



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

LENKA VICTORIA TAMAYO LÓPEZ

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá D.C, Colombia

2011

II **SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA
CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

LENKA VICTORIA TAMAYO LÓPEZ

Tesis de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias-Química

Director (a):

ANA ESPERANZA BURGOS CASTELLANOS Ph.D.

Línea de Investigación:

Síntesis de compuestos de Coordinación y Bioinorgánica

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Química de Coordinación y Bioinorgánica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá D.C, Colombia

2011

(Dedicatoria o lema)

A MIS PADRES GABRIEL Y MARIA VICTORIA,

A MIS HERMANOS LENA Y GABRIEL

A MI TIA BENILDA

A MIS ABUELAS ANA PAULINA Y LIGIA

Agradecimientos

A mis padres María Victoria (Toya) y Gabriel (Gabrielito) que con su esfuerzo, apoyo, amor y confianza han contribuido a mi formación como ser.

A mis hermanos Lena Pau y Gabito por su amor y confianza en mí, a Juan Carlos Castillo por todo su cariño y solidaridad.

A la profesora Ana Esperanza por su orientación, apoyo y confianza depositada en mí.

Al profesor Pedro Brito por su ayuda desinteresada en los ensayos antimicrobianos y permitirme trabajar en su laboratorio.

Al profesor Carlos Alexander Trujillo por su colaboración en los análisis termogravimétricos.

Al estudiante de Doctorado de la Universidad de Alicante en España, Edwin Baquero por la colaboración con los Espectros DOSY RMN.

A los miembros de mi grupo de investigación por su apoyo, sonrisas y gratos momentos compartidos, en especial a Karen Ospina por sus palabras de ánimo cuando más las necesité y por hacerme reír tanto.

A los amigos Jenny, Carlos Amaya, Fabito y Francis con los que compartí gratos momentos y almuerzos en mi instancia en Bogotá.

VI

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA
CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

Resumen

En el presente trabajo de investigación se estudió la síntesis, caracterización de complejos de Pd(II) con ligantes pirazolil-tiosemicarbazonas y sus compuestos de inclusión parcial y/o asociación en β -ciclodextrina con posible actividad biológica.

Se presenta una primera sección general de antecedentes que recopila generalidades del metal empleado, ligantes tiosemicarbazonas, propiedades fisicoquímicas y biológicas de complejos de paladio(II) con ligantes tiosemicarbazona con diferentes sustituyentes y finalmente las características de la β -ciclodextrina y algunos compuestos de inclusión.

Asimismo, en la segunda sección se describe la metodología, donde se realiza una descripción detallada de las condiciones de reacción empleadas y de los instrumentos utilizados para la caracterización de precursores y productos finales.

Posteriormente, se presenta el capítulo de resultados y discusión, el cual consta de seis secciones en las que se incluyen, metodologías sintéticas empleadas, análisis de datos espectroscópicos, propiedades físicas y químicas de los productos obtenidos y resultados de las pruebas biológicas realizadas.

Palabras clave: Paladio(II), tiosemicarbazonas, β -ciclodextrina, compuestos inclusión y/o asociación, actividad biológica.

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA CON
POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Abstract

In the present work of investigation we studied the synthesis, characterization of complexes of Pd (II) with pyrazolyl thiosemicarbazones ligands and their partial inclusion compounds and /or association in β -cyclodextrin with possible biological activity

In the first section we present a general overview of the metal used, thiosemicarbazones ligands, physicochemical and biological properties complexes of palladium(II) with thiosemicarbazone ligands with different substituents and finally the characteristics of the β -cyclodextrin and some inclusion compounds.

Likewise, in the second section describes the methodology, also perform a detailed description of reaction conditions employed and of the instruments used for characterization of precursors and final products.

Subsequently, the chapter presents results and discussion, which consists of six sections that include, synthetic methodologies employed, spectroscopic data analysis, physical and chemical properties of the obtained products and results of biological tests performed.

Keywords: Palladium (II), thiosemicarbazones, β -cyclodextrin, inclusion and/or association compounds, biological activity

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras	XII
Lista de tablas	XIV
Lista de Esquemas	XVIII
Lista de símbolos y abreviaturas	XIX
Introducción	1
1. Capítulo 1	3
1.1 Antecedentes.....	3
1.1.1 Generalidades del PdCl ₂	3
1.1.2 Generalidades de las tiosemicarbazonas.....	4
1.1.2.1 Actividad Biológica.....	7
1.1.3 Complejos de Pd(II) con ligantes tiosemicarbazonas.....	9
1.1.4 Generalidades ciclodextrinas.....	21
1.1.4.1 Compuestos de inclusión.....	23
1.2 Objetivos.....	25
2. Capítulo 2	27
2.1 Sección Experimental.....	27
2.1.1 Generalidades.....	27
2.2 Procedimientos Sintéticos.....	28
2.2.1 Síntesis del ligante MePhPzTSC.....	28
2.2.2 Síntesis del ligante Ph ₂ PzTSC.....	28
2.2.3 Síntesis del [Pd(MePhPzTSC) ₂].....	29
2.2.4 Síntesis del [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂].....	29
2.2.5 Preparación del compuesto de inclusión [Pd(MePhPzTSC) ₂]•β-CD.....	29
2.2.6 Preparación del compuesto de inclusión [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]•β-CD.....	30
2.3 Prueba de actividad antimicrobiana.....	30
3. Capítulo 3	32
3.1 Resultados y discusión.....	32
3.1.1 Síntesis del ligante 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC).....	32
3.1.1.1 Características Espectroscópicas.....	33
3.1.2 Síntesis del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (Ph ₂ PzTSC).....	38
3.1.2.1 Caracterizaciones Espectroscópicas	39
3.1.3 Síntesis del [Pd(MePhPzTSC) ₂].....	45
3.1.3.1 Caracterizaciones Espectroscópicas.....	46
3.1.3.2 Actividad Biológica para el complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂].....	51
3.1.3.2.1 Actividad <i>in vitro</i> antimicrobiana.....	51
3.1.4 Síntesis del [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂].....	55
3.1.4.1 Caracterizaciones Espectroscópicas.....	56

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA CON
POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

3.1.4.2 Actividad Biológica para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	61
3.1.4.2.1 Actividad <i>in vitro</i> antimicrobiana.....	61
3.1.5 Preparación del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	65
3.1.5.1 Caracterización espectroscópica del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	65
3.1.5.2 Análisis térmico (TG y DSC) del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	74
3.1.5.3 Actividad Biológica para el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	77
3.1.5.3.1 Actividad <i>in vitro</i> antimicrobiana para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	77
3.1.6 Preparación del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	79
3.1.6.1 Caracterización espectroscópica del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	79
3.1.6.2 Análisis térmico (TG y DSC) del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	85
3.1.6.3 Actividad Biológica para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	89
3.1.6.3.1 Actividad <i>in vitro</i> antimicrobiana para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	89
4. Conclusiones y Recomendaciones.....	93
A. Anexo: Anexos A Espectros UV-vis.....	97
B. Anexo: Anexos B Espectros IR.....	102
C. Anexo: Anexos C Espectros RMN.....	112
D. Anexo: Anexos D Fotos de las actividades antibacterianas.....	115
E. Anexo: Anexos E Curvas TG/DSC.....	164
Bibliografía.....	173

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1. Estructura α de PdCl_2	3
Figura 1-2. Estructura β de PdCl_2	4
Figura 1-3. Estructura general de las tiosemicarbazonas	5
Figura 1-4. Tautomería tiona- tiol	5
Figura 1-5. Formas resonantes de las tiosemicarbazonas	6
Figura 1-6. Deslocalización de carga en las tiosemicarbazonas	6
Figura 1-7. Estructuras I y II	6
Figura 1-8. Estructuras III, IV, V y VI	7
Figura 1-9. Estructura de la tiacetozona	8
Figura 1-10. Ligantes 5- nitrotiofeno-2-carboxaldehido tiosemicarbazona	11
Figura 1-11. Complejos formados entre la reacción de los ligantes 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehido tiosemicarbazona y $[\text{Pd}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$	11
Figura 1-12. Complejos a partir de la reacción entre $[\text{Pd}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$ con ligantes 5-nitrotiofeno- 2- carboxaldehido N(4)-sustituidos tiosemicarbazonas	12
Figura 1-13. Complejos tipo $[\text{Pd}(\text{TSC})\text{Cl}_2]$ <u>28-34</u>	14
Figura 1-14. Estructuras $[\text{Pd} (2\text{-HATT})\text{Cl}_2]$ <u>43</u> , $[\text{Pd} (2\text{-ATT})_2]$ <u>44</u> , $[\text{Pd} (2\text{-A-4-FT})\text{Cl}]$ <u>45</u>	17
Figura 1-15. Tautómero de los ligantes 2-acetilpiridina N(4)-metil, (HAc4Me), N (4)-etil (HAc4Et) y N (4)-fenil (HAc4Ph) tiosemicarbazona	18

Figura 1-16. Estructura de los complejos 59 al 68	18
Figura 1-17. Complejos de Pd(II) con tiosemicarbazonas esteroideas	20
Figura 1-18. Estructura de las Ciclodextrinas	21
Figura 1-19. Esquema estructural de las CDs	22
Figura 1-20. Topología de los compuestos de inclusión: a) total, b) axial, c) parcial d) tipo sándwich, e) inclusión tipo 1:2, f) inclusión tipo 2:2, g) compuestos de asociación	23
Figura 1-21. Ruta sintética para Cu ₂ CDRu	24
Figura 2-22. Plantillas utilizada para los pozos en las cajas con agar	31
Figura 3-23. Curvas TG del complejo libre, la β-CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial [Pd(MePhPzTSC) ₂] \cdot β-CD y la mezcla mecánica	76
Figura 3-24. Curvas DSC del complejo libre, la β-CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial [Pd(MePhPzTSC) ₂] \cdot β-CD y la mezcla mecánica	76
Figura 3-25. Curvas DSC del complejo libre, la β-CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] \cdot β-CD y la mezcla mecánica	87
Figura 3-26. Curvas TG del complejo libre, la β-CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] \cdot β-CD y la mezcla mecánica	88

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1. Complejos de fórmula molecular [Pd(L)Cl ₂] <u>17</u> a <u>27</u>	12
Tabla 1-2. Estructura del sustituyente R en los complejos <u>28</u> - <u>34</u>	14
Tabla 1-3. Complejos de Pd(II) <u>59</u> al <u>68</u>	19
Tabla 3-4. Solubilidad del ligante MePhPzTSC	33
Tabla 3-5. Banda de absorción en la región UV-vis para del ligante MePhPzTSC, concentración 1.544x 10 ⁻⁵ M	34
Tabla 3-6. Principales bandas del espectro infrarrojo (cm ⁻¹) para ligante MePhPzTSC	35
Tabla 3-7. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ¹ H del ligante MePhPzTSC, 400 MHz, [DMSO-d ₆]	36
Tabla 3- 8. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ¹³ C del ligante MePhPzTSC, 100 MHz, [DMSO-d ₆]	37
Tabla 3-9. Solubilidad del ligante tiosemicarbazona Ph ₂ PzTSC	38
Tabla 3-10. Banda de absorción en la región UV-vis para del ligante Ph ₂ PzTSC, concentración 8.4 x 10 ⁻⁶ M	39
Tabla 3-11. Principales bandas del espectro infrarrojo (cm ⁻¹) para ligante	

Contenido	XV
<hr/>	
Ph ₂ PzTSC	40
Tabla 3-12. Valores de los desplazamientos químicos (δ) de RMN ¹ H del ligante Ph ₂ PzTSC, 400 MHz, [DMSO-d ₆]	41
Tabla 3-13. Valores de los desplazamientos químicos (δ) de RMN ¹³ C RMN del ligante Ph ₂ PzTSC, 100 MHz, [DMSO-d ₆]	43
Tabla 3-14. Solubilidad del complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]	45
Tabla 3- 15. Bandas de absorción en la región UV-vis para [Pd(MePhPzTSC) ₂], concentración 8.03 x 10 ⁻⁶ M	46
Tabla 3-16. Comparación de las bandas representativas del espectro infrarrojo del ligante libre y el complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]	47
Tabla 3-17. Comparación de los desplazamientos químicos (δ) de los espectros RMN ¹ H del ligante libre y el complejo en [DMSO-d ₆], 400 MHz	49
Tabla 3-18. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) de RMN ¹³ C del ligante libre y el complejo Pd(II), 100 MHz, [DMSO-d ₆]	50
Tabla 3-19. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el ligante libre y el complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]	53
Tabla 3- 20. Solubilidad del complejo [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]	55
Tabla 3-21. Bandas de absorción en la región UV-vis para [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂], concentración 4.73 x 10 ⁻⁵ M	56
Tabla 3-22. Comparación de las representativas del espectro infrarrojo del ligante	

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA CON
POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

libre y el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	57
Tabla 3-23. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^1H del ligante libre y el complejo de Pd(II) en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz	58
Tabla 3-24. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C del ligante libre y el complejo en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz	60
Tabla 3-25. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el ligante libre y el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	62
Tabla 3-26. Datos comparativos de las principales bandas de los espectros de infrarrojo de la β -ciclodextrina, el complejo libre de Pd(II) y el complejo de asociación y/o inclusión parcial	67
Tabla 3-27. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^1H de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo asociado en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz	69
Tabla 3-28. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C de la β -ciclodextrina, el complejo de Pd(II) libre y el complejo asociación y/o parcialmente incluido en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz	71
Tabla 3-29. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el complejo con Pd(II) y $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$	78
Tabla 3-30. Datos comparativos de las principales bandas de los espectros de infrarrojo de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado	81

Tabla 3-31. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) RMN ^1H de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz 82

Tabla 3-32. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado, en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz 84

Tabla 3-33. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el complejo con Pd(II) y $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ 90

LISTAS DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1-1. Síntesis de tiosemicarbazonas a partir de un aldehído	5
Esquema 1-2. Reacción entre las <i>N</i> (4) – tolii-tiosemicarbazonas y K_2PdCl_4	9
Esquema 1-3. Síntesis de los complejos $[Pd(2Bz4DH)Cl]$ 9 , $[Pd(2Bz4M)Cl]$ 10 y $[Pd(2Bz4Ph)Cl]$ 11	10
Esquema 1-4. Síntesis de complejos de paladio con 5-Nitrofuril Tiosemicarbazonas	16
Esquema 3-5. Síntesis del ligante MePhPzTSC	33
Esquema 3-6. Síntesis del ligante Ph_2PzTSC	38
Esquema 3-7. Síntesis del complejo $[Pd(MePhPzTSC)_2]$	45
Esquema 3-8. Síntesis del complejo $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$	55
Esquema 3-9. Preparación del compuesto $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$	65
Esquema 3-10. Preparación del compuesto $[Pd(Ph_2PzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$	79

Lista de Símbolos y abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
β -CD	Beta-ciclodextrina
$^{\circ}\text{C}$	Grados celsius
Cq	Carbono cuaternario
CCD	Cromatografía de capa delgada
CD	Ciclodextrina
cm	Centímetro
cm^{-1}	Unidad de número de onda
CMI	Concentración mínima inhibitoria
COD	1,5-ciclooctadieno
COSY	Correlated Spectroscopy
D	Coefficiente de difusión
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMF	N,N-Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
DOSY	Diffusión Optimized Spectroscopy
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTA	Differential Thermal Analysis
EtOH	Etanol
FAB	Fast Atom Bombardment
g	Gramo
GI_{50}	Concentración inhibitoria de crecimiento medio
h	Hora
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity
HOAc	Ácido acético
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
Hz	Hertz
<i>i</i>	Ipso
IC_{50}	Concentración inhibitoria media
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
1J	Constante de acoplamiento a un enlace
2J	Constante de acoplamiento a dos enlaces
3J	Constante de acoplamiento a tres enlaces

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -CICLODEXTRINA CON
POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

4J	Constante de acoplamiento a cuatro enlaces
K	Kelvin
L	Ligante
<i>m</i>	meta
M	Molaridad
Me	Metilo
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetro
mmol	Milimoles
nm	Nanómetro
MS	Mass Spectrometry
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
<i>o</i>	orto
<i>p</i>	para
(<i>p</i>)	Población del huésped o guest population
PDA	Potato dextrose agar
p.f.	Punto de fusión
Ph	fenilo
ppm	Partes por millón
pz	Pirazol
Rend.	Rendimiento de la reacción
ROESY	Rotating frame overhauser effect spectroscopy
RMN	Resonancia magnética nuclear
% T	Porcentaje de tramitancia
TG	Análisis termogravimétrico
THF	Tetrahidrofurano
TSA	Trypticase soy agar
TSC	Tiosemicarbazona
UV-vis	Ultravioleta- visible
α	alfa
β	beta
γ	gamma
$\Delta\delta$	Diferencia de desplazamientos químicos en RMN
δ	Escala de desplazamiento químico en RMN
δ	Tensión de deformación (IR)
μ	mu
λ	Longitud de onda
π	pi

Introducción

La Química Bioinorgánica se define como la disciplina que estudia las funciones e interacciones de los elementos y compuestos inorgánicos en los sistemas biológicos. También correlaciona la actividad biológica de un sistema inorgánico, inmerso en un entorno de moléculas orgánicas, con sus características estructurales, electrónicas y químicas. Además, la Química Bioinorgánica ha permitido enormes avances en la Medicina, debido a la síntesis de nuevos fármacos que presentan iones metálicos en su estructura, cuyas utilidades terapéuticas son muy extensas. Por ejemplo, fármacos anticancerígenos de Pt(II), los compuestos antimetastáticos, inmunosupresores y antimaláricos de Ru(II) y Ru(III), los compuestos antiartríticos de Au(I) y radiofármacos que contienen Tc(V).^{1,2,3,4}

En este trabajo de investigación fue escogido como metal el paladio(II) debido a que sus complejos quelatos con los átomos N, S, son propuestos como agentes anti-tumorales eficaces, por poseer labilidad adecuada para que el metal interactúe con el ADN.⁵ Como ligantes, las tiosemicarbazonas han sido muy estudiadas en los últimos 30 años, por su amplia versatilidad farmacológica y modos de coordinación,^{6,7} por otro lado, teniendo en cuenta que la actividad farmacológica de estas, varía con el sustituyente *N*-heterocíclico y conociendo la gran aplicación de los arilpirazoles como agentes antitumorales, anticoagulantes, antiinflamatorios, antibacteriales, entre otras⁸ se sintetizaron y caracterizaron ligantes pirazolil-tiosemicarbazona con sus respectivos complejos de tipo Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas.

Además, se prepararon los respectivos compuestos de inclusión entre los complejos de Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas y β -ciclodextrina (β -CD), por la propiedad que poseen las ciclodextrinas de encapsular compuestos huésped de tipo inorgánico, orgánico, mejorar propiedades físico-químicas y actividad biológica.

Así mismo, se realizaron ensayos microbiológicos de los ligantes libres, sus complejos Pd(II)-tiosemicarbazona y sus respectivos compuestos de inclusión parcial y/o asociación.

1. Capítulo 1

1.1 Antecedentes

1.1.1 Generalidades del PdCl₂

El dicloruro de paladio (PdCl₂) sirve de partida para la síntesis de diversos compuestos de paladio, el paladio presenta un estado de oxidación +2 y una configuración electrónica [Kr]4d⁸.⁹ El PdCl₂ es diamagnético con geometría de coordinación cuadrado planar, característica para el Pd(II). Este presenta dos formas alotrópicas α y β, en ambas estructuras el Pd(II) está coordinado por puentes cloro. La forma α de PdCl₂ **1** (Figura 1-1) es un polímero, que consiste en "infinitas" cadenas, la forma β de PdCl₂ **2** (Figura 1-2), se forma a temperaturas encima de 820 K y consiste en un cluster octaédrico de seis átomos de Pd.¹⁰

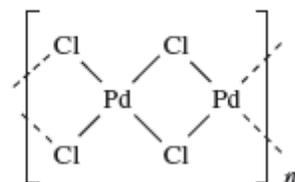


Figura 1-1. Estructura α de PdCl₂

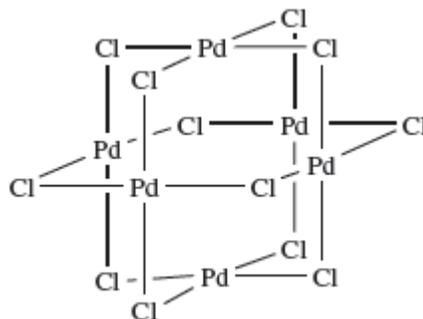


Figura 1-2. Estructura β de PdCl_2

Por otro lado, el Pd(II) presenta una química de coordinación muy parecida a la del Pt(II) y algunos complejos con éste metal han presentado actividad anticancerígena, frente a líneas tumorales resistentes al cisplatino, lo que ha promovido los estudios biológicos de compuestos de Pd(II).¹¹ Ambos Pd(II) y Pt(II) son ácidos blandos y forman enlaces fuertes con átomos de nitrógeno o de azufre (bases blandas).⁵ En general, el uso de Pd(II) y sus complejos en la medicina es limitado porque experimentan intercambio de ligante 10^5 más rápido que los correspondientes de Pt(II).⁵ La aplicación médica más importante es la del isótopo radiactivo ^{103}Pd para el tratamiento del cáncer de próstata.⁵ Sin embargo, complejos de Pd(II) con átomos donores N, S fueron sugeridos por Das y Livingstone como agentes anti-tumorales más eficaces que otros metales, ya que poseen la labilidad adecuada para interactuar con el ADN. Los ligantes con átomos donores de N y S más utilizados para sintetizar complejos de Pd(II) con actividad anti-tumoral y antimicrobiana son las tiosemicarbazonas y ditiocarbazatos. Estos ligantes poseen propiedades anti-virales, antimalaria, antifúngica, antimicrobiana y antitumoral.⁵

1.1.2 Generalidades de las tiosemicarbazonas

Las tiosemicarbazonas constituyen una clase de ligantes versátiles por tener en su estructura átomos donores de electrones como el nitrógeno y azufre, tienen como fórmula general $(\text{R}^1\text{R}^2\text{C}=\text{N}^1-\text{N}^2\text{H}-\text{C}^3(=\text{S})\text{N}^4\text{R}^3\text{R}^4)$ **3**, (Figura 1-3), la cadena N(1)-N(2)-C(3)-N(4), presenta un grado de deslocalización electrónica lo cual impide la libre rotación sobre estos enlaces.⁷

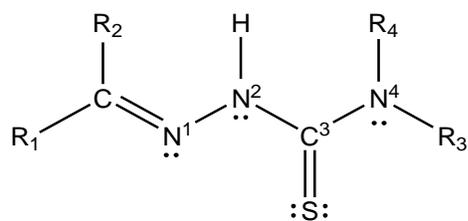
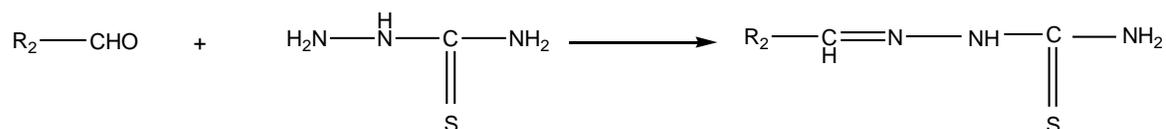


Figura 1-3. Estructura general de las tiosemicarbazonas

Las tiosemicarbazonas se obtienen generalmente a partir de una condensación entre una cetona o un aldehído con una tiosemicarbazida (Esquema 1-1).⁷



Esquema 1-1. Síntesis de tiosemicarbazonas a partir de un aldehído

Los ligantes tiosemicarbazonas presentan tautomería tiona y tiol,⁷ (Figura 1-4), al igual presentan formas resonantes (Figura 1-5).

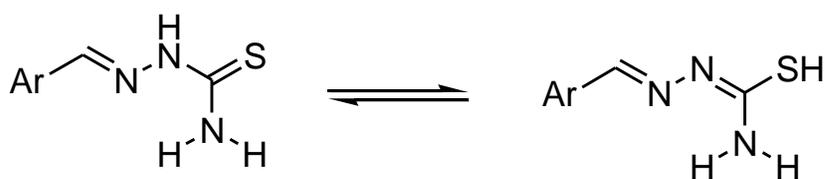


Figura 1-4. Tautomería tiona-tiol

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

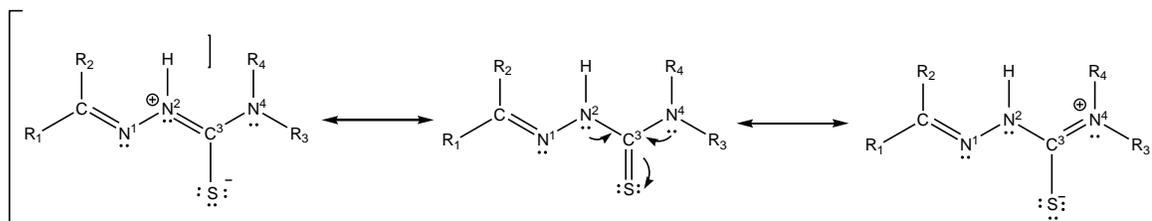


Figura 1-5. Formas resonantes de las tiosemicarbazonas

Las tiosemicarbazonas pueden considerarse sistemas planos, debido a la deslocalización de carga a través de la molécula (Figura 1-6).¹²

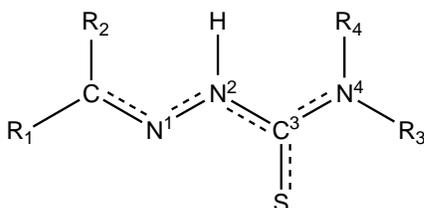


Figura 1-6. Deslocalización de carga en las tiosemicarbazonas

Las tiosemicarbazonas, exhiben una capacidad coordinativa muy variada frente a algunos iones metálicos, comportándose usualmente como ligantes monodentados a través del átomo de azufre tiocarbonilo (**I**), o bidentados quelatantes, a través de los átomos de nitrógeno azometino (N^1) y azufre (**II**) (Figura 1-7).¹²

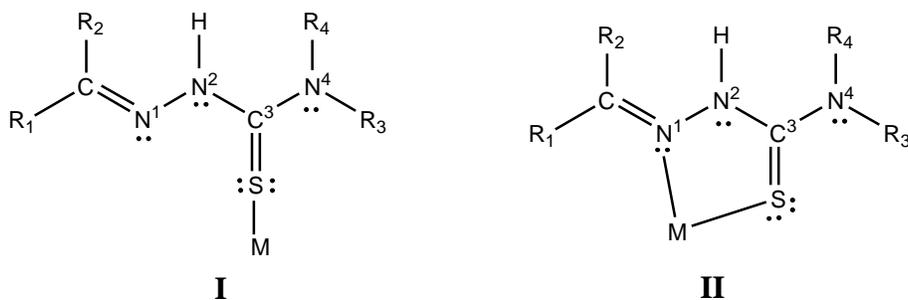


Figura 1-7. Estructuras I y II

También, experimentan fácil desprotonación comportándose como ligantes tridentados puente, a través de los átomos de nitrógeno azometino, nitrógeno imino (N^2) y azufre tiolato (**III**) y tiolatos (**IV - VI**) (Figura 1-8).¹²

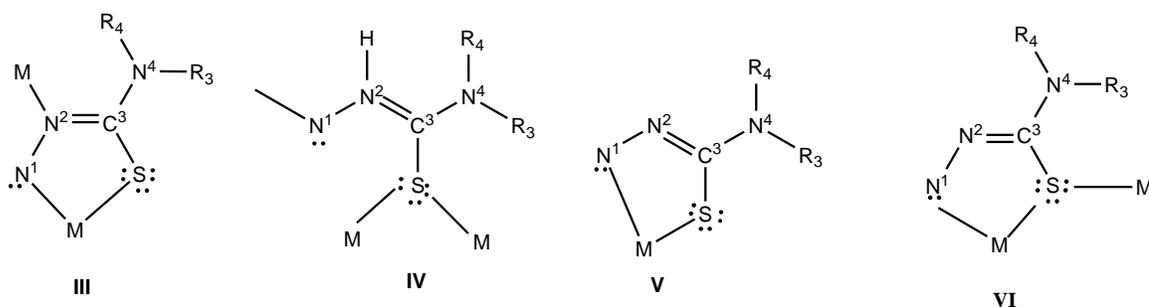


Figura 1-8. Estructuras III, IV, V y VI

1.1.2.1 Actividad Biológica

Las tiosemicarbazonas (TSC) presentan un amplio perfil farmacológico y constituyen una clase de compuestos, cuyas propiedades han sido estudiadas extensamente en la Química Medicinal, particularmente en la Química Medicinal Inorgánica, las tiosemicarbazonas presentan actividad antitumoral, antiviral, antifúngica.^{13,14,15} Las TSC heterocíclicas, se encuentran entre los inhibidores más potentes de la enzima reductasa ribonucleótido, que cataliza la síntesis de desoxirribonucleótidos, responsable de mantener un suministro equilibrado de los desoxirribonucleótidos necesarios para la síntesis y reparación del ADN.¹³ La química de los complejos de metales de transición con tiosemicarbazonas, ha tenido una atención considerable por su amplio perfil farmacológico que permite una diversa variedad de compuestos con diferentes actividades biológicas. Estas propiedades biológicas de las TSC son a menudo relacionadas con la coordinación de iones metálicos.¹³

❖ Actividad Antituberculosa

Domagk y colaboradores describen que algunas TSC poseen actividad *in vitro* o *in vivo* en algunos casos contra la tuberculosis,¹² después de muchos estudios con diferentes tiosemicarbazonas, concluyeron que las TSC derivadas de benzaldehídos con sustituyentes en la posición *para* del anillo aromático, presentan actividad contra el *Mycobacterium tuberculosis*. Uno de los compuestos utilizados clínicamente es la *p*-acetamidobenzaldehído tiosemicarbazona (Figura 1-9) conocida como tiacetazona.¹³

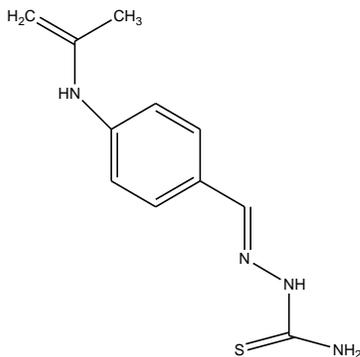


Figura 1-9. Estructura de la tiacetazona

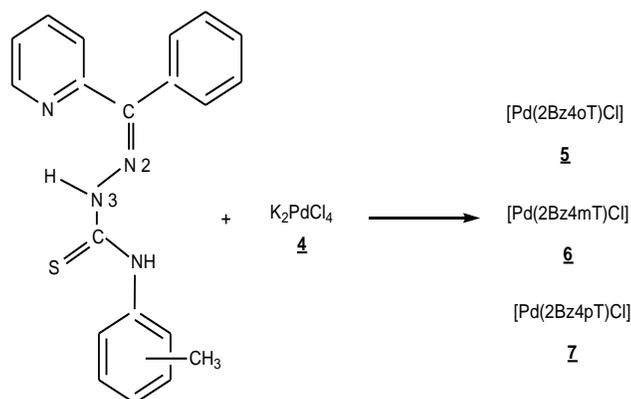
❖ Actividad antibacteriana, antifúngica y antiparasitaria

Las α (N)-heterocíclicas tiosemicarbazonas y sus complejos metálicos presentan un amplio espectro de actividad antimicrobiana, inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas tales como *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus faecalis*, entre otras y Gram negativas como *Klebsiella-Enterobacter*, *Escherichia coli*, en muchas de estas tiosemicarbazonas el anillo heterocíclico presente es piridina.^{12,13}

Para el caso de TSC y sus complejos metálicos con actividad anti-fúngica se resalta la actividad contra una variedad de hongos patógenos como *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* entre otros, teniendo como sustituyentes derivados de piridina 2-sustituidas, como 2-formilpiridina, 2-acetilpiridinas o 2-benzoilpiridina.¹³

1.1.3 Complejos de Pd(II) con ligantes tiosemicarbazonas

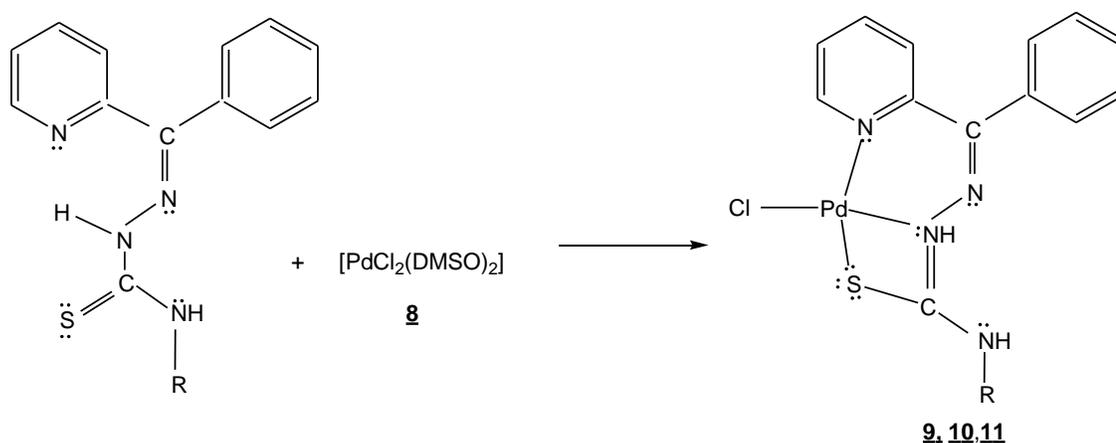
Ferraz y colaboradores, reportaron la síntesis de tres complejos de Pd(II), con fórmula [Pd(2Bz4oT)Cl] **5**, [Pd(2Bz4mT)Cl] **6**, [Pd(2Bz4pT)Cl] **7**, a partir de la reacción entre los ligantes *N*(4)-orto-(2Bz4oT), *N*(4)-meta-(2Bz4mT) y *N*(4)-para-(2Bz4pT) tolil-2-benzoylpiridina tiosemicarbazonas y K₂PdCl₄ **4** (Esquema 1-2), el modo de coordinación es a través del nitrógeno de la piridina, el N-2 y átomo de azufre en forma tior, formando un sistema quelato N_{py}-N-S, en donde el cloro ocupa la cuarta posición de coordinación. Las TSC libres presentan actividad citotóxica alta, contra líneas celulares de leucemia, en concentraciones nanomolares y contra células de hepatoma humano, la coordinación de paladio(II) disminuye la actividad citotóxica contra todas las líneas celulares estudiadas.¹⁶ Sin embargo, la citotoxicidad de las TSC libres contra la leucemia y su perfil hepatotóxico es similar al del cisplatino, estos resultados sugieren que las *N*(4) – tolil-tiosemicarbazonas son candidatas potenciales como fármacos quimioterapéuticos.



Esquema 1-2. Reacción entre las *N*(4) – tolil-tiosemicarbazonas y K₂PdCl₄

Rebolledo y colaboradores, reportan la síntesis a partir de [PdCl₂(DMSO)₂] **8** con los ligantes 2-benzoylpiridina tiosemicarbazona (H2Bz4DH), *N*(4)-metil-(H2Bz4M) y *N*(4)-fenil (H2Bz4Ph), (Esquema 1-3), en donde obtuvieron complejos de tipo [Pd(2Bz4DH)Cl] **9**, [Pd(2Bz4M)Cl] **10** y [Pd(2Bz4Ph)Cl] **11**, la estructura de cada complejo fue determinada

por Difracción de Rayos X. La coordinación del metal al ligante es de forma tridentada, el metal se une a través del nitrógeno de piridina, el nitrógeno imino y el átomo de azufre, el cloro ocupa el cuarto sitio de coordinación. La actividad citotóxica de las TSC y sus complejos metálicos fue evaluada contra líneas de células tumorales humanas. Los ligantes reducen la proliferación celular más que los complejos, el ligante H2Bz4Ph fue el más activo, de los complejos el [Pd(2Bz4Ph)Cl] mostró los valores más bajos de GI₅₀ en las tres líneas celulares estudiadas (reduce la proliferación celular).¹⁷



R= H, (H2Bz4DH), R= CH₃, N(4)-metil-(H2Bz4M), R= C₆H₅, N(4)-fenil (H2Bz4Ph)

Esquema 1-3. Síntesis de los complejos [Pd(2Bz4DH)Cl] **9**, [Pd(2Bz4M)Cl] **10** y [Pd(2Bz4Ph)Cl] **11**

Bharti y colaboradores, sintetizaron ligantes derivados de 5-nitrotiofeno-2- carboxaldehído y cicloalquilaminotiocarbonylo tiosemicarbazonas, 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído-2-etilpiperidinatiosemicarbazona (5-NT-2-EPTSCN) **12**, 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído-4-metilpiperidinatiosemicarbazona (5-NT-4-MPTSCN) **13**, 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído-4-bencilpiperidinatiosemicarbazona (5-NT-4-BPTSCN) **14**, 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído-pirroldiinatiosemicarbazona (5-NT-PYRTSCN) **15**, 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído dietilpiperidinatiosemicarbazona (5-NT-diEtTSCN) **16** (Figura 1-10) y sus complejos **12a**, **13a**, **14a**, **15a** y **16a** (Figura 1-11) con fórmula molecular [Pd(L)Cl₂], en todos los complejos, la coordinación al metal es por el átomo de azufre en forma tiona y el átomo de nitrógeno del azometino. En este trabajo se evaluó la actividad contra la

ameba *E. histolytica*, tanto en los ligandos como en sus respectivos complejos, en donde el ligando **14** mostró una actividad anti-amibiana significativa al igual que los complejos **13a** al **16a**, es importante resaltar que los complejos formados presentaron mayor actividad anti-amibiana que sus respectivos ligandos.¹⁸

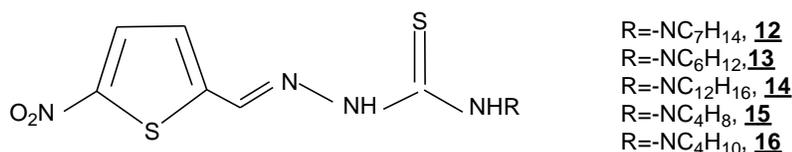


Figura 1-10. Ligandos 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído tiosemicarbazona

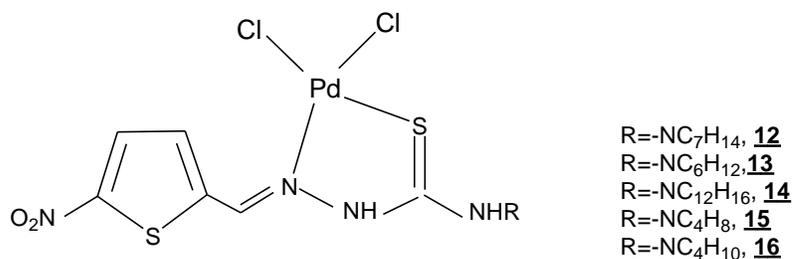
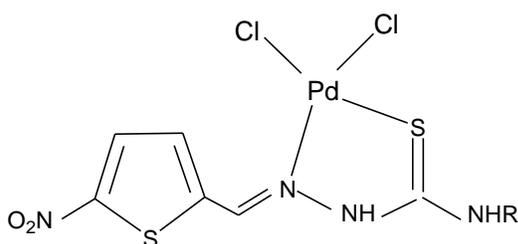


Figura 1-11. Complejos formados entre la reacción de los ligandos 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído tiosemicarbazona y [Pd(DMSO)₂Cl₂]

En otro trabajo de Bharti y colaboradores, con ligandos 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído N(4)-sustituidos tiosemicarbazonas reportaron la síntesis de complejos de fórmula molecular [Pd(L)Cl₂] **17** a **27** (Figura 1-12 y Tabla 1-1), a partir de la reacción entre [Pd(DMSO)₂Cl₂] con 10 ligandos 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehído N(4)-sustituidos tiosemicarbazonas. Los estudios espectroscópicos muestran que en todos los complejos, la coordinación al metal es por átomo de azufre en forma tiona y el átomo de nitrógeno del azometino. En este estudio evaluaron la actividad contra la ameba *E. histolytica*, en donde, los complejos **25**, **26** y **27** presentaron actividad anti-amibiana, demostrando que la coordinación del ligando al metal tiene un cambio significativo en la actividad biológica.¹⁹

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**



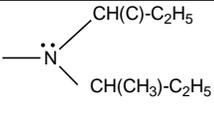
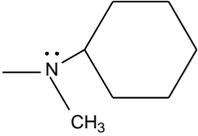
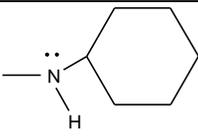
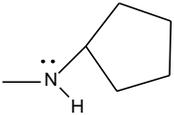
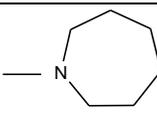
R=-NHCH₂CH₂CH₃ **17**
 R=-NHCH(CH₃)₃, **18**
 R=-NHC₄H₉, **19**
 R=-NHCH-(CH₃)-C₂H₅, **20**
 R=-N(CH₂CH₃)₂, **21**
 R=-N(CH₂CH₂CH₃)₂, **22**
 R=-N(CH(CH₃)-C₂H₅), **23**
 R=-NCH₃C₆H₁₁, **24**
 R=-NHC₆H₁₁, **25**
 R=-NHC₅H₉, **26**
 R=-NC₆H₁₂, **27**

17- 27

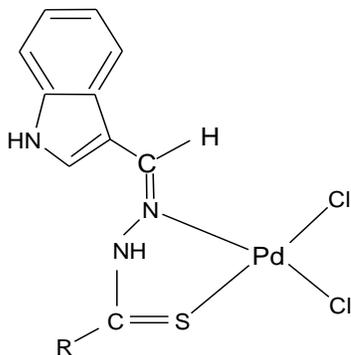
Figura 1-12. Complejos a partir de la reacción entre [Pd(DMSO)₂Cl₂] con ligantes 5-nitrotiofeno-2-carboxaldehido N(4)-sustituidos tiosemicarbazonas

Tabla 1-1. Complejos de fórmula molecular [Pd(L)Cl₂] **17** a **27**

Compuesto	R (sustituyentes)
<u>17</u>	
<u>18</u>	
<u>19</u>	
<u>20</u>	
<u>21</u>	
<u>22</u>	

<u>23</u>	
<u>24</u>	
<u>25</u>	
<u>26</u>	
<u>27</u>	

Husain y colaboradores, reportaron una nueva serie de indol-3-carboxaldehído TSC, que fueron preparadas por condensación del indol-3-carboxaldehído con cicloalquilaminotiocarbonilo hidrazinas. Los complejos formados son de tipo $[Pd(TSC)Cl_2]$ **28** al **34**, (Figura 1-13 y la Tabla 1-2); que se sintetizaron a partir del $[Pd(DMSO)_2Cl_2]$, las estructuras de todos los compuestos se establecieron por análisis elemental, espectroscopía IR, RMN 1H y ^{13}C , análisis termogravimétrico y MS FAB. Los datos espectroscópicos revelaron que las tiosemicarbazonas se coordinan al metal por el átomo de azufre en forma tiona y el nitrógeno azometino. Los complejos de indol-3-carboxaldehído tiosemicarbazonas fueron más activos que sus respectivos ligantes, lo que indica que el Pd aumenta la actividad antiamebiana. Las TSC libres de los complejos **30** y **32** mostraron notable actividad antiamebiana, mientras que los complejos **28**, **30**, **32** y **34** mostraron valores significativamente menores de media concentración inhibitoria máxima (IC_{50}) que el fármaco de referencia metronidazol.²⁰

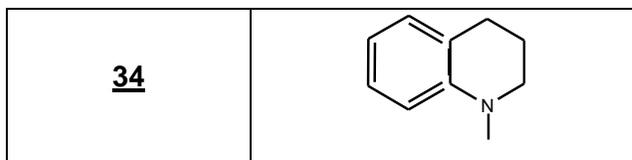


28 - 34

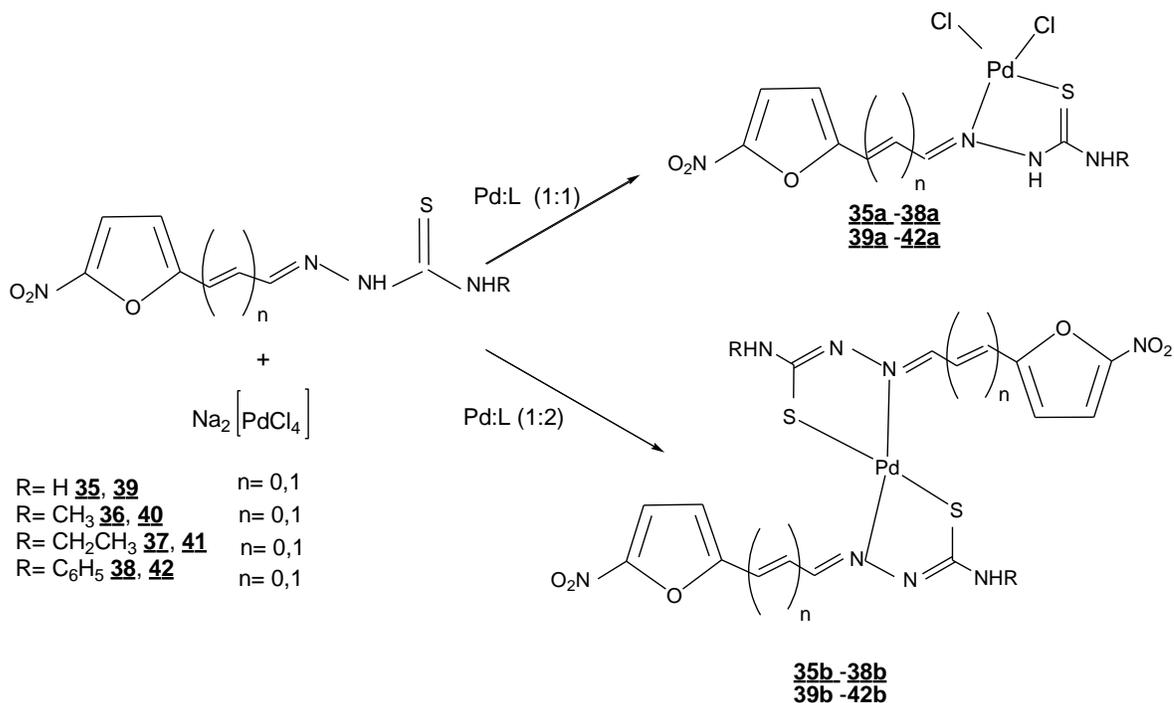
Figura 1-13. Complejos tipo $[Pd(TSC)Cl_2]$ **28-34**

Tabla 1-2. Estructura del sustituyente R en los complejos **28- 34**

Compuestos	R (Sustituyentes)
<u>28</u>	
<u>29</u>	
<u>30</u>	
<u>31</u>	
<u>32</u>	
<u>33</u>	



Otero y colaboradores,²¹ reportaron la síntesis de dieciséis nuevos complejos de paladio(II) con ligantes 5-nitrofuril tiosemicarbazonas de fórmulas $[\text{PdCl}_2(\text{HL})]$ **35a** - **38a**, **39a** - **42a** y $[\text{Pd}(\text{L})_2]$ **35b** - **38b**, **39b** - **42b** (Esquema 1-4). En este trabajo evaluaron la inhibición del crecimiento *in vitro* del *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas. La mayoría de los complejos sintetizados mostraron mayor actividad de inhibición del crecimiento del *Trypanosoma cruzi* que el medicamento estándar Nifurtimox, en la mayoría de los casos, la actividad de los ligantes se mantuvo, y en otras aumento en casi 1.7 veces con la presencia del metal, excepto **38** y **42** que no presentaron actividad. En esta investigación de Otero y colaboradores también, determinaron que todos los complejos se unen al ADN causando su principal efecto tóxico sobre el parásito que parece estar relacionado con el metabolismo redox. Los resultados obtenidos en esta investigación son muy prometedores y hacen que estos nuevos complejos de paladio sean buenos candidatos para estudios *in vivo*.²¹



Esquema 1- 4. Síntesis de complejos de paladio con 5-Nitrofuril tiosemicarbazonas

Neto y colaboradores, reportan la síntesis de tres complejos de Pd(II) (Figura 1-14), con acetiltiofeno tiosemicarbazona 2-(HATT) y 2-4-acetiltiofeno feniltiosemicarbazona (2-HAT-4-FT) con Pd(COD)Cl₂ (COD = 1,5-ciclooctadieno) [Pd(2-HATT)Cl₂] **43**, se coordina al paladio(II) por el átomo de azufre del tiofeno y el nitrógeno del NHCS, [Pd(2-ATT)₂] **44**, la tiosemicarbazona se coordina por el átomo de azufre en forma tiol, lo mismo ocurre con el complejo [Pd(2-A-4T-FT)Cl] **45**, donde la coordinación ocurre por el átomo de azufre del tiofeno, el átomo de azufre en forma tiol y el nitrógeno de la imina. Excepto el compuesto **45**, todos los demás se caracterizaron por RMN ¹H y ¹³C, espectroscopía infrarroja (IR).²²

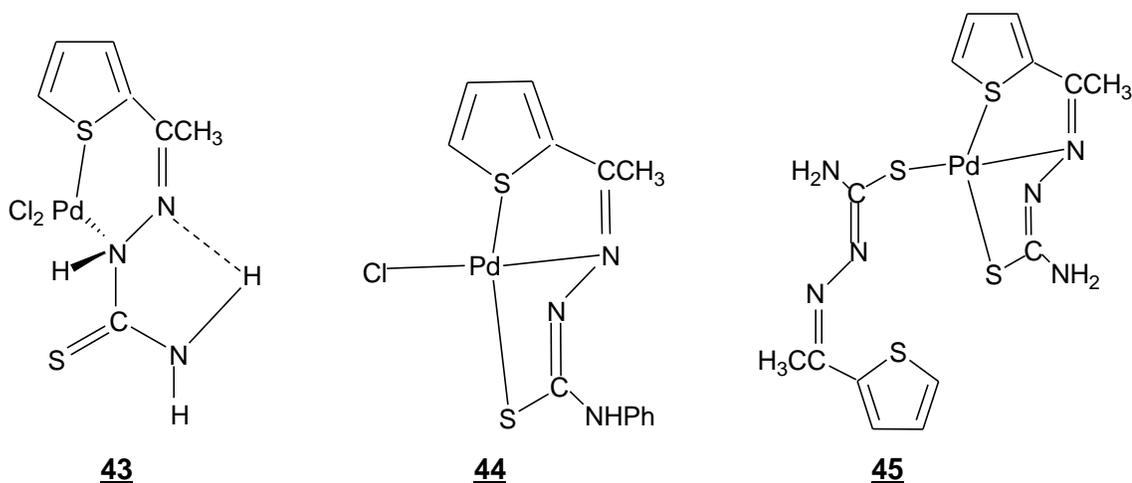


Figura 1-14. Estructuras [Pd (2-HATT)Cl₂] **43**, [Pd (2-ATT)₂] **44**, [Pd (2-A-4-FT)Cl] **45**

Kobala-Dimeretzi y colaboradores, reportaron la síntesis de 16 complejos de Pd(II) con ligantes 2-acetilpiridina N(4)-metil, (HAc4Me), N(4)-etil (HAc4Et) y N(4)-fenil (HAc4Ph) tiosemicarbazonas (Figura 1-15), de fórmula molecular [Pd(L)X] (X= Cl, Br), [Pd(Ac4Me)Cl] **46**, [Pd(Ac4Me)Br] **47**, [Pd(Ac4Et)Cl], **48**, [Pd(Ac4Et)Br], **49**, [Pd(Ac4Ph)Cl], **50**, [Pd(Ac4Ph)Br], **51**, con fórmula [Pd(HL)₂]X₂, [Pd(HAc4Me)₂]Cl₂ **52**, [Pd(HAc4Me)₂]Br₂ **53**, [Pd(HAc4Et)₂]Cl₂, **54**, [Pd(HAc4Et)₂]Br₂, **55** y [Pd(L)₂], [Pd(Ac4Me)₂], **55**, [Pd(Ac4Et)₂], **57** y [Pd(Ac4Ph)₂], **58** con los respectivos ligantes. [Pd(L)X] y [Pd(L)₂] presentando geometría cuadrado planar, en donde los ligantes sufren desprotonación, se coordinan por el átomo de nitrógeno de la piridina N, el nitrógeno azometino y el átomo S en forma tiol, el cuarto sitio de coordinación, es ocupado por un átomo de bromo o cloro. Para [Pd(HL)₂]X₂, el ligante en forma zwitterion, se coordina por el átomo de nitrógeno azometino y azufre tiol.²³

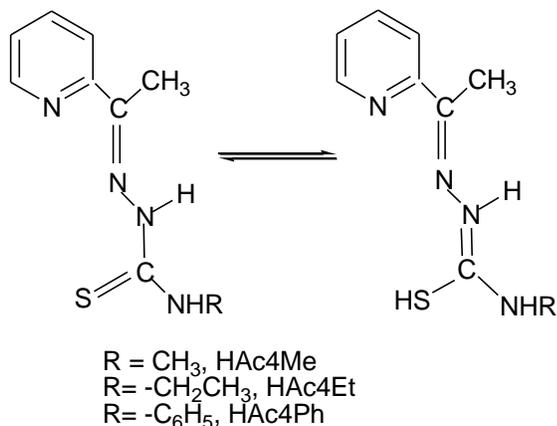


Figura 1-15. Tautómero de los ligantes 2-acetilpiridina N(4)-metil, (HAc4Me), N (4)-etil (HAc4Et) y N (4)-fenil (HAc4Ph) tiosemicarbazona

Azam y colaboradores, reportaron la síntesis de 10 TSC derivadas de 1-N- pirazolinas sustituidas (PYZ-TSC) y sus respectivos complejos de Pd(II) **59** al **68** (Figura 1-16 y Tabla 1-3), a partir del [Pd(DMSO)₂Cl₂], en donde el modo de coordinación es a través del átomo de azufre en forma tiona y el átomo de nitrógeno de pirazol. En este trabajo se determinó la actividad anti-amibiana de los compuestos. Entre todos los complejos los **60**, **62** y **68** fueron amebicidas, el complejo de mayor actividad fue el **66**. En los ensayos de citotoxicidad contra línea de células epiteliales renales humanas, los compuestos no mostraron actividad citotóxica.²⁴

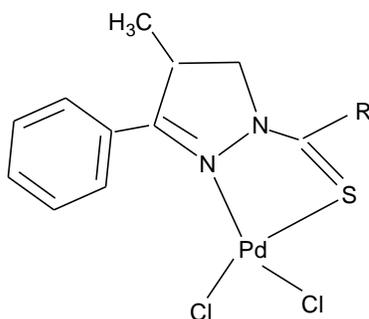
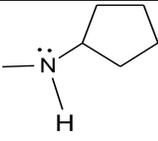
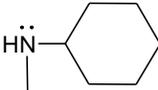
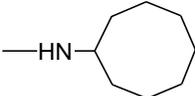
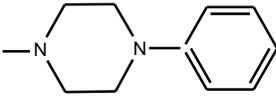
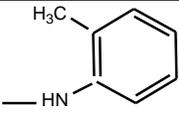
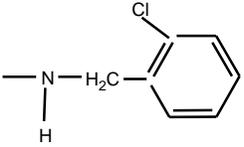


Figura 1-16. Estructura de los complejos **59** al **68**

Tabla 1-3. Complejos de Pd(II) **59** al **68**

Compuestos	R (Sustituyentes)
59	—NH_2
60	—HN—CH—CH_3 CH_3
61	$\text{HN—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_3$
62	$\text{HN—CH}_2\text{—CH—CH}_3$ CH_3
63	
64	
65	
66	
67	
68	

Khan y colaboradores, reportaron la síntesis de *orto*, *meta* y *para* toluidina TSC esteroidales y sus complejos de Pd(II), a partir de $[\text{Pd}(\text{DMSO})_2\text{Cl}_2]$, (Figura 1-17) de tipo $[\text{Pd}(\text{L})\text{Cl}_2]$, **69**, **70** y **71**, en donde la coordinación es a través del azufre en forma tiona y el átomo de nitrógeno del azometino. La actividad antibacteriana de estos compuestos se evaluó *in vitro* mediante el ensayo de difusión en disco frente a cuatro bacterias *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium* y *E. coli* dos gram-positivas y dos gram-negativas, luego se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados mostraron que los complejos sintetizados inhiben más los crecimientos bacterianos en comparación con las TSC libres, el complejo con mayor actividad antibacteriana fue el complejo **69**.²⁵

