



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ
INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ
LABORATÓRIO INTERDISCIPLINAR DE QUÍMICA - LabIQ



SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE
IMÍNICO

Elba Pereira de Gois Souza

Alfenas/MG

2018

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida.

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos José Marques.

Alfenas/MG

2018

Gois, Elba Pereira de.

Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de complexos de paládio(II) contendo ligante imínico / Elba Pereira de Gois. -- Alfenas, MG, 2018.

129 f. : il. –

Orientador: Eduardo Tonon de Almeida.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, 2018.

Bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Paládio – uso terapêutico. 3. Análise espectral. 4. Química bioinorgânica. I. Almeida, Eduardo Tonon de. II. Título.

CDD 547

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Biblioteca Central – Campus Sede

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

A banca examinadora abaixo aprova a presente tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas na área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 05 de abril de 2018

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida
Universidade Federal de Alfenas -MG



Prof. Dr. Adelino Viera de Godoy Neto
Universidade Estadual de São Paulo – Araraquara



Profa. Dra. Amanda Latercia Tranches Dias
Universidade Federal de Alfenas - MG



Prof. Dr. Lázaro Moscardini D'Assunção
Universidade de Lavras – MG



Dra. Marília Imaculada Frazão Barbosa
Universidade Federal de Alfenas - MG



“A Deus, ao meu pai José, minha mãe Ozenete,
meu marido Mailson, aos meus filhos Cecília,
Joaquim e quem mais chegar...”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido sabedoria, saúde, disposição, condições espirituais e materiais para que, por sua vontade, eu possa provar que Tu és uma fonte inesgotável de poder ilimitado, eficaz e acionado pela minha fé.

À minha família: meu esposo pela paciência, dedicação e incentivo nos momentos mais difíceis, para que eu não desistisse. Aos meus pais José e Ozenete, grandes incentivadores e amigos, minhas irmãs Cinthya, Quele, Rebeca e Raquel por serem meus Cirineo.

Ao meu orientador, Prof. Dr Eduardo Tonon de Almeida, que galgou comigo este projeto, por sua disposição em me ajudar e por suas idéias, sugestões e críticas. Ao meu co-orientador Marcos José Marques e todos os professores que ao longo do caminho me ensinaram com suas valiosas contribuições.

À banca examinadora, pelo intercâmbio de idéias, sugestões e discussões construtivas que se delinearão durante a qualificação.

Aos laboratórios LABIQ, LBM, LCC, LM e LaModel da Unifal - MG, ao LabCri da UFMG – MG e ao NPPNS da USP-Ribeirão Preto por disponibilizarem toda sua instrumentação, possibilitando a realização desta tese. As instituições de fomento, CAPES, FAPEMIG, FINEP e CNPQ, pelo suporte financeiro.

Aos meus amigos, que ao longo deste doutorado foram mais do que colegas foram irmãos: Luís, Antônio, Érica, Wladimir, Lilian, Nathália, Cris e a Iara. Obrigada a todos!

“Ter coragem diante de qualquer coisa na vida,
essa é à base de tudo.”

(Tereza D'Ávila, 1579)

RESUMO

Muitos metais de transição apresentam grande importância no meio biológico, visto que esses interagem diretamente com biomoléculas essenciais para a manutenção da vida. Uma característica dos metais que os tornam tão importantes como componentes (funcionais e estruturais) dos seres vivos é sua propensão em perder elétrons facilmente formando íons com cargas positivas, que tendem a ser solúveis em fluídos biológicos. Muitos estudos tomaram como base as possíveis interações dos íons metálicos com as biomoléculas presentes no organismo vivo. O presente trabalho teve como objetivo a preparação de novos compostos de paládio(II), contendo ligantes imínicos, com o intuito de obter compostos inéditos que apresentem propriedades farmacológicas. O ligante imínico (Base de Schiff) foi preparado através da reação entre o aldeído *trans*-cinamaldeído e a amina *p*-aminoacetofenona (Hfafa) **L1**. O ligante imínico obtido foi complexado ao paládio(II), conduzindo substituições, com o intuito de se produzir novos compostos de coordenação de fórmula geral $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5). Os compostos foram caracterizados através das técnicas de ponto de fusão ou decomposição, solubilidade, condutividade molar, análise elementar (CHN), das técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C, estudos termogravimétricos TG-DTA, difração de raios-X para o monocristal de C2 e cálculos de DFT de L1. Os compostos foram empregados em testes biológicos, para as células MCF-7 e MDA-MB-435 do câncer de mama, *Leishmania spp*, em experimentos *in vitro* de células promastigotas e amastigotas *L. (L.) brazilienses*, antifúngico em leveduras do gênero *Candida spp.*: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Verificou-se que o ligante livre apresentou efeito significativo frente os testes biológicos comparáveis aos dos controles positivos. No entanto, os complexos sintetizados se mostraram melhores potenciais agentes farmacológicos do que seu ligante precursor. Entre os complexos sintetizados merece destaque o compostos $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$, que apresentou, qualitativamente, atividade frente as células mamárias, a *Leishmania* e aos fungos testados.

Palavras-chave: Ligante imínico. Complexo de paládio(II). Espectroscopia e metalofármaco.

ABSTRACT

Some transition metals are of great importance in the biological environment, since they interact directly with the biomolecules essential for the maintenance of life. One characteristic of the metals that make them so important as functional and structural components of living things is their propensity to lose electrons easily by forming ions with positive charges, which tend to be soluble in biological fluids. Many studies have considered the possible interactions of metal ions with biomolecules present in the living organism. The present work had as objective the preparation of new compounds of palladium (II), containing iminic ligands, with the intention of obtaining novel compounds that present pharmacological properties. The iminic ligand (Schiff's Base) was prepared by the reaction between the *trans*-cinnamaldehyde aldehyde and the amine *p*-aminoacetophenone (Hfafa) L1. The imine ligand obtained was complexed to palladium(II), leading to substitutions, with the aim of producing new coordination compounds of the formula $[PdX_2(Hfafa)_2]$, where X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) and I (C5). The compounds were characterized by melting point or decomposition, solubility, molar conductivity, elemental analysis (CHN), IR spectroscopic techniques, ¹H and ¹³C NMR, thermogravimetric TG-DTA studies, X-ray diffraction for monocystal of C2 and calculations of DFT of L1. The compounds were used in biological tests for MCF-7 and MDA-MB-435 breast cancer cells, *Leishmania* ssp, *in vitro* experiments of promastigotes and amastigotes *L. (L.) brazilienses*, antifungal in yeasts of the genus *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. The free ligand was shown to have a significant effect against biological tests comparable to those of the positive controls. However, the synthesized complexes showed better potential pharmacological agents than their precursor ligand. Among the synthesized complexes, the compounds $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ deserve to be highlighted, which presented, qualitatively, activity against mammary cells, *Leishmania* and fungi tested.

Key-words: Imine ligand. Palladium complex. Spectroscopy and metallopharmaceutical.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 – | Egípcios praticando medicina..... | 21 |
| Figura 2 - | Representação da estrutura da Cisplatina | 22 |
| Figura 3 - | Mecanismo de ação da Cisplatina ao DNA | 23 |
| Figura 4 - | Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais..... | 24 |
| Figura 5 - | Configuração d^8 num campo octaédrico fraco..... | 26 |
| Figura 6 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff..... | 29 |
| Figura 7 – | Rota sintética dos complexos metálicos | 30 |
| Figura 8 - | Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato | 32 |
| Figura 9 – | Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo | 34 |
| Figura 10 - | Formas evolutivas do protozoário <i>Leishmania</i> | 36 |
| Figura 11 – | Cultivo de fungo em placa de Petri..... | 38 |
| Figura 12 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa..... | 45 |
| Figura 13 – | Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1 | 46 |
| Figura 14 - | Esquema do método de Parshall | 47 |
| Figura 15 - | Equação química para a obtenção do $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) | 48 |
| Figura 16 - | Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans- cinamaldeído | 63 |
| Figura 17 - | Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1) | 64 |
| Figura 18 – | Espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1) | 66 |
| Figura 19 – | Ampliação do sinal no espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1)..... | 67 |
| Figura 20 – | Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafa (L1) | 68 |
| Figura 21 - | Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 69 |
| Figura 22 – | Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 70 |
| Figura 23 – | Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)..... | 71 |
| Figura 24 – | Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílicos (f^{+}) e eletrofílicos (f^{-}) | 73 |
| Figura 25 - | Espectro na região de IV do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 75 |
| Figura 26 - | Curva TG-DTA do complexo de $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 76 |
| Figura 27 – | Estrutura proposta do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 77 |

| | | |
|-------------|---|-----|
| Figura 28 - | Modos de coordenação mais comuns a azida | 79 |
| Figura 29 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) e $[Pd(Hfafa)_2(SCN)_2]$ (C3) | 81 |
| Figura 30 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4) e $[Pd(Hfafa)_2I_2]$ (C5)..... | 82 |
| Figura 31 – | Espectro de RMN de 1H do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) | 84 |
| Figura 32 – | Espectro de RMN de 1H do complexo $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4) | 85 |
| Figura 33 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) | 86 |
| Figura 34 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4)..... | 87 |
| Figura 35 – | Curvas TG-DTA dos complexos de substituição..... | 89 |
| Figura 36 – | Estrutura proposta dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)..... | 90 |
| Figura 37 - | Curvas TG e DTA para $PdCl_2$ | 91 |
| Figura 38 - | Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C | 93 |
| Figura 39 - | Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ C2 | 95 |
| Figura 40 - | Empacotamento molecular do composto $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ na cela..... | 96 |
| Figura 41 - | Plano traçado entre o centro simétrico do C2 | 96 |
| Figura 42 - | Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5..... | 99 |
| Figura 43 - | Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5..... | 100 |
| Figura 44 - | Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5. | 101 |
| Figura 45 - | Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1 | 102 |
| Figura 46 – | Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 103 |
| Figura 47 – | Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 104 |
| Figura 48 – | Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5..... | 105 |
| Figura 49 – | Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1 | 105 |
| Figura 50 - | Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e 10 μM | 106 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|---|-----|
| Tabela 1 - | Principais solventes utilizados nas sínteses..... | 43 |
| Tabela 2 - | Principais reagentes utilizados nas sínteses | 44 |
| Tabela 3 – | Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafa (L1) | 65 |
| Tabela 4 - | Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1) | 69 |
| Tabela 5 - | Fator de normalização da integral da densidade de elétrons..... | 72 |
| Tabela 6 - | Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1..... | 77 |
| Tabela 7 – | Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) ... | 78 |
| Tabela 8 - | Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN..... | 80 |
| Tabela 9 - | Principais modos vibracionais das ligações formadas com H..... | 83 |
| Tabela 10 - | Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição..... | 88 |
| Tabela 11 - | Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl_2 | 92 |
| Tabela 12 - | Dados Cristalográficos para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ C2..... | 94 |
| Tabela 13 - | Dados cristalográficos de ângulos de ligação | 97 |
| Tabela 14 - | Compostos que apresentaram atividade promastigota | 107 |
| Tabela 15 - | Compostos que apresentaram atividade amastigota..... | 108 |
| Tabela 16 - | Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)..... | 109 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------------|---|
| DNA - | Ácido desoxirribonucléico |
| RNA - | Ácido ribonucléico |
| pH - | potencial Hidrogeniônico |
| CHN - | Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio |
| IV - | Espectrofotometria de absorção na região no infravermelho |
| TG - | Termogravimétrica |
| DTA - | Análise Térmica Diferencial |
| RMN - | Ressonância Magnética Nuclear |
| RMN ¹ H - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H |
| RMN ¹³ C - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C |
| Reagentes P.A. - | Reagentes com pureza analítica |
| MetOH - | Álcool metílico |
| LiCl - | Cloreto de lítio |
| (v/v) - | Porcentagem em volume/volume |
| SAR - | Relação estrutura química e atividade biológica (Structure-activity relationship) |
| THF - | Tetrahidrofurano |
| DMSO - | Dimetilsulfóxido |
| CH ₃ CN - | Acetonitrila |
| CDCl ₃ - | Clorofórmio deuterado |
| DMSO-d ₆ - | Dimetilsulfóxido deuterado |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|-------------------------------|---|
| DRX - | Difratometria de raios-X |
| CCD - | Charge-coupled device (Dispositivo de carga acoplada) |
| K - | Temperatura em Kelvin |
| atm - | Atmosfera |
| k - | Constante de cela de condutância |
| ER ⁺ - | Estrogen receptor positive (Receptor estrógeno positivo) |
| ER ⁻ - | Estrogen receptor negative (Receptor estrógeno negativo) |
| PR ⁻ - | Progesterone receptor negative (Receptor progesterona negativo) |
| HER ² - | Epidermal growth factor receptor (Receptor para o fator de crescimento humano epidérmico-2) |
| <i>L. (L.) braziliensis</i> - | <i>Leishmania leishmania braziliensis</i> |
| <i>L. (L.) chagasi</i> - | <i>Leishmania leishmania chagasi</i> |
| RPMI 1640 - | Meio de cultura |
| <i>L. amazonensis</i> - | <i>Leishmania amazonensis</i> |
| Giemsa - | Corante utilizado para testes em amastigotas. |
| EDTA - | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| SRB - | Sulforrodamina B |
| TCA - | Ácido tricloroacético |
| (p/v) - | Porcentagem peso / volume |
| LIT - | Liver Infusion Triptose |
| SBF - | Soro bovino fetal |
| MHOM/BR/71973/M2269 - | Código de referência das cepas |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|---------------------|---|
| IC ₅₀ : | Índice de citotoxicidade - Concentração em porcentagem capaz de matar a população celular num meio biológico, neste caso 50% de citotoxicidade. |
| MTT - | Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolio) |
| UV/VIS - | Ultravioleta / Visível |
| CC ₅₀ - | Concentração citotóxica – Concentração e porcentagem capaz de inibir o crescimento celular em 50 % |
| MIC ₅₀ - | Concentração inibitória mínima em 50% |
| MIC ₉₀ - | Concentração inibitória mínima em 90% |
| v _{as} - | Estiramento assimétrico no espectro de absorção na região do IV |
| v _s - | Estiramento simétrico no espectro de absorção na região do IV |
| δ - | Deformação angular de ligação no espectro no IV, ou deslocamento químico no espectro de RMN |
| TMS - | Transportation Management System (Sistema de Gerenciamento de Transporte) |
| ppm - | Parte por milhão |
| ΔT/°C - | Variação de temperatura em grau Celsius |
| Δm % - | Variação de massa em porcentagem |
| % Calc. - | Porcentagem calculada |
| % Enc. - | Porcentagem encontrada |
| Endo - | Endotérmico |
| Exo - | Exotérmico |
| α - | Letra grega alfa |
| β - | Letra grega beta |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|------------|---|
| γ - | Letra grega gama |
| HOMO – | Highest Occupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais alta energia ocupado por pelo menos um elétron) |
| LUMO – | Lowest Unoccupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais baixa energia não ocupado por elétrons) |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 | A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA | 20 |
| 1.2 | PALÁDIO | 26 |
| 1.3 | LIGANTES IMÍNICOS | 28 |
| 1.4 | PSEUDOHALETOS | 31 |
| 1.5 | POTENCIAL BIOLÓGICO | 33 |
| 1.5.1 | Aspectos gerais do câncer de mama | 33 |
| 1.5.2 | Aspectos gerais da leishmaniose e <i>Leishmania ssp.</i> | 36 |
| 1.5.3 | Aspectos gerais antifúngicos | 38 |
| 2 | OBJETIVOS | 41 |
| 3 | PARTE EXPERIMENTAL | 43 |
| 3.1 | SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1) | 45 |
| 3.2 | SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II) | 46 |
| 3.2.1 | Síntese do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) | 47 |
| 3.3 | REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES | 48 |
| 3.3.1 | Síntese de complexos do tipo $[PdX_2(Hfafa)_2]$ sendo X = N ₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) | 49 |
| 3.4 | METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO | 50 |
| 3.4.1 | Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição..... | 50 |
| 3.4.2 | Testes de solubilidade | 50 |
| 3.4.3 | Análise elementar..... | 50 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.4.4 | Espectroscopia de absorção na região do infravermelho..... | 51 |
| 3.4.5 | Análise térmica..... | 51 |
| 3.4.6 | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear | 51 |
| 3.4.7 | Difração de raios-X..... | 52 |
| 3.4.8 | Condutividade Elétrica | 53 |
| 3.4.9 | Propriedades eletrônicas | 53 |
| 3.5 | TESTES BIOLÓGICOS | 54 |
| 3.5.1 | Avaliação da Citotoxicidade | 54 |
| 3.5.2 | Avaliação antileishmania | 58 |
| 3.5.3 | Avaliação antifúngica | 60 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 62 |
| 4.1 | LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)..... | 62 |
| 4.1.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 62 |
| 4.1.2 | Espectroscopia de RMN de ^1H | 66 |
| 4.1.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 68 |
| 4.1.4 | Cálculos DFT | 70 |
| 4.2 | COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)..... | 73 |
| 4.2.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 74 |
| 4.2.2 | Espectroscopia de RMN | 75 |
| 4.2.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 76 |
| 4.3 | COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5) | 78 |
| 4.3.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 78 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| 4.3.2 | Espectroscopia de RMN | 83 |
| 4.3.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 87 |
| 4.3.4 | Difração de raios X | 93 |
| 4.4 | TESTES BIOLÓGICOS | 98 |
| 4.4.1 | Teste antitumoral | 98 |
| 4.4.2 | Teste anti-leishmania | 107 |
| 4.2.3 | Teste antifúngico | 108 |
| 5 | CONCLUSÃO | 111 |
| | REFERÊNCIAS | 114 |
| | ANEXOS | 127 |



Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Normalmente, quando se pensa em fármacos, a primeira idéia que surge é a de compostos orgânicos, e por muito tempo a Química Orgânica foi apresentada como “a química da vida”. Acreditou-se durante muito tempo que somente os compostos orgânicos e as reações que os envolviam eram indispensáveis para a Vida, e que os elementos e compostos comumente chamados “inorgânicos” eram escasso ou não tinham nenhum significado para os sistemas vivos (BARAN, 2005).

Com o passar dos anos, descobriu-se que os metais têm um papel importante nos sistemas vivos, uma vez que quatro metais do grupo principal (Na, K, Mg e Ca) e oito metais de transição (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, V e Mo) possuem seus íons como sendo necessários para importantes funções biológicas nos seres humanos (BARRY; SADLER, 2013). A Química Inorgânica contribui à Química Medicinal no desenvolvimento de novos medicamentos com propriedades farmacológicas específicas a partir da escolha do metal devido a suas propriedades (BERALDO, 2005), tais como diversos estados de oxidação, números de coordenação, geometrias, como também efeitos termodinâmicos e cinéticos característicos de cada íon metálico (BRUIJNINCX; SADLE, 2008).

1.1 A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA

Ainda que os estudos envolvessem a ação dos metais no organismo seja relativamente recente, seu uso em Medicina vem sendo praticado há aproximadamente 5000 anos (Figura 1). De fato, os egípcios usavam cobre para esterilizar a água a 3000 anos antes de Cristo, e o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e na China há 3500 anos, mais em razão da natureza preciosa do metal do que de suas propriedades medicinais, pois se acreditava que um metal nobre deveria trazer benefícios ao organismo. Medicamentos contendo ferro eram usados no Egito 1500 anos antes de

Introdução

Cristo e já no século dezesseis o médico suíço Theophrastus Paracelsus desenvolvia e usava medicamentos à base de mercúrio, arsênio, estanho, chumbo e antimônio.

Figura 1 – Egípcios praticando medicina

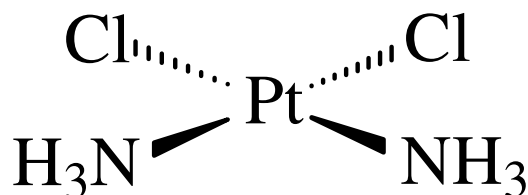


Fonte: Calogeras

A Química Medicinal Inorgânica começou a deixar sua marca na década de 50 e 60, os químicos começaram a se concentrar em toda a tabela periódica e não apenas nos elementos C, H, O, N (RONCONI; SADLER, 2008). Com o estudo de todos os elementos da tabela periódica, descobertas importantes foram feitas ao longo dos anos, como ferroceno (PAUSON; MILLER, 1951) e fluoretos de xenônio (BARTLETT, 1962).

No entanto, Química Medicinal dedicava-se principalmente ao estudo de compostos orgânicos e produtos naturais até a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina (Figura 2), observada pelo físico Barnett Rosenberg em 1965. Em 1968, após novos testes frente às várias bactérias, a cisplatina foi administrada por via intraperitoneal a camundongos portadores de tumor e foi mostrado regressão do tumor (BAI et al., 2017).

Figura 2 - Representação da estrutura da Cisplatina

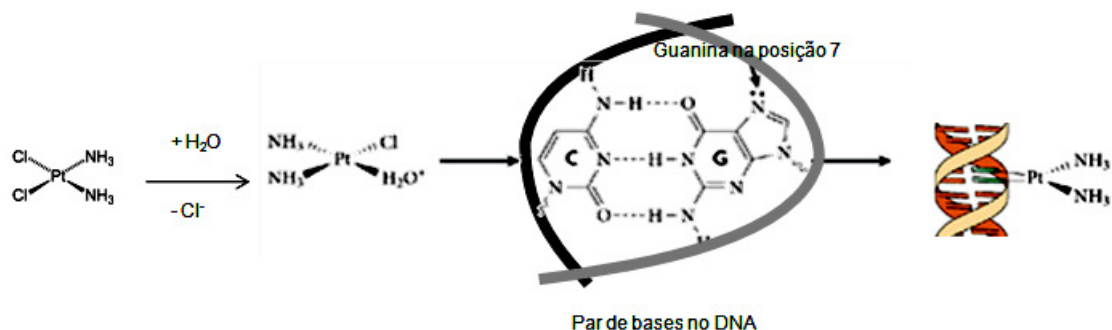


Fonte: Stevanato (2009, p. 43).

Com o sucesso da cisplatina em uso clínico, administrados em pacientes terminais e, em seguida, nos tumores localizados, como nos casos de câncer testicular e ovariano, precipitou um renascimento na química inorgânica e levou à síntese e avaliação biológica de muitos milhares de análogos de cisplatina, e uma investigação completa de outros elementos próximos da tabela periódica (por exemplo, paládio e ouro).

Em uso clínico atualmente, a cisplatina é utilizada no tratamento de câncer testicular, ovário, bexiga, cabeça e pescoço, pulmão e cânceres do colo do útero (HO; WOODWARD; COWARD, 2016), mas tem, no entanto, desvantagens. Uma grande porcentagem de cânceres humanos tem uma resistência natural ao tratamento com a cisplatina (LIPPERT, 2013), seja aquela adquirida durante ciclos de terapia com o fármaco (ocorre em pacientes com câncer de ovário) ou resistência intrínseca (visto em pacientes com colorretal, câncer de próstata, pulmão ou mama). Além disso, a cisplatina tem grandes efeitos colaterais limitantes quanto a dose do medicamento. Pacientes tratados com cisplatina mostraram sinais graves de nefrotoxicidade (KARAKOC et al., 2015), neurotoxicidade e ototoxicidade (FREITAS et al., 2009). Outros grandes efeitos registrados incluem pressão arterial elevada, diarreia, náusea e vômito grave (TULLY et al., 2015). Por conseguinte, os efeitos colaterais da cisplatina ainda representam uma grande desvantagem para o uso desta droga. Isso tem provado ser um objetivo muito mais desafiador, com base em um subjacente conhecimento de como a cisplatina atua frente ao tumor e, mais importante, como os tumores tornam-se resistentes (Figura 3).

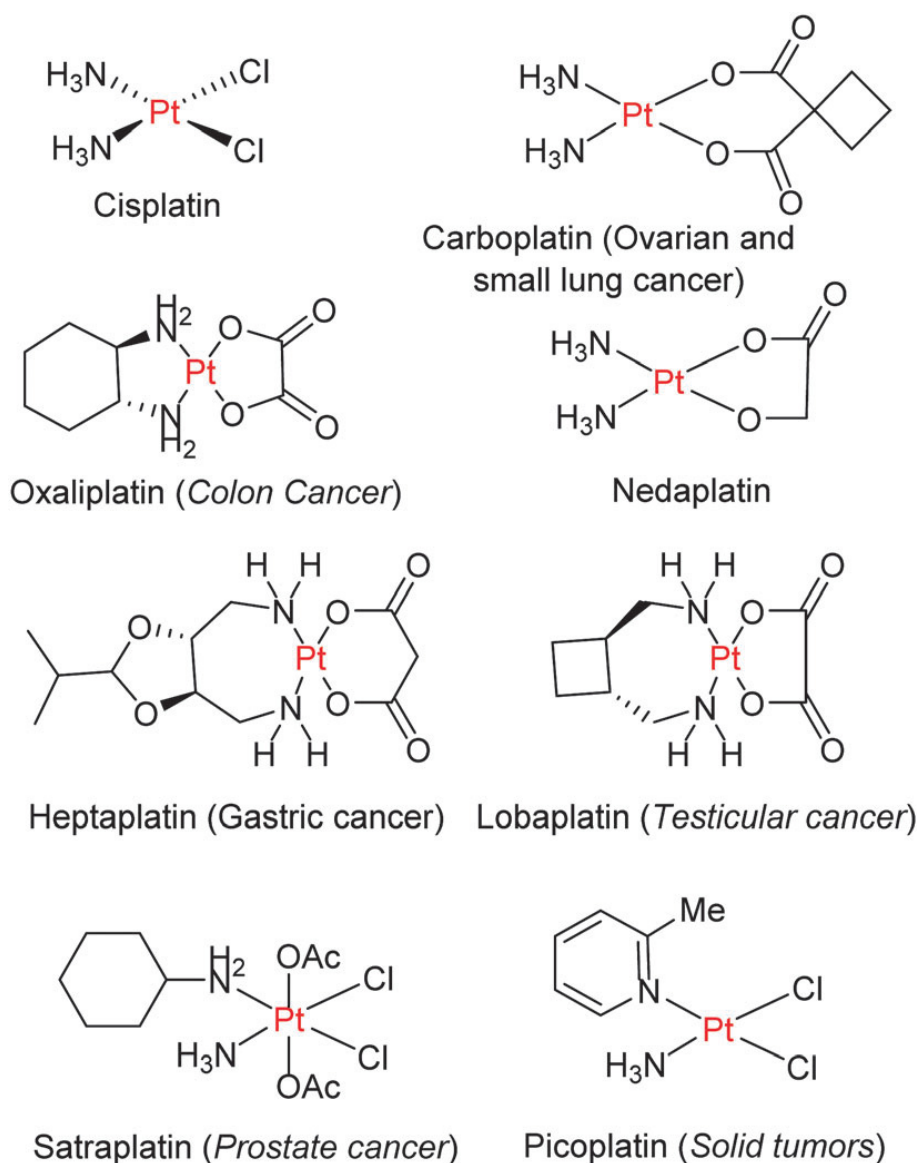
Figura 3 – Mecanismo de reação da Cisplatina ao DNA



Fonte: Andrade

Atualmente, os fármacos mais utilizados como quimioterápicos são os baseados em Pt(II) (HO; WOODWARD; COWARD, 2016). Têm-se também os análogos mais conhecidos como a carboplatina e oxaliplatina. Outros compostos farmacológicos foram aprovados, como a nedaplatina (Japão; SHIONOGI & CO. Ltd.), heptaplatina (Coréia do Sul; SK PHARMA), lobaplatina (China). Ainda têm os fármacos que estão nos estágios de desenvolvimento como a satraplatina (GPC BIOTECH & PHARMION); miriplatina (DAINIPPON SUMITOMO PHARMA E BRISTOL-MYERS K.K.); prolindac (ACCESS PHARMACEUTICALS); BP-C1 (MEABCO); Complexo Lipico de cisplatina (TRANSAVE); aroplatina (ANTIGENICS); e picoplatina (POINARD) (Figura 4).

Figura 4 - Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais.



Fonte: Kapdi; Fairlambb, 2014.

Porém, existe a aplicação de outros derivados metálicos como metalofármacos e agentes de diagnóstico. Destacam-se os compostos de Bi(III), como o citrato de bismuto ranitidina, no tratamento de distúrbios gastrointestinais e na erradicação da bactéria *Gram-negativa Helicobacter pylori* (LI; SUM, 2012), complexos de ouro(I), como a auranofina, empregada no tratamento da artrite reumatóide (SHAW, 1999), o nitroprussiato de sódio, um complexo de Fe(III) usado em emergências cirúrgicas como vasodilatador, o carbonato

Introdução

de lítio, utilizado no tratamento de desordem bipolar, o nitrato de gálio(III), utilizado para tratamentos de hipercalcemia relacionada ao câncer, fármacos antimoniais, como o gluconato de antimônio(V) sódico, usado para tratar leishmaniose (DEMICHELI et al., 2002), sulfato de bário, usado como agente de contraste em radiografia gastrointestinal, $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ ($^{153}\text{Sm-Lexidronam}$), usado no tratamento paliativo de dores ósseas resultantes de metástases e os complexos $^{111}\text{In-DPTA}$ (Pentetato de ^{111}In), $^{99\text{m}}\text{Tc-Cardiolite}$ e $^{67}\text{Ga-citrato}$ usados como agentes de contraste em cintilografia (MJOS; ORVIG, 2014).

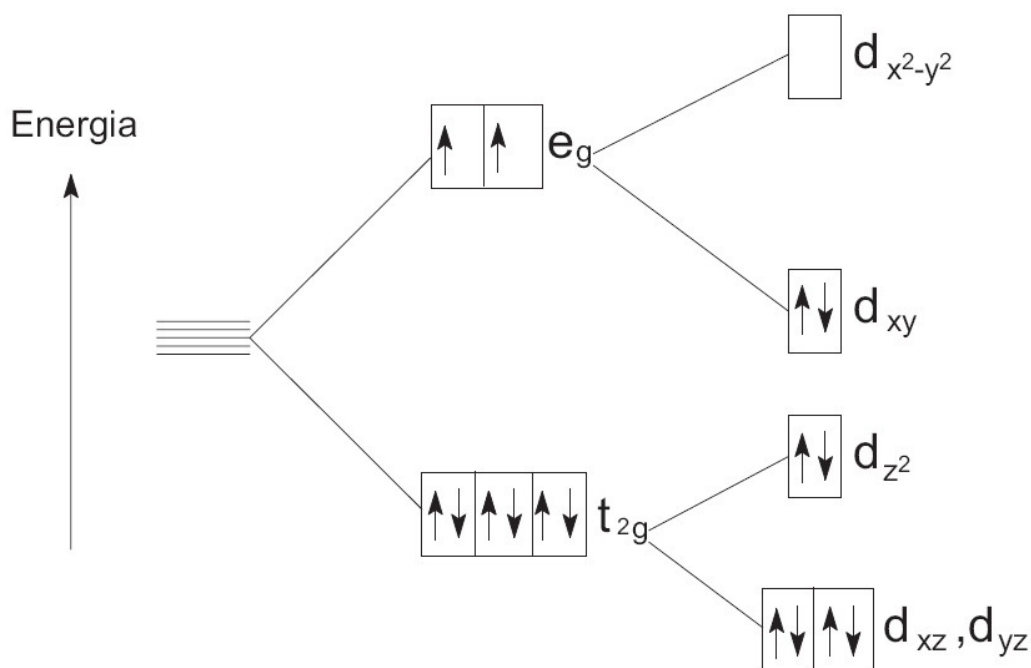
Mundialmente, a demanda por medicamentos à base de platina tem crescido constantemente (GAUTIER; CISNETTI, 2012). A especificidade demonstrada em relação a certas linhas celulares de cancro levou os investigadores a procurar alternativas. Uma das alternativas que tem mostrado uma promessa considerável tem sido o desenvolvimento de outros candidatos a medicamentos baseados em metal de transição (GABBIANI; MESSORI, 2011; CASINI; MESSORI, 2011). Os complexos baseados em paládio estão intimamente relacionados aos seus análogos de platina, devido às suas semelhanças estruturais e à sobreposição significativa da química de coordenação para os dois metais. Um dos primeiros estudos de Graham e colaboradores (1979) defendeu o uso de complexos de paládio como possíveis agentes anticancerígenos. Uma série de novos complexos de paládio foi sintetizada, os quais exibem uma atividade promissora contra linhas celulares tumorais (pulmão, próstata, etc.). Em vários casos, os complexos de paládio exibiram uma melhor atividade antitumoral do que os seus equivalentes de platina (cisplatina, carboplatina, etc.).

Em termos de utilidade, o padrão de dissociação lenta dos complexos de platina em comparação com o paládio (105 vezes mais rápido) os torna mais aplicáveis. Uma tendência recente observada em drogas anticâncer baseadas em paládio é focar no desenvolvimento de complexos de paládio com taxas de hidrólise mais lentas provocadas pela escolha dos ligantes (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

1.2 PALÁDIO

O paládio é um metal de transição pertencente ao grupo da platina e pode ser encontrado em diversos estados de oxidação, os principais são II e IV. O Pd(II) é o estado de oxidação mais estável e pode ser encontrado na forma de óxidos, haletos, nitratos e sulfatos. Apresenta configuração eletrônica ${}_{46}\text{Pd}^{2+}: 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 4d^8$. Ele é paramagnético, mas todos os seus complexos são diamagnéticos e apresentam principalmente coloração vermelha, marrom ou amarela (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Todos os complexos de Pd(II) são diamagnéticos, exceto o íon paramagnético $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ que é formado em ácido clorídrico. Quando o íon metálico central de um complexo apresenta uma configuração d^8 em campo octaédrico, seis elétrons ocuparão os orbitais t_{2g} e dois elétrons ocuparão os orbitais e_g (Figura 5) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Figura 5 - Configuração d^8 num campo octaédrico fraco



Fonte: Lee (2000, p. 111).

Os complexos de paládio mais estáveis possuem a configuração eletrônica d^8 [estado de oxidação (II)], são diamagnéticos e apresentam geometria quadrado-planar. Estes complexos apresentam os cinco orbitais d degenerados em um íon livre, são desdobrados em quatro níveis diferentes. O tipo de desdobramento depende do arranjo simétrico dos ligantes (GRAY; BALLHAUSEN, 1962).

As aplicações dos compostos de coordenação de Pd(II) são muitas, em virtude da extensa variedade de ligantes que a ele se coordena (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Por muitos anos, os complexos de paládio foram investigados e têm encontrado diversas aplicações, como em catálise (LIU et al., 2016), Química supramolecular (WEN; YANG, 2016), na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos (KOHOUT et al., 2017), na área médica como agentes antitumorais (CAMPANELLA et al., 2012), entre outras. Na Química Medicinal Inorgânica destacam-se os derivados de Pd(II) sobre as espécies organopaladados mono, bi e polinucleares com propriedades biológicas, frente à atividade biológica envolvendo interações dos complexos com DNA e RNA (ALMEIDA et al., 2005). O estudo de citotoxicidade *in vitro* do complexo de paládio apresentou inibição do crescimento contra diferentes linhagens de células como K-562 (Leucemia), HCT-15 (câncer de cólon), MCF-7 (câncer de mama), U-251 Glio (sistema nervoso central) e PC-3 (cancro da próstata) (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

Supôs-se que uma melhoria na atividade dos complexos de paládio era devida à presença do átomo N adequado para auxiliar a ligação eficaz de íons metálicos aos fragmentos de ácido nucléico em relação àqueles contendo ligantes doadores N heterocíclicos (COLUCCIA, 1993). Logo, a escolha criteriosa dos ligantes desempenha um papel importante na definição da geometria ao redor do centro de paládio, que na maioria dos casos é de natureza trans (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

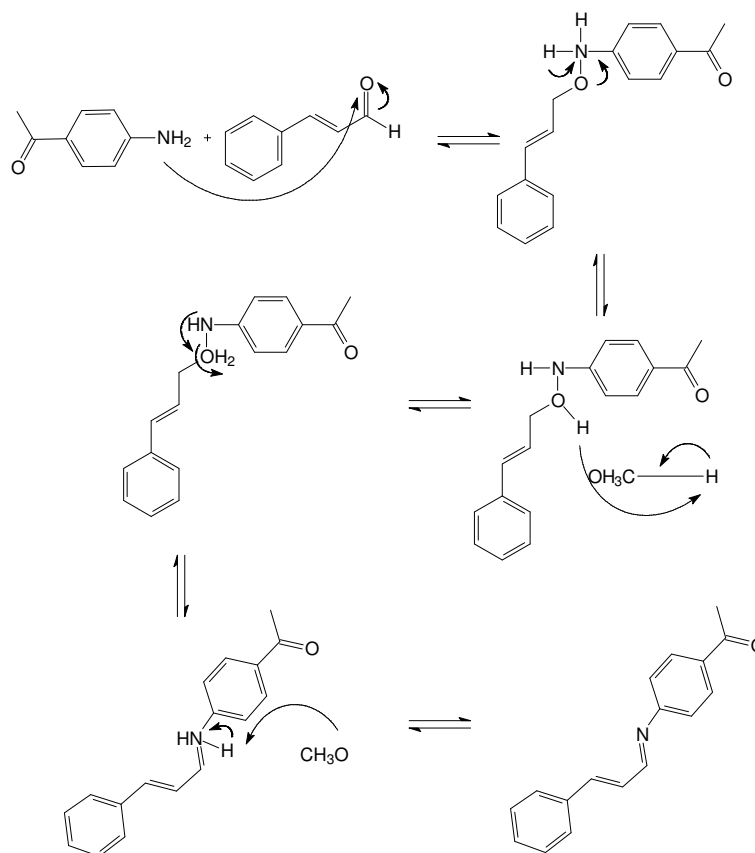
1.3 LIGANTES IMÍNICOS

Hugo Schiff, em 1864, descreveu a condensação de uma amina primária com um composto contendo um grupo carbonila ativo, (uma cetona ou um aldeído) onde a carbonila é substituída por um grupo imina, produzindo um composto conhecido como base de Schiff. Estas são bases de Lewis extremamente eficazes e apresentam o grupo funcional, geralmente hidroxila, perto do sítio de coordenação a ponto de permitir que anéis quelatos de cinco ou seis membros sejam formados por meio da reação com íons metálicos.

Esses compostos são considerados “ligantes privilegiados”, por serem capazes de estabilizar diversos metais em vários estados de oxidação podendo controlar o desempenho dos íons em diversas transformações catalíticas (COZZI, 2004). As bases de Schiff possuem estrutura bem definida e ampla funcionalidade orgânica, podem complexar centros metálicos com grande facilidade. Levando em consideração a versatilidade de suas propriedades estéricas e eletrônicas, é possível aplicar estes compostos em diversas áreas, tais como atividades biológicas (ZAYED; ZAYED; EL-DESAWY, 2015; AL-NOOR; AZIZ; AL- JEBOORI, 2014), organometálicos (SOARES et al., 2014), atividades catalíticas (REN et al., 2014), entre outras.

Atualmente, os ligantes neutros mais utilizados são piridina (py) (CHEN, 2009), bipyridina (bipy) (HOLLER, 2010), terpiridina (terpy), fenantrolina (phen) (FANG, 2007), óxidos de trifenilfosfina (tppo) (ELISEEVA, 2004). As bases de Schiff podem ser sintetizadas de várias maneiras, adotando métodos diferentes (KAFKA; KAPPE, 1997), enquanto que a condensação catalisada por ácido de amins e aldeídos e cetonas é a mais comum. Trata-se de uma reação em duas etapas, na qual o ataque nucleofílico pelo átomo de nitrogênio do carbono carbonílico é o primeiro que resulta no intermediário da carbinolamina, que é instável. No segundo passo, o intermediário sofre desidratação para formar uma ligação dupla de carbono que é conhecida como base de Schiff (GULL; HASHMI, 2017), (Figura 6).

Figura 6 – Mecanismo da síntese da base de Schiff



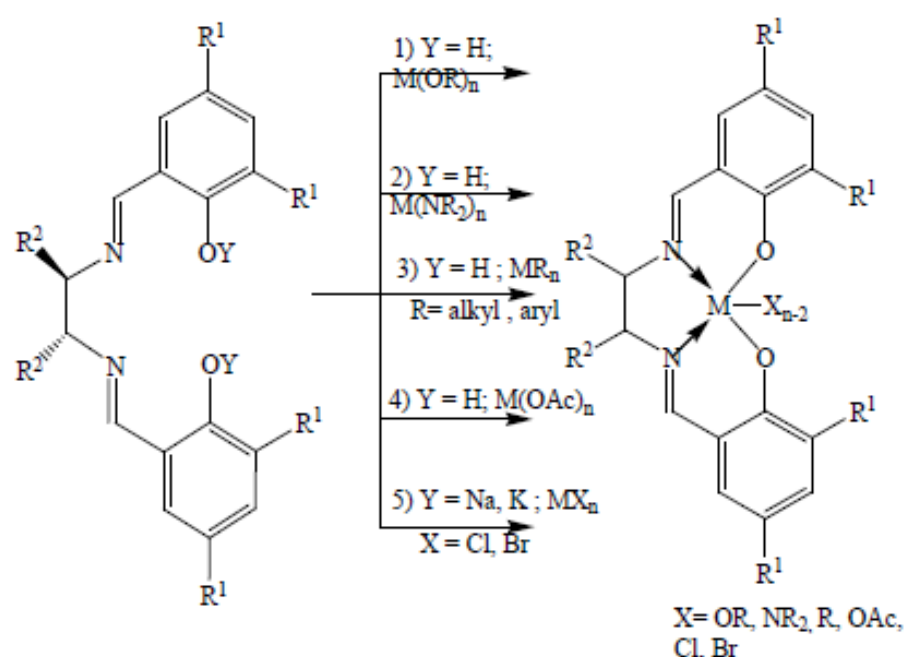
Fonte: Do Autor.

Complexos de metais contendo base de Schiff são comumente sintetizados pela reação de sais metálicos com ligantes de base de Schiff sob condições de reação específicas. Segundo Cozzi (2004), cinco vias sintéticas são descritas para a síntese do complexo de metal base de Schiff e são apresentadas como segue na Figura 7.

A rota 1, usa os óxidos metálicos $[M(OR)_n]$ que estão facilmente disponíveis para uso particularmente de metais de transição. Na rota 2, as amidas de metais, são utilizados como precursores na síntese de complexos metálicos baseados em bases de schiff. Várias outras rotas utilizadas como rotas sintéticas consistem na reação direta da base de Schiff e do íon metálico, rota 3. Na rota 4 ou reação das bases de Schiff com os correspondentes acetatos metálicos em refluxo. O esquema descrito na Rota 5, que é um pouco eficaz na síntese de complexos metálicos do tipo salen, compreende uma reação em

duas etapas, a desprotonação da base de Schiff e a reação com sais metálicos. Os hidrogênios fenólicos podem ser desprotonados efetivamente usando hidreto de sódio ou potássio. O hidreto na coordenação de solventes e o excedente NaH ou KH podem ser removidos por filtração (GULL; HASHMI, 2017).

Figura 7 – Rota sintética dos complexos metálicos



Fonte: Do Autor.

As bases de Schiff e seus complexos metálicos emergem como um campo diverso de química e desempenham um papel importante no desenvolvimento e progresso de coordenação química (ODDS; BROWN; GOW, 2003). A escolha do ligante orgânico tem muita importância para os complexos de paládio, pois se sabe também que as bases de Schiff exibem propriedades biológicas e são principalmente usadas como drogas em medicamentos (PATOLE et al., 2006). Estudos experimentais têm mostrado que a incorporação do íon metálico aumenta a atividade biológica das bases de Schiff sobre a quelação (PUTHILIBAI, 2009; AVAJI, 2009).

1.4 PSEUDOHALETOS

O termo pseudo-halogênio foi introduzido em 1925 e refere-se à forma molecular de compostos como cianogênio $(\text{CN})_2$ e ditiocianogênio $(\text{SCN})_2$. Também pode ser aplicado às moléculas como o N_2O_4 ou $(\text{SCSN}_3)_2$. Em paralelo ao termo pseudo-halogênio há outros: pseudo-haleto, grupo pseudo-halogênio e derivados pseudo-halogenados. Enquanto o termo pseudo-haleto refere-se ao ânion, a designação de grupo pseudo-halogênio é utilizada para se referir aos mesmos quando covalentemente ligados às moléculas orgânicas (SARGENTELLI, 1996).

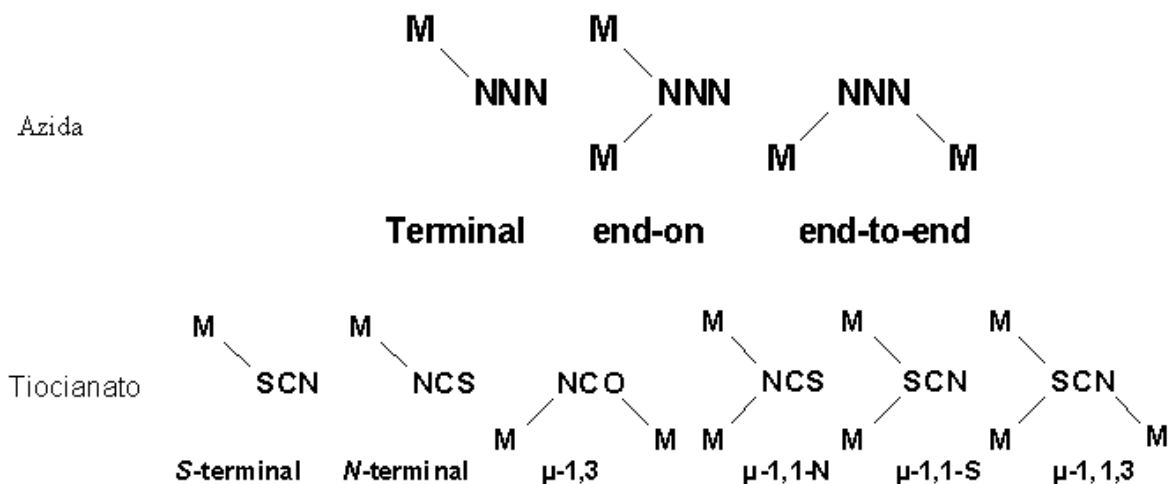
Os principais pseudo-haletos são os seguintes íons: azida (N_3^-) , cianato (OCN^-) e seu isômero o fulminato (CNO^-) , tiocianato (NCS^-) , cianeto (CN^-) , selenocianato (NCSe^-) , cianamida $(\text{N}(\text{CN})_2^-)$ e tricianometanida $(\text{C}(\text{CN})_3^-)$ (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A designação destes íons como pseudo-haletos decorre de semelhanças entre as propriedades dos mesmos com aquelas dos haletos autênticos. Destacam-se as seguintes propriedades: são geralmente voláteis quando estão no estado livre; reagem entre si formando compostos como os compostos FN_3 e $\text{I}_2\text{Br}_2\text{Cl}^-$; ligam-se a radicais orgânicos (alquilas) formando compostos covalentes, RX e uma de sua propriedade mais importante é a capacidade de formarem complexos estáveis com muitos metais de transição, podendo coordenar-se ao íon metálico de diferentes modos (SANTOS; NEVES, 1984).

Apesar da similaridade, três diferenças são marcantes entre os pseudo-haletos e os haletos, a saber: os ácidos constituídos por haletos são mais fortes do que os dos pseudo-haletos; a insaturação dos pseudo-haletos a qual lhes confere acentuada propriedade como agentes complexantes e a reatividade destes íons, possibilitando a formação de novas espécies coordenadas ao centro metálico (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986).

Na química inorgânica os íons azida (NNN^-) , tiocianato (NCS^-) e cianato (NCO^-) constituem diversos sais e na química de coordenação são conhecidos compostos contendo estes pseudo-haletos com praticamente todos os metais de transição. Os mesmos coordenam-se nos modos terminal ou ponte originando espécies monoméricas ou

poliméricas (GODOY NETTO, 2003; NAKAMOTO, 1986). Quando em ponte, podem atuar como ligantes *end-on* ($\mu-1,1$) ou *end-to-end* ($\mu-1,3$) (Figura 8).

Figura 8 - Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato



Fonte: Moro, 2007.

Ralph Pearson usa a polarizabilidade das espécies para classificá-las como ácidos e bases duros (aos que possuem baixa polarizabilidade), ácidos e bases moles aos que possuem alta polarizabilidade. E a interação entre ácidos moles e bases moles são mais efetivas, da mesma forma que ácidos duros com bases duras (VASCONCELLOS, 2014). O íon paládio(II), de acordo com a teoria de Person, é um ácido mole e com isso, espera-se melhor interação com bases moles. Dentre os haletos e pseudohaletos que se enquadram nessa classificação podemos citar: I^- , SCN^- e CN^- , em comparação aos haletos e pseudohaletos relativamente com maciez intermediária, Br^- , N_3^- , NCS^- , NCO^- . Já os haletos F^- e Cl^- , são considerados como base duras e são facilmente substituídos por haletos/pseudohaletos mais macios (MIESSLER; FISCHER; DONALD, 2014).

1.5 POTENCIAL BIOLÓGICO


Atualmente, compostos inorgânicos são constantemente avaliados quanto aos seus efeitos farmacológicos, na esperança de alcançar curas efetivas para várias doenças. Os agentes quimioterápicos são substâncias químicas que exercem ação seletiva sobre as espécies patogênicas. De acordo com o tipo de microrganismo, os agentes quimioterápicos são classificados em: antihelmínticos, antiprotozoários, antifúngicos, antibacterianos, antivirais e antineoplásicos (ALMEIDA, 2003). Alguns agentes quimioterápicos podem apresentar um ou mais dos seguintes efeitos: *-stático*, quando inibem o crescimento ou multiplicação ulterior do organismo ou célula invasora; *-cida*, quando o matam ou destroem. A busca por novas moléculas evoluiu para a obtenção de novos compostos no âmbito da pesquisa da Química Medicinal inorgânica para avaliação biológica sobre algumas doenças de interesses científicos.

1.5.1 Aspectos gerais do câncer de mama

A neoplasia maligna mais comum em mulheres (com exceção do câncer de pele não melanoma), tanto nacional quanto internacionalmente, é o câncer de mama. A estimativa para o Brasil, no biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer e são esperados 57.960 novos casos de câncer de mama, sendo 5.160 para Minas Gerais (BRASIL, 2015).

Introdução

Figura 9 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo

| Localização primária | casos novos | percentual | | | Localização primária | casos novos | percentual |
|-----------------------------|-------------|------------|---|-------------------------------|-----------------------------|-------------|------------|
| Próstata | 60.180 | 30,8% |  | Homens Mulheres | Mama Feminina | 52.680 | 27,9% |
| Traqueia, Brônquio e Pulmão | 17.210 | 8,8% | | | Colo do Útero | 17.540 | 9,3% |
| Cólon e Reto | 14.180 | 7,3% | | | Cólon e Reto | 15.960 | 8,4% |
| Estômago | 12.670 | 6,5% | | | Glândula Tireoide | 10.590 | 5,6% |
| Cavidade Oral | 9.990 | 5,1% | | | Traqueia, Brônquio e Pulmão | 10.110 | 5,3% |
| Esôfago | 7.770 | 4,0% | | | Estômago | 7.420 | 3,9% |
| Bexiga | 6.210 | 3,2% | | | Ovário | 6.190 | 3,3% |
| Laringe | 6.110 | 3,1% | | | Corpo do Útero | 4.520 | 2,4% |
| Linfoma não Hodgkin | 5.190 | 2,7% | | | Linfoma não Hodgkin | 4.450 | 2,4% |
| Sistema Nervoso Central | 4.820 | 2,5% | | | Sistema Nervoso Central | 4.450 | 2,4% |

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

Fonte: Brasil, 2015.

Os tumores mamários são heterogêneos (que possui natureza desigual e/ou apresenta diferença de estrutura), sendo este um dos maiores desafios na prática clínica, tendo em vista que tumores com os mesmos tipos histológicos, estágios e graus de diferenciação podem apresentar desfechos distintos em relação aos fatores prognósticos e às respostas aos tratamentos instituídos, principalmente, devido a diferentes alterações moleculares (CHEANG et al., 2009). A prevenção primária dessa neoplasia ainda não é totalmente possível em razão da variação dos fatores de risco e das características genéticas que estão envolvidas na sua etiologia. Novas estratégias de rastreamento factíveis para países com dificuldades orçamentárias têm sido estudadas e, até o momento, a mamografia é recomendada como método efetivo para detecção precoce (BRASIL, 2015).

Apesar do sucesso terapêutico da cisplatina, os seus efeitos indesejados justificam a busca por novos compostos com efeito antitumoral comparável ou melhor que a cisplatina, porém, com menor toxicidade sistêmica. A platina e outros metais de transição apresentam interesse particular para o desenvolvimento de compostos antitumorais devido à forte interação desses metais com o DNA, embora, possam se ligar a outros alvos moleculares como as proteínas contendo tióis e participar de processos de óxido-redução (MEDICI et al., 2015). Assim, vários complexos utilizando metais de transição têm sido sintetizados e estudados, como é o caso de complexos de paládio (II), que apresentam analogia estrutural e termodinâmica aos complexos de platina (CUTILLAS et al., 2013; GAO et al., 2009;

GAUTIER; CISNETTI, 2012;). Vários estudos têm demonstrado que os complexos de Pd(II) apresentam atividade citotóxica similar aos complexos e Pt(II), cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, com menos efeitos adversos e maior solubilidade em água (GAO et al., 2009; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

Os primeiros complexos de Pd(II) apresentaram pouca ou nenhuma aplicação como antitumorais, devido à sua rápida hidrólise em ambientes biológicos, cerca de 10^5 vezes mais rápida do que os análogos contendo platina. A rápida dissociação em meio aquoso impede que os complexos atinjam o alvo farmacológico e aumenta o risco de formação de compostos reativos, com potencial para interferir em processos bioquímicos das células normais (CAIRES, 2007; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

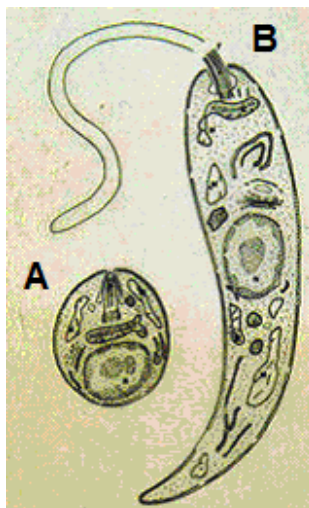
Em geral os complexos de Pd(II) são divididos em 2 grupos principais: aqueles com ligantes doadores de enxofre e os complexos com ligantes doadores de nitrogênio e outros doadores. A atividade biológica dos metalocomplexos está diretamente relacionada ao ligante, que desempenha papel crucial na estabilização do estado de oxidação específico do metal, na modificação da reatividade e lipofilicidade e ainda deve ser inerte (MOTSWAINYANA et al., 2013).

Ulukaya et al. (2011) e Ari et al. (2014) demonstraram que um complexo de Pd(II) mononucleado, contendo terpiridina apresentou citotoxicidade para células MCF-7 e MDA-MB-231 de adenocarcinoma mamário humano e o mecanismo de ação inclui a quebra de dupla fita do DNA e aumento do estresse oxidativo, o que levou as células a morte (ADIGUZEL et al., 2014). Campanella et al. (2012) utilizando complexos de Pd(II) contendo imina e difenilfosfina, $[Pd(ca_2-o-phen)Cl_2]$ e $[Pd(dmba)(dppp)Cl]$, respectivamente, demonstraram o efeito citotóxico para a linhagem de células MDA-MB-435, de adenocarcinoma mamário humano triplo-negativo. Outros complexos de Pd(II) ininico-fosfínicos também se mostraram citotóxicos para células MCF-7, sendo mais eficientes que a cisplatina (MOTSWAINYANA et al., 2013). Resultados semelhantes foram obtidos por Banti et al. (2015), com dois complexos trifenílfosfínicos de Pd(II) testados em células MCF-7.

1.5.2 Aspectos gerais da leishmaniose e *Leishmania* ssp.

O gênero *Leishmania* é constituído de várias espécies de protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae e à ordem Kinetoplastida, que se caracterizam pela presença de uma estrutura extranuclear rica em DNA, denominada cinetoplasto (LAINSON; SHAW, 1972). Em 1903, Leishman e Donovan separadamente descreveram um protozoário num tecido de baço, que hoje é chamado *Leishmania donovani* (HERWALDT, 1999). O parasito existe em duas formas: e a forma intranuclear amastigota (Figura 8A), que é ovalada, não apresenta flagelo visível na microscopia ótica, é encontrada no interior dos fagolisossomos dos macrófagos do hospedeiro mamífero, onde sobrevivem e se multiplicam e a forma extranuclear promastigota (Figura 8B), que é fusiforme, apresenta núcleo central e possui flagelo, organela relacionada à locomoção do parasito no tubo digestivo do inseto (CROFT; COOMBS, 2003).

Figura 10 - Formas evolutivas do protozoário *Leishmania*



Legenda: A. Amastigota

B. Promastigota

Fonte: Fiocruz, 1997.

Introdução

As leishmanioses se caracterizam pelo parasitismo intracelular do sistema fagocitário mononuclear, a partir da picada do vetor flebotomíneo-fêmea infectado com as formas promastigotas de *Leishmania* que, após inoculação no hospedeiro vertebrado se transformam em amastigotas no vacúolo parasitóforo de macrófagos (LAINSON; SHAW, 1992).

O medicamento mais utilizado para o combate a *Leishmania* são complexos de antimônio pentavalente, Anfotericina B e a Pentamidina. No entanto, estes agentes apresentam desvantagens como o modo de administração parenteral, de longa duração da terapêutica, efeitos tóxicos, custo e parasita resistente (GUERIN et al., 2002). Com base nestas considerações, o estudo de novas drogas para o tratamento das leishmanioses é importante, uma vez que vários estudos que avaliaram esses medicamentos não apresentaram resultados conclusivos (DOGRA; SAXENA, 1996). Azitromicina tem sido usado para tratar infecções causadas principalmente por microorganismos intracelulares, devido à sua distribuição tecidual dentro de fagócitos e sua longa meia vida (PETERS; FRIEDEL; McTAVISH, 1992).

A atividade dos metais sobre a *Leishmania* foi descrita por alguns autores como Navarro e colaboradores (2003) que testaram a atividade leishmanicida de complexos de cobre (Cu) sobre formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* comprovando sua interação com o DNA do parasita. Além disso, também já foi relatada a atividade do ouro (Au) sobre culturas de promastigotas de *L. mexicana* interagindo sobre o DNA por intercalação (NAVARRO et al., 2010). Iniguez e colaboradores (2014) também demonstraram atividade de complexos com rutênio sobre *Leishmania*.

Os complexos contendo paládio(II) têm chamado a atenção como uma alternativa para novas drogas com base metálica, visto que sua coordenação geométrica e processo de formação de complexo são similares aos da platina (II) (TUŠEK-BOŽC et al., 2008). Na literatura tem sido descrito a síntese de novos compostos de paládio pelas reações de adição ou substituição por grupos radicalares como haletos ou pseudohaletos sobre a atividade antileishmania do tiocianato relatado por Franco (2013).

1.5.3 Aspectos gerais antifúngicos

Os fungos podem causar infecções, sendo denominadas micoses as infecções fúngicas. Os fungos (Figura 11) podem ser patogênicos ou não, são seres eucarióticos, heterotróficos, possuem parede celular rígida composta por quitinas e polissacarídeos, além de apresentarem membrana celular envolvendo o material genético, membrana composta de ergosterol e núcleo. Sua morfologia pode variar dependendo de condições nutricionais de fatores ambientais (pH, temperatura, atmosfera O_2/CO_2) (TRABULSI et al., 2005; LEVINSON; JAWETZ, 2005).

Figura 11 – Cultivo de fungo em placa de Petri




Fonte: Alcântara, 2017

Com o passar dos anos o desenvolvimento de fármacos eficientes para combater infecções microbianas revolucionou tratamentos médicos com a redução de mortes ocasionadas por tais doenças. No entanto, o uso de antibióticos indiscriminável resultou na resistência dos microrganismos. Isso se tornou um grande problema mundial de saúde pública, uma vez que limita as opções de fármacos disponíveis no mercado, sendo importante a busca por novos agentes antimicrobianos (OPLUSTIL, 2012).

Nesse contexto o uso de compostos inorgânicos no tratamento de doenças como agentes antifúngicos vem sendo muito utilizado. Como exemplo cita-se as tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos. As tiossemicarbazonas por si, já

Introdução

apresentam ampla atividade antimicrobiana, sendo ativas em diferentes culturas de fungos, porém, sua complexação com metais de transição aumentam seu potencial antifúngico, como os complexos de cobalto (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998). Além disso, vários trabalhos evidenciam os estudos antibacterianos e antifúngicos dos complexos de platina (KUSHEV, et al., 2002; WATABE, et al., 1999). A síntese de dois complexos Pt(II), $[\text{Pt}(\text{achsh})_2\text{Cl}_2]$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{achsh})\text{Cl}_2]$ realizadas por Kushev e colaboradores (KUSHEV, D. et al., 2002) ao serem testados em culturas de fungos e bactérias apresentaram atividade similar e, ou, maior comparadas a cisplatina.



Capítulo 2


OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Diante do exposto, percebe-se a necessidade do desenvolvimento de novos complexos de Pd(II) e estudos para o conhecimento das atividades biológicas dos complexos metálicos. Assim, o objetivo desse trabalho foi a síntese, caracterização e a avaliação das potencialidades farmacológicas de complexos de paládio(II) contendo o ligante imínico 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafa).

Deste modo, o presente trabalho tem os seguintes objetivos específicos:

- a) Síntese do novo agente complexante nitrogenado (Base de Schiff ou iminas), 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafa), e realizar a coordenação deste agente complexante com o paládio(II);
- b) Síntese dos novos complexos de Pd(II) através da troca de cloreto (Cl⁻) por outros haletos: brometo (Br⁻) e iodeto (I⁻) e pseudohaletos: tiocianato (SCN⁻) e azida (N₃⁻);
- c) Caracterização dos novos compostos utilizando as técnicas de análise elementar (CHN), espectro de absorção na região do infravermelho (IV), análise térmica (TG e DTA), espectros de ressonância magnética nuclear (RMN de ¹H e ¹³C), determinação estrutural e molecular por técnicas de difratometria de raios-X, condutividade elétrica e propriedades eletrônicas;
- d) Investigação da atividade em *Leishmania* ssp, células tumorais e fungos com o intuito de avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos.



Capítulo 3

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

Em todas as sínteses foram utilizados reagentes P.A. Os principais solventes e reagentes estão listados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Principais solventes utilizados nas sínteses

| Solventes | Fórmulas | Procedências |
|-------------------------|--------------|--------------|
| Acetona | C_3H_6O | Cromoline |
| Acetonitrila | CH_3CN | Isofar |
| Clorofórmio | $CHCl_3$ | Cromoline |
| Diclorometano | CH_2Cl_2 | Isofar |
| Dimetilsulfóxido (DMSO) | C_2H_6SO | Ecibra |
| Etanol | C_2H_5OH | Ecibra |
| Éter Etílico | $C_4H_{10}O$ | Ecibra |
| Metanol | CH_3OH | Impex |
| Nitrometano | CH_3NO_2 | Nuclear |
| Pentano | C_5H_{12} | Isofar |
| Tetrahidrofurano (THF) | C_4H_8O | Synth |

Fonte: Do Autor.

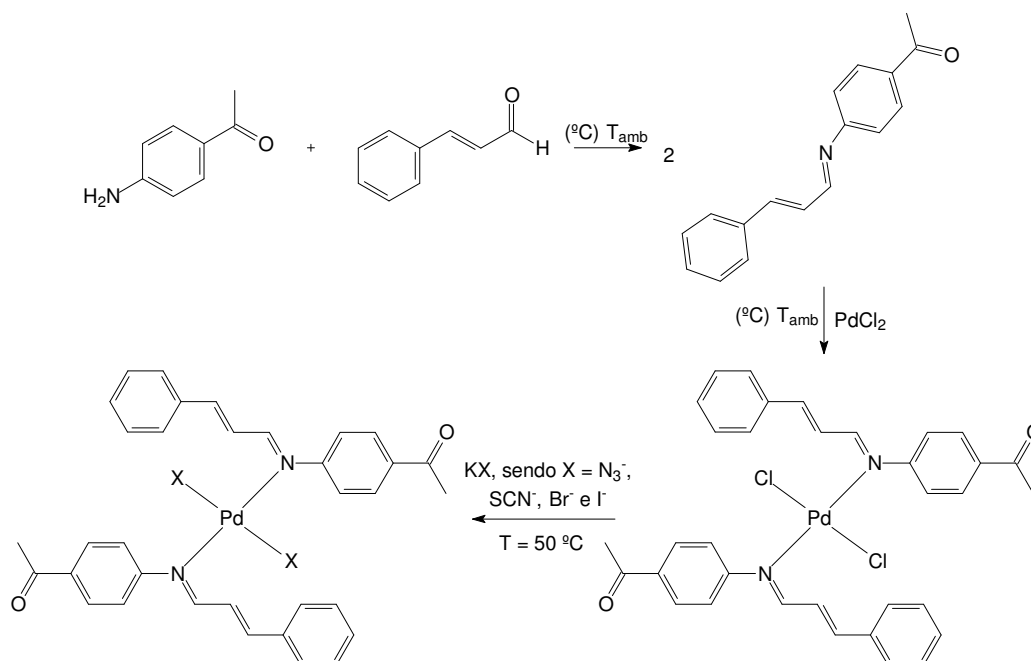
Tabela 2 - Principais reagentes utilizados nas sínteses

| Reagentes | Fórmula | Procedência |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|
| Azida de sódio | NaN_3 | Riedel |
| Brometo de Potássio | KBr | Vetec |
| Cianato de Potássio | KCNO | Carlo Erba |
| Cloreto de Lítio | LiCl | Synth |
| Cloreto de Paládio (II) | PdCl_2 | Sigma Aldrich |
| Iodeto de Potássio | KI | Merck |
| <i>p</i> -aminoacetofenona | $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ | Carlo Erba |
| <i>trans</i> -cinamaldeído | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$ | Merck |
| Tereftaldeído | $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$ | Aldrich |
| Tiocianato de Potássio | KSCN | Merck |
| Trietilamina | $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ | Vetec |

Fonte: Do Autor.

Para facilitar a explanação dos resultados alcançados, o fluxograma abaixo, indica as sínteses realizadas a obtenção do novo ligante imínico e dos novos complexos de paládio(II).

Figura 12 – Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa

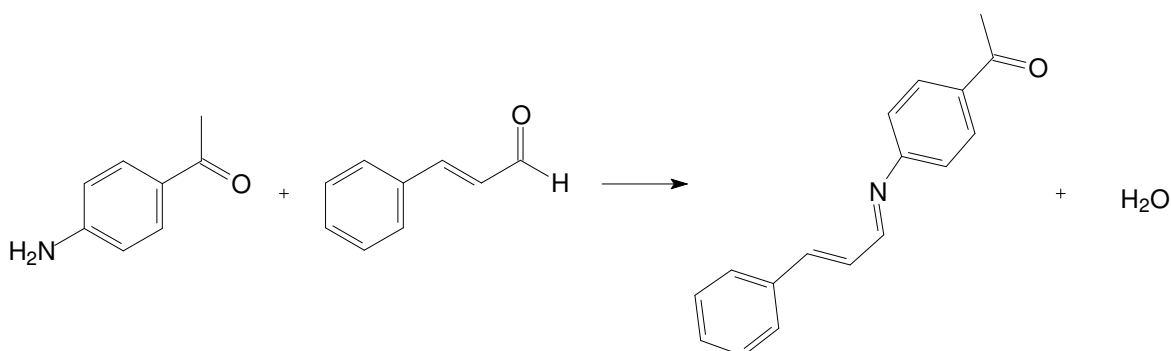


Fonte: Do Autor.

3.1 SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1)

A síntese da imina foi conduzida reagindo-se aldeído ou cetona com amina, na proporção estequiométrica adequada, em etanol e a temperatura ambiente, em Erlenmeyer com tampa e boca esmerilhada. O Erlenmeyer contendo o meio reacional foi transferido para um freezer com o intuito de se obter o sólido por abaixamento de temperatura. As reações foram realizadas em duplicata.

Figura 13 – Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1



Fonte: Do Autor.

Para a síntese do novo ligante imínico ou base de Schiff, Hfafa (Figura 13), foi conduzida reagindo-se *p*-aminoacetofenona com *trans*-cinamaldeído, na proporção estequiométrica 1:1, em meio etanólico, à temperatura ambiente de 27 °C, em um balão volumétrico de fundo redondo. Foram gotejados 1,0500 g (7,94 mmol) de *trans*-cinamaldeído dissolvido em 10,0 mL álcool etílico em uma solução límpida constituída de 1,0700 g (7,94 mmol) de *p*-aminoacetofenona em 10,0 mL de álcool etílico, sob agitação. Após 2 horas de reação, observou-se a formação de um precipitado amarelo claro. O sistema foi transferido para um freezer com o intuito de se obter cristais por abaixamento de temperatura. As reações foram reproduzidas em duplicata.

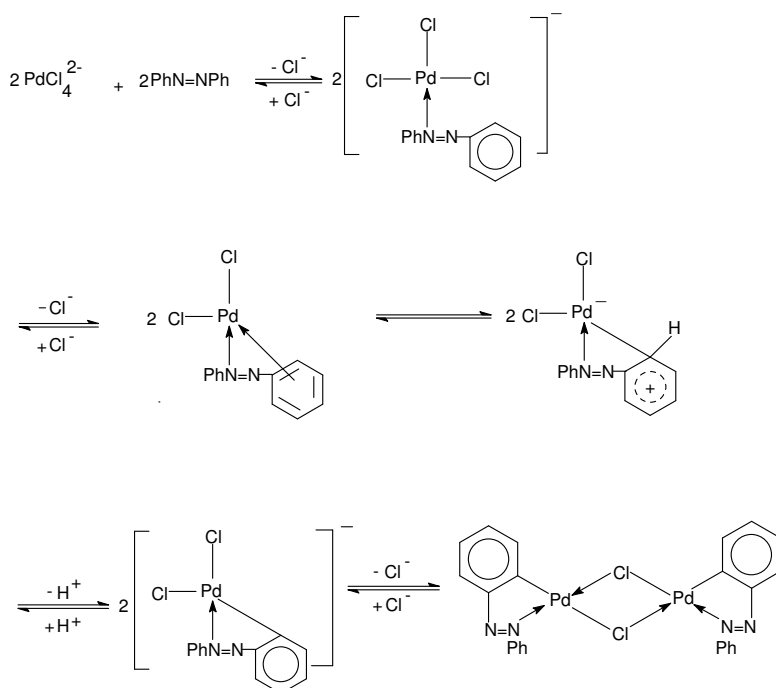
3.2 SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II)

A síntese de nova espécie química de coordenação foi realizada reagindo o novo ligante obtido com o sal de metal de transição tetracloropaldato(II) de lítio, em proporção estequiométrica adequada e utilizando o metanol como solvente à temperatura ambiente. O método de litação é muito empregado na complexação de complexos de paládio (CAVALCANTE et al., 2008; ANGELO et al., 2001). O PdCl₂ é insolúvel em MetOH.

Parte Experimental

A adição de LiCl se faz necessária, pois forma-se um complexo solúvel em metanol à quente, o tetracloropalaádio(II) de lítio, é o precursor reacional (Figura 14).

Figura 14 - Esquema do método de Parshall



Fonte: Do Autor.

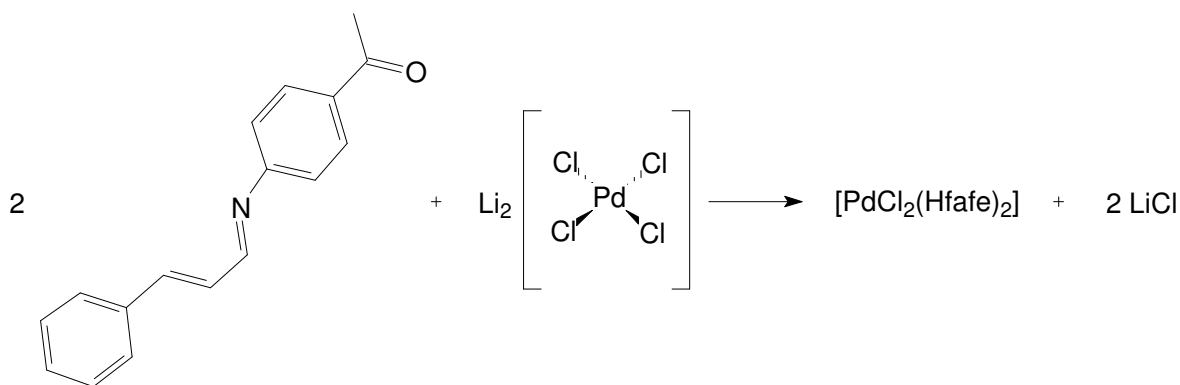
3.2.1 Síntese do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Solubilizou-se 1,0000 g (5,64 mmol) de PdCl_2 , em 40,0 mL de metanol, sob aquecimento e agitação durante cerca de 20 minutos, em um balão de fundo chato. Após este tempo, foi observado certo escurecimento da mistura e formação de uma suspensão. Adicionou-se então 0,4704 g (11,28 mmol) de LiCl, deixando reagir por mais 20 min. Observou-se a solubilização do sólido em suspensão. Filtrou-se a solução ainda à quente para remoção de resíduos sólidos insolúveis.

Parte Experimental

Em outro balão de fundo chato, solubilizou 1,4000 g (5,64 mmol) do ligante imínico Hfafa L1 em metanol, formando-se uma solução límpida e cristalina. Fez-se então uma lenta adição desta solução a anterior contendo predominantemente $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$. Deixou o sistema em agitação e sob gotejamento de uma solução metanol-trietilamina (20:1) (v/v). O lento gotejamento teve duração de 8 horas sendo observada a formação de um sólido amarelo (Figura 15). O precipitado produzido foi então filtrado, lavando-se com água e éter e seco sob vácuo.

Figura 15 - Equação química para a obtenção do $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

3.3 REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES

Com a obtenção do novo complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), e com o intuito de se investigar a reatividade dos mesmos frente a haletos e pseudohaletos, foi conduzida então reações de substituição do cloro, por brometos e iodetos, bem como pelos pseudohaletos azida e tiocianato. O estudo de séries de complexos se faz necessária para a comparação de suas propriedades físicas e químicas, além das propriedades biológicas, o que facilita interpretar a relação estrutura química versus atividade biológica (SAR). A escolha destes sais foi norteadora por suas relevantes propriedades farmacológica.

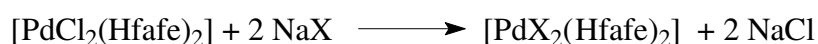
Parte Experimental

Em reação estequiométrica e dissolvido em acetona, o complexo precursor foi agitado com os sais inorgânicos NaN_3 , KSCN , KBr e KI para obtenção de novos complexos.

3.3.1 Síntese de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfafe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

Para a obtenção de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfafe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$, SCN , Br e I , a partir do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C1), utilizou-se a proporção 1:2 (complexo-cloro:sal inorgânico), conforme esquema reacional abaixo:

Esquema Reacional previsto:



Solubilizou-se 0,3001 g (0,44 mmol) do complexo em 20,0 mL de acetona, sob agitação. Em seguida solubilizou-se os sais inorgânicos 0,057g (0,88 mmol) de NaN_3 , 0,0808 g (0,58 mmol) de KSCN , 0,1052 g (0,58 mmol) de KBr e 0,1472 g (0,58 mmol) de KI em 0,01 mL de água destilada e adicionou-se ao complexo. Deixou-se reagindo por 2 h. Após o término da reação, o balão contendo a mistura reacional, foi levado à geladeira permanecendo por volta de 24 horas. A solução foi filtrada lavando-se o produto com água em abundância para remoção do cloreto de sódio / cloreto de potássio formado no processo reacional. Os sólidos sintetizados apresentam coloração laranja para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafe})_2]$ (C2), verde para $[\text{Pd}(\text{Hfafe})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), laranja para $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C4) e marrom para $[\text{Pd}(\text{Hfafe})_2\text{I}_2]$ (C5), respectivamente.

3.4 METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO

A seguir serão apresentadas as técnicas e equipamentos utilizados para a elucidação dos compostos sintetizados neste trabalho.

3.4.1 Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição

Os pontos de fusão ou decomposição foram medidos no equipamento Marte (PFM II). A amostra foi triturada e empacotada em tubo capilar para registrar a faixa de temperatura da primeira evidência visível do sólido até a sua fusão ou decomposição. Foram realizados em triplicata.

3.4.2 Testes de solubilidade

A solubilidade dos compostos foi testada com os solventes: água, metanol, etanol, acetonitrila, acetona, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Com a finalidade de verificar a solubilidade dos compostos com os solventes que foram utilizados nas técnicas de caracterização, como espectroscopia de absorção na região do ultravioleta – visível (CH_3CN), ressonância magnética nuclear (CDCl_3 ou DMSO-d_6) e os testes biológicos (DMSO).

3.4.3 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no Analisador Elementar da LECO Instruments - modelo TruSpec CHNS-O, utilizando porta-amostra de

prata. Foram utilizados como compostos de referência Acetanilida, Cistina, EDTA e sulfametazina, conforme o teor de carbono e, ou nitrogênio esperado.

3.4.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, IV, foram registrados no espectrofotômetro Simadzu – IR Prestige 21. As pastilhas apropriadas para a leitura foram preparadas pela maceração, em almofariz de ágata, da amostra com brometo de potássio e posterior compactação numa prensa hidráulica (aprox. 10 t).

3.4.5 Análise térmica

As curvas termogravimétricas (TG/DTA) foram obtidas empregando-se o equipamento da TA Instruments – Q-600 Séries. Cada amostra, com cerca de 8,0 a 10,0 mg, foram disposta em cadinho de alumina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 1100°C, com razão de aquecimento de 20°C min.⁻¹, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de 100 mL.min.⁻¹.

3.4.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética multinuclear (RMN) foram obtidos em um Espectrômetro Bruker DPX-300, operando a 300 MHz para RMN ¹H e 75 MHz para RMN ¹³C. As amostras foram preparadas com prévia solubilização em solvente deuterado neste caso o DMSO-d₆.

3.4.7 Difração de raios-X

Foram obtidos cristais adequados para análise de difração de raios-X pela evaporação lenta da acetona proveniente na solução mãe da reação do complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1) com o sal inorgânico NaN_3 formando o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2).

3.4.7.1 Coleta de Dados

As medidas de DRX por monocristal dos compostos obtidos foram realizada no Laboratório de Cristalografia da UFMG (LabCri) em cooperação direta com o Prof. **Dr. Carlos Basílio Pinheiro**. O LabCri é um laboratório multiusuários aberto à comunidade científica interessada em usar técnicas de difração de raios X para apoio à pesquisa. As medidas foram realizadas em um difratômetro de 4-círculos (Gemini) destinado a estudo de amostras monocristalinas, dotado com detector CCD, dois comprimentos de onda (K_α -Cu e K_α -Mo) e acessórios para estudos em altas (< 650 K), baixas temperaturas (> 90 K) e altas pressões (< 3 atm). O professor responsável pelas medidas foi o Prof. **Dr. Antônio Carlos Doriguetto** e pelo tratamento dos dados a **Dra. Iara Rosa Landre**.

3.4.7.2 Tratamento de Dados de Difração

Deu-se-á preferência à utilização de softwares com licença livre. Durante o tratamento numérico dos dados de difração (redução, determinação e refinamento estrutural), foram utilizados os softwares como o SHELXL-97, SHELXS-97, WINGX, PLATON, ORTEP-3, MERCURY. Todos eles são softwares livres, de excelente qualidade e facilmente obtidos na grande rede. Correções (tais como fator de polarização e absorção) foram efetuadas sobre os dados experimentais de difração, usando os métodos e os

softwares adequados. As estruturas foram resolvidas usando os métodos de Patterson e, ou, diretos, com o programa SHELXS-97 (SHELDRICK, 1997). Os modelos assim obtidos foram refinados (mínimos quadrados de matriz completa) em F^2 usando o programa SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997). O programa WINGX (FARRUGIA, 1999) foi usado na análise dos dados. Os programas ORTEP-3 (FARRUGIA, 1997), STRUPLO (FISCHER, 1985), Mercury 1.1.2 (CCDC, 2001-2002) foram usados para analisar e elaborar representações gráficas das estruturas.

3.4.8 Condutividade Elétrica

Utilizou para as medidas de condutância um equipamento e um eletrodo padrão da Aaker. A solução padrão de KCl que foi utilizada para calibragem do equipamento, apresentou condutividade de 1,413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na temperatura controlada de 25 °C, com célula de platina, com constante de cela $K=1 \text{ cm}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas com concentração de 0,1 mmol, nas quais empregou nitrometano (CH_3NO_2) como solvente.

3.4.9 Propriedades eletrônicas

Os cálculos das propriedades eletrônicas foram realizado no Laboratório de Modelagem Computacional - LaModel, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas - Unifal-MG, com colaboração do Prof. **Dr. Ihosvany Camps Rodrigues**. Para obter as propriedades eletrônicas do ligante L1, os cálculos funcionais de densidade foram realizados usando o pacote Gaussian 09 (Gaussian09). As simulações foram feitas usando o funcional híbrido M06-2X de Truhlar e Zhao (M062X) para a correlação e troca funcional em conjunto com a base 6-311++G(d,p). O funcional M06-2X é um funcional alto não-localização com o dobro da quantidade de troca não-local (2X), e é parametrizada apenas para não-metals. Devido ao seu desempenho, foi recomendado que fosse usado para o estudo da termoquímica, da cinética e das interações não covalentes do grupo principal

Parte Experimental

(M062X). A otimização de geometria foi verificada através das frequências infravermelhas reais e o critério de convergência de energia foi igual a 10^{-6} . Para prever a reatividade dos compostos, uma análise topológica foi realizada usando o software TAFF (TAAF). Nesse caso, foram determinados os orbitais de fronteiras: HOMO (orbital molecular ocupado mais alto) e LUMO (orbital molecular mais baixo desocupado) junto com as funções de Fukui.

3.5 TESTES BIOLÓGICOS

Com o intuito de verificar as potencialidades farmacológicas dos compostos sintetizados, os novos compostos foram enviados para testes biológicos frente a:

- a) Avaliação antitumoral para as linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER²⁻);
- b) Avaliação antileishmania nas formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi*;
- c) Avaliação antifúngica do gênero *Candida* spp.: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

3.5.1 Avaliação da Citotoxicidade

A avaliação da atividade dos testes carcinogênicos dos compostos sintetizados foi realizada no Laboratório de Cultura de Células (LCC) da UNIFAL-MG, com colaboração da Profa. Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa, para o ligante e os complexos metálicos obtidos. As linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER2⁻) provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ).

Parte Experimental

3.5.1.1 Cultura de células de carcinoma mamário humano

Foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640, contendo 20% (v/v) de soro fetal bovino inativado termicamente, penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (10 µg/mL), em atmosfera umidificada com 5% de CO₂, a 37 °C. O meio foi substituído a cada 2 dias e as células foram subcultivadas a cada 5 dias, após tripsinização com solução de Tripsina-EDTA a 0,25%.

3.5.1.2 Tratamento das células

Antes do início dos experimentos a viabilidade celular foi determinada por coloração com Trypan blue (método de exclusão do corante). A seguir 2x10⁴ células viáveis/mL foram transferidas para placas “multiwell” de 24 e 96 poços e mantidas por 24 h para aderência. A seguir as células foram incubadas com os compostos, por 24 e 48 h, para avaliação da citotoxicidade. Células tratadas com o veículo constituíram o controle negativo (CN) e com cisplatina a 5,0 µM, o controle positivo (CP). Os experimentos foram realizados em triplicata. Os compostos foram dissolvidos em DMSO e foram feitas diluições seriais em DMSO até a obtenção da concentração desejada. Para os ensaios foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 µM de cada composto.

3.5.1.3 Ensaio de ligação ao DNA

Foi verificada a interação *in vitro* dos ligantes e complexos de Pd(II) ao DNA plasmidial. Foram utilizados 500,0 ng do plasmídeo pUC-19, que foram incubados a 37 °C por 30 min em tampão TE (Tris 10 mM, pH 8,0, contendo EDTA 1 mM) na ausência (CN), na presença da cisplatina (CP) e dos compostos sintetizados. A interação com o DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (CHEN; WU; LIN, 2007).

Parte Experimental

3.5.1.4 Ensaio de sulforrodamina B (SRB)

Foi utilizada a coloração das proteínas com sulforrodamina B para determinação do efeito de diferentes concentrações dos compostos sobre o teor de proteínas celulares, um indicador da viabilidade celular, de acordo com Vichai e Kirtikara (2006), com modificações segundo Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012). Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com 200,0 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% (p/v), a 8 °C, por 1 h. A seguir, o TCA foi removido e as células lavadas com água destilada. Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, foram adicionados 200,0 µL de sulforrodamina B a 0,4% (p/v) em ácido acético a 1% (v/v), por 30 min. Decorrido o tempo, o corante foi removido e os poços lavados por 4 vezes com ácido acético a 1% (v/v). Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, o corante foi dissolvido pela adição de 200,0 µL de Tris 10,0 µM, pH 10,5, por 10 min sob agitação e a absorbância determinada a 510 nm. O efeito dos compostos sobre o teor de proteínas celulares foi determinado considerando-se o teor de proteína do (CN) como 100%.

3.5.1.5 Análise morfológica e morfométrica

Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com acetona a 70%, coradas com hematoxilina-eosina, desidratadas e foram preparadas lâminas permanentes, para análise morfológica e morfométrica. As lâminas foram observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram adquiridas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. Foram analisados 15 campos aleatórios, por tratamento e o diâmetro das colônias e das células foi determinado de acordo com o descrito por Campanella et al. (2012) e Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012).

Parte Experimental

3.5.1.6 Fragmentação do DNA

A avaliação foi realizada por meio do estabelecimento do padrão de escada do DNA (“DNA ladder”), que é um indicador de apoptose (NIGAM et al., 2008). O DNA foi extraído utilizando-se kit Qiagen e submetido à eletroforese em gel de agarose a 0,8% em TBE (Tris 10 mM, ácido bórico 10 mM e EDTA 1mM), por 1 h, a 80 V. O gel foi corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL) e fotografado sob transluminação com ultravioleta.

3.5.1.7 Ensaio de morte celular

Para estimar a morte celular foi utilizado o método de coloração por fast green, descrito por Weisenthal et al. (1983), com modificações. Este ensaio baseia-se na capacidade das células viáveis excluírem o corante, enquanto as células mortas não o fazem. Decorrido o tempo de tratamento, as células foram coradas com fast green 2% (m/v), em NaCl 0,15 M, por 10 min, seguido de coloração por hematoxilina. As lâminas foram processadas e montadas com Enthellan, observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram obtidas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. As células viáveis apresentam coloração rosa-avermelhada e as mortas, verde. Foram analisados 15 campos aleatórios, avaliando-se 600 células, para determinação da porcentagem de células mortas (CARVALHO; ISHIKAWA; GOUVÊA, 2012).

3.5.1.8 Análise estatística

Os dados obtidos para os experimentos realizados foram comparados por análise de variância pelo teste ANOVA, seguido do teste de Tukey, quando $p < 0,05$.

3.5.2 Avaliação antileishmania

A avaliação da atividade leishmanicida para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Parasitologia/Biologia Molecular da UNIFAL-MG sob a responsabilidade do Prof. **Dr. Marcos José Marques** e da discente de Mestrado **Patrícia F. Espuri**, do Instituto de Ciências Biomédicas. Foram usadas cepas referência de *L. amazonensis* (MHOM/BR/71973/M2269), provenientes do instituto Evandro Chagas (Belém, PA, Brasil).

4.5.2.1 Avaliação da atividade antipromastigota

As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* foram mantidas em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF) em estufa a 26 °C, e coletadas em fase exponencial de crescimento para realização dos testes (MESA-VALLE et al., 1996). Para a realização dos testes foram transferidas à razão de 1×10^6 células/mL para placas de 24 poços, onde então foram adicionado os complexos que foram avaliados nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL. Após 72 horas de incubação a 25 °C foram adicionados 100 µL de resazurina em cada poço. Após 6h de incubação com resazurina, as placas foram lidas em 570 nm e 600 nm, utilizando um leitor de microplacas para a determinação da IC₅₀, tendo como controle, o protozoário em meio de cultura sem a adição de fármacos. O IC₅₀ foi então comparado ao IC₅₀ do fármaco padrão anfotericina B (PEREIRA et al., 2011).

4.5.2.2 Avaliação da citotoxicidade

Para avaliação da citotoxicidade, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, dispostos em placas de 96 poços na razão de $8,00 \times 10^6$ por poço, aos quais foram adicionada os compostos a serem avaliados

Parte Experimental

nas concentrações de 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90 µg/mL e incubados por 48 horas. Após o período de incubação foram adicionados 10 µL de MTT (3-(4,5- dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo) a cada poço, com nova incubação por 4 horas. As células lisadas com DMSO foram avaliadas em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu, duplo-feixe, modelo 2550 à 570 nm para determinação do CC₅₀ por comparação ao controle sem adição de compostos ou fármacos (PEREIRA et al., 2011). A densidade óptica obtida foi então convertida à porcentagem de inibição usando a equação (1), para que então por análise de regressão dos dados pudesse ser determinada a concentração citotóxica a 50% dos macrófagos (CC₅₀) (PEREIRA, 2010).

Equação (1):

$$\% \text{Inibição} = [(DO_{\text{controle}} - DO_{\text{composto}}) / DO_{\text{controle}}] \times 100$$

DMSO foi usado como controle e a Anfotericina B foi utilizada como medicamento de referência. Os ensaios foram realizados em triplicata e em três ocasiões diferentes.

