UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Complejos de Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas

Luz Ángela Abril Luna

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de ciencias, Departamento de Química
Bogotá, D.C., Colombia
2018

Complejos de Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas

Luz Ángela Abril Luna

Monografía como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Química

Director (a):

Ph.D. Ana Esperanza Burgos Castellanos

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

2018

Dedicatoria

El presente trabajo lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y dador de fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres, por su amor y comprensión que me ha permitido llegar hasta aquí. Ha sido un orgullo y un privilegio ser su hija, son los mejores padres.

A mi hermano por estar siempre presente, acompañándome y dándome apoyo moral a lo largo de esta etapa.

Agradecimientos

A la profesora Ana Esperanza quien me guio con su paciencia y su rectitud como docente en este proceso.

Al Departamento de Química y a la Universidad Nacional de Colombia por abrirme sus puertas.

Resumen

En este trabajo, se revisaron estudios de síntesis, caracterización estructural y actividad antimicrobiana de complejos de paladio(II) y plata(I) con ligantes bases de Schiff tipo tiosemicarbazonas.

El primer capítulo presenta una breve discusión sobre las características generales de las bases de Schiff como ligantes y sus características estructurales. Las tiosemicarbazonas presentan tautomería tiona-tiol y diferentes modos de coordinación al ion metálico. Además, se describen las metodologías reportadas de la síntesis de los ligantes, bases de Schiff, tipo tiosemicarbazonas y complejos de paladio(II) y plata(I), así como las condiciones de reacción empleadas.

El segundo capítulo se refiere a la caracterización estructural, para dilucidar y clasificar los ligantes tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio(II) y plata(I), según su comportamiento químico, sustentados en los resultados encontrados por diferentes investigaciones, y por distintas técnicas analíticas como Espectroscopia de absorción en la región de infrarroja (IR), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Difracción de rayos X (DRX monocristal). También, se muestran resultados de actividad antimicrobiana de estos compuestos.

Finalmente, en el capítulo tres se realiza una discusión sobre los factores y mecanismos que controlan la acción antimicrobiana de complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas.

Palabras clave: Complejos de Paladio(II), Complejos de Plata(I), bases de Schiff, tiosemicarbazonas, caracterización estructural, actividad biológica.

Abstract

In this paper, studies of synthesis, structural characterization and antimicrobial activity of palladium(II) and silver(I) complexes with Schiff base ligands type thiosemicarbazones were reviewed.

The first chapter presents a brief discussion on the general characteristics of Schiff bases as binders and structural characteristics of these, thiosemicarbazones (tautomería tiol-tiona, coordination modes, among others. And a description of the reported methodologies of the synthesis of Schiff base binders, thiosemicarbazone type and palladium(II) and silver(I) complexes, as well as the reaction conditions used.

The second chapter describes the structural characterization for the identification and classification of thiosemicarbazone ligands and their palladium(II) and silver(I) complexes according to their chemical behavior, based on the results found in different investigations, and by different analytical techniques such as Absorption spectroscopy in the infrared (IR) region, Nuclear Magnetic Resonance (MNR) and X-ray diffraction (monocrosital DRX). Also, antimicrobial activity results of these compounds are collected.

Finally, in chapter three a discussion is held on the factors and mechanisms that control the antimicrobial action of complexes of palladium(II) and silver(I) thiosemicarbazones.

Keywords: Palladium(II) complexes, Silver(I) complexes, Schiff bases, thiosemicarbazones, structural characterization, biological activity.

Contenido

Resumen ..... **IX**
Lista de figuras ..... **XIII**
Lista de tablas ..... **XVI**
Lista de símbolos y abreviaturas ..... **XVII**
Introducción **3**

1. Capítulo 1 ..... **3**
1.1 Bases de Schiff **3**
1.2 Ligantes bases de Schiff tipo Tiosemicarbazonas **6**
1.2.1 Síntesis de los ligantes tiosemicarbazonas y complejos de Pd(II) y Ag(I) 10
1.2.1.1 Síntesis de ligantes tiosemicarbazonas 10
1.2.1.2 Síntesis de complejos de Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas 10

2. Capítulo 2 ..... **19**
2.1 Espectroscopia de absorción en la región de infrarroja, Resonancia Magnética Nuclear y Difracción de rayos X de ligantes tiosemicarbazonas y sus complejos metálicos de paladio(II) y plata(I) **19**
2.1.1 Espectroscopia infrarroja IR de ligantes tiosemicarbazona y complejos de paladio(II) y plata(I) 19
2.1.2 Resonancia Magnética Nuclear ^{1}H y ^{13}C de ligantes tiosemicarbazonas y complejos de paladio(II) y plata(I) 22
2.1.2.1 Resonancia magnética nuclear protónica ^{1}H-NMR 22
2.1.2.2 Resonancia magnética nuclear carbono ^{13}C 23
2.1.3 Cristalografía de rayos X de complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas 25
2.2 Actividad biológica de los ligantes bases de Schiff tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio(II) y plata(I) **28**

3. Capítulo 3 ..... **35**
3.1 Complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas y su actividad antibacteriana y antifúngica **35**

4. Conclusiones y recomendaciones **45**
Conclusiones **45**
Recomendaciones **47**

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1. Estructura general de las bases de Schiff 3

Figura 1-2. Formación de las bases de Schiff 4

Figura 1-3. Posible mecanismo de reacción para la obtención de bases de Schiff 4

Figura 1-4. Ligante con átomos donantes adicionales N y S comportándose como un ligante tridentado **a**, ligante con un átomo N adicional comportándose como un ligante tridentado **b** y un ligante con un átomo donante O (base) adicional comportándose como un ligante tridentado **c** 3

Figura 1-5. La estructura general en las tiosemicarbazonas 6

Figura 1-6. Deslocalización de carga en las TSC 6

Figura 1-7. Tautomería tiona-tiol 7

Figura 1-8. Forma aniónica de las TSC 7

Figura 1-9. TSC como ligante monodentado, neutro y aniónico 7

Figura 1-10. TSC como ligante monodentado neutro unido a dos centros metálicos 8

Figura 1-11. Ligante bidentado en su forma neutra y su aniónica 8

Figura 1-12. Modo de coordinación ligante TSC como tridentado 9

Figura 1-13. Isómeros conformacionales de la TSC de piridina 9

Figura 1-14. Síntesis de los ligantes tiosemicarbazonas..... 12

Figura 1-15. Reacción de los ligantes tiosemicarbazonas y sales de Pd(II) para la formación de complejos 16

Figura 1-16. Reacción de los ligantes tiosemicarbazonas y sales de Ag(I) para la formación de complejos..... 17

Figura 2-17. Complejo de paladio(II) con el ligante tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazona [Pd(thio-2-carbTSC)Cl], $\boldsymbol{C_7}$ 23

Figura 2-18. Complejo de paladio(II) con el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona [Pd(Ac4Et)], $\boldsymbol{C_4}$ 25

Figura 2-19. Complejo de plata(I) con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{L_7}$. La unidad asimétrica contiene dos cationes independientes de cristalografía [Ag(catsc)$(PPh_3)_2$], $\boldsymbol{C_{12}}$ y dos contraiones NO^-. 26

Figura 2-20. Complejo de plata(I) con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{C_{12}}$ 27

Figura 2-21. Complejo de plata(I) dinuclear, $[Ag_2(PPh_3)_2(\mu\text{-S-Brcatsc})_2(\eta^1\text{-S-Brcatsc})_2](NO_3)_2$, $\boldsymbol{C_{13}}$, con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{L_7}$ 27

Figura 3-22. Complejo tetraciclina-Pd(II). … 35

Figura 3-23. Sulfadiazina de plata(I) 36

Figura 3-24. Representación del ingreso de los complejos de paladio(II) **a** y plata(I) **b** en la células Gram-positivas: proteína unida covalentemente CAP; IMP, proteína de membrana integral; LP, lipoproteína; LPS, lipopolisacárido; LTA, ácido lipoteicoico; OMP, proteína de la membrana externa; WTA, pared de ácido teicoico… 38

Figura 3-25. Sitios de acción de los complejos de Paladio(II) TSC 40

Figura 3-26. Representación del ingreso de los complejos de paladio(II) **a** y plata(I) **b** TSC en células Gram- negativas: IMP, proteína de membrana integral; LP, lipoproteína; LPS, lipopolisacárido; PME, proteína de la membrana externa..... 41

Figura 3-27. Sitios de acción de los complejos de plata(I) TSC …..... 43

Figura 3-28. Representación del ingreso del complejo de paladio(II),$\boldsymbol{C_{11}}$, en la célula fúngica ……. …… 44

Lista de tablas

Pág.

Tabla 2-1. Datos de ^{1}H y ^{13}C NMR (ppm) de los ligantes de tiosemicarbazonas y sus complejos de Pd(II) y Ag(I) 24

Tabla 2-2. Parámetros de enlace de los complejos Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas 28

Tabla 2-3. Actividad antimicrobiana de los ligantes 2-acetilpiridina tiosemicarbazonas HAcTsc y 2-acetilpyridina 4N-etilthiosemicarbazonas complejos Pd(II) 29

Tabla 2-4. Actividad antimicrobiana del ligante tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazonas thio-2-carbTSC y sus complejos de Pd(II) 30

Tabla 2-5. Actividad antimicrobiana de los ligantes 3-metilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona MePhPzTSC y 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona, Ph_2PzTSC complejos Pd(II)..... 31

Tabla 2-6. Actividad antimicrobiana del ligante isatina-3-tiosemicarbazona (ITC) y su respectivo complejo de Pd(II) 33

Tabla 2-7. Actividad antimicrobiana de los ligantes 3-fenilpropenaltiosemicarbazona y bromo-3-fenilpropanotiosemicarbazona (Brcatsc) y complejos de Ag(I) 34

Lista de esquemas

Esquema 1-1. Esquema general del método preparativo de los ligantes tiosemicarbazonas 11

Esquema 1-2. Esquema general del método preparativo de complejos de Pd(II) tiosemicarbazonas 15

Esquema 1-3. Esquema general del método preparativo de complejos de Ag(II) tiosemicarbazonas 17

Lista de Símbolos y abreviaturas

ADN Ácido desoxirribonucleico
ARN Ácido ribonucleico
°C Grados celsius
cm Centímetro
cm^{-1} Unidad de número de onda
CMI Concentración mínima inhibitoria
EtOH Etanol
MeOH Metanol
HOAc Ácido acético
IR Infrarrojo
RMN Resonancia magnética nuclear
TSC Tiosemicarbazona
ß beta
δ Desplazamiento químico en RMN

Introducción

La resistencia a una gran variedad de fármacos, en el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por hongos y bacterias, es un problema actual de salud que va en aumento (1). En particular, la resistencia de patógenos bacterianos a los antibióticos vigentes, se ha convertido en un gran problema de salud pública (2).

Las cepas bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas han desarrollado mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos especializados, limitando su eficacia, siendo las bacterias Gram-negativas sustancialmente más resistentes (3,4). Las bacterias más conocidas y que están relacionadas frecuentemente con la resistencia a los antibióticos son las cepas Gram-positivas, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* (5). Entre las bacterias Gram-negativas se encuentra la *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (3,6).

En cuanto a la resistencia de patógenos fúngicos, se ha encontrado que estos evolucionan a hacia nuevas poblaciones (con mutaciones genéticas), minimizando la eficacia de los fármacos antifúngicos actuales y el aumento de infecciones fúngicas (7). Aunque la mayor parte de la resistencia a los fármacos actuales, antimicóticos que contienen un anillo azol y que se han usado para inhibir el crecimiento de una amplia gama de hongos, se ha reportado en *Candida albicans* (1), también se produce resistencia en otras especies como *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus fumigatus* (8,9).

En consecuencia, el propósito principal es desarrollar nuevas moléculas, incorporando iones metálicos en su estructura, que presenten actividad farmacológica antimicrobiana (10–12), y que conduzcan a la obtención de nuevos fármacos con mejores propiedades, capaces de vencer estos mecanismos de resistencia a los antibióticos, y que exhiban un alto grado de selectividad y eficacia (13).

En el diseño de fármacos, basados en complejos con iones metálicos de transición, se busca sintetizar una única entidad química que sea capaz de ser un agente activo, selectivo y eficaz, basado en un ion metálico, mediante la coordinación de ligantes que sean a su vez agentes farmacéuticos activos. Como ejemplo de ello se presentan, las bases de Schiff tipo tiosemicarbazonas que exhiben una amplia variedad de bioactividades y sus aplicaciones farmacológicas han sido extensamente investigadas (14–16).

Debido a su gran versatilidad, las tiosemicarbazonas, han permitido explorar diferentes actividades biológicas, al introducir cambios estructurales por medio de nuevas sustituciones químicas, junto con la coordinación a iones metálicos de transición, ofreciendo la posibilidad de sintetizar nuevos compuestos con actividad farmacológica (17). Estos ligantes permiten, la formación de complejos que exhiben bioactividades mejoradas, o cuando el ligante libre es inactivo, dotándolo de características específicas debido a que presentan diferentes modos de coordinación con iones metálicos de transición. En cuanto a la variabilidad de la actividad de antimicrobianos, está relacionada con la interacción del complejo con la membrana celular de los microorganismos (4).

Desde el punto de vista coordinativo, los ligantes bases de Schiff tiosemicarbazonas tienen la capacidad de modular la polaridad del ion metálico a que disminuya, permitiendo la accesibilidad del complejo sobre el sitio de acción en la membrana celular, y en consecuencia mayor selectividad y eficacia (18,19).

Por lo anterior, el principal objetivo de este trabajo es revisar estudios de caracterización estructural y actividad antimicrobiana de los complejos de Pd(II) y Ag(I) con ligantes bases de Schiff tipo tiosemicarbazonas. En específico, recopilar estudios realizados con ligantes bases de Schiff tipo tiosemicarbazonas en la obtención de complejos con iones metálicos Pd(II) y Ag(I), analizar algunos datos de caracterización estructural y mostrar resultados encontrados de actividad antimicrobiana. También, se presenta una discusión, en torno a los mecanismos de actividad biológica antibacteriana y antifúngica de los complejos de Paladio(II) y Plata(I) con ligantes bases de Schiff tipo tiosemicarbazonas.

La recopilación de datos para la elaboración de este trabajo, se realizó a partir de las principales bases de datos como: Science direct, Scielo, NCBI, Elsevier y reportes internacionales de la página web la Organización Mundial de la Salud, entre otras.

1. Capítulo 1

1.1 Bases de Schiff

En 1864 las bases de Schiff, también denominadas iminas y varios miembros de esta clase de compuestos fueron sintetizadas por primera vez, por el investigador alemán Hugo Schiff. Presentan como estructura general $R^1R^2C = NR^3$ (con $R^3 \neq H$) (20,21), aunque son conocidos por ser productos intermedios de síntesis orgánica, también son de gran importancia en la química de coordinación (1,3). Se caracterizan por presentar en su estructura un grupo azometino (-C=N) (Figura 1-1), requerimiento principal para la actividad biológica (23).

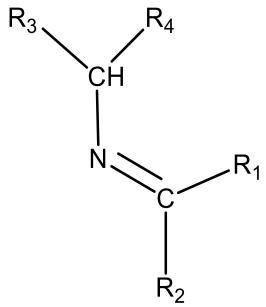


Figura 1-1. Estructura general de las bases de Schiff.

Generalmente, se sintetizan mediante reacciones de condensación de un carbonilo (cetona o aldehído) con aminas primarias (24). Debido a su funcionalización, pueden contener grupos donantes adicionales (O, N, S, P, entre otros) convirtiéndolos en buenos candidatos para coordinarse a iones metálicos (Figura 1-2) (3,4).

Las bases de Schiff se forman a partir de la reacción de aldehídos o cetonas con una amina primaria ($R\text{-}NH_2$), que caracterizan por la formación de un doble enlace carbono – nitrógeno, como se muestra en la Figura 1-2 (21).

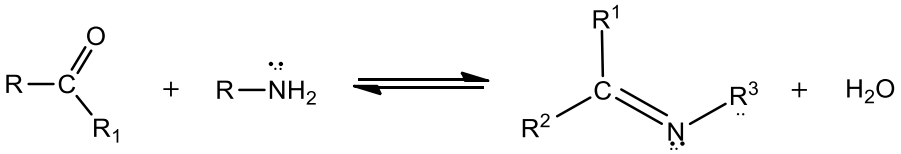


Figura 1-2. Formación de las bases de Schiff.

Las bases de Schiff se forman a través de un posible mecanismo de reacción reversible (Figura 1-3), por adición nucleofílica de una amina primaria al grupo carbonilo, que luego de la transferencia de un protón del nitrógeno al oxígeno lleva a la formación de un amino alcohol neutro denominado carbinolamina, esta reacción es lenta por lo que es necesario una pequeña cantidad de ácido, sometiéndola a una deshidratación catalizada (25,26).

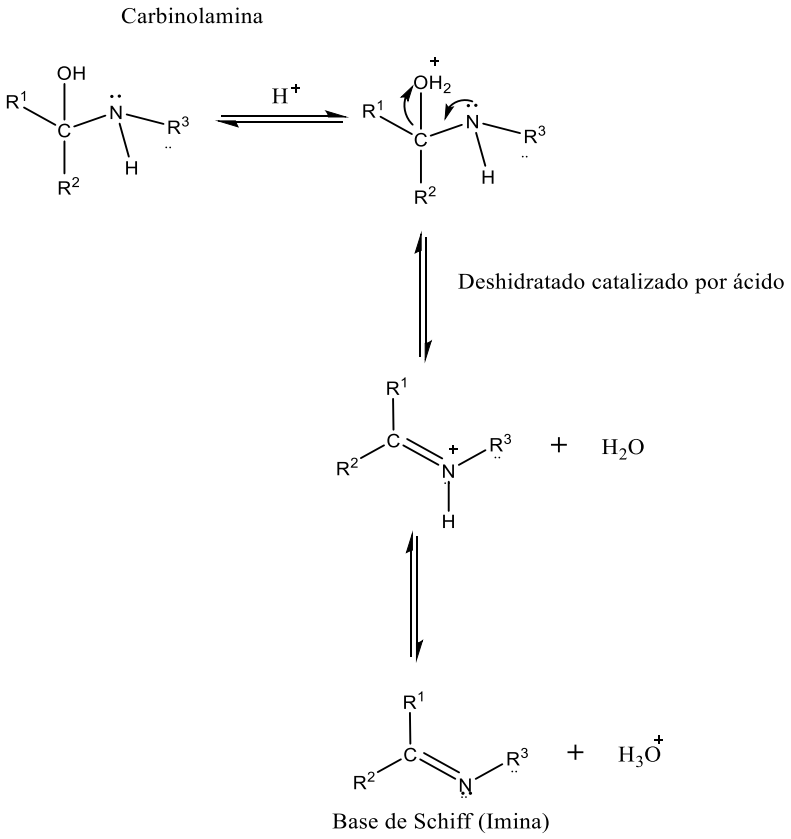


Figura 1-3 Posible mecanismo de reacción para la obtención de bases de Schiff.

Las bases de Schiff son una variedad importante de ligantes, que se han estudiado ampliamente, debido a su gran versatilidad como ligantes quelantes, ya que muestran gran capacidad de coordinación con iones metálicos a través del nitrógeno azometino y el átomo de azufre (Figura 1-4) (27–30).

