



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANÁLISE CRISTALOGRAFICA E POTENCIAL CITOTÓXICO DE COMPLEXOS
DE COBRE(II) COM UMA HIDRAZONA DERIVADA DA VITAMINA B6

LUCAS MENHÔ DIAS

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLAUDIA CRISTINA GATTO

BRASÍLIA – DF, BRASIL

2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ANÁLISE CRISTALOGRÁFICA E POTENCIAL CITOTÓXICO DE COMPLEXOS
DE COBRE(II) COM UMA HIDRAZONA DERIVADA DA VITAMINA B6

Defesa de Dissertação de Mestrado
apresentado ao Instituto de Química da
Universidade de Brasília como requisito
para a obtenção do título de mestre em
Química.

LUCAS MENHÔ DIAS

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLAUDIA CRISTINA GATTO

BRASÍLIA – DF, BRASIL

2024

RESUMO

Complexos metálicos têm obtido grande importância no ramo da Química Bioinorgânica devido aos seus grandes potenciais farmacológicos que eles apresentam. O presente trabalho relaciona a influência de diversos sais de cobre(II) na formação e nas propriedades de complexos metálicos de cobre(II) com um ligante hidrazona derivado da vitamina B6, conhecido como Piridoxal benzoilhidrazona (PLBHZ). Foram sintetizados quatro novos complexos, sendo eles: $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1), $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2), $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot\text{NO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (3) e $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4). Os complexos tiveram suas estruturas cristalinas elucidadas por difração de raios X de monocristal e foram caracterizados também por espectrometria de massas, espectroscopia na região do ultravioleta visível, espectroscopia de infravermelho em ATR e análise elementar. Observou-se que em todos os complexos o átomo de cobre(II) apresenta-se pentacoordenado com uma geometria pirâmide de base quadrada distorcida coordenado a uma molécula da base de Schiff atuando de forma tridentada pelo sistema doador-ONO. Íons provenientes do sal de cobre ou moléculas de solvente ocupam os outros sítios de coordenação do centro metálico. As interações de empilhamento $\pi\cdots\pi$ e ligações de hidrogênio intra e intermoleculares foram investigadas pela análise da superfície Hirshfeld através das funções d_{norm} , d_i e d_e , gráficos de impressão digital e mapas de interação, obtendo através de um padrão de cores e gráficos informações sobre as interações existentes entre os complexos sintetizados. A atividade biológica dos complexos sintetizados foi testada frente a bactérias Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Escherichia coli*) no qual foi possível observar um resultado satisfatório do ligante livre e dos quatro complexos sintetizados quanto a atividade citotóxica corroborando com os resultados de análise realizado por docking molecular, no qual foi possível observar por dados computacionais como o ligante e cada um dos complexos interage com as proteínas alvo e as bactérias que foram testadas. Os resultados obtidos através da análise biológica estão de acordo com o que foi estudado através dos estudos de docking molecular, demonstrando que o ligante livre e os complexos são possíveis potenciais farmacológicos frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Palavras-chaves: Vitamina B6, hidrazonas, complexos de cobre(II), difração de raios X, superfície de Hirshfeld, atividade biológica e docking molecular.

ABSTRACT

Metal complexes have gained great importance in the field of bioinorganic chemistry due to their great pharmacological potential. The present work relates the influence of various copper(II) salts on the formation and properties of copper(II) metal complexes with a hydrazone ligand derived from vitamin B6, known as pyridoxal benzoylhydrazone (PLBHZ). Four new complexes were synthesized: $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1), $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2), $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}] \cdot \text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) and $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4). The crystal structures of the complexes were elucidated by single-crystal X-ray diffraction and they were also characterized by mass spectrometry, ultraviolet-visible spectroscopy, ATR infrared spectroscopy and elemental analysis. It was observed that in all the complexes the copper(II) atom is pentacoordinated with a distorted square-base pyramid geometry coordinated to a Schiff base molecule acting in a tridentate manner through the donor-ONO system. Ions from the copper salt or solvent molecules occupy the other coordination sites of the metal center. The stacking interactions $\pi \cdots \pi$ and intra- and intermolecular hydrogen bonds were investigated by Hirshfeld surface analysis using the d_{norm} , d_i and d_e functions, fingerprint graphs and interaction maps, obtaining information on the interactions between the synthesized complexes through a color pattern and graphs. The biological activity of the synthesized complexes was tested against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria, in which it was possible to observe a satisfactory result for the free ligand and the four synthesized complexes in terms of cytotoxic activity, corroborating the results of the analysis carried out by molecular docking, in which it was possible to observe by computational data how the ligand and each of the complexes interacts with the target proteins and the bacteria that were tested. The results obtained through the biological analysis are in line with what was studied through the molecular docking studies, demonstrating that the free ligand and the complexes are possible pharmacological potentials against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Keywords: Vitamin B6, hydrazones, copper(II) complexes, X-ray diffraction, Hirshfeld surface, biological activity and molecular docking.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Piridoxal.....	3
1.2. Compostos de cobre(II)	8
2. OBJETIVOS	11
3. PARTE EXPERIMENTAL	13
3.1. Materiais e Métodos	14
3.1.1. Reagentes e Solventes	14
3.1.2. Difração de Raios X de Monocristal	15
3.1.3. Espectrometria de Massas	16
3.1.4. Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível.....	16
3.1.5. Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	16
3.1.6. Análise Elementar CHN	16
3.1.7. Ponto de Fusão (p.f.)	16
3.1.8 Cálculos computacionais	16
3.1.9. Análise biológica	16
3.1.10. Docking Molecular	17
3.2. Síntese dos Ligantes	17
3.2.1. Síntese do ligante piridoxal-benzoilhidrazona (PLBHZ)	17
3.3. Síntese dos complexos	18
3.3.1. Síntese do complexo [CuCl (PLBHZ)] (1)	18
3.3.2. Síntese do complexo [CuBr ₂ (PLBHZ)] (2).....	19
3.3.3. Síntese do complexo [CuCl(PLBHZ)H ₂ O]·NO ₃ ·H ₂ O (3).....	19
3.3.4. Síntese do complexo [CuSO ₄ (PLBHZ)H ₂ O]·3H ₂ O (4).....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20

4.1. Caracterização química e estrutural dos complexos [CuCl ₂ (PLBHZ)] (1) e [CuBr ₂ (PLBHZ)] (2).....	21
4.2. Caracterização química e estrutural dos complexos [CuCl(PLBHZ)H ₂ O]·NO ₃ ·H ₂ O (3) e [CuSO ₄ (PLBHZ)H ₂ O]·3H ₂ O (4).....	25
4.3. Análise das interações $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking.....	29
4.4. Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	30
4.5. Espectroscopia vibracional no infravermelho.....	33
4.6. Espectrometria de massa - ESI(+)-MS(/MS).....	36
4.7. Análise da superfície de Hirshfeld.....	40
4.8. Mapas de interações total.....	44
4.9. Análise biológica	45
4.10. Estudo de docking molecular	47
5. CONCLUSÕES	52
6. REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	59
ANEXO I. Distribuição isotópica do ligante PBLHZ e dos complexos (1-4)....	61
ANEXO II. Artigo publicado na revista <i>Frontiers in Chemistry</i>	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação geral da estrutura de uma hidrazona em seu tautômero cetônico, sendo os grupos R = grupos alquilas ou arilas.....	3
Figura 2	Representação da estrutura do piridoxal derivado da vitamina B6.....	3
Figura 3	Representação dos tipos de Vitamina B6 existentes e seus tipos de conversão.....	4
Figura 4	Projeção ORTEP do ligante livre (PLBHZ).....	5
Figura 5	Estrutura cristalina dos ligantes H ₂ L ¹ e H ₂ L ²	6
Figura 6	Estrutura cristalina do complexo de estanho [Sn(L)(CH ₃) ₂] com ligante hidrazona H ₂ L.....	7
Figura 7	Estrutura dos ligantes H ₂ L ¹⁻³	7
Figura 8	Projeção ORTEP do complexo de molibdênio.....	8
Figura 9	Esquema reacional da síntese dos ligantes HL ¹⁻³	9
Figura 10	Projeção ORTEP dos três complexos de cobre sintetizados.....	9
Figura 11	Representação da estrutura cristalina do complexo [CuL(μ-CH ₃ COO)] ₂	10
Figura 12	Mecanismo proposto para a reação da síntese do agente complexante PLBHZ.....	19
Figura 13	Esquema geral das reações entre o agente complexante PLBHZ e diferentes sais de cobre(II) na formação dos complexos (1-4).....	22
Figura 14	Projeção ORTEP do complexo (1) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 50%.....	23
Figura 15	Projeção ORTEP do complexo (2) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 50%.....	23
Figura 16	Representação dos poliedros de coordenação dos complexos (1) e (2).....	24
Figura 17	Representação das celas unitárias dos complexos (1) e (2) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial P ₂ ₁ /c extraído da <i>International Tables for Crystallography</i>	26
Figura 18	Projeção ORTEP da estrutura cristalina do complexo (3). Elipsóides térmicas representadas a um nível de 50% de probabilidade.....	27
Figura 19	Projeção ORTEP da estrutura cristalina do complexo (4). Elipsóides térmicas representadas a um nível de 50% de probabilidade. Uma molécula de água de cristalização foi omitida por motivos de clareza da figura.....	27
Figura 20	Representação dos poliedros de coordenação dos complexos (3) e (4).....	28
Figura 21	Representação da cela unitária do complexo (3) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial P ₂ ₁ /n extraído da <i>International Tables for Crystallography</i>	29

Figura 22	Representação da cela unitária do complexo (4) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial P21/c extraído da <i>International Tables for Crystallography</i>	30
Figura 23	Tipos de empilhamentos que podem ocorrer nas interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking.....	31
Figura 24	Interações $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking presentes nos complexos (1-4) (linha tracejada).....	31
Figura 25	Espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível do ligante livre no solvente MeOH (2×10^{-5} mol.L ⁻¹).....	32
Figura 26	Espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível dos complexos (1-4) no solvente MeOH (2×10^{-5} mol.L ⁻¹).....	32
Figura 27	Espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível dos complexos (1-4) no solvente DMF (2×10^{-5} mol.L ⁻¹).....	34
Figura 28	Espectro FT-IR para o ligante PLBHZ.....	35
Figura 29	Espectro FT-IR para o complexo (1).....	36
Figura 30	Espectro FT-IR para o complexo (2).....	36
Figura 31	Espectro FT-IR para o complexo (3).....	37
Figura 32	Espectro FT-IR para o complexo (4).....	37
Figura 33	Espectros de ESI-MS e de ESI-MSMS para o ligante PLBHZ.....	38
Figura 34	Espectros de ESI-MS para os complexo (1)	39
Figura 35	Espectro de ESI-MSMS para o complexo (1).....	39
Figura 36	Espectro de ESI-MSMS para o complexo (2).....	40
Figura 37	Espectro de ESI-MSMS para o complexo (3).....	40
Figura 38	Espectro de ESI-MSMS para o complexo (4).....	40
Figura 39	Superfície de Hirshfeld dos complexos (1-4) na função d_{norm}	42
Figura 40	Superfície de Hirshfeld dos complexos (1-4) na função shape index.....	42
Figura 41	Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (1).....	44
Figura 42	Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (2).....	44
Figura 43	Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (3).....	45
Figura 44	Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (4).....	45
Figura 45	Representação dos mapas de interações totais dos complexos (1-4).....	46
Figura 46	Comparação de todas as CIMs realizadas.....	47

Figura 47	Tendência relativa de inibição e correlação do IC ₅₀ versus a energia de ligação teórica. (a) <i>Staphylococcus aureus</i> - MecR1 e (b) <i>E. coli</i> - OmpF/A.....	49
Figura 48	(a) Representação da estrutura da enzima MecR1 e superposição do acoplamento da oxacilina e oxaciloil. (b) Visualização 3D do sítio ativo e dos principais resíduos da MecR1 interagindo com oxaciloil. (c) Interação 2D e mapa de distância do complexo formado por MecR-1 e o aduto de oxaciloil.....	50
Figura 49	(a) Representação da estrutura da enzima OmpF/A complexada com a ampicilina. (b) Visualização 3D das interações do sítio ativo e dos principais resíduos. (c) Interação 2D e mapa de distância do complexo formado entre a enzima OmpF/A e ampicilina.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados das coletas de refinamento das estruturas cristalinas dos complexos [CuCl ₂ (PLBHZ)] (1), [CuBr ₂ (PLBHZ)] (2), [CuCl(PLBHZ)H ₂ O]·NO ₃ ·H ₂ O (3) e [CuSO ₄ (PLBHZ)H ₂ O]·3H ₂ O (4).....	17
Tabela 2	Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos (1) e (2), sendo X = Cl no complexo (1) e X = Br no complexo (2). Os valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.....	26
Tabela 3	Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos (3) e (4). Os valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.....	29
Tabela 4	Resultados obtidos das análises de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível com os valores de comprimentos de onda em nm.....	33
Tabela 5	Resultados obtidos das análises de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível com os valores de comprimentos de onda em nm.....	33
Tabela 6	Comprimentos de onda observados a partir do estiramento e deformações angular dos modos normais de vibração (cm ⁻¹) para o ligante PLBHZ e os complexos (1-4).....	34
Tabela 7	Atividade antibacteriana para PLBHZ e os complexos (1-4), expressos como CIM e CMB (µg·mL ⁻¹) para as diferentes formulações contra cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	47
Tabela 8	Energia de ligação teórica (pontuação) de estudos de acoplamento com os sistemas de complexos formados entre bactérias gram-positivas e gram-negativas e as pequenas moléculas PLBHZ, complexos (1-4) e moléculas de controle oxacilina e ampicilina	48
Tabela 9	Distâncias das interações (em Å) mostradas na Figura 49(c), dos complexos formados com a enzima MecR1.....	50
Tabela 10	Distâncias das interações (Å) mostradas na Figura 50(c), dos complexos formados com a enzima OmpF/A.....	52

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ν	Estiramento
τ	Parâmetro de Addison
dmf, DMF	N,N-dimetilformamida
MeOH	Metanol
FT-IR	Infravermelho por transformada de Fourier
p.f.	Ponto de fusão
TCLM	Transferência de carga ligante-metal
UV-Vis	Ultravioleta Visível
PLBHZ	Piridoxal benzoilhidrazona
ATP	Adenosina trifosfato
ADP	Adenosina difosfato
PirQ	Piridoxal Quinase
PirO	Piridoxina Oxidase
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
MTT	(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina)
LASIC	Laboratório de Síntese inorgânica e cristalografia
CIM	Concentração inibitória mínima
ATR	Reflectância total atenuada
IQ	Instituto de Química
ATCC	Anatomical Therapeutic Chemical Code
MHB	Caldo Muller-Hinton
UFC	Unidade formadora de colônias

CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
MerC1	Mercapturato redutase-1
opmF/A	Proteína de membrana externa F
RMSD	Desvio quadrático médio
FIMs	Full Interaction Maps
ESI(+)- MS(/MS)	Espectrometria de massas com ionização por <i>eletrospray</i> no modo positivo
LPS	Fosfolipídeos e lipopolissacarídeos
Ser391	Serina – 391
Pro389	Prolina - 389
Asn390	Asparagina – 390
Thr392	Treonina – 392
Lys394	Lisina – 394
Ser439	Serina -349
Phe423	Fenilalanina – 423
Trp426	Triptofano – 426
Asn441	Asparagina – 441
Thr529	Treonina – 529
Thr531	Treonina 531
Ile533	Isoleucina - 533

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A química bioinorgânica é um campo que abrange diversos temas e dentre eles, a bioquímica e a química inorgânica.^{1,2} O corpo humano é constituído de proteínas, lipídios, carboidratos e minerais e para manutenção de várias funções fisiológicas é necessário a utilização de metais para a composição de importantes estruturas que garantem o bom funcionamento do organismo, como transporte de moléculas e constituintes de enzimas.³⁻⁵ Certos metais de transição são encontrados no corpo humano em pequenas quantidades e exercem importantes funções, como por exemplo o cobalto, que participa como cofator das enzimas metilmalonil-CoA mutase, auxiliando no processo de detecção da quantidade de vitaminas B12 presente e a metionina sintase^{6,7}, que participa da fortificação de cabelos e unhas. O cobre que está presente na síntese de neurotransmissores e mielinização^{8,9}, o níquel é um dos sítios ativos da enzima urease^{10,11} e o ferro é o metal mais abundante no corpo humano, auxiliando no transporte de oxigênio pelo corpo e sendo estocado em células específicas para uso futuro.⁵ Os íons desses diversos metais tem sido objeto de estudo devido as suas fortes interações com biomoléculas que são extremamente importantes para o funcionamento do corpo humano, como por exemplo em aminoácidos, peptídeos e proteínas.¹² Uma das vertentes estudadas pela química bioinorgânica são as interações existentes entre os centros metálicos e as vitaminas.

Uma classe de compostos que apresenta ampla aplicação e propriedades biológicas são as hidrazonas, que são compostos orgânicos sintetizados a partir de reações de condensação de hidrazidas ou hidrazinas com aldeídos e cetonas.^{13,14} As hidrazonas são bases de Schiff que contêm o grupo $R_2C=N-NH-C=O$ e devido sua versatilidade é possível a sua aplicação em diversos campos da ciência.¹⁵ Na química sua ampla aplicação é devido a presença do grupo carbonila que aumenta a acidez do grupo amino, aumentando a sua reatividade com centros metálicos via coordenação dos átomos doadores de elétrons *NO*. Sua variedade de sítios de coordenação tem ganhado relevância na química bioinorgânica devido as diversas aplicações que podem ser usadas, tais como, aplicação farmacológica com atividade antibacteriana, antifúngica, antitubercular, antioxidante e agentes antitumorais, entre outras.¹⁶⁻¹⁸ A Figura 1 representa a estrutura básica de um ligante hidrazona.

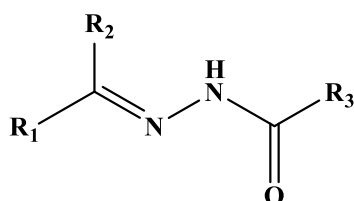


Figura 1. Representação geral da estrutura de uma hidrazona em seu tautômero cetônico, sendo os grupos R = grupos alquilas ou arilas.

Desde a segunda metade do século XX os estudos sobre a vitamina B6 trazem a importância da sua atividade biológica e quando são parte integrante de ligantes. Derivados da vitamina B6 formam diferentes ligantes com hidrazidas e estes ligantes também são caracterizados como bases de Schiff e quando coordenados com metais específicos tendem a aumentar a sua eficácia, visto que as cargas das moléculas são estabilizadas devido a ligação do íon metálico com o ligante.^{19,20} Neste sentido neste trabalho utilizou-se o composto piridoxal (Figura 2), que é uma das formas ativas da vitamina B6 e que além de participar na catálise enzimática também demonstra amplas funções bioquímicas, incluindo atividade antioxidante direta em fungos.^{21,22} O piridoxal foi utilizado na reação de condensação com a benzidrazida para produzir a hidrazona desejada e posteriormente ser utilizada nas reações de complexação.

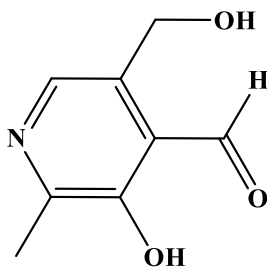


Figura 2. Representação da estrutura do piridoxal derivado da vitamina B6.

1.1. Piridoxal (vitamina B6)

As vitaminas possuem papel fundamental na regulação metabólica e fisiológica do corpo humano.²³ A vitamina B6 é uma das constituintes das vitaminas do complexo B (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9 e B12), que desenvolvem diferentes funções quanto ao metabolismo dos três macronutrientes primário, sendo eles, os lipídios, carboidratos e as proteínas. A falta da vitamina B6 pode acarretar inúmeros problemas, como já foi relatado na literatura, como depressão, anemia, doenças renais náuseas, confusão, dermatite e perda de sono.²³

A vitamina B possui este nome devido aos seis grupos de vitaminas solúveis em água que a compõe (Figura 3), sendo elas, a piridoxina, piridoxal, piridoxamina derivados da 3-hidroxi-2-etilpiridina e a 5-fosfato piridoxina, 5-fosfato piridoxal, 5-fosfato piridoxamina derivados das três primeiras vitaminas fosforiladas.^{23,24} De forma simples, a vitamina B6 é uma piridina com sua estrutura possuindo duas substituições, uma na posição 5, sendo um grupo hidroxila e na posição 6, sendo um grupo metila. A posição 4

é o ponto de mudança entre as seis estruturas, pois podem ser um grupo hidroximetilado ($\text{CH}_2\text{-OH}$), aldeído (CHO) ou uma amina (NH_2). A conversão da piridoxina em 5-fosfato piridoxina é realizado pela enzima piridoxal quinase (PirQ), que funciona catalisando a fosforilação da piridoxina através da molécula de adenosina trifosfato (ATP) que se converte em adenosina difosfato (ADP) após a doação de um do fosfato na reação de conversão. A partir da 5-fosfato piridoxina é possível sintetizar a 5-fosfato piridoxal e 5-fosfato piridoxamina via 5-fosfato piridoxina oxidase (PirO), o processo de oxidase utiliza do oxigênio molecular como catalisador de uma reação de oxirredução. Porém ambos os compostos podem ser sintetizados também pelo processo envolvendo a enzima piridoxal quinase. O esquema abaixo representa todas as seis vitaminas B6 e seus processos de interconversão.

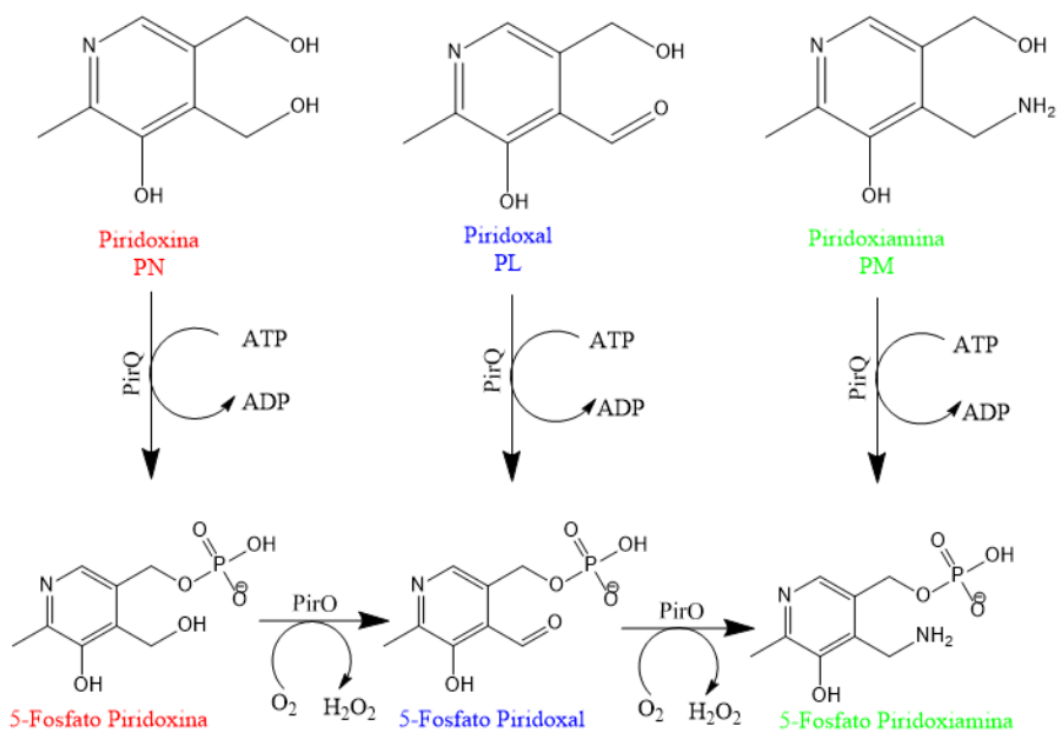


Figura 3. Representação dos tipos de vitaminas B6 existentes e seus processos de interconversão.