4.5.2.3 Avaliação da atividade anti-amastigota

Para avaliação da atividade leishmanicida perante amastigotas, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos a razão de 8×10^6 macrófagos, mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, em placas de 24 poços, os quais foram infectados com promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* na fase log de crescimento na razão de 3:5. A cada poço foram adicionadas as substâncias avaliadas nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL, e incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 72 horas, quando então foram fixadas com metanol e coradas com Giemsa a 10% para posterior análise por microscopia ótica e determinação da razão entre macrófagos infectados e não infectados, possibilitando a determinação do IC₅₀ em relação ao controle sem adição de drogas. O resultado foi

Parte Experimental

comparado ao IC₅₀ o fármaco padrão anfotericina B e como controle foi utilizado macrófagos infectados sem a adição de drogas (PEREIRA et al., 2010).

3.5.3 Avaliação antifúngica

A avaliação da atividade antifúngica para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNIFAL-MG sob a responsabilidade da Prof^a **Dr^a Amanda Latercia Tranches Dias** e da doutoranda **Naiara Chaves Silva**, do Instituto de Ciências Biomédicas.

Foram avaliadas as concentrações inibitórias mínimas de 50% do crescimento (MIC₅₀) e 90% (MIC₉₀). As avaliações/determinações dos valores de concentrações inibitórias foram realizadas segundo a metodologia de microdiluição em caldo para leveduras conforme documento M27-S4 (CLSI, 2012). O meio de cultura utilizado foi caldo Mueller Hinton + 2% e as substâncias foram avaliadas nas concentrações (µg/mL): 100; 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,938; 0,469; 0,234. Os ensaios foram realizados sobre leveduras padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Os microrganismos escolhidos são oportunistas e ou patogênicos.

Fungos: Leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Na avaliação da atividade antifúngica foi utilizado como controle positivo o antifúngico Fluconazol; solução salina (0,85%) e o solvente DMSO foi utilizado como controle negativo dos ensaios. A leitura dos resultados foi realizada após 24 h e 48 h de incubação. Os ensaios foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentadas as caracterizações e discussões dos resultados obtidos para o novo ligante e os complexos, a partir das técnicas descritas na metodologia.

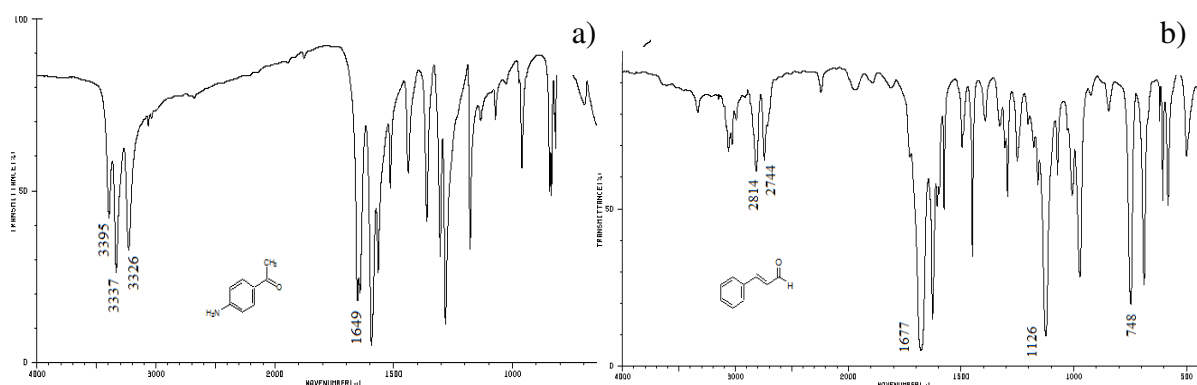
4.1 LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)

A nova Base de Schiff (Hfafa) sintetizada apresenta coloração amarela com rendimento de 86%. Tem ponto de fusão bem definido em 130-134 °C. Com a análise desse dado, é possível elucidar que houve a formação de um novo composto, visto que o ponto de fusão encontrado se difere dos pontos de fusão dos reagentes de partida, 103 °C para o *p*-aminoacetofenona e -8 °C para o *trans*-cinamaldeído. O intervalo de fusão, para o composto obtido, dá indício que o mesmo está puro, pois apresenta temperatura constante durante o processo de fusão. Cristais não foram formados a partir das técnicas de cristalização. Apresentou alta solubilidade em acetona, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Pouco solúvel em metanol e etanol. $C_{24}H_{20}N_2O_2 = 249,31 \text{ g. mol}^{-1}$. Condutividade molar: 3,54 $\mu\text{S/cm}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 81,90 (81,54); H: 6,06 (6,19); N: 5,62 (5,29).

4.1.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho é um método espectroscópico de análise que fornece informações quanto aos grupos funcionais que estão presentes na estrutura das substâncias. O espectro obtido do ligante imínico foi comparado com os espectros dos reagentes precursores (Figura 16).

Figura 16 - Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans-cinamaldeído

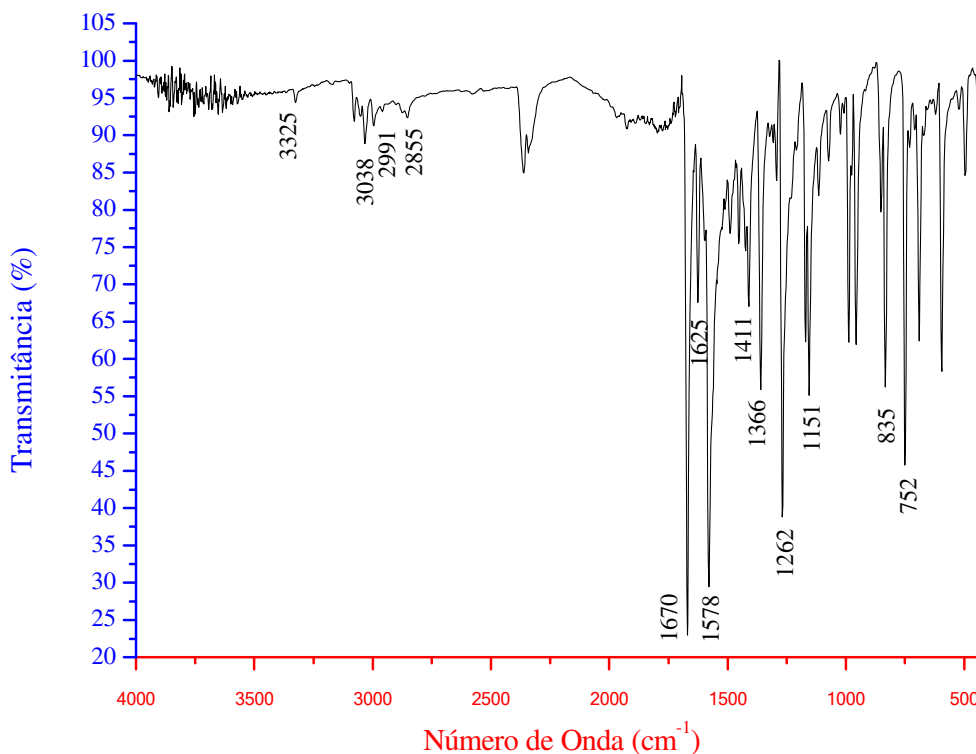


Fonte: http://www.aist.go.jp/index_en.html.

O espectro de absorção do reagente *p*-aminoacetofenona detectou-se bandas na região de alta frequência em 3396-3334 cm^{-1} referentes à ligação ν assimétrica e simétrica de (N-H), Figura 16 a. Na outra região espectral foi observado banda na região 1594 cm^{-1} que evidenciam o estiramento do grupo carboxílico $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$, Figura 16 b. Além destas, observam-se a conformação - *para* - que é caracterizada pela banda em 835 cm^{-1} atribuída ao $\delta(\text{C-H})$ do anel aromático. Analisando o espectro no IV do *trans*-cinamaldeído, observou-se banda na região de frequência menor em 748 cm^{-1} , atribuída ao modo vibracional de deformação angular $\delta(\text{C-H})$ característica de sistemas aromáticos mono-substituídos. Observa-se na região espectral o estiramento assimétrico da carbonila em 1677 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})$, característica do grupo carboxílico ainda presente na molécula.

Um modo vibracional importante que corrobora a formação do ligante é o $\nu(\text{C}=\text{N})$ do grupo imina, em 1578 cm^{-1} (MAURYA, 2015), é que esta banda está ausente no espectro dos reagentes precursores. O baixo valor da banda de vibração $\nu(\text{C}=\text{N})$ está relacionado à conjugação do grupo imínico ao anel aromático (KAYA, 2015). Estes dados indicam a síntese da Base de Schiff (Figura 17).

Figura 17 - Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

O estiramento $\nu(\text{C-H})$ em 3062 cm^{-1} proveniente do anel aromático do *trans*-cinamaldeído e 3064 cm^{-1} para *p*-aminoacetofenona, tem valores semelhantes aos observados no espectro da imina sintetizada, que ocorreu em 3038 cm^{-1} . O grupo carboxílico $\nu(\text{C=O})$ aparece no comprimento de ondas de 1670 cm^{-1} para o ligante (Figura 17). A conformação – *para* – em 828 cm^{-1} do precursor *p*-aminoacetofenona, ainda é evidenciada em 835 cm^{-1} e a conformação mono substituída em 748 cm^{-1} do *trans*-cinamaldeído, também é observado no ligante sintetizado em 752 cm^{-1} . Estes dados sugerem a formação da espécie química sintetizada. Outra banda importante observada é na região de 3325 nm , é característica de overtone da carboxila. Overtone são bandas com valores de frequência correspondentes lineares das bandas fundamentais ou múltiplos das mesmas (AMENDOLA; GUTZ, 2007).

O espectro vibracional teórico também foi calculado, mas apenas para o ligante livre na fase gás. Esse resultado teórico pode ser comparado com o obtido pela espectroscopia de infravermelho. Na Tabela abaixo (Tabela 3) pode-se perceber a disparidade entre os valores obtidos pelos cálculos e pelo IV para as frequências de deformações e estiramentos presentes na estrutura do Hfafe (L1), mas de certa forma isso já era esperado. Os cálculos realizados consideravam a molécula no estado gasoso, no qual pode-se dizer que ela está mais livre e dispersa no gás, onde a chance dela realizar possíveis interações com outras moléculas que podem interferir na frequência de vibração é menor; o que é bem diferente do que ocorre no estado físico do composto no momento da análise de infravermelho. No estado sólido, as interações com as moléculas vizinhas, e a estrutura mais compacta que o composto apresenta nesse estado certamente influencia em sua sequência de vibração.

Tabela 3 – Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafe (L1)

| Hfafe (L1) | Teórico | Experimental |
|---|---------|--------------|
| $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2996 | 2991 |
| $\nu_{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2860 | 2855 |
| $\nu(\text{C=O})$ | 1676 | 1670 |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1580 | 1578 |
| $\nu(\text{C-N})$ | 1188 | 1179 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 844 | 835 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 756 | 752 |

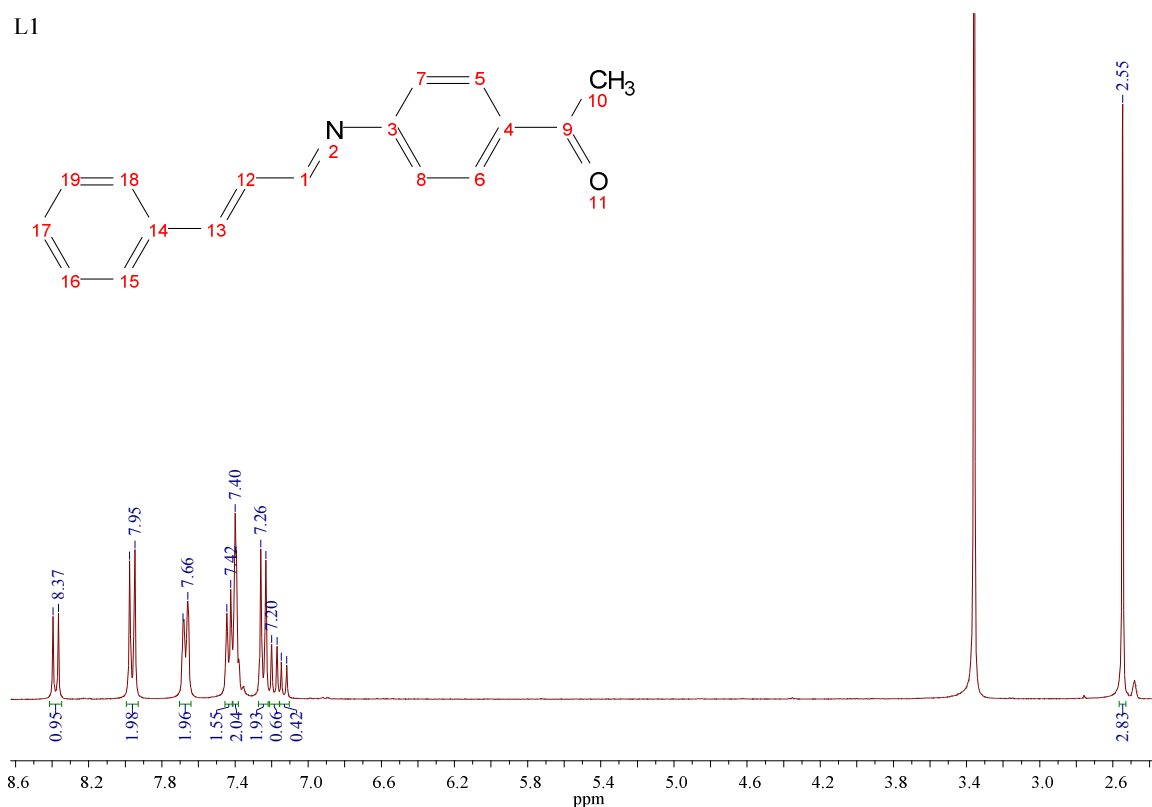
Fonte: Do Autor.

Se analisarmos a variação das frequências de vibração, percebe-se que os valores obtidos tanto na teoria como na parte experimental são bem próximos, corroborando assim a proposta do ligante.

4.1.2 Espectroscopia de RMN de ^1H

Para ^1H , espera-se que quanto maior a blindagem do átomo, menor é o valor de δ (sinal mais perto daquele atribuído ao padrão TMS). No espectro do L1, em CDCl_3 , o sinal singlete em 2,37 ppm refere-se aos hidrogênios presente na metila ligada a carbonila (DAYAN, 2015). O sinal em 8,38 ppm é atribuído ao hidrogênio pertencentes ao carbono do $\text{C}=\text{N}$, característico de iminas ou bases de Schiff por este ser o mais desblindado. (PATTANAYAK, 2015). Na Figura 18, observa-se que os sinais estão de acordo com os descritos na literatura (SILVERSTEIN, 2007).

Figura 18 – Espectro de RMN de ^1H do Hfafe (L1)

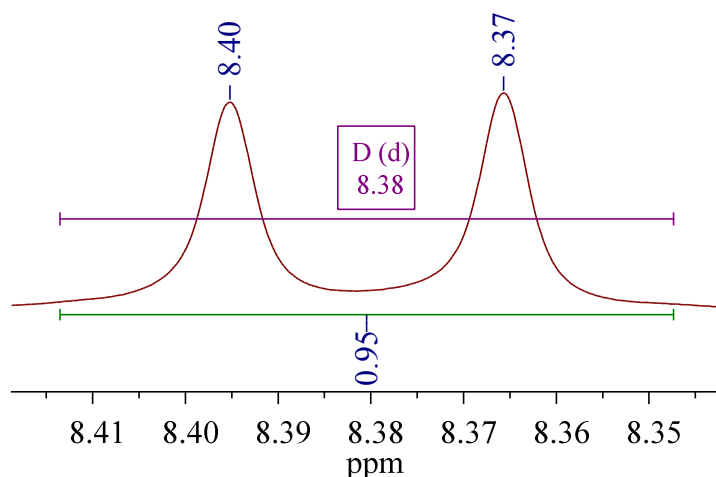


Legenda: Solvente (CDCl_3)

Fonte: Do Autor.

Mas, é bom ressaltar a característica apresentada nos sinais deste ligante, pois estes apresentam duplicidade nos hidrogênios presentes nos alquenos da molécula (Figura 19). Isto ocorre, devido à ligação vicinal do hidrogênio estar em ambientes químicos muito diferentes. Cada hidrogênio corresponde a uma absorção e o spin de cada um será afetado pela orientação do outro hidrogênio, o que faz com que cada absorção apareça como um dubleto.

Figura 19 – Ampliação do sinal no espectro de RMN de ^1H do Hfafa (L1)

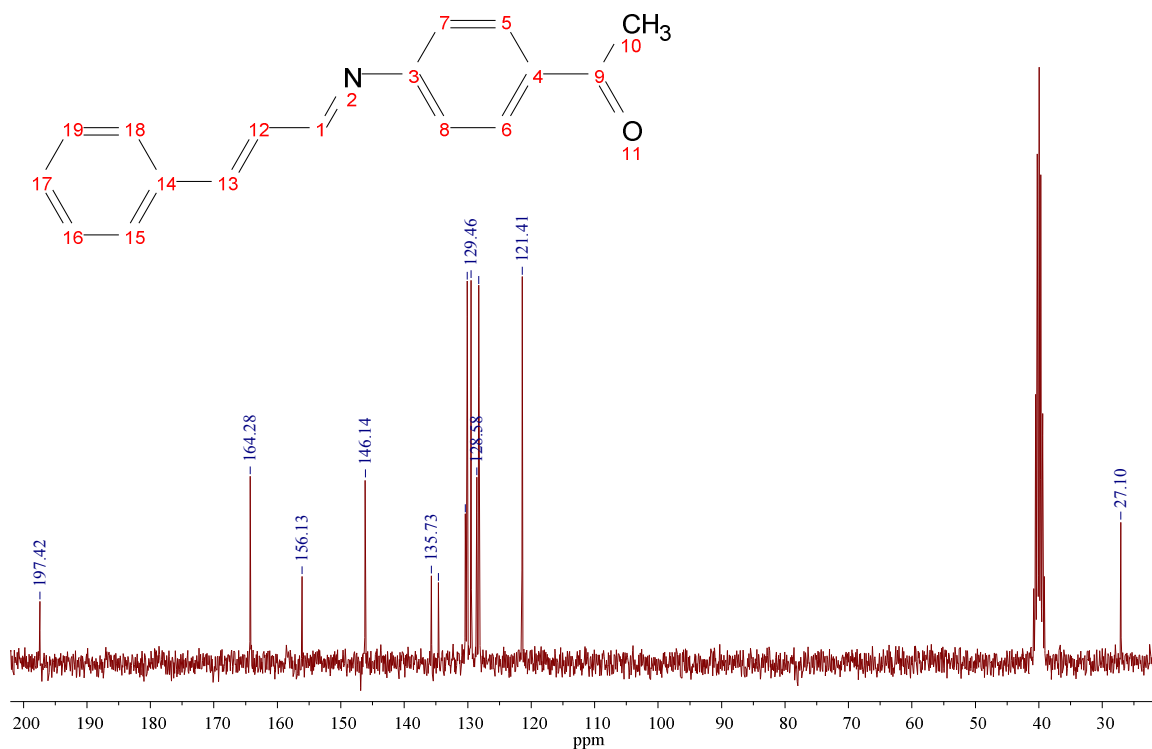


Fonte: Do Autor.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) do ligante imínico está de concordância com os sinais listados na literatura (SILVERSTEIN, 2007). O sinal em 27,10 ppm é proveniente do carbono mais blindado, o da metila. E o deslocamento químico em 197,42 ppm é atribuído ao carbono na carbonila, que na molécula é a mais desblindado. Os outros sinais são referentes aos alquenos e ao anel aromático.

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafe (L1)

L1

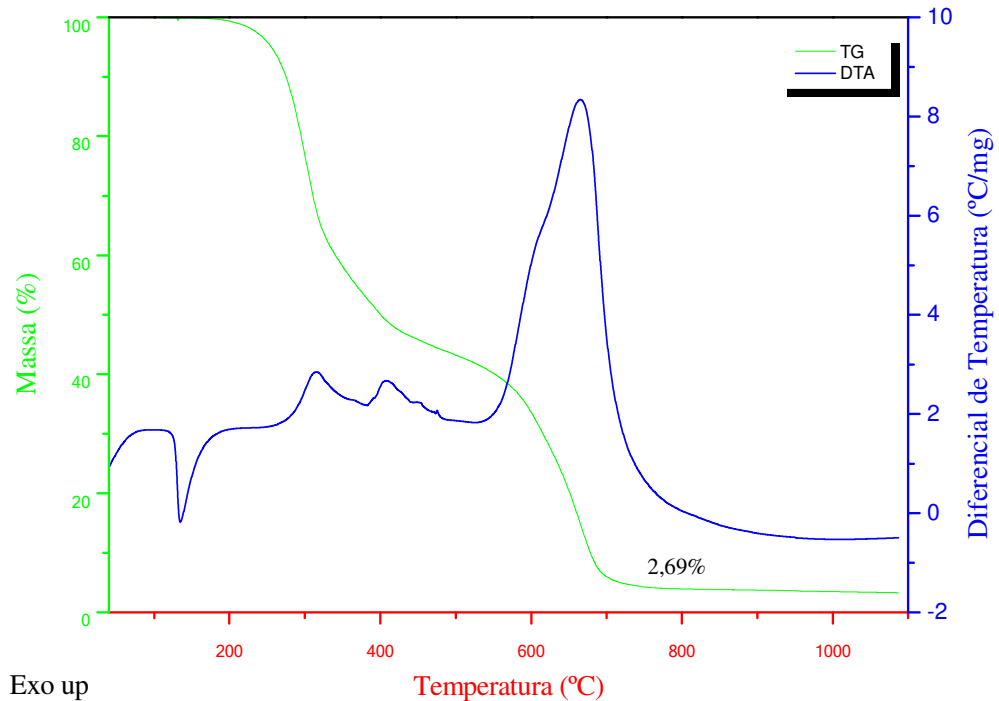


Fonte: Do Autor.

4.1.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Com o intuito de estudar o comportamento frente ao aquecimento do ligante imínico Hfafe, realizaram-se curvas TG-DTA. A análise da Figura 18 revela que o ligante imínico por apresentar C, H, O e N, termodecompõem totalmente em água, gás carbônico e óxidos de nitrogênio, por isto, a ausência de resíduo sólido era esperada. O resíduo final de 2,69% estão dentro do erro instrumental e não pode ser considerado significativo. O estudo da decomposição térmica realizado para o ligante imínico Hfafe, em atmosfera de ar sintético, também está de acordo com a estrutura apresentada (Figura 21). Cabe ressaltar que a DTA nos mostra em aproximadamente 136 °C um pico relacionado a mudanças físicas, pois como se pode ver não ocorreu perda de massa, sendo indício do ponto de fusão do ligante.

Figura 21 - Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

A Tabela 4 mostra as etapas de decomposição do ligante imínico Hfafa.

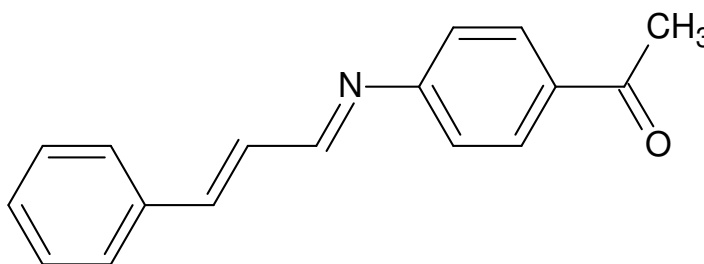
Tabela 4 - Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1)

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------|--------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| L1 | 1 | 183 – 338 | - 39,35 | - 37,34 | - | 316 |
| 11,8910 mg | 2 | 338 – 814 | - 56,40 | - 60,47 | - | 665 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmico.

Fonte: Do Autor.

Figura 22 – Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

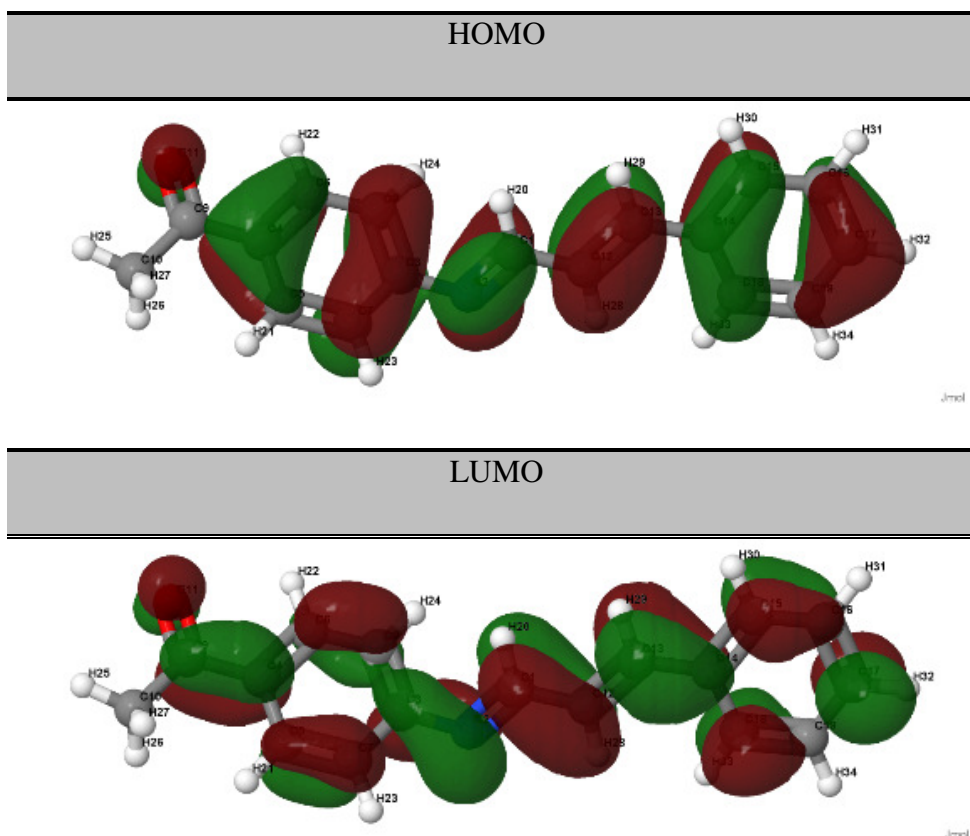
4.1.4 Cálculos DFT

A teoria do funcional da densidade (do inglês, DFT: Density Functional Theory) (HOHENBERG; KOHN, 1964; KOHN; SHAM, 1965) pode ser vista como uma reformulação da mecânica quântica baseada, não em funções de onda, mas no conceito de densidade eletrônica. A técnica consiste em um sistema quântico de muitos corpos, a densidade eletrônica tem um papel central: “a densidade pode ser considerada como variável básica, ou seja, todas as propriedades do estado fundamental do sistema podem ser consideradas como funcional único da densidade eletrônica”.

De acordo com a teoria orbital molecular de fronteira, a formação de um estado de transição é devida a uma interação entre HOMO e LUMO de reagentes (CAMPOS, 2014). O HOMO é o orbital mais externo ou contendo elétrons, que pode atuar como um doador de elétrons e possui o mais alto nível de energia. Pelo contrário, o LUMO é o orbital que pode aceitar o elétron porque é o orbital mais interno e tem um espaço vazio. Geralmente, o HOMO e LUMO têm uma relação direta com o potencial de ionização e a afinidade eletrônica de uma molécula orgânica. A carga de energia é um índice de estabilidade importante, pois uma molécula com uma carga de energia baixa é mais polarizável e geralmente está associada à alta atividade química e baixa estabilidade cinética. É bem conhecido que baixos valores absolutos da banda de energia fornecem boas eficiências de inibição, porque o potencial de ionização será baixo devido à energia necessária para remover um elétron do orbital ocupado externo será baixo (CAMPOS, 2014).

A modelagem computacional foi importante para confirmar as proposições feitas em relação à estrutura do composto (C1). A Figura 23 mostra os níveis de energia HOMO e o LUMO para a base de Schiff (L1) (ZACARIA, 2016).

Figura 23 – Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)



Legenda: A cor vermelha (verde) representa valores negativos (positivos)

Fonte: Do Autor.

As investigações das energias HOMO e LUMO do ligante (L1) são baixas e negativas. Quanto menor a energia HOMO-LUMO, mais fácil é para transferência de carga ocorra intramolecular, melhorando assim as interações causadas pela transferência de carga (ACAR; SELÇUKI; COŞKUN, 2017). Analisando os dados da Tabela 5, observamos que o átomo que apresenta a menor carga são os átomos de N e O. Estes são os átomos na molécula com maior afinidade para coordenar com o metal. Valendo-se da Teoria de Pearson para a classificação

de ácidos e bases de Lewis, o íon Pd^{2+} é classificado como um ácido macio, por esse fato, a coordenação do metal ao ligante (L1) é favorecida pelo átomo de nitrogênio (base macia) do que o átomo do oxigênio (Base dura).

Tabela 5 - Fator de normalização da integral da densidade de elétrons

| Átomo | Carga | Volume (Bohr) |
|--------|-----------|---------------|
| 1 (C) | 0.712580 | 63.567 |
| 2 (N) | -1.194741 | 119.437 |
| 3 (C) | 0.371288 | 62.239 |
| 4 (C) | -0.051477 | 74.404 |
| 5 (C) | -0.023253 | 82.193 |
| 6 (C) | -0.001871 | 81.074 |
| 7 (C) | -0.009260 | 83.456 |
| 8 (C) | -0.029344 | 83.245 |
| 9 (C) | 1.022205 | 48.471 |
| 10 (C) | -0.034311 | 71.429 |
| 11 (O) | -1.145025 | 132.157 |
| 12 (C) | -0.017812 | 83.816 |

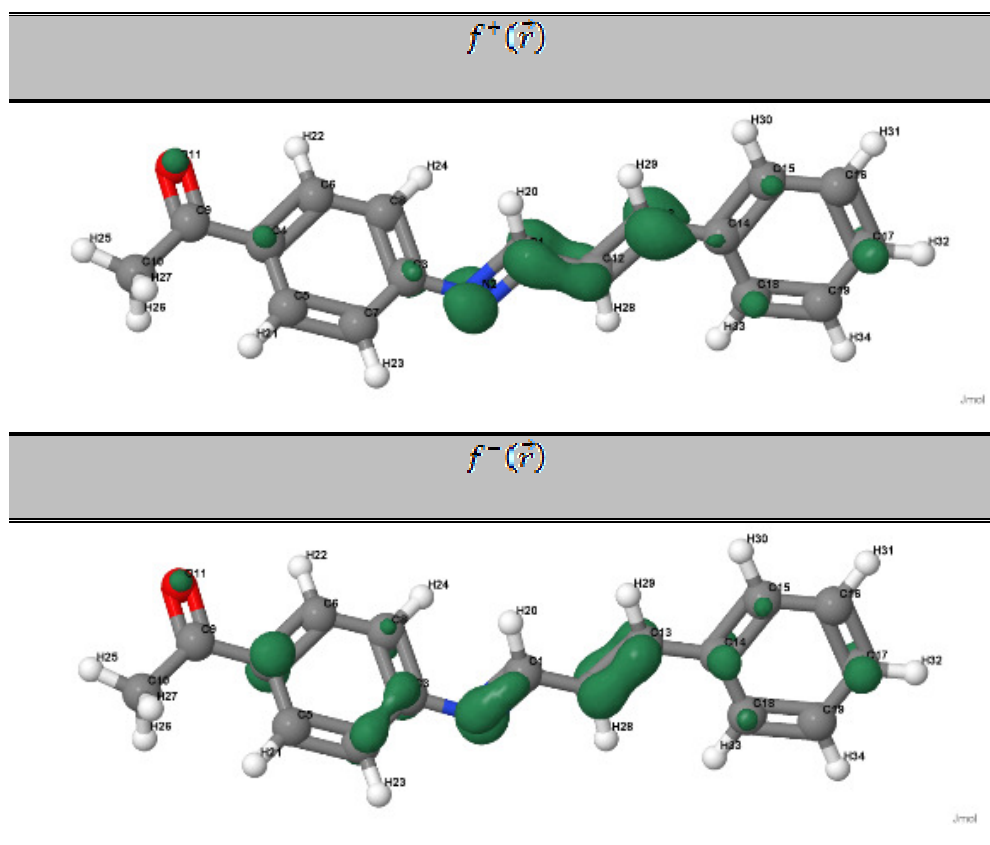
Fonte: Do Autor.

Podemos observar que as funções HOMO e o LUMO estão distribuídos entre os carbonos dos anéis aromáticos e do átomo de nitrogênio. Entretanto, as funções de Fukui que fornecem informações sobre ataques nucleofílicos e eletrofílicos demonstram que os carbonos com maior potencial de ionização e, conseqüentemente, mais nucleofílicos são os localizados na posição em que não é permitida quelação de cinco membros, sendo esta, portanto, uma

Resultados e Discussões

justificativa plausível para a não ocorrência da ciclometalação. O resultado está ilustrado na Figura 24.

Figura 24 – Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílico ($f^+(\vec{r})$) e eletrofílico ($f^-(\vec{r})$)



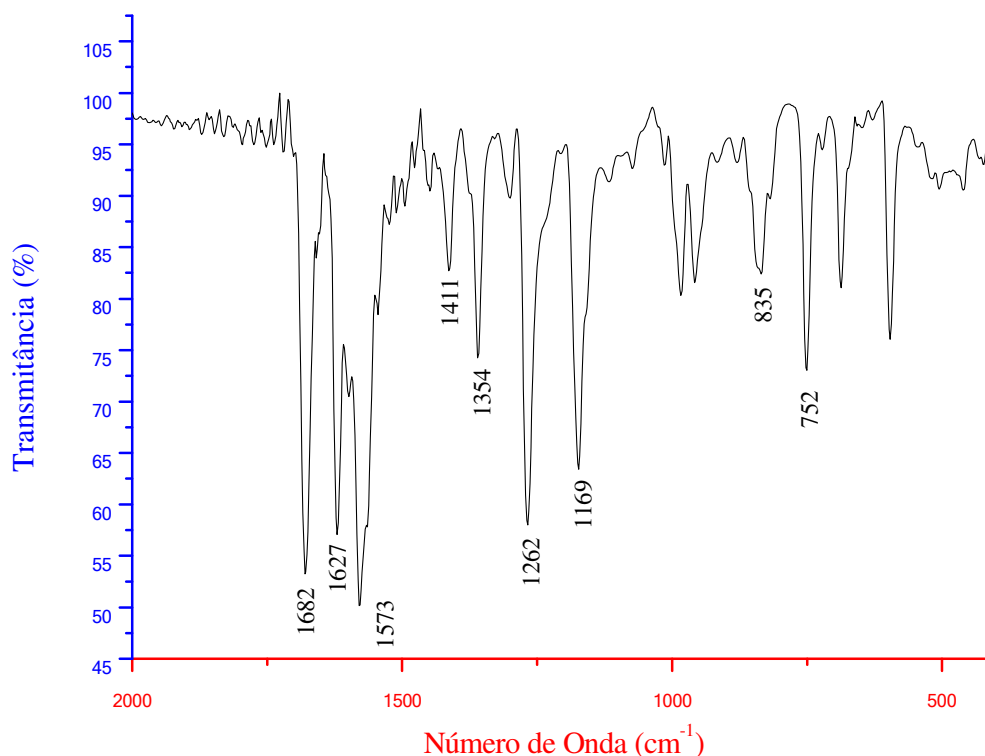
Fonte: Do Autor.

4.2 COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

O complexo foi sintetizado na proporção estequiométrica 1:1. A síntese produziu um sólido de cor laranja, rendimento de 87%. Esse composto apresentou baixa solubilidade em metanol, acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, THF e DMSO. Insolúvel em água e etanol. O ponto de decomposição ocorreu em 230 °C. $[\text{PdCl}_2(\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO})_2] = 675,94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Condutividade molar = $3,58 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 60,42 (61,10); H: 4,47 (5,23); N: 4,14 (5,53); Pd: 15,74 (17,74).

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região IV

Através da análise do espectro de absorção na região do IV (Figura 25), verificou-se que um grande número de bandas é derivado do ligante orgânico coordenado ao átomo de paládio. Com a complexação do paládio ao grupamento nitrogenado do ligante orgânico, é esperado um deslocamento da banda de $\nu(\text{C}=\text{N})$ do ligante para região de maior energia, pois como o Pd(II) age como um retirador de densidade eletrônica, esta é deslocada para a formação da ligação coordenativa. Isso acarreta um enfraquecimento na ligação C=N, fazendo com que seu estiramento ocorra em menores frequências e, conseqüentemente, menores números de onda (NAKAMOTO, 1986). Com a complexação do metal ao ligante imínico observa-se no espectro infravermelho do complexo bandas referentes ao grupamento imina, $\nu(\text{C}=\text{N})$, em 1573 cm^{-1} , que no ligante de partida era observado em 1578 cm^{-1} . O deslocamento da banda evidencia que o ambiente químico do grupamento imínico sofreu mudanças provavelmente ao coordenar-se ao centro metálico através de uma nova ligação coordenada. Ainda cabe ressaltar que as bandas referentes ao anel aromático *para*-substituído e ao anel *mono*-substituído se mantêm presentes em 835 cm^{-1} e 752 cm^{-1} , respectivamente.

Figura 25 - Espectro na região de IV do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

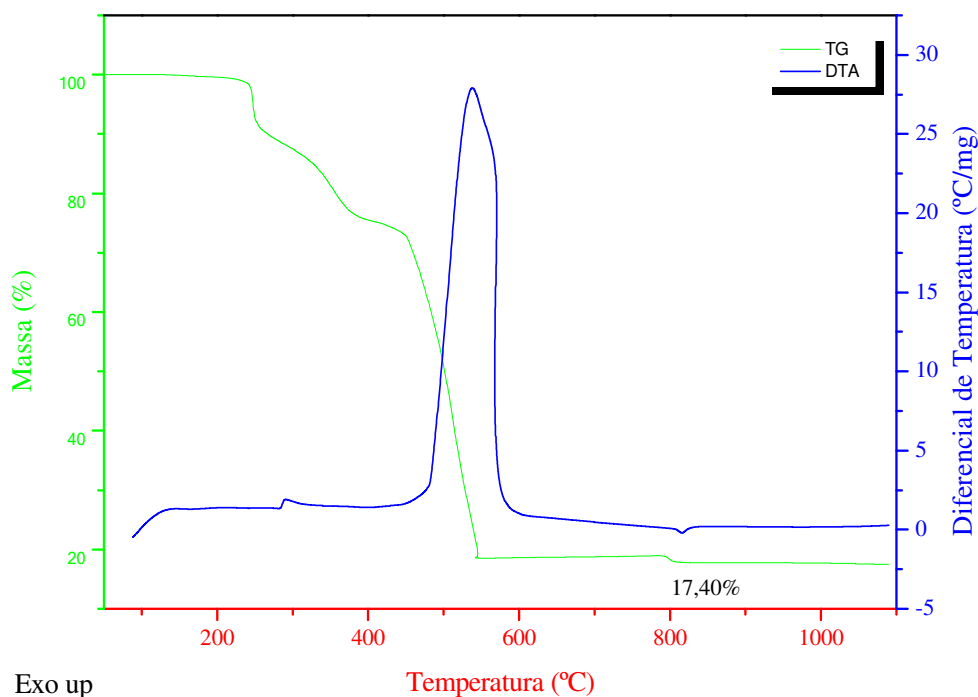
4.2.2 Espectroscopia de RMN

A análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear não foi possível de ser realizado para os complexos $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{Hfafa})_2]$ (C3) e do $[\text{PdI}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C5). Pois, estes não apresentaram solubilidade suficiente nos solventes clorofórmio (CDCl_3), acetonitrila (CD_3CN), acetona ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) e DMSO (DMSO-d₆) deuterados para a realização destes.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Para o complexo (C1), na faixa de 204–261 °C ocorre a perda da parte referente aos haletos cloro. Entre 261–372 °C observa-se a perda da parte de dois carbonil (CH_3CO). A próxima perda na faixa de 372–449 °C é referente aos dois nitrogênios e na sequência na faixa de 449–544 °C têm-se a perda do restante da molécula ($\text{C}_{30}\text{H}_{24}$) que compõe a parte orgânica. Entre 544–783 °C observa-se que ocorre um aumento de massa na curva da TG com DTA constante. Isto pode ser atribuído a incorporação de oxigênio, visto que a atmosfera utilizada é de ar sintético, o que indica ter ocorrido à oxidação do metal presente na estrutura (MORO, 2007). Outra informação que elucida bem a oxidação-redução é que na faixa de 783 – 865 °C, exatamente na temperatura de 802 °C ocorre um evento endotérmico proveniente de reação de redução (Figura 26).

Figura 26 - Curva TG-DTA do complexo de $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

Resultados e Discussões

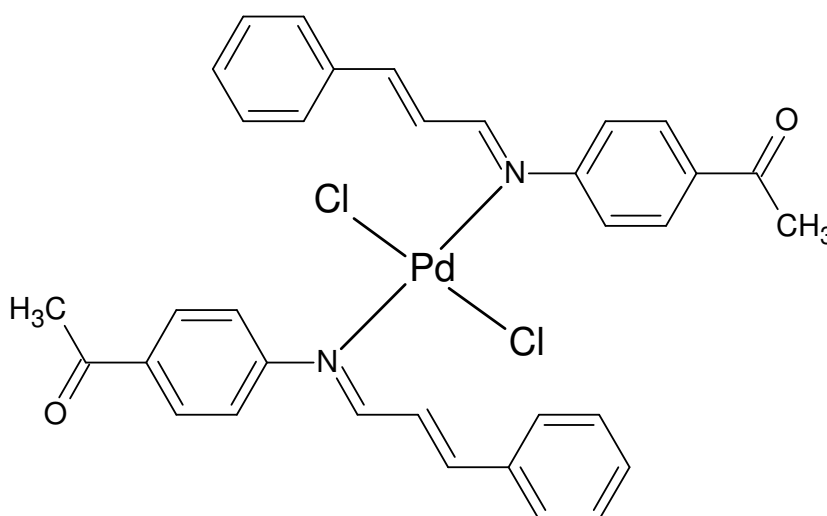
Tabela 6 - Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------------|---------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C1 10,0070 mg | 1 | 204 – 261 | - 9,06 | - 10,48 | - | 252 |
| | 2 | 261 – 372 | - 13,00 | - 12,73 | - | - |
| | 3 | 372 – 449 | - 4,52 | - 5,07 | - | - |
| | 4 | 449 – 544 | - 54,29 | - 56,88 | - | 511 |
| | 5 | 544 – 783 | + 0,39 | + 0,25 | - | - |
| | 6 | 783 – 865 | - 1,22 | - 2,36 | 803 | - |
| | Resíduo | - | 17,40 | 15,74 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo – Pd^o

Fonte: Do Autor.

A caracterização deste complexo nos leva a propor a estrutura abaixo:

Figura 27 – Estrutura proposta do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

4.3 COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[PdX_2(Hfaffe)_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5)

Todos os compostos apresentaram estabilidade a luz e a umidade. Foram realizadas as substituições do haleto Cl^- do complexo $[PdCl_2(Hfaffe)_2]$ (C1) pelos pseudohaletos N_3^- e SCN^- , e os haletos Br^- e I^- . Os novos complexos $[Pd(X)_2(Hfaffe)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) apresentaram ponto de decomposição em 152 °C, 192 °C, 174 °C e 205 °C, respectivamente. Apresentando rendimento, solubilidade e análise elementar descrito na Tabela 7 abaixo:

Tabela 7 – Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[PdX_2(Hfaffe)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

| Compostos | Rendimento (%) | CHN | | | Condutividade Elétrica ($\mu S.cm^{-1}$) |
|-----------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|--|
| | | C % enc. (calc.) | H % enc. (calc.) | N % enc. (calc.) | |
| C2 | 55 | 57,95 (59,26) | 4,81 (4,39) | 14,16 (16,26) | 4,41 |
| C3 | 28 | 60,66 (59,95) | 4,98 (4,19) | 6,27 (7,77) | 3,45 |
| C4 | 44 | 52,06 (53,39) | 4,03 (3,95) | 3,31 (3,66) | 4,24 |
| C5 | 67 | 49,76 (47,55) | 3,99 (3,52) | 4,44 (3,26) | 4,07 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado

Fonte: Do Autor.

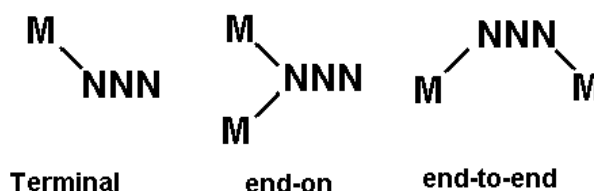
4.3.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A investigação estrutural requer o emprego de técnicas que possibilitem inferir sobre as moléculas presentes na espécie em estudo por conseguir identificar certos grupos funcionais e o modo de coordenação dos ligantes. Com estas finalidades empregou-se a

espectroscopia de absorção no infravermelho para amostras no estado sólido; esta técnica permitiu identificar com clareza compostos contendo pseudohaletos, já que estes ligantes possuem três modos vibracionais ativos no infravermelho.

O estiramento assimétrico ocorre em uma região ampla e limpa do espectro, entre 2000 cm^{-1} e 2270 cm^{-1} , na qual há a ausência de bandas de outros ligantes, possibilitando diagnosticar os modos de coordenação dos pseudohaletos (NAKAMOTO, 1998). Os complexos contendo azida possuem três modos vibracionais: o estiramento assimétrico (ν_{as}), o estiramento simétrico (ν_s) e a deformação angular (δ). Podem coordenar ao metal de forma terminal, também pode se coordenar em ponte entre dois centros metálicos pelo mesmo átomo de nitrogênio, modo de coordenação *end-on*. Ainda pode se coordenar como ligante em ponte entre dois centros metálicos, por dois átomos de nitrogênio, modo de coordenação *end-to-end* (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A Figura 28 apresenta os principais modos de coordenação da azida.

Figura 28 - Modos de coordenação mais comuns a azida



Fonte: Santana, 2004, 52 p.

A banda característica da presença da azida no complexo C2 é evidenciada na região de 2017 cm^{-1} (Figura 29). Segundo Nakamoto (1986), frequências abaixo de 2050 cm^{-1} são características de grupos azida coordenados de forma *N-terminal* (Tabela 8).

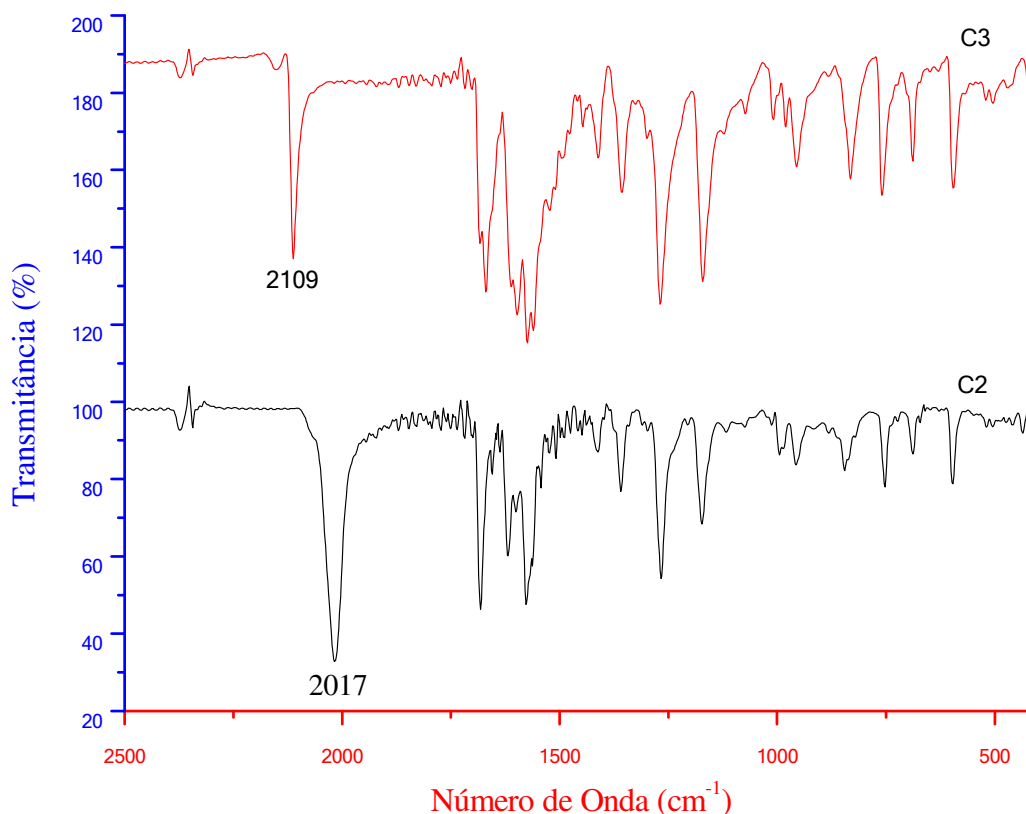
Tabela 8 - Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN

| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(N_3)$ | $\nu_s(N_3)$ | $\delta(NNN)$ |
|------------------------------|-----------------|--------------|---------------|
| NNN^- | 2041 | 1344 | 645 |
| N-terminal | 2050-2010 | 1304-1285 | 590-570 |
| end-on | 2080-2050 | 1290-1200 | 570-550 |
| end-to-end | 2100-2080 | 1290-1200 | 570-550 |
| $[Pd(N_3)_2(Hfaffe)_2]$ (C2) | 2017 | 1278 | - |
| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(SCN)$ | $\nu_s(SCN)$ | $\delta(SCN)$ |
| SCN^- | 2053 | 746 | 486 |
| N-terminal | 2100-2050 | 870-820 | 490-450 |
| S-terminal | 2125-2100 | 760-700 | 440-400 |
| end-to-end | 2165-2100 | 800-750 | 470-440 |
| $[Pd(Hfaffe)(SCN)]_2$ (C3) | 2109 | - | - |

Fonte: Do Autor.

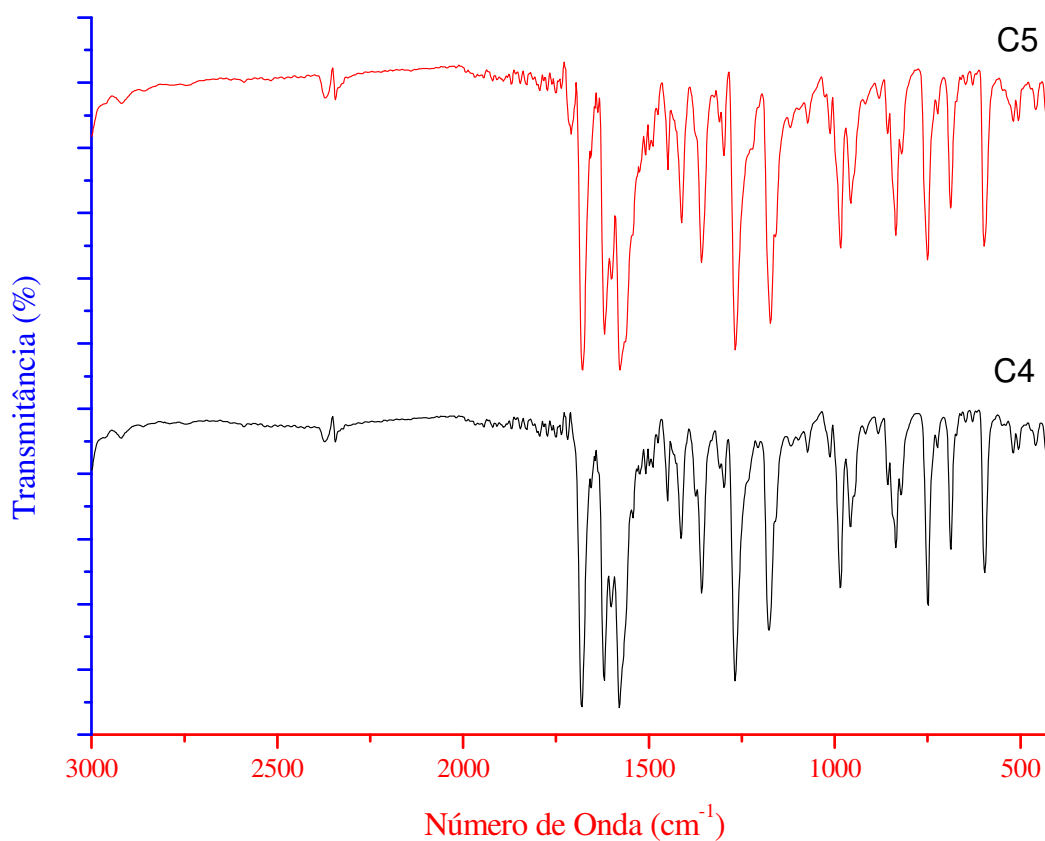
Resultados e Discussões

Figura 29 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3)



Fonte: Do Autor.

Os modos vibracionais do pseudohaleta SCN, além de apresentar três modos vibracionais ativos no infravermelho, o íon tiocianato pode se coordenar ao metal através do átomo de enxofre, nitrogênio ou por ambos, sendo predominante a coordenação pelo átomo de enxofre (NAKAMOTO, 1986; MEGURO et. al., 2008). A coordenação do grupo tiociano ao átomo de Pd(II) é evidenciada pelo aparecimento das bandas de estiramento $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$ na região de 2109 cm^{-1} (Figura 29). A banda do tiocianato no complexo C3 evidencia a coordenação do ligante ao metal no modo *S-terminal* (Tabela 8).

Figura 30 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfufe})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfufe})_2\text{I}_2]$ (C5)

Fonte: Do Autor.

As substituições do haleto Cl^- pelos haletos Br^- e I^- , não são evidenciadas no espectro de infravermelho, pois as vibrações da ligação Pd-Br e Pd-I não são observadas na região de 4000-400 cm^{-1} (Figura 30). Para melhor explanação dos resultados dos espectros no infravermelho, foram dispostos na Tabela 9, os principais modos vibracionais.

Tabela 9 - Principais modos vibracionais das ligações formadas com H

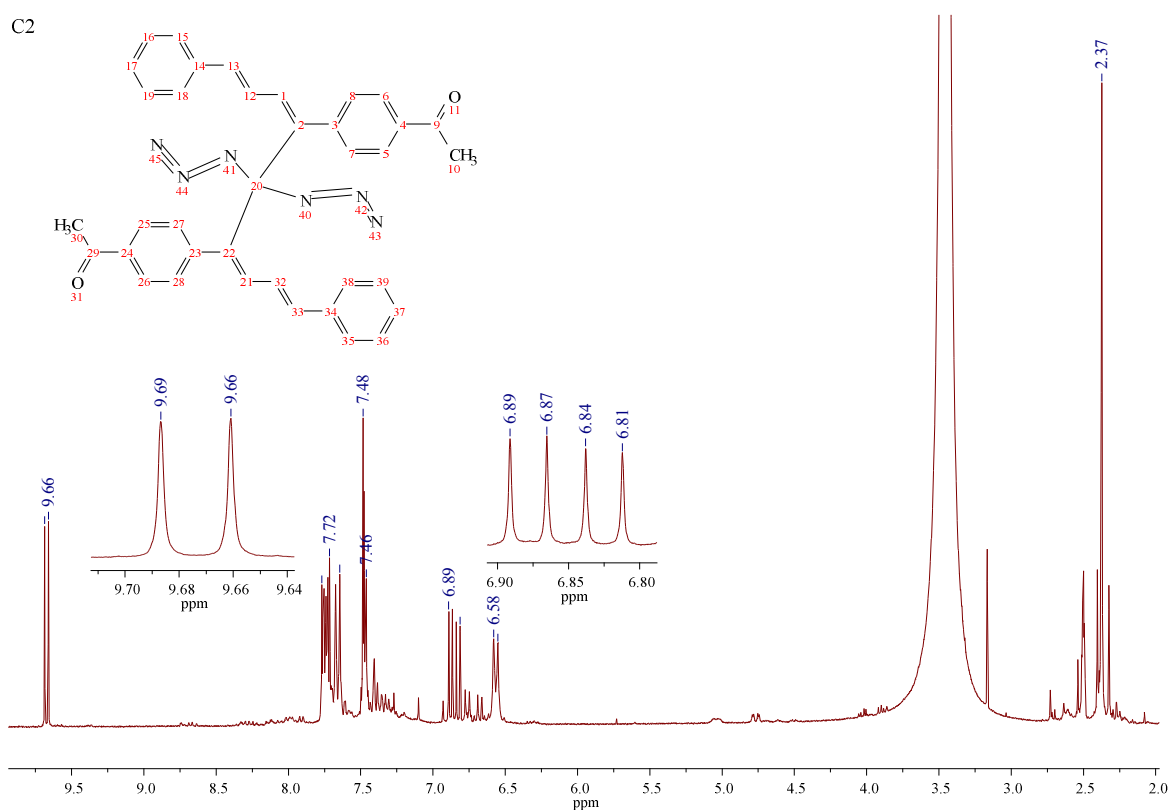
| Compostos | $\nu(\text{C}=\text{O})$ | $\nu(\text{C}=\text{N})$ | $\nu(\text{C}=\text{C})$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar1}}$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar2}}$ |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| L1 | 1670 | 1578 | 1625-1411 | 835 | 752 |
| C1 | 1682 | 1573 | 1627-1411 | 835 | 752 |
| C2 | 1681 | 1573 | 1618-1411 | 837 | 752 |
| C3 | 1667 | 1573 | 1597-1408 | 832 | 752 |
| C4 | 1680 | 1576 | 1620-1412 | 830 | 754 |
| C5 | 1680 | 1572 | 1615-1412 | 830 | 748 |

* ν = estiramento, δ = deformação, *ar.* = aromático.

Fonte: Do Autor.

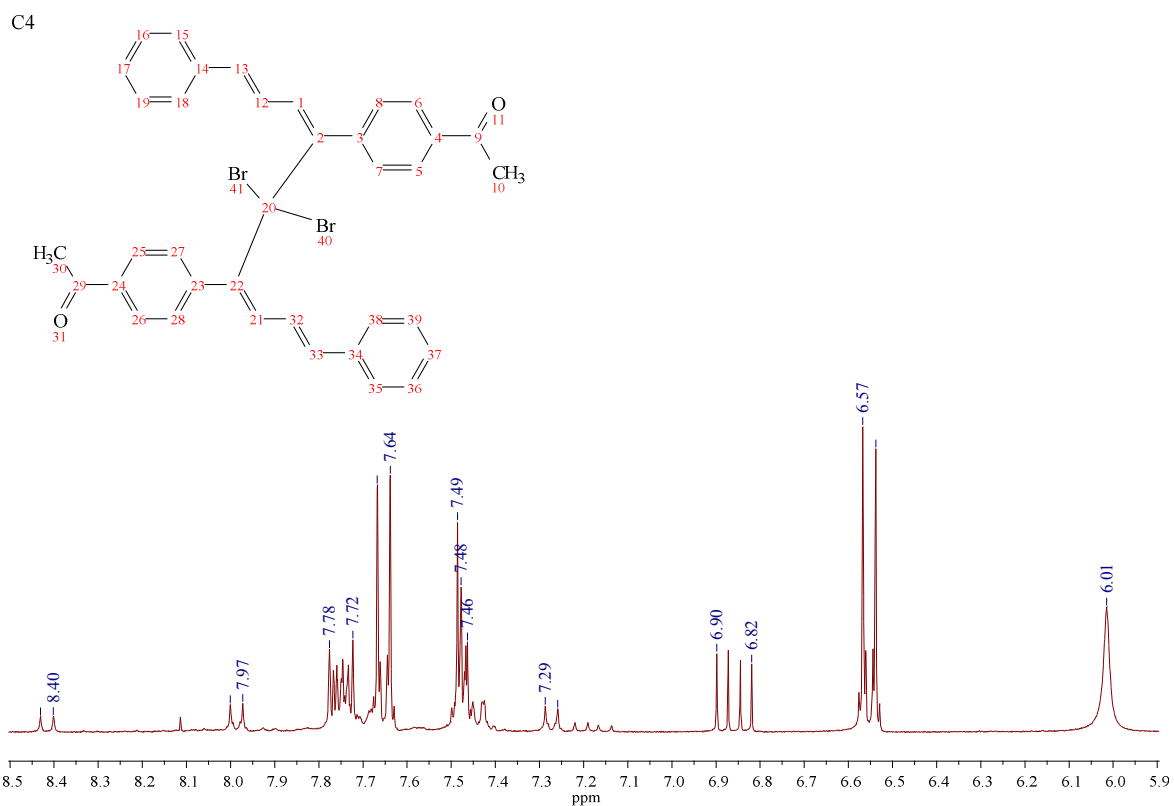
4.3.2 Espectroscopia de RMN

Os espectros de ^1H RMN dos compostos mostram as permanências dos sinais do ligante orgânico. Além disso, na região aromática observam-se séries complicadas de multipletos além da preservação dos picos principais, mostrando modificações nos anéis aromáticos (Figura 31).

Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

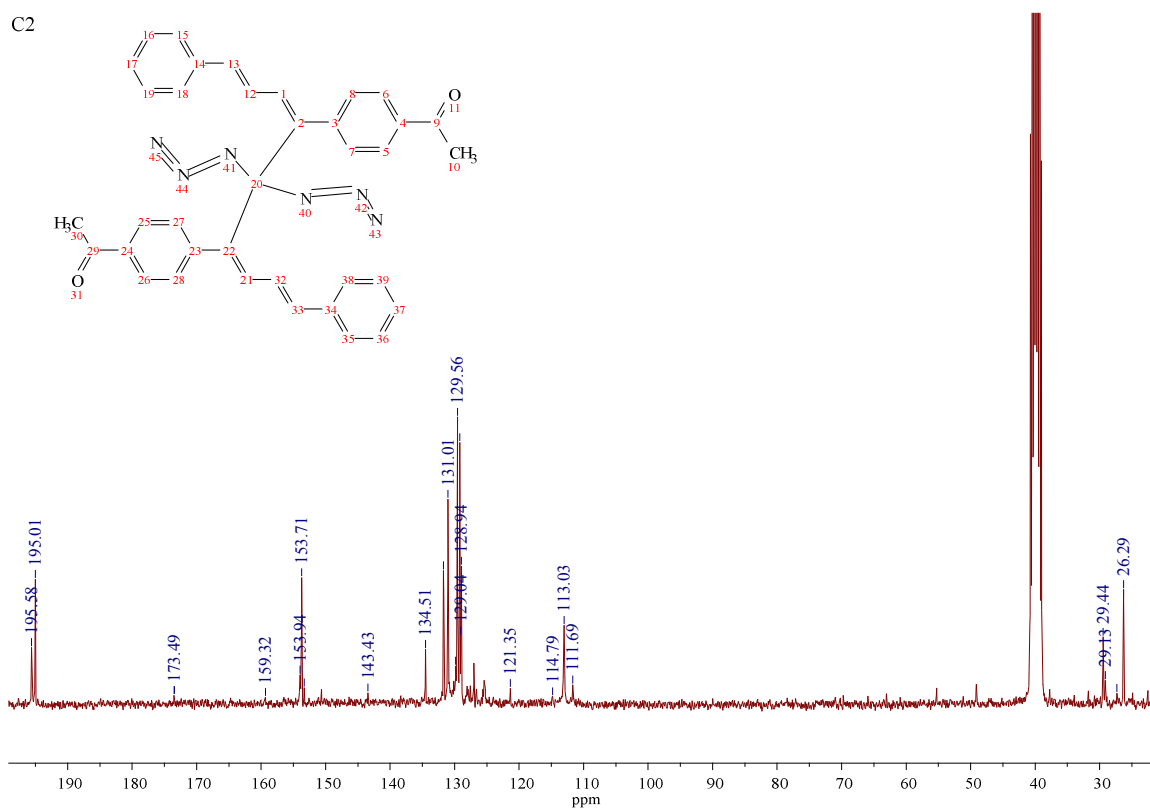
Fonte: Do Autor.

No espectro de RMN para próton, observa-se que não ocorre deslocamento químico dos prótons presentes na estrutura. Isso, corrobora a proposta da estrutura que o Pd(II) não está ciclometalado ao ligante. Esta observação também é feita para o espectro do complexo contendo Br^- (Figura 32).

Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

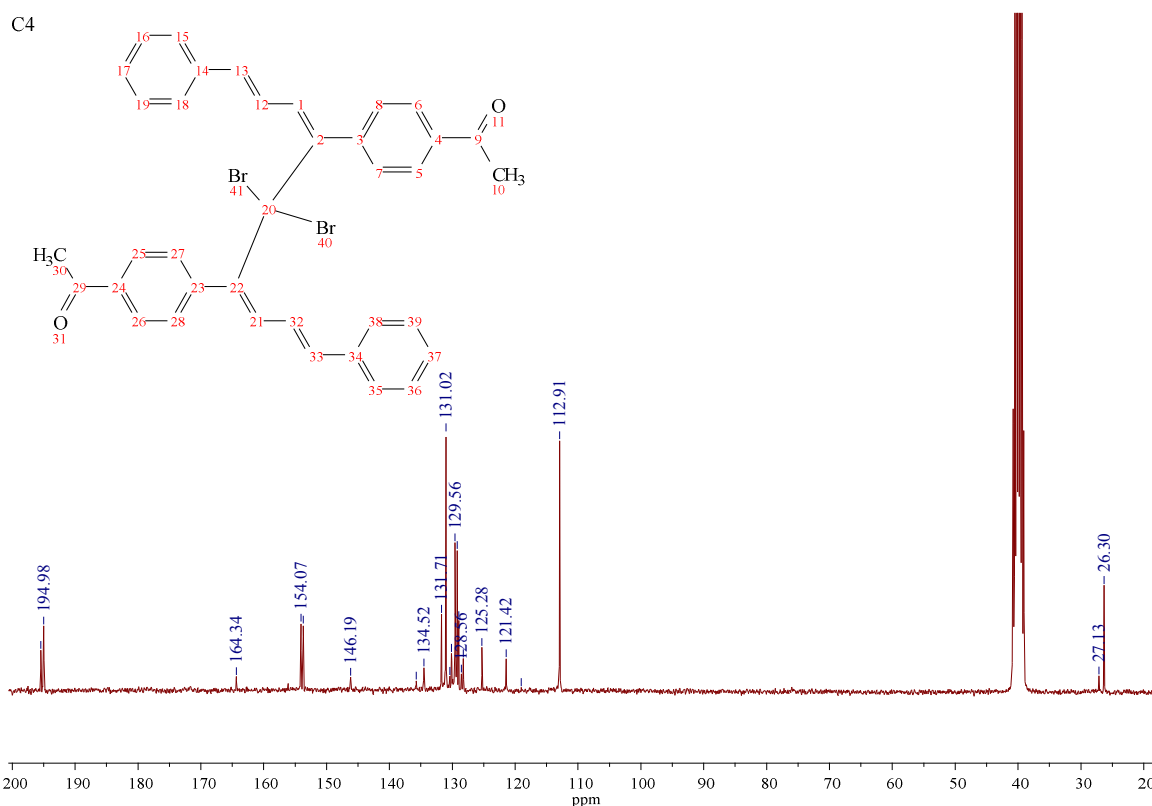
Fonte: Do Autor.

Nos espectros de RMN ^{13}C (Figura 33), os picos principais do ligante permanecem na estrutura dos complexos, pois se observa deslocamento dos valores dos sinais do carbono.

Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

Fonte: Do Autor.

A análise do espectro de RMN ^{13}C revela mudanças significativas em relação ao espectro do ligante livre, que corroboram a proposta de coordenação entre os nitrogênios das iminas e o íon metálico (Figura 34). O deslocamento da banda referente ao carbono da imina de 164,31 ppm no ligante livre para 194,98 ppm indica que esse carbono foi fortemente desblindado. Como já discutido, a coordenação com o metal desloca densidade eletrônica para a formação da ligação coordenativa.

Figura 34 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

Fonte: Do Autor.

4.3.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Um resumo dos principais dados obtidos a partir das curvas TG/DTA dos compostos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) estão demonstrado na Tabela 10. Estes compostos não apresentaram o mesmo padrão para todos os complexos. Pois, o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2), na primeira etapa de termodecomposição em 151 – 167 °C tem-se uma perda brusca de 54% referente a massa total. E o estudo térmico deste composto nos mostra que não ocorre o ganho de massa, como observado nos complexos em estudo. Entretanto, é possível observar na DTA um pico endotérmico em 806 °C, que é evidência de oxiredução do metal Pd. Este mesmo comportamento é observado para o complexo $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), que na curva TG não apresenta ganho na massa, mas a sua DTA apresenta um pico endotérmico em 802 °C.

Resultados e Discussões

Tabela 10 - Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição

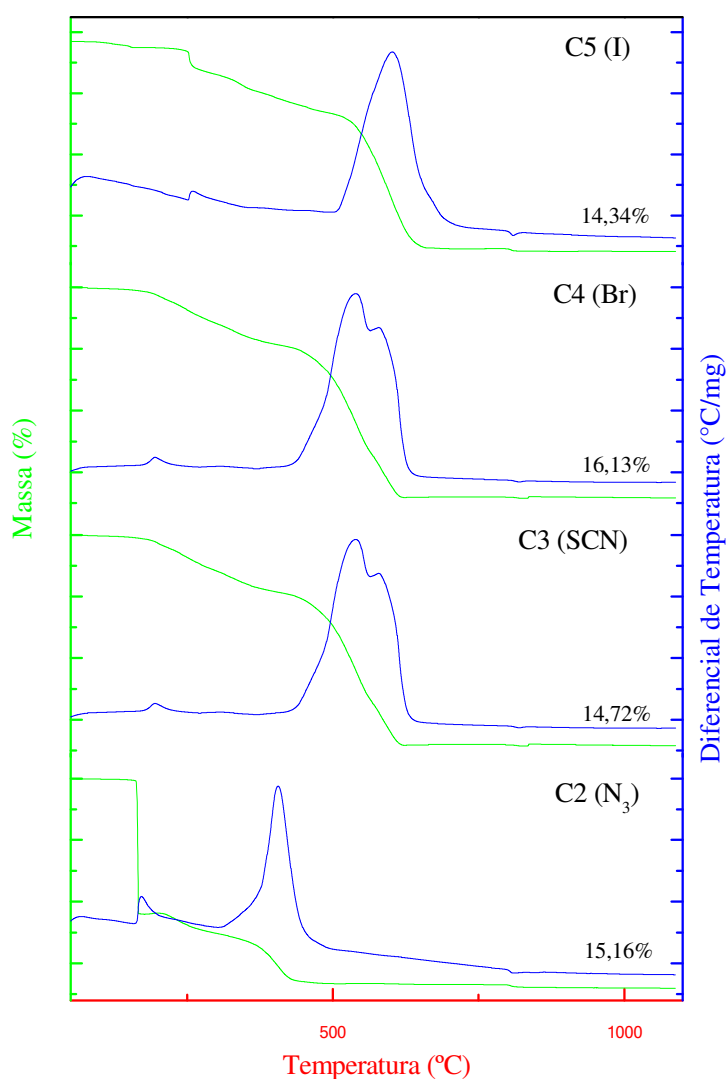
| Composto | Etapas | $\Delta T/^{\circ}\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^{\circ}\text{C}$ | |
|------------------|---------|-----------------------------|---------------|---------|-------------------------------|-----------|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C2 8,3880 mg | 1 | 151 – 167 | - 54,61 | - 54,25 | - | - |
| | 2 | 167 – 290 | - 7,55 | - 8,41 | - | 169 |
| | 3 | 290 – 786 | - 20,63 | - 20,42 | - | 405- |
| | 4 | 786 – 920 | - 1,74 | - 1,56 | 806 | - |
| | Resíduo | - | 15,16 | 14,72 | - | - |
| C3 12,2250 mg | 1 | 133 – 387 | - 20,70 | - 19,96 | - | 195 |
| | 2 | 387 – 998 | - 63,92 | - 65,25 | - | 538 – 579 |
| | Resíduo | - | 14,72 | 14,76 | - | - |
| | | | | | | |
| C4 11,5670 mg | 1 | 152 – 249 | - 16,86 | - 11,25 | - | 260 |
| | 2 | 249 – 363 | - 11,64 | - 20,89 | - | - |
| | 3 | 363 – 603 | - 50,80 | - 53,93 | - | 609 |
| | 4 | 603 – 803 | + 0,25 | + 0,52 | - | - |
| | 5 | 803 – 872 | - 2,00 | - 2,09 | 818 | - |
| | Resíduo | - | 16,13 | 13,91 | - | - |
| C5 8,2460 mg | 1 | 176 – 322 | - 9,32 | - 10,02 | - | 258 |
| | 2 | 322 – 381 | - 13,01 | - 14,77 | - | - |
| | 3 | 381 – 540 | - 64,03 | - 62,80 | - | 600 |
| | 4 | 540 – 786 | + 0,70 | + 0,93 | - | - |
| | 5 | 786 – 888 | - 1,15 | - 1,862 | 811 | - |
| | Resíduo | - | 14,34 | 12,39 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo = Pd⁰.

Gois, E. P de

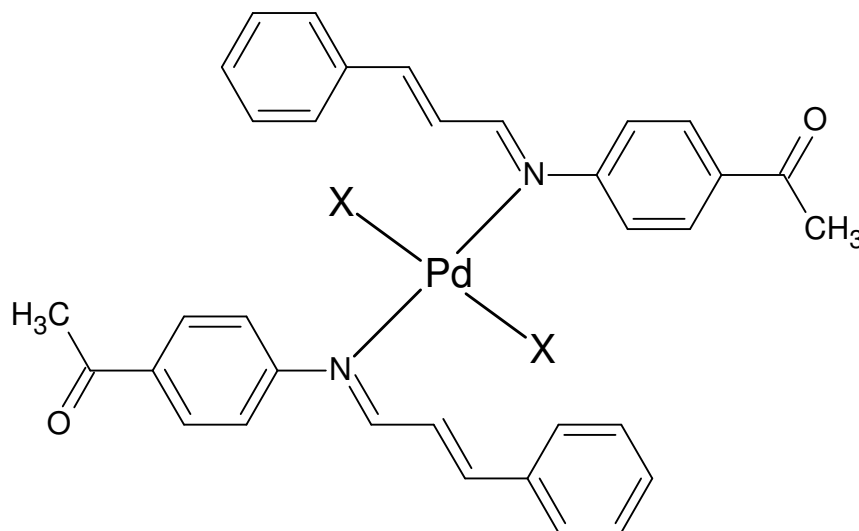
Já os complexos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2\text{I}_2]$ (C5), ambas as decomposições térmicas ocorrem etapas de termodecomposição constituída das duas partes de CH_3O e em sequência a perda dos pseudohaletos ou haletos presentes na estrutura. Consecutivamente, tem-se a perda das demais partes do ligante $2(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N})$ que são liberados completamente, na qual a curva DTA exibe pico exotérmico referente à queima da matéria orgânica. Na etapa seguinte observa-se o ganho de oxigênio, parte oriunda da molécula e as demais pelo ar sintético utilizado na análise de TG-DTA. Na última etapa observa-se um pico endotérmico, devido à redução do PdO a Pd^0 (Figura 35).

Figura 35 – Curvas TG-DTA dos complexos de substituição



Ao analisar os dados, propomos que a estrutura dos complexos seja a seguintes, Figura 36:

Figura 36 – Estrutura proposta dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)



Fonte: Do Autor.

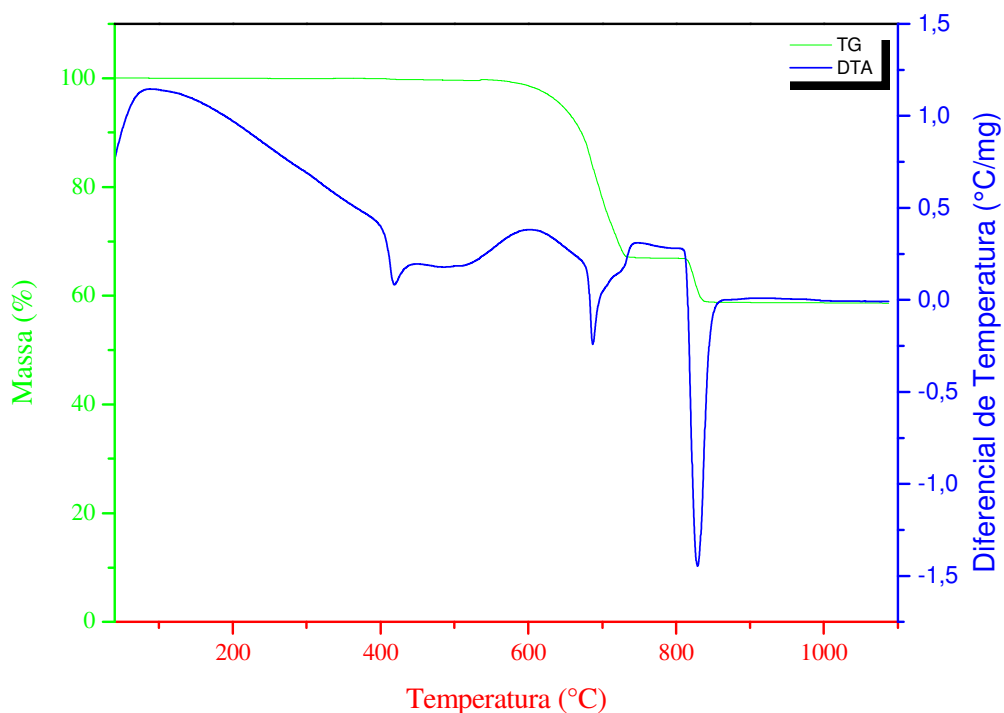
Considerando as temperaturas iniciais de decomposição térmica dos compostos C1 – C5, propõe a seguinte ordem crescente de estabilidade térmica:



Analisando as curvas de TG e DTA de todos os compostos que contém paládio pode-se observar a presença de um ganho de massa que ocorre simultaneamente com as perdas referentes a eliminação de compostos orgânicos, haletos e pseudohaletos, e posteriormente uma perda de massa aproximadamente de 800 °C que é acompanhada de um pico endotérmico na DTA, devido respectivamente, a formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras e seguido de sua redução a paládio(0).

Resultados e Discussões

A formação de óxidos sólidos com aquecimento que contenham os metais do grupo da platina, já foram estudados há vários anos, Bayler e Wiedemann publicaram um estudo em 1975 em que constata que há formação de óxido de paládio e sua degradação no tratamento térmico de amostras de paládio metálico. A seguir (Figura 37) são mostradas as curvas TG e DTA do composto PdCl_2 . A degradação inicia-se a aproximadamente 547°C . No intervalo de $547\text{-}806^\circ\text{C}$ há uma perda de massa no valor de $32,82\%$ equivalentes a eliminação dos ligantes cloretos e a captação de $0,5 \text{ O}_2$ devido a formação de óxido de paládio (Δm calculado: $-31,64\%$).

Figura 37 - Curvas TG e DTA para PdCl_2 

Fonte: Do Autor.

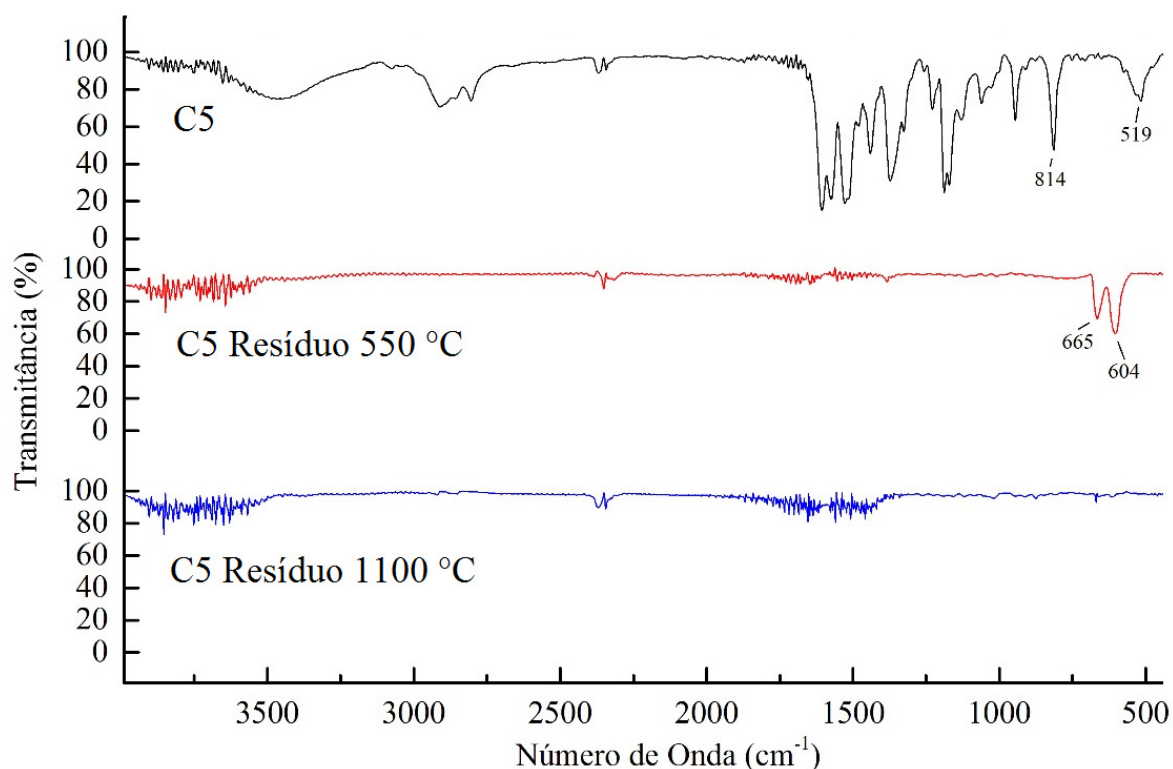
Tabela 11 - Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl₂

| Composto | Etapa | $\Delta T/^{\circ}C$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^{\circ}C$ | | Atribuições |
|-------------------|---------|----------------------|---------------|--------|------------------------|---------|--|
| | | | Enc. | Cal. | Exo. | End. | |
| PdCl ₂ | 1 | 547-806 | -32,82 | -31,64 | - | 418/688 | -2Cl ⁻ .+0,5 O ₂ |
| | 2 | 806-903 | -8,14 | -8,36 | - | 829 | -0,5 O ₂ |
| | Resíduo | -m | 58,76 | 60,01 | - | - | Pd(0) |

Fonte: Do Autor.

Para confirmação da formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras dos compostos obtidos ainda foram realizados estudos utilizando o composto C5 (escolha aleatória), o qual foi submetido ao aquecimento de análise térmica seguindo mesmas condições de atmosfera (ar sintético) e razão de aquecimento (20 $^{\circ}C/min.$), porém o aquecimento foi interrompido em 550 $^{\circ}C$ e com o resíduo realizou-se análise de espectrometria na região do infravermelho. O mesmo foi realizado com o resíduo após a curva ser completada aos 1100 $^{\circ}C$. Na Figura 38 são mostrados os espectros do composto C5, do resíduo deste composto após aquecimento 550 $^{\circ}C$ e do resíduo após aquecimento 1100 $^{\circ}C$. E o que pode ser constatado é que após 550 $^{\circ}C$ não se observa nenhuma banda do composto C5 corroborando sua degradação. Porém, podemos observar bandas em 665 e 604 cm^{-1} que não aparecem no espectro do composto C5, são observadas no resíduo após aquecimento até 550 $^{\circ}C$ e que são referentes a absorções do óxido de paládio (CHAUSSE; REGULL; VICTORI, 1987). Já o espectro de IV do resíduo após 1100 $^{\circ}C$ não apresenta nenhuma absorção, indicando a redução do óxido de paládio a paládio metálico.

Figura 38 - Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C



Fonte: Do Autor.

4.3.4 Difração de raios X

O monocrystal do complexo C2 foi obtido a partir do método de cristalização evaporação lenta de uma solução de clorofórmio e este foi utilizado para o experimento de difração de raios X de monocrystal. A análise da estrutura molecular (comprimentos e ângulos de ligação) foi realizada utilizando o software MOGUL (BRUNO, et al. 2004), sendo este pertencente à base de dados estruturais da Cambridge (CSD) que permite a comparação de fragmentos da molécula estudada com fragmentos similares de moléculas depositadas na base de dados.

Os dados cristalográficos (dados cristalinos, de coleta e refinamento) estão apresentados na Tabela 12 e a apresentação ORTEP do composto pode ser verificada na Figura 39. A Figura 40 ilustra o empacotamento molecular na cela.

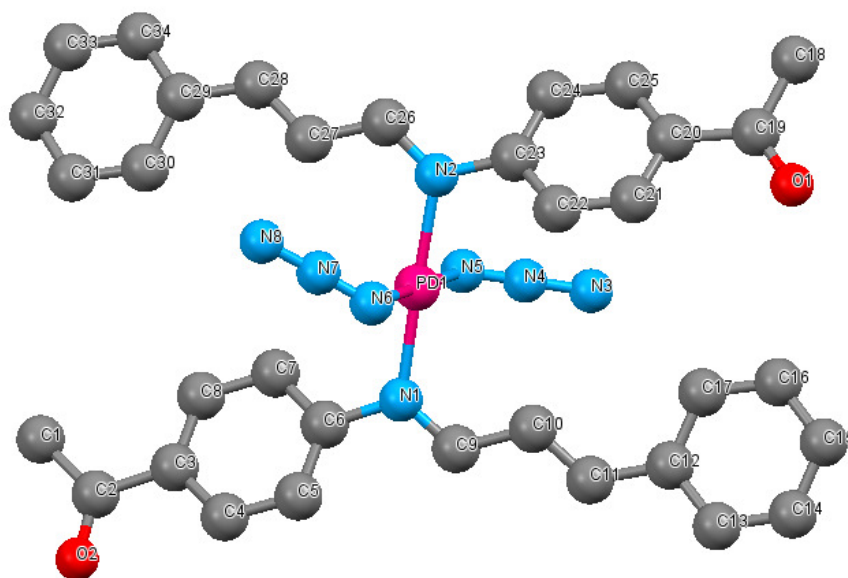
Tabela 12 - Dados Cristalográficos para o complexo [Pd(N₃)₂(Hfafa)₂] C2

| Dados | Cristal |
|---|--|
| Fórmula Empírica | C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₂ Pd |
| Peso molecular | 689,06 |
| Temperatura / K | 298 (2) |
| Comprimento de onda / Å | 0,71073 |
| Grupo Espacial | P1 |
| Sistema Cristalino | Triclínico |
| Parâmetros de cela | a = 7,035(5) Å |
| | b = 13,549(5) Å |
| | c = 16,727(5) Å |
| | α = 92,276(5)° |
| | β = 100,868(4)° |
| Volume / Å ³ | γ = 93,044(5)° |
| | 1561.55 (13) |
| | Z |
| Densidade Calculada /Mg m ⁻³ | 0,733 |
| Coeficiente Absorção / mm ⁻¹ | |
| F(000) | 674 |
| Coeficiente absorção | 0.638 |
| Comprimento de onda | 0.71073 |
| Radiação | MoK α |
| R1 | 0.1101 |
| wR2 | 0.1511 |
| GooF | 1.048 |
| Hábito / cor | |

Fonte: Do Autor.

Esta análise apontou que todos os comprimentos, bem como ângulos de ligação não sofrem nenhum desvio estatístico quando comparados aos fragmentos similares e condizem com os valores esperados quimicamente e para um bom refinamento. O estudo estatístico e a Tabela de valores gerada pelo software estão disponíveis no Anexo A.

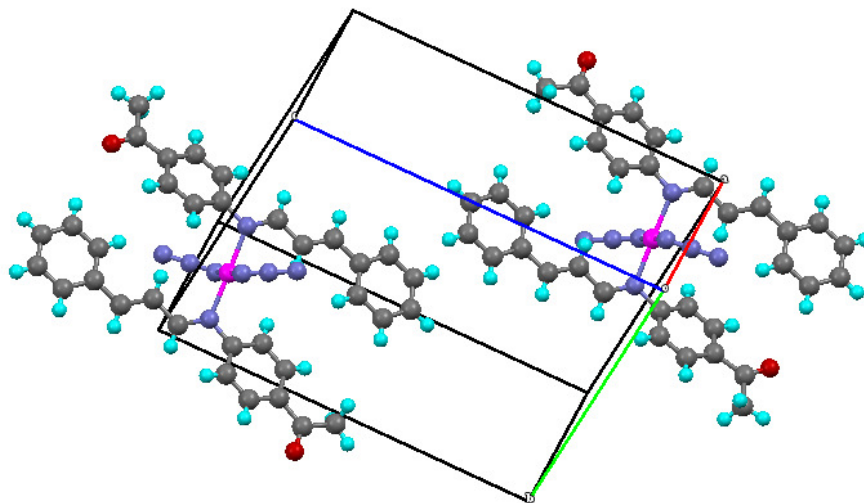
Figura 39 - Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2] C_2$



* Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização

Fonte: Do Autor.

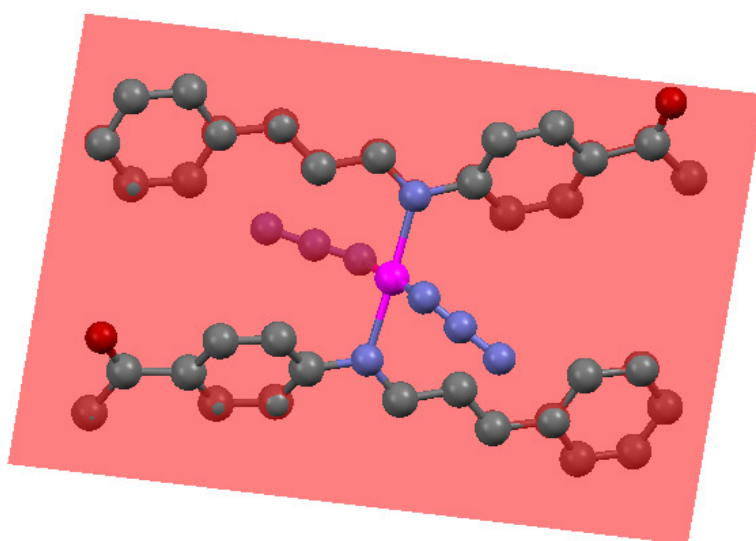
A partir dos dados de difração de raios X de monocristal verifica-se que o complexo sintetizado não houve a formação de organometálico, pois o metal de transição coordenou ao ligante orgânico somente por um sítio de coordenação com o átomo de nitrogênio. Observa-se que a ázida está em posição *trans* uma da outra, como os ligantes imínicos (Figura 39).

