	6.386 (<i>Z</i> isomer)				
H2BzpNO $_2$ Ph	–8.832 (<i>E</i> isomer)	0.833 (<i>E</i> isomer)	5.072 (<i>E</i> isomer)	3.31	459.15	< 6.301	< 6.301
	–8.549 (<i>Z</i> isomer)	0.955 (<i>Z</i> isomer)	8.585 (<i>Z</i> isomer)				

^a eV = 627.51 kcal mol $^{-1}$.



Scheme 1. General scheme of synthesis of the gallium(III) complexes with hydrazones and structural representation of the gallium(III) complexes.

one water molecule: 2.59%. Found: 2.41%. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DMF}$): $82.98 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1600, $\rho(\text{py})$ 648, $\nu(\text{NO}_3)$ 1384. IR (Csl/nujol, cm^{-1}): $\nu(\text{M}-\text{N})$ 420, $\nu(\text{M}-\text{O})$ 317, $\nu(\text{M}-\text{Npy})$ 219. The main signals in ^1H NMR (DMSO- d_6) [$\delta(\text{ppm}), J(\text{Hz})$]: 8.47 (d, 1H, H6), 7.89; 8.40 (t, 1H, H5), 7.78; 8.22 (d, 1H, H3), 4.76; 7.76 (t, 1H, H4), 6.38; 3.04 (s, 3H, H15). The main signals in ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta(\text{ppm}) = 171.9$ (C8), 155.0 (C2), 146.3 (C6), 145.4 (C7), 143.9 (C4), 128.9 (C5), 125.7 (C3), 13.7 (C15). Yield 66%.

4.1.2.3. Bis(2-acetylpyridine-para-nitro-phenylhydrazonato) gallium(III) nitrate sesquihydrate [$\text{Ga}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})_2$] $\text{NO}_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ (**3**). Yellow solid. Anal. Calc. for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{GaN}_9\text{O}_{10}$ (FW = 725.27 g mol^{-1}): C, 46.95%; H, 3.38%; N, 17.60%. Found: C, 46.37%; H, 3.47%; N, 17.38%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. weight loss of 1.5 water molecule: 3.72%. Found: 3.58%. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DMF}$): $71.54 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1603, $\rho(\text{py})$ 649, $\nu(\text{NO}_3)$ 1384. IR (Csl/nujol, cm^{-1}): $\nu(\text{M}-\text{N})$ 410, $\nu(\text{M}-\text{O})$ 317, $\nu(\text{M}-\text{Npy})$ 227, 221. The main signals in ^1H NMR (DMSO- d_6) [$\delta(\text{ppm}), J(\text{Hz})$]: 8.55 (d, 1H, H6), 7.94; 8.46 (t, 1H, H5), 7.83; 8.34–8.28 (m, H, H3); 7.82 (t, 1H, H4), 5.35; 3.11 (s, 3H, H15). The main signals in ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta(\text{ppm}) = 171.1$ (C8), 156.9 (C2), 146.5 (C6), 145.2 (C7), 144.0 (C4), 129.2 (C5), 123.7 (C3), 14.0 (C15). Yield 68%.

4.1.2.4. Bis(2-benzoylpyridinephenylhydrazonato)gallium(III) nitrate dihydrate [$\text{Ga}(\text{2BzPh})_2$] $\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**4**). Yellow solid. Anal. Calc. for $\text{C}_{38}\text{H}_{32}\text{GaN}_7\text{O}_7$ (FW = 768.43 g mol^{-1}): C, 59.39%; H, 4.20%; N, 12.76%. Found: C, 58.99%; H, 4.22%; N, 12.87%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. for weight loss of two water molecules: 4.69%. Found: 4.52%. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DMF}$): $71.07 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1600, $\rho(\text{py})$ 649, $\nu(\text{NO}_3)$ 1384. IR (Csl/nujol, cm^{-1}): $\nu(\text{M}-\text{N})$ 423, $\nu(\text{M}-\text{O})$ 326, $\nu(\text{M}-\text{Npy})$ 235. The main signals in ^1H NMR (DMSO- d_6) [$\delta(\text{ppm}), J(\text{Hz})$]: 8.41 (d, 1H, H6), 5.14; 8.36 (t, 1H, H5), 7.89; 8.01–7.99 (m, 1H, H3); 7.85 (m, 1H, H4). The main signals in ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta(\text{ppm}) = 174.2$ (C8), 151.2 (C2), 146.9 (C6), 145.2 (C7), 143.9 (C4), 130.8 (C5), 126.8 (C3). Yield 42%.

4.1.2.5. Bis(2-benzoylpyridine-para-chloro-phenylhydrazonato) gallium(III) nitrate dihydrate [$\text{Ga}(\text{2BzClPh})_2$] $\text{NO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**5**). Yellow solid. Anal. Calc. for $\text{C}_{38}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{GaN}_7\text{O}_7$ (FW = 837.32 g mol^{-1}): C, 54.51%; H, 3.61%; N, 11.71%. Found: C, 54.21%; H, 3.59%; N, 11.80%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. weight loss of two water molecules: 4.30%. Found: 4.08%. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DMF}$): $83.86 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1597, $\rho(\text{py})$ 650, $\nu(\text{NO}_3)$ 1385. IR (Csl/nujol, cm^{-1}): $\nu(\text{M}-\text{N})$ 422, $\nu(\text{M}-\text{O})$ 298, $\nu(\text{M}-\text{Npy})$ 234. The main signals in ^1H NMR (DMSO-

d_6) [$\delta(\text{ppm}), J(\text{Hz})$]: 8.39 (d, 1H, H6), 5.05; 8.34 (t, 1H, H5), 7.88; 7.99–7.95 (m, 1H, H3); 7.83 (m, 1H, H4). The main signals in ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta(\text{ppm}) = 173.3$ (C8), 151.9 (C2), 147.1 (C6), 145.2 (C7), 144.1 (C4), 130.1 (C5), 127.5 (C3). Yield 52%.

4.1.2.6. Bis(2-benzoylpyridine-para-nitro-phenylhydrazonato) gallium(III) nitrate monohydrate [$\text{Ga}(\text{2BzpNO}_2\text{Ph})_2$] $\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (**6**). Yellow solid. Anal. Calc. for $\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{GaN}_9\text{O}_{10}$ (FW = 840.41 g mol^{-1}): C, 54.31%; H, 3.36%; N, 15.00%. Found: C, 55.06%; H, 3.78%; N, 14.93%. Thermogravimetry (30–100 °C range): Calc. weight loss of one water molecule: 2.14%. Found: 2.08%. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ DMF}$): $77.31 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IR (KBr, cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1603, $\rho(\text{py})$ 653, $\nu(\text{NO}_3)$ 1385. IR (Csl/nujol, cm^{-1}): $\nu(\text{M}-\text{N})$ 410, $\nu(\text{M}-\text{O})$ 317, $\nu(\text{M}-\text{Npy})$ 227. The main signals in ^1H NMR (DMSO- d_6) [$\delta(\text{ppm}), J(\text{Hz})$]: 8.49 (d, 1H, H6), 5.11; 8.40 (t, 1H, H5), 7.88; 8.06 (d, 1H, H3), 7.97; 7.90 (m, 1H, H4). The main signals in ^{13}C NMR (DMSO- d_6): $\delta(\text{ppm}) = 172.9$ (C8), 154.0 (C2), 147.8 (C6), 145.4 (C7), 144.6 (C4), 131.4 (C5), 129.2 (C3), 13.87 (C15). Yield 73%.

4.2. Physical measurements

All common chemicals were purchased from Aldrich and used without further purification. Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Thermogravimetric curves were obtained with a TGA50H thermobalance (Shimadzu) in the 25–750 °C temperature range, under dynamic nitrogen atmosphere and at a heating rate of 10 °C min^{-1} . An YSI model 31 conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements. Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using KBr plates (4000–400 cm^{-1}) and nujol mulls between Csl plates (400–200 cm^{-1}). NMR spectra were obtained with a Bruker DPX-200 Avance (200 MHz) spectrometer using DMSO- d_6 as the solvent and TMS as internal reference.