O presente trabalho teve como foco a síntese de hidrazonas com diferentes sais de cobre(II) e a caracterização química e estrutural dos seus complexos metálicos. As hidrazonas são compostos derivados do piridoxal. A escolha desse tipo de vitamina B6 foi devido aos diversos estudos que existem sobre essa classe de composto, pois é um cofator que está presente em mais de 150 reações enzimáticas. Com relação a medições de níveis de Vitamina B6 no corpo humano é o fator mais importante²³, além de apresentar significativa atividades biológica.²⁵ Além da sua capacidade de formar

complexos com diferentes metais, podendo gerar a formação de estruturas supramoleculares.²⁶ Compostos derivados do piridoxal podem apresentar diferentes tipos de coordenação com metais de características duro/mole além de serem excelentes ligantes do tipo *NO*-doador.

O ligante utilizado nas sínteses dos complexos deste trabalho, o piridoxalbenzoilhidrazona (PLBHZ). O PLBHZ já possui sua estrutura cristalina elucidada e descrita na literatura²⁷ (Figura 4), possuindo como características principais a complexação através da sua forma neutra, devido a carga negativa que o átomo de oxigênio do grupo fenol adquire após a complexação, balanceando a carga positiva existente com a protonação do átomo de nitrogênio na piridina. Os três sítios possíveis de coordenação, são o átomo de oxigênio do grupo fenólico, o átomo de nitrogênio do grupo azometínico e o átomo de oxigênio do agrupamento amida, tornando o ligante um doador do tipo *ONO*. Conforme descrito na literatura, inicialmente este ligante foi utilizado para complexação com derivados de urânio, com objetivo de trazer novos modelos de prevenção e captura de elementos radioativos e pesados, e com vanádio que apresenta uma certa atividade biológica.²⁷

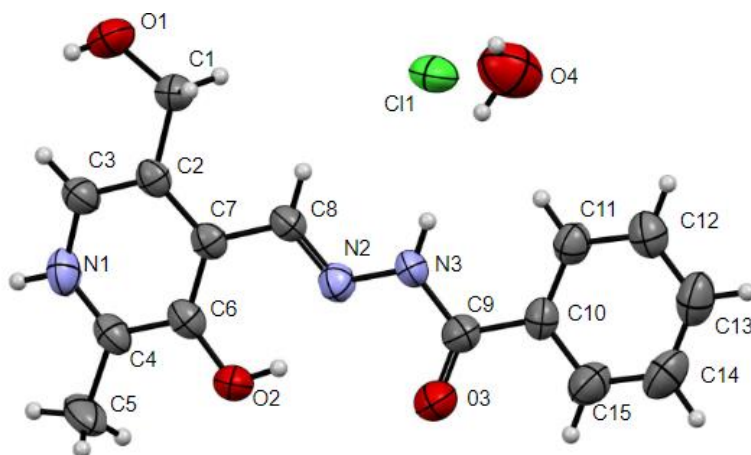


Figura 4. Projeção ORTEP do ligante livre (PLBHZ).

Em 2015, Dayer e colaboradores interessados em pesquisar a atividade antibacteriana de algumas bases de Schiff derivadas da condensação de β -dicetonas com derivados do aminofenol, realizaram testes a partir de derivados hidrazônicos com a 1,3-dicetona e seus complexos metálicos de organoestanho(IV). Esses compostos têm um papel interessante devido ao seu grande potencial farmacológico, pois interagem em diversos sistemas biológicos. Os testes foram realizados *in vitro* a partir do teste Kirby-Bauer de difusão em disco em bactérias Gram-positiva *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* e Gram-negativa *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.²⁸

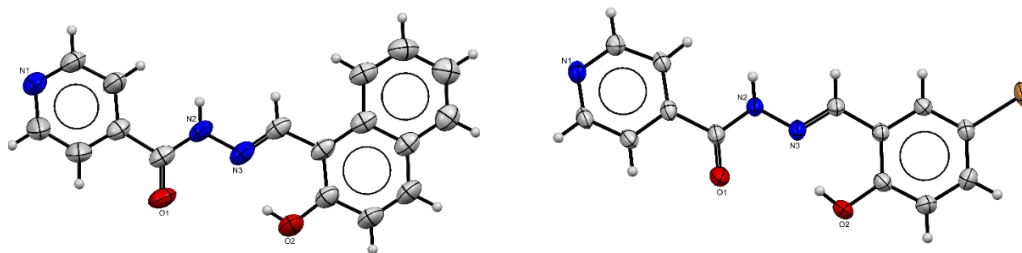


Figura 5. Estrutura cristalina dos ligantes H_2L^1 e H_2L^2 .

Dois complexos foram sintetizados a partir da solução do ligante H_2L com trietilamina reagindo com compostos SnR_2Cl_2 ($R= Me$ ou $R= Ph$). O primeiro complexo é formado a partir da adição do sal $SnMe_2Cl_2$, enquanto o segundo complexo foi formado com a adição do sal $SnPh_2Cl_2$. A caracterização dos complexos e do ligante foram feitas por meio de técnicas espectroscópicas e análise elementar, onde foi possível elucidar apenas o complexo $[Sn(L)(CH_3)_2]$ através de difração de raios X de monocristal (Figura 6).²⁸

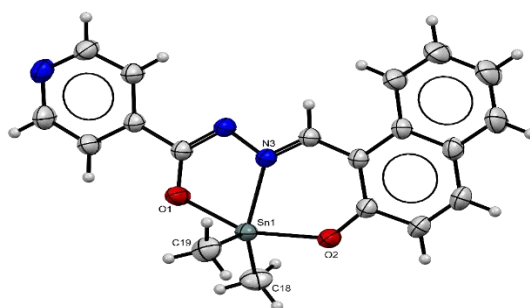


Figura 6. Estrutura cristalina do complexo de estanho $[Sn(L)(CH_3)_2]$ com ligante hidrazona H_2L .

Os dados espectrais demonstram que o ligante encontra-se na forma cíclica, coordenado ao centro metálico de forma tridentada por meio do átomo de nitrogênio do grupo imina e os átomos de oxigênio dos grupos enol. Duas metilas completam a esfera de coordenação do centro metálico que apresenta geometria bipirâmide trigonal.²⁸

A atividade antibacteriana do complexo foi testada em testes *in vitro* junto com seis fármacos, sendo eles o *Viz*, *vancomycin*, *Streptomycin*, *penicillin*, *nalidixic acid* e *Gentamycin* e as bactérias utilizadas foram Gram-positiva e Gram-negativa. O ligante H_2L apresentou atividade citotóxica contra todas as bactérias, sendo que quando exposto em concentrações maiores apresentou atividade moderada. Dos dois complexos sintetizados, apenas o complexo $[Sn(L)(CH_3)_2]$ apresentou atividade antibacteriana, com um valor de zona de inibição (área em volta do disco que não apresenta crescimento) igual a 12 mm, com efeitos inibitórios maiores que seu ligante²⁸

Em 2014, Pisk e colaboradores estudaram o potencial catalítico de complexos de molibdênio com ligantes hidrazonas derivados do piridoxal, com objetivo de estudar o comportamento de complexos mono e polinucleares de molibdênio(VI). Os estudos catalíticos foram feitos sem a utilização de solventes orgânicos, apenas na presença de água, portanto foi dado um foco maior no efeito da natureza das espécies de molibdênio. Para a reação de complexação foram sintetizados três ligantes hidrazonas com diferentes grupos terminais H_2L^{1-3} (Figura 7).

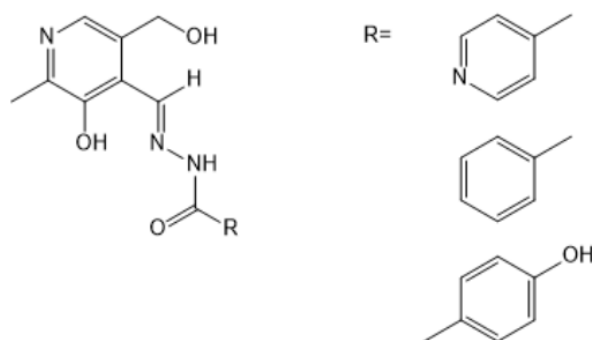


Figura 7. Estrutura dos ligantes H_2L^{1-3} .

Os complexos (Figura 8) mononucleares foram sintetizados a partir dos ligantes H_2L^{1-3} com o sal de acetato de molibdênio(VI) em metanol. Os complexos polinucleares foram produzidos a partir dos ligantes H_2L^{1-3} com sal de acetato de molibdênio(VI) em acetonitrila. Em ambos os casos foi sintetizados dois novos complexos em cada um dos solventes.²⁹

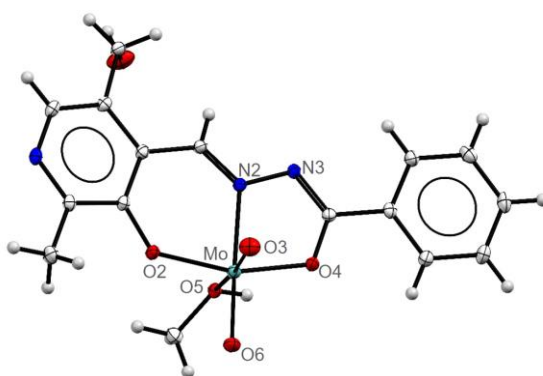


Figura 8. Projeção ORTEP do complexo de molibdênio.

No complexo sintetizado o átomo de molibdênio apresenta número de coordenação igual a 6, no qual a complexação ocorre através do sistema doador *ONO* do ligante, através do átomo de nitrogênio do grupo azometínico, do oxigênio do agrupamento amida e do oxigênio do grupo fenólico. Pela estrutura é possível notar que o ligante está presente com seu tautômero enólico e sua forma isomérica *E*.²⁹

Os estudos catalíticos foram feitos com o substrato sendo o cicloocteno, a uma temperatura de 80°C. Após 6 h de análise observou-se que para todos os complexos a conversão do cicloocteno foi moderada.²⁹

1.2. Complexos de Cobre(II)

O cobre é um dos metais de transição mais importantes existentes na natureza, devido a sua gama de utilidades em processos biológicos enzimáticos e proteicos tanto em plantas quanto em animais.³⁰ Já foi relatado na literatura que níveis altos de metais como o cobre no cérebro é um dos indícios de problemas neurodegenerativos como por exemplo o Alzheimer e que os níveis de cobre recomendados no corpo humano é de 0,8 mg/dia.³¹ Atualmente, complexos de cobre(II) com ligantes hidrazonas estão sendo sintetizados com o objetivo de obtenção de novos compostos com aplicações farmacêuticas devido as suas propriedades anticancerígenas, antitumorais e antimicrobianas.^{32,33}

Em 2019, Yang e colaboradores sintetizaram três novos complexos de cobre(II) com três diferentes tipos de ligantes hidrazona com o objetivo de estudar a sua atividade anticancerígena e seu potencial quanto a possíveis candidatos no tratamento contra o câncer. Os ligantes utilizados neste trabalho (HL¹⁻³) foram sintetizados de acordo com o esquema abaixo (Figura 9).

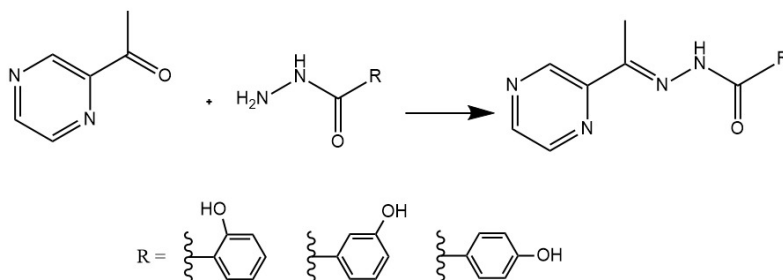


Figura 9. Esquema reacional da síntese dos ligantes HL¹⁻³.

Para a sínteses dos três complexos foi utilizado o sal de CuCl₂⊕2H₂O com os ligante HL¹, HL² e HL³. A estrutura dos complexos é mostrada na Figura 10 onde é possível observar que os complexos apresentam o centro metálico coordenado a duas moléculas do ligante através do sistema doador-ONN dos ligantes, sendo o átomo de nitrogênio do grupo pirazina, o átomo de oxigênio do grupo carbonila e o átomo de nitrogênio do grupo imina, com número de coordenação igual a 6. O ligante está presente em sua forma de enolato e monodesprotonado.³⁴

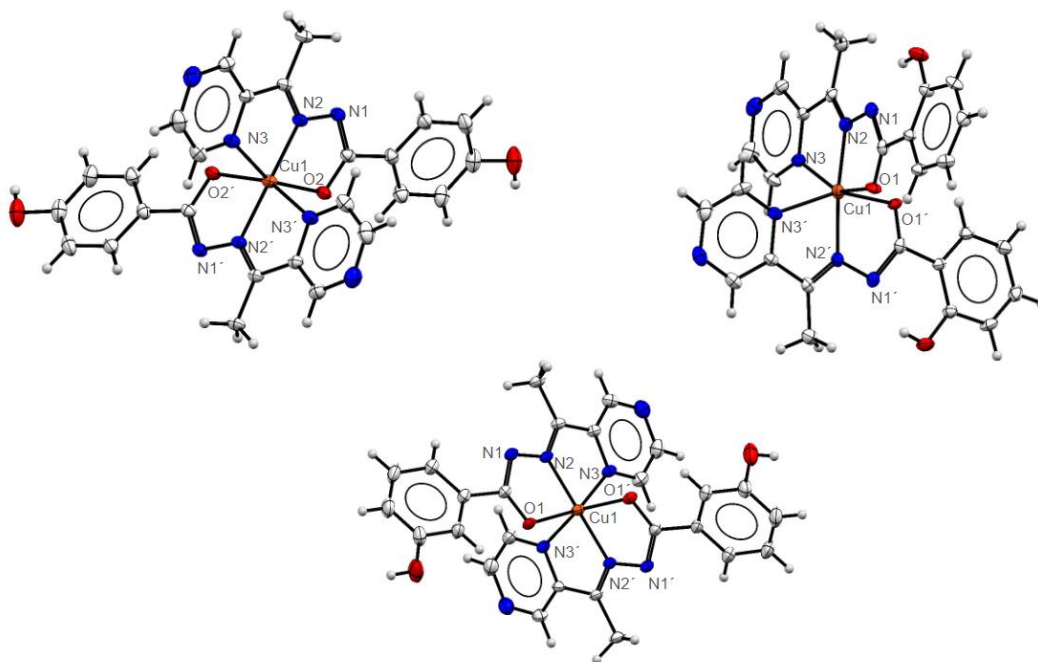


Figura 10. Projeção ORTEP dos três complexos de cobre sintetizados.³⁴

A atividade citotóxica dos complexos foi determinada através de um ensaio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina) que tem como objetivo avaliar a viabilidade celular. Os resultados de concentração inibitória (IC_{50}) obtidos mais baixos em células cancerígenas do que em células não-tumorais para todos os complexos e fraca atividade antiproliferativa dos ligantes livre, indica que os compostos obtiveram resultados expressivos quanto a sua inibição, visto que quanto mais baixo o valor de IC_{50} for mais eficiente era aquele inibidor.³⁴

Em 2020 um trabalho do Laboratório de Síntese inorgânica e cristalografia (LASIC) do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB), descrito por Santiago e colaboradores demonstraram que complexos de cobre(II) e a sua atividade biológica antimicrobiana, utilizando do meio de cultura Ágar Mueller-Hinton para testagem em bactérias Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis* e Gram-negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter aerogenes*. Para a síntese do ligante foram utilizados a 2-acetilpiridina e a benzoihidrazida resultando no ligante 2-acetilpiridinabenzoihidrazona (HL), que coordenou-se de forma tridentada e mono-iônica, resultando na formação de um complexo mononuclear de cobre(II), Figura 11.³⁵

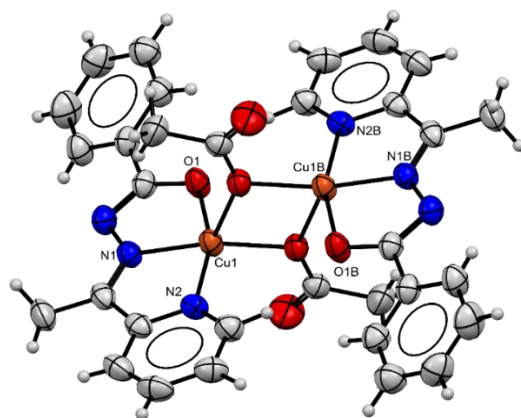


Figura 11. Representação da estrutura cristalina do complexo $[\text{CuL}(\mu\text{-CH}_3\text{COO})]_2$.

Observa-se que o complexo $[\text{CuL}(\mu\text{-CH}_3\text{COO})]_2$ apresenta em sua estrutura dois grupos acetato fazendo pontes entre os dois átomos de cobre e duas moléculas do ligante HL se coordenando cada uma com um íon de cobre(II). O ligante desprotonado se liga através de três sítios de coordenação (N_{py} , N e O), no tautômero enolato e na forma isomérica *E*. A estrutura do dímero é formada por dois centros assimétricos e a sua geometria foi descrita a partir do parâmetro de Addison que comprovou ser pirâmide de base quadrada.³⁵

A concentração inibitória mínima (CIM), foi detectada por leitura de densidade óptica a 595 nm e mostrou uma atividade antimicrobial significativamente maior para o complexo comparado com o ligante livre, com valores de CIM = 64 μM e CIM = 128 μM . O ligante apresentou atividade com todas bactérias testadas, com exceção da *Proteus mirabilis* e *Enterobacter aerogenes*, sendo que aquela que apresentou maior atividade contra foi a *Staphylococcus epidermidis*, apresentando um CIM = 64 μM . Enquanto o complexo apresentou uma atividade significativa contra quase todas bactérias, com exceção da *Enterobacter aerogenes*, sendo a *Staphylococcus epidermidis* a com melhor resultado de CIM = 8 μM .³⁵

Nesse sentido, o presente trabalho teve como foco principal a investigação química e estrutural de uma hidrazona derivada do piridoxal frente a diferentes sais de cobre(II), para um melhor entendimento de sua química de coordenação e atividade citotóxica frente e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O objetivo deste presente trabalho foi sintetizar uma hidrazona derivada do piridoxal (vitamina B6) e com o ligante sintetizado fazer reações de complexação com diferentes sais de cobre(II) com o objetivo de analisar como as diferentes trocas de íons podem afetar a interação e estrutura dos complexos. Dessa forma, realizar a análise dos complexos obtidos por diferentes métodos espectroscópicos e computacionais, a fim de elucidar suas respectivas estruturas cristalinas e moleculares e estudar suas interações intra e intermoleculares, bem como os efeitos das trocas de íons na formação dos diferentes complexos. Além disso, estudar sua atividade biológica frente a bactérias e comparar com os dados teóricos do estudo de docking molecular.

Dessa forma, tem-se como objetivos específicos:

- I. Sintetizar uma hidrazona derivada do piridoxal (vitamina B6);
- II. Sintetizar diferentes complexos de cobre(II) com o ligante obtido;
- III. Elucidar as estruturas cristalinas e moleculares dos compostos sintetizados utilizando a técnica de difração de raios X de monocristal;
- IV. Por meio das técnicas de espectrometria de massas, espectroscopias ultravioleta-visível, infravermelho por reflectância total atenuada (ATR) e análise elementar realizar a caracterização complementar dos complexos sintetizados;
- V. Analisar o mapa de potencial eletrostático e as superfícies de Hirshfeld dos compostos sintetizados para avaliar as interações existentes nas estruturas cristalinas;
- VI. Avaliar a atividade biológica em cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas;
- VII. Comparar os dados dos testes biológicos com o estudo teórico de docking molecular.

3. PARTE
EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1. Reagentes e Solventes

A lista abaixo relaciona todos os solventes e reagentes que foram utilizados durante a etapa de síntese e caracterização dos compostos. Todos os solventes e reagentes foram obtidos de forma comercial por meio das empresas Vetec e Sigma-Aldrich. Os reagentes e solventes que foram utilizados sem prévia purificação prévia.

- Álcool metílico (P.A.), 99%
- Álcool etílico (P.A.), 95%
- Dimetilformamida (P.A.), 99%
- Piridoxal hidrocloreto, 99%
- Benzoilhidrazida, 98%
- Cloreto de cobre(II) dihidratado 99%
- Brometo de cobre(II) 99%
- Sulfato de cobre(II) pentahidratado 98%
- Nitrato de cobre(II) trihidratado 98%

Todas as técnicas espectroscópicas e computacionais que foram utilizadas na caracterização do ligante e dos seus respectivos complexos se encontram descritas abaixo.

3.1.2. Difração de Raios X de Monocristal

Utilizada para elucidar as estruturas cristalinas e molecular dos compostos sintetizados. A difração de raios X de monocristal consiste em incidir raios X no cristal e assim difratar em diversas direções para conhecer ângulos e comprimentos de ligações, e poder determinar as posições dos átomos na molécula. O equipamento utilizado foi o difratômetro SMART APEX II CCD (Charge Coupled Device Detector Bruker) com monocromador de grafite, que possui fonte de radiação de Mo-K α (0,71073Å) e pertence ao Instituto de Química da Universidade de Brasília (IQ-UnB).

Todos os parâmetros calculados para as células unitárias foram obtidos a partir da coleta de três diferentes matrizes, na qual cada uma delas com doze imagens, que foram analisadas e refinadas para a obtenção final dos dados de células unitárias.

As estruturas foram solucionadas através de métodos diretos de refinamentos utilizando o programa SHELXS-97³⁶ e finalizados pela opção SHELXL-2018³⁶ pelo programa Bruker APEX II e o programa OLEX2³⁷. As ilustrações representando as estruturas cristalinas e as células unitárias dos compostos foram feitas através dos

programas, OLEX2³⁷ e MERCURY³⁸. Os esquemas gráficos e reacionais foram feitos através do programa Chemdraw.

Na Tabela 1 encontram-se todos os dados da coleta e do refinamento das estruturas cristalinas e moleculares dos quatro complexos sintetizados neste trabalho e analisados por difração de raios X de monocristal.

Tabela 1. Dados das coletas de refinamento das estruturas cristalinas dos complexos [CuCl₂(PLBHZ)] (1), [CuBr₂(PLBHZ)] (2), [CuCl(PLBHZ)H₂O]·NO₃·H₂O (3) e [CuSO₄(PLBHZ)H₂O]·3H₂O (4).