Figura 40 - Empacotamento molecular do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ na cela

Fonte: Do Autor.

Verifica-se que os átomos coordenantes se encontram em planos diferentes do metal. O desvio foi verificado traçando um plano através dos átomos (Figura 41), com isso verificou-se os desvios no plano traçado, como sumarizado na Apêndice B.

Figura 41 - Plano traçado entre o centro simétrico do C2



Ao analisarmos os ângulos de coordenação, é notável o desvio em relação ao padrão para uma geometria quadrado planar, principalmente o ângulo formado por N3-Pd1-N2. Isso ocorre porque existe uma repulsão entre as azidas, aumentando o ângulo entre suas ligações coordenativas e, conseqüentemente, diminuindo o ângulo oposto. Além disso, a repulsão entre azida e anel aromático é maior em um dos lados do composto, visto que esses dois grupos estão mais próximos justificando o fato de o ângulo entre N1-Pd1-N5 ser maior do que o formado por N2-Pd1-N5. Os ângulos entre as ligações entre o átomo metálico e os ligantes estão na Tabela 13. Os demais ângulos de ligação podem ser encontrados no Anexo C.

Tabela 13 - Dados cristalográficos de ângulos de ligação

| 1 | 2 | 3 | Ângulo (°) |
|----|-----|----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) |

Fonte: Do Autor.

A formação de uma ligação coordenativa entre o nitrogênio das iminas e o paládio(II) provocou uma diminuição da densidade eletrônica dessa ligação dupla, diminuindo ainda mais o caráter de dupla ligação de C=N. Esse caráter já é diminuído pelo fato de esta ligação ser conjugada a um anel aromático. Esse efeito causa um aumento no comprimento de ligação do grupo imínico em relação ao ligante livre (HAO; ZHANG, 2005), o que pode ser observado através da análise dos dados de difração de raios X. Esses dados confirmam as conclusões já obtidas pela análise do espectro na região do infravermelho.

4.4 TESTES BIOLÓGICOS

As aplicações biológicas dos complexos foram realizadas frente às células mamárias MCF-7 (ER+) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER-, PR-, HER2-), parasita *Leishmania*, na forma de promastigota e amastigota e as leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Os testes ocorreram com o ligante imínico L1 e os complexos C1-C5.

4.4.1 Teste antitumoral

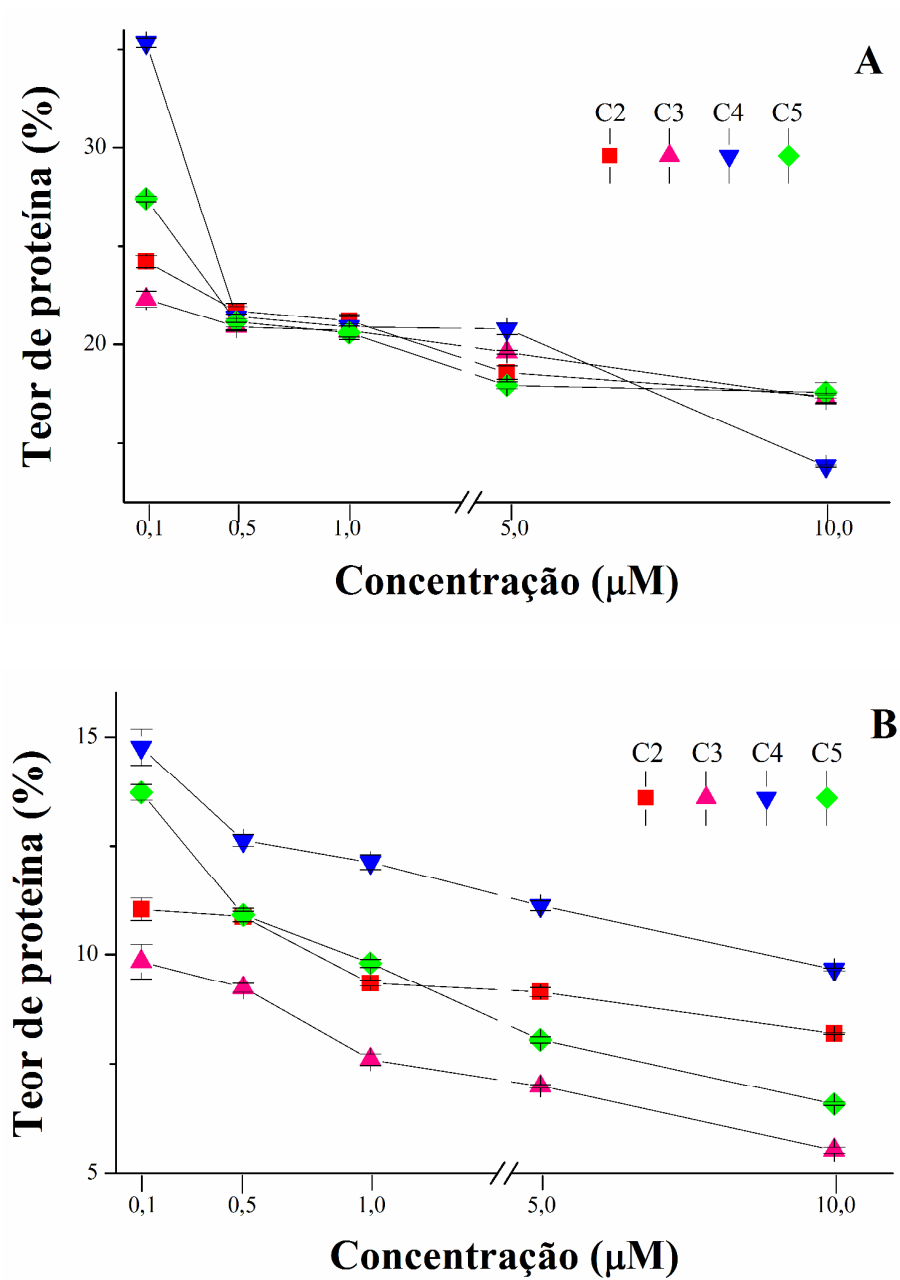
Vários agentes quimioterápicos utilizados na prática clínica apresentam atividade citotóxica, portanto, a citotoxicidade pode ser utilizada como um indicativo da atividade antitumoral de um composto (LE TOURNEAU et al., 2010). A citotoxicidade compreende um conjunto de alterações bioquímicas e genéticas que interrompem a homeostase celular e pode ser estimada por testes que avaliam a liberação de enzimas, a viabilidade, a sobrevivência e a morte celular. Os testes de viabilidade baseiam-se na exclusão ou incorporação de corante, medida da atividade enzimática e da determinação do conteúdo protéico celular. Um composto citotóxico induz, em curto prazo, perda da viabilidade celular, enquanto, um citostático afeta a sobrevivência em longo prazo ou a proliferação celular (SUMANTRAN, 2011).

Para estes testes foram avaliados os efeitos do ligante L1 e os novos complexos de Pd(II) C1 à C5 para as células MDA-MB-435. Já para as células MCF-7 os complexos C1 à C5. Os complexos de paládio(II) testados afetaram a viabilidade celular, evidenciada pela diminuição do teor protéico das células tratadas comparadas ao Controle Negativo (CN), pelo ensaio de SRB. Observa-se que os compostos foram citotóxicos, pois induziram diminuição do teor de proteínas celulares. O composto mais ativo para a célula MCF-7 foi o C4 sobre o efeito máximo nas células incubadas por 24 h, porém a incubação por 48 h o complexo C3 apresentou ser mais ativo, com a concentração de 10 μ M para os dois complexos (Figura 42). Já para a célula MDA-MB-435 o complexo mais ativo foi o C1 sobre a incubação de 24 h e

Resultados e Discussões

48 h, sendo o efeito máximo obtido com o tratamento com 0,1 μM (Figura 43). Os complexos apresentaram citotoxicidade diferentes uns dos outros e em concentrações diferentes, evidenciando que a atividade biológica de um composto está relacionada à estrutura química.

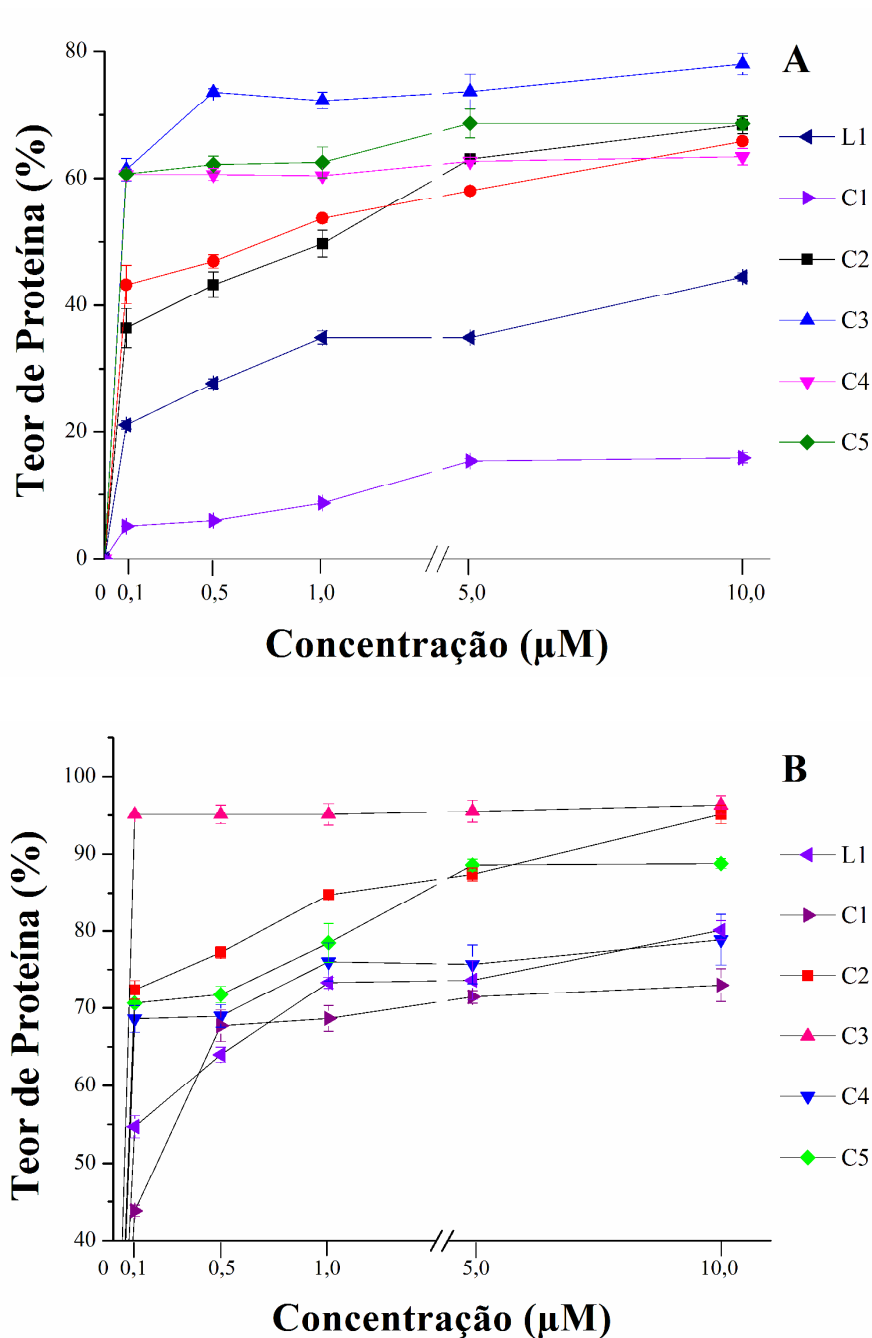
Figura 42 - Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

Fonte: Do Autor.

Figura 43 - Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

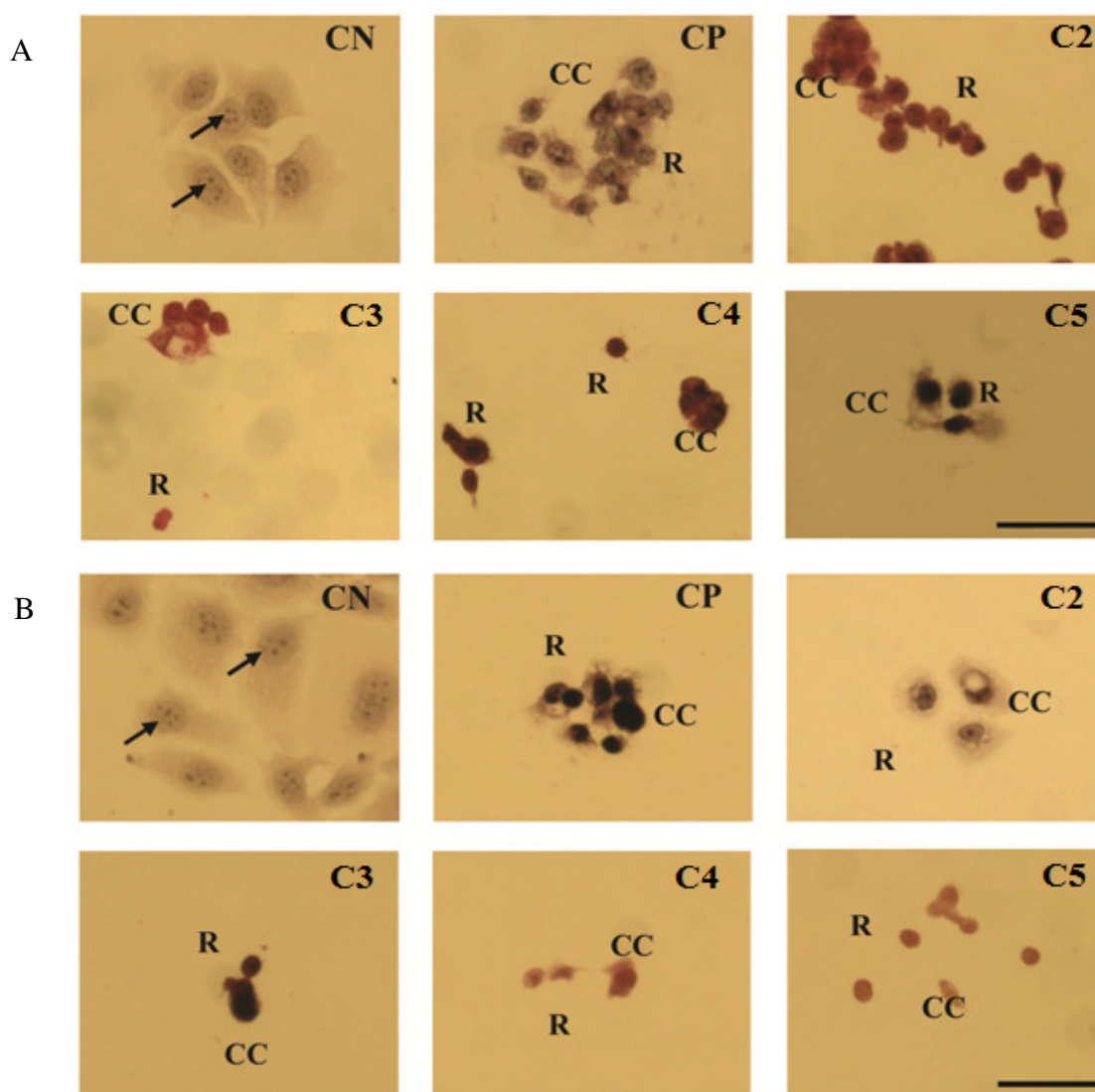
Fonte: Do Autor.

A demonstração mais confiável do efeito citotóxico de um agente toxicante é a alteração morfológica de células em cultura, com crescimento em monocamada (EKWALL et

Resultados e Discussões

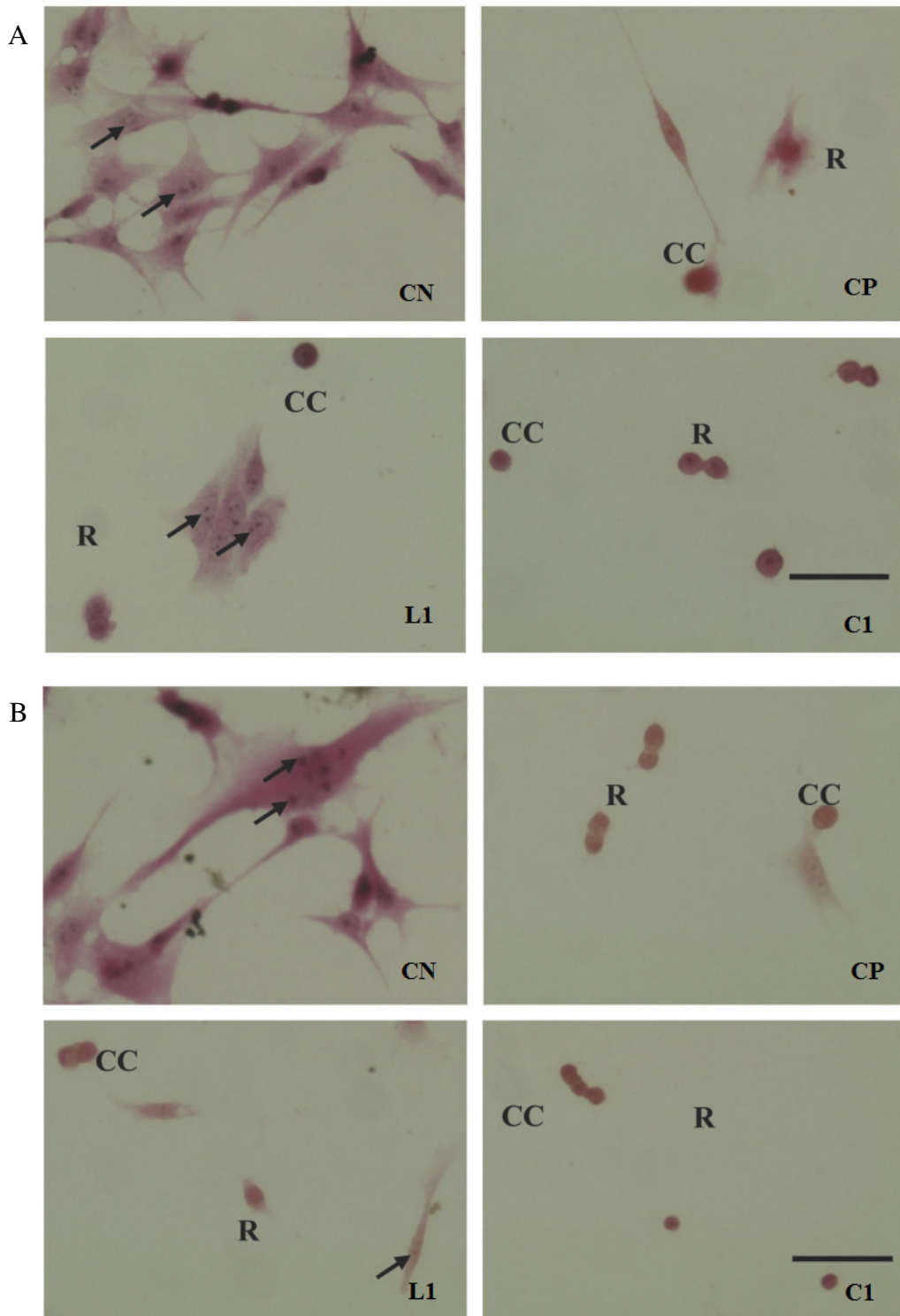
al., 1990). As células do Controle Negativo (CN) crescem em colônias apresentam formato poliédrico irregular, citoplasma menos corado que o núcleo e nucléolos evidentes. O tratamento das células com o Controle Positivo (CP) e os compostos resultou em alterações morfológicas evidentes, tais como perda da morfologia celular típica, condensação da cromatina, arredondamento, diminuição da célula e perda de prolongamentos responsáveis pela adesão ao substrato, o que indica alteração do citoesqueleto. Além disso, as células tratadas com os compostos cresceram de forma isolada. Apenas no tratamento com L1 a 0,1 μM , por 24 h foi possível encontrar colônias celulares (Figura 44 e 45).

Figura 44 - Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5.



Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μM e a 0,1 μM ; barra = 5 μm .

Figura 45 - Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1



Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μ M e a 0,1 μ M; barra = 5 μ m.

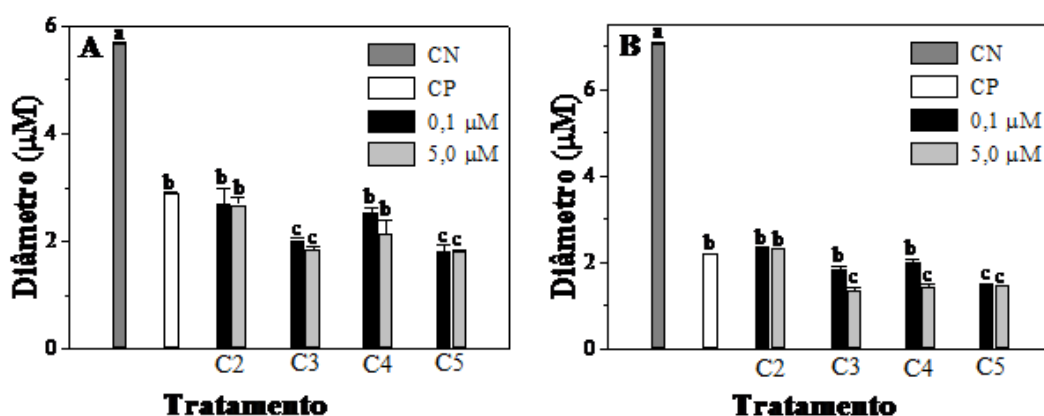
Fonte: Do Autor.

Resultados e Discussões

Através da análise das variações explicitadas anteriormente, é possível concluir que os compostos sintetizados apresentaram atividade citotóxica frente às células MCF-7 e MDA-MB-435. Comparando os resultados obtidos para a base de Schiff com os dos complexos sintetizados, nota-se que a presença do paládio(II) intensifica a ação citotóxica desse ligante, visto que as células tratadas com esses complexos apresentaram mais evidências de morte celular do que a base de Schiff livre. Comparando os resultados das células tratadas com os complexos, os que apresentaram, qualitativamente, mais atividade foram os complexos C1 (Contendo Cl) para as células de MDA-MB-435 e que todos os complexos testados (C2-C5) apresentaram citotoxicidade para as células MCF-7. Outra constatação importante é a influência do tempo de tratamento com os compostos no nível de morte celular. As células que foram tratadas por 48 horas apresentaram indícios de um maior nível de morte celular do que as tratadas por 24 horas.

A diminuição das células, após tratamento com todos os compostos, foi demonstrada pela redução significativa ($p < 0,001$) do diâmetro celular, em comparação ao CN e esta foi dependente do tempo de incubação (Figuras 46 e 47). A análise do efeito dos complexos da série C2-C5, mostrou que, após tratamento por 24 h, os complexos C3 e C5 foram mais ativos ($p < 0,01$) que a cisplatina e após 48 h, o complexo C5 continuou tendo uma melhora significativa a $0,1 \mu\text{M}$, sendo este o mais ativo (Figura 46).

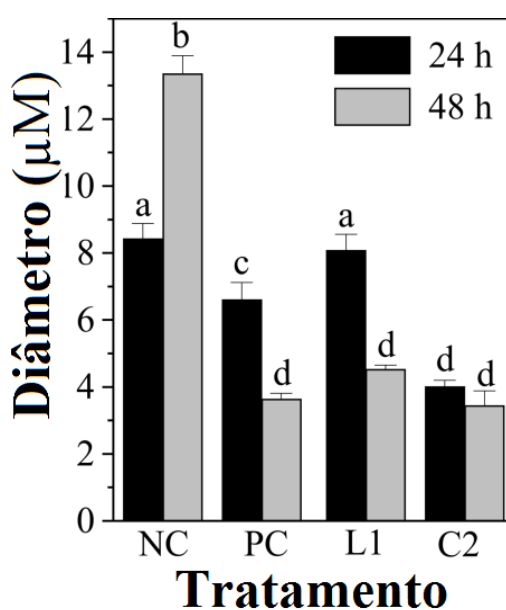
Figura 46 – Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de $0,1 \mu\text{M}$ e $5,0 \mu\text{M}$



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a $5 \mu\text{M}$; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

A redução do volume celular dos compostos L1 e C1 foi dependente da concentração e do tempo de incubação. Após tratamento por 24 h e 48 h o complexo C1 a 5 μM foi o mais ativo, com redução do O encolhimento celular foi ainda confirmado pela determinação do comprimento da célula, que foi significativamente ($p < 0,05$) diminuída em comparação com as células controle. diâmetro celular semelhante à induzida pelo controle positivo cisplatina.

Figura 47 – Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

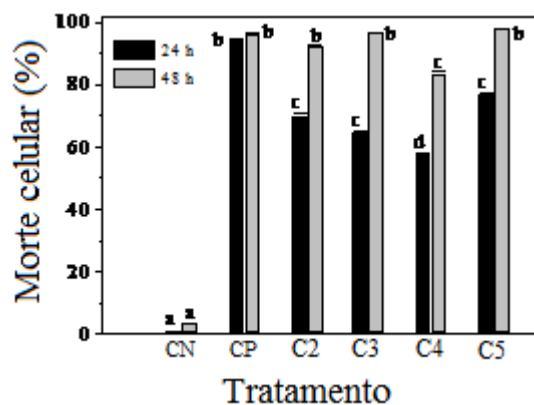
Fonte: Do Autor.

O teste utilizando *fastgreen* para detecção de morte celular é um método de coloração diferencial que determina a morte celular por perda de viabilidade e não utiliza um sinal específico de morte. Assim, alterações celulares que incluam perda da integridade da membrana plasmática, de atividade enzimática, de ATP ou de atividade de esterase da membrana plasmática podem ser detectadas pela coloração com *fastgreen*. Este método pode ser utilizado para células em cultura e é, particularmente, útil para a avaliação da morte celular em tumores sólidos (espécimes clínicos) e quando há população mista de células

Resultados e Discussões

(WEISENTHAL, 2011). Os compostos induziram significativamente ($p < 0,05$) a morte celular e esta foi dependente do tempo de tratamento, sendo a incubação por 48 h mais eficiente que por 24 h. (Figura 48 e 46).

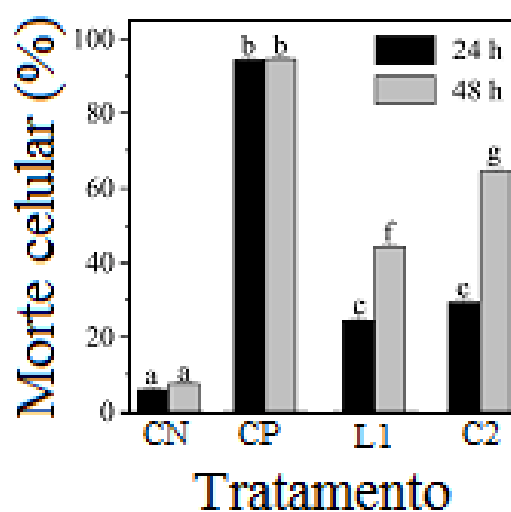
Figura 48 – Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Figura 49 – Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1

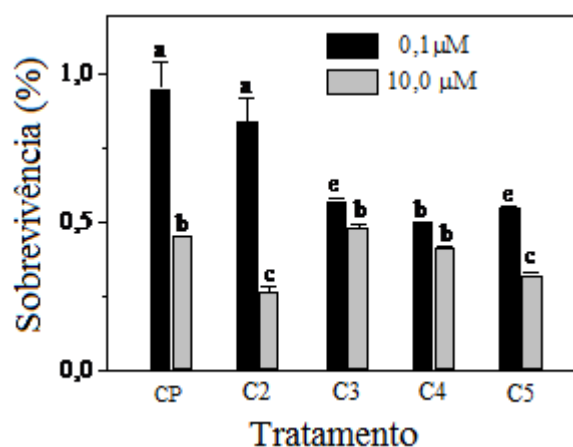


Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussões

O ensaio clonogênico é um ensaio *in vitro* baseado na capacidade de uma única célula sobreviver, se proliferar e formar uma colônia, com no mínimo 50 células, detectando-se, assim, a morte celular reprodutiva. Este teste permite obter a taxa de sobrevivência celular após o tratamento. A Figura 50 mostra a porcentagem de sobrevivência de células MCF-7, após o tratamento e nota-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) da sobrevivência celular, sendo o efeito dos compostos dependente da concentração e do tempo de incubação. O composto C2 (contendo N_3) se mostrou mais ativo a $10 \mu\text{M}$.

Figura 50 - Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e $10 \mu\text{M}$



Legenda: (CP) cisplatina a $5 \mu\text{M}$; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,01$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Tem sido proposto que o efeito citotóxico de complexos de paládio(II) para células tumorais decorre da interação do complexo com o DNA, por meio da formação de ligações cruzadas coordenadas entre o Pd(II) e a guanosina do DNA (ALBERT et al., 2013; CAIRES, 2007; GAO et al., 2009; SAEIDIFAR et al., 2013), o que pode também ter ocorrido para estes novos compostos. Os complexos C1-C5 se mostraram ativos, talvez por causa da estrutura, já que são monodentados e não ciclopaladados. Em relação à série de novos complexos os mais ativos foram os complexos C1 (Cl) e C2 (N_3), evidenciando que o substituinte é importante para a atividade do complexo de paládio(II).

Os resultados demonstraram pela primeira vez o efeito citotóxico e que todos os compostos analisados foram citotóxicos para as células MCF-7 e MDA-MB-435 e parecem ser bons candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento do câncer de mama. Estudos estão em progresso para verificar o efeito *in vivo* desses compostos.

4.4.2 Teste anti-leishmania

A atividade anti-leishmania dos compostos foi avaliada contra as formas promastigota (Tabela 14). O controle positivo utilizado foi a pentamedina e a anfotericina B.

Tabela 14 - Compostos que apresentaram atividade promastigota

| Compostos | IC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio | CC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio |
|----------------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|
| | Leishmania | Padrão | Citotoxicidade | Padrão |
| Anfotericina B | 4,70 | 0,56 | 25 | 5,32 |
| Pentamedina | 6,62 | - | 3,82 | 0,58 |
| L1 | 6,50 | 0,20 | 61,50 | 20,50 |
| C1 | > 40 | | - | - |
| C2 | 6,50 | 0,05 | 91,75 | 1,25 |
| C3 | > 40 | | - | - |
| C4 | > 40 | | - | - |
| C5 | > 40 | | - | - |

Fonte: Do Autor.

Podemos observar que em geral ao complexar o paládio ao ligante imínico não observa nenhuma melhora significativa comparado com o seu ligante precursor, no entanto quando com a troca do haleto Cl^- pela N_3^- , observa que o complexo tem inibição frente a *Leishmania ssp*, para C2. Para os demais complexos não tiveram a inibição melhorada, visto que a concentração necessária para inibir aumenta.

Até então, os testes realizados foram uma triagem para observar quais destes compostos apresentam atividade e a partir, foi realizado testes frente a amastigota para o composto C2 (Tabela 15).

Tabela 15 - Compostos que apresentaram atividade amastigota

| Compostos | IC50 (mG/mL) | Desvio |
|--------------|--------------|--------|
| | Leishmania | Padrão |
| Anfotericina | 1,20 | 0,11 |
| C2 | 24,90 | 0,2 |

Fonte: Do Autor.

Já para os teste frente a amastigota, observamos que o complexo C2 apresentou atividade frente ao parasita. Logo, podemos concluir que mesmo o complexo C2 não seja ciclometalado, ele apresenta uma estabilidade para penetrar a célula amastigota. Isso por que complexos não cilcometalados apresentam dificuldade de atingirem o alvo dentro da célula (amastigota), pois tem que transpor a barreira da membrana celular do macrófago.

4.2.3 Teste antifúngico

Os resultados da atividade antimicrobiana do ligante e dos complexos sintetizados estão apresentados na Tabela 16. Observa-se que a coordenação do metal para o complexo C2 melhorou a atividades em relação ao seu ligante precursor L1, na inibição do crescimento de *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. O que não foi observado para os demais fungos testados. No entanto, de modo geral tanto os ligantes quanto os complexos de paládio apresentam IC₅₀ e IC₉₀ superiores aos respectivos padrões de referência, ou seja, a concentração necessária dos compostos testados para inibir o crescimento dos microrganismos em 50% e 90% foi muito maior que os padrões de referência. Sendo assim, os compostos obtidos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso.


Resultados e Discussões

Porém, o complexo C2 requer estudo mais aprofundado, em função de sua melhor atividade antifúngica contra *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, que é intrinsecamente resistente ao fluconazol medicamento de azol comum na terapêutica.

Tabela 16 - Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)

| Substância | Fungos | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 | <i>C. krusei</i> ATCC 6258 | <i>C. glabrata</i> ATCC 90030 | <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 |
|------------------------------------|--------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| Fluconazol ($\mu\text{g/mL}$) | IC50 | 0,5 | 1 | 32 | 16 | 1 |
| L1 | IC50 | - | 60 | 30 | - | 60 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C1 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C2 | IC50 | - | - | 60 | 30 | 30 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C3 | IC50 | - | - | 100 | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C4 | IC50 | - | - | - | 100 | 100 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C5 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |

Fonte: Do Autor.



Capítulo 5

Conclusão

5 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou a importância da classe dos ciclometalados de Pd(II), em função da sua reatividade frente ao ligante imínico, resultando em espécie com grande potencial na Química Medicinal. Isto fica evidenciado através dos resultados discutidos bem como pelas contribuições dadas pelo nosso grupo de pesquisa. Através das técnicas de caracterização utilizadas, estima-se que as reações tenham ocorrido e conseqüentemente houve a formação dos novos compostos.

Novos complexos de paládio(II) foram obtidos a partir das reações entre tetracloropaladato(II) de lítio e um novo ligante orgânico nitrogenado (Hfafa) **L1** capaz de formar complexo. O novo complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ **C1** foi usado como precursor dos complexos do tipo: $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$ sendo X = N₃ (C2), SCN (C43), Br (C4) e I (C5). A difração de raios X de monocristal esclareceu a estrutura do complexo C2.

Os dados espectroscópicos sugerem que os complexos C1-C5 apresentaram uma coordenação metal – ligante 1:2. O metal coordenou-se pela base nitrogenada do ligante. Os haletos e pseudohaletos ficaram na posição terminal. A estrutura porposta para esta série foi $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5).

Os complexos de paládio (II) apresentados são citotóxicos para células MCF-7 e MDA-MB-435, uma vez que levaram à diminuição do teor protéico das células, além de alterações morfológicas e morfométricas e à diminuição da proliferação celular, podendo ser considerados agentes supressores tumorais. Este resultado parece promissor para o desenvolvimento de um novo agente quimioterápico para o tratamento do câncer de mama. No entanto, precisa de testes *in vivo*.

Já os ensaios frente à *Leishmania*, foram realizados experimentos *in vitro* de células promastigota e amastigota da *L. (L.) brazilienses*. Determinou-se a viabilidade celular destas culturas, expressa pelo Índice de Citotoxicidade (IC₅₀), que indica a concentração de substância que induz à morte 50% da população celular. Através da incubação das células na presença dos complexos por 48h, sob diferentes concentrações, determinou-se a

Conclusão

viabilidade do bioensaio. O complexo que apresentou melhor atividade antileishmania foi o que contém o pseudohaleta azida do complexo (C2).

Com o intuito de empregar os compostos em ensaios microbiológicos frente a fungos, foi realizado experimento *in vitro*. O complexo que apresentou melhor atividade foi o C2 com a inibição do crescimento de *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Enquanto os demais complexos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso. Deste modo, o complexo C2 requer maiores estudos. Mesmo assim, evidencia-se a potencialidade farmacológica dos complexos de paládio(II), ressaltando sua interdisciplinaridade e expectativas.

Complexos de paládio(II) demonstram potencialidades farmacológicas comprovadas pelos testes biológicos realizados. Isto somente vem a ressaltar seu aspecto atual, interdisciplinar e promissor, deixando uma expectativa positiva para os próximos anos.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS

ACAR, N.; SELÇUKI, C.; COŞKUN, E. DFT and TDDFT investigation of the Schiff base formed by tacrine and saccharin. **J MolModel**, 23, 17, 2017.

ADIGUZEL, Z. et al. Biochemical and proteomic analysis of a potential anticancer agent: Palladium(II) saccharinate complex of terpyridine acting through double strand break formation. **J. Proteome Res.**, v. 7, p. 5240-5249, 2014.

AL-NOOR, T. H.; AZIZ, M. R.; AL- JEBOORI, A. T. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of [Fe(II), Co(II), Ni(II),Cu(II) and Zn(II)] mixed ligand complexes schiff base derived from amoxicillin drug and 4-(dimethylamino)benzaldehyde with nicotinamide. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 6, 1225-1231, 2014.

ALMEIDA, E. T. Compostos Organometálicos de Paládio(II): Investigação Espectroscópica, Comportamento Térmico e Aplicações Biológicas. 2003. 170 f. **Tese de doutoramento apresentada ao Instituto de Química de Araraquara – Unesp.** 2003.

ALMEIDA, E. T. et al. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. **Química Nova**, 28, n. 3, p. 405-408, fev. 2005.

AMENDOLA, M. C. Algoritmo genético e espectroscopia no infravermelho. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANDRADE, P. B. M. Cisplatina. Disponível em:
<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/cisplatin/htmlonly>. Acesso em: abril / 2018.

ANGELO, A. C. D.; SOUZA A. R. DE; MORGON, N. H.; SAMBRANO, J. R. - Estudo da adsorção de hidrogênio e sulfeto na superfície de paládio: aspectos experimentais (eletroquímica) e teóricos (ab initio e teoria do funcional da densidade). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 473-479, 2001.

Referências

ARI, F. et al. Apoptosis-inducing effect of a palladium(II) saccharinate complex of terpyridine on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Bioorg.Med. Chem.**, 22, p. 4948-4954, 2014.

AVAJI, P. G. et al. Synthesis, spectral characterization, in-vitro microbiological evaluation and cytotoxic activities of novel macrocyclic bis hydrazone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 3552–3559, 2009.

BANTI, C.N. et al. Mono-nuclear cis-Pd(II) chloride complex of the thio-nucleotide analogue 5-methyl-thiouracil and its biological activity. **Polyhedron**, v. 87, p. 251-258, 2015.

BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 7-12, jul. 2005.

BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: towards new targets. **Chem. Commun.**, 49, 5106-5131, 2013.

BARTLETT, F.C. The future of ergonomics. **Ergonomics**, 5, 505–511, 1962.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 4-6, jul. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011. 118p.

BRUIJNINCX, P. C. A.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, 12, 197-206, 2008.

CAIRES, A.C.F. Recent advances involving palladium (II) complexes for the cancer therapy. **Anticancer Agents Med. Chem.**, v. 7, p. 484-491, 2007.

Referências

CALOGERAS, L. 10 práticas médicas egípcias que ainda são usadas nos dias de hoje. 2017. Disponível em: <https://misteriosdomundo.org/10-praticas-medicas-egipcias-que-ainda-sao-usadas-nos-dias-de-hoje/>. Acesso em: abril / 2018.

CARVALHO, A.J.S.; ISHIKAWA, T.; GOUVÊA, C.M.C.P. Aqueous extract *Pliniaedulis* leaves: Antioxidant activity and cytotoxicity to human breast cancer MCF-7 cell line. **South Afric. J. Bot.**, v. 81, p. 1-7, 2012.

CAMPANELLA, N. C. et al. The cytotoxic and growth inhibitory effects of palladium(II) complexes on MDA-MB-435 cells. **Gen. Mol. Biol.**, v. 35, p. 159-163, 2012.

CAVALCANTE, C. Q. et al. Determinação de paládio em amostras biológicas aplicando técnicas analíticas nucleares. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1094-1098, jul. 2008.

CHEANG, M.C.U. et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 101, p.736-750, 2009.

CHEN, C.N.; WU, C.L.; LIN, J.K. Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwensesepropolis. **Cancer Lett.**, v. 245, p. 218-231, 2007.

CHEN, Y. et. al. Sensitized luminescent Terbium nanoparticles: Preparation and time-resolved fluorescence assay for DNA. **Analytical Chemistry**. v. 79, n. 3, pp. 960-965, 2009.

COLUCCIA, M. et al. A trans-Platinum Complex Showing Higher Antitumor Activity than the Cis Congeners. **J. Med. Chem.**, 36, 510, 1993.

COZZI, P. G. Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects. **Chem. Soc. Rev.**, 33, 410, 2004.

Referências

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, v.19, n.11, p. 502-508, 2003.

CUTILLAS, N. et al. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold. **Coord. Chem. Rev.**, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2013.03.024>.

DAYAN, S. Palladium(II) complexes bearing bidentate pyridyl-sulfonamide ligands: Synthesis and catalytic applications. **Polyhedron**, v. 85, p. 748-753, 2015.

DEMICHELE, C. et al. Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1570, 192– 198, 2002.

DOGRA, J.; SAXENA, V. N. Itraconazole and leishmaniasis: a randomised double-blind trial in cutaneous disease. **Int. J. Parasit.**, 26, 1413-1415, 1996.

EKWALL, B. et al. Toxicity tests with mammalian cell cultures. In: BOURDEAU, P. et al. (eds.), **Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects**. Nova Iorque: John Wiley and Sons Inc., p. 75-97, 1990.

ELISEEVA, S. et al. Electroluminescent properties of the mixed-ligand complex of terbium salicylate with triphenylphosphine oxide. **Synthetic Metal**. v. 141, pp. 225-230, 2004.

FANG, J. et al. Ligand effect on the performance of organic light-emitting diodes based on europium complexes. **Journal Luminescence**. v. 124, pp. 157-161, 2007.

FARRUGIA, L. J. Ortep-3 for Windows – a version of ORTEP-III with a Graphical user interface. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 30, p. 565, Oct. 1997.

FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 32, p. 837-838, Aug. 1999.

Referências

FIOCRUZ, As Leishmanioses. 1997. Disponível em:

<http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/morfologia.htm>. Acesso em: abril / 2018.

FRANCO, L. P. et al. Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity on *Leishmania (L.) amazonensis*. **Medical Chemistry Research**, 22, p. 1049-1056, 2013.

GABBIANI, C.; MESSORI, L. Protein targets for anticancer gold compounds: mechanistic inferences. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, 11, 929, 2011.

GAO, E. et al. Current development of Pd(II) complexes as potential antitumor agents. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, v. 9, p. 356-368, 2009.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S.K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coord.Chem. Rev.**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.

GAUTIER, A.; CISNETTI, F. Advances in metal-carbene complexes as potent anti-cancer agents. **Metallomics**, 4, 23, 2012.

GODOY NETTO, A. V. **Aplicação de pseudo-haletos e pirazóis como unidades estruturais na formação de espécies mono e polinucleares de paládio (II). Emprego de polímeros de coordenação em sistema hóspede-hospedeiro.** 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides.**

Amsterdam: Elsevier, 1986. p. 15.

GRAHAM, R. D.; WILLIAMS, D. R. The synthesis and screening for anti-bacterial, -cancer, -fungicidal and -viral activities of some complexes of palladium and nickel. **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 41, 1245, 1979.

Referências

GRAY, H. B.; BALLHAUSEN, C. J. A molecular orbital theory for square planar metal complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 3, p. 260-265, 1963.

GUERIN, P. J. et al., Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **Infectious Diseases**. 2, 2002.

GULL, P.; HASHMI, A. A. Transition Metal Coordination Complexes with Diverse Schiff Base Ligands and Macrocyclic Systems: Synthesis and Structural Diversity. **Asian Journal of Physical and Chemical Sciences**, 2, 1-27, 2017.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**., 2, 1191-1199, 1999.

HO, G.Y.; WOODWARD, N.; COWARD, J.I.G. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, 102, 37-46, 2016.

HÖLLER, C. J. et al. The interaction of rare earth chlorides with 4,4'-bipyridine for the reversible formation of template based luminescent Ln-N-MOFs. **Dalton Transactions**. V. 39, pp. 461-468, 2010.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Phys. Rev.**, 136, 864, 1964.

INIGUEZ, E. et al. Metal–drug synergy: new ruthenium(II) complexes of ketoconazole are highly active against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and nontoxic to human or murine normal cells. **J Biol Inorg Chem.**, DOI 10.1007/s00775-013-1024-2

KAFKA, S.; KAPPE, T. Synthesis of 4-Hydroxy-2(1H)-pyridones from Azomethines and Substituted Dialkylmalonates. **Monatshefte für Chemie**, 128, 1019-1031, 1997.

KAPDI, A. R. A.; FAIRLAMBB, I. J. S. Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. **Chem. Soc. Rev.**, 43, 4751, 2014.

Referências

KAYA, Y. ICSEL, C. YILMAZ, V. T.; BUYUKGUNGOR, O. A palladium(II) complex containing both carbonyl and imine oxime ligands: Crystal structure, experimental and theoretical UV–vis, IR and NMR studies *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 108, p. 133-140, 2013.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effect. *Phys. Rev.*, 140, 1133, 1965.

KOHOUT, M. Photosensitive bent-core liquid crystals based on methyl substituted 3-hydroxybenzoic acid. *RSC Adv.*, 7, 35805–35813, 2017.

KUSHEV, D. et al. Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antitumor activity of platinum(II) complexes of 3-aminocyclohecanespiro-5-hydantion. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 89, p. 203-211, 2002.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. *British Medical Bulletin*, v. 28, p. 44-48, 1972.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed., São Paulo: Edgard Blücher, 2000.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 632, 2005.

LI, H.; SUN, H. Recent advances in bioinorganic chemistry of bismuth *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 16, 74-83, 2012.

LIPPERT, B. Uses of metal compounds in medicine. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, Elsevier, 2013.

LIU, P. et al. Photochemical route for synthesizing atomically dispersed palladium catalysts. *Science*, 352, 797-801, 2016.

Referências

MAURYA, M. R. et al. Palladium(II) complexes of OS donor N-(di(butyl/phenyl) carbamothioyl)benzamide and their antiamoebic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 98, p.54-60, 2015.

MEDICI, S. et al. Noble metals in medicine: Latest advances. **Coord.Chem. Rev.**, v. 284, p. 329-350, 2015.

MEGURO, H. et al. Synthesis, structure, and quaternization and complexation reactions of j3SCS pincer palladium complexes having 3,5-pyridinediyl unit. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, v. 693, p. 1109-1116, Jan. 2008.

MESA-VALLE, C.M. et al. Antileishmanial Action of Organometallic Complexes of Pt(II) and Rh(I). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 91, 5, 625-633, 1996.

MESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; DONALD, A. T. **Química Inorgânica**. Tradução de Ana Júlia Perrotti-Garcia. 5 ed. Pearson Education do Brasil, 2014.

MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallo drugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chem. Rev.**, 114, 4540-4563, 2014.

MORO, A. C. **Espécies moleculares e supramoleculares de Pd (II) contendo ligantes N,S doadores: síntese e caracterização**. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2007.

MOTSWAINYANA, W.M. et al. Imino-phosphine palladium(II) and platinum(II) complexes: synthesis, molecular structures and evaluation as antitumor agents. **J. Inorg. Biochem.**, v. 129, p. 112-118, 2013.

MYCEK, M. J.; HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre, Artimed, 1998.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**, Wiley Interscience, New York, 1986.

Referências

NAVARRO, M. et al. Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 8, p. 401–408, 2003.

NAVARRO et al. Synthesis and characterization of [Au(dppz)₂]Cl₃. DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) Mexicana*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 101, p. 111–116, 2007.

NIGAM, M. et al. Centchroman induces G₀/G₁ arrest and caspase-dependent apoptosis involving mitochondrial membrane depolarization in MCF-7 and MDA MB-231 human breast cancer cells. **Life Sci.**, v. 82, p. 577-590, 2008.

ODDS, F. C.; BROWN, J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action **Trends in Microbiology**, 11, 6, 2003.

OPLUSTIL, C. P. Resistência aos antimicrobianos: assunto velho, novas preocupações. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, 2012.

PARSHALL, G. W. *Acc. Chem. Res.*, v. 3, p. 139, 1970; CAIRES, A. C. F.; MAURO, A.E. Composto cilcometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 59, 1996.

PATOLE, J. et al. Schiff base conjugates of *p*-aminosalicylic acid as antimycobacterial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 16, 1514–1517, 2006.

PATTANAYAK, P. et al. Synthesis and characterization of palladium (II) complex of Schiff base ligand: C\N bond cleavage and catalytic activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 53, p. 68-71, 2015.

PETERS, D. H.; FRIEDEL, H. A.; McTAVISH, D. Azithromycin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. **Drugs.**, 44, 750-99, 1992.

PUTHILIBAI, G. et al. Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemical behaviour and antibacterial activity of Ru(III) complexes of 2-[(4-*N,N'*-

Referências

dimethylaminophenylimino)-methyl]-4-halophenol. **Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 72, 4, 796-800, 2009.

REN, W. et al.; Synthesis, structure, and catalytic activity of organolanthanide complexes with chiral biaryl Schiff-base ligands. **J. Organomet. Chem.**, 758, 65, 2014

RONCONI, L., SADLER, P. J. Applications of heteronuclear NMR spectroscopy in biological and medicinal inorganic chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, p. 2239–2277, 2008.

SAEIDIFAR, M, et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity studies of a novel palladium(II) complex and evaluation of DNA-binding aspects. **Nucleosides Nucleic Acids**, v. 32, p. 366-388, 2013.

SANTOS, Z. L.; NEVES, E. A. O caráter pseudo-halogênio, pseudo-haletto. **Química Nova**. 15-20, 1984.

SARGENTELLI, V. **Síntese, estudo dos comportamentos térmico e eletroquímico e reatividade de pseudo-haletos complexos de cobre (II)**. 1996. 228 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1996.

SHELDRICK, G. M. Germany: University of Göttingen. **SHELXL97**, 1997.

SHAHEEN, F. et al. Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity and anti-inflammatory activity of palladium(II) complexes with tertiary phosphines and heterocyclic thiolates: Crystal structure of [Pd(C₂₈H₁₉N₈ps₂)]. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, n. 693, p. 1117–1126, Jan. 2008.

SHAW, C. Gold-Based Therapeutic Agents. **Chem. Rev.**, 99, 2589-2600, 1999.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. Tradução de Roberto de Barros Faria. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

Referências

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Spectrometric identification of organic compounds**, 7. ed. New York, p. 72-110, 2005.

SOARES, M. S. **Síntese e caracterização de complexos tricarbonilrênio(I) com bases de schiff derivadas de aminoácidos e escorpionatos derivados de tiobases**. 2013. 146 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília-UnB, Brasília (2013).

STEVANATO, A. R. **Investigação estrutural e efeitos imunológicos e tuberculostáticos de complexos de paládio(II)**. 2009. 177 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

SUMANTRAN, V. N. Cellular chemosensitivity assays: an overview. In: CREE, I.A. (ed.), **Cancer cell culture: methods and protocols** (Methods in Molecular Biology 731 Springer Protocols), 2. ed. New York: Springer-Verlag, p. 219-236, 2011.

TERESA DE JESUS. Livro da vida. 1579.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TUŠEK-BOŽC, L. et al., 2008. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. **Polyhedron**, 27, p. 1317–1328, 2008.

ULUKAYA, E. et al. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 46, p. 4957-4963, 2011.

VASCONCELLOS, M. L. A. A. A teoria de Pearson para a disciplina de química orgânica: um exercício prático e teórico aplicado em sala de aula. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 171-175, 2014

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nat. Protoc.**, v. 1, p. 1112-1116, 2006.

Referências

WATABE, M. et al. Preparation, ^{195}Pt NMR spectra and biological activity of platinum(IV) complexes with dipeptides. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 73, p.1999, 73, 1-5, 1999.

WEISENTHAL, L. M. et al. A novel dye exclusion method for testing in vitro chemosensitivity of human tumors. **Cancer Res.**, v. 43, p. 749-757, 1983.

WEN, H. W.; YANG, P. C. Photophysical and photovoltaic properties of truxene-functionalized conjugated polymer– fullerene supramolecular complexes. **RSC Adv.**, 6, 60308–60317, 2016.

ZAYED, EM; ZAYED, MA; EL-DESAWY, M. **Spectrochim. Acta. Part A.**, 134, 155, 2015.



Anexos



ANEXOS

Anexo A - Tabela com dados cristalográficos de distância de ligação

| Ligação | | Distância | Ligação | | Distância |
|---------|-----|-----------|---------|-----|-----------|
| Pd1 | N1 | 2.024(3) | C11 | C12 | 1.461(7) |
| Pd1 | N2 | 2.031(3) | N7 | N8 | 1.181(7) |
| Pd1 | N5 | 2.065(5) | C25 | C20 | 1.375(7) |
| Pd1 | N6 | 2.071(4) | C21 | C22 | 1.363(7) |
| N2 | C26 | 1.291(5) | C21 | C20 | 1.374(8) |
| N2 | C23 | 1.434(5) | C5 | C4 | 1.370(7) |
| N1 | C9 | 1.293(5) | C12 | C17 | 1.397(7) |
| N1 | C6 | 1.429(6) | C12 | C13 | 1.400(7) |
| N4 | N5 | 1.115(6) | C7 | C8 | 1.389(7) |
| N4 | N3 | 1.190(7) | C28 | C29 | 1.448(7) |
| N6 | N7 | 1.096(6) | O1 | C19 | 1.214(7) |
| C32 | C33 | 1.357(10) | C20 | C19 | 1.515(8) |
| C32 | C31 | 1.392(10) | C3 | C8 | 1.386(7) |
| C9 | C10 | 1.429(6) | C3 | C4 | 1.403(7) |
| C27 | C28 | 1.342(6) | C3 | C2 | 1.494(8) |
| C27 | C26 | 1.430(6) | C29 | C30 | 1.389(8) |
| C24 | C23 | 1.381(6) | C29 | C34 | 1.393(7) |
| C24 | C25 | 1.397(7) | C16 | C15 | 1.373(8) |
| C23 | C22 | 1.385(6) | C16 | C17 | 1.379(7) |
| C6 | C5 | 1.397(6) | C13 | C14 | 1.378(8) |
| C6 | C7 | 1.403(6) | C2 | C1 | 1.502(9) |
| O2 | C2 | 1.208(7) | C14 | C15 | 1.374(9) |
| C10 | C11 | 1.347(6) | C34 | C33 | 1.380(8) |
| C30 | C31 | 1.389(8) | C19 | C18 | 1.483(9) |

Anexo B - Tabela com dados cristalográficos de ângulo de ligação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) | C10 | C11 | C12 | 126.5(4) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) | N6 | N7 | N8 | 175.9(7) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) | C20 | C25 | C24 | 121.0(5) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) | C22 | C21 | C20 | 120.6(5) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) | C4 | C5 | C6 | 119.2(4) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) | C17 | C12 | C13 | 118.3(5) |
| C26 | N2 | C23 | 122.0(4) | C17 | C12 | C11 | 122.4(4) |
| C26 | N2 | PD1 | 123.9(3) | C13 | C12 | C11 | 119.3(5) |
| C23 | N2 | PD1 | 113.7(2) | C8 | C7 | C6 | 119.2(5) |
| C9 | N1 | C6 | 119.9(4) | C27 | C28 | C29 | 126.3(5) |
| C9 | N1 | PD1 | 122.7(3) | C21 | C22 | C23 | 120.9(5) |
| C6 | N1 | PD1 | 117.5(3) | C21 | C20 | C25 | 119.1(5) |
| N5 | N4 | N3 | 176.2(6) | C21 | C20 | C19 | 117.7(5) |
| N7 | N6 | PD1 | 116.6(4) | C25 | C20 | C19 | 123.2(5) |
| N4 | N5 | PD1 | 117.2(4) | C8 | C3 | C4 | 118.3(5) |
| C33 | C32 | C31 | 120.1(6) | C8 | C3 | C2 | 122.8(5) |
| N1 | C9 | C10 | 122.8(4) | C4 | C3 | C2 | 118.8(5) |
| C28 | C27 | C26 | 123.0(4) | C30 | C29 | C34 | 118.9(5) |
| C23 | C24 | C25 | 119.1(4) | C30 | C29 | C28 | 122.1(5) |
| C24 | C23 | C22 | 119.3(4) | C34 | C29 | C28 | 119.1(5) |
| C24 | C23 | N2 | 121.9(4) | C5 | C4 | C3 | 121.8(5) |
| C22 | C23 | N2 | 118.6(4) | C3 | C8 | C7 | 121.2(5) |
| C5 | C6 | C7 | 120.3(4) | C15 | C16 | C17 | 121.3(6) |
| C5 | C6 | N1 | 121.8(4) | C16 | C17 | C12 | 119.9(5) |
| C7 | C6 | N1 | 117.9(4) | C14 | C13 | C12 | 120.7(6) |
| N2 | C26 | C27 | 122.2(4) | O2 | C2 | C3 | 120.1(6) |
| C11 | C10 | C9 | 122.5(4) | O2 | C2 | C1 | 121.3(6) |

Continuação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| C3 | C2 | C1 | 118.6(5) | C18 | C19 | C20 | 118.5(5) |
| C15 | C14 | C13 | 120.4(6) | C31 | C30 | C29 | 120.1(6) |
| C33 | C34 | C29 | 120.5(6) | C32 | C33 | C34 | 120.6(6) |
| O1 | C19 | C18 | 120.8(6) | C30 | C31 | C32 | 119.9(6) |
| O1 | C19 | C20 | 120.7(6) | C16 | C15 | C14 | 119.5(6) |



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ
INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ
LABORATÓRIO INTERDISCIPLINAR DE QUÍMICA - LabIQ



SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE
IMÍNICO

Elba Pereira de Gois Souza

Alfenas/MG

2018

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida.

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos José Marques.

Alfenas/MG

2018

Gois, Elba Pereira de.

Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de complexos de paládio(II) contendo ligante imínico / Elba Pereira de Gois. -- Alfenas, MG, 2018.

129 f. : il. –

Orientador: Eduardo Tonon de Almeida.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, 2018.

Bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Paládio – uso terapêutico. 3. Análise espectral. 4. Química bioinorgânica. I. Almeida, Eduardo Tonon de. II. Título.

CDD 547

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Biblioteca Central – Campus Sede

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

A banca examinadora abaixo aprova a presente tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas na área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 05 de abril de 2018

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida
Universidade Federal de Alfenas -MG



Prof. Dr. Adelino Viera de Godoy Neto
Universidade Estadual de São Paulo – Araraquara



Profa. Dra. Amanda Latercia Tranches Dias
Universidade Federal de Alfenas - MG



Prof. Dr. Lázaro Moscardini D'Assunção
Universidade de Lavras – MG



Dra. Marília Imaculada Frazão Barbosa
Universidade Federal de Alfenas - MG



“A Deus, ao meu pai José, minha mãe Ozenete,
meu marido Mailson, aos meus filhos Cecília,
Joaquim e quem mais chegar...”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido sabedoria, saúde, disposição, condições espirituais e materiais para que, por sua vontade, eu possa provar que Tu és uma fonte inesgotável de poder ilimitado, eficaz e acionado pela minha fé.

À minha família: meu esposo pela paciência, dedicação e incentivo nos momentos mais difíceis, para que eu não desistisse. Aos meus pais José e Ozenete, grandes incentivadores e amigos, minhas irmãs Cinthya, Quele, Rebeca e Raquel por serem meus Cirineo.

Ao meu orientador, Prof. Dr Eduardo Tonon de Almeida, que galgou comigo este projeto, por sua disposição em me ajudar e por suas idéias, sugestões e críticas. Ao meu co-orientador Marcos José Marques e todos os professores que ao longo do caminho me ensinaram com suas valiosas contribuições.

À banca examinadora, pelo intercâmbio de idéias, sugestões e discussões construtivas que se delinearão durante a qualificação.

Aos laboratórios LABIQ, LBM, LCC, LM e LaModel da Unifal - MG, ao LabCri da UFMG – MG e ao NPPNS da USP-Ribeirão Preto por disponibilizarem toda sua instrumentação, possibilitando a realização desta tese. As instituições de fomento, CAPES, FAPEMIG, FINEP e CNPQ, pelo suporte financeiro.

Aos meus amigos, que ao longo deste doutorado foram mais do que colegas foram irmãos: Luís, Antônio, Érica, Wladimir, Lilian, Nathália, Cris e a Iara. Obrigada a todos!

“Ter coragem diante de qualquer coisa na vida,
essa é à base de tudo.”

(Tereza D'Ávila, 1579)

RESUMO

Muitos metais de transição apresentam grande importância no meio biológico, visto que esses interagem diretamente com biomoléculas essenciais para a manutenção da vida. Uma característica dos metais que os tornam tão importantes como componentes (funcionais e estruturais) dos seres vivos é sua propensão em perder elétrons facilmente formando íons com cargas positivas, que tendem a ser solúveis em fluídos biológicos. Muitos estudos tomaram como base as possíveis interações dos íons metálicos com as biomoléculas presentes no organismo vivo. O presente trabalho teve como objetivo a preparação de novos compostos de paládio(II), contendo ligantes imínicos, com o intuito de obter compostos inéditos que apresentem propriedades farmacológicas. O ligante imínico (Base de Schiff) foi preparado através da reação entre o aldeído *trans*-cinamaldeído e a amina *p*-aminoacetofenona (Hfafa) **L1**. O ligante imínico obtido foi complexado ao paládio(II), conduzindo substituições, com o intuito de se produzir novos compostos de coordenação de fórmula geral $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5). Os compostos foram caracterizados através das técnicas de ponto de fusão ou decomposição, solubilidade, condutividade molar, análise elementar (CHN), das técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C, estudos termogravimétricos TG-DTA, difração de raios-X para o monocristal de C2 e cálculos de DFT de L1. Os compostos foram empregados em testes biológicos, para as células MCF-7 e MDA-MB-435 do câncer de mama, *Leishmania spp*, em experimentos *in vitro* de células promastigotas e amastigotas *L. (L.) brazilienses*, antifúngico em leveduras do gênero *Candida spp.*: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Verificou-se que o ligante livre apresentou efeito significativo frente os testes biológicos comparáveis aos dos controles positivos. No entanto, os complexos sintetizados se mostraram melhores potenciais agentes farmacológicos do que seu ligante precursor. Entre os complexos sintetizados merece destaque o compostos $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$, que apresentou, qualitativamente, atividade frente as células mamárias, a *Leishmania* e aos fungos testados.

Palavras-chave: Ligante imínico. Complexo de paládio(II). Espectroscopia e metalofármaco.

ABSTRACT

Some transition metals are of great importance in the biological environment, since they interact directly with the biomolecules essential for the maintenance of life. One characteristic of the metals that make them so important as functional and structural components of living things is their propensity to lose electrons easily by forming ions with positive charges, which tend to be soluble in biological fluids. Many studies have considered the possible interactions of metal ions with biomolecules present in the living organism. The present work had as objective the preparation of new compounds of palladium (II), containing iminic ligands, with the intention of obtaining novel compounds that present pharmacological properties. The iminic ligand (Schiff's Base) was prepared by the reaction between the *trans*-cinnamaldehyde aldehyde and the amine *p*-aminoacetophenone (Hfafa) L1. The imine ligand obtained was complexed to palladium(II), leading to substitutions, with the aim of producing new coordination compounds of the formula $[PdX_2(Hfafa)_2]$, where X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) and I (C5). The compounds were characterized by melting point or decomposition, solubility, molar conductivity, elemental analysis (CHN), IR spectroscopic techniques, ¹H and ¹³C NMR, thermogravimetric TG-DTA studies, X-ray diffraction for monocystal of C2 and calculations of DFT of L1. The compounds were used in biological tests for MCF-7 and MDA-MB-435 breast cancer cells, *Leishmania* ssp, *in vitro* experiments of promastigotes and amastigotes *L. (L.) brazilienses*, antifungal in yeasts of the genus *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. The free ligand was shown to have a significant effect against biological tests comparable to those of the positive controls. However, the synthesized complexes showed better potential pharmacological agents than their precursor ligand. Among the synthesized complexes, the compounds $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ deserve to be highlighted, which presented, qualitatively, activity against mammary cells, *Leishmania* and fungi tested.

Key-words: Imine ligand. Palladium complex. Spectroscopy and metallopharmaceutical.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 – | Egípcios praticando medicina..... | 21 |
| Figura 2 - | Representação da estrutura da Cisplatina | 22 |
| Figura 3 - | Mecanismo de ação da Cisplatina ao DNA | 23 |
| Figura 4 - | Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais..... | 24 |
| Figura 5 - | Configuração d^8 num campo octaédrico fraco..... | 26 |
| Figura 6 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff..... | 29 |
| Figura 7 – | Rota sintética dos complexos metálicos | 30 |
| Figura 8 - | Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato | 32 |
| Figura 9 – | Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo | 34 |
| Figura 10 - | Formas evolutivas do protozoário <i>Leishmania</i> | 36 |
| Figura 11 – | Cultivo de fungo em placa de Petri..... | 38 |
| Figura 12 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa..... | 45 |
| Figura 13 – | Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1 | 46 |
| Figura 14 - | Esquema do método de Parshall | 47 |
| Figura 15 - | Equação química para a obtenção do $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) | 48 |
| Figura 16 - | Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans- cinamaldeído | 63 |
| Figura 17 - | Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1) | 64 |
| Figura 18 – | Espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1) | 66 |
| Figura 19 – | Ampliação do sinal no espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1)..... | 67 |
| Figura 20 – | Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafa (L1) | 68 |
| Figura 21 - | Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 69 |
| Figura 22 – | Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 70 |
| Figura 23 – | Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)..... | 71 |
| Figura 24 – | Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílicos (f^{+}) e eletrofílicos (f^{-}) | 73 |
| Figura 25 - | Espectro na região de IV do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 75 |
| Figura 26 - | Curva TG-DTA do complexo de $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 76 |
| Figura 27 – | Estrutura proposta do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 77 |

| | | |
|-------------|---|-----|
| Figura 28 - | Modos de coordenação mais comuns a azida | 79 |
| Figura 29 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) e $[Pd(Hfafa)_2(SCN)_2]$ (C3) | 81 |
| Figura 30 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4) e $[Pd(Hfafa)_2I_2]$ (C5)..... | 82 |
| Figura 31 – | Espectro de RMN de 1H do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) | 84 |
| Figura 32 – | Espectro de RMN de 1H do complexo $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4) | 85 |
| Figura 33 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ (C2) | 86 |
| Figura 34 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[PdBr_2(Hfafa)_2]$ (C4)..... | 87 |
| Figura 35 – | Curvas TG-DTA dos complexos de substituição..... | 89 |
| Figura 36 – | Estrutura proposta dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)..... | 90 |
| Figura 37 - | Curvas TG e DTA para $PdCl_2$ | 91 |
| Figura 38 - | Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C | 93 |
| Figura 39 - | Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ C2 | 95 |
| Figura 40 - | Empacotamento molecular do composto $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$ na cela..... | 96 |
| Figura 41 - | Plano traçado entre o centro simétrico do C2 | 96 |
| Figura 42 - | Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5..... | 99 |
| Figura 43 - | Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5..... | 100 |
| Figura 44 - | Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5. | 101 |
| Figura 45 - | Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1 | 102 |
| Figura 46 – | Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 103 |
| Figura 47 – | Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 104 |
| Figura 48 – | Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5..... | 105 |
| Figura 49 – | Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1 | 105 |
| Figura 50 - | Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e 10 μM | 106 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|---|-----|
| Tabela 1 - | Principais solventes utilizados nas sínteses..... | 43 |
| Tabela 2 - | Principais reagentes utilizados nas sínteses | 44 |
| Tabela 3 – | Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafa (L1) | 65 |
| Tabela 4 - | Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1) | 69 |
| Tabela 5 - | Fator de normalização da integral da densidade de elétrons..... | 72 |
| Tabela 6 - | Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1..... | 77 |
| Tabela 7 – | Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) ... | 78 |
| Tabela 8 - | Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN..... | 80 |
| Tabela 9 - | Principais modos vibracionais das ligações formadas com H..... | 83 |
| Tabela 10 - | Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição..... | 88 |
| Tabela 11 - | Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl_2 | 92 |
| Tabela 12 - | Dados Cristalográficos para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ C2..... | 94 |
| Tabela 13 - | Dados cristalográficos de ângulos de ligação | 97 |
| Tabela 14 - | Compostos que apresentaram atividade promastigota | 107 |
| Tabela 15 - | Compostos que apresentaram atividade amastigota..... | 108 |
| Tabela 16 - | Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)..... | 109 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------------|---|
| DNA - | Ácido desoxirribonucléico |
| RNA - | Ácido ribonucléico |
| pH - | potencial Hidrogeniônico |
| CHN - | Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio |
| IV - | Espectrofotometria de absorção na região no infravermelho |
| TG - | Termogravimétrica |
| DTA - | Análise Térmica Diferencial |
| RMN - | Ressonância Magnética Nuclear |
| RMN ¹ H - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H |
| RMN ¹³ C - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C |
| Reagentes P.A. - | Reagentes com pureza analítica |
| MetOH - | Álcool metílico |
| LiCl - | Cloreto de lítio |
| (v/v) - | Porcentagem em volume/volume |
| SAR - | Relação estrutura química e atividade biológica (Structure-activity relationship) |
| THF - | Tetrahidrofurano |
| DMSO - | Dimetilsulfóxido |
| CH ₃ CN - | Acetonitrila |
| CDCl ₃ - | Clorofórmio deuterado |
| DMSO-d ₆ - | Dimetilsulfóxido deuterado |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|-------------------------------|---|
| DRX - | Difratometria de raios-X |
| CCD - | Charge-coupled device (Dispositivo de carga acoplada) |
| K - | Temperatura em Kelvin |
| atm - | Atmosfera |
| k - | Constante de cela de condutância |
| ER ⁺ - | Estrogen receptor positive (Receptor estrógeno positivo) |
| ER ⁻ - | Estrogen receptor negative (Receptor estrógeno negativo) |
| PR ⁻ - | Progesterone receptor negative (Receptor progesterona negativo) |
| HER ² - | Epidermal growth factor receptor (Receptor para o fator de crescimento humano epidérmico-2) |
| <i>L. (L.) braziliensis</i> - | <i>Leishmania leishmania braziliensis</i> |
| <i>L. (L.) chagasi</i> - | <i>Leishmania leishmania chagasi</i> |
| RPMI 1640 - | Meio de cultura |
| <i>L. amazonensis</i> - | <i>Leishmania amazonensis</i> |
| Giemsa - | Corante utilizado para testes em amastigotas. |
| EDTA - | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| SRB - | Sulforrodamina B |
| TCA - | Ácido tricloroacético |
| (p/v) - | Porcentagem peso / volume |
| LIT - | Liver Infusion Triptose |
| SBF - | Soro bovino fetal |
| MHOM/BR/71973/M2269 - | Código de referência das cepas |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|---------------------|---|
| IC ₅₀ : | Índice de citotoxicidade - Concentração em porcentagem capaz de matar a população celular num meio biológico, neste caso 50% de citotoxicidade. |
| MTT - | Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolio) |
| UV/VIS - | Ultravioleta / Visível |
| CC ₅₀ - | Concentração citotóxica – Concentração e porcentagem capaz de inibir o crescimento celular em 50 % |
| MIC ₅₀ - | Concentração inibitória mínima em 50% |
| MIC ₉₀ - | Concentração inibitória mínima em 90% |
| v _{as} - | Estiramento assimétrico no espectro de absorção na região do IV |
| v _s - | Estiramento simétrico no espectro de absorção na região do IV |
| δ - | Deformação angular de ligação no espectro no IV, ou deslocamento químico no espectro de RMN |
| TMS - | Transportation Management System (Sistema de Gerenciamento de Transporte) |
| ppm - | Parte por milhão |
| ΔT/°C - | Variação de temperatura em grau Celsius |
| Δm % - | Variação de massa em porcentagem |
| % Calc. - | Porcentagem calculada |
| % Enc. - | Porcentagem encontrada |
| Endo - | Endotérmico |
| Exo - | Exotérmico |
| α - | Letra grega alfa |
| β - | Letra grega beta |

Lista de Abreviaturas e Siglas


| | |
|------------|---|
| γ - | Letra grega gama |
| HOMO – | Highest Occupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais alta energia ocupado por pelo menos um elétron) |
| LUMO – | Lowest Unoccupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais baixa energia não ocupado por elétrons) |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 | A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA | 20 |
| 1.2 | PALÁDIO | 26 |
| 1.3 | LIGANTES IMÍNICOS | 28 |
| 1.4 | PSEUDOHALETOS | 31 |
| 1.5 | POTENCIAL BIOLÓGICO | 33 |
| 1.5.1 | Aspectos gerais do câncer de mama | 33 |
| 1.5.2 | Aspectos gerais da leishmaniose e <i>Leishmania ssp.</i> | 36 |
| 1.5.3 | Aspectos gerais antifúngicos | 38 |
| 2 | OBJETIVOS | 41 |
| 3 | PARTE EXPERIMENTAL | 43 |
| 3.1 | SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1) | 45 |
| 3.2 | SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II) | 46 |
| 3.2.1 | Síntese do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) | 47 |
| 3.3 | REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES | 48 |
| 3.3.1 | Síntese de complexos do tipo $[PdX_2(Hfafa)_2]$ sendo X = N ₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) | 49 |
| 3.4 | METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO | 50 |
| 3.4.1 | Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição..... | 50 |
| 3.4.2 | Testes de solubilidade | 50 |
| 3.4.3 | Análise elementar..... | 50 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.4.4 | Espectroscopia de absorção na região do infravermelho..... | 51 |
| 3.4.5 | Análise térmica..... | 51 |
| 3.4.6 | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear | 51 |
| 3.4.7 | Difração de raios-X..... | 52 |
| 3.4.8 | Condutividade Elétrica | 53 |
| 3.4.9 | Propriedades eletrônicas | 53 |
| 3.5 | TESTES BIOLÓGICOS | 54 |
| 3.5.1 | Avaliação da Citotoxicidade | 54 |
| 3.5.2 | Avaliação antileishmania | 58 |
| 3.5.3 | Avaliação antifúngica | 60 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 62 |
| 4.1 | LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)..... | 62 |
| 4.1.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 62 |
| 4.1.2 | Espectroscopia de RMN de ^1H | 66 |
| 4.1.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 68 |
| 4.1.4 | Cálculos DFT | 70 |
| 4.2 | COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)..... | 73 |
| 4.2.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 74 |
| 4.2.2 | Espectroscopia de RMN | 75 |
| 4.2.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 76 |
| 4.3 | COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5) | 78 |
| 4.3.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 78 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| 4.3.2 | Espectroscopia de RMN | 83 |
| 4.3.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 87 |
| 4.3.4 | Difração de raios X | 93 |
| 4.4 | TESTES BIOLÓGICOS | 98 |
| 4.4.1 | Teste antitumoral | 98 |
| 4.4.2 | Teste anti-leishmania | 107 |
| 4.2.3 | Teste antifúngico | 108 |
| 5 | CONCLUSÃO | 111 |
| | REFERÊNCIAS | 114 |
| | ANEXOS | 127 |



Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Normalmente, quando se pensa em fármacos, a primeira idéia que surge é a de compostos orgânicos, e por muito tempo a Química Orgânica foi apresentada como “a química da vida”. Acreditou-se durante muito tempo que somente os compostos orgânicos e as reações que os envolviam eram indispensáveis para a Vida, e que os elementos e compostos comumente chamados “inorgânicos” eram escasso ou não tinham nenhum significado para os sistemas vivos (BARAN, 2005).

Com o passar dos anos, descobriu-se que os metais têm um papel importante nos sistemas vivos, uma vez que quatro metais do grupo principal (Na, K, Mg e Ca) e oito metais de transição (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, V e Mo) possuem seus íons como sendo necessários para importantes funções biológicas nos seres humanos (BARRY; SADLER, 2013). A Química Inorgânica contribui à Química Medicinal no desenvolvimento de novos medicamentos com propriedades farmacológicas específicas a partir da escolha do metal devido a suas propriedades (BERALDO, 2005), tais como diversos estados de oxidação, números de coordenação, geometrias, como também efeitos termodinâmicos e cinéticos característicos de cada íon metálico (BRUIJNINCX; SADLE, 2008).

1.1 A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA

Ainda que os estudos envolvessem a ação dos metais no organismo seja relativamente recente, seu uso em Medicina vem sendo praticado há aproximadamente 5000 anos (Figura 1). De fato, os egípcios usavam cobre para esterilizar a água a 3000 anos antes de Cristo, e o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e na China há 3500 anos, mais em razão da natureza preciosa do metal do que de suas propriedades medicinais, pois se acreditava que um metal nobre deveria trazer benefícios ao organismo. Medicamentos contendo ferro eram usados no Egito 1500 anos antes de

Introdução

Cristo e já no século dezesseis o médico suíço Theophrastus Paracelsus desenvolvia e usava medicamentos à base de mercúrio, arsênio, estanho, chumbo e antimônio.

Figura 1 – Egípcios praticando medicina

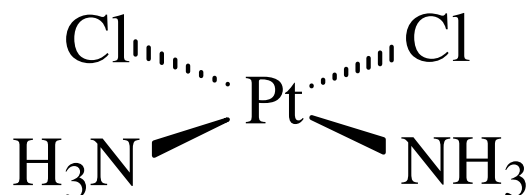


Fonte: Calogeras

A Química Medicinal Inorgânica começou a deixar sua marca na década de 50 e 60, os químicos começaram a se concentrar em toda a tabela periódica e não apenas nos elementos C, H, O, N (RONCONI; SADLER, 2008). Com o estudo de todos os elementos da tabela periódica, descobertas importantes foram feitas ao longo dos anos, como ferroceno (PAUSON; MILLER, 1951) e fluoretos de xenônio (BARTLETT, 1962).

No entanto, Química Medicinal dedicava-se principalmente ao estudo de compostos orgânicos e produtos naturais até a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina (Figura 2), observada pelo físico Barnett Rosenberg em 1965. Em 1968, após novos testes frente às várias bactérias, a cisplatina foi administrada por via intraperitoneal a camundongos portadores de tumor e foi mostrado regressão do tumor (BAI et al., 2017).

Figura 2 - Representação da estrutura da Cisplatina

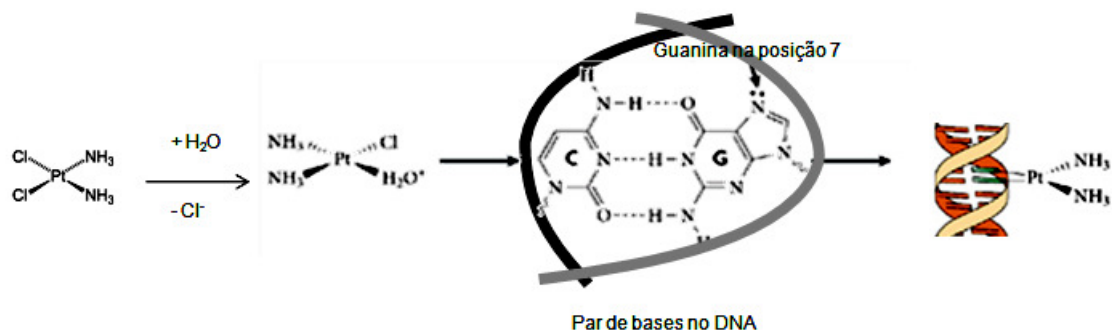


Fonte: Stevanato (2009, p. 43).

Com o sucesso da cisplatina em uso clínico, administrados em pacientes terminais e, em seguida, nos tumores localizados, como nos casos de câncer testicular e ovariano, precipitou um renascimento na química inorgânica e levou à síntese e avaliação biológica de muitos milhares de análogos de cisplatina, e uma investigação completa de outros elementos próximos da tabela periódica (por exemplo, paládio e ouro).

Em uso clínico atualmente, a cisplatina é utilizada no tratamento de câncer testicular, ovário, bexiga, cabeça e pescoço, pulmão e cânceres do colo do útero (HO; WOODWARD; COWARD, 2016), mas tem, no entanto, desvantagens. Uma grande porcentagem de cânceres humanos tem uma resistência natural ao tratamento com a cisplatina (LIPPERT, 2013), seja aquela adquirida durante ciclos de terapia com o fármaco (ocorre em pacientes com câncer de ovário) ou resistência intrínseca (visto em pacientes com colorretal, câncer de próstata, pulmão ou mama). Além disso, a cisplatina tem grandes efeitos colaterais limitantes quanto a dose do medicamento. Pacientes tratados com cisplatina mostraram sinais graves de nefrotoxicidade (KARAKOC et al., 2015), neurotoxicidade e ototoxicidade (FREITAS et al., 2009). Outros grandes efeitos registrados incluem pressão arterial elevada, diarreia, náusea e vômito grave (TULLY et al., 2015). Por conseguinte, os efeitos colaterais da cisplatina ainda representam uma grande desvantagem para o uso desta droga. Isso tem provado ser um objetivo muito mais desafiador, com base em um subjacente conhecimento de como a cisplatina atua frente ao tumor e, mais importante, como os tumores tornam-se resistentes (Figura 3).

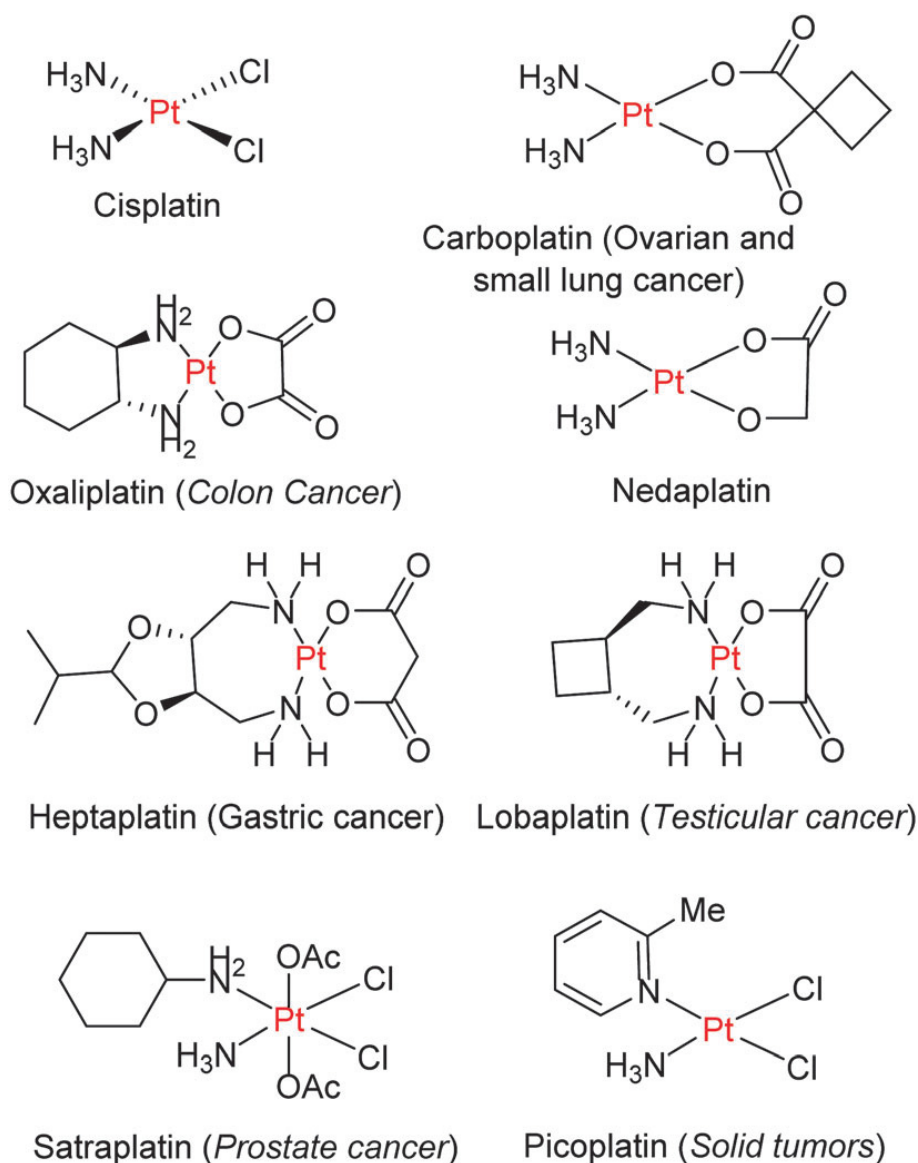
Figura 3 – Mecanismo de reação da Cisplatina ao DNA



Fonte: Andrade

Atualmente, os fármacos mais utilizados como quimioterápicos são os baseados em Pt(II) (HO; WOODWARD; COWARD, 2016). Têm-se também os análogos mais conhecidos como a carboplatina e oxaliplatina. Outros compostos farmacológicos foram aprovados, como a nedaplatina (Japão; SHIONOGI & CO. Ltd.), heptaplatina (Coréia do Sul; SK PHARMA), lobaplatina (China). Ainda têm os fármacos que estão nos estágios de desenvolvimento como a satraplatina (GPC BIOTECH & PHARMION); miriplatina (DAINIPPON SUMITOMO PHARMA E BRISTOL-MYERS K.K.); prolindac (ACCESS PHARMACEUTICALS); BP-C1 (MEABCO); Complexo Lipico de cisplatina (TRANSAVE); aroplatina (ANTIGENICS); e picoplatina (POINARD) (Figura 4).

Figura 4 - Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais.



Fonte: Kapdi; Fairlambb, 2014.

Porém, existe a aplicação de outros derivados metálicos como metalofármacos e agentes de diagnóstico. Destacam-se os compostos de Bi(III), como o citrato de bismuto ranitidina, no tratamento de distúrbios gastrointestinais e na erradicação da bactéria *Gram-negativa Helicobacter pylori* (LI; SUM, 2012), complexos de ouro(I), como a auranofina, empregada no tratamento da artrite reumatóide (SHAW, 1999), o nitroprussiato de sódio, um complexo de Fe(III) usado em emergências cirúrgicas como vasodilatador, o carbonato

Introdução

de lítio, utilizado no tratamento de desordem bipolar, o nitrato de gálio(III), utilizado para tratamentos de hipercalcemia relacionada ao câncer, fármacos antimoniais, como o gluconato de antimônio(V) sódico, usado para tratar leishmaniose (DEMICHELI et al., 2002), sulfato de bário, usado como agente de contraste em radiografia gastrointestinal, $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ ($^{153}\text{Sm-Lexidronam}$), usado no tratamento paliativo de dores ósseas resultantes de metástases e os complexos $^{111}\text{In-DPTA}$ (Pentetato de ^{111}In), $^{99\text{m}}\text{Tc-Cardiolite}$ e $^{67}\text{Ga-citrato}$ usados como agentes de contraste em cintilografia (MJOS; ORVIG, 2014).

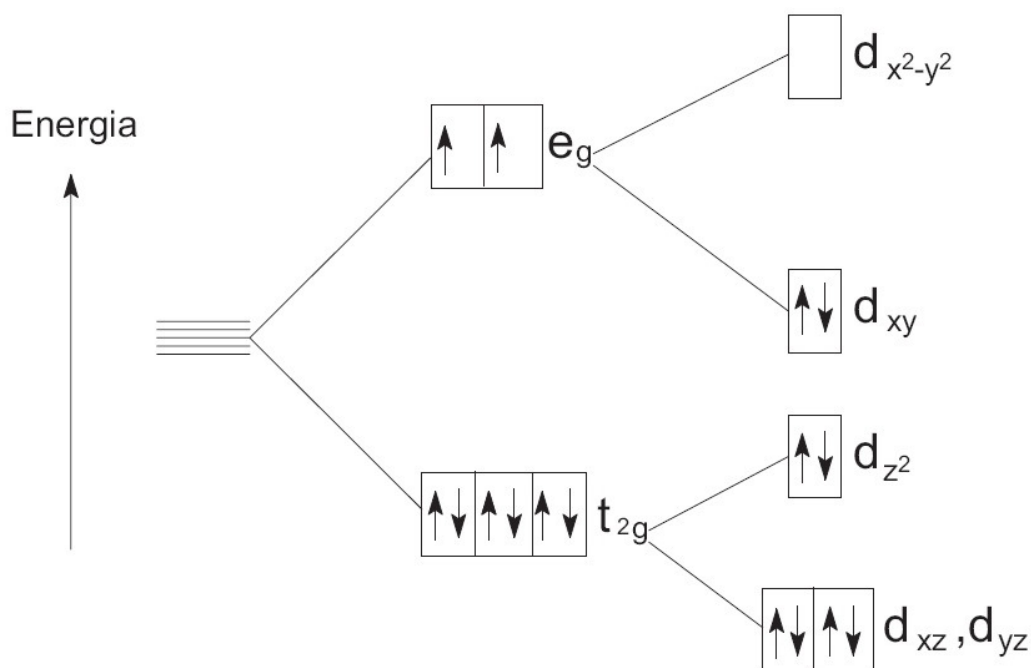
Mundialmente, a demanda por medicamentos à base de platina tem crescido constantemente (GAUTIER; CISNETTI, 2012). A especificidade demonstrada em relação a certas linhas celulares de cancro levou os investigadores a procurar alternativas. Uma das alternativas que tem mostrado uma promessa considerável tem sido o desenvolvimento de outros candidatos a medicamentos baseados em metal de transição (GABBIANI; MESSORI, 2011; CASINI; MESSORI, 2011). Os complexos baseados em paládio estão intimamente relacionados aos seus análogos de platina, devido às suas semelhanças estruturais e à sobreposição significativa da química de coordenação para os dois metais. Um dos primeiros estudos de Graham e colaboradores (1979) defendeu o uso de complexos de paládio como possíveis agentes anticancerígenos. Uma série de novos complexos de paládio foi sintetizada, os quais exibem uma atividade promissora contra linhas celulares tumorais (pulmão, próstata, etc.). Em vários casos, os complexos de paládio exibiram uma melhor atividade antitumoral do que os seus equivalentes de platina (cisplatina, carboplatina, etc.).