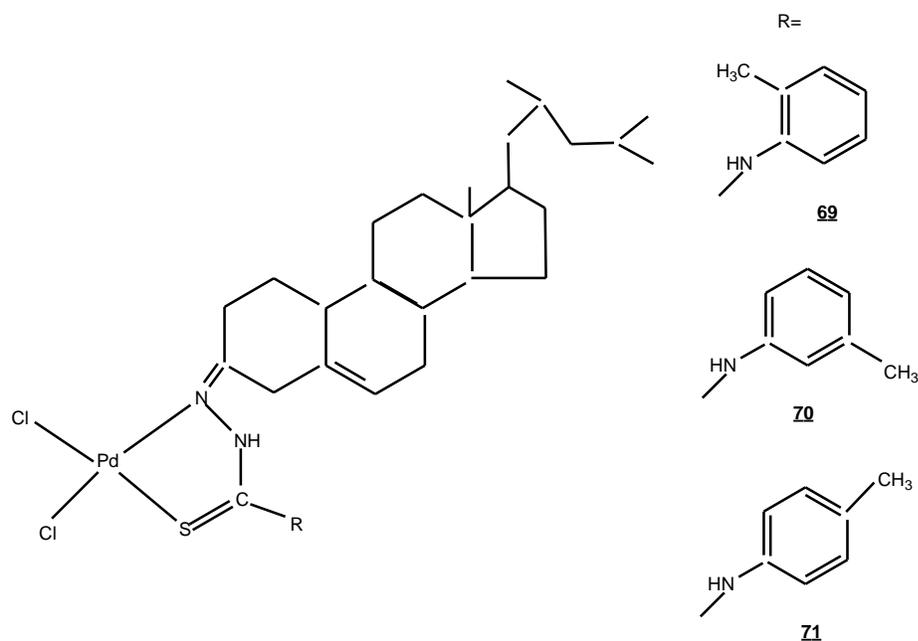


Figura 1-17. Complejos de Pd(II) con tiosemicarbazonas esteroidales

1.1.4 Generalidades ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CD) son oligosacáridos cíclicos, formados por unidades de glucosa, unidas entre sí, por enlaces α -1,4. Se obtienen a partir de la degradación del almidón. Las CD más comunes son α , β y γ formadas por seis, siete y ocho unidades de glucosa respectivamente (Figura 1-18).^{26,27}

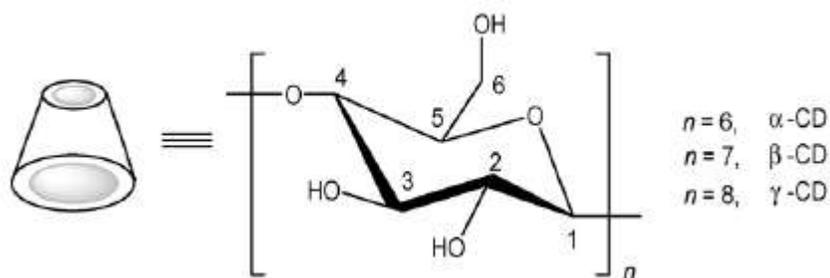


Figura 1-18. Estructura de las Ciclodextrinas

Las CD presentan una estructura en forma de cono truncado (Figura 1-19), donde los grupos OH secundarios ligados a los átomos C-2 y C-3 están localizados en la parte externa de la base mayor y los grupos OH primarios ligados al C-6 se encuentran en la base menor del cono truncado, los hidroxilos primarios en el lado estrecho del cono pueden girar, para bloquear parcialmente la cavidad, a diferencia de los hidroxilos secundarios que están unidos por cadenas relativamente rígidas y como consecuencia, no puede girar. Ambos extremos de las CD están ocupados por grupos hidroxilos, que le confieren el carácter hidrofílico.^{28,29} En el interior del cono, por no estar revestido de grupos OH, ofrece un ambiente apolar, lo que permite considerar que las CD poseen una cavidad hidrofóbica (Figura 1-19), siendo esta la propiedad más importante de las CD, donde se puede encapsular varios tipos de moléculas huésped orgánicas e inorgánicas, como resultado de diferentes contribuciones, tales como interacciones de van der Waals, efecto hidrofóbico y puente hidrógeno.²⁹

Las ciclodextrinas han sido ampliamente estudiadas por su potencial y aplicación en la industria farmacéutica, para mejorar la solubilidad de fármacos y su estabilidad físico-química, entre otras propiedades.^{29,30,31} Además, diversos estudios han sido encaminados

hacia la búsqueda de sistemas de transporte de fármacos que varíen sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas, con el objetivo de mejorar la eficiencia terapéutica y racionalizar al máximo los tratamientos terapéuticos.^{29,30,31}

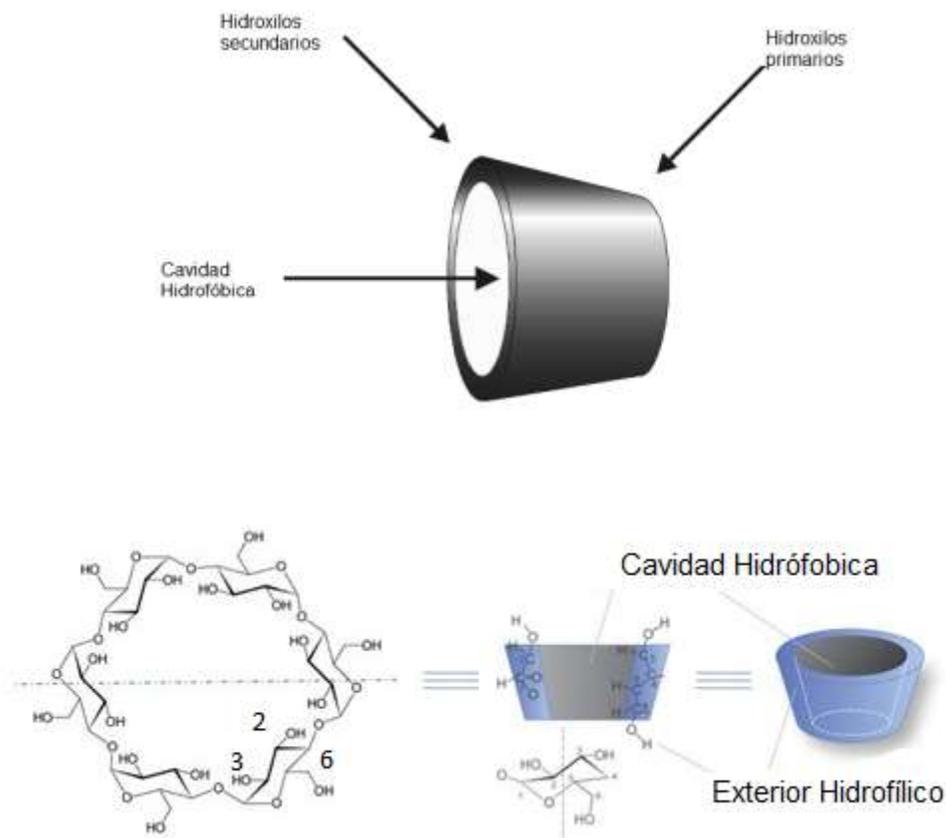


Figura 1-19. Esquema estructural de las CDs

Como se mencionó anteriormente, las CD poseen una cavidad hidrofóbica que puede alojar, totalmente o parcialmente moléculas formando así los complejos hospederos-huésped (Figura 1-20), cuando el huésped se sitúa dentro de la cavidad estos compuestos se denominan compuestos de inclusión, cuando el huésped interactúa fuera de la cavidad se denomina compuestos de asociación.³²

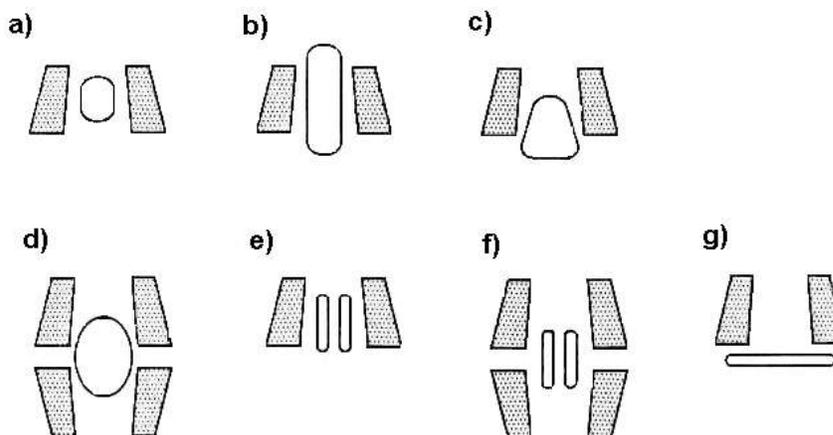


Figura 1-20. Topología de los compuestos de inclusión: a) total, b) axial, c) parcial d) tipo sándwich, e) inclusión tipo 1:2, f) inclusión tipo 2:2, g) compuestos de asociación

1.1.4.1 Compuestos de inclusión

Ding y colaboradores, reportan la síntesis de un nuevo compuesto de inclusión $Zn(2H1NA)_2 \cdot 2\beta\text{-CD}$ ($2H1NA = \text{ácido 2-hidroxi-1-naftoico}$) **72**, esta estructura fue caracterizada por RMN ^1H , IR, análisis termogravimétrico (TG-DTA) y análisis elemental, el mecanismo de formación del sistema supramolecular ($2H1NA: Zn(II):\beta\text{-CD}$) **72** fue estudiado por espectrofluorimetría. Los resultados mostraron que los anillos de naftaleno del complejo de $Zn(2H1NA)_2$ fueron encapsulados dentro de la $\beta\text{-CD}$.³³

Atmeh y colaboradores,³⁴ sintetizaron un nuevo complejo supramolecular donador-aceptor, compuesto de una unidad polipiridil de Rutenio, coordinado covalentemente a la cara secundaria de $\beta\text{-ciclodextrina}$ y en la cara primaria, tiene un puente hidroxilo de un compuesto dinuclear de cobre(II) (Figura 1-21). Este trabajo sugiere, transferencia de electrones, desde el centro del cobre, al centro de rutenio polipiridil, el proceso de transferencia de electrones se atribuye a una fotooxidación del centro de rutenio excitado por el dímero de cobre.

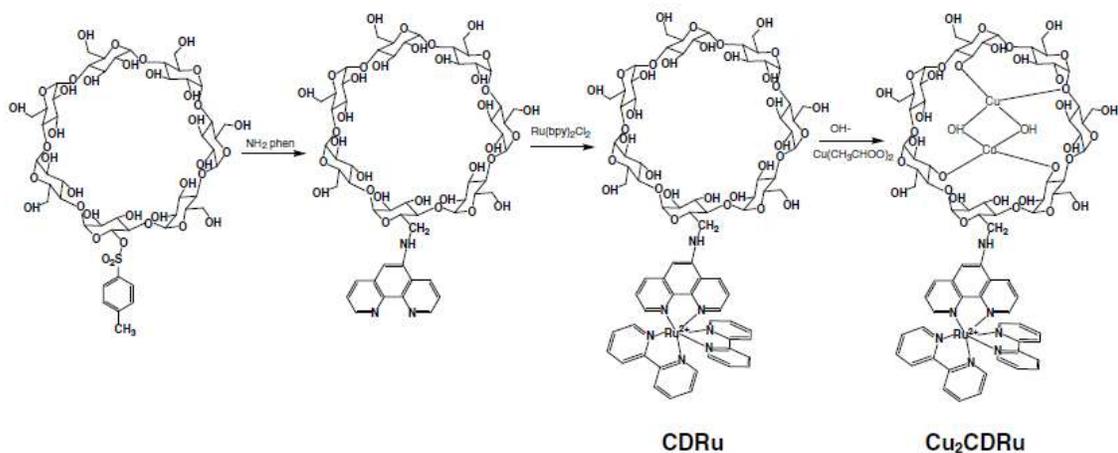


Figura 1-21. Ruta sintética para Cu_2CDRu

Por otro lado, Fernandes y colaboradores,³⁵ reportan la síntesis de un compuesto de inclusión con β -ciclodextrina y un compuesto organometálico, $\text{Fc-SiMe}_2\text{-Fc}$ [$\text{Fc}=(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)$], diferrocenildimetilsilano, fue caracterizado en el estado sólido por Difracción de Rayos X en polvo (XRD), Análisis Termogravimétrico (TGA) y Espectroscopía de RMN (^{13}C , ^{29}Si).

1.2 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Sintetizar dos complejos de Pd(II) con ligantes tipo pirazolil-tiosemicarbazona como también preparar sus respectivos compuestos con β -ciclodextrina y evaluar la actividad antimicrobiana tanto de los ligantes libres, los complejos de Pd(II) y los compuestos incluidos parcialmente y/o asociados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Sintetizar y caracterizar por técnicas espectroscópicas los ligantes tiosemicarbazonas y complejos Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas.
- ❖ Preparar y caracterizar por técnicas espectroscópicas los compuestos de inclusión entre los complejos Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazona y la β -ciclodextrina.
- ❖ Evaluar *in vitro* la actividad biológica de los complejos de Pd(II) y sus compuestos de inclusión.

2. Capítulo 2

2.1 SECCIÓN EXPERIMENTAL

2.1.1 GENERALIDADES

Todas las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía de capa delgada (CCD), con placas de sílica gel, Sigma Aldrich 25EA, empleando como revelador una lámpara UVSL - 25 a longitudes de onda corta y larga (254 nm y 365 nm).

Los disolventes empleados fueron metanol, etanol, hexano, cloroformo, diclorometano, acetato de etilo, acetona grado analítico. Los reactivos utilizados fueron adquiridos de la casa comercial Sigma – Aldrich (los compuestos PdCl_2 , tiosemicarbazida, 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehído, 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído y β -ciclodextrina).

La determinación de los puntos de fusión de los compuestos precursores y sintetizados se realizó en un fusiómetro Melt-temp II marca Laboratory Devices del Laboratorio de Compuestos de Coordinación de Universidad Nacional de Colombia. Se utilizó un rotovaporador Heidolph WB 2001, perteneciente al Laboratorio de Compuestos de Coordinación de la Universidad Nacional de Colombia.

Los espectros UV-vis fueron tomados en un Espectrómetro Nanodrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Scientific) perteneciente al Laboratorio del Grupo de Estudios para la Remediación y Mitigación de Impactos Negativos al Ambiente (GERMINA), utilizando como disolvente dimetilsulfóxido.

Los espectros IR fueron tomados en un equipo FTIR-8400/8900 SHIMADZU del Laboratorio de Espectroscopía de la Universidad del Valle con un rango de 4000 a 250 cm^{-1} , Nicolet iS10 Spectrometer Thermo Fisher Scientific de la Universidad Nacional de Colombia, para muestra en forma sólida en pastillas de KBr.

El análisis térmico TGA/DSC se realizó en un equipo Rheometrics STA 500 (Reometrics Scientific Inc.), perteneciente al Laboratorio de Catálisis Heterogénea de la Universidad Nacional de Colombia, con una atmósfera de Argón y a una rampa de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Los espectros RMN ^1H , ^{13}C y bidimensionales fueron tomados en un espectrómetro Bruker, UltrashieldTM NMR de 400MHz, empleando como solvente [DMSO- d_6] deuterado, perteneciente al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia.

Los espectros DOSY RMN fueron tomados en un espectrómetro Bruker, AVANCE DRX500 de 500 MHz, empleando como solvente [DMSO- d_6] deuterado, perteneciente al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad de Alicante, en España.

2.2. PROCEDIMIENTOS SINTÉTICOS

2.2.1 Síntesis del ligante MePhPzTSC

El ligante MePhPzTSC fue preparado por reflujo en una relación molar 1:1 de 1g 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído y 0.49 g tiosemicarbazida en 20 mL de etanol por 4 h, adicionando gotas de ácido acético a la mezcla. El precipitado blanco obtenido fue lavado con etanol y secado. Obteniendo 0.986 g del producto, con un porcentaje de rendimiento de 72%.

2.2.2 Síntesis del ligante Ph₂PzTSC

El ligante Ph₂PzTSC fue preparado de acuerdo al procedimiento de Leovac y colaboradores³⁶ por reflujo en una relación molar 1:1 de 1 g 1,3-difenilpirazol-4-

carboxaldehído y 0.36 g tiosemicarbazida en 20 mL de etanol. Obteniendo 1.014 g del producto, con un porcentaje de rendimiento 80%.

2.2.3 Síntesis del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$

Se disolvieron en una relación molar 1:1, 35 mg de PdCl_2 en 10 mL de metanol a reflujo, se adicionó una disolución en caliente de 50 mg de MePhPzTSC en 10 mL metanol. La mezcla siguió bajo reflujo por 24 horas. Se observó que el cloruro de paladio no reaccionó totalmente, por lo que la relación estequiometría de la reacción fue 2:1 ligante a metal. Se obtuvo 54 mg de un sólido de color naranja que fue lavado con metanol y secado. El porcentaje de rendimiento fue de 45 %.

2.2.4 Síntesis del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$

Se disolvieron en una relación molar 1:1, 27.6 mg de PdCl_2 en 10 mL metanol a reflujo. Se adicionó una disolución en caliente de 50 mg de Ph_2PzTSC en 10 mL de acetona.³⁶ El reflujo se mantuvo por 24 h. Se observó que el cloruro de paladio no reaccionó totalmente, por lo que la relación estequiometría de la reacción fue 2:1 ligante a metal. Obteniendo 56 mg de un sólido color amarillo mostaza, el cual fue filtrado, lavado con metanol y secado. El porcentaje de rendimiento fue de 48.5 %.

2.2.5 Preparación del compuesto de inclusión $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

Se realizó mediante la modificación de la metodología descrita por Guyot y colaboradores.³⁷ Se pesaron en una relación molar 1:1, 15 mg de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ con 27.35 mg de β -ciclodextrina en una disolución acuosa por 24 h con agitación constante a temperatura ambiente, se congeló con nitrógeno líquido y posteriormente fue liofilizado.

2.2.6 Preparación del compuesto de inclusión [Pd(Ph₂PzTSC)₂] $\cdot\beta$ -CD

Se mezcló en un mortero de ágata hasta obtener un polvo homogéneo, una relación molar 1:1, 15 mg de [Pd(Ph₂PzTSC)₂] con 22.8 mg de β -ciclodextrina por la insolubilidad del complejo en agua.

2.3 PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Estas pruebas se realizaron con bacterias gram positivas y negativas, la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y el hongo (*Candida albicans*), utilizando el ensayo MIC para estimar mínima cantidad inhibitoria (en $\mu\text{g/mL}$) aplicando la metodología de Bauger y colaboradores,³⁸ para los precursores (ligantes, PdCl₂) y complejos [Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazona] y los respectivos compuestos de inclusión.

1) Se usó 9-10 mL de solución salina (0.9% NaCl) estéril, en tubo de vidrio con tapa rosca, para diluir 1-2 "loop" de microorganismo a ensayar crecidos ~24h en caja de agar con medio de cultivo (TSA para bacterias y PDA para hongos). Se agitó la suspensión para suspender de manera efectiva las células inoculadas.

2) Se midió la absorbancia a 620 nm de la suspensión preparada y se ajustó la densidad óptica a 0,1-0,2 (equivalente a escala de MacFarland de 0.5; y a $\sim 10^8$ células/mL). La dilución se hizo con la misma solución usada inicialmente en el paso 1) para suspender las células. Se usó la misma solución sin inocular como blanco para la lectura de absorbancia.

3) Se colocó en el centro de una caja de Petri (estéril) 1mL de suspensión de células con densidad óptica de 0.1-0.2 (equivalente a escala de MacFarland de 0.5; y a $\sim 10^8$ células/mL con pipeta estéril de 20 mL del medio de cultivo. Se homogenizó bien la suspensión de células en el agar, agitando cuidadosamente la caja, en las direcciones arriba-abajo y derecha- izquierda. Se dejó secar el agar durante 30 minutos, como mínimo.

4) Una vez secó el agar, se realizaron perforaciones en el mismo con un saca bocados n° 3 ($\varnothing \sim 0.6$ mm) esterilizado por flameo con alcohol siguiendo la plantilla de la Figura 2-22. Las posiciones deben ser 6 alrededor de la caja de Petri para colocar los agentes antimicrobianos y una central para el control de solvente. Los cilindros de agar de los pozos se retiraron con un asa de aguja estéril desde los bordes de los mismos.

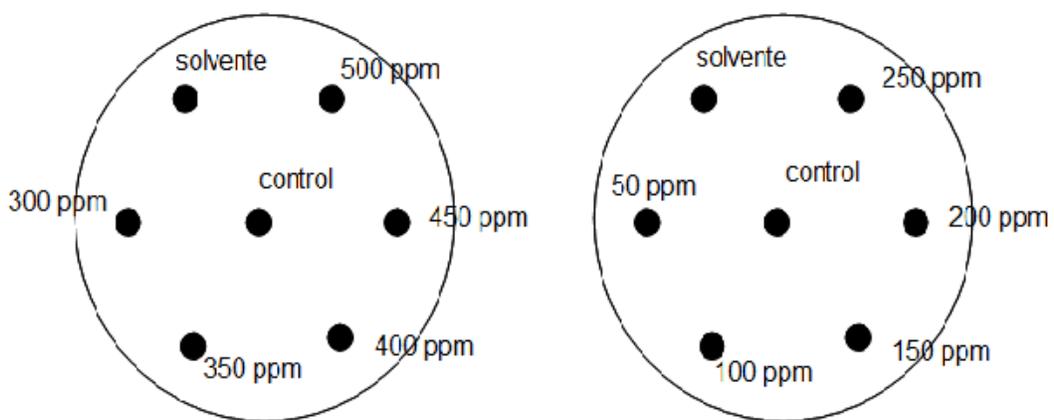


Figura 2-22. Plantillas utilizada para los pozos en las cajas con agar

5) En cada pozo formado en el agar de cada microorganismo a probar, se colocó 20 μ L de los compuestos a probar en un rango de concentración 500 a 50 ppm disueltos en DMSO. Se colocó en el centro control del solvente usado para preparar los compuestos a probar en el pozo central de cada caja de Petri y se utilizó controles positivos del efecto antimicrobiano (antibiótico, antifúngico).

6) Finalmente se incubaron las cajas a 35°C por 24 h para todos los microorganismos.

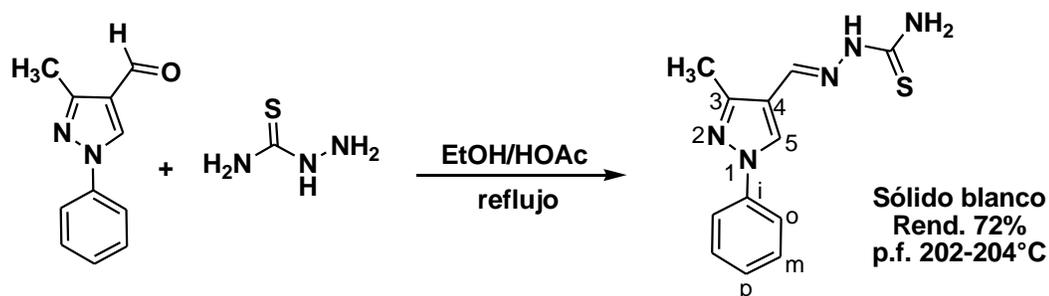
3. Capítulo 3

3.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados y análisis de las caracterizaciones de los ligantes 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona y 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazonas, los compuestos de coordinación de Pd(II) y sus respectivos compuestos con β -CD. También se presentan resultados de las pruebas biológicas *in vitro* antimicrobianas.

3.1.1 Síntesis del ligante 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)

Fue obtenido un sólido blanco con punto de fusión entre 202-204 °C, a partir de la reacción de condensación entre la tiosemicarbazida y el 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehido (Esquema 3-5). Su solubilidad se presenta en la Tabla 3-4.



Esquema 3-5. Síntesis del ligante MePhPzTSC

Tabla 3-4. Solubilidad del ligante MePhPzTSC

Solventes / Temperatura	Frio (baño de hielo)	Temperatura ambiente (25°C)	Caliente (40-60°C)
THF	-	+/-	+/-
Etanol	-	-	-
Acetato de Etilo	-	-	+/-
Cloroformo	-	-	-
Acetona	-	-	+/-
Diclorometano	-	-	+/-
Hexano	-	-	-
DMSO	+	+	+

-Insolubilidad, + solubilidad

3.1.1.1 Caracterizaciones Espectroscópicas

La caracterización del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (MePhPzTSC), se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Ultravioleta-Visible (UV-vis), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C) y bidimensional.

El espectro UV-vis de un compuesto determinado permite analizar los diversos grupos cromóforos que existen en su estructura, según las transiciones electrónicas que éstos

posean. En la Tabla 3-5 se muestra los valores obtenidos del espectro UV-vis del ligante MePhPzTSC (Anexo A-1) en dimetilsulfóxido.

Tabla 3-5. Banda de absorción en la región UV-vis para del ligante MePhPzTSC, concentración 1.544×10^{-5} M

Banda de absorción	λ (nm)	Número de onda (cm^{-1})	Absorbancia	Coefficiente de extinción molar ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Transición electrónica
A	324	30864.2	0.421	27266.8	$\pi - \pi^*$

El espectro UV-vis del ligante pirazolil-tiosemicarbazona presenta una banda **A** (Tabla 3-5) que corresponde a transiciones electrónicas tipo $\pi - \pi^*$ del grupo C=C del anillo pirazólico, bencénico.

El espectro infrarrojo del ligante MePhPzTSC (Anexo B-1), se realizó en pastilla de KBr desde $4000-400 \text{ cm}^{-1}$, sólo se interpretan las bandas más representativas, como se indica en la Tabla 3-6.

El espectro IR del ligante MePhPzTSC, presenta las bandas de absorción esperadas para el compuesto y también la desaparición de la banda del carbonilo del pirazol precursor lo que confirma la formación del compuesto tiosemicarbazona. Se observó una banda de absorción en 1209 cm^{-1} debido al estiramiento $\nu(\text{C}=\text{S})$ unido al átomo nitrógeno, a 1097 cm^{-1} una banda debido al estiramiento $\nu(\text{C}=\text{S})$. En la región entre 3000 a 4000 cm^{-1} presenta dos bandas en 3424 y 3248 cm^{-1} que corresponden al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo $\nu(\text{NH}_2)$ respectivamente, la banda a 3144 cm^{-1} fue atribuida al grupo $\nu(\text{NH})$ de la hidrazina, también se observó una banda fuerte en 1595 cm^{-1} asignada al $\nu(\text{C}=\text{N})$ del grupo azometino, a 1551 cm^{-1} la banda correspondiente al grupo $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{pz}}$ del anillo pirazólico. La ausencia de una banda alrededor de 2600 y 2800 cm^{-1} que corresponde $\nu(\text{SH})$, indica que el ligante se encuentra en su tautómero tiona.^{21,36}

Tabla 3-6. Principales bandas del espectro infrarrojo (cm^{-1}) para ligante MePhPzTSC

Asignación	ν (cm^{-1})
Estiramiento N-H hidrazina	3143
Estiramiento N-H asimétrica (NH_2)	3423
Estiramiento N-H simétrica (NH_2)	3247
Estiramiento C=N	1590
Estiramiento C=N pz	1551
Estiramiento NHC=S	1209
Estiramiento C=S	1096

El espectro RMN ^1H del ligante MePhPzTSC (Anexo C-1), presenta 8 tipos diferentes de protones esperados para el compuesto. En la Tabla 3-7 se muestran los desplazamientos químicos (δ) de RMN ^1H en $[\text{DMSO}-d_6]$ para el ligante MePhPzTSC, donde se observa a campo alto un singlete en 2.38 ppm, que integra para tres protones correspondientes al grupo metilo, a 7.29 ppm un triplete con $J = 7.5$ Hz, que integra para un protón, que corresponde al H_p del anillo aromático, a 7.46-7.50 ppm un triplete que integra para tres protones H-NH_2 y H_m , a 7.78 ppm un doblete con $J = 8.03\text{Hz}$ que integra para dos protones H_o , a 8.07 ppm un singlete para un protón que corresponde al azometino CH=N , a 8.17 ppm un singlete ancho que corresponde al otro protón no equivalente del grupo NH_2 debido a la no libre rotación sobre el enlace C-N y su carácter de doble enlace, a 8.85 un singlete que integra para un protón que corresponde al H-5 del pirazol, a campo bajo 11.33 ppm un singlete que integra para un protón que corresponde al NH-C=S .

Tabla 3-7. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ^1H del ligante MePhPzTSC, 400 MHz, [DMSO- d_6]

Señal	δ (ppm)	Integrales	Asignación
-(CH ₃)	2.38	3H	Grupo metilo
CH=N	8.07	1H	Azometino
NH-C=S	11.33	1H	NH
N-H ₂	7.46-7.50,	1H, 1H	Grupo amino
	8.17		
H-5	8.85	1H	C-H, pz
H _p	7.29	1H	Aromáticos
H _o	7.78	2H	
H _m	7.46-7.50	2H	

En la Tabla 3-8 se presentan los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^{13}C del compuesto 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (Anexo C-2), este compuesto presenta las 9 señales esperadas, a 13.2 ppm el carbono del grupo metilo, a 117.3 ppm el C_q del carbono C-4 del pirazol, los carbonos del sistema aromático aparecen a campo bajo 139.0 ppm que corresponde a un C_q del C_i debido al N-1, a 117.9 ppm el C_o, a 126.2 ppm C_p, a 129.5 ppm el C_m, el C-5 del pirazol a 128.3 ppm, a 135.8 ppm el carbono del azometino (CH=N), a 148.7 ppm, campo bajo aparece el C_q del C-3 pirazol debido al efecto inductivo del nitrógeno π excedente y finalmente a 177.3 ppm un C_q que corresponde al carbono del tiocarbonilo C=S ppm. Con el experimento DEPT 135 (Anexo C-3) se identificaron los carbonos cuaternarios C-3 pirazol, C-4 del pirazol, C_i y C=S.

Tabla 3-8. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ^{13}C del ligante MePhPzTSC, 100 MHz, [DMSO- d_6]

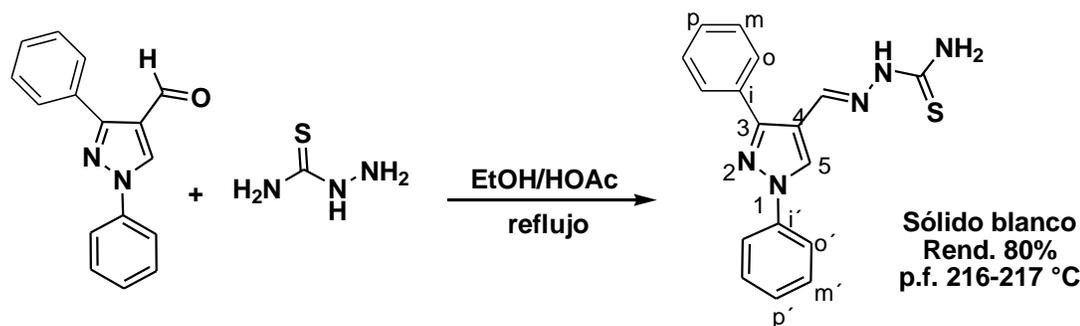
Señal	δ (ppm)	Asignación
CH ₃	13.2	Grupo metilo
3	148.7	C-3 pz
4	117.3	C-4 pz
5	128.3	C-5pz
CH=N	135.8	Azometino
C=S	177.3	Tiocarbonilo
C _i	139.0	Aromáticos
C _o	117.9	
C _m	129.5	
C _p	126.2	

Con el experimento HSQC (Anexo C-4) fueron identificados los carbonos C_o, C_m, C_p del anillo bencénico y el carbono del grupo metilo por la correlación directa ^1H - ^{13}C a 1J de los H_o, H_m, H_p y la señal del grupo CH₃.

Con el espectro HMBC (Anexo C-5) fue posible asignar el protón del azometino, que acopla a 4J con la señal NH-C=S, el C-3 pz con el acoplamiento a 3J con el H-5 pz, a 3J con la señal del protón azometino y a 2J con el metilo, el C-4 pz que acopla a 2J con el metilo y 2J con el protón del azometino.

3.1.2 Síntesis del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (Ph_2PzTSC)

El ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (Ph_2PzTSC), sólido blanco, con un punto de fusión entre 216-217 °C, fue sintetizado según lo reportado por Leovac y colaboradores,³⁶ a partir de una reacción de condensación entre 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido y la tiosemicarbazida (Esquema 3-6). En la Tabla 3-9 se reporta la solubilidad de este compuesto.



Esquema 3-6. Síntesis del ligante Ph_2PzTSC

Tabla 3-9. Solubilidad del ligante tiosemicarbazona Ph_2PzTSC

Solventes / Temperatura	Frio (baño de hielo)	Temperatura ambiente (25°C)	Caliente (40-60°C)
DMF	-	+	+
Etanol	-	-	-
Acetato de Etilo	+/-	+/-	+
Cloroformo	+	+/-	+
Acetona	-	+/-	+
Diclorometano	-	+/-	+/-
Hexano	-	-	-
DMSO	+	+	+

-Insolubilidad, + solubilidad

3.1.2.1 Caracterizaciones Espectroscópicas

La caracterización del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (Ph_2PzTSC), se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Ultravioleta-Visible (UV-vis), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C) y bidimensional.

El espectro UV-vis permitió analizar los diversos grupos cromóforos que existen en su estructura, según las transiciones electrónicas que presenta, (Anexo A-2 y Tabla 3-10), para el ligante Ph_2PzTSC , que fue tomado en dimetilsulfóxido.

Tabla 3-10. Banda de absorción en la región UV-vis para del ligante Ph_2PzTSC , concentración $8.4 \times 10^{-6} \text{ M}$

Banda de absorción	λ (nm)	Número de onda (cm^{-1})	Absorbancia	Coefficiente de extinción molar ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Transición electrónica
A	322	31055.9	0.385	45833.3	$\pi - \pi^*$

El espectro UV-vis del ligante pirazolil-tiosemicarbazona presenta una banda **A**, que corresponde a las transiciones electrónicas tipo $\pi - \pi^*$ del grupo $\text{C}=\text{C}$, de los anillos bencénicos y pirazólico que presenta la estructura.

La Tabla 3-11 muestra los resultados obtenidos por espectroscopía IR en la región de infrarrojo del ligante Ph_2PzTSC (Anexo B-2). El espectro IR del ligante presenta bandas características del compuesto reportadas en la literatura.³⁶

El ligante Ph_2PzTSC , presenta en su espectro IR, una banda de absorción en 1056 cm^{-1} debido al estiramiento $\nu(\text{C}=\text{S})$ unido al átomo nitrógeno, a 1207 cm^{-1} una banda debido al estiramiento $\nu(\text{C}=\text{S})$. En la región entre 3000 a 4000 cm^{-1} presenta dos bandas en 3424 y 3348 cm^{-1} que corresponden al estiramiento asimétrico y simétrico del grupo $\nu(\text{NH}_2)$ respectivamente. La banda a 3150 cm^{-1} fue atribuida al grupo $\nu(\text{NH})$ de la hidrazina, una banda fuerte en 1597 cm^{-1} asignada al $\nu(\text{C}=\text{N})$ del azometino, a 1545 cm^{-1} la banda correspondiente al grupo $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{pz}}$ del anillo pirazólico. Aquí sólo se interpretan las bandas más representativas.

Tabla 3-11. Principales bandas del espectro infrarrojo (cm^{-1}) para ligante Ph_2PzTSC

Asignación	$\nu(\text{cm}^{-1})$ experimental	$\nu(\text{cm}^{-1})$ reportada
Estiramiento N-H asimétrica NH_2	3424	3326
Estiramiento N-H simétrica NH_2	3348	3257
Estiramiento N-H Hidrazina	3150	3140
Estiramiento C=N azometino	1597	1598
Estiramiento C=N pz	1545	1543
Estiramiento NH-C=S	1207	1221
Estiramiento C=S	1056	1064

En la Tabla 3-12 se presentan los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H para ligante Ph_2PzTSC (Anexo C-6), cuando se comparan los desplazamientos químicos con los reportados, son observadas diferentes señales para los protones debido a que el espectro reportado fue tomado a 200MHz. El espectro del compuesto muestra las siguientes señales a 7.39 ppm un triplete que integra para un protón H_p con $J=7.2$ Hz, a 7.45-7.60 ppm un multiplete que integra para 5 protones H_m' , H_m , H_p , a 7.69 ppm un doblete con $J=7.6$ Hz que integra para dos protones H_o , a 7.76 ppm un singlete ancho que corresponde a uno de los dos protones no equivalentes del grupo NH_2 , a 7.91 ppm un doblete con $J=7.7$ Hz, que integra para dos que corresponden a los H_o , a 8.22 ppm un singlete ancho que corresponde al otro protón no equivalente del grupo NH_2 , a 8.24 ppm un singlete que integra para un protón que corresponde al protón del azometino $\text{CH}=\text{N}$, a 9.18 ppm un singlete que integra para un protón que corresponde al H-5 pz, y finalmente a campo bajo a 11.33 ppm un singlete que integra para un protón que corresponde al NH-C=S.

Tabla 3-12. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ^1H del ligante Ph_2PzTSC , 400 MHz, $[\text{DMSO-d}_6]$

Señal	δ (ppm)	Asignación reportada	Integraciones (experimental)	Asignación experimental
H-5	9.18	8.22	1H	C-H pz
CH=N	8.24	9.19	1H	Azometino
NH-C=S	11.33	11.34	1H	NH
N-H ₂	7.91, 8.22	7.80, 8.27	1H, 1H	Grupo amino
H _p	7.45-7.60	7.38-7.70	5H	Aromáticos
H _{m'}				
H _m				
H _o	7.69	7.38-7.70	2H	Aromáticos
H _{o'}	7.91	7.90	2H	
H _{p'}	7.39	7.38-7.70	1H	

En el espectro de RMN ^{13}C (Anexo C-7), se observan las señales de 13 carbonos para el compuesto Ph_2PzTSC (Tabla 3-13), con desplazamientos químicos parecidos a los reportados en la literatura, correspondientes a 117.7 ppm un C_q que corresponde al C-4 pz, los carbonos del sistema aromático que se encuentra en el N-1 a 139.5 ppm un C_q del C_i, a 118.9 ppm el C_{o'}, a 130.1 ppm el C_{m'}, a 127.4 pm C_{p'}. El C-5 del pirazol a 128.1 ppm, a 135.4 ppm el carbono del azometino (CH=N). A 151.8 ppm, campo bajo aparece el C_q del C-3 pirazol debido al efecto inductivo del nitrógeno π excedente, los carbonos del segundo sistema aromático que se encuentra en el C-3 del pz, el C_q a 132.5 ppm C_i, a 128.6 ppm C_o, 129.2 ppm C_m, a 129.0 ppm C_p, a y finalmente a 178.0 ppm un C_q que

corresponde al carbono del tiocarbonilo C=S ppm. Con el experimento DEPT 135 (Anexo C-8) se asignaron los carbonos cuaternarios (Cq) C-3 pirazol, C-4 del pirazol, C_i, C_{i'}, C=S y se identificaron los C_o y C_p.

Con experimento HSQC (Anexo C-9) fueron identificados los C_o, C_m, C_p, C_{o'}, C_{m'}, C_{p'}, correspondientes a los anillos bencénicos por la correlación directa ^1H - ^{13}C a 1J de los H_o, H_m, H_p, H_{o'}, H_{m'} y H_{p'}.

El espectro HMBC (Anexo C-10) permitió reasignar el protón del azometino que acopla a 4J con la señal NH-C=S, el C-3 pz con el acoplamiento a 3J con el H-5 pz, a 3J con el protón del azometino y a 3J con el H_o, el C-4 pz acopla a 2J con el H-5 pz y 2J con el protón del azometino.

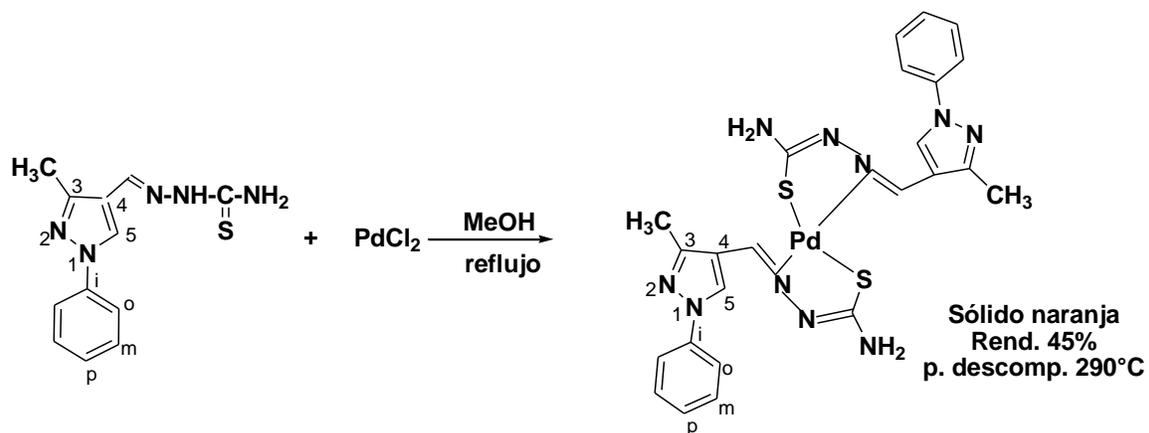
El espectro del experimento COSY ^1H - ^1H (Anexo C-11) permitió identificar los H_m, H_m, H_p en el multiplete de la región 7.45-7.60 ppm.

Tabla 3-13. Valores de desplazamientos químicos (δ) de RMN ^{13}C RMN del ligante Ph_2PzTSC , 100 MHz, $[\text{DMSO-d}_6]$

Señal	$\delta(\text{ppm})$	Asignación
3	151.8	C-3 pz
4	117.7	C-4 pz
5	128.1	C-5pz
CH=N	135.4	Azometino
C=S	178.0	Tiocarbonilo
$C_{i'}$	139.5	Aromáticos
$C_{o'}$	118.9	
$C_{m'}$	130.1	
$C_{p'}$	127.4	
C_i	132.5	Aromáticos
C_o	128.6	
C_m	129.2	
C_p	129.0	

3.1.3 Síntesis del [Pd(MePhPzTSC)₂]

El complejo [Pd(MePhPzTSC)₂], fue sintetizado a partir del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona y el PdCl₂, (Esquema 3-7). Es un sólido naranja, con un punto de descomposición a 290 °C. Su solubilidad se presenta en la Tabla 3-14, es un compuesto muy polar, soluble en DMSO y DMF.



Esquema 3-7. Síntesis del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]

Tabla 3-14. Solubilidad del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]

Solventes / Temperatura	Frio (baño de hielo)	Temperatura ambiente (25°C)	Caliente (40-60°C)
THF	-	-	-
Etanol	-	-	+/-
Acetato de Etilo	-	-	-
Cloroformo	-	-	-
Acetona	-	-	-
Diclorometano	-	-	-
DMF	+	+	+
DMSO	+	+	+

-Insolubilidad, + solubilidad

3.1.3.1 Caracterizaciones Espectroscópicas

La caracterización del complejo Pd(II) se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Ultravioleta-Visible (UV-vis), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C) y bidimensional.

Con espectroscopía UV-vis se identificaron las transiciones electrónicas principales que presenta la molécula, (Anexo A-3 y la Tabla 3-15). Al comparar las bandas del espectro UV-vis del complejo de Pd(II) con el del ligante libre, fueron observados cambios en la energía de estas bandas debido a la conjugación del ligante y la formación del complejo.

Tabla 3-15. Bandas de absorción en la región UV-vis para $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$, concentración $8.03 \times 10^{-6} \text{ M}$

Bandas de absorción	λ (nm)	Número de onda (cm^{-1})	Absorbancia	Coefficiente de extinción molar ($\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Transiciones electrónicas
A	219	45622.1	0.295	36737.2	$\pi - \pi^*$
B	359	27855.1	0.386	47890.8	$n - \pi^*$ / $\text{L} \rightarrow \text{MTC}$

En la Tabla 3-15, se presentan las bandas de absorción en la región de UV-vis, del complejo de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$. Se observó una banda **A** en el espectro, que fue atribuida a las transiciones electrónicas $\pi - \pi^*$ presentes en el grupo cromóforo $\text{C}=\text{C}$ de los anillos bencénicos y pirazólico, está presenta un efecto hipsocrómico con respecto al ligante debido a que la longitud de onda máxima se desplazo a una menor longitud de onda (mayor energía). La banda **B**, se debe posiblemente a transiciones electrónicas $n - \pi^*$ presentes en el grupo tiosemicarbazona que se encuentran reportadas en este rango,^{15,20} o a transiciones de transferencia de carga ligante-metal ($\text{L} \rightarrow \text{MTC}$)^{39,21} es decir, transferencia de carga nitrógeno imínico (tiosemicarbazona) $\rightarrow \text{Pd(II)}$. Debido a la

superposición de las transiciones de absorción de la transferencia de carga con las transiciones $n-\pi^*$ impide la observación y detección de las bandas esperadas para un complejo de Pd(II).

Al comparar el espectro de IR del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ (Anexo B-3), con el espectro del ligante, se realizó el siguiente análisis (Tabla 3-16):

El espectro del complejo, no presenta la banda atribuida al estiramiento del $\nu(\text{N-H})$ de la hidrazina a 3143 cm^{-1} , lo que sugiere una posible desprotonación de este grupo, la presencia de una nueva banda a 1156 cm^{-1} atribuida al estiramiento $\nu(\text{N-N})$ confirma la desprotonación del grupo $\nu(\text{N-H})$ de la hidrazina. La aparición de nuevas bandas a 400 cm^{-1} y 441 cm^{-1} correspondientes a $\nu(\text{Pd-S})$ y $\nu(\text{Pd-N})$ respectivamente,^{21,40,41} sugieren la formación del enlace del átomo de paladio con estos átomos donores, además no se observa la presencia de bandas en la región de $305-335\text{ cm}^{-1}$ atribuida al $\nu(\text{Pd-Cl})$,⁴¹ lo que permite sugerir que en la esfera de coordinación no se encuentra este ligante.

De igual forma se observó un cambio en el desplazamiento de las bandas del C=N azometino y C-S del tiocarbonilo, confirmando la coordinación al metal por los átomos de nitrógeno y azufre.

Tabla 3-16. Comparación de las bandas representativas del espectro infrarrojo del ligante libre y el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$

Asignación	$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$ Ligante MePhPzTSC	$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{)}$ Complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$
Estiramiento N-H asimétrica (NH_2)	3423	3446
Estiramiento N-H simétrica (NH_2)	3247	3308
Estiramiento N-H Hidrazina	3143	-----
Estiramiento C=N azometino	1590	1619

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

Estiramiento N-N	-----	1156
Estiramiento C=N pz	1545	1536
Estiramiento C-S	1096	757
Pd-S	-----	400
Pd- N	-----	441

Cuando se comparan los desplazamientos químicos de los espectros de RMN ^1H del ligante libre, con el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ tomado en $[\text{DMSO}-d_6]$. Se observa la ausencia del protón correspondiente al $\text{NH}-\text{C}=\text{S}$, lo que indica la tioenolización del ligante, descartando una estructura en donde el ligante se encuentre en el tautómero tiona; también un desplazamiento a campo alto de los protones del grupo amino que se solapan con la señal correspondiente al H_p , lo que sugiere un cambio en la densidad electrónica de esta parte de la molécula ($-\text{CSNH}_2$) debido al cambio de tiona a tiol del grupo tiocarbonilo. El desplazamiento a campo bajo del protón correspondiente al grupo azometino presenta un $\Delta\delta = 0.07$ ppm cuando fue comparado con el del ligante libre. Este resultado espectroscópico sugiere una menor densidad electrónica sobre el grupo azometino, indicando la coordinación del metal por el átomo de nitrógeno de este grupo.

En el espectro de RMN ^1H (Anexo C-12) se observan los desplazamientos químicos del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$, a campo alto con un desplazamiento químico a 2.35 ppm un singlete que integra para seis protones correspondientes al grupo metilo, a 7.34-7.44 ppm un triplete deformado que integra para seis protones que corresponde a los cuatro protones del grupo amino y dos protones H_p del anillo aromático, a 7.52 ppm un triplete con $J = 7.58$ Hz, que integra para cuatro protones que corresponden a los H_m , a 7.85 ppm un doblete con $J = 7.57$ Hz, que integra para cuatro protones correspondientes a los H_o , a 8.14 ppm un singlete que integra para dos protones que corresponde al del $\text{CH}=\text{N}$ y finalmente a campo bajo a 9.23 ppm un singlete que integra para dos, que corresponde al H-5 pz (Tabla 3-17).

Tabla 3-17. Comparación de los desplazamientos químicos (δ) de los espectros RMN ^1H del ligante libre y el complejo en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz

Señal	δ (ppm) Ligante MePhPzTSC	δ (ppm) Complejo [Pd(MePhPzTSC) $_2$]	Asignación
-(CH $_3$)	2.38	2.35	Grupo metilo
CH=N	8.07	8.14	Azometino
H-5	8.85	9.23	C-H, pz
H $_o$	7.78	7.85	Aromático
H $_m$	7.46-7.50	7.52	
H $_p$	7.29	7.34 -7.44	
NH-C=S	11.33	-----	NH
N-H $_2$	8.17, 7.46-7.50	7.34-7.44	Grupo amino

En espectro de RMN ^{13}C [Pd(MePhPzTSC) $_2$], se observa un desplazamiento a campo alto de la señal correspondiente al tiocarbonilo a 172.16 ppm, al compararla con la señal en el ligante libre, ocurre un cambio significativo en su desplazamiento con $\Delta\delta=5.14$ ppm lo que sugiere el paso de tiona a tiol, este cambio en el desplazamiento confirma la coordinación del Pd(II) al átomo de azufre en forma tiol.^{35,42,43} El desplazamiento químico a campo bajo de la señal correspondiente al carbono del grupo azometino a 144.2 ppm en el complejo de Pd(II) y al compararlo con el desplazamiento químico del ligante libre la diferencia en el desplazamiento es de $\Delta\delta=8.4$ ppm, un cambio muy significativo, que indica una menor densidad electrónica sobre el nitrógeno de este grupo, sugiriendo así la coordinación del metal al par de electrones del nitrógeno en este grupo.^{21,35}

En el espectro RMN ^{13}C (Anexo C-13) del complejo [Pd(MePhPzTSC) $_2$], se observa las siguientes señales (Tabla 3-18) a 11.9 ppm el carbono del grupo metilo, a 114.2 ppm el C $_q$ del C-4 del anillo pirazólico, a 119.1 ppm el C $_o$, a 130.0 ppm el C $_m$, a 132.7 ppm el C-5

del pirazol, a 139.1 ppm el C_q correspondiente al C_i del anillo aromático, a 144.2 ppm el carbono del azometino (CH=N), a 152.2 ppm el C-3 del pirazol y finalmente a 172.1 ppm el C_q del C-S.

Con el espectro del experimento HSQC (Anexo C-14) del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂], se identificaron los C_o, C_m, C_p del anillo bencénico y el carbono del grupo metilo por las correlaciones directas a ¹J con los H_o, H_m, H_p y la señal del grupo metilo.

Los resultados del IR, RMN ¹H y ¹³C, sugieren la formación del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂] de tipo PdL₂, como lo reporta Otero y colaboradores.^{21,41}

Con el espectro HMBC (Anexo C-15) del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂], fue posible asignar el C-3 pz por el acoplamiento a ³J con el H-5 pz, a ³J con la señal del azometino y a ²J con el metilo, el C-4 pz que acopla a ²J con el grupo metilo y ²J con la del azometino.

Tabla 3-18. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) de RMN ¹³C del ligante libre y el complejo Pd(II), 100 MHz, [DMSO-d₆]

Señal	δ (ppm) Ligante MePhPzTSC	δ (ppm) Complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]	Asignación
-CH ₃	13.2	11.9	Grupo metilo
3	148.7	152.2	C-3 pz
4	117.3	114.2	C-4 pz
5	128.3	132.7	C-5pz
CH=N	135.8	144.2	Azometino
C=S	177.3	172.16	Tiocarbonilo
C _i	139.0	139.1	Aromáticos
C _o	117.9	119.1	
C _m	129.5	130.0	
C _p	126.2	127.4	

3.1.3.2 Actividad Biológica para el complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]

La actividad biológica del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂] se realizó utilizando el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para evaluar su actividad antimicrobiana.

3.1.3.2.1 Actividad *in vitro* antimicrobiana

La actividad *in vitro* antimicrobiana se evaluó por duplicado usando el método de difusión en disco,³⁸ en un rango de concentraciones entre 500 ppm–50 ppm utilizando como solvente DMSO, utilizando el orden de la Figura 2-22, para el ligante libre MePhPzTSC, el complejo de paladio, precursor y el complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona en 5 bacterias (Tabla 3-19), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gram positiva), *Escherichia coli* ATCC 25922 (gram negativa), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (gram negativa), *Bacillus thuringensis sp* (gram positiva), *Pseudomona aeruginosa sp* (gram negativa) y dos levaduras, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccaromyces cerevisiae* ATCC AH22, utilizando como control positivo para las bacterias cefalotina 40 mg/mL, excepto para la *Pseudomona aeruginosa* que se empleó ciprofloxacina 0.3% y para las levaduras clotrimazol 1%.

El ligante libre, el complejo precursor de Pd(II) y complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona no presentaron actividad antifúngica en el rango de concentraciones utilizadas y el metal precursor no presentó actividad antimicrobiana en el rango utilizado.

Para el caso de las actividad antibacteriana, el ligante pirazoil-tiosemicarbazona sólo presentó inhibición del crecimiento para el *Bacillus thuringensis sp* con una concentración mínima inhibitoria de 250 ppm y con un halo de inhibición de 0.6 cm (Anexo D-1), lo que sugiere que puede presentar selectividad para *bacillus* gram positivos.

El complejo [Pd(MePhPzTSC)₂], presentó actividad tanto para *cocos* y *bacillus*. Para el caso del *S. aureus* presentó una concentración mínima inhibitoria 200 ppm (Anexo D-2), con un halo de inhibición de 1.4 cm, lo que indica que el ión metálico es el responsable de esta actividad antibacteriana porque el ligante libre no presentó actividad en el rango de concentraciones evaluadas, este comportamiento se puede explicar a través del concepto de Overtone de permeabilidad celular^{44,45} y la Teoría de quelación

Tweedy,^{46,15,47,48} de acuerdo con el concepto de Overtone, la membrana lipídica que rodea la célula favorece el paso de sólo materiales solubles en lípidos, la liposolubilidad es un factor importante que controla la actividad antimicrobiana. En la Teoría de Tweedy, la polaridad del ión de Pd(II) se reduce por el solapamiento de los orbitales del ligante y el intercambio parcial de carga positiva del ion metálico a los átomos donores del ligante, lo que aumenta la deslocalización de electrones π sobre el anillo quelato y mejora la lipofilicidad de los complejos. Este aumento de la lipofilicidad incrementa la penetración del complejo en la membrana de lípidos y el bloqueo de los sitios de unión de metales en las enzimas de los microorganismos, posiblemente perturbando el proceso de respiración de la célula y por lo tanto bloquean la síntesis de las proteínas que limitan el crecimiento del organismo.⁴⁵

Para el *B. thuringensis*, el complejo [Pd(MePhPzTSC)₂] presentó una concentración mínima inhibitoria 300 ppm (Anexo D-3), con un halo de inhibición de 0.8 cm, el complejo metálico disminuyó la actividad antibacteriana al compararlo con el ligante libre, pero se sugiere que existe sinergia ligante-metal, ya que el complejo presentó actividad.