	(1)	(2)	(3)	(4)
Formula Molecular	C ₁₅ H ₁₅ Cl ₂ CuN ₃ O ₃	C ₁₅ H ₁₅ Br ₂ CuN ₃ O ₃	C ₁₅ H ₁₉ ClCuN ₄ O ₈	C ₁₅ H ₂₃ CuN ₃ O ₁₁ S
Peso Molecular (g mol ⁻¹)	419,74	508,66	482,33	516,96
Temperatura/K	296(2)	296(2)	296(2)	296(2)
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> ₂ ₁ / <i>c</i>
a (Å)	7,643(17)	7,812(6)	9,514(13)	7,578(7)
b (Å)	18,955(4)	19,072(16)	15,720(2)	16,872(16)
c (Å)	12,926(3)	12,912(10)	12,825(17)	16,665(15)
β (°)	96,112(5)	95,617(2)	100,198(2)	91,085(2)
Volume (Å ³)	1862,1(7)	1914,5(3)	1887,8(4)	2130,1(3)
Z	4	4	4	4
ρ _{calcd} (mg cm ⁻³)	1,497	1,765	1,697	1,612
μ (mm ⁻¹)	1,477	5,332	1,352	1,186
F(000)	852	996	988	1068
Reflexões coletadas	42873	43653	43261	48277
Reflexões independentes/R _{int}	3440/0,099	3520/0,076	3485/0,063	3921/0,070
Parâmetros de rede	3440/0/220	3520/0/220	3485/0/273	3921/0/287
Transmissão max/min	0,806/0,737	0,370/0,300	0,745/0,672	0,745/0,621
R final [I > 2σ(I)]	0,041/0,102	0,058/0,181	0,029/0,072	0,033/0,075
GooF	1,056	1,059	1,043	1,024
Densidade eletrônica residual (eÅ ⁻³)	0,306/-0,327	1,38/-1,855	0,303/-0,346	0,296/-0,310

3.1.3. Espectrometria de Massas

A espectrometria de massa auxilia na identificação dos compostos por meio da sua fragmentação e disponibiliza a relação massa/carga (m/z) após tratamento da amostra. As

amostras foram obtidas através da solubilização do ligante livre e dos complexos em metanol, na concentração de 10^{-3} mol.L⁻¹ e posterior adição de 1 gota de ácido acético glacial com o objetivo de obter as estruturas com carga positiva. O equipamento utilizado para análise foi o Espectrômetro AB Sciex TripleTOF 5600+ localizado no Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB).

3.1.4. Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível

Os espectros de absorção molecular na região do ultravioleta-visível foram obtidos pela absorção de radiação eletromagnética na faixa de 250 – 1000 nm para observar as transições eletrônicas que ocorrem nos ligantes e nos complexos. As soluções foram preparadas no solvente MeOH em concentrações de $2 \cdot 10^{-3}$ e $2 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹. Utilizou-se o espectrofotômetro Agilent HP 8453 pertencente ao IQ-UnB.

3.1.5. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos com o auxílio do acessório de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. Empregou-se na caracterização das amostras o espectrofotômetro FT-IR Varian 640 na região de 4000–400 cm⁻¹ com número de scan 32 e resolução igual a 4, pertencente ao IQ-UnB.

3.1.6. Análise Elementar CHN

Determinação dos teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio dos compostos para contribuir na caracterização da sua composição. Utilizou-se o equipamento Perkin Elmer/Series II 2400 analyzer, pertencente ao IQ-UnB.

3.1.7. Ponto de Fusão

A determinação do ponto de fusão dos compostos permitiu verificar a sua pureza. Foi utilizado o aparelho digital MQAPF-302 da Micro Química, pertencente ao laboratório LASIC da UnB.

3.1.8 Cálculos Computacionais

Através do software OLEX2³⁷ foram utilizados os programas SHELX-97³⁶ e SHELX-2018³⁶ para definição de valores, imagens de estruturas molecular e refino dos dados gerados pela difração de raios X de monocristal.³⁹ As representações das moléculas no plano foi realizado mediante ao auxílio do software *ChemDraw* 19.0⁴⁰. O mapa eletrostático e a superfície de Hirshfeld foram analisados através dos programas MERCURY³⁸ e *CrystalExplorer 21.5*⁴¹.

3.1.9. Análise Biológica

A análise biológica foi realizada em colaboração com os professores Daniel Oliveira Freire e Izabel Cristina Rodrigues da Silva do Laboratório de pesquisa em patologia molecular da Faculdade de Ceilândia (UnB). A análise foi feita a partir de testes por método de diluição em caldos, que consiste em realizar uma comparação entre a proporção de crescimento das bactérias em meio líquido e na concentração da substância ensaiada, o resultado foi comparado de acordo com o padrão de referência oxacilina. Todos os compostos foram solubilizados em DMF e para as bactérias foram utilizados microplacas de 96 poços, em triplicata, com cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas obtidas através da *American Type Culture Collection (ATCC)*. As cepas utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Ambas as bactérias foram conservadas em caldo Müller-Hinton (MHB) a 37 °C no período noturno, o que resultou em aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colônias (UFC) por mL, de acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).⁴² Para a *S. aureus* foi utilizado a oxacilina, na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, e para a *E. coli* foi utilizado a ampicilina na concentração de $6 \mu\text{g mL}^{-1}$. As concentrações inibitórias mínimas (MICs) de 0,1 e 99,9 mg.L^{-1} foram obtidas através do método de micro-diluição em caldo, de acordo com o CLSI.

3.1.10. Docking molecular

Docking molecular foi utilizado como uma ferramenta de química computacional para prever em sistemas de grande escala qual a orientação mais favorável de um ligante quando interage com uma proteína-alvo específica. O docking molecular determina de forma empírica a energia da interação e a constante de inibição do complexo receptor-ligante (R-L). Ao conhecer a orientação mais favorável energeticamente é possível realizar previsões quanto a afinidade do sistema R-L.⁴³

Os estudos de modelagem molecular dos complexos com as enzimas mercapturato redutase-1 (MERC1) e proteína de membrana externa F (opmF/A) foram realizados em colaboração com o Laboratório de Química Computacional pelos professores Érica C. M. Nascimento e João B. L. Martins do Instituto de Química da UnB, com o auxílio do software AutoDock vina. Os protocolos seguidos para as simulações de docking molecular foram validados através de estudos de redocking realizados com estruturas cristalográficas dos complexos e de moléculas ligantes com bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e ampicilina (*E.coli*). Em todos os casos estudados a sobreposição da pose ancorada e da cristalográfica obtiveram resultados satisfatórios. O desvio quadrático

médio (RMSD) foi de 0,86 Å para o sistema MecR1-oxacilóis e 1,36 para o sistema OmpF/A-ampicilina.^{43,44}

3.2. SÍNTESE DO LIGANTE

3.2.1. Síntese do ligante piridoxalbenzoilhidrazona (PLBHZ)

A síntese do ligante PLBHZ foi adaptada da referência de Back e colaboradores.²⁷ Para isso utilizou-se 2 mmol (28 mg) de benzoilhidrazida solubilizada em 5 mL de etanol e 2 mmol (41 mg) de hidrocloreto piridoxal solubilizado em 5 mL de etanol. A mistura foi colocada em refluxo por 2 horas a 150 °C, após este tempo obteve-se um sólido de coloração amarela que posteriormente foi filtrado. O restante da solução permaneceu em repouso a temperatura ambiente até evaporação do solvente e formação de cristais amarelos do ligante PLBHZ. Rendimento = 89 % ($321 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) e ponto de fusão = 263-266 °C. Análise elementar calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3$: C, 55,99%; H, 5,01%; N, 13,06%. Encontrado: C, 55,49%; H, 5,16%; N, 12,86%. O mecanismo proposto para a síntese do ligante se encontra representado na Figura 12.

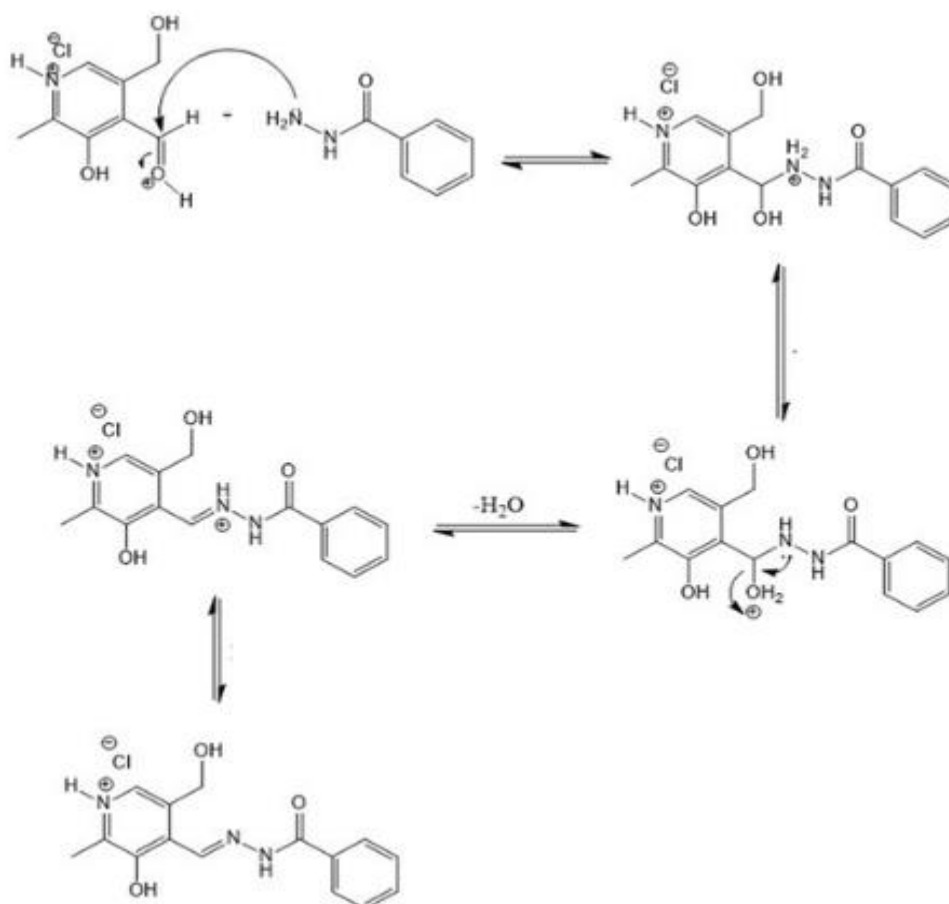


Figura 12. Mecanismo proposto para a reação da síntese do agente complexante PLBHZ.

3.3. SÍNTESE DOS COMPLEXOS

3.3.1. Síntese do complexo [CuCl₂(PLBHZ)] (1)

O complexo (1) foi obtido a partir da reação de 0,1 mmol (32 mg) de PLBHZ solubilizado em 5 mL de metanol e 0,1 mmol (17 mg) de CuCl₂·2H₂O solubilizado em 5 mL de metanol. Posteriormente essa mistura foi colocada em refluxo por 2 h a 150 °C. Foi obtido ao final da reação um precipitado de coloração verde que foi filtrado. O restante da solução permaneceu em repouso a temperatura ambiente, obtendo-se cristais de coloração verde. Rendimento = 54 % e ponto de fusão = 198-202 °C. Análise elementar calculada para C₁₅H₁₅Cl₂CuN₃O₃: C, 48,46%; H, 4,07%; N, 11,30%. Encontrado: C, 48,71%; H, 3,97%; N, 12,95%.

3.3.2. Síntese do complexo [CuBr₂(PLBHZ)] (2)

O complexo (2) foi obtido a partir da reação de 0,1 mmol (32 mg) de PLBHZ solubilizado em 5 mL de metanol e 0,1 mmol (22,34 mg) de CuBr₂ solubilizado em 5 mL de metanol. Posteriormente essa mistura foi colocada em refluxo por 2 h a 150 °C. Foi obtido no final da reação um precipitado de coloração verde que foi filtrado e o restante da solução permaneceu em repouso a temperatura ambiente e com a evaporação obteve-se cristais adequados para análise de difração de raios X. Rendimento = 51 % e ponto de fusão = 194-199 °C. Análise elementar calculada para C₁₅H₁₅Br₂CuN₃O₃: C, 39,11%; H, 2,28%; N, 9,48%. Encontrado: C, 39,36%; H, 2,31%; N, 9,48%.

3.3.3. Síntese do complexo [CuCl(PLBHZ)H₂O]·NO₃·H₂O (3)

O complexo foi obtido a partir da reação de 0,1 mmol (32 mg) de PLBHZ solubilizado em 5 mL de metanol e 0,1 mmol (24,16 mg) de Cu(NO₃)₂·3H₂O solubilizado em 5 mL de metanol. Posteriormente essa mistura foi colocada em refluxo por 2 h a 150 °C. Foi obtido no final da reação um precipitado de coloração verde que foi filtrado e o restante da solução permaneceu em repouso a temperatura ambiente para evaporação do solvente e formação dos cristais. Rendimento = 53 % e ponto de fusão = 197-203 °C. Análise elementar calculada para C₁₅H₁₉ClCuN₄O₈: C, 37,35%; H, 3,97%; N, 11,62%. Encontrado: C, 37,15%; H, 3,67%; N, 11,75%.

3.3.4. Síntese do complexo [CuSO₄(PLBHZ)H₂O]·3H₂O (4)

O complexo foi obtido a partir da reação de 0,1 mmol (32 mg) de PLBHZ solubilizado em 5 mL de metanol e 0,1 mmol (24,97 mg) de CuSO₄·5H₂O solubilizado em 5 mL de metanol. Posteriormente essa mistura foi colocada em refluxo por 2 h a 150 °C. Foi obtido no final da reação um precipitado de coloração verde que foi filtrado e o restante da solução permaneceu em repouso a temperatura ambiente para evaporação do

solvente e obtenção dos cristais verdes escuros. Rendimento = 53% e ponto de fusão = 199-203 °C. Análise elementar calculada para $C_{15}H_{23}CuN_3O_{11}S$: C, 37,15%; H, 4,78%; N, 8,67%. Encontrado: C, 37,05%; H, 4,42%; N, 8,65%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados que foram obtidos da síntese com o ligante piridoxal-benzoilhidrazona (PLBHZ) e diferentes sais de cobre(II). Quatro complexos inéditos foram obtidos, sendo eles: $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1), $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2), $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot\text{NO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (3) e $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4). As estruturas dos complexos foram elucidadas pela técnica de difração de raios X de monocristal e a análise química e estrutural foram feitas por espectroscopia na região do ultravioleta-visível e do infravermelho por transformada de Fourier, espectrometria de massa, superfície de Hirshfeld e mapas de interações total (*Full interaction Maps*, FIMs). O esquema geral das sínteses de obtenção dos complexos está representado na Figura 13.

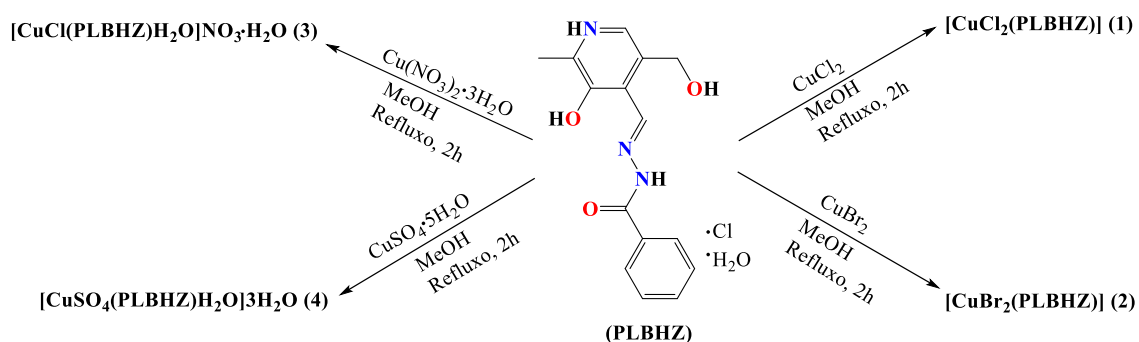


Figura 13. Esquema geral das reações entre o agente complexante PLBHZ e diferentes sais de cobre(II) na formação dos complexos (1-4).

4.1. Caracterização química e estrutural dos complexos $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1) e $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2)

Os complexos $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1) e $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2) são monômeros que cristalizam no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/c$, com simetria Laue $2/m$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*)⁴⁵. A projeção ORTEP desses complexos estão ilustradas nas Figura 14 e 15 respectivamente, com a numeração de todos os átomos não-hidrogenóides.

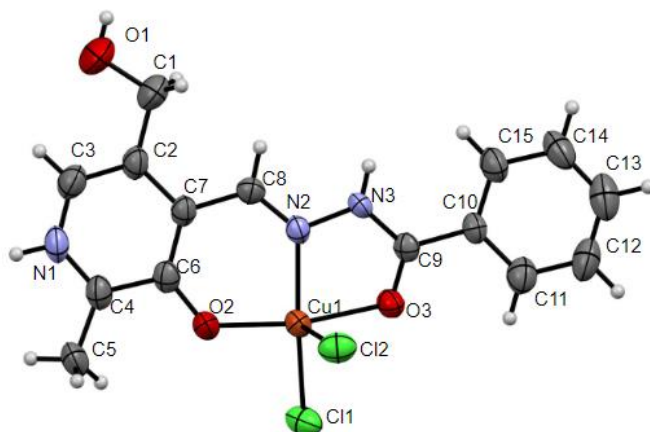


Figura 14. Projeção ORTEP do complexo (1) com elipsoides térmicos representados em um nível de probabilidade de 50%.

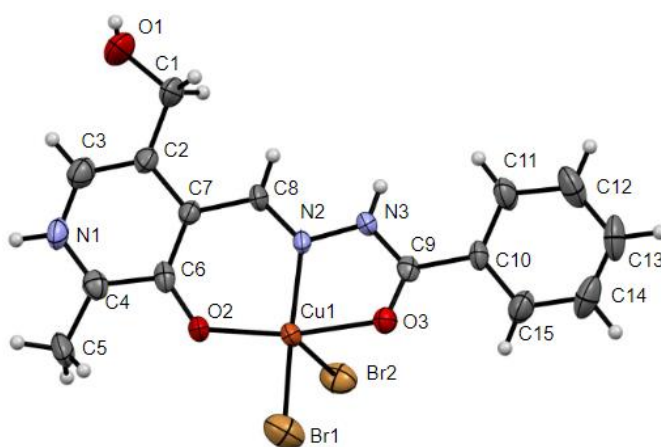


Figura 15. Projeção ORTEP do complexo (2) com elipsoides térmicos representados em um nível de probabilidade de 50%.

É possível observar a partir da representação das estruturas dos complexos (1) e (2) que os átomos de cobre(II) se coordenam ao ligante PLBHZ de forma tridentada e neutra através do sistema doador *ONO*, sendo os átomos de oxigênio do grupo fenólico, de nitrogênio do grupo azometínico e o oxigênio do agrupamento amida conjugado ao anel benzênico. Dois íons cloreto ou brometo completam a esfera de coordenação do centro metálico que possui número de coordenação igual a 5. A neutralidade do ligante é justificada devido a carga positiva que o anel piridina apresenta e a carga negativa presente no oxigênio fenólico após a sua desprotonação.^{46,47}

As geometrias foram previstas de acordo com o parâmetro de Addison⁴⁸, sendo calculado como $|(\beta - \alpha)|/60$ (Equação 1), onde β é o maior valor de ângulo de ligação na estrutura de coordenação e α é o segundo maior ângulo de ligação da estrutura de coordenação. Quanto mais próximo o valor de zero, sua geometria se apresenta como

pirâmide de base quadrada e quanto mais próximo o valor de 1 sua geometria será na forma de uma geometria bipirâmide trigonal.

Para o complexo (1) o maior ângulo encontrado β foi para O2-Cu1-O3 igual a $167,46(10)^\circ$ e o segundo maior ângulo α para N2-Cu1-Cl1 igual a $161,75(9)^\circ$, resultando em um valor para o parâmetro de Addison de 0,095, o que indica uma geometria pirâmide de base quadrada distorcida.⁴⁸ Para o complexo (2) o maior ângulo β encontrado foi para O2-Cu1-O3 igual a $167,3(3)^\circ$ e o segundo maior ângulo α para N2-Cu1-Br1 igual a $161,64(18)^\circ$, e dessa forma, o valor do parâmetro de Addison⁴⁸ calculado para o complexo (2) foi de 0,094, o que também indica uma geometria pirâmide de base quadrada distorcida.

Para o complexo (1) o poliedro de coordenação na forma de pirâmide de base quadrada distorcida apresenta o átomo de Cl2 na posição axial. Essa distorção na geometria de coordenação pode ser observada através dos comprimentos de ângulos das ligações N2-Cu1-O3, O2-Cu1-Cl1, O3-Cu1-Cl1, Cl1-Cu1-Cl2, N2-Cu1-Cl1 e O2-Cu1-O3 que variam de $79,88(10)^\circ$ a $167,46(10)^\circ$, valores diferentes do esperado de 90° para uma geometria perfeita. O mesmo ocorre no complexo (2) em que o átomo Br2 encontra-se na posição axial e os ângulos de ligação para O2-Cu1-N2, N2-Cu1-O3, O2-Cu1-Br1, O3-Cu1-Br1, Br1-Cu1-Br2, N2-Cu1-Br1 e O2-Cu1-O3 variam de $79,3(2)^\circ$ a $167,3(3)^\circ$ de 90° . Na Figura 16 encontram-se representados os poliedros de coordenação dos complexos (1) e (2).

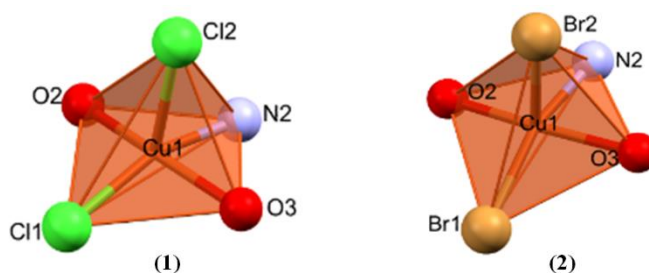


Figura 16. Representação dos poliedros de coordenação dos complexos (1) e (2).

A neutralidade do ligante é justificada devido a carga positiva que o anel piridina apresenta e a carga negativa presente no oxigênio fenólico após a sua desprotonação. É interessante notar que os complexos (1) e (2) são isoeletrônicos, com uma mudança apenas no halogênio presente no sal de partida e conseqüentemente na estrutura do complexo, portanto eles irão apresentar verossimilhança em suas propriedades e características.

No complexo (1) é possível observar uma diferença quanto aos comprimentos de ligação do Cu1-Cl1 de 2,238(2) Å e Cu1-Cl2 de 2,585(2) Å gerando uma distorção na geometria do complexo causada devido a essa diferença nas ligações entre cobre-halogênio.⁴⁹ Essa distorção também se faz presente no complexo (2) como é possível observar nos diferentes valores de comprimento de ligação de Cu1-Br1 de 2,332(2) Å e Cu1-Br2 de 2,669(2) Å, o que era de se esperar devido a semelhança de suas estruturas.

Outro fato interessante é que nos complexos (1) e (2) o agente complexante encontra-se no seu isômero *E* com relação aos grupos de maior prioridade ligados de forma alternada e encontra-se na sua forma tautomérica cetônica. Os comprimentos de ligação C9-O3 e C9-N3 de 1,259(4) Å e 1,340(4) Å no complexo (1) e de 1,235(9) Å e 1,351(9) Å no complexo (2), caracterizam uma ligação dupla e uma ligação simples respectivamente, indicando que não há uma deslocalização eletrônica da estrutura do ligante livre em relação a do ligante coordenado ao centro metálico, como observado em outros complexos relatados na literatura.^{27,32} Os principais comprimentos e ângulos de ligação dos complexos (1) e (2) encontram-se listados na Tabela 2.