4.3. X-ray crystallography

Single crystal X-ray diffraction measurements for H2BzClPh, H2BzClPh and $[\text{Ga}(\text{2AcPh})_2]^+$ were performed on an Enraf-Nonius Kappa-CCD diffractometer with graphite-monochromated MoK α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) radiation. Diffraction data were collected (φ and ω scans with κ -offsets) with COLLECT [34]. Integration and scaling of the reflections were performed with HKL DENZO-SCALEPACK [35] suite of programs. The unit cell parameters were obtained by least-squares refinement based on the angular settings for all collected reflections using HKL SCALEPACK [35]. Data were corrected numerically for absorption with PLATON [36]. The structures were solved by direct and Fourier methods with SHELXS-97 [37] and the corresponding molecular models refined by full-matrix least-squares procedure on F^2 with SHELXL-97 [38]. The hydrogen atoms were included in the molecular models at stereo-chemical positions and refined with the riding method. The methyl H-atoms positions of the 2AcPh ligands in the $[\text{Ga}(\text{2AcPh})_2]^+$ complex were optimized by treating them as a rigid group which was allowed to rotate around the corresponding C–C bond. A difference Fourier map phased on the $[\text{Ga}(\text{2AcPh})_2]^+$ complex showed that the nitrate counter ion and possible solvent molecules are severely disordered in the lattice. This disorder could not be modeled adequately in terms of the expected molecules. Therefore, we proceeded with the refinement of the ordered Ga(III) complex resorting to a procedure described in [39] and implemented in the program SQUEEZE included in the PLATON [36] suite of programs.

4.4. Cells lines and culture conditions

Malignant human cell lines U87 (multiform glioblastoma wild-type), T98 (multiform glioblastoma P53 mutant) and MRC5 (Human Fetal Lung Fibroblast) cells were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, USA). Cell lines were grown as monolayer in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Gibco), supplemented with 10% fetal bovine serum (Cultilab) and antibiotics (50 U/mL penicillin/50 μ M streptomycin), in a humidified atmosphere air/CO₂ (5%/95%) at 37 °C. Cells 80% confluent were used in all experiments.

4.5. Cytotoxic activity

Cytotoxicity was measured by the 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay which measures the cellular metabolic viability [40]. The cells were cultured in 96-well plates and, 12 h after incubation, they were treated with different concentrations of test compounds (1×10^{-12} – 1×10^{-5} mol L⁻¹). Another group of cells was treated with the same concentrations of etoposide (positive control), an antineoplastic drug that inhibits the enzyme topoisomerase II. Compounds were previously dissolved in DMSO and the final concentrations were adjusted, through an 8-fold serial dilution, in DMEM in such manner that final DMSO concentration was lower than 0.5%.

After 48 h-treatment, the cells were incubated with MTT (0.5 mg mL⁻¹), and formazan crystals were solubilised in DMSO. Absorbance was measured in a microplate reader at 570 nm. Tests using DMSO (0.5% in DMEM) as negative control were carried out in parallel. IC₅₀ values were calculated as the concentration of compound that induced 50% of cytotoxicity.

4.6. Morphological analysis of tumor cells

Cells were seeded in 96-well plates and treated with test compounds. For phase contrast microscopy, representative fields of cells were photographed using a TS100 (Nikon) microscope. Morphological changes were analyzed 48 h after the treatment.

DNA alterations were detected by 4',6-diamidine-2-phenylindole (DAPI) staining. After the 48 h-treatment with 10^{-9} mol L⁻¹ of test compounds, cells were washed with PBS and fixed with 70% methanol at room temperature for 30 min. Cells were incubated with 0.4 μ g mL⁻¹ DAPI (Sigma) for 1 h in the dark after washing with PBS. DNA alterations such as fragmentation and chromatin condensation were observed by fluorescence microscopy (Nikon 385–410 nm).

4.7. SAR studies

Conformational analysis of hydrazones was performed using the Merck Molecular Force Field (MMFF) [41] implemented in the Tinker Molecular Modeling Program [42]. For all compounds the E and Z isomers were analyzed. The minimum energy structures of the isomers of the compounds obtained in the conformational analysis step were further optimized at the Density Functional Theory level [43], employing the hybrid B3LYP [44,45] exchange-correlation functional and using the 6-31G(d) all electron basis set [46,47] for all atoms. In order to have better properties and energetic results, single point energy calculations at the second order Møller-Plesset perturbation theory level [48,49] were then performed on the optimized B3LYP/6-31G(d) structures, using the same basis set (MP2/6-31G(d)//B3LYP/6-31G(d)). The charge distribution on the most stable conformers was computed using the Natural Bonding Orbital (NBO) formalism [50,51]. All quantum

mechanical calculations were performed using the Gaussian program [52]. HOMO and LUMO energies, and dipole moments, were obtained after full optimization and were used as descriptors for further SAR studies. The three-dimensional structures obtained from optimization of hydrazones were used as input for the Marvin software [53] to calculate the superficial molecular areas. Theoretical octanol-water partition coefficients (logP) of the hydrazones were performed using ALOGPS 2.1 software, accessed via the Virtual Computational Chemistry Laboratory interface [54]. Superficial molecular area and logP were also used as descriptors for SAR studies.

Supplementary material

CCDC 845604, 845605 and 845606 contain supplementary crystallographic data for H2BzpClPh, H2BzpNO₂Ph, and complex [Ga(2AcPh)₂]⁺. These data can be obtained free of charge via <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>, or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (+44) 1223-336-033; or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

Acknowledgments

The authors are grateful to CNPq, INCT-INOVAR (Proc. CNPq 573.364/2008-6), INCT-CATÁLISE, FAPEMIG, CNEN, FAPESP (Brazil) and to CONICET (Argentina) for financial support. O. E. P. is a research fellow of CONICET, Argentina.

References

- [1] A. Jemal, F. Bray, M.M. Center, J. Ferlay, E. Ward, D. Forman, Global cancer statistics, *CA Cancer J. Clin.* 61 (2011) 69–90.
- [2] M.A. Soares, P.B. Pujatti, C.L. Fortes-Dias, L. Antonelli, R.G. Santos, *Crotalus durissus terrificus* venom as a source of antitumoral agents, *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 16 (2010) 480–492.
- [3] C.A. Perez, L.W. Brady, Principles and Practice of Radiation Oncology, Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia, 1997.
- [4] E. Nuti, F. Casalini, S. Santamaria, P. Gabelloni, S. Bendinelli, E. Da Pozzo, B. Costa, L. Marinelli, V. La Pietra, E. Novellino, M.M. Bernardo, R. Fridman, F. Da Settimo, C. Martini, A. Rossello, Synthesis and biological evaluation in U87MG glioma cells of (ethylthiophene) sulfonamido-based hydroxamates as matrix metalloproteinase inhibitors, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 2617–2629.
- [5] M. Tabuse, S. Ohta, Y. Ohashi, R. Fukaya, A. Misawa, K. Yoshida, T. Kawase, H. Saya, C. Thirant, H. Chneiweiss, Y. Matsuzaki, H. Okano, Y. Kawakami, M. Toda, Functional analysis of *HOXD9* in human gliomas and glioma cancer stem cells, *Mol. Cancer* 10 (2011) 1–14.
- [6] P. Vicini, F. Zani, P. Cozzini, I. Doytchinova, Hydrazones of 1,2-benzisothiazole hydrazides: synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations, *Eur. J. Med. Chem.* 37 (2002) 553–564.
- [7] A.A.R. Despaigne, L.F. Vieira, I.C. Mendes, F.B. Da Costa, N.L. Speziali, H. Beraldo, Organotin(IV) complexes with 2-acetylpyridine benzoyl hydrazones: antimicrobial activity, *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (2010) 1247–1257.
- [8] J. Jain, Y. Kumar, R. Sinha, R. Kumar, J. Stables, Menthone aryl acid hydrazones: a new class of anticonvulsants, *Med. Chem.* 7 (2011) 56–61.
- [9] S.K. Sridhar, S.N. Pandeya, J.P. Stables, A. Ramesh, Anticonvulsant activity of hydrazones, Schiff and Mannich bases of isatin derivatives, *Eur. J. Pharm. Sci.* 16 (2002) 129–132.
- [10] C.M. Moldovan, O. Oniga, A. Pärvu, B. Tipericiu, P. Verite, A. Pîrnău, O. Crişan, M. Bojiţă, R. Pop, Synthesis and anti-inflammatory evaluation of some new acyl-hydrazones bearing 2-aryl-thiazole, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 526–534.
- [11] A.A.M. Eissa, N.A.H. Farag, G.A.H. Soliman, Synthesis, biological evaluation and docking studies of novel benzopyranone congeners for their expected activity as anti-inflammatory, analgesic and antipyretic agents, *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 5059–5070.
- [12] R.S. Hoonur, B.R. Patil, D.S. Badiger, R.S. Vadavi, K.B. Gudasi, P.R. Dandawate, M.M. Ghaisas, S.B. Padhye, M. Nethaji, Transition metal complexes of 3-aryl-2-substituted 1,2-dihydroquinazolin-4(3H)-one derivatives: new class of analgesic and anti-inflammatory agents, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 2277–2282.
- [13] D.B. Lovejoy, D.R. Richardson, Novel "hybrid" iron chelators derived from aroylhydrazones and thiosemicarbazones demonstrate selective anti-proliferative activity against tumor cells, *Blood* 100 (2002) 666–676.

