

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LUÍS EDUARDO SARTO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PALÁDIO (II)
COM IMINAS: ASPECTOS ESTRUTURAIS E ATIVIDADE
CITOTÓXICA EM ADENOCARCINOMA MAMÁRIO HUMANO.**

**Alfenas - MG
2014**

LUÍS EDUARDO SARTO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PALÁDIO (II)
COM IMINAS: ASPECTOS ESTRUTURAIS E ATIVIDADE
CITOTÓXICA EM ADENOCARCINOMA MAMÁRIO HUMANO.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a conclusão do curso de mestrado em Química da Universidade Federal de Alfenas.
Área de concentração: Química Inorgânica
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida.
Co-orientadora: Profa. Dra. Claudia Torres

**Alfenas - MG
2014**

Sarto, Luís Eduardo.

Síntese e caracterização de complexos de paládio (II) com iminas: aspectos estruturais e atividade citotóxica em adenocarcinoma mamário humano / Luís Eduardo Sarto, Alfenas, MG. - 2014.

96 f. -

Orientador: Eduardo Tonon de Almeida

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2014.

Bibliografia.

1. Paládio. 2. Bases de Schiff. 3. Cancêr da mama. I. Almeida, Eduardo Tonon de. II. Título.

CDD: 546.636

Luís Eduardo Sarto

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE PALÁDIO (II)
COM IMINAS. ASPECTOS ESTRUTURAIS E ATIVIDADE
CITOTÓXICA EM ADENOCARCINOMA MAMÁRIO HUMANO.**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica

Aprovado em: 21 de fevereiro de 2014

Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Instituição: UNESP - Araraquara - SP

Assinatura: 

Profa. Dra. Maria Vanda Marinho

Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 
Assinatura:

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida

Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade antitumoral de cinco novos complexos mononucleares de paládio(II) a partir do ligante (*N,N'*-Bis(4-dimetilaminobenzilideno)-etano-1,2-diamina (*p*-diben). Reagiu-se o ligante *p*-diben com o composto $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$, sintetizado *in situ*, originando o composto $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$. Foram conduzidas reações de substituição regioespecífica dos cloros do desse composto por pseudoaletos e haletos. As reações do complexo $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ com NaN_3 , KNCO , KBr e KI originaram, respectivamente, os compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\textit{p}\text{-diben})]$, $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$, $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ e $[\text{PdI}_2(\textit{p}\text{-diben})]$. Os produtos das sínteses realizadas foram caracterizados utilizando espectroscopias vibracional na região do infravermelho e eletrônica na região do Ultravioleta e do visível, Ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , análise elementar (CHN), análise térmica e, exclusivamente para o composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\textit{p}\text{-diben})]$, difratometria de raios X por monocristal. Os resultados sugerem a formação de um complexo quelato, onde o paládio se liga ao composto *p*-diben através dos dois nitrogênios das iminas. Com a complexação, o caráter de dupla ligação de $\text{C}=\text{N}$ diminui, possibilitando a rotação desta para minimizar efeitos estéricos. Esse fenômeno é denominado de isomerismo E/Z. Todos os complexos e o ligante *p*-diben foram submetidos a ensaios de interação com o DNA e de modificação da morfologia celular de células de adenocarcinoma mamário humano do tipo MCF-7. Verificou-se que o ligante livre não apresentou efeito significativo sobre as células citadas, além de mostrar resultados para a interação com o DNA comparáveis aos do controle negativo. Já os complexos sintetizados se mostraram potenciais agentes citotóxicos frente às células MCF-7, merecendo destaque os compostos $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$, que apresentaram, qualitativamente, citotoxicidade maior do que a da cisplatina. Para as interações com DNA, novamente destacou-se o composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$, indicando que um possível mecanismo de ação desse composto é a ligação direta com o DNA.

Palavras-chave: Complexos de paládio(II). Base de Schiff. Isomerização E/Z de imina. Adenocarcinoma mamário humano.

ABSTRACT

This work presents the synthesis, structural characterization and verification of anticarcinogenic activity of five new mononuclear complexes of palladium(II) from the ligand *N,N'*-Bis[4-(dimethylamino)benzylidene]-ethane-1,2-diamine (*p*-diben). The ligand is reacted with *one-pot* synthesized $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$ to give compound $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$. The chlorides of this compound were substituted regiospecifically by pseudohalides and halides, by reaction with NaN_3 , KNCO , KBr and KI forming the compounds $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\textit{p}\text{-diben})]$, $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$, $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ and $[\text{PdI}_2(\textit{p}\text{-diben})]$, respectively. All compounds were characterized by infrared vibrational and UV-Vis electronic spectroscopies, elemental analysis, ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance, thermal analysis and, only to compound $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(\textit{p}\text{-diben})]$, single crystal X-ray diffraction. The results indicate the formation of the *N,N*-chelated products, where palladium(II) binds by imines nitrogen. Furthermore, coordination causes a decrease in the double bond character of $\text{C}=\text{N}$, facilitating rotation to minimize the steric hindrance. This effect is referred to as imine *E/Z* isomerization. All the complexes and ligand *p*-diben were tested for DNA interaction and modification of cell morphology of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. It was found that the free ligand did not show significant effect on the mentioned cells and showed results for the DNA interaction comparable to the negative control. The synthesized complexes showed cytotoxic potential across the MCF-7 cells. Compounds $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ and $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$ showed qualitative cytotoxicity greater than that of cisplatin. For DNA interaction, the compound $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\textit{p}\text{-diben})]$ stood out, indicating that a possible action mechanism of this compound is direct DNA binding.

Key words: Palladium(II) complexes. Schiff base. Imine *E/Z* isomerization. Human breast adenocarcinoma.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura da Cisplatina.	12
FIGURA 2 - Diagrama de níveis de energia para um campo octaédrico e para um quadrado plano	14
FIGURA 3 - Representação esquemática de formação de um anel ciclometalado	15
FIGURA 4 - Representação do mecanismo geral de síntese de uma imina.	16
FIGURA 5 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2012 por sexo, exceto pele não melanoma	17
FIGURA 6 - Efeito da cisplatina na síntese de DNA, RNA e proteína, no período de 6 horas após a administração da Cisplatina.....	19
FIGURA 7 - Efeito da cisplatina na síntese de DNA, RNA e proteína, no período de 96 horas após a administração da Cisplatina.....	19
FIGURA 8 - Interação Cisplatina-DNA com formação de um fosfato complexo cíclico.	20
FIGURA 9 - Drogas DNA-intercaladoras.	21
FIGURA 10 - Esquema de intercalação no DNA.....	21
FIGURA 11 - Esquema reacional entre o 4-etilbenzaldeído e a etilenodiamina na proporção estequiométrica 2:1.....	26
FIGURA 12 - Composto <i>p</i> -diben	27
FIGURA 13 - Representação da estrutura alvo da reação de complexação	28
FIGURA 14 - Esquema do método de Parshall adaptado para Imina.....	29
FIGURA 15 - Modos de complexação entre uma diimina e um metal.....	29
FIGURA 16 - Representação da reação de formação do $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$	30
FIGURA 17 - Composto $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$	31
FIGURA 18 - Composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$	33
FIGURA 19 - Composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$	33
FIGURA 20 - Composto $[\text{PdBr}_2(p\text{-diben})]$	34
FIGURA 21 - Composto $[\text{PdBr}_2(p\text{-diben})]$	35
FIGURA 22 - Pastilhas utilizadas no experimento IV	36
FIGURA 23 - Espectro UV-Vis do composto <i>p</i> -diben	41

FIGURA 24 - Espectro IV do reagente etilenodiamina	43
FIGURA 25 - Espectro IV do reagente 4-dimetilaminobenzaldeído	43
FIGURA 26 - Espectro IV do composto <i>p</i> -diben.....	44
FIGURA 27 - Espectro RMN ¹ H do composto <i>p</i> -diben em CDCl ₃	45
FIGURA 28 - Espectro RMN ¹³ C do composto <i>p</i> -diben em CDCl ₃	46
FIGURA 29 - Curva TG-DTA do composto <i>p</i> -diben	47
FIGURA 30 - Comparação entre os espectros UV-Vis dos compostos <i>p</i> -diben e [PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)].....	48
FIGURA 31 - Espectro UV-Vis do composto Li ₂ [PdCl ₄].....	49
FIGURA 32 - Comparação entre os espectros IV dos compostos <i>p</i> -diben e [PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)].....	50
FIGURA 33 - Destaque da sobreposição das bandas dos estiramentos das ligações C=N e do anel aromático	51
FIGURA 34 - Mecanismo de Isomerização E/Z de imina	52
FIGURA 35 - Espectro RMN ¹ H do composto [PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	53
FIGURA 36 - Espectro RMN ¹³ C do composto [PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	54
FIGURA 37 - “Puff carbônico”	55
FIGURA 38 - TG-DTA do composto [PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)]	55
FIGURA 39 - Espectro UV-Vis do composto [Pd(N ₃) ₂ (<i>p</i> -diben)].....	57
FIGURA 40 - Espectro UV-Vis do composto [Pd(NCO) ₂ (<i>p</i> -diben)].....	57
FIGURA 41 - Estiramentos ativos no IV dos pseudohaletos	58
FIGURA 42 - Principais modo de coordenação da azida	59
FIGURA 43 - Modos de coordenação mais comuns para o íon cianato.....	60
FIGURA 44 - Comparação entre os espectros IV do complexo com Cl ⁻ , N ₃ ⁻ e NCO ⁻	61
FIGURA 45 - Espectro RMN ¹ H do composto [Pd(N ₃) ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	62
FIGURA 46 - Espectro RMN ¹ H do composto [Pd(N ₃) ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	63
FIGURA 47 - Espectro RMN ¹ H do composto [Pd(NCO) ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	64
FIGURA 48 - Espectro RMN ¹³ C do composto [Pd(NCO) ₂ (<i>p</i> -diben)] em DMSO-d ₆	64
FIGURA 49 - Monocristal obtido do composto [Pd(N ₃) ₂ (<i>p</i> -diben)]	65