Tabela 2. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos (1) e (2), sendo X = Cl no complexo (1) e X = Br no complexo (2). Os valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

	Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)		
	(1)	(2)		(1)	(2)
Cu1-O2	1,909(2)	1,912(5)	O2-Cu1-N2	90,39(11)	90,6(2)
Cu1-N2	1,959(3)	1,955(6)	N2-Cu1-O3	79,88(10)	79,3(2)
Cu1-O3	2,002(2)	2,010(5)	O2-Cu1-X1	94,61(8)	95,01(16)
Cu1-X1	2,238(2)	2,332(2)	O3-Cu1-X1	92,36(7)	92,34(15)
Cu1-X2	2,585(2)	2,699(2)	X1-Cu1-X2	102,23(4)	102,19(5)
C8-N2	1,278(4)	1,301(9)	N2-Cu1-X1	161,75(9)	161,64(18)
N2-N3	1,382(4)	1,370(8)	O2-Cu1-O3	167,46(10)	167,3(3)
C9-N3	1,340(4)	1,351(9)			
C9-O3	1,259(4)	1,235(9)			

A cela unitária do composto (1) e (2) contendo quatro unidades assimétricas, estão representadas na Figura 17, juntamente com o seu referencial número 14 da *International Tables for Crystallography*.⁴⁵ Observa-se que estão presentes os operadores de simetria

eixo helicoidal 2_1 que se estende ao longo do eixo cristalográfico b , centro de inversão e um plano de deslizamento paralelo ao eixo cristalográfico ac na direção de c .

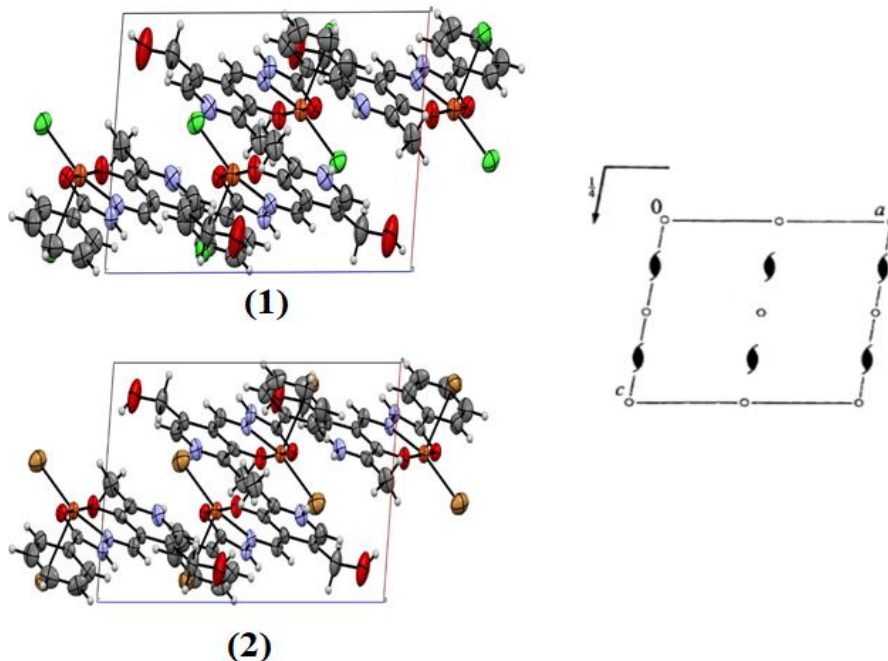


Figura 17. Representação das celas unitárias dos complexos (1) e (2) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*.

4.2. Caracterização química e estrutural dos complexos $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}] \cdot \text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) e $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4)

O complexo $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}] \cdot \text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) cristaliza no sistema cristalino monoclinico, grupo espacial $P2_1/n$ e simetria Laue $2/m$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*).⁴⁵ A projeção ORTEP desse complexo está ilustrada na Figura 18 com a numeração de todos os átomos não-hidrogenóides.

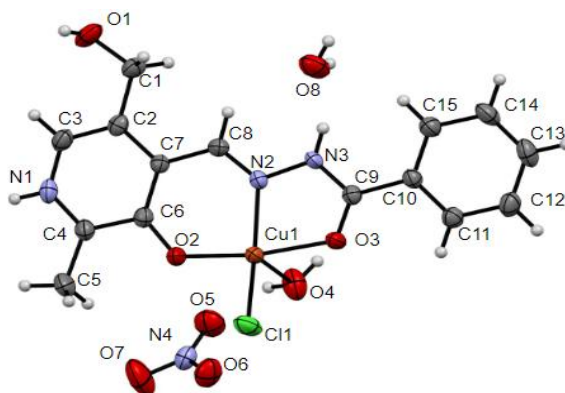


Figura 18. Projeção ORTEP da estrutura cristalina do complexo (3). Elipsóides térmicas representadas a um nível de 50% de probabilidade.

O complexo $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4) cristaliza no sistema cristalino monoclínico, grupo espacial $P2_1/c$ e simetria Laue $2/m$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*).⁴⁵ A projeção ORTEP do complexo se encontra na Figura 19 abaixo, com a numeração de todos os átomos não-hidrogenóides.

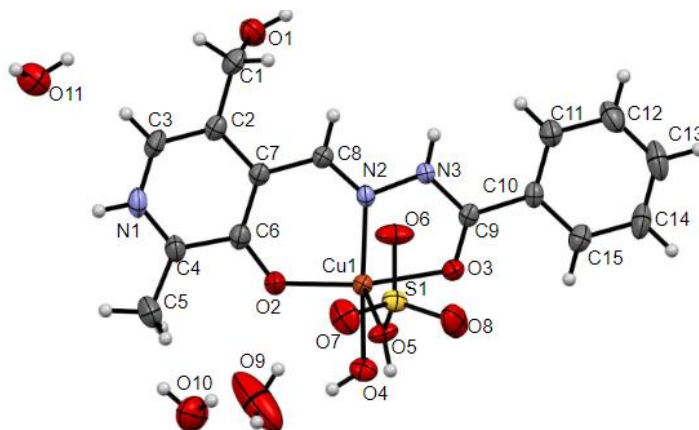


Figura 19. Projeção ORTEP da estrutura cristalina do complexo (4). Elipsóides térmicas representadas a um nível de 50% de probabilidade. Uma molécula de água de cristalização foi omitida por motivos de clareza da figura.

Pode ser observado nos complexos (3) e (4) que o átomo de cobre(II) também se coordena ao ligante na forma neutra e tridentada pelo sistema doador *ONO* com a coordenação feita pelo átomo de oxigênio do grupo fenólico da piridina, o átomo de nitrogênio do grupo azometínico e o átomo de oxigênio do agrupamento amida conjugado ao anel benzênico. A esfera de coordenação com número de coordenação igual a cinco é completada no complexo (3) com um íon cloreto e uma molécula de água, já no complexo (4) com um íon sulfato e uma molécula de água. Observa-se ainda na unidade assimétrica do complexo (3) uma molécula de água e um íon nitrato proveniente do sal de partida de cobre(II) utilizado para a reação de complexação e no complexo (4) a presença de três moléculas de água de cristalização.

Devido ao número de coordenação nos dois complexos ser igual a cinco, o parâmetro de Addison(τ)⁴⁸ encontrado foi de 0,2623 para o complexo (3), sendo o maior ângulo β O2-Cu1-O3 igual a $170,26(7)^\circ$ e o segundo maior ângulo α igual a N2-Cu1-Br1 igual a $154,52(6)^\circ$. O valor encontrado para o complexo (4) foi de 0,045 através dos maiores ângulos de ligação de O2-Cu1-O3 igual a $165,35(8)^\circ$ e O3-Cu1-O4 igual a $94,22(8)^\circ$. Como os valores do parâmetro de Addison(τ)⁴⁸ nos dois complexos é mais próximo de um, indica uma geometria pirâmide de base quadrada distorcida, como observado na Figura 20.

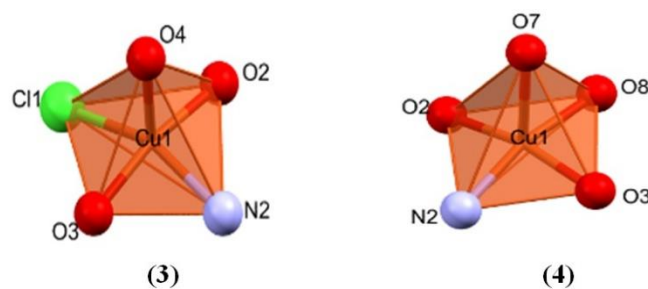


Figura 20. Representação dos poliedros de coordenação dos complexos (3) e (4).

De acordo com a análise de difração de raios X de monocristal encontram-se valores de ângulos de ligação para o poliedro de coordenação na forma de uma pirâmide de bases quadrada distorcida para O2-Cu1-N2, N2-Cu1-O3, O3-Cu1-O4, O4-Cu1-O5 e O2-Cu1-O3 entre $80,16(8)^\circ$ a $168,35(8)^\circ$ no complexo (3) e no complexo (4) valores entre $80,16(8)^\circ$ e entre $168,35(8)^\circ$ para os ângulos N2-Cu1-O3, O2-Cu1-N2, O3-Cu1-O4, O2-Cu1-O3, O2-Cu1-N2 e O3-Cu1-O4. Essa distorção presente em todos os quatro complexos demonstra a rigidez da estrutura do agente complexante na sua forma tridentada no momento da coordenação aos átomos de cobre(II).⁵⁰

Diferente dos complexos (1) e (2), a estrutura do complexo (3) não apresenta uma diferença significativa de tamanho das ligações dos átomos coligantes ao centro metálico, sendo elas Cu1-O4 igual a $2,254 \text{ \AA}$ e Cu1-Cl1 igual a $2,234 \text{ \AA}$. O mesmo comportamento é observado na formação do complexo (4) que se observa comprimentos de ligação Cu1-O3 de $2,020(2) \text{ \AA}$ e Cu1-O5 de $2,240(2) \text{ \AA}$, como uma justificativa para diminuição da energia do sistema.⁵¹ Os principais comprimentos e ângulos de ligação dos complexos (3) e (4) encontram-se listados na Tabela 3.

Outra informação relevante a ser ressaltada que com a utilização do sal de partida nitrato de cobre(II) na formação do complexo (3), o íon nitrato não fica diretamente ligado ao átomo de cobre(II), mas sim como contra-íon. Este comportamento ocorre de maneira diferente na formação do complexo (4), onde observa-se o íon sulfato diretamente ligado ao átomo de cobre(II). Devido ao átomo de cobre(II) ser um metal de classificação de dureza intermediária de acordo com a teoria de Pearson e os grupos presentes na esfera de coordenação serem bases duras, não há como prever qual grupo preferencialmente ficará ligado ao metal com a complexação, como já foi relatado na literatura.⁵²⁻⁵⁴

Tabela 3. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos (3) e (4). Os valores entre parênteses referem-se ao desvio padrão.

Comprimentos de Ligação (Å)			Ângulos de Ligação (°)		
	(3)	(4)		(3)	(4)
Cu1-O2	1,906(2)	1,904(2)	O2-Cu1-N2	90,40(7)	90,50(8)
Cu1-N2	1,961(2)	1,934(2)	N2-Cu1-O3	79,86(7)	80,16(8)
Cu1-O3	2,000(2)	2,020(2)	O2-Cu1-Cl1	96,05(6)	---
Cu1-Cl1	2,234(7)	---	O3-Cu1-Cl1	92,69(5)	---
Cu1-O4	2,254(2)	1,063(2)	O3-Cu1-O4	85,66(7)	94,22(8)
Cu1-O5	---	2,240(2)	N2-Cu1-Cl1	154,52(6)	---
C8-N2	1,289(3)	1,285(4)	O2-Cu1-O3	170,26(7)	168,35(8)
N2-N3	1,387(3)	1,383(3)	O2-Cu1-N2	90,40(7)	90,45(9)
C9-N3	1,342(3)	1,340(4)	O3-Cu1-O4	---	82,10(7)
C9-O3	1,253(3)	1,257(3)			

A Figura 21 apresenta a cela unitária do complexo (3) com as quatro unidades assimétricas, e seu referencial de acordo com a *International Tables for Crystallography*⁴⁵, número 14 contendo os respectivos operadores de simetria. É possível observar que estão presentes os operadores de simetria eixo helicoidal 2_1 , centro de inversão e um plano deslizante paralelo ao plano cristalográfico ac .

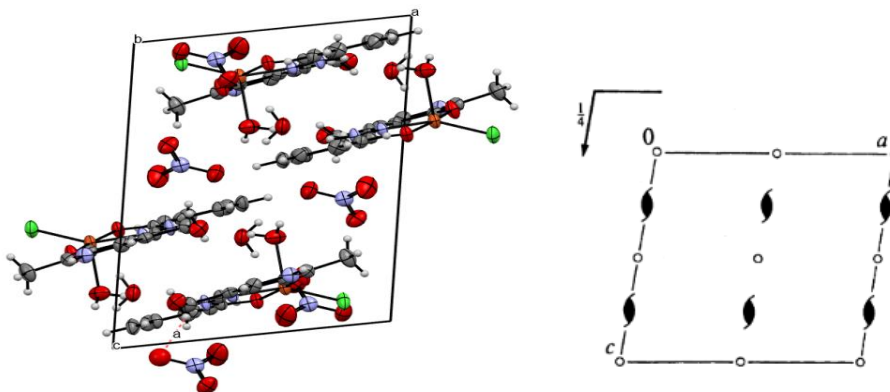


Figura 21. Representação da cela unitária do complexo (3) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial $P2_1/n$ extraído da *International Tables for Crystallography*.

A célula unitária do complexo (4), contendo quatro unidades assimétricas, está representada na Figura 22, juntamente com o seu referencial da *International Tables for Crystallography*⁴⁵ número 14. Quando há a comparação entre as duas figuras é possível observar as diferentes operações de simetria presentes, que são eixo helicoidal 2_1 que se

estende ao longo do eixo cristalográfico b , centro de inversão e um plano de deslizamento paralelo ao eixo cristalográfico ac na direção de c .

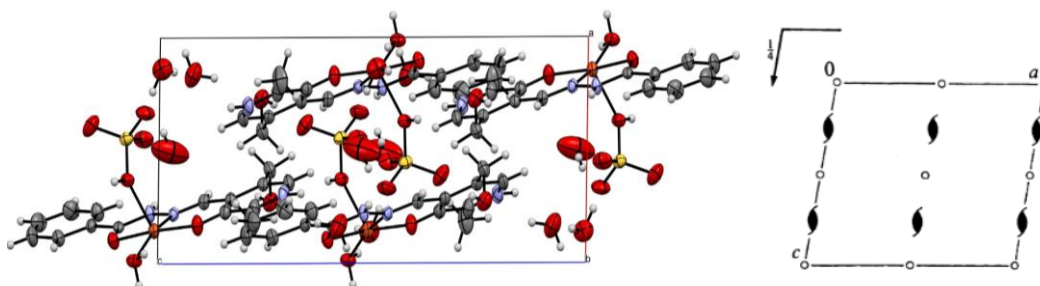


Figura 22. Representação da cela unitária do complexo (4) no plano cristalográfico ac e diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*.

4.3. Análise das interações $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking

As interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking são empilhamentos de interações não-covalentes entre anéis que possuem aromaticidade e ligações π . São interações mais fracas do que as usuais, portanto é difícil a identificação dela sem que seja por uma técnica de caracterização avançada, para este trabalho foi utilizado a técnica de difração de raios X de monocristal para tal análise. Dependendo de como se organiza tridimensionalmente a estrutura do composto que está sendo analisado essas interações podem ser divididas em três formas: empilhamento de borda a borda em forma de T, o empilhamento com angulações diferentes de 90° com forma deslocada, e por fim face a face com ambos os grupos perfeitamente um acima do outro.⁵⁵ A Figura 23 representa cada um desses tipos de empilhamentos.

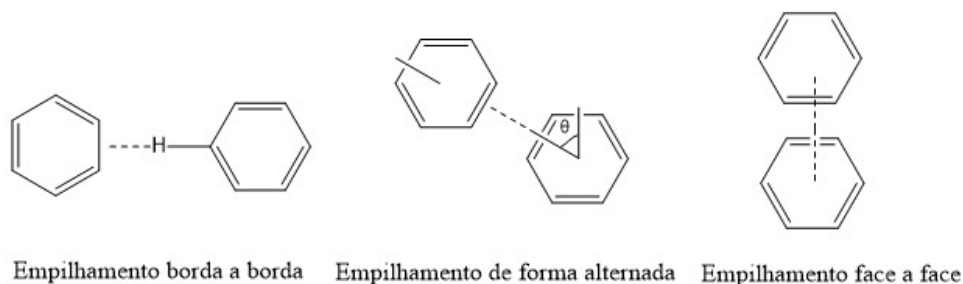


Figura 23. Tipos de empilhamentos que podem ocorrer nas interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking.⁵⁵

Alguns estudos reportam que os empilhamentos em forma de T e os empilhamentos deslocados possuem uma energia maior que o empilhamento face a face, isso ocorre devido as distâncias entre o centro de uma estrutura com relação ao outro

serem maiores que aqueles que estão empilhados face a face, o que faz com que dificulte a sobreposição das moléculas, fragilizando ainda mais essas interações.

Nos complexos (1-4) foi possível observar a formação de interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking, sendo elas do tipo empilhamento deslocalizado. Essas interações são observadas nos anéis benzênicos com os anéis piridina. Os seus valores diferentes de comprimento são devido ao seu empilhamento alternado das estruturas dos complexos, variando de 3704 Å a 3825 Å.⁵⁶ Na Figura 24 é possível observar o empilhamento das estruturas dos complexos e as suas respectivas interações $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking formadas.

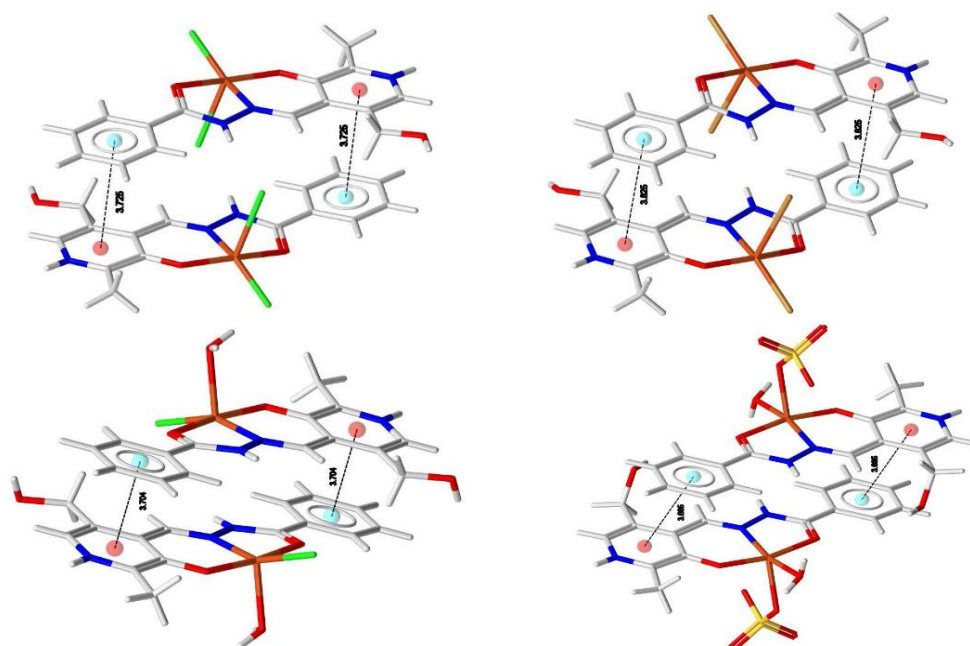


Figura 24. Interações $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking presentes nos complexos (1-4) (linha tracejada).

4.4. Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

Como forma de observar e analisar as transições eletrônicas que ocorrem no ligante e nos quatro complexos sintetizados foi utilizado os espectros de absorção molecular na região do ultravioleta visível, determinados a partir de soluções de concentrações iguais a $2 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ no solvente MeOH.

Os espectros dos quatro complexos (1-4) e do ligante livre no solvente MeOH e estão representados nas Figuras 25 e 26, respectivamente. Os resultados obtidos para os complexos estão representados na Tabela 4, no qual é possível observar as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e as transições $n \rightarrow \pi^*$. A Tabela 5 apresenta as transições de transferência de carga ligante-metal que ocorrem após a complexação. A absorvidade molar ϵ foi calculada em função de logaritmo, como $\log \epsilon$, a partir da equação:⁵⁷

$$\varepsilon = \frac{A}{cl}$$

No qual A é a absorvância, c é a concentração da amostra e l é o caminho óptico que foi percorrido pela amostra (1 cm).

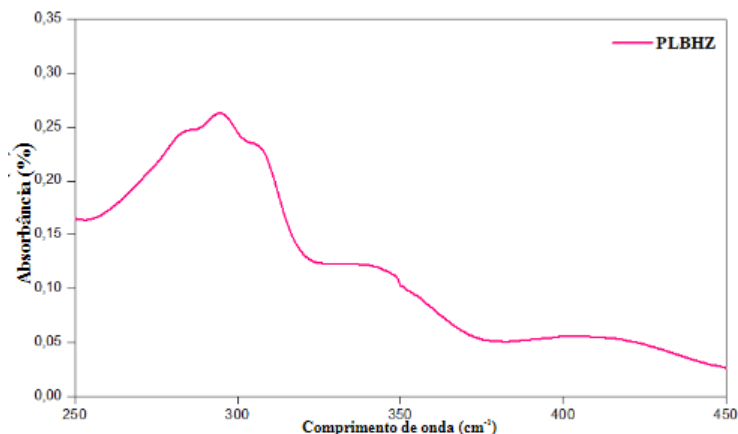


Figura 25. Espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível do ligante livre no solvente MeOH (2×10^{-5} mol.L⁻¹).

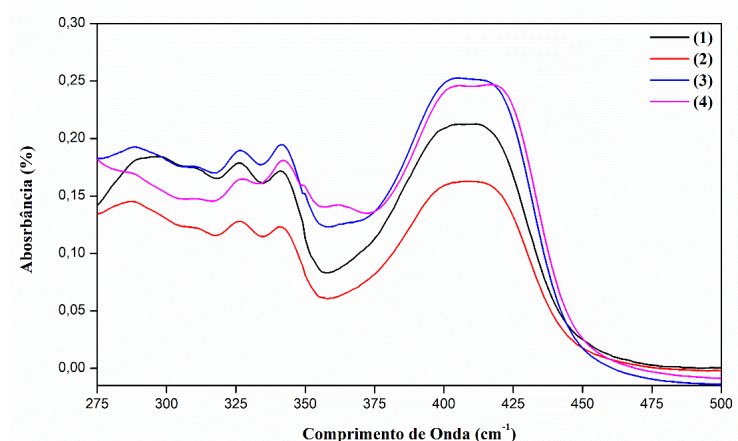


Figura 26. Espectros de absorção molecular no ultravioleta-visível dos complexos (1-4) no solvente MeOH (2×10^{-5} mol.L⁻¹).