- [14] D.R. Richardson, E.H. Tran, P. Ponka, The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class as effective antiproliferative agents, *Blood* 86 (1995) 4295–4306.
- [15] L. Savini, L. Chiasserini, V. Travagli, C. Pellerano, E. Novellino, S. Cosentino, M.B. Pisano, New α -(*N*)-heterocyclhydrazone: evaluation of anticancer, anti-HIV and antimicrobial activity, *Eur. J. Med. Chem.* 39 (2004) 113–122.
- [16] P. Coltery, B. Keppler, C. Madoulet, B. Desoize, Gallium in cancer treatment, *Crit. Rev. Oncol. Hemat.* 42 (2002) 283–296.
- [17] A.V. Rudnev, L.S. Foteeva, C. Kowol, R. Berger, M.A. Jakupec, V.B. Arion, A.R. Timerbaev, B.K. Keppler, Preclinical characterization of anticancer gallium(III) complexes: solubility, stability, lipophilicity and binding to serum proteins, *J. Inorg. Biochem.* 100 (2006) 1819–1826.
- [18] I.C. Mendes, M.A. Soares, R.G. Dos Santos, C. Pinheiro, H. Beraldo, Gallium(III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: cytotoxic activity against malignant glioblastoma, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 1870–1877.
- [19] C.R. Kowol, R. Berger, R. Eichinger, A. Roller, M.A. Jakupec, P.P. Schmidt, V.B. Arion, B.K. Keppler, Gallium(III) and iron(III) complexes of α -*N*-heterocyclic thiosemicarbazones: synthesis, characterization, cytotoxicity, and interaction with ribonucleotide reductase, *J. Med. Chem.* 50 (2007) 1254–1265.
- [20] V.B. Arion, M.A. Jakupec, M. Galanski, P. Unfried, B.K. Keppler, Synthesis, structure, spectroscopic and in vitro antitumour studies of a novel gallium(III) complex with 2-acetylpyridine (4) *N*-dimethylthiosemicarbazone, *J. Inorg. Biochem.* 91 (2002) 298–305.
- [21] C.R. Chitambar, Gallium nitrate for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma, *Expert Opin. Investig. Drugs* 13 (2004) 531–541.
- [22] P.M. O'Connor, J. Jackman, I. Bae, T.G. Myers, S. Fan, M. Mutoh, D.A. Scudiero, A. Monks, E.A. Sausville, J.N. Weinstein, S. Friend, A.J. Fornace Jr., K.W. Kohn, Characterization of the p53 tumor suppressor pathway in cell lines of the National Cancer Institute anticancer drug screen and correlations with the growth-inhibitory potency of 123 anticancer agents, *Cancer Res.* 57 (1997) 4285–4300.
- [23] A.A.R. Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, Structural studies on zinc(II) complexes with 2-benzoylpyridine-derived hydrazones, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 2117–2122.
- [24] A.A.R. Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, Copper(II) and zinc(II) complexes with 2-benzoylpyridine-methyl hydrazone, *J. Mol. Struct.* 920 (2009) 97–102.
- [25] A.A.R. Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, F. Sives, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, Copper(II) and zinc(II) complexes with 2-formylpyridine-derived hydrazones, *Polyhedron* 28 (2009) 3797–3803.
- [26] G.L. Parrilha, R.P. Vieira, A.P. Rebollo, I.C. Mendes, L.M. Lima, E.J. Barreiro, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, Binuclear zinc(II) complexes with the anti-inflammatory compounds salicylaldehyde semicarbazone and salicylaldehyde-4-chlorobenzoyl hydrazone (H₂LASSBio-1064), *Polyhedron* 30 (2011) 1891–1898.
- [27] J.G. Da Silva, L.S. Azzolini, S.M.S.V. Wardell, J.L. Wardell, H. Beraldo, Increasing the antibacterial activity of gallium(III) against *Pseudomonas aeruginosa* upon coordination to pyridine-derived thiosemicarbazones, *Polyhedron* 28 (2009) 2301–2305.
- [28] K. Nakamoto, *Infrared Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, second ed. Wiley-Interscience, New York, 1970.
- [29] C.K. Johnson, ORTEP-II. Report ORNL-5318, Oak Ridge National Laboratory, TN, USA, 1976.
- [30] J. Patole, U. Sandbhor, S. Padhye, D.N. Deobagkar, C.E. Anson, A. Powell, Structural chemistry and in vitro antitubercular activity of acetylpyridine benzoyl hydrazone and its copper complex against *Mycobacterium smegmatis*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003) 51–55.
- [31] P.V. Bernhardt, G.J. Wilson, P.C. Sharpe, D.S. Kalinowski, D.R. Richardson, Tuning the antiproliferative activity of biologically active iron chelators: characterization of the coordination chemistry and biological efficacy of 2-acetylpyridine and 2-benzoylpyridine hydrazone ligands, *J. Biol. Inorg. Chem.* 13 (2008) 107–119.
- [32] T.E. Khalil, L. Labib, M.F. Iskander, L.S. Reffat, Organotin(IV) complex with tridentate ligands. II. Synthesis and characterization of monomethyltin(IV) and dimethyltin(IV) complexes with *N*-(2-pyridinylmethylene)benzoylhydrazine. The crystal and molecular-structure of monomethylchloro [*N*-(2-pyridinylmethylene)benzoylhydrazine] NNO(-1)tin(IV), *Polyhedron* 13 (1994) 2569–2578.
- [33] S. Choudhary, J.R. Morrow, Dynamic acylhydrazone metal ion complex libraries: a mixed-ligand approach to increased selectivity in extraction, *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 4096–4098.
- [34] Enraf-Nonius, COLLECT, Nonius BV, Delft, The Netherlands, 1997–2000.
- [35] Z. Otwinowski, W. Minor, in: C.W. Carter Jr., R.M. Sweet (Eds.), *Methods in Enzymology*, vol. 276, Academic Press, New York, 1997, pp. 307–326.
- [36] A.L. Spek, A. PLATON, Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, 1998.
- [37] G.M. Sheldrick, SHELXS-97. Program for Crystal Structure Resolution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997, See also: G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.* A 46 (1990) 467–473.
- [38] G.M. Sheldrick, SHELXL-97. Program for Crystal Structures Analysis, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997, See also: G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.* A 64 (2008) 112–122.
- [39] P. Van der Sluis, A.L. Spek, BYPASS: an effective method for the refinement of crystal structures containing disordered solvent regions, *Acta Crystallogr. Sect. A.* 46 (1999) 194–201.
- [40] J.A. Plumb, R. Miloroy, S.B. Kaye, Effects of the pH of 3-[4,5-dimethylazol-2-yl]-2,5-difenil-tetrazolium bromide-formazan absorption on chemosensitivity determined by a novel tetrazolium-based assay, *Cancer Res.* 49 (1989) 4435–4440.
- [41] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 3902–3909.
- [42] TINKER Software Tools for Molecular Design, 5.0, TINKER Software Tools for Molecular Design, 5.0 Jay W. Ponder Lab, Dept. of Biochemistry & Molecular Biophysics, Washington University School of Medicine, St. Louis, 2009.
- [43] R.G. Parr, W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [44] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648–5652.
- [45] C.T. Lee, W.T. Yang, R.G. Parr, Development of the colle-salveti correlation-energy formula into a functional of the electron-density, *Phys. Rev. B.* 37 (1988) 785–789.
- [46] R. Ditchfield, W.J. Hehre, J.A. Pople, Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules, *J. Chem. Phys.* 54 (1971) 724–728.
- [47] W.J. Hehre, R. Ditchfield, J.A. Pople, Self-consistent molecular-orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules, *J. Chem. Phys.* 56 (1972) 2257–2261.
- [48] C. Møller, M.S. Plesset, Note on an approximation treatment for many-electron systems, *Phys. Rev.* 46 (1934) 618–622.
- [49] A. Szabo, N.S. Ostlund, *Modern Quantum Chemistry. Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*, Dover Publication, Inc, New York, 1996.
- [50] A.E. Reed, F. Weinhold, Natural bond orbital analysis of near-Hartree-Fock water dimer, *J. Chem. Phys.* 78 (1983) 4066–4073.
- [51] A.E. Reed, R.B. Weinstock, F. Weinhold, Natural population analysis, *J. Chem. Phys.* 83 (1985) 735–746.
- [52] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, Gaussian 03, Revision C.02, Gaussian, Inc, Wallingford CT, 2004.
- [53] ChemAxon Program, Budapest, Hungary. Available from: www.chemaxon.com/products.html (accessed April 2011).
- [54] ALOGPS 2.1 Program. Available: <http://www.vcclab.org/lab/alogps> (accessed April 2011).