Em termos de utilidade, o padrão de dissociação lenta dos complexos de platina em comparação com o paládio (105 vezes mais rápido) os torna mais aplicáveis. Uma tendência recente observada em drogas anticâncer baseadas em paládio é focar no desenvolvimento de complexos de paládio com taxas de hidrólise mais lentas provocadas pela escolha dos ligantes (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

1.2 PALÁDIO

O paládio é um metal de transição pertencente ao grupo da platina e pode ser encontrado em diversos estados de oxidação, os principais são II e IV. O Pd(II) é o estado de oxidação mais estável e pode ser encontrado na forma de óxidos, haletos, nitratos e sulfatos. Apresenta configuração eletrônica $_{46}\text{Pd}^{2+}: 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 4d^8$. Ele é paramagnético, mas todos os seus complexos são diamagnéticos e apresentam principalmente coloração vermelha, marrom ou amarela (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Todos os complexos de Pd(II) são diamagnéticos, exceto o íon paramagnético $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ que é formado em ácido clorídrico. Quando o íon metálico central de um complexo apresenta uma configuração d^8 em campo octaédrico, seis elétrons ocuparão os orbitais t_{2g} e dois elétrons ocuparão os orbitais e_g (Figura 5) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Figura 5 - Configuração d^8 num campo octaédrico fraco



Fonte: Lee (2000, p. 111).

Os complexos de paládio mais estáveis possuem a configuração eletrônica d^8 [estado de oxidação (II)], são diamagnéticos e apresentam geometria quadrado-planar. Estes complexos apresentam os cinco orbitais d degenerados em um íon livre, são desdobrados em quatro níveis diferentes. O tipo de desdobramento depende do arranjo simétrico dos ligantes (GRAY; BALLHAUSEN, 1962).

As aplicações dos compostos de coordenação de Pd(II) são muitas, em virtude da extensa variedade de ligantes que a ele se coordena (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Por muitos anos, os complexos de paládio foram investigados e têm encontrado diversas aplicações, como em catálise (LIU et al., 2016), Química supramolecular (WEN; YANG, 2016), na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos (KOHOUT et al., 2017), na área médica como agentes antitumorais (CAMPANELLA et al., 2012), entre outras. Na Química Medicinal Inorgânica destacam-se os derivados de Pd(II) sobre as espécies organopaladados mono, bi e polinucleares com propriedades biológicas, frente à atividade biológica envolvendo interações dos complexos com DNA e RNA (ALMEIDA et al., 2005). O estudo de citotoxicidade *in vitro* do complexo de paládio apresentou inibição do crescimento contra diferentes linhagens de células como K-562 (Leucemia), HCT-15 (câncer de cólon), MCF-7 (câncer de mama), U-251 Glio (sistema nervoso central) e PC-3 (cancro da próstata) (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

Supôs-se que uma melhoria na atividade dos complexos de paládio era devida à presença do átomo N adequado para auxiliar a ligação eficaz de íons metálicos aos fragmentos de ácido nucléico em relação àqueles contendo ligantes doadores N heterocíclicos (COLUCCIA, 1993). Logo, a escolha criteriosa dos ligantes desempenha um papel importante na definição da geometria ao redor do centro de paládio, que na maioria dos casos é de natureza trans (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

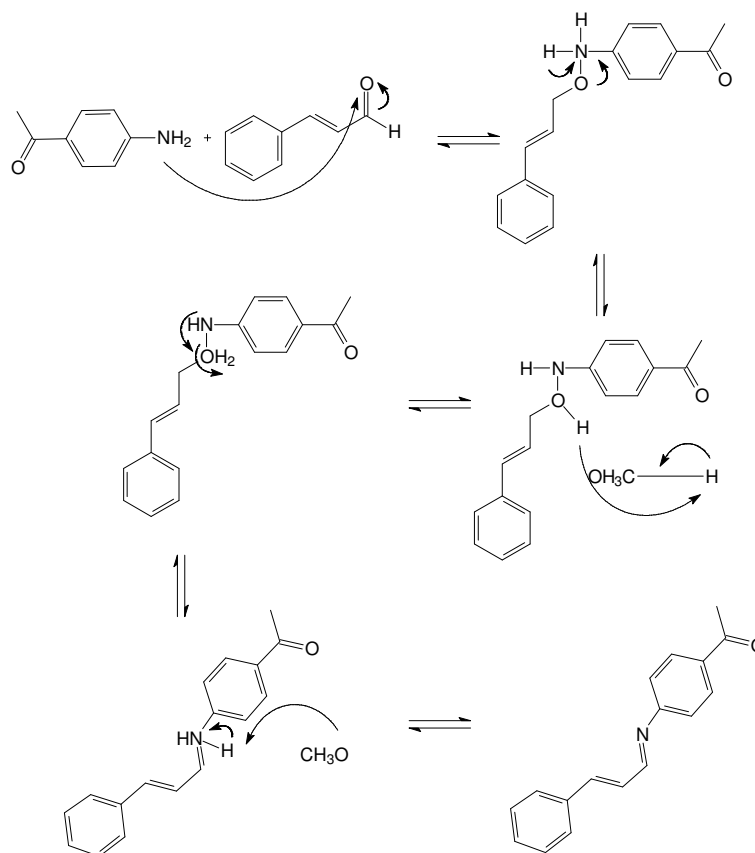
1.3 LIGANTES IMÍNICOS

Hugo Schiff, em 1864, descreveu a condensação de uma amina primária com um composto contendo um grupo carbonila ativo, (uma cetona ou um aldeído) onde a carbonila é substituída por um grupo imina, produzindo um composto conhecido como base de Schiff. Estas são bases de Lewis extremamente eficazes e apresentam o grupo funcional, geralmente hidroxila, perto do sítio de coordenação a ponto de permitir que anéis quelatos de cinco ou seis membros sejam formados por meio da reação com íons metálicos.

Esses compostos são considerados “ligantes privilegiados”, por serem capazes de estabilizar diversos metais em vários estados de oxidação podendo controlar o desempenho dos íons em diversas transformações catalíticas (COZZI, 2004). As bases de Schiff possuem estrutura bem definida e ampla funcionalidade orgânica, podem complexar centros metálicos com grande facilidade. Levando em consideração a versatilidade de suas propriedades estéricas e eletrônicas, é possível aplicar estes compostos em diversas áreas, tais como atividades biológicas (ZAYED; ZAYED; EL-DESAWY, 2015; AL-NOOR; AZIZ; AL- JEBOORI, 2014), organometálicos (SOARES et al., 2014), atividades catalíticas (REN et al., 2014), entre outras.

Atualmente, os ligantes neutros mais utilizados são piridina (py) (CHEN, 2009), bipyridina (bipy) (HOLLER, 2010), terpiridina (terpy), fenantrolina (phen) (FANG, 2007), óxidos de trifenilfosfina (tppo) (ELISEEVA, 2004). As bases de Schiff podem ser sintetizadas de várias maneiras, adotando métodos diferentes (KAFKA; KAPPE, 1997), enquanto que a condensação catalisada por ácido de amins e aldeídos e cetonas é a mais comum. Trata-se de uma reação em duas etapas, na qual o ataque nucleofílico pelo átomo de nitrogênio do carbono carbonílico é o primeiro que resulta no intermediário da carbinolamina, que é instável. No segundo passo, o intermediário sofre desidratação para formar uma ligação dupla de carbono que é conhecida como base de Schiff (GULL; HASHMI, 2017), (Figura 6).

Figura 6 – Mecanismo da síntese da base de Schiff



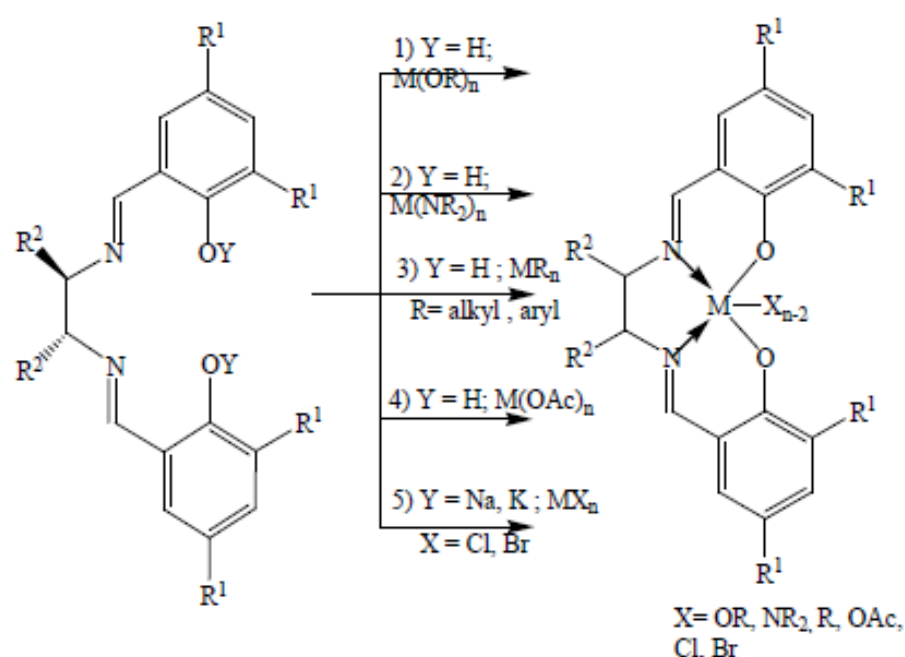
Fonte: Do Autor.

Complexos de metais contendo base de Schiff são comumente sintetizados pela reação de sais metálicos com ligantes de base de Schiff sob condições de reação específicas. Segundo Cozzi (2004), cinco vias sintéticas são descritas para a síntese do complexo de metal base de Schiff e são apresentadas como segue na Figura 7.

A rota 1, usa os óxidos metálicos $[M(OR)_n]$ que estão facilmente disponíveis para uso particularmente de metais de transição. Na rota 2, as amidas de metais, são utilizados como precursores na síntese de complexos metálicos baseados em bases de schiff. Várias outras rotas utilizadas como rotas sintéticas consistem na reação direta da base de Schiff e do íon metálico, rota 3. Na rota 4 ou reação das bases de Schiff com os correspondentes acetatos metálicos em refluxo. O esquema descrito na Rota 5, que é um pouco eficaz na síntese de complexos metálicos do tipo salen, compreende uma reação em

duas etapas, a desprotonação da base de Schiff e a reação com sais metálicos. Os hidrogênios fenólicos podem ser desprotonados efetivamente usando hidreto de sódio ou potássio. O hidreto na coordenação de solventes e o excedente NaH ou KH podem ser removidos por filtração (GULL; HASHMI, 2017).

Figura 7 – Rota sintética dos complexos metálicos



Fonte: Do Autor.

As bases de Schiff e seus complexos metálicos emergem como um campo diverso de química e desempenham um papel importante no desenvolvimento e progresso de coordenação química (ODDS; BROWN; GOW, 2003). A escolha do ligante orgânico tem muita importância para os complexos de paládio, pois se sabe também que as bases de Schiff exibem propriedades biológicas e são principalmente usadas como drogas em medicamentos (PATOLE et al., 2006). Estudos experimentais têm mostrado que a incorporação do íon metálico aumenta a atividade biológica das bases de Schiff sobre a quelação (PUTHILIBAI, 2009; AVAJI, 2009).

1.4 PSEUDOHALETOS

O termo pseudo-halogênio foi introduzido em 1925 e refere-se à forma molecular de compostos como cianogênio $(\text{CN})_2$ e ditiocianogênio $(\text{SCN})_2$. Também pode ser aplicado às moléculas como o N_2O_4 ou $(\text{SCSN}_3)_2$. Em paralelo ao termo pseudo-halogênio há outros: pseudo-haleto, grupo pseudo-halogênio e derivados pseudo-halogenados. Enquanto o termo pseudo-haleto refere-se ao ânion, a designação de grupo pseudo-halogênio é utilizada para se referir aos mesmos quando covalentemente ligados às moléculas orgânicas (SARGENTELLI, 1996).

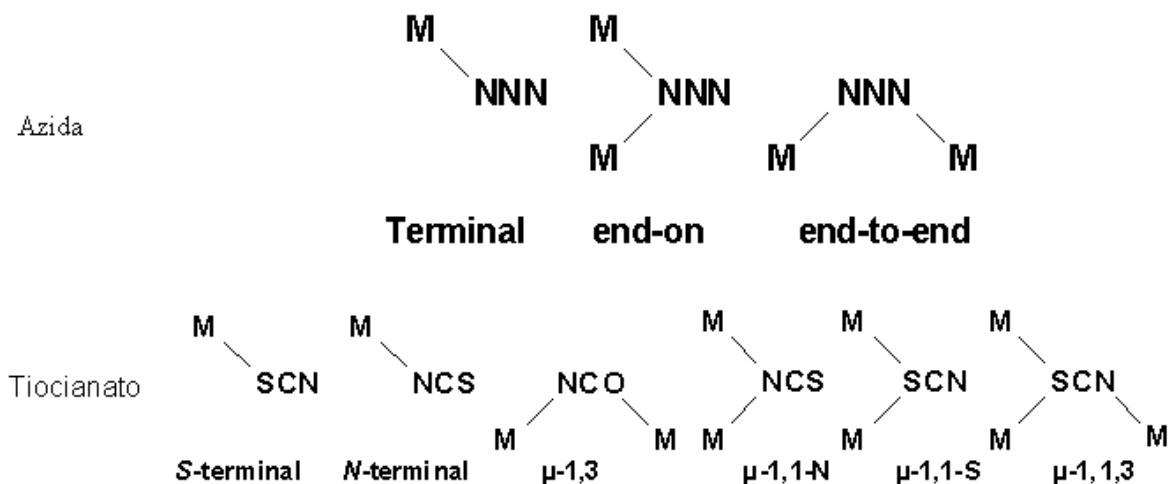
Os principais pseudo-haletos são os seguintes íons: azida (N_3^-) , cianato (OCN^-) e seu isômero o fulminato (CNO^-) , tiocianato (NCS^-) , cianeto (CN^-) , selenocianato (NCSe^-) , cianamida $(\text{N}(\text{CN})_2^-)$ e triclanometanida $(\text{C}(\text{CN})_3^-)$ (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A designação destes íons como pseudo-haletos decorre de semelhanças entre as propriedades dos mesmos com aquelas dos haletos autênticos. Destacam-se as seguintes propriedades: são geralmente voláteis quando estão no estado livre; reagem entre si formando compostos como os compostos FN_3 e $\text{I}_2\text{Br}_2\text{Cl}^-$; ligam-se a radicais orgânicos (alquilas) formando compostos covalentes, RX e uma de sua propriedade mais importante é a capacidade de formarem complexos estáveis com muitos metais de transição, podendo coordenar-se ao íon metálico de diferentes modos (SANTOS; NEVES, 1984).

Apesar da similaridade, três diferenças são marcantes entre os pseudo-haletos e os haletos, a saber: os ácidos constituídos por haletos são mais fortes do que os dos pseudo-haletos; a insaturação dos pseudo-haletos a qual lhes confere acentuada propriedade como agentes complexantes e a reatividade destes íons, possibilitando a formação de novas espécies coordenadas ao centro metálico (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986).

Na química inorgânica os íons azida (NNN^-) , tiocianato (NCS^-) e cianato (NCO^-) constituem diversos sais e na química de coordenação são conhecidos compostos contendo estes pseudo-haletos com praticamente todos os metais de transição. Os mesmos coordenam-se nos modos terminal ou ponte originando espécies monoméricas ou

poliméricas (GODOY NETTO, 2003; NAKAMOTO, 1986). Quando em ponte, podem atuar como ligantes *end-on* ($\mu-1,1$) ou *end-to-end* ($\mu-1,3$) (Figura 8).

Figura 8 - Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato



Fonte: Moro, 2007.

Ralph Pearson usa a polarizabilidade das espécies para classificá-las como ácidos e bases duros (aos que possuem baixa polarizabilidade), ácidos e bases moles aos que possuem alta polarizabilidade. E a interação entre ácidos moles e bases moles são mais efetivas, da mesma forma que ácidos duros com bases duras (VASCONCELLOS, 2014). O íon paládio(II), de acordo com a teoria de Person, é um ácido mole e com isso, espera-se melhor interação com bases moles. Dentre os haletos e pseudohaletos que se enquadram nessa classificação podemos citar: I^- , SCN^- e CN^- , em comparação aos haletos e pseudohaletos relativamente com maciez intermediária, Br^- , N_3^- , NCS^- , NCO^- . Já os haletos F^- e Cl^- , são considerados como base duras e são facilmente substituídos por haletos/pseudohaletos mais macios (MIESSLER; FISCHER; DONALD, 2014).

1.5 POTENCIAL BIOLÓGICO


Atualmente, compostos inorgânicos são constantemente avaliados quanto aos seus efeitos farmacológicos, na esperança de alcançar curas efetivas para várias doenças. Os agentes quimioterápicos são substâncias químicas que exercem ação seletiva sobre as espécies patogênicas. De acordo com o tipo de microrganismo, os agentes quimioterápicos são classificados em: antihelmínticos, antiprotozoários, antifúngicos, antibacterianos, antivirais e antineoplásicos (ALMEIDA, 2003). Alguns agentes quimioterápicos podem apresentar um ou mais dos seguintes efeitos: *-stático*, quando inibem o crescimento ou multiplicação ulterior do organismo ou célula invasora; *-cida*, quando o matam ou destroem. A busca por novas moléculas evoluiu para a obtenção de novos compostos no âmbito da pesquisa da Química Medicinal inorgânica para avaliação biológica sobre algumas doenças de interesses científicos.

1.5.1 Aspectos gerais do câncer de mama

A neoplasia maligna mais comum em mulheres (com exceção do câncer de pele não melanoma), tanto nacional quanto internacionalmente, é o câncer de mama. A estimativa para o Brasil, no biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer e são esperados 57.960 novos casos de câncer de mama, sendo 5.160 para Minas Gerais (BRASIL, 2015).

Introdução

Figura 9 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo

| Localização primária | casos novos | percentual | | | Localização primária | casos novos | percentual |
|-----------------------------|-------------|------------|---|--------|-----------------------------|-------------|------------|
| Próstata | 60.180 | 30,8% |  | Homens | Mama Feminina | 52.680 | 27,9% |
| Traqueia, Brônquio e Pulmão | 17.210 | 8,8% | | | Colo do Útero | 17.540 | 9,3% |
| Cólon e Reto | 14.180 | 7,3% | | | Cólon e Reto | 15.960 | 8,4% |
| Estômago | 12.670 | 6,5% | | | Glândula Tireoide | 10.590 | 5,6% |
| Cavidade Oral | 9.990 | 5,1% | | | Traqueia, Brônquio e Pulmão | 10.110 | 5,3% |
| Esôfago | 7.770 | 4,0% | | | Estômago | 7.420 | 3,9% |
| Bexiga | 6.210 | 3,2% | | | Ovário | 6.190 | 3,3% |
| Laringe | 6.110 | 3,1% | | | Corpo do Útero | 4.520 | 2,4% |
| Linfoma não Hodgkin | 5.190 | 2,7% | | | Linfoma não Hodgkin | 4.450 | 2,4% |
| Sistema Nervoso Central | 4.820 | 2,5% | | | Sistema Nervoso Central | 4.450 | 2,4% |

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

Fonte: Brasil, 2015.

Os tumores mamários são heterogêneos (que possui natureza desigual e/ou apresenta diferença de estrutura), sendo este um dos maiores desafios na prática clínica, tendo em vista que tumores com os mesmos tipos histológicos, estágios e graus de diferenciação podem apresentar desfechos distintos em relação aos fatores prognósticos e às respostas aos tratamentos instituídos, principalmente, devido a diferentes alterações moleculares (CHEANG et al., 2009). A prevenção primária dessa neoplasia ainda não é totalmente possível em razão da variação dos fatores de risco e das características genéticas que estão envolvidas na sua etiologia. Novas estratégias de rastreamento factíveis para países com dificuldades orçamentárias têm sido estudadas e, até o momento, a mamografia é recomendada como método efetivo para detecção precoce (BRASIL, 2015).

Apesar do sucesso terapêutico da cisplatina, os seus efeitos indesejados justificam a busca por novos compostos com efeito antitumoral comparável ou melhor que a cisplatina, porém, com menor toxicidade sistêmica. A platina e outros metais de transição apresentam interesse particular para o desenvolvimento de compostos antitumorais devido à forte interação desses metais com o DNA, embora, possam se ligar a outros alvos moleculares como as proteínas contendo tióis e participar de processos de óxido-redução (MEDICI et al., 2015). Assim, vários complexos utilizando metais de transição têm sido sintetizados e estudados, como é o caso de complexos de paládio (II), que apresentam analogia estrutural e termodinâmica aos complexos de platina (CUTILLAS et al., 2013; GAO et al., 2009;

Introdução

GAUTIER; CISNETTI, 2012;). Vários estudos têm demonstrado que os complexos de Pd(II) apresentam atividade citotóxica similar aos complexos e Pt(II), cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, com menos efeitos adversos e maior solubilidade em água (GAO et al., 2009; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

Os primeiros complexos de Pd(II) apresentaram pouca ou nenhuma aplicação como antitumorais, devido à sua rápida hidrólise em ambientes biológicos, cerca de 10^5 vezes mais rápida do que os análogos contendo platina. A rápida dissociação em meio aquoso impede que os complexos atinjam o alvo farmacológico e aumenta o risco de formação de compostos reativos, com potencial para interferir em processos bioquímicos das células normais (CAIRES, 2007; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

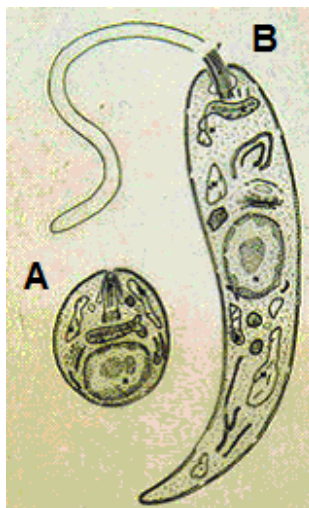
Em geral os complexos de Pd(II) são divididos em 2 grupos principais: aqueles com ligantes doadores de enxofre e os complexos com ligantes doadores de nitrogênio e outros doadores. A atividade biológica dos metalocomplexos está diretamente relacionada ao ligante, que desempenha papel crucial na estabilização do estado de oxidação específico do metal, na modificação da reatividade e lipofilicidade e ainda deve ser inerte (MOTSWAINYANA et al., 2013).

Ulukaya et al. (2011) e Ari et al. (2014) demonstraram que um complexo de Pd(II) mononucleado, contendo terpiridina apresentou citotoxicidade para células MCF-7 e MDA-MB-231 de adenocarcinoma mamário humano e o mecanismo de ação inclui a quebra de dupla fita do DNA e aumento do estresse oxidativo, o que levou as células a morte (ADIGUZEL et al., 2014). Campanella et al. (2012) utilizando complexos de Pd(II) contendo imina e difenilfosfina, $[Pd(ca_2-o-phen)Cl_2]$ e $[Pd(dmba)(dppp)Cl]$, respectivamente, demonstraram o efeito citotóxico para a linhagem de células MDA-MB-435, de adenocarcinoma mamário humano triplo-negativo. Outros complexos de Pd(II) ininico-fosfínicos também se mostraram citotóxicos para células MCF-7, sendo mais eficientes que a cisplatina (MOTSWAINYANA et al., 2013). Resultados semelhantes foram obtidos por Banti et al. (2015), com dois complexos trifenilfosfínicos de Pd(II) testados em células MCF-7.

1.5.2 Aspectos gerais da leishmaniose e *Leishmania* ssp.

O gênero *Leishmania* é constituído de várias espécies de protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae e à ordem Kinetoplastida, que se caracterizam pela presença de uma estrutura extranuclear rica em DNA, denominada cinetoplasto (LAINSON; SHAW, 1972). Em 1903, Leishman e Donovan separadamente descreveram um protozoário num tecido de baço, que hoje é chamado *Leishmania donovani* (HERWALDT, 1999). O parasito existe em duas formas: e a forma intranuclear amastigota (Figura 8A), que é ovalada, não apresenta flagelo visível na microscopia ótica, é encontrada no interior dos fagolisossomos dos macrófagos do hospedeiro mamífero, onde sobrevivem e se multiplicam e a forma extranuclear promastigota (Figura 8B), que é fusiforme, apresenta núcleo central e possui flagelo, organela relacionada à locomoção do parasito no tubo digestivo do inseto (CROFT; COOMBS, 2003).

Figura 10 - Formas evolutivas do protozoário *Leishmania*



Legenda: A. Amastigota

B. Promastigota

Fonte: Fiocruz, 1997.

Introdução

As leishmanioses se caracterizam pelo parasitismo intracelular do sistema fagocitário mononuclear, a partir da picada do vetor flebotomíneo-fêmea infectado com as formas promastigotas de *Leishmania* que, após inoculação no hospedeiro vertebrado se transformam em amastigotas no vacúolo parasitóforo de macrófagos (LAINSON; SHAW, 1992).

O medicamento mais utilizado para o combate a *Leishmania* são complexos de antimônio pentavalente, Anfotericina B e a Pentamidina. No entanto, estes agentes apresentam desvantagens como o modo de administração parenteral, de longa duração da terapêutica, efeitos tóxicos, custo e parasita resistente (GUERIN et al., 2002). Com base nestas considerações, o estudo de novas drogas para o tratamento das leishmanioses é importante, uma vez que vários estudos que avaliaram esses medicamentos não apresentaram resultados conclusivos (DOGRA; SAXENA, 1996). Azitromicina tem sido usado para tratar infecções causadas principalmente por microorganismos intracelulares, devido à sua distribuição tecidual dentro de fagócitos e sua longa meia vida (PETERS; FRIEDEL; McTAVISH, 1992).

A atividade dos metais sobre a *Leishmania* foi descrita por alguns autores como Navarro e colaboradores (2003) que testaram a atividade leishmanicida de complexos de cobre (Cu) sobre formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* comprovando sua interação com o DNA do parasita. Além disso, também já foi relatada a atividade do ouro (Au) sobre culturas de promastigotas de *L. mexicana* interagindo sobre o DNA por intercalação (NAVARRO et al., 2010). Iniguez e colaboradores (2014) também demonstraram atividade de complexos com rutênio sobre *Leishmania*.

Os complexos contendo paládio(II) têm chamado a atenção como uma alternativa para novas drogas com base metálica, visto que sua coordenação geométrica e processo de formação de complexo são similares aos da platina (II) (TUŠEK-BOŽC et al., 2008). Na literatura tem sido descrito a síntese de novos compostos de paládio pelas reações de adição ou substituição por grupos radicalares como haletos ou pseudohaletos sobre a atividade antileishmania do tiocianato relatado por Franco (2013).

1.5.3 Aspectos gerais antifúngicos

Os fungos podem causar infecções, sendo denominadas micoses as infecções fúngicas. Os fungos (Figura 11) podem ser patogênicos ou não, são seres eucarióticos, heterotróficos, possuem parede celular rígida composta por quitinas e polissacarídeos, além de apresentarem membrana celular envolvendo o material genético, membrana composta de ergosterol e núcleo. Sua morfologia pode variar dependendo de condições nutricionais de fatores ambientais (pH, temperatura, atmosfera O_2/CO_2) (TRABULSI et al., 2005; LEVINSON; JAWETZ, 2005).

Figura 11 – Cultivo de fungo em placa de Petri




Fonte: Alcântara, 2017

Com o passar dos anos o desenvolvimento de fármacos eficientes para combater infecções microbianas revolucionou tratamentos médicos com a redução de mortes ocasionadas por tais doenças. No entanto, o uso de antibióticos indiscriminável resultou na resistência dos microrganismos. Isso se tornou um grande problema mundial de saúde pública, uma vez que limita as opções de fármacos disponíveis no mercado, sendo importante a busca por novos agentes antimicrobianos (OPLUSTIL, 2012).

Nesse contexto o uso de compostos inorgânicos no tratamento de doenças como agentes antifúngicos vem sendo muito utilizado. Como exemplo cita-se as tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos. As tiossemicarbazonas por si, já

Introdução

apresentam ampla atividade antimicrobiana, sendo ativas em diferentes culturas de fungos, porém, sua complexação com metais de transição aumentam seu potencial antifúngico, como os complexos de cobalto (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998). Além disso, vários trabalhos evidenciam os estudos antibacterianos e antifúngicos dos complexos de platina (KUSHEV, et al., 2002; WATABE, et al., 1999). A síntese de dois complexos Pt(II), $[\text{Pt}(\text{achsh})_2\text{Cl}_2]$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{achsh})\text{Cl}_2]$ realizadas por Kushev e colaboradores (KUSHEV, D. et al., 2002) ao serem testados em culturas de fungos e bactérias apresentaram atividade similar e, ou, maior comparadas a cisplatina.



Capítulo 2


OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Diante do exposto, percebe-se a necessidade do desenvolvimento de novos complexos de Pd(II) e estudos para o conhecimento das atividades biológicas dos complexos metálicos. Assim, o objetivo desse trabalho foi a síntese, caracterização e a avaliação das potencialidades farmacológicas de complexos de paládio(II) contendo o ligante imínico 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafa).

Deste modo, o presente trabalho tem os seguintes objetivos específicos:

- a) Síntese do novo agente complexante nitrogenado (Base de Schiff ou iminas), 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafa), e realizar a coordenação deste agente complexante com o paládio(II);
- b) Síntese dos novos complexos de Pd(II) através da troca de cloreto (Cl⁻) por outros haletos: brometo (Br⁻) e iodeto (I⁻) e pseudohaletos: tiocianato (SCN⁻) e azida (N₃⁻);
- c) Caracterização dos novos compostos utilizando as técnicas de análise elementar (CHN), espectro de absorção na região do infravermelho (IV), análise térmica (TG e DTA), espectros de ressonância magnética nuclear (RMN de ¹H e ¹³C), determinação estrutural e molecular por técnicas de difratometria de raios-X, condutividade elétrica e propriedades eletrônicas;
- d) Investigação da atividade em *Leishmania* ssp, células tumorais e fungos com o intuito de avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos.



Capítulo 3

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

Em todas as sínteses foram utilizados reagentes P.A. Os principais solventes e reagentes estão listados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Principais solventes utilizados nas sínteses

| Solventes | Fórmulas | Procedências |
|-------------------------|--------------|--------------|
| Acetona | C_3H_6O | Cromoline |
| Acetonitrila | CH_3CN | Isofar |
| Clorofórmio | $CHCl_3$ | Cromoline |
| Diclorometano | CH_2Cl_2 | Isofar |
| Dimetilsulfóxido (DMSO) | C_2H_6SO | Ecibra |
| Etanol | C_2H_5OH | Ecibra |
| Éter Etílico | $C_4H_{10}O$ | Ecibra |
| Metanol | CH_3OH | Impex |
| Nitrometano | CH_3NO_2 | Nuclear |
| Pentano | C_5H_{12} | Isofar |
| Tetrahidrofurano (THF) | C_4H_8O | Synth |

Fonte: Do Autor.

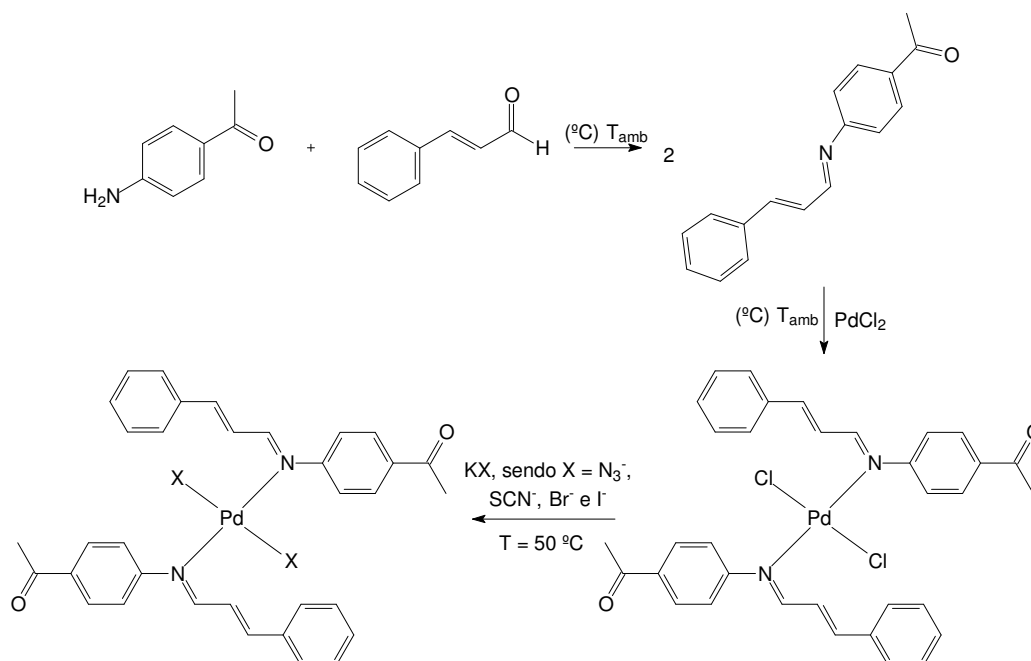
Tabela 2 - Principais reagentes utilizados nas sínteses

| Reagentes | Fórmula | Procedência |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|
| Azida de sódio | NaN_3 | Riedel |
| Brometo de Potássio | KBr | Vetec |
| Cianato de Potássio | KCNO | Carlo Erba |
| Cloreto de Lítio | LiCl | Synth |
| Cloreto de Paládio (II) | PdCl_2 | Sigma Aldrich |
| Iodeto de Potássio | KI | Merck |
| <i>p</i> -aminoacetofenona | $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ | Carlo Erba |
| <i>trans</i> -cinamaldeído | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$ | Merck |
| Tereftaldeído | $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$ | Aldrich |
| Tiocianato de Potássio | KSCN | Merck |
| Trietilamina | $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ | Vetec |

Fonte: Do Autor.

Para facilitar a explanação dos resultados alcançados, o fluxograma abaixo, indica as sínteses realizadas a obtenção do novo ligante imínico e dos novos complexos de paládio(II).

Figura 12 – Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa

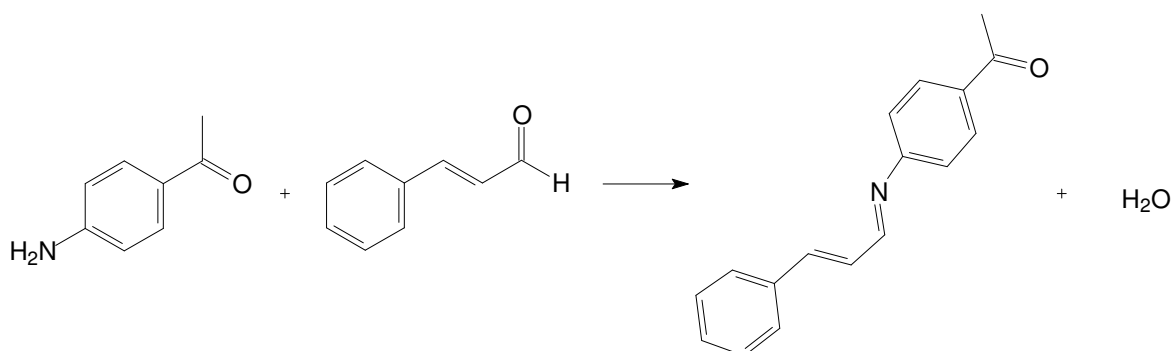


Fonte: Do Autor.

3.1 SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1)

A síntese da imina foi conduzida reagindo-se aldeído ou cetona com amina, na proporção estequiométrica adequada, em etanol e a temperatura ambiente, em Erlenmeyer com tampa e boca esmerilhada. O Erlenmeyer contendo o meio reacional foi transferido para um freezer com o intuito de se obter o sólido por abaixamento de temperatura. As reações foram realizadas em duplicata.

Figura 13 – Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1



Fonte: Do Autor.

Para a síntese do novo ligante imínico ou base de Schiff, Hfafa (Figura 13), foi conduzida reagindo-se *p*-aminoacetofenona com *trans*-cinamaldeído, na proporção estequiométrica 1:1, em meio etanólico, à temperatura ambiente de 27 °C, em um balão volumétrico de fundo redondo. Foram gotejados 1,0500 g (7,94 mmol) de *trans*-cinamaldeído dissolvido em 10,0 mL álcool etílico em uma solução límpida constituída de 1,0700 g (7,94 mmol) de *p*-aminoacetofenona em 10,0 mL de álcool etílico, sob agitação. Após 2 horas de reação, observou-se a formação de um precipitado amarelo claro. O sistema foi transferido para um freezer com o intuito de se obter cristais por abaixamento de temperatura. As reações foram reproduzidas em duplicata.

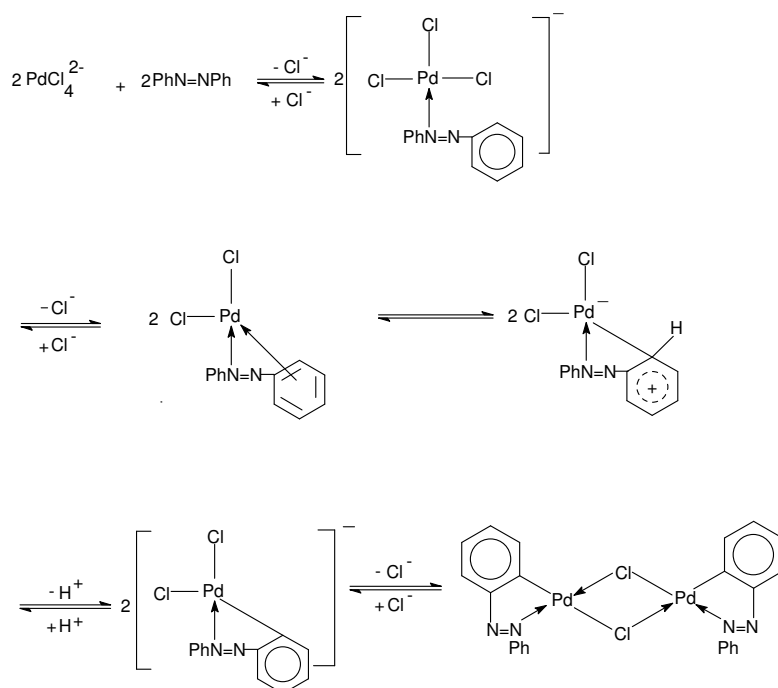
3.2 SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II)

A síntese de nova espécie química de coordenação foi realizada reagindo o novo ligante obtido com o sal de metal de transição tetracloropaldato(II) de lítio, em proporção estequiométrica adequada e utilizando o metanol como solvente à temperatura ambiente. O método de litação é muito empregado na complexação de complexos de paládio (CAVALCANTE et al., 2008; ANGELO et al., 2001). O PdCl₂ é insolúvel em MetOH.

Parte Experimental

A adição de LiCl se faz necessária, pois forma-se um complexo solúvel em metanol à quente, o tetracloropaldado(II) de lítio, é o precursor reacional (Figura 14).

Figura 14 - Esquema do método de Parshall



Fonte: Do Autor.

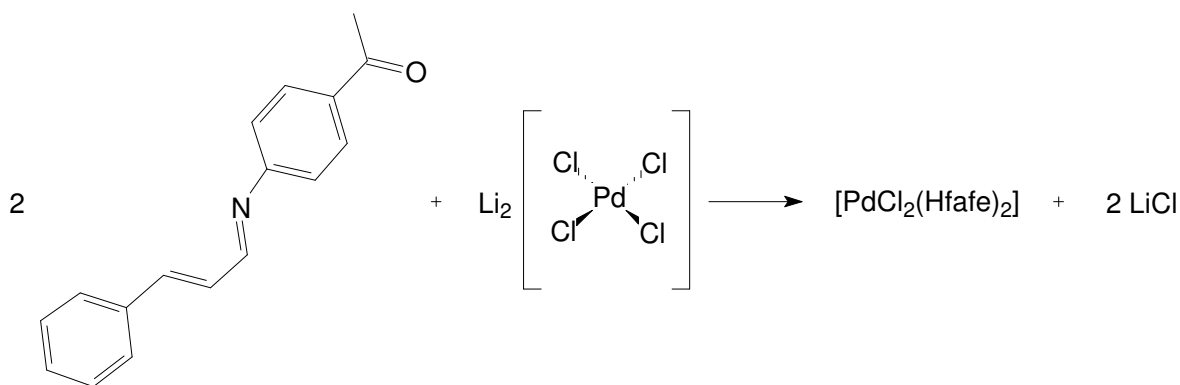
3.2.1 Síntese do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfufe})_2]$ (C1)

Solubilizou-se 1,0000 g (5,64 mmol) de PdCl_2 , em 40,0 mL de metanol, sob aquecimento e agitação durante cerca de 20 minutos, em um balão de fundo chato. Após este tempo, foi observado certo escurecimento da mistura e formação de uma suspensão. Adicionou-se então 0,4704 g (11,28 mmol) de LiCl, deixando reagir por mais 20 min. Observou-se a solubilização do sólido em suspensão. Filtrou-se a solução ainda à quente para remoção de resíduos sólidos insolúveis.

Parte Experimental

Em outro balão de fundo chato, solubilizou 1,4000 g (5,64 mmol) do ligante imínico Hfafa L1 em metanol, formando-se uma solução límpida e cristalina. Fez-se então uma lenta adição desta solução a anterior contendo predominantemente $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$. Deixou o sistema em agitação e sob gotejamento de uma solução metanol-trietilamina (20:1) (v/v). O lento gotejamento teve duração de 8 horas sendo observada a formação de um sólido amarelo (Figura 15). O precipitado produzido foi então filtrado, lavando-se com água e éter e seco sob vácuo.

Figura 15 - Equação química para a obtenção do $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

3.3 REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES

Com a obtenção do novo complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), e com o intuito de se investigar a reatividade dos mesmos frente a haletos e pseudohaletos, foi conduzida então reações de substituição do cloro, por brometos e iodetos, bem como pelos pseudohaletos azida e tiocianato. O estudo de séries de complexos se faz necessária para a comparação de suas propriedades físicas e químicas, além das propriedades biológicas, o que facilita interpretar a relação estrutura química versus atividade biológica (SAR). A escolha destes sais foi norteadora por suas relevantes propriedades farmacológica.

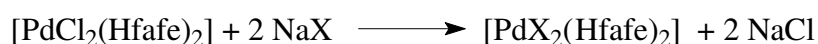
Parte Experimental

Em reação estequiométrica e dissolvido em acetona, o complexo precursor foi agitado com os sais inorgânicos NaN_3 , KSCN , KBr e KI para obtenção de novos complexos.

3.3.1 Síntese de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfafe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

Para a obtenção de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfafe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$, SCN , Br e I , a partir do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C1), utilizou-se a proporção 1:2 (complexo-cloro:sal inorgânico), conforme esquema reacional abaixo:

Esquema Reacional previsto:



Solubilizou-se 0,3001 g (0,44 mmol) do complexo em 20,0 mL de acetona, sob agitação. Em seguida solubilizou-se os sais inorgânicos 0,057g (0,88 mmol) de NaN_3 , 0,0808 g (0,58 mmol) de KSCN , 0,1052 g (0,58 mmol) de KBr e 0,1472 g (0,58 mmol) de KI em 0,01 mL de água destilada e adicionou-se ao complexo. Deixou-se reagindo por 2 h. Após o término da reação, o balão contendo a mistura reacional, foi levado à geladeira permanecendo por volta de 24 horas. A solução foi filtrada lavando-se o produto com água em abundância para remoção do cloreto de sódio / cloreto de potássio formado no processo reacional. Os sólidos sintetizados apresentam coloração laranja para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafe})_2]$ (C2), verde para $[\text{Pd}(\text{Hfafe})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), laranja para $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C4) e marrom para $[\text{Pd}(\text{Hfafe})_2\text{I}_2]$ (C5), respectivamente.

3.4 METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO

A seguir serão apresentadas as técnicas e equipamentos utilizados para a elucidação dos compostos sintetizados neste trabalho.

3.4.1 Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição

Os pontos de fusão ou decomposição foram medidos no equipamento Marte (PFM II). A amostra foi triturada e empacotada em tubo capilar para registrar a faixa de temperatura da primeira evidência visível do sólido até a sua fusão ou decomposição. Foram realizados em triplicata.

3.4.2 Testes de solubilidade

A solubilidade dos compostos foi testada com os solventes: água, metanol, etanol, acetonitrila, acetona, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Com a finalidade de verificar a solubilidade dos compostos com os solventes que foram utilizados nas técnicas de caracterização, como espectroscopia de absorção na região do ultravioleta – visível (CH_3CN), ressonância magnética nuclear (CDCl_3 ou DMSO-d_6) e os testes biológicos (DMSO).

3.4.3 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no Analisador Elementar da LECO Instruments - modelo TruSpec CHNS-O, utilizando porta-amostra de

prata. Foram utilizados como compostos de referência Acetanilida, Cistina, EDTA e sulfametazina, conforme o teor de carbono e, ou nitrogênio esperado.

3.4.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, IV, foram registrados no espectrofotômetro Simadzu – IR Prestige 21. As pastilhas apropriadas para a leitura foram preparadas pela maceração, em almofariz de ágata, da amostra com brometo de potássio e posterior compactação numa prensa hidráulica (aprox. 10 t).

3.4.5 Análise térmica

As curvas termogravimétricas (TG/DTA) foram obtidas empregando-se o equipamento da TA Instruments – Q-600 Séries. Cada amostra, com cerca de 8,0 a 10,0 mg, foram disposta em cadinho de alumina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 1100°C, com razão de aquecimento de 20°C min.⁻¹, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de 100 mL.min.⁻¹.

3.4.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética multinuclear (RMN) foram obtidos em um Espectrômetro Bruker DPX-300, operando a 300 MHz para RMN ¹H e 75 MHz para RMN ¹³C. As amostras foram preparadas com prévia solubilização em solvente deuterado neste caso o DMSO-d₆.

3.4.7 Difração de raios-X

Foram obtidos cristais adequados para análise de difração de raios-X pela evaporação lenta da acetona proveniente na solução mãe da reação do complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1) com o sal inorgânico NaN_3 formando o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2).

3.4.7.1 Coleta de Dados

As medidas de DRX por monocristal dos compostos obtidos foram realizada no Laboratório de Cristalografia da UFMG (LabCri) em cooperação direta com o Prof. **Dr. Carlos Basílio Pinheiro**. O LabCri é um laboratório multiusuários aberto à comunidade científica interessada em usar técnicas de difração de raios X para apoio à pesquisa. As medidas foram realizadas em um difratômetro de 4-círculos (Gemini) destinado a estudo de amostras monocristalinas, dotado com detector CCD, dois comprimentos de onda (K_α -Cu e K_α -Mo) e acessórios para estudos em altas (< 650 K), baixas temperaturas (> 90 K) e altas pressões (< 3 atm). O professor responsável pelas medidas foi o Prof. **Dr. Antônio Carlos Doriguetto** e pelo tratamento dos dados a **Dra. Iara Rosa Landre**.

3.4.7.2 Tratamento de Dados de Difração

Deu-se-á preferência à utilização de softwares com licença livre. Durante o tratamento numérico dos dados de difração (redução, determinação e refinamento estrutural), foram utilizados os softwares como o SHELXL-97, SHELXS-97, WINGX, PLATON, ORTEP-3, MERCURY. Todos eles são softwares livres, de excelente qualidade e facilmente obtidos na grande rede. Correções (tais como fator de polarização e absorção) foram efetuadas sobre os dados experimentais de difração, usando os métodos e os

softwares adequados. As estruturas foram resolvidas usando os métodos de Patterson e, ou, diretos, com o programa SHELXS-97 (SHELDRICK, 1997). Os modelos assim obtidos foram refinados (mínimos quadrados de matriz completa) em F^2 usando o programa SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997). O programa WINGX (FARRUGIA, 1999) foi usado na análise dos dados. Os programas ORTEP-3 (FARRUGIA, 1997), STRUPLO (FISCHER, 1985), Mercury 1.1.2 (CCDC, 2001-2002) foram usados para analisar e elaborar representações gráficas das estruturas.

3.4.8 Condutividade Elétrica

Utilizou para as medidas de condutância um equipamento e um eletrodo padrão da Aaker. A solução padrão de KCl que foi utilizada para calibragem do equipamento, apresentou condutividade de 1,413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na temperatura controlada de 25 °C, com célula de platina, com constante de cela $K=1 \text{ cm}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas com concentração de 0,1 mmol, nas quais empregou nitrometano (CH_3NO_2) como solvente.

3.4.9 Propriedades eletrônicas

Os cálculos das propriedades eletrônicas foram realizado no Laboratório de Modelagem Computacional - LaModel, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas - Unifal-MG, com colaboração do Prof. **Dr. Ihosvany Camps Rodrigues**. Para obter as propriedades eletrônicas do ligante L1, os cálculos funcionais de densidade foram realizados usando o pacote Gaussian 09 (Gaussian09). As simulações foram feitas usando o funcional híbrido M06-2X de Truhlar e Zhao (M062X) para a correlação e troca funcional em conjunto com a base 6-311++G(d,p). O funcional M06-2X é um funcional alto não-localização com o dobro da quantidade de troca não-local (2X), e é parametrizada apenas para não-metals. Devido ao seu desempenho, foi recomendado que fosse usado para o estudo da termoquímica, da cinética e das interações não covalentes do grupo principal

Parte Experimental

(M062X). A otimização de geometria foi verificada através das frequências infravermelhas reais e o critério de convergência de energia foi igual a 10^{-6} . Para prever a reatividade dos compostos, uma análise topológica foi realizada usando o software TAFF (TAAF). Nesse caso, foram determinados os orbitais de fronteiras: HOMO (orbital molecular ocupado mais alto) e LUMO (orbital molecular mais baixo desocupado) junto com as funções de Fukui.

3.5 TESTES BIOLÓGICOS

Com o intuito de verificar as potencialidades farmacológicas dos compostos sintetizados, os novos compostos foram enviados para testes biológicos frente a:

- a) Avaliação antitumoral para as linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER²⁻);
- b) Avaliação antileishmania nas formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi*;
- c) Avaliação antifúngica do gênero *Candida* spp.: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

3.5.1 Avaliação da Citotoxicidade

A avaliação da atividade dos testes carcinogênicos dos compostos sintetizados foi realizada no Laboratório de Cultura de Células (LCC) da UNIFAL-MG, com colaboração da Profa. Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa, para o ligante e os complexos metálicos obtidos. As linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER2⁻) provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ).

Parte Experimental

3.5.1.1 Cultura de células de carcinoma mamário humano

Foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640, contendo 20% (v/v) de soro fetal bovino inativado termicamente, penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (10 µg/mL), em atmosfera umidificada com 5% de CO₂, a 37 °C. O meio foi substituído a cada 2 dias e as células foram subcultivadas a cada 5 dias, após tripsinização com solução de Tripsina-EDTA a 0,25%.

3.5.1.2 Tratamento das células

Antes do início dos experimentos a viabilidade celular foi determinada por coloração com Trypan blue (método de exclusão do corante). A seguir 2x10⁴ células viáveis/mL foram transferidas para placas “multiwell” de 24 e 96 poços e mantidas por 24 h para aderência. A seguir as células foram incubadas com os compostos, por 24 e 48 h, para avaliação da citotoxicidade. Células tratadas com o veículo constituíram o controle negativo (CN) e com cisplatina a 5,0 µM, o controle positivo (CP). Os experimentos foram realizados em triplicata. Os compostos foram dissolvidos em DMSO e foram feitas diluições seriadas em DMSO até a obtenção da concentração desejada. Para os ensaios foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 µM de cada composto.

3.5.1.3 Ensaio de ligação ao DNA

Foi verificada a interação *in vitro* dos ligantes e complexos de Pd(II) ao DNA plasmidial. Foram utilizados 500,0 ng do plasmídeo pUC-19, que foram incubados a 37 °C por 30 min em tampão TE (Tris 10 mM, pH 8,0, contendo EDTA 1 mM) na ausência (CN), na presença da cisplatina (CP) e dos compostos sintetizados. A interação com o DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (CHEN; WU; LIN, 2007).

Parte Experimental

3.5.1.4 Ensaio de sulforrodamina B (SRB)

Foi utilizada a coloração das proteínas com sulforrodamina B para determinação do efeito de diferentes concentrações dos compostos sobre o teor de proteínas celulares, um indicador da viabilidade celular, de acordo com Vichai e Kirtikara (2006), com modificações segundo Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012). Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com 200,0 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% (p/v), a 8 °C, por 1 h. A seguir, o TCA foi removido e as células lavadas com água destilada. Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, foram adicionados 200,0 µL de sulforrodamina B a 0,4% (p/v) em ácido acético a 1% (v/v), por 30 min. Decorrido o tempo, o corante foi removido e os poços lavados por 4 vezes com ácido acético a 1% (v/v). Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, o corante foi dissolvido pela adição de 200,0 µL de Tris 10,0 µM, pH 10,5, por 10 min sob agitação e a absorbância determinada a 510 nm. O efeito dos compostos sobre o teor de proteínas celulares foi determinado considerando-se o teor de proteína do (CN) como 100%.

3.5.1.5 Análise morfológica e morfométrica

Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com acetona a 70%, coradas com hematoxilina-eosina, desidratadas e foram preparadas lâminas permanentes, para análise morfológica e morfométrica. As lâminas foram observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram adquiridas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. Foram analisados 15 campos aleatórios, por tratamento e o diâmetro das colônias e das células foi determinado de acordo com o descrito por Campanella et al. (2012) e Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012).

Parte Experimental

3.5.1.6 Fragmentação do DNA

A avaliação foi realizada por meio do estabelecimento do padrão de escada do DNA (“DNA ladder”), que é um indicador de apoptose (NIGAM et al., 2008). O DNA foi extraído utilizando-se kit Qiagen e submetido à eletroforese em gel de agarose a 0,8% em TBE (Tris 10 mM, ácido bórico 10 mM e EDTA 1mM), por 1 h, a 80 V. O gel foi corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL) e fotografado sob transluminação com ultravioleta.

3.5.1.7 Ensaio de morte celular

Para estimar a morte celular foi utilizado o método de coloração por fast green, descrito por Weisenthal et al. (1983), com modificações. Este ensaio baseia-se na capacidade das células viáveis excluírem o corante, enquanto as células mortas não o fazem. Decorrido o tempo de tratamento, as células foram coradas com fast green 2% (m/v), em NaCl 0,15 M, por 10 min, seguido de coloração por hematoxilina. As lâminas foram processadas e montadas com Enthellan, observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram obtidas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. As células viáveis apresentam coloração rosa-avermelhada e as mortas, verde. Foram analisados 15 campos aleatórios, avaliando-se 600 células, para determinação da porcentagem de células mortas (CARVALHO; ISHIKAWA; GOUVÊA, 2012).

3.5.1.8 Análise estatística

Os dados obtidos para os experimentos realizados foram comparados por análise de variância pelo teste ANOVA, seguido do teste de Tukey, quando $p < 0,05$.

3.5.2 Avaliação antileishmania

A avaliação da atividade leishmanicida para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Parasitologia/Biologia Molecular da UNIFAL-MG sob a responsabilidade do Prof. **Dr. Marcos José Marques** e da discente de Mestrado **Patrícia F. Espuri**, do Instituto de Ciências Biomédicas. Foram usadas cepas referência de *L. amazonensis* (MHOM/BR/71973/M2269), provenientes do instituto Evandro Chagas (Belém, PA, Brasil).

4.5.2.1 Avaliação da atividade antipromastigota

As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* foram mantidas em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF) em estufa a 26 °C, e coletadas em fase exponencial de crescimento para realização dos testes (MESA-VALLE et al., 1996). Para a realização dos testes foram transferidas à razão de 1×10^6 células/mL para placas de 24 poços, onde então foram adicionado os complexos que foram avaliados nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL. Após 72 horas de incubação a 25 °C foram adicionados 100 µL de resazurina em cada poço. Após 6h de incubação com resazurina, as placas foram lidas em 570 nm e 600 nm, utilizando um leitor de microplacas para a determinação da IC₅₀, tendo como controle, o protozoário em meio de cultura sem a adição de fármacos. O IC₅₀ foi então comparado ao IC₅₀ do fármaco padrão anfotericina B (PEREIRA et al., 2011).

4.5.2.2 Avaliação da citotoxicidade

Para avaliação da citotoxicidade, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, dispostos em placas de 96 poços na razão de $8,00 \times 10^6$ por poço, aos quais foram adicionada os compostos a serem avaliados

Parte Experimental

nas concentrações de 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90 µg/mL e incubados por 48 horas. Após o período de incubação foram adicionados 10 µL de MTT (3-(4,5- dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo) a cada poço, com nova incubação por 4 horas. As células lisadas com DMSO foram avaliadas em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu, duplo-feixe, modelo 2550 à 570 nm para determinação do CC₅₀ por comparação ao controle sem adição de compostos ou fármacos (PEREIRA et al., 2011). A densidade óptica obtida foi então convertida à porcentagem de inibição usando a equação (1), para que então por análise de regressão dos dados pudesse ser determinada a concentração citotóxica a 50% dos macrófagos (CC₅₀) (PEREIRA, 2010).

Equação (1):

$$\% \text{Inibição} = [(DO_{\text{controle}} - DO_{\text{composto}}) / DO_{\text{controle}}] \times 100$$

DMSO foi usado como controle e a Anfotericina B foi utilizada como medicamento de referência. Os ensaios foram realizados em triplicata e em três ocasiões diferentes.

4.5.2.3 Avaliação da atividade anti-amastigota

Para avaliação da atividade leishmanicida perante amastigotas, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos a razão de 8×10^6 macrófagos, mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, em placas de 24 poços, os quais foram infectados com promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* na fase log de crescimento na razão de 3:5. A cada poço foram adicionadas as substâncias avaliadas nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL, e incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 72 horas, quando então foram fixadas com metanol e coradas com Giemsa a 10% para posterior análise por microscopia ótica e determinação da razão entre macrófagos infectados e não infectados, possibilitando a determinação do IC₅₀ em relação ao controle sem adição de drogas. O resultado foi

comparado ao IC₅₀ o fármaco padrão anfotericina B e como controle foi utilizado macrófagos infectados sem a adição de drogas (PEREIRA et al., 2010).

3.5.3 Avaliação antifúngica

A avaliação da atividade antifúngica para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNIFAL-MG sob a responsabilidade da Prof^a **Dr^a Amanda Latercia Tranches Dias** e da doutoranda **Naiara Chaves Silva**, do Instituto de Ciências Biomédicas.

Foram avaliadas as concentrações inibitórias mínimas de 50% do crescimento (MIC₅₀) e 90% (MIC₉₀). As avaliações/determinações dos valores de concentrações inibitórias foram realizadas segundo a metodologia de microdiluição em caldo para leveduras conforme documento M27-S4 (CLSI, 2012). O meio de cultura utilizado foi caldo Mueller Hinton + 2% e as substâncias foram avaliadas nas concentrações (µg/mL): 100; 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,938; 0,469; 0,234. Os ensaios foram realizados sobre leveduras padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Os microrganismos escolhidos são oportunistas e ou patogênicos.

Fungos: Leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Na avaliação da atividade antifúngica foi utilizado como controle positivo o antifúngico Fluconazol; solução salina (0,85%) e o solvente DMSO foi utilizado como controle negativo dos ensaios. A leitura dos resultados foi realizada após 24 h e 48 h de incubação. Os ensaios foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentadas as caracterizações e discussões dos resultados obtidos para o novo ligante e os complexos, a partir das técnicas descritas na metodologia.

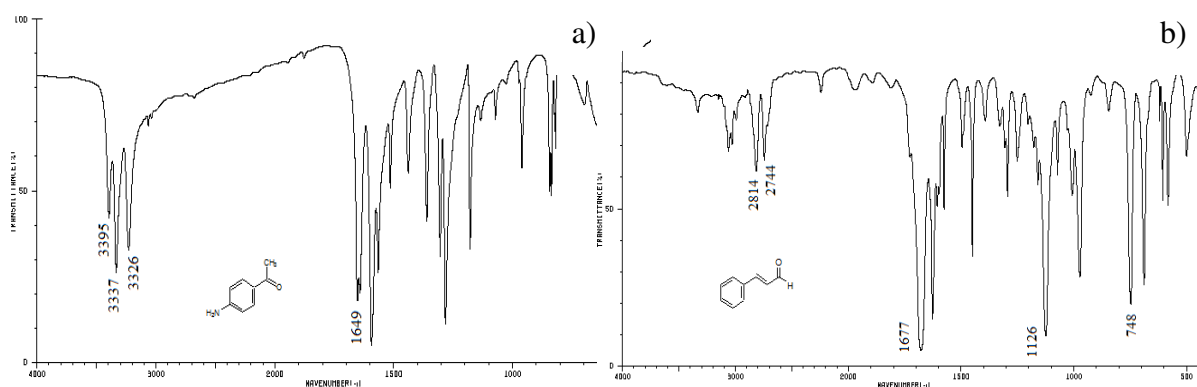
4.1 LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)

A nova Base de Schiff (Hfafa) sintetizada apresenta coloração amarela com rendimento de 86%. Tem ponto de fusão bem definido em 130-134 °C. Com a análise desse dado, é possível elucidar que houve a formação de um novo composto, visto que o ponto de fusão encontrado se difere dos pontos de fusão dos reagentes de partida, 103 °C para o *p*-aminoacetofenona e -8 °C para o *trans*-cinamaldeído. O intervalo de fusão, para o composto obtido, dá indício que o mesmo está puro, pois apresenta temperatura constante durante o processo de fusão. Cristais não foram formados a partir das técnicas de cristalização. Apresentou alta solubilidade em acetona, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Pouco solúvel em metanol e etanol. $C_{24}H_{20}N_2O_2 = 249,31 \text{ g. mol}^{-1}$. Condutividade molar: 3,54 $\mu\text{S/cm}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 81,90 (81,54); H: 6,06 (6,19); N: 5,62 (5,29).

4.1.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho é um método espectroscópico de análise que fornece informações quanto aos grupos funcionais que estão presentes na estrutura das substâncias. O espectro obtido do ligante imínico foi comparado com os espectros dos reagentes precursores (Figura 16).

Figura 16 - Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans-cinamaldeído

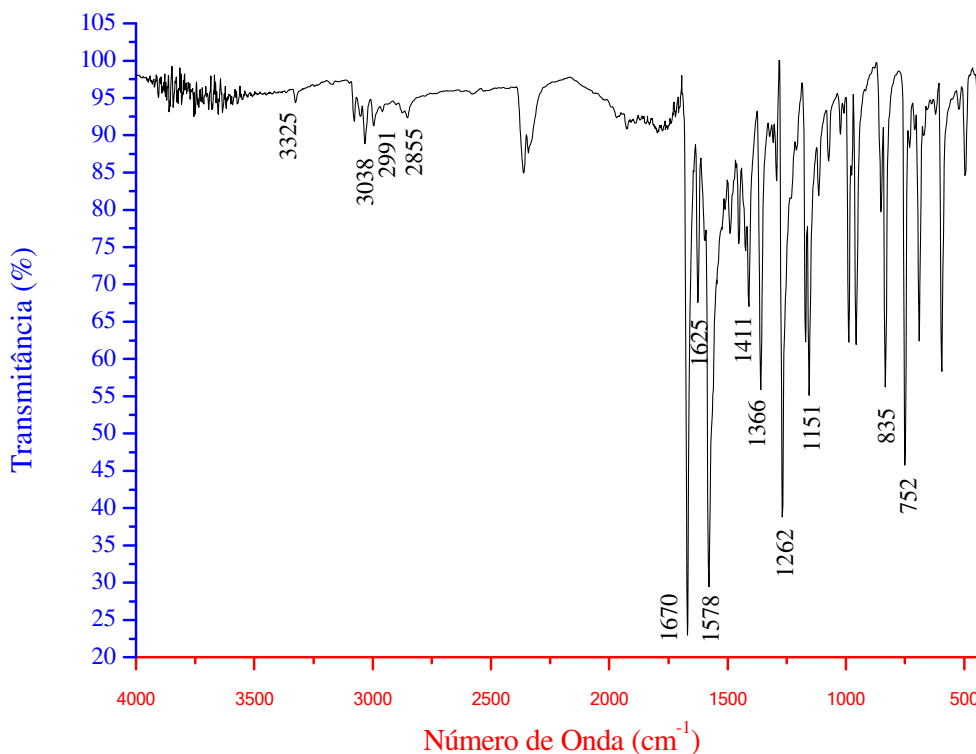


Fonte: http://www.aist.go.jp/index_en.html.

O espectro de absorção do reagente *p*-aminoacetofenona detectou-se bandas na região de alta frequência em 3396-3334 cm^{-1} referentes à ligação ν assimétrica e simétrica de (N-H), Figura 16 a. Na outra região espectral foi observado banda na região 1594 cm^{-1} que evidenciam o estiramento do grupo carboxílico $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$, Figura 16 b. Além destas, observam-se a conformação - *para* - que é caracterizada pela banda em 835 cm^{-1} atribuída ao $\delta(\text{C-H})$ do anel aromático. Analisando o espectro no IV do *trans*-cinamaldeído, observou-se banda na região de frequência menor em 748 cm^{-1} , atribuída ao modo vibracional de deformação angular $\delta(\text{C-H})$ característica de sistemas aromáticos mono-substituídos. Observa-se na região espectral o estiramento assimétrico da carbonila em 1677 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})$, característica do grupo carboxílico ainda presente na molécula.

Um modo vibracional importante que corrobora a formação do ligante é o $\nu(\text{C}=\text{N})$ do grupo imina, em 1578 cm^{-1} (MAURYA, 2015), é que esta banda está ausente no espectro dos reagentes precursores. O baixo valor da banda de vibração $\nu(\text{C}=\text{N})$ está relacionado à conjugação do grupo imínico ao anel aromático (KAYA, 2015). Estes dados indicam a síntese da Base de Schiff (Figura 17).

Figura 17 - Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

O estiramento $\nu(\text{C-H})$ em 3062 cm^{-1} proveniente do anel aromático do *trans*-cinamaldeído e 3064 cm^{-1} para *p*-aminoacetofenona, tem valores semelhantes aos observados no espectro da imina sintetizada, que ocorreu em 3038 cm^{-1} . O grupo carboxílico $\nu(\text{C=O})$ aparece no comprimento de ondas de 1670 cm^{-1} para o ligante (Figura 17). A conformação – *para* – em 828 cm^{-1} do precursor *p*-aminoacetofenona, ainda é evidenciada em 835 cm^{-1} e a conformação mono substituída em 748 cm^{-1} do *trans*-cinamaldeído, também é observado no ligante sintetizado em 752 cm^{-1} . Estes dados sugerem a formação da espécie química sintetizada. Outra banda importante observada é na região de 3325 nm , é característica de overtone da carboxila. Overtone são bandas com valores de frequência correspondentes lineares das bandas fundamentais ou múltiplos das mesmas (AMENDOLA; GUTZ, 2007).

O espectro vibracional teórico também foi calculado, mas apenas para o ligante livre na fase gás. Esse resultado teórico pode ser comparado com o obtido pela espectroscopia de infravermelho. Na Tabela abaixo (Tabela 3) pode-se perceber a disparidade entre os valores obtidos pelos cálculos e pelo IV para as frequências de deformações e estiramentos presentes na estrutura do Hfafe (L1), mas de certa forma isso já era esperado. Os cálculos realizados consideravam a molécula no estado gasoso, no qual pode-se dizer que ela está mais livre e dispersa no gás, onde a chance dela realizar possíveis interações com outras moléculas que podem interferir na frequência de vibração é menor; o que é bem diferente do que ocorre no estado físico do composto no momento da análise de infravermelho. No estado sólido, as interações com as moléculas vizinhas, e a estrutura mais compacta que o composto apresenta nesse estado certamente influencia em sua sequência de vibração.

Tabela 3 – Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafe (L1)

| Hfafe (L1) | Teórico | Experimental |
|---|---------|--------------|
| $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2996 | 2991 |
| $\nu_{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2860 | 2855 |
| $\nu(\text{C=O})$ | 1676 | 1670 |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1580 | 1578 |
| $\nu(\text{C-N})$ | 1188 | 1179 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 844 | 835 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 756 | 752 |

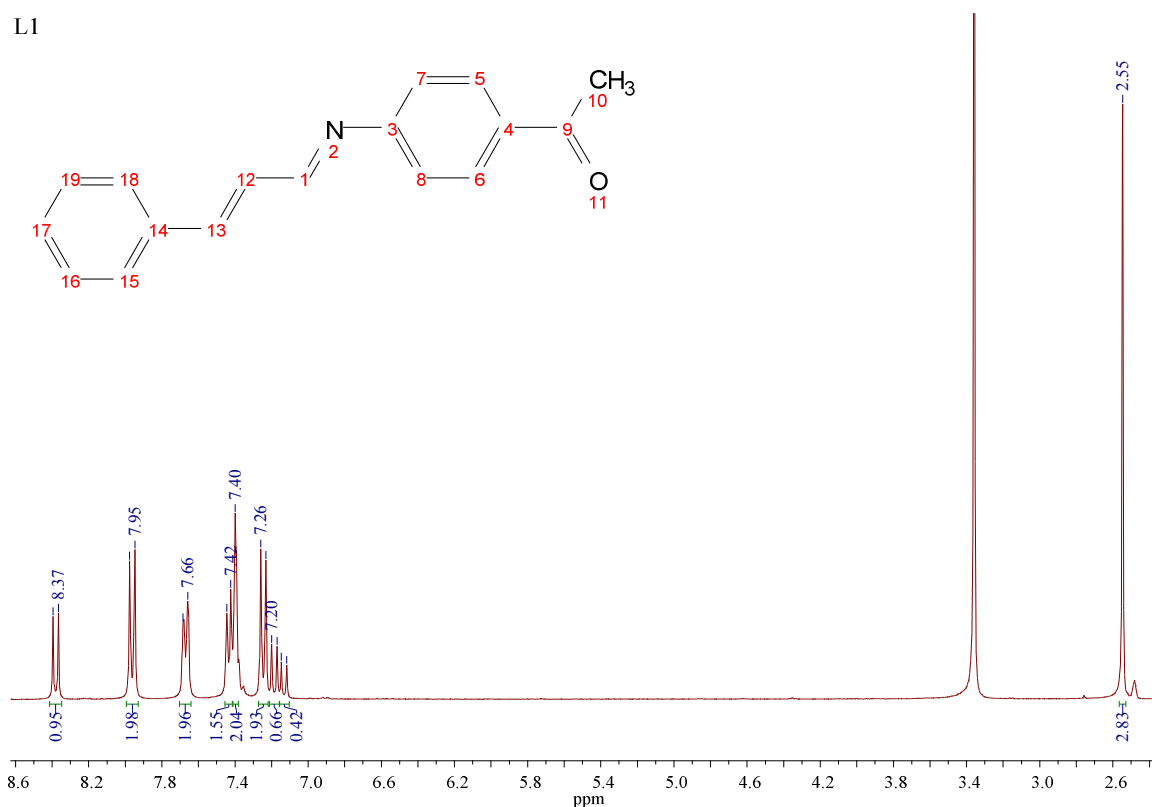
Fonte: Do Autor.

Se analisarmos a variação das frequências de vibração, percebe-se que os valores obtidos tanto na teoria como na parte experimental são bem próximos, corroborando assim a proposta do ligante.

4.1.2 Espectroscopia de RMN de ^1H

Para ^1H , espera-se que quanto maior a blindagem do átomo, menor é o valor de δ (sinal mais perto daquele atribuído ao padrão TMS). No espectro do L1, em CDCl_3 , o sinal singlete em 2,37 ppm refere-se aos hidrogênios presente na metila ligada a carbonila (DAYAN, 2015). O sinal em 8,38 ppm é atribuído ao hidrogênio pertencentes ao carbono do $\text{C}=\text{N}$, característico de iminas ou bases de Schiff por este ser o mais desblindado. (PATTANAYAK, 2015). Na Figura 18, observa-se que os sinais estão de acordo com os descritos na literatura (SILVERSTEIN, 2007).

Figura 18 – Espectro de RMN de ^1H do Hfafe (L1)

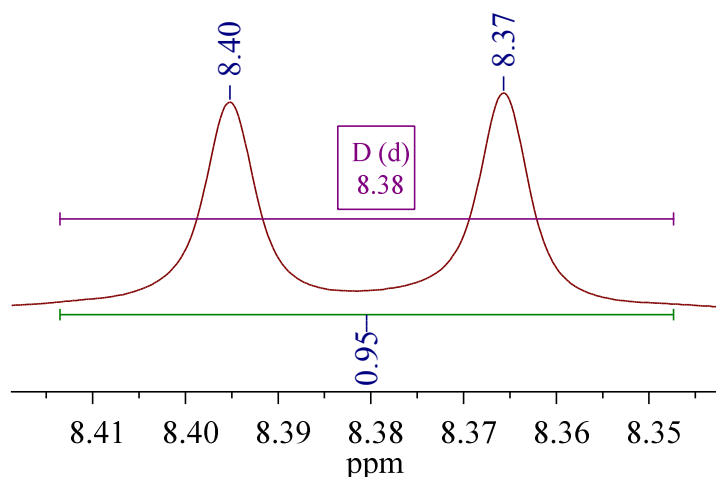


Legenda: Solvente (CDCl_3)

Fonte: Do Autor.

Mas, é bom ressaltar a característica apresentada nos sinais deste ligante, pois estes apresentam duplicidade nos hidrogênios presentes nos alquenos da molécula (Figura 19). Isto ocorre, devido à ligação vicinal do hidrogênio estar em ambientes químicos muito diferentes. Cada hidrogênio corresponde a uma absorção e o spin de cada um será afetado pela orientação do outro hidrogênio, o que faz com que cada absorção apareça como um dubleto.

Figura 19 – Ampliação do sinal no espectro de RMN de ^1H do Hfafa (L1)

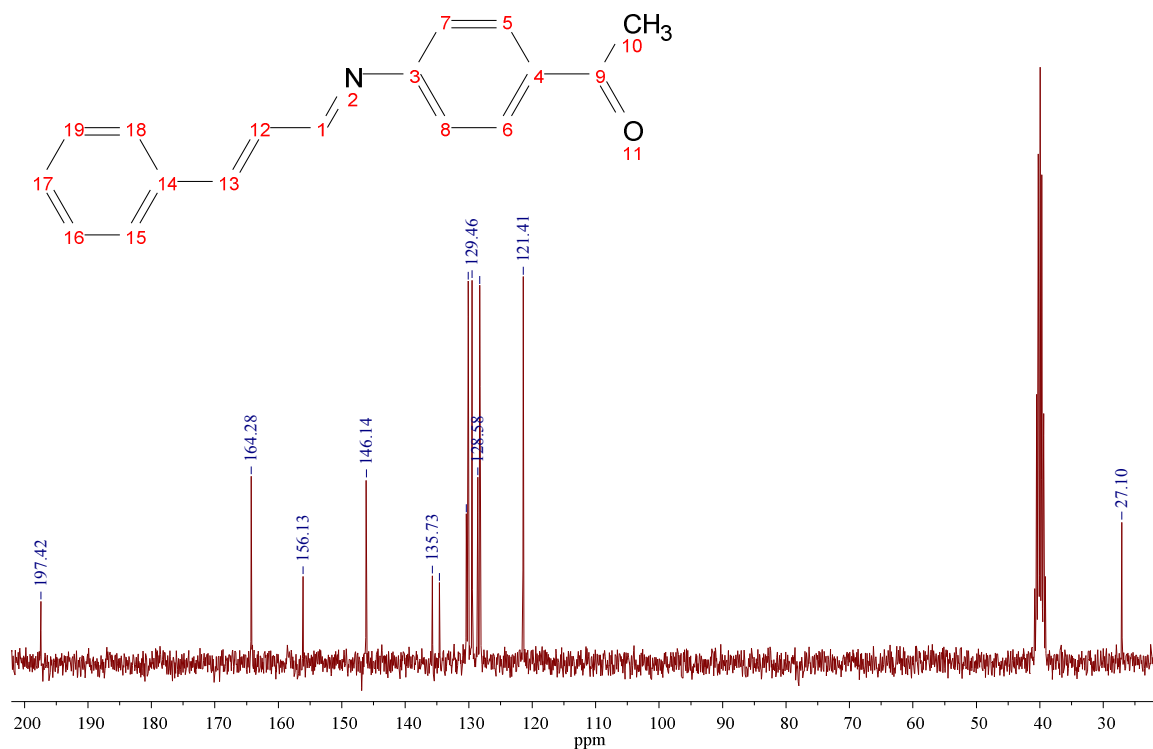


Fonte: Do Autor.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) do ligante imínico está de concordância com os sinais listados na literatura (SILVERSTEIN, 2007). O sinal em 27,10 ppm é proveniente do carbono mais blindado, o da metila. E o deslocamento químico em 197,42 ppm é atribuído ao carbono na carbonila, que na molécula é a mais desblindado. Os outros sinais são referentes aos alquenos e ao anel aromático.

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafe (L1)

L1

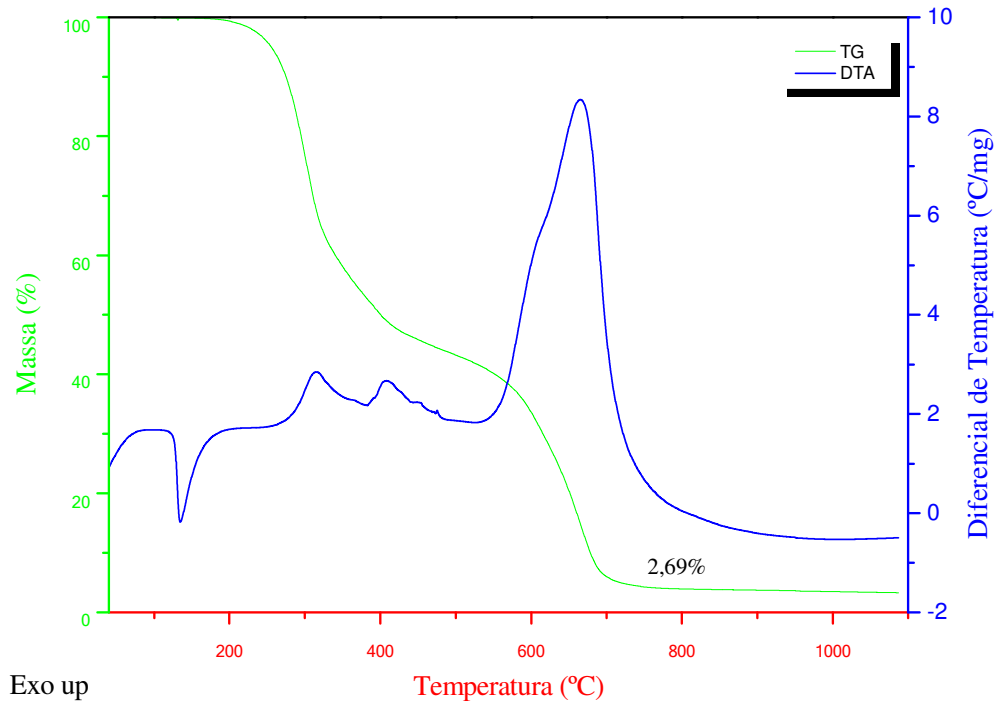


Fonte: Do Autor.

4.1.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Com o intuito de estudar o comportamento frente ao aquecimento do ligante imínico Hfafe, realizaram-se curvas TG-DTA. A análise da Figura 18 revela que o ligante imínico por apresentar C, H, O e N, termodecompõem totalmente em água, gás carbônico e óxidos de nitrogênio, por isto, a ausência de resíduo sólido era esperada. O resíduo final de 2,69% estão dentro do erro instrumental e não pode ser considerado significativo. O estudo da decomposição térmica realizado para o ligante imínico Hfafe, em atmosfera de ar sintético, também está de acordo com a estrutura apresentada (Figura 21). Cabe ressaltar que a DTA nos mostra em aproximadamente 136 °C um pico relacionado a mudanças físicas, pois como se pode ver não ocorreu perda de massa, sendo indício do ponto de fusão do ligante.

Figura 21 - Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

A Tabela 4 mostra as etapas de decomposição do ligante imínico Hfafa.

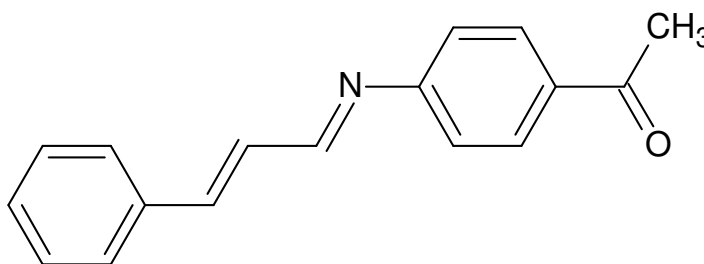
Tabela 4 - Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1)

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------|--------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| L1 | 1 | 183 – 338 | - 39,35 | - 37,34 | - | 316 |
| 11,8910 mg | 2 | 338 – 814 | - 56,40 | - 60,47 | - | 665 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmico.

Fonte: Do Autor.

Figura 22 – Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

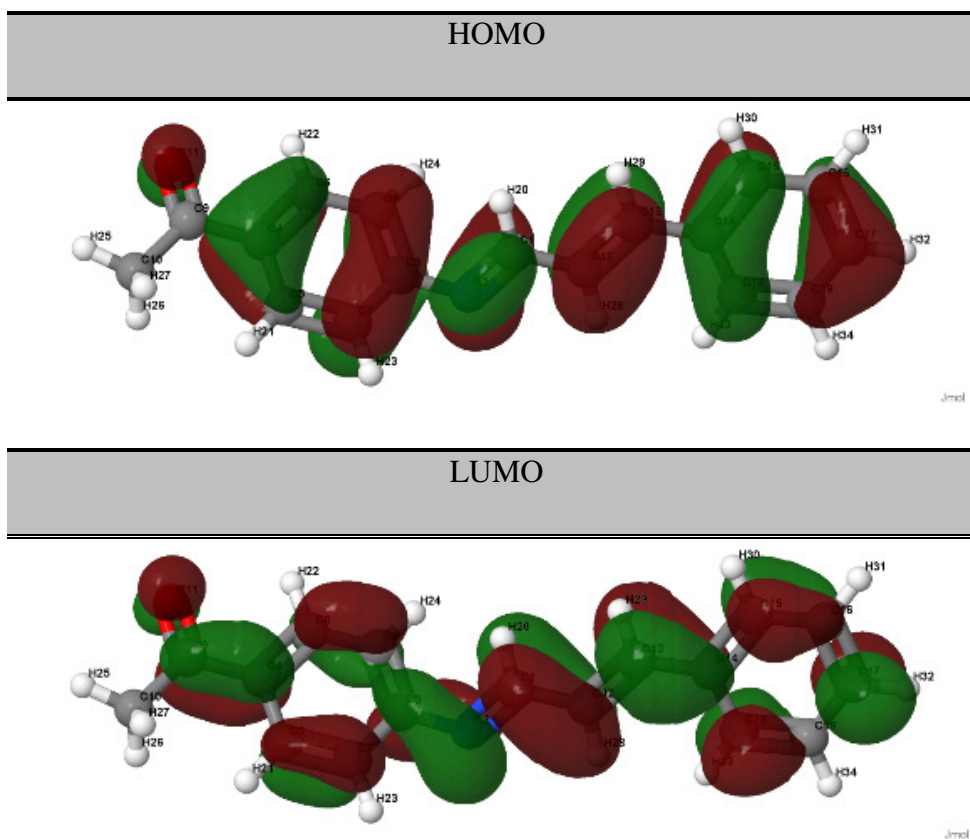
4.1.4 Cálculos DFT

A teoria do funcional da densidade (do inglês, DFT: Density Functional Theory) (HOHENBERG; KOHN, 1964; KOHN; SHAM, 1965) pode ser vista como uma reformulação da mecânica quântica baseada, não em funções de onda, mas no conceito de densidade eletrônica. A técnica consiste em um sistema quântico de muitos corpos, a densidade eletrônica tem um papel central: “a densidade pode ser considerada como variável básica, ou seja, todas as propriedades do estado fundamental do sistema podem ser consideradas como funcional único da densidade eletrônica”.

De acordo com a teoria orbital molecular de fronteira, a formação de um estado de transição é devida a uma interação entre HOMO e LUMO de reagentes (CAMPOS, 2014). O HOMO é o orbital mais externo ou contendo elétrons, que pode atuar como um doador de elétrons e possui o mais alto nível de energia. Pelo contrário, o LUMO é o orbital que pode aceitar o elétron porque é o orbital mais interno e tem um espaço vazio. Geralmente, o HOMO e LUMO têm uma relação direta com o potencial de ionização e a afinidade eletrônica de uma molécula orgânica. A carga de energia é um índice de estabilidade importante, pois uma molécula com uma carga de energia baixa é mais polarizável e geralmente está associada à alta atividade química e baixa estabilidade cinética. É bem conhecido que baixos valores absolutos da banda de energia fornecem boas eficiências de inibição, porque o potencial de ionização será baixo devido à energia necessária para remover um elétron do orbital ocupado externo será baixo (CAMPOS, 2014).

A modelagem computacional foi importante para confirmar as proposições feitas em relação à estrutura do composto (C1). A Figura 23 mostra os níveis de energia HOMO e o LUMO para a base de Schiff (L1) (ZACARIA, 2016).

Figura 23 – Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)



Legenda: A cor vermelha (verde) representa valores negativos (positivos)

Fonte: Do Autor.

As investigações das energias HOMO e LUMO do ligante (L1) são baixas e negativas. Quanto menor a energia HOMO-LUMO, mais fácil é para transferência de carga ocorra intramolecular, melhorando assim as interações causadas pela transferência de carga (ACAR; SELÇUKI; COŞKUN, 2017). Analisando os dados da Tabela 5, observamos que o átomo que apresenta a menor carga são os átomos de N e O. Estes são os átomos na molécula com maior afinidade para coordenar com o metal. Valendo-se da Teoria de Pearson para a classificação

de ácidos e bases de Lewis, o íon Pd^{2+} é classificado como um ácido macio, por esse fato, a coordenação do metal ao ligante (L1) é favorecida pelo átomo de nitrogênio (base macia) do que o átomo do oxigênio (Base dura).

Tabela 5 - Fator de normalização da integral da densidade de elétrons

| Átomo | Carga | Volume (Bohr) |
|---------|-----------|---------------|
| 1 (C) | 0.712580 | 63.567 |
| 2 (N) | -1.194741 | 119.437 |
| 3 (C) | 0.371288 | 62.239 |
| 4 (C) | -0.051477 | 74.404 |
| 5 (C) | -0.023253 | 82.193 |
| 6 (C) | -0.001871 | 81.074 |
| 7 (C) | -0.009260 | 83.456 |
| 8 (C) | -0.029344 | 83.245 |
| 9 (C) | 1.022205 | 48.471 |
| 10 (C) | -0.034311 | 71.429 |
| 11 (O) | -1.145025 | 132.157 |
| 12 (C) | -0.017812 | 83.816 |

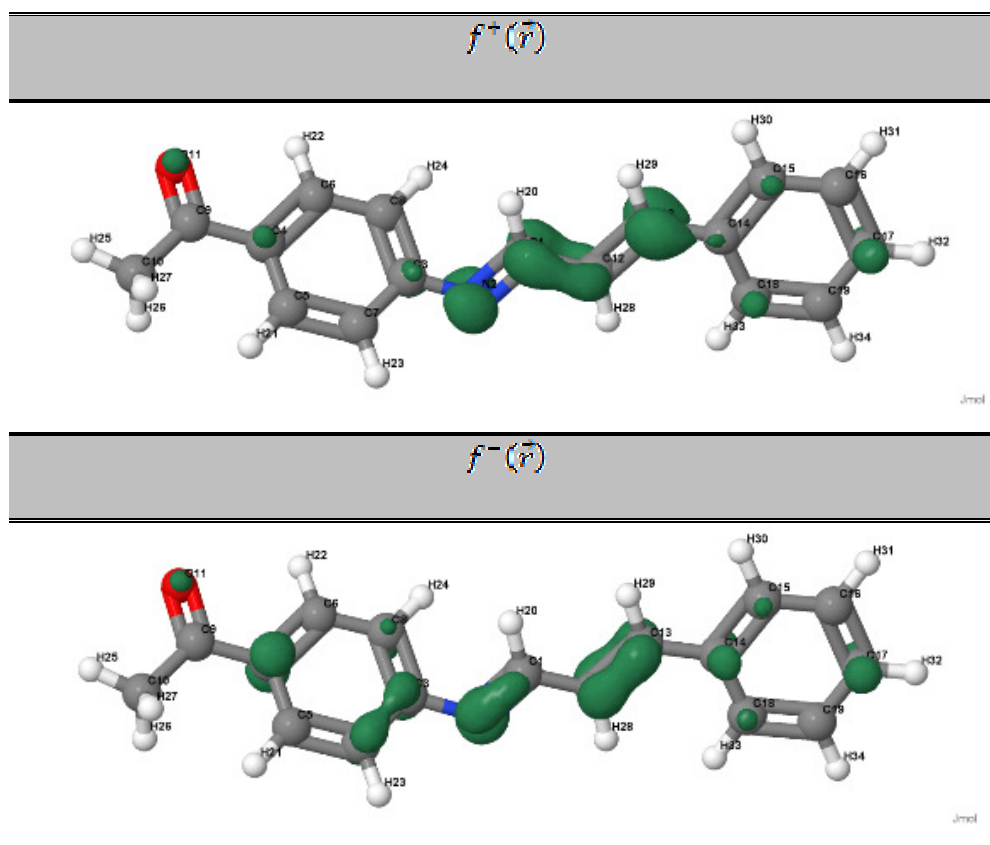
Fonte: Do Autor.