FIGURA 50 - Representação Ortep do complexo $[Pd(N_3)_2(p\text{-diben})]$ com elipsoides representando 50% de probabilidade, sendo os átomos de hidrogênio omitidos para melhor visualização do composto.	66
FIGURA 51 - Empacotamento molecular do composto $[Pd(N_3)_2(p\text{-diben})]$ na cela. com omissão dos átomos de hidrogênio	66
FIGURA 52 - Plano traçado entre os átomos de nitrogênio ligados ao paládio	67
FIGURA 53 - Espectros UV-Vis dos compostos $[PdBr_2(p\text{-diben})]$ e $[PdI_2(p\text{-diben})]$	69
FIGURA 54 - Comparação entre os espectros IV dos compostos com Cl^- , Br^- , e I^-	70
FIGURA 55 - Espectro RMN 1H do composto $[PdBr_2(p\text{-diben})]$ em $DMSO-d_6$	71
FIGURA 56 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[PdBr_2(p\text{-diben})]$ em $DMSO-d_6$	71
FIGURA 57 - Espectro RMN 1H do composto $[PdI_2(p\text{-diben})]$ em $DMSO-d_6$	72
FIGURA 58 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[PdI_2(p\text{-diben})]$ em $DMSO-d_6$	73
FIGURA 59 - Morfologia das células MCF-7 controle (A) e tratadas (B-H) por 24 h (a) e por 48 h (b), com compostos a $5\mu M$, coradas com hematoxilina-eosina. Cisplatina (B); LC (C), CCl (D), CBr (E), Cl (F), CN_3 (G) e CNCO (H). Barra = $5\mu m$	74
FIGURA 60 - Eletroforese em gel de agarose de DNA do plasmídeo. 1, marcador $\lambda/Hind III$; 2, controle; 3, LC; 4, cisplatina; 5, CCl; 6, CBr; 7, Cl; 8, CN_3 ; 9, CNCO	76
FIGURA 61 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto	77
FIGURA 62 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto	77
FIGURA 63 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto $[PdBr_2(p\text{-diben})]$	78
FIGURA 64 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto $[PdI_2(p\text{-diben})]$	78
FIGURA 65 - Efeito causado pelo grupo ativador $-N(CH_3)_2$	80
FIGURA 66 - Simulação do potencial de ionização dos átomos do ligante $p\text{-diben}$, onde a cor vermelha representa os sítios mais ionizáveis.	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Solventes utilizados nas reações	24
TABELA 2 - Reagentes utilizados nas sínteses	25
TABELA 3 - Classificação de alguns ácidos e bases de acordo com a teoria de Pearson.....	32
TABELA 4 - Relação entre letras representadas na figura e composição das pastilhas	36
TABELA 5 - Valores do Número de onda (cm^{-1}) no espectro Infravermelho dos estiramentos assimétricos para os diferentes modos de coordenação da azida	59
TABELA 6 - Valores do Número de onda (cm^{-1}) no espectro Infravermelho dos estiramentos assimétricos para os diferentes modos de coordenação do cianato	60
TABELA 7 - Dados Cristalográficos	65
TABELA 8 - Distância dos átomos coordenados ao metal ao plano traçado	67
TABELA 9 - Dados cristalográficos de ângulos de ligação	68
TABELA 10 - Codificação utilizada nos testes biológicos para os compostos sintetizados	73
TABELA 11 - Efeito dos substituintes na substituição aromática eletrofílica	79

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	HISTÓRICO DO USO DE METAIS DE TRANSIÇÃO NA MEDICINA.	12
1.2	COMPLEXOS DE PALÁDIO(II)	13
1.3	LIGANTES	15
1.4	ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER DE MAMA	16
1.5	MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES ANTITUMORAIS DE PALÁDIO E PLATINA.....	18
2	JUSTIFICATIVA	22
3	OBJETIVOS	23
4	PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1	SOLVENTES E REAGENTES.....	24
4.2	SÍNTESE DOS COMPOSTOS	25
4.2.1	Síntese do composto N,N'-Bis(4-dimetilaminobenzilideno)-etano-1,2-diamina (p-diben)	25
4.2.2	Síntese de Complexos de Paládio (II)	27
4.2.3	Substituições Regioespecíficas	31
4.2.3.1	Síntese do Composto [Pd(N ₃) ₂ (p-diben)]	32
4.2.3.2	Síntese do Composto [Pd(NCO) ₂ (p-diben)]	33
4.2.3.3	Síntese do Composto [PdBr ₂ (p-diben)].....	34
4.2.3.4	Síntese do Composto [PdI ₂ (p-diben)]	34
4.3	CARACTERIZAÇÃO.....	35
4.3.1	Análise térmica	35
4.3.2	Ponto de fusão	35
4.3.3	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	36
4.3.4	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta ou visível	36
4.3.5	Análise elementar CHN	37
4.3.6	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	37
4.3.7	Difração de Raios X de monocristal	37
4.4	ENSAIOS BIOLÓGICOS	38

4.4.1	Cultivo e tratamento das células.....	38
4.4.2	Análise morfológica	39
4.4.3	Avaliação da fragmentação do DNA	39
5	ANÁLISE DOS RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
5.1	CARACTERIZAÇÃO.....	40
5.1.1	Ligante nitrogenado p-diben	40
5.1.1.1	Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis	40
5.1.1.2	Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho	41
5.1.1.3	Ressonância Magnética Nuclear	44
5.1.1.4	Análise térmica	46
5.1.2	Composto [Pd(p-diben)Cl₂].....	47
5.1.2.1	Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis	48
5.1.2.2	Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho	49
5.1.2.3	Ressonância Magnética Nuclear	51
5.1.2.4	Análise térmica	54
5.1.3	Compostos [Pd(N₃)₂(p-diben)] e [Pd(NCO)₂(p-diben)]	56
5.1.3.1	Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis	56
5.1.3.2	Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho	58
5.1.3.3	Ressonância Magnética Nuclear	61
5.1.3.4	Difração de raios X por monocristal.....	65
5.1.4	Compostos [PdBr₂(p-diben)] e [PdI₂(p-diben)].....	68
5.1.4.1	Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis	69
5.1.4.2	Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho	69
5.1.4.3	Ressonância Magnética Nuclear	70
5.2	ENSAIOS BIOLÓGICOS	73
5.3	DISCUSSÕES.....	76
6	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
	ANEXOS	91

1 INTRODUÇÃO

Muitos metais de transição apresentam suma importância em organismos vivos, visto que esses interagem com moléculas biológicas, tais como proteínas e o próprio DNA, além de apresentarem afinidade com moléculas essenciais para a manutenção da vida, como O_2 e NO (BERALDO, 2005). Essas interações são explicadas pelo fato de essas moléculas serem compostos ricos em elétrons, caracterizando-se como uma base de Lewis, enquanto que os metais são deficientes em elétrons, portanto ácidos de Lewis, fazendo com que esse tipo de interação seja favorável (SHRIVER; ATKINS, 2008). Esses compostos estão envolvidos em vários processos vitais para os organismos, como o transporte de oxigênio, no qual estão envolvidos os íons Fe^{2+} (na maioria dos animais) e Cu^{2+} (alguns moluscos e artrópodes) (SOLOMON; RANDALL; GLASER, 2000) e como agentes estruturantes, onde se destacam o zinco, o ferro, manganês, níquel e cobre (CHRISTIANSON, 1997). Porém, a interação entre os metais de transição e moléculas bionucleófilas faz com que alguns desses metais sejam tóxicos, o que inibiu estudos mais aprofundados a respeito da introdução desses compostos como agentes biológicos na forma de fármacos (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007).

Contudo, nas últimas décadas, estudos a respeito da atividade biológica dos metais de transição vêm sendo desenvolvidos, principalmente após a descoberta da atividade antineoplásica da cisplatina pelo professor Barnett Rosenberg, em 1964. A partir dessa descoberta, intensificou-se o interesse no desenvolvimento de novos complexos de metais de transição com atividade farmacológica e em seus mecanismos de ação dentro do organismo (BERALDO, 2005).