Complexation of 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones to copper(II) as an effective strategy for antimicrobial activity improvement

Angel A. Recio Despaigne^a, Fernanda B. Da Costa^a, Oscar E. Piro^b, Eduardo E. Castellano^c, Sonia R.W. Louro^d, Heloisa Beraldo^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901 Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata and Instituto IFLP (CONICET, CCT-La Plata), C.C. 67, 1900 La Plata, Argentina

^c Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, C.P. 369, 13560-970 São Carlos, SP, Brazil

^d Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 22453-900 Rio de Janeiro, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 January 2012

Accepted 9 March 2012

Available online 17 March 2012

Keywords:

Hydrazones

Copper(II) complexes

Antimicrobial activity

ABSTRACT

Complexes [Cu(2AcPh)Cl]·2H₂O (1), [Cu(2AcpClPh)Cl]·2H₂O (2), [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl] (3), [Cu(2BzPh)Cl] (4), [Cu(2BzpClPh)Cl] (5) and [Cu(2BzpNO₂Ph)Cl] (6) were obtained with 2-acetylpyridine-phenylhydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2AcpClPh), 2-acetylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2BzpClPh) and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2BzpNO₂Ph). The hydrazones showed poor antibacterial effect against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* but demonstrated significant antifungal activity against *Candida albicans*. Upon coordination to copper(II) the antibacterial and antifungal activities appreciably increased. H2AcpClPh, H2BzpClPh and their copper(II) complexes (2) and (5), respectively, were as active as fluconazole against *C. albicans*.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Hydrazones have attracted considerable attention due to their interesting chemical and structural properties. Their optical, thermal and photoelectrical properties have been reported in the literature [1]. They are employed in the polymer industry as plasticising agents, antioxidants and polymerisation initiators [2]. Hydrazone derivatives are reported to possess antimicrobial [3–5], anti-tubercular [6–8], anticonvulsant [9,10], anti-inflammatory [11,12], antiviral [13,14], and anti-proliferative [15,16] activities. In addition, some aroylhydrazones have shown cytotoxic activity and their binding to cellular Fe results in oxidative damage to vital bio-molecules [17]. Metal complexes of hydrazones also exhibit a wide range of pharmacological applications as antimicrobial [18–20], cytotoxic [21,22], and as DNA-binding agents [21,23].

In some cases, coordination to metal ions results in improvement of the pharmacological activity of organic compounds. In fact, as we previously reported, the antimicrobial activity of thiosemicarbazones significantly enhances upon coordination to copper(II) [24,25]. In a previous work we also demonstrated that upon complexation to *n*-butyltin and phenyltin the antibacterial and antifungal properties of 2-acetylpyridine-derived hydrazones substantially increase [26].

In addition, we also demonstrated that zinc(II) complexes with salicylaldehyde-derived hydrazones [27] proved to present a wider pharmacological profile as anti-inflammatory agents than their hydrazone ligands [28].

Here we report studies on the coordination of 2-acetylpyridine-phenylhydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2AcpClPh), 2-acetylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-*para*-chloro-phenylhydrazone (H2BzpClPh) and 2-benzoylpyridine-*para*-nitro-phenylhydrazone (H2BzpNO₂Ph) (see Fig. 1) to copper(II) as a strategy aimed to increase the hydrazones' antimicrobial activity. All compounds were tested against fungi *Candida albicans*, Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*, and Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Materials and methods

2.1. Apparatus

All common chemicals were purchased from Aldrich and used without further purification. Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Thermo-gravimetric curves were obtained with a TGA50H thermo-balance (Shimadzu) in the 25–750 °C temperature range, under dynamic nitrogen atmosphere and at a heating rate of 10 °Cmin⁻¹. An YSI model 31

* Corresponding author. Tel.: +55 31 3409 5771; fax: +55 31 3409 5700.

E-mail address: hberaldo@ufmg.br (H. Beraldo).

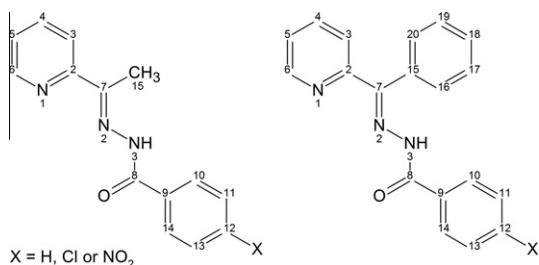


Fig. 1. Structural representation for 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones.

conductivity bridge was employed for molar conductivity measurements. Infrared spectra were recorded on a Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer using KBr plates ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) and Nujol mulls between CsI plates ($400\text{--}200\text{ cm}^{-1}$). The molecular structure of a copper complex derived from complex (3), $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**3a**) (see Section 2.3), was investigated using single-crystal X-ray diffraction methods. The measurements were performed on an Enraf–Nonius Kappa-CCD diffractometer with graphite-monochromated $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda = 0.71073\text{ \AA}$) radiation. Diffraction data were obtained (φ and ω scans with κ -offsets) with COLLECT [29]. Integration and scaling of the reflections were performed with HKL DENZO-SCALEPACK suite of programs [30]. The unit cell parameters were obtained by least-squares refinement based on the angular settings for all collected reflections using HKL SCALEPACK [30]. The data were corrected numerically for absorption with PLATON [31]. The structure was solved by direct methods with SHELXS-97 [32] and the molecular model refined by full-matrix least-squares procedure on F^2 with SHELXL-97 [33].

Electron paramagnetic resonance (EPR) spectra were obtained on a Bruker ESP300E equipment with a frequency modulation of 100 kHz and a magnetic field modulation of 0.4–1 mT. Room temperature spectra of the samples in the solid state and as DMSO solutions (1 mmol L^{-1}) were obtained in glass capillaries of 1.2 mm internal diameter. Frozen DMSO solution spectra were acquired at liquid N_2 temperature (77 K) in 3 mm internal diameter Teflon[®] tubes.

2.2. Syntheses of 2-acetylpyridine-phenylhydrazone (H2AcPh), 2-acetylpyridine-para-chloro-phenylhydrazone (H2AcpClPh), 2-acetylpyridine-para-nitro-phenylhydrazone (H2AcpNO₂Ph), 2-benzoylpyridine-phenylhydrazone (H2BzPh), 2-benzoylpyridine-para-chloro-phenylhydrazone (H2BzpcClPh) and 2-benzoylpyridine-para-nitro-phenylhydrazone (H2BzpcNO₂Ph)

The syntheses of all hydrazones were performed as reported previously [26,34].