Podemos observar que as funções HOMO e o LUMO estão distribuídos entre os carbonos dos anéis aromáticos e do átomo de nitrogênio. Entretanto, as funções de Fukui que fornecem informações sobre ataques nucleofílicos e eletrofílicos demonstram que os carbonos com maior potencial de ionização e, conseqüentemente, mais nucleofílicos são os localizados na posição em que não é permitida quelação de cinco membros, sendo esta, portanto, uma

Resultados e Discussões

justificativa plausível para a não ocorrência da ciclometalação. O resultado está ilustrado na Figura 24.

Figura 24 – Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílico ($f^+(\vec{r})$) e eletrofílico ($f^-(\vec{r})$)



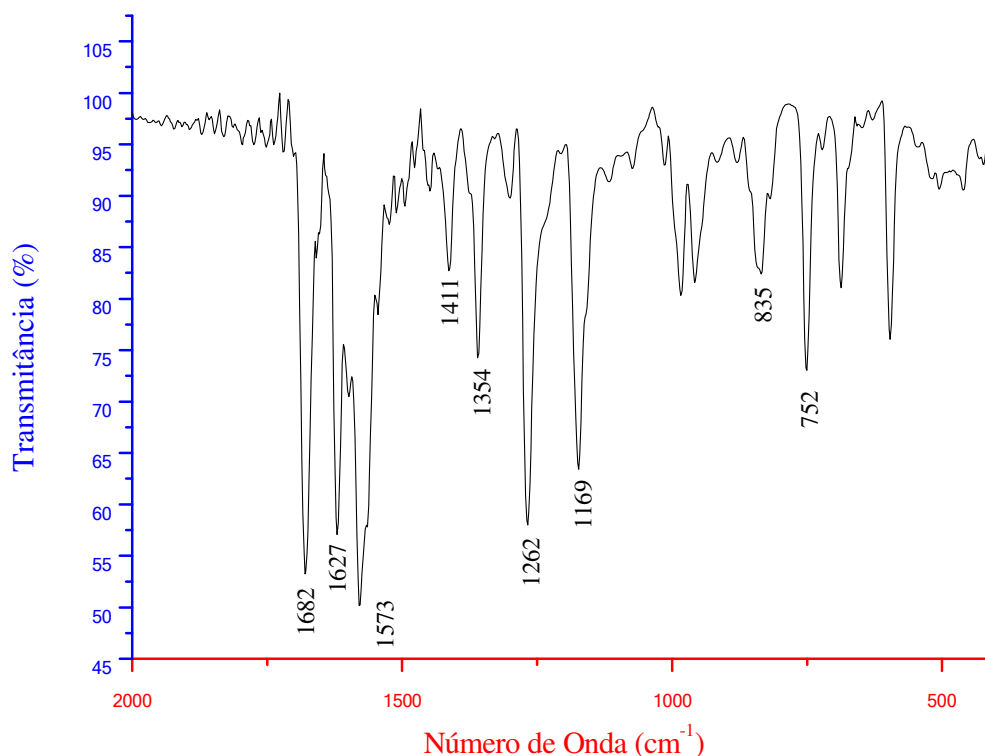
Fonte: Do Autor.

4.2 COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

O complexo foi sintetizado na proporção estequiométrica 1:1. A síntese produziu um sólido de cor laranja, rendimento de 87%. Esse composto apresentou baixa solubilidade em metanol, acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, THF e DMSO. Insolúvel em água e etanol. O ponto de decomposição ocorreu em 230 °C. $[\text{PdCl}_2(\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO})_2] = 675,94 \text{ g.mol}^{-1}$. Condutividade molar = $3,58 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 60,42 (61,10); H: 4,47 (5,23); N: 4,14 (5,53); Pd: 15,74 (17,74).

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região IV

Através da análise do espectro de absorção na região do IV (Figura 25), verificou-se que um grande número de bandas é derivado do ligante orgânico coordenado ao átomo de paládio. Com a complexação do paládio ao grupamento nitrogenado do ligante orgânico, é esperado um deslocamento da banda de $\nu(\text{C}=\text{N})$ do ligante para região de maior energia, pois como o Pd(II) age como um retirador de densidade eletrônica, esta é deslocada para a formação da ligação coordenativa. Isso acarreta um enfraquecimento na ligação C=N, fazendo com que seu estiramento ocorra em menores frequências e, conseqüentemente, menores números de onda (NAKAMOTO, 1986). Com a complexação do metal ao ligante imínico observa-se no espectro infravermelho do complexo bandas referentes ao grupamento imina, $\nu(\text{C}=\text{N})$, em 1573 cm^{-1} , que no ligante de partida era observado em 1578 cm^{-1} . O deslocamento da banda evidencia que o ambiente químico do grupamento imínico sofreu mudanças provavelmente ao coordenar-se ao centro metálico através de uma nova ligação coordenada. Ainda cabe ressaltar que as bandas referentes ao anel aromático *para*-substituído e ao anel *mono*-substituído se mantêm presentes em 835 cm^{-1} e 752 cm^{-1} , respectivamente.

Figura 25 - Espectro na região de IV do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

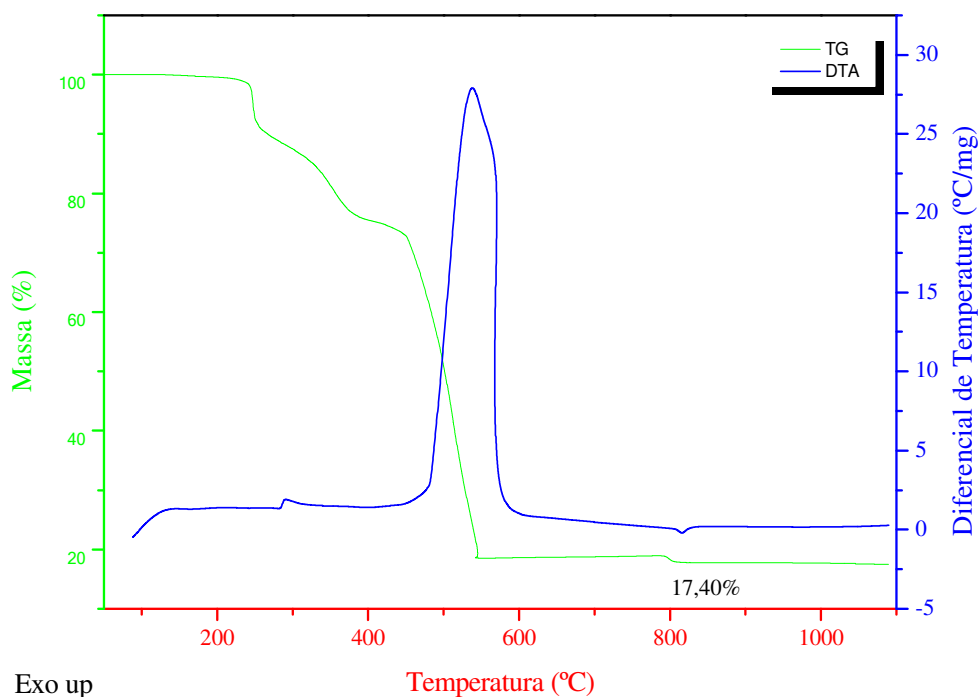
4.2.2 Espectroscopia de RMN

A análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear não foi possível de ser realizado para os complexos $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{Hfafa})_2]$ (C3) e do $[\text{PdI}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C5). Pois, estes não apresentaram solubilidade suficiente nos solventes clorofórmio (CDCl_3), acetonitrila (CD_3CN), acetona ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) e DMSO (DMSO-d₆) deuterados para a realização destes.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Para o complexo (C1), na faixa de 204–261 °C ocorre a perda da parte referente aos haletos cloro. Entre 261–372 °C observa-se a perda da parte de dois carbonil (CH_3CO). A próxima perda na faixa de 372–449 °C é referente aos dois nitrogênios e na sequência na faixa de 449–544 °C têm-se a perda do restante da molécula ($\text{C}_{30}\text{H}_{24}$) que compõe a parte orgânica. Entre 544–783 °C observa-se que ocorre um aumento de massa na curva da TG com DTA constante. Isto pode ser atribuído a incorporação de oxigênio, visto que a atmosfera utilizada é de ar sintético, o que indica ter ocorrido à oxidação do metal presente na estrutura (MORO, 2007). Outra informação que elucida bem a oxidação-redução é que na faixa de 783 – 865 °C, exatamente na temperatura de 802 °C ocorre um evento endotérmico proveniente de reação de redução (Figura 26).

Figura 26 - Curva TG-DTA do complexo de $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

Resultados e Discussões

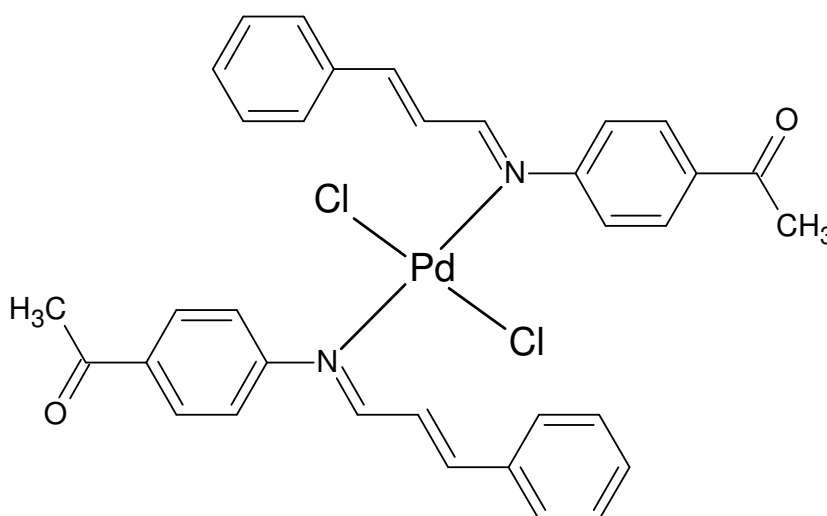
Tabela 6 - Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------------|---------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C1 10,0070 mg | 1 | 204 – 261 | - 9,06 | - 10,48 | - | 252 |
| | 2 | 261 – 372 | - 13,00 | - 12,73 | - | - |
| | 3 | 372 – 449 | - 4,52 | - 5,07 | - | - |
| | 4 | 449 – 544 | - 54,29 | - 56,88 | - | 511 |
| | 5 | 544 – 783 | + 0,39 | + 0,25 | - | - |
| | 6 | 783 – 865 | - 1,22 | - 2,36 | 803 | - |
| | Resíduo | - | 17,40 | 15,74 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo – Pd^o

Fonte: Do Autor.

A caracterização deste complexo nos leva a propor a estrutura abaixo:

Figura 27 – Estrutura proposta do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

4.3 COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5)

Todos os compostos apresentaram estabilidade a luz e a umidade. Foram realizadas as substituições do haleto Cl^- do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1) pelos pseudohaletos N_3^- e SCN^- , e os haletos Br^- e I^- . Os novos complexos $[\text{Pd}(\text{X})_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) apresentaram ponto de decomposição em 152 °C, 192 °C, 174 °C e 205 °C, respectivamente. Apresentando rendimento, solubilidade e análise elementar descrito na Tabela 7 abaixo:

Tabela 7 – Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

| Compostos | Rendimento (%) | CHN | | | Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) |
|-----------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---|
| | | C % enc. (calc.) | H % enc. (calc.) | N % enc. (calc.) | |
| C2 | 55 | 57,95 (59,26) | 4,81 (4,39) | 14,16 (16,26) | 4,41 |
| C3 | 28 | 60,66 (59,95) | 4,98 (4,19) | 6,27 (7,77) | 3,45 |
| C4 | 44 | 52,06 (53,39) | 4,03 (3,95) | 3,31 (3,66) | 4,24 |
| C5 | 67 | 49,76 (47,55) | 3,99 (3,52) | 4,44 (3,26) | 4,07 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado

Fonte: Do Autor.

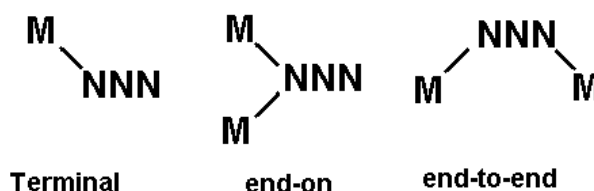
4.3.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A investigação estrutural requer o emprego de técnicas que possibilitem inferir sobre as moléculas presentes na espécie em estudo por conseguir identificar certos grupos funcionais e o modo de coordenação dos ligantes. Com estas finalidades empregou-se a

espectroscopia de absorção no infravermelho para amostras no estado sólido; esta técnica permitiu identificar com clareza compostos contendo pseudohaletos, já que estes ligantes possuem três modos vibracionais ativos no infravermelho.

O estiramento assimétrico ocorre em uma região ampla e limpa do espectro, entre 2000 cm^{-1} e 2270 cm^{-1} , na qual há a ausência de bandas de outros ligantes, possibilitando diagnosticar os modos de coordenação dos pseudohaletos (NAKAMOTO, 1998). Os complexos contendo azida possuem três modos vibracionais: o estiramento assimétrico (ν_{as}), o estiramento simétrico (ν_s) e a deformação angular (δ). Podem coordenar ao metal de forma terminal, também pode se coordenar em ponte entre dois centros metálicos pelo mesmo átomo de nitrogênio, modo de coordenação *end-on*. Ainda pode se coordenar como ligante em ponte entre dois centros metálicos, por dois átomos de nitrogênio, modo de coordenação *end-to-end* (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A Figura 28 apresenta os principais modos de coordenação da azida.

Figura 28 - Modos de coordenação mais comuns a azida



Fonte: Santana, 2004, 52 p.

A banda característica da presença da azida no complexo C2 é evidenciada na região de 2017 cm^{-1} (Figura 29). Segundo Nakamoto (1986), frequências abaixo de 2050 cm^{-1} são características de grupos azida coordenados de forma *N-terminal* (Tabela 8).

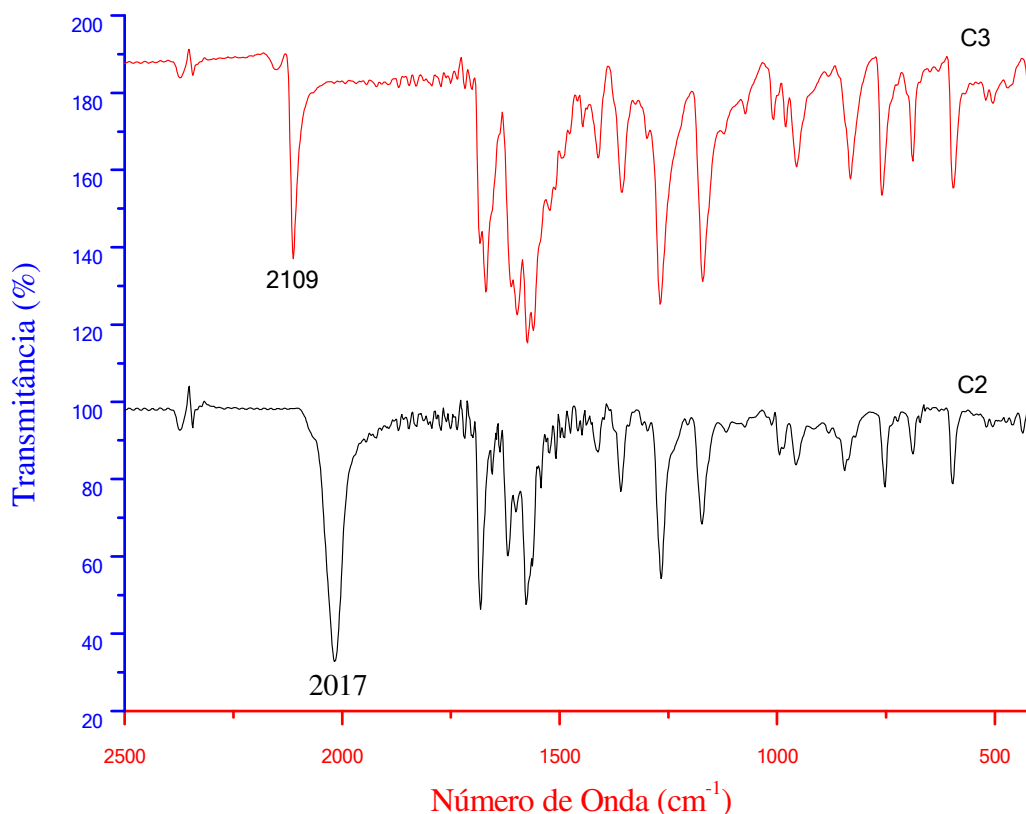
Tabela 8 - Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN

| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(N_3)$ | $\nu_s(N_3)$ | $\delta(NNN)$ |
|------------------------------|-----------------|--------------|---------------|
| NNN^- | 2041 | 1344 | 645 |
| N-terminal | 2050-2010 | 1304-1285 | 590-570 |
| end-on | 2080-2050 | 1290-1200 | 570-550 |
| end-to-end | 2100-2080 | 1290-1200 | 570-550 |
| $[Pd(N_3)_2(Hfaffe)_2]$ (C2) | 2017 | 1278 | - |
| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(SCN)$ | $\nu_s(SCN)$ | $\delta(SCN)$ |
| SCN^- | 2053 | 746 | 486 |
| N-terminal | 2100-2050 | 870-820 | 490-450 |
| S-terminal | 2125-2100 | 760-700 | 440-400 |
| end-to-end | 2165-2100 | 800-750 | 470-440 |
| $[Pd(Hfaffe)(SCN)]_2$ (C3) | 2109 | - | - |

Fonte: Do Autor.

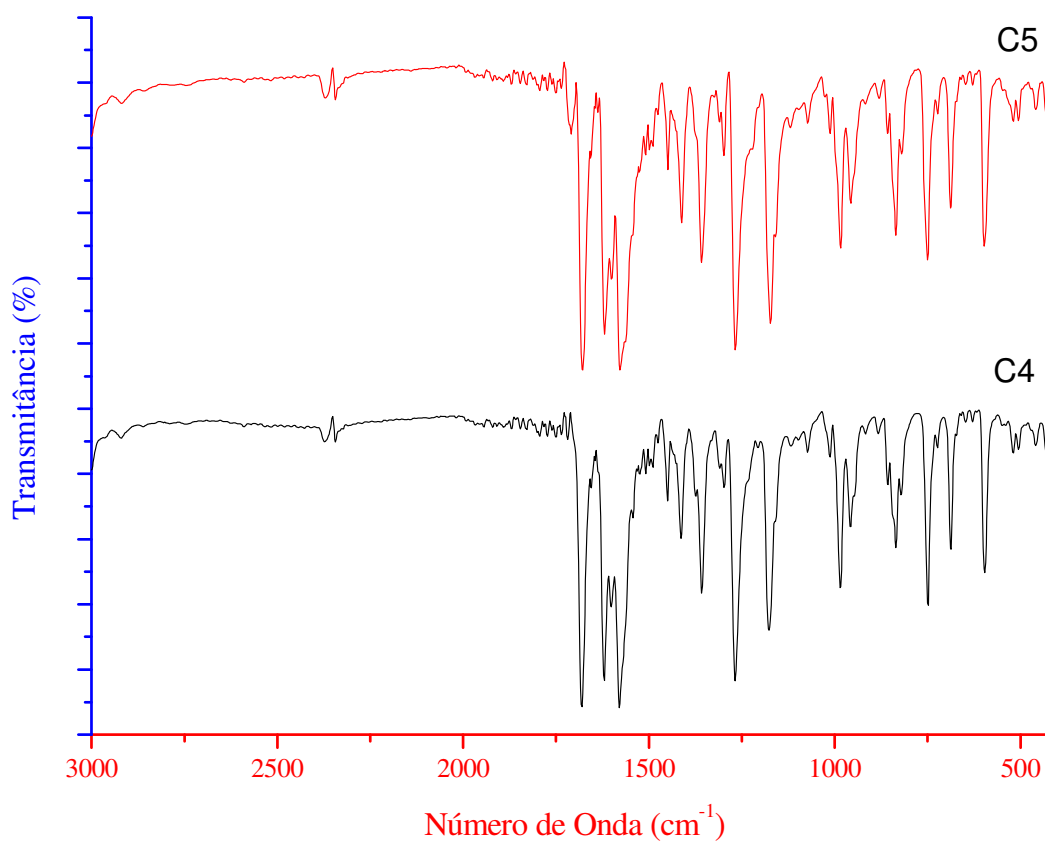
Resultados e Discussões

Figura 29 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3)



Fonte: Do Autor.

Os modos vibracionais do pseudohaleta SCN, além de apresentar três modos vibracionais ativos no infravermelho, o íon tiocianato pode se coordenar ao metal através do átomo de enxofre, nitrogênio ou por ambos, sendo predominante a coordenação pelo átomo de enxofre (NAKAMOTO, 1986; MEGURO et. al., 2008). A coordenação do grupo tiociano ao átomo de Pd(II) é evidenciada pelo aparecimento das bandas de estiramento $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$ na região de 2109 cm^{-1} (Figura 29). A banda do tiocianato no complexo C3 evidencia a coordenação do ligante ao metal no modo *S-terminal* (Tabela 8).

Figura 30 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfufe})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfufe})_2\text{I}_2]$ (C5)

Fonte: Do Autor.

As substituições do haleto Cl^- pelos haletos Br^- e I^- , não são evidenciadas no espectro de infravermelho, pois as vibrações da ligação Pd-Br e Pd-I não são observadas na região de 4000-400 cm^{-1} (Figura 30). Para melhor explanação dos resultados dos espectros no infravermelho, foram dispostos na Tabela 9, os principais modos vibracionais.

Tabela 9 - Principais modos vibracionais das ligações formadas com H

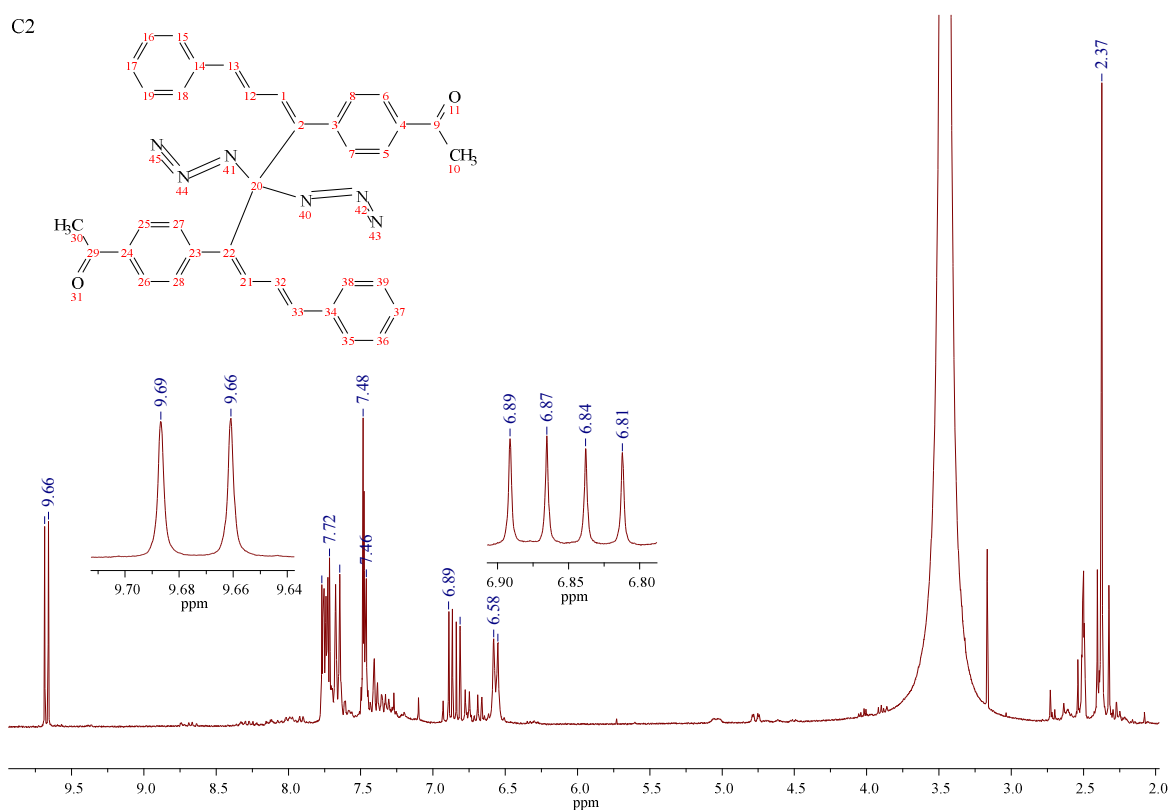
| Compostos | $\nu(\text{C}=\text{O})$ | $\nu(\text{C}=\text{N})$ | $\nu(\text{C}=\text{C})$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar1}}$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar2}}$ |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| L1 | 1670 | 1578 | 1625-1411 | 835 | 752 |
| C1 | 1682 | 1573 | 1627-1411 | 835 | 752 |
| C2 | 1681 | 1573 | 1618-1411 | 837 | 752 |
| C3 | 1667 | 1573 | 1597-1408 | 832 | 752 |
| C4 | 1680 | 1576 | 1620-1412 | 830 | 754 |
| C5 | 1680 | 1572 | 1615-1412 | 830 | 748 |

* ν = estiramento, δ = deformação, *ar.* = aromático.

Fonte: Do Autor.

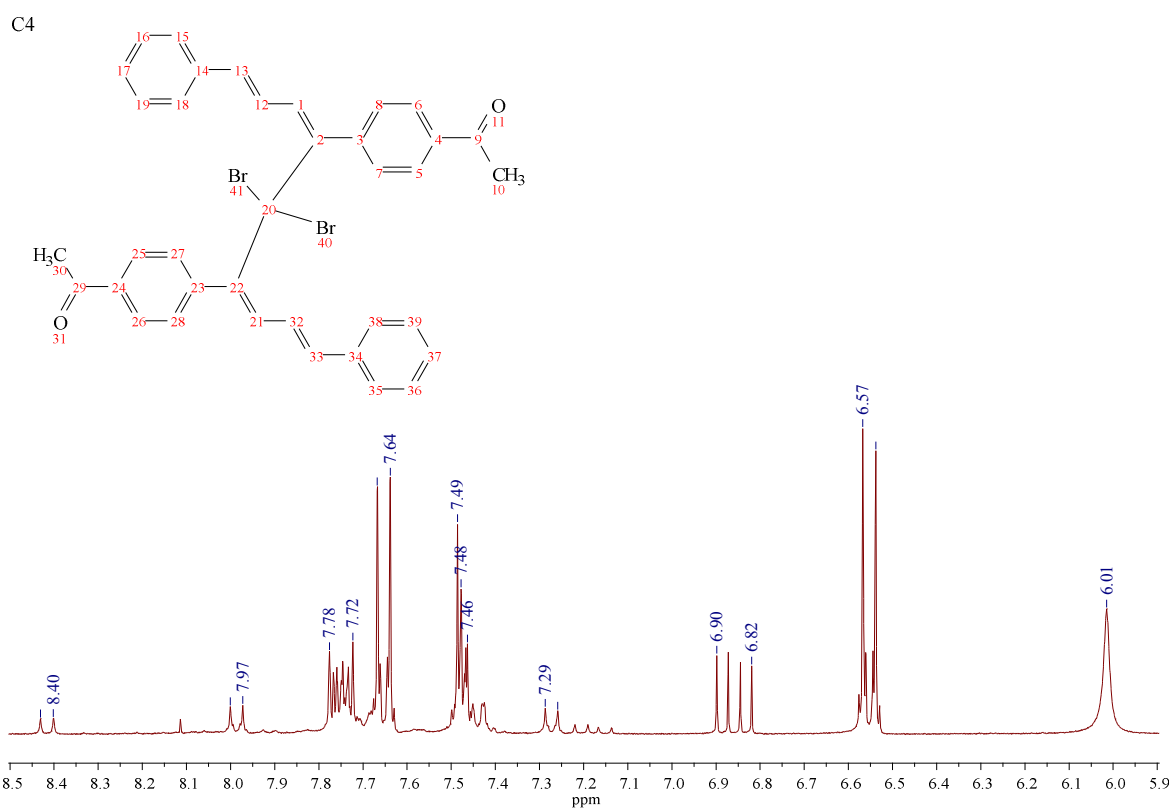
4.3.2 Espectroscopia de RMN

Os espectros de ^1H RMN dos compostos mostram as permanências dos sinais do ligante orgânico. Além disso, na região aromática observam-se séries complicadas de multipletos além da preservação dos picos principais, mostrando modificações nos anéis aromáticos (Figura 31).

Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

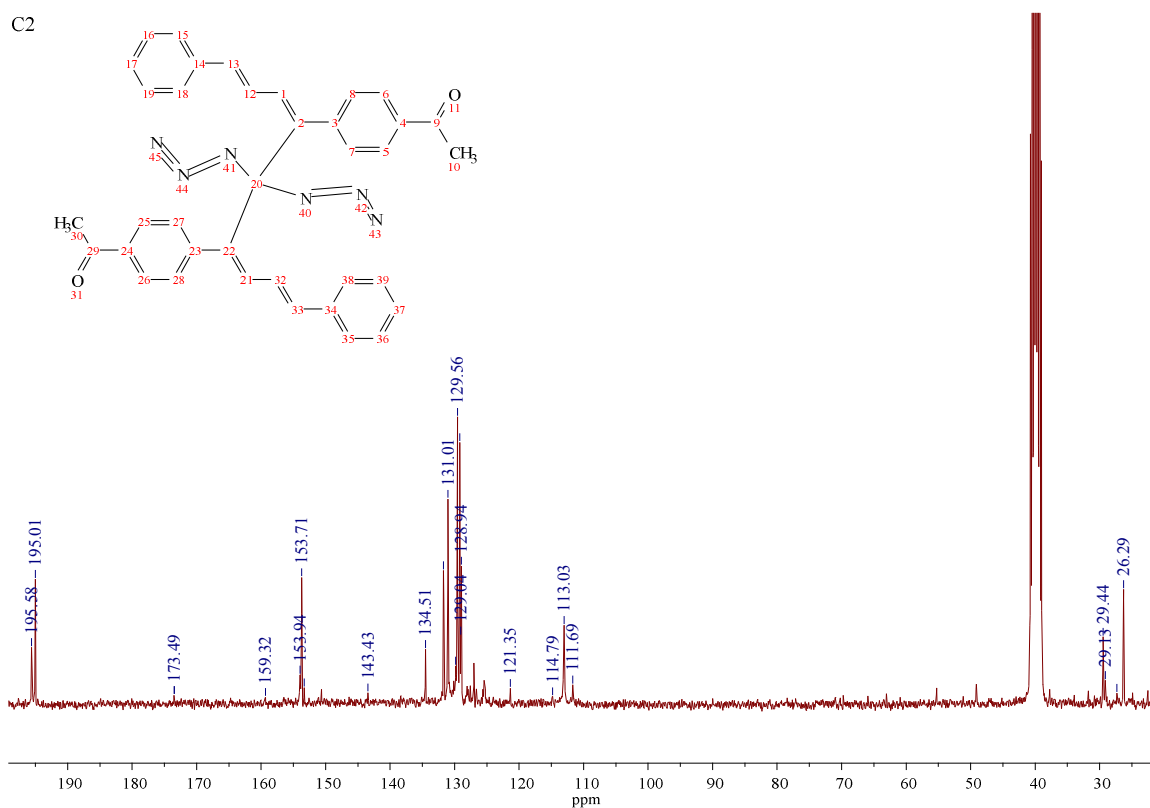
Fonte: Do Autor.

No espectro de RMN para próton, observa-se que não ocorre deslocamento químico dos prótons presentes na estrutura. Isso corrobora a proposta da estrutura que o Pd(II) não está ciclometalado ao ligante. Esta observação também é feita para o espectro do complexo contendo Br^- (Figura 32).

Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

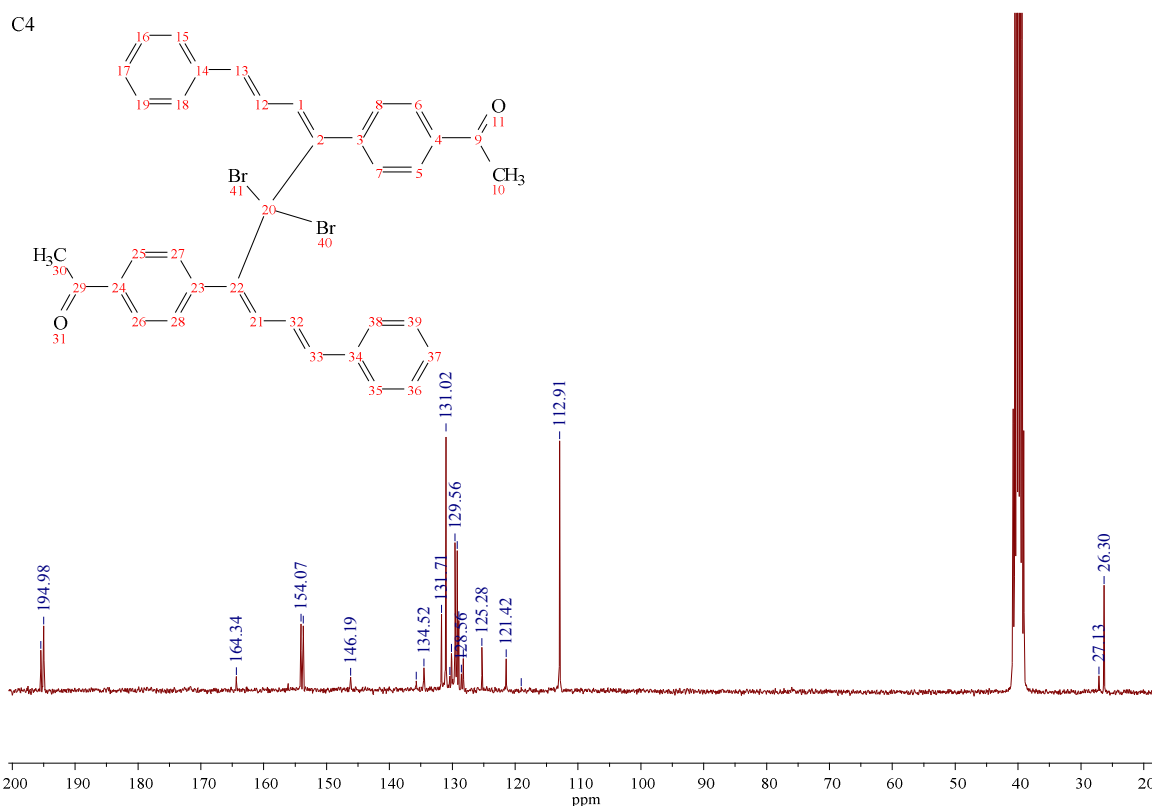
Fonte: Do Autor.

Nos espectros de RMN ^{13}C (Figura 33), os picos principais do ligante permanecem na estrutura dos complexos, pois se observa deslocamento dos valores dos sinais do carbono.

Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

Fonte: Do Autor.

A análise do espectro de RMN ^{13}C revela mudanças significativas em relação ao espectro do ligante livre, que corroboram a proposta de coordenação entre os nitrogênios das iminas e o íon metálico (Figura 34). O deslocamento da banda referente ao carbono da imina de 164,31 ppm no ligante livre para 194,98 ppm indica que esse carbono foi fortemente desblindado. Como já discutido, a coordenação com o metal desloca densidade eletrônica para a formação da ligação coordenativa.

Figura 34 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

Fonte: Do Autor.

4.3.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Um resumo dos principais dados obtidos a partir das curvas TG/DTA dos compostos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) estão demonstrado na Tabela 10. Estes compostos não apresentaram o mesmo padrão para todos os complexos. Pois, o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2), na primeira etapa de termodecomposição em 151 – 167 °C tem-se uma perda brusca de 54% referente a massa total. E o estudo térmico deste composto nos mostra que não ocorre o ganho de massa, como observado nos complexos em estudo. Entretanto, é possível observar na DTA um pico endotérmico em 806 °C, que é evidência de oxidação do metal Pd. Este mesmo comportamento é observado para o complexo $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), que na curva TG não apresenta ganho na massa, mas a sua DTA apresenta um pico endotérmico em 802 °C.

Resultados e Discussões

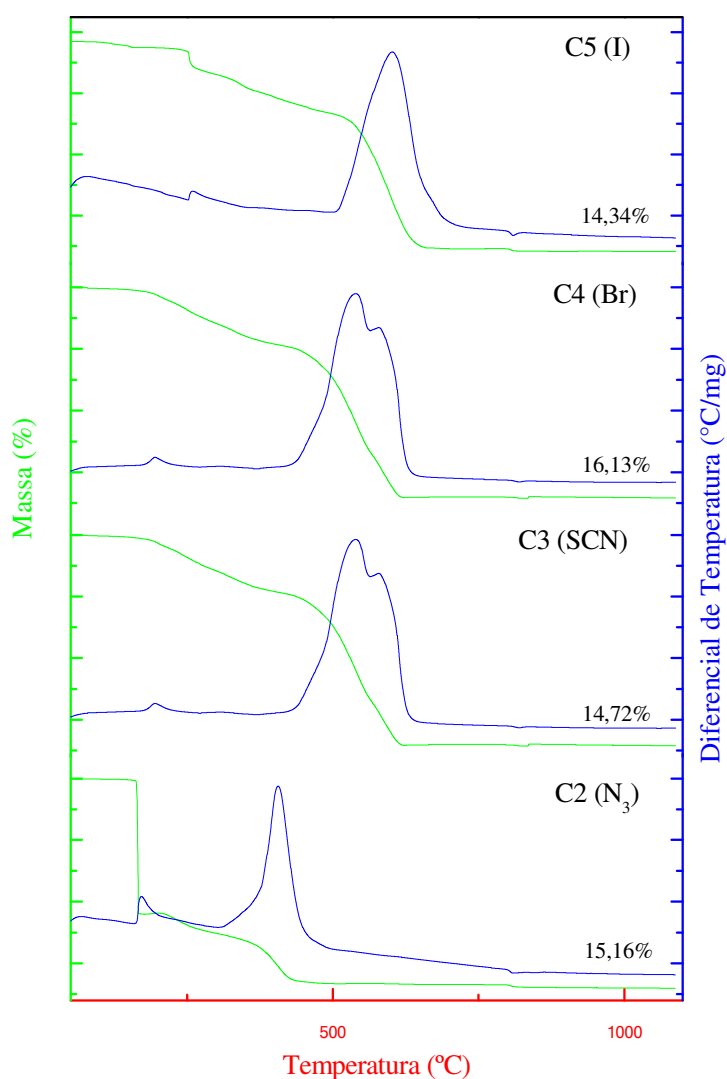
Tabela 10 - Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição

| Composto | Etapas | $\Delta T/^{\circ}\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^{\circ}\text{C}$ | |
|------------------|---------|-----------------------------|---------------|---------|-------------------------------|-----------|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C2 8,3880 mg | 1 | 151 – 167 | - 54,61 | - 54,25 | - | - |
| | 2 | 167 – 290 | - 7,55 | - 8,41 | - | 169 |
| | 3 | 290 – 786 | - 20,63 | - 20,42 | - | 405- |
| | 4 | 786 – 920 | - 1,74 | - 1,56 | 806 | - |
| | Resíduo | - | 15,16 | 14,72 | - | - |
| C3 12,2250 mg | 1 | 133 – 387 | - 20,70 | - 19,96 | - | 195 |
| | 2 | 387 – 998 | - 63,92 | - 65,25 | - | 538 – 579 |
| | Resíduo | - | 14,72 | 14,76 | - | - |
| | | | | | | |
| C4 11,5670 mg | 1 | 152 – 249 | - 16,86 | - 11,25 | - | 260 |
| | 2 | 249 – 363 | - 11,64 | - 20,89 | - | - |
| | 3 | 363 – 603 | - 50,80 | - 53,93 | - | 609 |
| | 4 | 603 – 803 | + 0,25 | + 0,52 | - | - |
| | 5 | 803 – 872 | - 2,00 | - 2,09 | 818 | - |
| | Resíduo | - | 16,13 | 13,91 | - | - |
| C5 8,2460 mg | 1 | 176 – 322 | - 9,32 | - 10,02 | - | 258 |
| | 2 | 322 – 381 | - 13,01 | - 14,77 | - | - |
| | 3 | 381 – 540 | - 64,03 | - 62,80 | - | 600 |
| | 4 | 540 – 786 | + 0,70 | + 0,93 | - | - |
| | 5 | 786 – 888 | - 1,15 | - 1,862 | 811 | - |
| | Resíduo | - | 14,34 | 12,39 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo = Pd⁰.

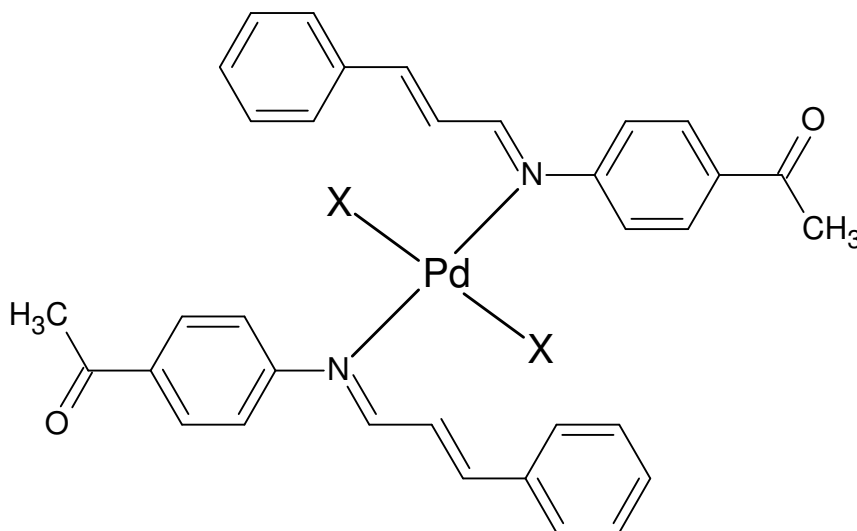
Já os complexos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2\text{I}_2]$ (C5), ambas as decomposições térmicas ocorrem etapas de termodecomposição constituída das duas partes de CH_3O e em sequência a perda dos pseudohaletos ou haletos presentes na estrutura. Consecutivamente, tem-se a perda das demais partes do ligante $2(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N})$ que são liberados completamente, na qual a curva DTA exibe pico exotérmico referente à queima da matéria orgânica. Na etapa seguinte observa-se o ganho de oxigênio, parte oriunda da molécula e as demais pelo ar sintético utilizado na análise de TG-DTA. Na última etapa observa-se um pico endotérmico, devido à redução do PdO a Pd° (Figura 35).

Figura 35 – Curvas TG-DTA dos complexos de substituição



Ao analisar os dados, propomos que a estrutura dos complexos seja a seguintes, Figura 36:

Figura 36 – Estrutura proposta dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)



Fonte: Do Autor.

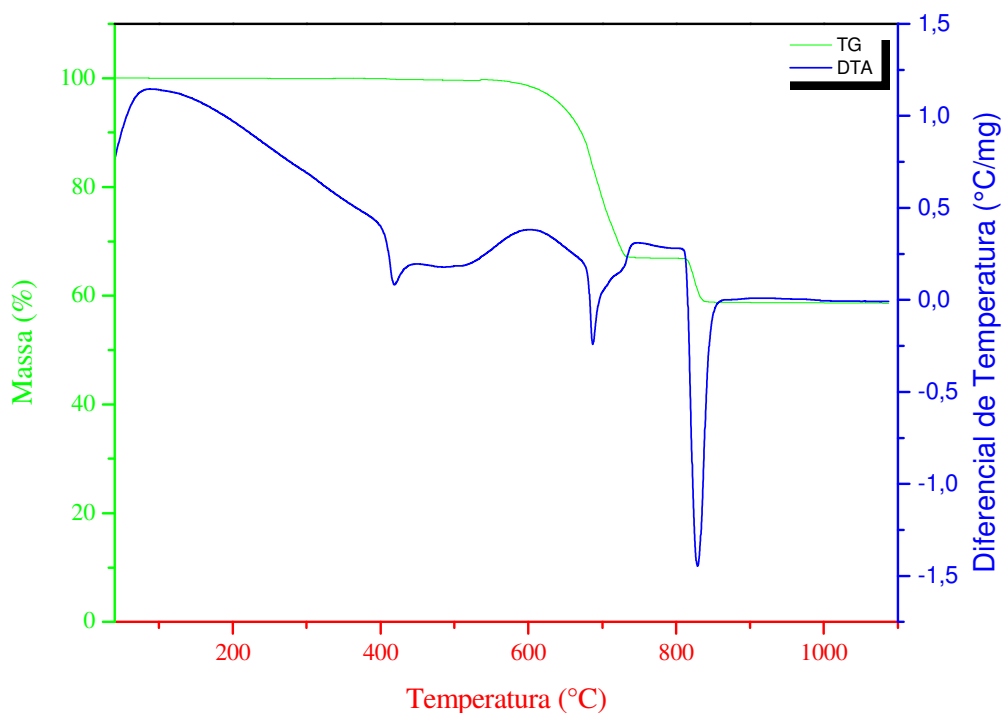
Considerando as temperaturas iniciais de decomposição térmica dos compostos C1 – C5, propõe a seguinte ordem crescente de estabilidade térmica:



Analisando as curvas de TG e DTA de todos os compostos que contém paládio pode-se observar a presença de um ganho de massa que ocorre simultaneamente com as perdas referentes a eliminação de compostos orgânicos, haletos e pseudohaletos, e posteriormente uma perda de massa aproximadamente de 800 °C que é acompanhada de um pico endotérmico na DTA, devido respectivamente, a formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras e seguido de sua redução a paládio(0).

Resultados e Discussões

A formação de óxidos sólidos com aquecimento que contenham os metais do grupo da platina, já foram estudados há vários anos, Bayler e Wiedemann publicaram um estudo em 1975 em que constata-se que há formação de óxido de paládio e sua degradação no tratamento térmico de amostras de paládio metálico. A seguir (Figura 37) são mostradas as curvas TG e DTA do composto PdCl_2 . A degradação inicia-se a aproximadamente 547°C . No intervalo de $547\text{-}806^\circ\text{C}$ há uma perda de massa no valor de $32,82\%$ equivalentes a eliminação dos ligantes cloretos e a captação de $0,5\text{ O}_2$ devido a formação de óxido de paládio (Δm calculado: $-31,64\%$).

Figura 37 - Curvas TG e DTA para PdCl_2 

Fonte: Do Autor.

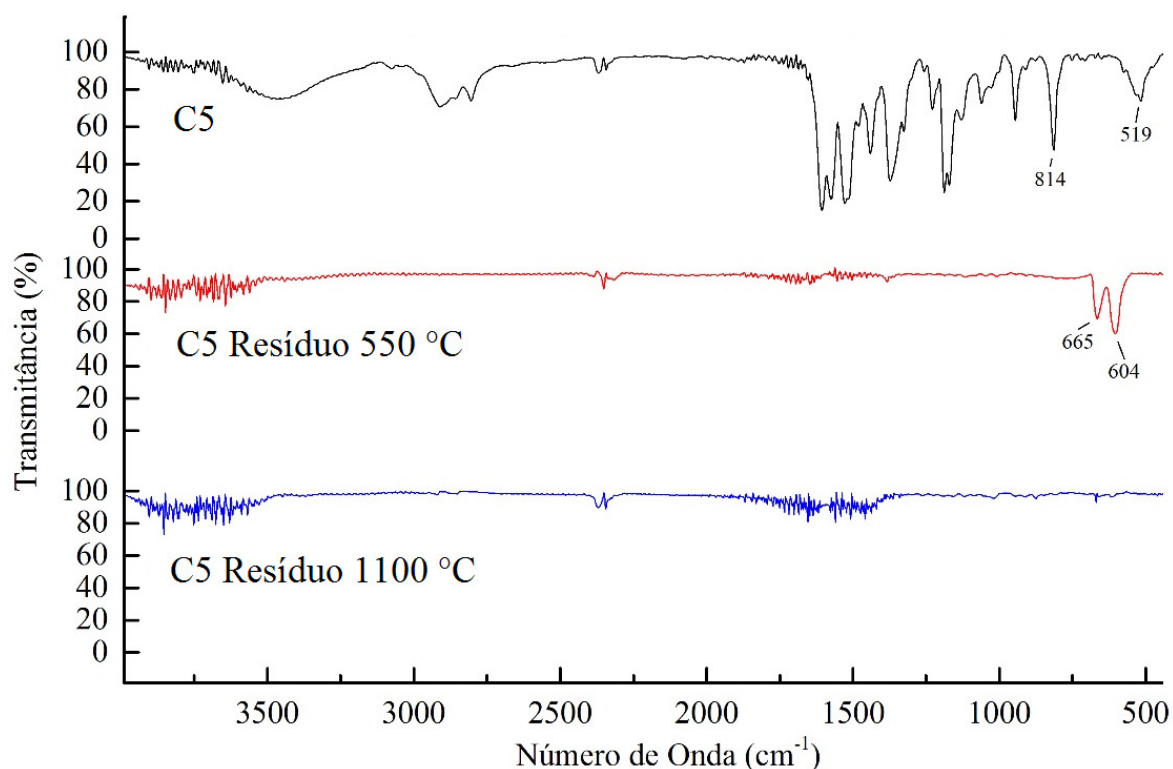
Tabela 11 - Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl₂

| Composto | Etapa | $\Delta T/^{\circ}C$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^{\circ}C$ | | Atribuições |
|-------------------|---------|----------------------|---------------|--------|------------------------|---------|--|
| | | | Enc. | Cal. | Exo. | End. | |
| PdCl ₂ | 1 | 547-806 | -32,82 | -31,64 | - | 418/688 | -2Cl ⁻ .+0,5 O ₂ |
| | 2 | 806-903 | -8,14 | -8,36 | - | 829 | -0,5 O ₂ |
| | Resíduo | -m | 58,76 | 60,01 | - | - | Pd(0) |

Fonte: Do Autor.

Para confirmação da formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras dos compostos obtidos ainda foram realizados estudos utilizando o composto C5 (escolha aleatória), o qual foi submetido ao aquecimento de análise térmica seguindo mesmas condições de atmosfera (ar sintético) e razão de aquecimento (20 $^{\circ}C/min.$), porém o aquecimento foi interrompido em 550 $^{\circ}C$ e com o resíduo realizou-se análise de espectrometria na região do infravermelho. O mesmo foi realizado com o resíduo após a curva ser completada aos 1100 $^{\circ}C$. Na Figura 38 são mostrados os espectros do composto C5, do resíduo deste composto após aquecimento 550 $^{\circ}C$ e do resíduo após aquecimento 1100 $^{\circ}C$. E o que pode ser constatado é que após 550 $^{\circ}C$ não se observa nenhuma banda do composto C5 corroborando sua degradação. Porém, podemos observar bandas em 665 e 604 cm^{-1} que não aparecem no espectro do composto C5, são observadas no resíduo após aquecimento até 550 $^{\circ}C$ e que são referentes a absorções do óxido de paládio (CHAUSSE; REGULL; VICTORI, 1987). Já o espectro de IV do resíduo após 1100 $^{\circ}C$ não apresenta nenhuma absorção, indicando a redução do óxido de paládio a paládio metálico.

Figura 38 - Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C



Fonte: Do Autor.

4.3.4 Difração de raios X

O monocrystal do complexo C2 foi obtido a partir do método de cristalização evaporação lenta de uma solução de clorofórmio e este foi utilizado para o experimento de difração de raios X de monocrystal. A análise da estrutura molecular (comprimentos e ângulos de ligação) foi realizada utilizando o software MOGUL (BRUNO, et al. 2004), sendo este pertencente à base de dados estruturais da Cambridge (CSD) que permite a comparação de fragmentos da molécula estudada com fragmentos similares de moléculas depositadas na base de dados.

Os dados cristalográficos (dados cristalinos, de coleta e refinamento) estão apresentados na Tabela 12 e a apresentação ORTEP do composto pode ser verificada na Figura 39. A Figura 40 ilustra o empacotamento molecular na cela.

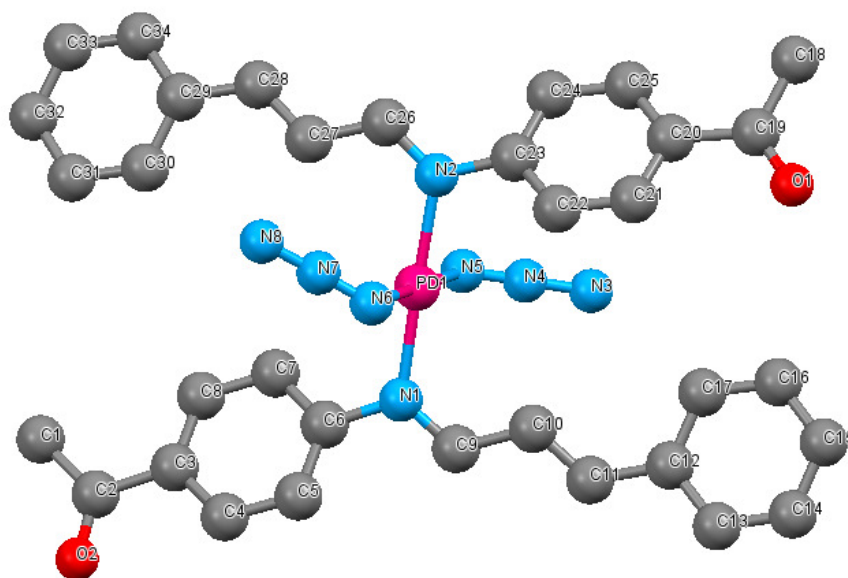
Tabela 12 - Dados Cristalográficos para o complexo [Pd(N₃)₂(Hfafa)₂] C2

| Dados | Cristal |
|---|--|
| Fórmula Empírica | C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₂ Pd |
| Peso molecular | 689,06 |
| Temperatura / K | 298 (2) |
| Comprimento de onda / Å | 0,71073 |
| Grupo Espacial | P1 |
| Sistema Cristalino | Triclínico |
| Parâmetros de cela | a = 7,035(5) Å |
| | b = 13,549(5) Å |
| | c = 16,727(5) Å |
| | α = 92,276(5)° |
| | β = 100,868(4)° |
| Volume / Å ³ | γ = 93,044(5)° |
| | 1561.55 (13) |
| | Z |
| Densidade Calculada /Mg m ⁻³ | 0,733 |
| Coeficiente Absorção / mm ⁻¹ | |
| F(000) | 674 |
| Coeficiente absorção | 0.638 |
| Comprimento de onda | 0.71073 |
| Radiação | MoK α |
| R1 | 0.1101 |
| wR2 | 0.1511 |
| GooF | 1.048 |
| Hábito / cor | |

Fonte: Do Autor.

Esta análise apontou que todos os comprimentos, bem como ângulos de ligação não sofrem nenhum desvio estatístico quando comparados aos fragmentos similares e condizem com os valores esperados quimicamente e para um bom refinamento. O estudo estatístico e a Tabela de valores gerada pelo software estão disponíveis no Anexo A.

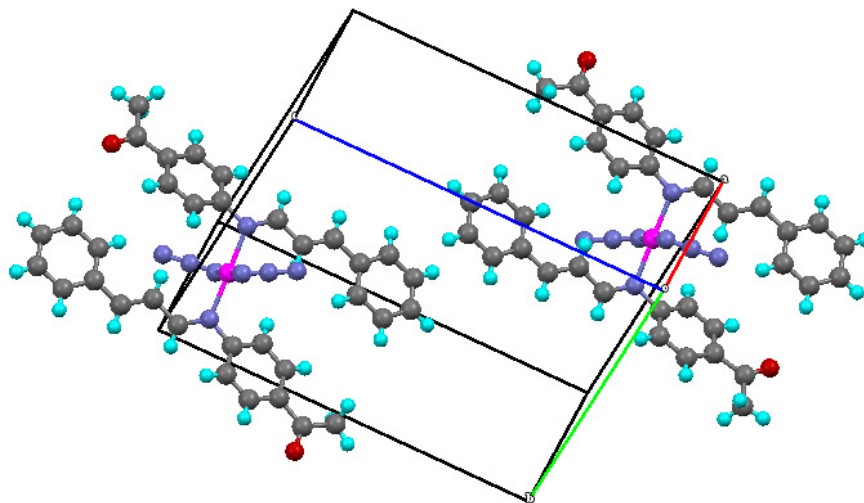
Figura 39 - Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2] C_2$



* Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização

Fonte: Do Autor.

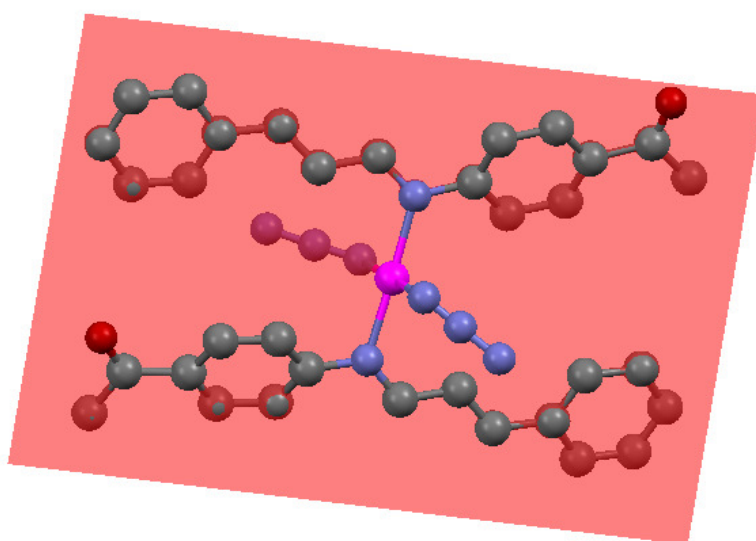
A partir dos dados de difração de raios X de monocristal verifica-se que o complexo sintetizado não houve a formação de organometálico, pois o metal de transição coordenou ao ligante orgânico somente por um sítio de coordenação com o átomo de nitrogênio. Observa-se que a ázida está em posição *trans* uma da outra, como os ligantes imínicos (Figura 39).

Figura 40 - Empacotamento molecular do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ na cela

Fonte: Do Autor.

Verifica-se que os átomos coordenantes se encontram em planos diferentes do metal. O desvio foi verificado traçando um plano através dos átomos (Figura 41), com isso verificou-se os desvios no plano traçado, como sumarizado na Apêndice B.

Figura 41 - Plano traçado entre o centro simétrico do C2



Ao analisarmos os ângulos de coordenação, é notável o desvio em relação ao padrão para uma geometria quadrado planar, principalmente o ângulo formado por N3-Pd1-N2. Isso ocorre porque existe uma repulsão entre as azidas, aumentando o ângulo entre suas ligações coordenativas e, conseqüentemente, diminuindo o ângulo oposto. Além disso, a repulsão entre azida e anel aromático é maior em um dos lados do composto, visto que esses dois grupos estão mais próximos justificando o fato de o ângulo entre N1-Pd1-N5 ser maior do que o formado por N2-Pd1-N5. Os ângulos entre as ligações entre o átomo metálico e os ligantes estão na Tabela 13. Os demais ângulos de ligação podem ser encontrados no Anexo C.

Tabela 13 - Dados cristalográficos de ângulos de ligação

| 1 | 2 | 3 | Ângulo (°) |
|----|-----|----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) |

Fonte: Do Autor.

A formação de uma ligação coordenativa entre o nitrogênio das iminas e o paládio(II) provocou uma diminuição da densidade eletrônica dessa ligação dupla, diminuindo ainda mais o caráter de dupla ligação de C=N. Esse caráter já é diminuído pelo fato de esta ligação ser conjugada a um anel aromático. Esse efeito causa um aumento no comprimento de ligação do grupo imínico em relação ao ligante livre (HAO; ZHANG, 2005), o que pode ser observado através da análise dos dados de difração de raios X. Esses dados confirmam as conclusões já obtidas pela análise do espectro na região do infravermelho.

4.4 TESTES BIOLÓGICOS

As aplicações biológicas dos complexos foram realizadas frente às células mamárias MCF-7 (ER+) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER-, PR-, HER2-), parasita *Leishmania*, na forma de promastigota e amastigota e as leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Os testes ocorreram com o ligante imínico L1 e os complexos C1-C5.

4.4.1 Teste antitumoral

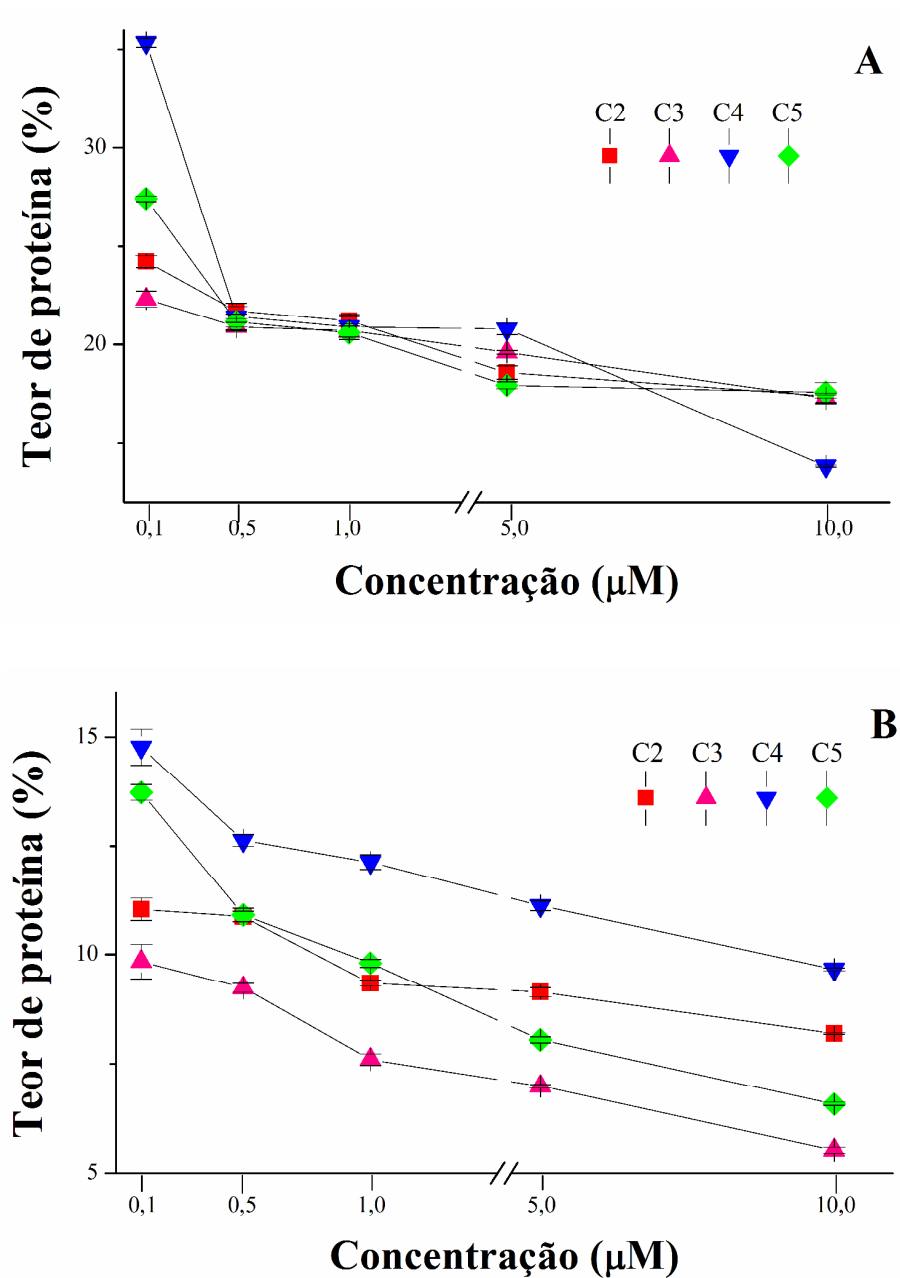
Vários agentes quimioterápicos utilizados na prática clínica apresentam atividade citotóxica, portanto, a citotoxicidade pode ser utilizada como um indicativo da atividade antitumoral de um composto (LE TOURNEAU et al., 2010). A citotoxicidade compreende um conjunto de alterações bioquímicas e genéticas que interrompem a homeostase celular e pode ser estimada por testes que avaliam a liberação de enzimas, a viabilidade, a sobrevivência e a morte celular. Os testes de viabilidade baseiam-se na exclusão ou incorporação de corante, medida da atividade enzimática e da determinação do conteúdo protéico celular. Um composto citotóxico induz, em curto prazo, perda da viabilidade celular, enquanto, um citostático afeta a sobrevivência em longo prazo ou a proliferação celular (SUMANTRAN, 2011).

Para estes testes foram avaliados os efeitos do ligante L1 e os novos complexos de Pd(II) C1 à C5 para as células MDA-MB-435. Já para as células MCF-7 os complexos C1 à C5. Os complexos de paládio(II) testados afetaram a viabilidade celular, evidenciada pela diminuição do teor protéico das células tratadas comparadas ao Controle Negativo (CN), pelo ensaio de SRB. Observa-se que os compostos foram citotóxicos, pois induziram diminuição do teor de proteínas celulares. O composto mais ativo para a célula MCF-7 foi o C4 sobre o efeito máximo nas células incubadas por 24 h, porém a incubação por 48 h o complexo C3 apresentou ser mais ativo, com a concentração de 10 μ M para os dois complexos (Figura 42). Já para a célula MDA-MB-435 o complexo mais ativo foi o C1 sobre a incubação de 24 h e

Resultados e Discussões

48 h, sendo o efeito máximo obtido com o tratamento com 0,1 μM (Figura 43). Os complexos apresentaram citotoxicidade diferentes uns dos outros e em concentrações diferentes, evidenciando que a atividade biológica de um composto está relacionada à estrutura química.

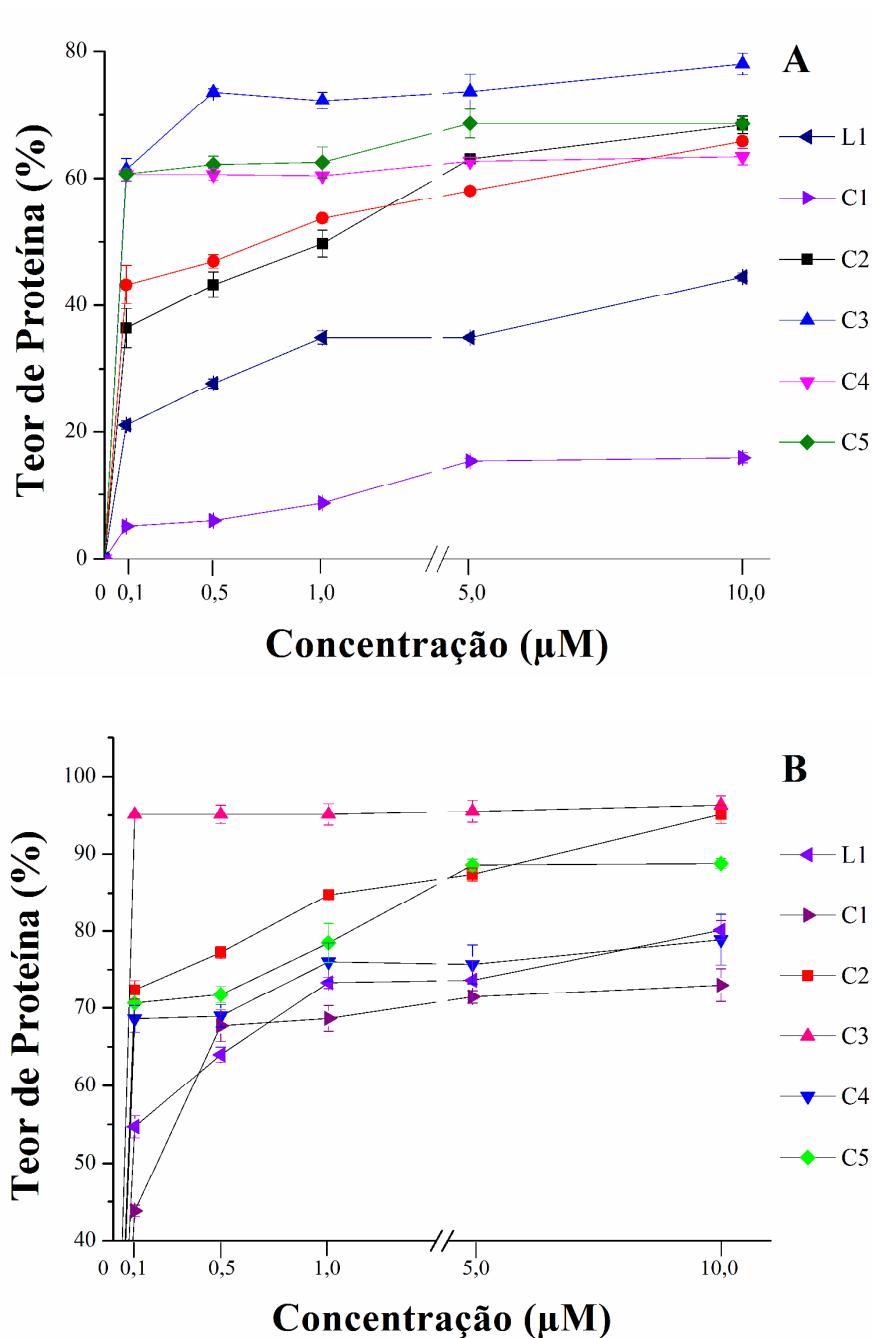
Figura 42 - Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

Fonte: Do Autor.

Figura 43 - Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

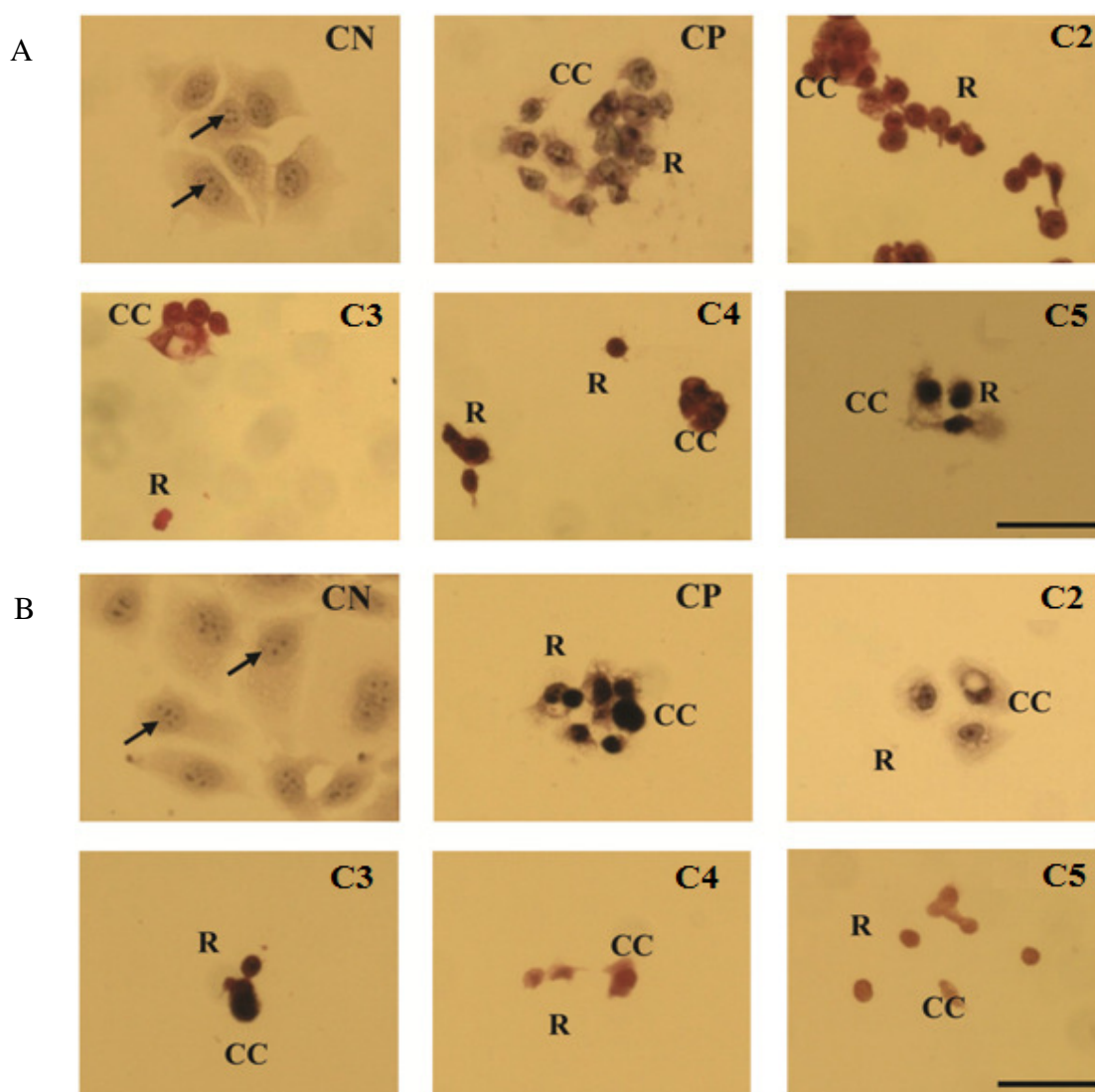
Fonte: Do Autor.

A demonstração mais confiável do efeito citotóxico de um agente toxicante é a alteração morfológica de células em cultura, com crescimento em monocamada (EKWALL et

Resultados e Discussões

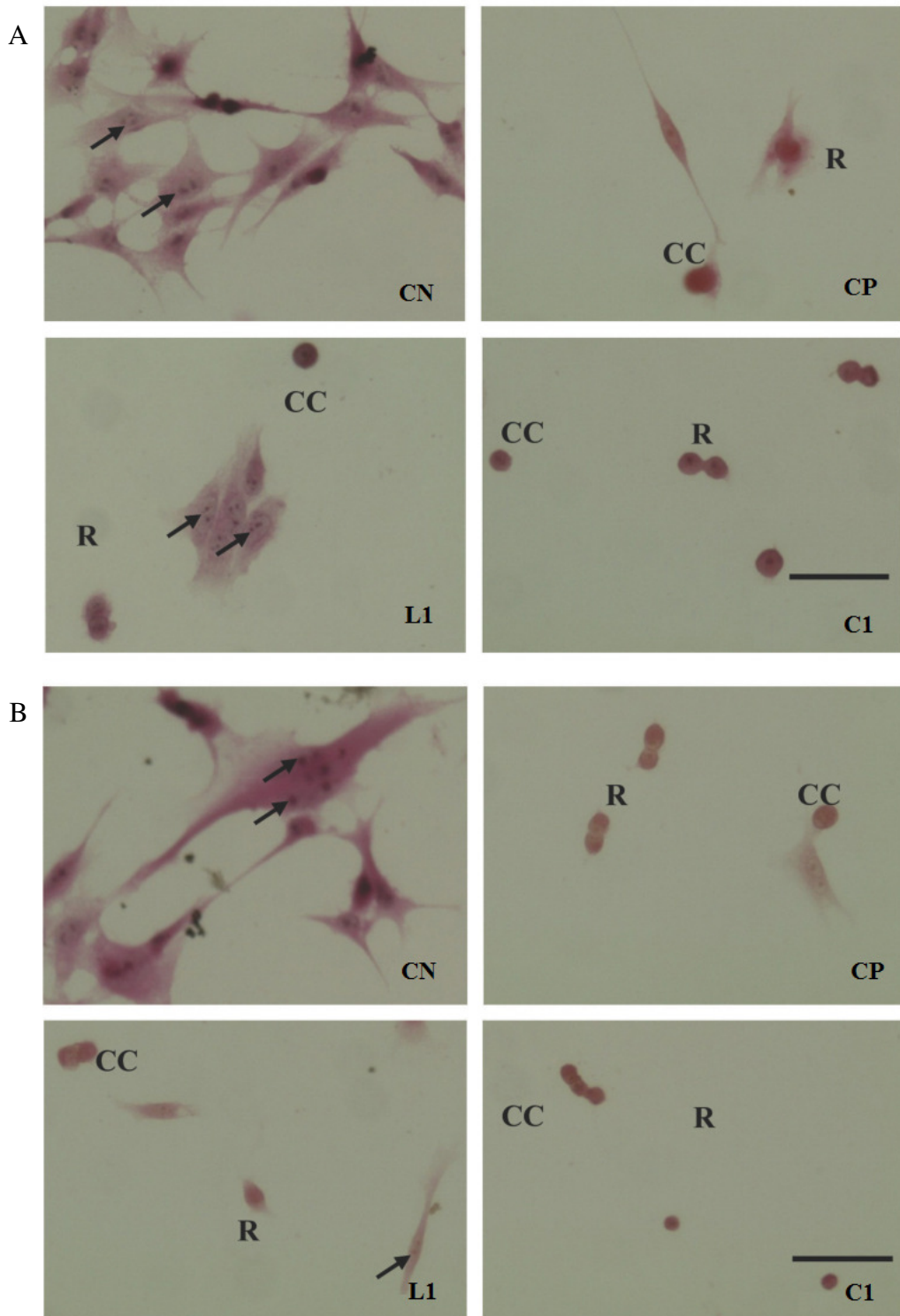
al., 1990). As células do Controle Negativo (CN) crescem em colônias apresentam formato poliédrico irregular, citoplasma menos corado que o núcleo e nucléolos evidentes. O tratamento das células com o Controle Positivo (CP) e os compostos resultou em alterações morfológicas evidentes, tais como perda da morfologia celular típica, condensação da cromatina, arredondamento, diminuição da célula e perda de prolongamentos responsáveis pela adesão ao substrato, o que indica alteração do citoesqueleto. Além disso, as células tratadas com os compostos cresceram de forma isolada. Apenas no tratamento com L1 a 0,1 μM , por 24 h foi possível encontrar colônias celulares (Figura 44 e 45).

Figura 44 - Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5.



Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μM e a 0,1 μM ; barra = 5 μm .

Figura 45 - Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1



Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μ M e a 0,1 μ M; barra = 5 μ m.

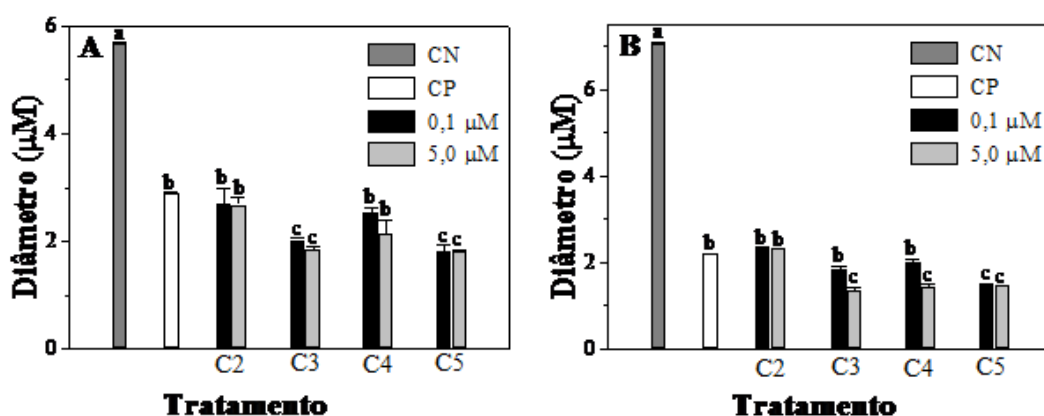
Fonte: Do Autor.

Resultados e Discussões

Através da análise das variações explicitadas anteriormente, é possível concluir que os compostos sintetizados apresentaram atividade citotóxica frente às células MCF-7 e MDA-MB-435. Comparando os resultados obtidos para a base de Schiff com os dos complexos sintetizados, nota-se que a presença do paládio(II) intensifica a ação citotóxica desse ligante, visto que as células tratadas com esses complexos apresentaram mais evidências de morte celular do que a base de Schiff livre. Comparando os resultados das células tratadas com os complexos, os que apresentaram, qualitativamente, mais atividade foram os complexos C1 (Contendo Cl) para as células de MDA-MB-435 e que todos os complexos testados (C2-C5) apresentaram citotoxicidade para as células MCF-7. Outra constatação importante é a influência do tempo de tratamento com os compostos no nível de morte celular. As células que foram tratadas por 48 horas apresentaram indícios de um maior nível de morte celular do que as tratadas por 24 horas.

A diminuição das células, após tratamento com todos os compostos, foi demonstrada pela redução significativa ($p < 0,001$) do diâmetro celular, em comparação ao CN e esta foi dependente do tempo de incubação (Figuras 46 e 47). A análise do efeito dos complexos da série C2-C5, mostrou que, após tratamento por 24 h, os complexos C3 e C5 foram mais ativos ($p < 0,01$) que a cisplatina e após 48 h, o complexo C5 continuou tendo uma melhora significativa a $0,1 \mu\text{M}$, sendo este o mais ativo (Figura 46).

Figura 46 – Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de $0,1 \mu\text{M}$ e $5,0 \mu\text{M}$

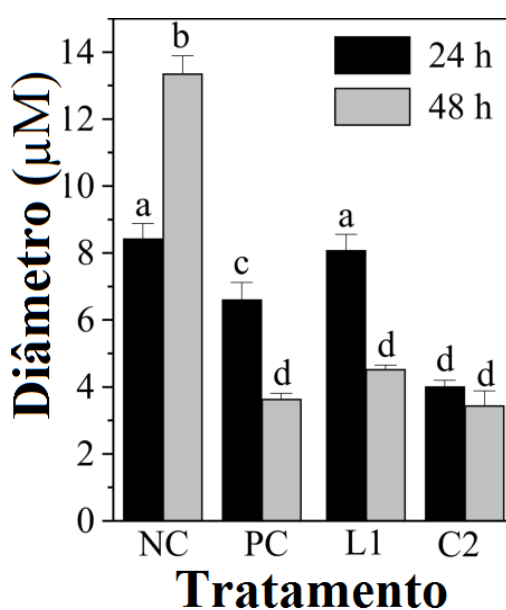


Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a $5 \mu\text{M}$; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussões

A redução do volume celular dos compostos L1 e C1 foi dependente da concentração e do tempo de incubação. Após tratamento por 24 h e 48 h o complexo C1 a 5 μM foi o mais ativo, com redução do O encolhimento celular foi ainda confirmado pela determinação do comprimento da célula, que foi significativamente ($p < 0,05$) diminuída em comparação com as células controle. diâmetro celular semelhante à induzida pelo controle positivo cisplatina.

Figura 47 – Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

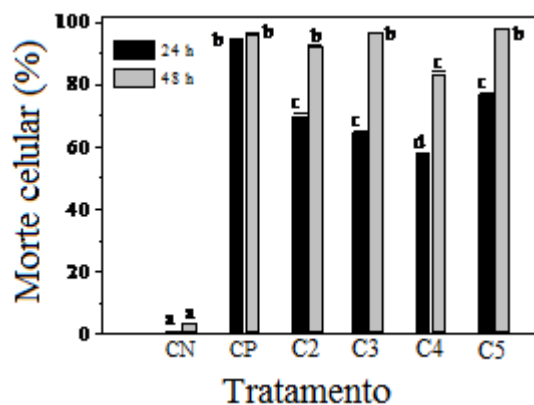
Fonte: Do Autor.

O teste utilizando *fastgreen* para detecção de morte celular é um método de coloração diferencial que determina a morte celular por perda de viabilidade e não utiliza um sinal específico de morte. Assim, alterações celulares que incluam perda da integridade da membrana plasmática, de atividade enzimática, de ATP ou de atividade de esterase da membrana plasmática podem ser detectadas pela coloração com *fastgreen*. Este método pode ser utilizado para células em cultura e é, particularmente, útil para a avaliação da morte celular em tumores sólidos (espécimes clínicos) e quando há população mista de células

Resultados e Discussões

(WEISENTHAL, 2011). Os compostos induziram significativamente ($p < 0,05$) a morte celular e esta foi dependente do tempo de tratamento, sendo a incubação por 48 h mais eficiente que por 24 h. (Figura 48 e 46).

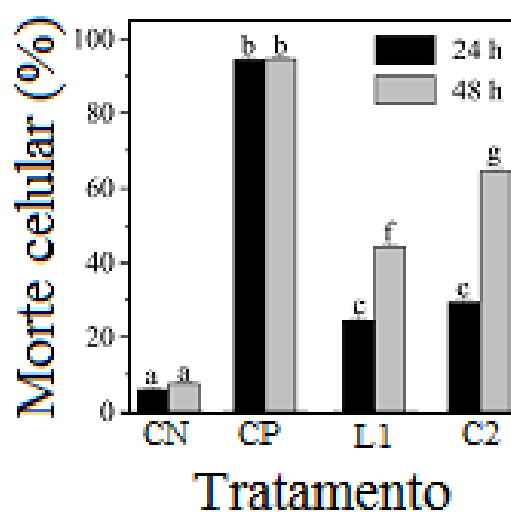
Figura 48 – Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μ M; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Figura 49 – Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1

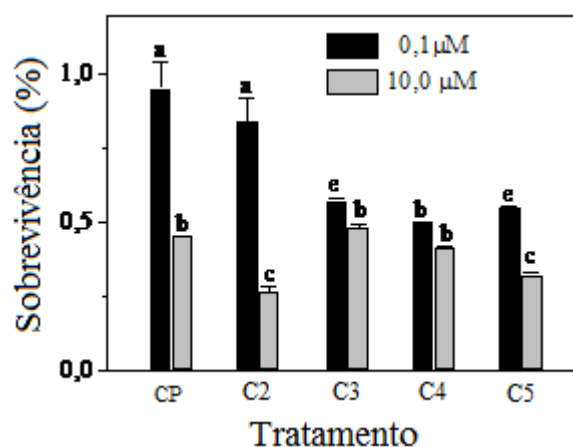


Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μ M; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussões

O ensaio clonogênico é um ensaio *in vitro* baseado na capacidade de uma única célula sobreviver, se proliferar e formar uma colônia, com no mínimo 50 células, detectando-se, assim, a morte celular reprodutiva. Este teste permite obter a taxa de sobrevivência celular após o tratamento. A Figura 50 mostra a porcentagem de sobrevivência de células MCF-7, após o tratamento e nota-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) da sobrevivência celular, sendo o efeito dos compostos dependente da concentração e do tempo de incubação. O composto C2 (contendo N_3) se mostrou mais ativo a $10 \mu M$.

Figura 50 - Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e $10 \mu M$



Legenda: (CP) cisplatina a $5 \mu M$; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,01$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Tem sido proposto que o efeito citotóxico de complexos de paládio(II) para células tumorais decorre da interação do complexo com o DNA, por meio da formação de ligações cruzadas coordenadas entre o Pd(II) e a guanosina do DNA (ALBERT et al., 2013; CAIRES, 2007; GAO et al., 2009; SAEIDIFAR et al., 2013), o que pode também ter ocorrido para estes novos compostos. Os complexos C1-C5 se mostraram ativos, talvez por causa da estrutura, já que são monodentados e não ciclopaladados. Em relação à série de novos complexos os mais ativos foram os complexos C1 (Cl) e C2 (N_3), evidenciando que o substituinte é importante para a atividade do complexo de paládio(II).

Os resultados demonstraram pela primeira vez o efeito citotóxico e que todos os compostos analisados foram citotóxicos para as células MCF-7 e MDA-MB-435 e parecem ser bons candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento do câncer de mama. Estudos estão em progresso para verificar o efeito *in vivo* desses compostos.

4.4.2 Teste anti-leishmania

A atividade anti-leishmania dos compostos foi avaliada contra as formas promastigota (Tabela 14). O controle positivo utilizado foi a pentamedina e a anfotericina B.

Tabela 14 - Compostos que apresentaram atividade promastigota

| Compostos | IC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio | CC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio |
|----------------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|
| | Leishmania | Padrão | Citotoxicidade | Padrão |
| Anfotericina B | 4,70 | 0,56 | 25 | 5,32 |
| Pentamedina | 6,62 | - | 3,82 | 0,58 |
| L1 | 6,50 | 0,20 | 61,50 | 20,50 |
| C1 | > 40 | | - | - |
| C2 | 6,50 | 0,05 | 91,75 | 1,25 |
| C3 | > 40 | | - | - |
| C4 | > 40 | | - | - |
| C5 | > 40 | | - | - |

Fonte: Do Autor.

Podemos observar que em geral ao complexar o paládio ao ligante imínico não observa nenhuma melhora significativa comparado com o seu ligante precursor, no entanto quando com a troca do haleto Cl^- pela N_3^- , observa que o complexo tem inibição frente a *Leishmania ssp*, para C2. Para os demais complexos não tiveram a inibição melhorada, visto que a concentração necessária para inibir aumenta.

Até então, os testes realizados foram uma triagem para observar quais destes compostos apresentam atividade e a partir, foi realizado testes frente a amastigota para o composto C2 (Tabela 15).

Tabela 15 - Compostos que apresentaram atividade amastigota

| Compostos | IC50 (mG/mL) | Desvio |
|--------------|--------------|--------|
| | Leishmania | Padrão |
| Anfotericina | 1,20 | 0,11 |
| C2 | 24,90 | 0,2 |

Fonte: Do Autor.

Já para os teste frente a amastigota, observamos que o complexo C2 apresentou atividade frente ao parasita. Logo, podemos concluir que mesmo o complexo C2 não seja ciclometalado, ele apresenta uma estabilidade para penetrar a célula amastigota. Isso por que complexos não cilcometalados apresentam dificuldade de atingirem o alvo dentro da célula (amastigota), pois tem que transpor a barreira da membrana celular do macrófago.

4.2.3 Teste antifúngico

Os resultados da atividade antimicrobiana do ligante e dos complexos sintetizados estão apresentados na Tabela 16. Observa-se que a coordenação do metal para o complexo C2 melhorou a atividades em relação ao seu ligante precursor L1, na inibição do crescimento de *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. O que não foi observado para os demais fungos testados. No entanto, de modo geral tanto os ligantes quanto os complexos de paládio apresentam IC₅₀ e IC₉₀ superiores aos respectivos padrões de referência, ou seja, a concentração necessária dos compostos testados para inibir o crescimento dos microrganismos em 50% e 90% foi muito maior que os padrões de referência. Sendo assim, os compostos obtidos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso.