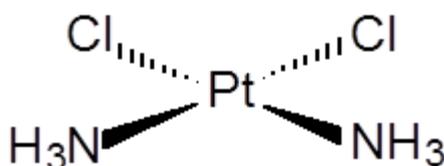
Além do tratamento de moléstias, os complexos de metais de transição apresentam variadas aplicações, como em catálise (DJAKOVITCH, et al, 2004), fotoquímica (CRAIG; WATTS, 1989; WAKATSUKI, 1985), na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos (ESPINET, et al, 1993), síntese orgânica (NAVARRO-RANNINGER, et al. 1999), entre outras. Nesse contexto, o paládio vem se destacando, por apresentar alta aplicabilidade em vários dos exemplos citados, o que demonstra a versatilidade de seus complexos.

1.1 HISTÓRICO DO USO DE METAIS DE TRANSIÇÃO NA MEDICINA.

Os estudos a respeito do mecanismo de ação dos metais de transição no organismo são recentes, porém a aplicação destes como agentes biológicos já vem sendo praticada há aproximadamente 5000 anos. Por volta de 3500 a.C., os egípcios já utilizavam cobre no tratamento de água, mesmo sem eficácia comprovada (MERCHANT, 1998). No mesmo Egito, em aproximadamente 1500 a.C., vários compostos à base de ferro já eram utilizados como fármacos, e, na mesma época, foi descoberto que zinco promovia a cicatrização de feridas (STOCHEL, et al, 1998). As primeiras referências da utilização do ouro como agente medicinal são datadas de 3000 a.C. na China e no Oriente Médio (CORNELIS; BORGUET; KIMPE, 1993). Porém, somente no final do século XIX foram confirmados os efeitos farmacológicos de sais de ouro ($K[Au(CN)_2]$) no tratamento de tuberculose. Desde então, vários compostos que possuem ouro em sua composição passaram a ser utilizados no tratamento da tuberculose e ainda são utilizados no tratamento de algumas inflamações (GRAY, 2003).

Descoberta praticamente de maneira acidental, pelo físico Barnet Rosenberg enquanto estudava o efeito de um campo elétrico sobre uma colônia de bactérias, utilizando sais de amônio e eletrodos de platina, a Cisplatina (FIGURA 1) passou a ser objeto de estudo pelo fato de apresentar alta atividade como agente antitumoral. Essa foi o primeiro fármaco antitumoral descoberto que continha um metal. O novo fármaco se mostrou eficiente em tumores de testículos, ovário, endométrio, pescoço, cabeça, bexiga, pulmões, linfomas, mama, esôfago, estômago e leucemia (GUERRA, et al, 2007).

FIGURA 1 - Estrutura da Cisplatina.



Fonte: Do autor

Depois desse trabalho pioneiro de Rosenberg, um número enorme de complexos metálicos, principalmente de platina, foi estudado, pois se constatou que

a cisplatina, em dose muito alta, produzia efeitos colaterais, como lesões nos rins, mal-estar, tontura, náuseas e vômito (GUERRA, et al, 2007).

Atualmente, além da cisplatina, vários outros compostos contendo metais são utilizados na medicina: o pentacianonitroferrato (II) $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{3-}$ é utilizado no controle de pressão arterial (TORSONI, et al, 2002); como agentes anti-infecciosos são utilizados complexos de antimônio (V) e de ferro (III) (HALDAR; SEN; ROY, 2011; WEINBERG, 2009) compostos de bismuto já são utilizados no tratamento de distúrbios gastrointestinais há alguns anos (REPETTO; LLESUY, 2002). São utilizados também como marcadores radioativos, nos quais se destacam $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Cr , ^{201}Tl e ^{169}Yb (MALDONADO, et al, 2013), e como agentes contrastantes em Ressonância Magnética Nuclear, onde se destacam o Gd (III) e Mn(III) (QUE; CHANG, 2010)

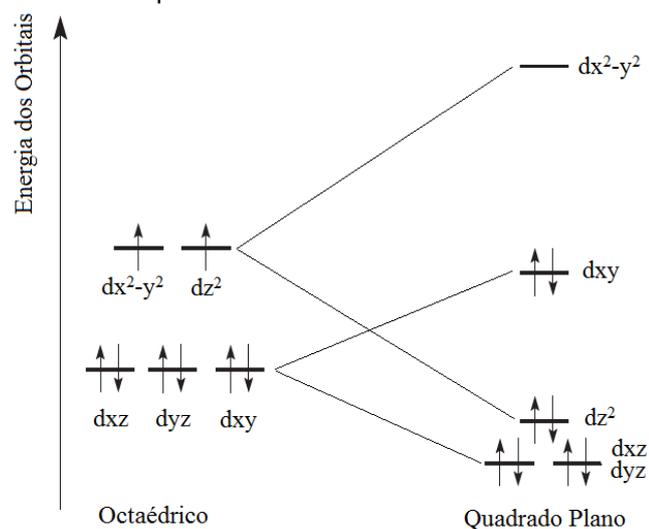
1.2 COMPLEXOS DE PALÁDIO(II)

O paládio é um elemento químico pertencente à classe dos metais de transição de configuração eletrônica $[\text{Kr}]4\text{d}^8$, localizado no grupo 10 na Tabela Periódica, juntamente com Níquel e a Platina. Esse elemento foi isolado pela primeira vez em 1803, pelo cientista inglês Willian Hyde Wollaston, durante suas pesquisas a respeito da purificação de platina. Nesse processo ele isolou um elemento desconhecido e o deu o nome de *palladium*, em homenagem ao asteróide *pallas* (ALVES; SILVA; GUERRA, 2010).

De acordo com a Teoria do Campo Cristalino, o íon paládio (II) se coordena através de quatro sítios (tetracoordenante) e apresenta geometria quadrado plana. Isso é explicado pelo fato de esse cátion metálico apresentar configuração eletrônica d^8 . Isso impede a coordenação de mais ligantes de maneira efetiva. Analisando estruturalmente, a aproximação de quatro ligantes através dos eixos x e y, sobre o orbital $\text{dx}^2\text{-y}^2$ desloca a densidade eletrônica desses orbitais para o orbital dz^2 . Isso causa uma repulsão dos ligantes que tentam se aproximar pelo eixo z. Como não ocorre, portanto, a ligação no eixo desse orbital ele tem sua energia diminuída. Já o orbital $\text{dx}^2\text{-y}^2$, que interage frontalmente com os quatro ligantes, tem sua energia aumentada. Também por esse fator, o orbital dxy se torna mais energético que os

orbitais dxz e dyz . Com isso, é possível explicar o desdobramento apresentado na FIGURA 2, a partir de uma estrutura octaédrica (HOUSECROFT; SHARPE, 2005).

FIGURA 2 - Diagrama de níveis de energia para um campo octaédrico e para um quadrado plano



Fonte: Do autor

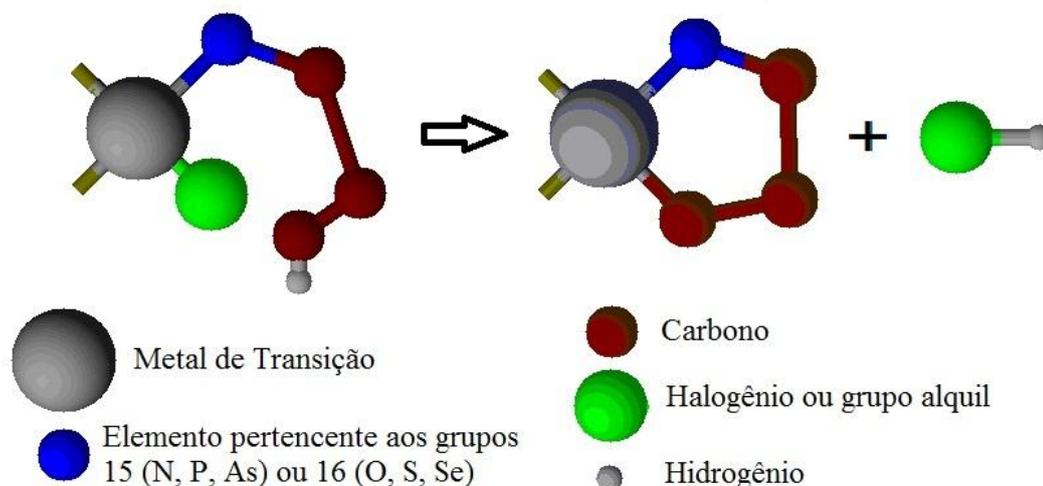
Na indústria química e farmacêutica, o paládio é utilizado como catalisador de reações de hidrogenação (TEIXEIRA; BARBOSA, 2007). Na petrolífera, esse metal é importante no processo de catálise de frações de petróleo destilado (HRDLICKA, 2008). Ele também é utilizado em joalheria, como descolorante do ouro, originando o denominado “ouro branco”. Além dessas aplicações, esse elemento é utilizado em odontologia, na composição de coroas dentárias e de instrumentos cirúrgicos (GHAUCH; TUGAN, 2009).