2.3. Syntheses of the copper(II) complexes with H2AcPh, H2AcpClPh, H2AcpNO₂Ph, H2BzPh, H2BzpcClPh and H2BzpcNO₂Ph

The copper(II) complexes were obtained by refluxing an ethanol solution of the desired ligand with copper chloride in 1:1 ligand-to-metal molar ratio. The solids were washed with ethanol followed by diethylether and then dried *in vacuo*.

2.3.1. $[\text{Cu}(\text{2AcPh})\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1**) [chloro(2-acetylpyridinephenylhydrazonato) copper(II)] dihydrate**

Green solid. Yield: 90%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClCuN}_3\text{O}_3$): C, 45.04; H, 4.32; N, 11.26. Found: C, 44.99; H, 4.29; N, 11.24%. Thermogravimetry (30–750 °C range): Calc. for weight loss of two water molecules: 9.64%. Found: 9.83%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1600 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$ 1586 m; 1566 m; $\nu(\text{NC})$ 1493 s; $\rho(\text{py})$ 647 m;

$\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 415 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 332 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $37.50\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

2.3.2. $[\text{Cu}(\text{2AcpClPh})\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2**) [chloro(2-acetylpyridine-para-chloro-phenylhydrazonato) copper(II)] dihydrate**

Green solid. Yield: 90%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{CuN}_3\text{O}_3$): C, 41.24; H, 3.71; N, 10.31. Found: C, 41.50; H, 3.66; N, 10.26%. Thermogravimetry (30–750 °C range): Calc. for weight loss of two water molecules: 8.82%. Found: 8.94%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1602 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$; 1562 m; 1534 m; $\nu(\text{NC})$ 1485 s; $\rho(\text{py})$ 644 m; $\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 416 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 333 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $36.66\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

2.3.3. $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}]$ (3**) [chloro(2-acetylpyridine-para-nitro-phenylhydrazonato) copper(II)]**

Green solid. Yield: 87%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClCuN}_4\text{O}_3$): C, 43.99; H, 2.90; N, 14.66. Found: C, 43.55; H, 2.84; N, 14.3%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1600 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$; 1568 m; 1527 m; $\nu(\text{NC})$ 1495 m; $\rho(\text{py})$ 649 m; $\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 417 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 326 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $5.28\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

Upon re-crystallization of complex (3) in 1:9 DMSO:acetone $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (**3a**) was formed.

2.3.4. $[\text{Cu}(\text{2BzPh})\text{Cl}]$ (4**) [chloro(2-benzoylpyridinephenylhydrazonato) copper(II)]**

Green solid. Yield: 86%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClCuN}_3\text{O}$): C, 57.15; H, 3.53; N, 10.52. Found: C, 57.22; H, 3.41; N, 10.4%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1596 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$ 1596 m; 1552 m; 1487 m; $\nu(\text{NC})$ 1494 s; $\rho(\text{py})$ 645 m; $\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 421 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 304 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $21.56\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

2.3.5. $[\text{Cu}(\text{2BzpcClPh})\text{Cl}]$ (5**) [chloro(2-benzoylpyridine-para-chloro-phenylhydrazonato) copper(II)]**

Green solid. Yield: 86%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{CuN}_3\text{O}$): C, 52.61; H, 3.02; N, 9.69. Found: C, 52.75; H, 2.99; N, 9.85%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1594 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$ 1594 m; 1576 m; 1556 m; $\nu(\text{NC})$ 1495 s; $\rho(\text{py})$ 645 m; $\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 424 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 314 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $37.40\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

2.3.6. $[\text{Cu}(\text{2BzpcNO}_2\text{Ph})\text{Cl}]$ (6**) [chloro(2-benzoylpyridine-para-nitro-phenylhydrazonato) copper(II)]**

Green solid. Yield: 74%. *Anal. Calc.* ($\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClCuN}_4\text{O}_3$): C, 51.36; H, 2.95; N, 12.61. Found: C, 51.21; H, 2.94; N, 12.15%. Selected IR bands (cm^{-1}): $\nu(\text{CN})$ 1595 m; $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{CN})$ 1596 m; 1526 m; $\nu(\text{NC})$ 1497 s; $\rho(\text{py})$ 647 m; $\nu(\text{Cu}-\text{N}_{\text{azom}})$ 424 m; $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ 307 s. Molar conductivity ($1 \times 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, dimethylformamide, DMF): $20.68\ \Omega^{-1}\text{ cm}^2\text{ mol}^{-1}$.

2.4. *In vitro* antimicrobial activity

Antimicrobial activity was evaluated by minimum inhibitory concentration (MIC) using the macro-dilution test [35]. *S. aureus* ATCC6538 and *P. aeruginosa* ATCC9027 were stored in Mueller Hinton Broth and *E. faecalis* ATCC19433 in Brain Heart Infusion. They were sub-cultured for testing in the same medium and grown at 37 °C. Then the bacterial cells were suspended, according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines [36], to produce a suspension of about 10^5 CFU (colony forming units) mL^{-1} . *C. albicans* ATCC10231 stored in Sabouraud Broth was sub-cultured for testing in the same medium and grown at 37 °C. Then the yeast cells were suspended according to the McFarland protocol [36] in saline solution to produce a suspension of about 10^3 cells mL^{-1} .

For both the antibacterial and antifungal activity evaluations serial dilutions of the compounds, previously dissolved in DMSO, were prepared in test tubes. A 24-h old inoculum (100 μ L) was added to each tube. The MIC, defined as the lowest concentration of the test compound which inhibits the visible growth after 20 h, was determined after incubation at 37 °C. Tests using tetracycline (in the case of *S. aureus*), ciprofloxacin (in the case of *E. faecalis*) or fluconazole (in the case of *C. albicans*) as reference and DMSO as negative control were carried out in parallel. The final DMSO concentration never exceeded 1%. In all cases no inhibition was observed with 5% v/v DMSO. All tests were performed in triplicates with full agreement among the results.

3. Results and discussion

Microanalyses suggest the formation of $[\text{Cu}(\text{L})\text{Cl}] \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n = 0$ or 2) complexes, in which the hydrazones coordinate as anionic ligands. The molar conductivity data reveal that the complexes are non-electrolytes, in accordance with the proposed formulations. Crystallization water molecules in complexes (1) and (2) were confirmed by thermo-gravimetric analyses.

3.1. Structural characterization of $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (3a)

Crystal data and refinement results are summarized in Table 1. An ORTEP [37] drawing of 3a is shown in Fig. 2 and bond distances and angles around the metal are in Table 2.

The copper(II) ion is in a fivefold distorted pyramidal environment, coordinated at the pyramid base to an anionic hydrazone molecule acting as a tridentate ligand through the pyridine and imine nitrogens [$d(\text{Cu}-\text{N}1) = 2.049(2)$ Å, $d(\text{Cu}-\text{N}2) = 1.936(2)$ Å] and the carbonyl oxygen [$d(\text{Cu}-\text{O}1) = 1.994(1)$ Å], and to a chloride ion [$d(\text{Cu}-\text{Cl}) = 2.2364(6)$ Å]. The pyramid apex is occupied by the oxygen atom of a DMSO molecule [$d(\text{Cu}-\text{O}) = 2.267(2)$ Å]. On the

Table 1
Crystal data and structure refinement results for $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (3a).

Compound	$[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (3a)
Empirical formula	$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClCuN}_4\text{O}_4\text{S}$
Formula weight	460.39
Temperature (K)	296(2)
Wavelength (Å)	0.71073
Crystal system	monoclinic
Space group	$P2_1/c$
Unit cell dimensions	
a (Å)	12.8481(4)
b (Å)	7.8598(2)
c (Å)	19.0296(5)
β (°)	107.587(2)
Volume (Å ³)	1831.85(9)
Z , D_{calc} (mg/m ³)	4, 1.669
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	1.483
$F(000)$	940
Crystal size (mm ³)	$0.046 \times 0.126 \times 0.271$
Crystal shape/color	prism/green
Theta range for data collection (°)	2.82–25.74
Index ranges	$-15 \leq h \leq 15$, $-9 \leq k \leq 9$, $-23 \leq l \leq 23$
Reflections collected/unique (R_{int})	18528/3478 (0.05)
Observed reflections [$I > 2\sigma(I)$]	2981
Completeness to $\theta = 26.00^\circ$ (%)	99.0
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Weights, w	$[\sigma^2(F_o^2) + (0.0469P)^2 + 0.56P]^{-1}$ $P = [\text{Max}(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$, $P = [\text{Max}(F_o^2, 0) + 2F_c^2]/3$
Data/restraints/parameters	3478/0/247
Goodness-of-fit on F^2	1.037
Final R indices ^a [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0292$, $wR_2 = 0.0754$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0364$, $wR_2 = 0.0800$
Largest difference in peak and hole (eÅ ⁻³)	0.232 and -0.677

^a $R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR_2 = [\sum w(|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / \sum w(|F_o|^2)^2]^{1/2}$.