É possível observar que para o espectro do ligante livre há a aparição de uma banda de absorção em torno de 280 nm referente a transição de $\pi \rightarrow \pi^*$ relacionada com o grupo azometínico.⁵⁸ As bandas em torno de 300 nm são referentes as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos grupos aromáticos.⁵⁸ Nos dois espectros de absorção do complexo é possível observar que há um deslocamento batocrômico (maiores comprimentos de onda), da banda $\pi \rightarrow \pi^*$, e o aparecimento de uma banda de absorção em torno de 400 nm, relacionado a banda de transferência de carga ligante-metal (TCLM), indicando que houve a complexação do ligante com o átomo de cobre(II).

Tabela 4. Resultados obtidos das análises de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível com os valores de comprimentos de onda em nm.

Composto	Transições $\pi \rightarrow \pi^*$		Transições $n \rightarrow \pi^*$	
	MeOH	$\log \epsilon$	MeOH	$\log \epsilon$
1	326	3,95	341	3,98
2	326	3,81	341	3,78
3	327	3,98	342	3,98
4	327	3,9	342	3,95

Tabela 5. Resultados obtidos das análises de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível com os valores de comprimentos de onda em nm.

Composto	Transição TCLM			
	DMF	$\log \epsilon$	MeOH	$\log \epsilon$
(1)	415	4,13	411	4,04
(2)	415	3,90	410	3,90
(3)	413	4,27	405	4,10
(4)	415	4,08	406	4,10

Com o objetivo de observar as transições do tipo d-d dos quatro complexos de cobre(II) foi obtido o espectro eletrônico em uma concentração maior ($2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) devido a essas transições serem proibidas por Laporte e possuir uma menor intensidade, as faixas de absorção apresentadas para as transições d-d estão na faixa de 685 – 695 nm.

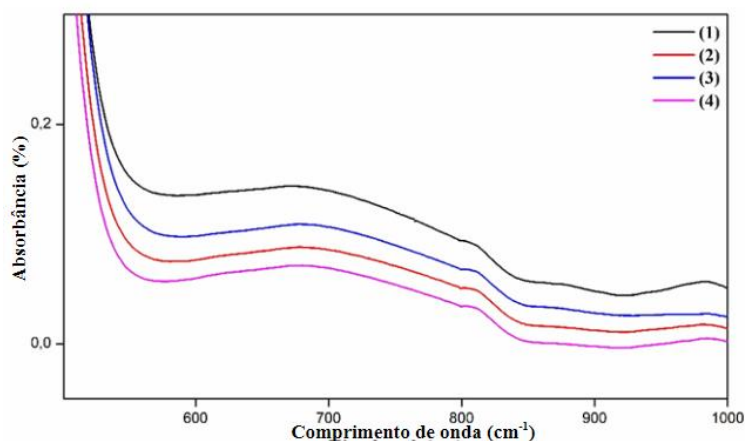


Figura 27. Espectro de absorção molecular no ultravioleta-visível dos complexos (1-4) no solvente MeOH ($2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$).

4.5. Espectroscopia vibracional no infravermelho

Foi realizada a análise de infravermelho médio com transformada de Fourier (FT-IR) na região de (4000 - 400 cm^{-1}) para o ligante PLBHZ e os quatro complexos. O objetivo da utilização do FT-IR foi de realizar uma comparação entre o ligante livre os seus complexos sintetizados, a fim de comprovar a complexação, bem como, auxiliar na elucidação da estrutura dos compostos. O espectro de FT-IR do ligante e seus complexos (1-4) se encontram nas Figuras 29 a 33 e os dados das principais bandas de absorção estão listados na Tabela 6.

Tabela 6. Comprimentos de onda observados a partir do estiramento e deformações angular dos modos normais de vibração (cm^{-1}) para o ligante PLBHZ e os complexos (1-4).

	PLBHZ	(1)	(2)	(3)	(4)
$\{(\text{N-H})$	2936	2830	2825	2762	2830
$\{(\text{C-O})$	*	1305	1308	1311	1308
$\{(\text{C=N})$	1589	1560	1546	1554	1554
$\{(\text{N-N})$	1053	996	1036	1022	1045
$\{(\text{C=O})$	1669	1594	1594	1589	1591
$\{(\text{O-H})$	3349	3131	3360	3254	3248
$\{(\text{Py})$	713	690	701	707	704

Foi possível observar no espectro do ligante PLBHZ livre as bandas características referente aos $\{(\text{C=O})$, $\{(\text{C=N})$, $\{(\text{O-H})$, $\{(\text{N-N})$, $\{(\text{N-H})$ e a deformação da piridina, como era esperado e de acordo com a literatura.²⁷ As principais bandas observadas para o ligante são, o estiramento $\{(\text{C=N})$ em 1589 cm^{-1} característico das bases de Schiff.^{59,60} Além deste é possível identificar o estiramento $\{(\text{N-H})$ em 2936 cm^{-1} do agrupamento amida, o $\{(\text{C=O})$ em 1669 cm^{-1} da carbonila conjugada ao anel benzênico, o $\{(\text{N-N})$ em 1053 cm^{-1} e o $\{(\text{O-H})$ em 3349 cm^{-1} , e que estão de acordo com compostos semelhantes já descritos na literatura.^{51,61-64} A Figura 28 apresenta o espectro de FT-IR para o ligante PLBHZ livre.

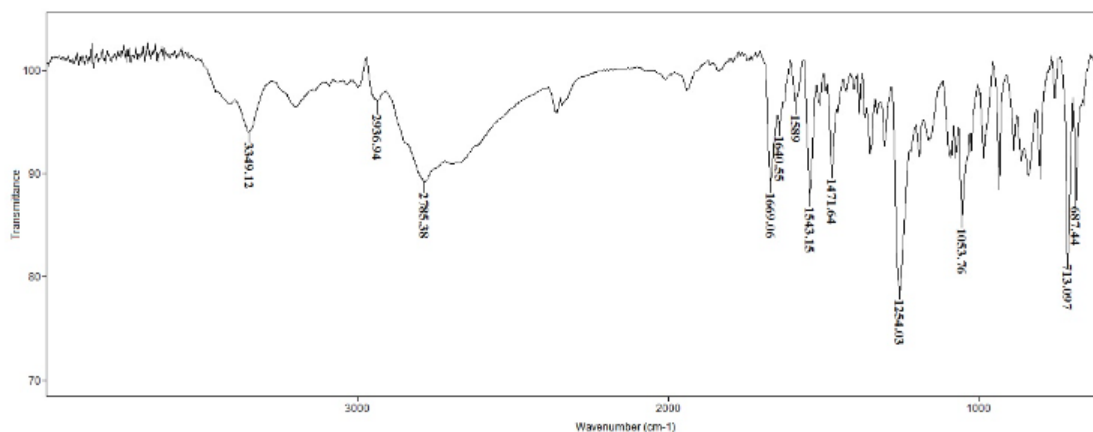


Figura 28. Espectro FT-IR para o ligante PLBHZ.

Após a complexação do agente complexante ao centro metálico foi possível observar a ocorrência do deslocamento para menor comprimento de onda referente ao $\nu(\text{C}=\text{O})$ observado em 1669 cm^{-1} no ligante livre, deslocado para valores entre $1600 - 1590\text{ cm}^{-1}$, que apesar de ser um valor muito abaixo para estiramentos de carbonilas, alguns compostos de ligantes hidrazonas relatam semelhantes.^{47,59,64} Para $\nu(\text{O}-\text{H})$, embora o átomo de oxigênio seja desprotonado com a complexação, ainda é possível identificar seu estiramento pois há nos complexos a presença de moléculas de água e/ou hidroxila, o que faz com que seja observado uma banda larga em torno de $3200-3500\text{ cm}^{-1}$. Ao comparar a intensidade das bandas dos espectros dos complexos com relação ao espectro do ligante, é possível notar que há uma diminuição dessa banda por volta de $3200-3500\text{ cm}^{-1}$, pois no momento da complexação a única banda de O-H presente é a do agrupamento alcoólico. Além disso é constatado que há uma mudança o valor da banda em torno de 1300 cm^{-1} , para valores maiores do que foi observado no espectro do ligante, característico de ligações C-O e indicando que houve a complexação com a perda do hidrogênio da hidroxila fenólica.³⁵ Também foi possível de ser observado uma diminuição do valor referente a banda do grupo azo, isso pois, quando há a complexação há um aumento de energia do estiramento das ligações, provocando uma diminuição em seu comprimento de onda e dessa forma demonstrando que a coordenação do ligante PLBHZ ocorre de forma tridentada pelo sistema doador *ONO*. Os espectros dos infravermelho dos complexos (1-4) se encontra nas Figuras 30 a 33.

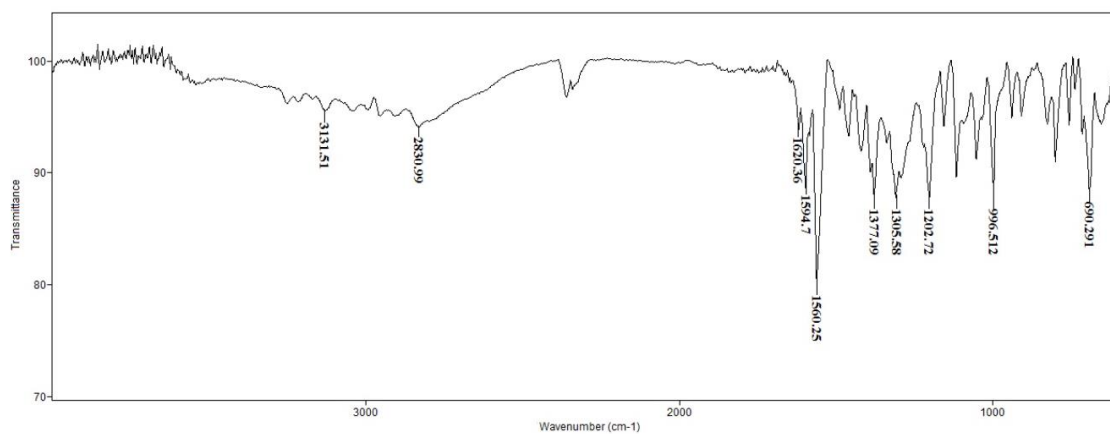


Figura 29. Espectro FT-IR para o complexo (1).

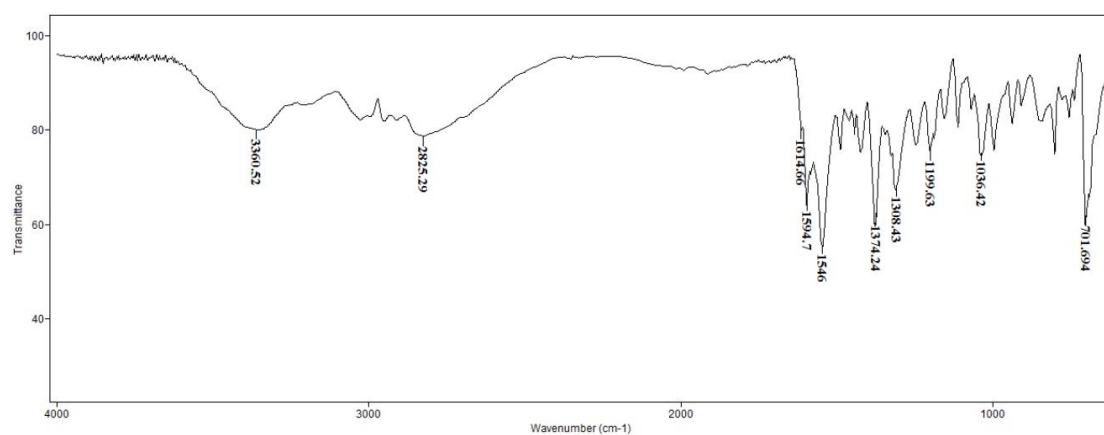


Figura 30. Espectro FT-IR para o complexo (2).

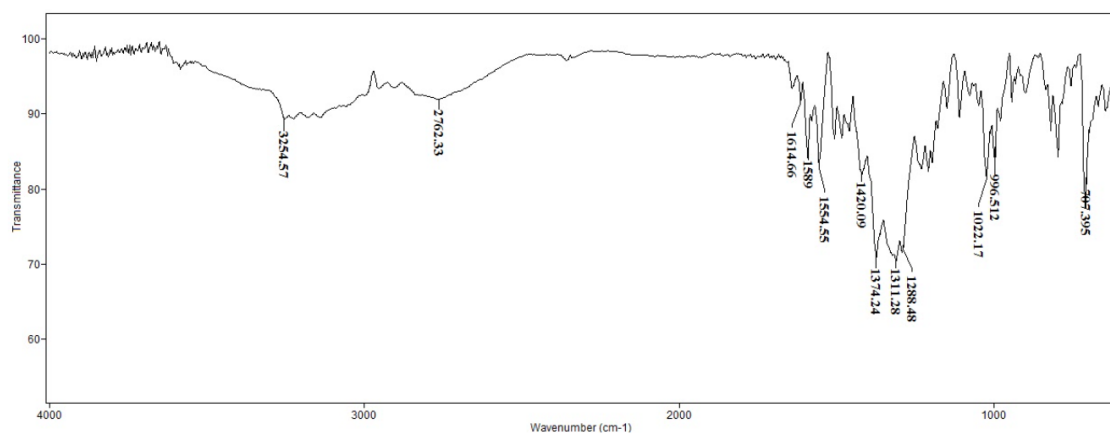


Figura 31. Espectro FT-IR para o complexo (3).

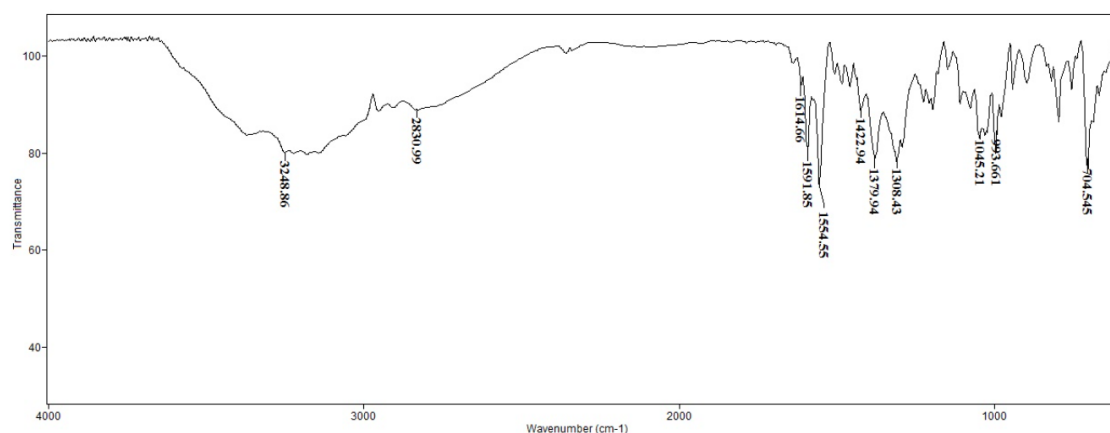


Figura 32. Espectro FT-IR para o complexo (4).

É possível observar uma similaridade entre os valores de comprimento de onda dos complexos (1) e (2) devido a sua correlação dos sais utilizados como reagentes de partida. Em ambos é utilizado sais com átomos de halogênio, o que gera coordenações semelhantes com o metal, e, por isso, valores de comprimentos de onda próximos nos espectros de infravermelho.

Para o complexo (3) é possível observar uma forte absorção na região de 1380-1370 cm^{-1} relacionada ao íon nitrato presente na estrutura cristalina deste complexo.⁵² Para o complexo (4) as bandas na região de 1100 cm^{-1} estão associadas ao estiramento da ligação $\nu(\text{SO}_4^{2-})$ confirmando a sua coordenação monodentada com o ligante PLBHZ.⁶⁵

Devido ao espectro de infravermelho ter sido realizado na região de 4000-400 cm^{-1} não foi possível constatar as absorções em $\nu(\text{N1-Cu-O1})$, $\nu(\text{Cu-N1})$ e $\nu(\text{Cu-O2})$, porém esses valores já foram relatados na literatura em complexos muito similares aos apresentados deste trabalho, abordando os valores na faixa entre 150 e 380 cm^{-1} .^{27,35,66} Além disso, como forma de trazer dados complementares para o ligante e seus quatro complexos, foi possível observar os estiramentos C-H de carbonos aromáticos em torno de 2800 cm^{-1} e os desdobramentos fora do plano da piridina em torno de 700 cm^{-1} .^{35,61,67}

4.6. Espectrometria de massa - ESI(+)-MS(/MS)

Com objetivo de realizar as análises sobre as fragmentações reais presentes no ligante e nos complexos foi feito a análise de espectrometria de massas com ionização por *electrospray* no modo positivo ESI(+)- MS(/MS) com concentração de 50 μM .

Para o ligante PLBHZ obteve-se na distribuição isotópica do espectro de massas ESI(+)- MS(/MS) um pico do íon molecular em $m/z=286,1192$ referente a espécie do ligante protonado $[\text{M}+\text{H}]^+$. O pico base em $m/z=150,0551$ é referente ao agrupamento piridina tetra substituído do ligante, que pode ser explicado após um rearranjo de

McLafferty (mecanismo através do rearranjo de hidrogênios) das hidroxilas seguido de uma clivagem alfa do agrupamento azometínico. Nas fragmentações do ligante PLBHZ pode ser observado os picos em $m/z=165,0663$ referente a quebra da ligação do grupo azo por rearranjo de McLafferty, o pico em $m/z=119,0612$ referente a quebra do grupo azometínico via mecanismo concertado (mudança em diferentes átomos e/ou grupos funcionais simultaneamente) e o pico em $m/z=150,0551$, pico base, referente a perda da estrutura da hidrazona (Figura 34).



Figura 33. Espectros de ESI-MS e de ESI-MS/MS para o ligante PLBHZ.

Os espectros de massa ESI(+)- MS(/MS) para os complexos (1-4) apresentam verossimilhança quanto aos picos de íon molecular $[M+H]^+$ presentes, isso ocorre pois ao se realizar a análise de ESI(+)- MS(/MS) foi possível notar uma mesma estrutura nos espectros, visto que os coligantes derivados do sal de partida não se fazem presente nas estruturas do pico do íon molecular $[M+H]^+$. Os espectros de massa com a distribuição isotópica estão representados nos anexos, a Figura 35 traz o exemplo de um dos complexos e sua distribuição monoisotópica. Sendo, portanto, observado os picos $m/z=347,0323$ para o complexo (1), $m/z=347,0330$ para o (2), $m/z=347,0326$ para o (3) e $m/z=347,0334$ referente ao complexo (4).

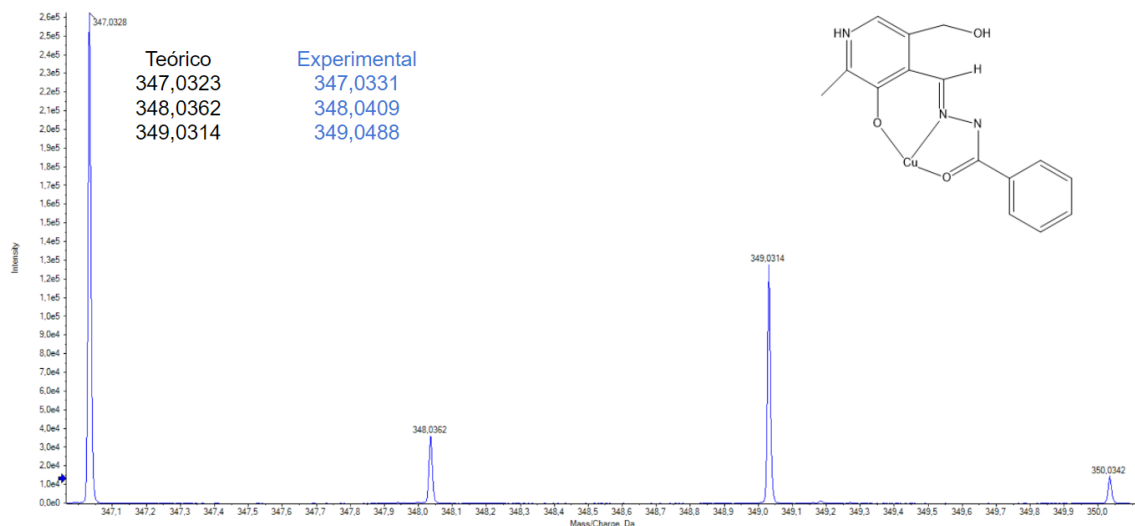


Figura 34. Espectros de ESI-MS para os complexos (1).

É possível observar também que o pico de íon molecular $[M+H]^+$ é também o pico base das estruturas dos complexos (1-4) diferente do observado no ligante, no qual há uma diferença entre o pico que aparece em maior abundância e aquele que faz parte do íon molecular. As fragmentações dos complexos estão representadas nas Figuras 36 a 39.

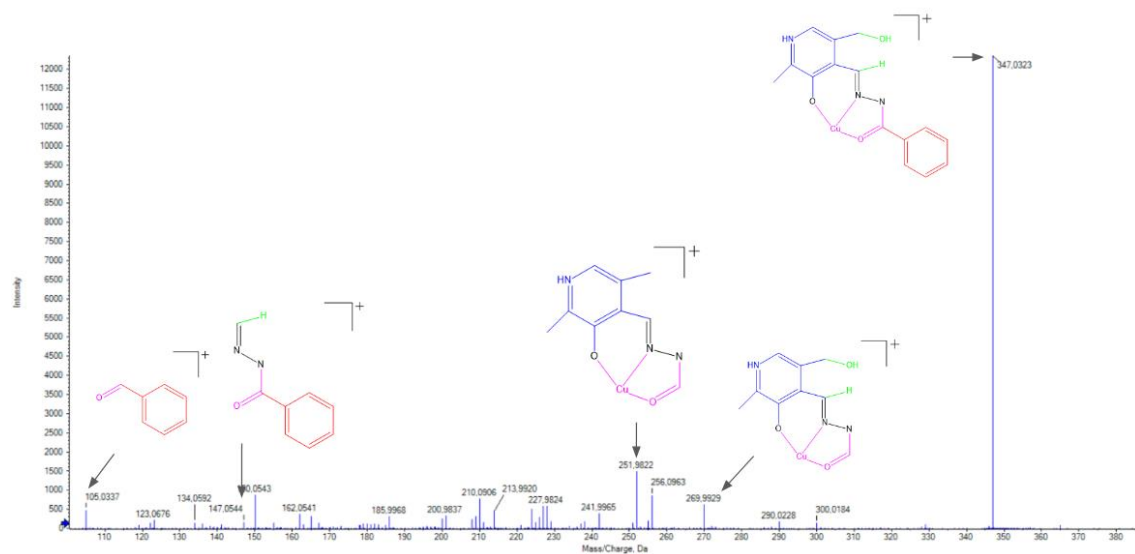


Figura 35. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (1).