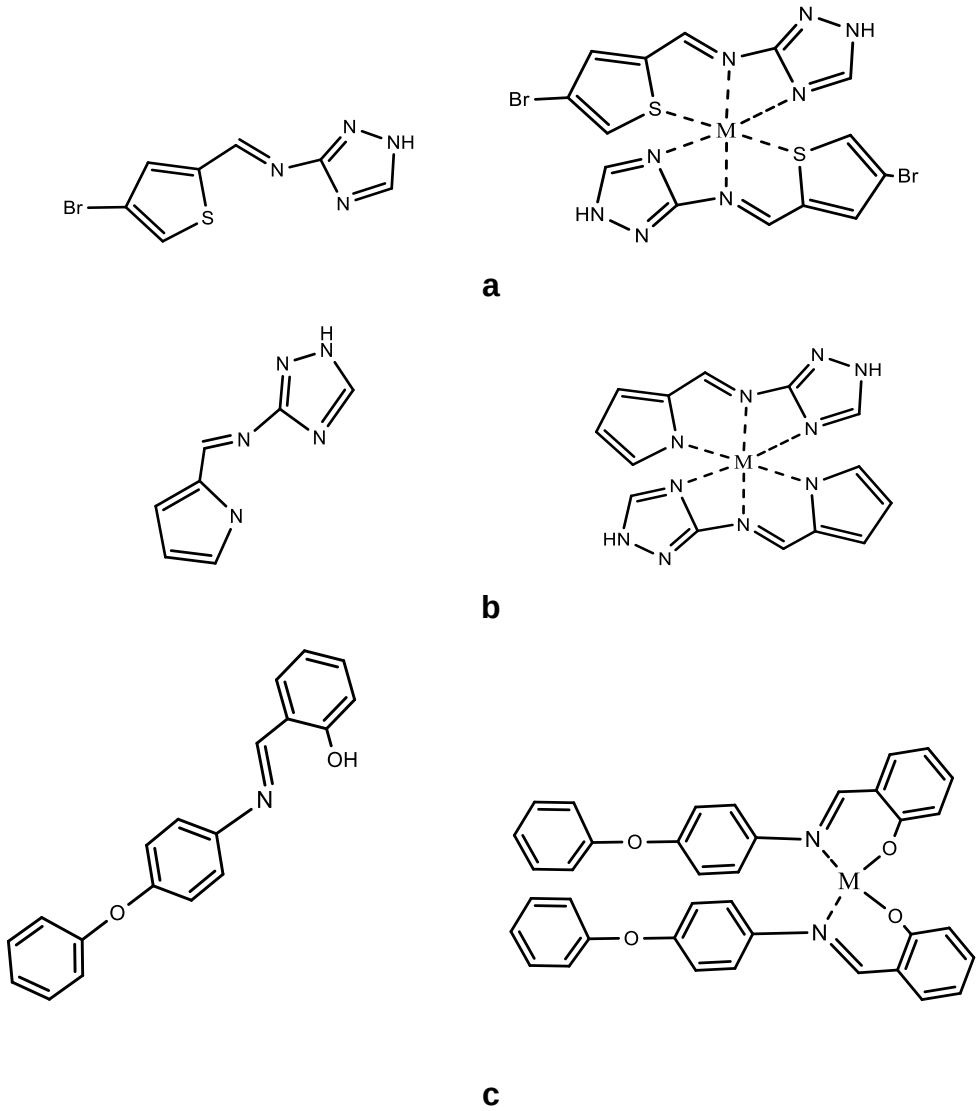


Figura 1-4 Ligantes con átomos donantes adicionales N y S, comportándose como un ligante tridentado **a**, ligante con un átomo N adicional, comportándose como un ligante tridentado **b** y un ligante con un átomo donante O (base) adicional comportándose como un ligante tridentado **c**.

Debido a las modificaciones estructurales de ligantes, que contienen grupos azometino, a través de su coordinación con centros metálicos, es posible encontrar diferentes aplicaciones biológicas potenciales (28,31).

1.2 Ligantes bases de Schiff tipo Tiosemicarbazonas

La caracterización de ligantes con átomos donadores de nitrógeno y azufre ha progresado en los últimos años, como una de las principales áreas de investigación en química de coordinación (32). Es el caso de las tiosemicarbazonas (TSC), han sido extensamente estudiados por sus modos de unión variable y diversidad estructural (33–35). La estructura general de las TSC se presenta en la Figura 1-5.

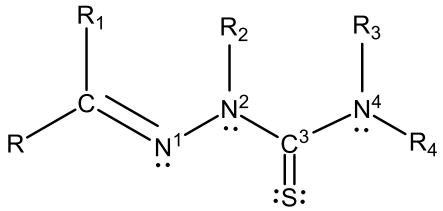


Figura 1-5. La estructura general en las tiosemicarbazonas.

En la Figura 1-5, se observa que la cadena $R^1R^2C{=}N^{\mathbf{1}}{-}N^{\mathbf{2}}H\ C^{\mathbf{3}}({=}S)N^{\mathbf{4}}R^3R^4$ presenta dos átomos donadores N y S (33,34,36). Esta estructura exhibe deslocalización del par electrónico del nitrógeno impidiendo la libre rotación de sus enlaces (Figura 1-4) (37). Es posible establecer diferentes derivados de los ligantes TSC dependiendo de los distintos sustituyentes R_1, R_2, R_3 y R_4 (18). Si el ligante TSC deriva de la reacción de condensación de tiosemicarbazidas basada en aldehídos, tendrá un átomo de hidrógeno como uno de los sustituyentes (R_1) en el carbono C (39). El sustituyente R_2 puede ser un grupo alquilo, arilo o un grupo heterocíclico (36,40–42). Los sustituyentes en N^4 nitrógeno pueden ser átomos de hidrógeno, o un hidrógeno, y un segundo grupo alquilo, o arilo (43).

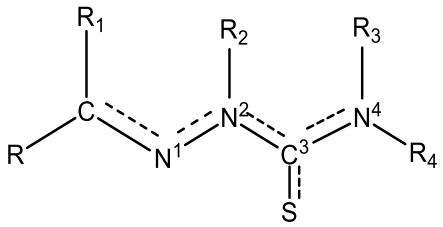


Figura 1-6. Deslocalización de carga en las TSC.

Los ligantes TSC exhiben un equilibrio tautomerico tiona-tiol en solución (Figura 1-6) (44). Por la pérdida de iones de hidrógeno de –SH, se produce la forma aniónica (en forma tiol) (Figura 1-7) (45).

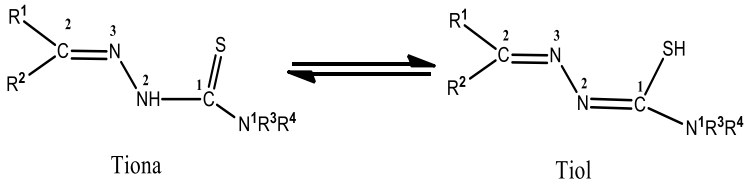


Figura 1-7. Tautomería tiona-tiol.

Se han reportado en diversos trabajos de investigación, los modos de unión para TSC neutras (en forma tiona) y aniónica (Figura 1-8) (45).

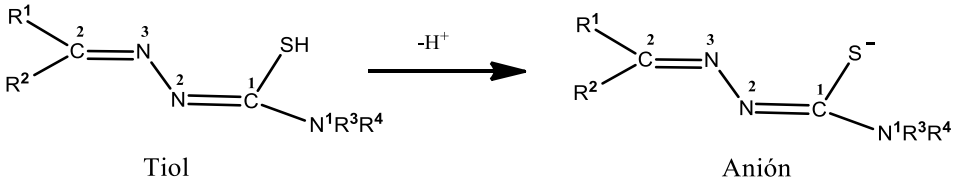


Figura 1-8. Forma aniónica de las TSC.

Las TSC exhiben diversos modos de coordinación con varios iones metálicos. El modo más usual de coordinación de este ligante, es cuando se produce solo a través del átomo S, tanto en forma neutra como aniónica, comportándose como un ligante monodentado (Figuras 1-9, **I, II** y 1-10) (35,46,47). Igualmente, los ligantes TSC tanto en forma neutra (forma tiona) como aniónica puede comportarse como ligantes bidentados (Figura 1-11, **I**,**II**,**II**) (45,48,49).

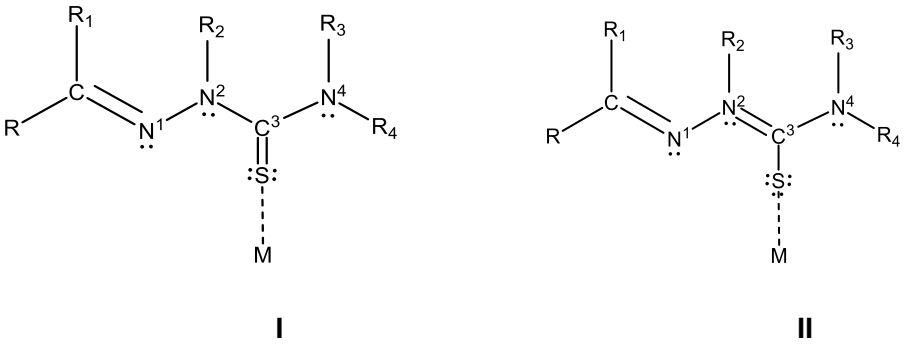


Figura 1-9. TSC como ligante monodentado, neutro y aniónico.

En la forma neutra, también es posible que se una a dos iones metálicos al mismo tiempo a través de un puente de azufre tiocarbonilo, permitiendo la formación de dímeros (Figura 1-10) (45,47,48).

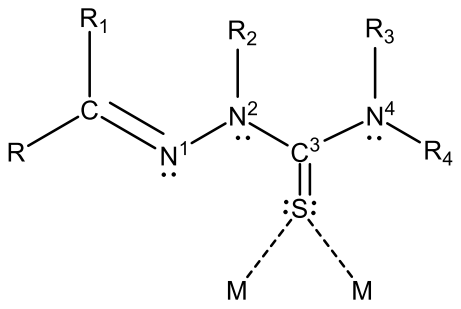
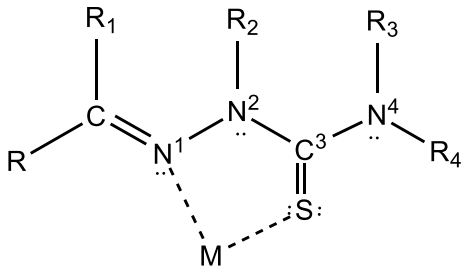
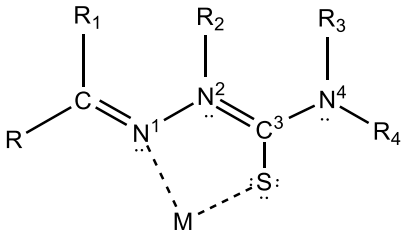


Figura 1-10. TSC como ligante monodentado neutro unido a dos centros metálicos.

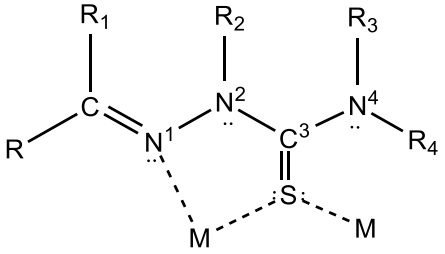
Las TSC exhiben otro modo coordinativo donde participan tanto el átomo de azufre tiocarbonilo como el átomo nitrógeno azometino, comportándose como un ligante bidentado en sus forma neutra (**I**) y aniónica (**II**). También la TSC puede unirse a dos centro metálicos al mismo tiempo, a través del azufre tiocarbonilo y el nitrógeno azometino (Figura 1-11, **III**).



I



II



III

Figura 1-11. Ligante bidentado en su forma neutra y su aniónica.

Es posible aumentar el número de átomos potencialmente donadores del ligante con un sustituyente heterocíclico en el carbono azometino, comportándose como un ligante tridentado (Figura 1-12), que puede lograrse mediante la condensación de aldehídos o cetonas heterocíclicas y tiosemicarbazida (35,47,49,50).

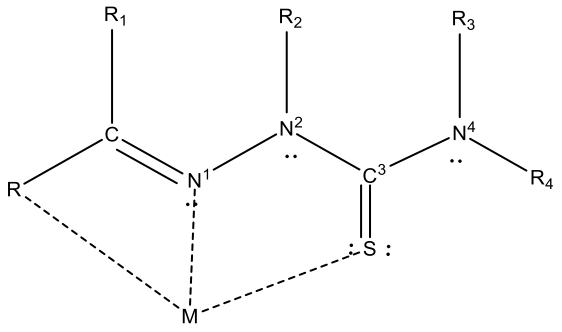


Figura 1-12. Modo de coordinación ligante TSC como tridentado.

Los ligantes TSC heterocíclicos presentan isomerización E o Z sobre el enlace -C=N, un ejemplo de esto pueden ser los derivados TSC de la piridina, (Figura 1-13) (51,52). Sin embargo, pueden presentarse como una mezcla de isómeros E / Z (53,54). Generalmente se reportan en trabajos de investigación, una mayor estabilidad para los isómeros E que para los isómeros TSC con configuración Z (30,32,33).

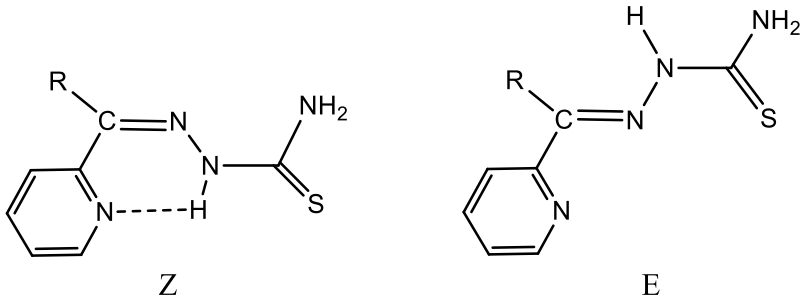


Figura 1-13. Isómeros conformacionales de la TSC de piridina.

1.2.1 Síntesis de los ligantes tiosemicarbazonas y complejos de Pd(II) y Ag(I)

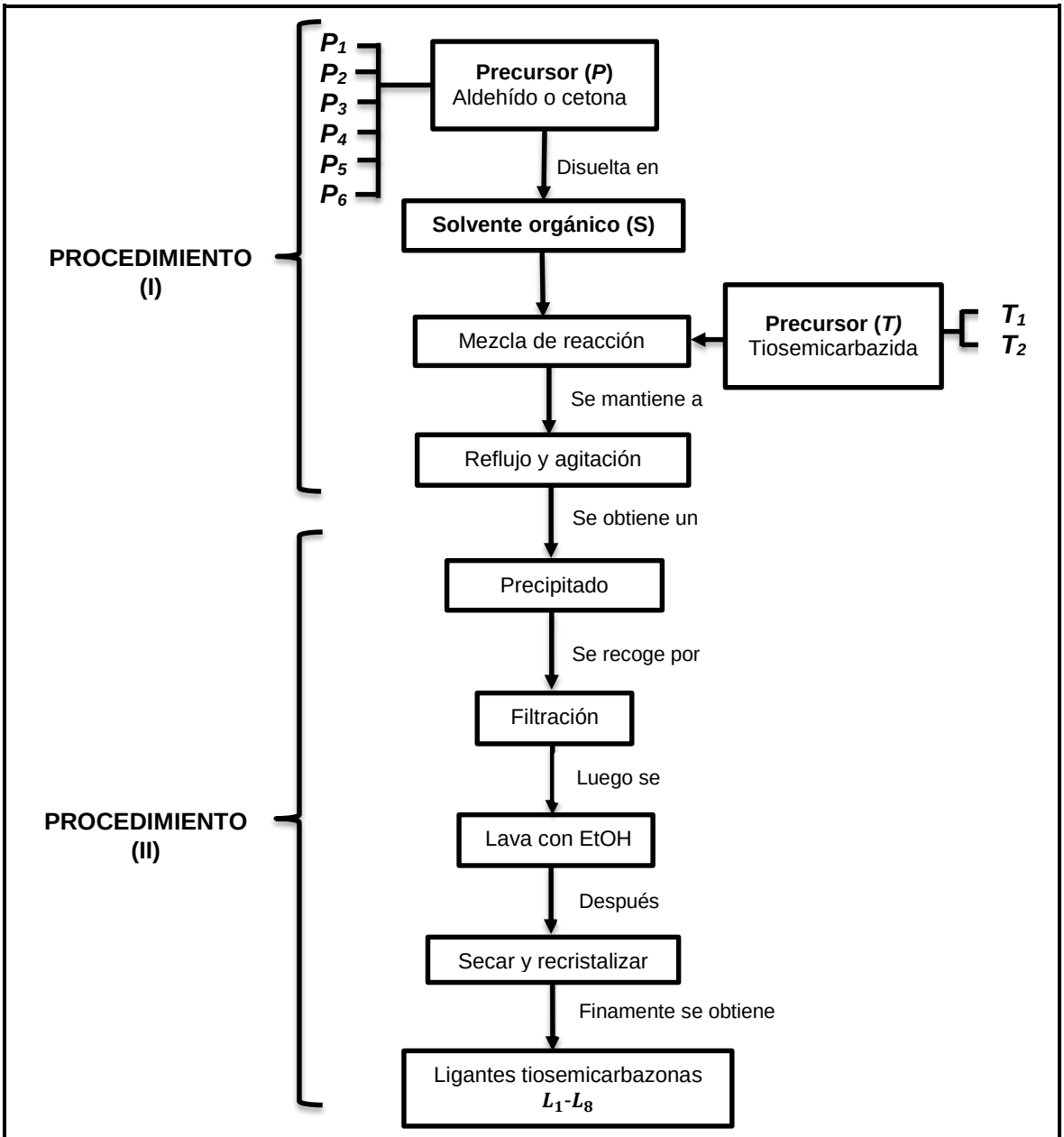
1.2.1.1 Síntesis de ligantes tiosemicarbazonas

A continuación se describen métodos preparativos de los ligantes 2-acetil piridina tiosemicarbazona (HAcTsc), $\boldsymbol{L_1}$, 2-acetil piridina 4N-etil tiosemicarbazona (HAc4Et), $\boldsymbol{L_2}$, tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazona (thio-2-carbTSC), $\boldsymbol{L_3}$, 3-metilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (MePhPzTSC), $\boldsymbol{L_4}$, 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (Ph_2PzTSC), $\boldsymbol{L_5}$, isatina-3-tiosemicarbazona (ITC), $\boldsymbol{L_6}$, 3-fenilpropenaltiosemicarbazona (catsc), $\boldsymbol{L_7}$, 2-bromo-3-fenilpropano tiosemicarbazona (Brcatsc), $\boldsymbol{L_8}$ (Esquema 1-1) (57-64).

Por lo general, en el método preparativo de los ligantes tiosemicarbazonas se disuelve una tiosemicarbazida (***T***) en un solvente orgánico a reflujo, después se adiciona el precursor (***P***) aldehído o cetona en cantidades equimolares, la mezcla de reacción se calienta a reflujo, hasta la evaporación y obtención de un precipitado (Esquema 1-1**,** procedimiento (I)) (45,53-60).

La mezcla de reacción de los precursores $\boldsymbol{P_1}$ y $\boldsymbol{T_1}$ para preparar el ligante HAcTsc $\boldsymbol{L_1}$ y la mezcla de reacción de $\boldsymbol{P_1}$ y $\boldsymbol{T_2}$ para la formación del ligante HAc4Et $\boldsymbol{L_2}$ se mantienen en agitación y a reflujo durante 4 h (51,57,60). En el caso de la síntesis del ligante thio-2-carbTSC $\boldsymbol{L_3}$, la mezcla de reacción de $\boldsymbol{P_2}$ y $\boldsymbol{T_1}$ se mantiene en agitación y a reflujo durante 42 h (61). Para la síntesis de los ligantes MePhPzTSC, $\boldsymbol{L_4}$ y Ph_2PzTSC, $\boldsymbol{L_5}$, se emplea el procedimiento descrito por Leovac *et al* (58,62,63). La mezcla de reacción de $\boldsymbol{P_3}$ y $\boldsymbol{T_1}$ para la preparación del ligante MePhPzTSC, $\boldsymbol{L_4}$, se mantiene en agitación y a reflujo durante 4h. Se emplea el mismo tiempo de agitación y reflujo en la formación del ligante Ph_2PzTSC $\boldsymbol{L_5}$, cuyos precursores son $\boldsymbol{P_4}$ y $\boldsymbol{T_1}$ (62,63).

En cuanto a la síntesis del ligante ITC $\boldsymbol{L_6}$, este se basa en el procedimiento descrito por Konstantinović *et al* (64,65), la mezcla de reacción de sus precursores $\boldsymbol{P_5}$ y $\boldsymbol{T_1}$ se emplea un tiempo de agitación y reflujo de 1 h. En este caso, se disuelven en etanol acuoso en presencia de unas gotas de ácido acético, para catalizar la reacción, esto hace que la tiosemicarbazida sea completamente soluble y así garantizar la condensación completa (44,64,65).



	L_1	L_2	L_3	L_4	L_5	L_7	L_8
P	P_1	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6
T	T_1	T_2	T_1	T_1	T_1	T_1	T_1
S	CH_3OH	CH_3OH	CH_3OH	CH_3CH_2OH	CH_3CH_2OH	CH_3CH_2OH	CH_3CH_2OH

P₁ **=** 2-acetilpiridina ***P₂*** **=** tiofeno-2-carbaldehido ***P₃*** **=**3-metil-1-fenilpirazol-4-carboxaldehído

P₄ **=**1,3-fenil-1-pyrazole-4-carbaldehído ***P₅*** **=** isatin-2,3-indolinediona ***P₆*** **=** cinamaldehido

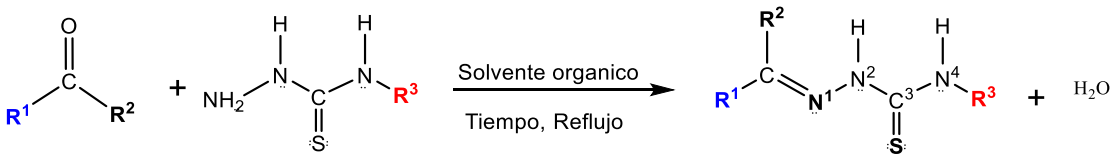
P₇ **=** bromocinamaldehído

T₁ **=** tiosemicarbazida ***T₂*** **=** 4-metil-3-tiosemicarbazida

Esquema 1-1. Esquema general del método síntesis de los ligantes tiosemicarbazonas.