Tabla 3-19. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el ligante libre y el complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ppm		
Microorganismos Compuestos	MePhPzTSC	[Pd(MePhPzTSC) ₂]
<i>E.Coli</i>	> 500	> 500
<i>K. pneumonie</i>	> 500	> 500
<i>S. aeruginosa sp</i>	> 500	> 500
<i>S. aureus</i>	> 500	200
<i>B. thuringensis sp</i>	250	300
<i>C. albicans</i>	> 500	> 500
<i>S. cerevisiae</i>	> 500	> 500

La variación en la efectividad del complejo de Pd(II) contra los diferentes organismos depende de la impermeabilidad de las células de los microorganismos o las diferencias en los ribosomas de las células microbianas.⁴⁹ Aunque el mecanismo exacto no se conoce desde el punto de vista bioquímico, el modo de acción de los antimicrobianos puede implicar diversos blancos o targets en los microorganismos como los siguientes:

50, 51

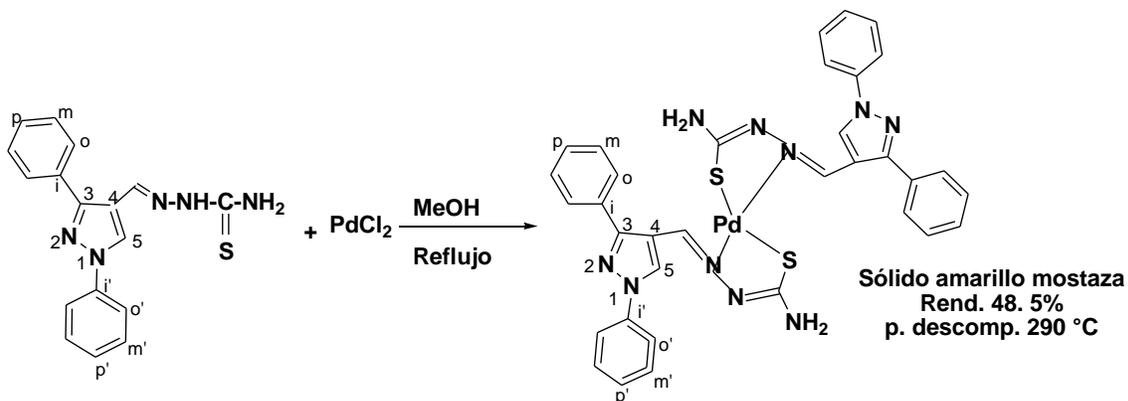
- ❖ Interferencia con la síntesis de la pared celular, daño como resultado de la alteración en la permeabilidad celular o desorganización en la lipoproteína que lleva a la muerte celular.
- ❖ Desactivar diversas enzimas celulares, las cuales juegan un papel vital en diferentes vías metabólicas de los microorganismos.

- ❖ La desnaturalización de una o más proteínas de la célula, como resultado del deterioro de los procesos celulares normales.

- ❖ La formación de un enlace de hidrógeno a través del grupo azometino con el centro activo de componentes celulares, lo que resulta en una interferencia con el proceso normal de la célula. Este efecto del grupo azometino ($-\text{C}=\text{N}$) implica la formación de un enlace de hidrógeno a través de este grupo con los centros activos de los constituyentes celulares dando como resultado la interferencia con procesos normales de las células.^{52,53}

3.1.4 Síntesis del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$

El compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ es un sólido amarillo mostaza, con un punto de descomposición a 290°C , fue sintetizado a partir de la reacción entre 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona y el PdCl_2 (Esquema 3-8). Su solubilidad se presenta en la Tabla 3-20, este compuesto es soluble en DMSO.



Esquema 3-8. Síntesis del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$

Tabla 3-20. Solubilidad del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$

Solventes / Temperatura	Frio (baño de hielo)	Temperatura ambiente (25°C)	Caliente ($40\text{-}60^\circ\text{C}$)
THF	-	-	-
Etanol	-	-	+/-
Acetato de Etilo	-	-	-
Cloroformo	-	-	-
Acetona	-	-	-
Diclorometano	-	-	-
DMF	-	-	-
DMSO	+	+	+

-Insolubilidad, + solubilidad

3.1.4.1 Caracterizaciones Espectroscópicas

La caracterización del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Ultravioleta-Visible (UV-vis), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C) y bidimensional.

La espectroscopía UV-vis fue utilizada para identificar las transiciones electrónicas principales presentes en la molécula Anexo A-4 y la Tabla 3-21. Al comparar las bandas del espectro UV-vis del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ se observa un cambio en la energía de estas bandas y aparecen de dos nuevas bandas en el espectro debido a conjugación del ligante y la formación del complejo de Pd(II).

Tabla 3-21. Bandas de absorción en la región UV-vis para $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$, concentración 4.73×10^{-5} M

Bandas de absorción	λ (nm)	Número de onda (cm^{-1})	Absorbancia	Coefficiente de extinción molar ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Transiciones electrónicas
A	343	29154.5	1.471	31099.3	$n-\pi^*$
B	361	27700.8	1.878	39704.0	(L \rightarrow MTC)
C	367	27247.9	1.666	35221.9	(L \rightarrow MTC)

En el espectro UV-vis para $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$, se observó la banda **A** correspondiente posiblemente a las transiciones electrónicas $n-\pi^*$ en el grupo tiosemicarbazona. Estas bandas han sido reportadas en este rango.^{18,23}

Las bandas **B** y **C**, se pueden atribuir a las transiciones de transferencia de carga ligante-metal (L \rightarrow MTC), por la transferencia de carga nitrógeno imínico (tiosemicarbazona) \rightarrow Pd(II).^{24,39}

Cuando se comparó el espectro de IR del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ (Anexo B-4, Tabla 3-22), con el espectro del ligante, no se observa la banda atribuida al estiramiento del $\nu(\text{N-H})$ de la hidrazina a 3150 cm^{-1} , lo que sugiere una posible desprotonación de este grupo. También se observó la presencia de una nueva banda débil a 1051 cm^{-1} atribuida al estiramiento

$\nu(\text{N-N})$ confirmando la desprotonación del grupo $\nu(\text{N-H})$ de la hidrazina. El espectro IR para el complejo de Pd(II) presenta una banda muy débil a 550 cm^{-1} correspondiente $\nu(\text{Pd-N})$.^{23,24,41} Además no se observan la presencia de bandas en la región de $305\text{-}335\text{ cm}^{-1}$ atribuida al $\nu(\text{Pd-Cl})$ ⁴¹ lo que puede sugerir que en la esfera de coordinación no se encuentra este ligante. También presenta un cambio en el desplazamiento de las bandas del C=N azometino y C-S de tiocarbonilo, sugiriendo la coordinación al metal por los átomos de nitrógeno y azufre.

Tabla 3-22. Comparación las bandas representativas del espectro infrarrojo del ligante libre y el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$

Asignación	$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{) Ligante (Ph}_2\text{PzTSC)}$	$\nu\text{ (cm}^{-1}\text{) Complejo [Pd(Ph}_2\text{PzTSC)}_2\text{]}$
Estiramiento N-H asimétrica NH_2	3424	3423
Estiramiento N-H simétrica NH_2	3348	3250
Estiramiento N-H Hidrazina	3150	-----
Estiramiento C=N azometino	1597	1615
Estiramiento N-N	-----	1051
Estiramiento C=N pz	1545	1594
Estiramiento NH-C=S	1207	-----
Estiramiento C=S	1056	756
Pd-S	-----	-----
Pd-N	-----	550

Cuando fueron comparados los desplazamientos químicos de los espectros de RMN ^1H del ligante libre y el complejo metálico (Tabla 3-23), tomados en $[\text{DMSO-d}_6]$, no fue observada la señal del protón correspondiente al NH-C=S, lo que indica la tienolización

del ligante, descartando una estructura en donde el ligante se encuentre con tautomería tiona; el desplazamiento a campo alto de los protones del grupo amino que se solapan con el multiplete en la región 7.48-7.58 ppm y el triplete a 7.41 ppm, sugiere un cambio en la densidad electrónica de esta parte de la molécula (-CSNH₂) debido al cambio de tiona a tiol del grupo tiocarbonilo, el desplazamiento a campo bajo del protón correspondiente al grupo azometino presenta un $\Delta\delta=0.1$ ppm al compararlo con el ligante libre, este resultado sugiere una menor densidad electrónica en sobre grupo azometino, indicando la coordinación del metal por los átomos de nitrógeno de este grupo.

El espectro RMN ¹H para el compuesto [Pd(Ph₂PzTSC)₂] (Anexo C-16), presenta las siguientes señales, a 7.41 ppm un triplete que integra para cuatro protones correspondiente a H_{p'} y H-NH₂, a 7.48-7.58 ppm un multiplete que integra para doce protones H_{m'}, H_m, H_p, H-NH₂, a 7.65 ppm un doblete con J = 7.7 Hz, que integra para cuatro protones H_o, a 7.97 ppm un doblete con J= 7.7 Hz, que integra para cuatro protones H_o, a 8.36 ppm un singlete que integra para dos protones correspondiente al del grupo CH=N y finalmente un singlete a 9.46 ppm que integra para dos protones que corresponde al H-5 del pirazol.

Tabla 3-23. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ¹H del ligante libre y el complejo de Pd(II) en [DMSO-d₆], 400 MHz

Señal	δ (ppm) Ligante Ph ₂ PzTSC	δ (ppm) Complejo [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]	Asignación
H-5	9.18	9.46	C-H pz
CH=N	8.24	8.36	Azometino
NH-C=S	11.33	-----	NH
N-H ₂	7.91, 8.22	7.41, 7.48-7.58	Grupo amino

H _p	7.45-7.60	7.48-7.58	Aromáticos
H _{m'}			
H _m			
H _o	7.69	7.65	Aromáticos
H _{o'}	7.91	7.97	
H _{p'}	7.39	7.41	

Al realizar la comparación de los desplazamientos químicos de los espectros RMN ¹³C (Tabla 3-24) tomado en [DMSO-d₆] del ligante libre y el complejo de Pd(II) (Anexo C-17) fue observado un cambio significativo en el desplazamiento de la señal del tiocarbonilo a 172.6 ppm (pasa a campo alto) lo que sugiere el paso del tiona a tiol, los desplazamientos químicos entre el ligante libre y el complejo para esta señal presenta un $\Delta\delta=5.8$ ppm, esta evidencia espectroscópica indica la coordinación del Pd(II) al átomo de azufre del grupo tiocarbonilo en su forma tiol.^{36,42, 43} También se observó un cambio en el desplazamiento químico (a campo bajo) de la señal correspondiente al carbono del grupo azometino a 144.2 ppm, con un $\Delta\delta= 8.8$ ppm al comparar la señal del ligante libre con la del complejo sintetizado, esta evidencia espectroscópica indica menor densidad electrónica sobre grupo, sugiriendo la coordinación del metal al par de electrones del nitrógeno del grupo azometino que presenta la estructura.^{24,36}

En el espectro RMN ¹³C del complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂] (Anexo C-17 y Tabla 3-24), fueron observadas las siguientes señales a 112.8 ppm un C_q correspondiente al C-4 pz, a 119.1ppm el C_{o'}, a 127.3 ppm el C_{p'}, a 128.6 ppm el C_m, a 128.8 ppm C_p, C_o (CHx2), a 129.5 ppm el C_{m'}, a 131.1ppm el C_q del C_i, a 133.0 ppm a C-5 pz, a 138.7 ppm el C_q del C_{i'}, a 144.2 ppm el carbono del CH=N, a 154.1 ppm el C_q del C-3 pz y además, a campo bajo presenta una señal a 172.2 ppm que corresponde al carbono C-S. Con el experimento DEPT 135 (Anexo C-18) se asignaron los carbonos cuaternarios (C_q) C-3 pirazol, C-4 del pirazol, C_i, C_{i'}, C=S, y los C_o y C_p.

Tabla 3-24. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C del ligante libre y el complejo en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz

Señal	δ (ppm) ligante Ph_2PzTSC	δ (ppm) complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	Asignación
3	151.8	154.1	C-3 pz
4	117.7	112.8	C-4 pz
5	128.1	133.0	C-5pz
CH=N	135.4	144.2	Azometino
C=S	178.0	172.2	Tiocarbonilo
$\text{C}_{i'}$	139.5	138.7	Aromáticos
$\text{C}_{o'}$	118.9	119.1	
$\text{C}_{m'}$	130.1	129.5	
$\text{C}_{p'}$	127.2	127.3	
C_i	132.5	131.1	Aromáticos
C_o	128.6	128.86	
C_m	129.2	128.67	
C_p	129.0	128.89	

Los resultados del IR, RMN ^1H y ^{13}C , sugieren la formación del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ de tipo ML_2 , como lo reporta Otero y colaboradores²¹ y Leovac y colaboradores con el complejo $[\text{Ni}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$.³⁶

Con el experimento HSQC (Anexo C-19) se asignaron los carbonos C_o , C_m , C_p , C_o' , C_m' , C_p' , de los dos anillo bencénicos, H-5 pz y protón del CH=N por la correlación directa 1H - ^{13}C a 1J de los H_o , H_m , H_p , H_o' , H_m' , H_p' , C-5 el carbono del azometino.

El espectro HMBC (Anexo C-20) permitió asignar el C-3 pz con el acoplamiento a 3J con el H-5 pz, a 3J con la señal del azometino y a 3J con el H_o , el C-4 pz acopla a 2J con el H-5 pz y la señal del protón azometino.

Con el espectro del experimento COSY 1H - 1H (Anexo C-21) se asignó los H_m' , H_m , H_p por el acoplamiento escalar con las señales de los protones correspondientes a H_o , H_p' y H_o' .

3.1.4.2 Actividad Biológica para el complejo $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$

La actividad biológica del complejo $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$ se realizó utilizando el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para evaluar su actividad antimicrobiana.

3.1.4.2.1 Actividad *in vitro* antimicrobiana

La actividad *in vitro* antimicrobiana se evaluó por duplicado usando el método de difusión en disco,³⁸ en un rango de concentraciones entre 500 ppm–50 ppm utilizando como solvente DMSO, (Figura 2-22) para el ligante libre Ph_2PzTSC , el complejo de paladio precursor y el complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona (Tabla 3-25), en 5 bacterias, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gram positiva), *Escherichia coli* ATCC 25922 (gram negativa), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (gram negativa), *Bacillus thuringiensis sp* (gram positiva), *Pseudomona aeruginosa sp* (gram negativa) y dos levaduras, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccaromyces cerevisiae* ATCC AH22, utilizando como control positivo para las bacterias cefalotina 40 mg/mL, excepto para la *Pseudomona aeruginosa* que se empleó ciprofloxacina 0.3% y para las levaduras clotrimazol 1%.

El ligante Ph_2PzTSC y el complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona, no presentaron actividad antifúngica en el rango de concentraciones utilizadas, el metal precursor no presentó actividad ni antifúngica, ni antibacteriana en el rango evaluado.

Para el caso de la actividad antibacteriana, el ligante pirazoil-tiosemicarbazona solo presentó inhibición del crecimiento para el *Staphylococcus aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 450 ppm y con un halo de inhibición de 1.0 cm (Anexo D-4), lo que sugiere que puede presentar selectividad para cocos gram positivos.

El complejo $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$, presentó actividad para la bacteria gram positiva, *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria 200 ppm, con un halo de inhibición de 1.4 cm (Anexo D-5), lo que indica que el ión metálico mejora la actividad antibacteriana porque el ligante libre presentó actividad a 450 ppm, este comportamiento se puede explicar a través de una posible sinergia ligante-metal, el concepto de Overtone de permeabilidad celular^{44,45} y la Teoría de quelación Tweedy,^{46,18,47,48} de acuerdo con el concepto de Overtone la membrana lipídica que rodea la célula favorece el paso de sólo materiales solubles en lípidos, debido a que liposolubilidad es un factor importante que controla la actividad antimicrobiana. En la Teoría de Tweedy, la polaridad del ión de Pd(II) se reduce por el solapamiento de los orbitales del ligante y el intercambio parcial de carga positiva del ion metálico a los átomos donores del ligante, lo que aumenta la deslocalización de electrones π sobre el anillo quelato y mejora la lipofilicidad de los complejos. Este aumento de la lipofilicidad incrementa la penetración del complejo en la membrana de lípidos y el bloqueo de los sitios de unión de metales en las enzimas de los microorganismos, posiblemente perturbando el proceso de respiración de la célula y por lo tanto bloquean la síntesis de las proteínas que reducen el crecimiento del organismo.⁴⁵

Tabla 3-25. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el ligante libre y el complejo $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ppm		
Microorganismos	Compuestos	
	Ph₂PzTSC	[Pd(Ph₂PzTSC)₂]
<i>E. Coli</i>	> 500	> 500
<i>K. pneumonie</i>	> 500	> 500

<i>S. aeruginosa sp</i>	> 500	> 500
<i>S. aureus</i>	450	200
<i>B. thuringensis sp</i>	> 500	> 500
<i>C. albicans</i>	> 500	> 500
<i>S. cerevisiae</i>	> 500	> 500

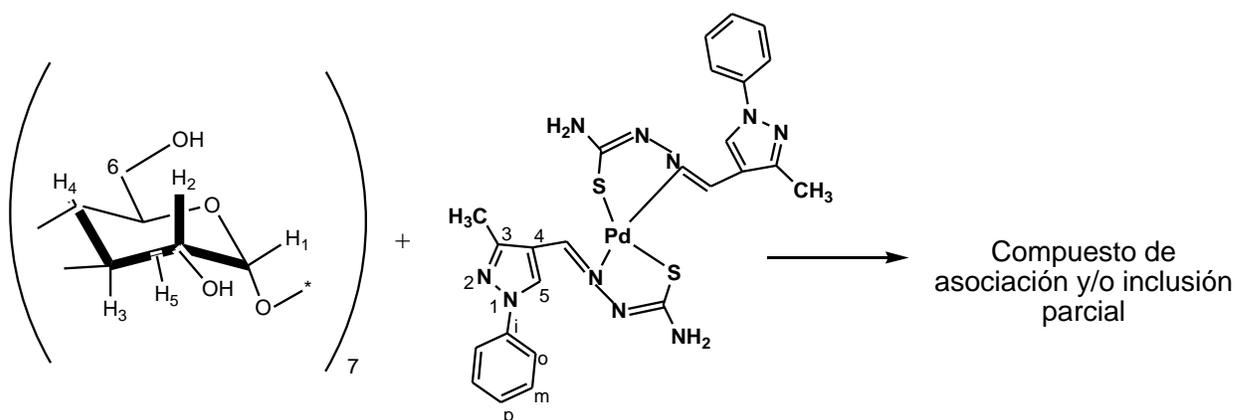
La variación en la efectividad del complejo de Pd(II) contra los diferentes organismos depende ya sea de la impermeabilidad de las células de los microorganismos o las diferencias en los ribosomas de las células microbianas.⁴⁹ Aunque el mecanismo exacto no se conoce desde el punto de vista bioquímico, el modo de acción de los antimicrobianos puede implicar diversos blancos o targets en los microorganismos como los siguientes:^{50,51}

- ❖ Interferencia con la síntesis de la pared celular, daño como resultado de la alteración en la permeabilidad celular o desorganización en la lipoproteína que lleva a la muerte celular.
- ❖ Desactivar diversas enzimas celulares, las cuales juegan un papel vital en diferentes vías metabólicas de los microorganismos.
- ❖ La desnaturalización de una o más proteínas de la célula, como resultado del deterioro de los procesos celulares normales.
- ❖ La formación de un enlace de hidrógeno a través del grupo azometino con el centro activo de componentes celulares, lo que resulta en una interferencia en el proceso normal de la célula. Este efecto del grupo azometino (-C=N) implica la

formación de un enlace de hidrógeno a través de este grupo con los centros activos de los constituyentes celulares dando como resultado la interferencia con procesos normales de las células.^{52,53}

3.1.5 Preparación del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

El compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, es un sólido naranja, con un punto de descomposición a 280 °C fue preparado a partir del $[\text{Pd}(\text{MePzTSC})_2]$ y la β -ciclodextrina, mediante una relación molar 1:1, entre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ y la β -ciclodextrina (Esquema 3-9).



Esquema 3-9. Preparación del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

3.1.5.1 Caracterización espectroscópica del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

La caracterización del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C), bidimensional, DOSY (Diffusion-ordered spectroscopy).

En el Anexo B-5 se presenta la comparación de los espectros IR del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, la mezcla mecánica, en Tabla 3-26 se comparan los espectros IR de los compuestos anteriormente nombrados con la β -ciclodextrina (Anexo B-6) y el complejo de coordinación libre (Anexo B-3), lo que permitió hacer el siguiente análisis:

El espectro IR de la β -ciclodextrina presenta, una banda ancha en 3384 cm^{-1} , atribuida a los estiramientos $\nu(\text{O-H})$, además las bandas a 2923 y 1653 cm^{-1} atribuidas a los estiramientos $\nu(\text{CH}_2)$ y a un modo de deformación del agua, respectivamente. Las bandas a 1417 y 1368 cm^{-1} atribuidas a la deformación $\nu(\text{C-H})$. La banda a 1157 cm^{-1} es atribuida a los estiramientos $\nu(\text{C-O-C})$, a 1080 cm^{-1} los estiramientos $\nu(\text{C-OH}) / \nu(\text{C-C})$ y a 757 cm^{-1} la vibración del anillo piranosa.⁵⁴

Al comparar los espectros IR del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ con el complejo libre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ se observan las bandas características de la β -ciclodextrina y pequeñas variaciones en las bandas del complejo libre lo que indica interacciones débiles como fuerzas intermoleculares débiles, entre la β -ciclodextrina y el complejo.⁵⁵ También se observa que las bandas correspondientes al estiramiento C=N azometino y estiramiento C=N pz disminuyen su intensidad, sugiriendo así una interacción hospedero-huésped.

El espectro IR de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ no presenta la banda correspondiente a la β -CD en 1653 cm^{-1} atribuida a la deformación (O-H) . Por otro lado, las bandas correspondientes a la deformación $\delta(\text{C-H})$ de la β -CD en el compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ se observan una disminución en sus frecuencias y una menor intensidad lo que puede sugerir interacciones débiles posiblemente de tipo van der Waals entre la ciclodextrina y el complejo metálico. El espectro IR del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ presento afinamiento en las bandas correspondientes al estiramiento $\nu(\text{O-H})$ y $\nu(\text{C-O-C})$, que no presentó la mezcla mecánica, el afinamiento de la banda $\nu(\text{O-H})$ sugiere que se presenta asociaciones tipo hospedero- huésped.⁵⁶

Al comparar el espectro IR del compuesto de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ con el de la mezcla mecánica, se observa que es muy similar a la complejo libre y la β -ciclodextrina, aunque existen ciertas diferencias entre los desplazamientos de estiramiento $\nu(\text{C-O-C})$ y deformación C-H lo que sugiere interacciones débiles entre la β -CD y el compuesto de Pd(II) sintetizado.

Estos resultados espectroscópicos sugieren la existencia de interacciones débiles de tipo de van der Waals o enlaces de hidrógeno entre el complejo de Pd(II)-tiosemicabazona y

la β -ciclodextrina.³² Los cambios no muy significativos en algunas bandas, sugieren la formación de un compuesto de asociación entre β -CD y el complejo de Pd(II).

Tabla 3-26. Datos comparativos de las principales bandas de los espectros de infrarrojo de la β -ciclodextrina, el complejo libre de Pd(II) y el complejo de asociación y/o inclusión parcial

Asignación	ν (cm^{-1}) β - CD	ν (cm^{-1}) [Pd(MePhPzTSC) ₂]	ν (cm^{-1}) [Pd(MePhPzTSC) ₂] • β -CD	ν (cm^{-1}) [Pd(MePhPzTSC) ₂] y β -CD (mezcla mecánica)
Estiramiento OH	3384	-----	3385	Solapada con ν (NH)
Estiramiento C-H Metileno	2923	-----	2924	2923
Estiramiento C-O-C	1157- ~ 1030	-----	1156 -1029	1155 -1037
Estiramiento C-OH / C-C	1080	-----	1079	1080
Deformación δ (O-H)	1653	-----	-----	-----
Deformación C-H	1417-1332	-----	1422 -1328	1422-1325
Estiramiento N-H asimétrica NH ₂	-----	3446	-----	3400
Estiramiento N-H simétrica NH ₂	-----	3308	-----	3307
Estiramiento C=N azometino	-----	1619	1619	1618
Estiramiento C=N pz	-----	1536	1535	1534

Cuando se comparan los desplazamientos químicos (Tabla 3-27) de los espectros RMN ^1H tomados en $[\text{DMSO-d}_6]$ del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ (Anexo C-22), complejo de Pd(II) libre (Anexo C-12) y la β -ciclodextrina (Anexo C-23), se observan pequeñas variaciones en los desplazamientos químicos de las señales de la $\beta\text{-CD}$ y complejo libre en $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$.

Los protones del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ sufren ligeros cambios de desplazamiento a campo bajo del espectro al ser comparados con el complejo libre, lo que indica variaciones en la densidad electrónica por interacciones débiles no covalentes del complejo metálico con la $\beta\text{-CD}$.⁵⁷

Las variaciones más representativas en los desplazamientos químicos de la $\beta\text{-CD}$ en el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ son los protones H-3 ($\Delta\delta = -0.09$ ppm) que se encuentran localizados en la cavidad de la β -ciclodextrina, H-6-OH ($\Delta\delta = -0.03$ ppm), H-3-OH ($\Delta\delta = -0.03$ ppm), H-4 ($\Delta\delta = 0.05$ ppm) que ese localiza en la parte externa, lo cual puede indicar que se ha formado un compuesto parcialmente incluido y/o asociado.⁵⁶

El espectro del experimento ROESY (Anexo C-24) para el compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ no muestra acoplamiento espacial entre los H-3 y H-5 con protones del complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona, posiblemente porque la interacción es muy débil o no existe,⁵⁷ lo que puede indicar que el compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ presenta un topología de asociación y/o parcialmente incluido.³²

Tabla 3-27. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^1H de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo asociado en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz

Señal	δ (ppm) β -CD	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ $\cdot \beta$ -CD	$\Delta\delta(\text{ppm})$	Asignación
H-1 (β CD)	4.83	-----	4.83	0	C-H (β -CD)
H-2 (β CD)	3.30	-----	~3.30	0	C-H (β -CD)
H-3 (β -CD)	3.66	-----	3.57	-0.09	C-H (β -CD)
H-4 (β -CD)	3.37	-----	3.32	-0.05	C-H (β -CD)
H-5 (β -CD)	3.55	-----	3.55	0	C-H (β -CD)
H-6 a,b (β -CD)	3.66	-----	3.63	-0.03	C-H ₂ (β -CD)
β -CD-2-OH	5.70		5.73	-0.03	
β -CD-3-OH	5.66		5.69	-0.03	
β -CD-6-OH	4.44		4.47	-0.03	
-(CH ₃)		2.35	2.36	-0.01	Grupo metilo
CH=N		8.14	8.15	-0.01	Azometino
H-5		9.23	9.24	-0.01	C-H, pz
H _o		7.85	7.87	0.02	Aromáticos
H _m		7.52	7.53	-0.01	
H _p		7.34-7.44	7.34-7.38	0,-0.06	
N-H ₂		7.34-7.44	7.34-7.38	0, -0.06	Grupo amino

En el espectro RMN ^1H del compuesto asociado y/o incluido $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ (Anexo C-22), se observan las siguientes señales, que se resumen en la Tabla 3-27. Las señales correspondientes a los protones de la β -ciclodextrina a 4.83 ppm un singlete ancho que corresponde al H-1 anomérico, a \sim 3.30 ppm el H-2, a 3.57 ppm el H-3, a 3.32 ppm el H-4, a 3.55 ppm el H-5, a 3.636 ppm el H-6 a,b. A 2.36 ppm un singlete correspondientes al grupo metilo, a 7.34 -7.38 ppm un triplete deformado que corresponde a los protones del grupo amino y al protón H_p del anillo aromático, a 7.53 ppm un triplete que corresponde a los H_m , a 7.87 ppm un doblete correspondientes a los protones H_o , a 8.15 ppm un singlete que corresponde al protón del $\text{CH}=\text{N}$ y a campo bajo a 9.24 ppm un singlete que corresponde al H-5 pz.

Cuando fueron comparados los desplazamientos químicos (Tabla 3-28) en los espectros RMN ^{13}C tomados en $[\text{DMSO-d}_6]$ para el $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ (Anexo C-25), el complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona libre y la β -ciclodextrina (Anexo C-26) se observaron cambios en los desplazamientos químicos de las señales de los carbonos del complejo metálico indicando interacciones entre el complejo con la β -CD, asociados con la variación en la densidad electrónica por interacciones débiles no covalentes con la β -CD como de tipo van der Waals.⁵⁷

Las variaciones más representativas en los desplazamientos químicos de la β -CD en el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ en el espectro fueron para los carbono C-3 (β -CD), C-2 (β -CD) y C-6 (β -CD) lo que sugiere que el compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ posiblemente presenta un topología de asociación y/o parcialmente incluido.

Con el experimento HSQC (Anexo C-27) se identificaron los protones H-1, H-2, H-3, H-4, H-5 y H-6 a,b de la β -ciclodextrina por la correlación directa a 1J de los carbonos C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 y C-6.

Tabla 3-28. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C de la β -ciclodextrina, el complejo de Pd(II) libre y el complejo asociación y/o parcialmente incluido en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz

Señal	δ (ppm) (β -CD)	δ (ppm) [Pd(MePhPzTSC) $_2$]	δ (ppm) [Pd(MePhPzTSC) $_2$] • β -CD	$\Delta\delta$ (ppm)	Asignación
C-1 (β -CD)	102.42	-----	102.42	0	C-H
C-2 (β -CD)	72.90	-----	72.89	0.01	C-H
C-3 (β -CD)	73.53	-----	73.53	0	C-H
C-4 (β -CD)	82.03	-----	82.03	0	C-H
C-5 (β -CD)	72.52	-----	72.52	0	C-H
C-6 (β -CD)	60.39	-----	60.41	-0.02	-CH $_2$
-CH $_3$		11.90	12.04	0.14	Grupo metilo
C- 3 pz		152.26	152.16	-0.01	C-3 pz
C-4 pz		114.20	114.35	0.01	C-4 pz
C-5 pz		132.79	132.80	0.015	C-5pz
CH=N		144.29	144.24	-0.05	Azometino
C=S		172.16	172.21	0.05	Tiocarbonilo
C $_i$		139.13	139.23	0.1	Aromáticos
C $_o$		119.15	119.15	0	
C $_m$		130.07	130.04	-0.03	
C $_p$		127.48	127.43	-0.05	

Se realizó el experimento DOSY RMN (Diffusion-ordered spectroscopy) que es una técnica de gran alcance basada en la medición de los coeficientes de difusión, a menudo se describe como "cromatografía en RMN," por la habilidad de separar a los componentes de una mezcla por sus coeficientes de difusión, es decir una separación "virtual de las especies", esta técnica es de gran importancia para los sistemas supramoleculares (hospedero-huésped), química combinatoria entre otras.^{59,60}

En el caso de la interacción huésped-ciclodextrina, los coeficientes de difusión no presentan diferencias tan grandes, pero el método se aplica con éxito para este tipo de compuestos.⁶⁰ En los espectros DOSY, los desplazamientos químicos (ppm) se encuentran en el eje F2 (eje horizontal) y los valores de los coeficientes de difusión D en el eje F1 (m^2/s) (eje vertical).

En este trabajo se realizó el experimento DOSY para el complejo libre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$, la ciclodextrina (β -CD) y $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$.

El experimento DOSY RMN se realizó con 1.1 mg de muestra en 0.7 mL de DMSO- d_6 , para el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ (Anexo C-28), este presentando un coeficiente de difusión a $4.4 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

El experimento DOSY RMN del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ (Anexo C-29), se realizó con 1.8 mg de muestra en 0.7 mL de DMSO- d_6 , se observaron claramente dos coeficientes de difusión, el correspondiente a β -CD a $3.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ y para el complejo de coordinación $4.24 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

El experimento DOSY RMN del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ (Anexo C-30), con β -CD, se realizó utilizando 1.8 mg de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y 2.0 mg de β -CD, este espectro no presentó un comportamiento diferente en los coeficientes de difusión para la ciclodextrina, esto sugiere que las interacciones son muy débiles,⁶⁰ tipo van der Waals.

La población del huésped o guest population (p) que participan en la formación del compuesto de asociación o inclusión parcial, se pudo calcular por medio de los coeficientes de difusión observados de cada componente

en el compuesto de asociación y/o inclusión parcial y en forma libre, a través de las ecuaciones (1) - (5):^{61,62,63}

$$D_{\text{observado}} = p_{\text{libre}} D_{\text{libre}} + p_{\text{complejo inclusión}} D_{\text{complejo inclusión}} \quad (1)$$

Donde:

$$p_{\text{libre}} + p_{\text{complejo inclusión}} = 1 \quad (2)$$

$$p_{\text{libre}} = 1 - p_{\text{complejo inclusión}} \quad (3)$$

$D_{\text{observado}}$ corresponde al coeficiente de difusión del complejo de Pd(II) cuando hay ciclodextrina en el medio; D_{libre} es el coeficiente de difusión del complejo de Pd(II) en ausencia de β -CD; $p_{\text{complejo inclusión}}$ es la población de complejo de Pd(II) que se acompleja con la β -CD y $D_{\text{complejo inclusión}}$ es el coeficiente de difusión del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$.

Sustituyendo la ecuación (3) en (1) y teniendo en cuenta, que el coeficiente de difusión del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, es aproximadamente el mismo que de la β -CD incluida y asumiendo que el coeficiente de difusión de la β -CD es casi el mismo en su forma libre, se puede decir que: $D_{\beta\text{-CD incluida}} \approx D_{\beta\text{-CD libre observada}} \approx D_{\beta\text{-CD libre}} \quad (4)$, sustituyendo (4) en (1):

$p_{\text{complejo inclusión}} = (D_{\text{libre}} - D_{\text{complejo inclusión}}) / (D_{\text{libre}} - D_{\beta\text{-CD observada}}) \quad (5)$. Aplicando estas relaciones matemáticas encontradas en la literatura,⁶¹ se determinó p para conocer el porcentaje de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ que participa en la formación del compuesto con la β -ciclodextrina, sustituyendo (5), con los datos obtenidos de los espectros DOSY:

$$p_{\text{complejo inclusión}} = (4.4 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s} - 4.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}) / (4.4 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s} - 3.12 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}) \times 100$$

$$p_{\text{complejo inclusión}} = 15.62\%$$

Los resultados del experimento DOSY RMN sugieren que la interacción del complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ con la β -CD es muy débil ya que los coeficientes de difusión (D) no presentan mucha variación, estos resultados son coherentes considerando el tamaño de las especies, este resultado sugiere al igual que

los otros datos experimentales que el compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ presenta posiblemente una topología de compuesto de inclusión parcial y/ o asociación.⁶⁰

3.1.5.2 Análisis térmico (TG y DSC) del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

El análisis térmico con las técnicas TG (análisis termogravimétrico) y DSC (calorimetría diferencial de barrido) han sido utilizadas para estudiar los complejos de inclusión,⁶⁴ mediante la comparación del comportamiento térmico del complejo libre, la ciclodextrina y mezcla mecánica siendo estos resultados complementarios a los resultados de IR y RMN.

La curva DSC de la β -ciclodextrina en argón (Anexo E-1) presenta dos eventos térmicos endotérmicos, el primero aproximadamente a 60°C que correspondiente a la pérdida de las moléculas de agua, el segundo a 320 °C que se asocia a la descomposición del anillo glicosídico de la β -CD.

La curva TG de la β -ciclodextrina (Anexo E-1) presenta dos eventos térmicos bien definidos,^{56,65} el primero a temperatura menores a 100 °C, con pérdida de masa aproximadamente de 13% correspondiente a la salida de aproximadamente 8 moléculas de agua, entre 30 °C y 100 °C, con máximo de 50°C, estas moléculas están localizadas en la cavidad como moléculas de aguas de inclusión y como aguas intersticiales, manteniendo la estructura cristalina de esta.^{56,66} El segundo evento entre 290 °C y 350 °C, con un máximo de 320°C, está asociado con una pérdida de masa de 89% aproximadamente, que corresponde a la descomposición del anillo glicosídico de la β - CD.^{65,66}

La curva DSC del complejo libre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ en argón (Anexo E-2), presenta dos eventos endotérmicos el primero aproximadamente a 290 °C, asociado con el punto de fusión, seguido de un punto de descomposición aproximadamente a 305 °C. La curva TG del complejo libre (Anexo E-2) presenta un evento térmico con pérdida de masa de

aproximadamente 66.10% alrededor de 275°C y 500°C asociado con descomposición del compuesto de Pd(II).

La curva DSC para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD (Anexo E-3) presenta cuatro eventos térmicos, el primero a 50°C que está asociado con la salida de moléculas de agua de la β-ciclodextrina, el segundo a 280°C que corresponde posiblemente a la descomposición de la β-ciclodextrina libre a 350°C la descomposición del compuesto libre y el último a 450°C se puede atribuir a la descomposición del compuesto de asociación y/o inclusión parcial, sugiriendo la formación del compuesto de asociación y/o inclusión parcial con interacciones de tipo supramolecular como fuerzas de van der Waals.

La curva TG para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD (Anexo E-3) presenta tres eventos térmicos, el primero entre 40°C y 50°C con una pérdida de masa de 11.33 % que corresponde a la pérdida de aproximadamente 8 moléculas de agua de la β-ciclodextrina, el segundo a 290°C que corresponde a una pérdida de masa del 46.15 % debido a la descomposición de los compuestos libres y finalmente entre 295 y 500°C con una pérdida de masa del 72.85 % correspondiente a la descomposición del compuesto de asociación.

La curva DSC de la mezcla mecánica [Pd(MePhPzTSC)₂] con β-CD (Anexo E-4) presenta tres eventos térmicos, el primero alrededor de 65°C asociado con pérdida de moléculas de agua de la β-ciclodextrina, el segundo a 290°C asociado con el punto de descomposición de la β-ciclodextrina y finalmente a 368°C que corresponde a la descomposición del compuesto de Pd(II).

La curva TG de la mezcla mecánica [Pd(MePhPzTSC)₂] con β-CD (Anexo E-4) presenta dos eventos térmicos, el primero entre 30°C y 100°C, que está asociado con una pérdida de masa de aproximadamente 12 % que corresponde a la pérdida de aproximadamente 8 moléculas de agua, el segundo entre 290°C-500°C que corresponde a una pérdida de masa de aproximadamente 81.81 % posiblemente a la descomposición de la β-CD y del compuesto de Pd(II) libre.

Cuando se comparan las curvas TG (Figura 3-23) y DSC (Figura 3-24) del complejo libre, la β -CD y el compuesto de asociación y/o inclusión parcial y la mezcla mecánica, el comportamiento térmico que presentan es diferente, lo que sugiere interacciones hospedero-huésped, debido a la formación de un compuesto de asociación a través de interacción débiles de tipo supramolecular como fuerzas de van der Waals.

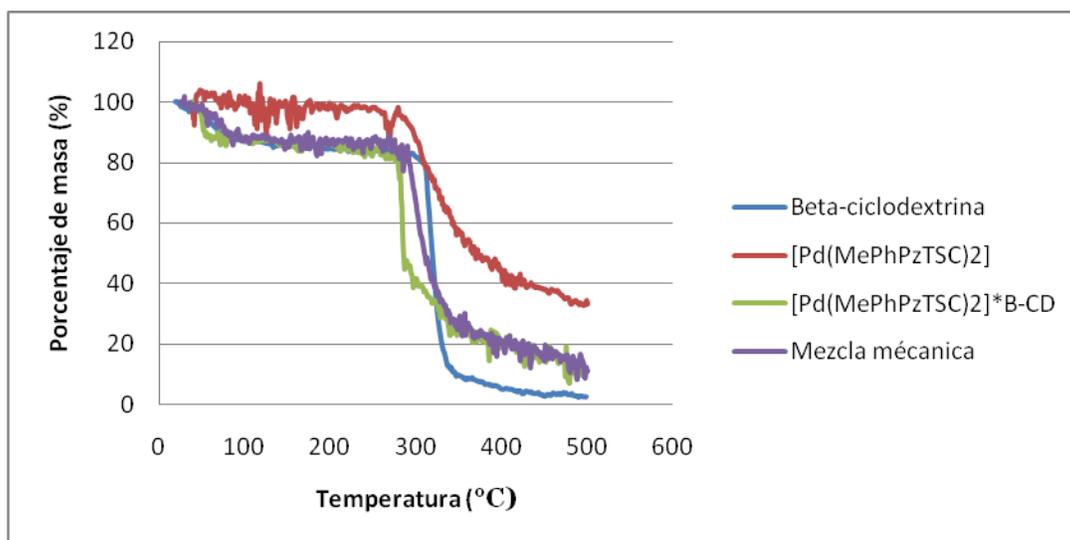


Figura 3-23. Curvas TG del complejo libre, la β -CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y la mezcla mecánica

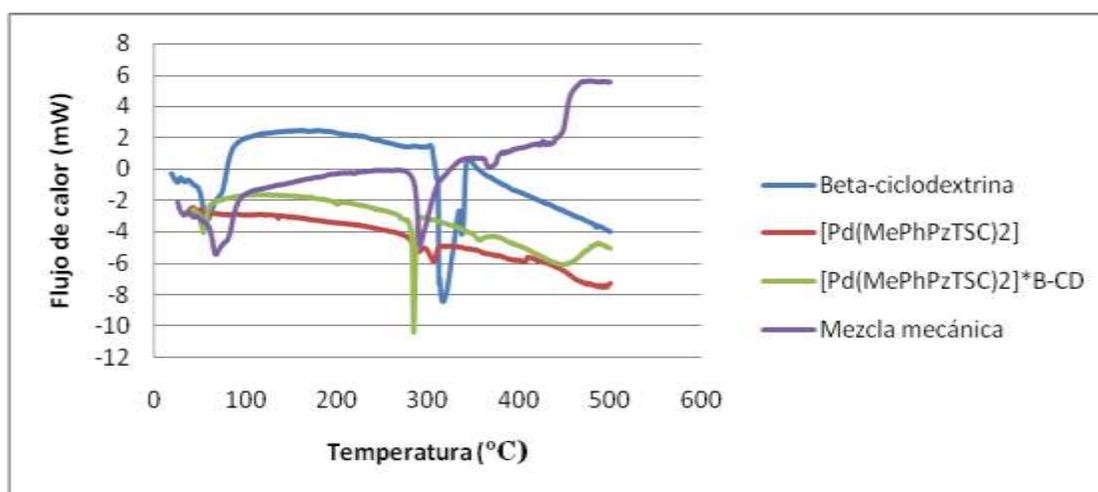


Figura 3-24. Curvas DSC del complejo libre, la β -CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y la mezcla mecánica

Al comparar la curva DSC de la mezcla mecánica y la del compuesto de asociación y/o inclusión parcial (Figura 3-24), el comportamiento térmico es muy similar debido a que las moléculas entran en contacto y ocurre entre ellas interacciones muy débiles de tipo van der Waals. La curva DSC del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, presenta un pico endotérmico a menor temperatura que la ciclodextrina libre lo que confirma la existencia de interacciones entre el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ y la $\beta\text{-CD}$ debido a la reducción de la cristalinidad de la ciclodextrina. De igual las curvas de descomposición TG para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación y la $\beta\text{-CD}$ son diferentes lo que sugiere de igual forma la interacción entre complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ y la $\beta\text{-CD}$.

3.1.5.3 Actividad Biológica para el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

La actividad biológica del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ se realizó utilizando el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para evaluar su actividad antimicrobiana.

3.1.5.3.1 Actividad *in vitro* antimicrobiana para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

La actividad *in vitro* antimicrobiana se evaluó usando el método de difusión en disco,³⁸ por duplicado, en un rango de concentraciones entre 500 ppm – 50 ppm (Figura 2-22), utilizando como solvente DMSO y comparando los resultados con el complejo libre de Pd(II) (Tabla 3-29) en 5 bacterias, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gram positiva), *Escherichia coli* ATCC 25922 (gram negativa), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (gram negativa), *Bacillus thuringensis* sp (gram positiva), *Pseudomonas aeruginosa* sp (gram negativa) y dos levaduras, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC AH22, utilizando como control positivo para las bacterias cefalotina 40 mg/mL, excepto para la *Pseudomonas aeruginosa* que se empleó ciprofloxacina 0.3% y para las levaduras clotrimazol 1%.

Los resultados obtenidos para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ no evidencian actividad antifúngica en el rango de concentraciones utilizadas al igual que el complejo libre de Pd(II).

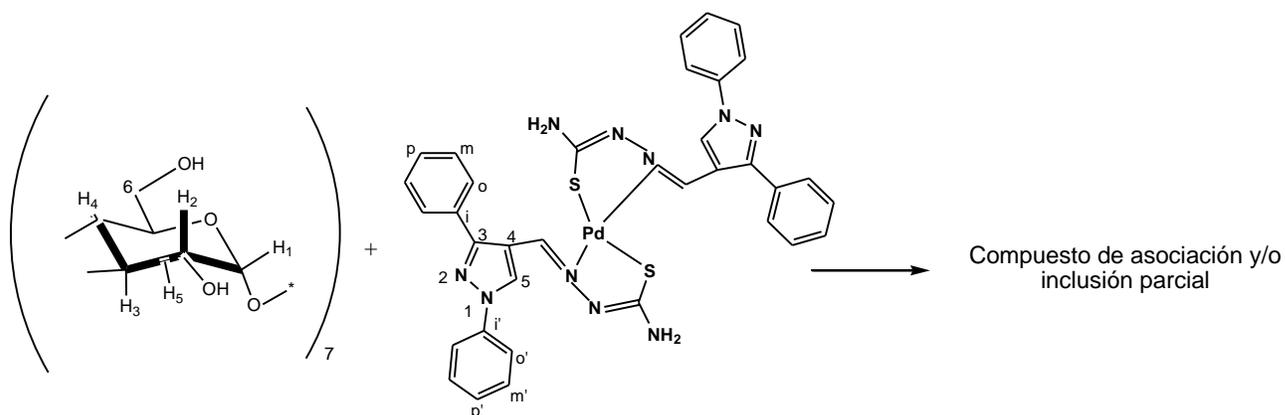
El compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ sólo presentó actividad en las bacterias *S. aureus* y *B. thuringensis sp* en una concentración mínima de 450 ppm (Anexo D-6), con halos de inhibición 0.8 cm y 1.0 cm respectivamente, disminuyendo el rango de concentración de inhibición al compararlo con el complejo libre, debido a la disminución de la solubilidad del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ que lo hace menos biodisponible.

Tabla 3-29. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el complejo con Pd(II) y $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ppm		
Microorganismos	Compuestos	
	$[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	$[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$
<i>E. Coli</i>	> 500	> 500
<i>K. pneumonie</i>	> 500	> 500
<i>S. aeruginosa sp</i>	> 500	> 500
<i>S. aureus</i>	200	450
<i>B. thuringensis sp</i>	300	450
<i>C. albicans</i>	> 500	> 500
<i>S. cerevisiae</i>	> 500	> 500

3.1.6 Preparación del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

El compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, es un sólido amarillo mostaza, con un punto de descomposición a 280 °C fue preparado en una relación molar 1:1 del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ y la β -ciclodextrina, (Esquema 3-10).



Esquema 3-10. Preparación del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

3.1.6.1 Caracterización espectroscópica del compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

La caracterización del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, se realizó por Espectroscopía Infrarroja (IR), Resonancia Magnética Nuclear monodimensional (^1H , ^{13}C) y bidimensional.

Al comparar en la Tabla 3-30 los espectros IR de los compuestos $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$, la mezcla mecánica (Anexo B-7), con el de β -ciclodextrina (Anexo B-6) y el complejo de coordinación libre (Anexo B-4), se observa espectro IR de la β -ciclodextrina presenta, una banda ancha en 3384 cm^{-1} , atribuida a los estiramientos $\nu(\text{O-H})$, además las bandas a 2923 y 1653 cm^{-1} atribuidas a los estiramientos $\nu(\text{CH}_2)$ y a un modo de deformación del agua, respectivamente. Las bandas a 1417 y 1368 cm^{-1} atribuidas a la deformación $\nu(\text{C-}$

H). La banda a 1157 cm^{-1} es atribuida a los estiramientos $\nu(\text{C-O-C})$, a 1080 cm^{-1} los estiramientos $\nu(\text{C-OH}) / \nu(\text{C-C})$ y a 757 cm^{-1} la vibración del anillo piranosa.⁵⁴

Al comparar los espectros IR del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ con el complejo libre $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ se observan las bandas características de la β -ciclodextrina y ligeras variaciones en las bandas del complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona libre, especialmente en las bandas correspondientes al estiramiento C=N azometino y estiramiento C=N pz, estas disminuyen su intensidad y cambian su desplazamiento lo que indica interacciones entre la β -ciclodextrina y el complejo libre de Pd(II) mediante fuerzas intermoleculares débiles, sugiriendo así una interacción hospedero – huésped.⁵⁵

El espectro de $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ no presentó la banda de la $\beta\text{-CD}$ a 1653 cm^{-1} atribuida a la deformación (O-H). Por otro lado, las bandas correspondientes a la deformación $\delta(\text{C-H})$ de la $\beta\text{-CD}$ en el compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ se observan en menor intensidad y disminuye su frecuencia, sugiriendo interacciones débiles posiblemente de tipo van der Waals entre la β -ciclodextrina y el complejo de Pd(II)-tiosemicarbazona. El espectro IR del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ presentó afinamiento en las bandas correspondientes al estiramiento $\nu(\text{O-H})$ y $\nu(\text{C-O-C})$, que no se observó en el espectro IR de la mezcla mecánica, la presencia de este afinamiento de la banda $\nu(\text{O-H})$ en los espectros IR de los compuestos con β -ciclodextrina sugiere que se presenta asociaciones tipo hospedero - huésped.⁵⁶

Al comparar el espectro del compuesto de $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ con el de la mezcla mecánica, se observa que es muy similar a la complejo libre y la β -ciclodextrina, aunque existen ciertas diferencias entre los desplazamientos de estiramiento $\nu(\text{C-O-C})$ y deformación C-H lo que sugiere interacciones débiles entre la $\beta\text{-CD}$ y el compuesto de paladio-tiosemicarbazona.

Estos resultados espectroscópicos sugieren la existencia de interacciones débiles entre el complejo de Pd(II) y la β -ciclodextrina, sin embargo, los cambios no son muy grandes en algunas bandas, indicando la formación de un compuesto supramolecular con una topología de compuesto de asociación o inclusión parcial debido a posibles interacciones como fuerzas de van der Waals o enlaces de hidrógeno.

Tabla 3-30. Datos comparativos de las principales bandas de los espectros de infrarrojo de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado

Asignación	ν (cm^{-1}) β -CD	ν (cm^{-1}) [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]	ν (cm^{-1}) [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] β -CD	ν (cm^{-1}) [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] y β -CD (mezcla mecánica)
Estiramiento OH	3384	-----	3422	3407
Estiramiento C-H Metileno	2922	-----	2922	2924
Estiramiento C-O-C	1158 – ~ 1030	-----	1157 – 1028	1158 -1027
Estiramiento C-OH / C-C	1080	-----	1079	1080
δ (O-H)	1653	-----	-----	-----
Deformación C-H	1417 –1332	-----	1501 –1420	1418 -1326
Estiramiento N-H asimétrica NH ₂	-----	3446	-----	Solapada con ν (OH)
Estiramiento N-H simétrica NH ₂	-----	3308	-----	Solapada con ν (OH)
Estiramiento C=N azometino	-----	1619	1618	1621
Estiramiento C=N pz	-----	1536	~1600	1526

Cuando se comparan los desplazamientos químicos de los espectros RMN ¹H (Tabla 3-31) tomados en [DMSO-d₆] del [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD (Anexo C-31), complejo de Pd(II) (Anexo C-16) y la β -ciclodextrina (Anexo C-23), se observan pequeñas variaciones en los desplazamientos químicos de las señales de la β -CD en el complejo libre y [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD. Los protones del complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD presentan ligeros cambios en los desplazamientos a campo bajo del espectro, al compararlo con el

complejo lo que indica variaciones en la densidad electrónica por interacciones débiles no covalentes entre la β -CD con complejo de Pd(II).⁵⁷

Las variaciones más representativas en los desplazamientos químicos de la β -CD en el compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ son los protones H-3 ($\Delta\delta= 0.01$ ppm) que ese localizado en la cavidad de la β -CD, H-4 ($\Delta\delta= 0.03$ ppm), H-3-OH ($\Delta\delta= -0.06$ ppm) y H-6-OH ($\Delta\delta= -0.01$ ppm), que se ubican en la parte externa, estos resultados indican que se ha formado un compuesto parcialmente incluido y/o asociado.⁵⁶ El espectro del experimento NOESY (Anexo C-32) para el compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ no muestran acoplamiento espacial con los H-3 y H-5 posiblemente porque la interacción es muy débil o no existe,⁵⁸ lo que indica la formación de un compuesto con topología de asociación y/ o parcialmente incluido.

Tabla 3-31. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) RMN ^1H de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado en $[\text{DMSO-d}_6]$, 400 MHz

Señal	δ (ppm) $\beta\text{-CD}$	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$	$\Delta\delta$ (ppm)	Asignación
H-1 ($\beta\text{-CD}$)	4.83	-----	4.83	0	C-H ($\beta\text{-CD}$)
H-2 ($\beta\text{-CD}$)	3.30	-----	3.30	0	C-H ($\beta\text{-CD}$)
H-3 ($\beta\text{-CD}$)	3.66	-----	3.65	0.01	C-H ($\beta\text{-CD}$)
H-4 ($\beta\text{-CD}$)	3.37	-----	3.34	-0.03	C-H ($\beta\text{-CD}$)
H-5 ($\beta\text{-CD}$)	3.55	-----	3.56	-0.01	C-H ($\beta\text{-CD}$)
H-6 a,b ($\beta\text{-CD}$)	3.66	-----	3.63	-0.03	C-H ₂ ($\beta\text{-CD}$)
$\beta\text{-CD-2-OH}$	5.70		5.72	-0.02	
$\beta\text{-CD-3-OH}$	5.66		5.72	-0.06	
$\beta\text{-CD-6-OH}$	4.44		4.54	-0.01	

H-5 pz	-----	9.46	9.46	0	C-H pz
CH=N	-----	8.36	8.33	-0.03	Azometino
N-H ₂	-----	7.41, 7.48-7.58	7.40, 7.48- 7.57	0.01 -0 0.01	Grupo amino
H _p	-----	7.48-7.58	7.48- 7.57	0 – 0.01	Aromáticos
H _{m'}	-----				
H _m	-----				
H _o	-----	7.65	7.64	0.01	Aromáticos
H _{o'}	-----	7.97	7.97	0	
H _{p'}	-----	7.41	7.40	-0.01	

En la Tabla 3-31, las señales del espectro RMN ¹H (Anexo C-31) para el [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD tomado en [DMSO-d₆], las señales de la β-CD aparecen a campo alto a 4.83 ppm el H-1 como un doblete deformado, a 3.30 ppm el H-2, alrededor de 3.65 ppm el H-3, a 3.34 ppm el H-4, a 3.56 ppm el H-5 y a 3.63 ppm el H-6 a,b. A 7.405 ppm un triplete que corresponde a los H_{p'} y H-NH₂, a 7.48-7.57 ppm un multiplete que corresponde a los protones H_{m'}, H_m, H_p, H-NH₂, a 7.64 ppm un doblete que corresponde a los protones H_o, a 7.96 ppm un doblete para los protones H_{o'}, a 8.33 ppm un singlete correspondiente al protón del grupo CH=N y finalmente un singlete a 9.46 ppm que corresponde al H-5 del pirazol. Estos resultados en los desplazamientos químicos para el [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD comparados con el complejo libre sugieren interacciones débiles no covalentes entre el complejo metálico y la β-CD.