Estudos a respeito da atividade biológica de compostos contendo esse metal também vêm sendo desenvolvidos, principalmente pelo fato de este ter configuração eletrônica semelhante a da platina, fazendo com que complexos de paládio e de platina apresentem coordenação e geometria muito semelhantes (BOZIC, et al, 2008), e de apresentar menos efeitos colaterais (CAVALCANTE, et al, 2008).

Muitos artigos contemplam o envolvimento deste metal na composição das espécies organometálicas (MELBY, 2002) denominada ciclopaladados. Essas espécies caracterizam-se por ter pelo menos uma ligação metal-carbono e outra ligação de coordenação envolvendo um átomo doador de elétrons, pertencentes ao

grupo 15 ou 16 da tabela periódica (FIGURA 3). O ligante orgânico coordenado ao centro metálico forma então um anel quelato (RABELLO; ORSINI; DISCH, 2003).

FIGURA 3 - Representação esquemática de formação de um anel ciclometalado



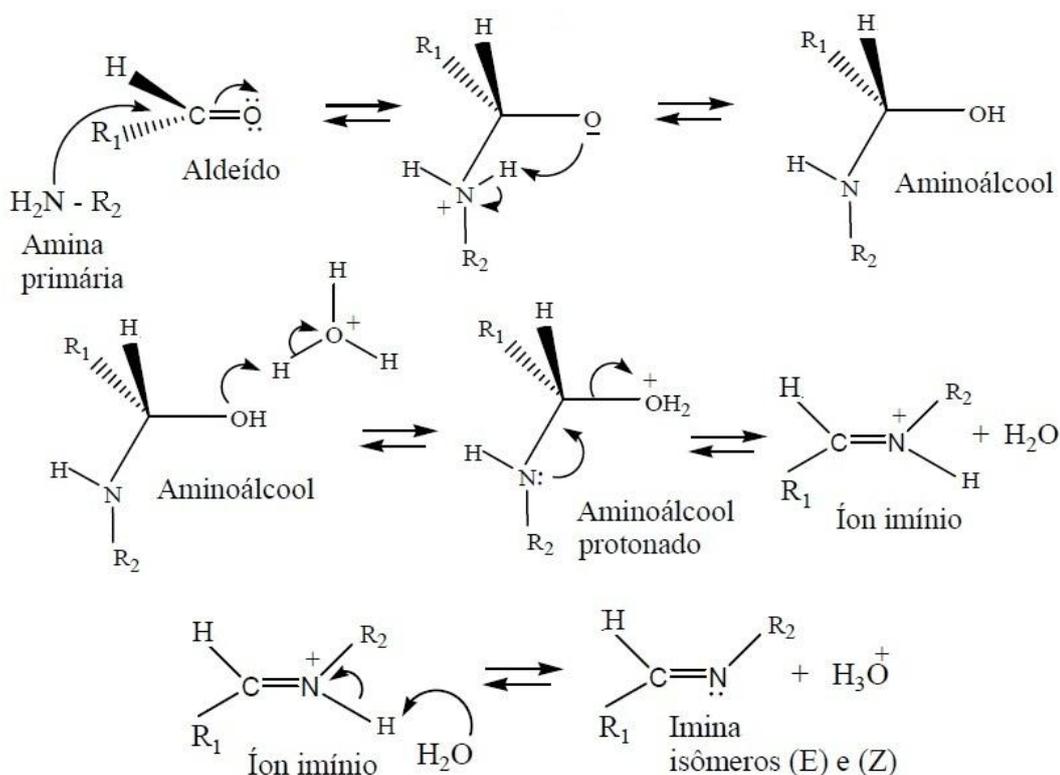
Fonte: Do autor

1.3 LIGANTES

A utilização de ligantes diferentes pode modificar a ação de determinado metal no meio biológico. Devido a esse fato, a busca por novos ligantes para a formação de compostos de coordenação é um campo de pesquisa crescente (BRAGA; LUDTKE; ALBERTO, 2006). Utilizando como exemplo a cisplatina, podemos caracterizar os ligantes como abandonadores, sendo haletos e carboxilatos os mais comuns, e ligantes não abandonadores, que acompanham o metal até o interior da célula para interagir com o DNA, dos quais se destacam as iminas (GUERRA, et al, 2007), que são moléculas que apresentam a ligação (-C=N-).

Compostos caracterizados pela presença de pelo menos um grupo funcional imina são denominados bases de Schiff. Esses compostos são derivados da reação de condensação entre a carbonila de um grupo aldeído ou cetona e uma amina primária, catalisada por ácido, como demonstrado no mecanismo a seguir (FIGURA 4). Essas bases têm grande importância na química de coordenação, pois, pelo fato de os grupos imínicos serem bons ligantes, formam uma importante classe de ligantes quelatos (DHARMARAJ; VISWANATHAMURTHI; NATARAJAN, 2001).

FIGURA 4 - Representação do mecanismo geral de síntese de uma imina.



Fonte: Do autor

Observa-se através do mecanismo elucidado acima, a possibilidade de formação de dois isômeros (E e Z) para a imina. Esse é minimizado quando os substituintes R_1 e R_2 apresentam um volume relativamente grande o que favorece a formação do isômero (E), por causa do impedimento estérico entre esses dois grupos substituintes (SOLOMONS; FRUHLE, 2001). Esse tipo de reação é facilitado por catálise ácida, o que favorece a desidratação.

1.4 ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER DE MAMA

O Câncer, classificado como um conjunto de doenças caracterizadas pela multiplicação descontrolada de células anormais, tornou-se um problema de saúde pública mundial, devido ao grande aumento de sua incidência e aos danos causados por este, não somente ao doente, mas também a seus familiares (ANDERSON, 2010). É a segunda maior causa de morte nos países industrializados, perdendo

somente para as doenças cardiovasculares (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005). A Organização Mundial da Saúde estima que em 2030 podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes, causadas por este, e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer (BRASIL, 2011).

A estimativa para o ano de 2012, que se aplica também ao ano de 2013, aponta a ocorrência, no Brasil de aproximadamente 518 mil novos casos de câncer incluindo os casos de câncer de pele não-melanoma (apresenta mais alta incidência, correspondendo a 25% dos tumores malignos, e mais baixa mortalidade, sendo de fácil tratamento quando diagnosticado precocemente) (BRASIL, 2012). Excluindo esse tipo de câncer, estima-se 385 mil novos casos para esse período. O tipo mais incidente será o de pele não melanoma, para ambos os sexos. Analisando cada sexo individualmente e desconsiderando o câncer de pele não melanoma, é notável que entre os homens o câncer de próstata é o que apresenta maior estimativa de incidência, enquanto que para as mulheres esse posto é ocupado pelo câncer de mama (FIGURA 5) (BRASIL, 2011).

FIGURA 5 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2012 por sexo, exceto pele não melanoma

Homens			Mulheres		
Localização primária	casos novos	percentual	Localização primária	casos novos	percentual
Próstata	60.180	30,8%	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, 2011

O câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres de todo o mundo, sendo que cerca de 1,4 milhão de novos casos foram estimados para o ano de 2008, o que corresponde a 23% de todos os tipos de câncer (*Ibid.*). O aumento da probabilidade de se desenvolver essa neoplasia está relacionado com o avanço da idade, principalmente até os 50 anos. Após essa idade, esse aumento ocorre de maneira mais lenta. Além desse fator, outros merecem destaques como fatores de

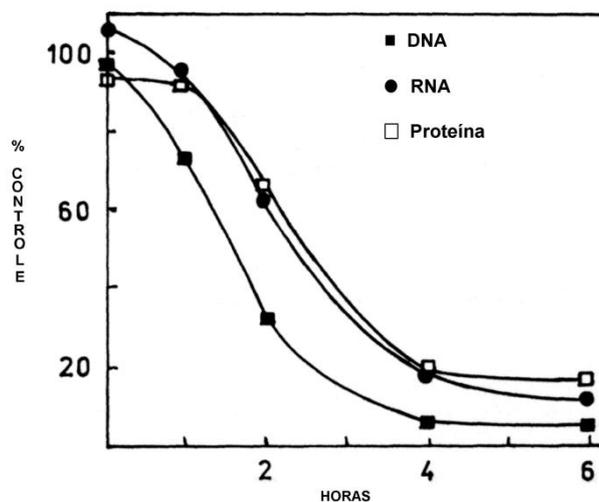
risco para o desenvolvimento desse tipo de câncer, como a menarca precoce, primeira gestação após os 30 anos, uso de anticoncepcionais orais, menopausa tardia, terapia de reposição hormonal e o histórico familiar de câncer de mama (*Ibid.*). Pode-se relacionar, também, o desenvolvimento dessa doença à exposição a raios ionizantes, mesmo em doses muito baixas, principalmente na adolescência (PINHO; COUTINHO, 2007) e a fatores genéticos, pois genes responsáveis pela regulação, metabolismo hormonal e reparo de DNA podem sofrer alterações e aumentar o risco de câncer (BRASIL, 2011).