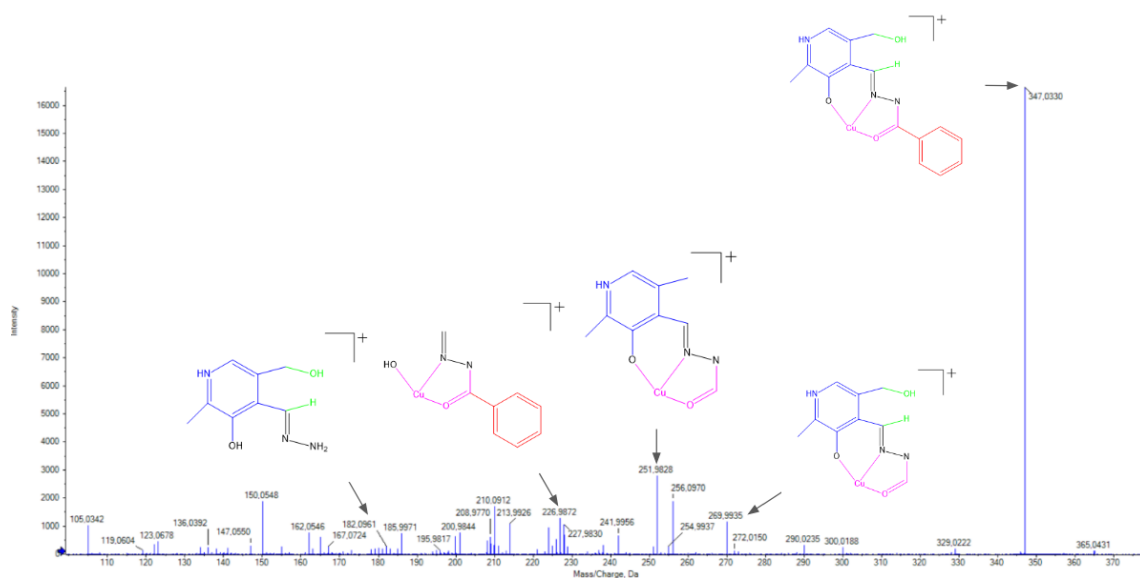


Figura 36. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (2).

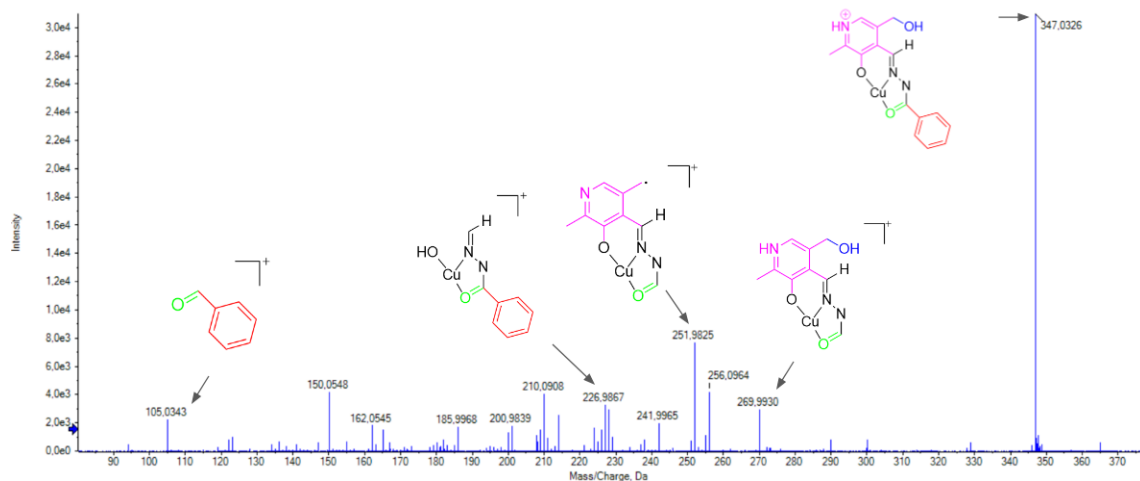


Figura 37. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (3).

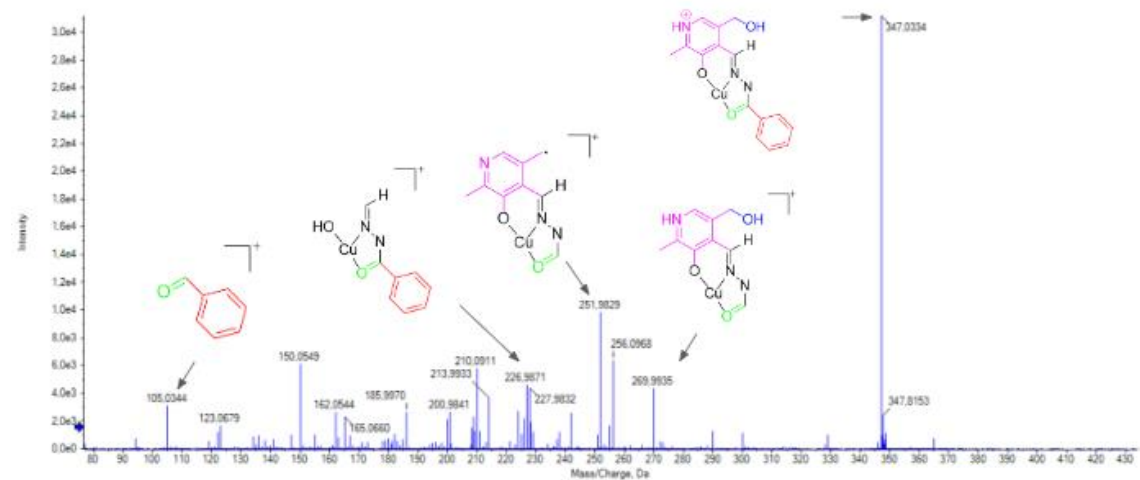


Figura 38. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (4).

Outros picos característicos que podem ser observados para os complexos (1-4) são de $m/z=269,9929$ para o complexo (1), $m/z=269,9930$ para o complexo (2) e $m/z=269,9935$ para os complexos (3) e (4), referentes a perda do grupo benzênico via clivagem alfa. Os picos $m/z=251,9928$ para o complexo (1), $m/z=251,9825$ para o complexo (2), $m/z=251,9829$ para o complexo (3) e $m/z=251,9929$ para o complexo (4) são referentes a perda de uma molécula de água por rearranjo de McLafferty da hidroxila alcoólica e do átomo de hidrogênio ligado ao grupo azometínico. Esse mesmo tipo de fragmentação é característico para ligantes do tipo hidrazona como já reportado em compostos semelhantes.⁵⁷

4.7. Análise da Superfície de Hirshfeld

A análise da superfície de Hirshfeld foi realizada com o objetivo de estudar as interações intermoleculares que ocorrem entre as moléculas nas estruturas cristalinas, utilizando de um padrão de códigos de cores e gráficos de impressão digital (*fingerprint*). Essa análise permite estudar a molécula de forma tridimensional e fornece informações sobre as características presentes na superfície da molécula e as interações existentes, de forma a auxiliar no estudo e compreensão do empacotamento da rede cristalina.⁶⁸ Para isso é utilizado uma função chamada d_{norm} que avalia esses contatos de forma qualitativa e quantitativa de acordo com a seguinte equação

$$d_{norm} = \frac{d_i - r_i^{vdw}}{r_i^{vdw}} + \frac{d_e - r_e^{vdw}}{r_e^{vdw}}$$

No qual as variáveis r_i^{vdw} e r_e^{vdw} representam o tamanho dos raios de van der Waals para os átomos internos e externos da superfície, respectivamente. Dessa forma essa função ao apresentar seus valores de d_{norm} é possível observar três cores presentes, uma coloração azul que informa as interações que são maiores que a soma dos raios de van der Waals, apresentando um valor positivo de d_{norm} , a cor branca indica as interações que são iguais a soma dos raios de van der Waals com um valor de d_{norm} igual a zero e a cor vermelha as interações que são menores que a soma dos raios de van der Waals, apresentando um valor negativo de d_{norm} .^{53,69,70} A Figura 40 apresenta a análise da superfície de Hirshfeld dos complexos (1-4) com suas principais interações existentes.

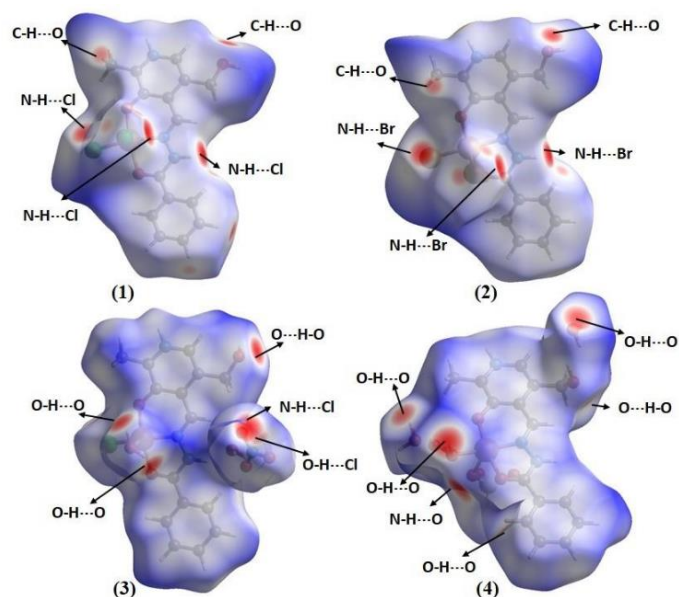


Figura 39. Superfície de Hirshfeld dos complexos (1-4) na função d_{norm} .

Outra análise foi feita a partir da função *shape index* para avaliar a topologia da superfície a partir das interações intermoleculares. É utilizada para verificar a ocorrência de interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking, onde um conjunto de um vale vermelho e uma crista azul, ambos com formato de triângulos, indicam que ocorre um empacotamento π entre anéis de duas moléculas. A Figura 41 representa a análise da superfície de Hirshfeld na função *shape index* para os quatro complexos sintetizados demonstrando a existência das interações do tipo $\pi\oplus\oplus\pi$ stacking e corroborando com os dados encontrados na análise de difração de raios X de monocristal.

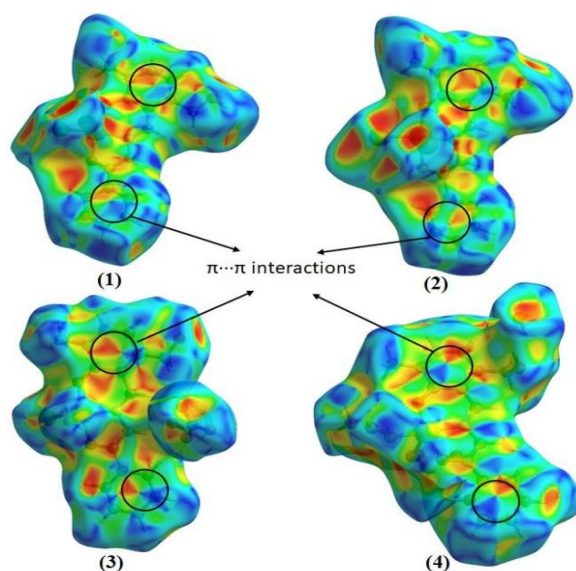


Figura 40. Superfície de Hirshfeld dos complexos (1-4) na função *shape index*.

Para uma análise de forma quantitativa, um gráfico bidimensional de impressão digital (*fingerprint*) pode ser adquirido utilizando as funções d_i e d_e , no qual d_e é a distância do ponto da superfície até o átomo mais próximo fora da superfície e d_i é a distância do ponto da superfície até um átomo mais próximo da superfície.^{53,71} Essas duas variáveis formam essa impressão digital levando em consideração todas as interações presentes na estrutura cristalina, incluindo até as interações mais fracas, conforme representado nas Figuras 42 a 45.

Para o complexo (1) as interações que apresentam uma maior contribuição são representadas por $H\oplus\oplus\oplus H$ e $Cl\oplus\oplus\oplus H$, sendo elas de 36.8% e 31.1%, respectivamente. Para o complexo (2) as maiores contribuições são dos contatos $H\oplus\oplus\oplus H$ e $Br\oplus\oplus\oplus H$ sendo de 34.6% e 33.1%, respectivamente. Para o complexo (3) as maiores contribuições são atribuídas aos átomos de $H\oplus\oplus\oplus H$ e $H\oplus\oplus\oplus O$, sendo elas de 32,3% e 27,8%. Por fim, para o complexo (4) as maiores contribuições encontradas são entre os átomos $H\oplus\oplus\oplus H$ e $H\oplus\oplus\oplus O$, de 38% e 39.1%, respectivamente.

É possível observar uma certa similaridade entre as interações de maior contribuição nos complexos, todas elas são realizadas entre os átomos de hidrogênio e os átomos de maiores valores de eletronegatividade. Nesses gráficos de impressão digital 2D uma coloração verde aparece no centro e isso é um outro indicativo da presença de interações do tipo $\pi\oplus\oplus\oplus\pi$ stacking em todos os complexos, como já foi analisado anteriormente. Por fim há uma certa diferença quanto as imagens de *fingerprint* que aparecem para análise, essa diferença em seu formato é devido às diferença nos valores de contribuição das interações $H\oplus\oplus\oplus H$ e $H\oplus\oplus\oplus O$. Observa-se também uma certa similaridade no formato das impressões digitais devido as interações serem comuns no ligante e em todos os quatro complexos, entretanto algumas apresentaram uma área maior no gráfico e outras uma área menor, e isso é devido a diferença de valores de porcentagens de contribuições que cada composto apresenta.

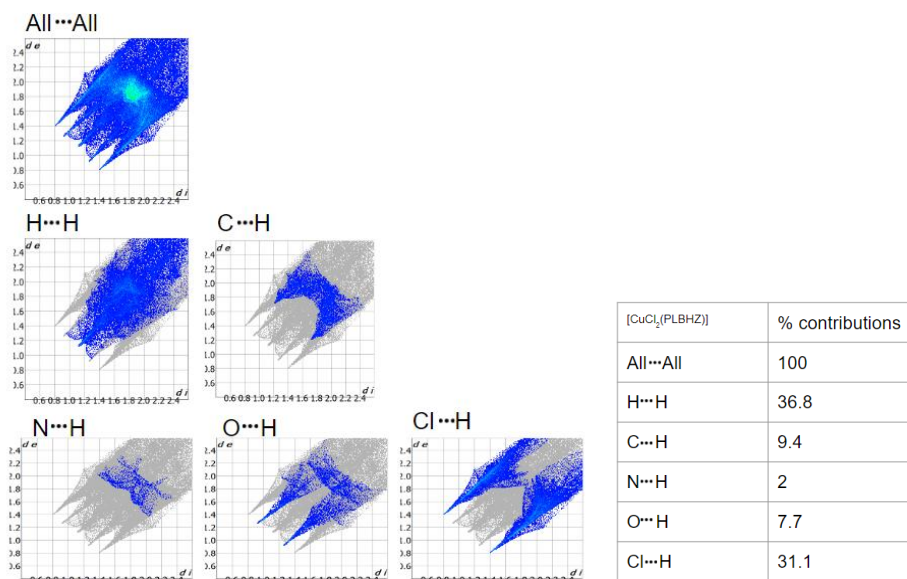


Figura 41. Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (1).

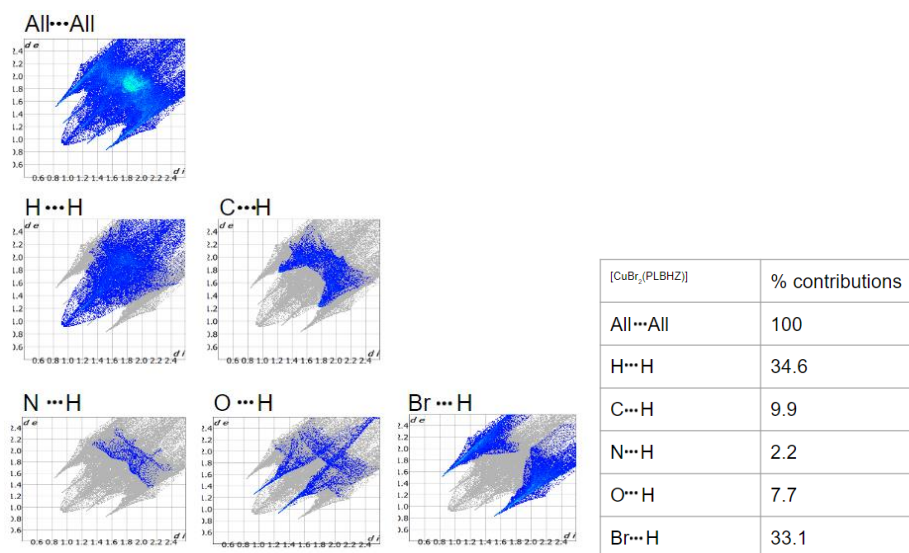


Figura 42. Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (2).

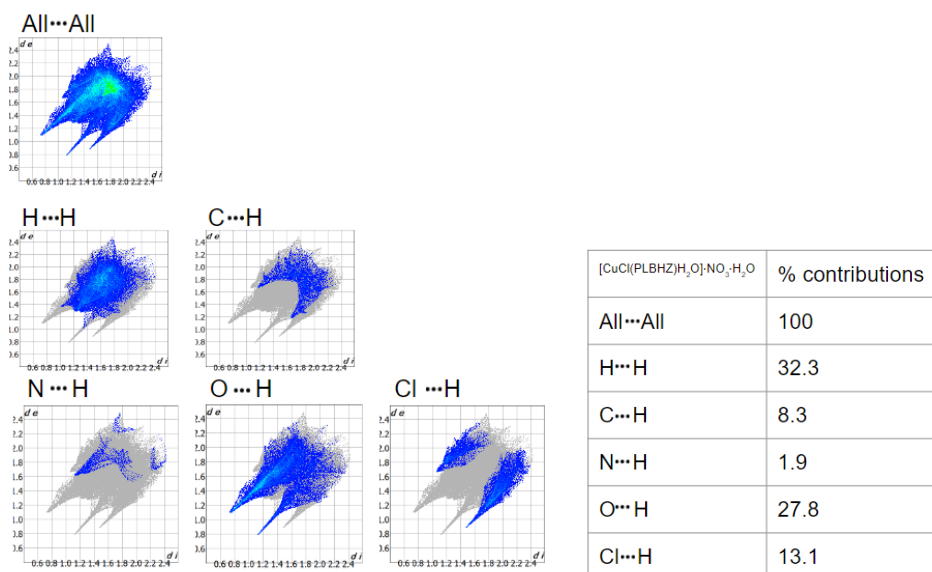


Figura 43. Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (3).

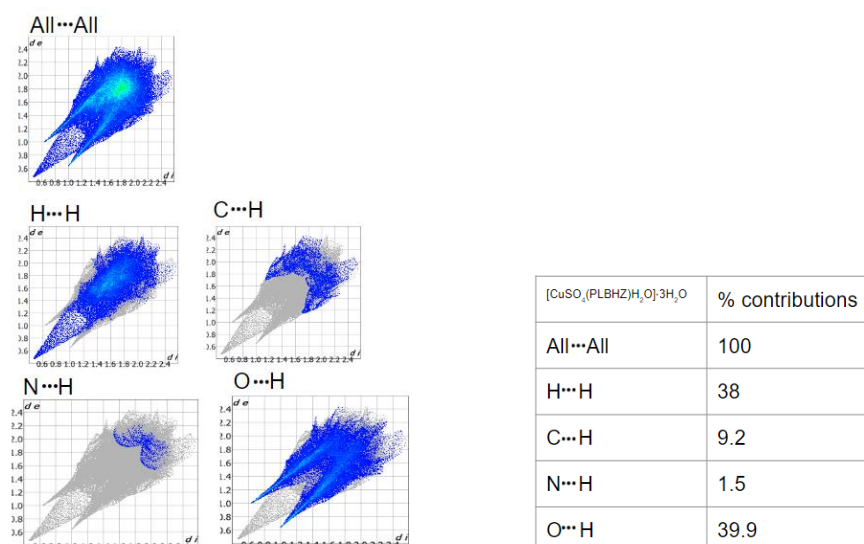


Figura 44. Gráficos de impressão digital total e das principais interações do complexo (4).

4.8. Mapas de interações total

Os mapas de interações total permitem que seja feita uma análise de todas as forças covalentes e não covalente intermoleculares existentes no complexo. É possível observar quais posições são preferenciais para as interações dos grupos funcionais em relação a acepção e doação de ligação de hidrogênio, além dos grupos hidrofóbicos.^{69,70}

Nestes mapas as colorações em vermelho indicam as espécies que sãoceptoras de ligações de hidrogênio, em azul as espécies que são doadoras, e em tom de cinza mais claro estão as espécies que são hidrofóbicas, as demais cores que aparecem estão

relacionadas com as interações dos diferentes grupos funcionais de cada composto analisado.⁷²

Para os complexos (1-4), é possível observar as nuvens de grupos doadores em azul e as nuvens de grupos aceptores em vermelho e se concentram em maior parte ao redor dos átomos doadores que fazem a coordenação com o átomo de cobre(II), Figura 46. Isso ocorre devido a maior eletronegatividade que esses átomos apresentam, a exceção do grupamento alcoólico presente em todos os complexos, que neste caso também irá apresentar nuvens de doação e recepção de ligações de hidrogênio.

A diferença de cores apresentada no mapa de interações total em cada um dos complexos se dá de acordo com os grupos coligantes dos sais de partida utilizados na complexação. É possível observar para o complexo (1) que há uma coloração verde presente e se refere às interações dos íons cloreto coordenados ao metal. Para o complexo (2) há a presença de uma coloração marrom referente aos íons brometo. Para o complexo (3) há uma coloração esverdeada no qual se referem a interação do íon cloreto não coordenado e em vermelho referente as moléculas de água e ao íon nitrato não coordenado. No complexo (4) observa-se grandes regiões intensas em azul e vermelho devido as regiões doadoras e aceptoras de ligações de hidrogênio devido as moléculas de água e íon sulfato coordenado ao metal.

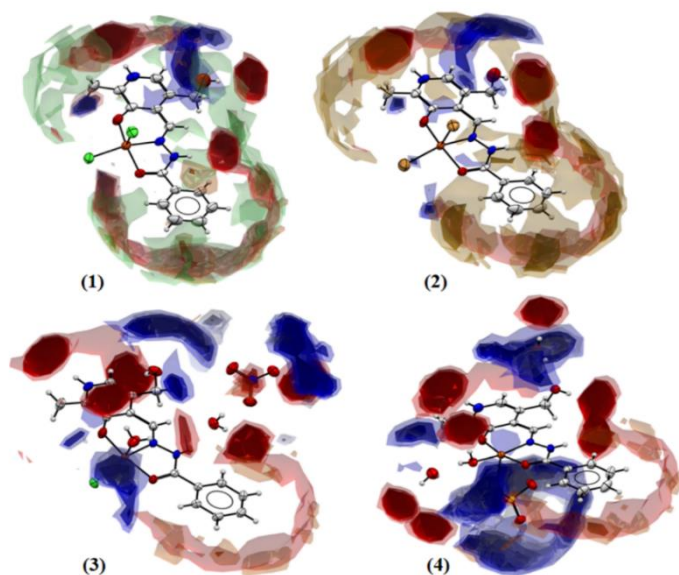


Figura 45. Representação dos mapas de interações totais dos complexos (1-4).

4.9. Análise biológica

A atividade antibacteriana do ligante livre e dos complexos de cobre(II) de foram testados em cepas de bactérias Gram-positiva (*S. aureus*) e Gram-negativa (*E. coli*). As

concentrações mínimas inibitórias (CIMs) de todas as substâncias foram determinadas, elas correspondem a menor concentração de cada composto para que haja uma inibição do crescimento de um microorganismo, representadas na Figura 47.