Resultados e Discussões

Porém, o complexo C2 requer estudo mais aprofundado, em função de sua melhor atividade antifúngica contra *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, que é intrinsecamente resistente ao fluconazol medicamento de azol comum na terapêutica.

Tabela 16 - Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)

| Substância | Fungos | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 | <i>C. krusei</i> ATCC 6258 | <i>C. glabrata</i> ATCC 90030 | <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 |
|------------------------------------|--------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| Fluconazol ($\mu\text{g/mL}$) | IC50 | 0,5 | 1 | 32 | 16 | 1 |
| L1 | IC50 | - | 60 | 30 | - | 60 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C1 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C2 | IC50 | - | - | 60 | 30 | 30 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C3 | IC50 | - | - | 100 | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C4 | IC50 | - | - | - | 100 | 100 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C5 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |

Fonte: Do Autor.



Capítulo 5

Conclusão

5 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou a importância da classe dos ciclometalados de Pd(II), em função da sua reatividade frente ao ligante imínico, resultando em espécie com grande potencial na Química Medicinal. Isto fica evidenciado através dos resultados discutidos bem como pelas contribuições dadas pelo nosso grupo de pesquisa. Através das técnicas de caracterização utilizadas, estima-se que as reações tenham ocorrido e conseqüentemente houve a formação dos novos compostos.

Novos complexos de paládio(II) foram obtidos a partir das reações entre tetracloropaladato(II) de lítio e um novo ligante orgânico nitrogenado (Hfafa) **L1** capaz de formar complexo. O novo complexo precursor $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ **C1** foi usado como precursor dos complexos do tipo: $[PdX_2(Hfafa)_2]$ sendo X = N₃ (C2), SCN (C43), Br (C4) e I (C5). A difração de raios X de monocristal esclareceu a estrutura do complexo C2.

Os dados espectroscópicos sugerem que os complexos C1-C5 apresentaram uma coordenação metal – ligante 1:2. O metal coordenou-se pela base nitrogenada do ligante. Os haletos e pseudohaletos ficaram na posição terminal. A estrutura porposta para esta série foi $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5).

Os complexos de paládio (II) apresentados são citotóxicos para células MCF-7 e MDA-MB-435, uma vez que levaram à diminuição do teor protéico das células, além de alterações morfológicas e morfométricas e à diminuição da proliferação celular, podendo ser considerados agentes supressores tumorais. Este resultado parece promissor para o desenvolvimento de um novo agente quimioterápico para o tratamento do câncer de mama. No entanto, precisa de testes *in vivo*.

Já os ensaios frente à *Leishmania*, foram realizados experimentos *in vitro* de células promastigota e amastigota da *L. (L.) brazilienses*. Determinou-se a viabilidade celular destas culturas, expressa pelo Índice de Citotoxicidade (IC₅₀), que indica a concentração de substância que induz à morte 50% da população celular. Através da incubação das células na presença dos complexos por 48h, sob diferentes concentrações, determinou-se a

Conclusão

viabilidade do bioensaio. O complexo que apresentou melhor atividade antileishmania foi o que contém o pseudohaleta azida do complexo (C2).

Com o intuito de empregar os compostos em ensaios microbiológicos frente a fungos, foi realizado experimento *in vitro*. O complexo que apresentou melhor atividade foi o C2 com a inibição do crescimento de *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Enquanto os demais complexos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso. Deste modo, o complexo C2 requer maiores estudos. Mesmo assim, evidencia-se a potencialidade farmacológica dos complexos de paládio(II), ressaltando sua interdisciplinaridade e expectativas.

Complexos de paládio(II) demonstram potencialidades farmacológicas comprovadas pelos testes biológicos realizados. Isto somente vem a ressaltar seu aspecto atual, interdisciplinar e promissor, deixando uma expectativa positiva para os próximos anos.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS

ACAR, N.; SELÇUKI, C.; COŞKUN, E. DFT and TDDFT investigation of the Schiff base formed by tacrine and saccharin. **J MolModel**, 23, 17, 2017.

ADIGUZEL, Z. et al. Biochemical and proteomic analysis of a potential anticancer agent: Palladium(II) saccharinate complex of terpyridine acting through double strand break formation. **J. Proteome Res.**, v. 7, p. 5240-5249, 2014.

AL-NOOR, T. H.; AZIZ, M. R.; AL- JEBOORI, A. T. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of [Fe(II), Co(II), Ni(II),Cu(II) and Zn(II)] mixed ligand complexes schiff base derived from amoxicillin drug and 4-(dimethylamino)benzaldehyde with nicotinamide. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 6, 1225-1231, 2014.

ALMEIDA, E. T. Compostos Organometálicos de Paládio(II): Investigação Espectroscópica, Comportamento Térmico e Aplicações Biológicas. 2003. 170 f. **Tese de doutoramento apresentada ao Instituto de Química de Araraquara – Unesp.** 2003.

ALMEIDA, E. T. et al. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. **Química Nova**, 28, n. 3, p. 405-408, fev. 2005.

AMENDOLA, M. C. Algoritmo genético e espectroscopia no infravermelho. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANDRADE, P. B. M. Cisplatina. Disponível em:
<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/cisplatin/htmlonly>. Acesso em: abril / 2018.

ANGELO, A. C. D.; SOUZA A. R. DE; MORGON, N. H.; SAMBRANO, J. R. - Estudo da adsorção de hidrogênio e sulfeto na superfície de paládio: aspectos experimentais (eletroquímica) e teóricos (ab initio e teoria do funcional da densidade). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 473-479, 2001.

Referências

ARI, F. et al. Apoptosis-inducing effect of a palladium(II) saccharinate complex of terpyridine on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Bioorg.Med. Chem.**, 22, p. 4948-4954, 2014.

AVAJI, P. G. et al. Synthesis, spectral characterization, in-vitro microbiological evaluation and cytotoxic activities of novel macrocyclic bis hydrazone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 3552–3559, 2009.

BANTI, C.N. et al. Mono-nuclear cis-Pd(II) chloride complex of the thio-nucleotide analogue 5-methyl-thiouracil and its biological activity. **Polyhedron**, v. 87, p. 251-258, 2015.

BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 7-12, jul. 2005.

BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: towards new targets. **Chem. Commun.**, 49, 5106-5131, 2013.

BARTLETT, F.C. The future of ergonomics. **Ergonomics**, 5, 505–511, 1962.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 4-6, jul. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011. 118p.

BRUIJNINCX, P. C. A.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, 12, 197-206, 2008.

CAIRES, A.C.F. Recent advances involving palladium (II) complexes for the cancer therapy. **Anticancer Agents Med. Chem.**, v. 7, p. 484-491, 2007.

Referências

CALOGERAS, L. 10 práticas médicas egípcias que ainda são usadas nos dias de hoje. 2017. Disponível em: <https://misteriosdomundo.org/10-praticas-medicas-egipcias-que-ainda-sao-usadas-nos-dias-de-hoje/>. Acesso em: abril / 2018.

CARVALHO, A.J.S.; ISHIKAWA, T.; GOUVÊA, C.M.C.P. Aqueous extract *Pliniaedulis* leaves: Antioxidant activity and cytotoxicity to human breast cancer MCF-7 cell line. **South Afric. J. Bot.**, v. 81, p. 1-7, 2012.

CAMPANELLA, N. C. et al. The cytotoxic and growth inhibitory effects of palladium(II) complexes on MDA-MB-435 cells. **Gen. Mol. Biol.**, v. 35, p. 159-163, 2012.

CAVALCANTE, C. Q. et al. Determinação de paládio em amostras biológicas aplicando técnicas analíticas nucleares. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1094-1098, jul. 2008.

CHEANG, M.C.U. et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 101, p.736-750, 2009.

CHEN, C.N.; WU, C.L.; LIN, J.K. Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwensesopropolis. **Cancer Lett.**, v. 245, p. 218-231, 2007.

CHEN, Y. et. al. Sensitized luminescent Terbium nanoparticles: Preparation and time-resolved fluorescence assay for DNA. **Analytical Chemistry**. v. 79, n. 3, pp. 960-965, 2009.

COLUCCIA, M. et al. A trans-Platinum Complex Showing Higher Antitumor Activity than the Cis Congeners. **J. Med. Chem.**, 36, 510, 1993.

COZZI, P. G. Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects. **Chem. Soc. Rev.**, 33, 410, 2004.

Referências

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, v.19, n.11, p. 502-508, 2003.

CUTILLAS, N. et al. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold. **Coord. Chem. Rev.**, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2013.03.024>.

DAYAN, S. Palladium(II) complexes bearing bidentate pyridyl-sulfonamide ligands: Synthesis and catalytic applications. **Polyhedron**, v. 85, p. 748-753, 2015.

DEMICHEL, C. et al. Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1570, 192– 198, 2002.

DOGRA, J.; SAXENA, V. N. Itraconazole and leishmaniasis: a randomised double-blind trial in cutaneous disease. **Int. J. Parasit.**, 26, 1413-1415, 1996.

EKWALL, B. et al. Toxicity tests with mammalian cell cultures. In: BOURDEAU, P. et al. (eds.), **Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects**. Nova Iorque: John Wiley and Sons Inc., p. 75-97, 1990.

ELISEEVA, S. et al. Electroluminescent properties of the mixed-ligand complex of terbium salicylate with triphenylphosphine oxide. **Synthetic Metal**. v. 141, pp. 225-230, 2004.

FANG, J. et al. Ligand effect on the performance of organic light-emitting diodes based on europium complexes. **Journal Luminescence**. v. 124, pp. 157-161, 2007.

FARRUGIA, L. J. Ortep-3 for Windows – a version of ORTEP-III with a Graphical user interface. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 30, p. 565, Oct. 1997.

FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 32, p. 837-838, Aug. 1999.

Referências

FIOCRUZ, As Leishmanioses. 1997. Disponível em:

<http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/morfologia.htm>. Acesso em: abril / 2018.

FRANCO, L. P. et al. Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity on *Leishmania (L.) amazonensis*. **Medical Chemistry Research**, 22, p. 1049-1056, 2013.

GABBIANI, C.; MESSORI, L. Protein targets for anticancer gold compounds: mechanistic inferences. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, 11, 929, 2011.

GAO, E. et al. Current development of Pd(II) complexes as potential antitumor agents. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, v. 9, p. 356-368, 2009.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S.K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coord.Chem. Rev.**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.

GAUTIER, A.; CISNETTI, F. Advances in metal-carbene complexes as potent anti-cancer agents. **Metallomics**, 4, 23, 2012.

GODOY NETTO, A. V. **Aplicação de pseudo-haletos e pirazóis como unidades estruturais na formação de espécies mono e polinucleares de paládio (II). Emprego de polímeros de coordenação em sistema hóspede-hospedeiro.** 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides.**

Amsterdam: Elsevier, 1986. p. 15.

GRAHAM, R. D.; WILLIAMS, D. R. The synthesis and screening for anti-bacterial, -cancer, -fungicidal and -viral activities of some complexes of palladium and nickel. **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 41, 1245, 1979.

Referências

GRAY, H. B.; BALLHAUSEN, C. J. A molecular orbital theory for square planar metal complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 3, p. 260-265, 1963.

GUERIN, P. J. et al., Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **Infectious Diseases**. 2, 2002.

GULL, P.; HASHMI, A. A. Transition Metal Coordination Complexes with Diverse Schiff Base Ligands and Macrocyclic Systems: Synthesis and Structural Diversity. **Asian Journal of Physical and Chemical Sciences**, 2, 1-27, 2017.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**., 2, 1191-1199, 1999.

HO, G.Y.; WOODWARD, N.; COWARD, J.I.G. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, 102, 37-46, 2016.

HÖLLER, C. J. et al. The interaction of rare earth chlorides with 4,4'-bipyridine for the reversible formation of template based luminescent Ln-N-MOFs. **Dalton Transactions**. V. 39, pp. 461-468, 2010.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Phys. Rev.**, 136, 864, 1964.

INIGUEZ, E. et al. Metal–drug synergy: new ruthenium(II) complexes of ketoconazole are highly active against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and nontoxic to human or murine normal cells. **J Biol Inorg Chem.**, DOI 10.1007/s00775-013-1024-2

KAFKA, S.; KAPPE, T. Synthesis of 4-Hydroxy-2(1H)-pyridones from Azomethines and Substituted Dialkylmalonates. **Monatshefte für Chemie**, 128, 1019-1031, 1997.

KAPDI, A. R. A.; FAIRLAMBB, I. J. S. Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. **Chem. Soc. Rev.**, 43, 4751, 2014.

Referências

KAYA, Y. ICSEL, C. YILMAZ, V. T.; BUYUKGUNGOR, O. A palladium(II) complex containing both carbonyl and imine oxime ligands: Crystal structure, experimental and theoretical UV–vis, IR and NMR studies *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 108, p. 133-140, 2013.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effect. *Phys. Rev.*, 140, 1133, 1965.

KOHOUT, M. Photosensitive bent-core liquid crystals based on methyl substituted 3-hydroxybenzoic acid. *RSC Adv.*, 7, 35805–35813, 2017.

KUSHEV, D. et al. Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antitumor activity of platinum(II) complexes of 3-aminocyclohecanespiro-5-hydantion. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 89, p. 203-211, 2002.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. *British Medical Bulletin*, v. 28, p. 44-48, 1972.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed., São Paulo: Edgard Blücher, 2000.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 632, 2005.

LI, H.; SUN, H. Recent advances in bioinorganic chemistry of bismuth *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 16, 74-83, 2012.

LIPPERT, B. Uses of metal compounds in medicine. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, Elsevier, 2013.

LIU, P. et al. Photochemical route for synthesizing atomically dispersed palladium catalysts. *Science*, 352, 797-801, 2016.

Referências

MAURYA, M. R. et al. Palladium(II) complexes of OS donor N-(di(butyl/phenyl) carbamothioyl)benzamide and their antiamoebic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 98, p.54-60, 2015.

MEDICI, S. et al. Noble metals in medicine: Latest advances. **Coord.Chem. Rev.**, v. 284, p. 329-350, 2015.

MEGURO, H. et al. Synthesis, structure, and quaternization and complexation reactions of j3SCS pincer palladium complexes having 3,5-pyridinediyl unit. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, v. 693, p. 1109-1116, Jan. 2008.

MESA-VALLE, C.M. et al. Antileishmanial Action of Organometallic Complexes of Pt(II) and Rh(I). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 91, 5, 625-633, 1996.

MESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; DONALD, A. T. **Química Inorgânica**. Tradução de Ana Júlia Perrotti-Garcia. 5 ed. Pearson Education do Brasil, 2014.

MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallo drugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chem. Rev.**, 114, 4540-4563, 2014.

MORO, A. C. **Espécies moleculares e supramoleculares de Pd (II) contendo ligantes N,S doadores: síntese e caracterização**. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2007.

MOTSWAINYANA, W.M. et al. Imino-phosphine palladium(II) and platinum(II) complexes: synthesis, molecular structures and evaluation as antitumor agents. **J. Inorg. Biochem.**, v. 129, p. 112-118, 2013.

MYCEK, M. J.; HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre, Artimed, 1998.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**, Wiley Interscience, New York, 1986.

Referências

NAVARRO, M. et al. Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 8, p. 401–408, 2003.

NAVARRO et al. Synthesis and characterization of [Au(dppz)₂]Cl₃.DNA interaction studies and biological activity against Leishmania (L) Mexicana. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 101, p. 111–116, 2007.

NIGAM, M. et al. Centchroman induces G₀/G₁ arrest and caspase-dependent apoptosis involving mitochondrial membrane depolarization in MCF-7 and MDA MB-231 human breast cancer cells. **Life Sci.**, v. 82, p. 577-590, 2008.

ODDS, F. C.; BROWN, J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action **Trends in Microbiology**, 11, 6, 2003.

OPLUSTIL, C. P. Resistência aos antimicrobianos: assunto velho, novas preocupações. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, 2012.

PARSHALL, G. W. *Acc. Chem. Res.*, v. 3, p. 139, 1970; CAIRES, A. C. F.; MAURO, A.E. Composto cilcometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 59, 1996.

PATOLE, J. et al. Schiff base conjugates of *p*-aminosalicylic acid as antimycobacterial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 16, 1514–1517, 2006.

PATTANAYAK, P. et al. Synthesis and characterization of palladium (II) complex of Schiff base ligand: C\N bond cleavage and catalytic activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 53, p. 68-71, 2015.

PETERS, D. H.; FRIEDEL, H. A.; McTAVISH, D. Azithromycin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. **Drugs.**, 44, 750-99, 1992.

PUTHILIBAI, G. et al. Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemical behaviour and antibacterial activity of Ru(III) complexes of 2-[(4-*N,N'*-

Referências

dimethylaminophenylimino)-methyl]-4-halophenol. **Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 72, 4, 796-800, 2009.

REN, W. et al.; Synthesis, structure, and catalytic activity of organolanthanide complexes with chiral biaryl Schiff-base ligands. **J. Organomet. Chem.**, 758, 65, 2014

RONCONI, L., SADLER, P. J. Applications of heteronuclear NMR spectroscopy in biological and medicinal inorganic chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, p. 2239–2277, 2008.

SAEIDIFAR, M, et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity studies of a novel palladium(II) complex and evaluation of DNA-binding aspects. **Nucleosides Nucleic Acids**, v. 32, p. 366-388, 2013.

SANTOS, Z. L.; NEVES, E. A. O caráter pseudo-halogênio, pseudo-haletto. **Química Nova**. 15-20, 1984.

SARGENTELLI, V. **Síntese, estudo dos comportamentos térmico e eletroquímico e reatividade de pseudo-haletos complexos de cobre (II)**. 1996. 228 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1996.

SHELDRICK, G. M. Germany: University of Göttingen. **SHELXL97**, 1997.

SHAHEEN, F. et al. Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity and anti-inflammatory activity of palladium(II) complexes with tertiary phosphines and heterocyclic thiolates: Crystal structure of [Pd(C₂₈H₁₉N₈ps₂)]. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, n. 693, p. 1117–1126, Jan. 2008.

SHAW, C. Gold-Based Therapeutic Agents. **Chem. Rev.**, 99, 2589-2600, 1999.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. Tradução de Roberto de Barros Faria. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

Referências

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Spectrometric identification of organic compounds**, 7. ed. New York, p. 72-110, 2005.

SOARES, M. S. **Síntese e caracterização de complexos tricarbonilrênio(I) com bases de schiff derivadas de aminoácidos e escorpionatos derivados de tiobases**. 2013. 146 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília-UnB, Brasília (2013).

STEVANATO, A. R. **Investigação estrutural e efeitos imunológicos e tuberculostáticos de complexos de paládio(II)**. 2009. 177 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

SUMANTRAN, V. N. Cellular chemosensitivity assays: an overview. In: CREE, I.A. (ed.), **Cancer cell culture: methods and protocols** (Methods in Molecular Biology 731 Springer Protocols), 2. ed. New York: Springer-Verlag, p. 219-236, 2011.

TERESA DE JESUS. Livro da vida. 1579.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TUŠEK-BOŽC, L. et al., 2008. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. **Polyhedron**, 27, p. 1317–1328, 2008.

ULUKAYA, E. et al. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 46, p. 4957-4963, 2011.

VASCONCELLOS, M. L. A. A. A teoria de Pearson para a disciplina de química orgânica: um exercício prático e teórico aplicado em sala de aula. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 171-175, 2014

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nat. Protoc.**, v. 1, p. 1112-1116, 2006.

Referências

WATABE, M. et al. Preparation, ^{195}Pt NMR spectra and biological activity of platinum(IV) complexes with dipeptides. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 73, p.1999, 73, 1-5, 1999.

WEISENTHAL, L. M. et al. A novel dye exclusion method for testing in vitro chemosensitivity of human tumors. **Cancer Res.**, v. 43, p. 749-757, 1983.

WEN, H. W.; YANG, P. C. Photophysical and photovoltaic properties of truxene-functionalized conjugated polymer– fullerene supramolecular complexes. **RSC Adv.**, 6, 60308–60317, 2016.

ZAYED, EM; ZAYED, MA; EL-DESAWY, M. **Spectrochim. Acta. Part A.**, 134, 155, 2015.



Anexos



ANEXOS

Anexo A - Tabela com dados cristalográficos de distância de ligação

| Ligação | | Distância | Ligação | | Distância |
|---------|-----|-----------|---------|-----|-----------|
| Pd1 | N1 | 2.024(3) | C11 | C12 | 1.461(7) |
| Pd1 | N2 | 2.031(3) | N7 | N8 | 1.181(7) |
| Pd1 | N5 | 2.065(5) | C25 | C20 | 1.375(7) |
| Pd1 | N6 | 2.071(4) | C21 | C22 | 1.363(7) |
| N2 | C26 | 1.291(5) | C21 | C20 | 1.374(8) |
| N2 | C23 | 1.434(5) | C5 | C4 | 1.370(7) |
| N1 | C9 | 1.293(5) | C12 | C17 | 1.397(7) |
| N1 | C6 | 1.429(6) | C12 | C13 | 1.400(7) |
| N4 | N5 | 1.115(6) | C7 | C8 | 1.389(7) |
| N4 | N3 | 1.190(7) | C28 | C29 | 1.448(7) |
| N6 | N7 | 1.096(6) | O1 | C19 | 1.214(7) |
| C32 | C33 | 1.357(10) | C20 | C19 | 1.515(8) |
| C32 | C31 | 1.392(10) | C3 | C8 | 1.386(7) |
| C9 | C10 | 1.429(6) | C3 | C4 | 1.403(7) |
| C27 | C28 | 1.342(6) | C3 | C2 | 1.494(8) |
| C27 | C26 | 1.430(6) | C29 | C30 | 1.389(8) |
| C24 | C23 | 1.381(6) | C29 | C34 | 1.393(7) |
| C24 | C25 | 1.397(7) | C16 | C15 | 1.373(8) |
| C23 | C22 | 1.385(6) | C16 | C17 | 1.379(7) |
| C6 | C5 | 1.397(6) | C13 | C14 | 1.378(8) |
| C6 | C7 | 1.403(6) | C2 | C1 | 1.502(9) |
| O2 | C2 | 1.208(7) | C14 | C15 | 1.374(9) |
| C10 | C11 | 1.347(6) | C34 | C33 | 1.380(8) |
| C30 | C31 | 1.389(8) | C19 | C18 | 1.483(9) |

Anexo B - Tabela com dados cristalográficos de ângulo de ligação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) | C10 | C11 | C12 | 126.5(4) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) | N6 | N7 | N8 | 175.9(7) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) | C20 | C25 | C24 | 121.0(5) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) | C22 | C21 | C20 | 120.6(5) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) | C4 | C5 | C6 | 119.2(4) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) | C17 | C12 | C13 | 118.3(5) |
| C26 | N2 | C23 | 122.0(4) | C17 | C12 | C11 | 122.4(4) |
| C26 | N2 | PD1 | 123.9(3) | C13 | C12 | C11 | 119.3(5) |
| C23 | N2 | PD1 | 113.7(2) | C8 | C7 | C6 | 119.2(5) |
| C9 | N1 | C6 | 119.9(4) | C27 | C28 | C29 | 126.3(5) |
| C9 | N1 | PD1 | 122.7(3) | C21 | C22 | C23 | 120.9(5) |
| C6 | N1 | PD1 | 117.5(3) | C21 | C20 | C25 | 119.1(5) |
| N5 | N4 | N3 | 176.2(6) | C21 | C20 | C19 | 117.7(5) |
| N7 | N6 | PD1 | 116.6(4) | C25 | C20 | C19 | 123.2(5) |
| N4 | N5 | PD1 | 117.2(4) | C8 | C3 | C4 | 118.3(5) |
| C33 | C32 | C31 | 120.1(6) | C8 | C3 | C2 | 122.8(5) |
| N1 | C9 | C10 | 122.8(4) | C4 | C3 | C2 | 118.8(5) |
| C28 | C27 | C26 | 123.0(4) | C30 | C29 | C34 | 118.9(5) |
| C23 | C24 | C25 | 119.1(4) | C30 | C29 | C28 | 122.1(5) |
| C24 | C23 | C22 | 119.3(4) | C34 | C29 | C28 | 119.1(5) |
| C24 | C23 | N2 | 121.9(4) | C5 | C4 | C3 | 121.8(5) |
| C22 | C23 | N2 | 118.6(4) | C3 | C8 | C7 | 121.2(5) |
| C5 | C6 | C7 | 120.3(4) | C15 | C16 | C17 | 121.3(6) |
| C5 | C6 | N1 | 121.8(4) | C16 | C17 | C12 | 119.9(5) |
| C7 | C6 | N1 | 117.9(4) | C14 | C13 | C12 | 120.7(6) |
| N2 | C26 | C27 | 122.2(4) | O2 | C2 | C3 | 120.1(6) |
| C11 | C10 | C9 | 122.5(4) | O2 | C2 | C1 | 121.3(6) |

Continuação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| C3 | C2 | C1 | 118.6(5) | C18 | C19 | C20 | 118.5(5) |
| C15 | C14 | C13 | 120.4(6) | C31 | C30 | C29 | 120.1(6) |
| C33 | C34 | C29 | 120.5(6) | C32 | C33 | C34 | 120.6(6) |
| O1 | C19 | C18 | 120.8(6) | C30 | C31 | C32 | 119.9(6) |
| O1 | C19 | C20 | 120.7(6) | C16 | C15 | C14 | 119.5(6) |



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ
INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ
LABORATÓRIO INTERDISCIPLINAR DE QUÍMICA - LabIQ



SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE
IMÍNICO

Elba Pereira de Gois Souza

Alfenas/MG

2018

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida.

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos José Marques.

Alfenas/MG

2018

Gois, Elba Pereira de.

Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de complexos de paládio(II) contendo ligante imínico / Elba Pereira de Gois. -- Alfenas, MG, 2018.

129 f. : il. –

Orientador: Eduardo Tonon de Almeida.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, 2018.

Bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Paládio – uso terapêutico. 3. Análise espectral. 4. Química bioinorgânica. I. Almeida, Eduardo Tonon de. II. Título.

CDD 547

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Biblioteca Central – Campus Sede

Elba Pereira de Gois Souza

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO LIGANTE IMÍNICO

A banca examinadora abaixo aprova a presente tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas na área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 05 de abril de 2018

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida
Universidade Federal de Alfenas -MG



Prof. Dr. Adelino Viera de Godoy Neto
Universidade Estadual de São Paulo – Araraquara



Profa. Dra. Amanda Latercia Tranches Dias
Universidade Federal de Alfenas - MG



Prof. Dr. Lázaro Moscardini D'Assunção
Universidade de Lavras – MG



Dra. Marília Imaculada Frazão Barbosa
Universidade Federal de Alfenas - MG



“A Deus, ao meu pai José, minha mãe Ozenete,
meu marido Mailson, aos meus filhos Cecília,
Joaquim e quem mais chegar...”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me concedido sabedoria, saúde, disposição, condições espirituais e materiais para que, por sua vontade, eu possa provar que Tu és uma fonte inesgotável de poder ilimitado, eficaz e acionado pela minha fé.

À minha família: meu esposo pela paciência, dedicação e incentivo nos momentos mais difíceis, para que eu não desistisse. Aos meus pais José e Ozenete, grandes incentivadores e amigos, minhas irmãs Cinthya, Quele, Rebeca e Raquel por serem meus Cirineo.

Ao meu orientador, Prof. Dr Eduardo Tonon de Almeida, que galgou comigo este projeto, por sua disposição em me ajudar e por suas idéias, sugestões e críticas. Ao meu co-orientador Marcos José Marques e todos os professores que ao longo do caminho me ensinaram com suas valiosas contribuições.

À banca examinadora, pelo intercâmbio de idéias, sugestões e discussões construtivas que se delinearão durante a qualificação.

Aos laboratórios LABIQ, LBM, LCC, LM e LaModel da Unifal - MG, ao LabCri da UFMG – MG e ao NPPNS da USP-Ribeirão Preto por disponibilizarem toda sua instrumentação, possibilitando a realização desta tese. As instituições de fomento, CAPES, FAPEMIG, FINEP e CNPQ, pelo suporte financeiro.

Aos meus amigos, que ao longo deste doutorado foram mais do que colegas foram irmãos: Luís, Antônio, Érica, Wladimir, Lilian, Nathália, Cris e a Iara. Obrigada a todos!

“Ter coragem diante de qualquer coisa na vida,
essa é à base de tudo.”

(Tereza D'Ávila, 1579)

RESUMO

Muitos metais de transição apresentam grande importância no meio biológico, visto que esses interagem diretamente com biomoléculas essenciais para a manutenção da vida. Uma característica dos metais que os tornam tão importantes como componentes (funcionais e estruturais) dos seres vivos é sua propensão em perder elétrons facilmente formando íons com cargas positivas, que tendem a ser solúveis em fluídos biológicos. Muitos estudos tomaram como base as possíveis interações dos íons metálicos com as biomoléculas presentes no organismo vivo. O presente trabalho teve como objetivo a preparação de novos compostos de paládio(II), contendo ligantes imínicos, com o intuito de obter compostos inéditos que apresentem propriedades farmacológicas. O ligante imínico (Base de Schiff) foi preparado através da reação entre o aldeído *trans*-cinamaldeído e a amina *p*-aminoacetofenona (Hfafa) **L1**. O ligante imínico obtido foi complexado ao paládio(II), conduzindo substituições, com o intuito de se produzir novos compostos de coordenação de fórmula geral $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5). Os compostos foram caracterizados através das técnicas de ponto de fusão ou decomposição, solubilidade, condutividade molar, análise elementar (CHN), das técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C, estudos termogravimétricos TG-DTA, difração de raios-X para o monocristal de C2 e cálculos de DFT de L1. Os compostos foram empregados em testes biológicos, para as células MCF-7 e MDA-MB-435 do câncer de mama, *Leishmania spp*, em experimentos *in vitro* de células promastigotas e amastigotas *L. (L.) brazilienses*, antifúngico em leveduras do gênero *Candida spp.*: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Verificou-se que o ligante livre apresentou efeito significativo frente os testes biológicos comparáveis aos dos controles positivos. No entanto, os complexos sintetizados se mostraram melhores potenciais agentes farmacológicos do que seu ligante precursor. Entre os complexos sintetizados merece destaque o compostos $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2]$, que apresentou, qualitativamente, atividade frente as células mamárias, a *Leishmania* e aos fungos testados.

Palavras-chave: Ligante imínico. Complexo de paládio(II). Espectroscopia e metalofármaco.

ABSTRACT

Some transition metals are of great importance in the biological environment, since they interact directly with the biomolecules essential for the maintenance of life. One characteristic of the metals that make them so important as functional and structural components of living things is their propensity to lose electrons easily by forming ions with positive charges, which tend to be soluble in biological fluids. Many studies have considered the possible interactions of metal ions with biomolecules present in the living organism. The present work had as objective the preparation of new compounds of palladium (II), containing iminic ligands, with the intention of obtaining novel compounds that present pharmacological properties. The iminic ligand (Schiff's Base) was prepared by the reaction between the *trans*-cinnamaldehyde aldehyde and the amine *p*-aminoacetophenone (Hfafa) L1. The imine ligand obtained was complexed to palladium(II), leading to substitutions, with the aim of producing new coordination compounds of the formula $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, where X = Cl (C1), N₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) and I (C5). The compounds were characterized by melting point or decomposition, solubility, molar conductivity, elemental analysis (CHN), IR spectroscopic techniques, ¹H and ¹³C NMR, thermogravimetric TG-DTA studies, X-ray diffraction for monocystal of C2 and calculations of DFT of L1. The compounds were used in biological tests for MCF-7 and MDA-MB-435 breast cancer cells, *Leishmania* ssp, *in vitro* experiments of promastigotes and amastigotes *L. (L.) brazilienses*, antifungal in yeasts of the genus *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. The free ligand was shown to have a significant effect against biological tests comparable to those of the positive controls. However, the synthesized complexes showed better potential pharmacological agents than their precursor ligand. Among the synthesized complexes, the compounds $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ deserve to be highlighted, which presented, qualitatively, activity against mammary cells, *Leishmania* and fungi tested.

Key-words: Imine ligand. Palladium complex. Spectroscopy and metallopharmaceutical.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 – | Egípcios praticando medicina..... | 21 |
| Figura 2 - | Representação da estrutura da Cisplatina | 22 |
| Figura 3 - | Mecanismo de ação da Cisplatina ao DNA | 23 |
| Figura 4 - | Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais..... | 24 |
| Figura 5 - | Configuração d^8 num campo octaédrico fraco..... | 26 |
| Figura 6 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff..... | 29 |
| Figura 7 – | Rota sintética dos complexos metálicos | 30 |
| Figura 8 - | Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato | 32 |
| Figura 9 – | Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo | 34 |
| Figura 10 - | Formas evolutivas do protozoário <i>Leishmania</i> | 36 |
| Figura 11 – | Cultivo de fungo em placa de Petri..... | 38 |
| Figura 12 – | Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa..... | 45 |
| Figura 13 – | Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1 | 46 |
| Figura 14 - | Esquema do método de Parshall | 47 |
| Figura 15 - | Equação química para a obtenção do $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) | 48 |
| Figura 16 - | Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans- cinamaldeído | 63 |
| Figura 17 - | Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1) | 64 |
| Figura 18 – | Espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1) | 66 |
| Figura 19 – | Ampliação do sinal no espectro de RMN de 1H do Hfafa (L1)..... | 67 |
| Figura 20 – | Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafa (L1) | 68 |
| Figura 21 - | Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 69 |
| Figura 22 – | Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)..... | 70 |
| Figura 23 – | Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)..... | 71 |
| Figura 24 – | Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílicos (f^{+}) e eletrofílicos (f^{-}) | 73 |
| Figura 25 - | Espectro na região de IV do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 75 |
| Figura 26 - | Curva TG-DTA do complexo de $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 76 |
| Figura 27 – | Estrutura proposta do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1)..... | 77 |

| | | |
|-------------|---|-----|
| Figura 28 - | Modos de coordenação mais comuns a azida | 79 |
| Figura 29 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3) | 81 |
| Figura 30 - | Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2\text{I}_2]$ (C5)..... | 82 |
| Figura 31 – | Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) | 84 |
| Figura 32 – | Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4) | 85 |
| Figura 33 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) | 86 |
| Figura 34 – | Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)..... | 87 |
| Figura 35 – | Curvas TG-DTA dos complexos de substituição..... | 89 |
| Figura 36 – | Estrutura proposta dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)..... | 90 |
| Figura 37 - | Curvas TG e DTA para PdCl_2 | 91 |
| Figura 38 - | Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C | 93 |
| Figura 39 - | Representação Ortep do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ C2 | 95 |
| Figura 40 - | Empacotamento molecular do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ na cela..... | 96 |
| Figura 41 - | Plano traçado entre o centro simétrico do C2 | 96 |
| Figura 42 - | Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5..... | 99 |
| Figura 43 - | Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5..... | 100 |
| Figura 44 - | Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5. | 101 |
| Figura 45 - | Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1 | 102 |
| Figura 46 – | Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 103 |
| Figura 47 – | Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM | 104 |
| Figura 48 – | Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5..... | 105 |
| Figura 49 – | Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1 | 105 |
| Figura 50 - | Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e 10 μM | 106 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|---|-----|
| Tabela 1 - | Principais solventes utilizados nas sínteses..... | 43 |
| Tabela 2 - | Principais reagentes utilizados nas sínteses | 44 |
| Tabela 3 – | Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafa (L1) | 65 |
| Tabela 4 - | Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1) | 69 |
| Tabela 5 - | Fator de normalização da integral da densidade de elétrons..... | 72 |
| Tabela 6 - | Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1..... | 77 |
| Tabela 7 – | Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) ... | 78 |
| Tabela 8 - | Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN..... | 80 |
| Tabela 9 - | Principais modos vibracionais das ligações formadas com H..... | 83 |
| Tabela 10 - | Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição..... | 88 |
| Tabela 11 - | Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl_2 | 92 |
| Tabela 12 - | Dados Cristalográficos para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ C2..... | 94 |
| Tabela 13 - | Dados cristalográficos de ângulos de ligação | 97 |
| Tabela 14 - | Compostos que apresentaram atividade promastigota | 107 |
| Tabela 15 - | Compostos que apresentaram atividade amastigota..... | 108 |
| Tabela 16 - | Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)..... | 109 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------------|---|
| DNA - | Ácido desoxirribonucléico |
| RNA - | Ácido ribonucléico |
| pH - | potencial Hidrogeniônico |
| CHN - | Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio |
| IV - | Espectrofotometria de absorção na região no infravermelho |
| TG - | Termogravimétrica |
| DTA - | Análise Térmica Diferencial |
| RMN - | Ressonância Magnética Nuclear |
| RMN ¹ H - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H |
| RMN ¹³ C - | Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C |
| Reagentes P.A. - | Reagentes com pureza analítica |
| MetOH - | Álcool metílico |
| LiCl - | Cloreto de lítio |
| (v/v) - | Porcentagem em volume/volume |
| SAR - | Relação estrutura química e atividade biológica (Structure-activity relationship) |
| THF - | Tetrahidrofurano |
| DMSO - | Dimetilsulfóxido |
| CH ₃ CN - | Acetonitrila |
| CDCl ₃ - | Clorofórmio deuterado |
| DMSO-d ₆ - | Dimetilsulfóxido deuterado |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|-------------------------------|---|
| DRX - | Difratometria de raios-X |
| CCD - | Charge-coupled device (Dispositivo de carga acoplada) |
| K - | Temperatura em Kelvin |
| atm - | Atmosfera |
| k - | Constante de cela de condutância |
| ER ⁺ - | Estrogen receptor positive (Receptor estrógeno positivo) |
| ER ⁻ - | Estrogen receptor negative (Receptor estrógeno negativo) |
| PR ⁻ - | Progesterone receptor negative (Receptor progesterona negativo) |
| HER ² - | Epidermal growth factor receptor (Receptor para o fator de crescimento humano epidérmico-2) |
| <i>L. (L.) braziliensis</i> - | <i>Leishmania leishmania braziliensis</i> |
| <i>L. (L.) chagasi</i> - | <i>Leishmania leishmania chagasi</i> |
| RPMI 1640 - | Meio de cultura |
| <i>L. amazonensis</i> - | <i>Leishmania amazonensis</i> |
| Giemsa - | Corante utilizado para testes em amastigotas. |
| EDTA - | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| SRB - | Sulforrodamina B |
| TCA - | Ácido tricloroacético |
| (p/v) - | Porcentagem peso / volume |
| LIT - | Liver Infusion Triptose |
| SBF - | Soro bovino fetal |
| MHOM/BR/71973/M2269 - | Código de referência das cepas |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|---------------------|---|
| IC ₅₀ : | Índice de citotoxicidade - Concentração em porcentagem capaz de matar a população celular num meio biológico, neste caso 50% de citotoxicidade. |
| MTT - | Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolio) |
| UV/VIS - | Ultravioleta / Visível |
| CC ₅₀ - | Concentração citotóxica – Concentração e porcentagem capaz de inibir o crescimento celular em 50 % |
| MIC ₅₀ - | Concentração inibitória mínima em 50% |
| MIC ₉₀ - | Concentração inibitória mínima em 90% |
| v _{as} - | Estiramento assimétrico no espectro de absorção na região do IV |
| v _s - | Estiramento simétrico no espectro de absorção na região do IV |
| δ - | Deformação angular de ligação no espectro no IV, ou deslocamento químico no espectro de RMN |
| TMS - | Transportation Management System (Sistema de Gerenciamento de Transporte) |
| ppm - | Parte por milhão |
| ΔT/°C - | Variação de temperatura em grau Celsius |
| Δm % - | Variação de massa em porcentagem |
| % Calc. - | Porcentagem calculada |
| % Enc. - | Porcentagem encontrada |
| Endo - | Endotérmico |
| Exo - | Exotérmico |
| α - | Letra grega alfa |
| β - | Letra grega beta |

Lista de Abreviaturas e Siglas


| | |
|------------|---|
| γ - | Letra grega gama |
| HOMO – | Highest Occupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais alta energia ocupado por pelo menos um elétron) |
| LUMO – | Lowest Unoccupied Molecular Orbital (orbital molecular de mais baixa energia não ocupado por elétrons) |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 | A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA | 20 |
| 1.2 | PALÁDIO | 26 |
| 1.3 | LIGANTES IMÍNICOS | 28 |
| 1.4 | PSEUDOHALETOS | 31 |
| 1.5 | POTENCIAL BIOLÓGICO | 33 |
| 1.5.1 | Aspectos gerais do câncer de mama | 33 |
| 1.5.2 | Aspectos gerais da leishmaniose e <i>Leishmania</i> ssp. | 36 |
| 1.5.3 | Aspectos gerais antifúngicos | 38 |
| 2 | OBJETIVOS | 41 |
| 3 | PARTE EXPERIMENTAL | 43 |
| 3.1 | SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1) | 45 |
| 3.2 | SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II) | 46 |
| 3.2.1 | Síntese do complexo [PdCl ₂ (Hfafa) ₂] (C1) | 47 |
| 3.3 | REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES | 48 |
| 3.3.1 | Síntese de complexos do tipo [PdX ₂ (Hfafa) ₂] sendo X = N ₃ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) | 49 |
| 3.4 | METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO | 50 |
| 3.4.1 | Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição..... | 50 |
| 3.4.2 | Testes de solubilidade | 50 |
| 3.4.3 | Análise elementar..... | 50 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.4.4 | Espectroscopia de absorção na região do infravermelho..... | 51 |
| 3.4.5 | Análise térmica..... | 51 |
| 3.4.6 | Espectroscopia de ressonância magnética nuclear | 51 |
| 3.4.7 | Difração de raios-X..... | 52 |
| 3.4.8 | Condutividade Elétrica | 53 |
| 3.4.9 | Propriedades eletrônicas | 53 |
| 3.5 | TESTES BIOLÓGICOS | 54 |
| 3.5.1 | Avaliação da Citotoxicidade | 54 |
| 3.5.2 | Avaliação antileishmania | 58 |
| 3.5.3 | Avaliação antifúngica | 60 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 62 |
| 4.1 | LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)..... | 62 |
| 4.1.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 62 |
| 4.1.2 | Espectroscopia de RMN de ^1H | 66 |
| 4.1.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 68 |
| 4.1.4 | Cálculos DFT | 70 |
| 4.2 | COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)..... | 73 |
| 4.2.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 74 |
| 4.2.2 | Espectroscopia de RMN | 75 |
| 4.2.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 76 |
| 4.3 | COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5) | 78 |
| 4.3.1 | Espectroscopia vibracional na região IV | 78 |

| | | |
|--------------|---|------------|
| 4.3.2 | Espectroscopia de RMN | 83 |
| 4.3.3 | Análise Termogravimétrica (TG/DTA) | 87 |
| 4.3.4 | Difração de raios X | 93 |
| 4.4 | TESTES BIOLÓGICOS | 98 |
| 4.4.1 | Teste antitumoral | 98 |
| 4.4.2 | Teste anti-leishmania | 107 |
| 4.2.3 | Teste antifúngico | 108 |
| 5 | CONCLUSÃO | 111 |
| | REFERÊNCIAS | 114 |
| | ANEXOS | 127 |



Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Normalmente, quando se pensa em fármacos, a primeira idéia que surge é a de compostos orgânicos, e por muito tempo a Química Orgânica foi apresentada como “a química da vida”. Acreditou-se durante muito tempo que somente os compostos orgânicos e as reações que os envolviam eram indispensáveis para a Vida, e que os elementos e compostos comumente chamados “inorgânicos” eram escasso ou não tinham nenhum significado para os sistemas vivos (BARAN, 2005).

Com o passar dos anos, descobriu-se que os metais têm um papel importante nos sistemas vivos, uma vez que quatro metais do grupo principal (Na, K, Mg e Ca) e oito metais de transição (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, V e Mo) possuem seus íons como sendo necessários para importantes funções biológicas nos seres humanos (BARRY; SADLER, 2013). A Química Inorgânica contribui à Química Medicinal no desenvolvimento de novos medicamentos com propriedades farmacológicas específicas a partir da escolha do metal devido a suas propriedades (BERALDO, 2005), tais como diversos estados de oxidação, números de coordenação, geometrias, como também efeitos termodinâmicos e cinéticos característicos de cada íon metálico (BRUIJNINCX; SADLE, 2008).

1.1 A QUÍMICA MEDICINAL INORGÂNICA

Ainda que os estudos envolvessem a ação dos metais no organismo seja relativamente recente, seu uso em Medicina vem sendo praticado há aproximadamente 5000 anos (Figura 1). De fato, os egípcios usavam cobre para esterilizar a água a 3000 anos antes de Cristo, e o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e na China há 3500 anos, mais em razão da natureza preciosa do metal do que de suas propriedades medicinais, pois se acreditava que um metal nobre deveria trazer benefícios ao organismo. Medicamentos contendo ferro eram usados no Egito 1500 anos antes de

Introdução

Cristo e já no século dezesseis o médico suíço Theophrastus Paracelsus desenvolvia e usava medicamentos à base de mercúrio, arsênio, estanho, chumbo e antimônio.

Figura 1 – Egípcios praticando medicina

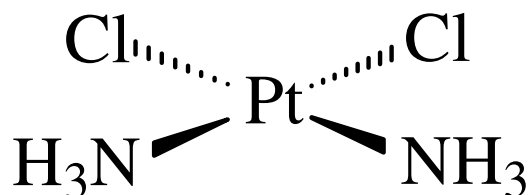


Fonte: Calogeras

A Química Medicinal Inorgânica começou a deixar sua marca na década de 50 e 60, os químicos começaram a se concentrar em toda a tabela periódica e não apenas nos elementos C, H, O, N (RONCONI; SADLER, 2008). Com o estudo de todos os elementos da tabela periódica, descobertas importantes foram feitas ao longo dos anos, como ferroceno (PAUSON; MILLER, 1951) e fluoretos de xenônio (BARTLETT, 1962).

No entanto, Química Medicinal dedicava-se principalmente ao estudo de compostos orgânicos e produtos naturais até a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina (Figura 2), observada pelo físico Barnett Rosenberg em 1965. Em 1968, após novos testes frente às várias bactérias, a cisplatina foi administrada por via intraperitoneal a camundongos portadores de tumor e foi mostrado regressão do tumor (BAI et al., 2017).

Figura 2 - Representação da estrutura da Cisplatina

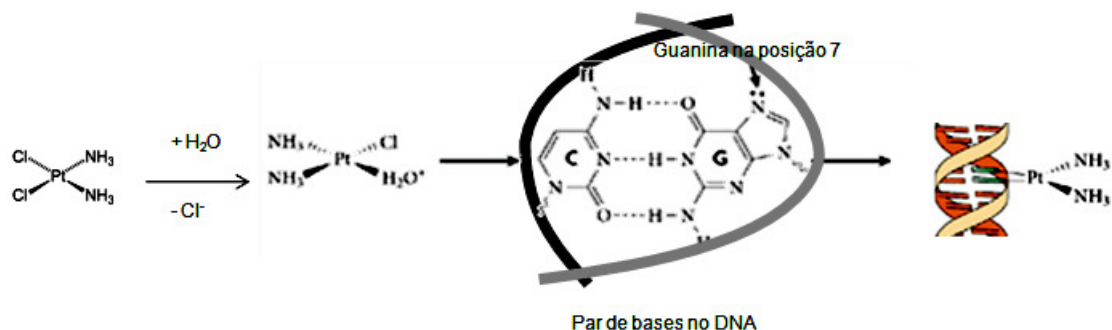


Fonte: Stevanato (2009, p. 43).

Com o sucesso da cisplatina em uso clínico, administrados em pacientes terminais e, em seguida, nos tumores localizados, como nos casos de câncer testicular e ovariano, precipitou um renascimento na química inorgânica e levou à síntese e avaliação biológica de muitos milhares de análogos de cisplatina, e uma investigação completa de outros elementos próximos da tabela periódica (por exemplo, paládio e ouro).

Em uso clínico atualmente, a cisplatina é utilizada no tratamento de câncer testicular, ovário, bexiga, cabeça e pescoço, pulmão e cânceres do colo do útero (HO; WOODWARD; COWARD, 2016), mas tem, no entanto, desvantagens. Uma grande porcentagem de cânceres humanos tem uma resistência natural ao tratamento com a cisplatina (LIPPERT, 2013), seja aquela adquirida durante ciclos de terapia com o fármaco (ocorre em pacientes com câncer de ovário) ou resistência intrínseca (visto em pacientes com colorretal, câncer de próstata, pulmão ou mama). Além disso, a cisplatina tem grandes efeitos colaterais limitantes quanto a dose do medicamento. Pacientes tratados com cisplatina mostraram sinais graves de nefrotoxicidade (KARAKOC et al., 2015), neurotoxicidade e ototoxicidade (FREITAS et al., 2009). Outros grandes efeitos registrados incluem pressão arterial elevada, diarreia, náusea e vômito grave (TULLY et al., 2015). Por conseguinte, os efeitos colaterais da cisplatina ainda representam uma grande desvantagem para o uso desta droga. Isso tem provado ser um objetivo muito mais desafiador, com base em um subjacente conhecimento de como a cisplatina atua frente ao tumor e, mais importante, como os tumores tornam-se resistentes (Figura 3).

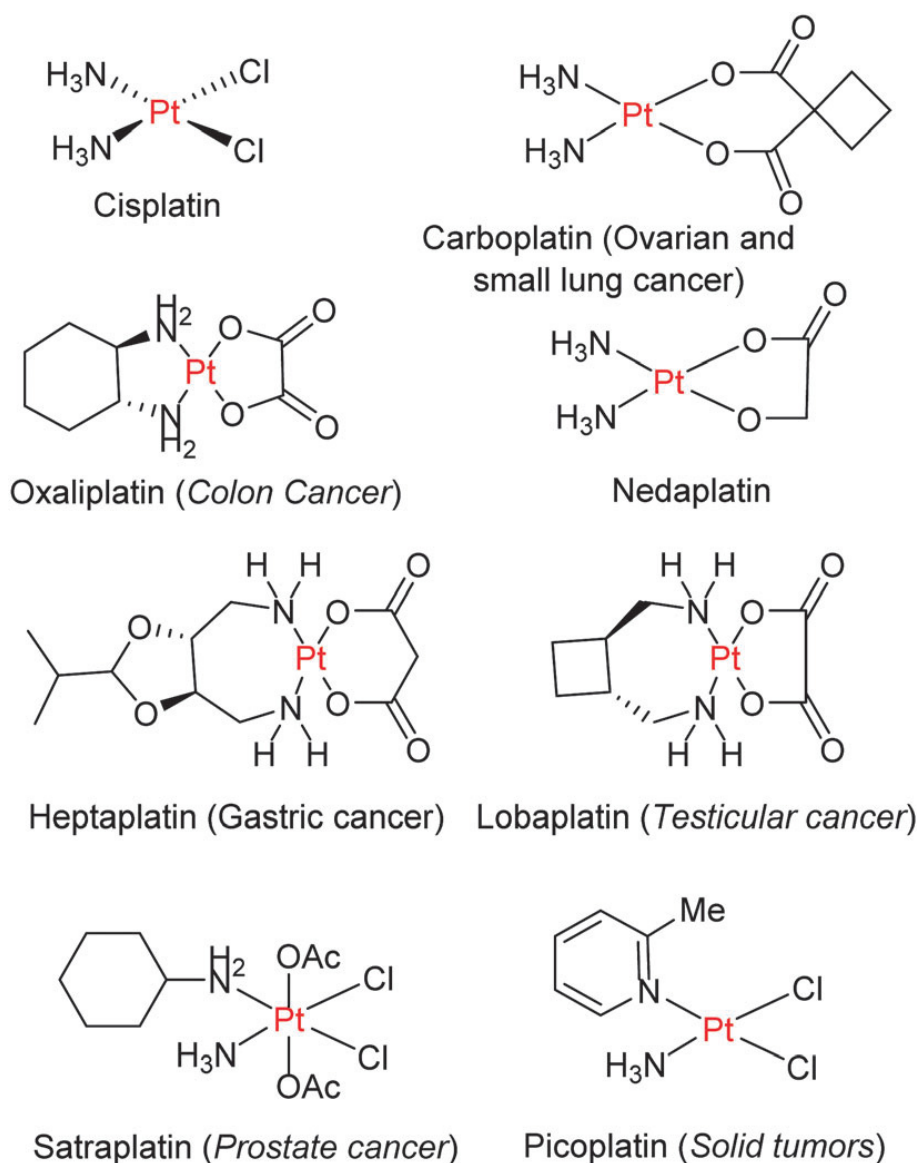
Figura 3 – Mecanismo de reação da Cisplatina ao DNA



Fonte: Andrade

Atualmente, os fármacos mais utilizados como quimioterápicos são os baseados em Pt(II) (HO; WOODWARD; COWARD, 2016). Têm-se também os análogos mais conhecidos como a carboplatina e oxaliplatina. Outros compostos farmacológicos foram aprovados, como a nedaplatina (Japão; SHIONOGI & CO. Ltd.), heptaplatina (Coréia do Sul; SK PHARMA), lobaplatina (China). Ainda têm os fármacos que estão nos estágios de desenvolvimento como a satraplatina (GPC BIOTECH & PHARMION); miriplatina (DAINIPPON SUMITOMO PHARMA E BRISTOL-MYERS K.K.); prolindac (ACCESS PHARMACEUTICALS); BP-C1 (MEABCO); Complexo Lipico de cisplatina (TRANSAVE); aroplatina (ANTIGENICS); e picoplatina (POINARD) (Figura 4).

Figura 4 - Agentes anticancerígenos à base de platina comerciais.



Fonte: Kapdi; Fairlambb, 2014.

Porém, existe a aplicação de outros derivados metálicos como metalofármacos e agentes de diagnóstico. Destacam-se os compostos de Bi(III), como o citrato de bismuto ranitidina, no tratamento de distúrbios gastrointestinais e na erradicação da bactéria *Gram-negativa Helicobacter pylori* (LI; SUM, 2012), complexos de ouro(I), como a auranofina, empregada no tratamento da artrite reumatóide (SHAW, 1999), o nitroprussiato de sódio, um complexo de Fe(III) usado em emergências cirúrgicas como vasodilatador, o carbonato

Introdução

de lítio, utilizado no tratamento de desordem bipolar, o nitrato de gálio(III), utilizado para tratamentos de hipercalcemia relacionada ao câncer, fármacos antimoniais, como o gluconato de antimônio(V) sódico, usado para tratar leishmaniose (DEMICHELI et al., 2002), sulfato de bário, usado como agente de contraste em radiografia gastrointestinal, $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ ($^{153}\text{Sm-Lexidronam}$), usado no tratamento paliativo de dores ósseas resultantes de metástases e os complexos $^{111}\text{In-DPTA}$ (Pentetato de ^{111}In), $^{99\text{m}}\text{Tc-Cardiolite}$ e $^{67}\text{Ga-citrato}$ usados como agentes de contraste em cintilografia (MJOS; ORVIG, 2014).

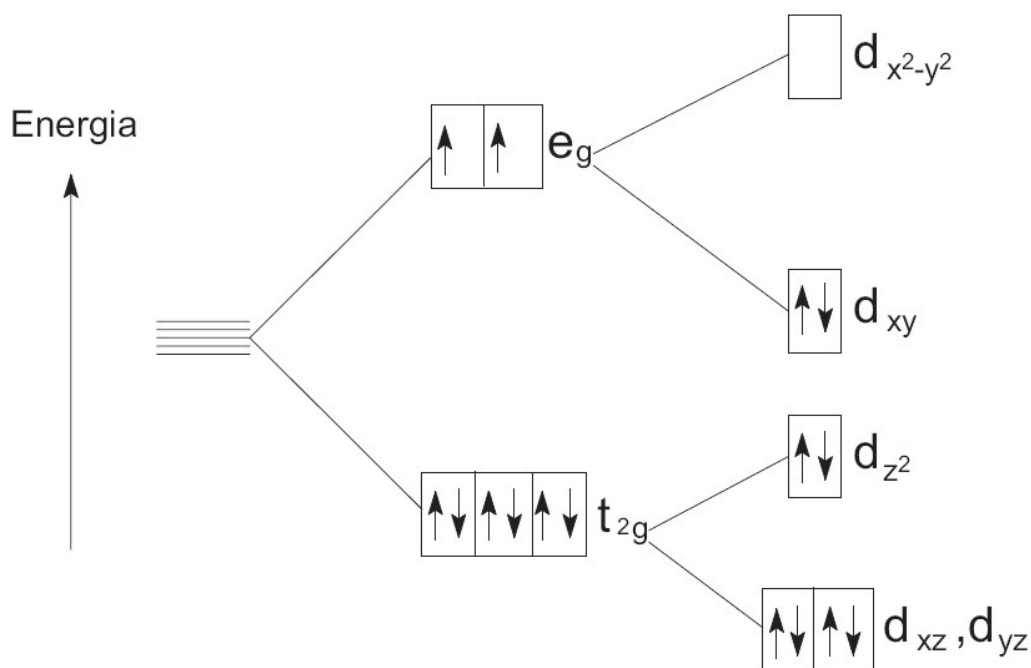
Mundialmente, a demanda por medicamentos à base de platina tem crescido constantemente (GAUTIER; CISNETTI, 2012). A especificidade demonstrada em relação a certas linhas celulares de cancro levou os investigadores a procurar alternativas. Uma das alternativas que tem mostrado uma promessa considerável tem sido o desenvolvimento de outros candidatos a medicamentos baseados em metal de transição (GABBIANI; MESSORI, 2011; CASINI; MESSORI, 2011). Os complexos baseados em paládio estão intimamente relacionados aos seus análogos de platina, devido às suas semelhanças estruturais e à sobreposição significativa da química de coordenação para os dois metais. Um dos primeiros estudos de Graham e colaboradores (1979) defendeu o uso de complexos de paládio como possíveis agentes anticancerígenos. Uma série de novos complexos de paládio foi sintetizada, os quais exibem uma atividade promissora contra linhas celulares tumorais (pulmão, próstata, etc.). Em vários casos, os complexos de paládio exibiram uma melhor atividade antitumoral do que os seus equivalentes de platina (cisplatina, carboplatina, etc.).

Em termos de utilidade, o padrão de dissociação lenta dos complexos de platina em comparação com o paládio (105 vezes mais rápido) os torna mais aplicáveis. Uma tendência recente observada em drogas anticâncer baseadas em paládio é focar no desenvolvimento de complexos de paládio com taxas de hidrólise mais lentas provocadas pela escolha dos ligantes (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

1.2 PALÁDIO

O paládio é um metal de transição pertencente ao grupo da platina e pode ser encontrado em diversos estados de oxidação, os principais são II e IV. O Pd(II) é o estado de oxidação mais estável e pode ser encontrado na forma de óxidos, haletos, nitratos e sulfatos. Apresenta configuração eletrônica ${}_{46}\text{Pd}^{2+}: 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 4d^8$. Ele é paramagnético, mas todos os seus complexos são diamagnéticos e apresentam principalmente coloração vermelha, marrom ou amarela (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Todos os complexos de Pd(II) são diamagnéticos, exceto o íon paramagnético $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ que é formado em ácido clorídrico. Quando o íon metálico central de um complexo apresenta uma configuração d^8 em campo octaédrico, seis elétrons ocuparão os orbitais t_{2g} e dois elétrons ocuparão os orbitais e_g (Figura 5) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Figura 5 - Configuração d^8 num campo octaédrico fraco



Fonte: Lee (2000, p. 111).

Os complexos de paládio mais estáveis possuem a configuração eletrônica d^8 [estado de oxidação (II)], são diamagnéticos e apresentam geometria quadrado-planar. Estes complexos apresentam os cinco orbitais d degenerados em um íon livre, são desdobrados em quatro níveis diferentes. O tipo de desdobramento depende do arranjo simétrico dos ligantes (GRAY; BALLHAUSEN, 1962).

As aplicações dos compostos de coordenação de Pd(II) são muitas, em virtude da extensa variedade de ligantes que a ele se coordena (GRAY; BALLHAUSEN, 1962). Por muitos anos, os complexos de paládio foram investigados e têm encontrado diversas aplicações, como em catálise (LIU et al., 2016), Química supramolecular (WEN; YANG, 2016), na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos (KOHOUT et al., 2017), na área médica como agentes antitumorais (CAMPANELLA et al., 2012), entre outras. Na Química Medicinal Inorgânica destacam-se os derivados de Pd(II) sobre as espécies organopaladados mono, bi e polinucleares com propriedades biológicas, frente à atividade biológica envolvendo interações dos complexos com DNA e RNA (ALMEIDA et al., 2005). O estudo de citotoxicidade *in vitro* do complexo de paládio apresentou inibição do crescimento contra diferentes linhagens de células como K-562 (Leucemia), HCT-15 (câncer de cólon), MCF-7 (câncer de mama), U-251 Glio (sistema nervoso central) e PC-3 (cancro da próstata) (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

Supôs-se que uma melhoria na atividade dos complexos de paládio era devida à presença do átomo N adequado para auxiliar a ligação eficaz de íons metálicos aos fragmentos de ácido nucléico em relação àqueles contendo ligantes doadores N heterocíclicos (COLUCCIA, 1993). Logo, a escolha criteriosa dos ligantes desempenha um papel importante na definição da geometria ao redor do centro de paládio, que na maioria dos casos é de natureza trans (KAPDI; FAIRLAMBB, 2014).

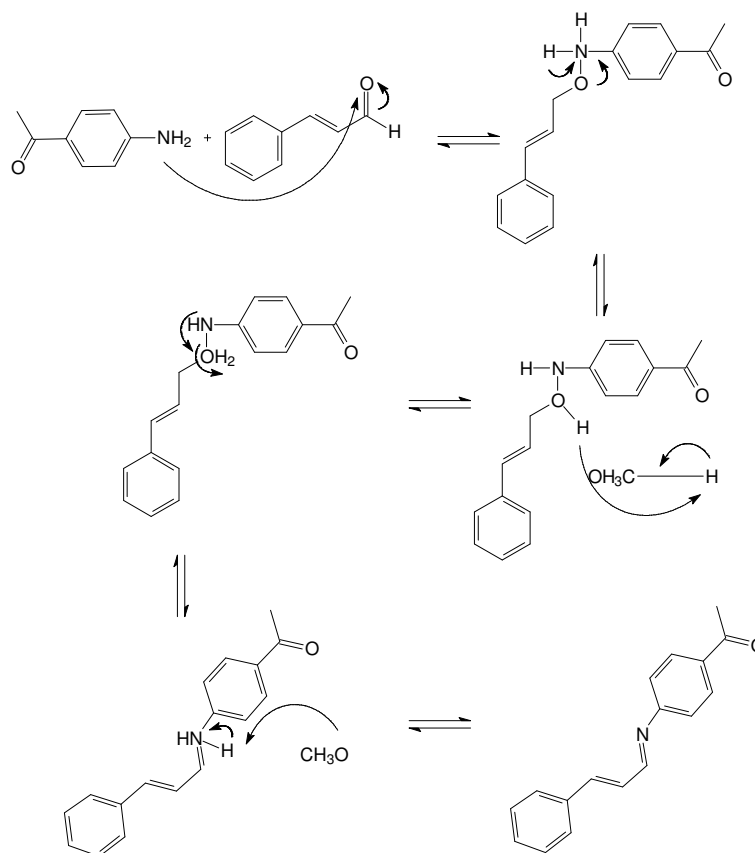
1.3 LIGANTES IMÍNICOS

Hugo Schiff, em 1864, descreveu a condensação de uma amina primária com um composto contendo um grupo carbonila ativo, (uma cetona ou um aldeído) onde a carbonila é substituída por um grupo imina, produzindo um composto conhecido como base de Schiff. Estas são bases de Lewis extremamente eficazes e apresentam o grupo funcional, geralmente hidroxila, perto do sítio de coordenação a ponto de permitir que anéis quelatos de cinco ou seis membros sejam formados por meio da reação com íons metálicos.

Esses compostos são considerados “ligantes privilegiados”, por serem capazes de estabilizar diversos metais em vários estados de oxidação podendo controlar o desempenho dos íons em diversas transformações catalíticas (COZZI, 2004). As bases de Schiff possuem estrutura bem definida e ampla funcionalidade orgânica, podem complexar centros metálicos com grande facilidade. Levando em consideração a versatilidade de suas propriedades estéricas e eletrônicas, é possível aplicar estes compostos em diversas áreas, tais como atividades biológicas (ZAYED; ZAYED; EL-DESAWY, 2015; AL-NOOR; AZIZ; AL- JEBOORI, 2014), organometálicos (SOARES et al., 2014), atividades catalíticas (REN et al., 2014), entre outras.

Atualmente, os ligantes neutros mais utilizados são piridina (py) (CHEN, 2009), bipyridina (bipy) (HOLLER, 2010), terpiridina (terpy), fenantrolina (phen) (FANG, 2007), óxidos de trifenilfosfina (tppo) (ELISEEVA, 2004). As bases de Schiff podem ser sintetizadas de várias maneiras, adotando métodos diferentes (KAFKA; KAPPE, 1997), enquanto que a condensação catalisada por ácido de amins e aldeídos e cetonas é a mais comum. Trata-se de uma reação em duas etapas, na qual o ataque nucleofílico pelo átomo de nitrogênio do carbono carbonílico é o primeiro que resulta no intermediário da carbinolamina, que é instável. No segundo passo, o intermediário sofre desidratação para formar uma ligação dupla de carbono que é conhecida como base de Schiff (GULL; HASHMI, 2017), (Figura 6).

Figura 6 – Mecanismo da síntese da base de Schiff



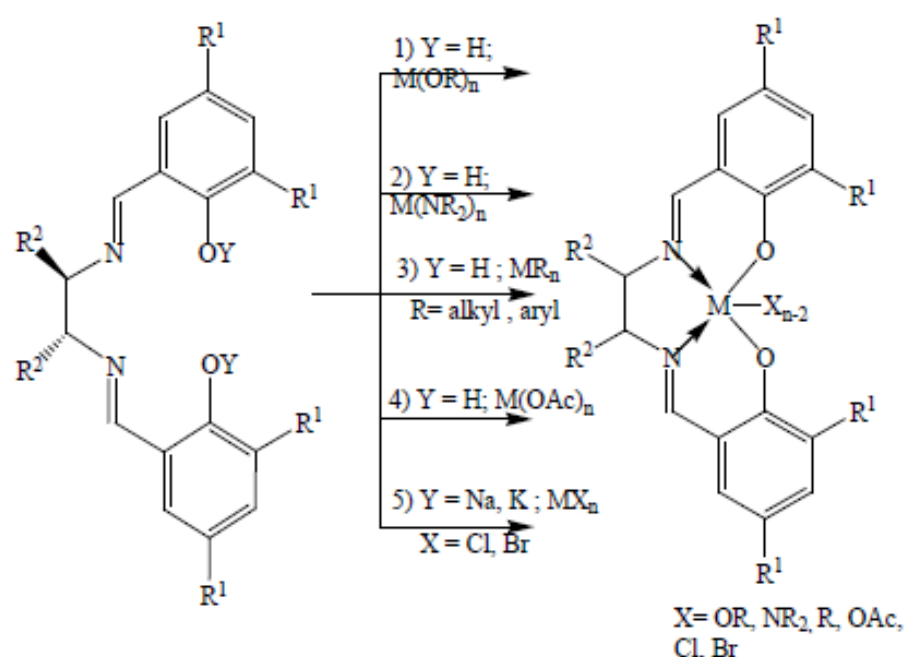
Fonte: Do Autor.

Complexos de metais contendo base de Schiff são comumente sintetizados pela reação de sais metálicos com ligantes de base de Schiff sob condições de reação específicas. Segundo Cozzi (2004), cinco vias sintéticas são descritas para a síntese do complexo de metal base de Schiff e são apresentadas como segue na Figura 7.

A rota 1, usa os óxidos metálicos $[M(OR)_n]$ que estão facilmente disponíveis para uso particularmente de metais de transição. Na rota 2, as amidas de metais, são utilizados como precursores na síntese de complexos metálicos baseados em bases de schiff. Várias outras rotas utilizadas como rotas sintéticas consistem na reação direta da base de Schiff e do íon metálico, rota 3. Na rota 4 ou reação das bases de Schiff com os correspondentes acetatos metálicos em refluxo. O esquema descrito na Rota 5, que é um pouco eficaz na síntese de complexos metálicos do tipo salen, compreende uma reação em

duas etapas, a desprotonação da base de Schiff e a reação com sais metálicos. Os hidrogênios fenólicos podem ser desprotonados efetivamente usando hidreto de sódio ou potássio. O hidreto na coordenação de solventes e o excedente NaH ou KH podem ser removidos por filtração (GULL; HASHMI, 2017).

Figura 7 – Rota sintética dos complexos metálicos



Fonte: Do Autor.

As bases de Schiff e seus complexos metálicos emergem como um campo diverso de química e desempenham um papel importante no desenvolvimento e progresso de coordenação química (ODDS; BROWN; GOW, 2003). A escolha do ligante orgânico tem muita importância para os complexos de paládio, pois se sabe também que as bases de Schiff exibem propriedades biológicas e são principalmente usadas como drogas em medicamentos (PATOLE et al., 2006). Estudos experimentais têm mostrado que a incorporação do íon metálico aumenta a atividade biológica das bases de Schiff sobre a quelação (PUTHILIBAI, 2009; AVAJI, 2009).

1.4 PSEUDOHALETOS

O termo pseudo-halogênio foi introduzido em 1925 e refere-se à forma molecular de compostos como cianogênio $(\text{CN})_2$ e ditiocianogênio $(\text{SCN})_2$. Também pode ser aplicado às moléculas como o N_2O_4 ou $(\text{SCSN}_3)_2$. Em paralelo ao termo pseudo-halogênio há outros: pseudo-haleto, grupo pseudo-halogênio e derivados pseudo-halogenados. Enquanto o termo pseudo-haleto refere-se ao ânion, a designação de grupo pseudo-halogênio é utilizada para se referir aos mesmos quando covalentemente ligados às moléculas orgânicas (SARGENTELLI, 1996).

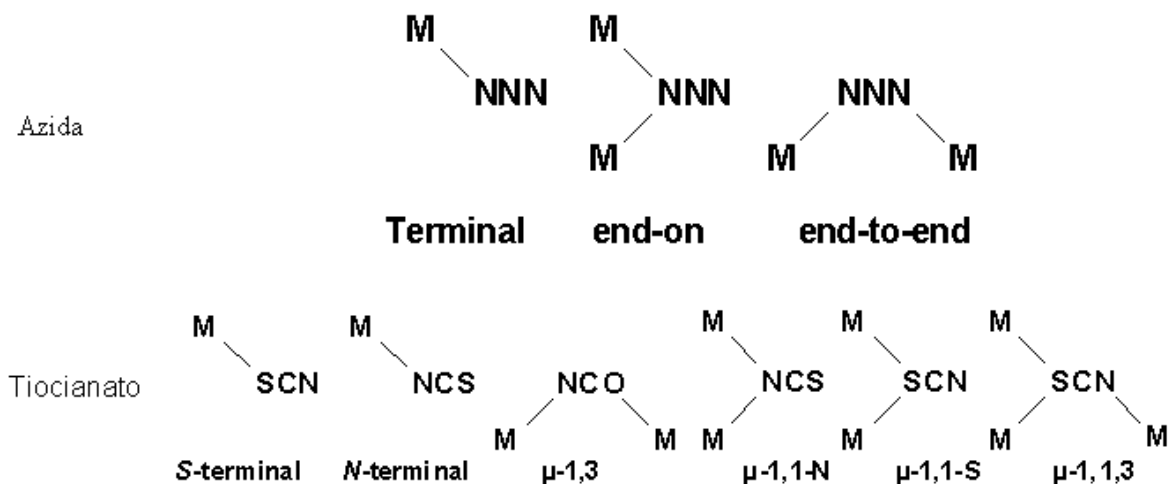
Os principais pseudo-haletos são os seguintes íons: azida (N_3^-) , cianato (OCN^-) e seu isômero o fulminato (CNO^-) , tiocianato (NCS^-) , cianeto (CN^-) , selenocianato (NCSe^-) , cianamida $(\text{N}(\text{CN})_2^-)$ e tricjanometanida $(\text{C}(\text{CN})_3^-)$ (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A designação destes íons como pseudo-haletos decorre de semelhanças entre as propriedades dos mesmos com aquelas dos haletos autênticos. Destacam-se as seguintes propriedades: são geralmente voláteis quando estão no estado livre; reagem entre si formando compostos como os compostos FN_3 e $\text{I}_2\text{Br}_2\text{Cl}^-$; ligam-se a radicais orgânicos (alquilas) formando compostos covalentes, RX e uma de sua propriedade mais importante é a capacidade de formarem complexos estáveis com muitos metais de transição, podendo coordenar-se ao íon metálico de diferentes modos (SANTOS; NEVES, 1984).

Apesar da similaridade, três diferenças são marcantes entre os pseudo-haletos e os haletos, a saber: os ácidos constituídos por haletos são mais fortes do que os dos pseudo-haletos; a insaturação dos pseudo-haletos a qual lhes confere acentuada propriedade como agentes complexantes e a reatividade destes íons, possibilitando a formação de novas espécies coordenadas ao centro metálico (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986).

Na química inorgânica os íons azida (NNN^-) , tiocianato (NCS^-) e cianato (NCO^-) constituem diversos sais e na química de coordenação são conhecidos compostos contendo estes pseudo-haletos com praticamente todos os metais de transição. Os mesmos coordenam-se nos modos terminal ou ponte originando espécies monoméricas ou

poliméricas (GODOY NETTO, 2003; NAKAMOTO, 1986). Quando em ponte, podem atuar como ligantes *end-on* ($\mu-1,1$) ou *end-to-end* ($\mu-1,3$) (Figura 8).

Figura 8 - Modos de coordenação dos pseudo-haletos azida, tiocianato e cianato



Fonte: Moro, 2007.

Ralph Pearson usa a polarizabilidade das espécies para classificá-las como ácidos e bases duros (aos que possuem baixa polarizabilidade), ácidos e bases moles aos que possuem alta polarizabilidade. E a interação entre ácidos moles e bases moles são mais efetivas, da mesma forma que ácidos duros com bases duras (VASCONCELLOS, 2014). O íon paládio(II), de acordo com a teoria de Person, é um ácido mole e com isso, espera-se melhor interação com bases moles. Dentre os haletos e pseudohaletos que se enquadram nessa classificação podemos citar: I^- , SCN^- e CN^- , em comparação aos haletos e pseudohaletos relativamente com maciez intermediária, Br^- , N_3^- , NCS^- , NCO^- . Já os haletos F^- e Cl^- , são considerados como base duras e são facilmente substituídos por haletos/pseudohaletos mais macios (MIESSLER; FISCHER; DONALD, 2014).

1.5 POTENCIAL BIOLÓGICO



Atualmente, compostos inorgânicos são constantemente avaliados quanto aos seus efeitos farmacológicos, na esperança de alcançar curas efetivas para várias doenças. Os agentes quimioterápicos são substâncias químicas que exercem ação seletiva sobre as espécies patogênicas. De acordo com o tipo de microrganismo, os agentes quimioterápicos são classificados em: antihelmínticos, antiprotozoários, antifúngicos, antibacterianos, antivirais e antineoplásicos (ALMEIDA, 2003). Alguns agentes quimioterápicos podem apresentar um ou mais dos seguintes efeitos: *-stático*, quando inibem o crescimento ou multiplicação ulterior do organismo ou célula invasora; *-cida*, quando o matam ou destroem. A busca por novas moléculas evoluiu para a obtenção de novos compostos no âmbito da pesquisa da Química Medicinal inorgânica para avaliação biológica sobre algumas doenças de interesses científicos.

1.5.1 Aspectos gerais do câncer de mama

A neoplasia maligna mais comum em mulheres (com exceção do câncer de pele não melanoma), tanto nacional quanto internacionalmente, é o câncer de mama. A estimativa para o Brasil, no biênio 2016-2017, aponta a ocorrência de cerca de 600 mil novos casos de câncer e são esperados 57.960 novos casos de câncer de mama, sendo 5.160 para Minas Gerais (BRASIL, 2015).

Introdução

Figura 9 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2015 por sexo

| Localização primária | casos novos | percentual | | | Localização primária | casos novos | percentual |
|-----------------------------|-------------|------------|--|--|-----------------------------|-------------|------------|
| Próstata | 60.180 | 30,8% | Homens  | Mulheres  | Mama Feminina | 52.680 | 27,9% |
| Traqueia, Brônquio e Pulmão | 17.210 | 8,8% | | | Colo do Útero | 17.540 | 9,3% |
| Cólon e Reto | 14.180 | 7,3% | | | Cólon e Reto | 15.960 | 8,4% |
| Estômago | 12.670 | 6,5% | | | Glândula Tireoide | 10.590 | 5,6% |
| Cavidade Oral | 9.990 | 5,1% | | | Traqueia, Brônquio e Pulmão | 10.110 | 5,3% |
| Esôfago | 7.770 | 4,0% | | | Estômago | 7.420 | 3,9% |
| Bexiga | 6.210 | 3,2% | | | Ovário | 6.190 | 3,3% |
| Laringe | 6.110 | 3,1% | | | Corpo do Útero | 4.520 | 2,4% |
| Linfoma não Hodgkin | 5.190 | 2,7% | | | Linfoma não Hodgkin | 4.450 | 2,4% |
| Sistema Nervoso Central | 4.820 | 2,5% | | | Sistema Nervoso Central | 4.450 | 2,4% |

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10

Fonte: Brasil, 2015.

Os tumores mamários são heterogêneos (que possui natureza desigual e/ou apresenta diferença de estrutura), sendo este um dos maiores desafios na prática clínica, tendo em vista que tumores com os mesmos tipos histológicos, estágios e graus de diferenciação podem apresentar desfechos distintos em relação aos fatores prognósticos e às respostas aos tratamentos instituídos, principalmente, devido a diferentes alterações moleculares (CHEANG et al., 2009). A prevenção primária dessa neoplasia ainda não é totalmente possível em razão da variação dos fatores de risco e das características genéticas que estão envolvidas na sua etiologia. Novas estratégias de rastreamento factíveis para países com dificuldades orçamentárias têm sido estudadas e, até o momento, a mamografia é recomendada como método efetivo para detecção precoce (BRASIL, 2015).

Apesar do sucesso terapêutico da cisplatina, os seus efeitos indesejados justificam a busca por novos compostos com efeito antitumoral comparável ou melhor que a cisplatina, porém, com menor toxicidade sistêmica. A platina e outros metais de transição apresentam interesse particular para o desenvolvimento de compostos antitumorais devido à forte interação desses metais com o DNA, embora, possam se ligar a outros alvos moleculares como as proteínas contendo tióis e participar de processos de óxido-redução (MEDICI et al., 2015). Assim, vários complexos utilizando metais de transição têm sido sintetizados e estudados, como é o caso de complexos de paládio (II), que apresentam analogia estrutural e termodinâmica aos complexos de platina (CUTILLAS et al., 2013; GAO et al., 2009;

Introdução

GAUTIER; CISNETTI, 2012;). Vários estudos têm demonstrado que os complexos de Pd(II) apresentam atividade citotóxica similar aos complexos e Pt(II), cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, com menos efeitos adversos e maior solubilidade em água (GAO et al., 2009; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

Os primeiros complexos de Pd(II) apresentaram pouca ou nenhuma aplicação como antitumorais, devido à sua rápida hidrólise em ambientes biológicos, cerca de 10^5 vezes mais rápida do que os análogos contendo platina. A rápida dissociação em meio aquoso impede que os complexos atinjam o alvo farmacológico e aumenta o risco de formação de compostos reativos, com potencial para interferir em processos bioquímicos das células normais (CAIRES, 2007; GAROUFIS; HADJIKAKOU; HADJILIADIS, 2009).

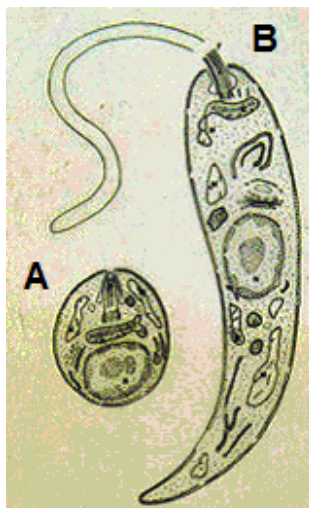
Em geral os complexos de Pd(II) são divididos em 2 grupos principais: aqueles com ligantes doadores de enxofre e os complexos com ligantes doadores de nitrogênio e outros doadores. A atividade biológica dos metalocomplexos está diretamente relacionada ao ligante, que desempenha papel crucial na estabilização do estado de oxidação específico do metal, na modificação da reatividade e lipofilicidade e ainda deve ser inerte (MOTSWAINYANA et al., 2013).

Ulukaya et al. (2011) e Ari et al. (2014) demonstraram que um complexo de Pd(II) mononucleado, contendo terpiridina apresentou citotoxicidade para células MCF-7 e MDA-MB-231 de adenocarcinoma mamário humano e o mecanismo de ação inclui a quebra de dupla fita do DNA e aumento do estresse oxidativo, o que levou as células a morte (ADIGUZEL et al., 2014). Campanella et al. (2012) utilizando complexos de Pd(II) contendo imina e difenilfosfina, $[Pd(ca_2-o-phen)Cl_2]$ e $[Pd(dmba)(dppp)Cl]$, respectivamente, demonstraram o efeito citotóxico para a linhagem de células MDA-MB-435, de adenocarcinoma mamário humano triplo-negativo. Outros complexos de Pd(II) ininico-fosfínicos também se mostraram citotóxicos para células MCF-7, sendo mais eficientes que a cisplatina (MOTSWAINYANA et al., 2013). Resultados semelhantes foram obtidos por Banti et al. (2015), com dois complexos trifenilfosfínicos de Pd(II) testados em células MCF-7.

1.5.2 Aspectos gerais da leishmaniose e *Leishmania* ssp.

O gênero *Leishmania* é constituído de várias espécies de protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae e à ordem Kinetoplastida, que se caracterizam pela presença de uma estrutura extranuclear rica em DNA, denominada cinetoplasto (LAINSON; SHAW, 1972). Em 1903, Leishman e Donovan separadamente descreveram um protozoário num tecido de baço, que hoje é chamado *Leishmania donovani* (HERWALDT, 1999). O parasito existe em duas formas: e a forma intranuclear amastigota (Figura 8A), que é ovalada, não apresenta flagelo visível na microscopia ótica, é encontrada no interior dos fagolisossomos dos macrófagos do hospedeiro mamífero, onde sobrevivem e se multiplicam e a forma extranuclear promastigota (Figura 8B), que é fusiforme, apresenta núcleo central e possui flagelo, organela relacionada à locomoção do parasito no tubo digestivo do inseto (CROFT; COOMBS, 2003).

Figura 10 - Formas evolutivas do protozoário *Leishmania*



Legenda: A. Amastigota

B. Promastigota

Fonte: Fiocruz, 1997.

Introdução

As leishmanioses se caracterizam pelo parasitismo intracelular do sistema fagocitário mononuclear, a partir da picada do vetor flebotomíneo-fêmea infectado com as formas promastigotas de *Leishmania* que, após inoculação no hospedeiro vertebrado se transformam em amastigotas no vacúolo parasitóforo de macrófagos (LAINSON; SHAW, 1992).

O medicamento mais utilizado para o combate a *Leishmania* são complexos de antimônio pentavalente, Anfotericina B e a Pentamidina. No entanto, estes agentes apresentam desvantagens como o modo de administração parenteral, de longa duração da terapêutica, efeitos tóxicos, custo e parasita resistente (GUERIN et al., 2002). Com base nestas considerações, o estudo de novas drogas para o tratamento das leishmanioses é importante, uma vez que vários estudos que avaliaram esses medicamentos não apresentaram resultados conclusivos (DOGRA; SAXENA, 1996). Azitromicina tem sido usado para tratar infecções causadas principalmente por microorganismos intracelulares, devido à sua distribuição tecidual dentro de fagócitos e sua longa meia vida (PETERS; FRIEDEL; McTAVISH, 1992).

A atividade dos metais sobre a *Leishmania* foi descrita por alguns autores como Navarro e colaboradores (2003) que testaram a atividade leishmanicida de complexos de cobre (Cu) sobre formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* comprovando sua interação com o DNA do parasita. Além disso, também já foi relatada a atividade do ouro (Au) sobre culturas de promastigotas de *L. mexicana* interagindo sobre o DNA por intercalação (NAVARRO et al., 2010). Iniguez e colaboradores (2014) também demonstraram atividade de complexos com rutênio sobre *Leishmania*.

Os complexos contendo paládio(II) têm chamado a atenção como uma alternativa para novas drogas com base metálica, visto que sua coordenação geométrica e processo de formação de complexo são similares aos da platina (II) (TUŠEK-BOŽC et al., 2008). Na literatura tem sido descrito a síntese de novos compostos de paládio pelas reações de adição ou substituição por grupos radicalares como haletos ou pseudohaletos sobre a atividade antileishmania do tiocianato relatado por Franco (2013).

1.5.3 Aspectos gerais antifúngicos

Os fungos podem causar infecções, sendo denominadas micoses as infecções fúngicas. Os fungos (Figura 11) podem ser patogênicos ou não, são seres eucarióticos, heterotróficos, possuem parede celular rígida composta por quitinas e polissacarídeos, além de apresentarem membrana celular envolvendo o material genético, membrana composta de ergosterol e núcleo. Sua morfologia pode variar dependendo de condições nutricionais de fatores ambientais (pH, temperatura, atmosfera O_2/CO_2) (TRABULSI et al., 2005; LEVINSON; JAWETZ, 2005).

Figura 11 – Cultivo de fungo em placa de Petri




Fonte: Alcântara, 2017

Com o passar dos anos o desenvolvimento de fármacos eficientes para combater infecções microbianas revolucionou tratamentos médicos com a redução de mortes ocasionadas por tais doenças. No entanto, o uso de antibióticos indiscriminável resultou na resistência dos microrganismos. Isso se tornou um grande problema mundial de saúde pública, uma vez que limita as opções de fármacos disponíveis no mercado, sendo importante a busca por novos agentes antimicrobianos (OPLUSTIL, 2012).

Nesse contexto o uso de compostos inorgânicos no tratamento de doenças como agentes antifúngicos vem sendo muito utilizado. Como exemplo cita-se as tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos. As tiossemicarbazonas por si, já

Introdução

apresentam ampla atividade antimicrobiana, sendo ativas em diferentes culturas de fungos, porém, sua complexação com metais de transição aumentam seu potencial antifúngico, como os complexos de cobalto (MYCEK; HARVEY; CHAMPE, 1998). Além disso, vários trabalhos evidenciam os estudos antibacterianos e antifúngicos dos complexos de platina (KUSHEV, et al., 2002; WATABE, et al., 1999). A síntese de dois complexos Pt(II), $[\text{Pt}(\text{achsh})_2\text{Cl}_2]$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)(\text{achsh})\text{Cl}_2]$ realizadas por Kushev e colaboradores (KUSHEV, D. et al., 2002) ao serem testados em culturas de fungos e bactérias apresentaram atividade similar e, ou, maior comparadas a cisplatina.



Capítulo 2


OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Diante do exposto, percebe-se a necessidade do desenvolvimento de novos complexos de Pd(II) e estudos para o conhecimento das atividades biológicas dos complexos metálicos. Assim, o objetivo desse trabalho foi a síntese, caracterização e a avaliação das potencialidades farmacológicas de complexos de paládio(II) contendo o ligante imínico 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafe).

Deste modo, o presente trabalho tem os seguintes objetivos específicos:

- a) Síntese do novo agente complexante nitrogenado (Base de Schiff ou iminas), 1-(4-[[*(1E,2E)*-3-fenilprop-2-en-1-ilideno]amino]fenil)etanona (Hfafe), e realizar a coordenação deste agente complexante com o paládio(II);
- b) Síntese dos novos complexos de Pd(II) através da troca de cloreto (Cl⁻) por outros haletos: brometo (Br⁻) e iodeto (I⁻) e pseudohaletos: tiocianato (SCN⁻) e azida (N₃⁻);
- c) Caracterização dos novos compostos utilizando as técnicas de análise elementar (CHN), espectro de absorção na região do infravermelho (IV), análise térmica (TG e DTA), espectros de ressonância magnética nuclear (RMN de ¹H e ¹³C), determinação estrutural e molecular por técnicas de difratometria de raios-X, condutividade elétrica e propriedades eletrônicas;
- d) Investigação da atividade em *Leishmania* ssp, células tumorais e fungos com o intuito de avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos.



Capítulo 3

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

Em todas as sínteses foram utilizados reagentes P.A. Os principais solventes e reagentes estão listados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Principais solventes utilizados nas sínteses

| Solventes | Fórmulas | Procedências |
|-------------------------|--------------|--------------|
| Acetona | C_3H_6O | Cromoline |
| Acetonitrila | CH_3CN | Isofar |
| Clorofórmio | $CHCl_3$ | Cromoline |
| Diclorometano | CH_2Cl_2 | Isofar |
| Dimetilsulfóxido (DMSO) | C_2H_6SO | Ecibra |
| Etanol | C_2H_5OH | Ecibra |
| Éter Etílico | $C_4H_{10}O$ | Ecibra |
| Metanol | CH_3OH | Impex |
| Nitrometano | CH_3NO_2 | Nuclear |
| Pentano | C_5H_{12} | Isofar |
| Tetrahidrofurano (THF) | C_4H_8O | Synth |

Fonte: Do Autor.