O tratamento para essa doença ainda está muito longe de ser satisfatório. A quimioterapia, que é a administração de medicamento com o intuito de destruir as células cancerígenas, acarreta uma série de efeitos colaterais, como fadiga excessiva, queda de cabelos e pêlos, enjôo e vômito. O outro tratamento muito difundido é a radioterapia, que utiliza radiação para eliminar ou inibir o crescimento do tumor, também é caracterizado pelos efeitos colaterais, como cansaço, dificuldade na alimentação e reações da pele à radiação (BRASIL, 2012).

1.5 MECANISMO DE AÇÃO DOS AGENTES ANTITUMORAIS DE PALÁDIO E PLATINA

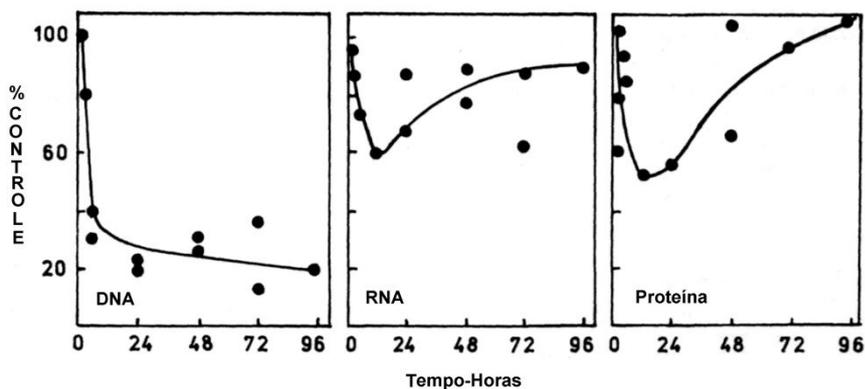
Muitas evidências, relacionadas ao mecanismo da ação de drogas antineoplásicas a base de metais de transição, estão fundamentadas nas interações dos complexos destes metais com o DNA. Gale e Howle (1970) estudaram a incorporação dos precursores timidina-³H (um precursor de DNA), uridina-³H (um precursor de RNA) e L-leucina-³H (um precursor de proteína), marcados isotopicamente, em células tumorais, *in vitro*, provenientes de camundongos tratados com o primeiro quimioterápico sintetizado, a cisplatina. Inicialmente todas estas espécies foram incorporadas, mas subsequentemente, as taxas de uridina e L-leucina retornaram aos valores iniciais de controle. Este experimento demonstrou claramente uma inibição seletiva na síntese de DNA pela cisplatina, quando comparada à síntese de RNA e proteína (FIGURAS 6 e 7).

FIGURA 6 - Efeito da cisplatina na síntese de DNA, RNA e proteína, no período de 6 horas após a administração da Cisplatina.



Fonte: GALE;HOWLE, 1970

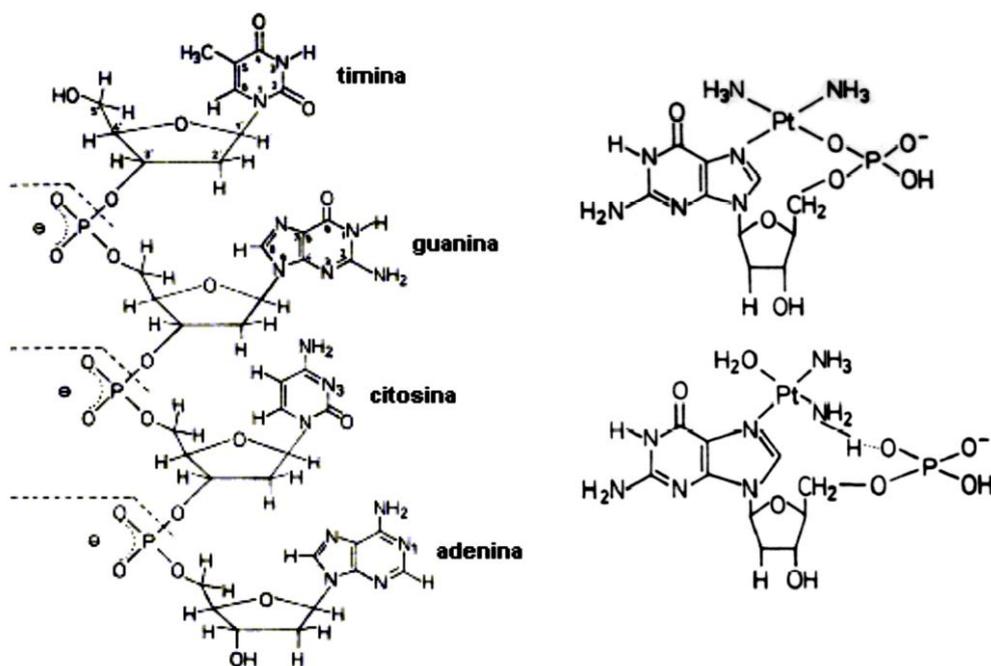
FIGURA 7 - Efeito da cisplatina na síntese de DNA, RNA e proteína, no período de 96 horas após a administração da Cisplatina.



Fonte: GALE; HOWLE, 1970

Alguns mecanismos foram propostos para justificar como a cisplatina interage com o DNA. Um deles consiste na formação de um complexo com os fosfatos presentes nas hélices de DNA (MCAULIFFE; SHARMA; TINKER, 1991), causando uma mudança na estrutura desse e impedindo sua replicação (FIGURA 8).

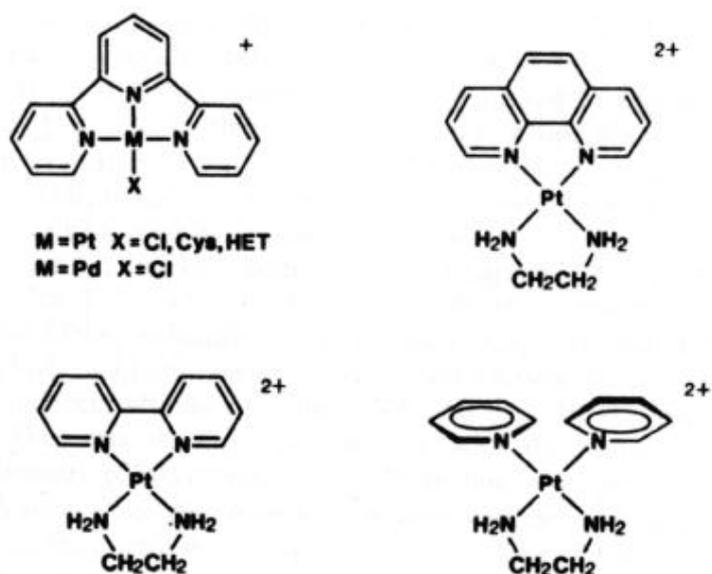
FIGURA 8 - Interação Cisplatina-DNA com formação de um fosfato complexo cíclico.



Fonte: MCAULIFFE; SHARMA; TINKER, 1991

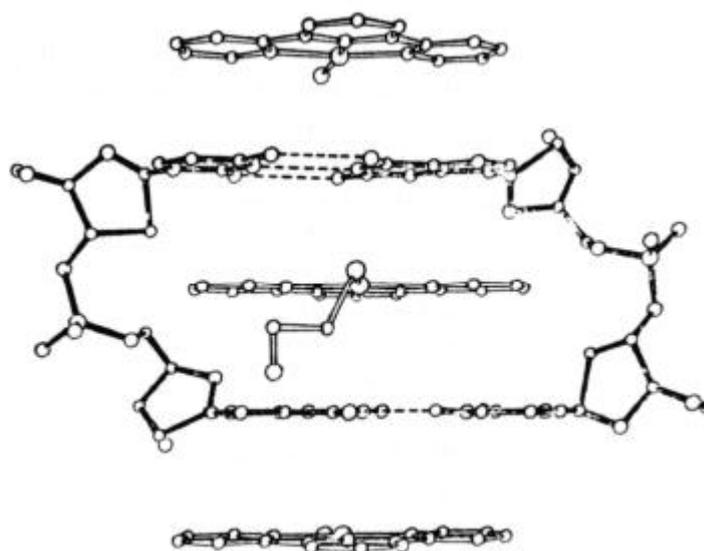
Outro mecanismo de interação proposto é o de drogas que agem como intercaladoras. Essas se inserem entre os pares de bases nitrogenadas vizinhas no DNA, através de forças de Van der Waals (FIGURA 10), pelo fato de apresentarem estruturas altamente planares (FIGURA 9) (FARRELL, 1989).

FIGURA 9 - Drogas DNA-intercaladoras.



Fonte: FARREL, 1989

FIGURA 10 - Esquema de intercalação no DNA.