La mezcla de reacción para la formación del ligante catsc, L_7, se hace reaccionar P_6 y T_1 y en la formación de Brcatsc, L_8, la reacción del bromocinamaldehído P_7 y T_1. En estos dos casos, se añade gota a gota la solución en etanol de tiosemicarbazida a la solución del aldehído. Ambas reacciones se mantienen condiciones de agitación aproximadamente 45-60 min (59,66). Los precipitados obtenidos se filtran y se lavan varias veces con etanol para eliminar cualquier impureza. En seguida se secan a temperatura ambiente y se recristalizan. Finalmente, se obtienen los ligantes tiosemicarbazonas L_1-L_8 (45,53-60).

La síntesis de ligantes tiosemicarbazonas ocurre a partir de la reacción de condensación entre una tiosemicarbazida y un aldehído o una cetona (Figura 1-14) (56,67).



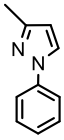
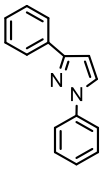
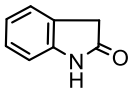
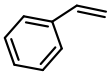
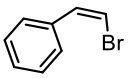
	R^1	R^2	R^3	Tiempo	Ligantes	Referencia
P_1		$-CH_3$	H; $-CH_2-CH_3$	4 h	L_1 ; L_2	(53,54)
P_2		H	H	42 h	L_3	(55)
P_3		H	H	4 h	L_4	(56)
P_4		H	H	4 h	L_5	(57)
P_5		H	H	1h	L_6	(58)
P_6		H	H	45-60 min	L_7	(59)
P_7		H	H	45-60 min	L_8	(60)

Figura 1-14. Síntesis de los ligantes tiosemicarbazonas.

1.2.1.1 Síntesis de complejos de Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas

Los complejos de Pd(II) y Ag(I) por los general se preparan mediante la reacción de un haluro metálico, nitrato, con una tiosemicarbazona en un solvente orgánico, seguido de reflujo, con agitación constante a temperatura ambiente (22,54-71).

El método experimental de síntesis de los complejos [Pd(AcTsc)Cl], $\boldsymbol{C_1}$, [Pd(HAcTsc)$_2$]Cl$_2$, $\boldsymbol{C_2}$, [Pd(AcTsc)], $\boldsymbol{C_3}$, [Pd(Ac4Et)], $\boldsymbol{C_4}$, [Pd(HAc4Et)$_2$]Cl$_2$, $\boldsymbol{C_5}$, [Pd(Ac4Et)$_2$], $\boldsymbol{C_6}$, [Pd(thio-2-carbTSC)Cl]Cl, $\boldsymbol{C_7}$, [Pd(thio-2-carbTSC)OAc]OAc, $\boldsymbol{C_8}$, [Pd(MePhPzTSC)$_2$], $\boldsymbol{C_9}$, [Pd(Ph$_2$PzTSC)$_2$], $\boldsymbol{C_{10}}$, Pd(ITC)Cl$_2$, $\boldsymbol{C_{11}}$, [Ag(catsc)(PPh$_3$)$_2$]NO$_3$, $\boldsymbol{C_{12}}$ y el complejo dinuclear [Ag$_2$(PPh$_3$)$_2$(μ-S-Brcatsc)$_2$(η^1-S-Brcatsc)$_2$](NO$_3$)$_2$, $\boldsymbol{C_{13}}$ se han descrito en la literatura (45,53-64).

En el Esquema 1-2, se muestra el procedimiento general para la preparación de complejos de paladio(II) tiosemicarbazonas. Los complejos de paladio(II) $\boldsymbol{C_1}$, $\boldsymbol{C_2}$ y $\boldsymbol{C_3}$ se prepararon a una relación molar metal-ligante 1:1, 1:2 y 1:1, respectivamente. En la síntesis de los anteriores complejos, la mezclas de reacción de $\boldsymbol{L_1}$ y ***MX*$_{(1)}$** se mantiene a reflujo durante 24 h (48,53).

Igualmente, se prepararon los complejos $\boldsymbol{C_4}$,$\boldsymbol{C_5}$ y $\boldsymbol{C_6}$ a una relación molar metal-ligante 1:1, 1:2 y 1:1, respectivamente. Las mezclas de reacción de los precursores ***MX*$_{(1)}$** y $\boldsymbol{L_2}$ para la formación de los complejos $\boldsymbol{C_4}$,$\boldsymbol{C_5}$ y $\boldsymbol{C_6}$, permanecen el mismo tiempo bajo reflujo que las mezclas de reacción para la síntesis de los complejos $\boldsymbol{C_1}$, $\boldsymbol{C_2}$ y $\boldsymbol{C_3}$ (48,54).

El complejo $\boldsymbol{C_7}$ se sintetiza a partir de una solución de la sal metálica ***MX*$_{(2)}$** que se añade a una solución del ligante $\boldsymbol{L_3}$. Esta mezcla resultante se agita y se mantiene a reflujo durante 30 min, dando como resultado una solución coloreada, seguido a esto adiciona hexano para provocar la precipitación.

El tiempo utilizado para la síntesis de $\boldsymbol{C_7}$ es el mismo para la formación del complejo $\boldsymbol{C_8}$, cuyos precursores son el ligante $\boldsymbol{L_3}$, y ***MX*$_{(3)}$** (61). Estos dos complejos se prepararon a una relación molar de metal-ligando de 1: 1.

Los complejos $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$, se sintetizan a una relación molar de metal-ligando 1:1. Se agrega una solución de $\boldsymbol{L_4}$ en a una solución de ***MX*$_{(4)}$** que se mantiene a reflujo durante 24

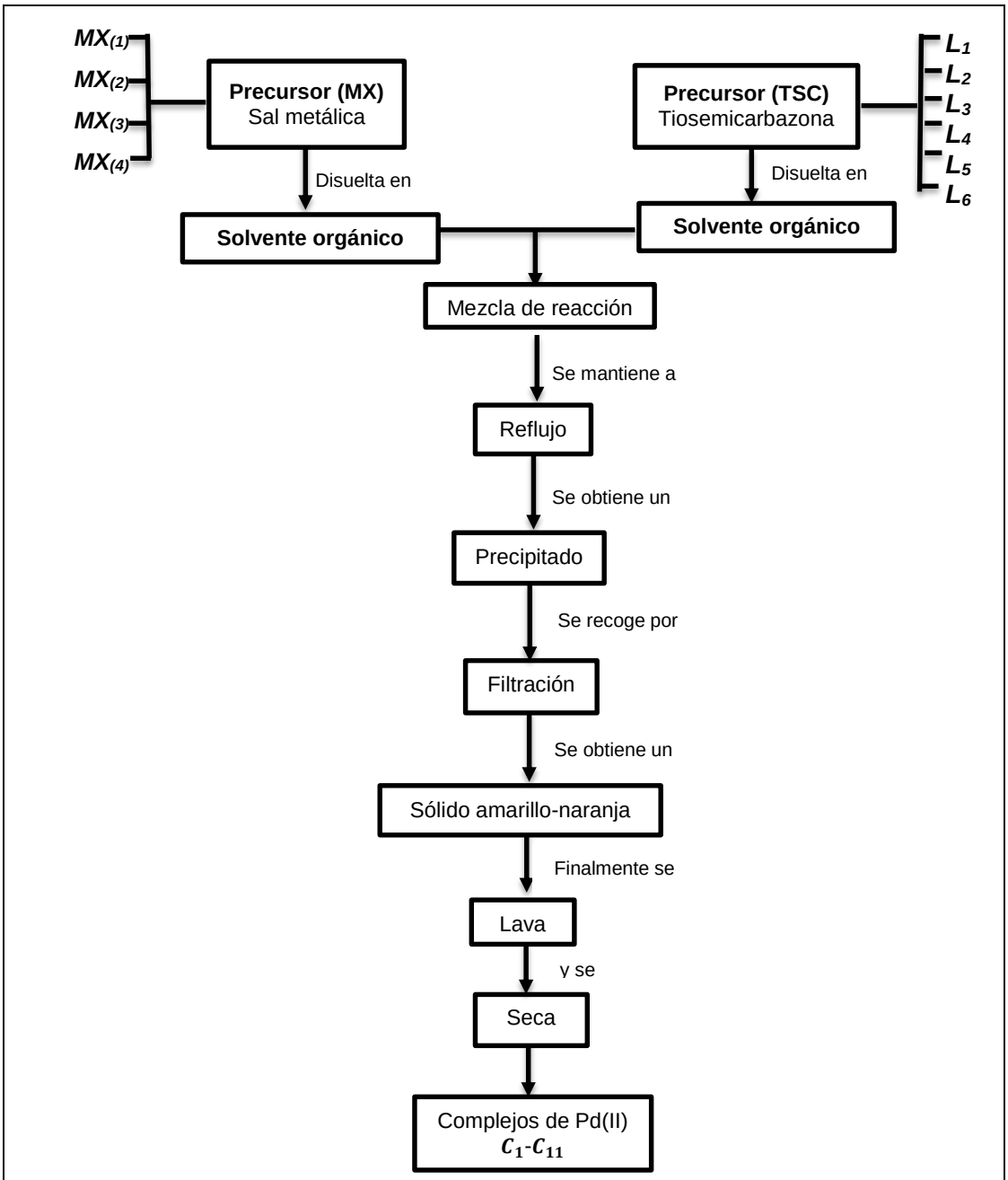
h. El complejo $\boldsymbol{C_{10}}$ se prepara usando el mismo procedimiento anterior, sus precursores son $\boldsymbol{MX_{(4)}}$ *y* el ligante $\boldsymbol{L_5}$ (62,63).

Aunque los complejos $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$ se prepararon a una relación molar de metal-ligante 1:1, en realidad estos complejos presentan una relación molar metal- ligante 2:1, esto fue corroborado mediante el monitoreo de estos compuestos, por Espectrometría de masas de bombardeo atómico rápido (FAB) (64,65).

Teniendo en cuenta la relación de masa de los complejos $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$ de m/z 622.9272 y m/z 750.8350, respectivamente, se confirma la masa molecular de estos los complejos (62,63). El complejo $\boldsymbol{C_{11}}$, se prepara utilizando el método directo entre el ligante $\boldsymbol{L_6}$ y $\boldsymbol{MX_{(4)}}$ (relación molar 1:1). La solución se calienta a reflujo durante 3 a 5 h aproximadamente (64,65).

La síntesis de los complejos de Pd(II) ocurre a partir de la reacción de una tiosemicarbazona y una sal de paladio(II) (Figura 1-17). Finalmente, los sólidos obtenidos de color amarillo-naranja se separan por filtración, se lavan (con agua fría, metanol, etanol y éter), y se secan al vacío (con cloruro de calcio anhidro o gel de sílice) (48,53–58).

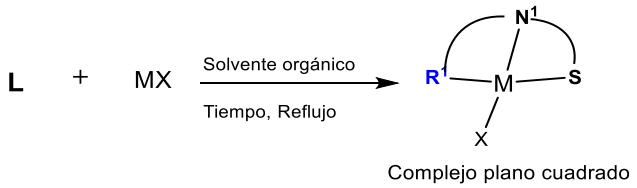
Cabe destacar, que en el caso de los complejos $\boldsymbol{C_7}$ y $\boldsymbol{C_8}$ el precipitado resultante después de ser filtrado, lavado y secado se recristaliza en CH_2Cl_2 / hexano para dar el complejo (61).



	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7	C_8	C_9	C_{10}	C_{11}
MX	$MX_{(1)}$			$MX_{(1)}$			$MX_{(2)}$	$MX_{(3)}$	$MX_{(4)}$	$MX_{(4)}$	$MX_{(4)}$
TSC	L_1			L_2			L_3		L_4	L_5	L_6
S_1	CH_3OH			CH_3OH			CH_2Cl_2		CH_3OH	CH_3OH	CH_3CH_2OH
S_2	CH_3OH			CH_3OH			CH_2Cl_2		C_3H_6O	CH_3OH	CH_3CH_2OH

$MX_{(1)}$= Li_2PdCl_4 $MX_{(2)}$= $[PdCl_2(PhCN)_2]$ $MX_{(3)}$=$[Pd(OAc)_2]$ $MX_{(4)}$= $PdCl_2$

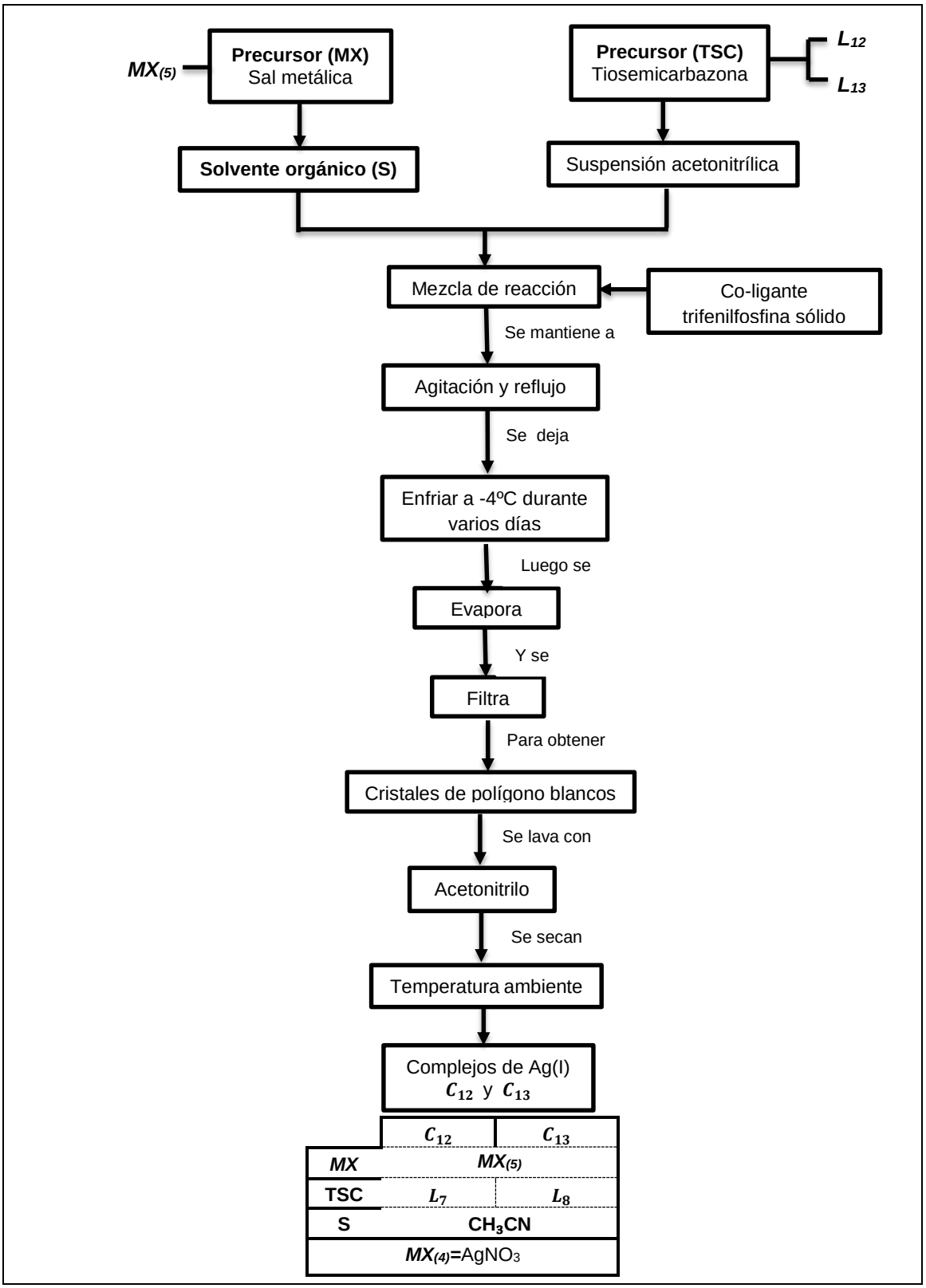
Esquema 1-2. Esquema general del método síntesis de complejos de Pd(II) tiosemicarbazonas.



	R^2	R^3	MX	Tiempo	Complejo	Referencia
	$-CH_3$	H; $-CH_2-CH_3$	Li_2PdCl_4	24 h	C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6	(53,54)
	H	H	$[PdCl_2(PhCN)_2]$; $[Pd(OAc)_2]$	0,5h	C_7, C_8	(55)
	H	H	$PdCl_2$	24 h	C_9	(56)
	H	H	$PdCl_2$	24 h	C_{10}	(57)
	-	H	$PdCl_2$	3–5 h	C_{11}	(58)

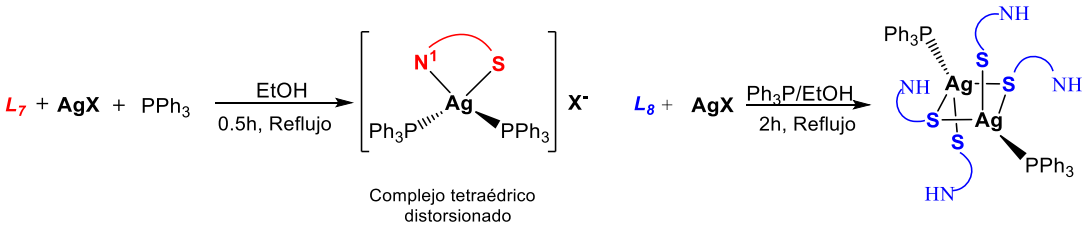
Figura 1-15. Reacción de los ligantes tiosemicarbazonas y sales de Pd(II) para la formación de complejos.

Para la síntesis de los complejos de Ag(I) $\boldsymbol{C_{12}}$ y $\boldsymbol{C_{13}}$, se emplea el procedimiento descrito por Shahsavani *et al* (66) y Khalaji *et al* (Esquema 3) (59). En este caso, las TSC se encuentran suspendidas en acetonitrilo y la sal metálica $\boldsymbol{MX_{(5)}}$ se encuentra disuelta en solvente orgánico (acetonitrilo). A la mezcla de reacción del ligante $\boldsymbol{L_7}$ y $\mathbf{MX_{(4)}}$ para la formación del complejo $\boldsymbol{C_{12}}$, se incluye un co-ligante, la trifenilfosfina, PPh_3 (sólido). Esta mezcla se agita hasta que se obtiene una solución amarilla (aproximadamente 30 min). Para la la síntesis del complejo $\boldsymbol{C_{13}}$, la mezcla de sus precursores $\boldsymbol{MX_{(5)}}$, $\boldsymbol{L_8}$, y PPh_3 también se agita durante 30 min (Figura 1-16). La relación molar metal-ligante de los anteriores complejos es de 1:1.



Esquema 1-3. Esquema general de síntesis de complejos de Ag(I) tiosemicarbazonas.

La síntesis de los complejos de plata(I) ocurre a partir de la reacción de una tiosemicarbazona y una sal de plata(I), Figura 1-16 (56,67). Después de completar la reacción, se deja enfriar (a temperatura de -4ºC) durante varios días, luego se deja evaporar lentamente a temperatura ambiente. Finalmente, se obtienen cristales de polígono blancos que se filtran y se lavan dos veces con acetonitrilo, y se secan a temperatura ambiente (Esquema 1-3) (63,64).



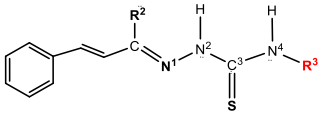
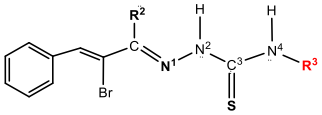
	R^2	R^3	AgX	Tiempo	Relación molar	Complejo	Referencia
 L_7	H	H	$AgNO_3$	30 min	1:1	C_{12}	(63)
 L_8	H	H	$AgNO_3$	30 min	1:1	C_{13}	(64)

Figura 1-16. Esquema de reacción de los ligantes tiosemicarbazonas y sales de Ag(I) para la formación de sus complejos.

2 . Capítulo 2

2.1 Espectroscopia de absorción en la región de infrarroja, Resonancia Magnética Nuclear y Difracción de rayos X de ligantes tiosemicarbazonas y sus complejos metálicos de paladio(II) y plata(I)

La caracterización química de los ligantes TSC y sus respectivos complejos con Pd(II) y Ag(I), se realizó mediante técnicas analíticas como espectroscópicos de FT-IR, RMN y DRX monocristal, reportados en diferentes investigaciones (67,55–60). Estos resultados confirman la obtención de los ligantes y sus respectivos complejos metálicos con iones Pd(II) y Ag(I). Así como, determinar el comportamiento de los ligantes neutros o aniónicos, sus formas tautomericas tiona-tiol y los modos de coordinación de los ligantes a los iones metálicos (67,55–60).