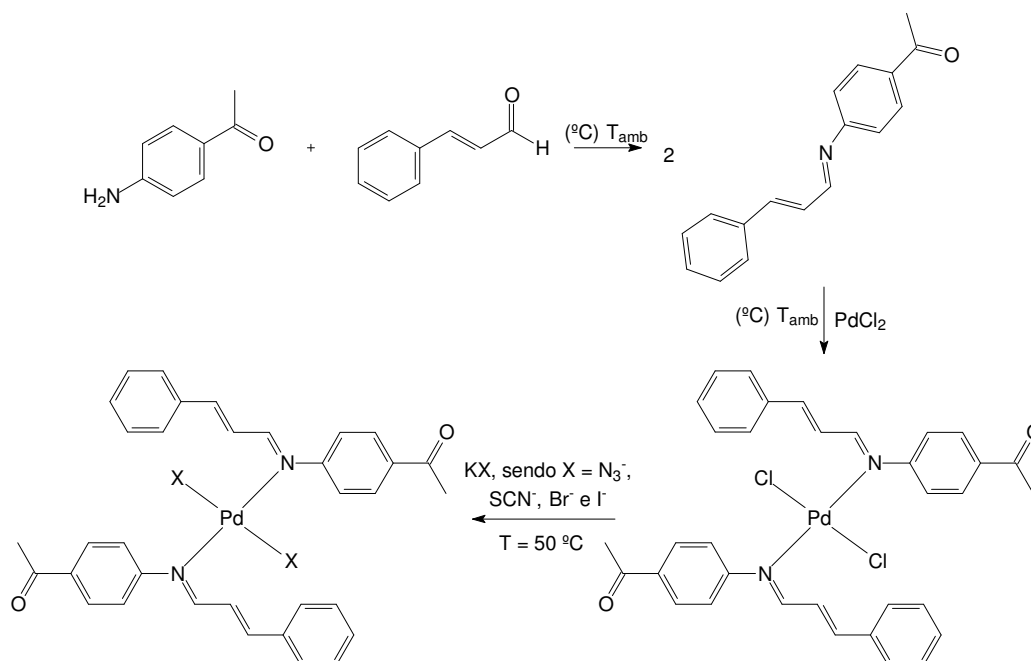
Tabela 2 - Principais reagentes utilizados nas sínteses

| Reagentes | Fórmula | Procedência |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|
| Azida de sódio | NaN_3 | Riedel |
| Brometo de Potássio | KBr | Vetec |
| Cianato de Potássio | KCNO | Carlo Erba |
| Cloreto de Lítio | LiCl | Synth |
| Cloreto de Paládio (II) | PdCl_2 | Sigma Aldrich |
| Iodeto de Potássio | KI | Merck |
| <i>p</i> -aminoacetofenona | $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ | Carlo Erba |
| <i>trans</i> -cinamaldeído | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$ | Merck |
| Tereftaldeído | $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$ | Aldrich |
| Tiocianato de Potássio | KSCN | Merck |
| Trietilamina | $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$ | Vetec |

Fonte: Do Autor.

Para facilitar a explanação dos resultados alcançados, o fluxograma abaixo, indica as sínteses realizadas a obtenção do novo ligante imínico e dos novos complexos de paládio(II).

Figura 12 – Mecanismo da síntese da base de Schiff Hfafa

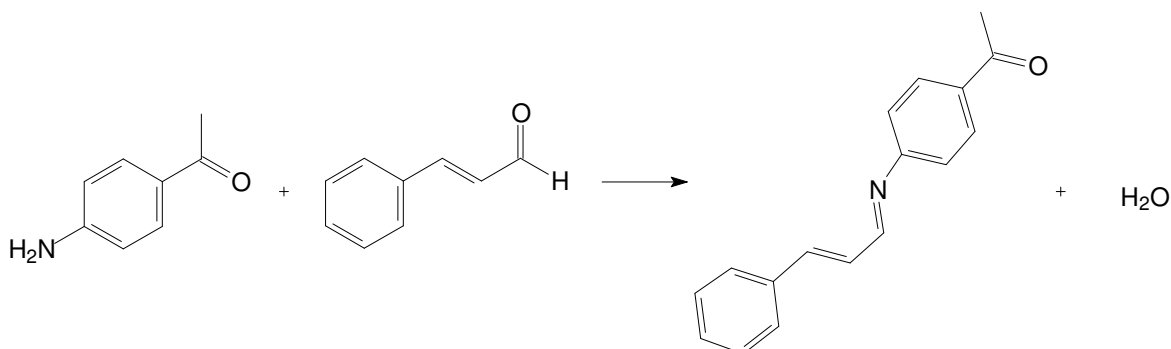


Fonte: Do Autor.

3.1 SÍNTESE DO NOVO LIGANTE IMÍNICO Hfafa (L1)

A síntese da imina foi conduzida reagindo-se aldeído ou cetona com amina, na proporção estequiométrica adequada, em etanol e a temperatura ambiente, em Erlenmeyer com tampa e boca esmerilhada. O Erlenmeyer contendo o meio reacional foi transferido para um freezer com o intuito de se obter o sólido por abaixamento de temperatura. As reações foram realizadas em duplicata.

Figura 13 – Equação química para a obtenção do ligante Hfafa L1



Fonte: Do Autor.

Para a síntese do novo ligante imínico ou base de Schiff, Hfafa (Figura 13), foi conduzida reagindo-se *p*-aminoacetofenona com *trans*-cinamaldeído, na proporção estequiométrica 1:1, em meio etanólico, à temperatura ambiente de 27 °C, em um balão volumétrico de fundo redondo. Foram gotejados 1,0500 g (7,94 mmol) de *trans*-cinamaldeído dissolvido em 10,0 mL álcool etílico em uma solução límpida constituída de 1,0700 g (7,94 mmol) de *p*-aminoacetofenona em 10,0 mL de álcool etílico, sob agitação. Após 2 horas de reação, observou-se a formação de um precipitado amarelo claro. O sistema foi transferido para um freezer com o intuito de se obter cristais por abaixamento de temperatura. As reações foram reproduzidas em duplicata.

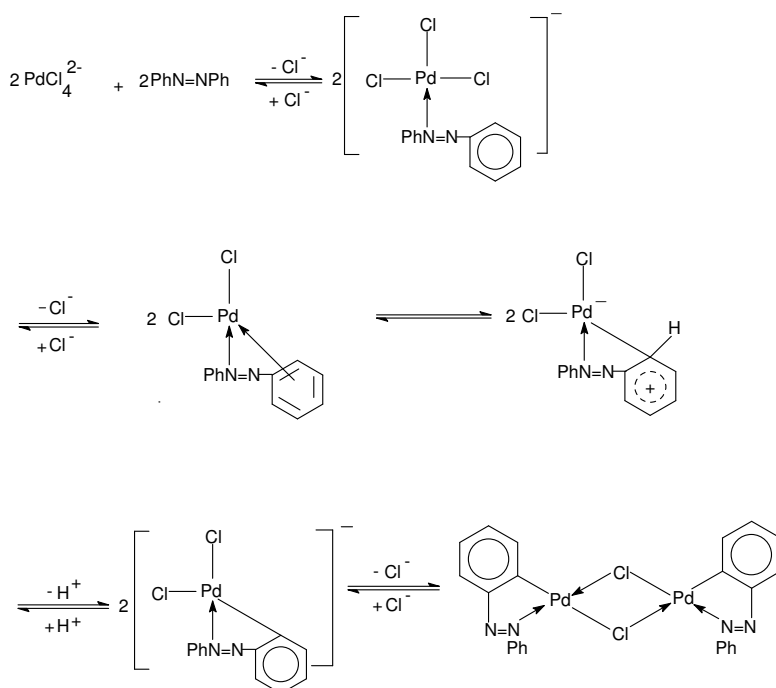
3.2 SÍNTESE DO NOVO COMPLEXO PRECURSOR DE PALÁDIO(II)

A síntese de nova espécie química de coordenação foi realizada reagindo o novo ligante obtido com o sal de metal de transição tetracloropaladato(II) de lítio, em proporção estequiométrica adequada e utilizando o metanol como solvente à temperatura ambiente. O método de litição é muito empregado na complexação de complexos de paládio (CAVALCANTE et al., 2008; ANGELO et al., 2001). O PdCl₂ é insolúvel em MetOH.

Parte Experimental

A adição de LiCl se faz necessária, pois forma-se um complexo solúvel em metanol à quente, o tetracloropaldado(II) de lítio, é o precursor reacional (Figura 14).

Figura 14 - Esquema do método de Parshall



Fonte: Do Autor.

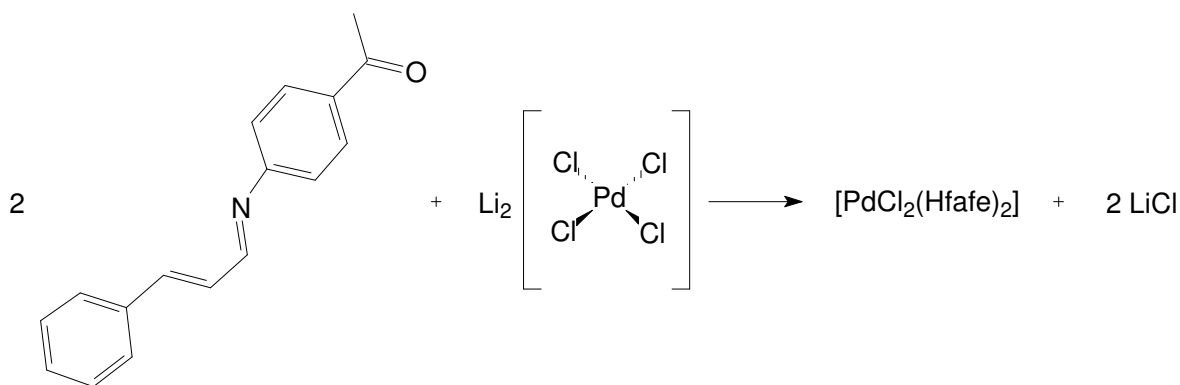
3.2.1 Síntese do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Solubilizou-se 1,0000 g (5,64 mmol) de PdCl_2 , em 40,0 mL de metanol, sob aquecimento e agitação durante cerca de 20 minutos, em um balão de fundo chato. Após este tempo, foi observado certo escurecimento da mistura e formação de uma suspensão. Adicionou-se então 0,4704 g (11,28 mmol) de LiCl, deixando reagir por mais 20 min. Observou-se a solubilização do sólido em suspensão. Filtrou-se a solução ainda à quente para remoção de resíduos sólidos insolúveis.

Parte Experimental

Em outro balão de fundo chato, solubilizou 1,4000 g (5,64 mmol) do ligante imínico Hfafa L1 em metanol, formando-se uma solução límpida e cristalina. Fez-se então uma lenta adição desta solução a anterior contendo predominantemente $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$. Deixou o sistema em agitação e sob gotejamento de uma solução metanol-trietilamina (20:1) (v/v). O lento gotejamento teve duração de 8 horas sendo observada a formação de um sólido amarelo (Figura 15). O precipitado produzido foi então filtrado, lavando-se com água e éter e seco sob vácuo.

Figura 15 - Equação química para a obtenção do $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

3.3 REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÕES

Com a obtenção do novo complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), e com o intuito de se investigar a reatividade dos mesmos frente a haletos e pseudohaletos, foi conduzida então reações de substituição do cloro, por brometos e iodetos, bem como pelos pseudohaletos azida e tiocianato. O estudo de séries de complexos se faz necessária para a comparação de suas propriedades físicas e químicas, além das propriedades biológicas, o que facilita interpretar a relação estrutura química versus atividade biológica (SAR). A escolha destes sais foi norteadora por suas relevantes propriedades farmacológica.

Parte Experimental

Em reação estequiométrica e dissolvido em acetona, o complexo precursor foi agitado com os sais inorgânicos NaN_3 , KSCN , KBr e KI para obtenção de novos complexos.

3.3.1 Síntese de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfaffe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

Para a obtenção de complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{Hfaffe})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$, SCN , Br e I , a partir do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfaffe})_2]$ (C1), utilizou-se a proporção 1:2 (complexo-cloro:sal inorgânico), conforme esquema reacional abaixo:

Esquema Reacional previsto:



Solubilizou-se 0,3001 g (0,44 mmol) do complexo em 20,0 mL de acetona, sob agitação. Em seguida solubilizou-se os sais inorgânicos 0,057g (0,88 mmol) de NaN_3 , 0,0808 g (0,58 mmol) de KSCN , 0,1052 g (0,58 mmol) de KBr e 0,1472 g (0,58 mmol) de KI em 0,01 mL de água destilada e adicionou-se ao complexo. Deixou-se reagindo por 2 h. Após o término da reação, o balão contendo a mistura reacional, foi levado à geladeira permanecendo por volta de 24 horas. A solução foi filtrada lavando-se o produto com água em abundância para remoção do cloreto de sódio / cloreto de potássio formado no processo reacional. Os sólidos sintetizados apresentam coloração laranja para o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfaffe})_2]$ (C2), verde para $[\text{Pd}(\text{Hfaffe})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), laranja para $[\text{PdBr}_2(\text{Hfaffe})_2]$ (C4) e marrom para $[\text{Pd}(\text{Hfaffe})_2\text{I}_2]$ (C5), respectivamente.

3.4 METODOLOGIA DE CARACTERIZAÇÃO

A seguir serão apresentadas as técnicas e equipamentos utilizados para a elucidação dos compostos sintetizados neste trabalho.

3.4.1 Ponto de Fusão ou Temperatura de Decomposição

Os pontos de fusão ou decomposição foram medidos no equipamento Marte (PFM II). A amostra foi triturada e empacotada em tubo capilar para registrar a faixa de temperatura da primeira evidência visível do sólido até a sua fusão ou decomposição. Foram realizados em triplicata.

3.4.2 Testes de solubilidade

A solubilidade dos compostos foi testada com os solventes: água, metanol, etanol, acetonitrila, acetona, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Com a finalidade de verificar a solubilidade dos compostos com os solventes que foram utilizados nas técnicas de caracterização, como espectroscopia de absorção na região do ultravioleta – visível (CH_3CN), ressonância magnética nuclear (CDCl_3 ou DMSO-d_6) e os testes biológicos (DMSO).

3.4.3 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no Analisador Elementar da LECO Instruments - modelo TruSpec CHNS-O, utilizando porta-amostra de

prata. Foram utilizados como compostos de referência Acetanilida, Cistina, EDTA e sulfametazina, conforme o teor de carbono e, ou nitrogênio esperado.

3.4.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, IV, foram registrados no espectrofotômetro Simadzu – IR Prestige 21. As pastilhas apropriadas para a leitura foram preparadas pela maceração, em almofariz de ágata, da amostra com brometo de potássio e posterior compactação numa prensa hidráulica (aprox. 10 t).

3.4.5 Análise térmica

As curvas termogravimétricas (TG/DTA) foram obtidas empregando-se o equipamento da TA Instruments – Q-600 Séries. Cada amostra, com cerca de 8,0 a 10,0 mg, foram disposta em cadinho de alumina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 1100°C, com razão de aquecimento de 20°C min.⁻¹, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de 100 mL.min.⁻¹.

3.4.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética multinuclear (RMN) foram obtidos em um Espectrômetro Bruker DPX-300, operando a 300 MHz para RMN ¹H e 75 MHz para RMN ¹³C. As amostras foram preparadas com prévia solubilização em solvente deuterado neste caso o DMSO-d₆.

3.4.7 Difração de raios-X

Foram obtidos cristais adequados para análise de difração de raios-X pela evaporação lenta da acetona proveniente na solução mãe da reação do complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1) com o sal inorgânico NaN_3 formando o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2).

3.4.7.1 Coleta de Dados

As medidas de DRX por monocristal dos compostos obtidos foram realizada no Laboratório de Cristalografia da UFMG (LabCri) em cooperação direta com o Prof. **Dr. Carlos Basílio Pinheiro**. O LabCri é um laboratório multiusuários aberto à comunidade científica interessada em usar técnicas de difração de raios X para apoio à pesquisa. As medidas foram realizadas em um difratômetro de 4-círculos (Gemini) destinado a estudo de amostras monocristalinas, dotado com detector CCD, dois comprimentos de onda (K_α -Cu e K_α -Mo) e acessórios para estudos em altas (< 650 K), baixas temperaturas (> 90 K) e altas pressões (< 3 atm). O professor responsável pelas medidas foi o Prof. **Dr. Antônio Carlos Doriguetto** e pelo tratamento dos dados a **Dra. Iara Rosa Landre**.

3.4.7.2 Tratamento de Dados de Difração

Deu-se-á preferência à utilização de softwares com licença livre. Durante o tratamento numérico dos dados de difração (redução, determinação e refinamento estrutural), foram utilizados os softwares como o SHELXL-97, SHELXS-97, WINGX, PLATON, ORTEP-3, MERCURY. Todos eles são softwares livres, de excelente qualidade e facilmente obtidos na grande rede. Correções (tais como fator de polarização e absorção) foram efetuadas sobre os dados experimentais de difração, usando os métodos e os

softwares adequados. As estruturas foram resolvidas usando os métodos de Patterson e, ou, diretos, com o programa SHELXS-97 (SHELDRICK, 1997). Os modelos assim obtidos foram refinados (mínimos quadrados de matriz completa) em F^2 usando o programa SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997). O programa WINGX (FARRUGIA, 1999) foi usado na análise dos dados. Os programas ORTEP-3 (FARRUGIA, 1997), STRUPLO (FISCHER, 1985), Mercury 1.1.2 (CCDC, 2001-2002) foram usados para analisar e elaborar representações gráficas das estruturas.

3.4.8 Condutividade Elétrica

Utilizou para as medidas de condutância um equipamento e um eletrodo padrão da Aaker. A solução padrão de KCl que foi utilizada para calibragem do equipamento, apresentou condutividade de 1,413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na temperatura controlada de 25 °C, com célula de platina, com constante de cela $K=1 \text{ cm}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas com concentração de 0,1 mmol, nas quais empregou nitrometano (CH_3NO_2) como solvente.

3.4.9 Propriedades eletrônicas

Os cálculos das propriedades eletrônicas foram realizado no Laboratório de Modelagem Computacional - LaModel, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas - Unifal-MG, com colaboração do Prof. **Dr. Ihosvany Camps Rodrigues**. Para obter as propriedades eletrônicas do ligante L1, os cálculos funcionais de densidade foram realizados usando o pacote Gaussian 09 (Gaussian09). As simulações foram feitas usando o funcional híbrido M06-2X de Truhlar e Zhao (M062X) para a correlação e troca funcional em conjunto com a base 6-311++G(d,p). O funcional M06-2X é um funcional alto não-localização com o dobro da quantidade de troca não-local (2X), e é parametrizada apenas para não-metals. Devido ao seu desempenho, foi recomendado que fosse usado para o estudo da termoquímica, da cinética e das interações não covalentes do grupo principal

Parte Experimental

(M062X). A otimização de geometria foi verificada através das frequências infravermelhas reais e o critério de convergência de energia foi igual a 10^{-6} . Para prever a reatividade dos compostos, uma análise topológica foi realizada usando o software TAFF (TAFF). Nesse caso, foram determinados os orbitais de fronteiras: HOMO (orbital molecular ocupado mais alto) e LUMO (orbital molecular mais baixo desocupado) junto com as funções de Fukui.

3.5 TESTES BIOLÓGICOS

Com o intuito de verificar as potencialidades farmacológicas dos compostos sintetizados, os novos compostos foram enviados para testes biológicos frente a:

- a) Avaliação antitumoral para as linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER²⁻);
- b) Avaliação antileishmania nas formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi*;
- c) Avaliação antifúngica do gênero *Candida* spp.: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

3.5.1 Avaliação da Citotoxicidade

A avaliação da atividade dos testes carcinogênicos dos compostos sintetizados foi realizada no Laboratório de Cultura de Células (LCC) da UNIFAL-MG, com colaboração da Profa. Dra. Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa, para o ligante e os complexos metálicos obtidos. As linhagens celulares MCF-7 (ER⁺) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER⁻, PR⁻, HER2⁻) provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ).

Parte Experimental

3.5.1.1 Cultura de células de carcinoma mamário humano

Foram cultivadas em meio de cultura RPMI 1640, contendo 20% (v/v) de soro fetal bovino inativado termicamente, penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (10 µg/mL), em atmosfera umidificada com 5% de CO₂, a 37 °C. O meio foi substituído a cada 2 dias e as células foram subcultivadas a cada 5 dias, após tripsinização com solução de Tripsina-EDTA a 0,25%.

3.5.1.2 Tratamento das células

Antes do início dos experimentos a viabilidade celular foi determinada por coloração com Trypan blue (método de exclusão do corante). A seguir 2x10⁴ células viáveis/mL foram transferidas para placas “multiwell” de 24 e 96 poços e mantidas por 24 h para aderência. A seguir as células foram incubadas com os compostos, por 24 e 48 h, para avaliação da citotoxicidade. Células tratadas com o veículo constituíram o controle negativo (CN) e com cisplatina a 5,0 µM, o controle positivo (CP). Os experimentos foram realizados em triplicata. Os compostos foram dissolvidos em DMSO e foram feitas diluições seriais em DMSO até a obtenção da concentração desejada. Para os ensaios foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 µM de cada composto.

3.5.1.3 Ensaio de ligação ao DNA

Foi verificada a interação *in vitro* dos ligantes e complexos de Pd(II) ao DNA plasmidial. Foram utilizados 500,0 ng do plasmídeo pUC-19, que foram incubados a 37 °C por 30 min em tampão TE (Tris 10 mM, pH 8,0, contendo EDTA 1 mM) na ausência (CN), na presença da cisplatina (CP) e dos compostos sintetizados. A interação com o DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8% (CHEN; WU; LIN, 2007).

3.5.1.4 Ensaio de sulforrodamina B (SRB)

Foi utilizada a coloração das proteínas com sulforrodamina B para determinação do efeito de diferentes concentrações dos compostos sobre o teor de proteínas celulares, um indicador da viabilidade celular, de acordo com Vichai e Kirtikara (2006), com modificações segundo Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012). Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com 200,0 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% (p/v), a 8 °C, por 1 h. A seguir, o TCA foi removido e as células lavadas com água destilada. Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, foram adicionados 200,0 µL de sulforrodamina B a 0,4% (p/v) em ácido acético a 1% (v/v), por 30 min. Decorrido o tempo, o corante foi removido e os poços lavados por 4 vezes com ácido acético a 1% (v/v). Após secagem por 24 h, à temperatura ambiente, o corante foi dissolvido pela adição de 200,0 µL de Tris 10,0 µM, pH 10,5, por 10 min sob agitação e a absorbância determinada a 510 nm. O efeito dos compostos sobre o teor de proteínas celulares foi determinado considerando-se o teor de proteína do (CN) como 100%.

3.5.1.5 Análise morfológica e morfométrica

Decorrido o tempo de tratamento, as células foram fixadas com acetona a 70%, coradas com hematoxilina-eosina, desidratadas e foram preparadas lâminas permanentes, para análise morfológica e morfométrica. As lâminas foram observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram adquiridas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. Foram analisados 15 campos aleatórios, por tratamento e o diâmetro das colônias e das células foi determinado de acordo com o descrito por Campanella et al. (2012) e Carvalho, Ishikawa e Gouvêa (2012).

Parte Experimental

3.5.1.6 Fragmentação do DNA

A avaliação foi realizada por meio do estabelecimento do padrão de escada do DNA (“DNA ladder”), que é um indicador de apoptose (NIGAM et al., 2008). O DNA foi extraído utilizando-se kit Qiagen e submetido à eletroforese em gel de agarose a 0,8% em TBE (Tris 10 mM, ácido bórico 10 mM e EDTA 1mM), por 1 h, a 80 V. O gel foi corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL) e fotografado sob transluminação com ultravioleta.

3.5.1.7 Ensaio de morte celular

Para estimar a morte celular foi utilizado o método de coloração por fast green, descrito por Weisenthal et al. (1983), com modificações. Este ensaio baseia-se na capacidade das células viáveis excluírem o corante, enquanto as células mortas não o fazem. Decorrido o tempo de tratamento, as células foram coradas com fast green 2% (m/v), em NaCl 0,15 M, por 10 min, seguido de coloração por hematoxilina. As lâminas foram processadas e montadas com Enthellan, observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram obtidas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem. As células viáveis apresentam coloração rosa-avermelhada e as mortas, verde. Foram analisados 15 campos aleatórios, avaliando-se 600 células, para determinação da porcentagem de células mortas (CARVALHO; ISHIKAWA; GOUVÊA, 2012).

3.5.1.8 Análise estatística

Os dados obtidos para os experimentos realizados foram comparados por análise de variância pelo teste ANOVA, seguido do teste de Tukey, quando $p < 0,05$.

3.5.2 Avaliação antileishmania

A avaliação da atividade leishmanicida para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Parasitologia/Biologia Molecular da UNIFAL-MG sob a responsabilidade do Prof. **Dr. Marcos José Marques** e da discente de Mestrado **Patrícia F. Espuri**, do Instituto de Ciências Biomédicas. Foram usadas cepas referência de *L. amazonensis* (MHOM/BR/71973/M2269), provenientes do instituto Evandro Chagas (Belém, PA, Brasil).

4.5.2.1 Avaliação da atividade antipromastigota

As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* foram mantidas em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF) em estufa a 26 °C, e coletadas em fase exponencial de crescimento para realização dos testes (MESA-VALLE et al., 1996). Para a realização dos testes foram transferidas à razão de 1×10^6 células/mL para placas de 24 poços, onde então foram adicionado os complexos que foram avaliados nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL. Após 72 horas de incubação a 25 °C foram adicionados 100 µL de resazurina em cada poço. Após 6h de incubação com resazurina, as placas foram lidas em 570 nm e 600 nm, utilizando um leitor de microplacas para a determinação da IC₅₀, tendo como controle, o protozoário em meio de cultura sem a adição de fármacos. O IC₅₀ foi então comparado ao IC₅₀ do fármaco padrão anfotericina B (PEREIRA et al., 2011).

4.5.2.2 Avaliação da citotoxicidade

Para avaliação da citotoxicidade, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, dispostos em placas de 96 poços na razão de $8,00 \times 10^6$ por poço, aos quais foram adicionada os compostos a serem avaliados

Parte Experimental

nas concentrações de 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90 µg/mL e incubados por 48 horas. Após o período de incubação foram adicionados 10 µL de MTT (3-(4,5- dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo) a cada poço, com nova incubação por 4 horas. As células lisadas com DMSO foram avaliadas em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu, duplo-feixe, modelo 2550 à 570 nm para determinação do CC₅₀ por comparação ao controle sem adição de compostos ou fármacos (PEREIRA et al., 2011). A densidade óptica obtida foi então convertida à porcentagem de inibição usando a equação (1), para que então por análise de regressão dos dados pudesse ser determinada a concentração citotóxica a 50% dos macrófagos (CC₅₀) (PEREIRA, 2010).

Equação (1):

$$\% \text{Inibição} = [(DO_{\text{controle}} - DO_{\text{composto}}) / DO_{\text{controle}}] \times 100$$

DMSO foi usado como controle e a Anfotericina B foi utilizada como medicamento de referência. Os ensaios foram realizados em triplicata e em três ocasiões diferentes.

4.5.2.3 Avaliação da atividade anti-amastigota

Para avaliação da atividade leishmanicida perante amastigotas, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos a razão de 8×10^6 macrófagos, mantidos em meio RPMI 1640 a 37 °C e 5% de CO₂, em placas de 24 poços, os quais foram infectados com promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi* na fase log de crescimento na razão de 3:5. A cada poço foram adicionadas as substâncias avaliadas nas concentrações 40; 10; 5 e 0,1 µg/mL, e incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 72 horas, quando então foram fixadas com metanol e coradas com Giemsa a 10% para posterior análise por microscopia ótica e determinação da razão entre macrófagos infectados e não infectados, possibilitando a determinação do IC₅₀ em relação ao controle sem adição de drogas. O resultado foi

comparado ao IC₅₀ o fármaco padrão anfotericina B e como controle foi utilizado macrófagos infectados sem a adição de drogas (PEREIRA et al., 2010).

3.5.3 Avaliação antifúngica

A avaliação da atividade antifúngica para os ligantes e os complexos metálicos obtidos foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNIFAL-MG sob a responsabilidade da Prof^a **Dr^a Amanda Latercia Tranches Dias** e da doutoranda **Naiara Chaves Silva**, do Instituto de Ciências Biomédicas.

Foram avaliadas as concentrações inibitórias mínimas de 50% do crescimento (MIC₅₀) e 90% (MIC₉₀). As avaliações/determinações dos valores de concentrações inibitórias foram realizadas segundo a metodologia de microdiluição em caldo para leveduras conforme documento M27-S4 (CLSI, 2012). O meio de cultura utilizado foi caldo Mueller Hinton + 2% e as substâncias foram avaliadas nas concentrações (µg/mL): 100; 60; 30; 15; 7,5; 3,75; 1,875; 0,938; 0,469; 0,234. Os ensaios foram realizados sobre leveduras padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Os microrganismos escolhidos são oportunistas e ou patogênicos.

Fungos: Leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Na avaliação da atividade antifúngica foi utilizado como controle positivo o antifúngico Fluconazol; solução salina (0,85%) e o solvente DMSO foi utilizado como controle negativo dos ensaios. A leitura dos resultados foi realizada após 24 h e 48 h de incubação. Os ensaios foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentadas as caracterizações e discussões dos resultados obtidos para o novo ligante e os complexos, a partir das técnicas descritas na metodologia.

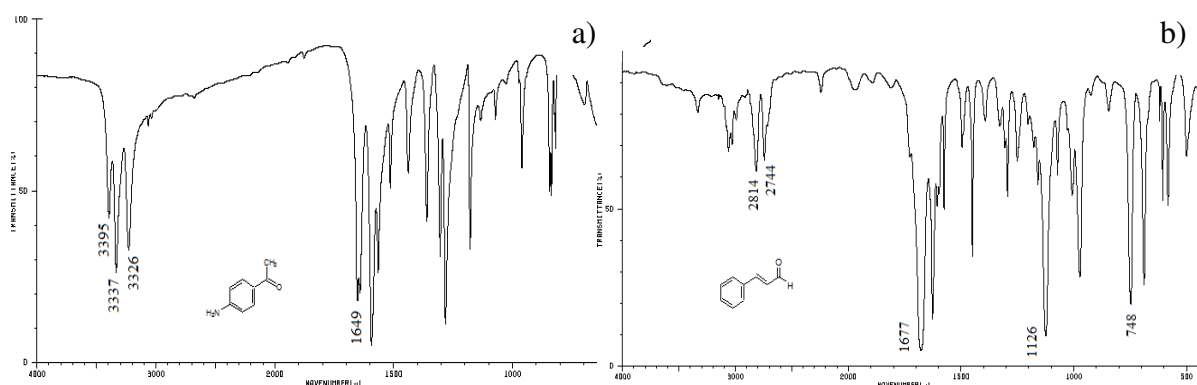
4.1 LIGANTE NITROGENADO Hfafa (L1)

A nova Base de Schiff (Hfafa) sintetizada apresenta coloração amarela com rendimento de 86%. Tem ponto de fusão bem definido em 130-134 °C. Com a análise desse dado, é possível elucidar que houve a formação de um novo composto, visto que o ponto de fusão encontrado se difere dos pontos de fusão dos reagentes de partida, 103 °C para o *p*-aminoacetofenona e -8 °C para o *trans*-cinamaldeído. O intervalo de fusão, para o composto obtido, dá indício que o mesmo está puro, pois apresenta temperatura constante durante o processo de fusão. Cristais não foram formados a partir das técnicas de cristalização. Apresentou alta solubilidade em acetona, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Pouco solúvel em metanol e etanol. $C_{24}H_{20}N_2O_2 = 249,31 \text{ g. mol}^{-1}$. Condutividade molar: 3,54 $\mu\text{S/cm}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 81,90 (81,54); H: 6,06 (6,19); N: 5,62 (5,29).

4.1.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho é um método espectroscópico de análise que fornece informações quanto aos grupos funcionais que estão presentes na estrutura das substâncias. O espectro obtido do ligante imínico foi comparado com os espectros dos reagentes precursores (Figura 16).

Figura 16 - Espectros dos precursores (a) 4-aminoacetofenona e (b) trans-cinamaldeído

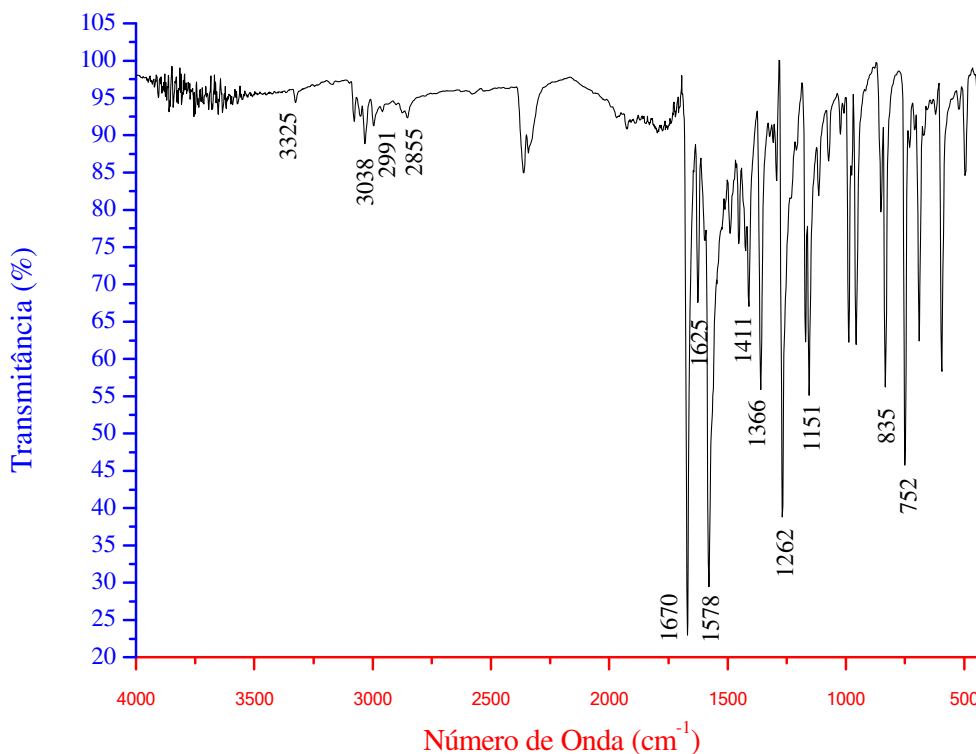


Fonte: http://www.aist.go.jp/index_en.html.

O espectro de absorção do reagente *p*-aminoacetofenona detectou-se bandas na região de alta frequência em 3396-3334 cm^{-1} referentes à ligação ν assimétrica e simétrica de (N-H), Figura 16 a. Na outra região espectral foi observado banda na região 1594 cm^{-1} que evidenciam o estiramento do grupo carboxílico $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$, Figura 16 b. Além destas, observam-se a conformação - *para* - que é caracterizada pela banda em 835 cm^{-1} atribuída ao $\delta(\text{C-H})$ do anel aromático. Analisando o espectro no IV do *trans*-cinamaldeído, observou-se banda na região de frequência menor em 748 cm^{-1} , atribuída ao modo vibracional de deformação angular $\delta(\text{C-H})$ característica de sistemas aromáticos mono-substituídos. Observa-se na região espectral o estiramento assimétrico da carbonila em 1677 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})$, característica do grupo carboxílico ainda presente na molécula.

Um modo vibracional importante que corrobora a formação do ligante é o $\nu(\text{C}=\text{N})$ do grupo imina, em 1578 cm^{-1} (MAURYA, 2015), é que esta banda está ausente no espectro dos reagentes precursores. O baixo valor da banda de vibração $\nu(\text{C}=\text{N})$ está relacionado à conjugação do grupo imínico ao anel aromático (KAYA, 2015). Estes dados indicam a síntese da Base de Schiff (Figura 17).

Figura 17 - Espectro na região do IV do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

O estiramento $\nu(\text{C-H})$ em 3062 cm^{-1} proveniente do anel aromático do *trans*-cinamaldeído e 3064 cm^{-1} para *p*-aminoacetofenona, tem valores semelhantes aos observados no espectro da imina sintetizada, que ocorreu em 3038 cm^{-1} . O grupo carboxílico $\nu(\text{C=O})$ aparece no comprimento de ondas de 1670 cm^{-1} para o ligante (Figura 17). A conformação – *para* – em 828 cm^{-1} do precursor *p*-aminoacetofenona, ainda é evidenciada em 835 cm^{-1} e a conformação mono substituída em 748 cm^{-1} do *trans*-cinamaldeído, também é observado no ligante sintetizado em 752 cm^{-1} . Estes dados sugerem a formação da espécie química sintetizada. Outra banda importante observada é na região de 3325 nm , é característica de overtone da carboxila. Overtone são bandas com valores de frequência correspondentes lineares das bandas fundamentais ou múltiplos das mesmas (AMENDOLA; GUTZ, 2007).

O espectro vibracional teórico também foi calculado, mas apenas para o ligante livre na fase gás. Esse resultado teórico pode ser comparado com o obtido pela espectroscopia de infravermelho. Na Tabela abaixo (Tabela 3) pode-se perceber a disparidade entre os valores obtidos pelos cálculos e pelo IV para as frequências de deformações e estiramentos presentes na estrutura do Hfafe (L1), mas de certa forma isso já era esperado. Os cálculos realizados consideravam a molécula no estado gasoso, no qual pode-se dizer que ela está mais livre e dispersa no gás, onde a chance dela realizar possíveis interações com outras moléculas que podem interferir na frequência de vibração é menor; o que é bem diferente do que ocorre no estado físico do composto no momento da análise de infravermelho. No estado sólido, as interações com as moléculas vizinhas, e a estrutura mais compacta que o composto apresenta nesse estado certamente influencia em sua sequência de vibração.

Tabela 3 – Valor teórico e experimental, em cm^{-1} , para as frequências de deformação e estiramento do ligante Hfafe (L1)

| Hfafe (L1) | Teórico | Experimental |
|---|---------|--------------|
| $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2996 | 2991 |
| $\nu_{\text{s}}(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 2860 | 2855 |
| $\nu(\text{C=O})$ | 1676 | 1670 |
| $\nu(\text{C=N})$ | 1580 | 1578 |
| $\nu(\text{C-N})$ | 1188 | 1179 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 844 | 835 |
| $\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | 756 | 752 |

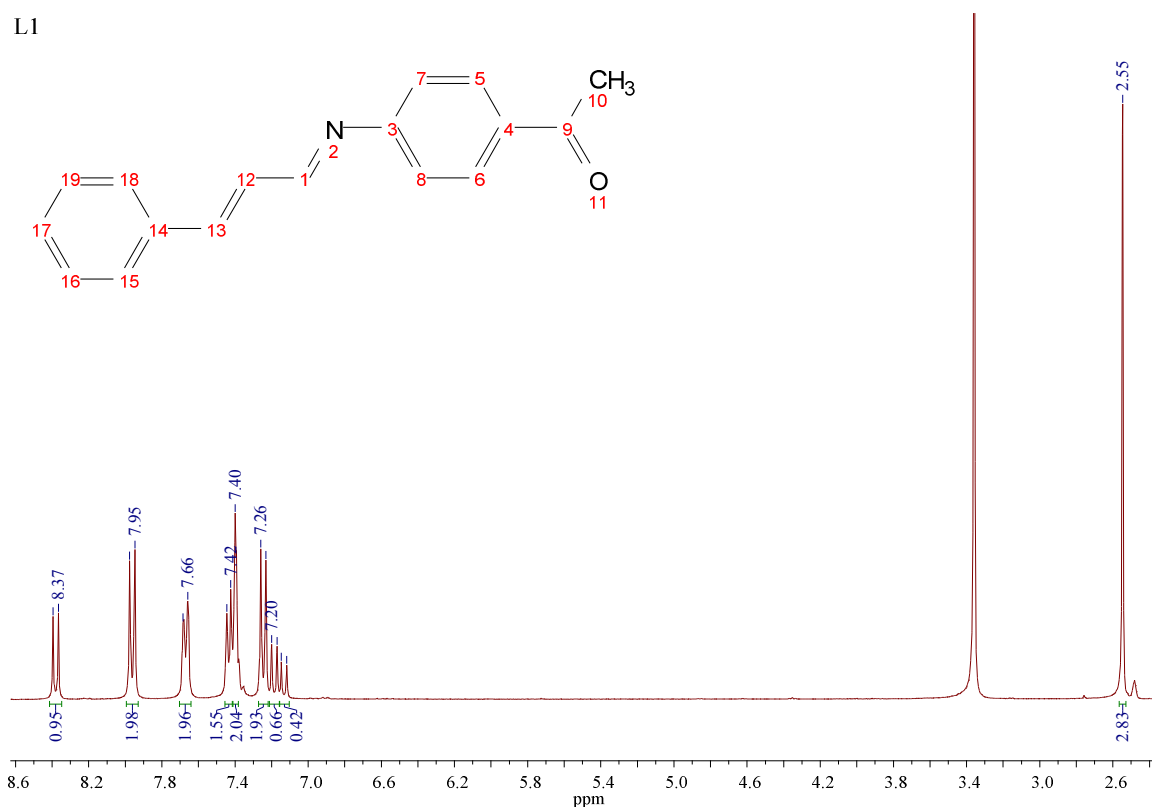
Fonte: Do Autor.

Se analisarmos a variação das frequências de vibração, percebe-se que os valores obtidos tanto na teoria como na parte experimental são bem próximos, corroborando assim a proposta do ligante.

4.1.2 Espectroscopia de RMN de ^1H

Para ^1H , espera-se que quanto maior a blindagem do átomo, menor é o valor de δ (sinal mais perto daquele atribuído ao padrão TMS). No espectro do L1, em CDCl_3 , o sinal singlete em 2,37 ppm refere-se aos hidrogênios presente na metila ligada a carbonila (DAYAN, 2015). O sinal em 8,38 ppm é atribuído ao hidrogênio pertencentes ao carbono do $\text{C}=\text{N}$, característico de iminas ou bases de Schiff por este ser o mais desblindado. (PATTANAYAK, 2015). Na Figura 18, observa-se que os sinais estão de acordo com os descritos na literatura (SILVERSTEIN, 2007).

Figura 18 – Espectro de RMN de ^1H do Hfafe (L1)

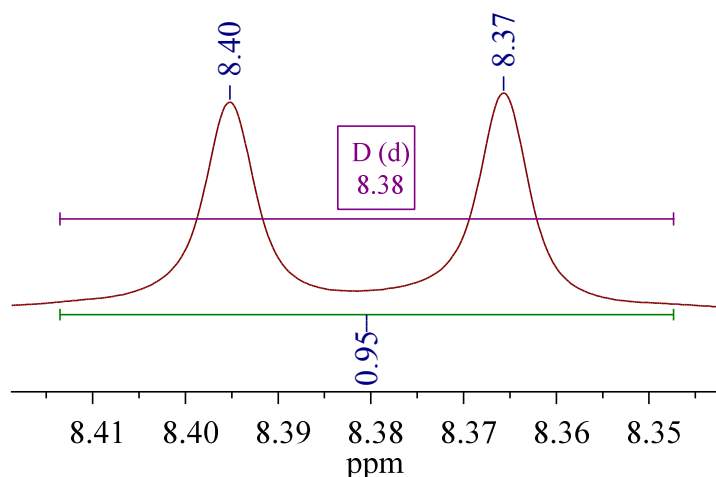


Legenda: Solvente (CDCl_3)

Fonte: Do Autor.

Mas, é bom ressaltar a característica apresentada nos sinais deste ligante, pois estes apresentam duplicidade nos hidrogênios presentes nos alquenos da molécula (Figura 19). Isto ocorre, devido à ligação vicinal do hidrogênio estar em ambientes químicos muito diferentes. Cada hidrogênio corresponde a uma absorção e o spin de cada um será afetado pela orientação do outro hidrogênio, o que faz com que cada absorção apareça como um dubleto.

Figura 19 – Ampliação do sinal no espectro de RMN de ^1H do Hfafe (L1)

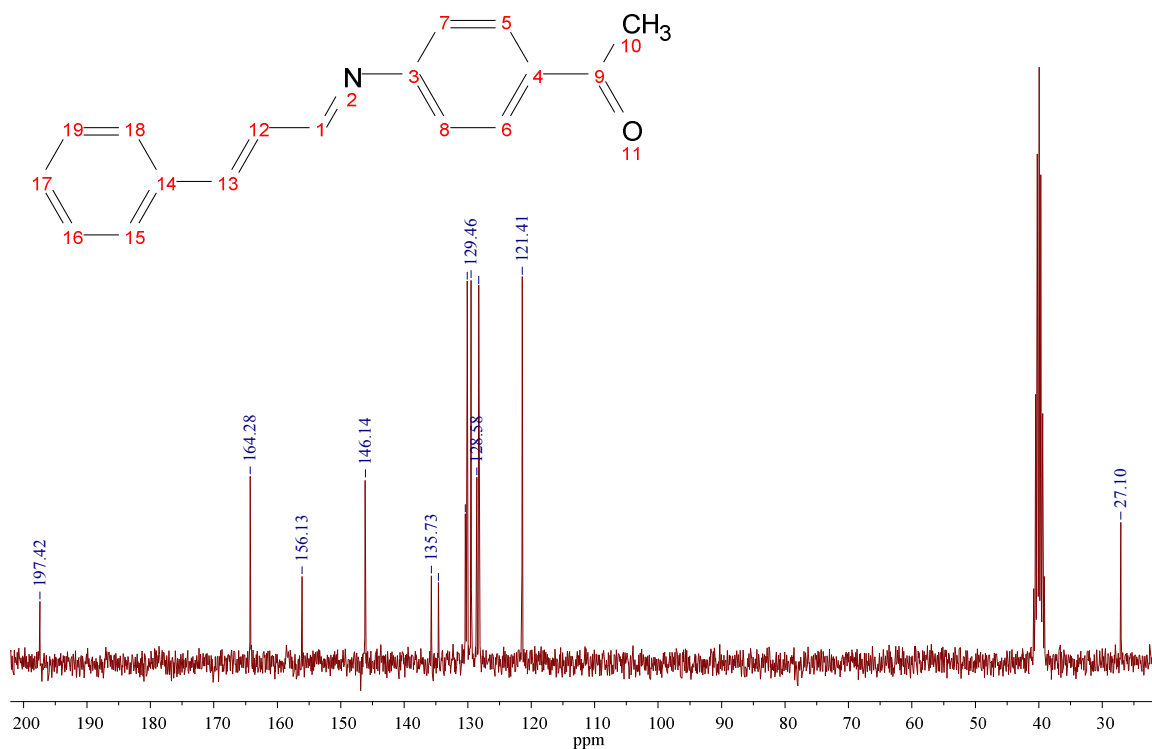


Fonte: Do Autor.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) do ligante imínico está de concordância com os sinais listados na literatura (SILVERSTEIN, 2007). O sinal em 27,10 ppm é proveniente do carbono mais blindado, o da metila. E o deslocamento químico em 197,42 ppm é atribuído ao carbono na carbonila, que na molécula é a mais desblindado. Os outros sinais são referentes aos alquenos e ao anel aromático.

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C do Hfafe (L1)

L1

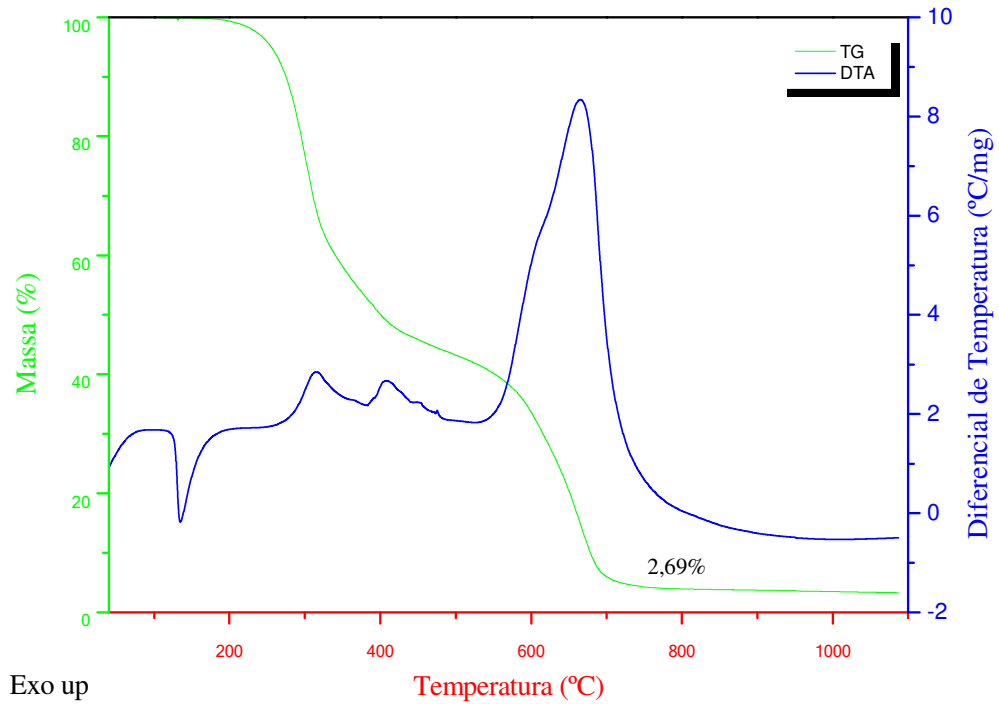


Fonte: Do Autor.

4.1.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Com o intuito de estudar o comportamento frente ao aquecimento do ligante imínico Hfafe, realizaram-se curvas TG-DTA. A análise da Figura 18 revela que o ligante imínico por apresentar C, H, O e N, termodecompõem totalmente em água, gás carbônico e óxidos de nitrogênio, por isto, a ausência de resíduo sólido era esperada. O resíduo final de 2,69% estão dentro do erro instrumental e não pode ser considerado significativo. O estudo da decomposição térmica realizado para o ligante imínico Hfafe, em atmosfera de ar sintético, também está de acordo com a estrutura apresentada (Figura 21). Cabe ressaltar que a DTA nos mostra em aproximadamente 136 °C um pico relacionado a mudanças físicas, pois como se pode ver não ocorreu perda de massa, sendo indício do ponto de fusão do ligante.

Figura 21 - Curva TG-DTA do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

A Tabela 4 mostra as etapas de decomposição do ligante imínico Hfafa.

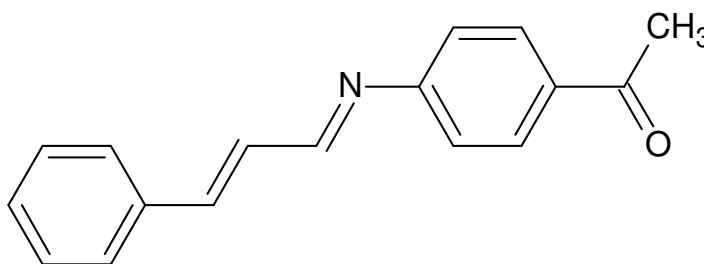
Tabela 4 - Dados da Análise Térmica do ligante Hfafa (L1)

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------|--------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| L1 | 1 | 183 – 338 | - 39,35 | - 37,34 | - | 316 |
| 11,8910 mg | 2 | 338 – 814 | - 56,40 | - 60,47 | - | 665 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmico.

Fonte: Do Autor.

Figura 22 – Estrutura proposta do ligante imínico Hfafa (L1)



Fonte: Do Autor.

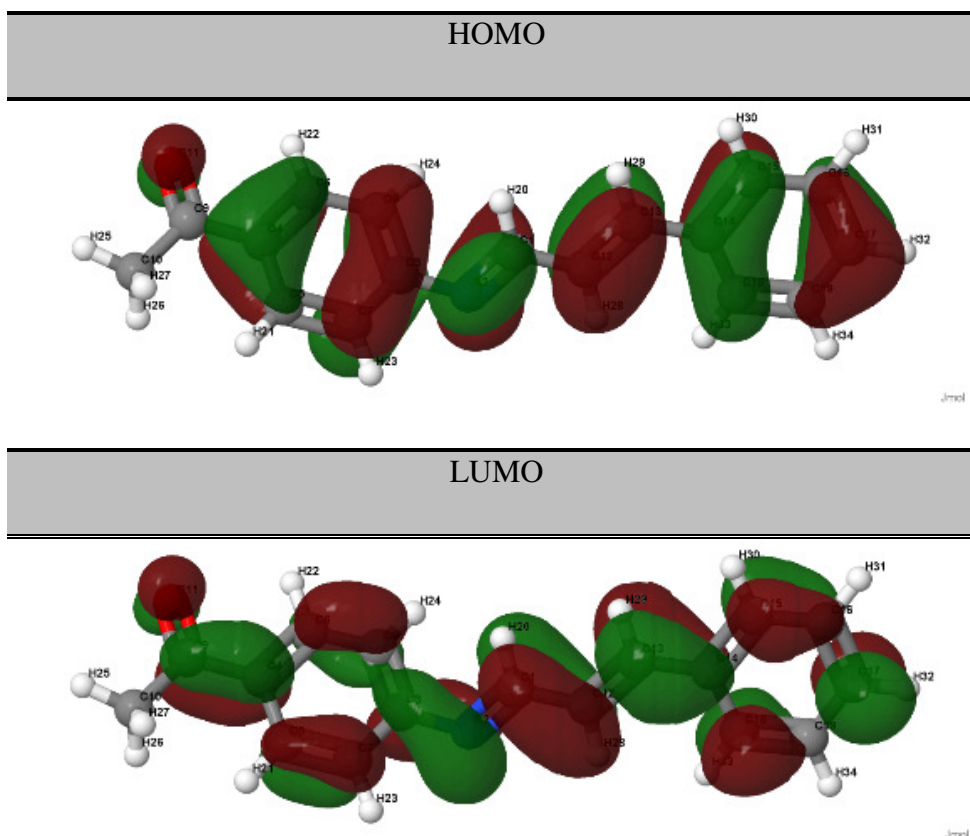
4.1.4 Cálculos DFT

A teoria do funcional da densidade (do inglês, DFT: Density Functional Theory) (HOHENBERG; KOHN, 1964; KOHN; SHAM, 1965) pode ser vista como uma reformulação da mecânica quântica baseada, não em funções de onda, mas no conceito de densidade eletrônica. A técnica consiste em um sistema quântico de muitos corpos, a densidade eletrônica tem um papel central: “a densidade pode ser considerada como variável básica, ou seja, todas as propriedades do estado fundamental do sistema podem ser consideradas como funcional único da densidade eletrônica”.

De acordo com a teoria orbital molecular de fronteira, a formação de um estado de transição é devida a uma interação entre HOMO e LUMO de reagentes (CAMPOS, 2014). O HOMO é o orbital mais externo ou contendo elétrons, que pode atuar como um doador de elétrons e possui o mais alto nível de energia. Pelo contrário, o LUMO é o orbital que pode aceitar o elétron porque é o orbital mais interno e tem um espaço vazio. Geralmente, o HOMO e LUMO têm uma relação direta com o potencial de ionização e a afinidade eletrônica de uma molécula orgânica. A carga de energia é um índice de estabilidade importante, pois uma molécula com uma carga de energia baixa é mais polarizável e geralmente está associada à alta atividade química e baixa estabilidade cinética. É bem conhecido que baixos valores absolutos da banda de energia fornecem boas eficiências de inibição, porque o potencial de ionização será baixo devido à energia necessária para remover um elétron do orbital ocupado externo será baixo (CAMPOS, 2014).

A modelagem computacional foi importante para confirmar as proposições feitas em relação à estrutura do composto (C1). A Figura 23 mostra os níveis de energia HOMO e o LUMO para a base de Schiff (L1) (ZACARIA, 2016).

Figura 23 – Orbitais Moleculares de fronteira HOMO/LUMO do Hfafa (L1)



Legenda: A cor vermelha (verde) representa valores negativos (positivos)

Fonte: Do Autor.

As investigações das energias HOMO e LUMO do ligante (L1) são baixas e negativas. Quanto menor a energia HOMO-LUMO, mais fácil é para transferência de carga ocorra intramolecular, melhorando assim as interações causadas pela transferência de carga (ACAR; SELÇUKI; COŞKUN, 2017). Analisando os dados da Tabela 5, observamos que o átomo que apresenta a menor carga são os átomos de N e O. Estes são os átomos na molécula com maior afinidade para coordenar com o metal. Valendo-se da Teoria de Pearson para a classificação

de ácidos e bases de Lewis, o íon Pd^{2+} é classificado como um ácido macio, por esse fato, a coordenação do metal ao ligante (L1) é favorecida pelo átomo de nitrogênio (base macia) do que o átomo do oxigênio (Base dura).

Tabela 5 - Fator de normalização da integral da densidade de elétrons

| Átomo | Carga | Volume (Bohr) |
|---------|-----------|---------------|
| 1 (C) | 0.712580 | 63.567 |
| 2 (N) | -1.194741 | 119.437 |
| 3 (C) | 0.371288 | 62.239 |
| 4 (C) | -0.051477 | 74.404 |
| 5 (C) | -0.023253 | 82.193 |
| 6 (C) | -0.001871 | 81.074 |
| 7 (C) | -0.009260 | 83.456 |
| 8 (C) | -0.029344 | 83.245 |
| 9 (C) | 1.022205 | 48.471 |
| 10 (C) | -0.034311 | 71.429 |
| 11 (O) | -1.145025 | 132.157 |
| 12 (C) | -0.017812 | 83.816 |

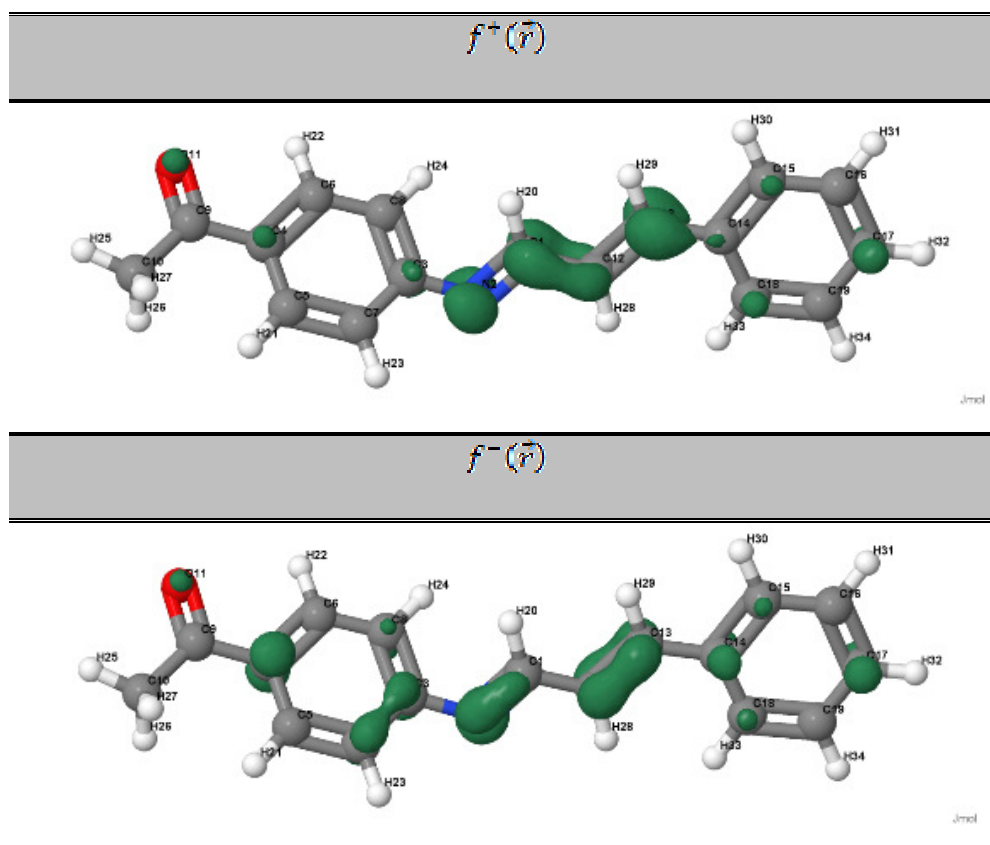
Fonte: Do Autor.

Podemos observar que as funções HOMO e o LUMO estão distribuídos entre os carbonos dos anéis aromáticos e do átomo de nitrogênio. Entretanto, as funções de Fukui que fornecem informações sobre ataques nucleofílicos e eletrofílicos demonstram que os carbonos com maior potencial de ionização e, conseqüentemente, mais nucleofílicos são os localizados na posição em que não é permitida quelação de cinco membros, sendo esta, portanto, uma

Resultados e Discussões

justificativa plausível para a não ocorrência da ciclometalação. O resultado está ilustrado na Figura 24.

Figura 24 – Diagrama das funções de Fukui para ataque nucleofílico ($f^+(\vec{r})$) e eletrofílico ($f^-(\vec{r})$)



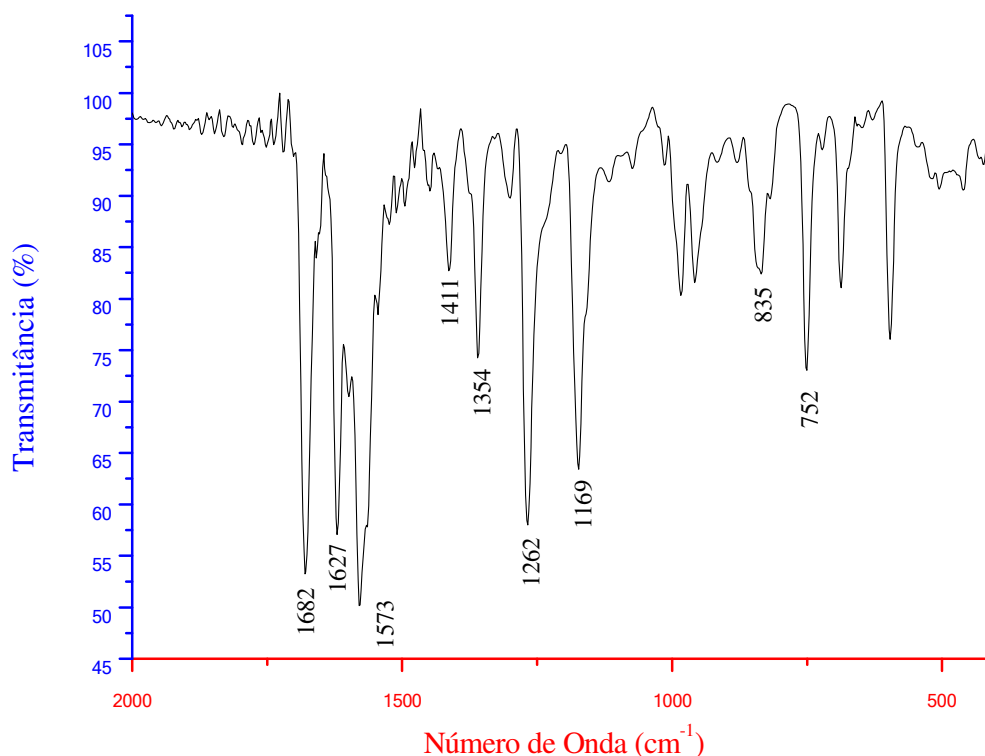
Fonte: Do Autor.

4.2 COMPLEXO $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

O complexo foi sintetizado na proporção estequiométrica 1:1. A síntese produziu um sólido de cor laranja, rendimento de 87%. Esse composto apresentou baixa solubilidade em metanol, acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, THF e DMSO. Insolúvel em água e etanol. O ponto de decomposição ocorreu em 230 °C. $[\text{PdCl}_2(\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO})_2] = 675,94 \text{ g.mol}^{-1}$. Condutividade molar = $3,58 \mu\text{S.cm}^{-1}$. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 60,42 (61,10); H: 4,47 (5,23); N: 4,14 (5,53); Pd: 15,74 (17,74).

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região IV

Através da análise do espectro de absorção na região do IV (Figura 25), verificou-se que um grande número de bandas é derivado do ligante orgânico coordenado ao átomo de paládio. Com a complexação do paládio ao grupamento nitrogenado do ligante orgânico, é esperado um deslocamento da banda de $\nu(\text{C}=\text{N})$ do ligante para região de maior energia, pois como o Pd(II) age como um retirador de densidade eletrônica, esta é deslocada para a formação da ligação coordenativa. Isso acarreta um enfraquecimento na ligação C=N, fazendo com que seu estiramento ocorra em menores frequências e, conseqüentemente, menores números de onda (NAKAMOTO, 1986). Com a complexação do metal ao ligante imínico observa-se no espectro infravermelho do complexo bandas referentes ao grupamento imina, $\nu(\text{C}=\text{N})$, em 1573 cm^{-1} , que no ligante de partida era observado em 1578 cm^{-1} . O deslocamento da banda evidencia que o ambiente químico do grupamento imínico sofreu mudanças provavelmente ao coordenar-se ao centro metálico através de uma nova ligação coordenada. Ainda cabe ressaltar que as bandas referentes ao anel aromático *para*-substituído e ao anel *mono*-substituído se mantêm presentes em 835 cm^{-1} e 752 cm^{-1} , respectivamente.

Figura 25 - Espectro na região de IV do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

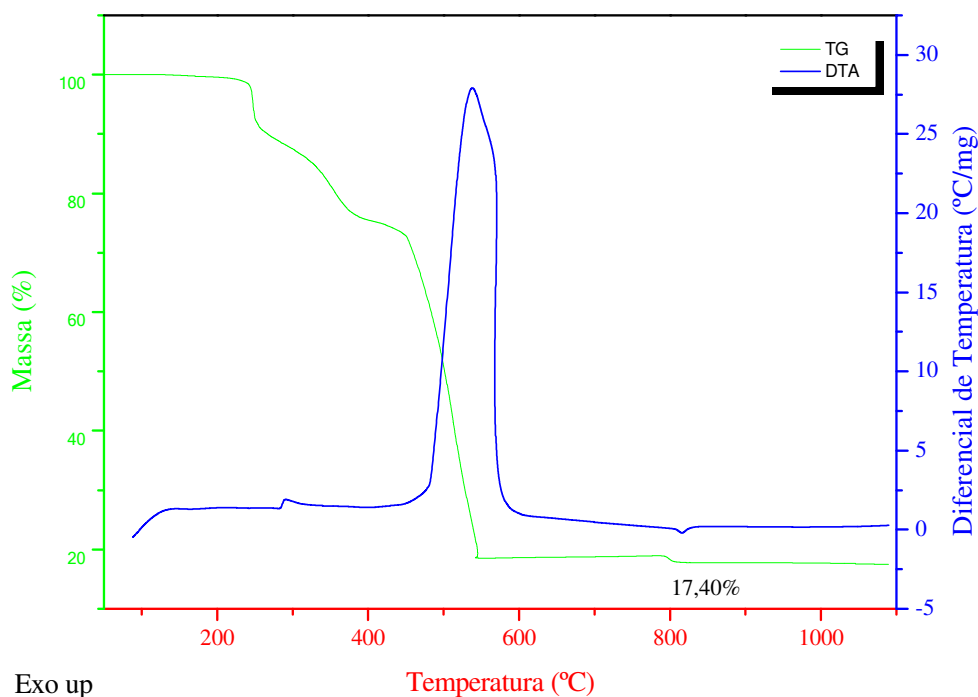
4.2.2 Espectroscopia de RMN

A análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear não foi possível de ser realizado para os complexos $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{Hfafa})_2]$ (C3) e do $[\text{PdI}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C5). Pois, estes não apresentaram solubilidade suficiente nos solventes clorofórmio (CDCl_3), acetonitrila (CD_3CN), acetona ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) e DMSO (DMSO-d₆) deuterados para a realização destes.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Para o complexo (C1), na faixa de 204–261 °C ocorre a perda da parte referente aos haletos cloro. Entre 261–372 °C observa-se a perda da parte de dois carbonil (CH_3CO). A próxima perda na faixa de 372–449 °C é referente aos dois nitrogênios e na sequência na faixa de 449–544 °C têm-se a perda do restante da molécula ($\text{C}_{30}\text{H}_{24}$) que compõe a parte orgânica. Entre 544–783 °C observa-se que ocorre um aumento de massa na curva da TG com DTA constante. Isto pode ser atribuído a incorporação de oxigênio, visto que a atmosfera utilizada é de ar sintético, o que indica ter ocorrido à oxidação do metal presente na estrutura (MORO, 2007). Outra informação que elucida bem a oxidação-redução é que na faixa de 783 – 865 °C, exatamente na temperatura de 802 °C ocorre um evento endotérmico proveniente de reação de redução (Figura 26).

Figura 26 - Curva TG-DTA do complexo de $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafe})_2]$ (C1)



Fonte: Do Autor.

Resultados e Discussões

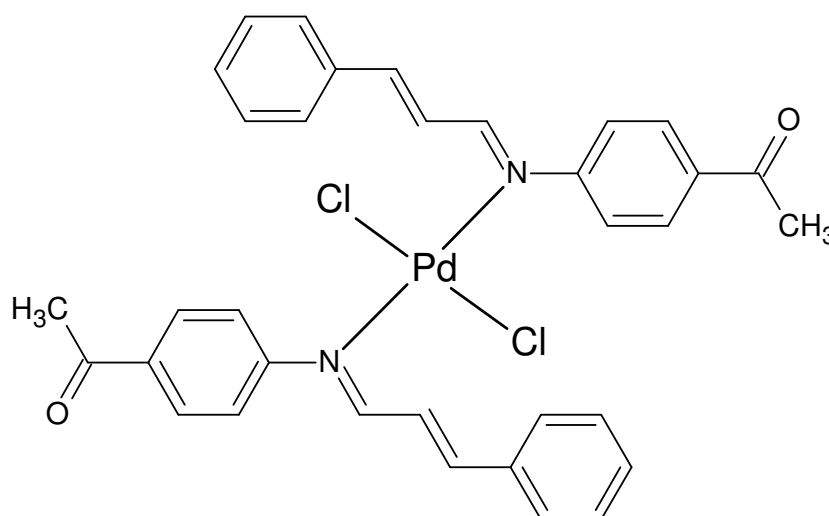
Tabela 6 - Dados da Análise Térmica para o $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ C1

| Composto | Etapas | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | |
|------------------|---------|---------------------------|---------------|---------|-----------------------------|-----|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C1 10,0070 mg | 1 | 204 – 261 | - 9,06 | - 10,48 | - | 252 |
| | 2 | 261 – 372 | - 13,00 | - 12,73 | - | - |
| | 3 | 372 – 449 | - 4,52 | - 5,07 | - | - |
| | 4 | 449 – 544 | - 54,29 | - 56,88 | - | 511 |
| | 5 | 544 – 783 | + 0,39 | + 0,25 | - | - |
| | 6 | 783 – 865 | - 1,22 | - 2,36 | 803 | - |
| | Resíduo | - | 17,40 | 15,74 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo – Pd°

Fonte: Do Autor.

A caracterização deste complexo nos leva a propor a estrutura abaixo:

Figura 27 – Estrutura proposta do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C1)

Fonte: Do Autor.

4.3 COMPLEXOS DE SUBSTITUIÇÃO $[PdX_2(Hfafa)_2]$, SENDO X = N_3 (C2), SCN (C3), BR (C4) E I (C5)

Todos os compostos apresentaram estabilidade a luz e a umidade. Foram realizadas as substituições do haleto Cl^- do complexo $[PdCl_2(Hfafa)_2]$ (C1) pelos pseudohaletos N_3^- e SCN^- , e os haletos Br^- e I^- . Os novos complexos $[Pd(X)_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) apresentaram ponto de decomposição em 152 °C, 192 °C, 174 °C e 205 °C, respectivamente. Apresentando rendimento, solubilidade e análise elementar descrito na Tabela 7 abaixo:

Tabela 7 – Resultados de rendimento, análise elementar e condutividade elétrica dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)

| Compostos | Rendimento (%) | CHN | | | Condutividade Elétrica ($\mu S.cm^{-1}$) |
|-----------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|--|
| | | C % enc. (calc.) | H % enc. (calc.) | N % enc. (calc.) | |
| C2 | 55 | 57,95 (59,26) | 4,81 (4,39) | 14,16 (16,26) | 4,41 |
| C3 | 28 | 60,66 (59,95) | 4,98 (4,19) | 6,27 (7,77) | 3,45 |
| C4 | 44 | 52,06 (53,39) | 4,03 (3,95) | 3,31 (3,66) | 4,24 |
| C5 | 67 | 49,76 (47,55) | 3,99 (3,52) | 4,44 (3,26) | 4,07 |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado

Fonte: Do Autor.

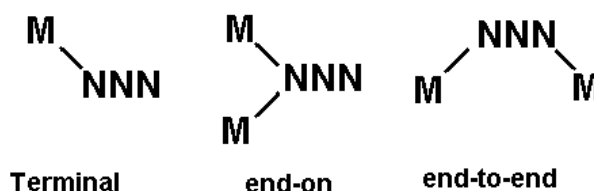
4.3.1 Espectroscopia vibracional na região IV

A investigação estrutural requer o emprego de técnicas que possibilitem inferir sobre as moléculas presentes na espécie em estudo por conseguir identificar certos grupos funcionais e o modo de coordenação dos ligantes. Com estas finalidades empregou-se a

espectroscopia de absorção no infravermelho para amostras no estado sólido; esta técnica permitiu identificar com clareza compostos contendo pseudohaletos, já que estes ligantes possuem três modos vibracionais ativos no infravermelho.

O estiramento assimétrico ocorre em uma região ampla e limpa do espectro, entre 2000 cm^{-1} e 2270 cm^{-1} , na qual há a ausência de bandas de outros ligantes, possibilitando diagnosticar os modos de coordenação dos pseudohaletos (NAKAMOTO, 1998). Os complexos contendo azida possuem três modos vibracionais: o estiramento assimétrico (ν_{as}), o estiramento simétrico (ν_s) e a deformação angular (δ). Podem coordenar ao metal de forma terminal, também pode se coordenar em ponte entre dois centros metálicos pelo mesmo átomo de nitrogênio, modo de coordenação *end-on*. Ainda pode se coordenar como ligante em ponte entre dois centros metálicos, por dois átomos de nitrogênio, modo de coordenação *end-to-end* (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). A Figura 28 apresenta os principais modos de coordenação da azida.

Figura 28 - Modos de coordenação mais comuns a azida



Fonte: Santana, 2004, 52 p.

A banda característica da presença da azida no complexo C2 é evidenciada na região de 2017 cm^{-1} (Figura 29). Segundo Nakamoto (1986), frequências abaixo de 2050 cm^{-1} são características de grupos azida coordenados de forma *N-terminal* (Tabela 8).

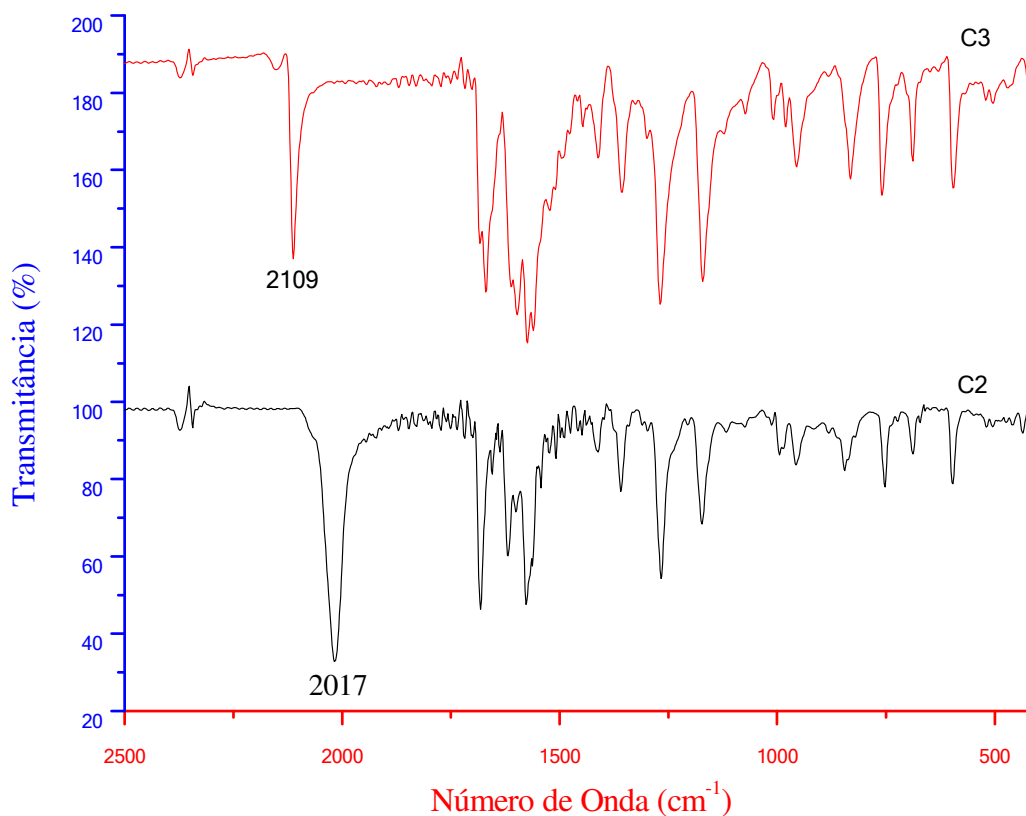
Tabela 8 - Principais modos vibracionais dos pseudohaletos N_3 e SCN

| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(N_3)$ | $\nu_s(N_3)$ | $\delta(NNN)$ |
|------------------------------|-----------------|--------------|---------------|
| NNN^- | 2041 | 1344 | 645 |
| N-terminal | 2050-2010 | 1304-1285 | 590-570 |
| end-on | 2080-2050 | 1290-1200 | 570-550 |
| end-to-end | 2100-2080 | 1290-1200 | 570-550 |
| $[Pd(N_3)_2(Hfaffe)_2]$ (C2) | 2017 | 1278 | - |
| Modo de Coordenação | $\nu_{as}(SCN)$ | $\nu_s(SCN)$ | $\delta(SCN)$ |
| SCN^- | 2053 | 746 | 486 |
| N-terminal | 2100-2050 | 870-820 | 490-450 |
| S-terminal | 2125-2100 | 760-700 | 440-400 |
| end-to-end | 2165-2100 | 800-750 | 470-440 |
| $[Pd(Hfaffe)(SCN)]_2$ (C3) | 2109 | - | - |

Fonte: Do Autor.

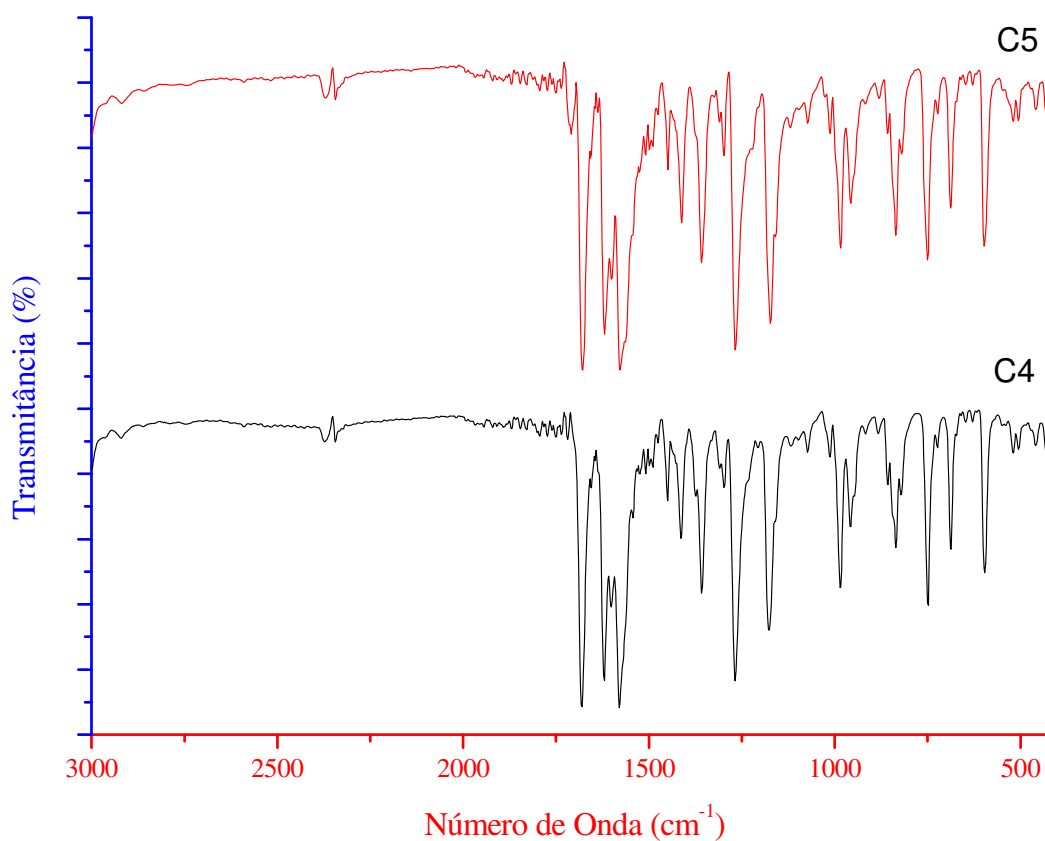
Resultados e Discussões

Figura 29 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3)



Fonte: Do Autor.

Os modos vibracionais do pseudohaleta SCN, além de apresentar três modos vibracionais ativos no infravermelho, o íon tiocianato pode se coordenar ao metal através do átomo de enxofre, nitrogênio ou por ambos, sendo predominante a coordenação pelo átomo de enxofre (NAKAMOTO, 1986; MEGURO et. al., 2008). A coordenação do grupo tiociano ao átomo de Pd(II) é evidenciada pelo aparecimento das bandas de estiramento $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$ na região de 2109 cm^{-1} (Figura 29). A banda do tiocianato no complexo C3 evidencia a coordenação do ligante ao metal no modo *S-terminal* (Tabela 8).

Figura 30 - Comparação entre os espectros no IV dos compostos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfufe})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfufe})_2\text{I}_2]$ (C5)

Fonte: Do Autor.

As substituições do haleto Cl^- pelos haletos Br^- e I^- , não são evidenciadas no espectro de infravermelho, pois as vibrações da ligação Pd-Br e Pd-I não são observadas na região de 4000-400 cm^{-1} (Figura 30). Para melhor explanação dos resultados dos espectros no infravermelho, foram dispostos na Tabela 9, os principais modos vibracionais.

Tabela 9 - Principais modos vibracionais das ligações formadas com H

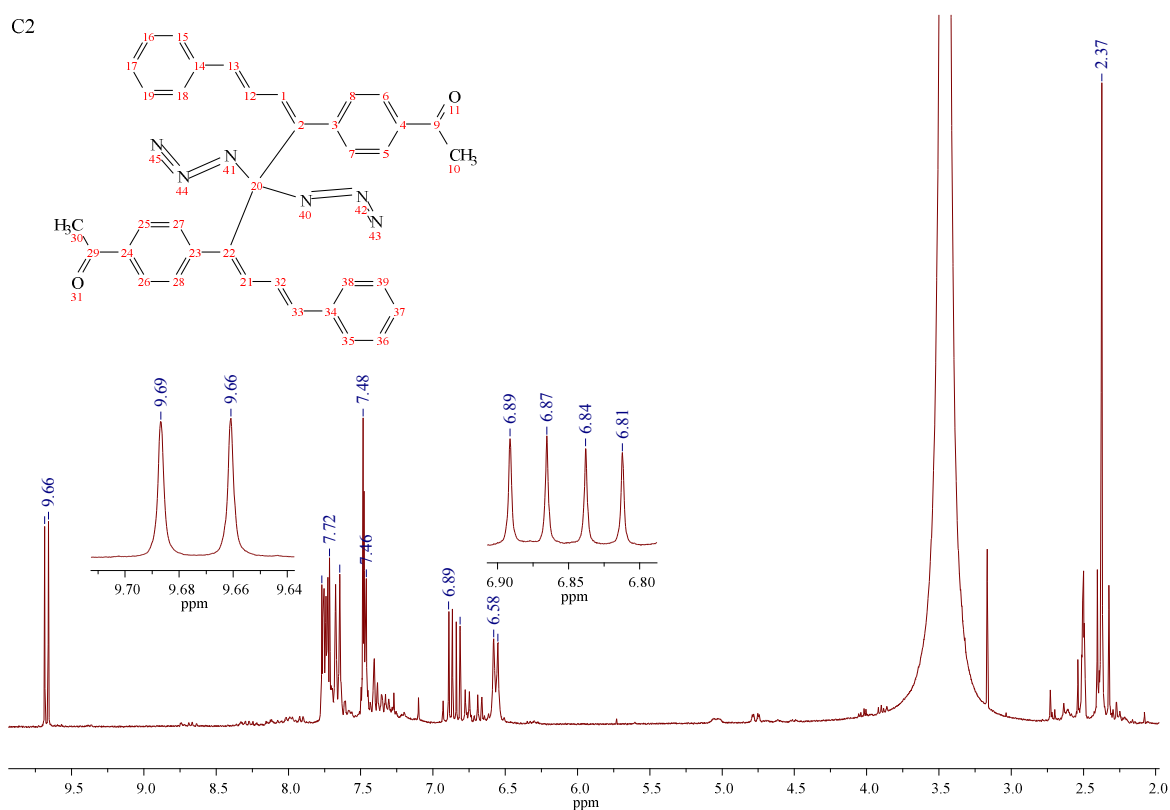
| Compostos | $\nu(\text{C}=\text{O})$ | $\nu(\text{C}=\text{N})$ | $\nu(\text{C}=\text{C})$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar1}}$ | $\delta(\text{C-H})_{\text{ar2}}$ |
|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| L1 | 1670 | 1578 | 1625-1411 | 835 | 752 |
| C1 | 1682 | 1573 | 1627-1411 | 835 | 752 |
| C2 | 1681 | 1573 | 1618-1411 | 837 | 752 |
| C3 | 1667 | 1573 | 1597-1408 | 832 | 752 |
| C4 | 1680 | 1576 | 1620-1412 | 830 | 754 |
| C5 | 1680 | 1572 | 1615-1412 | 830 | 748 |

* ν = estiramento, δ = deformação, *ar.* = aromático.

Fonte: Do Autor.

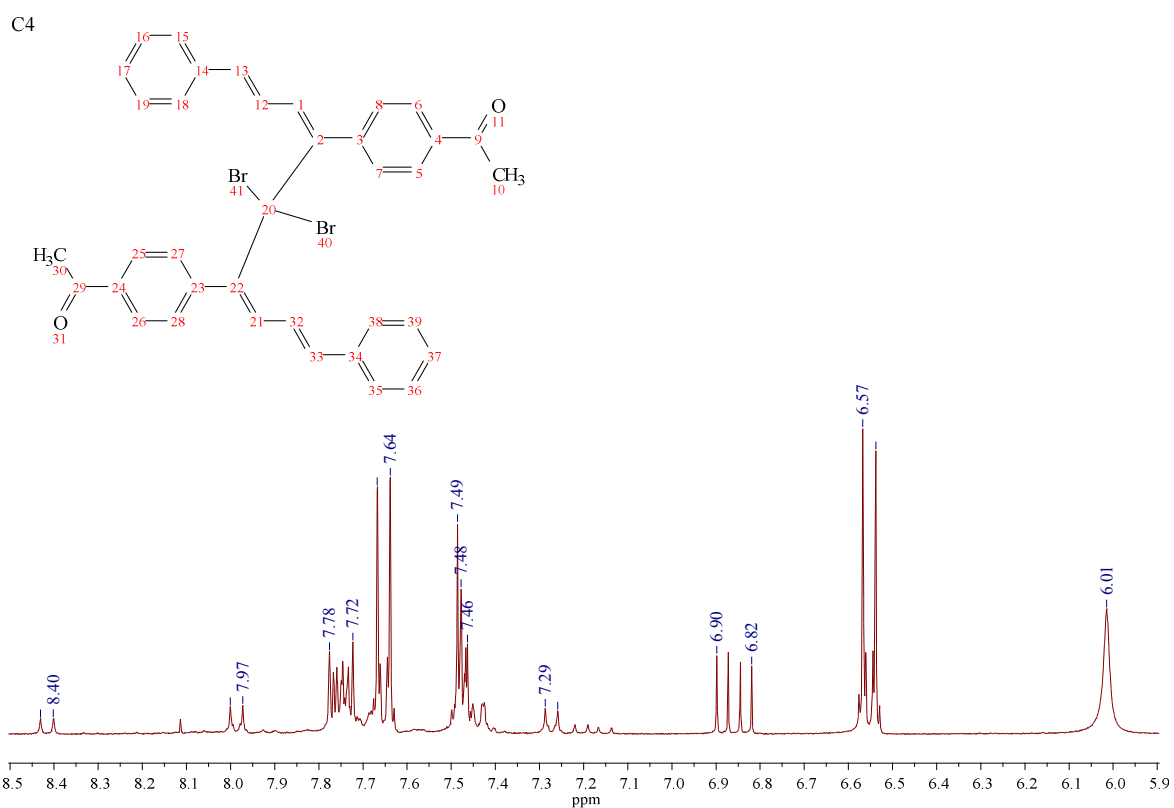
4.3.2 Espectroscopia de RMN

Os espectros de ^1H RMN dos compostos mostram as permanências dos sinais do ligante orgânico. Além disso, na região aromática observam-se séries complicadas de multipletos além da preservação dos picos principais, mostrando modificações nos anéis aromáticos (Figura 31).