Cuando se realizó la comparación de los desplazamientos químicos (Tabla 3-32) en los espectros RMN ¹³C tomados en [DMSO-d₆] para el [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD (Anexo C-33), el complejo de Pd(II) y la β-ciclodextrina (Anexo C-26) se observó cambios en los desplazamientos químicos a campo bajo de las señales de los carbonos del complejo metálico, lo que indica disminución en la densidad electrónica debido a las interacciones

entre el complejo de Pd(II) y la β -CD, estas interacciones pueden ser de tipo van der Waals.⁵⁷

Las variaciones más representativas en los desplazamientos químicos de la β -CD en el complejo $[\text{Pd}(\text{PhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ en el espectro RMN ^{13}C , fueron para los carbonos C-1 (β -CD) C-2 (β -CD), C-4 (β -CD) (parte externa de β -ciclodextrina) y C-5 (β -CD) (cavidad de la β -ciclodextrina), lo que sugiere que el compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ presenta una topología de asociación y/ inclusión parcial.³²

Por el experimento HSQC (Anexo C-34) se identificaron los protones H-1, H-2, H-3, H-4, H-5 y H-6 a,b de la β -ciclodextrina por la correlación directa a 1J con los carbonos C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 y C-6 de la β -ciclodextrina, los carbonos $C_o, C_m, C_p, C_o', C_m', C_p'$, de los dos anillo bencénicos, H-5pz y protón del CH=N por la correlación directa $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ a 1J de los $H_o, H_m, H_p, H_o', H_m', H_p', C-5$ el carbono del azometino.

Tabla 3-32. Comparación de los desplazamientos químicos de los espectros (δ) del RMN ^{13}C de la β -ciclodextrina, el complejo libre y el complejo incluido parcial y/o asociado, en $[\text{DMSO-d}_6]$, 100 MHz

Señal	δ (ppm) β -CD	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	δ (ppm) $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$	$\Delta\delta$ (ppm)	Asignación
C-1 (β -CD)	102.42	-----	102.40	0.02	C-H
C-2 (β -CD)	72.90	-----	72.85	0.05	C-H
C-3 (β -CD)	73.53	-----	73.52	0.01	C-H
C-4 (β -CD)	82.03	-----	82.01	0.02	C-H
C-5 (β -CD)	72.52	-----	72.50	-0.02	C-H
C-6 (β -CD)	60.39	-----	60.41	0.01	C-H ₂
3		154.19	154.71	0.52	C-3 pz
4		112.89	113.42	0.56	C-4 pz

5		133.00	133.55	0.55	C-5pz
CH=N		144.22	144.67	0.45	Azometino
C=S		172.24	172.70	0.461	Tiocarbonilo
C _{i'}		138.73	139.21	0.48	Aromáticos
C _{o'}		119.13	119.69	0.57	
C _{m'}		129.54	130.14	0.60	
C _{p'}		127.34	127.96	0.63	
C _i		131.14	131.62	0.48	Aromáticos
C _o		128.86	129.44	0.58	
C _m		128.67	129.27	0.61	
C _p		128.89	129.52	0.67	

3.1.6.2 Análisis térmico (TG y DSC) del compuesto [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD

La curva DSC de la β -ciclodextrina en argón (Anexo E-1) presenta dos eventos térmicos endotérmicos, el primero aproximadamente a 60°C, el segundo a 320 °C que se asocia al punto de descomposición. La curva TG de la β -ciclodextrina (Anexo E-1) presenta dos eventos térmicos bien definidos,^{65,56} el primero menor a 100 °C, con pérdida de masa aproximadamente de 13% correspondiente a la salida de aproximadamente 8 moléculas de agua, entre 30°C y 100°C, con máximo de 50°C, estas moléculas están localizadas en la cavidad como moléculas de aguas de inclusión e intersticiales, manteniendo la estructura cristalina de esta.^{56,66} El segundo evento térmico entre 290°C y 350°C, con un máximo de 320°C, que está asociado con una pérdida de masa de 89%

aproximadamente, que corresponde a la descomposición del anillo glicosídico de la β -CD.^{65,66}

La curva DSC del complejo libre $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ en argón (Anexo E-5), presenta cuatro eventos endotérmicos, el primero alrededor de 50°C que corresponde a salida de moléculas de agua asociadas a la humedad del compuesto, a 290°C asociado con el punto de fusión, a 382°C y 480°C asociados a una primera y segunda descomposición del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$. La curva TG complejo libre $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ en argón (Anexo E-5), presenta dos eventos endotérmicos, el primero entre 0°C -100°C con un máximo de 40°C, que corresponde a una pérdida de masa de aproximadamente 11.9 %, el segundo entre 290°C y 500°C con un máximo de 290°C, con una pérdida de masa 62.85 %.

La curva DSC para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta$ -CD (Anexo E-6) presenta cinco eventos térmicos, el primero asociado a 60°C que corresponde a pérdida de moléculas de agua, el segundo evento térmico a 280°C asociado a la descomposición del compuesto de Pd(II) libre y 325°C asociado a la descomposición de la β -ciclodextrina y finalmente a 350°C-430°C a la primera y segunda descomposición del compuesto de asociación y/o inclusión parcial, las dos distintas adsorciones de calor durante la descomposición puede indicar la existencia de una interacción entre β -CD y el complejo de Pd(II). La curva TG para el compuesto de inclusión parcial y/o asociación $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta$ -CD (Anexo E-6) presenta dos eventos térmicos, primero entre 0°C- 100°C con un máximo de 50°C, asociado a una pérdida de masa aproximadamente de 7.89 % debido a la salida de moléculas de agua de la β -ciclodextrina y entre 280°C - 500°C con un máximo de 280°C, asociado a una pérdida masa del 91.42 %.

La curva DSC de la mezcla mecánica $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ con β -CD (Anexo E-7) presenta tres eventos térmicos, un pico entre 20°C-50°C que corresponde a la pérdida de moléculas de agua de la β -ciclodextrina y del compuesto de coordinación húmedo, el segundo a 290°C que corresponde posiblemente a la descomposición del compuesto de coordinación de Pd(II) y el último a 390°C que puede estar asociado a la descomposición de la β -ciclodextrina. La curva TG de la mezcla mecánica $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ con β -CD (Anexo E-7) presenta dos eventos térmicos, entre 0°C-100°C, con un máximo de

temperatura de 40°C, que corresponde a una pérdida de masa aproximadamente de 10.71 % que es debido a la pérdida de moléculas de agua de la β -ciclodextrina y del complejo de coordinación de Pd(II) libre húmedo, y el segundo de 280°C-500°C que corresponde a una pérdida de masa aproximadamente de 68 %.

Cuando se compara las curvas DSC (Figura 3-25) y TG (Figura 3-26) del complejo libre, la β -CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial y la mezcla mecánica, presentan un comportamiento térmico diferente, lo que sugiere interacciones hospeder-huésped, debido a la formación de un compuesto de asociación a través de interacciones débiles de tipo supramolecular como fuerzas de van der Waals.

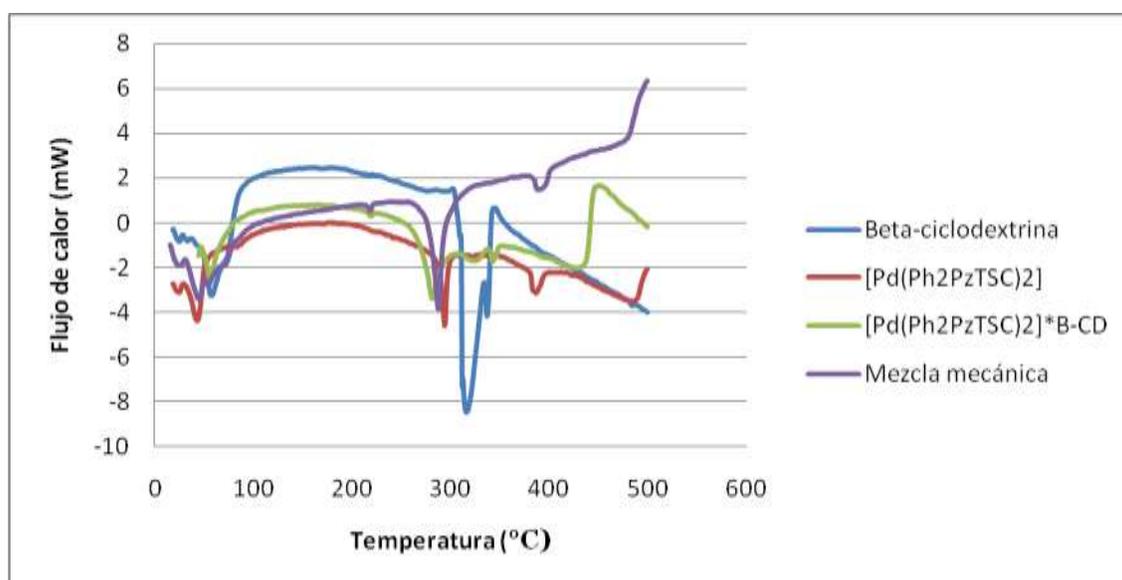


Figura 3-25. Curvas DSC del complejo libre, la β -CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ y la mezcla mecánica

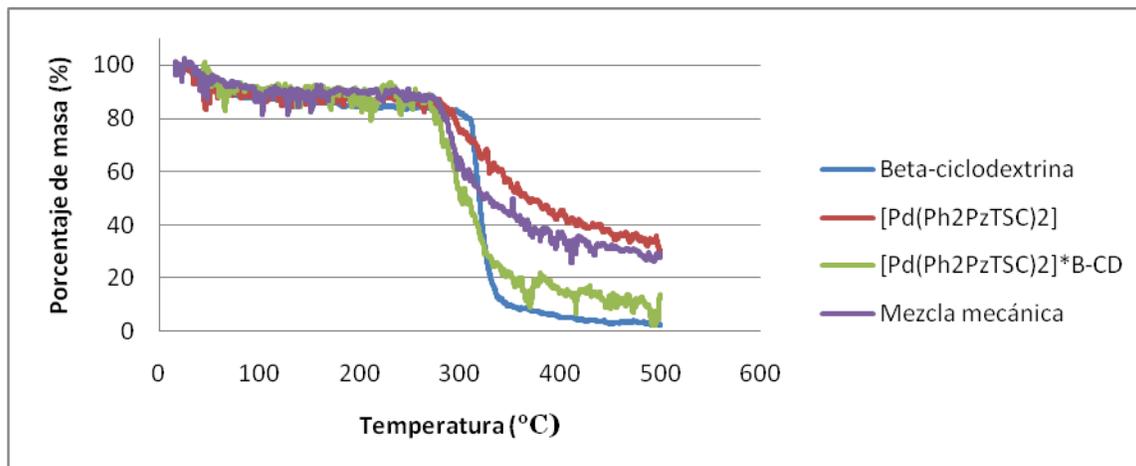


Figura 3-26. Curvas TG del complejo libre, la β -CD, el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ y la mezcla mecánica

Al comparar la curva DSC de la mezcla mecánica y el compuesto de asociación y/o inclusión parcial (Figura 3-25), se observa un comportamiento térmico diferente lo que sugiere la formación interacciones hospedero-huésped. La curva DSC de la mezcla mecánica presenta similitud con la curva DSC del complejo libre especialmente en el evento endotérmico a 290°C que es asociado con el punto de fusión del complejo de coordinación de Pd(II), lo que sugiere la formación de interacciones hospedero-huésped, debido a la formación de un compuesto de asociación a través de interacción de tipo supramolecular. Las curvas TG del compuesto de inclusión parcial y/o asociación, el complejo de Pd(II) y la β -CD presentan diferentes eventos de descomposición lo que confirma la interacción de tipo supramolecular entre el $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ y la β -CD.

3.1.6.3 Actividad Biológica para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$

La actividad biológica del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ se realizó utilizando el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para evaluar su actividad antimicrobiana.

3.1.6.3.1 Actividad *in vitro* antimicrobiana para el compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$

La actividad *in vitro* antimicrobiana se evaluó usando el método de difusión en disco,³⁸ por duplicado, en un rango de concentraciones entre 500 – 50 ppm (Figura 2-22) utilizando como solvente DMSO, comparando los resultados con el complejo libre de Pd(II) (Tabla 3-33) en 5 bacterias, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (gram positiva), *Escherichia coli* ATCC 25922 (gram negativa), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (gram negativa), *Bacillus thuringensis* sp (gram positiva), *Pseudomona aeruginosa* sp (gram negativa) y dos levaduras, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccaromyces cerevisiae* ATCC AH22, utilizando como control positivo para las bacterias cefalotina 40 mg/mL, excepto para la *Pseudomona aeruginosa* que se empleó ciprofloxacina 0.3% y para las levaduras clotrimazol 1%.

El compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ no presentó actividad antifúngica en el rango utilizado y la inclusión no mejoró la actividad.

El compuesto de asociación y/o inclusión parcial $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ presentó actividad antibacteriana para *S. aureus* a una concentración mínima inhibitoria de 250 ppm (Anexo D-7) con un halo de inhibición de 0.8 cm, este resultado sugiere que la inclusión no mejora la actividad contra la bacteria *S. aureus*.

El compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ presentó actividad para el *B. thuringensis* sp a diferencia del complejo libre, con una concentración mínima inhibitoria de 450 ppm (Anexo D-8), con un halo de inhibición de 1 cm, lo que sugiere que la inclusión mejora la actividad, esto puede explicarse ya que la β -ciclodextrina, puede interactuar con los fosfolípidos (que son lípidos que constituyen las membranas celulares), causando un rearrreglo o desorden en la membrana que permite aumentar su fluidez y permeabilidad, pudiendo así el complejo penetrar al interior de la célula y realizar su actividad de inhibir el crecimiento.⁶⁷ Estos resultados son sustentados con una teoría donde las CD pueden extraer y formar complejos de inclusión con los lípidos y otras fracciones hidrofóbicas de la membrana celular. Así, la membrana de la célula se vuelve más permeable.⁶⁸ Otra hipótesis es que CD interactúa con el ADN y lo protege de algunas cargas negativas

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

resultantes de pequeñas repulsiones carga-carga que se forman entre el ADN y la membrana celular. La última se basa en que la ciclodextrina interactúa con grupos hidrofóbicos, en la célula y contrarresta la repulsión carga-carga entre el ADN y la membrana de la célula. La primera hipótesis se basa en el hecho de que las CD puede extraer el colesterol, lípidos y otros componentes de la membrana celular y forma complejos de inclusión estable, la extracción de componentes de la membrana hace que esta sea más permeable.⁶⁸

Tabla 3-33. Concentración Mínima Inhibitoria en ppm para el complejo con Pd(II) y $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ppm		
Microorganismos	Compuestos	
	$[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	$[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$
<i>E.Coli</i>	> 500	> 500
<i>K. pneumonie</i>	> 500	> 500
<i>S. aeruginosa sp</i>	> 500	> 500
<i>S. aureus</i>	200	250
<i>B. thuringensis sp</i>	> 500	450
<i>C. albicans</i>	> 500	> 500
<i>S. cerevisiae</i>	> 500	> 500

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

- ❖ Fueron sintetizados dos ligantes pirazolil-tiosemicarbazonas y caracterizados por diferentes técnicas espectroscópicas, tales como espectroscopía infrarroja, UV-vis, RMN mono y bidimensional. Los resultados obtenidos indican la obtención exitosa de estos ligantes.
- ❖ Se sintetizaron y caracterizaron dos complejos de Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas por diferentes técnicas espectroscópicas, tales como espectroscopía infrarroja, UV-vis, RMN mono y bidimensional, en donde se observó por RMN ^1H , la desprotonación del NH-C=S , indicando una tienolización y coordinación por el átomo de azufre en forma tiol y por diferencias significativas en los desplazamientos químicos del RMN ^{13}C del carbono del grupo CH=N azometino la coordinación al par de electrones del nitrógeno por el metal.
- ❖ Al comparar los resultados espectroscópicos para los complejos Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas, con complejos de Pd(II) con otros ligantes tiosemicarbazonas, en donde el ligante sufre una desprotonación del NH-C=S como los reportado por Otero y colaboradores²¹ se propone complejos de paladio(II) tipo $[\text{Pd}(\text{TSC})_2]$.
- ❖ Fueron preparados los compuestos de los complejos de Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazona con la β -ciclodextrina, y caracterizados por espectroscopía IR, RMN, DOSY y análisis térmico, los resultados obtenidos para ambos compuestos $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ y $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ indicaron la formación de compuestos de topología asociada y/o inclusión parcial.

- ❖ En cuanto a los resultados de actividad biológica para los ligantes libres, el MePhPzTSC, presentó actividad para la bacteria *B. thuringensis sp*, el complejo de paladio $[Pd(MePhPzTSC)_2]$ no mejoró la actividad del ligante libre, pero este resultado sugiere una sinergia metal-ligante.
- ❖ El ligante Ph₂PzTSC libre presentó actividad para la bacteria *S. aureus*, el complejo metálico mejora la actividad de inhibición del crecimiento lo que sugiere un efecto de metal en la actividad antibacteriana.
- ❖ Los resultados de actividad antimicrobiana para los complejos de Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas obtenidos mostraron actividad para bacterias gram positivas.
- ❖ Los resultados de actividad antimicrobiana para los compuestos de Pd(II)-pirazolil-tiosemicarbazonas con β -CD no presentan actividad contra las levaduras evaluadas .
- ❖ El compuesto $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta$ -CD presentó un rango de inhibición de crecimiento para la bacteria *S. aureus* muy parecido al complejo metálico libre, para el caso de la bacteria *B. thuringensis sp*, la inclusión parcial y/o asociación parcial disminuye notablemente el rango de inhibición del crecimiento, para ambos casos la inclusión parcial y/ asociación con β -CD no mejora actividad.
- ❖ El compuesto $[Pd(Ph_2PzTSC)_2] \cdot \beta$ -CD presentó un rango de inhibición de crecimiento para la bacteria *S. aureus* muy parecido al complejo metálico libre, para el caso de la bacteria *B. thuringensis sp* que presentó una concentración mínima inhibitoria a 450 ppm, el complejo libre no presentó actividad, en este la inclusión parcial y/o asociación mejora la actividad.

4.2 Recomendaciones

- ❖ Se sugiere realizar otros estudios de actividad biológica como por ejemplo ensayos citotóxicos, actividad antineoplásica, para evaluar el comportamiento de

los ligantes libres, complejos Pd(II)-tiosemicarbazona y sus respectivos compuestos con β -CD, lo que permitirá confirmar un efecto del metal a la actividad o si existe sinergia metal-ligante y por otro lado efecto del sustituyente en la actividad.

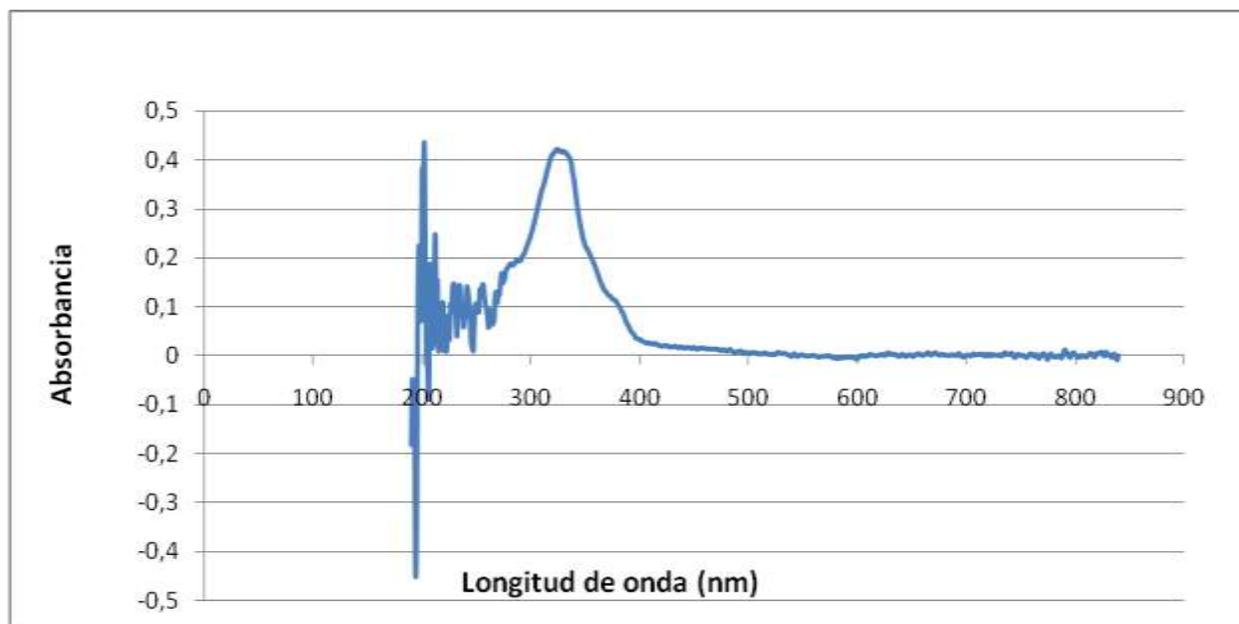
- ❖ Espectrometría de masas y análisis elemental para los complejos de Pd(II) sintetizados.

- ❖ De igual forma se sugiere, realizar síntesis, caracterización y evaluación de la actividad biológica de nuevos complejos-pirazolil-tiosemicarbazonas utilizando otros metales bioactivos como Rodio, Platino, Estaño entre otros, para así evaluar el efecto del metal sobre la actividad biológica.

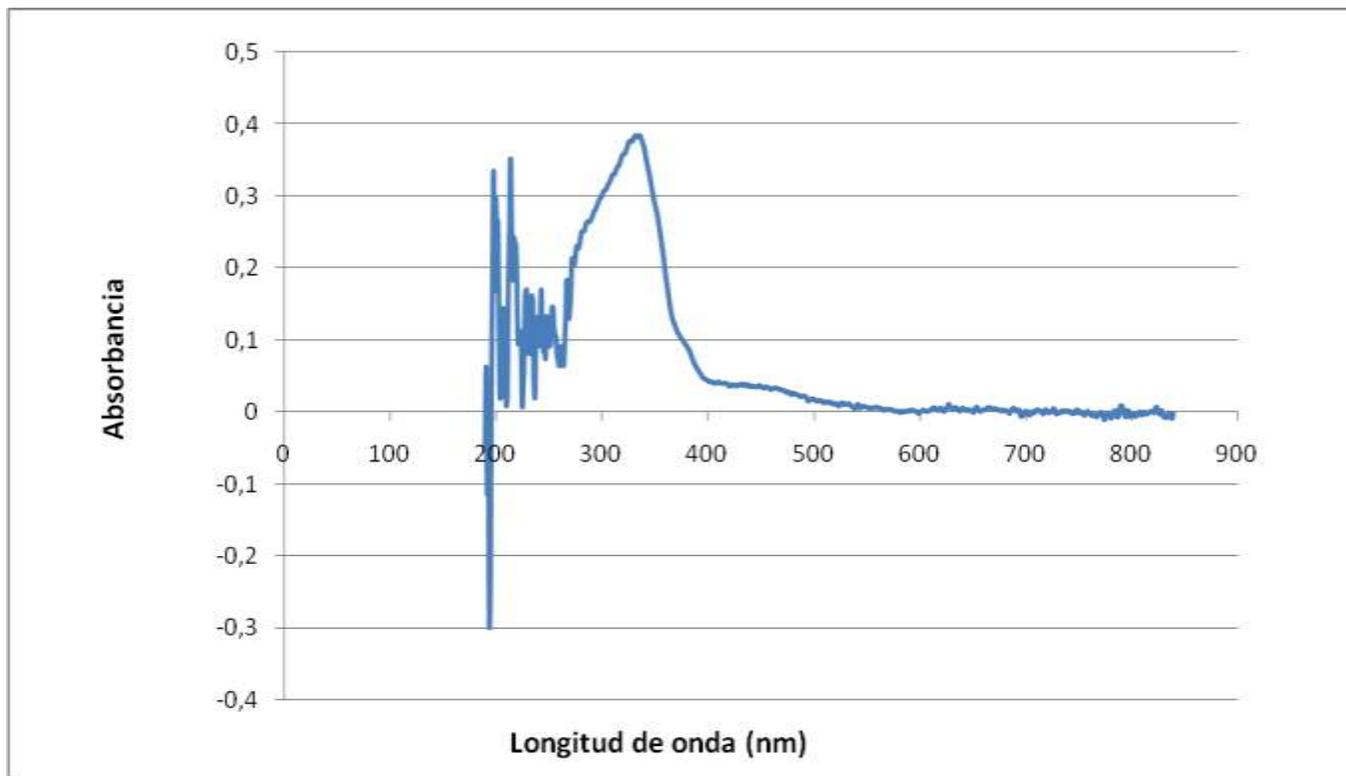
**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN DE COMPLEJOS DE Pd(II) CON LIGANTES
TIOSEMICARBAZONAS, SUS COMPUESTOS DE INCLUSIÓN EN β -
CICLODEXTRINA CON POSIBLE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

A. Anexo: Anexos espectros UV-vis

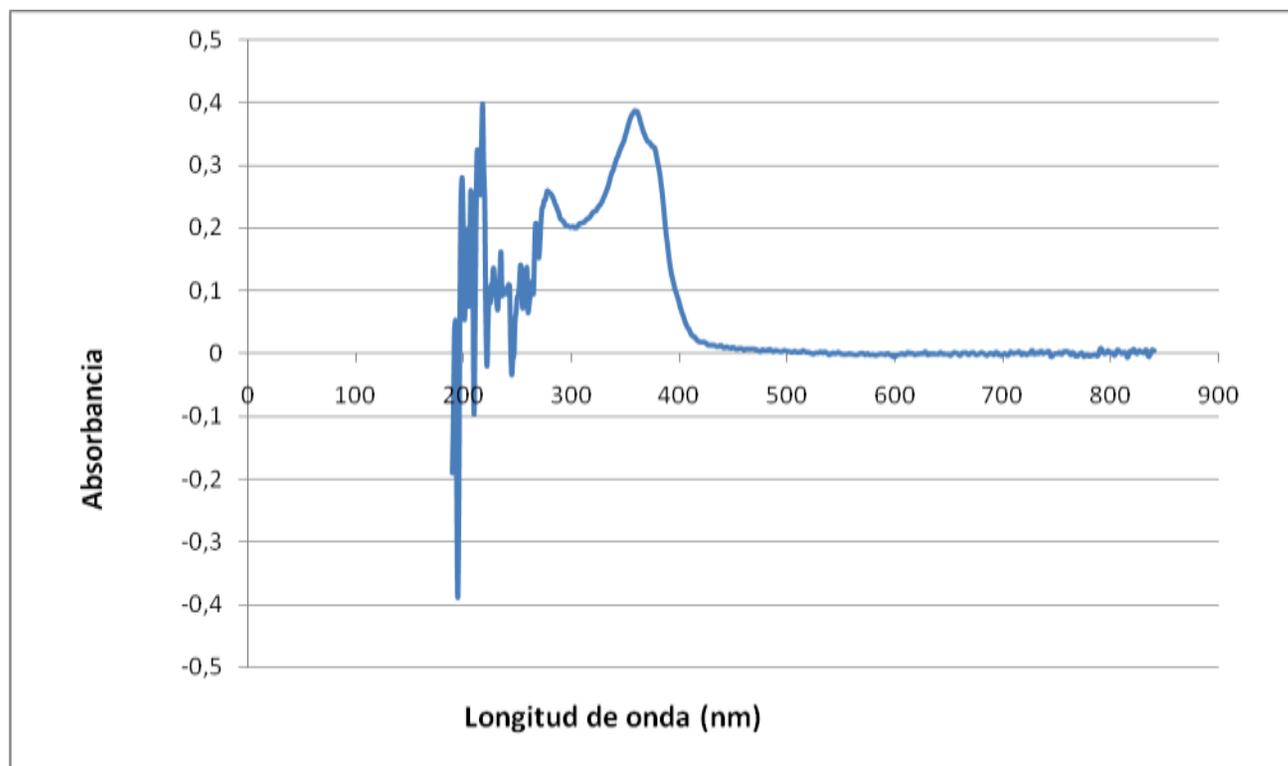
A-1. Espectro UV-vis del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)
A-2. Espectro UV-vis del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph ₂ PzTSC)
A-3. Espectro UV-vis del complejo de [Pd(MePhPzTSC) ₂]
A-4. Espectro UV-vis del complejo de [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]



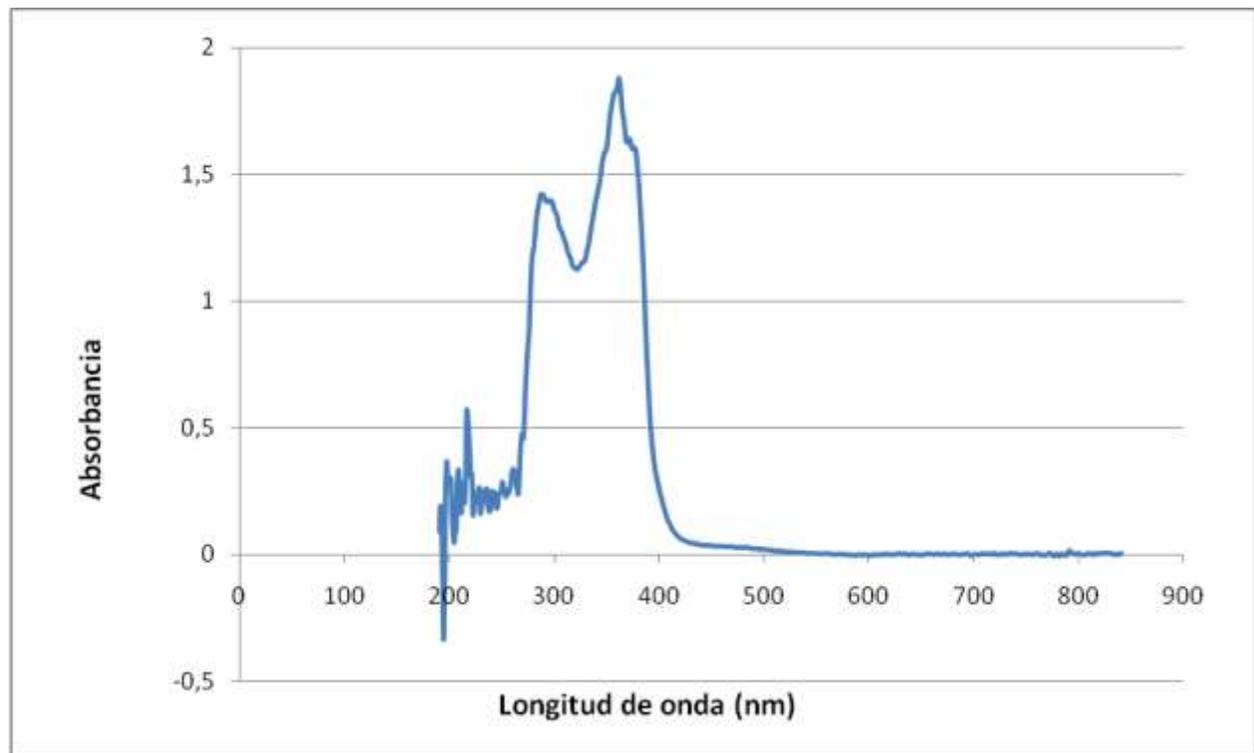
Anexo A-1. Espectro UV-vis del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)



Anexo A-2. Espectro UV-vis del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph₂PzTSC)



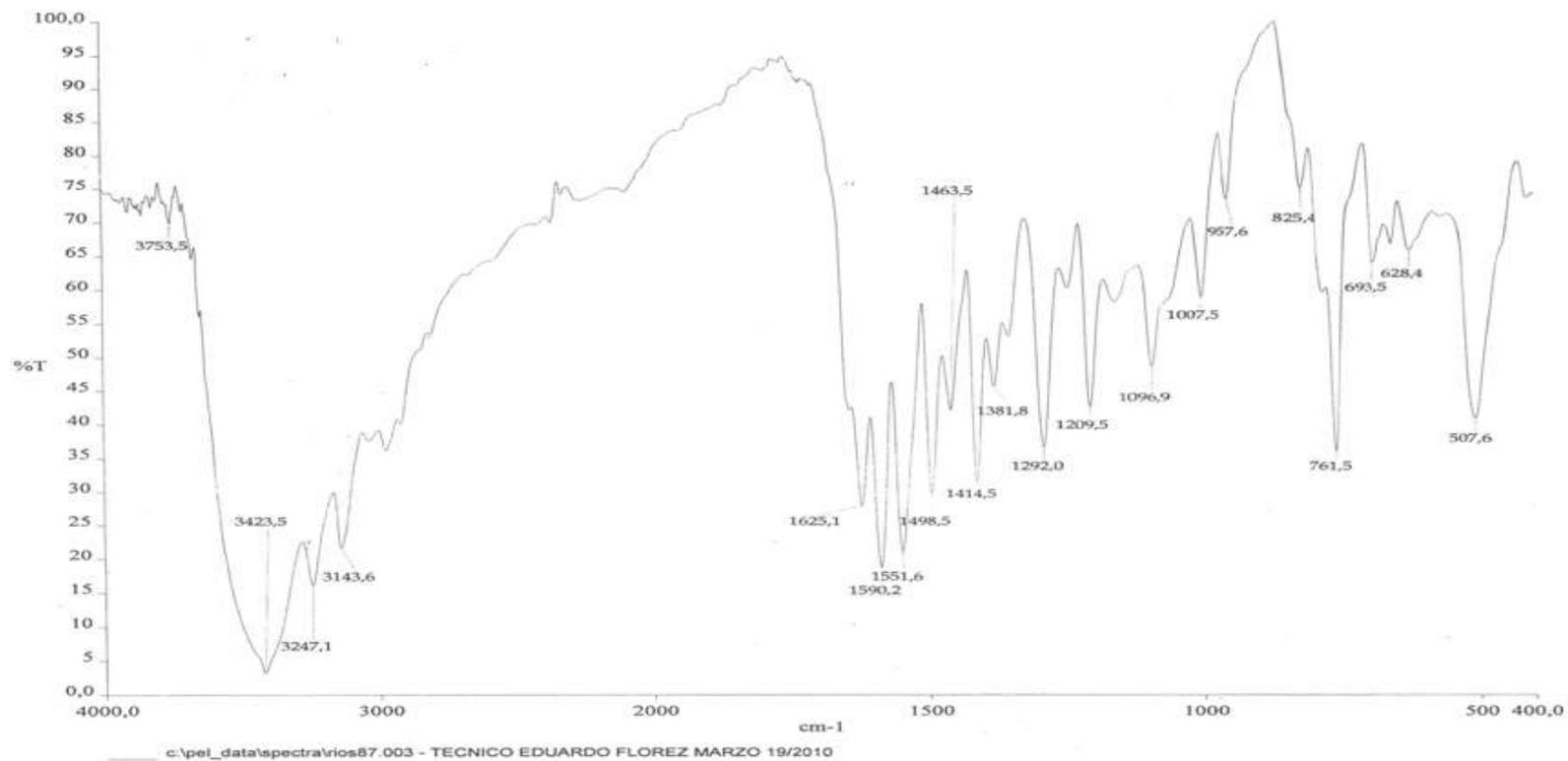
Anexo A-3. Espectro UV-vis del complejo de [Pd(MePhPzTSC)₂]



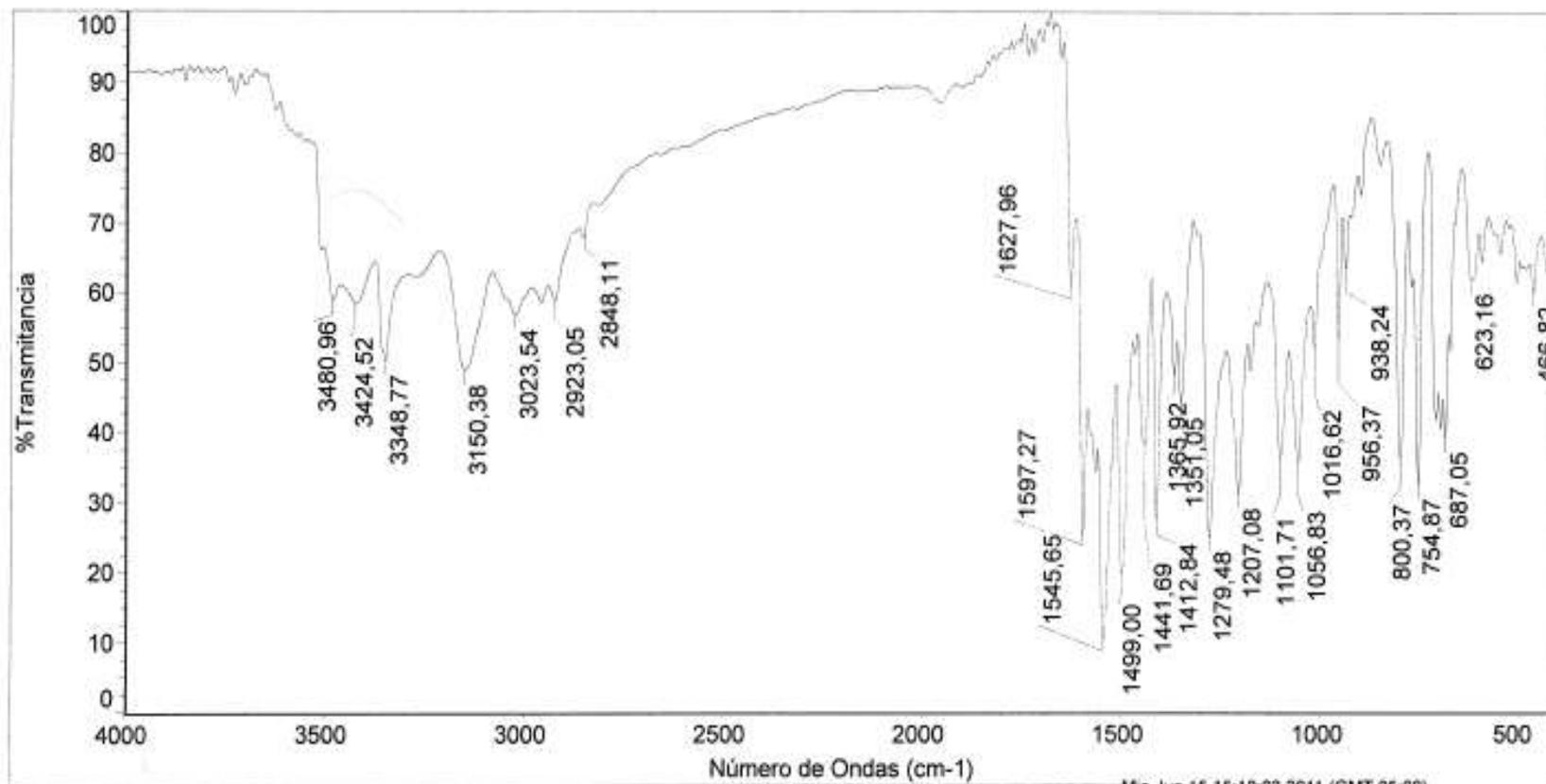
Anexo A-4. Espectro UV-vis del complejo de $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$

B. Anexo: Anexos espectros IR

B-1. Espectro infrarrojo del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)
B-2. Espectro infrarrojo del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph ₂ PzTSC)
B-3. Espectro infrarrojo del complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]
B-4. Espectro infrarrojo del complejo de [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]
B-5. Comparación de los espectros IR del [Pd(MePhPzTSC) ₂] $\cdot\beta$ -CD y su mezcla mecánica
B-6. Espectro infrarrojo de la β -ciclodextrina
B-7. Comparación de los espectros IR del [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] $\cdot\beta$ -CD y su mezcla mecánica



Anexo B-1. Espectro infrarrojo del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)

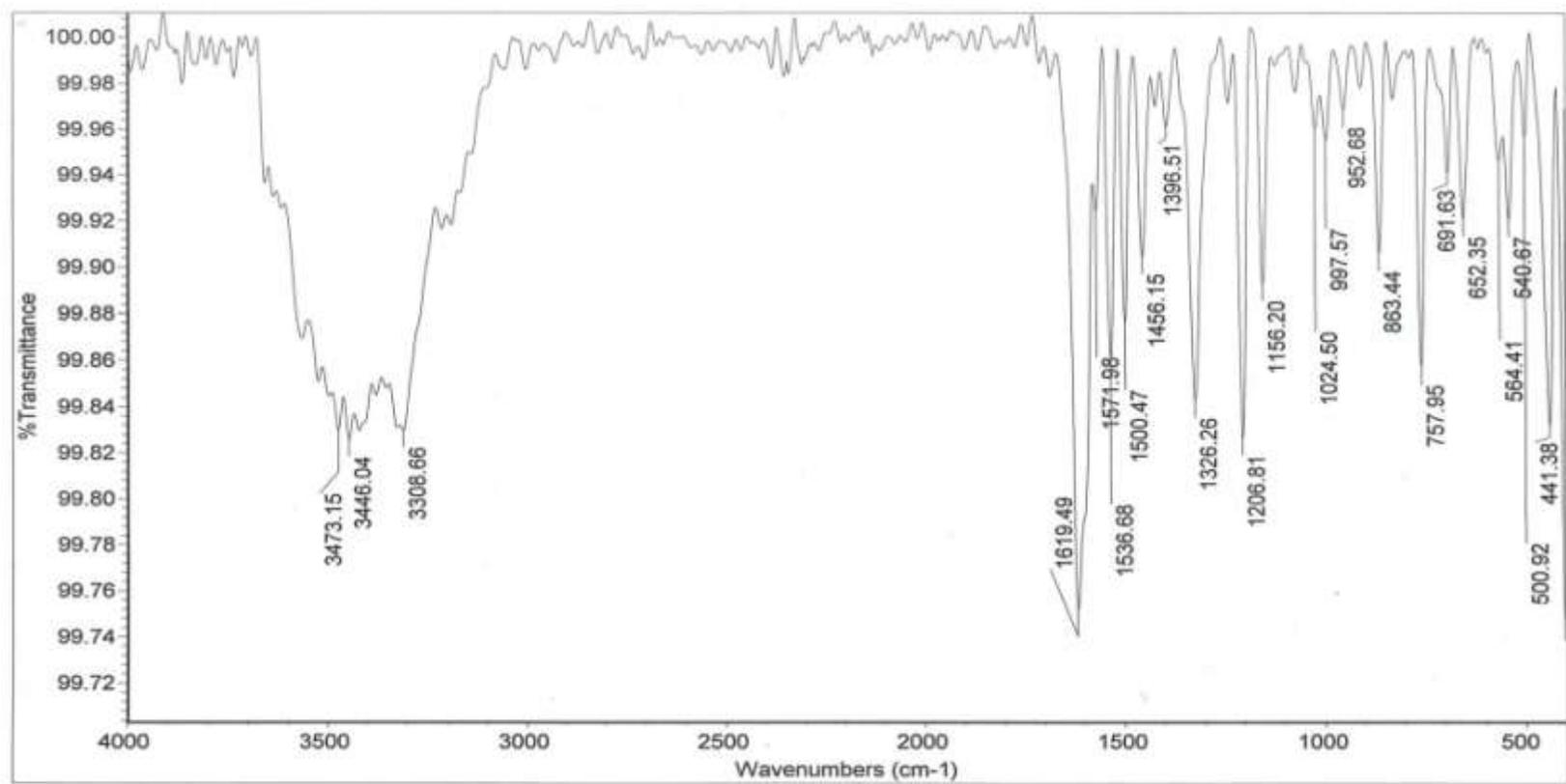


OBSERVACIONES: MUESTRA: 1,3 DIFENIL TSC
COMPUESTOS DE COORDINACION

Mie Jun 15 15:10:03 2011 (GMT-05:00)

Método de análisis: Pastilla KBr
Nicolet iS10 Spectrometer
Thermo Fisher Scientific

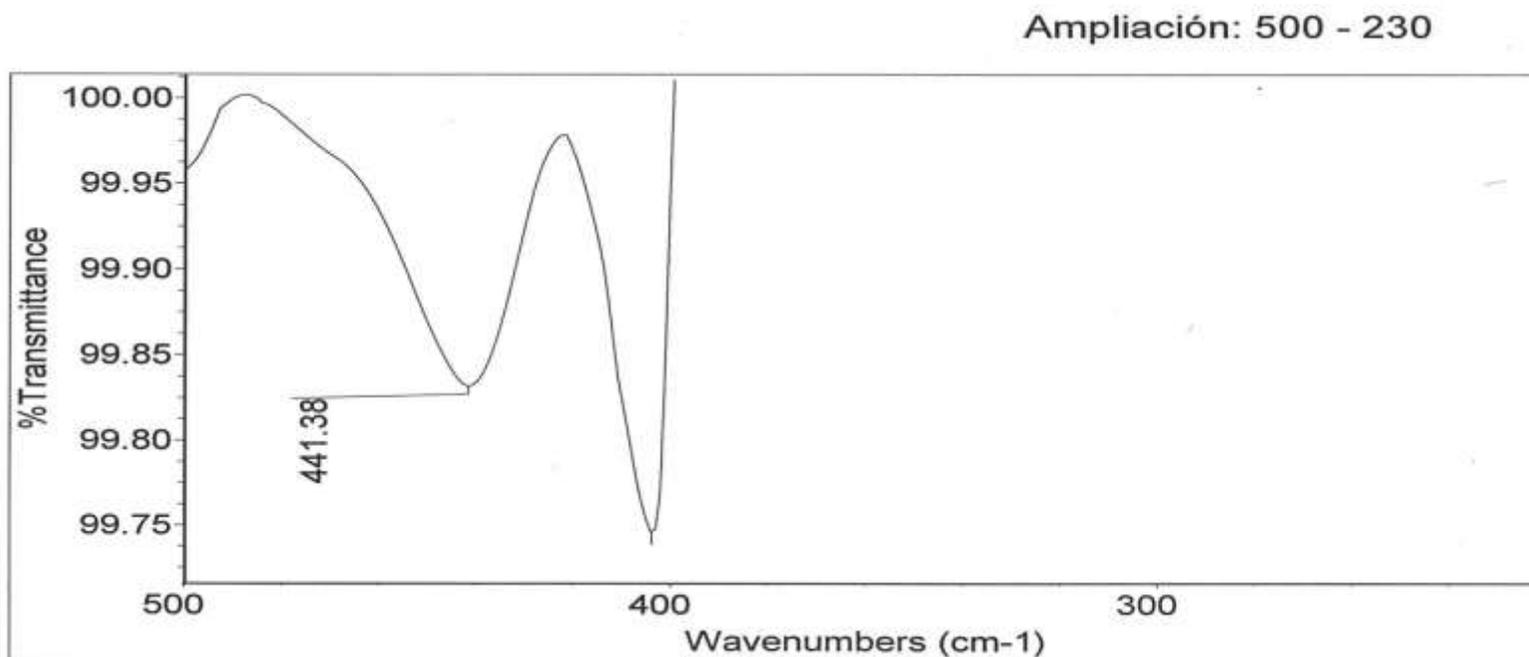
Anexo B-2. Espectro infrarrojo del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído (Ph_2PzTSC)



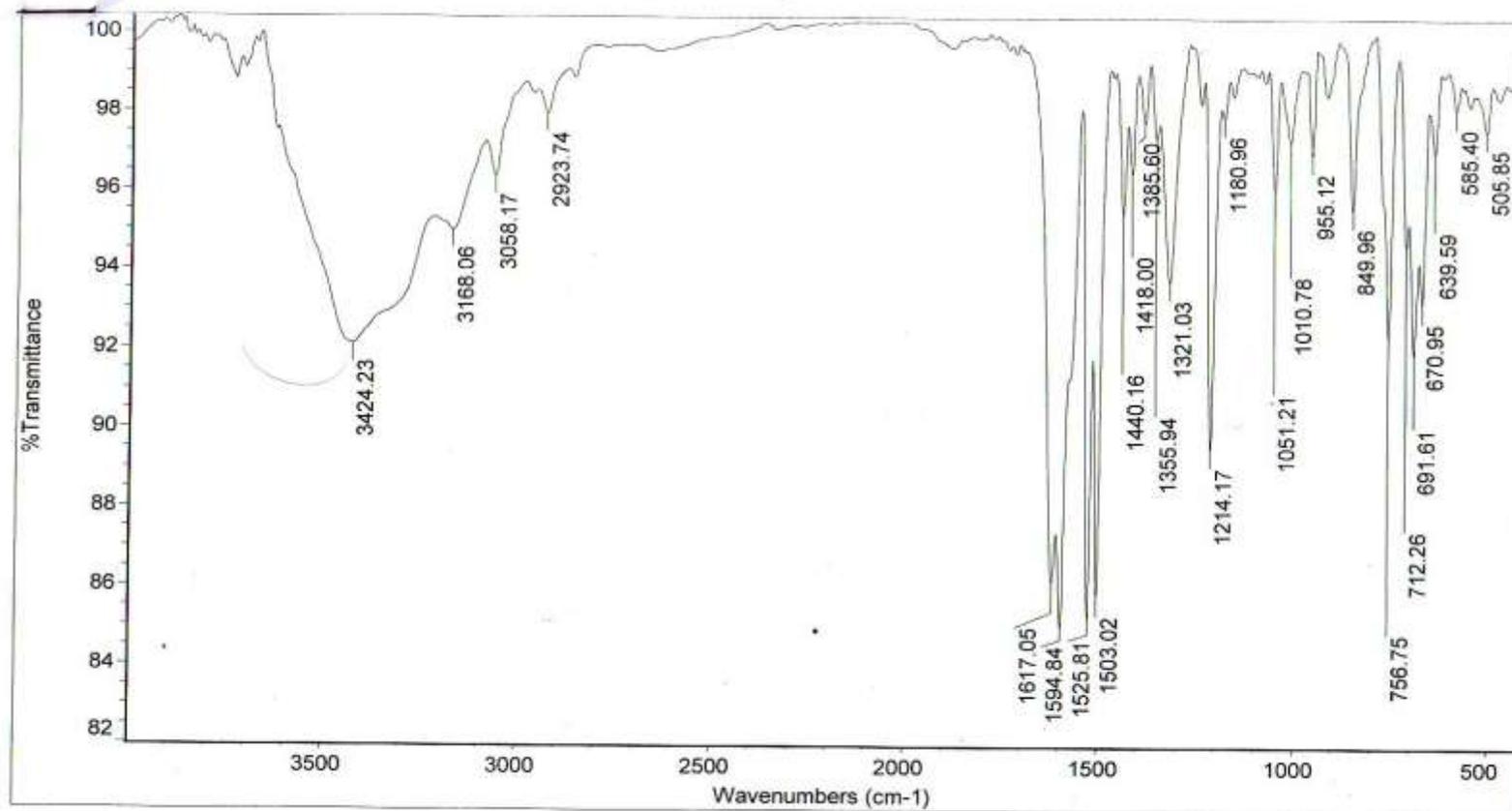
*****JCC-TiOP1-Pd

Number of sample scans: 10

Anexo B-3. Espectro infrarrojo del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]



Anexo B-3. Espectro infrarrojo ampliación 500- 230 cm⁻¹ del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]