2.1.1 Espectroscopia infrarroja IR de ligantes tiosemicarbazonas y complejos de paladio(II) y plata(I)

La asignación de bandas características de los grupos funcionales, en el espectro IR, correspondiente a los ligantes libres tiosemicarbazonas y sus complejo con iones Pd(II) y Ag(I) permite conocer que átomos donores de los ligantes participan en la coordinación y la determinación de la forma tautomérica del ligante libre y del ligante coordinado a los iones metálicos.

La presencia de la banda característica del grupo funcional azometino (-C=N) del ligante $\boldsymbol{L_2}$ coordinado al Pd(II) en el complejo $\boldsymbol{C_4}$, se presenta a menor longitud de onda de 1561 cm^{-1} cuando se compara con el ligante libre a 1590 cm^{-1}, indicando la coordinación del nitrógeno azometino al Pd(II). En cuanto a la banda característica del grupo -C-S en el ligante libre se observa a 880 cm^{-1}, mientras que en el complejo se presenta a una energía mayor, a una longitud de onda de 842 cm^{-1}, indicando la coordinación del átomo donador

azufre del grupo tiocarbonilo (-C=S) con el Pd(II). Además, el ligante libre presenta una banda a 620 cm^{-1}, que está relacionada con el anillo piridínico, y en el complejo la banda se desplaza a 625 cm^{-1}, lo que sugiere una coordinación del anillo heterociclo por medio del átomo nitrógeno (68).

El ligante $\boldsymbol{L_3}$ se coordina al ion Pd(II), a través de su átomo donor azufre. Se observa un desplazamiento en la longitud de onda del grupo -C=S del ligante libre a 1250 cm^{-1}, con respecto al ligante en el complejo $\boldsymbol{C_7}$ a 785 cm^{-1}. La banda de absorción a 1585 cm^{-1} correspondiente al grupo -C=N en el ligante libre, y en el complejo se desplaza ligeramente a 1475 cm^{-1}, lo que muestra la coordinación del átomo N-azometino con el Pd(II). Las dos bandas que corresponden al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo N^1H_2, experimentan cambios muy pequeños indicando la no interacción entre el ión Pd(II) y el grupo N^1H_2 terminal. La banda de intensidad media observada a 850 cm^{-1}en el espectro del ligante libre, asignada al tiofeno, se desplaza a 825 cm^{-1} cuando el ligante se coordinado al Pd(II) (61).

En el complejo $\boldsymbol{C_9}$ no se observa la banda asignada al grupo hidrazina N^2H, lo que permite sugerir la desprotonación del ligante $\boldsymbol{L_4}$, con relación al ligante libre, la banda del grupo hidrazina se presenta a una longitud de onda de 3144 cm^{-1}. Igualmente, se muestra un cambio a más baja energía de la banda correspondiente al estiramiento del tiocarbonilo C–S del ligante coordinado al Pd^{2+}, el grupo NHC=S en el ligante libre presenta una banda a una longitud de onda de 1209 cm^{-1}, mientras que en el complejo se observa a 1097 cm^{-1}. Debido a los resultados obtenidos de las bandas características de los grupos hidrazina y tiocarbonilo, se sugiere que el ligante interactúa con el Pd(II) en forma aniónica. La banda correspondiente al grupo -C=N en el ligante libre se presenta a 1590 cm^{-1}, al formar el complejo esta banda se desplaza a 1619 cm^{-1}. La banda azometina -C=N del anillo pirazol en el ligante (1551cm^{-1}) no presenta desplazamiento significativo frente al ligante en el complejo (1536 cm^{-1}), indicando que el nitrógeno del pirazol no participa en la coordinación del ión metálico (62).

La banda azometina (-C=N) del ligante $\boldsymbol{L_5}$ en el complejo $\boldsymbol{C_{10}}$, presenta un amplio desplazamiento respecto al ligante libre en el intervalo de 1590–1615 cm^{-1}, debido a que el N-azometino interactúa con el Pd(II). El desplazamiento de la banda característica del tiocarbonilo C-S en el complejo aparece a 756 cm^{-1} y cuando se compara con el ligante libre a 1096 cm^{-1}, permite sugerir que el ligante coordina al Pd(II) en forma aniónica. La

ausencia de la banda del grupo hidrazina N^2H en la formación del complejo, también sugiere la desprotonación del ligante, donde la banda de estiramiento de la hidrazina se presenta a una longitud de onda de 3143 cm^{-1}, también sugiere que el ligante en el complejo está en su forma aniónica. Otra señal que confirma la desprotonación de la hidrazina es la presencia de la banda del grupo N-N a 1051 cm^{-1} en el complejo. Lo anterior, permite sugerir que la coordinación del ligante con el ion metálico se produce a través de los átomos donadores nitrógeno y azufre, respectivamente (63).

El modo vibracional del grupo funcional -C=N del ligante libre $\boldsymbol{L_6}$ muestra un desplazamiento de la banda en el complejo $\boldsymbol{C_{11}}$ de 1575 cm^{-1} a 1585 cm^{-1}. –El pequeño desplazamiento que muestra la banda del tiocarbonilo C–S del ligante coordinado al Pd^{2+} es de 834 cm^{-1}, con respecto al ligante libre que es de 854 cm^{-1}. Este resultado permite sugerir que el ligante está en forma neutra en el complejo $\boldsymbol{C_{11}}$. El átomo de oxígeno de la isatina (C=O) no interviene en la coordinación, ya que no presenta un cambio significativo en la longitud de onda del complejo (1705 cm^{-1}) con respecto al ligante libre (1710 cm^{-1}). Estos resultados muestran que el ligante $\boldsymbol{L_6}$ actúa como un ligante bidentado (64).

El ligante $\boldsymbol{L_7}$ se coordina al ion Ag(I), a través del átomo donor nitrógeno-azometino, se observa un cambio de energía de la banda característica al grupo -C=N del ligante libre con respecto al ligante coordinado en el complejo $\boldsymbol{C_{12}}$, que aparece a una menor energía, en un intervalo de 1624-1562 cm^{-1}. Se observa un pequeño desplazamiento de la banda característica de la hidrazina (N-H) en el complejo, con respecto al ligante libre en un intervalo entre 3153 y 3143 cm^{-1}, indicando que el ligante está en forma neutra. La señal del tiocarbonilo del ligante en el complejo con relación al ligante libre presenta un pequeño desplazamiento en el intervalo de 850-814 cm^{-1}, que indica también que el ligante se une en forma neutra al ión metálico a través de su átomo donor azufre (59).

La coordinación del ligante $\boldsymbol{L_8}$ al centro del ión Ag(I) se efectúa en su forma tiona, pues en el complejo $\boldsymbol{C_{13}}$ presenta la banda (-NH-) y un ligero desplazamiento de la banda (-C=S) a un intervalo 859 – 850 cm^{-1} respecto al ligante libre. El átomo de nitrógeno del grupo azometino no participa en la coordinación ya que no presenta un desplazamiento significativo de su banda característica (1604-1599 cm^{-1}). El azufre del tiocarbonilo es el único átomo donor que participa en la coordinación del Ag(I) (66).

2.1.2 Resonancia Magnética Nuclear ^{1}H y ^{13}C de ligantes tiosemicarbazonas y complejos de paladio(II) y plata(I)

Fueron seleccionaron algunos datos de resonancia magnética nuclear protónica y carbono 13 (RMN ^{1}H y ^{13}C) de los ligantes libres tiosemicarbazonas y sus complejos con Pd(II) y Ag(I) (Tabla 1-1).

2.1.2.1 Resonancia magnética nuclear protónica ^{1}H-NMR

En el espectro RMN ^{1}H, se presentan desplazamientos de las señales del protón hidrazina (-$N^{2}H$) de los ligantes libres, que aparecen en un intervalo bastante amplio δ 9.15-11.7 ppm y los desplazamientos químicos de los protones de $C^{2}R^{2}$ que se presentan a un intervalo entre δ 2.40-8.42 ppm, dependiendo de la naturaleza de los sustituyentes en carbono C^{2} (1-7). La coordinación del ligante tiosemicarbazona con el ión metálico induce un cambio en la posición de estas señales.

En el complejo $\boldsymbol{C_4}$, el ligante $\boldsymbol{L_2}$, la señal del protón -NH- no fue observada, indicando que el ligante está desprotonado, es decir, que actúa en la forma tautomérica tiol. La señal de los protones del sustituyente -CH_3 del carbono azometino, presentan un pequeño desplazamiento a campo alto que indica la coordinación del nitrógeno azometino. El desplazamiento químico a campo bajo de la señal que corresponde al protón del anillo heterociclo del ligante $\boldsymbol{L_2}$ en el complejo, indica la coordinación del átomo nitrógeno del heterociclo con el Pd(II) (68).

La señal del protón del nitrógeno hidrazina del ligante libre $\boldsymbol{L_3}$, aparece a un desplazamiento químico cercano a δ 11,47 ppm. En los espectros del complejo de $\boldsymbol{C_7}$, se observa un cambio significativo hacia campo bajo de la señal del átomo del protón azometino. Igualmente, la señal de los protones del tiofeno del ligante $\boldsymbol{L_3}$ en el complejo $\boldsymbol{C_7}$, presentan un desplazamiento hacia campo bajo. Este resultado está relacionado con la coordinación del átomo de azufre del tiofeno con el Pd(II). Lo anterior permite sugerir que el ligante se comporta como un quelante tridentado con los átomos donadores S (tiofeno),N^{3} y S (Figura 2-17) (61).

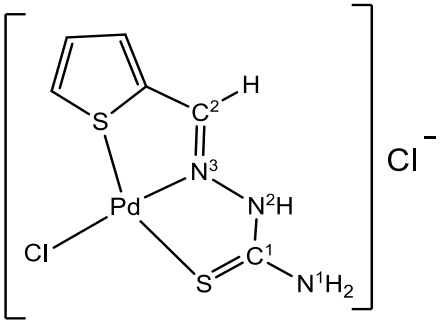


Figura 2-17. Complejo de paladio(II) con el ligante tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazona [Pd(thio-2-carbTSC)Cl], $\boldsymbol{C_7}$.

La no presencia de la señal del protón hidrazínico N^2H en los complejos $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$, sugieren que los ligantes tiosemicarbazonas se coordinan al centro metálico en la forma tautomérica tiol. El desplazamiento químico del protón del carbono azometino, indica la coordinación del nitrógeno azometino con el Pd(II) en ambos complejos (62). En el complejo $\boldsymbol{C_{12}}$, el ligante $\boldsymbol{L_7}$ actúa de forma tiona, se produce un desplazamiento químico característico de la señal del protón del nitrógeno hidrazínico (N^2H). La señal del protón del carbono azometino que indican la coordinación del átomo donador nitrógeno-azometino (59).

Los ligantes $\boldsymbol{L_8}$ en el complejo $\boldsymbol{C_{13}}$, actúan en forma tiona, la señal asignada al próton hidrazina (-N^2H) no varía demasiado respecto al ligante $\boldsymbol{L_8}$ libre. El nitrógeno del grupo (–C=N) no participa en la coordinación del ión metálico, ya que la diferencia del desplazamiento químico del protón imínico con respecto al ligante libre no es muy significativo (δ 8.42 - 8,84 ppm). De acuerdo con lo anterior el ligante actúa en forma bidentada. La presencia del co-ligante PPh_3 es detectado debido a la presencia de sus protones aromáticos en la región δ 7.36-7.95 ppm (66).

2.1.2.2 Resonancia magnética nuclear carbono ^{13}C

En la Tabla 1-1, se presentan los datos de Espectroscopia de Resonancia magnética Nuclear de ligantes tiosemicarbazonas y sus complejos con Pd(II) y Ag(I), respectivamente. En el espectro de RMN-^{13}C, el desplazamiento químico característico del carbono tiocarbonilo C^1 del ligante libre $\boldsymbol{L_3}$, no fue observado en el complejo $\boldsymbol{C_7}$, indicando la coordinación de átomo donor azufre del tiocarbonilo con el ión metálico. El carbono C^2 (azometino) del complejo con respecto al ligante libre, se produce un pequeño desplazamiento químico a campo alto como consecuencia de la coordinación del ligante

al Pd(II). El desplazamiento de la señal característica de un carbono del tiofeno, indica la coordinación a través del átomo de azufre del anillo con el Pd(II) (61).

Tabla 2-1. Datos de ^{1}H y ^{13}C NMR (ppm) de los ligantes de tiosemicarbazonas y sus complejos de Pd(II) y Ag(I)

Compuesto	**R^2**	**N^2H**	**C^2R^2**	**Protones del anillo**	**Ref.**
Datos de RMN ^{1}H					
HAc4Et (L_2)	CH_3	10.26	2.40	8.5	(68)
[Pd (Ac4Et)](C_4)		-	2.35	8,82	
thio-2-carbTSC (L_3)	H	11.47	8.24	7.10-7.12	(61)
[Pd(thio-2-carbTSC)Cl] (C_7)			8.90	7.50 -7.77	
MePhPzTSC (L_4)	H	11.33	8.07	8.85 (s, 1H, H-5pz)	(62)
[Pd(MePhPzTSC)$_2$] (C_9)		-	8.14	9.23(s, 1H, H-5 pz)	
Ph_2PzTSC (L_5)	H	11.33	8.24	9.18 (s, 1H, H-5 pz)	(63)
[Pd(Ph_2PzTSC)$_2$] (C_{10})		-	8.36	9.46(s, 1H, H-5 pz).	
Catsc (L_7)	H	NR	NR	NR	(59)
[Ag(catsc)(PPh_3)$_2$]NO_3 (C_{12})		11.7	8.6	7.1-7.6	
S-Brcatsc (L_8)	H	10.66	8.42	7.38 – 7.48 (He,f,h,i)	(66)
[Ag_2(PPh_3)$_2$(μ-S-Brcatsc)$_2$(η^1-S-Brcatsc)$_2$](NO_3)$_2$ (C_{13})		12.06	8.84	7.36-7.95 (Ha, He-Hi + PPh_3)	
Complejo	**C^1**		**C^2**	**Anillo de átomos de carbono**	**Ref.**
Datos de RMN ^{13}C					
HAc4Et (L_2)	178.6		155.7	148. 9	(68)
[Pd (Ac4Et)](C_4)	NR		NR	NR	
thio-2-carbTSC (L_3)	177.9		165.9	-	(61)
[Pd (thio-2-carbTSC)Cl] (C_7)	-		153.5	177.97	
MePhPzTSC (L_4)	177.3		135.8	148.7 (C-3 pz)	(62)
[Pd(MePhPzTSC)$_2$] (C_9)	172.2		144.2	152.2 (C-3 pz)	
Ph_2PzTSC (L_5)	178.0		135.4	151.8 (C-3pz)	(63)
[Pd(Ph_2PzTSC)$_2$] (C_{10})	172.2		144.2	154.1 (C-3 pz)	
Catsc (L_7)	-		-	-	(59)
[Ag(catsc)(PPh_3)$_2$]NO_3 (C_{12})	175.7		147.7	7.6 (PPh_3)	
S-Brcatsc (L_8)	174.05		142.6	128.75, 129.45, 130.05, 134.85 (C5 – C10)	(66)
[Ag_2(PPh_3)$_2$(μ-S-Brcatsc)$_2$(η^1-S-Brcatsc)$_2$](NO_3)$_2$ (C_{13})	76.09		145.6	128.94-139.21 (C5–C10 + PPh_3)	

En los complejos C_9 y C_{10}, el carbono C^1 (tiocarbonilo), se desplaza a campo alto, mostrando que los ligantes, además de coordinarse a través del átomo de azufre del

tiocarbonilo, también actúan de forma aniónica. La señal del carbono C^2 (azometino) se desplaza a campo bajo, pone de manifiesto que los ligantes actúan en forma tiol (63-64).

Como resultado de la coordinación de los ligantes $\boldsymbol{L_8}$ a los iones Ag(I) en el complejo $\boldsymbol{C_{13}}$, la señal del C^1 del tiocarbonilo muestra un pequeño desplazamiento químico a campo bajo δ142.68-145.63 ppm (66). La señal que corresponde al carbono azometino C^2 no sufre gran desplazamiento en su posición. Ambas señales muestran pequeños desplazamientos indicando que el ligante actúa de forma tiona. Los espectros RMN ^{31}P muestra la presencia del co-ligante PPh_3 (δ25.62 ppm) (66).

2.1.3 Cristalografía de rayos X de complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas

En la Tabla 2-2, se presentan los datos cristalográficos de varios de los complejos recopilados en este trabajo. Se han reportado complejos plano cuadrados de Pd(II) con ligantes tiosemicarbazonas heterocíclicos, que se han desprotonado y que actúan como ligantes tridentados. El complejo $\boldsymbol{C_4}$, presenta un ligante aniónico de Ac4Et, $\boldsymbol{L_2}$, este se coordina por medio de tres átomos donores $N^4_{(piridina)}$, N^3 y S. Los parámetros de red del enlace carbono – azufre del grupo tiocarbonilo presenta un carácter de enlace sencillo, las distancias de enlace de N^2-C^1 y del grupo azometino, ambos indican carácter de doble enlace. Los ángulos de enlace alrededor del Pd(II), son característicos de complejos plano-cuadrados, similares a los encontrados en otros complejos de paladio(II) tiosemicarbazonas 2-acetilpiridina (Figura 2-18) (52,69). La coordinación del ligante $\boldsymbol{L_2}$ con el Pd(II) provoca cambio de isomería conformacional, el ligante libre $\boldsymbol{L_2}$ pasa de conformación Z a conformación E en el complejo $\boldsymbol{C_4}$ con respecto al grupo azometino, es decir , que los sustituyentes de mayor prioridad unidos al carbono y nitrógeno azometino están en lados opuestos (68).

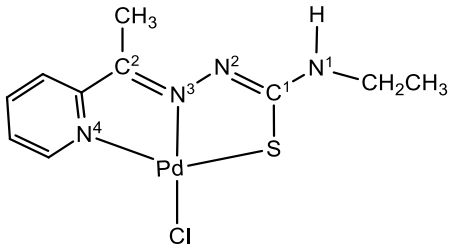


Figura 2-18. Complejo de paladio(II) con el ligante 2-acetilpiridina tiosemicarbazona [Pd(Ac4Et)], $\boldsymbol{C_4}$.

En el complejo $\boldsymbol{C_{12}}$, el ión metálico está coordinado con el ligante $\boldsymbol{L_7}$ a través de los átomos donores N^3 y S, actuando como ligante bidentado. En el ligante, el grupo azometino ($-C^2=N^3$) presenta carácter de doble enlace (1.287 –1.288Å), el enlace N-N conserva su carácter de enlace sencillo (1.370 -1389Å). Igualmente, el enlace C-S del grupo tioamida conserva su carácter de doble enlace (1.702 -1706(Å). Lo anterior permite concluir que el ligante se coordina al ión Ag(I) en su forma tiona (neutra) (Figura 2-19) (59).

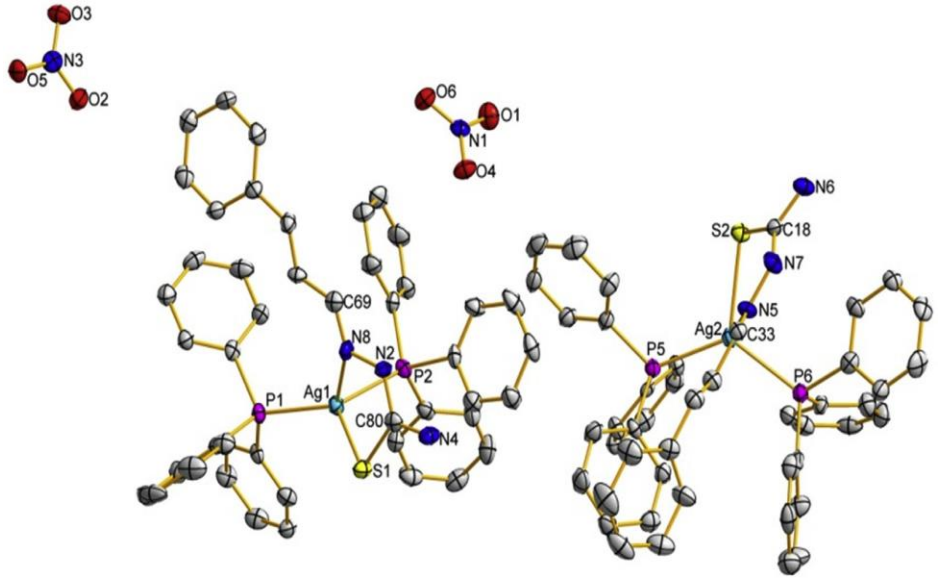


Figura 2-19. Complejo de plata(I) con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{L_7}$. La unidad asimétrica contiene dos cationes independientes de cristalografía $[Ag(catsc)(PPh_3)_2]$, $\boldsymbol{C_{12}}$ y dos contraiones NO^-. Fuente: Esquema de Khalaji *et al* (59).