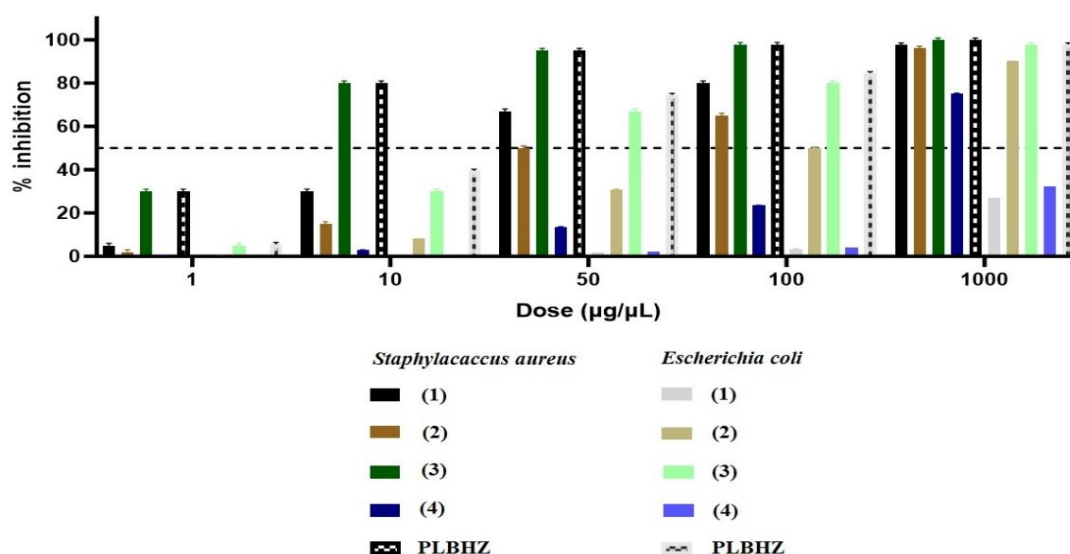


Figura 46. Porcentagem CMI ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos sintetizados.

Diferentes concentrações foram testadas para a atividade microbiana dos compostos, resultando em diferentes CIMs para o ligante PLBHZ e os complexos de cobre(II) (1-4), a Tabela 7 apresenta todos os resultados obtidos. De modo geral os compostos tiveram uma maior eficiência contra as bactérias Gram-positiva ao invés das Gram-negativa. É possível observar que o ligante livre e os complexos (1-3) apresentaram um valor mais satisfatório de CIMs do que o complexo (4) para bactérias *S. aureus*. O complexo (3) foi o único que apresentou um valor de CIM menor para bactérias *E. coli*. O ligante livre e os complexos (1-3) mostraram um valor de IC_{50} menor do que o controle positivo oxacilina que foi usado para *S. aureus* com um IC_{50} de concentração $0,05 \cdot 10^{-6} \text{ g.mL}^{-1}$. Para o ligante livre e os complexos (2) e (3) o valor de IC_{50} foram muito mais baixos do que o controle positivo ampicilina usado para *E. coli* com IC_{50} de $1,78 \cdot 10^{-6} \text{ g.mL}^{-1}$. Os resultados quanto a atividade biológica dos compostos se mostrou significativo contra bactérias *S. aureus*, devido ao valor de $\text{CIM} < 1 \cdot 10^{-6} \text{ g.mL}^{-1}$).⁷³

Tabela 7. Atividade antibacteriana para PLBHZ e os complexos (1-4), expressos como CIM e CMB ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) para as diferentes concentrações contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Composto	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	MIC	IC { IC_{50} }	IC 99,9 {MBC}	MIC	IC { IC_{50} }	IC 99,9 {MBC}
PLBHZ	$1,37 \cdot 10^{-6}$	0,001 a 0,004	1,37	$1,73 \cdot 10^{-6}$	0,001 a 0,032	1,73

(1)	$3,48 \times 10^{-5}$	0,012 a 0,043	24,95	$3,11 \times 10^{-3}$	2,250 a 3,251	2997,03
(2)	$5,15 \times 10^{-5}$	0,02 a 0,09	49,95	$9,83 \times 10^{-4}$	0,070 a 0,156	69,82
(3)	$6,34 \times 10^{-5}$	0,002 a 0,034	12,99	$3,86 \times 10^{-4}$	0,01 a 0,04	21,32
(4)	$3,51 \times 10^{-4}$	0,21 a 0,43	350,84	$3,51 \times 10^{-1}$	3,4 a 3,9	3696,83

Comparando os valores que foram obtidos, verifica-se que há uma alta atividade antimicrobiana do ligante hidrazona livre em relação aos seus complexos de cobre(II). No entanto, as bactérias do tipo Gram-negativas possuem uma membrana externa lipídica funcional assimétrica que serve como uma forma de proteção de substâncias nocivas que estejam presentes no ambiente. Essa membrana é composta de fosfolípidos e lipopolissacarídeos (LPS), sendo eles presentes na camada interna e externa, respectivamente. Por conta do LPS ser uma membrana polar, ocorre uma eletrização que serve como uma barreira contra moléculas que são lipofílicas, protegendo essas bactérias de detergentes, corantes e antibióticos hidrofóbicos.⁷⁴ Além disso, essas bactérias contêm lipoproteínas, sua membrana externa apresenta proteínas porinas, com conformação β -folha conservada que possui um canal aquoso que regula a passagem de moléculas hidrofílicas. Portanto, a depender da polaridade de cada composto é possível prever quais deles irão ter uma maior e menor eficiência devido às suas interações, portanto, devido ao ligante livre apresentar uma alta polaridade (maior que a dos complexos) foi possível uma maior interação com as membranas das bactérias, o que resultou numa maior eficácia quanto à sua atividade citotóxica em relação aos complexos.

4.10. Estudo de Docking Molecular

A simulação de docking molecular realizada em colaboração com os professores Érica C. M. Nascimento e João B. L. Martins do Instituto de Química da UnB, se mostrou em concordância com o que foi obtido na análise biológica quanto à tendência do poder inibitório e os valores experimentais de IC_{50} para todos os sistemas enzimáticos e os ligantes. Essa tendência de inibição também foi observada comparando a atividade antibacteriana do ensaio experimental (Tabela 7) e a energia de ligação teórica (Tabela 8).

Tabela 8. Energia de ligação teórica do estudo de acoplamento dos sistemas de complexos formados entre bactérias gram-positiva e gram-negativa, moléculas de PLBHZ, dos complexos (1-4) e das moléculas de controle oxacilina e ampicilina.

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
------------------------------	-------------------------

(Receptor biológico: MecR1 - PDB 2IWD)		(Receptor biológico: OmpF/A - PDB 4GCP)	
Composto	Valor (kcal.mol ⁻¹)	Composto	Valor (kcal.mol ⁻¹)
PLBHZ	-8.0	PLBHZ	-7.9
(1)	-7.5	(1)	-6.8
(2)	-6.9	(2)	-7.0
(3)	-7.7	(3)	-7.4
(4)	-6.7	(4)	-6.6

A relação entre a inibição de forma quantitativa com a correlação e assertividade entre os valores experimentais de IC₅₀ e a energia de ligação teóricos é mostrada na Figura 48. Para o sistema envolvendo as bactérias *S. aureus* a ordem de inibição é PLBHZ>(3)>(1)>(2)>oxacilina>(4) e para o sistema envolvendo as bactérias *E.coli* a ordem de inibição é PLBHZ>(3)>(2)>ampicilina>(1)>(4). É possível observar a partir dessas análises que o ligante livre e o complexo (3) apresentam os valores de inibição mais satisfatórios, com valores de 100% de inibição, para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas respectivamente, nos estudos de docking molecular enquanto o complexo (4) apresenta um valor abaixo do esperado para as bactérias quanto ao seu poder de inibição, 97% para Gram-positivas e 70% para Gram-negativas. De forma geral, os compostos apresentaram um poder inibitório promissor quanto às bactérias *S. aureus* e *E.coli*, embora os estudos apontam uma melhor afinidade quanto às bactérias *S. aureus*, devido aos valores de inibição apresentados serem maiores em Gram-positivas do que em Gram-negativas.

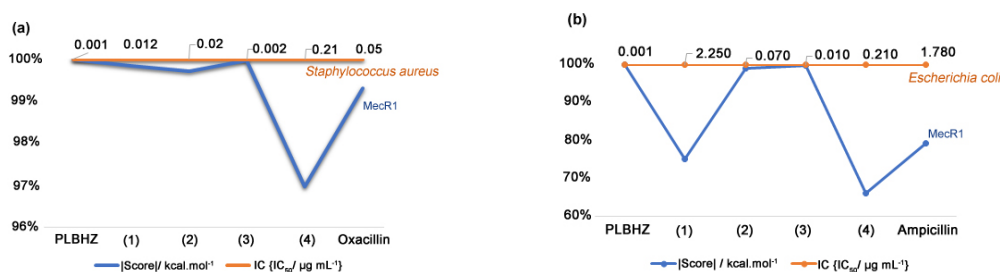


Figura 47. Tendência relativa de inibição e correlação do IC₅₀ versus a energia de ligação teórica. (a) *Staphylococcus aureus* - MecR1 e (b) *E. coli* - OmpF/A.

A simulação de acoplamento molecular contra as bactérias *S. aureus* mostra a estrutura cristalográfica do bioreceptor MecR1 (PDB 2IWD), que funciona como um sensor de antibiótico, com o intuito de aumentar a resistência da bactéria frente aos compostos de inibição. Esse receptor é complexado com a oxacilina, um antibiótico da classe das penicilinas, formando uma ligação covalente com o resíduo catalítico Ser391, e formando o aduto oxaciloil, representados na Figura 49(a). Ambos os estudos de docking para as moléculas de oxaciloil e oxacilina foram realizados e mostraram boa concordância na superposição com a estrutura cristalográfica original. Conforme

apresentado na Figura 49(b), o sítio ativo da enzima MecR1 é composto pelo resíduo catalítico Ser391 e pelos resíduos Pro389, Asn390, Thr392, Lys394, Ser439, Phe423, Trp426, Asn441, Thr529, Thr531 e Ile533. Para bloquear a atividade da enzima MecR1 e, conseqüentemente, interromper o mecanismo de resistência das bactérias *S. aureus*, é necessária uma interação covalente entre o inibidor antibacteriano e o resíduo do sítio ativo Ser391, como representado na Figura 49(c).⁷⁵ Observa-se que para realizar uma inibição eficiente são estabelecidas importantes ligações de hidrogênio entre os resíduos da proteína e a oxacilina/oxaciloil, bem como, interação π -alquil e π -enxofre de médio alcance que estabilizam o aduto no sítio ativo da MecR1.

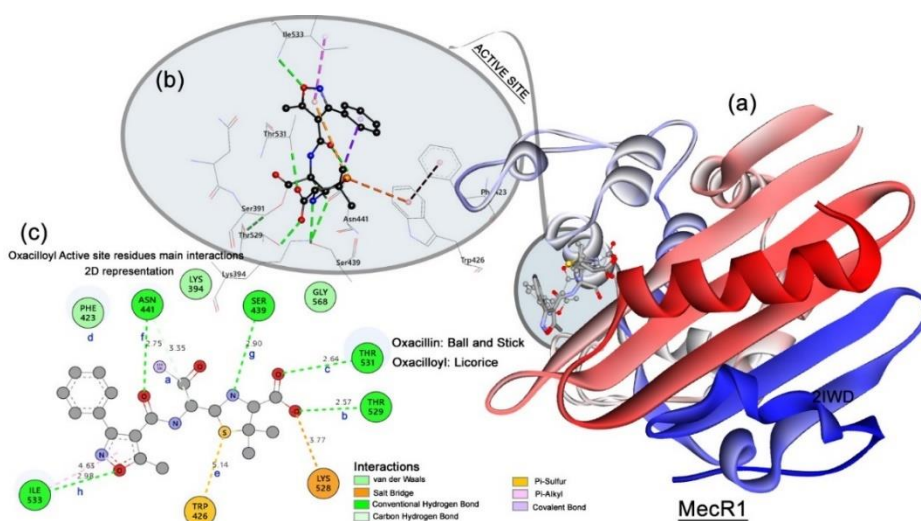


Figura 48. (a) Representação da estrutura da enzima MecR1 e superposição do acoplamento da oxacilina e oxaciloil. (b) Visualização 3D do sítio ativo e dos principais resíduos da MecR1 interagindo com oxaciloil. (c) Interação 2D e mapa de distância do complexo formado por MecR-1 e o aduto de oxaciloil.

A Tabela 9 mostra as distâncias das principais interações realizadas para o ligante PLBHZ, os complexos (1-4), oxaciloil e oxacilina, durante o estudo de docking molecular com a enzima MecR1.⁷⁵ O poder inibitório dos ligantes está relacionado às interações fortes das ligações de hidrogênio entre os compostos e os resíduos Thr529, Thr531 e Asn441. A interação π -alquil estabiliza significativamente o ligante em posição de reagir com o resíduo catalítico Ser391. O composto melhor classificado como bom inibidor para a enzima MecR1 foi o ligante PLBHZ, seguido dos complexos (3) e (1). As distâncias revelam que o PLBHZ é a molécula que interage com todos os resíduos do sítio ativo com distâncias curtas e também se comporta de forma semelhante das interações encontradas com a oxacilina.

Tabela 9. Distâncias das interações (em Å) mostradas na Figura 49(c), dos complexos formados com a enzima MecR1.

Interação	Oxaciloil	Oxacilina	PLBHZ	(1)	(2)	(3)	(4)
a	1,45*	2,36	2,85	> 6,00	> 6,00	3,80	> 6,00
b	2,42	2,96	2,79	2,51	2,63	3,00	2,96
c	2,64	2,42	2,35	3,50	4,00	2,11	2,47
d	6,00	5,47	5,37	4,13	4,30	4,41	4,58
e	5,14	5,59	4,60	> 6,00	> 6,00	> 6,00	> 6,00
f	2,75	2,96	2,96	> 6,00	> 6,00	3,80	> 6,00

*Ligação covalente entre os átomos de Ser391 e C1 do aduto.

A simulação de docking molecular contra a bactéria *E. coli* e com a estrutura cristalográfica do bioreceptor OmpF (PDB 4GCP) complexada com a ampicilina é mostrada na Figura 50(a).

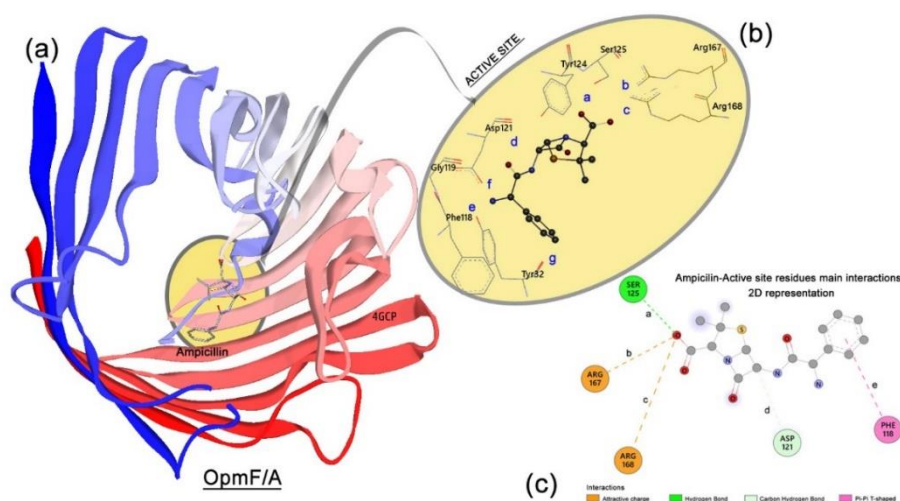


Figura 49. (a) Representação da estrutura da enzima OmpF/A complexada com a ampicilina. (b) Visualização 3D das interações do sítio ativo e dos principais resíduos. (c) Interação 2D e mapa de distância do complexo formado entre a enzima OmpF/A e ampicilina.

A estrutura cristalográfica 3D da enzima OmpF/A revela que a ampicilina está orientada perpendicularmente ao eixo do canal, Figura 50(b). Esta orientação promove interações eletrostáticas adequadas entre o grupo carboxílico carregado negativamente da ampicilina e os grupos NH_3^+ dos resíduos Arg167(b) e Arg168(c) fazendo com que essas interações estabilizem o complexo, Figura 50(c). Outras interações importantes observadas são do tipo ligação de hidrogênio e $\pi\oplus\oplus\oplus\pi$, que são responsáveis por estabilizar a ampicilina no sítio ativo da enzima OmpF/A sem induzir uma grande mudança conformacional no sítio ativo da proteína.⁷⁶

O ligante PLBHZ apresentou ligação de hidrogênio mais forte com o resíduo Ser125 (a: 2,80 Å) do que outros ligantes, incluindo a ampicilina. A interação não convencional da ligação de hidrogênio entre o resíduo Asp121(d) e os ligantes

desempenha importante função no processo inibitório, comparando o tamanho da distância para esta interação e a tendência inibitória obtida através do ensaio experimental e abordagem teórica PLBHZ>(3)>(2)>ampicilina>(1)>(4) e correlacionando a duração desta interação e a energia de ligação dos compostos.

A interação $\pi\oplus\oplus\pi$ com o resíduo Phe118(e) também se mostrou diretamente relacionada ao poder de inibição apresentado pelas moléculas estudadas. Para esta interação, as distâncias do ligantes PLBHZ e do complexo (3) sugere que valores menores de 5,00 Å estabilizam o ligante em uma posição melhor aumentando a energia de ligação, conforme mostrado na Tabela 10.

Tabela 10. Distâncias das interações (Å) mostradas na Figura 50(c), dos complexos formados com a enzima OmpF/A.

Interação	Ampicilina	PLBHZ	(1)	(2)	(3)	(4)
a	2,92	2,80	3,74	> 6,00	3,04	3,77
b	4,33	5,12	> 6,00	> 6,00	4,21	4,97
c	5,44	5,34	4,21	4,83	3,64	> 6,00
d	3,64	3,75	4,60	3,15	3,10	4,85
e	5,64	4,24	5,10	4,92	3,60	5,97

De acordo com os dados experimentais e teóricos, o ligante PLBHZ e os complexos de cobre(II) apresentaram boa atividade inibitória contra as bactérias testadas. Os mapas de interação total e análise das superfícies de Hirshfeld são parâmetros que podem ser utilizados para prever como o ligante livre e os complexos irão interagir com as proteínas alvos e as bactérias, devido aos grupos de doação e acepção de hidrogênios, bem como os grupos hidrofóbicos. Um melhor desempenho de acordo com os valores de IC₅₀ e energia de ligação foi observado para as bactérias *S. aureus*. Entretanto, o complexo (4) apresentou menor atividade na formação de um complexo com ambos os sistemas bioreceptores devido ao tamanho do íon SO₄²⁻ coordenado ao metal, o que indica um impedimento espacial, bloqueando assim a entrada do composto no sítio ativo das enzimas para interagir de maneira adequada.

5. CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos e os resultados alcançados acerca do estudo de uma hidrazona derivada do piridoxal (vitamina B6) e seus quatro complexos de cobre(II) obtidos, é possível concluir que foram sintetizados quatro complexos inéditos de cobre(II) com o ligante piridoxalbenzoilhidrazona e que tiveram suas estruturas cristalinas e moleculares elucidadas através da técnica de difração de raios X de monocristal onde foi possível observar nos complexos sintetizados que as trocas de íons dos sais de cobre(II) interferem na formação do arranjo tridimensional de suas estruturas cristalinas e na formação de diferentes interações intermoleculares.

A estrutura rígida apresentada pelo agente complexante utilizado ocasionou distorções nos poliedros de coordenação na forma de uma pirâmide de base quadrada para os quatro complexos obtidos, sendo verificados pelos valores de ângulos e comprimentos de ligação obtidos na análise por difração de raios X de monocristal.

Todas as técnicas espectroscópicas utilizadas para a caracterização dos complexos se mostraram eficazes e corroboram com os dados da análise de difração de raios X de monocristal.

O ligante livre e todos os complexos sintetizados obtiveram resultados satisfatórios quanto a atividade antibacteriana em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e os resultados da análise biológica se mostrou em concordância com os resultados que foram obtidos na análise de docking molecular.

Com os resultados deste presente trabalho foi possível a publicação de um artigo científico na revista *Frontiers in Chemistry* intitulado “*Effects of changing ions on the crystal design, non-covalent interactions, antimicrobial activity, and molecular docking of Cu(II) complexes with a pyridoxal-hydrazone ligand*”.

6. REFERÊNCIAS

6. REFERÊNCIAS

1. Lu, T.-T.; Wang, Y.-M.; Hung, C.-H.; Chiou, S.-J.; Liaw, W.-F. ;*Inorg. Chem.* **2018**, *57*, 12425.
2. Cohen, S. M. ;*Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 115.
3. Zoroddu, M. A.; Aaseth, J.; Crisponi, G.; Medici, S.; Peana, M.; Nurchi, V. M. ;*J. Inorg. Biochem.* **2019**, *195*, 120.
4. Pizzol, M.; Christensen, P.; Schmidt, J.; Thomsen, M. ;*J. Clean. Prod.* **2011**, *19*, 646.
5. Scholefield, M.; Church, S. J.; Xu, J.; Kassab, S.; Gardiner, N. J.; Roncaroli, F.; Hooper, N. M.; Unwin, R. D.; Cooper, G. J. S. ;*Metallomics* **2020**, *12*, 952.
6. Yamada, K. 2013; pp. 295–320.
7. Okamoto, S.; Eltis, L. D. ;*Metallomics* **2011**, *3*, 963.
8. Kawahara, M.; Tanaka, K.; Kato-Negishi, M. ;*J. Clin. Biochem. Nutr.* **2022**, *71*, 22.
9. González, M.; Reyes-Jara, A.; Suazo, M.; Jo, W. J.; Vulpe, C. ;*Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *88*, 830S.
10. Maroney, M. J.; Ciurli, S. ;*Inorganics* **2019**, *7*, 131.
11. Mazzei, L.; Musiani, F.; Ciurli, S. ;*JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, *25*, 829.
12. Kola, A.; Nencioni, F.; Valensin, D. ;*Molecules* **2023**, *28*, 5467.
13. Li, Y.; Qian, C.; Li, Y.; Yang, Y.; Lin, D.; Liu, X.; Chen, C. ;*J. Inorg. Biochem.* **2021**, *218*, 111405.
14. Duarte, E. de A.; Santiago, M. B.; Silva, N. B. S.; Martins, C. H. G.; Gatto, C. C. ;*Inorganica Chim. Acta* **2023**, *549*, 121421.
15. Adejumo, T. T.; Tzouras, N. V.; Zorba, L. P.; Radanović, D.; Pevec, A.; Grubišić, S.; Mitić, D.; Anđelković, K. K.; Vougioukalakis, G. C.; Čobeljić, B.; Turel, I. ;*Molecules* **2020**, *25*, 4043.
16. Shebl, M. ;*J. Mol. Struct.* **2017**, *1128*, 79.
17. Peng, D. L. ;*Russ. J. Coord. Chem.* **2020**, *46*, 276.
18. Abdel-Aziz, H. A.; Aboul-Fadl, T.; Al-Obaid, A.-R. M.; Ghazzali, M.; Al-Dhfyhan, A.; Contini, A. ;*Arch. Pharm. Res.* **2012**, *35*, 1543.
19. Metzler, D. E.; Snell, E. E. ;*J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 979.
20. Akiyama, T.; Akiyama, M.; Hayashi, Y.; Shibata, T.; Hanaoka, Y.; Toda, S.; Imai, K.; Hamano, S.; Okanishi, T.; Yoshinaga, H.; Kobayashi, K. ;*Clin. Chim. Acta* **2017**, *466*, 1.
21. Mooney, S.; Hellmann, H. ;*Phytochemistry* **2010**, *71*, 495.
22. Gamov, G. A.; Meshkov, A. N.; Zavalishin, M. N.; Petrova, M. V.; Khokhlova, A. Y.; Gashnikova, A. V.; Sharnin, V. A. ;*Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2020**, *233*, 118165.
23. Franco, C. N.; Seabrook, L. J.; Nguyen, S. T.; Leonard, J. T.; Albrecht, L. V. ;*Metabolites* **2022**, *12*.