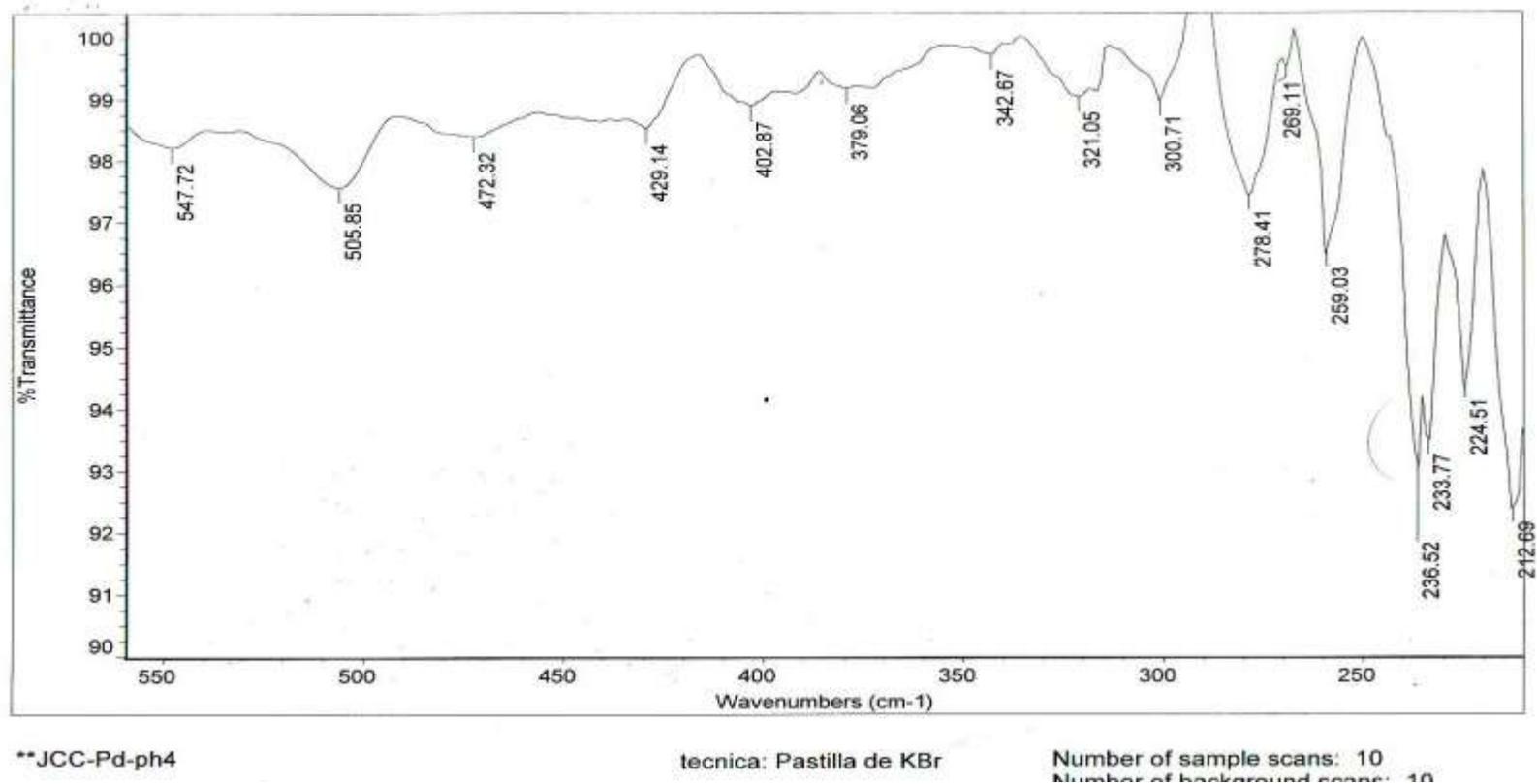


**JCC-Pd-ph4

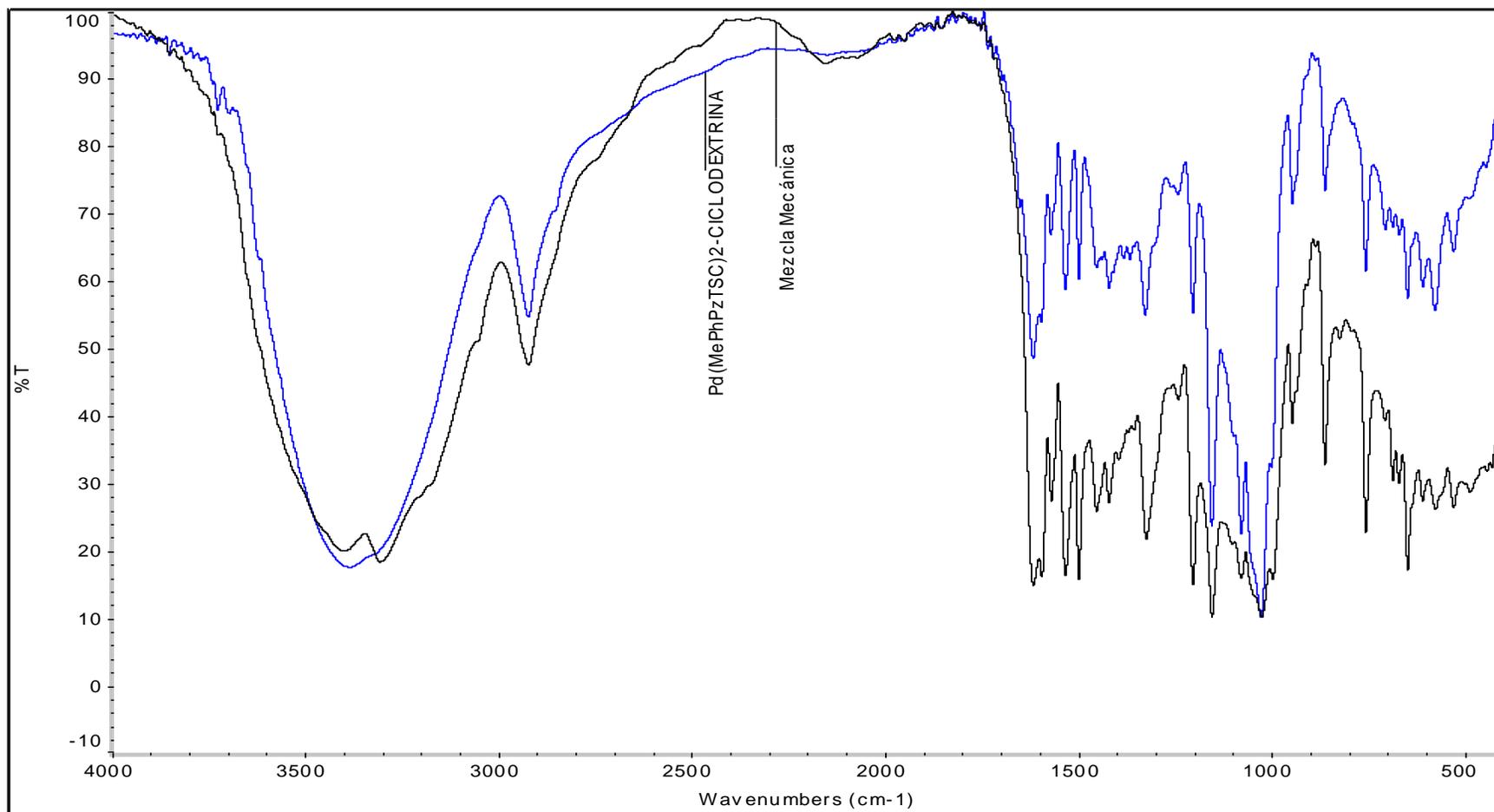
tecnica: Pastilla de KBr

Number of sample scans: 10

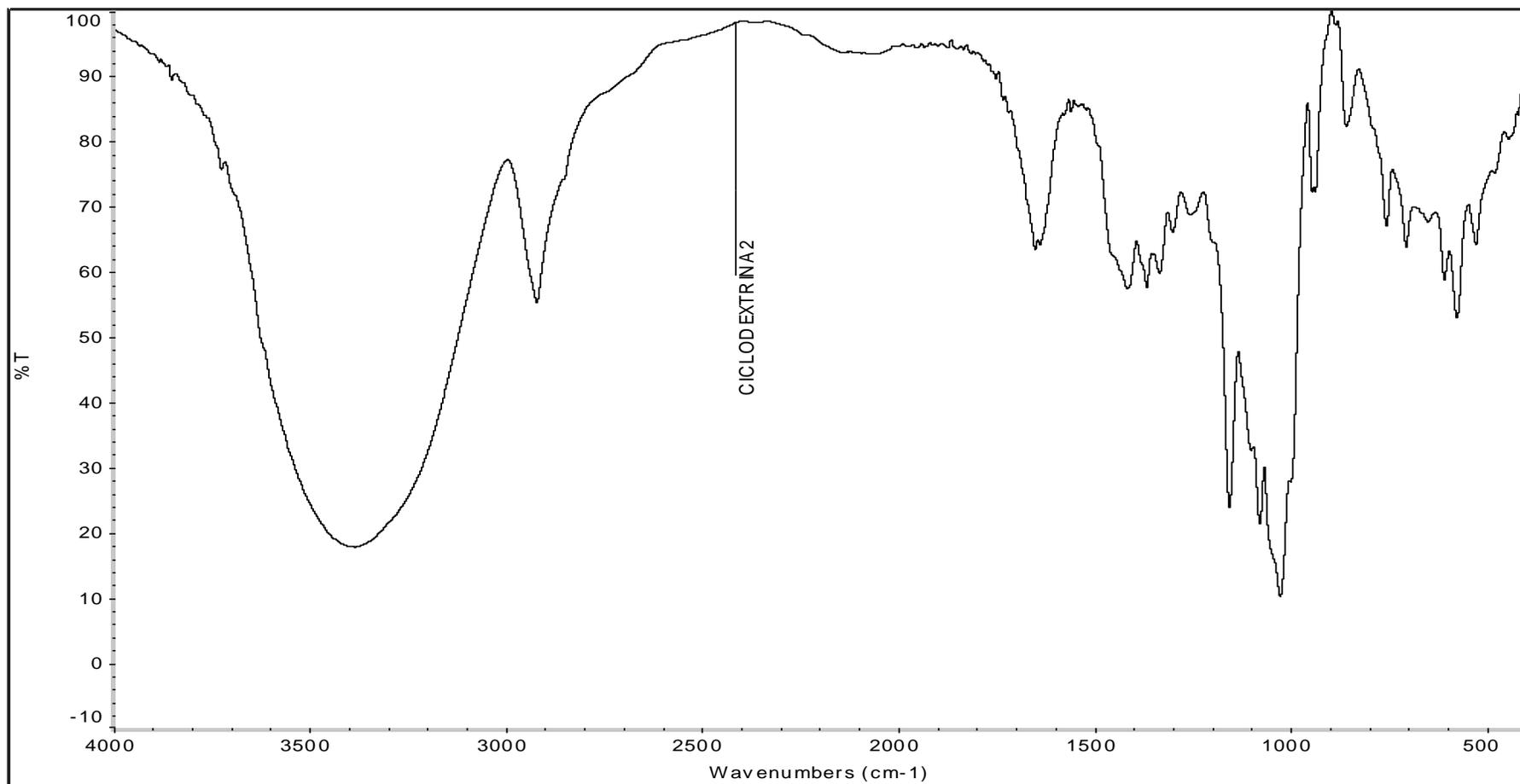
Anexo B-4. Espectro infrarrojo del complejo de $[Pd(Ph_2PzTSC)_2]$



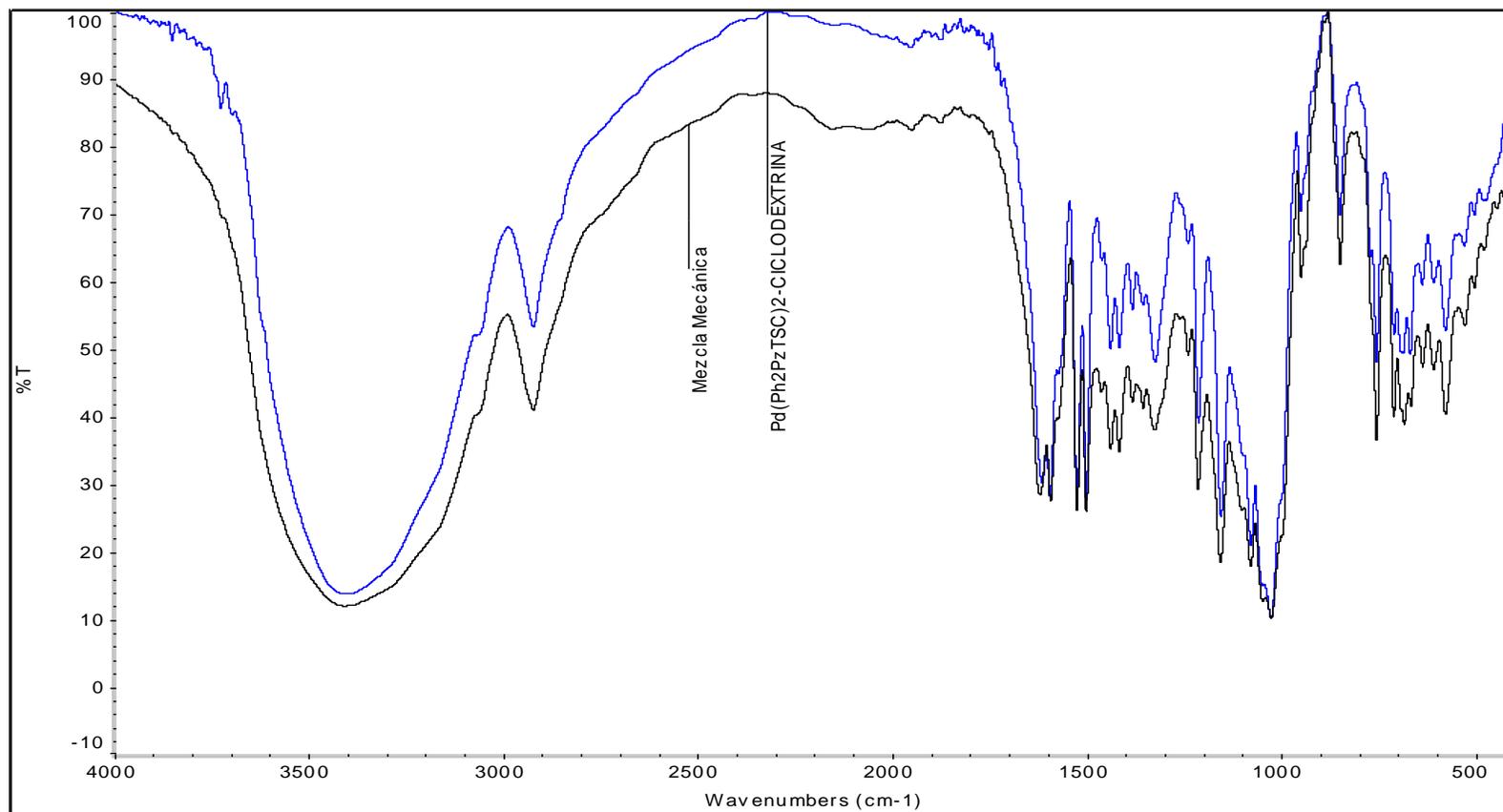
Anexo B-4. Espectro infrarrojo ampliación 500-250 cm^{-1} del complejo de $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



Anexo B-5. Comparación de los espectros IR del $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y su mezcla mecánica



Anexo B-6. Espectro infrarrojo de la β -ciclodextrina

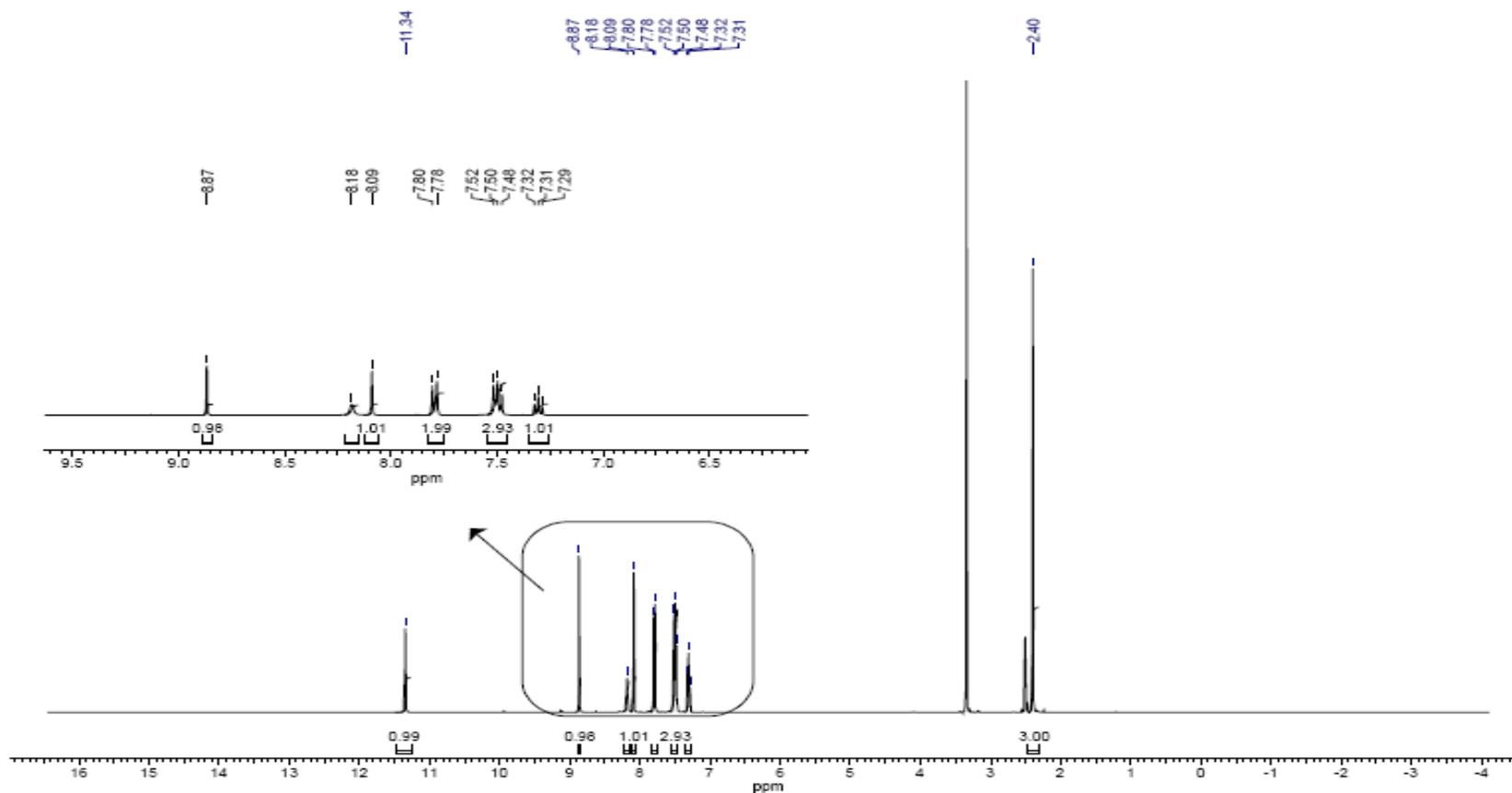


Anexo B-7. Comparación de los espectros IR del [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD y su mezcla mecánica

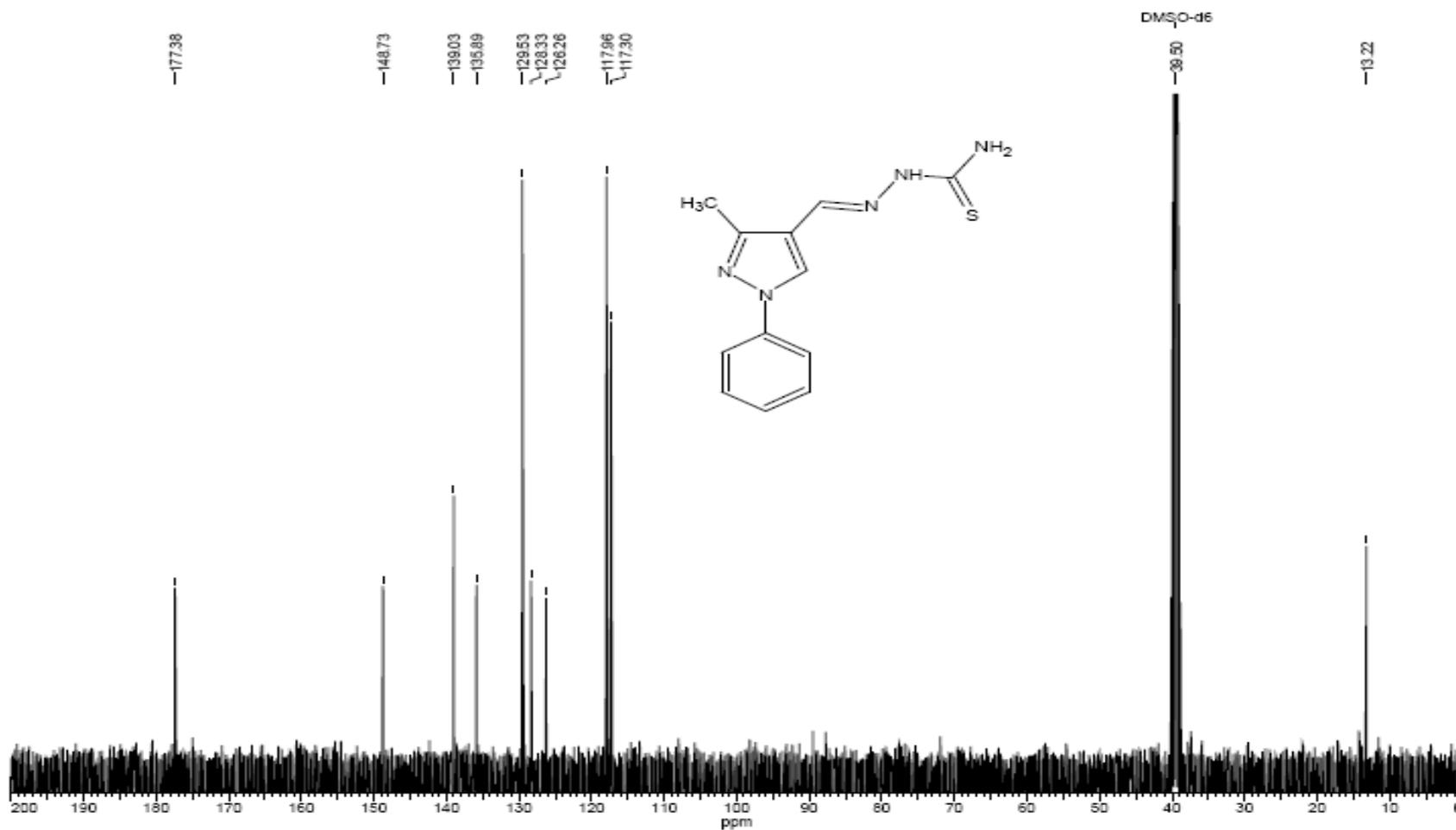
C. Anexo: Anexos espectros RMN

C-1. Espectro RMN ^1H del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)	C-18. Espectro DEPT 135 del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$
C-2. Espectro RMN ^{13}C del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)	C-19. Espectro HSQC del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$
C-3. Espectro DEPT 135 del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)	C-20. Espectro HMBC del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$
C-4. Espectro HSQC del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)	C-21. Espectro COSY ^1H - ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$
C-5. Espectro HMBC del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)	C-22. Espectro RMN ^1H del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-6. Espectro RMN ^1H del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-23. Espectro RMN ^1H de la ciclodextrina $\beta\text{-CD}$, en DMSO-d_6
C-7. Espectro RMN ^{13}C del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-24. Espectro ROESY del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-8. Espectro DEPT 135 del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-25. Espectro RMN ^{13}C del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-9. Espectro HSQC del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-26. Espectro RMN ^{13}C de la ciclodextrina $\beta\text{-CD}$
C-10. Espectro HMBC del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-27. Espectro HSQC del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-11. Espectro COSY ^1H - ^1H del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)	C-28. Espectro DOSY complejo libre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$

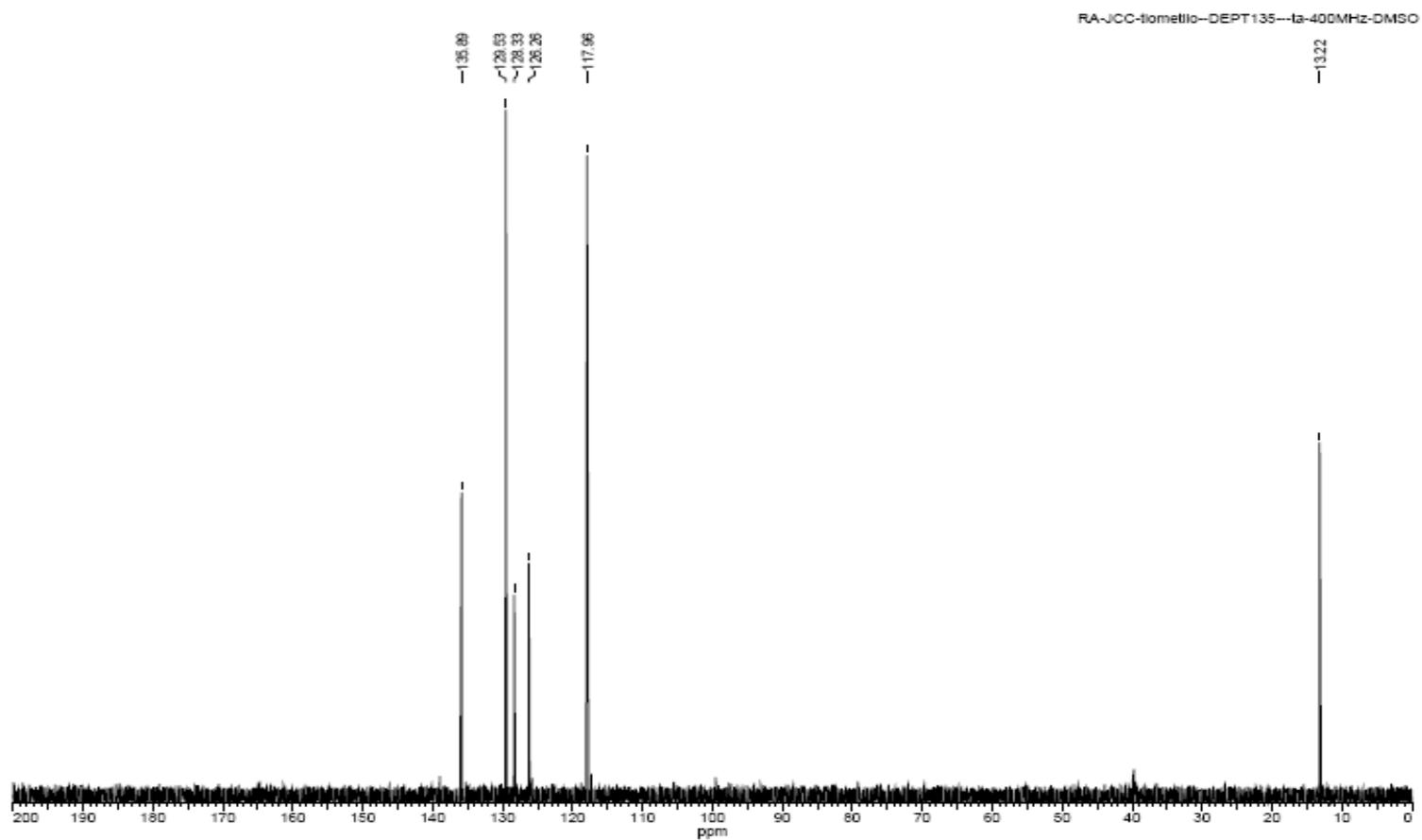
C-12. Espectro RMN ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	C-29. Espectro DOSY compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-13. Espectro RMN ^{13}C del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	C-30. Espectro DOSY compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$ con $\beta\text{-CD}$
C-14. Espectro HSQC del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	C-31. Espectro RMN ^1H del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-15. Espectro HMBC del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$	C-32. Espectro NOESY del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-16. Espectro RMN ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	C-33. Espectro RMN ^{13}C del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$
C-17. Espectro RMN ^{13}C del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$	C-34. Espectro HSQC del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$



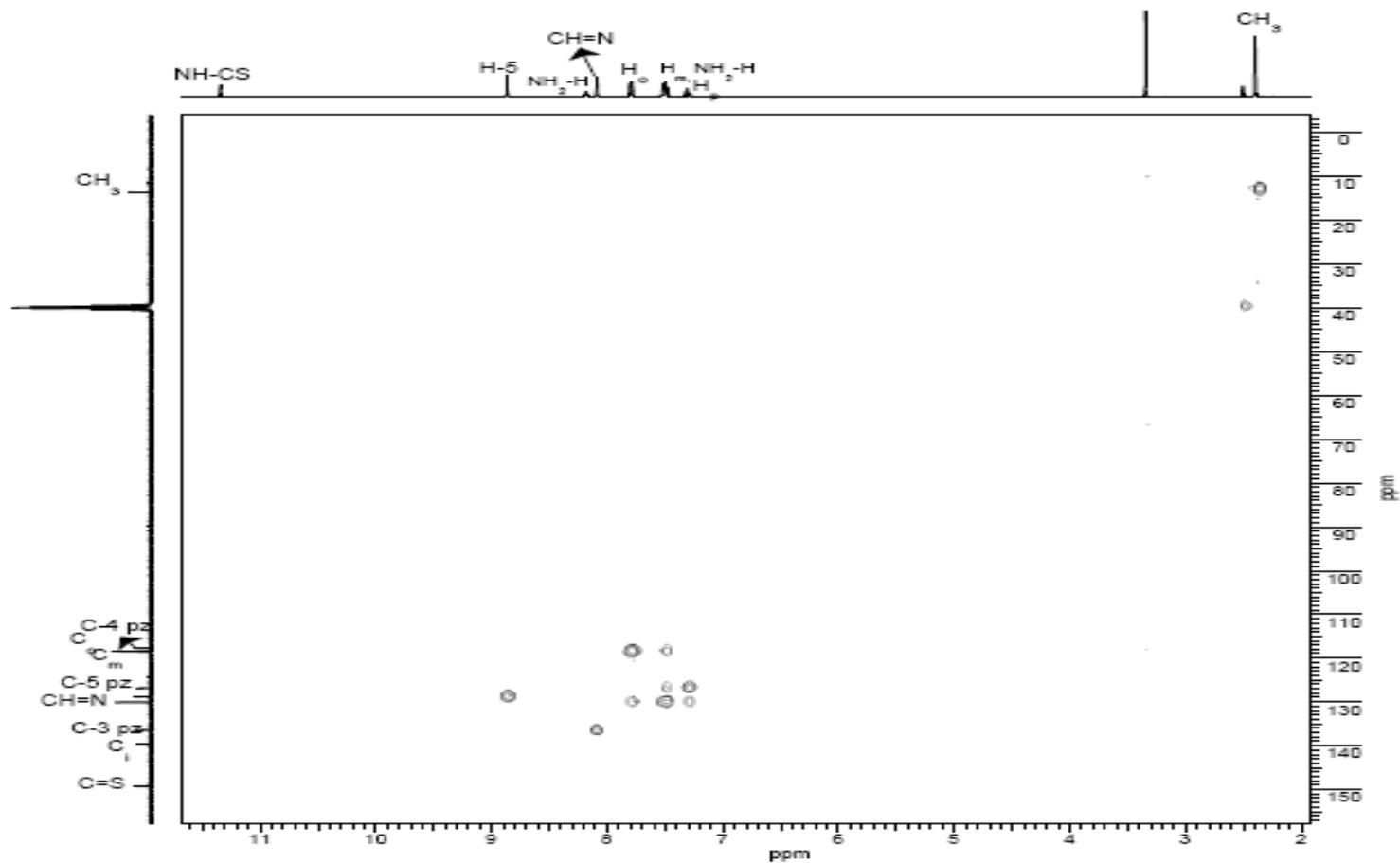
Anexo C-1. Espectro RMN ^1H del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)



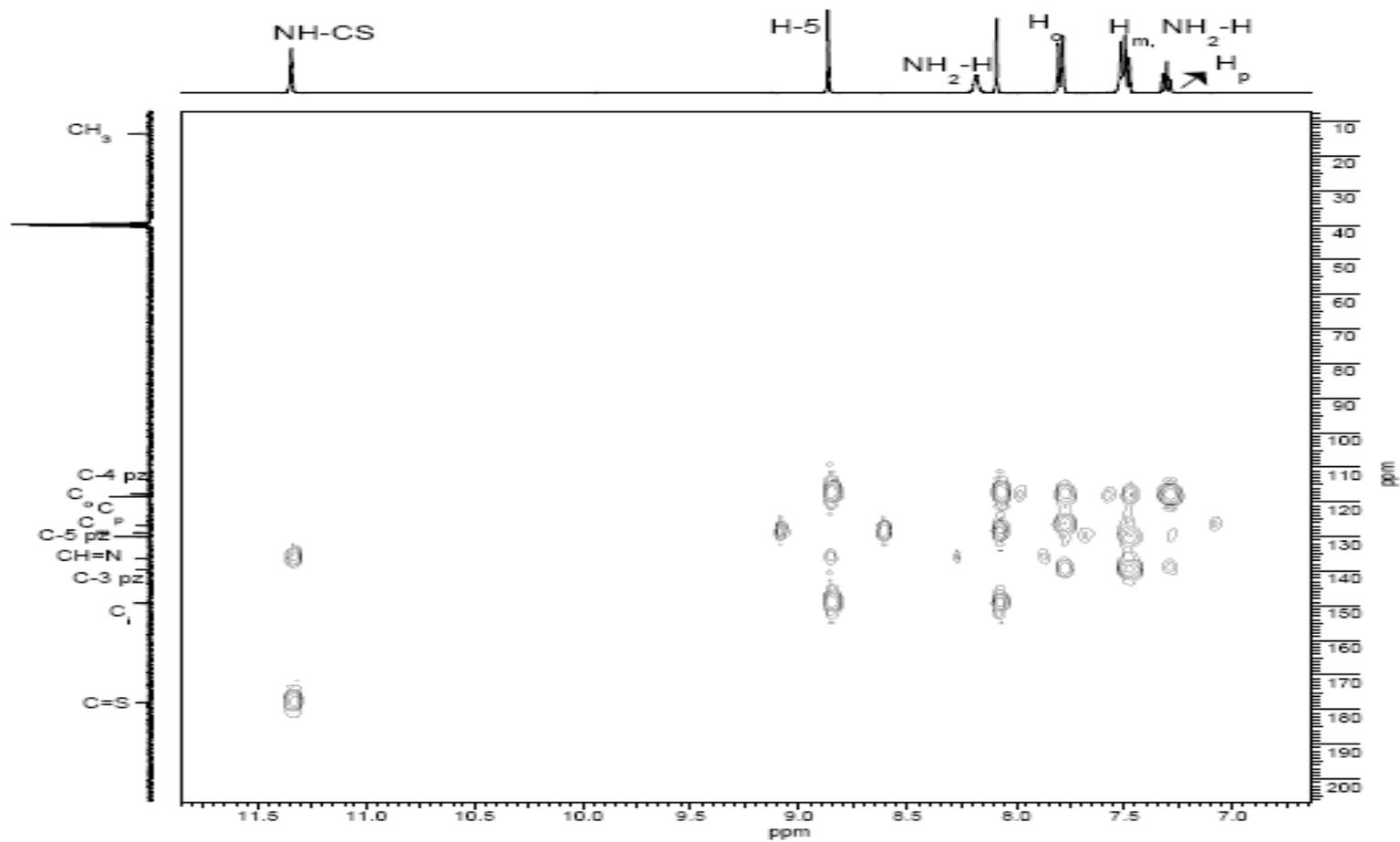
Anexo C-2. Espectro RMN ^{13}C del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)



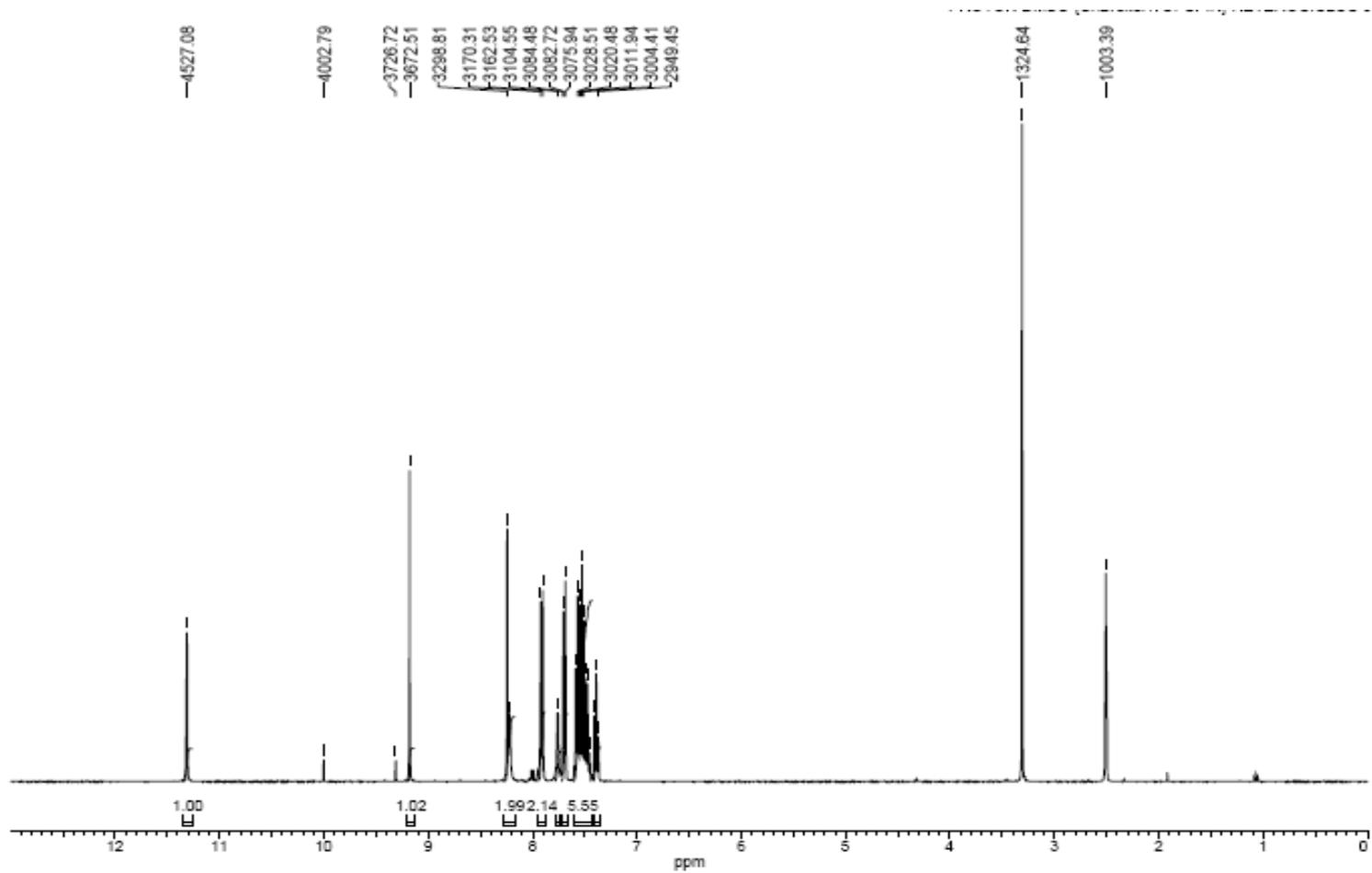
Anexo C-3. Espectro DEPT 135 del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)



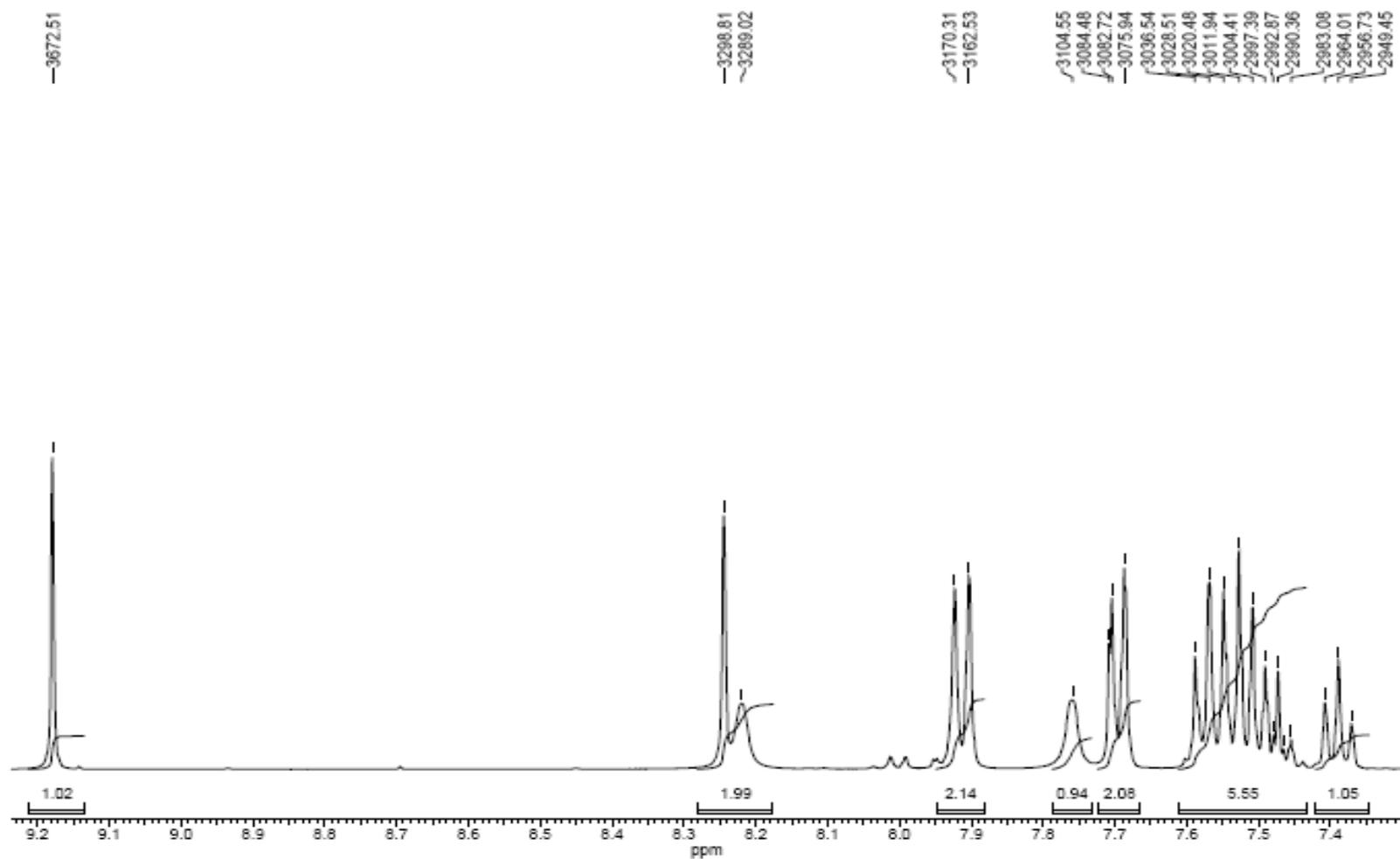
Anexo C-4. Espectro HSQC del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)

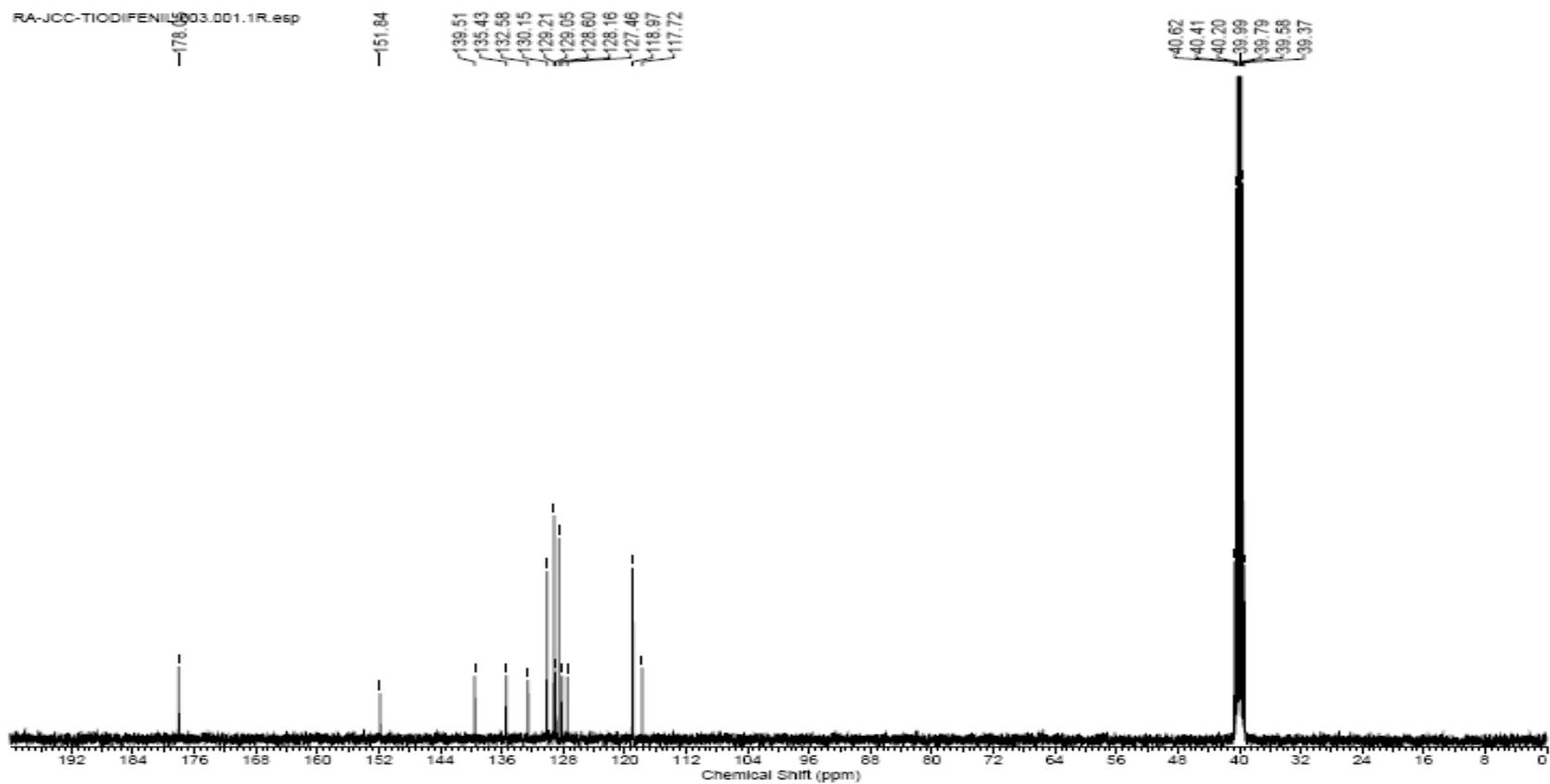


Anexo C-5. Espectro HMBC del ligante 3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehido tiosemicarbazona (MePhPzTSC)

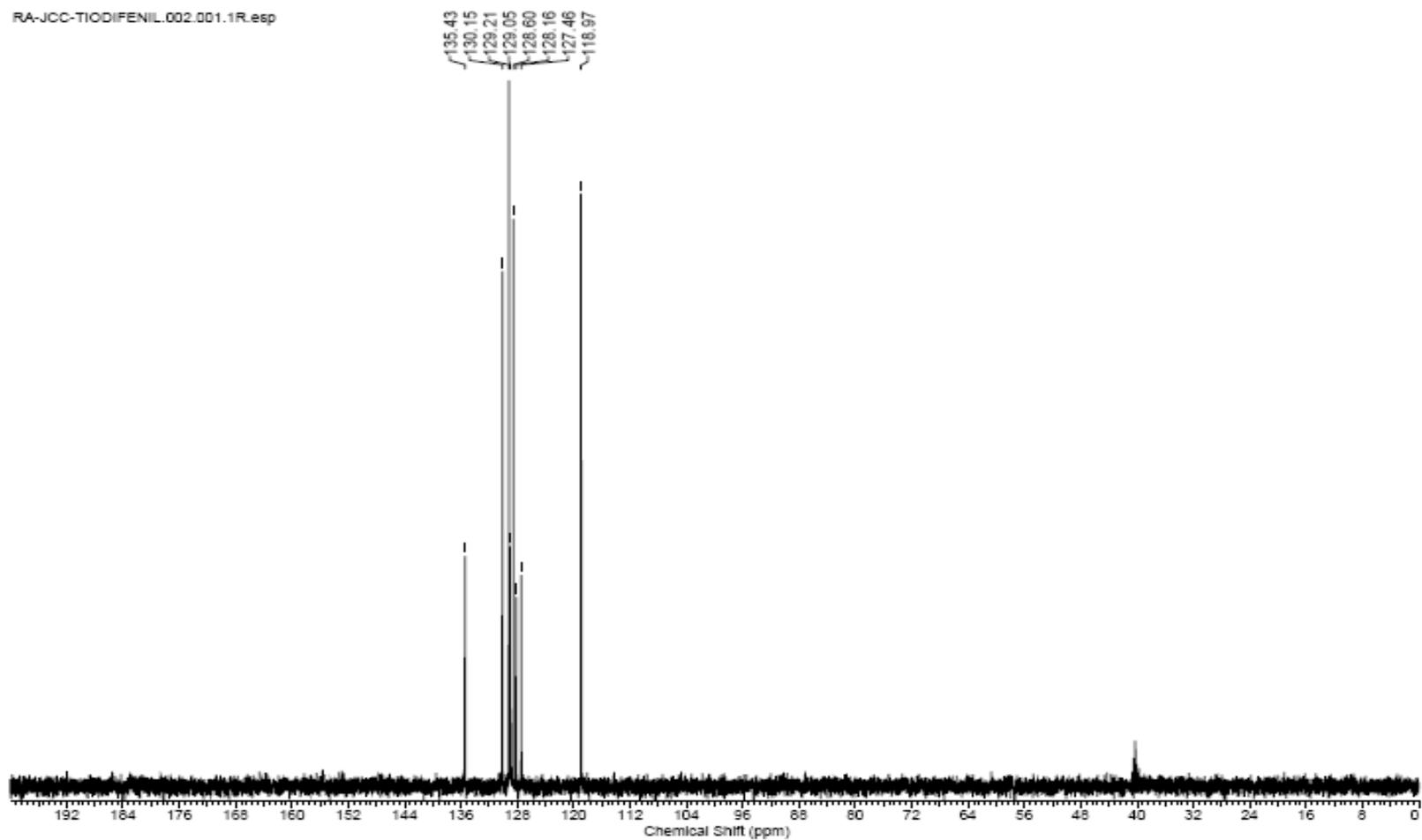


Anexo C-6. Espectro RMN ¹H del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph₂PzTSC)



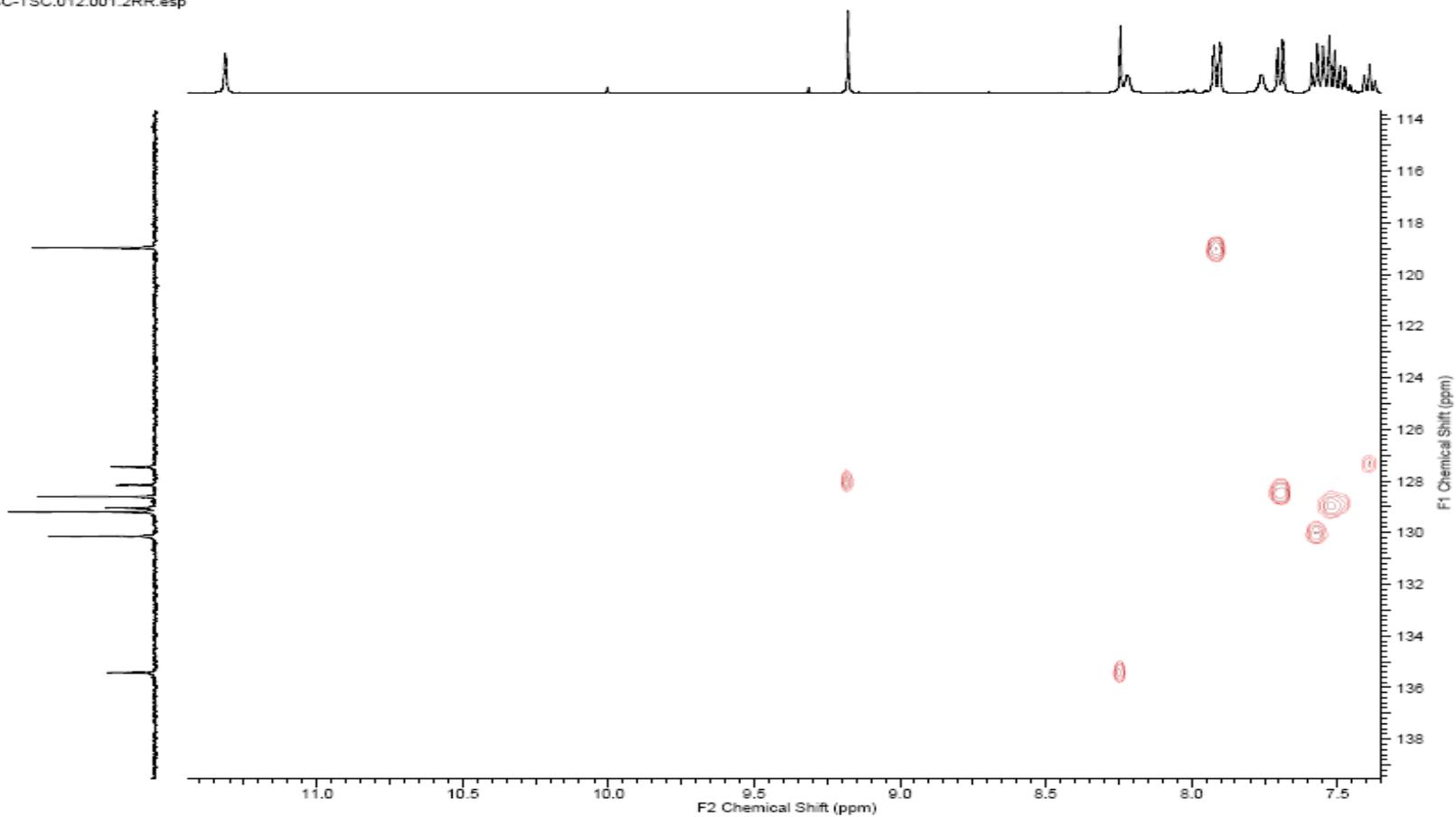


Anexo C-7. Espectro RMN ^{13}C del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)

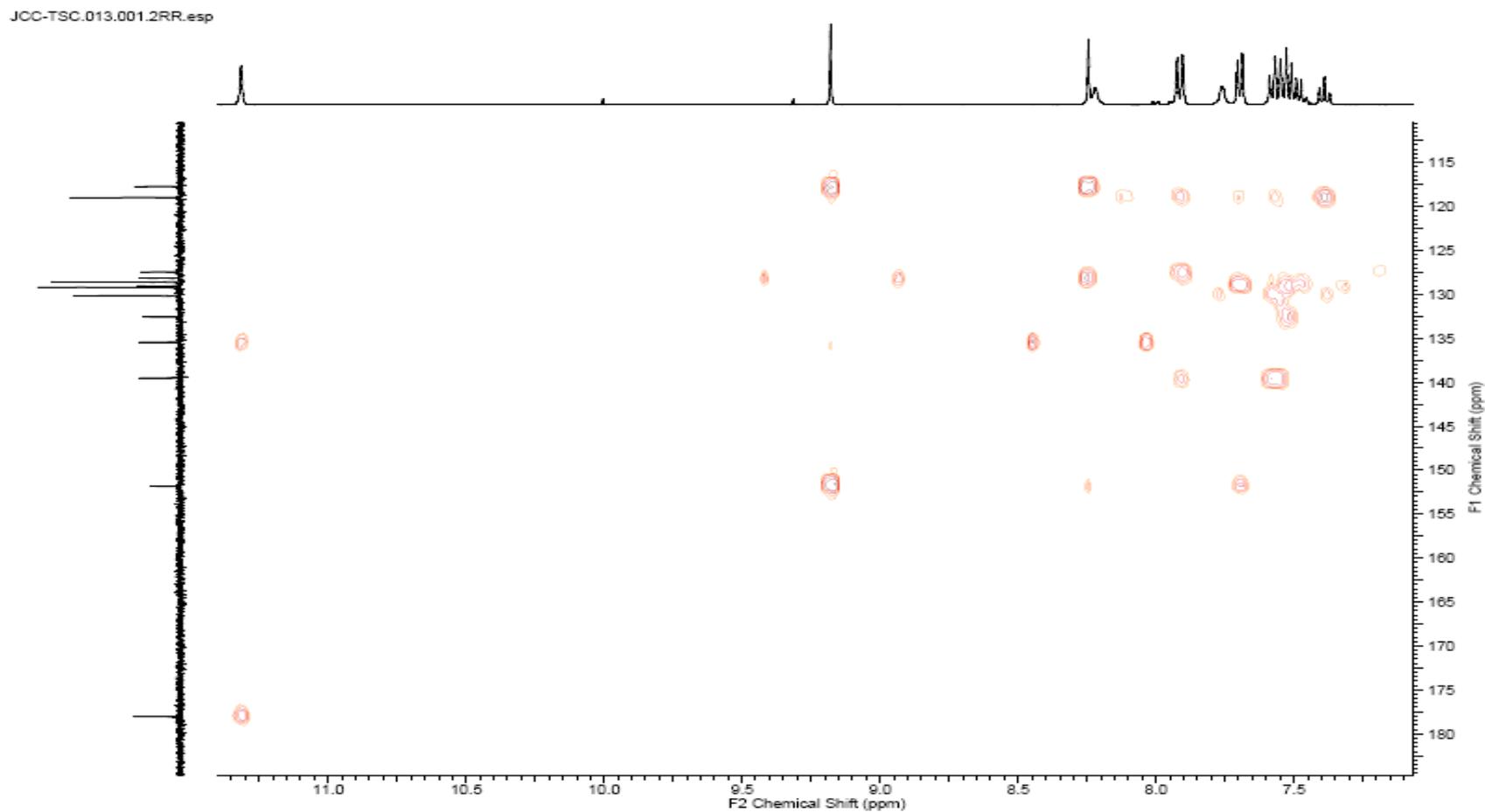


Anexo C-8. Espectro DEPT 135 del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)