Los ángulos de enlace alrededor de los iones de Ag(I) están entre 71.87º y 123.91º, son característicos de una geometría tetraédrica distorsionada. Esta distorsión, es causada por el coligante voluminoso trifenilfosfina (PPh_3) y el ángulo de tensión del ligante quelante, que se forma debido a que el átomo de S y el nitrógeno azometino N^3 están en la posición Z con respecto al enlace C^1-N^2 en el complejo (Figura 2-20). Previo a la coordinación, el ligante $\boldsymbol{L_7}$ presenta la configuración Z, cuando se coordina con el ión plata(I) en el complejo $\boldsymbol{C_{12}}$, este se comporta como un ligante bidentado provocando su cambio a la configuración E (con respecto al enlace doble $C^2=N^3$) (59).

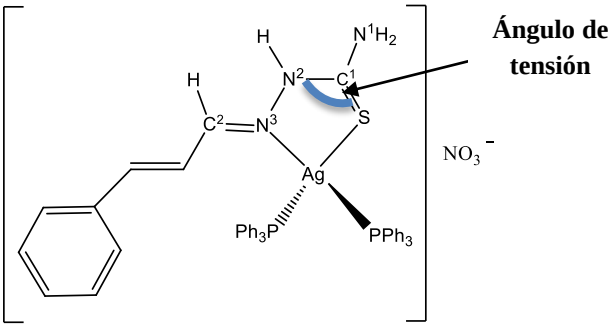


Figura 2-20. Complejo de plata(I) con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{C_{12}}$.

En el complejo dinuclear, $\boldsymbol{C_{13}}$, los ligantes $\boldsymbol{L_8}$ coordinados a los átomos de plata(I) son de conformación Z con respecto al enlace -C=N. Las distancias de enlace (2.5850 (Ag1-S1), 2,6115 (Ag1-S2) y 2.4393Å (Ag1-P1)) y los ángulos de enlace (110,70º (S1-Ag-S2), 111,01º (S2-Ag1-P1) y 120,17º (S1-Ag-P1)) alrededor de los centros de Ag^+ describen una geometría tetraédrica distorsionada, con las diferencias causadas por los distintos modos de coordinación de átomos de S a Ag(I) (Figura 2-21) (66).

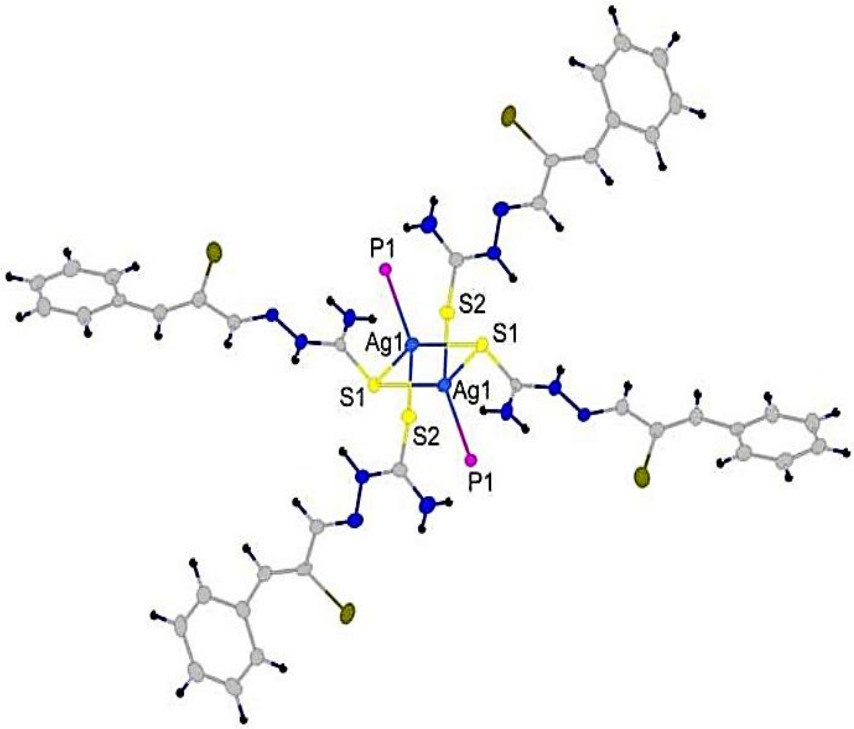


Figura 2-21. Complejo de plata(I) dinuclear, $[Ag_2(PPh_3)_2(\mu\text{-S-Brcatsc})_2(\eta^1\text{-S-Brcatsc})_2](NO_3)_2$, $\boldsymbol{C_{13}}$, con el ligante 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas, $\boldsymbol{L_7}$. Fuente: Esquema de Shahsavani *et al* (66).

Tabla 2-2. Parámetros de enlace de los complejos Pd(II) y Ag(I) tiosemicarbazonas

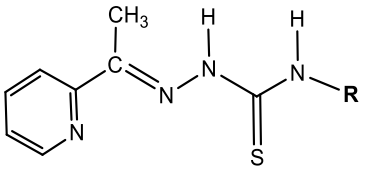
Compuesto	M-S	C^1-S	N^2-C^1	N^2-N^3	C^2-N^3	M-X (Anillo heterociclo)	Ángulos de enlace (º) alrededor del ión metálico (M)	Ref.
[Pd(Ac4Me)Br]		1.746	1.325	1.388	1.301	1.971	80.7-176.8	(51)
[Pd(Ac4Me)Cl]	2.256	1.762	1.318	1.373	1.307	1.950	80.7-178.5	(68)
$[Ag(catsc)(PPh_3)_2]NO_3$	2.612 (16)	1.702 (5) -1.706 (6)	1.370 (7) - 1.384 (7)	1.370 (7) - 1.784 (7)	1.287 (7) - 1.288 (7)		71.87 (8) – 123.91 (7)	(59)
$[Ag_2(PPh_3)_2$ (μ-S-Brcatsc)$_2$ (η1-S-Brcatsc)$_2](NO_3)_2$	2.5850 (10) 2.6115 (9)	-	-	-	-		110.70 (3), 111.01 (3), 120,17 (3)	(66)

2.2 Actividad biológica de los ligantes bases de Schiff tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio(II) y plata(I)

Los primeros informes de las tiosemicarbazonas de 2-acetilpiridina (HAcTsc) se remontan a finales de los años setenta y al inicio de los años ochenta, debido a su actividad antimalárica (56,67). Sin embargo, más tarde se encuentra que el ligante HAcTsc, $\boldsymbol{L_1}$, presenta actividad bactericida contra *Escherichia coli y* actividad fungicida contra *Candida albicans* en concentraciones probadas (CIM < 1 μg / mL) (51). Igualmente, se reporta complejos de paladio(II) con el ligante $\boldsymbol{L_1}$ (Tabla 2-3) que muestran un efecto letal sobre las bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* CIM < 1 μg), mientras los mismos complejos no muestran efecto bactericida sobre la bacteria Gram-negativas (CIM >1 μg) (60).

Se han documentado ligantes derivados de la 2-acetilpiridina tiosemicarbazonas como la 2-acetilpyridina 4N-etilthiosemicarbazona (HAc4Et), $\boldsymbol{L_2}$, que presentan actividad antifúngica en cepas *Aspergillus Níger* (70,71). Igualmente, se encuentra un estudio de actividad antibacteriana de tres complejos de paladio(II) con el ligante $\boldsymbol{L_2}$, $\boldsymbol{C_4}$, $\boldsymbol{C_5}$, y $\boldsymbol{C_6}$ (Tabla 2-3), probados en microorganismos sensibles como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus* de las bacterias probadas la *Bacillus cereus* los complejos fueron más efectivos con un valor MIC de 6-12 μg / mL (57).

Tabla 2-3. Actividad antimicrobiana de los ligantes 2-acetilpiridina tiosemicarbazonas HAcTsc y 2-acetilpyridina 4N-etilthiosemicarbazonas complejos Pd(II)



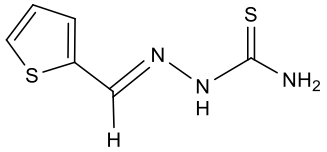
R	Ligante
H	HAcTsc (L_1)
$-CH_2CH_3$	HAc4Et (L_2)

			Compuestos						
Referencia			(60)				(57)		
Microorganismo			MIC µg / mL				MIC µg / mL		
			L_1	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
Bacterias	**Gram (+)**	*Staphylococcus aureus*	NR	< 1	< 1	< 1	NR	NR	NR
		Bacillus cereus	NR	NR	NR	NR	6-12	6-12	6-12
	Gram (-)	*Escherichia coli*	< 1	NR	NR	NR	NR	NR	NR
Hongos		*Candida albicans*	< 1	NR	NR	NR	NR	NR	NR

NR: No reporta

Se ha encontrado que las tiosemicarbazonas de tiofeno-2-carboxaldehído muestran actividad antiamoebica, antileucémica y antitumoral (72–74). Igualmente, estudios antimicrobianos muestran que el ligante tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazona (tctscH), L_3, exhibe actividad antifúngica, especialmente en cepas como la *Curvularia sp, Drechsiera sp*, *Rhizoctonia sp.* y *Alternaria* sp. En pruebas antibacterianas *in vitro* el ligante presenta actividad en bacterias gram-positivas como la *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, mostrando mayor acción antibacteriana que el antibiótico tetraciclina (control positivo) frente a cepas de *Bacillus subtilis.* Se han sintetizado complejos de paladio(II) con el ligante L_3 con capacidad de inhibir el crecimiento de cepas bacterianas gram-positivas y gram-negativas, el complejo C_8 muestra mayor actividad frente a la cepa bacteriana gram-positiva *Staphylococcus aureus* que el ligante y la tetraciclina, mientras que el complejo C_7 presenta actividad frente a la cepa gram-negativa *Escherichia coli* muy cercana a la capacidad antibiótica de la tetraciclina. El ligante y los complejos no afectaron de modo significativo la bacteria gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 2-4) (61).

Tabla 2-4. Actividad antimicrobiana del ligante tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazonas thio-2-carbTSC y sus complejos de Pd(II)

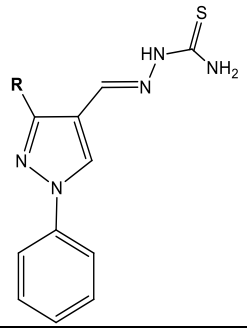


			Compuestos			
Referencia			(61)			
Microorganismo			Zona de inhibición (mm)			
			L_3	C_7	C_8	**Tetraciclina**
Bacterias	**Gram (+)**	*Bacillus subtilis*	25 ± 1.05	16 ± 0.95	18 ± 1.25	18 ± 1.10
		Staphylococcus aureus	18 ± 1.23	14 ± 1.48	25 ± 1.54	22 ± 1.33
	Gram (-)	*Escherichia coli*	22 ± 1.10	19 ± 0.90	15 ± 0.75	20 ± 1.50
		Pseudomonas aeruginosa	14 ± 1.84	15 ± 1.36	11 ± 1.02	15 ± 0.75

En el complejo C_9, que contiene el ligante 3-metilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazonas (MePhPzTSC), L_4 , fue evaluada su actividad antifúngica y antimicrobiana. El ligante L_4 solamente reporta actividad contra las bacterias patógenas Gram-positiva *Bacillus thuringiensis* (CIM=965 µM, halo de inhibición de 6 mm), que mejora con la complejación. El complejo presenta sobre la misma bacteria una mayor actividad antibacteriana (CIM= 483 µM y un halo de inhibición de 8 mm). El complejo C_9 mejora la actividad antibacteriana en otra cepa bacteriana Gram-positiva, la *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) (MIC= 322 µM y halo de inhibición de 14 mm).

Esta actividad fue mayor que la de los controles antibióticos (62). Pruebas antimicrobianas muestran que el ligante 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona, Ph_2PzTSC, L_9, exhibe inhibición de la actividad antibacteriana solo para *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) (CIM= 1400 mM y halo de inhibición de 10 mm), la inhibición es mayor que el control antimicrobiano positivo utilizado (Cefalotina). El complejo C_{10} indicado de Pd(II) con ligante L_9 también muestra actividad para las bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) (MIC= 268 mM y un halo de inhibición de 14 mm) (75).

Tabla 2-5. Actividad antimicrobiana de los ligantes 3-metilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazonas MePhPzTSC y 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona, Ph_2PzTSC complejos Pd(II)



R	Ligante
CH_3	MePhPzTSC
$-C_6H_5$	Ph_2PzTSC

		Compuestos											
Referencia		(62)						(75)					
Microorganismo		**Concentración inhibitoria mínima (mM)**		**Halo de inhibición (mm) sobre el crecimiento**				**Concentración inhibitoria mínima (mM)**		**Halo de inhibición (mm) sobre el crecimiento**			
		L_4	C_9	L_4	C_9	**Cefalotina**	**Clotrimazol**	L_5	C_{10}	L_5	C_{10}	**Cefalotina**	**Clotrimazol**
Bacterias **Gram (+)**	*Staphylococcus aureus*	> 1930	322	0	14	34		1400	268	10	14	34	
Bacterias **Gram (+)**	*Bacillus thuringiensis*	965	483	6	8	14		> 1556	> 669	0	0	14	
Bacterias **Gram (-)**	*Escherichia coli*	> 1930	> 803	0	0	20		> 1556	> 669	0	0	20	
Bacterias **Gram (-)**	*Klebsiella pneumoniae*	> 1930	> 803	0	0	10		> 1556	> 669	0	0	10	
Bacterias **Gram (-)**	*Pseudomonas aeruginosa*	> 1930	> 803	0	0	40		> 1556	> 669	0	0	40	
Hongos	*Candida albicans*	> 1930	> 803	0	0		25	> 1556	> 669	0	0		25
Hongos	*Saccharomyces cerevisiae*	> 1930	> 803	0	0		30	> 1556	> 669	0	0		30

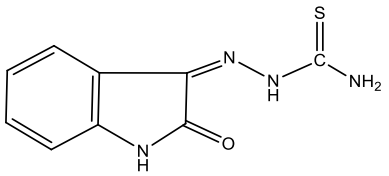
Derivados de la isatina tiosemicarbazonas presentan diversas actividades biológicas, como la citotoxica, antiviral, antibacteriana y antifúngica (10,76–79). El ligante derivado isatina-3-tiosemicarbazona (ITC), $\boldsymbol{L_6}$ reportado en literatura, posee las mismas propiedades antibacterianas (para las bacterias *Bacillus anthracis* y *Escherichia coli)*, que los dos antibióticos tradicionales Sulfametoxazol y Trimetoprim (control positivo). También presenta, actividad contra *Enterobacter sp,* sin embargo, su actividad es mucho menor que la de los antibióticos de control positivo. En el mismo reporte se destaca el complejo de Pd(II) de isatina-3-tiosemicarbazonas, C_{11} por presentar mejor actividad antibacteriana que el ligante libre y los antibióticos de control positivo.

Substancialmente el complejo $\boldsymbol{C_{11}}$ presenta gran actividad antibacteriana en las cepas gram- positivas *Staphylococcus aureu, Bacillus anthracis y Streptococcus faecalis*, y gram-negativas *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis, Proteus mirabilis y Pseudomonas aeruginosa*. Frente a la cepa *Enterobacter sp,* el complejo presenta una actividad antibacteriana equivalente al del antibiotico Trimetoprim.

Del mismo modo, el ligante libre y el complejo $\boldsymbol{C_{11}}$ fueron probados como agentes antifúngicos contra *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Histoplasma capsulatum, Microsporum gypseum y Aspergillus niger,* mostrando actividad prometedora contra todos los hongos ensayados en este estudio. Sin embargo, el complejo $\boldsymbol{C_{11}}$ muestra mayor actividad antifúngica que el ligante libre frente a todos los hongos de prueba.

Finalmente, se destaca que las actividad del complejo es mayor que el fármaco estándar Clotrimazol frente a *Microsporum gypseum* pero menor frente a la cepa *Aspergillus niger* (Tabla 2-6) (64). Los valores MIC de los compuestos se determinaron mediante el método de difusión en disco.

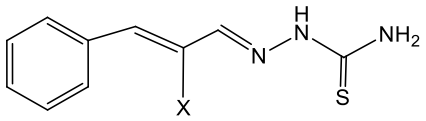
Tabla 2-6. Actividad antimicrobiana del ligante isatina-3-tiosemicarbazonas (ITC) y su respectivo complejo de Pd(II)

							
			Compuestos				
Referencia			(64)				
Microorganismo			MIC (µg cm^{-3})				
			L_6	C_{11}	**Sulfametoxazol**	**Trimetoprim**	**Clotrimazol**
Bacterias	**Gram (+)**	*Staphylococcus aureus*	1250	9.76	2500	2500	
		Bacillus anthracis	2500	39.06	2500	2500	
		Streptococcus faecalis	1250	9.76	2500	78.12	
	Gram (-)	*Escherichia coli*	1250	156.25	1250	19.53	
		Proteus mirabilis	1250	39.06	2500	156.25	
		Pseudomonas aeruginosa	2500	312.5	>5000	>5000	
		Enterobacter sp	1250	156.25	625	156.25	
Hongos		*Candida albicans*	78.12	2.44			0.3
		Epidermophyton floccosum	39.06	4.88			2.44
		Histoplasma capsulatum	156.25	78.12			19.53
		Microsporum gypseum	39.06	2.44			4.88
		Aspergillus niger	78.12	2.44			2.44

El complejo de Ag(I) de 3-fenilpropenaltiosemicarbazona, C_{12}, fue estudiado por su actividad antimicrobiana. Los valores MIC del complejo se determinaron mediante el método de difusión en disco contra cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922) *y Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853). El ligante L_7 no presenta actividad frente a los microorganismos evaluados, pero sus complejos de Ag(I) muestra actividad selectiva, exhibe una actividad antibacteriana considerable en bacterias gram-negativa *Escherichia coli* (MIC= <1 µg/mL) al igual que la bacterias gram-positiva *Staphylococcus aureus* (MIC= <1 µg/mL). El complejo C_{12} también es activo contra *Enterococcus faecalis* a una concentración de 60 µg / mL (Tabla 2-7) (59).

El ligante libre, bromo-3-fenilpropanotiosemicarbazona (Brcatsc), $\boldsymbol{L_8}$ es inactivo contra las bacterias analizadas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*), a una concentración de 500 µg/mL (69)(80). Pero el complejo de plata(I) dinuclear $\boldsymbol{C_{13}}$, es activo frente a dos cepas bacterianas Gram-positivas *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Los resultados mostraron que se logró una mejor inhibición para *S. aureus*, mientras que para *E. facecalis* la inhibición fue menor (Tabla 2-7) (66).

Tabla 2-7. Actividad antimicrobiana de los ligantes 3-fenilpropenaltiosemicarbazonas y bromo-3-fenilpropanotiosemicarbazonas (Brcatsc) y sus complejos de Ag(I)



X	Ligante
H	catsc (L_7)
Br	Brcatsc (L_8)

			Compuestos			
Referencia			(59)		(66)	
Microorganismo			MIC (µg/mL)		MIC (µg/mL)	Zona de inhibición (mm) en 30 µg/mL
			$\boldsymbol{L_7}$	$\boldsymbol{C_{12}}$	$\boldsymbol{L_8}$	$\boldsymbol{C_{13}}$
			catsc	$[Ag(catsc)(PPh_3)_2]NO_3$	Brcatsc	$[Ag_2(PPh_3)_2(\mu\text{-S-Brcatsc})_2(\eta1\text{-S-Brcatsc})_2](NO3)_2$.
Bacterias	**Gram (+)**	*Staphylococcus aureus*	>500	<1	<10	16.5 ± 0.4
		Enterococcus faecalis	>500	60	60	7.5 ± 0.4
	Gram (-)	*Escherichia coli*	>500	<1	NR	NR
		Pseudomonas aeruginosa	>500	>500	NR	NR

3 . Capítulo 3

3.1 Complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas y su actividad antibacteriana y antifúngica

En comparación con otros metales, el paladio es poco usado en medicina, sin embargo, los complejos de paladio(II) fueron uno de los primeros en aplicarse en ensayos clínicos contra tumores, debido a la química acuosa que es muy similar a los del platino(II) (81). Igualmente, se han encontrado pruebas antimicrobianas *in vitro* donde el Pd(II) tiene efecto potenciador en la actividad antibacteriana de antibióticos muy utilizados como la tetraciclina. Este complejo tetraciclina-Pd(II) (Figura 3-22) puede presentar la misma actividad que la tetraciclina contra cepas sensibles como *Escherichia coli*, aunque puede ser varias veces más potente contra cepas resistentes (82,83). Además, se han reportado complejos de Pd(II) que son capaces de eliminar los plásmidos resistentes a los antibióticos de bacterias gram negativas en seres humanos (84).

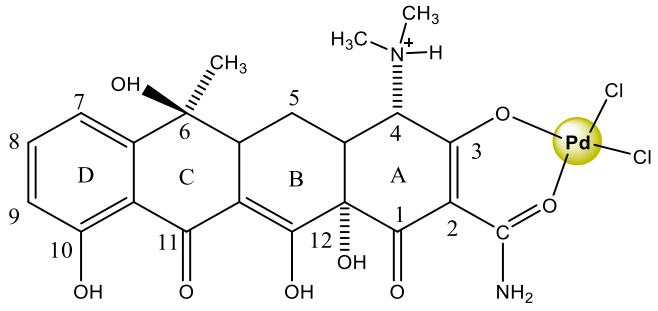


Figura 3-22. Complejo tetraciclina-Pd(II).