Fonte: FARREL, 1989

2 JUSTIFICATIVA

O câncer é um problema de saúde pública mundial pois este acarreta consequências não somente para o sujeito doente, mas também para seus familiares e, logo, para toda a sociedade. O tratamento dessa doença vem se tornando mais efetivo ao longo dos anos, entretanto está longe de ser satisfatório, visto que as metodologias convencionais, como quimioterapia e radioterapia acarretam grande debilitação ao paciente submetido a elas. Um dos compostos utilizados na quimioterapia, por apresentar alta atividade contra as células cancerosas é a Cisplatina. Porém esta apresenta uma toxicidade elevada, o que agrava o estado de debilitação do paciente que a recebe em seu tratamento.

Esse fato propicia que novos estudos com o intuito de planejar um novo composto, que apresente uma atividade antineoplásica satisfatória aliada a uma menor toxicidade, sejam desenvolvidos. Nesses estudos, compostos contendo paládio (II) como íon central vêm se destacando, pelo fato de ele e a platina (II) apresentarem configurações eletrônicas semelhantes e, por causa disso, apresentam geometria de complexação muito semelhantes. Além disso, complexos de paládio (II) também apresentam uma menor toxicidade, o que favorece ainda mais estudos a respeito da atividade farmacológica desse metal.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho contemplou os seguintes objetivos:

- a) Síntese e caracterização do ligante imínico *p*-diben;
- b) Síntese e caracterização de um novo cloro-complexo de paládio (II) a partir da reação entre o precursor $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$ e o ligante sintetizado;
- c) Substituição regioespecífica do cloro no composto sintetizado por outros ligantes aniônicos (Br^- , I^- , N_3^- e NCO^-) para a formação de novos complexos;
- d) Caracterização dos complexos sintetizados pelas substituições regioespecíficas;
- e) Verificação da ação citotóxica dos compostos sintetizados frente a células de adenocarcinoma mamário humano, com o intuito de avaliar as potencialidades biológicas dos novos compostos.

4 PARTE EXPERIMENTAL

Este capítulo aborda os procedimentos experimentais realizados durante o trabalho, além de apresentar todos os reagentes e a instrumentação utilizada.

4.1 SOLVENTES E REAGENTES

Em todas as sínteses realizadas foram utilizados reagentes P.A. Os principais solventes e reagentes utilizados estão listados nas TABELAS 1 e 2, respectivamente.

TABELA 1 - Solventes utilizados nas reações

Solvente	Fórmula Molecular	Procedência
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
Tetrahydrofurano (THF)	C_4H_8O	Synth

Fonte: Do autor

TABELA 2 - Reagentes utilizados nas sínteses

Reagente	Fórmula Molecular	Procedência
4-dimetilaminobenzaldeído	$C_9H_{11}NO$	Aldrich
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
Etilenodiamina	$C_2H_8N_2$	Impex
Iodeto de Potássio	KI	Merck
Trietilamina	$(CH_3CH_2)_3N$	Vetec

Fonte: Do autor

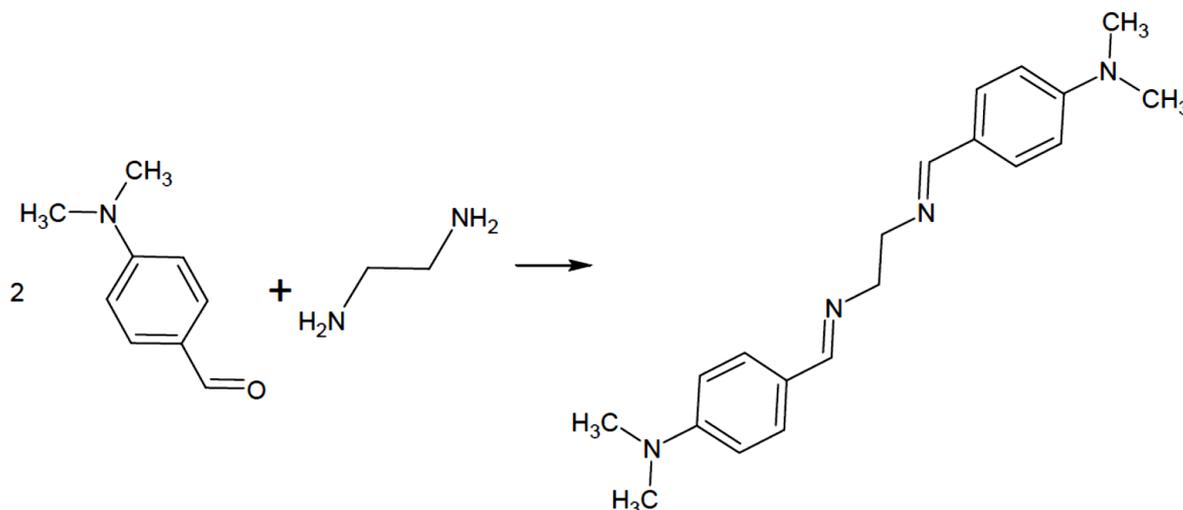
4.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

Esse capítulo apresenta as metodologias utilizadas na síntese dos compostos.

4.2.1 Síntese do composto **N,N'-Bis(4-dimetilaminobenzilideno)-etano-1,2-diamina (p-diben)**

A síntese da imina foi conduzida reagindo-se o 4-dimetilaminobenzaldeído com a etilenodiamina, na proporção estequiométrica 2:1. Na FIGURA 11 está representado o esquema reacional de formação do ligante imínico. Esse composto já foi sintetizado e caracterizado, inclusive através de difração de raios X de monocristal, por Hao (2005) e Xiao (2006).

FIGURA 11 - Esquema reacional entre o 4-etilbenzaldeído e a etilenodiamina na proporção estequiométrica 2:1.



Fonte: Do autor

Em um balão de fundo redondo de 125 mL, foram adicionados 3,01 g (20,0 mmol) de 4-dimetilaminobenzaldeído e aproximadamente 50 ml de etanol absoluto. A mistura foi mantida sob agitação até a completa solubilização do aldeído. Em seguida, adicionou-se lentamente, com ajuda de um funil de adição com equalização, uma solução contendo 0,67 mL (10,0 mmol) de etilenodiamina e aproximadamente 5 mL de etanol, ainda sob agitação constante.

A mistura reacional foi mantida sob agitação por três horas e foi observada a formação de um precipitado de cor branca. Em seguida, a mistura foi filtrada em funil de placa sinterizada com aplicação de vácuo. O precipitado foi lavado com etanol e, em seguida foi seco em estufa a vácuo e pesado. Massa obtida: 3,29 g. Rendimento reacional: 97%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 74,50 (73,87); H: 6,13 (6,03); N: 17,38 (16,13).

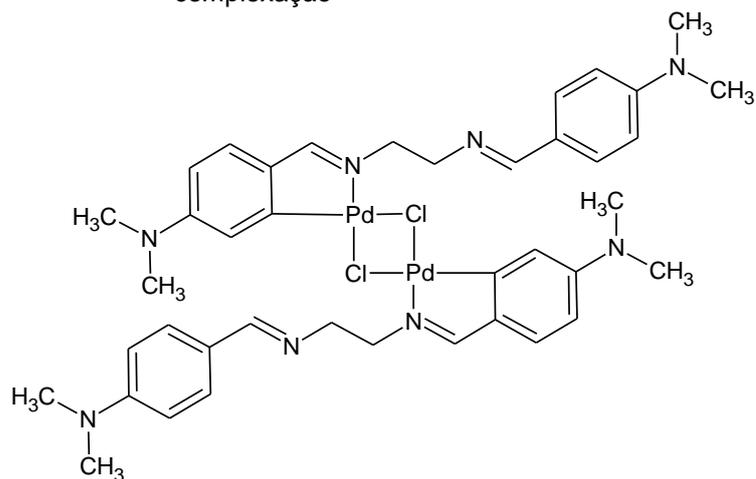
FIGURA 12 - Composto *p*-diben

Fonte: Do autor

4.2.2 Síntese de Complexos de Paládio (II)

A síntese de novas espécies químicas de coordenação foi feita reagindo o novo ligante obtido com sais de paládio (II), em proporção estequiométrica adequada (1:1) e utilizando metanol como solvente. O método da litição (reação do PdCl_2 com LiCl , formando $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$,) foi utilizado em todas as reações (CAVALCANTE, et al, 2008). Também poderia ser utilizado $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ como reagente de partida, por apresentar uma solubilidade maior que a do PdCl_2 e ser de fácil obtenção (SILVA, 2010). A metodologia sintética empregada nesse trabalho teve como objetivo obter o ciclopaladado cuja fórmula estrutural está representada na FIGURA 13.