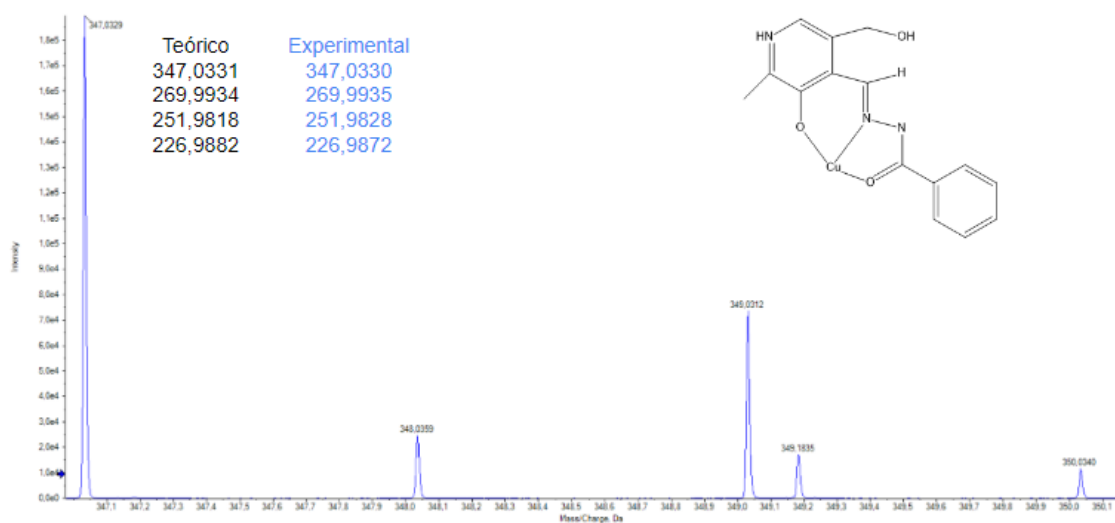
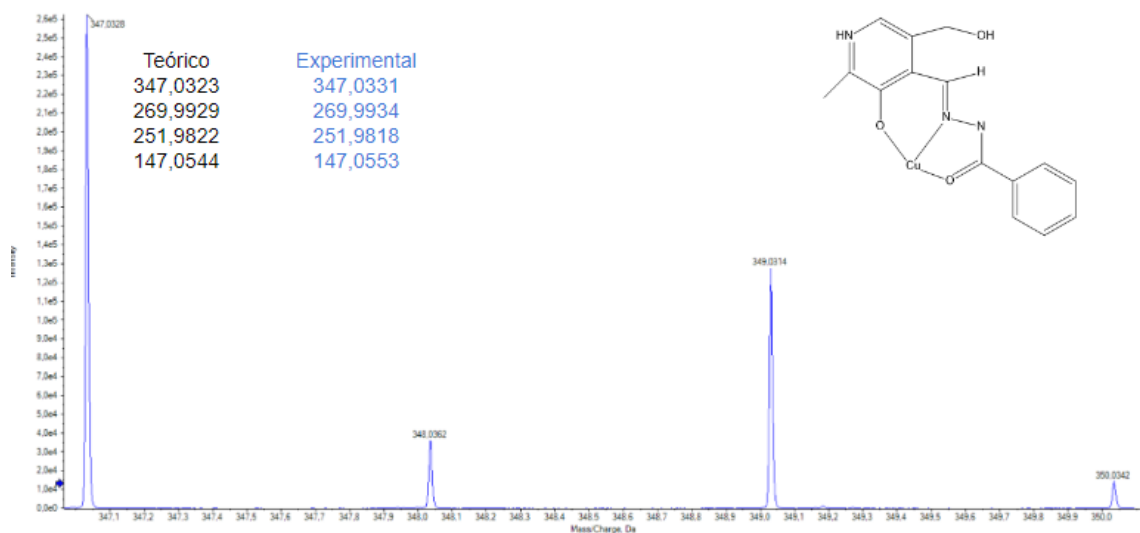
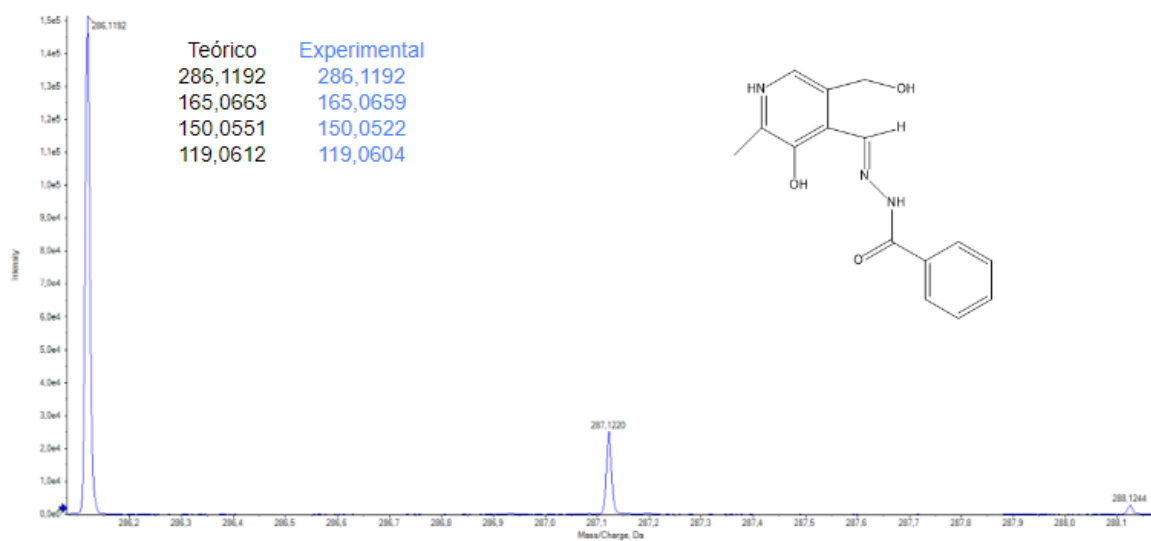
24. Acquaye, J. H. K. A.; Richardson, M. F. ;*Inorganica Chim. Acta* **1992**, *201*, 101.
25. Bal-Demirci, T.; Güveli, Ş.; Yeşilyurt, S.; Özdemir, N.; Ülküseven, B. ;*Inorganica Chim. Acta* **2020**, *502*, 119335.
26. Annaraj, B.; Neelakantan, M. A. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *102*, 1.
27. Back, D. F.; Ballin, M. A.; de Oliveira, G. M. ;*J. Mol. Struct.* **2009**, *935*, 151.
28. Sedaghat, T.; Ebrahimi, Y.; Carlucci, L.; Proserpio, D. M.; Nobakht, V.; Motamedi, H.; Dayer, M. R. ;*J. Organomet. Chem.* **2015**, *794*, 223.
29. Pisk, J.; Prugovečki, B.; Matković-Čalogović, D.; Jednačak, T.; Novak, P.; Agustin, D.; Vrdoljak, V. ;*RSC Adv.* **2014**, *4*, 39000.
30. Elsayed, S. A.; Elnabky, I. M.; di Biase, A.; El-Hendawy, A. M. ;*Appl. Organomet. Chem.* **2022**, *36*.
31. Di Natale, G.; Bellia, F.; Sciacca, M. F. M.; Campagna, T.; Pappalardo, G. ;*Inorganica Chim. Acta* **2018**, *472*, 82.
32. Santiago, P. H. O.; Santiago, M. B.; Martins, C. H. G.; Gatto, C. C. ;*Inorganica Chim. Acta* **2020**, *508*, 119632.
33. Kamat, V.; Kumara, K.; Naik, K.; Kotian, A.; Netalkar, P.; Shivalingegowda, N.; Neratur, K. L.; Revankar, V. ;*J. Mol. Struct.* **2017**, *1149*, 357.
34. Yang, P.; Zhang, D.-D.; Wang, Z.-Z.; Liu, H.-Z.; Shi, Q.-S.; Xie, X.-B. ;*Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 17925.
35. Santiago, P. H. O.; Tiago, F. S.; Castro, M. S.; Souza, P. E. N.; Martins, J. B. L.; Gatto, C. ;*J. Inorg. Biochem.* **2020**, *204*, 110949.
36. Sheldrick, G. M.; Schneider, T. R. 1997; pp. 319–343.
37. Farrugia, L. J. ;*J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 837.
38. Farrugia, L. J. ;*J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.
39. Pennington, W. T. ;*J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 1028.
40. Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. ;*J. Appl. Crystallogr.* **2009**, *42*, 339.
41. Cousins, K. R. ;*J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8388.
42. CLSI, C. L. S. I. ;*Clin. Lab. Stand. Inst.* **2015**, *32*, 18.
43. Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. ;*J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785.
44. Nascimento, É. C. M.; Oliva, M.; Świderek, K.; Martins, J. B. L.; Andrés, J. ;*J. Chem. Inf. Model.* **2017**, *57*, 958.
45. *International Tables for Crystallography*; Chapuis, G., Ed.; International Union of Crystallography: Chester, England, 2023; Vol. B.
46. Jevtovic, V.; Alhar, M. S. O.; Milenković, D.; Marković, Z.; Dimitrić Marković, J.; Dimić, D. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 14745.

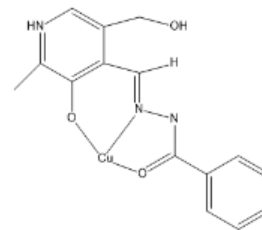
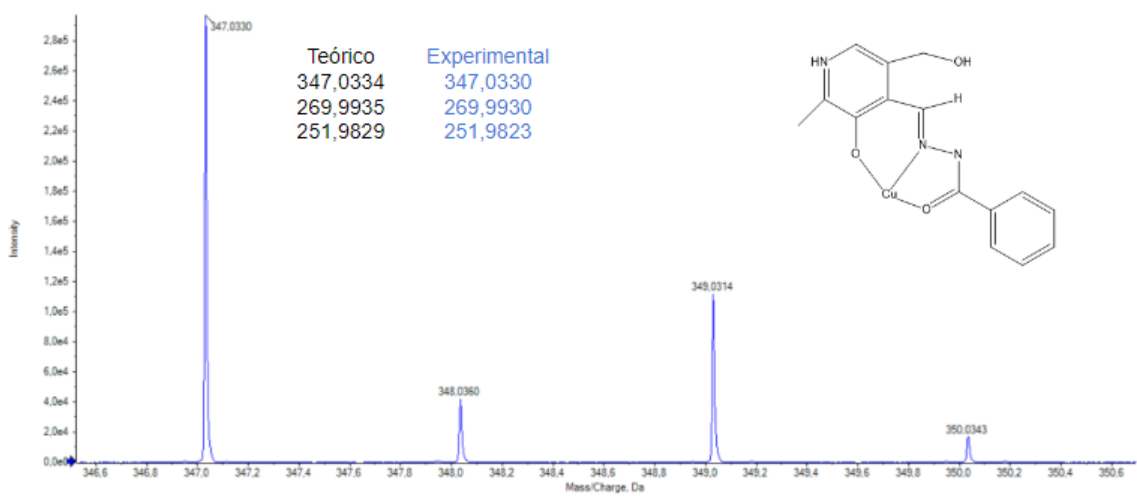
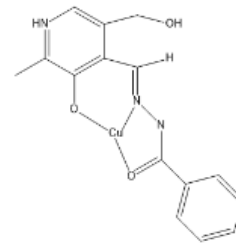
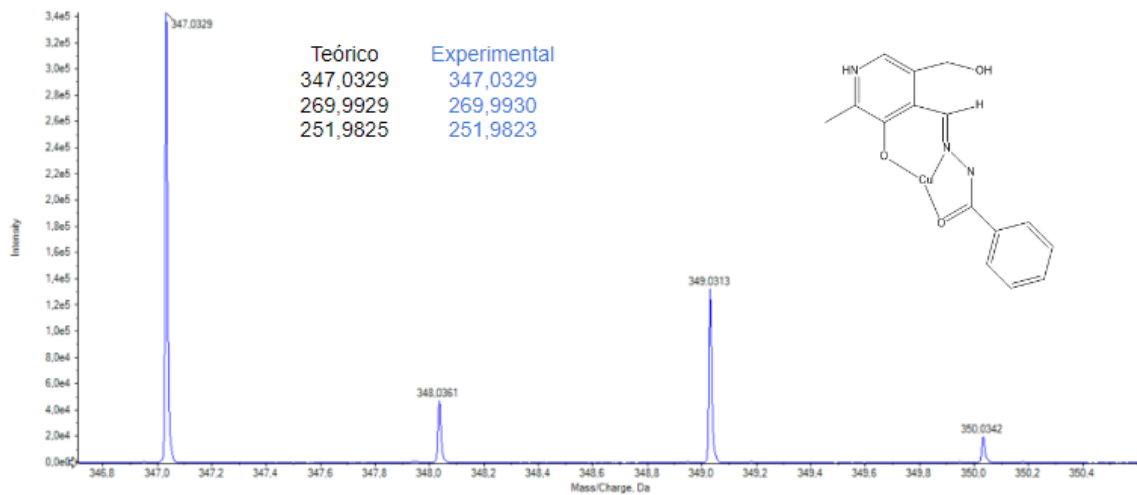
47. Jevtovic, V.; Alshammari, N.; Latif, S.; Alsukaibi, A. K. D.; Humaidi, J.; Alanazi, T. Y. A.; Abdulaziz, F.; Matalka, S. I.; Pantelić, N. Đ.; Marković, M.; Rakić, A.; Dimić, D. ;*Molecules* **2022**, *27*, 6322.
48. Addison, A. W.; Rao, T. N.; Reedijk, J.; van Rijn, J.; Verschoor, G. C. ;*J. Chem. Soc., Dalt. Trans.* **1984**, 1349.
49. Roy, S.; Mitra, P.; Patra, A. K. ;*Inorganica Chim. Acta* **2011**, *370*, 247.
50. Livro Princípios de Química 5ed - Atkins&Jones [so_240306_163635.pdf.
51. Eremina, J. A.; Lider, E. V.; Sukhikh, T. S.; Klyushova, L. S.; Perepechaeva, M. L.; Sheven', D. G.; Berezin, A. S.; Grishanova, A. Y.; Potkin, V. I. ;*Inorganica Chim. Acta* **2020**, *510*, 119778.
52. Burgos-Lopez, Y.; Del Plá, J.; Balsa, L. M.; León, I. E.; Echeverría, G. A.; Piro, O. E.; García-Tojal, J.; Pis-Diez, R.; González-Baró, A. C.; Parajón-Costa, B. S. ;*Inorganica Chim. Acta* **2019**, *487*, 31.
53. Boutobba, Z.; Direm, A.; Sayin, K.; El Bali, B.; Lachkar, M.; Benali-Cherif, N. ;*J. Iran. Chem. Soc.* **2020**, *17*, 671.
54. Singh, V. P. ;*Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2008**, *71*, 17.
55. Zhuang, W.-R.; Wang, Y.; Cui, P.-F.; Xing, L.; Lee, J.; Kim, D.; Jiang, H.-L.; Oh, Y.-K. ;*J. Control. Release* **2019**, *294*, 311.
56. Meyer, M.; Albrecht-Gary, A. M.; Dietrich-Buchecker, C. O.; Sauvage, J. P. ;*Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2279.
57. Zhang, X.; Huang, Q. Z. *Research on tiered tap electricity price*; 2014; Vol. 448–453.
58. Takjoo, R.; Centore, R.; Hakimi, M.; Ali Beyramabadi, S.; Morsali, A. ;*Inorganica Chim. Acta* **2011**, *371*, 36.
59. Vidovic, D.; Radulovic, A.; Jevtovic, V. ;*Polyhedron* **2011**, *30*, 16.
60. Rajarajeswari, C.; Ganeshpandian, M.; Palaniandavar, M.; Riyasdeen, A.; Akbarsha, M. A. ;*J. Inorg. Biochem.* **2014**, *140*, 255.
61. Sharma, R. P.; Saini, A.; Kumar, S.; Kumar, J.; Sathishkumar, R.; Venugopalan, P. ;*J. Mol. Struct.* **2017**, *1128*, 135.
62. Ramírez-Contreras, D.; García-García, A.; Sánchez-Gaytán, B. L.; Serrano-de la Rosa, L. E.; Melendez, F. J.; Choquesillo-Lazarte, D.; Rodríguez-Diéguez, A.; Castro, M. E.; González-Vergara, E. ;*Crystals* **2022**, *12*, 1386.
63. Sathiya Kamatchi, T.; Mohamed Subarkhan, M. K.; Ramesh, R.; Wang, H.; Małeck, J. G. ;*Dalt. Trans.* **2020**, *49*, 11385.
64. Siqueira, J. D.; de Pellegrin, S. F.; dos Santos, S. S.; Iglesias, B. A.; Piquini, P. C.; Arantes, L. P.; Soares, F. A.; Chaves, O. A.; Neves, A.; Back, D. F. ;*J. Inorg. Biochem.* **2020**, *204*, 110950.
65. Huang, Z. ;*J. Catal.* **2003**, *214*, 213.

66. Gatto, C. C.; Chagas, M. A. S.; Lima, I. J.; Mello Andrade, F.; Silva, H. D.; Abrantes, G. R.; Lacerda, E. P. S. ;*Transit. Met. Chem.* **2019**, *44*, 329.
67. Sanmartín-Matalobos, J.; Portela-García, C.; García-Deibe, A. M.; Fondo, M.; Briones-Miguéns, L. ;*Polyhedron* **2013**, *65*, 181.
68. Spackman, M. A.; Jayatilaka, D. ;*CrystEngComm* **2009**, *11*, 19.
69. Flores, L. S.; Rosa, R. I.; Assis, D. F.; de Carvalho, G. S. G.; Krambrock, K.; Diniz, R.; Corrêa, C. C. ;*Polyhedron* **2020**, *186*, 114628.
70. Fernandes, R. F.; Cantaruti Júnior, A. A. B.; Porto, A. B.; Ferreira, G. R.; Flores, L. S.; Corrêa, C. C.; Dos Santos, H. F.; de Oliveira, L. F. C.; Machado, F. C. ;*Vib. Spectrosc.* **2017**, *88*, 63.
71. Suzuki, S.; Akiyama, Y.; Nakane, D.; Akitsu, T. ;*Acta Crystallogr. Sect. E Crystallogr. Commun.* **2023**, *79*, 596.
72. Wood, P. A.; Olsson, T. S. G.; Cole, J. C.; Cottrell, S. J.; Feeder, N.; Galek, P. T. A.; Groom, C. R.; Pidcock, E. ;*CrystEngComm* **2013**, *15*, 65.
73. Gibbons, S. ;*Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21*, 263.
74. Schaechter, M. ;*Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2001**, *65*, 119.
75. Marrero, A.; Mallorquí-Fernández, G.; Guevara, T.; García-Castellanos, R.; Gomis-Rüth, F. X. ;*J. Mol. Biol.* **2006**, *361*, 506.
76. Ziervogel, B. K.; Roux, B. ;*Structure* **2013**, *21*, 76.

ANEXOS

ANEXO I. Distribuição isotópica do ligante PBLHZ e dos complexos (1-4).





<https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1347370>



OPEN ACCESS

EDITED BY
Rodica Olar,
University of Bucharest, Romania

REVIEWED BY
Wen-Kui Dong,
Lanzhou Jiaotong University, China
Mihaela Badea,
University of Bucharest, Romania


*CORRESPONDENCE
Claudia C. Gatto,
ccgatto@gmail.com

RECEIVED 30 November 2023
ACCEPTED 05 January 2024
PUBLISHED 01 February 2024

CITATION
Gatto CC, Dias LM, Paiva CA, da Silva ICR,
Freire DO, Tormena RPI, Nascimento ECM and
Martins JBL (2024). Effects of changing ions on the
crystal design, non-covalent interactions,
antimicrobial activity, and molecular docking of
Cu(II) complexes with a pyridoxal-
hydrazone ligand.
Front. Chem. 12:1347370.
doi: 10.3389/fchem.2024.1347370

COPYRIGHT
© 2024 Gatto, Dias, Paiva, da Silva, Freire,
Tormena, Nascimento and Martins. This is an
open-access article distributed under the terms
of the [Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction in
other forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in this
journal is cited, in accordance with accepted
academic practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does not
comply with these terms.

Effects of changing ions on the crystal design, non-covalent interactions, antimicrobial activity, and molecular docking of Cu(II) complexes with a pyridoxal-hydrazone ligand

Claudia C. Gatto ^{1*}, Lucas M. Dias¹, Clarisse A. Paiva¹,
Izabel C. R. da Silva², Daniel O. Freire², Renata P. I. Tormena²,
Érica C. M. Nascimento³ and João B. L. Martins³

¹Laboratory of Inorganic Synthesis and Crystallography, Institute of Chemistry, University of Brasilia, Brasilia-DF, Brazil, ²Graduate Program in Health Sciences and Technologies, Faculty UnB Ceilândia, University of Brasilia, Brasilia-DF, Brazil, ³Laboratory of Computational Chemistry, Institute of Chemistry, University of Brasilia, Brasilia-DF, Brazil

The present work reports the influence of the presence of different ions (Cl^- , Br^- , NO_3^- , or SO_4^{2-}) on the formation and properties of Cu(II) complexes with pyridoxal-benzoylhydrazone (PLBHZ). Four new complexes were successfully synthesized, $[\text{CuCl}_2(\text{PLBHZ})]$ (1), $[\text{CuBr}_2(\text{PLBHZ})]$ (2), $[\text{CuCl}(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot\text{NO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (3), and $[\text{CuSO}_4(\text{PLBHZ})\text{H}_2\text{O}]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (4), and characterized by spectroscopic and physicochemical methods. A single-crystal X-ray study reveals the Schiff base coordinated to the metal center tridentate by the ONS-donor system, resulting in distorted square pyramidal coordination geometries. Noncovalent interactions were investigated by 3D Hirshfeld surface analysis by the d_{norm} function, 2D fingerprint plots, and full interaction maps. The ion exchange is important in forming three-dimensional networks with $\pi\cdots\pi$ stacking interactions and intermolecular hydrogen bonds. The *in vitro* biological activity of the free ligand and metal complexes was evaluated against Gram-positive and Gram-negative bacterial strains and the free pyridoxal-hydrazone ligand showed higher activity than their Cu(II) complexes. Molecular docking was used to predict the inhibitory activity of the ligand and complexes against Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Escherichia coli* bacteria.

KEYWORDS

crystal structure, pyridoxal, Cu(II) complex, Hirshfeld surface, molecular docking, antibacterial activity

1 Introduction

B vitamins are essential for human metabolism and their lack can result in a wide range of health problems. Pyridoxal is among the six water-soluble vitamins of vitamin B₆ that can be used for cell or bioimaging and anticancer applications (Gupta, 2022; Karthick et al., 2023). Pyridoxal and their metal complexes have been found useful in catalytic reactions and biological activities (Askarian et al., 2021; Ma et al., 2022; Dherbassy et al., 2023). The