Cabe destacar que ligantes con átomos donantes N, S que han sido utilizados para preparar complejos antitumorales de Pd(II) incluyen principalmente tiosemicarbazonas (8,9), los cuales también poseen actividad antimicrobiana (46,81,85).

La plata, se ha empleado como agente antimicrobiano desde la antigüedad y todavía está en uso en forma de plata metálica, acetato de plata, nitrato de plata y sulfadiazina de plata(I) (12,86–88). El compuesto de plata de mayor interés terapéutico en la actualidad y de gran importancia en la química bioinorgánica es el complejo sulfadiazina de plata(I) (Figura 3-23), por su efectividad en el tratamiento tópico de infecciones, principalmente por *Pseudomonas* asociadas con quemaduras térmicas (89–91).

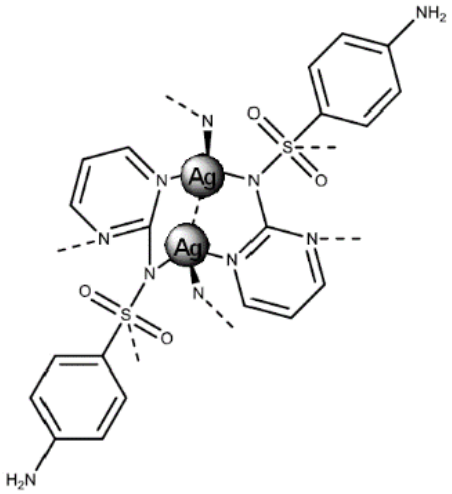


Figura 3-23. Sulfadiazina de plata(I).

Los complejos tratados en los capítulos 1 y 2, [Pd(AcTsc)Cl], $\boldsymbol{C_1}$, [Pd(HAcTsc) $_2$]Cl_2, $\boldsymbol{C_2}$, [Pd (AcTsc)$_2$], $\boldsymbol{C_3}$, [Pd(Ac4Et)], $\boldsymbol{C_4}$, [Pd(HAc4Et)$_2$]Cl_2, $\boldsymbol{C_5}$, [Pd(Ac4Et)$_2$], $\boldsymbol{C_6}$, [Pd(thio-2-carbTSC)Cl]Cl, $\boldsymbol{C_7}$, [Pd(thio-2carbTSC)AcO]AcO, $\boldsymbol{C_8}$, [Pd(MePhPzTSC)$_2$], $\boldsymbol{C_9}$, [Pd(Ph$_2$PzTSC)$_2$], $\boldsymbol{C_{10}}$, Pd(ITC)Cl_2, $\boldsymbol{C_{11}}$, [Ag(catsc)(PPh$_3$)$_2$]NO_3, $\boldsymbol{C_{12}}$, [Ag$_2$(PPh$_3$)$_2$(μ-S-Brcatsc)$_2$(η^1-S-Brcatsc)$_2$](NO_3)$_2$, $\boldsymbol{C_{13}}$ muestran que la bioactividad de los ligantes tiosemicarbazonas se potencia aún más con la coordinación con los iones Pd(II) y Ag(I) (48,53-64). La efectividad de estos complejos bactericidas y fungicidas están condicionados por la facilidad de penetrar la membrana celular, para alcanzar el sitio objetivo y ejercer su acción antimicrobiana (92). Esto, es controlado por varios factores que se indican a continuación:

El factor más relevante es la permeabilidad, explicado a partir del concepto de Overtone que indica que la membrana lipídica, que rodea la célula, debe favorecer el transporte de compuestos liposolubles, por lo que la liposolubilidad se considerada como uno de los factores importantes que controlan la actividad antimicrobiana (93,94).

Otro factor importante es la reducción de la polaridad por la coordinación del ligante al átomo metálico, que según la teoría de quelación de Tweedy (93–95) que se efectúa: debido a la superposición del orbital del ligante, el intercambio parcial de la carga positiva del ion metálico con los átomos donantes, y por el aumento de la deslocalización de los electrones-π en todo el anillo del quelato.

Lo anterior, aumenta el carácter lipofílico del complejo, favoreciendo la penetración a través de las membranas lipídicas bacterianas y fúngicas, junto al bloqueo de los sitios de unión de los metales en las enzimas de los microorganismos y en consecuencia mejora la actividad antimicrobiana (92–96).

Con relación a los ligantes tiosemicarbazonas, el efecto del grupo azometino (–C=N–), en el modo de acción antimicrobiano de los complejos, puede implicar la formación de enlaces de hidrógeno a través del átomo de nitrógeno azometino con los centros activos de los constituyentes celulares, y algunos biorreceptores en las células de hongos y bacterias, que a su vez, bloquean la síntesis de proteínas en ellos, al inhibir el movimiento del ribosoma a lo largo del ARNm, lo que produce interferencias con el proceso celular normal, que finalmente inhibe la síntesis de ADN (97,98).

En particular, la actividad antibacteriana de los complejos $\boldsymbol{C_1}$-$\boldsymbol{C_{13}}$ contra los diversos microorganismos evaluados, presentan un efecto inhibidor mayor en cepas bacterianas Gram- positivas que en cepas bacterianas Gram-negativas (48,53-64).

Esta variabilidad, en la actividad antibacteriana se debe a que la membrana externa celular de las bacterias son estructuras complejas y dinámicas que desempeñan una variedad de funciones, principalmente de protección y que la membrana celular externa de las bacterias Gram-positivas (Figura 3-24) difiere en varias formas clave de su homólogo Gram-negativa (Figura 3-29) (99,100). En primer lugar, en las bacterias Gram-negativas, se presenta una membrana externa adicional, lo que le brinda una protección extra a la célula bacteriana, permitiéndole excluir moléculas potencialmente tóxicas (99).

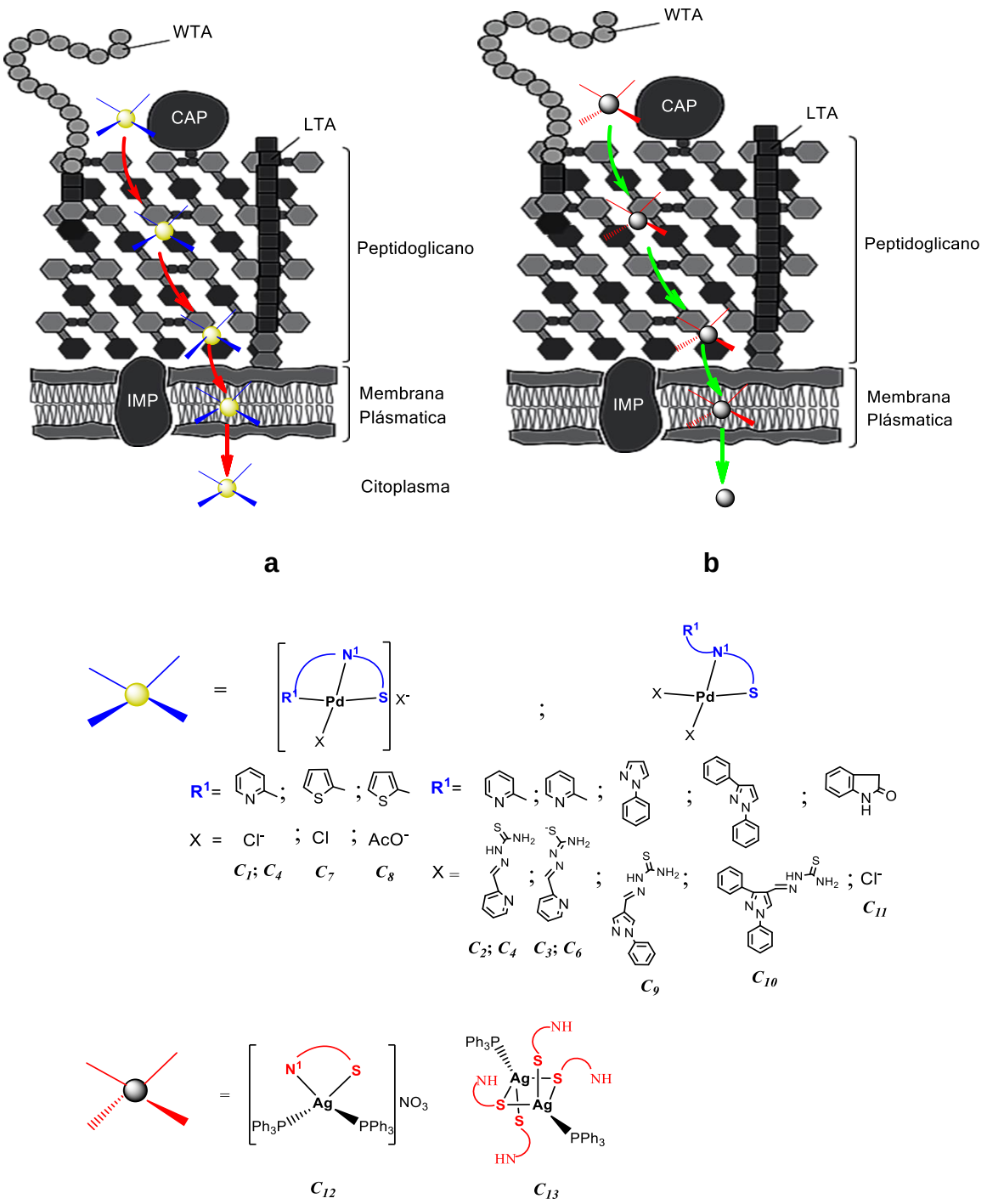


Figura 3-24. Representación del ingreso de los complejos de paladio(II) **a** y plata(I) **b** en la células Gram-positivas: proteína unida covalentemente CAP; IMP, proteína de membrana integral; LP, lipoproteína; LPS, lipopolisacárido; LTA, ácido lipoteicoico; OMP, proteína de la membrana externa; WTA, pared de ácido teicoico. Fuente : Esquema modificado de Silhavy *et al* (99).

La acción bactericida de los complejos inicia cuando se une a la superficie de la célula bacteriana, después debe atravesar la pared celular (bacterias Gram-positivas) o la membrana externa (bacteria Gram-negativas) para alcanzar su sitio de acción. La membrana externa de las bacterias Gram-negativas es un conjunto denso de polímeros cargados negativamente incrustados en el peptidoglicano que actúan directamente con los agentes antibacterianos (100).

Los resultados mostrados en el capítulo 2, indican que los quelatos tiosemicarbazonas heterocíclicos de los complejos de Pd(II) $\boldsymbol{C_1}$-$\boldsymbol{C_{11}}$ son adecuados para la permeación de células bacterianas y fúngicas evaluadas (48,53-64). Esto por la facilidad de penetración que presentan al cambiar la hidrofilicidad y la lipofilicidad conduciendo a reducir las barreras de solubilidad y permeabilidad de las células (Figura 3-24) (92–98,101,102). Lo que indica que la lipofilicidad que controla la velocidad de entrada de las moléculas en la célula, se modifica por la coordinación, por lo que el complejo metálico puede volverse más activo que el ligante libre (102,103).

Los complejos de Pd(II) de $\boldsymbol{C_1}$-$\boldsymbol{C_{11}}$ son bactericidas muy efectivos sobre bacterias Gram positivas, especialmente en cepas de *Staphylococcus aureus* inclusive siendo mayor que la de los controles con antibióticos (48,53-62). Aunque en general, no hay moléculas específicas que puedan ayudar a bloquear la penetración de antibióticos, lo que indica que la resistencia intrínseca de las bacterias Gram-positivas a los bactericidas es baja (100), es conocido que en cepas *Staphylococcus aureus* disminuye de manera importante la eficacia de muchos agentes antimicrobianos (104).

Debido a que el Pd(II) aumenta la actividad antibacteriana, los complejos de $\boldsymbol{C_1}$-$\boldsymbol{C_{11}}$ muestran mejoramiento en el modo de acción (48,53-62). Los ligantes bases de Schiff como las TSC también influyen en la reactividad de los complejos de metales de transición con el ADN, su presencia y manipulación facilitan enormemente la interacción entre los complejos y el ADN (102,105). Además, sobre sitios activos (targets) como los ribosomas, por la formación de enlaces de hidrógeno con el nitrógeno azometino del ligante TSC, que en consecuencia afecta la síntesis del ADN (Figura 3-25) (97,98).

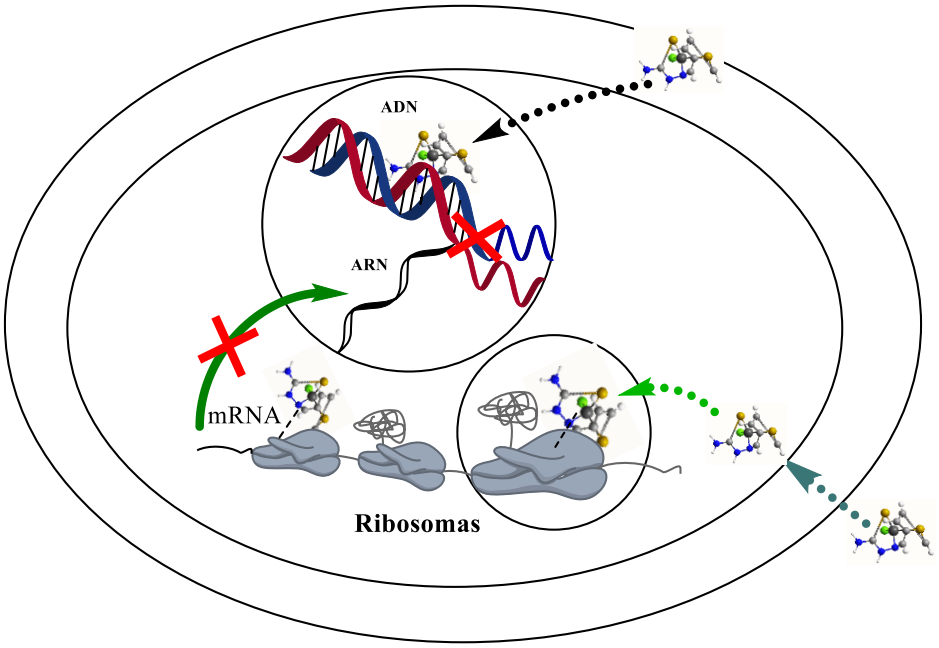


Figura 3-25. Sitios de acción de los complejos de Paladio(II) TSC.

Fuente: Elaboración propia.

La principal barrera de protección de las células bacterias Gram-negativas, responde a agentes antibacterianos hidrófilos excluyéndolos al entrar a través de la membrana externa por la capa de lipopolisacáridos y los fosfolípidos subyacentes, mientras que su respuesta a los compuestos antibacterianos hidrófobos son excluidos por las proteínas de la membrana externa (PME) (100).

Los complejos $\boldsymbol{C_8}$, $\boldsymbol{C_9}$, $\boldsymbol{C_{12}}$ y $\boldsymbol{C_{13}}$ son agentes antibacterianos que logran penetrar a través de los dominios de la bicapa de fosfolípidos de la bacteria Gram-negativas *Escherichia coli*, gracias a que presentan un carácter hidrófobo y lipofílico (92–98), descartando que estos compuestos puedan penetrar la bacteria a través de proteínas integrales presentes en la bicapa lipídica de la membrana externa (100,106).

En el capítulo 2, se muestra que el complejo $\boldsymbol{C_7}$ presenta mayor actividad que el complejo de paladio(II), $\boldsymbol{C_8}$, sobre la *Escherichia coli* (61). A pesar de que ambos complejos poseen el mismo ligante quelante (tiofeno-2-carboxilaldehído tiosemicarbazonas), suponiendo una liposolubilidad semejante (Figura 3-24**a**). Sin embargo, la diferencia en la actividad puede estar influenciado por el co-ligante AcO (acetato).

El mecanismo de acción de los complejos C_{12}, no está subordinado por el ligante 3–fenilpropenaltiosemicarbazona, pues este no presenta actividad antibacteriana sobre bacterias Gram-negativas *Escherichia coli* y Gram -positivas, en este caso la especie activa es el ión Ag(I) (63). Igualmente, para el complejo C_{13}, la especie activa es el ión Ag(I), la acción antibacteriana sobre las cepas Gram-positivas evaluadas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* (64). Este resultado sugiere que la función del ligante 3–fenilpropenaltiosemicarbazona, además de favorecer la penetración a través de las membrana celular bacteriana (por aumento del carácter lipofílico debido a la coordinación con el ión metálico) (92–98), también dirige o transporta al ión Ag(I) hacia sus sitios de acción. Esto sugiere que los complejos C_{12} y C_{13} pueden considerase como "ionóforos" pues son el vehículo transportador del ión Ag(I) en la barrera lipídica (Figura 3-24**b** y Figura 3-26**b**) (107).

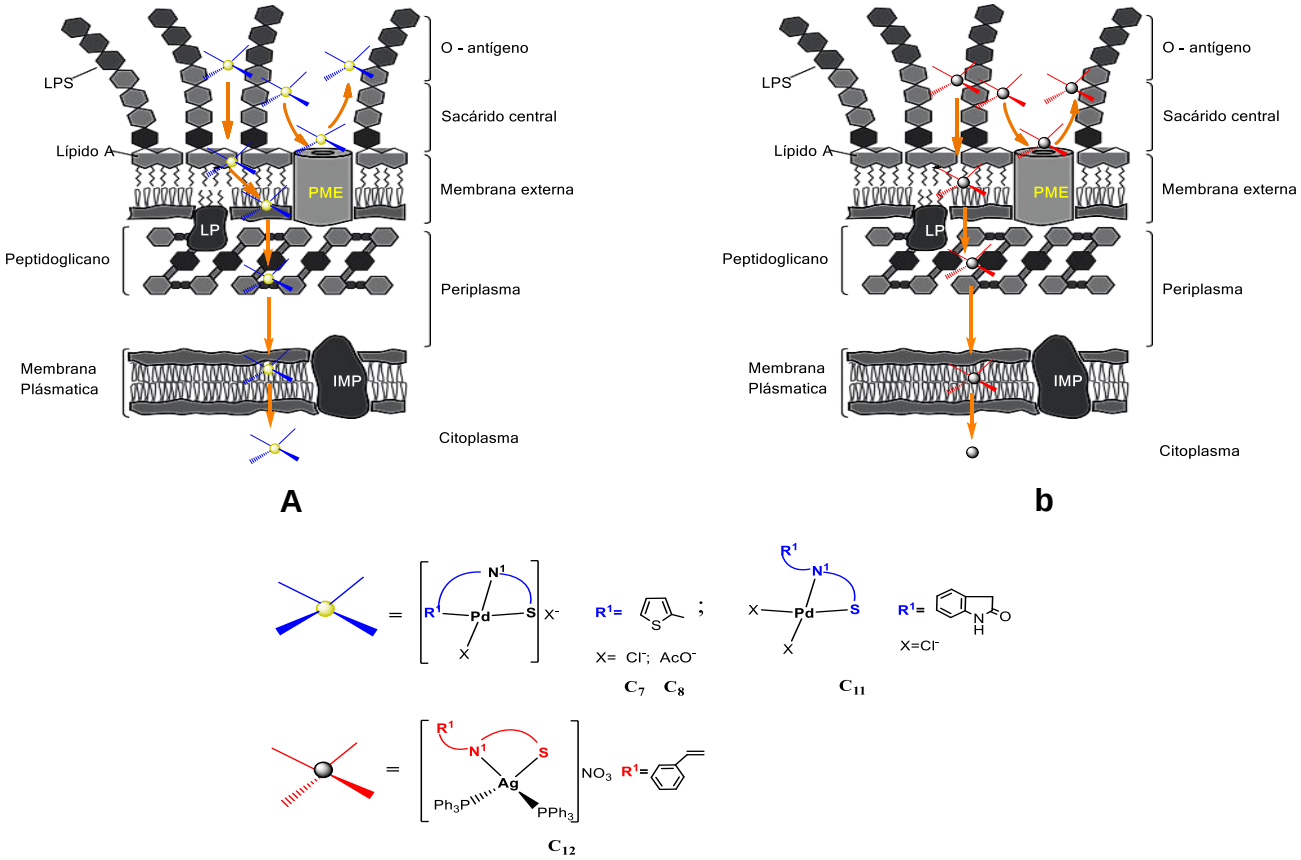


Figura 3-26. Representación del ingreso de los complejos de paladio(II) **a** y plata(I) **b** TSC en células Gram-negativa: IMP, proteína de membrana integral; LP, lipoproteína; LPS, lipopolisacárido; PME, proteína de la membrana externa. Fuente: Esquema modificado de Silhavy *et al* (99).