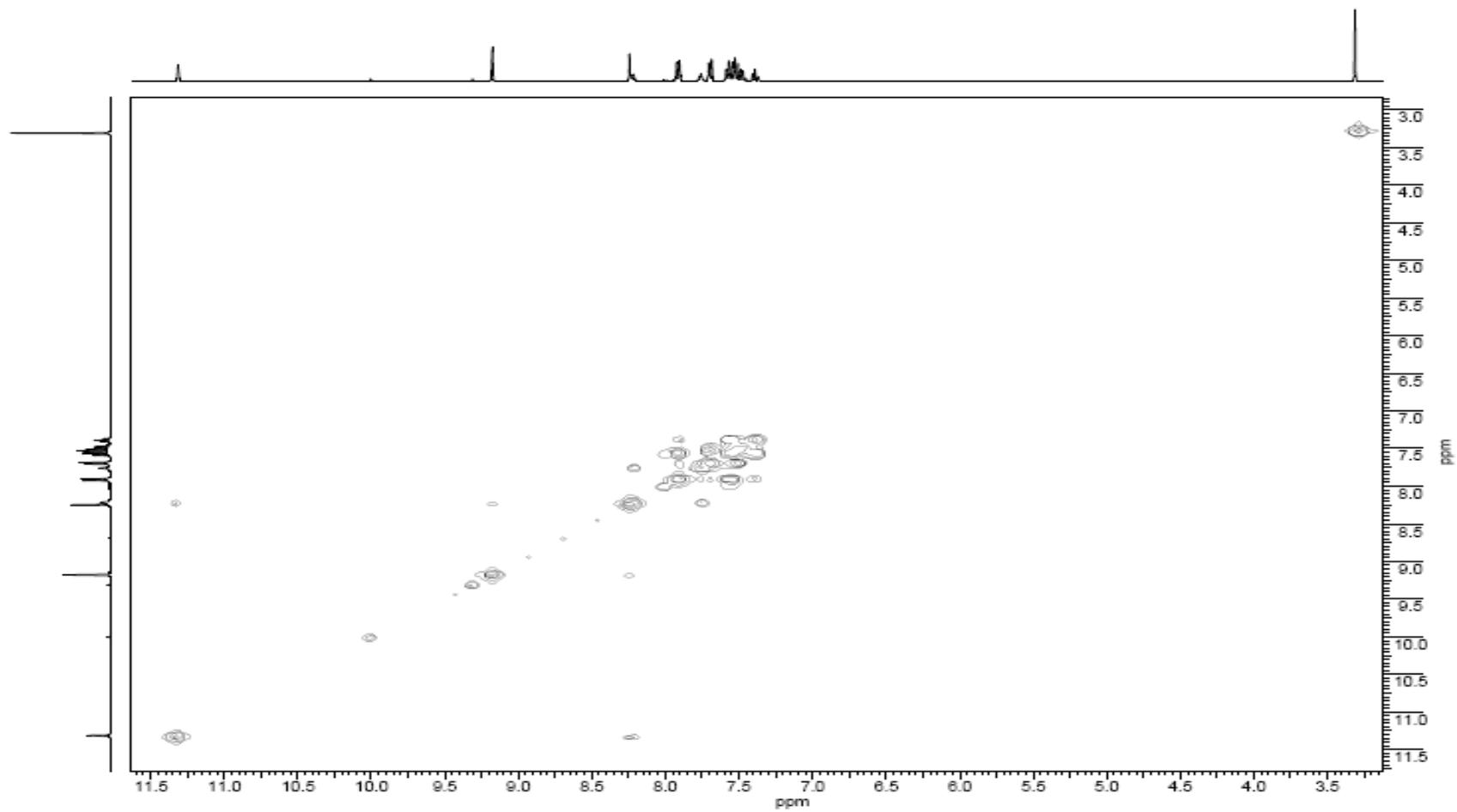
JCC-TSC.012.001.2RR.esp



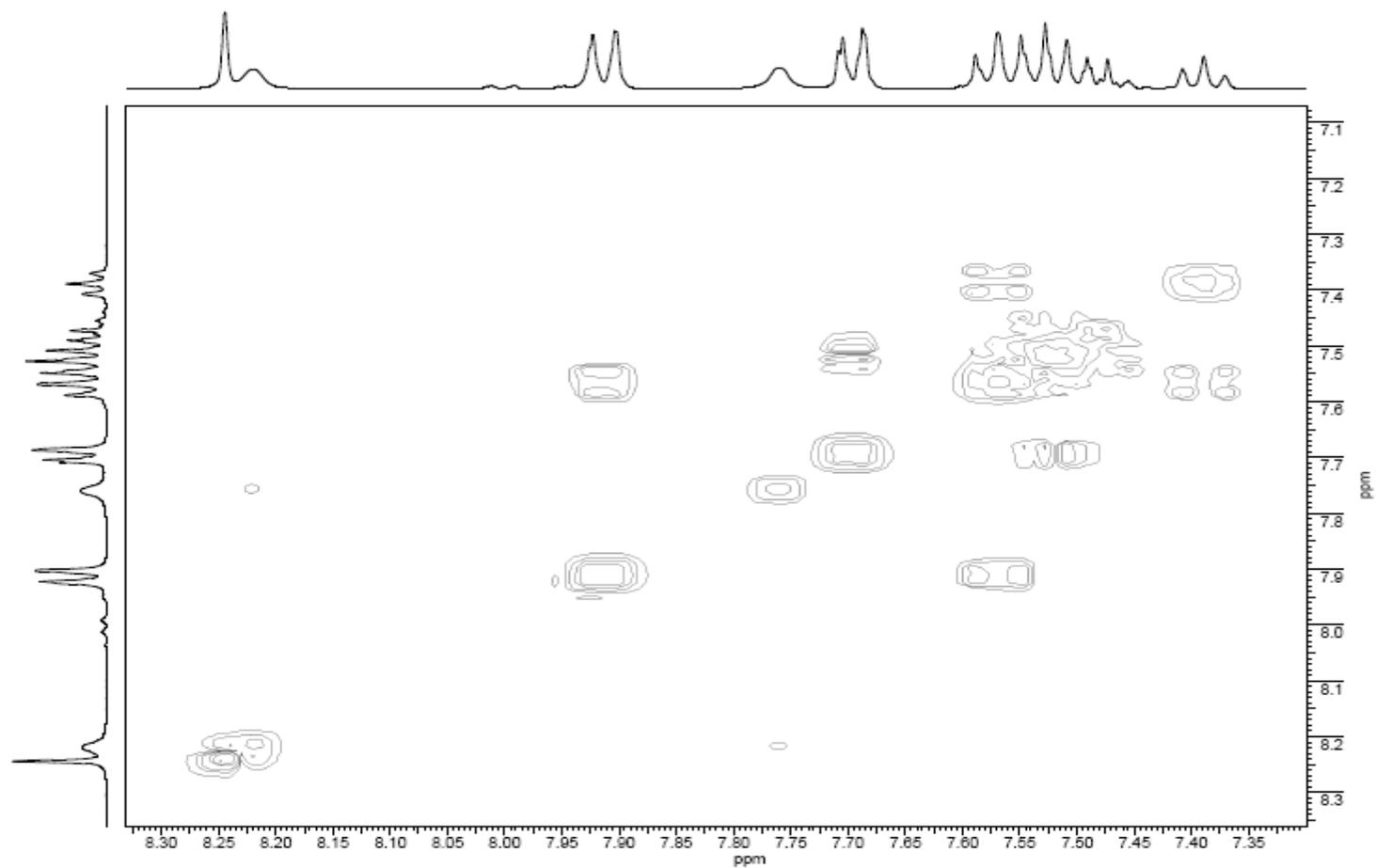
Anexo C-9. Espectro HSQC del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph₂PzTSC)



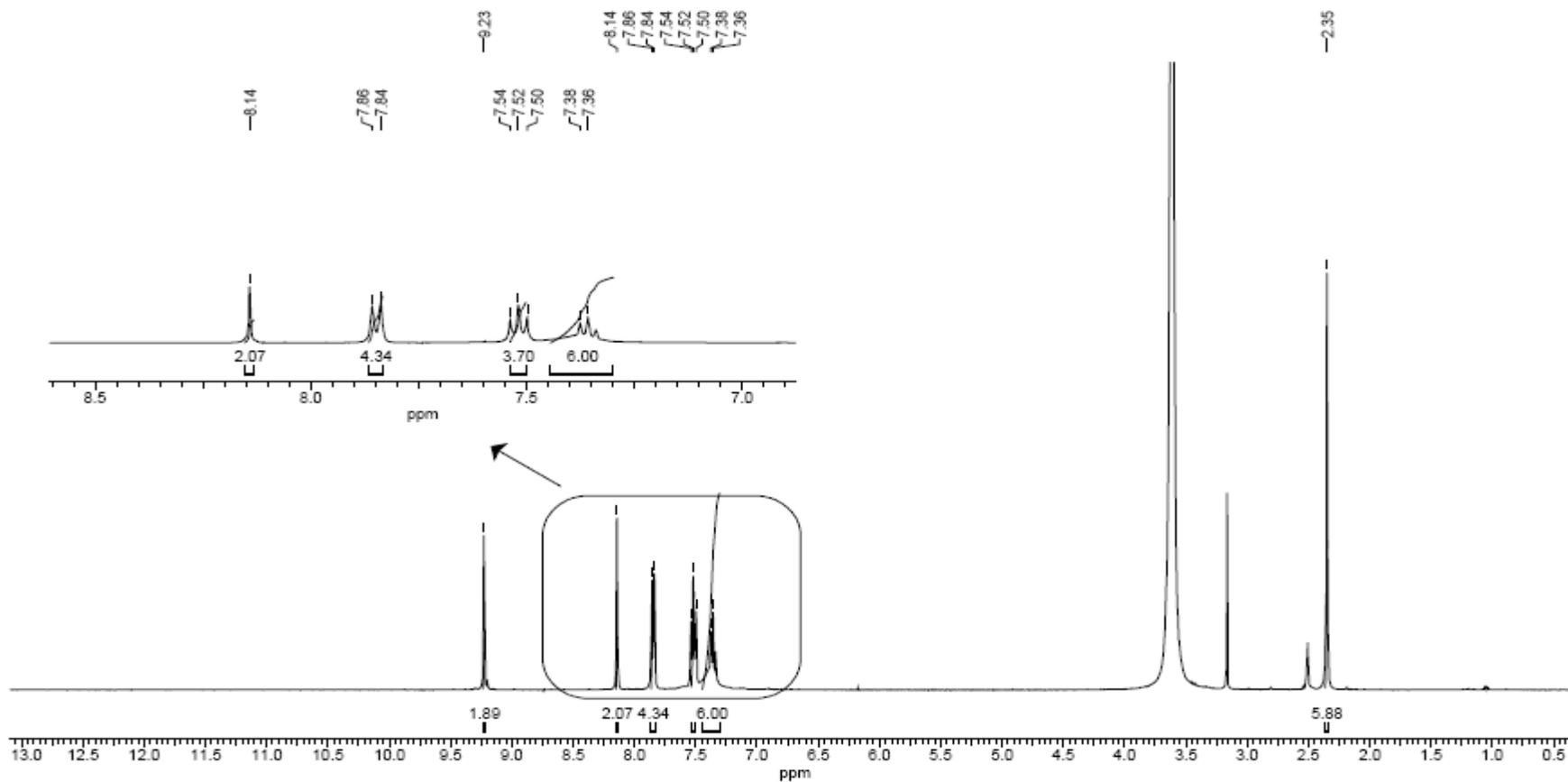
Anexo C-10. Espectro HMBC del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)



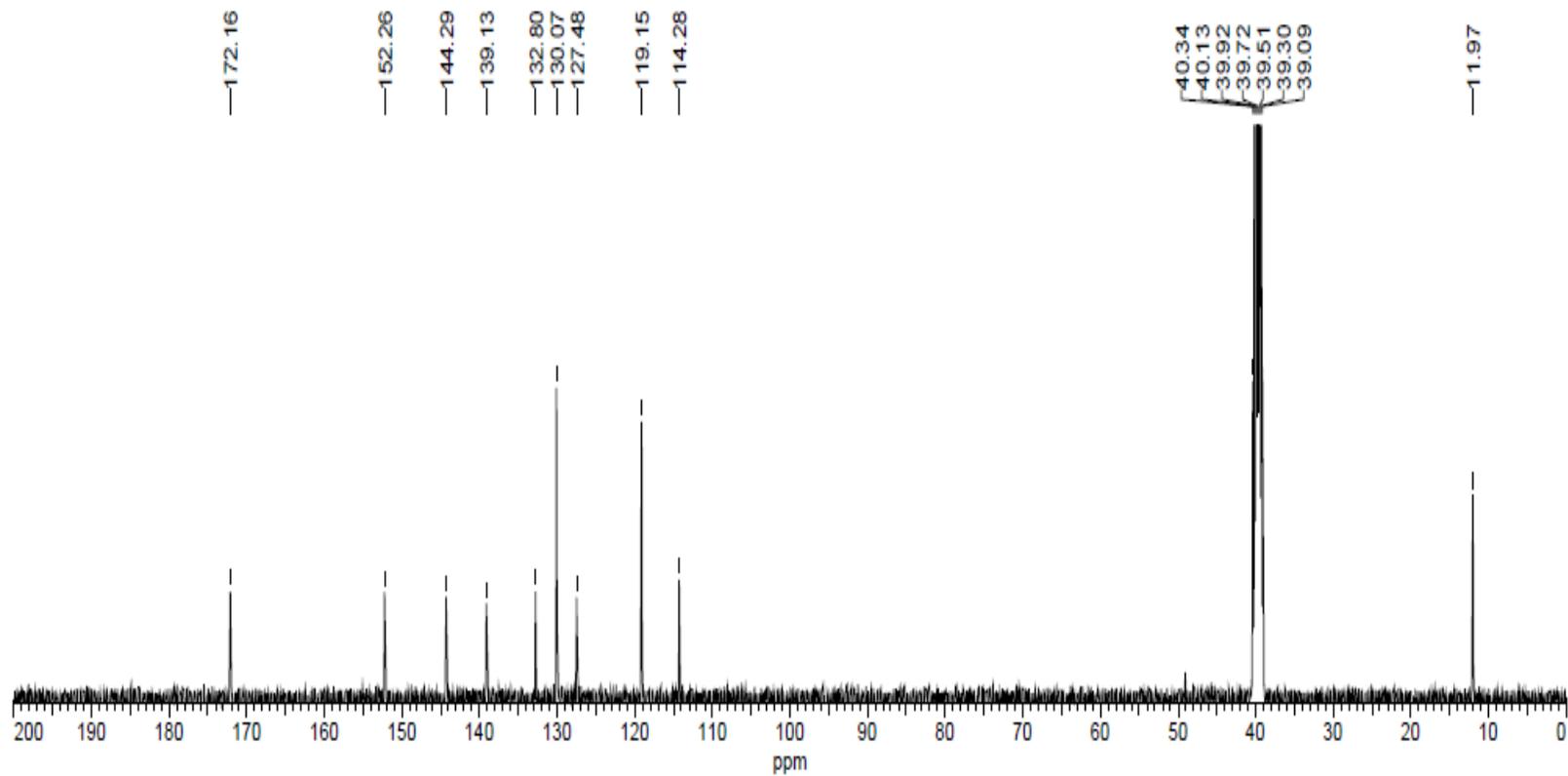
Anexo C-11. Espectro COSY ^1H - ^1H del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)



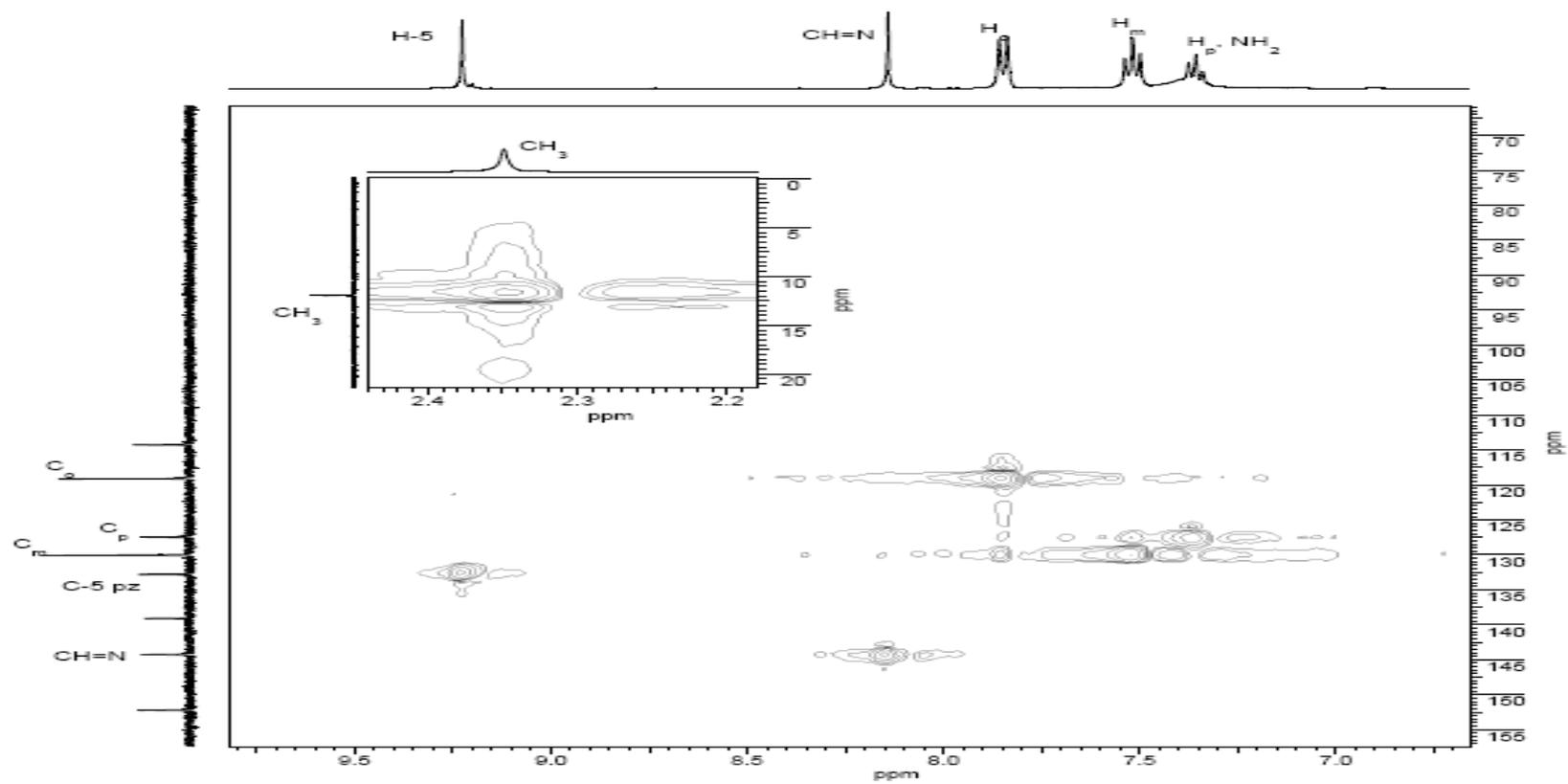
Anexo C-11. Espectro COSY ^1H - ^1H (ampliación) del ligante del ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehido (Ph_2PzTSC)



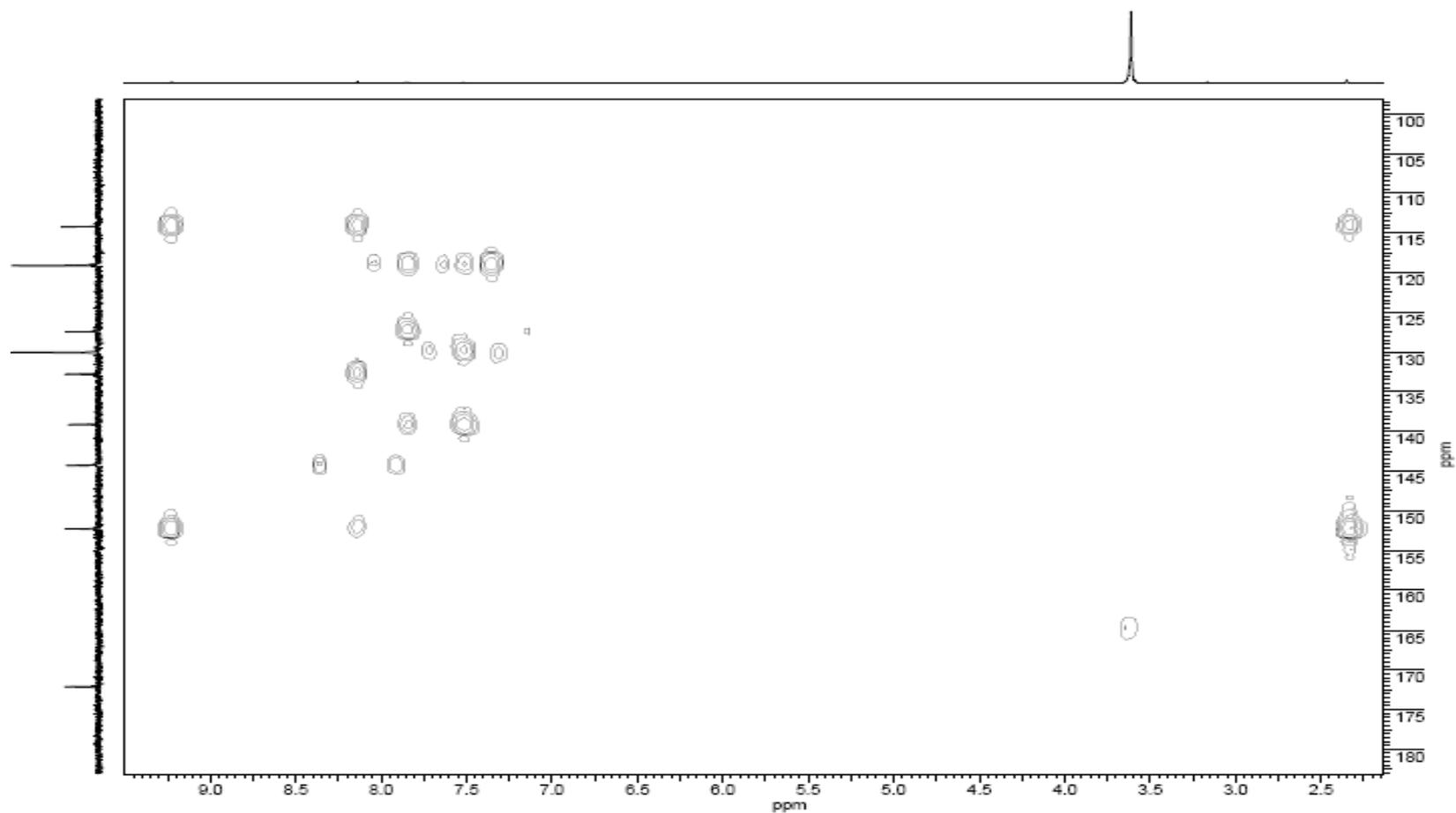
Anexo C-12. Espectro RMN ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



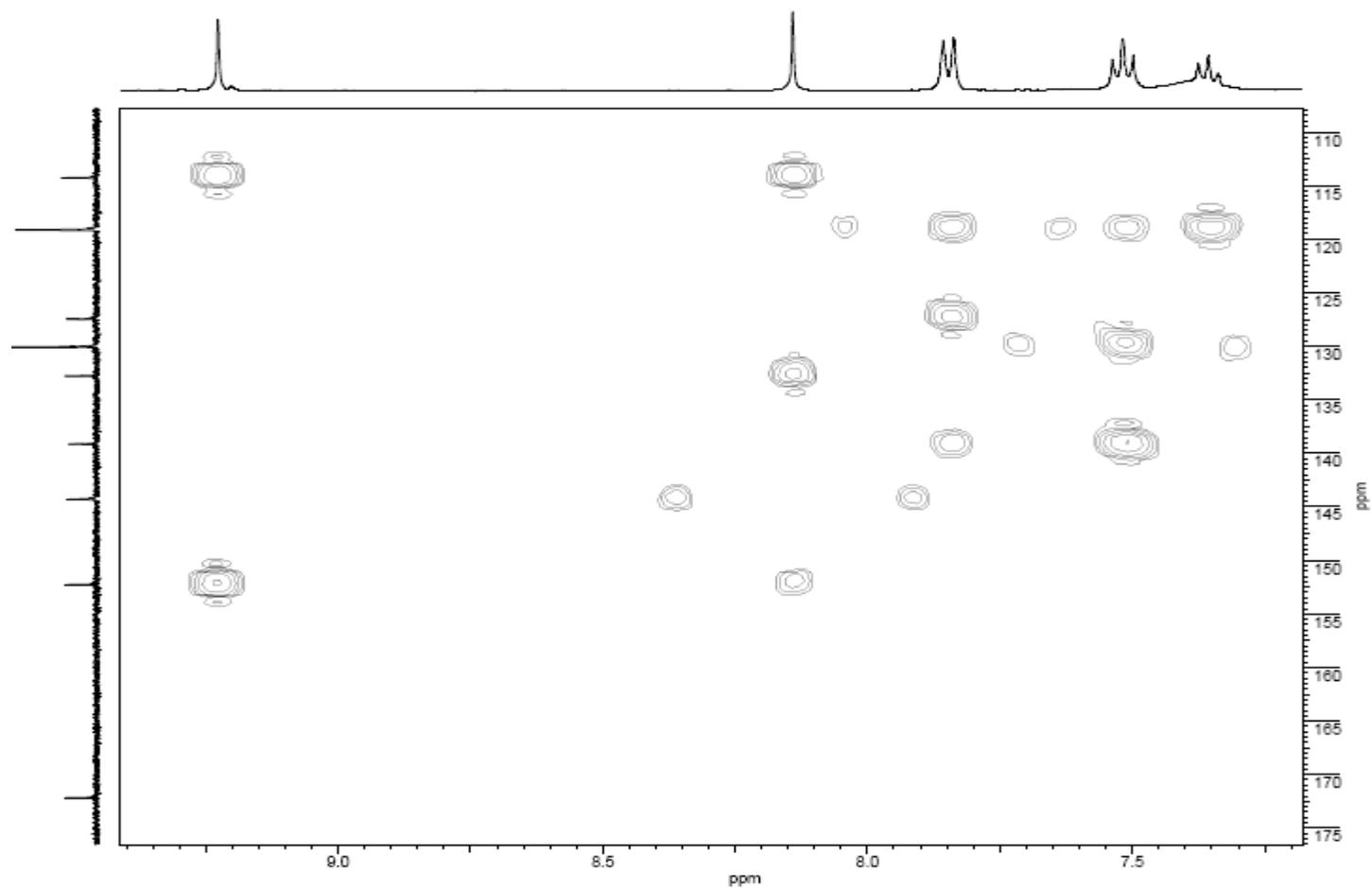
Anexo C-13. Espectro RMN ^{13}C del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



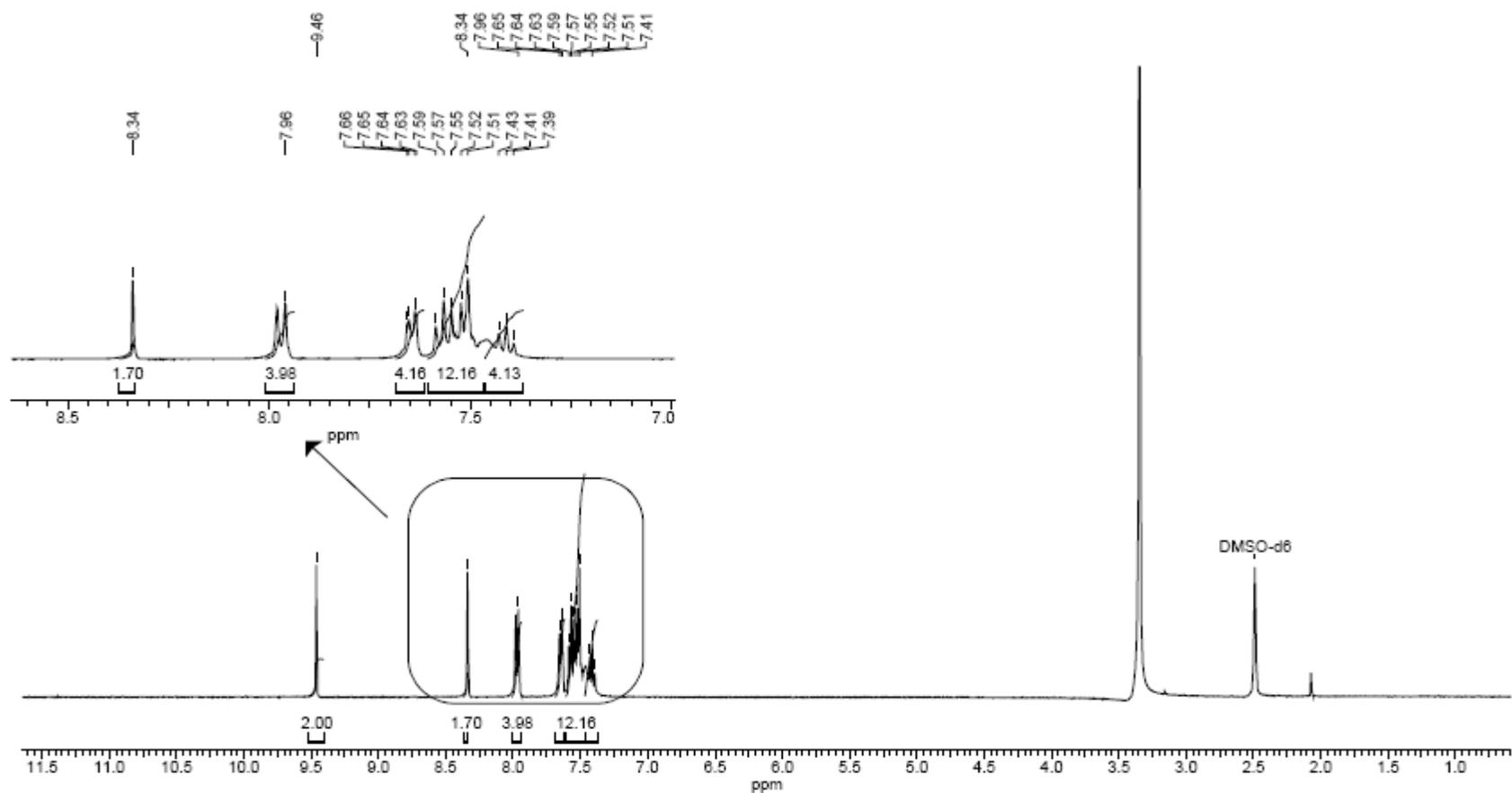
Anexo C-14. Espectro HSQC del complejo $[Pd(MePhPzTSC)_2]$



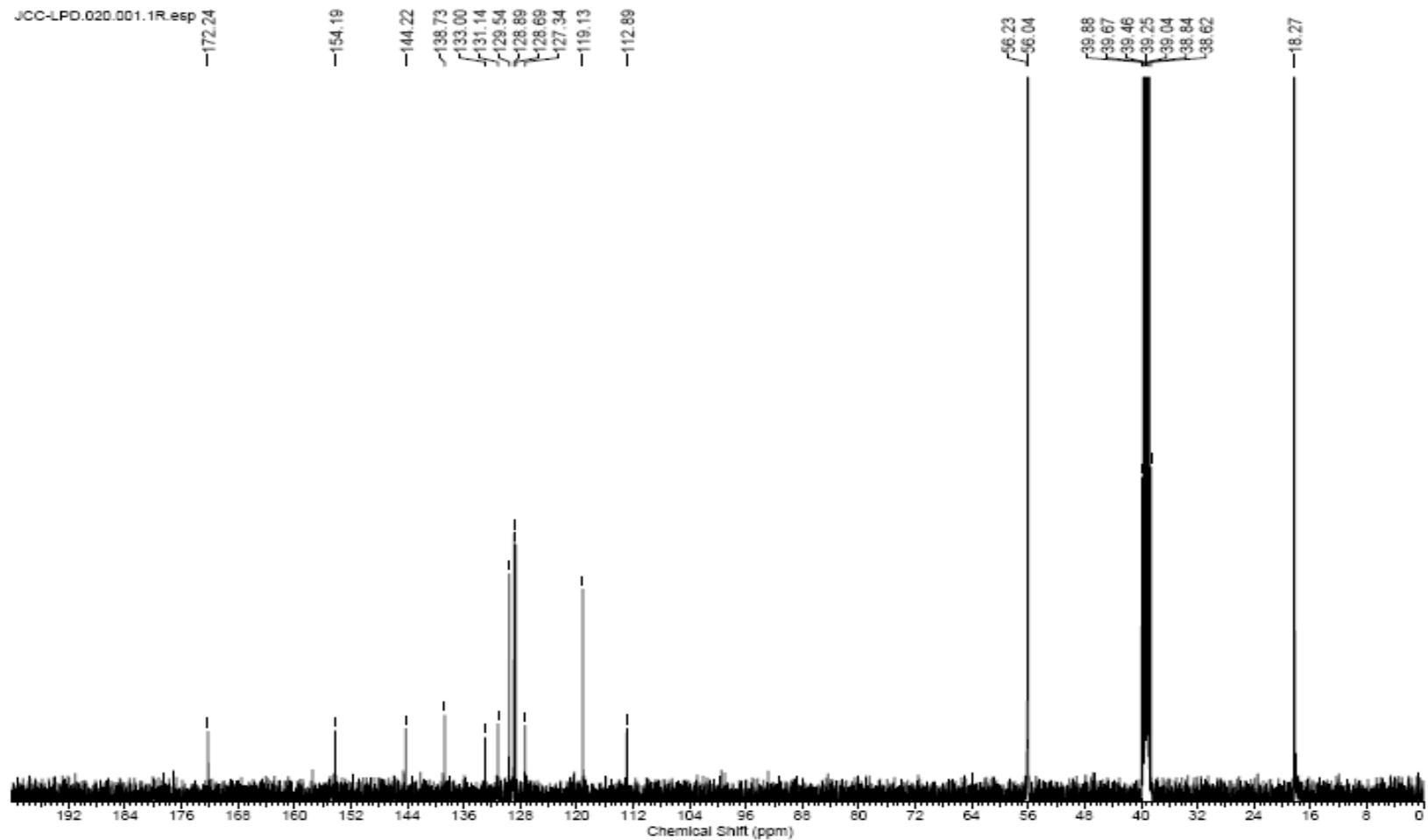
Anexo C-15. Espectro HMBC del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



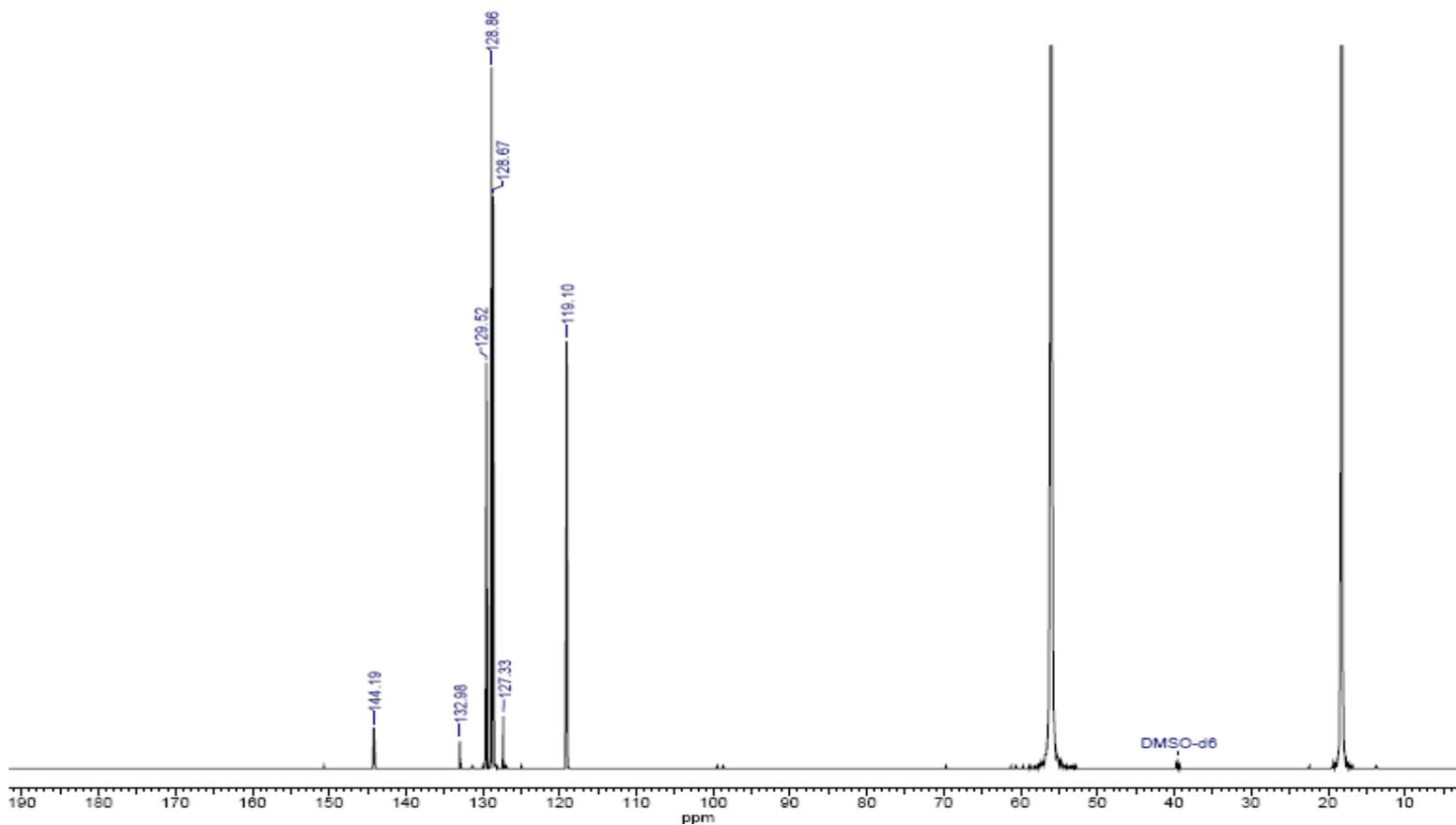
Anexo C-15. Espectro HMBC (ampliación) del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]



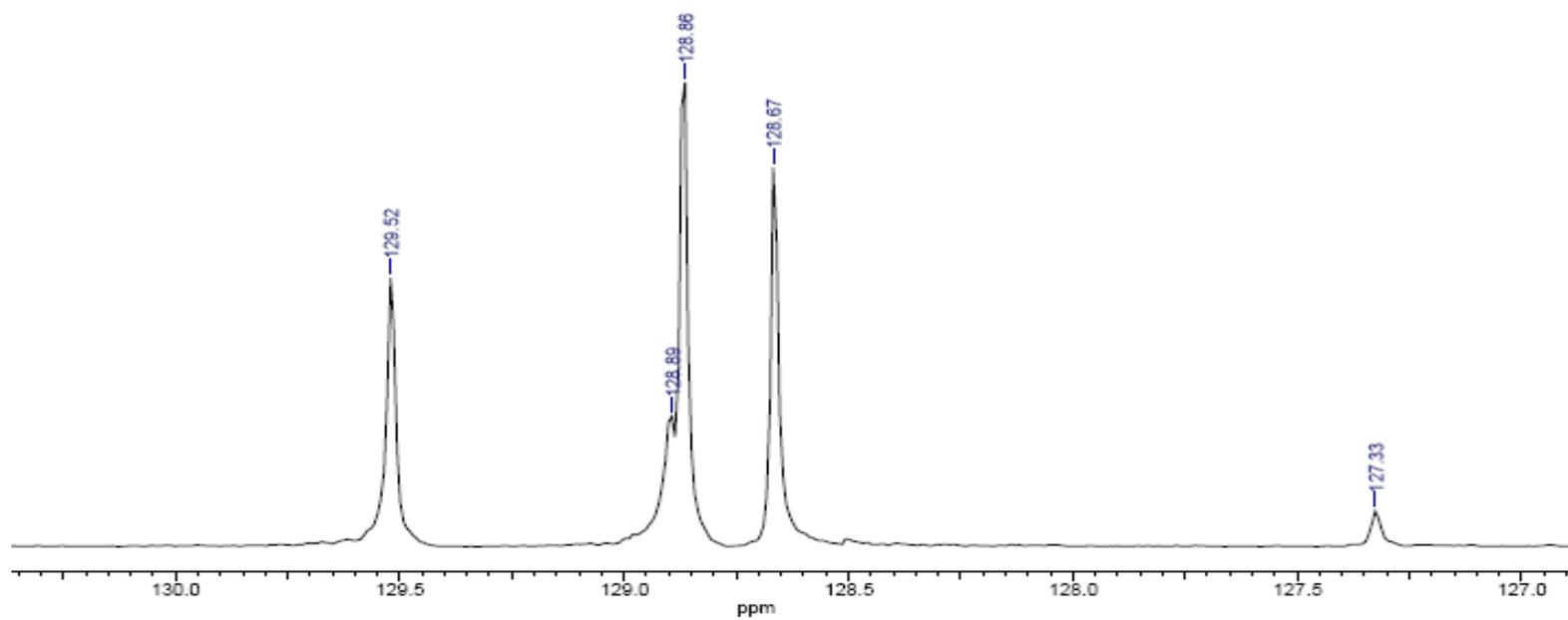
Anexo C-16. Espectro RMN ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



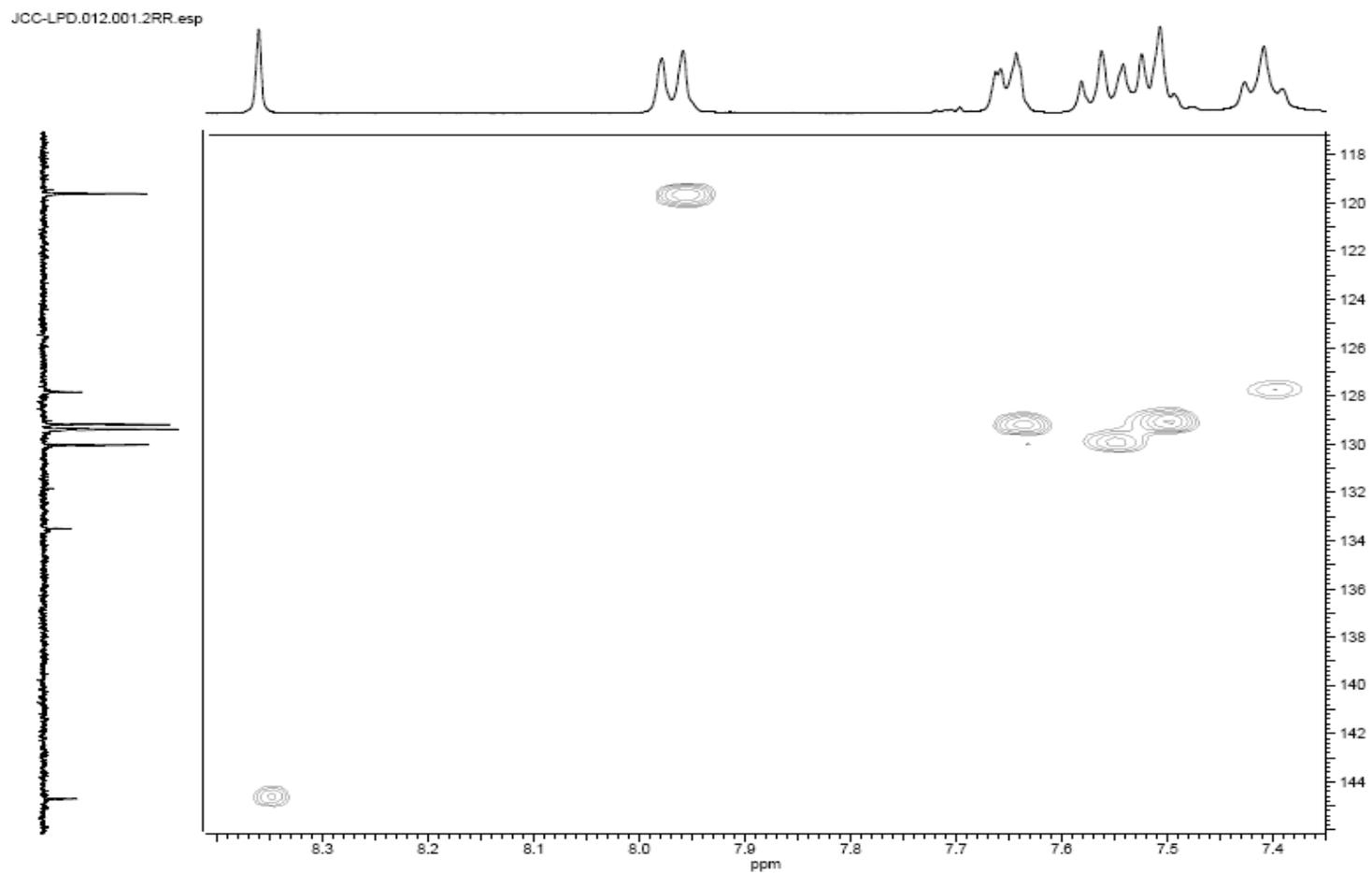
Anexo C-17. Espectro RMN ¹³C del complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂]



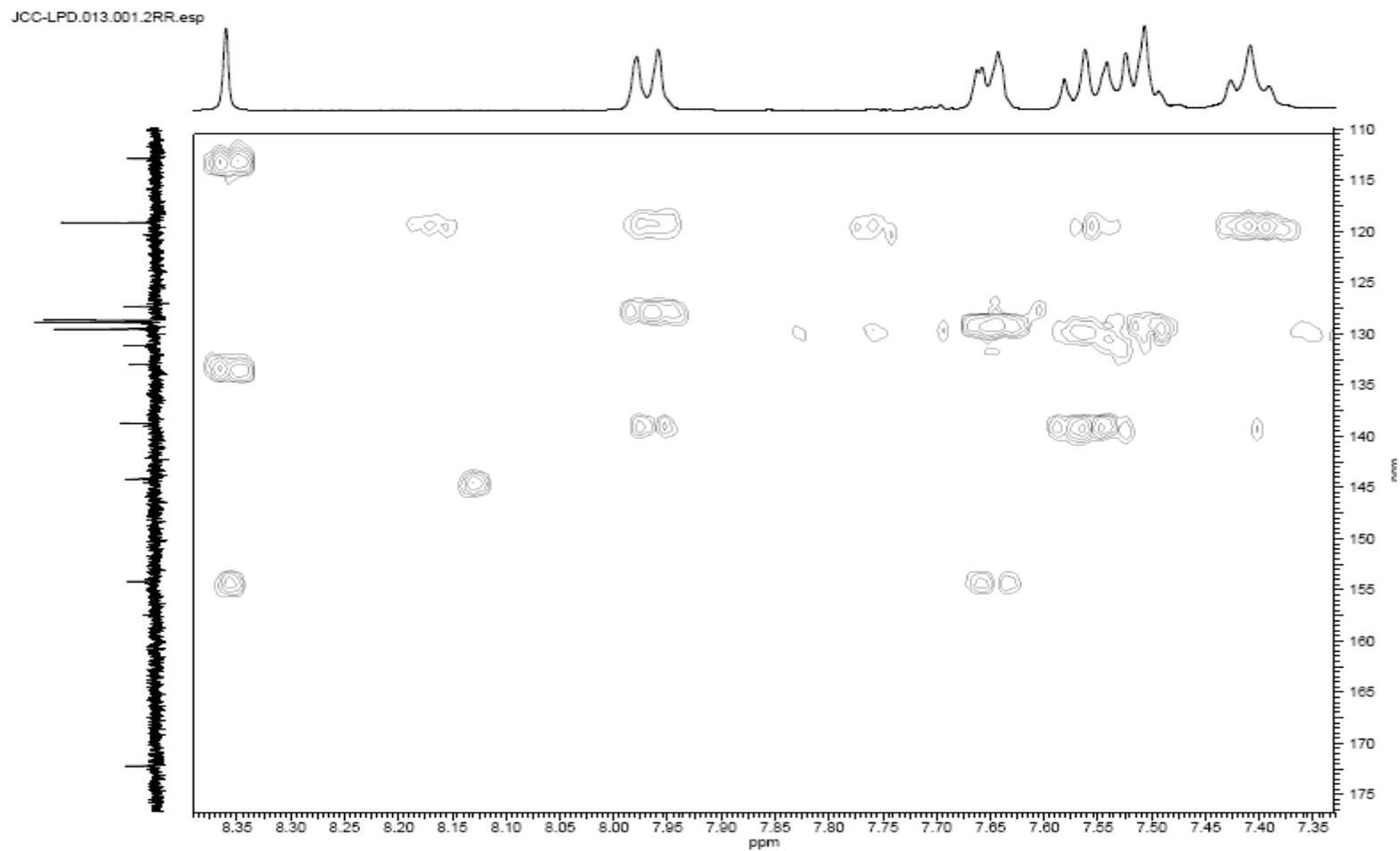
ANEXO C-18. Espectro DEPT 135 del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



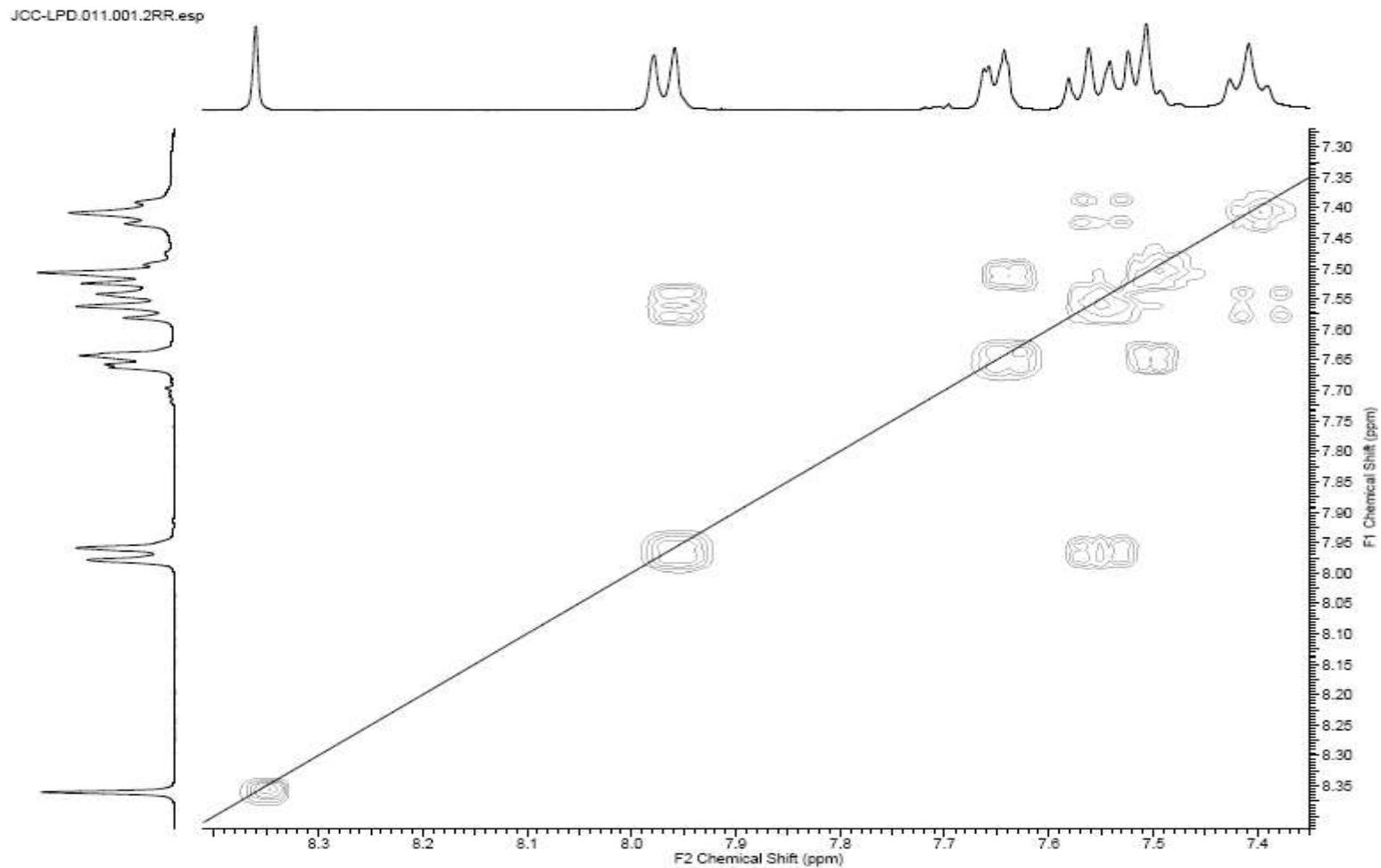
Anexo C-18. Espectro DEPT 135 (ampliación) del complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂]



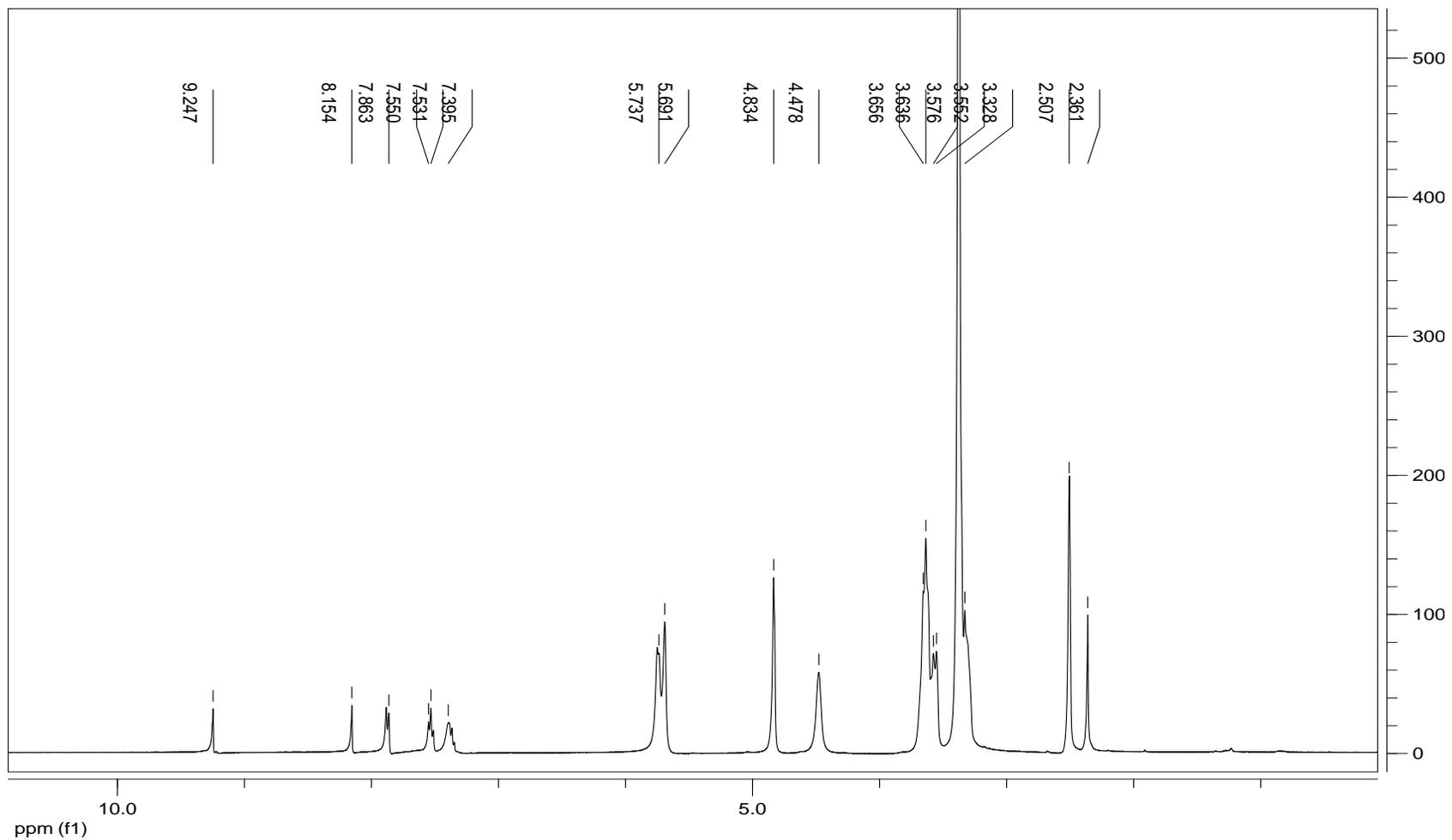
Anexo C-19. Espectro HSQC del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



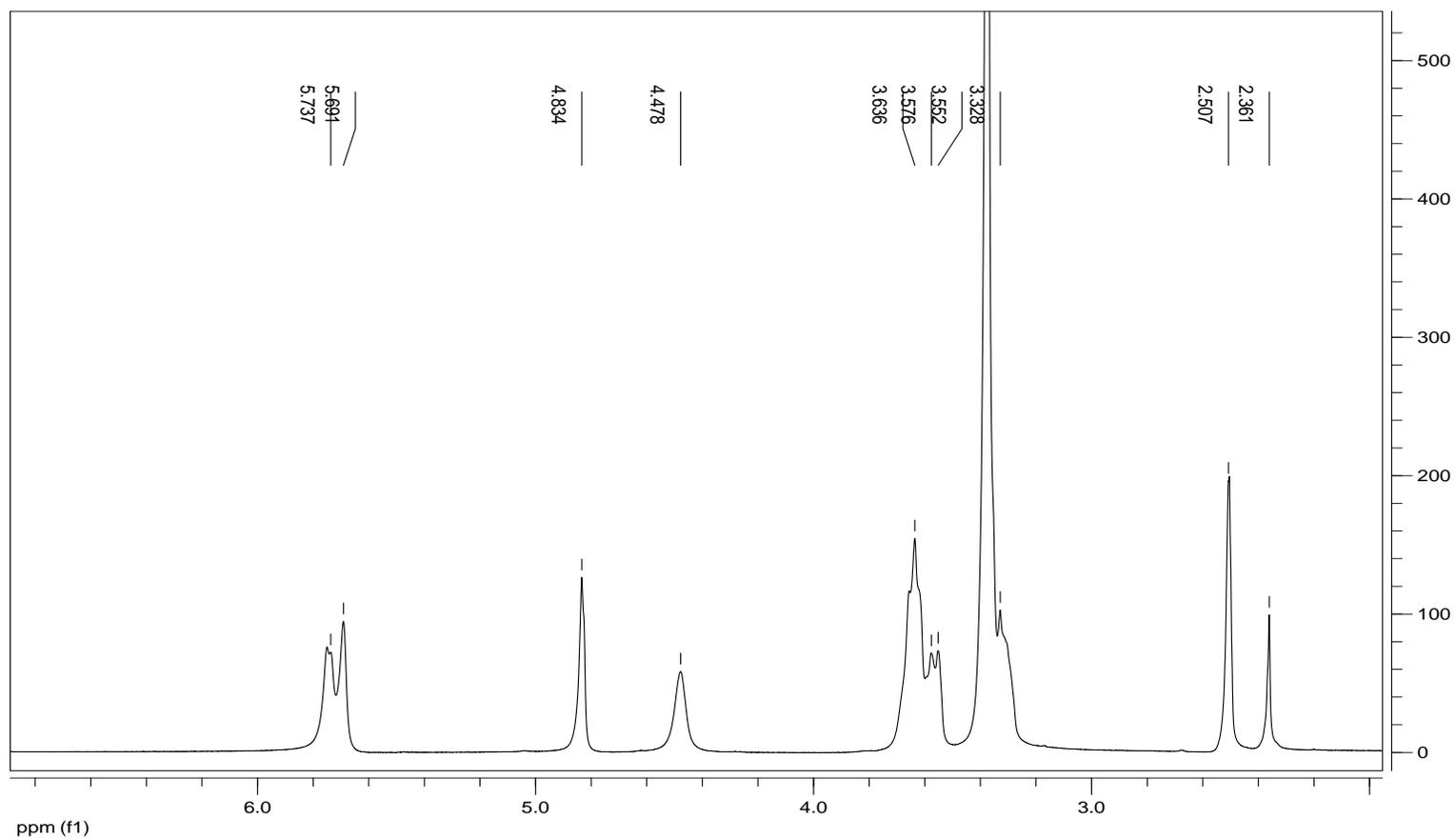
ANEXO C-20. Espectro HMBC del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