FIGURA 13 - Representação da estrutura alvo da reação de complexação

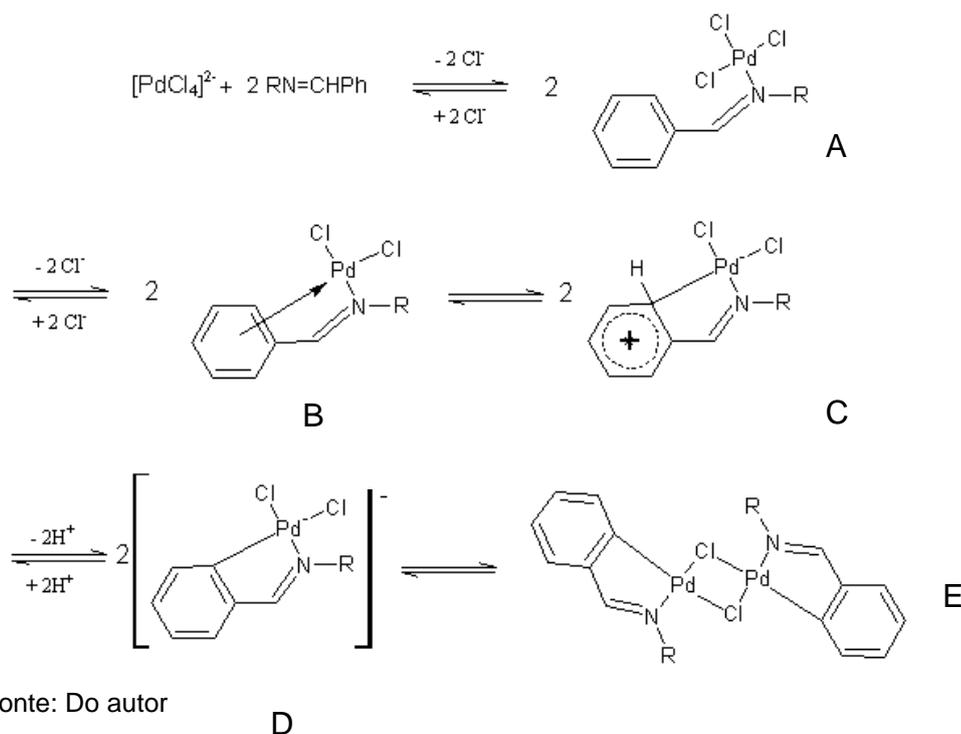


Fonte: Do autor

4.2.2.1 Ciclometalação pelo Método de Parshall

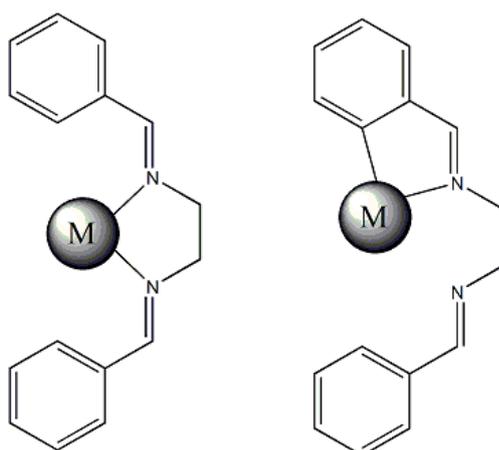
Este método consiste em reagir proporções estequiométricas do sal do metal, como por exemplo, cloreto de paládio (II) e o ligante orgânico nitrogenado (Base de Schiff ou Imina) em meio metanólico, sob agitação e sem aquecimento. A desprotonação do anel aromático ou ativação da ligação C-H foi feita adicionando uma base fraca, como a trietilamina. A seguir é ilustrado um mecanismo para a ciclometalação de uma imina, adaptado a partir do método de G.W.Parshall (1970):

FIGURA 14 - Esquema do método de Parshall adaptado para Imina



Além da ciclometalação, a ligação entre o ligante e o metal pode ocorrer de outras maneiras. Na FIGURA 15 estão representados dois modos de coordenação para a mesma imina, onde o primeiro indica um complexo não-ciclometalado e o segundo um ciclometalado, onde o M representa o metal coordenado. Os resultados posteriormente apresentados nessa dissertação indicam a não ocorrência da ciclometalação e, portanto, a formação de complexos semelhantes ao primeiro apresentado na ilustração a seguir.

FIGURA 15 - Modos de complexação entre uma diimina e um metal

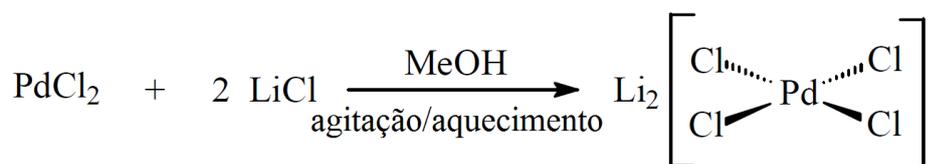


Fonte: Do autor

4.2.2.2 Síntese do Composto [Pd Cl₂(*p*-diben)]

Em um béquer de 200 mL, foram adicionados 1,00 g (5,6 mmol) de PdCl₂ e aproximadamente 50 mL de metanol. A mistura obtida foi submetida à agitação e aquecimento por cerca de 20 minutos. Em seguida, foi adicionado aproximadamente 0,5 g (11,8 mmol) de LiCl, com o intuito de promover a reação representada na FIGURA 16. É perceptível que a adição do LiCl promoveu a solubilização do sólido em suspensão, devido à formação do tetracloropaladato (II) de lítio que é solúvel em metanol aquecido (~50°C), ao contrário do cloreto de paládio (II), que é insolúvel. Em seguida, a solução formada é filtrada para a remoção de sólidos insolúveis.

FIGURA 16 - Representação da reação de formação do Li₂[PdCl₄]



Fonte: Do autor

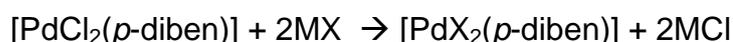
Em um balão de fundo chato contendo solução obtida já filtrada, foram adicionados aos poucos 1,82 g (5,6 mmol) do ligante *p*-diben. A mudança de cor da solução é instantânea e é formado um precipitado alaranjado. Em seguida, é adicionada gota a gota, com auxílio de um funil de adição com equalização, uma solução contendo 0,8 ml (5,7 mmol) de trietilamina ((CH₃CH₂)₃N) e aproximadamente 10 mL de metanol, com o intuito de provocar a ciclometalação. A reação foi mantida sob agitação durante cerca de 8 horas. O precipitado obtido foi filtrado, lavado com água e depois éter. O produto seco possui cor laranja (FIGURA 17). Rendimento reacional: 93%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 48,06 (47,91); H: 5,24 (5,11); N: 11,21 (10,98).

FIGURA 17 - Composto [PdCl₂(*p*-diben)]

Fonte: Do autor

4.2.3 Substituições Regioespecíficas

Após a síntese do complexo precursor [PdCl₂(*p*-diben)] e com a finalidade de analisar a reatividade deste frente a haletos e pseudohaletos, foram realizadas reações de substituição dos cloros por brometos e iodetos, e também pelos pseudohaletos azida e isocianato. O esquema reacional dessas está representado a seguir.



Sendo M = cátion de metal alcalino e X = ânion haleto ou pseudohaletos

De acordo com a Teoria de Pearson para a classificação de ácidos e bases de Lewis, o íon Pd²⁺ é classificado como um ácido macio. Por esse fator, as reações de substituição são favorecidas, pois todos os substituintes utilizados (Br⁻, I⁻, NCO⁻ e N₃⁻) apresentam maciez maior que a do íon Cl⁻, por apresentarem uma maior polarizabilidade (HOUSECROFT; SHARPE, 2005). Essa informação pode ser confirmada pela TABELA abaixo.

TABELA 3 - Classificação de alguns ácidos e bases de acordo com a teoria de Pearson

	Ligantes	Centros metálicos
Duros	F ⁻ , Cl ⁻ , H ₂ O, ROH, R ₂ O, [OH] ⁻ , [RO] ⁻ , [RCO ₂] ⁻ , [CO ₃] ²⁻ , [NO ₃] ⁻ , [PO ₄] ³⁻ , [SO ₄] ²⁻ , [ClO ₄] ⁻ , [ox] ²⁻ , NH ₃ , RNH ₂	Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Be ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺ , Al ³⁺ , Ga ³⁺ , In ³⁺ , Sc ³⁺ , Cr ³⁺ , Fe ³⁺ , Co ³⁺ , Y ³⁺ , Th ⁴⁺ , Pu ⁴⁺ , Ti ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , [VO] ²⁺ , [VO ₂] ⁺
Macios	I ⁻ , H ⁻ , R ⁻ , [CN] ⁻ , CO, RNC, RSH, R ₂ S, [RS] ⁻ , [SCN] ⁻ , R ₃ P, R ₃ As, R ₃ Sb, alcenos, arenos	Centros metálicos zerovalentes, Tl ⁺ , Cu ⁺ , Ag ⁺ , Au ⁺ , [Hg ₂] ₂ ⁺ , Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , Pd ²⁺ , Pt ²⁺ , Tl ³⁺
Intermediários	Br ⁻ , [N ₃] ⁻ , py, [NCS] ⁻ , ArNH ₂ , [NO ₂] ⁻ , [NCO] ⁻ , [SO ₃] ²⁻	Pb ²⁺ , Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Os ²⁺ , Ru ³⁺ , Rh ³⁺ , Ir ³⁺

Fonte: HOUSECROFT; SHARPE, 2005.