Los iones Ag(I) presentan un mecanismo de acción característico que afecta el proceso celular normal de las bacterias evaluadas, al ejercer, actividad antimicrobiana a través de diferentes maneras, aunque no han sido totalmente dilucidadas las vías por las cuales se efectúa esta actividad (108). Se sabe que los iones Ag(I) interfirieren en la replicación del ADN e inhiben la cadena respiratoria de la *Escherichia coli* (108), al interferir con el mecanismo de transporte de electrones de la célula bacteriana, ya que el catión de plata oxida fácilmente el ATP (109). Igualmente, se ha hallado que la interacción de el ión Ag(I) con grupos tiol en enzimas y proteínas desempeña un papel esencial en la inactivación bacteriana (110).

También, es probable que los iones plata, puedan ser liberados por el ligante antes de ingresar por la membrana plasmática, y que el modo de acción se dé a través del deterioro de las enzimas esenciales, al unirse el ión Ag(I) con la superficie de la membrana plasmática o al deterioro de la integridad y permeabilidad de la pared celular mediante la eliminación de un electrón de estos componentes celulares (108).

Se ha propuesto con relación al mecanismo antibacteriano de los iones de plata, sobre la *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus,* que la acción del ión Ag(I) implica que el ADN pierda su capacidad de replicación (112). Además, es muy factible que los iones Ag(I) afecten principalmente la función de las enzimas unidas a la membrana celular de la *Escherichia coli* implicadas en la cadena respiratoria (113). Adicionalmente, se sabe que una de las principales funciones bactericidas del ión Ag(I) es inactivar la expresión de las proteínas de subunidades ribosómicas, algunas proteínas celulares y, enzimas fundamentales para la producción de ATP (114,115).

En el interior de la célula bacteriana, los iones Ag(I) interaccionan con enzimas celulares alterando el metabolismo celular y con grupos funcionales de proteínas, provocando la desnaturalización de proteínas, así como la oxidación de moléculas de ATP e inhibición de la respiración bacteriana (108–111).

La pared celular es uno de los objetivos para el desarrollo de agentes antifúngicos, debido a que esta contiene varios componentes encargados de la protección (manoproteínas, quitinas y alfa y beta-glucanos) (Figura 3-28) (116,117).

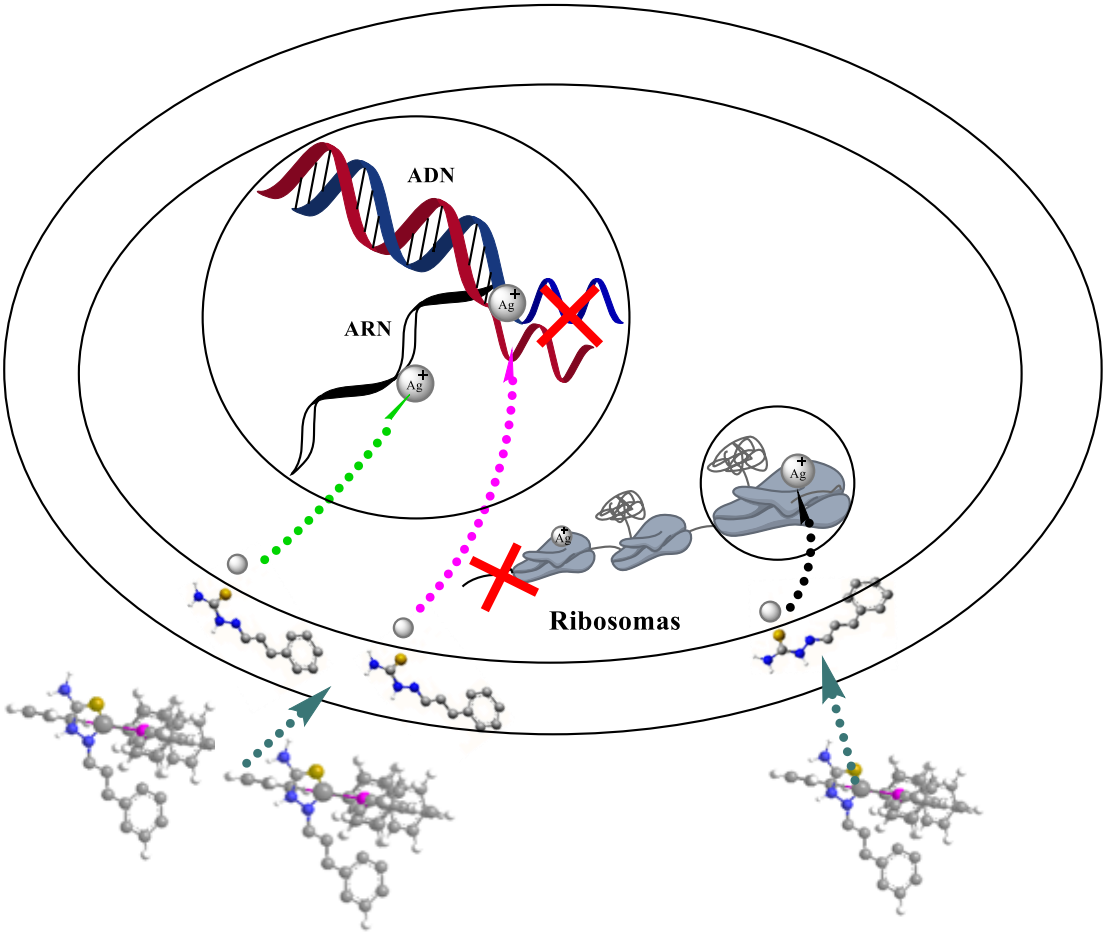


Figura 3-27. Posibles sitios de acción de los complejos de plata(I) TSC. Fuente: Elaboración propia.

El complejo de Pd(II), $\boldsymbol{C_{11}}$, se expresa como un agente antifúngico prometedor frente a cepas de *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Histoplasma capsulatum, Microsporum gypseum y Aspergillus niger* (64), muestra mayor efecto que el ligante libre TSC y el antimicótico de uso clínico, que al igual que los complejos antibacterianos, el aumento del carácter lipofílico, es clave para penetrar de manera efectiva la membrana lipídica (Figura 3-28) (92–96).

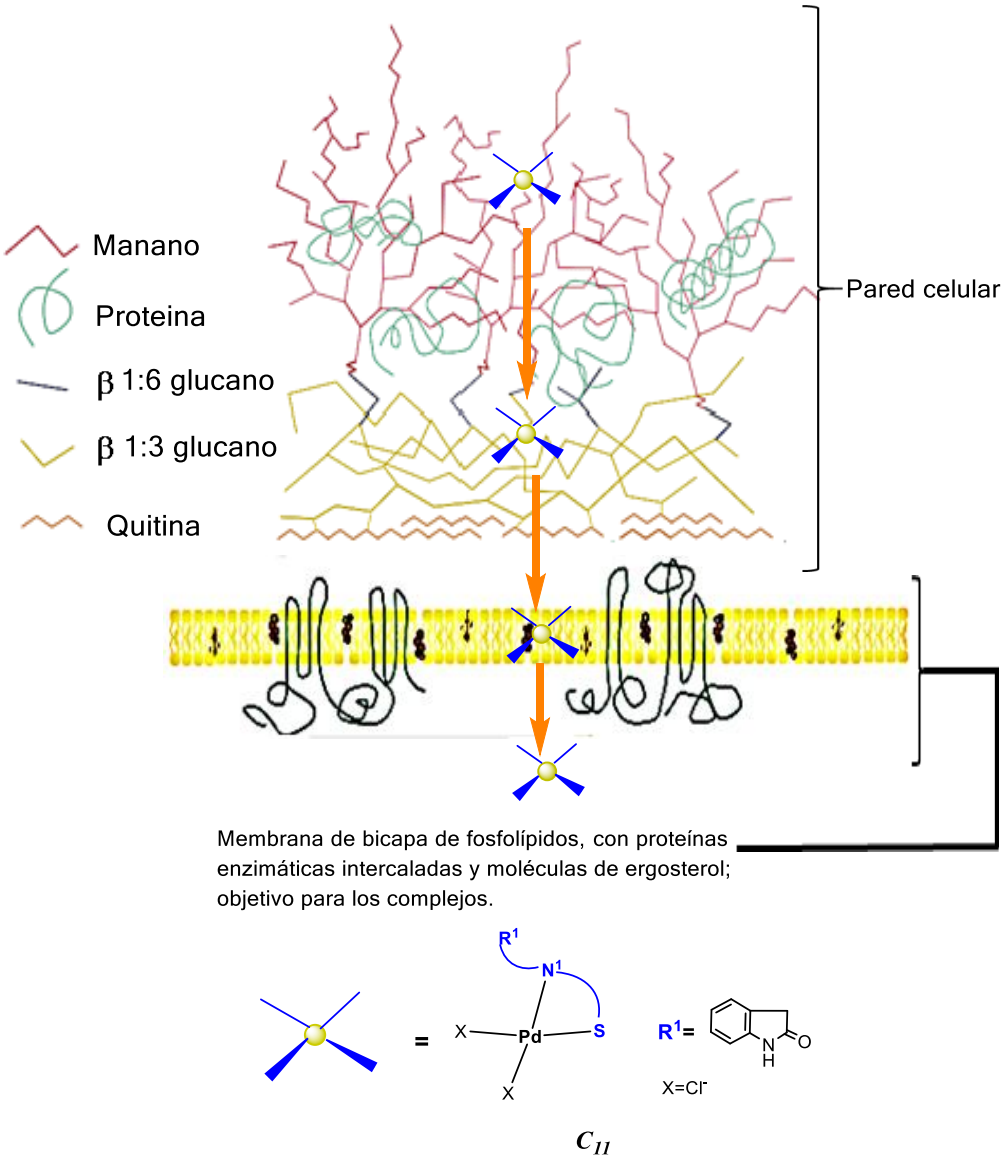


Figura 3-28. Representación del ingreso del complejo de paladio(II), C_{11}, en la célula fúngica. Fuente: Esquema modificado de Odds *et al* (117).

4. Conclusiones y recomendaciones

2.3 Conclusiones

- Se describe la síntesis de seis complejos de paladio(II), con ligantes $\boldsymbol{L_1}$ se obtiene la forma tiona y la tiol, con los ligantes $\boldsymbol{L_2}$ y $\boldsymbol{L_3}$ se obtienen complejos con la forma tiona y con $\boldsymbol{L_6}$ se obtiene dos complejos con diferentes contraiones uno con el ion cloruro y el otro con el ion acetato tiosemicarbazonas, con una relación molar metal-ligante 1:1 y cuatro complejos de paladio(II), con ligantes $\boldsymbol{L_1}$, $\boldsymbol{L_2}$, $\boldsymbol{L_4}$ y $\boldsymbol{L_5}$ con una relación molar metal-ligante 1:2. Igualmente, la síntesis de dos complejos de plata(I) con ligantes $\boldsymbol{L_7}$ y $\boldsymbol{L_8}$ tiosemicarbazonas, utilizando relaciones molares metal-ligante 1:1 para cada complejo.

- Los complejos de paladio(II) $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$ fueron los únicos cuya estructura fue confirmada por Espectrometría de masas de bombardeo atómico rápido (FAB).

- La obtención de los compuestos se confirma con los resultados reportados en la literatura por las diferentes técnicas analíticas, como espectroscopia IR. Los ligantes $\boldsymbol{L_1}$ a $\boldsymbol{L_8}$ tiosemicarbazonas que forman los complejos de $\boldsymbol{C_2}$ a $\boldsymbol{C_8}$ se comportan como agentes quelantes tridentados. Mientras que en los complejos $\boldsymbol{C_{11}}$ y $\boldsymbol{C_{12}}$, los ligantes $\boldsymbol{L_{11}}$ y $\boldsymbol{L_{12}}$ son bidentados. En el complejo $\boldsymbol{C_{13}}$, los ligantes $\boldsymbol{L_8}$ actúan como monodentados. Con espectroscopia RMN $^{1}\mathrm{H}$ y $^{13}\mathrm{C}$ se confirma que los ligantes $\boldsymbol{L_1}$, L_3, $\boldsymbol{L_4}$ y $\boldsymbol{L_6}$ que están coordinados en forma tiol en sus respectivos complejos $\boldsymbol{C_1}$, $\boldsymbol{C_3}$, $\boldsymbol{C_4}$ y $\boldsymbol{C_6}$, y los ligantes $\boldsymbol{L_2}$, $\boldsymbol{L_5}$, $\boldsymbol{L_7}$, $\boldsymbol{L_8}$, $\boldsymbol{L_9}$, $\boldsymbol{L_{10}}$, $\boldsymbol{L_{11}}$, $\boldsymbol{L_{12}}$ y $\boldsymbol{L_{13}}$ están en forma tiona. Las estructuras cristalográficas de los complejos de paladio(II), indican que adoptan la geometría plano – cuadrada en torno al átomo metálico. En cuanto a las estructuras cristalinas de los complejos de plata(I) estos adoptan una geometría tetraédrica distorsionada en torno a los átomos de plata(I).

- Los resultados reportados de actividad biológica, muestran que los complejo de paladio(II), $\boldsymbol{C_1}$, $\boldsymbol{C_2}$ y $\boldsymbol{C_3}$ presentan actividad frente a bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus* y los complejos $\boldsymbol{C_4}$, $\boldsymbol{C_5}$ y $\boldsymbol{C_6}$ son activos en bacterias *Bacillus cereus*. El ligante L_3 presenta inhibición del crecimiento de bacterias *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*. Es de resaltar que el complejo $\boldsymbol{C_8}$, presenta una mejor actividad frente a *Staphylococcus aureus* que su ligante libre $\boldsymbol{L_3}$. Además, los complejos $\boldsymbol{C_7}$ y $\boldsymbol{C_8}$ presentan actividad frente a la bacteria gram-negativa *Escherichia coli*
- Los ligantes $\boldsymbol{L_4}$ y $\boldsymbol{L_5}$ son activos en bacterias gram-positivas *Bacillus thuringiensis y* en *Staphylococcus aureus,* así como, los complejos de paladio(II), $\boldsymbol{C_9}$ y $\boldsymbol{C_{10}}$ son más activos que los ligantes libres frente a estas bacterias.

- El complejo de paladio(II), $\boldsymbol{C_{11}}$, presenta mejor actividad antibacteriana cuando se compara con el ligante libre $\boldsymbol{L_6}$**,** en bacterias gram-positivas *Staphylococcus aureus, Bacillus anthracis y Streptococcus faecalis*, y gram-negativas *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp.* Este es el único compuesto que muestra actividad antifúngica en *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Histoplasma capsulatum, Microsporum gypseum y Aspergillus niger*.

- Los ligantes $\boldsymbol{L_7}$ y $\boldsymbol{L_8}$ no presentan actividad bactericida. Sin embargo, los complejos de este ligante con iones plata(I), $\boldsymbol{C_{12}}$ y $\boldsymbol{C_{13}}$ presentan actividad antibacterial. El complejo $\boldsymbol{C_{12}}$ es activo frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Igualmente, el complejo $\boldsymbol{C_{13}}$ es activo contra bacterias *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

- Los complejos de paladio(II) y plata(I) con tiosemicarbazonas son agentes antibacterianos prometedores sobre cepas resistentes. Muestran una marcada relación entre el aumento de la lipofilicidad y su estructura, evidenciado que al realizar diferentes sustituciones estructurales aumenta su eficiencia.

2.4 Recomendaciones

- Se sugiere desarrollar estudios más detallados de actividad antimicrobiana que permita dilucidar la relación estructura-actividad biológica con los complejos de plata(I)-tiosemicarbazonas, especialmente con ligantes tiosemicarbazonas heterocíclicos.

- Realizar estudios enfocados en modificaciones estructurales de ligantes tiosemicarbazonas (con diferentes sustituyentes) y sus complejos de paladio(II) y plata(I) (formación de complejos mononucleares y dinucleares) y evaluar la actividad biológica de estos compuestos.

- Efectuar estudios bioquímicos, para corroborar los mecanismos de acción antibacteriana y antifúngica de los complejos de paladio(II) y plata(I) tiosemicarbazonas, que permitan establecer la relación con la variabilidad de acción inhibitoria por su interacción con la estructura de la membrana celular microbiana.

- Evaluar los ligantes tiosemicarbazonas y sus complejos plata(I)-tiosemicarbazonas en células cancerígenas para evaluar su actividad citotoxicidad y antineoplásica.

Bibliografía

1. WHO. Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance*. World. Heal. Organ.* 2014.

2. Rossolini GM, Arena F, Pecile P, Pollini S. Update on the antibiotic resistance crisis. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2014;18:56–60.

3. Livermore DM. Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram Negative pathogens. *Korean. J. Intern. Med.* 2012;128–42.

4. Steinbuch KB, Fridman M. Mechanisms of resistance to membrane-disrupting antibiotics in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Med. Chem. Comm*. 2016;7(1):86–102.

5. Willems RJL, Hanage WP, Bessen DE, Feil EJ. Population biology of Gram-positive pathogens: High-risk clones for dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev*. 2011;35(5):872–900.

6. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011;35(5):736–55.

7. Cowen LE. Microevolution of Antifungal Drug Resistance. *Annu. Rev. Microbiol.* 2017;345–68.

8. Anderson JB, Sirjusingh C, Parsons AB, Boone C, Wickens C, Cowen LE. Mode of Selection and Experimental Evolution of Antifungal Drug Resistance in Saccharomyces cerevisiae. *Genetics.* 2003;1298(4):1287–98.

9. Howard SJ, Arendrup MC. Acquired antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus* : epidemiology and detection. *Medical mycology.* 2011;49(Suppl_1):S90–S95.

10. Farrer NJ, Sadler PJ, However I. Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art , New Trends, and a Vision of the Future Currently 24 elements are thought to be essential for mammalian biochemistry. Bioinorganic Medicinal Chemistry; 2011. p.1-47.

11. Ahmad S, Isab AA, Ali S, Al-arfaj AR. Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents. *Polyhedron,* 2006;25:1633–45.

12. Mjos KD, Orvig C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. *Chem. Rev*. 2014;114(8):4540-4563.

13. Kyzioł A, Pucelik B, Brindell M, Stochel G. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. *Coord. Chem. Rev*. 2017;350(11):76-117.

14. Pelosi, G. Thiosemicarbazone Metal Complexes: From Structure to Activity. *Open. Crystallogr. J*. 2010;*3*(1):16-28.

15. Reddy DHK, Lee SM, Seshaiah K, Babu KR. Synthesis, characterization of thiosemicarbazone metal complexes and their antioxidant activity in different in vitro model systems. *J. Serb. Chem. Soc*. 2013;*78*(2):229-240.

16. Pahontu E, Julea F, Rosu T, Purcarea V, Chumakov Y, Petrenco P, & Gulea. Antibacterial, antifungal and in vitro antileukaemia activity of metal complexes with thiosemicarbazones. *J. Cell. Mol. Med*. 2015;19(4):865-878.

17. Matesanz A, Souza P. α-N-heterocyclic thiosemicarbazone derivatives as potential antitumor agents: a structure-activity relationships approach. *Mini. Rev. Med. Chem.* 2009;9(12):1389-1396.

18. Sharma VK, Srivastava S, Srivastava A. Spectroscopic, thermal and biological studies on some trivalent ruthenium and rhodium NS chelating thiosemicarbazone complexes. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2007.

19. Daza JI, Brandão PFB, Burgos AE. Preparación y caracterización de compuestos de inclusión entre Rh(III), Ni(II), 2-acetil piridina tiosemicarbazonas y β-ciclodextrina. *Revista Acad. Colomb. Ci. Exact*. 2015;39(152):328–38.

20. Tidwell TT. Hugo Schiff, Schiff bases, and a century of β-lactam synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed*. 2008;47(6):1016–20.

21. Da Silva CM, Da Silva DL, Modolo L V., Alves RB, De Resende MA, Martins CVB & de Fátima, Â. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *J. Adv. Res*. 2011;2(1):1–8.

22. Vigato PA, Tamburini S. The challenge of cyclic and acyclic schiff bases and related derivatives. *Coord. Chem. Rev*. 2004;248(17–20 SPEC. ISS.):1717–2128.

23. Iqbal A, Siddiqui HL, Ashraf CM, Ahmad M, Weaver GW. Synthesis, characterization and antibacterial activity of azomethine derivatives derived from 2-formylphenoxyacetic acid. *Molecules*. 2007;12(2):245–54.

24. Liu X, Manzur C, Novoa N, Celedón S, Carrillo D, Hamon JR. Multidentate unsymmetrically-substituted Schiff bases and their metal complexes: Synthesis, functional materials properties, and applications to catalysis. *Coord. Chem. Rev*. 2018;357:144–72.

25. Xavier A, Srividhya N. Synthesis and Study of Schiff base Ligands. *IOSR. J. Appl Chem.* 2014;7(11):6–15.

26. Patil RD, Adimurthy S. Catalytic Methods for Imine Synthesis. *Asian. J. Org.Chem*. 2013;2(9):726–44.

27. Ziessel R. Schiff-based bipyridine ligands. Unusual coordination features and mesomorphic behaviour. *Coord. Chem. Rev*. 2001;216–217:195–223.