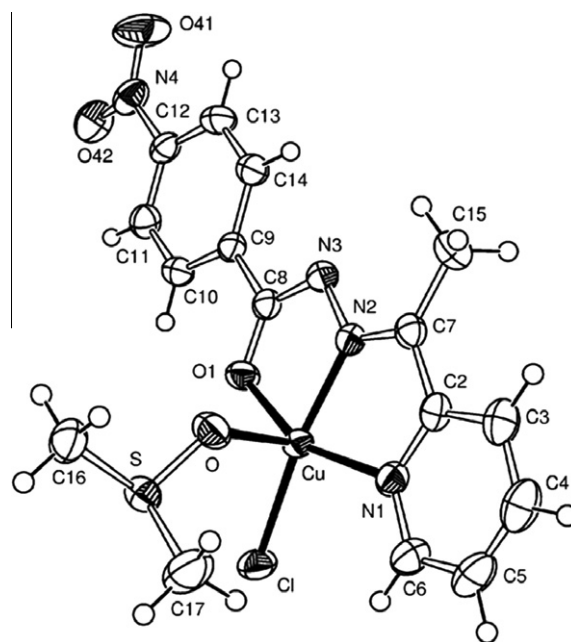


Fig. 2. Drawing of $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (3a) showing the labeling of the non-H atoms and their displacement ellipsoids at the 50% probability level. Copper-ligand bonds are indicated by full lines.

Table 2
Selected bond distances (Å) and angles (°) in the molecular structures of $[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ and $[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ (3a).

Compound	$[\text{Cu}(\text{2FopNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$ [39]	$[\text{Cu}(\text{2AcpNO}_2\text{Ph})\text{Cl}(\text{DMSO})]$
<i>Bond lengths</i>		
N1–C2	1.363(3)	1.356(3)
C2–C7	1.459(4)	1.474(3)
N2–C7	1.284(3)	1.290(3)
N2–N3	1.363(3)	1.365(2)
N3–C8	1.331(3)	1.327(3)
O1–C8	1.285(3)	1.284(2)
Cu–N1	2.043(2)	2.049(2)
Cu–N2	1.942(2)	1.936(2)
Cu–O1	1.988(2)	1.994(1)
Cu–Cl	2.2354(7)	2.2364(6)
Cu–O	2.242(2)	2.267(2)
<i>Bond angles</i>		
N1–C2–C7	114.2(2)	115.00(17)
C2–C7–N2	114.8(2)	112.55(18)
C7–N2–N3	122.9(2)	122.01(17)
N2–N3–C8	107.3(2)	107.91(16)
N3–C8–O1	125.1(2)	125.45(18)
C6–N1–M	129.2(2)	127.86(16)
C2–N1–M	112.3(2)	112.19(13)
C7–N2–M	118.6(2)	120.32(14)
N3–N2–M	118.5(2)	117.66(12)
C8–O1–M	110.6(2)	109.70(13)
N1–Cu–N2	79.86(9)	79.24(7)
N2–Cu–O1	78.52(8)	79.15(6)
N1–Cu–O1	158.06(8)	156.81(6)
N2–Cu–Cl	162.64(7)	168.92(5)
O1–Cu–Cl	100.63(5)	100.21(4)
N1–Cu–Cl	98.88(6)	99.38(5)
N1–Cu–O	93.78(8)	88.56(6)
N2–Cu–O	95.06(8)	93.12(6)
O1–Cu–O	91.80(7)	100.91(6)
O–Cu–Cl	102.29(5)	97.84(4)

pyramid base, *trans* O1–Cu–N1 and N2–Cu–Cl bond angles are 156.81(6) and 168.92(5)°, respectively, and *cis* L–Cu–L angles are in the 79.15(6)–100.21(4)° range. The tau parameter, $\tau = (\beta - \alpha)/60$ (β is the N2–Cu–Cl angle and α is the O1–Cu–N1 angle), which

defines the degree of trigonality, was determined as 0.2018, in accordance with distorted square pyramidal structure [38].

The hydrazone anion is nearly planar [*rms* deviation of atoms from the least-squares plane of 0.060 Å] with the chlorine and metal ion laying close onto this plane [at 0.020(2) and 0.233(1) Å, respectively].

As expected, the molecular structure is very similar to the closely related [chloro(dimethylsulfoxide)(2-formylpyridine-*para*-nitrophenylhydrazone) copper(II)] [Cu(2FopNO₂Ph)Cl(DMSO)], which only differs in that a H-atom rather than a methyl group is attached to the carbon C7 [39]. In fact, the best least-square superposition of the common skeletal structure of [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl] and [Cu(2FopNO₂Ph)Cl] [39] fragments, performed with the Kabsh's procedure [40], leads to a *rms* deviation between homologous non-H atoms of 0.142 Å. Small deviations are also observed when comparing the more weakly bonded DMSO apical ligand. In fact, the Cu–O bond distance is 0.025(2) Å larger in the present complex as compared with that containing the formyl derivative [39] and L–Cu–O bond angles differ in up to 9.11(8)°.

C8–O1 and C8–N3 distances of 1.284(2) and 1.327(3) Å are consistent with the formal partial double bond character expected upon deprotonation at N3 to form the anionic ligand.

3.2. Infrared spectra

The $\nu(\text{C}=\text{C}) + \nu(\text{C}=\text{N})$ composed mode observed at 1580–1585 cm^{-1} in the spectra of the hydrazones shifts to 1487–1604 cm^{-1} in the spectra of the complexes, indicating coordination of the azomethine nitrogen N2 [39,41]. The $\nu(\text{C}=\text{O})$ absorption at 1660–1680 cm^{-1} in the spectra of the uncomplexed hydrazones disappears in those of the complexes, in agreement with coordination of an enolate oxygen. The pyridine in-plane deformation mode at 610–620 cm^{-1} in the spectra of the free hydrazones shifts to 644–649 cm^{-1} in those of the complexes, suggesting coordination of the heteroaromatic nitrogen [39,41]. New absorptions at 415–424 cm^{-1} and 286–305 cm^{-1} were attributed to $\nu(\text{Cu}-\text{N})$ and $\nu(\text{Cu}-\text{Npy})$ [42], respectively, and bands in the 305–333 cm^{-1} range were assigned to $\nu(\text{Cu}-\text{O})$. Therefore, the infrared data for

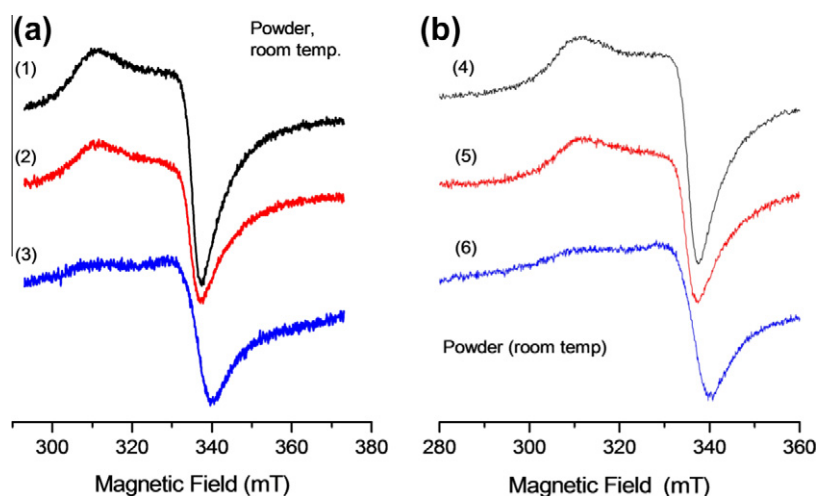


Fig. 3. EPR spectra of the Cu(II) complexes (1–6) in the solid state at room temperature.