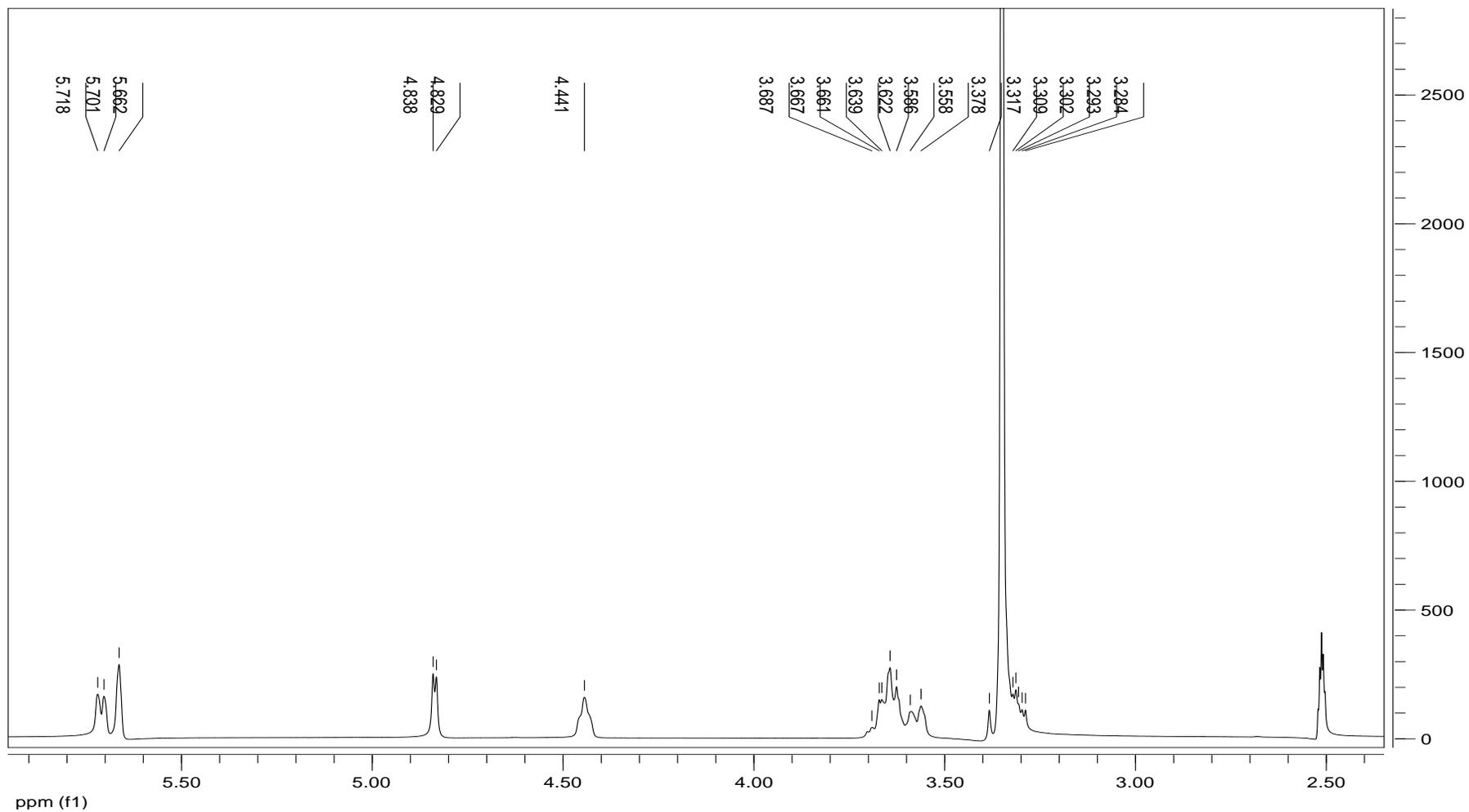
Anexo C-21. Espectro COSY ^1H - ^1H del complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



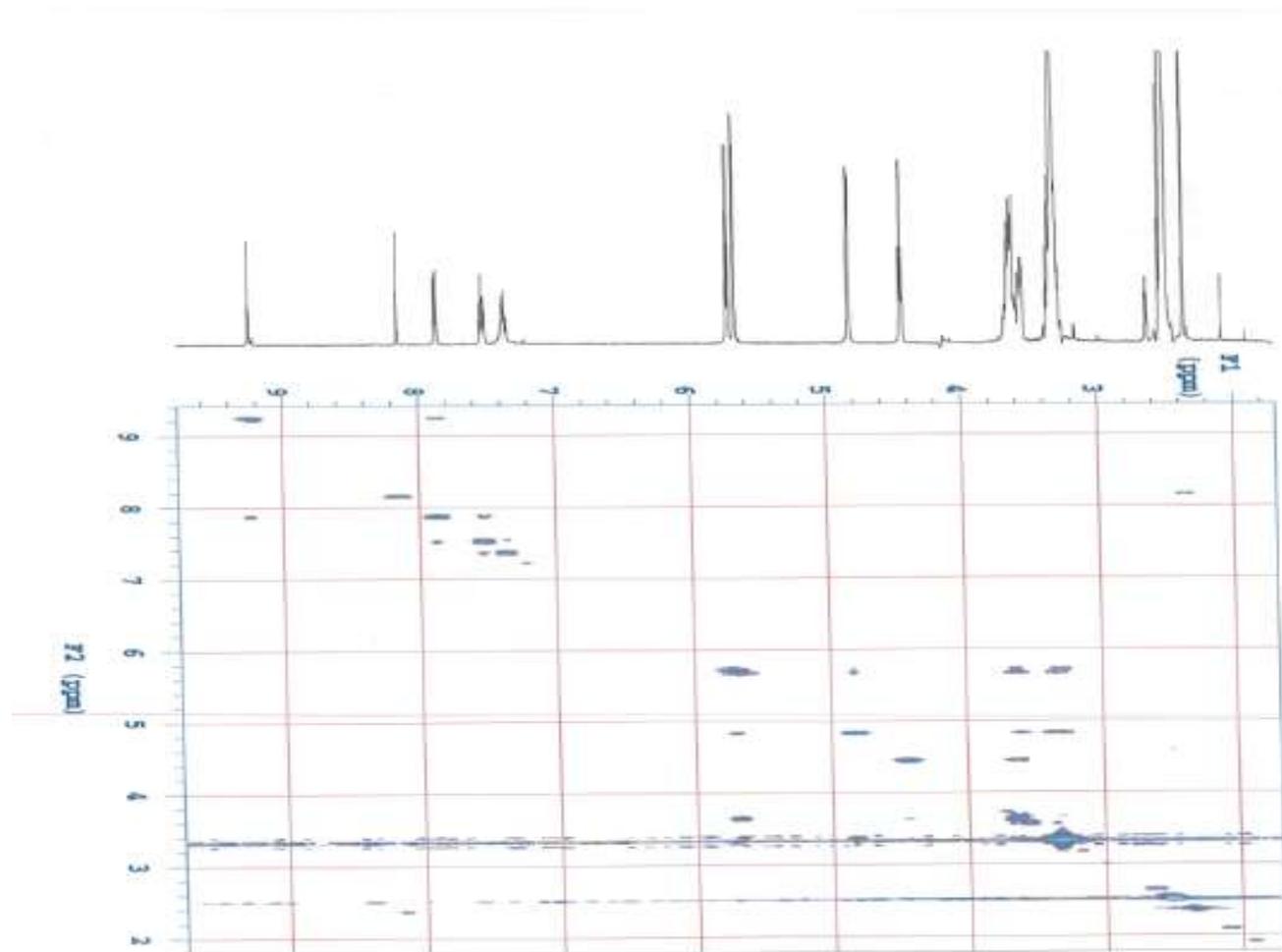
Anexo C-22. Espectro RMN ¹H del compuesto [Pd(MePhPzTSC)₂] \cdot β -CD



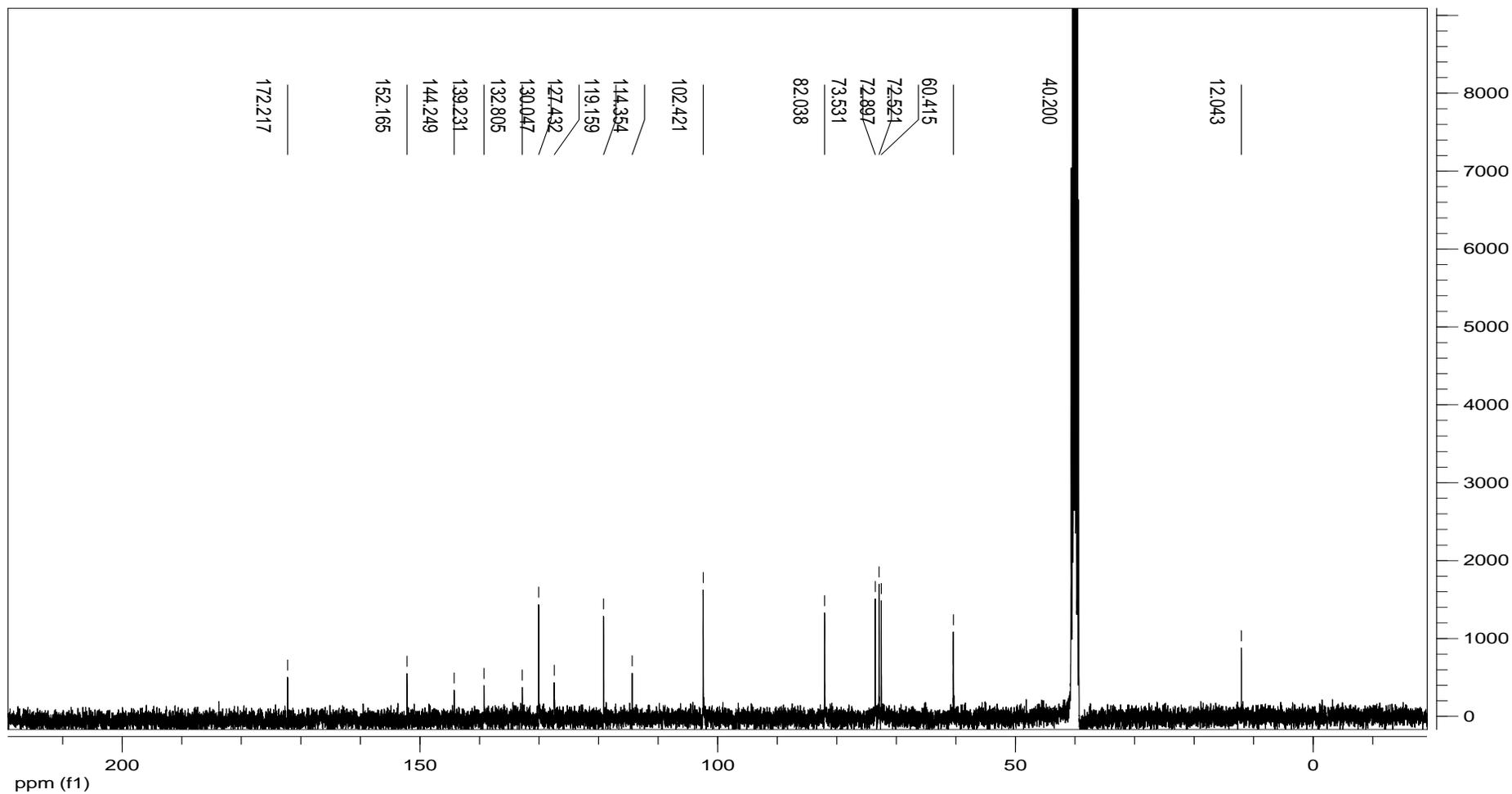
Anexo C-22. Espectro RMN ^1H (ampliación) de $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



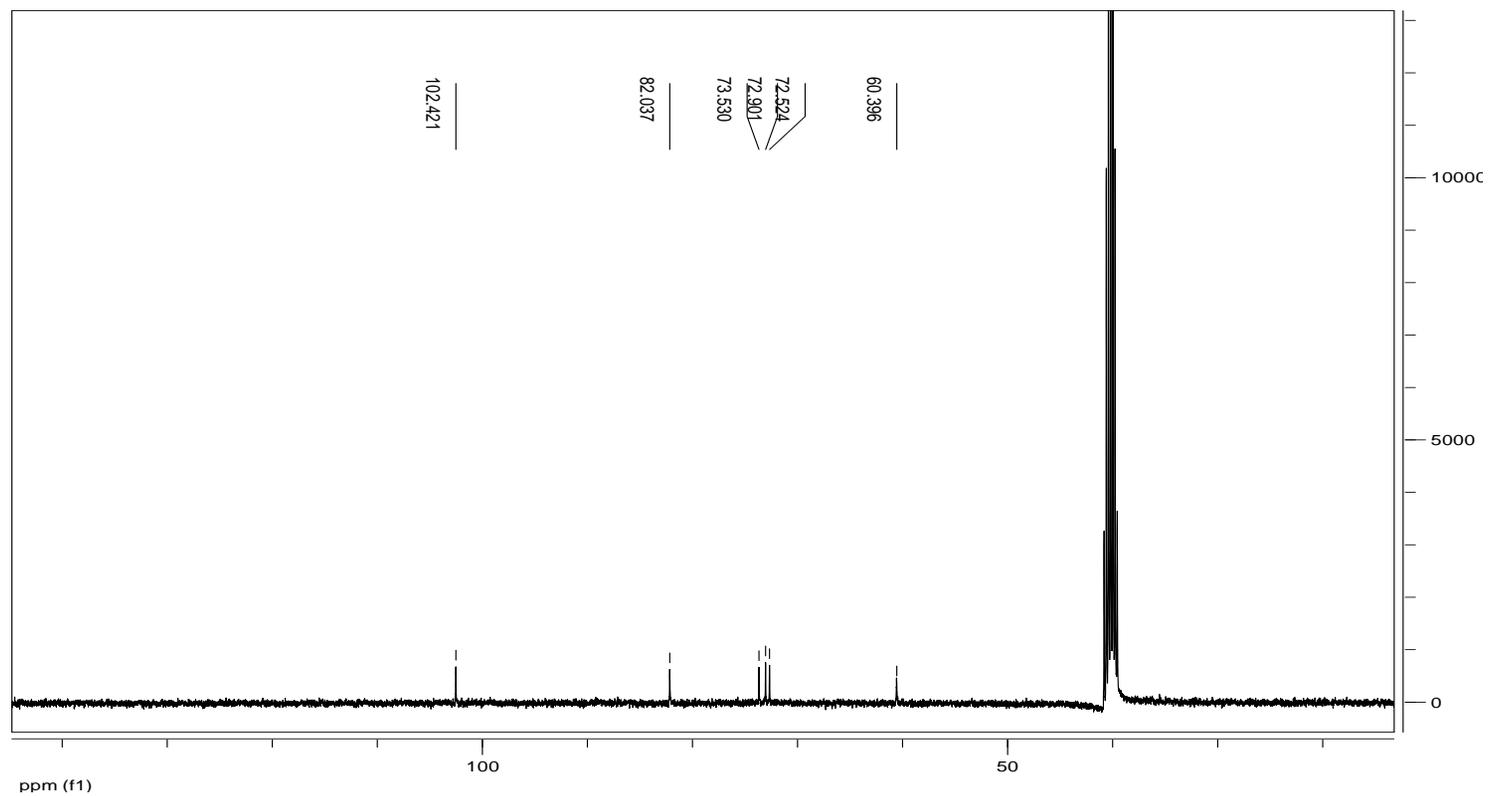
Anexo C-23. Espectro RMN ¹H de la ciclodextrina β-CD, en DMSO-d₆



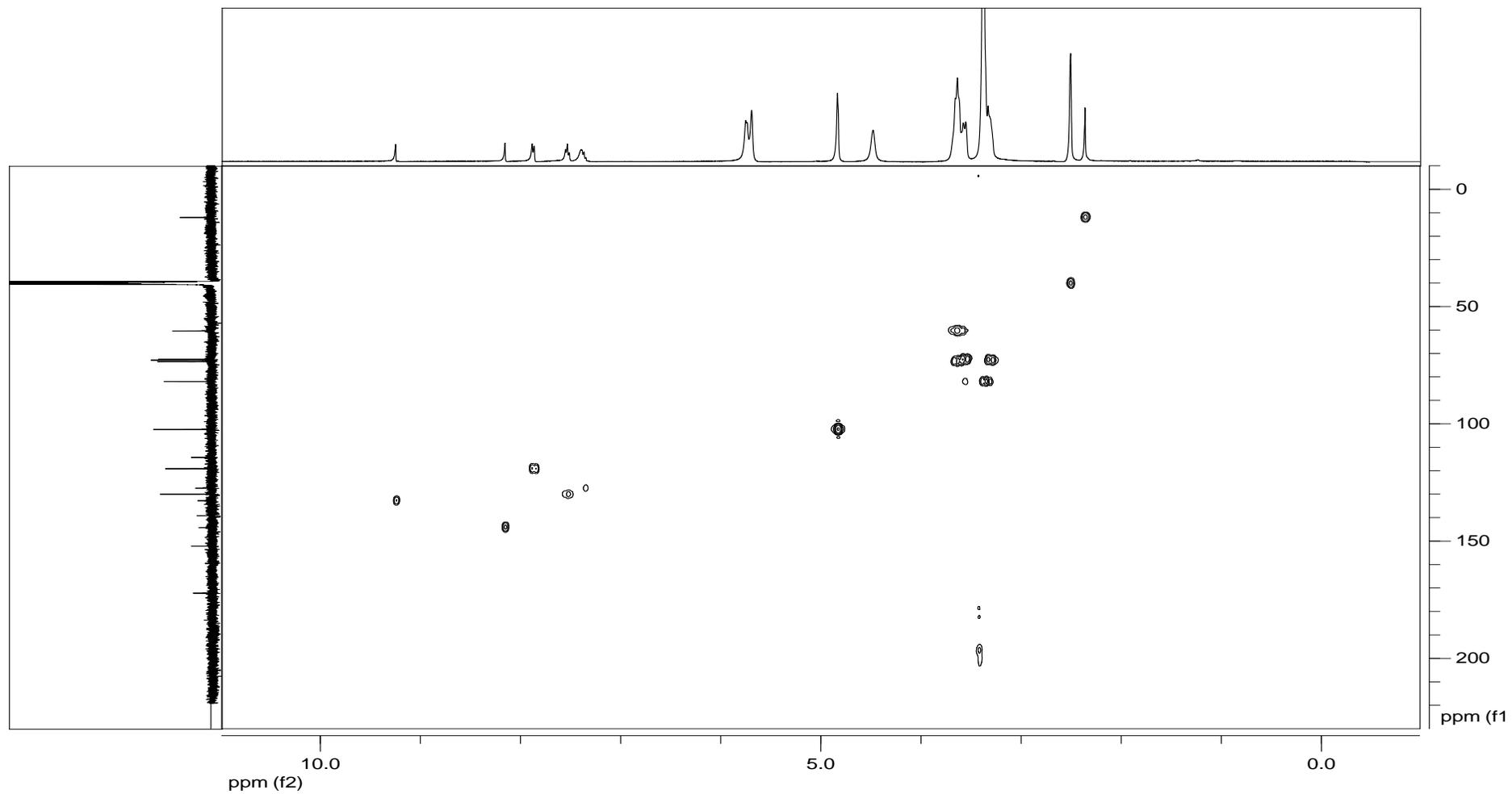
Anexo C-24. Espectro ROESY del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



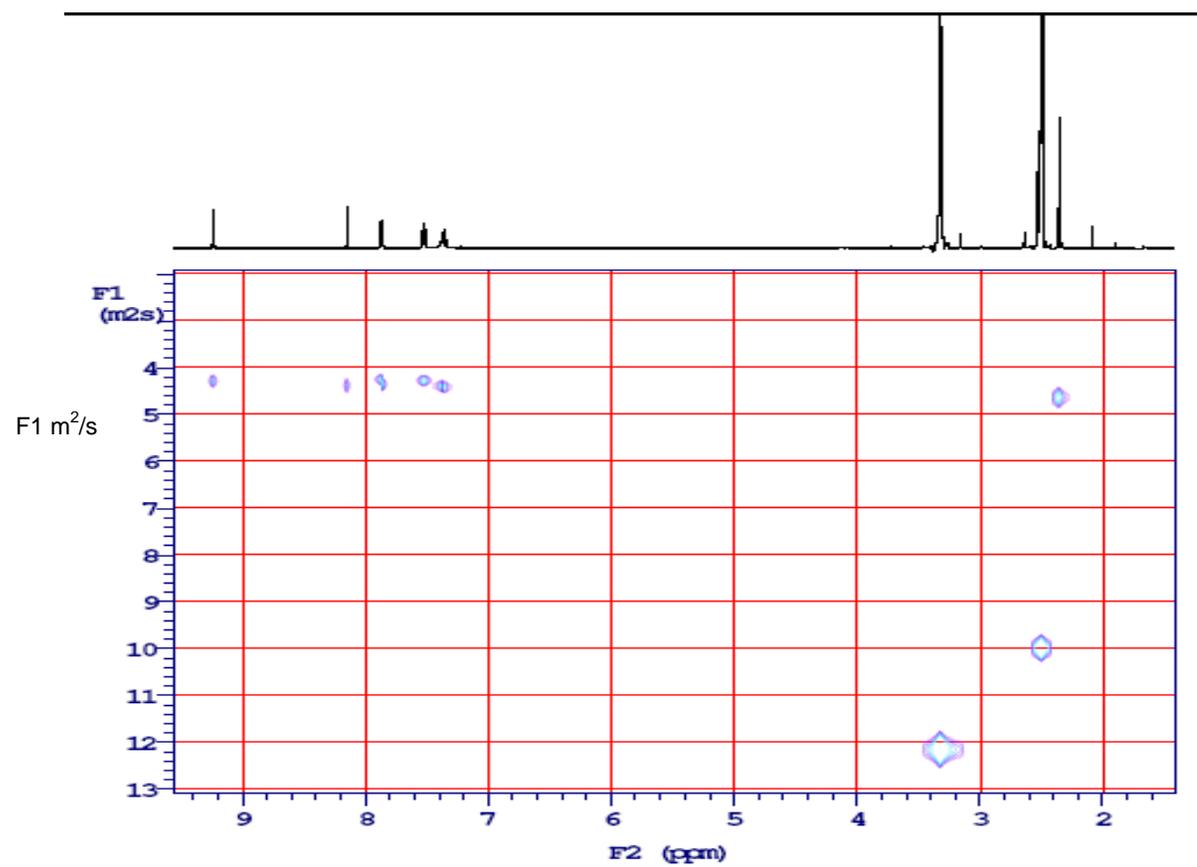
Anexo C-25. Espectro RMN ^{13}C del compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



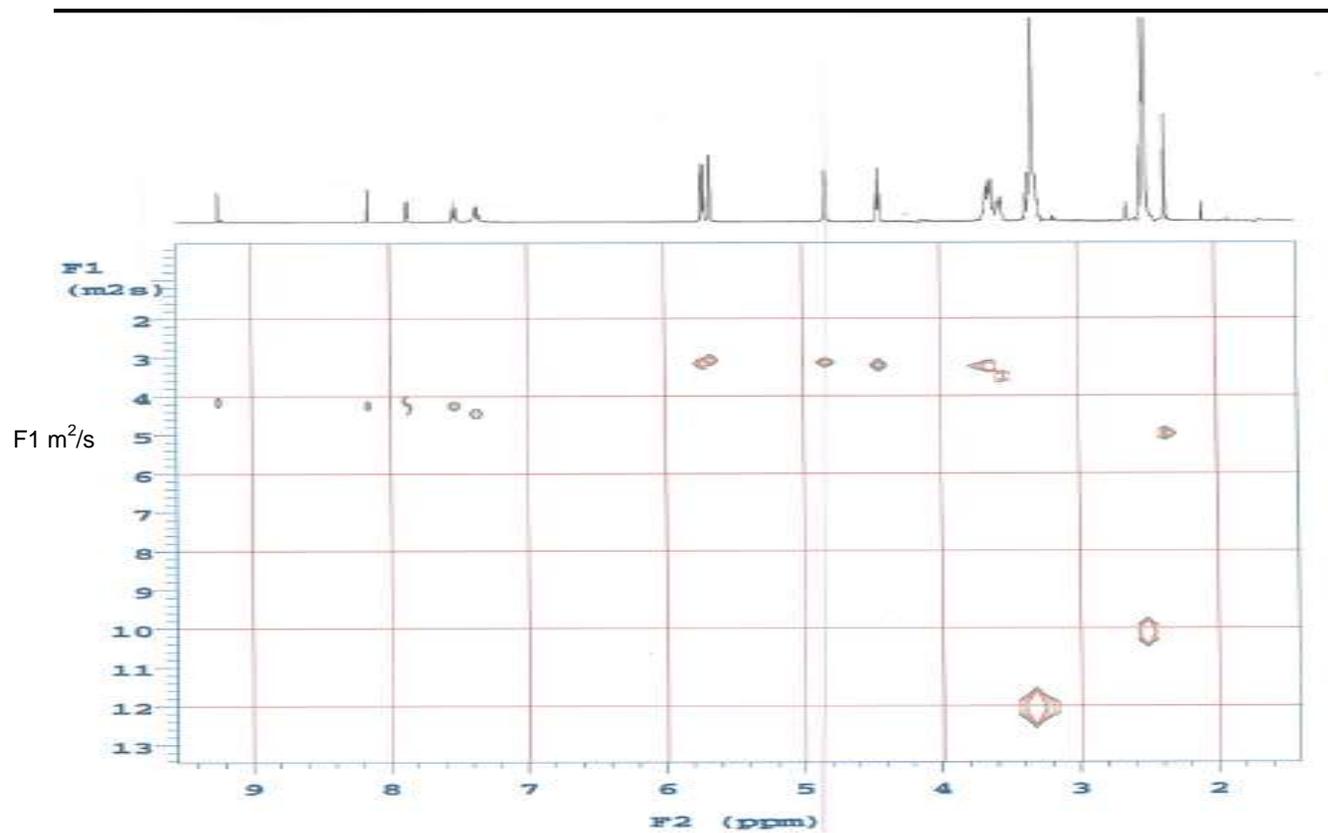
Anexo C-26. Espectro RMN ^{13}C de la ciclodextrina β -CD



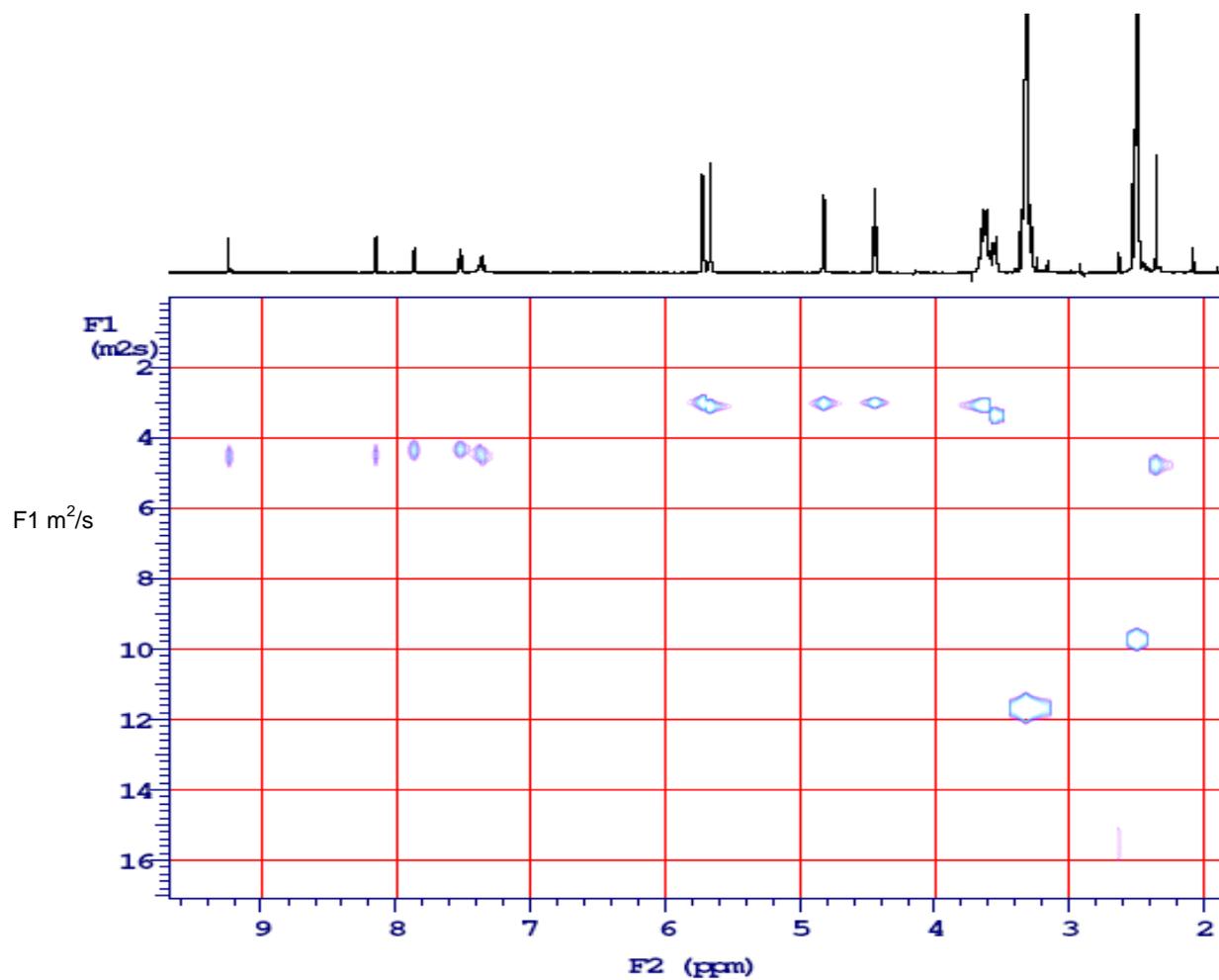
Anexo C-27. Espectro HSQC del compuesto $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$



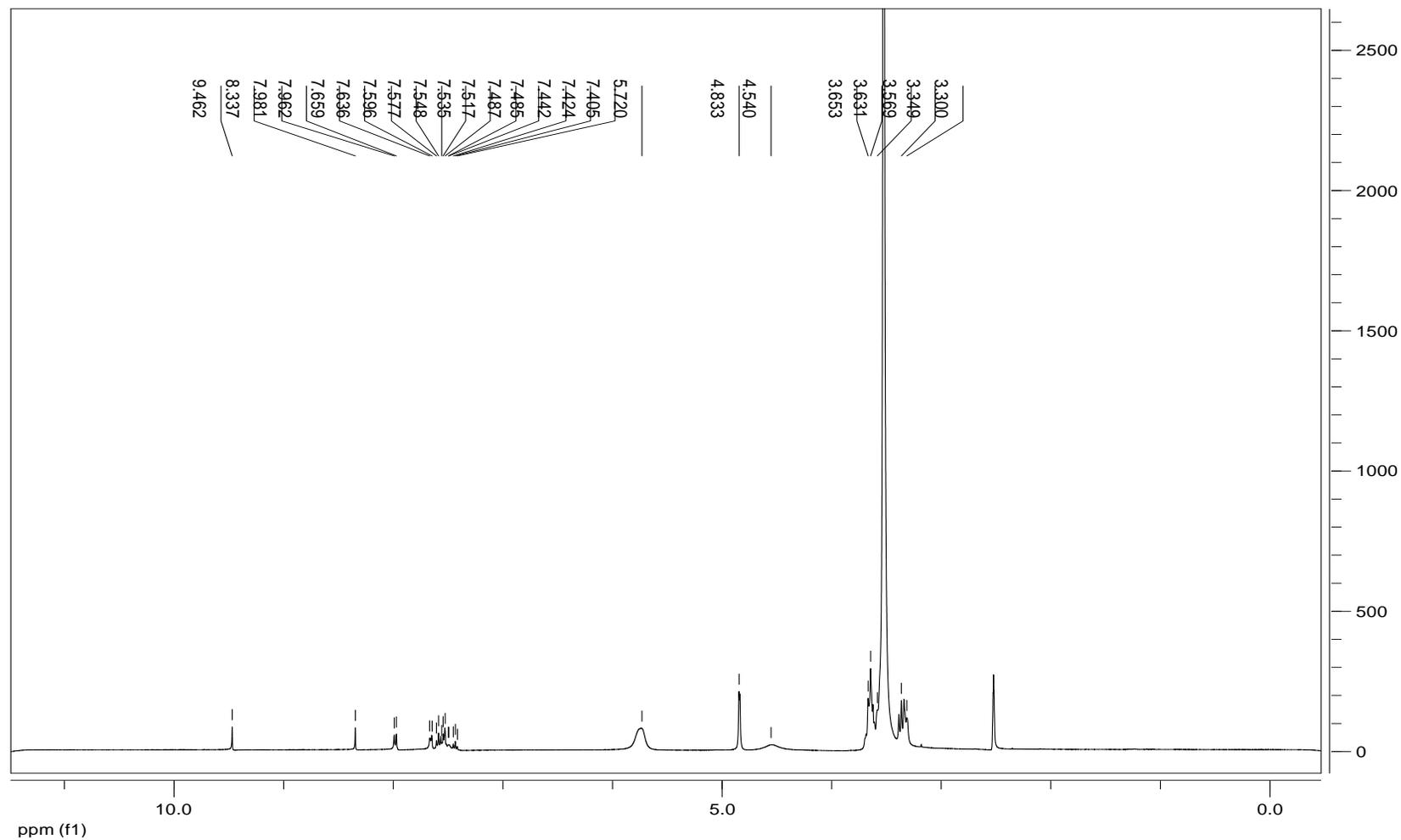
Anexo C-28. Espectro DOSY complejo libre $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



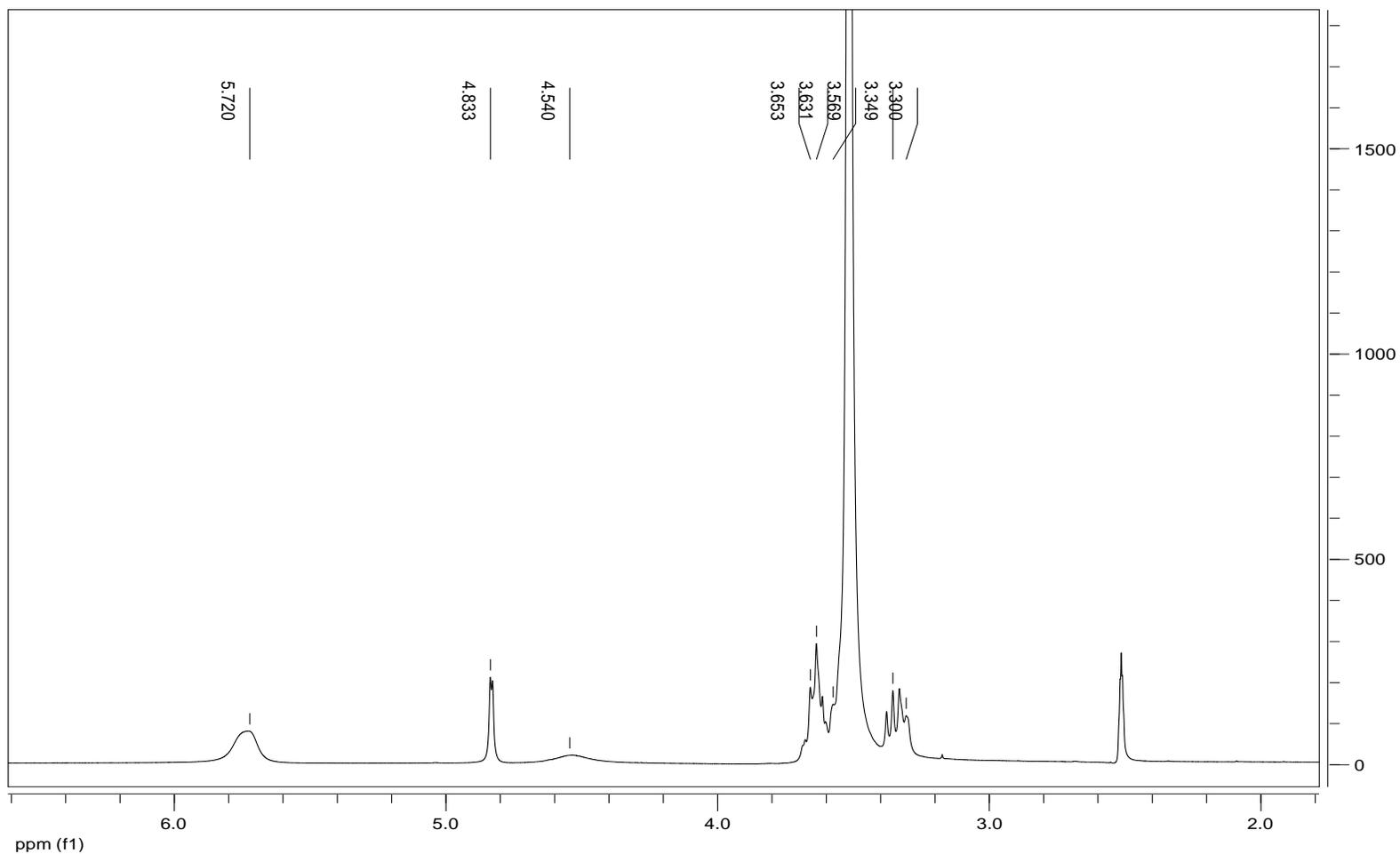
Anexo C-29. Espectro DOSY compuesto $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$



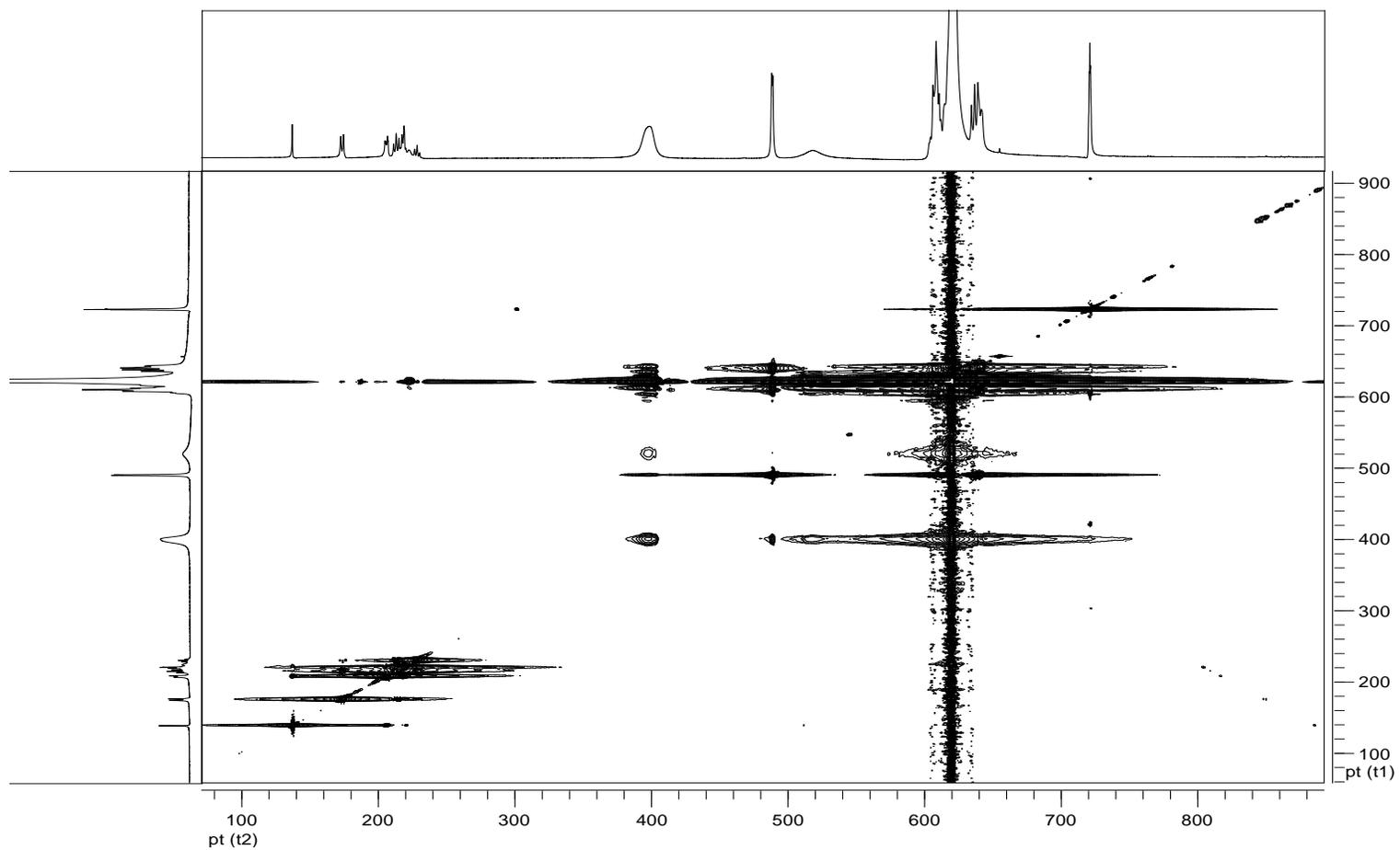
Anexo C-30. Espectro DOSY compuesto $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ con $\beta\text{-CD}$



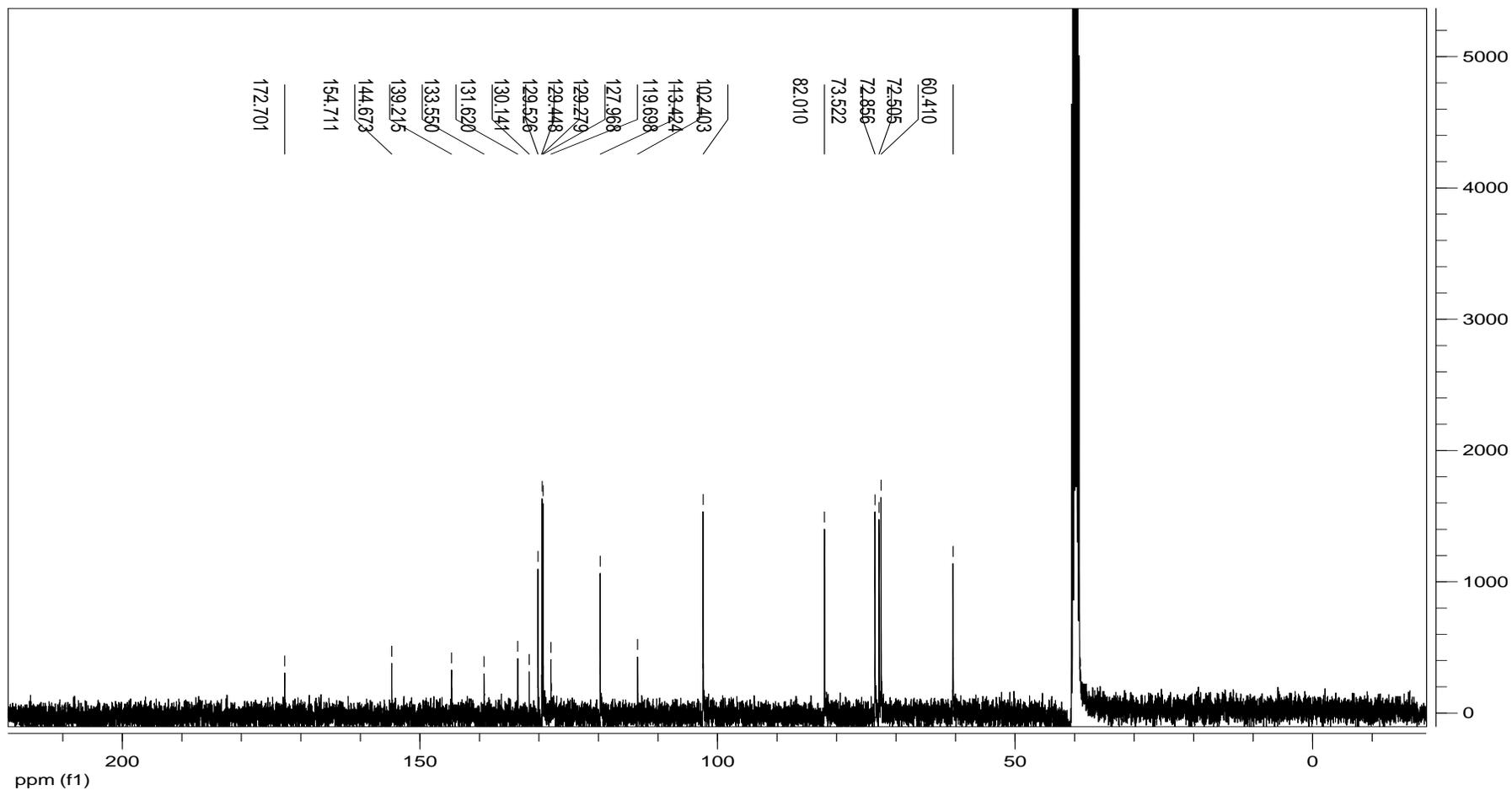
Anexo C-31. Espectro RMN ¹H del compuesto [Pd(Ph₂PzTSC)₂]·β-CD

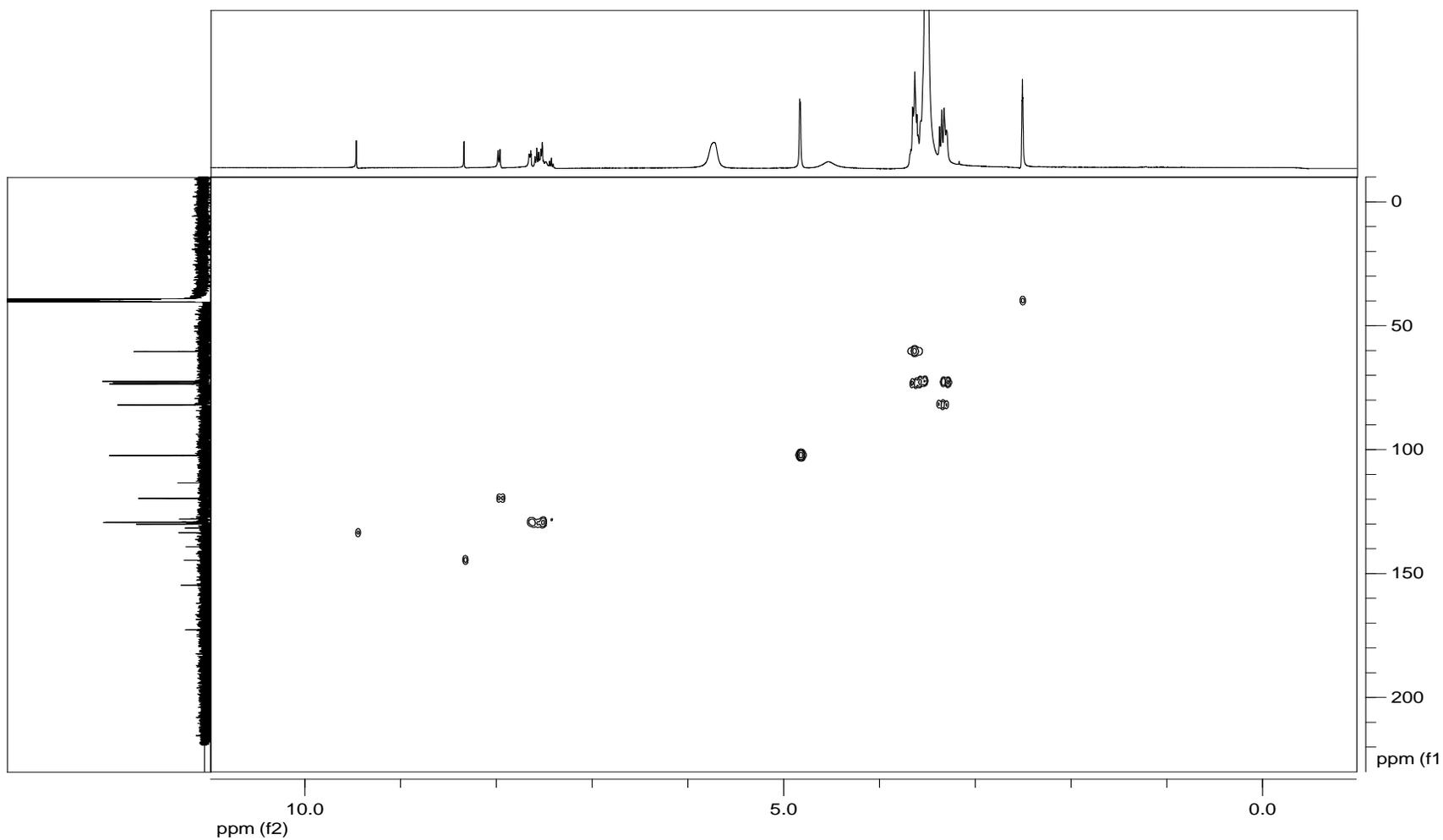


Anexo C-31. Espectro RMN ^1H (ampliación) del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

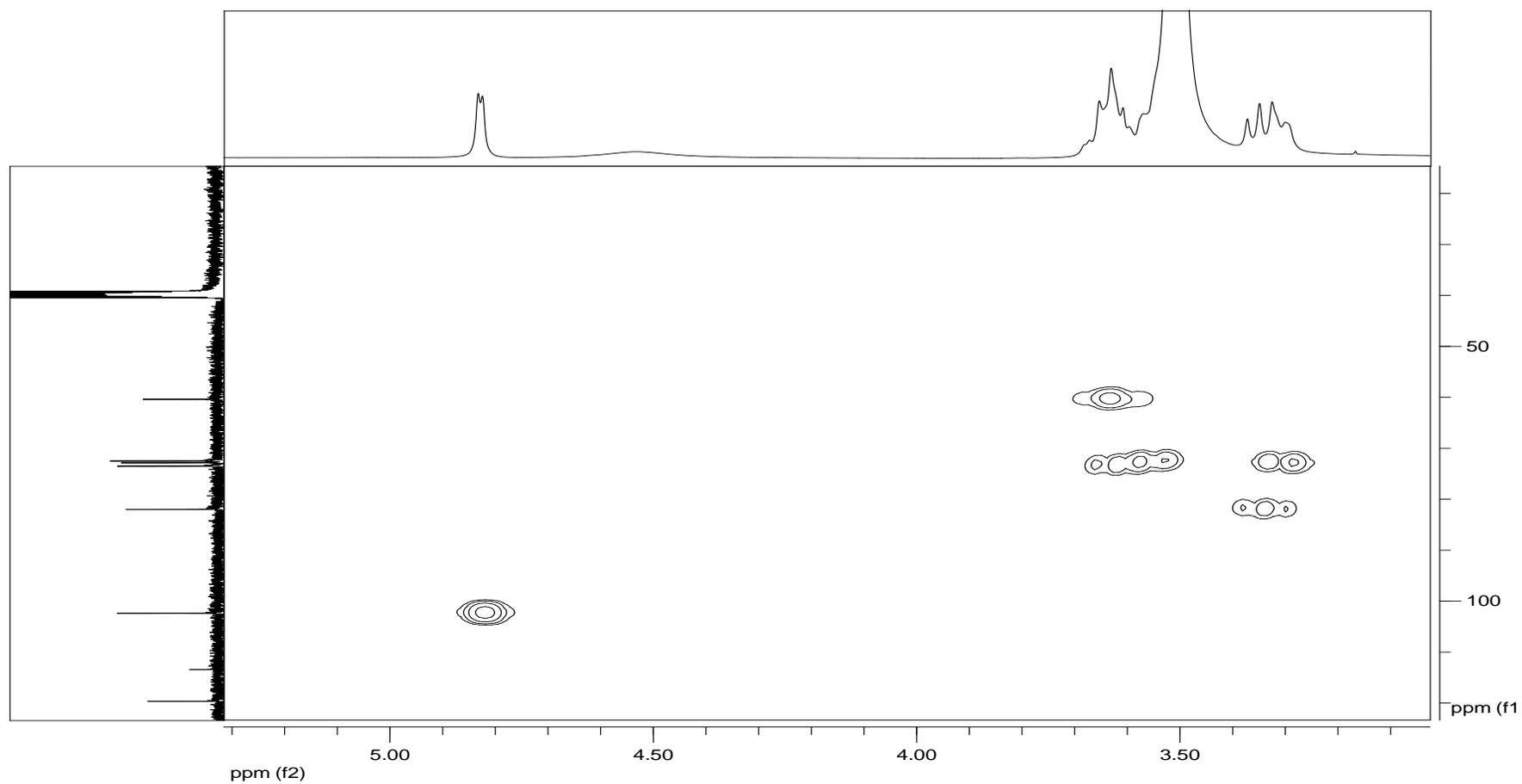


Anexo C-32. Espectro NOESY del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

Anexo C-33. Espectro RMN ^{13}C del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]\cdot\beta\text{-CD}$