28. Hanif M, Chohan ZH. Design, spectral characterization and biological studies of transition metal(II) complexes with triazole Schiff bases. *Spectrochim. Acta. Part A. Mol. Biomol. Spectrosc*. 2013;104:468–76.

29. Aslantaş M, Kendi E, Demir N, Şabik AE, Tümer M, Kertmen M. Synthesis, spectroscopic, structural characterization, electrochemical and antimicrobial activity studies of the Schiff base ligand and its transition metal complexes. *Spectrochim. Acta. Part A. Mol. Biomol. Spectrosc*. 2009;74(3):617–24.

30. Sahu R, Thakur DS, Kashyap P. Schiff Base: An Overview of its Medicinal Chemistry Potential for New Drug Molecules. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol*. 2012;5(3):1757–64.

31. Joseph VA, Pandya JH, Jadeja RN. Syntheses, crystal structure and biological evaluation of Schiff bases and copper complexes derived from 4-formylpyrazolone. *J. Mol.Struct*. 2015;1081:443–8.

32. Netalkar PP, Netalkar SP, Revankar VK. Transition metal complexes of thiosemicarbazone: Synthesis, structures and invitro antimicrobial studies. *Polyhedron*. 2015;100:215–22.

33. Lobana TS, Rekha, Butcher RJ. Metal-thiosemicarbazone interactions. Synthesis of an iodo-bridged dinuclear [diiodobis(pyrrole-2 carbaldehydethiosemicarbazone)dicopper(I)] complex. *Transit. Met. Chem*. 2004;29(3):291–5.

34. Lobana TS, Indoria S, Sharma M, Nandi J, Jassal AK, Hundal MS, & Castineiras A. Synthesis, structure and spectroscopy of mono- and di-nuclear copper(I) complexes incorporating anionic thiophene based thiosemicarbazones-first examples. *Polyhedron*. 2014;80:34–40.

35. Lobana TS, Rekha, Pannu APS, Hundal G, Butcher RJ, Castineiras A. Synthesis and structures of monomeric [chloro(isatin-3 thiosemicarbazone)bis(triphenylphosphine)]copper(I) and dimeric [dichlorobis(thiophene-2-carbaldehydethiosemicarbazone)bis(triphenylphosphine)]dicopper(I)] complexes. *Polyhedron*. 2007;26(12):2621–8.

36. Lobana TS, Kumari P, Hundal G, Butcher RJ. Metal derivatives of N1-substituted thiosemicarbazones with divalent metal ions (Ni, Cu): Synthesis and structures. *Polyhedron*. 2010;29(3):1130–6.

37. Rodríguez Riobio R. Complejos metálicos con tiosemicarbazonas derivadas de la 2-pirazinaformamida [tesis doctoral]. Universidad Santiago de Compostela; 2007;361p.

38. Casas JS, García-Tasende MS, Sordo J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. *Coord. Chem. Rev*. 2000;209(1):197-261.

39. Lukmantara AY, Kalinowski DS, Kumar N, Richardson DR. Synthesis and biological evaluation of 2-benzoylpyridine thiosemicarbazones in a dimeric system : Structure – activity relationship studies on their anti-proliferative and iron chelation efficacy. *J. Inorg. Biochem*. 2014;141:43–54.

40. Anitha P, Manikandan R, Viswanathamurthi P. Palladium(II) 9,10-phenanthrenequinone N-substituted thiosemicarbazone/semicarbazone complexes as efficient catalysts for N-arylation of imidazole. *J. Coord. Chem*. 2015;68(19):3537–50.

41. Halder S, Butcher RJ, Bhattacharya S. Synthesis, structure and spectroscopic properties of some thiosemicarbazone complexes of platinum. *Polyhedron*. 2007;26(12):2741–8.

42. Małecki JG, Maroń A, Serda M, Polański J. Ruthenium(II) carbonyl complexes with thiosemicarbazone ligands. *Polyhedron*. 2013;56:44–54.

43. Kumar SM, Dhahagani K, Rajesh J, Anitha K, Chakkaravarthi G, Kanakachalam N, & Rajagopal G. Synthesis, structural analysis and cytotoxic effect of copper (II)-thiosemicarbazone complexes having heterocyclic bases: A selective naked eye sensor for F− and CN−. *Polyhedron*. 2015;85:830-840.

44. Lobana TS, Sharma R, Bawa G, Khanna S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals-An overview. *Coord. Chem. Rev*. 2009;253(7–8):977–1055.

45. Öztürk N, Yaman PK, Yavuz M, Öter Ö, Timur S, Subaşi E. Synthesis, structural characterization, oxygen sensitivity, and antimicrobial activity of ruthenium(II) carbonyl complexes with thiosemicarbazones. *J. Coord. Chem*. 2014;67(16):2688–700.

46. Bermejo E, Castiñeiras A, Pérez T, Carballo R, Hiller W. Synthesis and Structural Characterization of Metal Complexes of 2-Formylpyrrole-4N-ethylthiosemicarbazone (4 EL1) and 2-Acetylpyrrole-4N-ethylthiosemicarbazone (4 EL2). *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2001;627(10): 2377–2385.

47. Lobana TS, Sharma R, Hundal G, Castineiras A, Butcher RJ. The influence of substituents (R) at N1atom of furan-2-carbaldehyde thiosemicarbazones {$(C_4H_3O)HC^2N^3$-N(H)-C^1(S)N1HR} on bonding, nuclearity, H-bonded networks of copper(I) complexes. *Polyhedron* [Internet]. 2012;47(1):134–42. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2009.03.043

48. Dutta S, Basuli F, Castineiras A, Peng SM, Lee GH, Bhattacharya S. Variable coordination modes of benzaldehyde thiosemicarbazones - Synthesis, structure, and electrochemical properties of some ruthenium complexes. *Eur. J. Inorg. Chem*. 2008; 29:4538-4546

49. Cowley AR, Dilworth JR, Donnelly PS, Woollard-Shore J. Synthesis and characterisation of new homoleptic rhenium thiosemicarbazone complexes. *Dalt. Trans*. 2003;(4):748-754.

50. Pedro PI, Pavan FR, Leite CQF, Lemos SS, de Sousa GF, Batista AA, Deflon V.M. Vanadium complexes with thiosemicarbazones: Synthesis, characterization, crystal structures and anti-Mycobacterium tuberculosis activity. *Polyhedron*. 2009; *28*(2):398-406.

51. Kovala-Demertzi D, Domopoulou A, Demertzis M, Raptopoulou CP, Terzis A. Coordinating properties of 2-acetylpyridine thiosemicarbazone. Palladium(II) complexes with neutral and deprotonated ligand. X-ray structure of bromo(2-acetylpyridine thiosemicarbazonato) palladium(II). *Polyhedron*. 1994;13(12):1917–25.

52. Rogolino D, Gatti A, Carcelli M, Pelosi G, Bisceglie F, Restivo FM, et al. Thiosemicarbazone scaffold for the design of antifungal and antiaflatoxigenic agents: Evaluation of ligands and related copper complexes. *Sci. Rep*. 2017;7(1):1–12.

53. Carradori S, Cirilli R, Dei Cicchi S, Ferretti R, Menta S, Pierini M, et al. 3-Methylcyclohexanone thiosemicarbazone: Determination of E/Z isomerization barrier by dynamic high-performance liquid chromatography, configuration assignment and theoretical study of the mechanisms involved by the spontaneous, acid and base catalyzed pr. *J. Chromatogr. A*. 2012;1269:168–77.

54. Marković V, Joksović MD, Marković S, Jakovljević I. Influence of anthraquinone scaffold on E/Z isomer distribution of two thiosemicarbazone derivatives. 2D NMR and DFT studies. *J. Mol. Struct*. 2014;1058(1):291–7.

55. Barreto Bastos AM, De Carvalho Alcântara AF, Beraldo H. Structural analyses of 4-benzoylpyridine thiosemicarbazone using NMR techniques and theoretical calculations. *Tetrahedron*. 2005;61(29):7045–53.

56. Klayman DL, Bartosevich JF, Griffin TS, Mason CJ, Scovill JP. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. 1. A New Class of Potential Antimalarial Agents. *J. Med. Chem*. 1979;*22*(7):855-862.

57. Kovala-Demertzi D, Demertzis MA, Filiou E, Pantazaki AA, Yadav PN, Miller JR, Kyriakidis D.A. Platinum(II) and palladium(II) complexes with 2-acetyl pyridine 4N-ethyl thiosemicarbazone able to overcome the cis-platin resistance. Structure, antibacterial activity and DNA strand breakage. *BioMetals*. 2003;16(3):411-418.

58. Leovac VM, Novaković SB, Bogdanović GA, Joksović MD, Mészáros Szécsényi K, Češljević VI. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands. Part LVI: Nickel(II) complex with 1,3-diphenylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone and unusually deformed coordination geometry. *Polyhedron*. 2007;*26*(14):3783-3792.

59. Dehno Khalaji A, Shahsavani E, Feizi N, Kucerakova M, Dusek M, Mazandarani R. Silver(I) thiosemicarbazone complex $[Ag(catsc)(PPh_3)_2]NO_3$: Synthesis, characterization, crystal structure, and antibacterial study. *Comptes. Rendus. Chim* [Internet].2017;20(5):534–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2016.09.001

60. Kovala-Demertzi D, Demertzis MA, Miller JR, Papadopoulou C, Dodorou C, Filousis G. Platinum(II) complexes with 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone: Synthesis, crystal structure, spectral properties, antimicrobial and antitumour activity. *J. Inorg. Biochem*. 2001;86(2):555-563.

61. Azam M, Warad I, Al-Resayes SI, Siddiqui MR, Oves M. Synthesis, physicochemical properties, and in vitro antibacterial screening of palladium(II) complexes derived from thiosemicarbazone. *Chem. Biodivers*. 2013;10(6):1109-1119.

62. Tamayo L V., Burgos AE, Brandao PFB. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of the ligand 3-methylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone and Its Pd(II) Complex. *Phosphorus, Sulfur. Silicon. Relat. Elem*. 2014;189(1):52-59.

63. Ana E. Burgos C. LT and RT-H. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity Of A Pd(II) Complex With A 1,3-Diphenylpyrazole-4-Carboxaldehyde Thiosemicarbazone Ligand. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 2014;17(2):477–86.

64. Konstantinović SS, Radovanović BC, Sovilj SP, Stanojević S. Antimicrobial activity of some isatin-3-thiosemicarbazone complexes. *J. Serbian. Chem. Soc*. 2008;73(1): 7-13

65. Konstantinovi° SS, Radovanovi° BC, Krklješ A. Thermal Behaviour of Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Hg(II) and Pd (II) Complexes with Isatin-β-Thiosemicarbazone. J. *Therm. Anal*. 2007;90:525–31.

66. Shahsavani E, Khalaji AD, Feizi N, Kučeráková M, Dušek M. Synthesis, characterization, crystal structure and antibacterial activity of new sulfur-bridged dinuclear silver(I) thiosemicarbazone complex $[Ag_2(PPh_3)_2(\mu\text{-S-Brcatsc})_2(\eta1\text{-S-Brcatsc})_2](NO_3)_2$. *Inorganica. Chim. Acta* [Internet]. 2015;429(3):61–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2015.01.043

67. Scovill JP, Klayman DL, Lambros CL, Childs GE, Notsch JD. 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. 9. Derivatives of 2-Acetylpyridine 1-Oxide as Potential Antimalarial Agents. *J. Med. Chem*. 1984;27(1):87-91.

68. Kovala-demer D, Domopoulou A, Demervzis MA, Valle G. Palladium (H) Complexes of 2- 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(2):147–55.

69. Lobana TS, Sharma R, Butcher RJ. Synthesis, spectroscopy and structures of halogen and sulfur-bridged dinuclear silver(I) complexes with N1-substituted thiophene-2-carbaldehyde thiosemicarbazone. *Polyhedron*. 2009;28(6):1103–10.

70. Liberta AE, West DX. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. *Biometals*. 1992;*5*(2):121-126

71. Bermejo E, Carballo R, Castin A, Liberta AE, Salberg MM, West DX. Synthesis, structural characteristics and biological activities of complexes of Zn. *Eur. J. Inorg. Chem*. 1999:965–73.

72. García-Tojal J, García-Orad A, Serra JL, Pizarro JL, Lezama L, Arriortua MI, Rojo, T. l. Synthesis and spectroscopic properties of copper(II) complexes derived from thiophene-2-carbaldehyde thiosemicarbazone. Structure and biological activity of $[Cu(C_6H_6N_3S_2)_2]$. *J. Inorg. Biochem*. 1999;*75*(1):45-54.

73. García-Tojal J, Pizarro J L, García-Orad A, Pérez-Sanz A R, Ugalde M, Díaz, A. A, Rojo, T. Biological activity of complexes derived from thiophene-2-carbaldehyde thiosemicarbazone. Crystal structure of $[Ni(C_6H_6N_3S_2)_2]$. *J. Inorg. Biochem*. 2001; 86(2):627-633.

74. De Oliveira JF, Da Silva AL, Vendramini-Costa DB, Da Cruz Amorim CA, Campos JF, Ribeiro AG, de Lima M. D. C. A. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. *Eur. J. Med Chem.* 2015;104:148-156.

75. Burgos C A, Tamayo L, Torrellas-Hidalgo R. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a Pd(II) complex with a 1,3-diphenylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone ligand. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica.* 2014;(2):477–86.

76. Pervez H, Iqbal MS, Tahir MY, Choudhary MI, Khan KM. Synthesis of some N4-substituted isatin-3-thiosemicarbazones. *Nat. Prod. Res*. 2007;21(13):1178-1186.

77. Bauer DJ, Sadler PW. The Structure-Activity Relationships of the antiviral chemotherapeutic activity of isatin β-thiosemicarbazone. *Br. J. Pharmacol Chemother*. 1960;15(1):101-110.

78. Pervez H, Chohan ZH, Ramzan M, Nasim F-U-H, Khan KM. Synthesis and biological evaluation of some new N(4)-substituted isatin-3-thiosemicarbazones. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. 2009;*24*(2):437-446.

79. Pervez H, Iqbal MS, Tahir MY, Nasim FU, Choudhary MI, Khan KM. In vitro cytotoxic, antibacterial, antifungal and urease inhibitory activities of some N4-substituted isatin-3-thiosemicarbazones. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem*. 2008;23(6): 848-854.

80. Dehno Khalaji A, Shahsavani E, Feizi N, Kučeráková M, Dušek M, Mazandarani R, et al. Ultrasonic-bath-assisted preparation of mononuclear copper(I) thiosemicarbazone complex particles: Crystal structure, characterization and antimicrobial activity. *Comptes. Rendus. Chim*. 2017;20(2):125-131.

81. Garoufis A, Hadjikakou SK, Hadjiliadis N. 46Pd The Use of Palladium Complexes in Medicine. In: Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine. John Wiley & Sons; 2005.p.399.

82. Guerra W, De Andrade Azevedo E, De Souza Monteiro AR, Bucciarelli-Rodriguez M, Chartone-Souza E, Nascimento AMA, Pereira-Maia EC. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of three palladium(II) complexes of tetracyclines. *J. Inorg. Biochem.* 2005;99(12):2348-2354.

83. Regiel-Futyra A, Dąbrowski JM, Mazuryk O, Śpiewak K, Kyzioł A, Pucelik B, et al. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. *Coord. Chem. Rev*. 2017;

351(11):76-117.

84. Kidd SE, Hambley TW, Hevér A, Nelson MJ, Molnár J. The antiplasmid action of some palladium(II) complexes of phenothiazine based pharmaceuticals and the crystal structure of protonated trichloro[10-(3′-dimethylaminopropyl) phenothiazine-S]-palladium(II). *J. Inorg. Biochem*. 1996;62(3):171-181.

85. Garoufis A, Hadjikakou SK, Hadjiliadis N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. *Coord. Chem. Rev*. 2009,*253*(9-10):1384-1397.

86. Huh AJ, Kwon YJ. “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J. Control. Release*. 2011;156(2):128-145.

87. Dibrov P, Dzioba J, Gosink KK, Häse CC. Chemiosmotic mechanism of antimicrobial activity of Ag^+ in Vibrio cholerae. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 2002;46(8):2668-2670.

88. Russell AD, Hugo WB. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog. Med. Chem*. 1994;31:351-370.

89. Fox CL. Silver Sulfadiazine—A new topical therapy for pseudomonas in burns: therapy of pseudomonas infection in burns. *Arch. Surg*. 1968;96(2):184-188.

90. Sadler PJ. Inorganic chemistry and drug design. *Adv. Inorg. Chem*. 1991; 36:1-48.

91. Sandmann BJ, Nesbitt RU, Sandmann RA. Characterization of silver sulfadiazine and related compounds. *J. Pharm. Sci*. 1974;63(6):948-951.

92. Panchal PK, Parekh HM, Pansuriya PB, Patel MN. Bactericidal activity of different oxovanadium(IV) complexes with schiff bases and application of chelation theory. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. 2006;21(2):203-209.

93. 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.

94. Sengupta SK, Pandey OP, Srivastava BK, Sharma VK. Synthesis, structural and biochemical aspects of titanocene and zirconocene chelates of acetylferrocenyl thiosemicarbazones. *Transit. Met. Chem*. 1998;23(4):349-353.

95. Suryawanshi NJ, Pethe GB, Bhadange SG, Aswar AS. Synthesis, characterization, thermal, electrical conductivity and biological studies of Schiff base metal complexes. *J. Indian Chem. Soc*. 2013;90(9):1327-1333.

96. Khosravi F, Mansouri-Torshizi H. Antibacterial combination therapy using Co^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} and Pd^{2+} complexes: Their calf thymus DNA binding studies. *J. Biomol. Struct Dyn*. 2018;36(2):512-531.

97. Singh VP, Singh R V., Tandon JP. Stereochemical and biochemical aspects of some organoboron complexes of sulphur donor ligands. *J. Inorg. Biochem*. 1990;39(3):237-245.

98. Dharmaraj N, Viswanathamurthi P, Natarajan K. Ruthenium(II) complexes containing bidentate Schiff bases and their antifungal activity. *Transit. Met. Chem*. 2001;26(1-2):105-109.

99. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol*.2010;2(5):a000414.

100. Cloete TE. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 2003;51(4):277-282.

101. Alias M, Kassum H, Shakir C. Synthesis, physical characterization and biological evaluation of Schiff base M(II) complexes. *J. Assoc. Arab. Univ. Basic. Appl. Sci*. 2014; 15(1):28-34.

102. Nair MS, Arish D, Joseyphus RS. Synthesis, characterization, antifungal, antibacterial and DNA cleavage studies of some heterocyclic Schiff base metal complexes. *J. Saudi. Chem. Soc*. 2012;16(1):83-88.

103. Weber L. Recent developments in the chemistry of 1,3,2-diazaborolines-(2,3-dihydro-1H-1,3,2-diazaboroles). *Coord. Chem. Rev*. 2008;252(1-2):1-31.

104. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. *J. Clin. Invest*. 2003;111(9):1265-1273.

105. Macías B, Villa M V., Gómez B, Borrás J, Alzuet G, González-Álvarez M, Castiñeiras A. DNA interaction of new copper(II) complexes with sulfonamides as ligands. *J. Inorg. Biochem*. 2007; 101(3):444-451.

106. Nikaido H. Molecular Basis of bacterial outer membrane permeability Revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 2003;*67*(4):593-656.

107. Pressman BC. Biological Applications of Ionophores. *Annu. Rev. Biochem*. 1976; 45(1):501-530.

108. Medici S, Peana M, Crisponi G, Nurchi VM, Lachowicz JI, Remelli M, et al. Silver coordination compounds: A new horizon in medicine. *Coord. Chem. Rev*. 2016;*327*: 349-359.

109. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J. Hosp. Infect*. 2005;60(1):1-7.

110. Youngs WJ, Knapp AR, Wagers PO, Tessier CA. Nanoparticle encapsulated silver carbene complexes and their antimicrobial and anticancer properties: A perspective. *Dalt. Trans*. 2012;41(2):327-336.

111. Mcdonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(1):147-179.

112. Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J *Biomed. Mater. Res*. 2000;52(4):662-668.

113. Bragg PD, Rainnie DJ. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol*. 1974;20(6):883-889.

114. Yamanaka M, Hara K, Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on Escherichia coli, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl. Environ. Microbiol*. 2005;71(11):7589-7593.

115. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli. *J. Biol. Chem*. 2015;73(6):1712-1720.

116. Carrillo-Muñoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA, Quindós G. Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. Revista Espanola de Quimioterapia. *Rev. Esp. Quimioter*. 2006; 19(2):130-139.

117. Odds FC, Brown AJP, Gow NAR. Antifungal agents: Mechanisms of action. *Trends. Microbiol*. 2003;11(6):272-279.