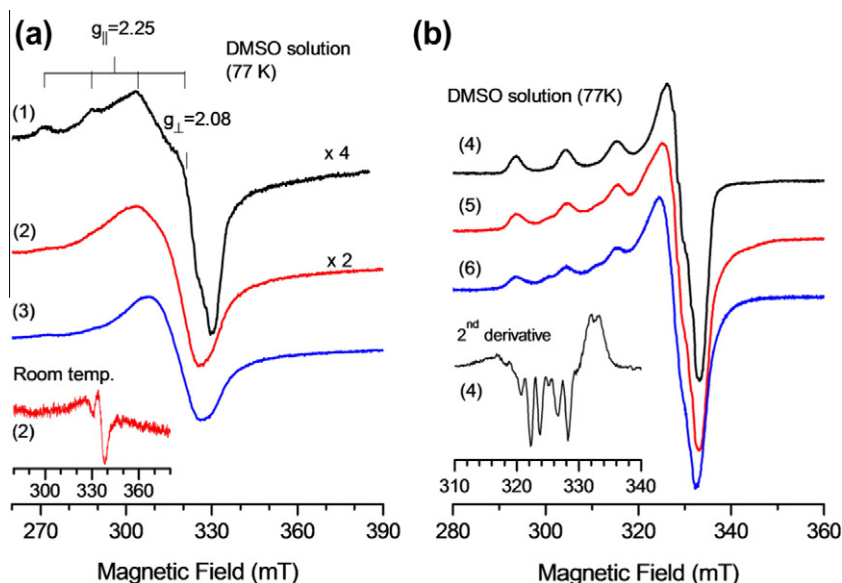


Fig. 4. EPR spectra of DMSO solutions of the Cu(II) complexes (1–6) (~1 mM) at 77 K. Insets: (a) room temperature spectrum of 2 in DMSO, (b) second derivative spectrum of 4 at the perpendicular region.

Table 3
Minimum inhibitory concentrations (MIC) of the hydrazones and their copper(II) complexes.

Compound	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
H2AcPh	428	>819	422	179
[Cu(2AcPh)Cl]·2H ₂ O (1)	49	131	>535	229
H2AcpClPh	197	>738	383	86
[Cu(2AcpClPh)Cl]·2H ₂ O (2)	10	122	>505	52
H2AcpNO ₂ Ph	353	>696	337	111
[Cu(2AcpNO ₂ Ph)Cl] (3)	>673	>523	>554	220
H2BzPh	177	>657	>670	105
[Cu(2BzPh)Cl] (4)	20	62	>510	107
H2BzpClPh	>619	>601	>613	69
[Cu(2BzpClPh)Cl] (5)	114.1	237	232	47
H2BzpNO ₂ Ph	>600.5	>577	>577	>750
[Cu(2BzpNO ₂ Ph)Cl] (6)	140.6	112	>441	306
CuCl ₂ ·2H ₂ O	>656	>2322	>1255	>1671
Tetracycline hydrochloride	0.36	–	15	–
Fluconazole	–	–	–	79
Ciprofloxacin	–	0.25	–	–

the complexes indicate coordination of the hydrazones through the Npy–N–O chelating system and also the presence of a chloride ion at the fourth coordination site.

3.3. EPR spectra

The EPR spectra of **1–6** in the solid state at room temperature are presented in Fig. 3. They are all very similar, and are characteristic of mononuclear Cu(II) complexes with axial symmetry. The values of g_{\parallel} and g_{\perp} , 2.24 and 2.08, respectively, are in the range for this kind of complexes [43]. The values are consistent with a $d_{x^2-y^2}$ ground state. The spectra lack the 4-line hyperfine splitting due to the interaction with Cu(II) nuclear magnetic moment ($I = 3/2$), as it is frequently the case for concentrated solid samples where exchange interactions are present [44,45]. Given that these are magnetically non-diluted systems, the lines are markedly broadened due to magnetic dipole–dipole interactions.

The EPR spectra of DMSO solutions of the complexes were recorded at 77 K (Fig. 4). The spectrum of **1** (Fig. 4a) is a superposition of an axially symmetric component that shows three of the 4-line hyperfine splitting, with parameters $g_{\parallel} = 2.25$, $g_{\perp} = 2.08$, $A_{\parallel} = 17.0$ mT, and a very broad component; those of **2** and **3** display only the broad component, where the parallel region is barely noticed. The spectra of **4**, **5** and **6** (Fig. 3b), however, do not present the broad component, and show the hyperfine splitting features at the parallel region. These results show that the complexes with 2-acetylpyridine derivatives aggregate in DMSO, while those with 2-benzoylpyridine derivatives do not, probably because of the bulkier substituents. Complex **4** presents a single component spectrum with $g_{\parallel} = 2.265$, $g_{\perp} = 2.064$, and $A_{\parallel} = 16.3$ mT. Complexes **5** and **6** display, besides the spectrum of complex **4**, a second minor component with $g_{\parallel} = 2.194$ and $A_{\parallel} = 15.6$ mT, indicating two Cu(II) microenvironments.

Although Cu(II) interacts with at least two nonequivalent N atoms in complexes **1–6** (N_1 and N_2 in Fig. 2), the spectra of **1–3** do not exhibit resolved nitrogen super-hyperfine structure (Fig. 4a). Nitrogen super-hyperfine structure is noticed in the perpendicular region on the spectra of **4–6** (Fig. 4b). The inset presents the 2nd derivative spectrum of **4** at this region, which reveals the super-hyperfine splitting constant $A_N = 1.65$ mT, but the number of super-hyperfine lines is unclear mainly because of the unresolved hyperfine splitting at the perpendicular region.

DMSO solutions of the complexes at room temperature show identical broad EPR spectra (inset of Fig. 4a), indicating absence of motional narrowing.

3.4. Antimicrobial activity

The minimum inhibitory concentrations (MICs) of the hydrazones and their copper(II) complexes against *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* and are reported in Table 3.

The hydrazones showed poor activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria with values of MIC higher than those of the control drugs. The compounds were inactive against *E. faecalis*. Nevertheless, they showed significant activity against *C. albicans*. In fact, the determined MIC values of H2AcpClPh ($86 \mu\text{mol L}^{-1}$) and H2BzpClPh ($69 \mu\text{mol L}^{-1}$), were comparable to that of the control drug fluconazole ($79 \mu\text{mol L}^{-1}$). Hence the presence of a *para*-chloro substituent in the phenyl ring seems to contribute to an increase of antifungal activity in these compounds.

In general, the antimicrobial activities of the compounds improved after coordination to copper(II). The best results were obtained for complexes **1** ($\text{MIC} = 49 \mu\text{mol L}^{-1}$), **2** ($\text{MIC} = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$) and **4** ($\text{MIC} = 20 \mu\text{mol L}^{-1}$) against *S. aureus*, and **4** ($\text{MIC} = 62 \mu\text{mol L}^{-1}$) against *E. faecalis*, respectively. Unfortunately, these MIC values are higher than those of the control drugs tetracycline ($\text{MIC} = 0.36 \mu\text{mol L}^{-1}$ against *S. aureus*) and ciprofloxacin ($\text{MIC} = 0.25 \mu\text{mol L}^{-1}$ against *E. faecalis*), respectively.

Complexes **2** ($\text{MIC} = 52 \mu\text{mol L}^{-1}$) and **5** ($\text{MIC} = 47 \mu\text{mol L}^{-1}$) were more active than their respective hydrazones ($\text{MIC} = 86$ and $69 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively) against *C. albicans*. The MIC values of the hydrazones are similar to that of the control drug fluconazole ($\text{MIC} = 79 \mu\text{mol L}^{-1}$), while those of **2** and **5** are lower than that of fluconazole, hence suggesting that the complexes could be interesting as new antifungal drug candidates.

4. Conclusions

The studied 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones showed poor antimicrobial effect against Gram-positive *S. aureus* and *E. faecalis* and Gram-negative *P. aeruginosa* bacteria, but exhibited significant antifungal activity against *C. albicans*. In general, upon coordination to copper(II) the antibacterial effect against *S. aureus* and *E. faecalis* appreciably increased, although the MIC values for the complexes were higher than those determined for the control drugs tetracycline and ciprofloxacin. Coordination to copper(II) resulted in complexes with increased antifungal activity against *C. albicans* than fluconazole used as control.