Figura 31 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

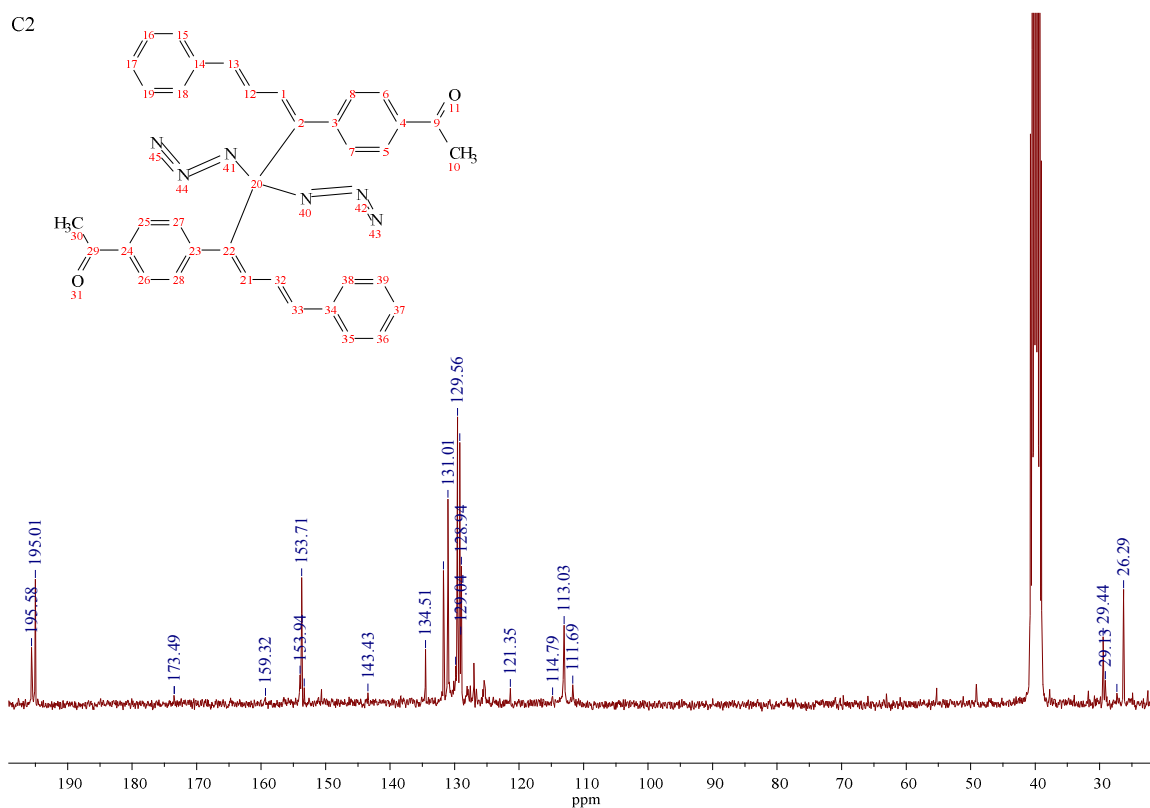
Fonte: Do Autor.

No espectro de RMN para próton, observa-se que não ocorre deslocamento químico dos prótons presentes na estrutura. Isso corrobora a proposta da estrutura que o Pd(II) não está ciclometalado ao ligante. Esta observação também é feita para o espectro do complexo contendo Br^- (Figura 32).

Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

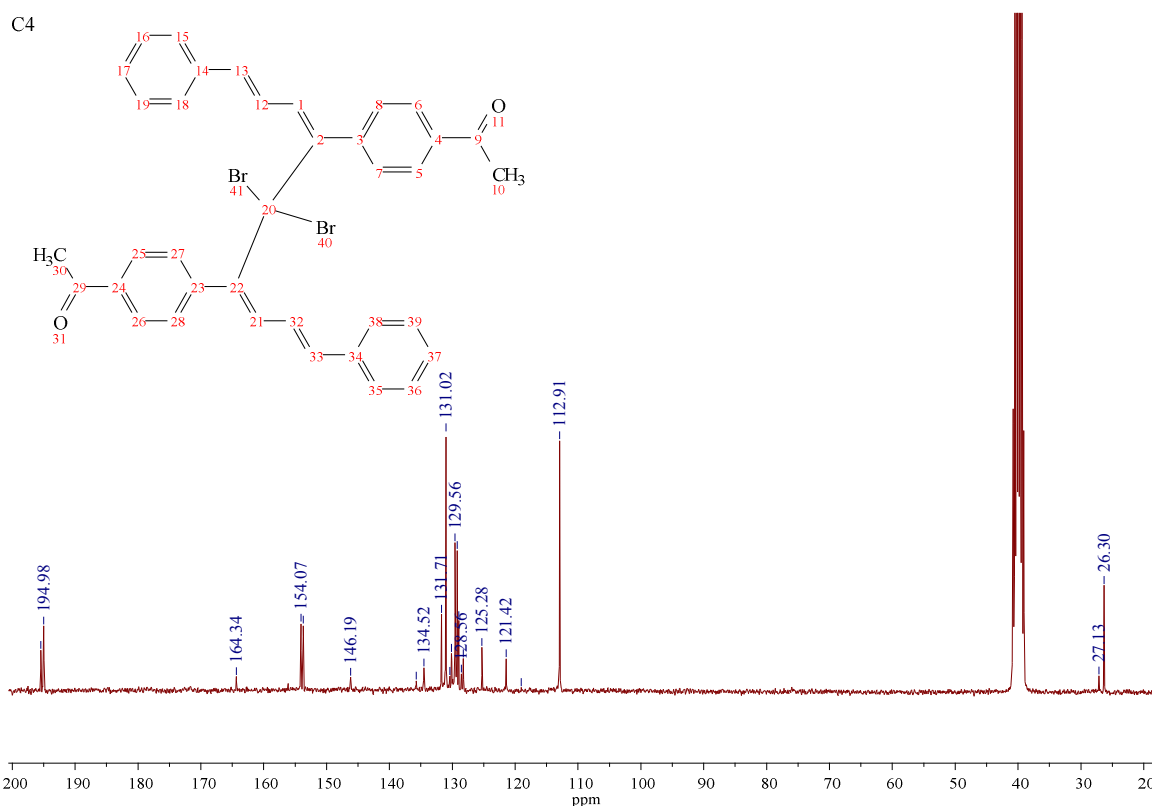
Fonte: Do Autor.

Nos espectros de RMN ^{13}C (Figura 33), os picos principais do ligante permanecem na estrutura dos complexos, pois se observa deslocamento dos valores dos sinais do carbono.

Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2)

Fonte: Do Autor.

A análise do espectro de RMN ^{13}C revela mudanças significativas em relação ao espectro do ligante livre, que corroboram a proposta de coordenação entre os nitrogênios das iminas e o íon metálico (Figura 34). O deslocamento da banda referente ao carbono da imina de 164,31 ppm no ligante livre para 194,98 ppm indica que esse carbono foi fortemente desblindado. Como já discutido, a coordenação com o metal desloca densidade eletrônica para a formação da ligação coordenativa.

Figura 34 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4)

Fonte: Do Autor.

4.3.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTA)

Um resumo dos principais dados obtidos a partir das curvas TG/DTA dos compostos $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5) estão demonstrado na Tabela 10. Estes compostos não apresentaram o mesmo padrão para todos os complexos. Pois, o complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ (C2), na primeira etapa de termodecomposição em 151 – 167 °C tem-se uma perda brusca de 54% referente a massa total. E o estudo térmico deste composto nos mostra que não ocorre o ganho de massa, como observado nos complexos em estudo. Entretanto, é possível observar na DTA um pico endotérmico em 806 °C, que é evidência de oxiredução do metal Pd. Este mesmo comportamento é observado para o complexo $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2(\text{SCN})_2]$ (C3), que na curva TG não apresenta ganho na massa, mas a sua DTA apresenta um pico endotérmico em 802 °C.

Resultados e Discussões

Tabela 10 - Dados da Análise Térmica para os complexos de substituição

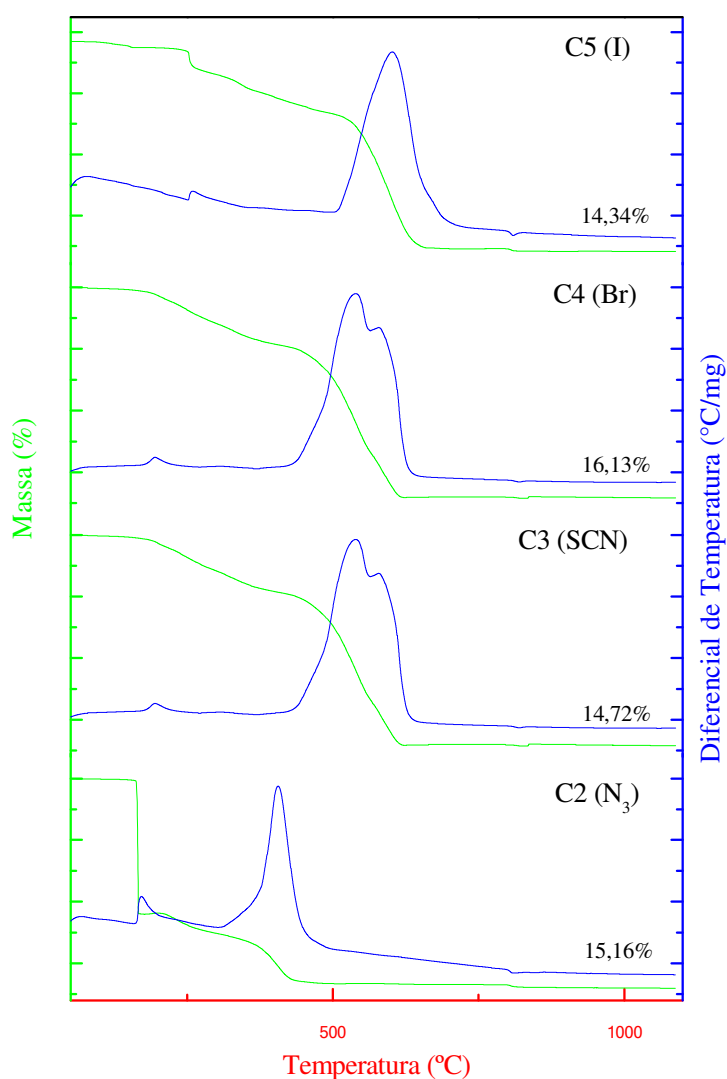
| Composto | Etapas | $\Delta T/^{\circ}\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^{\circ}\text{C}$ | |
|------------------|---------|-----------------------------|---------------|----------|-------------------------------|-----------|
| | | | Enc. | Calc. | Endo | Exo |
| C2 8,3880 mg | 1 | 151 – 167 | - 54,61 | - 54,25 | - | - |
| | 2 | 167 – 290 | - 7,55 | - 8,41 | - | 169 |
| | 3 | 290 – 786 | - 20,63 | - 20,42 | - | 405- |
| | 4 | 786 – 920 | - 1,74 | - 1,56 | 806 | - |
| | Resíduo | - | 15,16 | 14,72 | - | - |
| C3 12,2250 mg | 1 | 133 – 387 | - 20,70 | - 19,96 | - | 195 |
| | 2 | 387 – 998 | - 63,92 | - 65,25 | - | 538 – 579 |
| | Resíduo | - | 14,72 | 14,76 | - | - |
| | | | | | | |
| C4 11,5670 mg | 1 | 152 – 249 | - 16,86 | - 11,25 | - | 260 |
| | 2 | 249 – 363 | - 11,64 | - 20,89 | - | - |
| | 3 | 363 – 603 | - 50,80 | - 53,93 | - | 609 |
| | 4 | 603 – 803 | + 0,25 | + 0,52 | - | - |
| | 5 | 803 – 872 | - 2,00 | - 2,09 | 818 | - |
| | Resíduo | - | 16,13 | 13,91 | - | - |
| C5 8,2460 mg | 1 | 176 – 322 | - 9,32 | - 10,02 | - | 258 |
| | 2 | 322 – 381 | - 13,01 | - 14,77 | - | - |
| | 3 | 381 – 540 | - 64,03 | - 62, 80 | - | 600 |
| | 4 | 540 – 786 | + 0,70 | + 0,93 | - | - |
| | 5 | 786 – 888 | - 1,15 | - 1,862 | 811 | - |
| | Resíduo | - | 14,34 | 12,39 | - | - |

* Enc. = encontrado, Calc. = calculado, Endo. = endotérmico, Exo. = exotérmica, Resíduo = Pd⁰.

Gois, E. P de

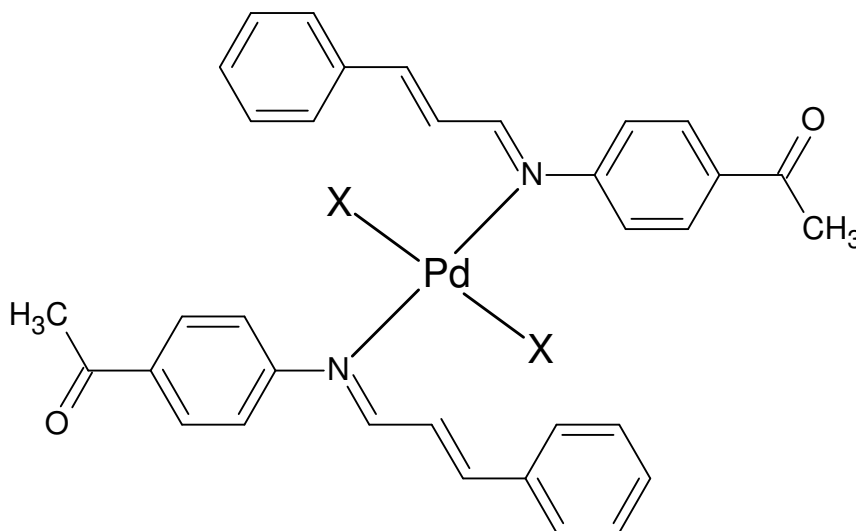
Já os complexos $[\text{PdBr}_2(\text{Hfafa})_2]$ (C4) e $[\text{Pd}(\text{Hfafa})_2\text{I}_2]$ (C5), ambas as decomposições térmicas ocorrem etapas de termodecomposição constituída das duas partes de CH_3O e em sequência a perda dos pseudohaletos ou haletos presentes na estrutura. Consecutivamente, tem-se a perda das demais partes do ligante $2(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N})$ que são liberados completamente, na qual a curva DTA exibe pico exotérmico referente à queima da matéria orgânica. Na etapa seguinte observa-se o ganho de oxigênio, parte oriunda da molécula e as demais pelo ar sintético utilizado na análise de TG-DTA. Na última etapa observa-se um pico endotérmico, devido à redução do PdO a Pd° (Figura 35).

Figura 35 – Curvas TG-DTA dos complexos de substituição



Ao analisar os dados, propomos que a estrutura dos complexos seja a seguintes, Figura 36:

Figura 36 – Estrutura proposta dos complexos $[PdX_2(Hfafa)_2]$, sendo X = N_3 (C2), SCN (C3), Br (C4) e I (C5)



Fonte: Do Autor.

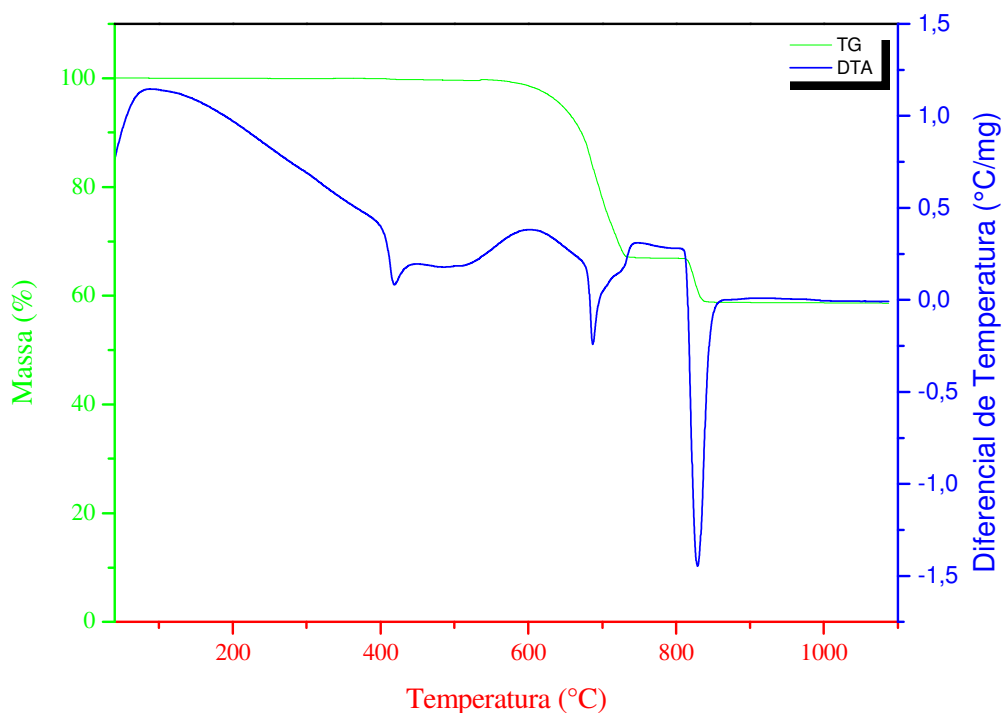
Considerando as temperaturas iniciais de decomposição térmica dos compostos C1 – C5, propõe a seguinte ordem crescente de estabilidade térmica:



Analisando as curvas de TG e DTA de todos os compostos que contém paládio pode-se observar a presença de um ganho de massa que ocorre simultaneamente com as perdas referentes a eliminação de compostos orgânicos, haletos e pseudohaletos, e posteriormente uma perda de massa aproximadamente de 800 °C que é acompanhada de um pico endotérmico na DTA, devido respectivamente, a formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras e seguido de sua redução a paládio(0).

Resultados e Discussões

A formação de óxidos sólidos com aquecimento que contenham os metais do grupo da platina, já foram estudados há vários anos, Bayler e Wiedemann publicaram um estudo em 1975 em que constata-se que há formação de óxido de paládio e sua degradação no tratamento térmico de amostras de paládio metálico. A seguir (Figura 37) são mostradas as curvas TG e DTA do composto PdCl_2 . A degradação inicia-se a aproximadamente 547°C . No intervalo de $547\text{-}806^\circ\text{C}$ há uma perda de massa no valor de $32,82\%$ equivalentes a eliminação dos ligantes cloretos e a captação de $0,5 \text{ O}_2$ devido a formação de óxido de paládio (Δm calculado: $-31,64\%$).

Figura 37 - Curvas TG e DTA para PdCl_2 

Fonte: Do Autor.

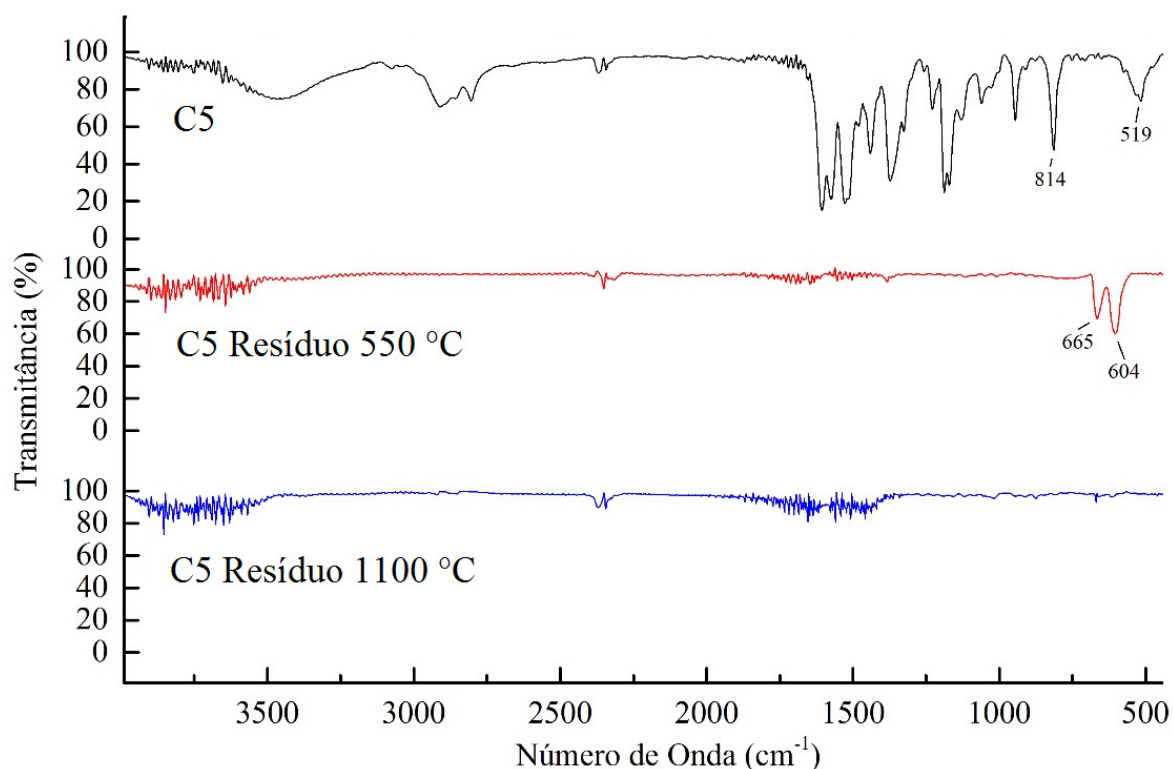
Tabela 11 - Dados da Análise Térmica para o reagente PdCl₂

| Composto | Etapa | $\Delta T/^\circ\text{C}$ | $\Delta m \%$ | | DTA picos/ $^\circ\text{C}$ | | Atribuições |
|-------------------|---------|---------------------------|---------------|--------|-----------------------------|---------|--|
| | | | Enc. | Cal. | Exo. | End. | |
| PdCl ₂ | 1 | 547-806 | -32,82 | -31,64 | - | 418/688 | -2Cl ⁻ .+0,5 O ₂ |
| | 2 | 806-903 | -8,14 | -8,36 | - | 829 | -0,5 O ₂ |
| | Resíduo | -m | 58,76 | 60,01 | - | - | Pd(0) |

Fonte: Do Autor.

Para confirmação da formação de óxido de paládio durante o aquecimento das amostras dos compostos obtidos ainda foram realizados estudos utilizando o composto C5 (escolha aleatória), o qual foi submetido ao aquecimento de análise térmica seguindo mesmas condições de atmosfera (ar sintético) e razão de aquecimento (20 $^\circ\text{C}/\text{min.}$), porém o aquecimento foi interrompido em 550 $^\circ\text{C}$ e com o resíduo realizou-se análise de espectrometria na região do infravermelho. O mesmo foi realizado com o resíduo após a curva ser completada aos 1100 $^\circ\text{C}$. Na Figura 38 são mostrados os espectros do composto C5, do resíduo deste composto após aquecimento 550 $^\circ\text{C}$ e do resíduo após aquecimento 1100 $^\circ\text{C}$. E o que pode ser constatado é que após 550 $^\circ\text{C}$ não se observa nenhuma banda do composto C5 corroborando sua degradação. Porém, podemos observar bandas em 665 e 604 cm^{-1} que não aparecem no espectro do composto C5, são observadas no resíduo após aquecimento até 550 $^\circ\text{C}$ e que são referentes a absorções do óxido de paládio (CHAUSSE; REGULL; VICTORI, 1987). Já o espectro de IV do resíduo após 1100 $^\circ\text{C}$ não apresenta nenhuma absorção, indicando a redução do óxido de paládio a paládio metálico.

Figura 38 - Espectro de IV do complexo C5 e resíduos obtidos a 500 e 1100 °C



Fonte: Do Autor.

4.3.4 Difração de raios X

O monocrystal do complexo C2 foi obtido a partir do método de cristalização evaporação lenta de uma solução de clorofórmio e este foi utilizado para o experimento de difração de raios X de monocrystal. A análise da estrutura molecular (comprimentos e ângulos de ligação) foi realizada utilizando o software MOGUL (BRUNO, et al. 2004), sendo este pertencente à base de dados estruturais da Cambridge (CSD) que permite a comparação de fragmentos da molécula estudada com fragmentos similares de moléculas depositadas na base de dados.

Os dados cristalográficos (dados cristalinos, de coleta e refinamento) estão apresentados na Tabela 12 e a apresentação ORTEP do composto pode ser verificada na Figura 39. A Figura 40 ilustra o empacotamento molecular na cela.

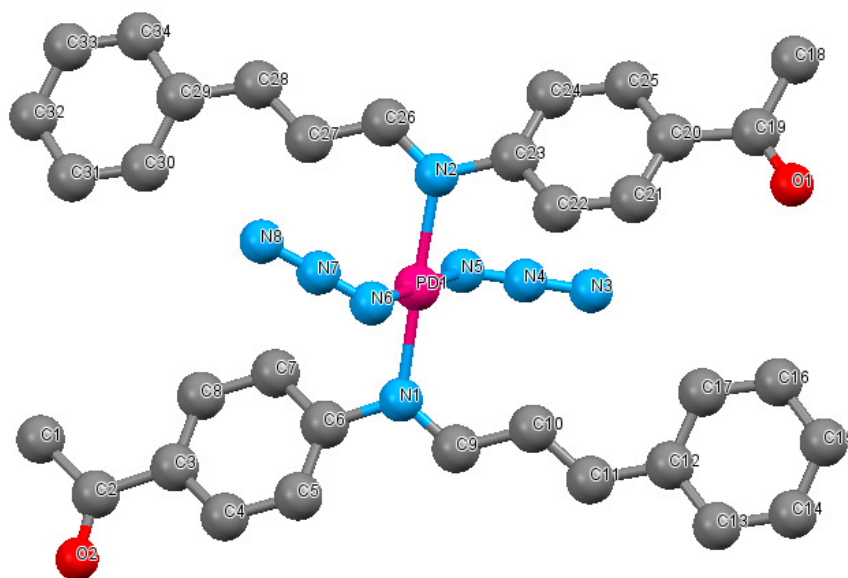
Tabela 12 - Dados Cristalográficos para o complexo [Pd(N₃)₂(Hfafa)₂] C2

| Dados | Cristal |
|---|--|
| Fórmula Empírica | C ₃₄ H ₃₀ N ₈ O ₂ Pd |
| Peso molecular | 689,06 |
| Temperatura / K | 298 (2) |
| Comprimento de onda / Å | 0,71073 |
| Grupo Espacial | P1 |
| Sistema Cristalino | Triclínico |
| Parâmetros de cela | a = 7,035(5) Å |
| | b = 13,549(5) Å |
| | c = 16,727(5) Å |
| | α = 92,276(5)° |
| | β = 100,868(4)° |
| Volume / Å ³ | γ = 93,044(5)° |
| | 1561.55 (13) |
| | Z |
| Densidade Calculada /Mg m ⁻³ | 0,733 |
| Coeficiente Absorção / mm ⁻¹ | |
| F(000) | 674 |
| Coeficiente absorção | 0.638 |
| Comprimento de onda | 0.71073 |
| Radiação | MoK α |
| R1 | 0.1101 |
| wR2 | 0.1511 |
| GooF | 1.048 |
| Hábito / cor | |

Fonte: Do Autor.

Esta análise apontou que todos os comprimentos, bem como ângulos de ligação não sofrem nenhum desvio estatístico quando comparados aos fragmentos similares e condizem com os valores esperados quimicamente e para um bom refinamento. O estudo estatístico e a Tabela de valores gerada pelo software estão disponíveis no Anexo A.

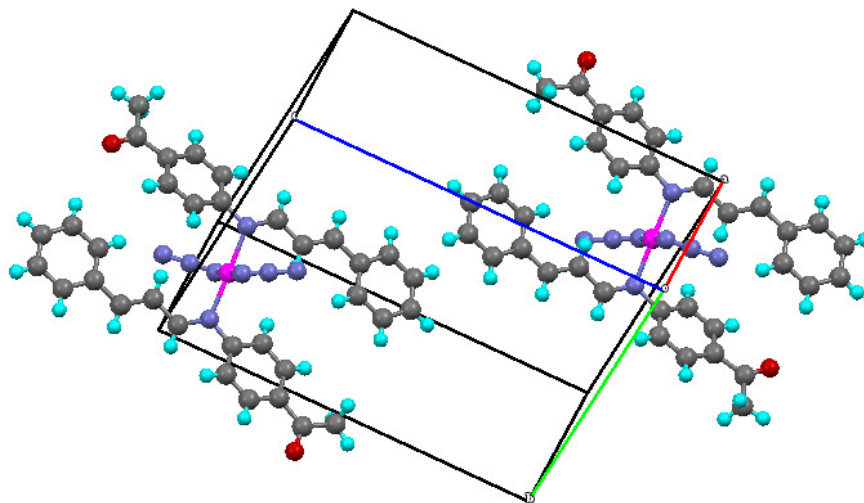
Figura 39 - Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(Hfafa)_2] C_2$



* Os átomos de hidrogênio foram omitidos para melhor visualização

Fonte: Do Autor.

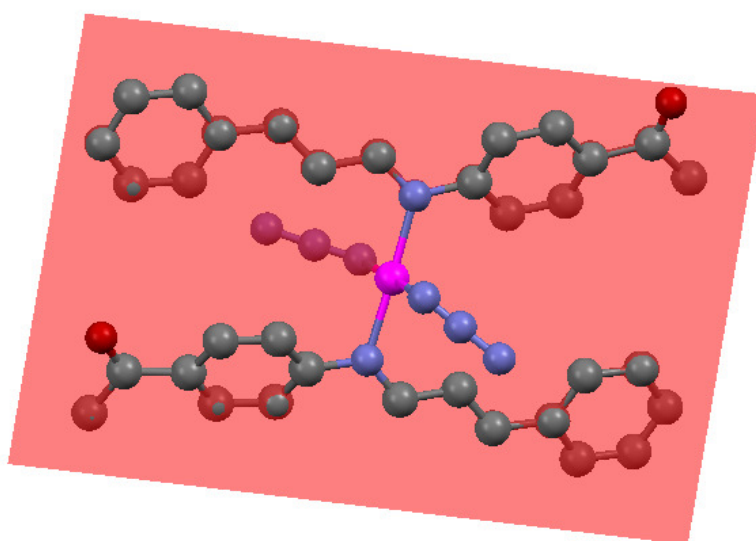
A partir dos dados de difração de raios X de monocristal verifica-se que o complexo sintetizado não houve a formação de organometálico, pois o metal de transição coordenou ao ligante orgânico somente por um sítio de coordenação com o átomo de nitrogênio. Observa-se que a ázida está em posição *trans* uma da outra, como os ligantes imínicos (Figura 39).

Figura 40 - Empacotamento molecular do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\text{Hfafa})_2]$ na cela

Fonte: Do Autor.

Verifica-se que os átomos coordenantes se encontram em planos diferentes do metal. O desvio foi verificado traçando um plano através dos átomos (Figura 41), com isso verificou-se os desvios no plano traçado, como sumarizado na Apêndice B.

Figura 41 - Plano traçado entre o centro simétrico do C2



Ao analisarmos os ângulos de coordenação, é notável o desvio em relação ao padrão para uma geometria quadrado planar, principalmente o ângulo formado por N3-Pd1-N2. Isso ocorre porque existe uma repulsão entre as azidas, aumentando o ângulo entre suas ligações coordenativas e, conseqüentemente, diminuindo o ângulo oposto. Além disso, a repulsão entre azida e anel aromático é maior em um dos lados do composto, visto que esses dois grupos estão mais próximos justificando o fato de o ângulo entre N1-Pd1-N5 ser maior do que o formado por N2-Pd1-N5. Os ângulos entre as ligações entre o átomo metálico e os ligantes estão na Tabela 13. Os demais ângulos de ligação podem ser encontrados no Anexo C.

Tabela 13 - Dados cristalográficos de ângulos de ligação

| 1 | 2 | 3 | Ângulo (°) |
|----|-----|----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) |

Fonte: Do Autor.

A formação de uma ligação coordenativa entre o nitrogênio das iminas e o paládio(II) provocou uma diminuição da densidade eletrônica dessa ligação dupla, diminuindo ainda mais o caráter de dupla ligação de C=N. Esse caráter já é diminuído pelo fato de esta ligação ser conjugada a um anel aromático. Esse efeito causa um aumento no comprimento de ligação do grupo imínico em relação ao ligante livre (HAO; ZHANG, 2005), o que pode ser observado através da análise dos dados de difração de raios X. Esses dados confirmam as conclusões já obtidas pela análise do espectro na região do infravermelho.

4.4 TESTES BIOLÓGICOS

As aplicações biológicas dos complexos foram realizadas frente às células mamárias MCF-7 (ER+) e MDA-MB-435 (triplo negativo; ER-, PR-, HER2-), parasita *Leishmania*, na forma de promastigota e amastigota e as leveduras do gênero *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*. Os testes ocorreram com o ligante imínico L1 e os complexos C1-C5.

4.4.1 Teste antitumoral

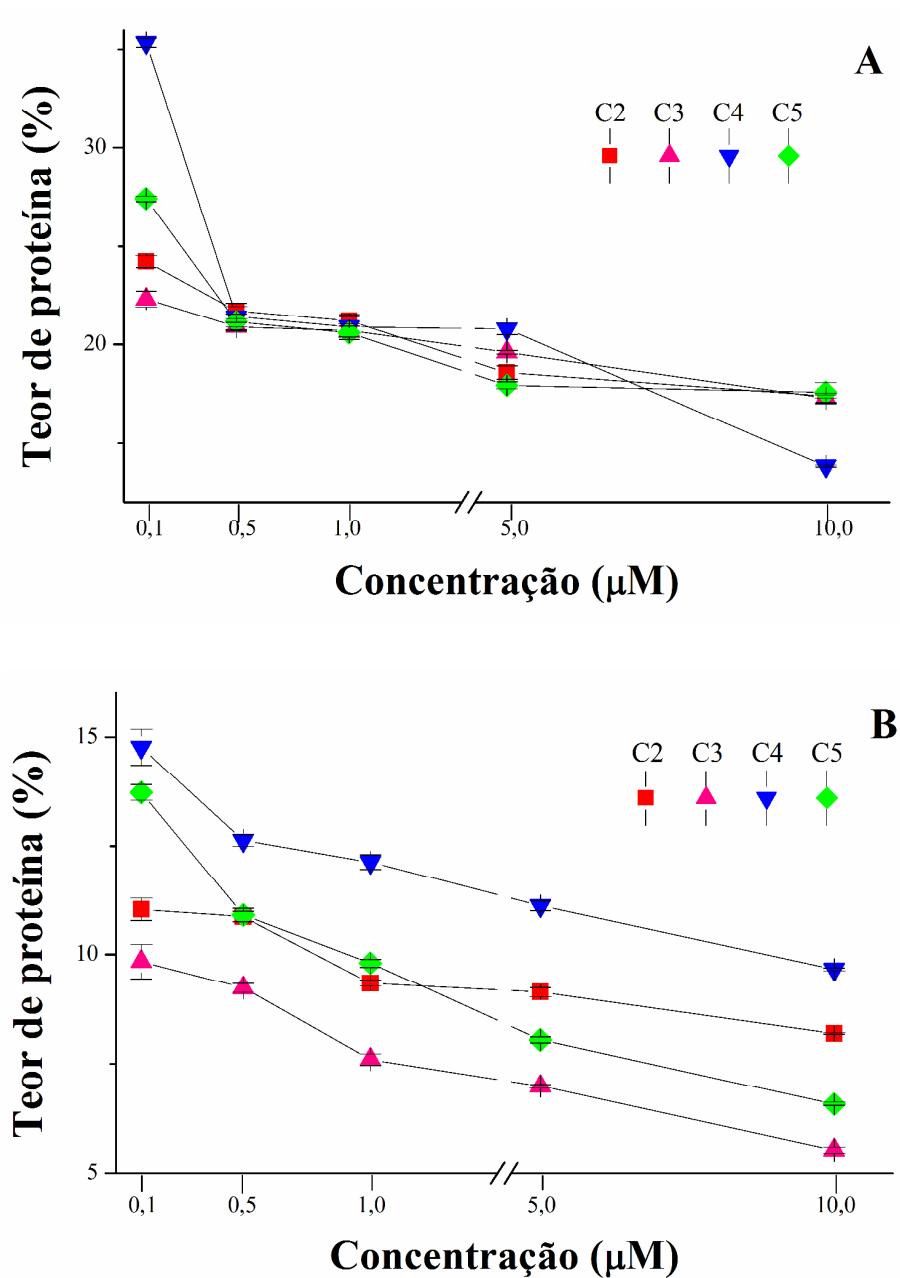
Vários agentes quimioterápicos utilizados na prática clínica apresentam atividade citotóxica, portanto, a citotoxicidade pode ser utilizada como um indicativo da atividade antitumoral de um composto (LE TOURNEAU et al., 2010). A citotoxicidade compreende um conjunto de alterações bioquímicas e genéticas que interrompem a homeostase celular e pode ser estimada por testes que avaliam a liberação de enzimas, a viabilidade, a sobrevivência e a morte celular. Os testes de viabilidade baseiam-se na exclusão ou incorporação de corante, medida da atividade enzimática e da determinação do conteúdo protéico celular. Um composto citotóxico induz, em curto prazo, perda da viabilidade celular, enquanto, um citostático afeta a sobrevivência em longo prazo ou a proliferação celular (SUMANTRAN, 2011).

Para estes testes foram avaliados os efeitos do ligante L1 e os novos complexos de Pd(II) C1 à C5 para as células MDA-MB-435. Já para as células MCF-7 os complexos C1 à C5. Os complexos de paládio(II) testados afetaram a viabilidade celular, evidenciada pela diminuição do teor protéico das células tratadas comparadas ao Controle Negativo (CN), pelo ensaio de SRB. Observa-se que os compostos foram citotóxicos, pois induziram diminuição do teor de proteínas celulares. O composto mais ativo para a célula MCF-7 foi o C4 sobre o efeito máximo nas células incubadas por 24 h, porém a incubação por 48 h o complexo C3 apresentou ser mais ativo, com a concentração de 10 μ M para os dois complexos (Figura 42). Já para a célula MDA-MB-435 o complexo mais ativo foi o C1 sobre a incubação de 24 h e

Resultados e Discussões

48 h, sendo o efeito máximo obtido com o tratamento com 0,1 μM (Figura 43). Os complexos apresentaram citotoxicidade diferentes uns dos outros e em concentrações diferentes, evidenciando que a atividade biológica de um composto está relacionada à estrutura química.

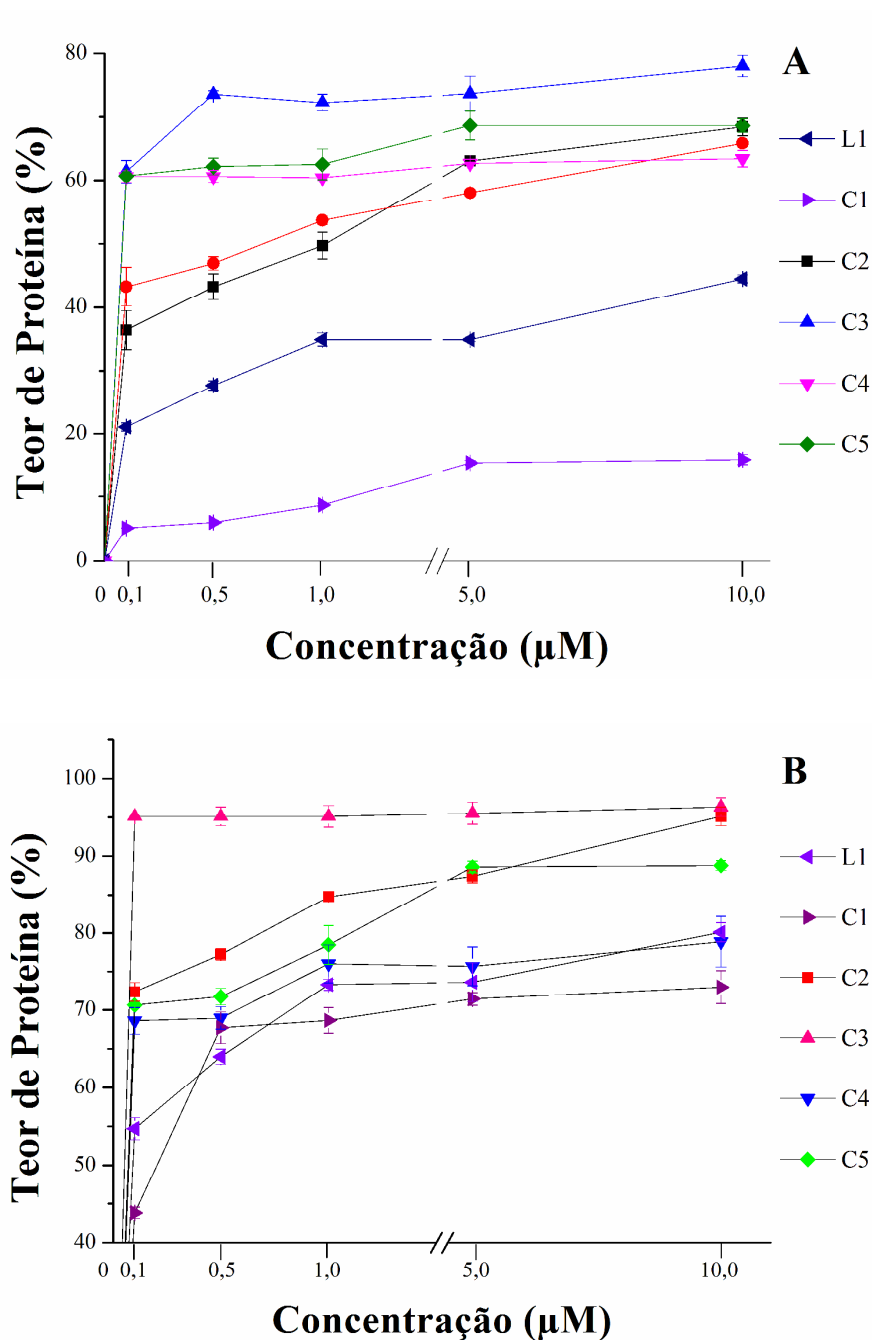
Figura 42 - Teor de proteínas (%) nas células MCF-7, em função do tratamento frente à: C2; C3; C4 e C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

Fonte: Do Autor.

Figura 43 - Teor de proteínas (%) nas células MDA-MB-435, em função do tratamento frente à: L1, C1 à C5.



Legenda: (A) avaliação por 24 (B) por 48 h ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata.

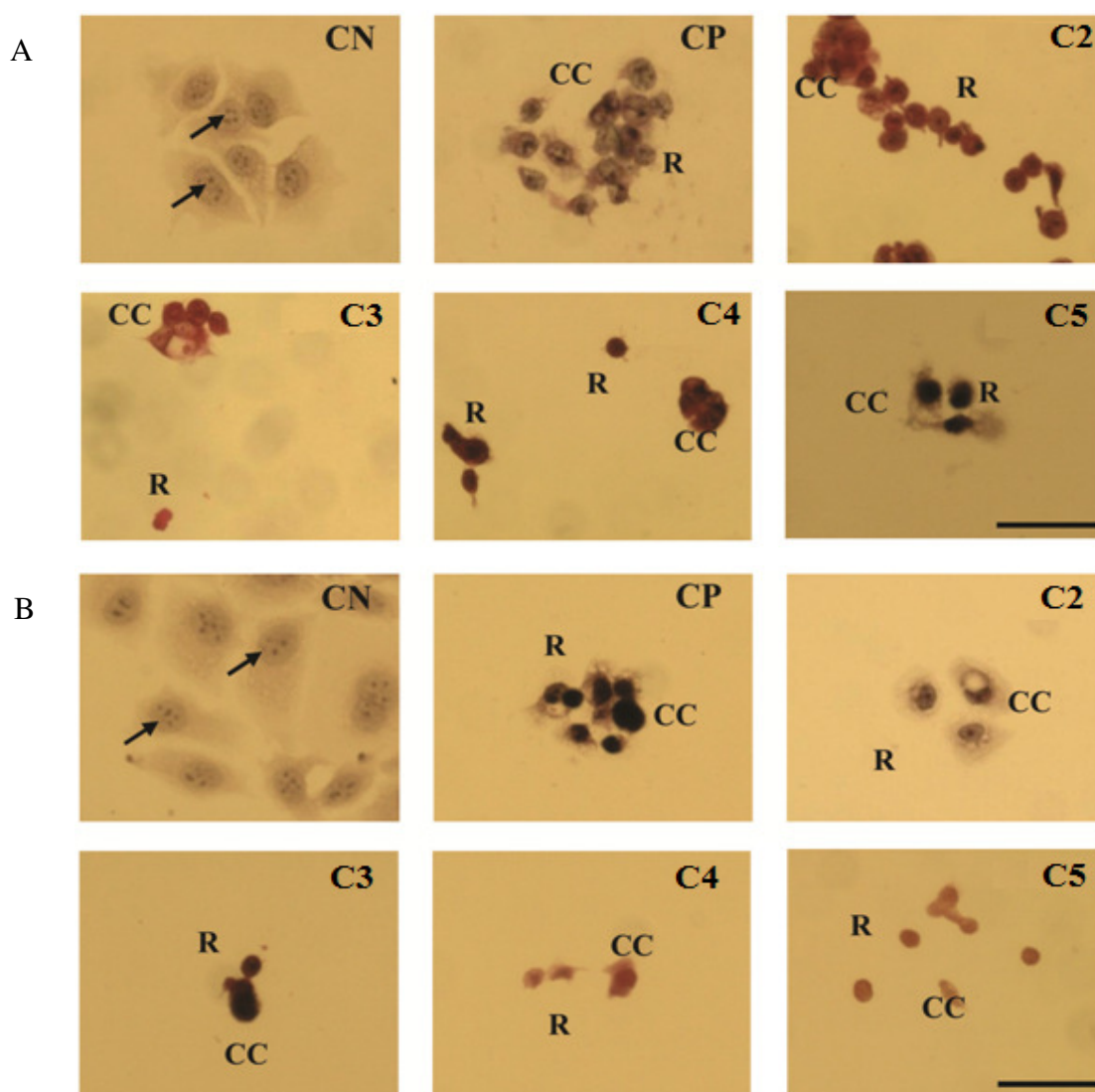
Fonte: Do Autor.

A demonstração mais confiável do efeito citotóxico de um agente toxicante é a alteração morfológica de células em cultura, com crescimento em monocamada (EKWALL et

Resultados e Discussões

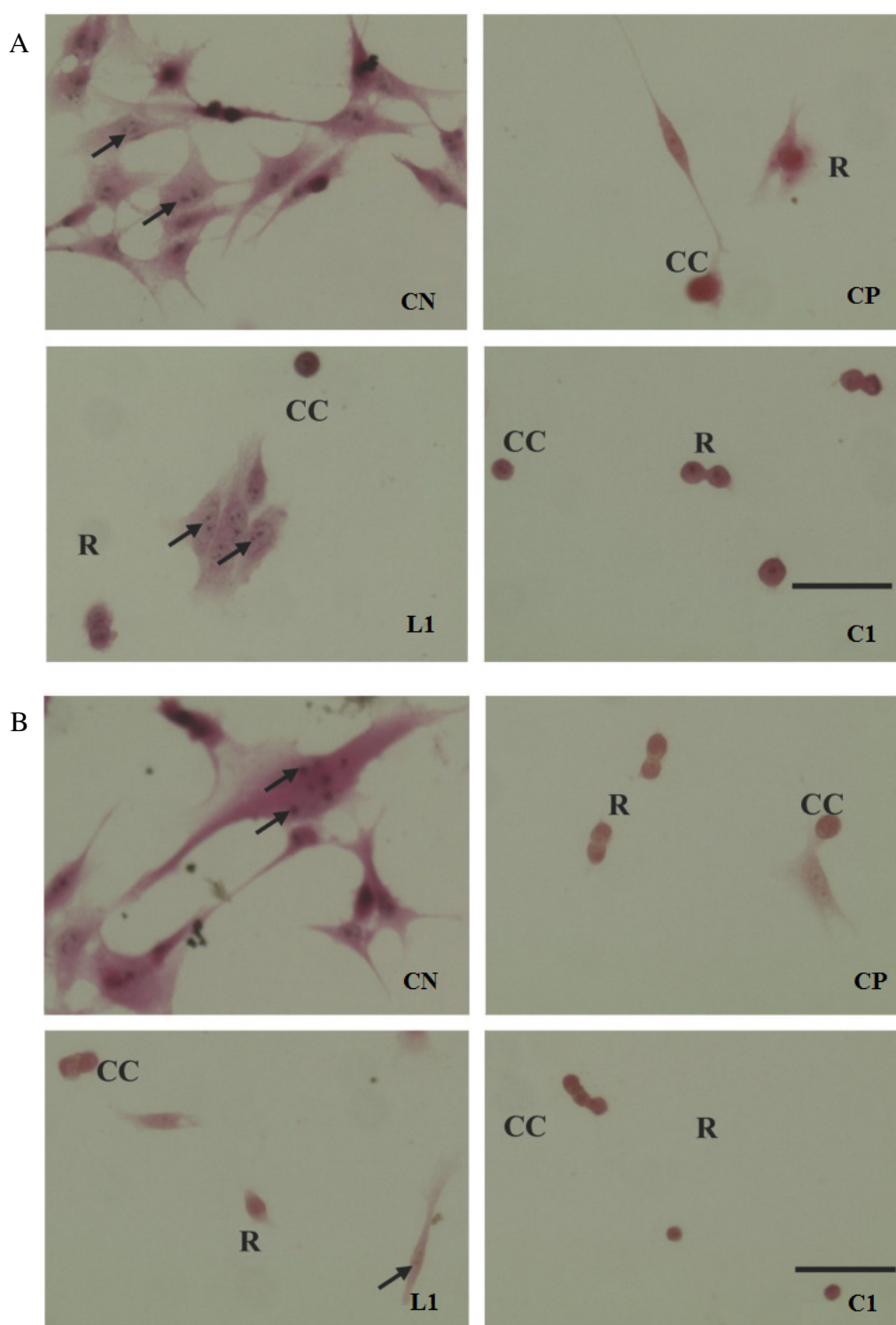
al., 1990). As células do Controle Negativo (CN) crescem em colônias apresentam formato poliédrico irregular, citoplasma menos corado que o núcleo e nucléolos evidentes. O tratamento das células com o Controle Positivo (CP) e os compostos resultou em alterações morfológicas evidentes, tais como perda da morfologia celular típica, condensação da cromatina, arredondamento, diminuição da célula e perda de prolongamentos responsáveis pela adesão ao substrato, o que indica alteração do citoesqueleto. Além disso, as células tratadas com os compostos cresceram de forma isolada. Apenas no tratamento com L1 a 0,1 μM , por 24 h foi possível encontrar colônias celulares (Figura 44 e 45).

Figura 44 - Morfologia das células MCF-7, coradas com hematoxilina-eosina, C2, C3; C4 e C5.



Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μM e a 0,1 μM ; barra = 5 μm .

Figura 45 - Morfologia das células MDA-MB-435, coradas com hematoxilina-eosina, do L1 e C1



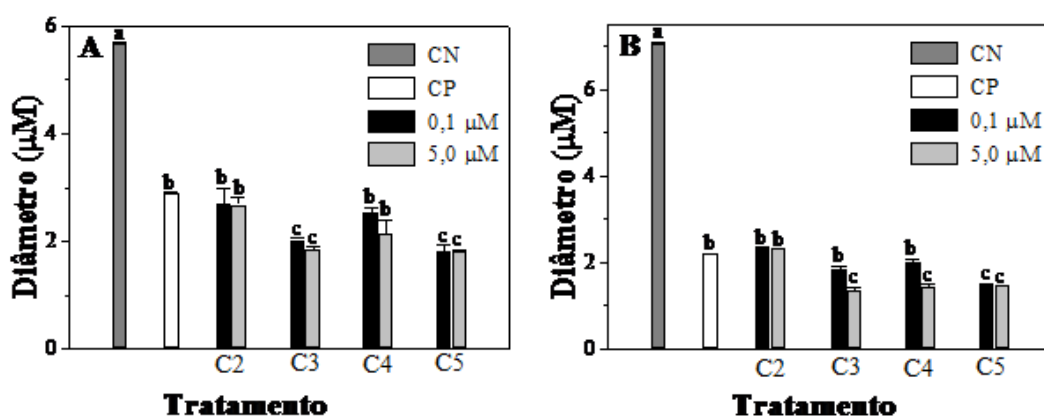
Legenda: (A) tratadas por 24 h e (B) por 48 h; (CN) DMSO e (CP) cisplatina; (R) arredondamento das células e (CC) condensação cromatínica; concentrações de 5 μ M e a 0,1 μ M; barra = 5 μ m.

Fonte: Do Autor.

Através da análise das variações explicitadas anteriormente, é possível concluir que os compostos sintetizados apresentaram atividade citotóxica frente às células MCF-7 e MDA-MB-435. Comparando os resultados obtidos para a base de Schiff com os dos complexos sintetizados, nota-se que a presença do paládio(II) intensifica a ação citotóxica desse ligante, visto que as células tratadas com esses complexos apresentaram mais evidências de morte celular do que a base de Schiff livre. Comparando os resultados das células tratadas com os complexos, os que apresentaram, qualitativamente, mais atividade foram os complexos C1 (Contendo Cl) para as células de MDA-MB-435 e que todos os complexos testados (C2-C5) apresentaram citotoxicidade para as células MCF-7. Outra constatação importante é a influência do tempo de tratamento com os compostos no nível de morte celular. As células que foram tratadas por 48 horas apresentaram indícios de um maior nível de morte celular do que as tratadas por 24 horas.

A diminuição das células, após tratamento com todos os compostos, foi demonstrada pela redução significativa ($p < 0,001$) do diâmetro celular, em comparação ao CN e esta foi dependente do tempo de incubação (Figuras 46 e 47). A análise do efeito dos complexos da série C2-C5, mostrou que, após tratamento por 24 h, os complexos C3 e C5 foram mais ativos ($p < 0,01$) que a cisplatina e após 48 h, o complexo C5 continuou tendo uma melhora significativa a $0,1 \mu\text{M}$, sendo este o mais ativo (Figura 46).

Figura 46 – Diâmetro das células MCF-7 tratado com C2, C3, C4 e C5 à concentração de $0,1 \mu\text{M}$ e $5,0 \mu\text{M}$

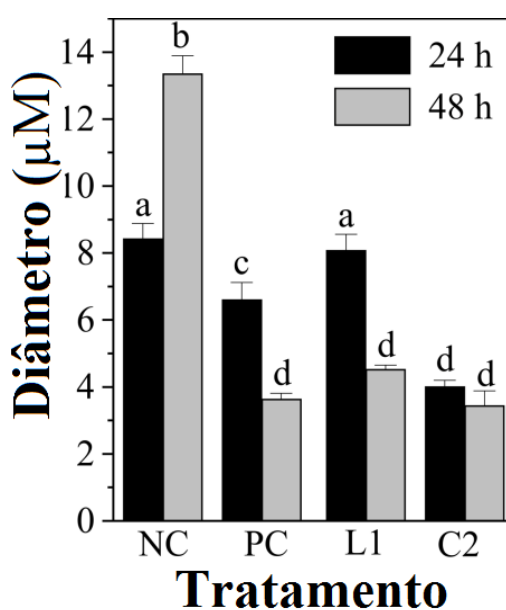


Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a $5 \mu\text{M}$; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussões

A redução do volume celular dos compostos L1 e C1 foi dependente da concentração e do tempo de incubação. Após tratamento por 24 h e 48 h o complexo C1 a 5 μM foi o mais ativo, com redução do O encolhimento celular foi ainda confirmado pela determinação do comprimento da célula, que foi significativamente ($p < 0,05$) diminuída em comparação com as células controle. diâmetro celular semelhante à induzida pelo controle positivo cisplatina.

Figura 47 – Diâmetro das células MDA-MB-435 tratado com L1 e C1 à concentração de 0,1 μM e 5 μM



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; (A) tratadas por 24 e (B) por 48 h; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,001$), pelo teste de Tukey.

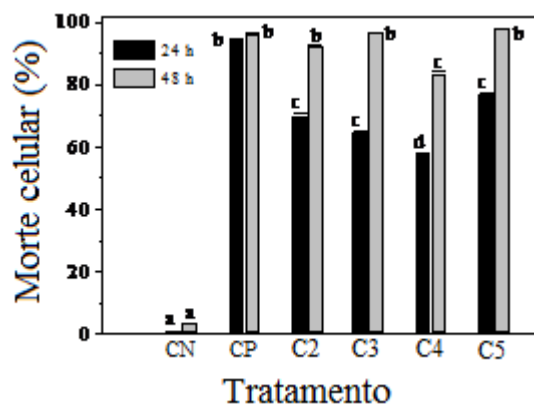
Fonte: Do Autor.

O teste utilizando *fastgreen* para detecção de morte celular é um método de coloração diferencial que determina a morte celular por perda de viabilidade e não utiliza um sinal específico de morte. Assim, alterações celulares que incluam perda da integridade da membrana plasmática, de atividade enzimática, de ATP ou de atividade de esterase da membrana plasmática podem ser detectadas pela coloração com *fastgreen*. Este método pode ser utilizado para células em cultura e é, particularmente, útil para a avaliação da morte celular em tumores sólidos (espécimes clínicos) e quando há população mista de células

Resultados e Discussões

(WEISENTHAL, 2011). Os compostos induziram significativamente ($p < 0,05$) a morte celular e esta foi dependente do tempo de tratamento, sendo a incubação por 48 h mais eficiente que por 24 h. (Figura 48 e 46).

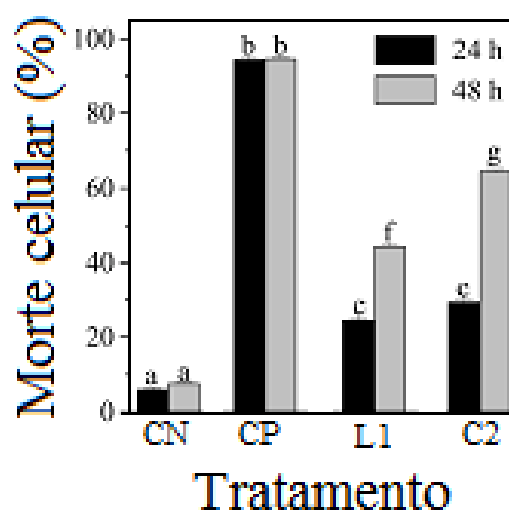
Figura 48 – Morte de células (%) MCF-7 tratada com C2-C5



Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Figura 49 – Morte de células (%) MDA-MB-435 tratada com L1 e C1

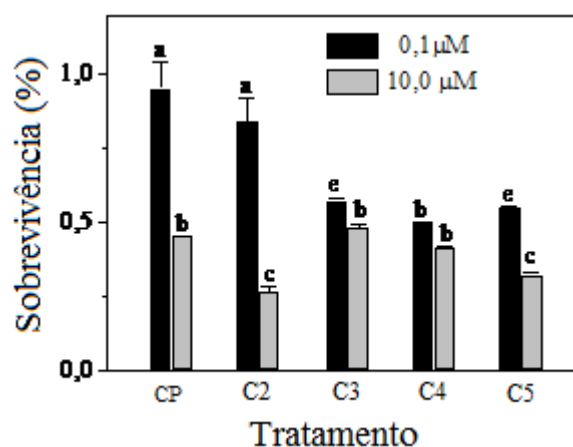


Legenda: (CN) DMSO, (CP) cisplatina a 5 μM ; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussões

O ensaio clonogênico é um ensaio *in vitro* baseado na capacidade de uma única célula sobreviver, se proliferar e formar uma colônia, com no mínimo 50 células, detectando-se, assim, a morte celular reprodutiva. Este teste permite obter a taxa de sobrevivência celular após o tratamento. A Figura 50 mostra a porcentagem de sobrevivência de células MCF-7, após o tratamento e nota-se que houve redução significativa ($p < 0,05$) da sobrevivência celular, sendo o efeito dos compostos dependente da concentração e do tempo de incubação. O composto C2 (contendo N_3) se mostrou mais ativo a $10 \mu\text{M}$.

Figura 50 - Sobrevivência (%) das células MCF-7 tratado com C2-C5 a concentração de 0,1 e $10 \mu\text{M}$



Legenda: (CP) cisplatina a $5 \mu\text{M}$; \pm erro padrão da média; experimentos em triplicata; letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,01$), pelo teste de Tukey.

Fonte: Do Autor.

Tem sido proposto que o efeito citotóxico de complexos de paládio(II) para células tumorais decorre da interação do complexo com o DNA, por meio da formação de ligações cruzadas coordenadas entre o Pd(II) e a guanosina do DNA (ALBERT et al., 2013; CAIRES, 2007; GAO et al., 2009; SAEIDIFAR et al., 2013), o que pode também ter ocorrido para estes novos compostos. Os complexos C1-C5 se mostraram ativos, talvez por causa da estrutura, já que são monodentados e não ciclopaladados. Em relação à série de novos complexos os mais ativos foram os complexos C1 (Cl) e C2 (N_3), evidenciando que o substituinte é importante para a atividade do complexo de paládio(II).

Os resultados demonstraram pela primeira vez o efeito citotóxico e que todos os compostos analisados foram citotóxicos para as células MCF-7 e MDA-MB-435 e parecem ser bons candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento do câncer de mama. Estudos estão em progresso para verificar o efeito *in vivo* desses compostos.

4.4.2 Teste anti-leishmania

A atividade anti-leishmania dos compostos foi avaliada contra as formas promastigota (Tabela 14). O controle positivo utilizado foi a pentamedina e a anfotericina B.

Tabela 14 - Compostos que apresentaram atividade promastigota

| Compostos | IC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio | CC50 ($\mu\text{g/mL}$) | Desvio |
|----------------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|
| | Leishmania | Padrão | Citotoxicidade | Padrão |
| Anfotericina B | 4,70 | 0,56 | 25 | 5,32 |
| Pentamedina | 6,62 | - | 3,82 | 0,58 |
| L1 | 6,50 | 0,20 | 61,50 | 20,50 |
| C1 | > 40 | | - | - |
| C2 | 6,50 | 0,05 | 91,75 | 1,25 |
| C3 | > 40 | | - | - |
| C4 | > 40 | | - | - |
| C5 | > 40 | | - | - |

Fonte: Do Autor.

Podemos observar que em geral ao complexar o paládio ao ligante imínico não observa nenhuma melhora significativa comparado com o seu ligante precursor, no entanto quando com a troca do haleto Cl^- pela N_3^- , observa que o complexo tem inibição frente a *Leishmania ssp*, para C2. Para os demais complexos não tiveram a inibição melhorada, visto que a concentração necessária para inibir aumenta.

Até então, os testes realizados foram uma triagem para observar quais destes compostos apresentam atividade e a partir, foi realizado testes frente a amastigota para o composto C2 (Tabela 15).

Tabela 15 - Compostos que apresentaram atividade amastigota

| Compostos | IC50 (mG/mL) | Desvio |
|--------------|--------------|--------|
| | Leishmania | Padrão |
| Anfotericina | 1,20 | 0,11 |
| C2 | 24,90 | 0,2 |

Fonte: Do Autor.

Já para os teste frente a amastigota, observamos que o complexo C2 apresentou atividade frente ao parasita. Logo, podemos concluir que mesmo o complexo C2 não seja ciclometalado, ele apresenta uma estabilidade para penetrar a célula amastigota. Isso por que complexos não cilcometalados apresentam dificuldade de atingirem o alvo dentro da célula (amastigota), pois tem que transpor a barreira da membrana celular do macrófago.

4.2.3 Teste antifúngico

Os resultados da atividade antimicrobiana do ligante e dos complexos sintetizados estão apresentados na Tabela 16. Observa-se que a coordenação do metal para o complexo C2 melhorou a atividades em relação ao seu ligante precursor L1, na inibição do crescimento de *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. O que não foi observado para os demais fungos testados. No entanto, de modo geral tanto os ligantes quanto os complexos de paládio apresentam IC₅₀ e IC₉₀ superiores aos respectivos padrões de referência, ou seja, a concentração necessária dos compostos testados para inibir o crescimento dos microrganismos em 50% e 90% foi muito maior que os padrões de referência. Sendo assim, os compostos obtidos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso.


Resultados e Discussões

Porém, o complexo C2 requer estudo mais aprofundado, em função de sua melhor atividade antifúngica contra *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, que é intrinsecamente resistente ao fluconazol medicamento de azol comum na terapêutica.

Tabela 16 - Resultados atividade antifúngica dos ligantes e complexos de paládio(II)

| Substância | Fungos | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 | <i>C. krusei</i> ATCC 6258 | <i>C. glabrata</i> ATCC 90030 | <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 |
|------------------------------------|--------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| Fluconazol ($\mu\text{g/mL}$) | IC50 | 0,5 | 1 | 32 | 16 | 1 |
| L1 | IC50 | - | 60 | 30 | - | 60 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C1 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C2 | IC50 | - | - | 60 | 30 | 30 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C3 | IC50 | - | - | 100 | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C4 | IC50 | - | - | - | 100 | 100 |
| | IC90 | - | - | - | - | - |
| C5 | IC50 | - | - | - | - | - |
| | IC90 | - | - | - | - | - |

Fonte: Do Autor.



Capítulo 5

Conclusão

5 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou a importância da classe dos ciclometalados de Pd(II), em função da sua reatividade frente ao ligante imínico, resultando em espécie com grande potencial na Química Medicinal. Isto fica evidenciado através dos resultados discutidos bem como pelas contribuições dadas pelo nosso grupo de pesquisa. Através das técnicas de caracterização utilizadas, estima-se que as reações tenham ocorrido e conseqüentemente houve a formação dos novos compostos.

Novos complexos de paládio(II) foram obtidos a partir das reações entre tetracloropaladato(II) de lítio e um novo ligante orgânico nitrogenado (Hfafa) **L1** capaz de formar complexo. O novo complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{Hfafa})_2]$ **C1** foi usado como precursor dos complexos do tipo: $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$ sendo $\text{X} = \text{N}_3$ (**C2**), **SCN** (**C43**), **Br** (**C4**) e **I** (**C5**). A difração de raios X de monocristal esclareceu a estrutura do complexo **C2**.

Os dados espectroscópicos sugerem que os complexos **C1-C5** apresentaram uma coordenação metal – ligante 1:2. O metal coordenou-se pela base nitrogenada do ligante. Os haletos e pseudoaletos ficaram na posição terminal. A estrutura porposta para esta série foi $[\text{PdX}_2(\text{Hfafa})_2]$, sendo $\text{X} = \text{Cl}$ (**C1**), N_3 (**C2**), **SCN** (**C3**), **Br** (**C4**) e **I** (**C5**).

Os complexos de paládio (II) apresentados são citotóxicos para células MCF-7 e MDA-MB-435, uma vez que levaram à diminuição do teor protéico das células, além de alterações morfológicas e morfométricas e à diminuição da proliferação celular, podendo ser considerados agentes supressores tumorais. Este resultado parece promissor para o desenvolvimento de um novo agente quimioterápico para o tratamento do câncer de mama. No entanto, precisa de testes *in vivo*.

Já os ensaios frente à *Leishmania*, foram realizados experimentos *in vitro* de células promastigota e amastigota da *L. (L.) brazilienses*. Determinou-se a viabilidade celular destas culturas, expressa pelo Índice de Citotoxicidade (IC_{50}), que indica a concentração de substância que induz à morte 50% da população celular. Através da incubação das células na presença dos complexos por 48h, sob diferentes concentrações, determinou-se a

Conclusão

viabilidade do bioensaio. O complexo que apresentou melhor atividade antileishmania foi o que contém o pseudohaleta azida do complexo (C2).

Com o intuito de empregar os compostos em ensaios microbiológicos frente a fungos, foi realizado experimento *in vitro*. O complexo que apresentou melhor atividade foi o C2 com a inibição do crescimento de *C. krusei* ATCC 6258, *C. glabrata* ATCC 90030 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Enquanto os demais complexos não apresentaram melhores atividades que os medicamentos já em uso. Deste modo, o complexo C2 requer maiores estudos. Mesmo assim, evidencia-se a potencialidade farmacológica dos complexos de paládio(II), ressaltando sua interdisciplinaridade e expectativas.

Complexos de paládio(II) demonstram potencialidades farmacológicas comprovadas pelos testes biológicos realizados. Isto somente vem a ressaltar seu aspecto atual, interdisciplinar e promissor, deixando uma expectativa positiva para os próximos anos.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS

ACAR, N.; SELÇUKI, C.; COŞKUN, E. DFT and TDDFT investigation of the Schiff base formed by tacrine and saccharin. **J MolModel**, 23, 17, 2017.

ADIGUZEL, Z. et al. Biochemical and proteomic analysis of a potential anticancer agent: Palladium(II) saccharinate complex of terpyridine acting through double strand break formation. **J. Proteome Res.**, v. 7, p. 5240-5249, 2014.

AL-NOOR, T. H.; AZIZ, M. R.; AL- JEBOORI, A. T. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of [Fe(II), Co(II), Ni(II),Cu(II) and Zn(II)] mixed ligand complexes schiff base derived from amoxicillin drug and 4-(dimethylamino)benzaldehyde with nicotinamide. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, 6, 1225-1231, 2014.

ALMEIDA, E. T. Compostos Organometálicos de Paládio(II): Investigação Espectroscópica, Comportamento Térmico e Aplicações Biológicas. 2003. 170 f. **Tese de doutoramento apresentada ao Instituto de Química de Araraquara – Unesp.** 2003.

ALMEIDA, E. T. et al. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. **Química Nova**, 28, n. 3, p. 405-408, fev. 2005.

AMENDOLA, M. C. Algoritmo genético e espectroscopia no infravermelho. 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ANDRADE, P. B. M. Cisplatina. Disponível em:
<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/cisplatin/htmlonly>. Acesso em: abril / 2018.

ANGELO, A. C. D.; SOUZA A. R. DE; MORGON, N. H.; SAMBRANO, J. R. - Estudo da adsorção de hidrogênio e sulfeto na superfície de paládio: aspectos experimentais (eletroquímica) e teóricos (ab initio e teoria do funcional da densidade). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 473-479, 2001.

Referências

ARI, F. et al. Apoptosis-inducing effect of a palladium(II) saccharinate complex of terpyridine on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Bioorg.Med. Chem.**, 22, p. 4948-4954, 2014.

AVAJI, P. G. et al. Synthesis, spectral characterization, in-vitro microbiological evaluation and cytotoxic activities of novel macrocyclic bis hydrazone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 3552–3559, 2009.

BANTI, C.N. et al. Mono-nuclear cis-Pd(II) chloride complex of the thio-nucleotide analogue 5-methyl-thiouracil and its biological activity. **Polyhedron**, v. 87, p. 251-258, 2015.

BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 7-12, jul. 2005.

BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: towards new targets. **Chem. Commun.**, 49, 5106-5131, 2013.

BARTLETT, F.C. The future of ergonomics. **Ergonomics**, 5, 505–511, 1962.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 6, p. 4-6, jul. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011. 118p.

BRUIJNINCX, P. C. A.; SADLER, P. J. New trends for metal complexes with anticancer activity. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, 12, 197-206, 2008.

CAIRES, A.C.F. Recent advances involving palladium (II) complexes for the cancer therapy. **Anticancer Agents Med. Chem.**, v. 7, p. 484-491, 2007.

Referências

CALOGERAS, L. 10 práticas médicas egípcias que ainda são usadas nos dias de hoje. 2017. Disponível em: <https://misteriosdomundo.org/10-praticas-medicas-egipcias-que-ainda-sao-usadas-nos-dias-de-hoje/>. Acesso em: abril / 2018.

CARVALHO, A.J.S.; ISHIKAWA, T.; GOUVÊA, C.M.C.P. Aqueous extract *Pliniaedulis* leaves: Antioxidant activity and cytotoxicity to human breast cancer MCF-7 cell line. **South Afric. J. Bot.**, v. 81, p. 1-7, 2012.

CAMPANELLA, N. C. et al. The cytotoxic and growth inhibitory effects of palladium(II) complexes on MDA-MB-435 cells. **Gen. Mol. Biol.**, v. 35, p. 159-163, 2012.

CAVALCANTE, C. Q. et al. Determinação de paládio em amostras biológicas aplicando técnicas analíticas nucleares. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1094-1098, jul. 2008.

CHEANG, M.C.U. et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 101, p.736-750, 2009.

CHEN, C.N.; WU, C.L.; LIN, J.K. Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwensesepropolis. **Cancer Lett.**, v. 245, p. 218-231, 2007.

CHEN, Y. et. al. Sensitized luminescent Terbium nanoparticles: Preparation and time-resolved fluorescence assay for DNA. **Analytical Chemistry**. v. 79, n. 3, pp. 960-965, 2009.

COLUCCIA, M. et al. A trans-Platinum Complex Showing Higher Antitumor Activity than the Cis Congeners. **J. Med. Chem.**, 36, 510, 1993.

COZZI, P. G. Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects. **Chem. Soc. Rev.**, 33, 410, 2004.

Referências

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, v.19, n.11, p. 502-508, 2003.

CUTILLAS, N. et al. Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold. **Coord. Chem. Rev.**, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2013.03.024>.

DAYAN, S. Palladium(II) complexes bearing bidentate pyridyl-sulfonamide ligands: Synthesis and catalytic applications. **Polyhedron**, v. 85, p. 748-753, 2015.

DEMICHELE, C. et al. Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1570, 192– 198, 2002.

DOGRA, J.; SAXENA, V. N. Itraconazole and leishmaniasis: a randomised double-blind trial in cutaneous disease. **Int. J. Parasit.**, 26, 1413-1415, 1996.

EKWALL, B. et al. Toxicity tests with mammalian cell cultures. In: BOURDEAU, P. et al. (eds.), **Short-term toxicity tests for non-genotoxic effects**. Nova Iorque: John Wiley and Sons Inc., p. 75-97, 1990.

ELISEEVA, S. et al. Electroluminescent properties of the mixed-ligand complex of terbium salicylate with triphenylphosphine oxide. **Synthetic Metal**. v. 141, pp. 225-230, 2004.

FANG, J. et al. Ligand effect on the performance of organic light-emitting diodes based on europium complexes. **Journal Luminescence**. v. 124, pp. 157-161, 2007.

FARRUGIA, L. J. Ortep-3 for Windows – a version of ORTEP-III with a Graphical user interface. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 30, p. 565, Oct. 1997.

FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **J. Appl. Cryst.**, London, v. 32, p. 837-838, Aug. 1999.

Referências

FIOCRUZ, As Leishmanioses. 1997. Disponível em:

<http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/morfologia.htm>. Acesso em: abril / 2018.

FRANCO, L. P. et al. Palladium(II) imine ligands cyclometallated complexes with a potential leishmanicidal activity on *Leishmania (L.) amazonensis*. **Medical Chemistry Research**, 22, p. 1049-1056, 2013.

GABBIANI, C.; MESSORI, L. Protein targets for anticancer gold compounds: mechanistic inferences. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, 11, 929, 2011.

GAO, E. et al. Current development of Pd(II) complexes as potential antitumor agents. **Anti-Cancer Agents Med. Chem.**, v. 9, p. 356-368, 2009.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S.K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coord.Chem. Rev.**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.

GAUTIER, A.; CISNETTI, F. Advances in metal-carbene complexes as potent anti-cancer agents. **Metallomics**, 4, 23, 2012.

GODOY NETTO, A. V. **Aplicação de pseudo-haletos e pirazóis como unidades estruturais na formação de espécies mono e polinucleares de paládio (II). Emprego de polímeros de coordenação em sistema hóspede-hospedeiro.** 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides.**

Amsterdam: Elsevier, 1986. p. 15.

GRAHAM, R. D.; WILLIAMS, D. R. The synthesis and screening for anti-bacterial, -cancer, -fungicidal and -viral activities of some complexes of palladium and nickel. **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 41, 1245, 1979.

Referências

GRAY, H. B.; BALLHAUSEN, C. J. A molecular orbital theory for square planar metal complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 3, p. 260-265, 1963.

GUERIN, P. J. et al., Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **Infectious Diseases**. 2, 2002.

GULL, P.; HASHMI, A. A. Transition Metal Coordination Complexes with Diverse Schiff Base Ligands and Macrocyclic Systems: Synthesis and Structural Diversity. **Asian Journal of Physical and Chemical Sciences**, 2, 1-27, 2017.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**., 2, 1191-1199, 1999.

HO, G.Y.; WOODWARD, N.; COWARD, J.I.G. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.**, 102, 37-46, 2016.

HÖLLER, C. J. et al. The interaction of rare earth chlorides with 4,4'-bipyridine for the reversible formation of template based luminescent Ln-N-MOFs. **Dalton Transactions**. V. 39, pp. 461-468, 2010.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Phys. Rev.**, 136, 864, 1964.

INIGUEZ, E. et al. Metal–drug synergy: new ruthenium(II) complexes of ketoconazole are highly active against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and nontoxic to human or murine normal cells. **J Biol Inorg Chem.**, DOI 10.1007/s00775-013-1024-2

KAFKA, S.; KAPPE, T. Synthesis of 4-Hydroxy-2(1H)-pyridones from Azomethines and Substituted Dialkylmalonates. **Monatshefte für Chemie**, 128, 1019-1031, 1997.

KAPDI, A. R. A.; FAIRLAMBB, I. J. S. Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. **Chem. Soc. Rev.**, 43, 4751, 2014.

Referências

KAYA, Y. ICSEL, C. YILMAZ, V. T.; BUYUKGUNGOR, O. A palladium(II) complex containing both carbonyl and imine oxime ligands: Crystal structure, experimental and theoretical UV–vis, IR and NMR studies *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 108, p. 133-140, 2013.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effect. *Phys. Rev.*, 140, 1133, 1965.

KOHOUT, M. Photosensitive bent-core liquid crystals based on methyl substituted 3-hydroxybenzoic acid. *RSC Adv.*, 7, 35805–35813, 2017.

KUSHEV, D. et al. Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antitumor activity of platinum(II) complexes of 3-aminocyclohecanespiro-5-hydantion. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 89, p. 203-211, 2002.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. *British Medical Bulletin*, v. 28, p. 44-48, 1972.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed., São Paulo: Edgard Blücher, 2000.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 632, 2005.

LI, H.; SUN, H. Recent advances in bioinorganic chemistry of bismuth *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 16, 74-83, 2012.

LIPPERT, B. Uses of metal compounds in medicine. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, Elsevier, 2013.

LIU, P. et al. Photochemical route for synthesizing atomically dispersed palladium catalysts. *Science*, 352, 797-801, 2016.

Referências

MAURYA, M. R. et al. Palladium(II) complexes of OS donor N-(di(butyl/phenyl) carbamothioyl)benzamide and their antiamoebic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 98, p.54-60, 2015.

MEDICI, S. et al. Noble metals in medicine: Latest advances. **Coord.Chem. Rev.**, v. 284, p. 329-350, 2015.

MEGURO, H. et al. Synthesis, structure, and quaternization and complexation reactions of j3SCS pincer palladium complexes having 3,5-pyridinediyl unit. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, v. 693, p. 1109-1116, Jan. 2008.

MESA-VALLE, C.M. et al. Antileishmanial Action of Organometallic Complexes of Pt(II) and Rh(I). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 91, 5, 625-633, 1996.

MESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; DONALD, A. T. **Química Inorgânica**. Tradução de Ana Júlia Perrotti-Garcia. 5 ed. Pearson Education do Brasil, 2014.

MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallo drugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chem. Rev.**, 114, 4540-4563, 2014.

MORO, A. C. **Espécies moleculares e supramoleculares de Pd (II) contendo ligantes N,S doadores: síntese e caracterização**. 2007. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2007.

MOTSWAINYANA, W.M. et al. Imino-phosphine palladium(II) and platinum(II) complexes: synthesis, molecular structures and evaluation as antitumor agents. **J. Inorg. Biochem.**, v. 129, p. 112-118, 2013.

MYCEK, M. J.; HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre, Artimed, 1998.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**, Wiley Interscience, New York, 1986.

Referências

NAVARRO, M. et al. Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 8, p. 401–408, 2003.

NAVARRO et al. Synthesis and characterization of [Au(dppz)₂]Cl₃. DNA interaction studies and biological activity against Leishmania (L) Mexicana. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 101, p. 111–116, 2007.

NIGAM, M. et al. Centchroman induces G₀/G₁ arrest and caspase-dependent apoptosis involving mitochondrial membrane depolarization in MCF-7 and MDA MB-231 human breast cancer cells. **Life Sci.**, v. 82, p. 577-590, 2008.

ODDS, F. C.; BROWN, J. P.; GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action **Trends in Microbiology**, 11, 6, 2003.

OPLUSTIL, C. P. Resistência aos antimicrobianos: assunto velho, novas preocupações. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, 2012.

PARSHALL, G. W. *Acc. Chem. Res.*, v. 3, p. 139, 1970; CAIRES, A. C. F.; MAURO, A.E. Composto cilcometalados de coordenação intramolecular. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 59, 1996.

PATOLE, J. et al. Schiff base conjugates of *p*-aminosalicylic acid as antimycobacterial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 16, 1514–1517, 2006.

PATTANAYAK, P. et al. Synthesis and characterization of palladium (II) complex of Schiff base ligand: C\N bond cleavage and catalytic activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 53, p. 68-71, 2015.

PETERS, D. H.; FRIEDEL, H. A.; McTAVISH, D. Azithromycin. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. **Drugs.**, 44, 750-99, 1992.

PUTHILIBAI, G. et al. Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemical behaviour and antibacterial activity of Ru(III) complexes of 2-[(4-*N,N'*-

Referências

dimethylaminophenylimino)-methyl]-4-halophenol. **Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 72, 4, 796-800, 2009.

REN, W. et al.; Synthesis, structure, and catalytic activity of organolanthanide complexes with chiral biaryl Schiff-base ligands. **J. Organomet. Chem.**, 758, 65, 2014

RONCONI, L., SADLER, P. J. Applications of heteronuclear NMR spectroscopy in biological and medicinal inorganic chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, p. 2239–2277, 2008.

SAEIDIFAR, M, et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity studies of a novel palladium(II) complex and evaluation of DNA-binding aspects. **Nucleosides Nucleic Acids**, v. 32, p. 366-388, 2013.

SANTOS, Z. L.; NEVES, E. A. O caráter pseudo-halogênio, pseudo-haletto. **Química Nova**. 15-20, 1984.

SARGENTELLI, V. **Síntese, estudo dos comportamentos térmico e eletroquímico e reatividade de pseudo-haletos complexos de cobre (II)**. 1996. 228 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1996.

SHELDRICK, G. M. Germany: University of Göttingen. **SHELXL97**, 1997.

SHAHEEN, F. et al. Synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity and anti-inflammatory activity of palladium(II) complexes with tertiary phosphines and heterocyclic thiolates: Crystal structure of [Pd(C₂₈H₁₉N₈ps₂)]. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, n. 693, p. 1117–1126, Jan. 2008.

SHAW, C. Gold-Based Therapeutic Agents. **Chem. Rev.**, 99, 2589-2600, 1999.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. Tradução de Roberto de Barros Faria. 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

Referências

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Spectrometric identification of organic compounds**, 7. ed. New York, p. 72-110, 2005.

SOARES, M. S. **Síntese e caracterização de complexos tricarbonilrênio(I) com bases de schiff derivadas de aminoácidos e escorpionatos derivados de tiobases**. 2013. 146 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília-UnB, Brasília (2013).

STEVANATO, A. R. **Investigação estrutural e efeitos imunológicos e tuberculostáticos de complexos de paládio(II)**. 2009. 177 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

SUMANTRAN, V. N. Cellular chemosensitivity assays: an overview. In: CREE, I.A. (ed.), **Cancer cell culture: methods and protocols** (Methods in Molecular Biology 731 Springer Protocols), 2. ed. New York: Springer-Verlag, p. 219-236, 2011.

TERESA DE JESUS. Livro da vida. 1579.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TUŠEK-BOŽC, L. et al., 2008. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(II) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. **Polyhedron**, 27, p. 1317–1328, 2008.

ULUKAYA, E. et al. Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 46, p. 4957-4963, 2011.

VASCONCELLOS, M. L. A. A. A teoria de Pearson para a disciplina de química orgânica: um exercício prático e teórico aplicado em sala de aula. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 171-175, 2014

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nat. Protoc.**, v. 1, p. 1112-1116, 2006.

Referências

WATABE, M. et al. Preparation, ^{195}Pt NMR spectra and biological activity of platinum(IV) complexes with dipeptides. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 73, p.1999, 73, 1-5, 1999.

WEISENTHAL, L. M. et al. A novel dye exclusion method for testing in vitro chemosensitivity of human tumors. **Cancer Res.**, v. 43, p. 749-757, 1983.

WEN, H. W.; YANG, P. C. Photophysical and photovoltaic properties of truxene-functionalized conjugated polymer– fullerene supramolecular complexes. **RSC Adv.**, 6, 60308–60317, 2016.

ZAYED, EM; ZAYED, MA; EL-DESAWY, M. **Spectrochim. Acta. Part A.**, 134, 155, 2015.



Anexos



ANEXOS

Anexo A - Tabela com dados cristalográficos de distância de ligação

| Ligação | | Distância | Ligação | | Distância |
|---------|-----|-----------|---------|-----|-----------|
| Pd1 | N1 | 2.024(3) | C11 | C12 | 1.461(7) |
| Pd1 | N2 | 2.031(3) | N7 | N8 | 1.181(7) |
| Pd1 | N5 | 2.065(5) | C25 | C20 | 1.375(7) |
| Pd1 | N6 | 2.071(4) | C21 | C22 | 1.363(7) |
| N2 | C26 | 1.291(5) | C21 | C20 | 1.374(8) |
| N2 | C23 | 1.434(5) | C5 | C4 | 1.370(7) |
| N1 | C9 | 1.293(5) | C12 | C17 | 1.397(7) |
| N1 | C6 | 1.429(6) | C12 | C13 | 1.400(7) |
| N4 | N5 | 1.115(6) | C7 | C8 | 1.389(7) |
| N4 | N3 | 1.190(7) | C28 | C29 | 1.448(7) |
| N6 | N7 | 1.096(6) | O1 | C19 | 1.214(7) |
| C32 | C33 | 1.357(10) | C20 | C19 | 1.515(8) |
| C32 | C31 | 1.392(10) | C3 | C8 | 1.386(7) |
| C9 | C10 | 1.429(6) | C3 | C4 | 1.403(7) |
| C27 | C28 | 1.342(6) | C3 | C2 | 1.494(8) |
| C27 | C26 | 1.430(6) | C29 | C30 | 1.389(8) |
| C24 | C23 | 1.381(6) | C29 | C34 | 1.393(7) |
| C24 | C25 | 1.397(7) | C16 | C15 | 1.373(8) |
| C23 | C22 | 1.385(6) | C16 | C17 | 1.379(7) |
| C6 | C5 | 1.397(6) | C13 | C14 | 1.378(8) |
| C6 | C7 | 1.403(6) | C2 | C1 | 1.502(9) |
| O2 | C2 | 1.208(7) | C14 | C15 | 1.374(9) |
| C10 | C11 | 1.347(6) | C34 | C33 | 1.380(8) |
| C30 | C31 | 1.389(8) | C19 | C18 | 1.483(9) |

Anexo B - Tabela com dados cristalográficos de ângulo de ligação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| N1 | Pd1 | N2 | 178.36(15) | C10 | C11 | C12 | 126.5(4) |
| N1 | Pd1 | N5 | 90.83(15) | N6 | N7 | N8 | 175.9(7) |
| N2 | Pd1 | N5 | 87.96(15) | C20 | C25 | C24 | 121.0(5) |
| N1 | Pd1 | N6 | 89.49(16) | C22 | C21 | C20 | 120.6(5) |
| N2 | Pd1 | N6 | 91.71(16) | C4 | C5 | C6 | 119.2(4) |
| N5 | Pd1 | N6 | 179.66(18) | C17 | C12 | C13 | 118.3(5) |
| C26 | N2 | C23 | 122.0(4) | C17 | C12 | C11 | 122.4(4) |
| C26 | N2 | PD1 | 123.9(3) | C13 | C12 | C11 | 119.3(5) |
| C23 | N2 | PD1 | 113.7(2) | C8 | C7 | C6 | 119.2(5) |
| C9 | N1 | C6 | 119.9(4) | C27 | C28 | C29 | 126.3(5) |
| C9 | N1 | PD1 | 122.7(3) | C21 | C22 | C23 | 120.9(5) |
| C6 | N1 | PD1 | 117.5(3) | C21 | C20 | C25 | 119.1(5) |
| N5 | N4 | N3 | 176.2(6) | C21 | C20 | C19 | 117.7(5) |
| N7 | N6 | PD1 | 116.6(4) | C25 | C20 | C19 | 123.2(5) |
| N4 | N5 | PD1 | 117.2(4) | C8 | C3 | C4 | 118.3(5) |
| C33 | C32 | C31 | 120.1(6) | C8 | C3 | C2 | 122.8(5) |
| N1 | C9 | C10 | 122.8(4) | C4 | C3 | C2 | 118.8(5) |
| C28 | C27 | C26 | 123.0(4) | C30 | C29 | C34 | 118.9(5) |
| C23 | C24 | C25 | 119.1(4) | C30 | C29 | C28 | 122.1(5) |
| C24 | C23 | C22 | 119.3(4) | C34 | C29 | C28 | 119.1(5) |
| C24 | C23 | N2 | 121.9(4) | C5 | C4 | C3 | 121.8(5) |
| C22 | C23 | N2 | 118.6(4) | C3 | C8 | C7 | 121.2(5) |
| C5 | C6 | C7 | 120.3(4) | C15 | C16 | C17 | 121.3(6) |
| C5 | C6 | N1 | 121.8(4) | C16 | C17 | C12 | 119.9(5) |
| C7 | C6 | N1 | 117.9(4) | C14 | C13 | C12 | 120.7(6) |
| N2 | C26 | C27 | 122.2(4) | O2 | C2 | C3 | 120.1(6) |
| C11 | C10 | C9 | 122.5(4) | O2 | C2 | C1 | 121.3(6) |

Continuação

| Ligação | | | Ângulo (Å) | Ligação | | | Ângulo (Å) |
|---------|-----|-----|------------|---------|-----|-----|------------|
| C3 | C2 | C1 | 118.6(5) | C18 | C19 | C20 | 118.5(5) |
| C15 | C14 | C13 | 120.4(6) | C31 | C30 | C29 | 120.1(6) |
| C33 | C34 | C29 | 120.5(6) | C32 | C33 | C34 | 120.6(6) |
| O1 | C19 | C18 | 120.8(6) | C30 | C31 | C32 | 119.9(6) |
| O1 | C19 | C20 | 120.7(6) | C16 | C15 | C14 | 119.5(6) |