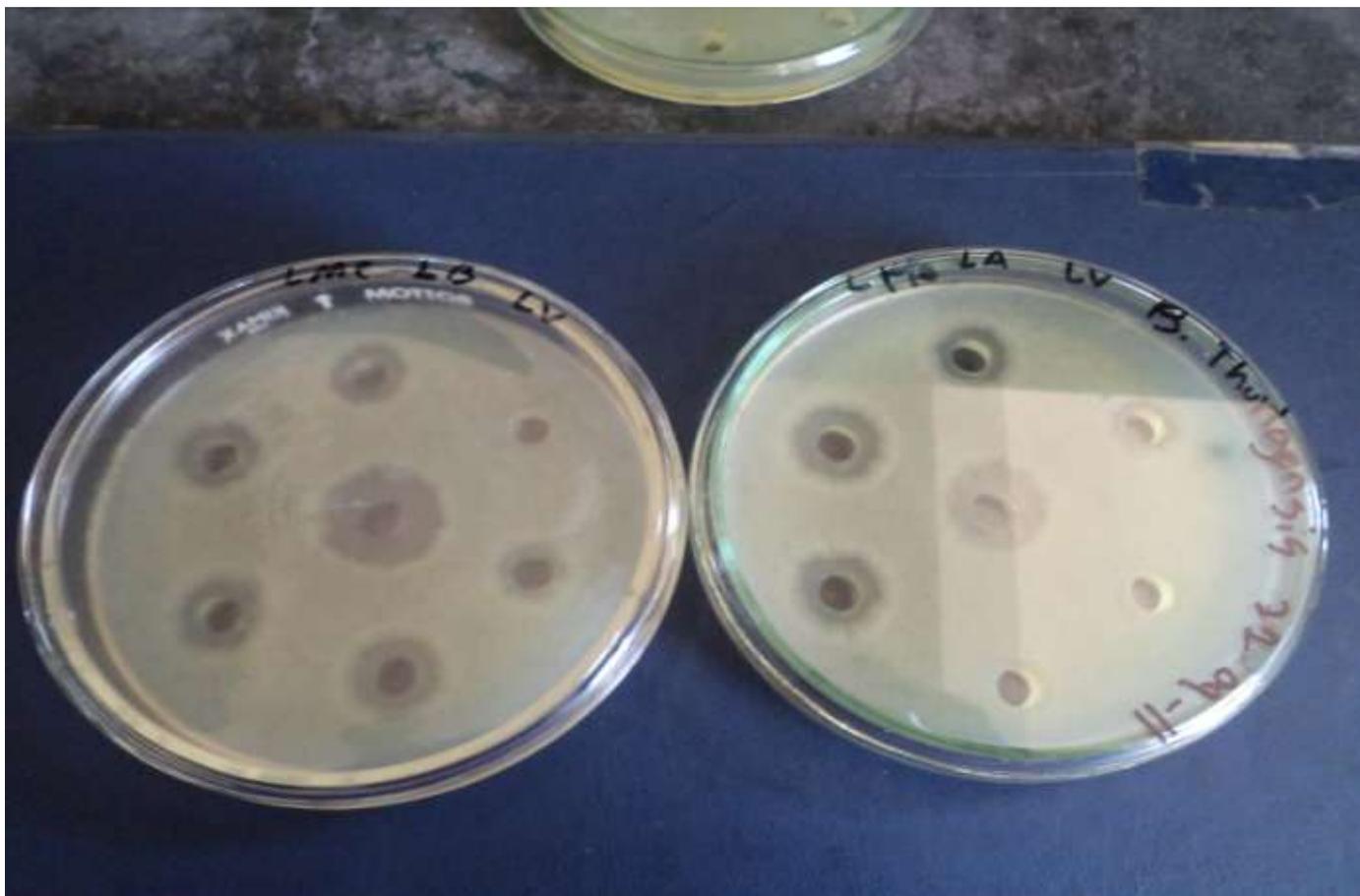
Anexo C-34. Espectro HSQC del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



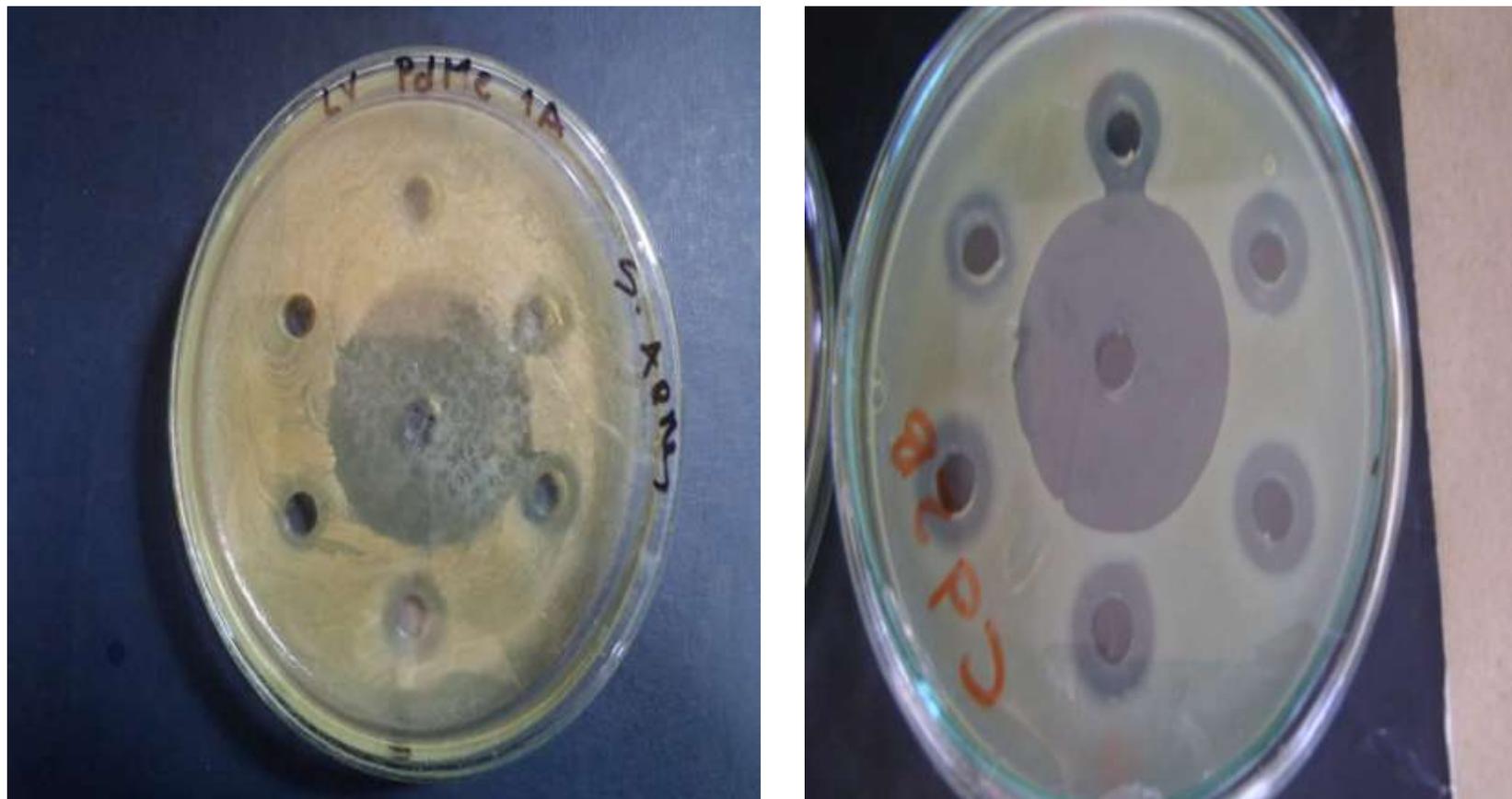
Anexo C-34. Espectro HSQC (ampliación) del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$

D. Anexo: Anexos Fotos de las actividades antibacterianas

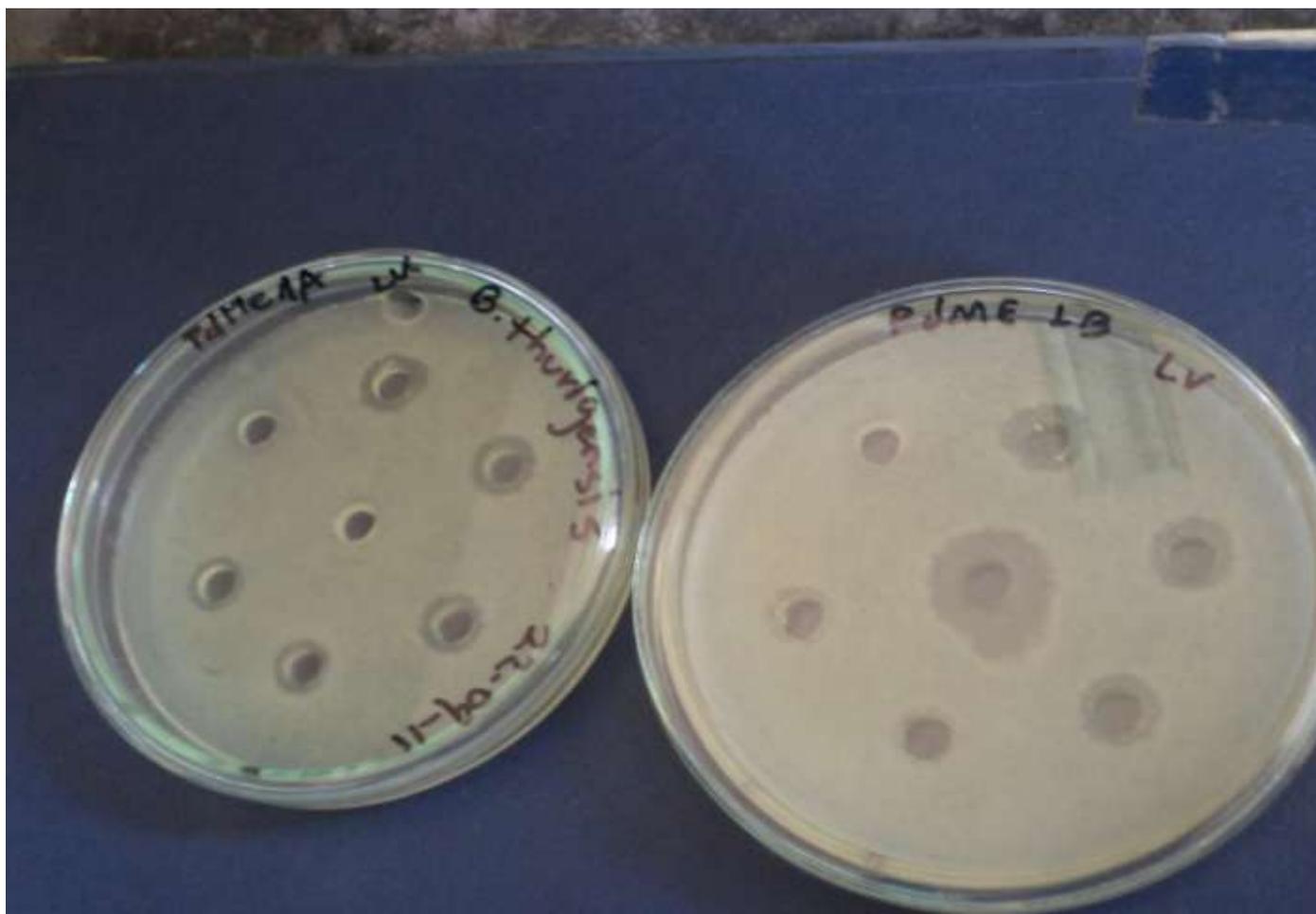
D-1. Inhibición crecimiento para el <i>B. thuringensis sp</i> con una concentración mínima inhibitoria de 250 ppm del ligante MePhPzTSC
D-2. Inhibición crecimiento para el <i>S. aureus</i> con una concentración mínima inhibitoria de 200 ppm del complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]
D-3. Inhibición crecimiento para el <i>B. thuringensis sp</i> con una concentración mínima inhibitoria de 300 ppm del complejo [Pd(MePhPzTSC) ₂]
D-4. Inhibición crecimiento para el <i>S. aureus</i> con una concentración mínima inhibitoria de 450 ppm para el ligante Ph ₂ PzTSC
D-5. Inhibición crecimiento para el <i>S. aureus</i> con una concentración mínima inhibitoria de 200 ppm para complejo [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂]
D-6. Concentración mínima inhibitoria 450 ppm del compuesto [Pd(MePhPzTSC) ₂] $\cdot\beta$ -CD para <i>S. aureus</i> y <i>B. thuringensis sp</i>
D-7. Concentración mínima inhibitoria 250 ppm del compuesto [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] $\cdot\beta$ -CD para <i>S. aureus</i>
D-8. Concentración mínima inhibitoria 450 ppm del compuesto [Pd(Ph ₂ PzTSC) ₂] $\cdot\beta$ -CD para <i>B. thuringensis sp</i>



Anexo D-1. Inhibición crecimiento para el *B. thuringiensis* sp con una concentración mínima inhibitoria de 250 ppm del ligante MePhPzTSC



Anexo D-2. Inhibición crecimiento para el *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 200 ppm del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



Anexo D-3. Inhibición crecimiento para el *B. thuringiensis* sp con una concentración mínima inhibitoria de 300 ppm del complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



Anexo D-4. Inhibición crecimiento para el *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 450 ppm para el ligante Ph_2PzTSC



Anexo D-5. Inhibición crecimiento para el *S. aureus* con una concentración mínima inhibitoria de 200 ppm para complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



Anexo D-6. Concentración mínima inhibitoria 450 ppm del compuesto $[Pd(MePhPzTSC)_2]\beta\text{-CD}$ para *S. aureus* y *B. thuringensis* sp



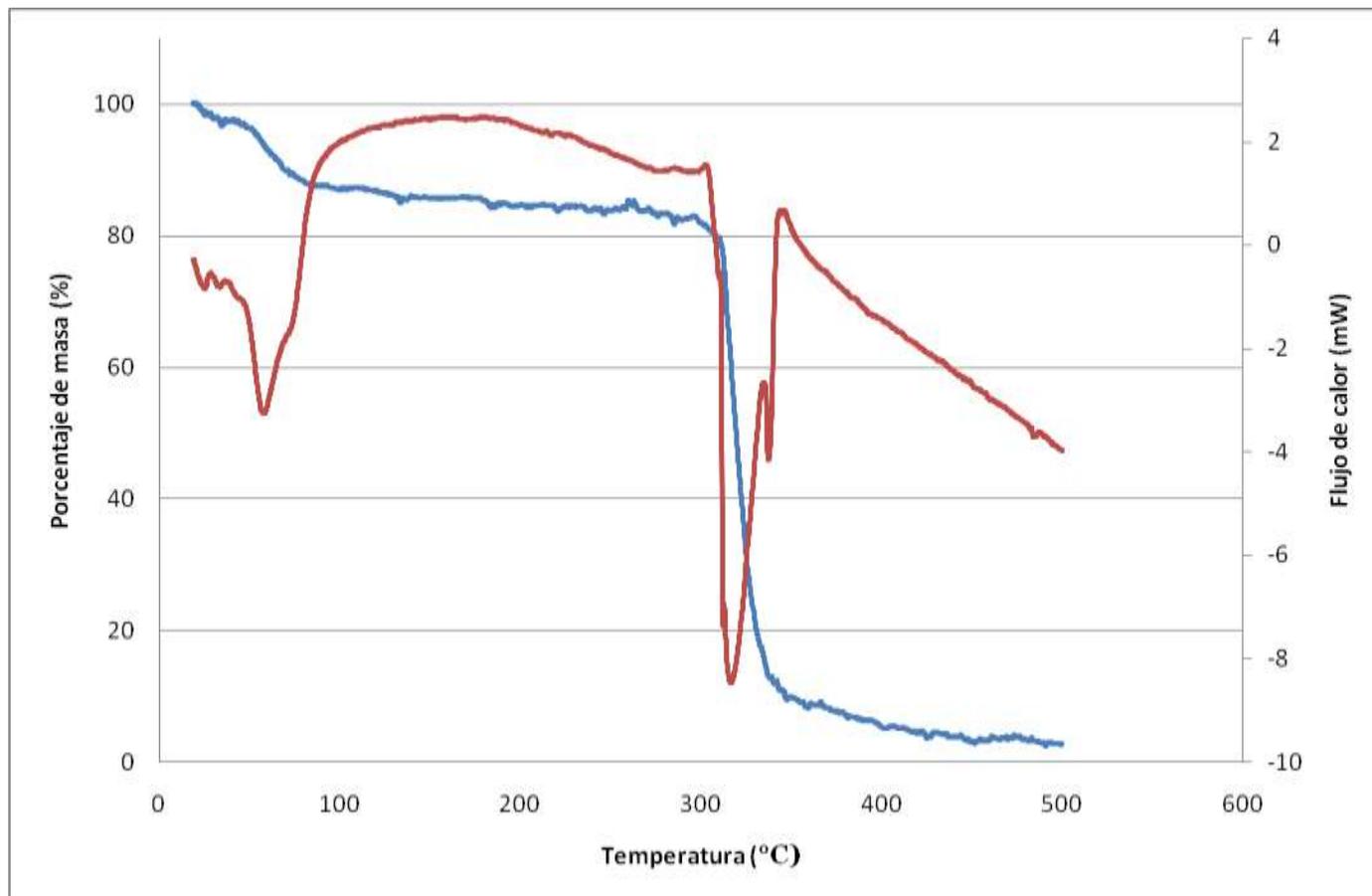
Anexo D-7. Concentración mínima inhibitoria 250 ppm del compuesto $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$ para *S. aureus*



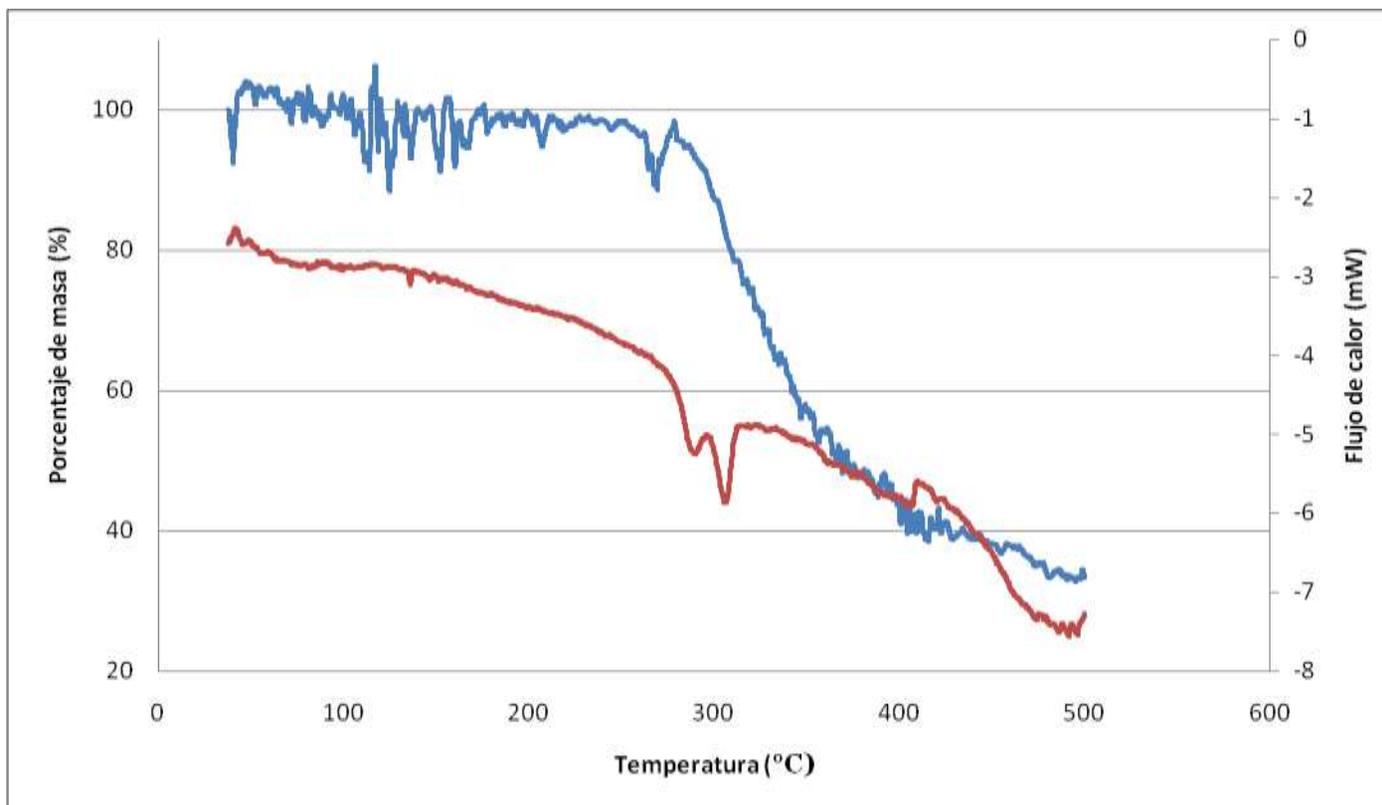
Anexo D-8. Concentración mínima inhibitoria 450 ppm del compuesto $[Pd(Ph_2PzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$ para *B. thuringiensis* sp

E. Anexo: Anexos curvas TG/DSC

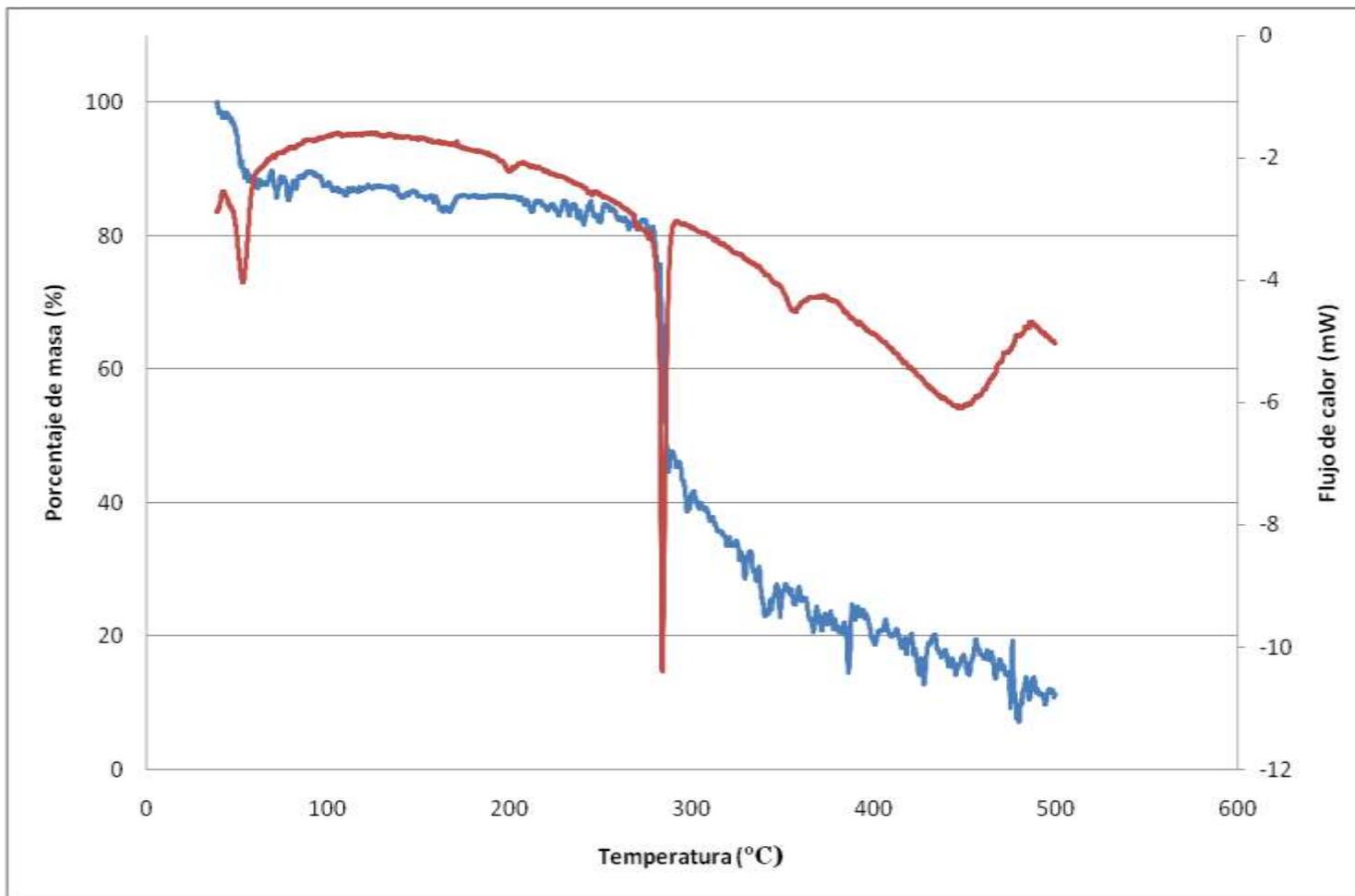
E-1. Curvas DSC y TG para la ciclodextrina β -CD
E-2. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$
E-3. Curvas DSC y TG para el $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$
E-4. Curvas DSC y TG para la mezcla mecánica del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ y $\beta\text{-CD}$
E-5. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$
E-6. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$
E-7. Curvas DSC y TG para la mezcla mecánica del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ y $\beta\text{-CD}$



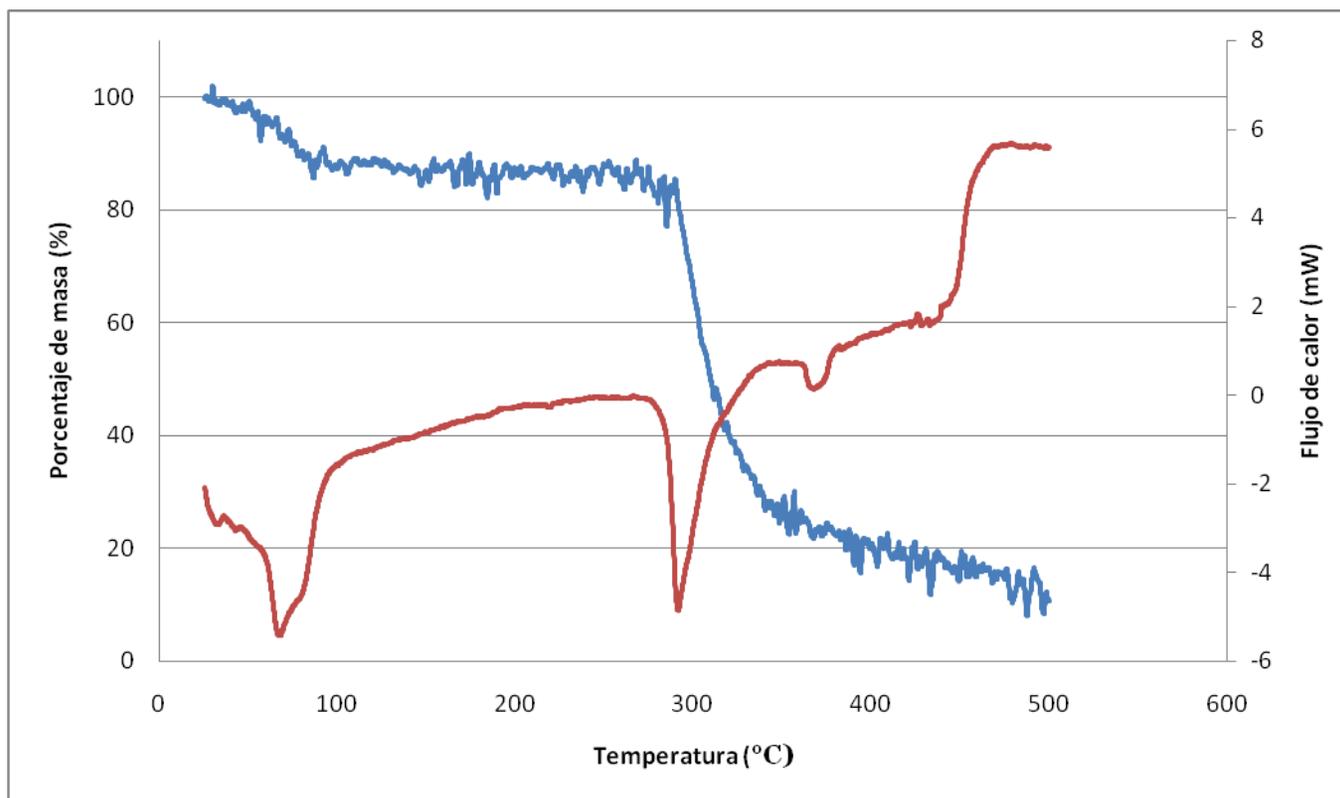
Anexo E-1. Curvas DSC y TG para la ciclodextrina β -CD



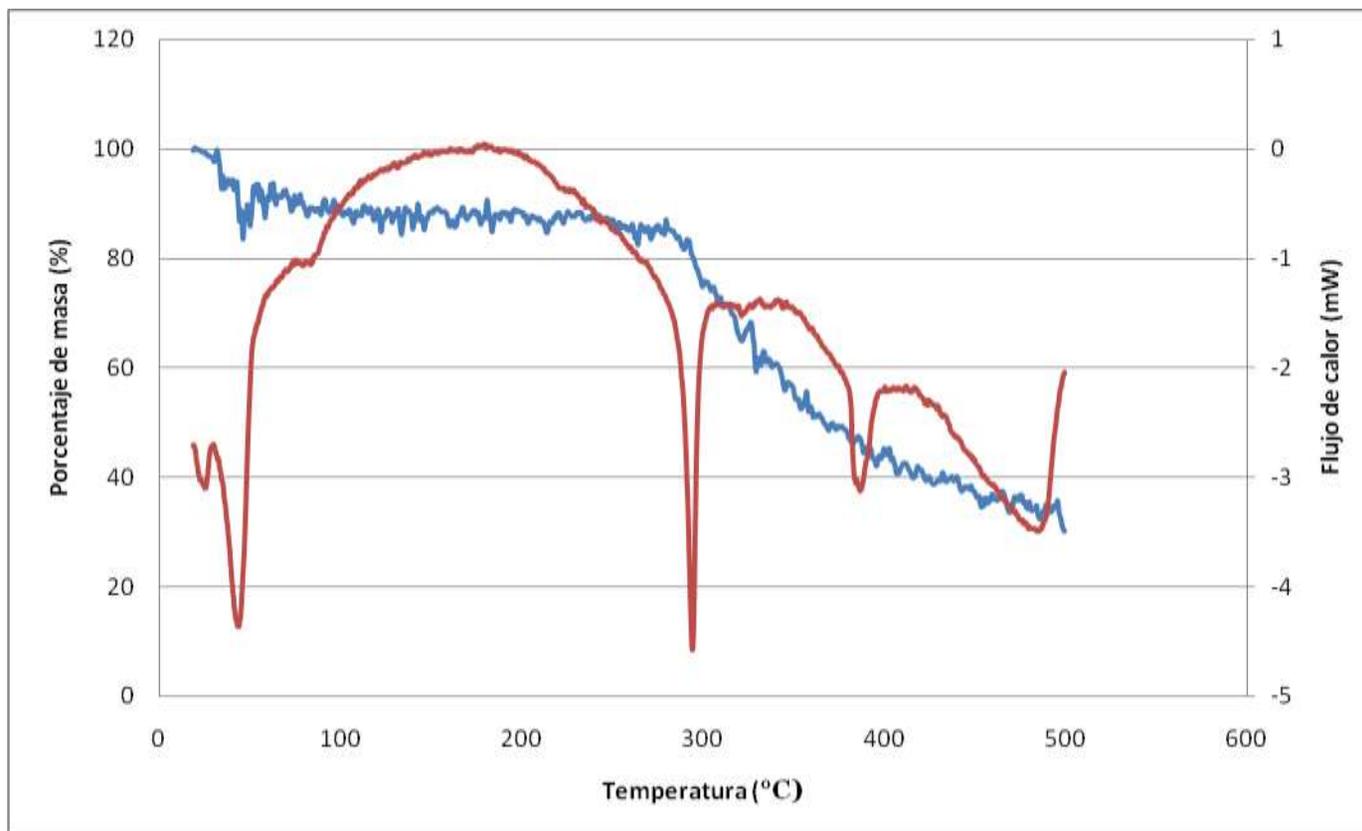
Anexo E-2. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$



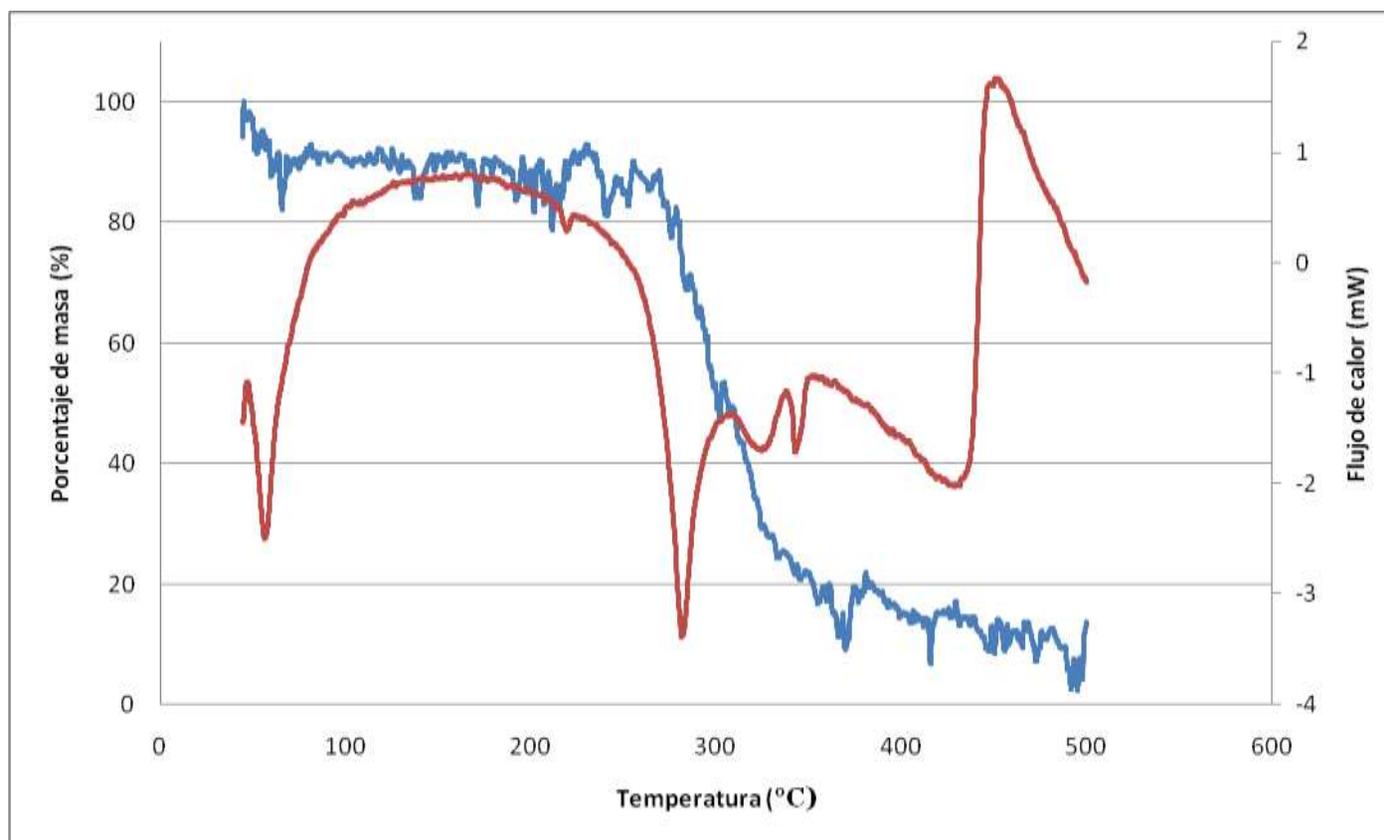
Anexo E-3. Curvas DSC y TG para el $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



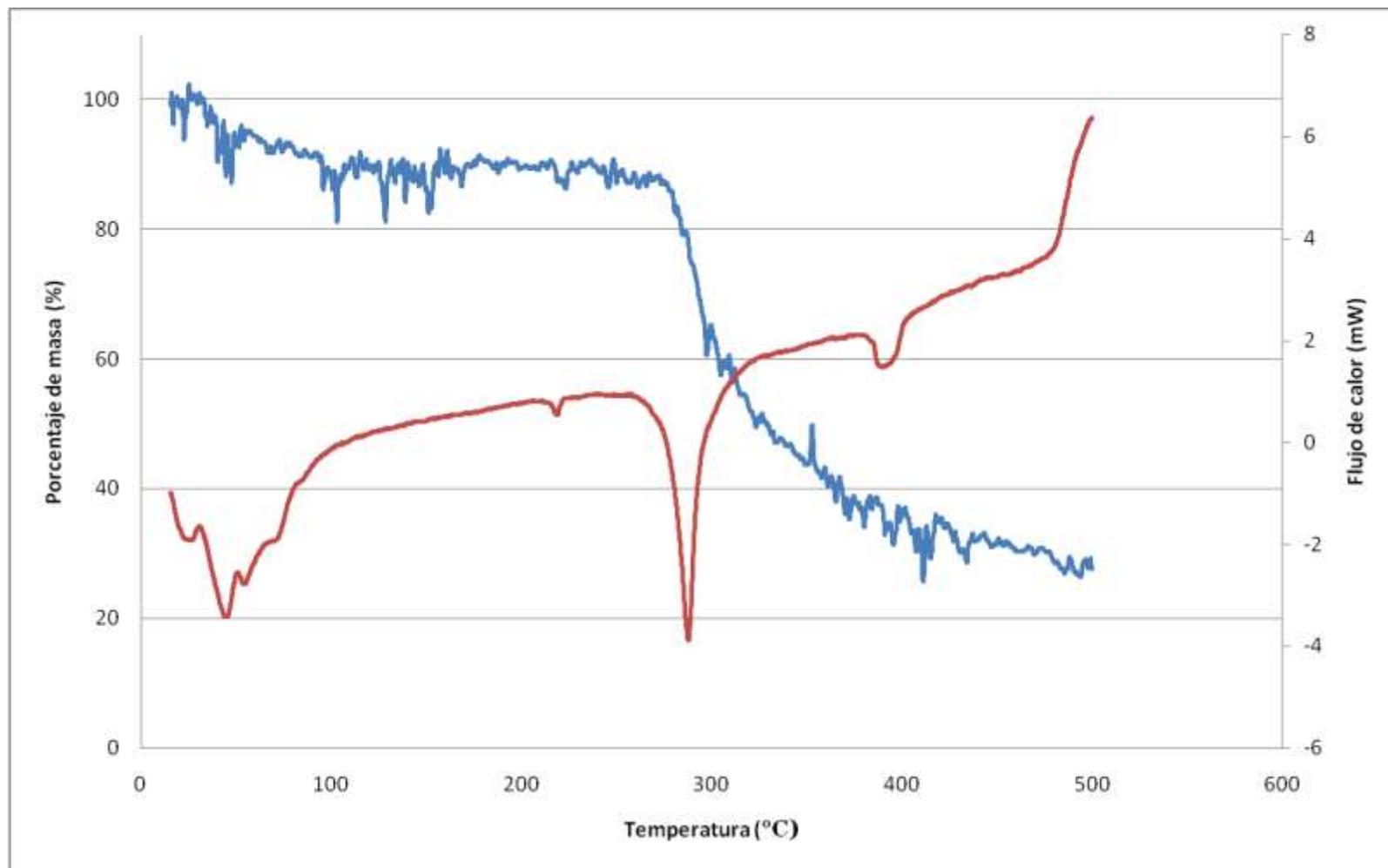
Anexo E-4. Curvas DSC y TG para la mezcla mecánica del $[\text{Pd}(\text{MePhPzTSC})_2]$ y β -CD



Anexo E-5. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$



Anexo E-6. Curvas DSC y TG para el complejo $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2] \cdot \beta\text{-CD}$



Anexo E-7. Curvas DSC y TG para la mezcla mecánica del $[\text{Pd}(\text{Ph}_2\text{PzTSC})_2]$ y $\beta\text{-CD}$

Bibliografía

1. Clarke, M. Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coord. Chem. Rev.* 2003. **236**: 209 - 233.
2. Ahmad, S.; Isab, A.A.; Ali, S.; Al-Arfaj A. R. Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents. *Polyhedron*. 2006. **25**: 1633–164.
3. Ulukaya, E.; Ari, F.; Dimas, K.; Ikitimur, E.I.; Guney, E.; Yilm, V.T. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Eur. J. Med. Chem.* 2011. **46**: 4957- 4963.
4. Van Rijt, S.; Sadle, P.J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. *Drug Discovery Today*. 2009. **14** (23/24): 1089-1097.
5. Garoufis, A.; Hadjikakou, S.K.; Hadjiliadis. N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agent. *Coord. Chem. Rev.* 2009. **253**: 1384–1397.
6. Lobana, T. S.; Kumari, P.; Zeller, M.; Butcher, R. J. The influence of the substituents at N¹ nitrogen on geometry of nickel(II) complexes with heterocyclic thiosemicarbazones. *Inorg.Chem.Comm.* 2008. **11**: 972-974.
7. Lobana, T.S.; Sharma, R.; Bawa, G.; Khanna, S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivates of metals-An overview. *Coord. Chem. Rev.* 2009. **253**: 977-1055.
8. Ragavan, R. V.; Vijayakumar, V.; Kumari, N.S. Synthesis and antimicrobial activities of novel 1,5-diaryl pyrazole. *Eur. J. Med. Chem.* 2010. **45**: 1173 -1180.
9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G. Advanced inorganic chemistry. A comprehensive text. Fourth edition. New York. John Wiley & Sons. 1980. pp. 950-952.
10. Housecroft, C.E.; Sharpe, Alan G. Inorganic Chemistry. Second edition. Edinburgh. Pearson Education Limited - Prentice Hall. 2005. p 686.
11. Abu-Surrah, A.S., Al-Sa'doni, H.H., Abdalla, M.Y. Palladium-Based Chemotherapeutic Agents: Routes toward complexes with good antitumor activity. *Cancer Therapy*. 2008. **6**: 1-10.

12. Rodríguez Riobó, Raúl. Tesis Doctoral. Complejos metálicos con tiosemicarbazonas derivadas de la 2-pirazinaformamida. Universidad Santiago de Compostela. 2007. pp.15-44.
13. Beraldo, H. Semicarbazonas e tiossemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Quim. Nova*. 2004. **27** (3): 461-471.
14. Pelosi, G. Thiosemicarbazone Metal Complexes: From Structure to Activity. *The Open Crystallography Journal*. 2010. **3**: 16-28.
15. Tenório, R.P.; Góes, A.J.S.; de Lima, J.G.; de Faria, A.R.; Alves, A.J.; de Aquino, T.M. Tiossemicarbazonas: métodos de de obtenção, aplicações sintéticas e importancia biológica. *Quim. Nova*. 2005. **28** (6): 1030-1037.
16. Ferraz, K S. O.; Ferandes, L.; Carrilho, D., Pinto, M.C. X.; Leite, M. F., Souza-Fagundes, E.M.; Speziali, N. L.; Mendes, I.C.; Beraldo. H. 2-Benzoylpyridine-N(4)-tolyl thiosemicarbazones and their palladium(II) complexes: Cytotoxicity against leukemia cells. *Bioorg. Med. Chem*. 2009. **17**: 7138–7144.
17. Rebolledo, A. P.; Vieites, M.; Gambino, D.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Zani, C. L.; Souza-Fagundes, E. M.; Teixeira, L. R.; Batista, A. A.; Beraldo, H. Palladium(II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones: spectral characterization, structural studies and cytotoxic activity. *J Inorg. Biochem*. 2005. **99**: 698–706.
18. Singh, S.; Bharti, N.; Naqvi, F.; Azam, A. Synthesis, characterization and in vitro Antiamoebic Activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones and their Palladium (II) and Ruthenium (II) Complexes. *Eur. J. Med. Chem*. 2004. **39**: 459-465.
19. Bharti,N.; Athar, F.; Maurya, M.R; Azam, A. Synthesis, characterization and in vitro anti-amoebic activity of new palladium(II) complexes with 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde N(4)-substituted thiosemicarbazones. *Bioorg. Med. Chem*. 2004. **12**: 4679-4684.
20. Husain, K.; Abid, M.; Azam, A. Synthesis, characterization and antiamoebic activity of new indole-3-carboxaldehyde thiosemicarbazones and their Pd(II) complexes. *Eur. J. Med. Chem*. 2007. **42**: 1300- 1308.
21. Gambino, D.; Cerecetto, H.; Otero, L.; Vieites, M.; Boiani, L.; Denicola, A.; Rigol, C.; Opazo, L.; Olea-Azar, C.; Maya, J. D.; Morello, A.; Krauth-Siegel, R. L.; Piro, E. O.; Castellano, E.; González. M. Novel Antitrypanosomal Agents Based on Palladium Nitrofurylthiosemicarbazone Complexes: DNA and Redox Metabolism as Potential Therapeutic Targets. *J. Med. Chem*. 2006. **49**: 3322-3331.

22. Neto, J.L.; De Lima G.M.; Beraldo H. Platinum and palladium complexes of thiosemicarbazones derived of 2-acetylthiophene: Synthesis and spectral studies. *Spectrochim. Acta Part A*. 2006. **63**: 669–672.
23. Kovala-Demertzi, D.; Domopoulou, A.; Demervzis, M. A.; Valle, G.; Papageorgiou. A. Palladium(II) Complexes of 2- Acetylpyridine N(4)-Methyl, N(4)-Ethyl and N(4)-Phenyl-Thiosemicarbazones. Crystal Structure of Chloro(2- Acetylpyridine N(4)-Methylthiosemicarbazonato) Palladium(II). Synthesis, Spectral Studies, *in vitro* and *in vivo* Antitumour Activity. *J. Inorg. Biochem.* 1997. **68**: 146- 155.
24. Husain, K.; Abid, M.; Azam, A. Novel Pd(II) complexes of 1-N-substituted 3-phenyl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of antiamebic activity. *Eur. J. Med. Chem.* 2008. **43**: 393-403.
25. Khan, A. S.; Yusuf, M. Synthesis, spectral studies and *in vitro* antibacterial activity of steroidal thiosemicarbazone and their palladium (Pd (II)) complexes. *Eur. J. Med. Chem.* 2009. **44**: 2270- 2274.
26. Manunza, B.; Deiana, S.; Pintorea, M.; Gessa. C. Structure and internal motion of solvated beta-cyclodextrine: a molecular dynamics study. *J. Molec. Struct. (Theochem)*. 1997. **419**: 133–137.
27. Barbiric, D.J.; De Rossi, R.H.; Castro,E.A. Inclusion complexes of 1:2 stoichiometry between azobenzenes and cyclodextrins: a molecular mechanics study. *J. Molec. Struct. (Theochem)*. 2001. **537**: 235-243.
28. Szejtli, J. Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.* 2004. **76** (10): 1825-1845.
29. Sueishi, Y.; Inazumi, N.; Hanaya, T. NMR spectroscopic characterization of inclusion complexes of hydroxy-substituted naphthalenes with native and modified β -cyclodextrins. *J. Inc.l Phenom. Macrocycl. Chem.* 2009. **64**: 135–141.
30. Song, L. X.; Bai, L.; Min Xu, X.; He, J.; Zhen Pan, S. Inclusion complexation, encapsulation interaction and inclusion number in cyclodextrin chemistry. *Coord. Chem. Rev.* 2009. **253**: 1276–1284.
31. Del Valle, E.M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry.* 2004. **39**: 1033–1046.
32. Wenz, G. Cyclodextrins as building block for supramolecular structures and functional units. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994. **33**: 803-822.
33. Ding, L.; He, J.; Fu, J.; Zhang, J. Study on β -cyclodextrin inclusion of Zn(II) aromatic complex and its analytical application. *Spectrochim. Acta A.* 2010. **75**: 604-609.

34. Atmeh, M.; Russell, R.N.; Keyes, T.E. Intramolecular photoinduced electron transfer in a ruthenium polypyridyl functionalised β -cyclodextrin capped with a hydroxo bridged Cu(II) dimer. *Polyhedron*. 2008. **7**: 1690-1698.
35. Fernandes, J.; Lima, S.; Braga, S.; Ribeiro-Claro, P.; Rodriguez, J.; Teixeira, C.; Pillinger, M.; Teixeira-Dias, J.; Goncalves, I. Inclusion complex formation of diferrocenyldimethylsilane with β -cyclodextrin. *J. Organomet. Chem.* 2005. **690**: 4801-4808.
36. Leovac, V. M., Novakovic, S. B., Bogdanovic, G. A., Joksovic, M. D., Szécsényi, K. M., Cesljevic, V. I. Transition metal complexes with thiosemicarbazide- based ligands. Part LVI: Niquel(II) complex with 1,3-diphenylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone and unusually deformed coordination geometry. *Polyhedron*. 2007. **26**: 3783-3792.
37. Guyot, M.; Fawaz, F.; Bidet, J.; Bonini, F.; Lagueny, A. Physicochemical characterization and dissolution of norfloxacin/cyclodextrin inclusion compounds and PEG solid dispersions. *Intern. J. Pharm.* 1995. **123**: 53-63.
38. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M. Sherries & M. Tuck. Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc diffusion method. *J. Am. Clin. Pathol.* 1966. **45**: 493.
39. Juribašić, M.; Molčanov, K.; Kojić-Prodić, B.; Bellotto, L.; Kralj, M.; Zani, F.; Tušek-Božić, L. Palladium(II) complexes of quinolinylaminophosphonates: Synthesis, structural characterization, antitumor and antimicrobial activity. *J. Inorg. Biochem.* 2011. **105**: 867-879.
40. Kovala-Demertzi, D.; Domopoulou, A.; Demertzis, M. A.; Papageorgiou, A.; West, D.X. Palladium(II) complexes of 2-acetylpyridine N(4)-propyl, N(4)-dipropyl- and 3-hexamethyleneiminylthiosemicarbazones with potentially interesting biological activity. Synthesis, spectral properties, antifungal and *in vitro* antitumor activity. *Polyhedron*. 1997. **16**: 3625-3633.
41. Gambino, D.; Otero, L.; Vieites, M.; Boiani, M.; González, M.; Baran, E. J.; Cerecetto, H. Vibrational spectra of palladium 5-nitrofuryl thiosemicarbazone complexes: Experimental and theoretical study. *Spectrochim. Acta Part A*. 2007. **68**: 341-348.
42. Rodriguez-Argüelles, M. C.; Ferrari, M. B.; Fava, G. G.; Pelizzi, C.; Tarasconi, P.; Albertini, R.; Dall'Aglio, P.P.; Lunghi, P.; Pinelli, S. 2,6-Diacetylpyridine Bis(Thiosemicarbazones) Zinc Complexes: Synthesis, Structure, and Biological Activity. *J. Inorg. Biochem.* 1995. **58**: 157-175.
43. Casas, J. S.; Rodriguez-Argüelles, M. C.; Russo, U.; Sanchez, A.; Sordo, J.; Vazquez-Lopez, A.; Pinelli, S.; Lunghi, P.; Bonati, A.; Albertini, R. Diorganotin(IV) complexes of pyridoxal thiosemicarbazone: Synthesis, spectroscopic properties and biological activity. *J. Inorg. Biochem.* 1998. **69**: 283-292.

44. Anjaneyulu Y.; Rao P. R. Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity Studies on Some Ternary Complexes of Cu(II) with Acetylacetone and Various Salicylic Acids. *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.* 1986. **16**: 257-272.
45. Prabhakaran, R.; Renukadevi, S.V.; Karvembu, R.; Huang, R.; Mautz, J.; Huttner, G.; Subashkumar, R.; Natarajan. K. Structural and biological studies of mononuclear palladium(II) complexes containing N-substituted thiosemicarbazones. *Eur. J. Med. Chem.* 2008. **43**: 268-273.
46. Ceyhan, G.; Celik, C.; Urus, S.; Demirtas, I.; Elmastas, M.; Tümer, M. Antioxidant, electrochemical, thermal, antimicrobial and alkane oxidation properties of tridentate Schiff base ligands and their metal complexes. *Spectrochim. Acta Part A.* 2011. **81**: 184–198.
47. Abdel Ghani, N. T.; Mansou, A. M. Palladium(II) and platinum(II) complexes containing benzimidazole ligands: Molecular structures, vibrational frequencies and cytotoxicity. *J. Mol. Struct.* 2011. **991**: 108–126.
48. Tweedy, B.G. *Phytopath.* 1964. **55**: 910-917.
49. Prabhakaran, R.; Geetha, A.; Thilagavathi, M.; Karvembu, R.; Krishnan, V.; Bertagnolli, H.; Natarajan, K. Synthesis, characterization, EXAFS investigation and antibacterial activities of new ruthenium(III) complexes containing tetradentate Schiff base. *J. Inorg. Biochem.* 2004. **98**: 2131-2140.
50. Raman, N.; Joseph, J.; Sakthivel, A.; Jeyamurugan, R. Synthesis, structural characterization and antimicrobial studies of novel Schiff base copper (II) complexes. *J. Chil. Chem. Soc.* 2009. **54** (4): 354-357.
51. Mounika, K.; Anupama, B.; Pragathi, J.; Gyanakumari, C. Synthesis, Characterization and Biological Activity of a Schiff Base Derived from 3-Ethoxy Salicylaldehyde and 2-Amino Benzoic acid and its Transition Metal Complexes *J. Sci. Res.* 2010. **2** (3): 513-524.

52. Malhota, L.; Kumar, S.; Dhindsa, K. S. Synthesis, characterization and microbial activity of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes of aryloxyacetic acid and hydrazides. *Indian J. Chem.* 1993. **32A**: 457 - 459.
53. Mishra, L.; Singh, V.K. Synthesis and structural and antifungal studies of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with new Schiff bases bearing benzimidazoles. *Indian J. Chem.* 1993. **32A** : 446-449.
54. Bratu, I.; Astilean, S.; Ionesc, C.; Indrea, E.; Huvenne, J.P.; Legrand, P. FT-IR and X-ray spectroscopic investigations of Na-diclofenac-cyclodextrins interactions. *Spectrochim. Acta Part A.* 1998. **54**: 191–196.
55. Bonenfant, D.; Niquette, P.; Mimeault, M.; Furtos-Mateic, A.; Hausler, R. UV-VIS and FTIR spectroscopic analyses of inclusion complexes of nonylphenol and nonylphenol ethoxylate with β -cyclodextrin. *Water Research.* 2009. **43**: 3575 – 3581.
56. Burgos, A.E.; Sinisterra, R.D. Preparación y caracterización de compuestos de asociación entre el acetato, propionato y butirato de rodio(II) con β -ciclodextrina. *Rev. Colomb. Quím.* 2010. **39** (3): 427-465.
57. De Sousa, F.B.; Oliveira, M.; Lula, I.; Sansiviero, M.T.; Cortés, M.E.; Sinisterra, R. Study of inclusion compound in solution involving tetracycline and β -ciclodextrin by FTIR-ATR. *Vib. Spectrosc.* 2008. **46**: 57-62.
58. Forgo, P.; Vincze, I.; Kövér, K.E. Inclusion complexes of ketosteroids with β -cyclodextrin. *Steroids.* 2003. **68**: 321–327.
59. Trefi, S.; Gilard, V.; Balayssac, S.; Malet-Martino, M.; Martino, R. Quality assessment of fluoxetine and fluvoxamine pharmaceutical formulations purchased in different countries or via the Internet by ^{19}F and 2D DOSY ^1H NMR. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008. **46**: 707–722.
60. Cohen, Y.; Avram, L.; Frish, L. Diffusion NMR Spectroscopy in Supramolecular and Combinatorial Chemistry: An Old Parameter—New Insights. *Angew. Chem. Int.* 2005. **44**: 520 – 554.
61. Calderini, A.; Pessine, F. B. T. Synthesis and characterization of inclusion complex of the vasodilator drug minoxidil with β -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2008. **60**: 369–377.

62. Rymdén, R.; Carlfors, J.; Stilbs, P. Substrate binding to cyclodextrins in aqueous solution: a multicomponent self-diffusion study. *J. Incl. Phenom.* 1983. **1**(2):159–167.
63. Lin, M.; Jayawickrama, D.A.; Rose, R.A.; DelViscio, J.A.; Larive, C.K. Nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of the selective complexation of the *cis* and *trans* isomers of phenylalanylproline by β -cyclodextrin. *Anal. Chim. Acta.* 1995. **307**: 449–457.
64. Meier, M.M.; Luiz, M.T.B.; Szpoganicz, B.; Soldi, V. Thermal analysis behavior of β - and γ - cyclodextrin inclusion complexes with capric and caprylic acid. *Thermoch. Acta.* 2001. **375**:153-160.
65. Trotta, F.; Zanetti, M., Camino, G. Thermal degradation of cyclodextrins. *Polym. Degrad. Stab.* 2000. **69**: 373-379.
66. Kohata, S.; Jyodoi, K.; Ohyoshi, A. Thermal decomposition of cyclodextrins (α -, β -, γ -, and modified β -CyD) and of metal-(β -CyD) complexes in the solid phase. *Thermochim. Acta* 1993. **217**: 187-198.
67. Piel, G.; Piette, M.; Barillaro, V.; Castagne, D., Evrard, B.; Delattre. L. Study of the relationship between lipid binding properties of cyclodextrins and their effect on the integrity of liposomes. *Int. J. Pharm.* 2007. **338**: 35–42.
68. Aachmann F. L.; Vee Aune, T. E. Use of cyclodextrin and its derivatives for increased transformation efficiency of competent bacterial cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009. **83**: 589–596.