As already mentioned, we demonstrated that upon coordination to copper(II) the antimicrobial activity of 2-acetylpyridine- and 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones increases [24,25]. The enhancement of the antimicrobial activities of hydrazone

analogs on complexation with copper(II) suggests that coordination of hydrazones to copper(II) could also represent an interesting strategy for antimicrobial dose reduction.

The increased use of antibacterial and antifungal agents in recent years has resulted in the development of resistance to these drugs. The important clinical implication of resistance has led to renewed interest in the development of novel antibacterial and antifungal agents [46]. Hence the studied compounds could constitute alternatives as drug candidates for the treatment of microbial diseases.

Acknowledgements

The authors are grateful to CNPq, INCT-INOFAR (Proc. CNPq 573.364/2008-6), FAPESP (Brazil) and to CONICET (Argentina) for financial support. O.E.P. is a Research Fellow of CONICET, Argentina. The authors thank Prof. Eliane Wajnberg for the use of the EPR spectrometer at CBPF, Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, and useful discussions.

Appendix A. Supplementary data

CCDC 863627 contains supplementary crystallographic data for [Cu(2AcpNO₂Ph)Cl(DMSO)] (**3a**). These data can be obtained free of charge via <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>, or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336 033; or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

References

- [1] A. Michalevičiūtė, R. Lygaitis, J.V. Gražulevičius, G. Buika, V. Jankauskas, A. Undžėnas, E. Fataraitė, *Synthetic Met.* 159 (2009) 223.
- [2] G.A. Ibañez, G.M. Escandar, A.C. Olivieri, *J. Mol. Struct.* 605 (2002) 17.
- [3] S. Rollas, N. Gulerman, H. Erdeniz, *Farmaco* 57 (2002) 171.
- [4] P. Vicini, F. Zani, P. Cozzini, I. Doytchinova, *Eur. J. Med. Chem.* 37 (2002) 553.
- [5] E. Viñuelas-Zahinos, M.A. Maldonado-Rogado, F. Luna-Giles, F.J. Barros-García, *Polyhedron* 27 (2008) 879.
- [6] N. Karali, A. Kocabalkanli, A. Gürsoy, Ö. Ates, *Farmaco* 57 (2002) 589.
- [7] D. Sriram, P. Yogeewari, R.V. Devakaram, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 3113.
- [8] D. Sriram, P. Yogeewari, K. Madhu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16 (2006) 876.
- [9] S.K. Sridhar, S.N. Pandeya, J.P. Stables, A. Ramesh, *Eur. J. Pharm. Sci.* 16 (2002) 129.
- [10] S.G. Kückgüzel, A. Mazi, F. Sahin, S. Öztürk, J. Stables, *Eur. J. Med. Chem.* 38 (2003) 1005.
- [11] A.R. Todeschini, A.L.P. de Miranda, K.C.M. da Silva, S.C. Parrini, E.J. Barreiro, *Eur. J. Med. Chem.* 33 (1998) 189.
- [12] H.J.C. Bezerra-Netto, D.I. Lacerda, A.L.P. Miranda, H.M. Alves, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 7924. and references therein.
- [13] O.I. El-Sabbagh, H.M. Rady, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 3680.
- [14] P. Vicini, M. Incerti, P. La Colla, R. Loddò, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 1801.
- [15] P. Vicini, M. Incerti, I.A. Doytchinova, P. La Colla, B. Busonera, R. Loddò, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 624.
- [16] M. Varache-Lembège, S. Moreau, S. Larrouture, D. Montaudon, J. Robert, A. Nuhrich, *Eur. J. Med. Chem.* 43 (2008) 1336.
- [17] P.V. Bernhardt, L.M. Caldwell, T.B. Chaston, P. Chin, D.R. Richardson, *J. Biol. Inorg. Chem.* 8 (2003) 866.
- [18] N. Filipović, H. Borrmann, T. Todorović, M. Borna, V. Spasojević, D. Sladić, I. Novaković, K. Anđjelković, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 1996.
- [19] M.C. Rodríguez-Argüelles, S. Mosquera-Vásquez, P. Tourón-Touceda, J. Sanmartín-Matalobos, A.M. García-Deibe, M. Belicchi-Ferrari, *J. Inorg. Biochem.* 101 (2007) 138.
- [20] M.A. Affan, S.W. Foo, I. Jusoh, S. Hanapi, E.R.T. Tiekink, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 5031.
- [21] Z.Y. Yang, B.D. Wang, Y.H. Li, J. J. Organomet. Chem. 691 (2006) 4159.
- [22] D.K. Johnson, T.B. Murphy, N.J. Rose, W.H. Goodwin, L. Pickart, *Inorg. Chim. Acta* 67 (1982) 159.
- [23] V. Mahalingam, N. Chitrapriya, F.R. Fronczek, K. Natarajan, *Polyhedron* 27 (2008) 1917.
- [24] I.C. Mendes, J.P. Moreira, A.S. Mangrich, S.P. Balena, B.L. Rodrigues, H. Beraldo, *Polyhedron* 26 (2007) 3263.
- [25] I.C. Mendes, J.P. Moreira, N.L. Speziali, A.S. Mangrich, J.A. Takahashi, H. Beraldo, *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 1571.
- [26] A.A. Recio-Despaigne, L.F. Vieira, I.C. Mendes, F.B. Da Costa, N.L. Speziali, H. Beraldo, *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (2010) 1247.
- [27] G.L. Parrilha, R.P. Vieira, A.P. Rebolledo, I.C. Mendes, L.M. Lima, E.J. Barreiro, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *Polyhedron* 30 (2011) 1891.
- [28] W. Bispo Júnior, M.S. Alexandre-Moreira, M.A. Alves, A. Perez-Rebolledo, G.L. Parrilha, E.E. Castellano, O.E. Piro, E.J. Barreiro, L. Moreira Lima, H. Beraldo, *Molecules* 16 (2011) 6902.
- [29] Enraf-Nonius (1997–2000), COLLET, Nonius BV, Delft, The Netherlands.
- [30] Z. Otwinowski, W. Minor, in: C.W. Carter Jr., R.M. Sweet (Eds.), *Methods in Enzymology*, vol. 2, Academic Press, New York, 1997, p. 307.
- [31] A.L. Spek, PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University Utrecht, The Netherlands, 1998.
- [32] G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Resolution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997. See also: G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A46* (1990) 467–473..
- [33] G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for Crystal Structure Resolution, University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997. See also: G.M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A64* (2008) 112–122.
- [34] A.A. Recio-Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 2117.
- [35] National Committee for Clinical Laboratory Standards, Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, in: NCCLS Document M7–A6, Pennsylvania, USA, 2003, ISBN: 1-56238-486-4.
- [36] National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, in: NCCLS Document M27-EMA2 NCCLS, Pennsylvania, USA, 2002, ISBN: 1-56238-469-4.
- [37] C.K. Johnson, ORTEP, Report ORNL-5138, Oak Ridge, TN, 1976.
- [38] A.W. Addison, R.T. Nagaswara, J. Reedijk, J. Van Rijn, G.C. Verschoor, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 7 (1984) 1349.
- [39] A.A. Recio-Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, F. Sives, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *Polyhedron* 28 (2009) 3797.
- [40] W. Kabsch, *Acta Crystallogr., Sect. A32* (1976) 922.
- [41] A.A. Recio-Despaigne, J.G. Da Silva, A.C.M. Do Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo, *J. Mol. Struct.* 920 (2009) 97.
- [42] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, forth ed., Wiley, New York, 1986.
- [43] P.R. Bontchev, B.B. Ivanova, R.P. Bontchev, D.R. Mehandjiev, *Polyhedron* 20 (2001) 231.
- [44] B.J. Hathaway, D.E. Billing, *Coord. Chem. Rev.* 5 (1970) 143.
- [45] K.O. Ferraz, S.M.S.V. Wardell, J.L. Wardell, S.R.W. Louro, H. Beraldo, *Spectrochimica Acta Part A* 73 (2009) 140.
- [46] M.A. Ghannom, L.B. Rice, *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (1999) 501.