4.2.3.1 Síntese do Composto [Pd(N₃)₂(*p*-diben)]

Inicialmente, solubilizou-se 0,50 g (1,0 mmol) do complexo [PdCl₂(*p*-diben)] em 20,0 mL de acetona, sob agitação. Em seguida, solubilizou-se NaN₃, 0,14 g (2,1 mmol), em 0,5 mL de água destilada e adicionou-se ao complexo. Houve uma ligeira mudança de cor, quase imperceptível, da solução. Deixou-se reagir por 2 horas. Após o término da reação, o balão contendo a mistura reacional, foi levado à geladeira, permanecendo por cerca de 24 horas. Houve então a formação do sólido alaranjado (FIGURA 18). A solução então foi filtrada lavando-se o produto com água em abundância para remoção do cloreto de sódio formado no processo reacional. Rendimento reacional: 86%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 46,83 (47,42); H: 5,11 (5,18); N: 27,31 (26,49).

FIGURA 18 - Composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ 

Fonte: Do autor

4.2.3.2 Síntese do Composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$

A síntese do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ e as demais substituições por haletos e pseudoheletos se dão de maneira semelhante à apresentada no item anterior (substituição por azida).

O que vai variar entre essas substituições regioespecíficas é o sal utilizado na obtenção dos ânions ligantes. No caso do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$, o sal utilizado foi o KCNO. Reagiu-se 0,17 g (2,1 mmol) desse sal com 0,50 g (1,0 mmol) de $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ em acetona, formando um precipitado amarelado (FIGURA 19). Rendimento reacional: 68%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 51,52 (50,87); H: 5,11 (5,33); N: 16,39 (15,61).

FIGURA 19 - Composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ 

Fonte: Do autor

4.2.3.3 Síntese do Composto [PdBr₂(*p*-diben)]

Para a síntese do composto [PdBr₂(*p*-diben)], foram utilizados 0,50 g (1,0 mmol) de [PdCl₂(*p*-diben)] e 0,24 g (2,1 mmol) do sal brometo de potássio (KBr). O precipitado formado apresenta coloração amarela (FIGURA 20). Rendimento reacional: 80%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 40,81 (39,93); H: 4,45 (4,85); N: 9,52 (9,57).

FIGURA 20 - Composto [PdBr₂(*p*-diben)]



Fonte: Do autor

4.2.3.4 Síntese do Composto [PdI₂(*p*-diben)]

O sal utilizado na substituição regioespecífica para a formação do composto [PdI₂(*p*-diben)] foi o iodeto de potássio (KI), 0,34 g (2,1 mmol). Este foi reagido com 0,50 g (1,0 mmol) do composto [PdCl₂(*p*-diben)]. O precipitado formado apresenta uma coloração marrom (FIGURA 21). Rendimento reacional: 72%. Análise Elementar - %calc. (%enc.) - C: 35,19 (36,44); H: 3,84 (4,01); N: 8,21 (7,96).

FIGURA 21 - Composto [PdBr₂(*p*-diben)]

Fonte: Do autor

4.3 CARACTERIZAÇÃO

O tópico 4.3 apresenta as técnicas de caracterização utilizadas na elucidação estrutural dos compostos sintetizados

4.3.1 Análise térmica

As curvas TG-DTA foram obtidas através do equipamento TA Instruments – Q600. Cada amostra com aproximadamente 10 a 20 mg foram dispostas em um cadinho de alumina que foi aquecido da temperatura ambiente até 1100 °C, com razão de aquecimento de 20 °C.min⁻¹, fluxo de ar sintético de 100 mL.min⁻¹.

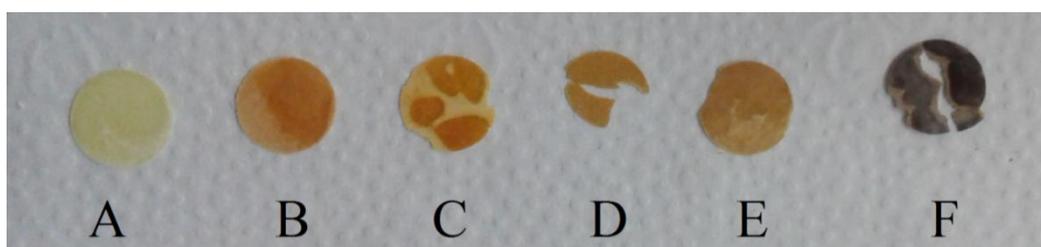
4.3.2 Ponto de fusão

O ponto de fusão foi medido 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. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, IV, foram registrados no espectrofotômetro Simadzu – Prestige 21. As amostras foram preparadas pela maceração em almofariz de ágata com Iodeto de Césio e posterior pastilhamento em prensa hidráulica. A FIGURA a seguir mostra as pastilhas prontas de cada uma das amostras analisadas. A relação entre a composição da pastilha e as letras representadas na FIGURA está representada na TABELA 3.

FIGURA 22 - Pastilhas utilizadas no experimento IV



Fonte: Do autor

TABELA 4 - Relação entre letras representadas na figura e composição das pastilhas

Composto	Letra	Composto	Letra
<i>p</i> -diben	A	[Pd(NCO) ₂ (<i>p</i> -diben)]	D
[PdCl ₂ (<i>p</i> -diben)]	B	[PdBr ₂ (<i>p</i> -diben)]	E
[Pd(N ₃) ₂ (<i>p</i> -diben)]	C	[PdI ₂ (<i>p</i> -diben)]	F

Fonte: Do autor

4.3.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta ou visível

Os espectros de absorção na região do Ultravioleta – Visível foram registrados no THERMO Cientific – Modelo Evolution 60, usando como solvente MeCN. A faixa espectral utilizada foi de 200 – 1000nm, com uma resolução de 1 nm.

4.3.5 Análise elementar CHN

Os teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio dos compostos foram determinados utilizando um Analisador Elementar LECO Instruments LTDA, modelo TruSpec CHNS-O. Foram utilizados cadinhos de prata e, como compostos de referência, EDTA, cistina e acetaldeído em concordância com o teor de carbono inicialmente proposto para a estrutura.

4.3.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN foram obtidos em um Espectrômetro Bruker DPX-300, operando a 300 MHz para RMN ^1H e 75 MHz para RMN ^{13}C e utilizando como solventes o CDCl_3 , para o ligante imínico, e DMSO-d_6 para os complexos sintetizados.

4.3.7 Difração de Raios X de monocristal

As medidas de DRX por monocristal dos compostos obtidos foram realizadas no Laboratório de Cristalografia da UFMG (LabCri) usando um difratômetro Gemini-Oxford. Os dados foram coletados a 293K, utilizando uma radiação $\text{K}\alpha\text{Mo}$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) monocromada com grafite. As estruturas foram resolvidas com o auxílio do software Sir92 (ALTOMARE, et al. 1994) e refinadas com o software SHELXL-97 (SHELDRICK, 2008). Os átomos de paládio, carbono e nitrogênio foram claramente identificados e refinados por mínimos quadrados de matriz completa em F^2 , considerando os parâmetros térmicos anisotrópicos. Os átomos de hidrogênio C-H foram devidamente posicionados e refinados com parâmetros individuais [$U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2U_{\text{eq}}(\text{Csp}^2)$ e $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.5U_{\text{eq}}(\text{Csp}^3)$], não sendo restringidos durante o refinamento. Os programas ORTEP-3 (FARRUGIA, 2012) e Mercury 1.1.2

(MACRAE, et al, 2008) foram usados para analisar e elaborar representações gráficas das estruturas.

As técnicas descritas acima estão disponíveis no Instituto de Química da UNIFAL-MG, com exceção da Difração de raios X por monocristal, disponível no Laboratório de Cristalografia da UFMG (LabCri).

4.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios de citotoxicidade por mudança de morfologia celular das células MCF-7 e a eletroforese de DNA, foram realizados seguindo a metodologia de Avelar (2012) pela Prof^a Dr^a Cibele Marli Cação Paiva Gouvêa do Instituto de Ciências da Natureza (ICN-UNIFAL-MG).

4.4.1 Cultivo e tratamento das células

A linhagem MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano (CR119), proveniente do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), foi cultivada 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%.

Antes do início dos experimentos a viabilidade celular foi determinada por coloração com Trypan blue (método de exclusão do corante). Em seguida, 2x10⁴ células viáveis/mL foram transferidas para placas 96 poços (multiwell) ou placas de Petri e mantidas por 24 h para aderência. Posteriormente 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 μM , o positivo (CP). Para os ensaios foi utilizada a concentração de 5,0 μM dos compostos.

4.4.2 Análise morfológica

Após o tratamento, as células foram fixadas por 15 min em acetona 70% (v/v), lavadas com solução salina 0,85% (m/v), coradas com hematoxilina-eosina, desidratadas e diafanizadas. As lâminas foram montadas com Enthellan, observadas ao microscópio Olympus BX52 e imagens digitais foram adquiridas utilizando-se o software Motic Plus 2.0, para captura e análise de imagem (CAMPANELLA et al., 2012; CARVALHO; ISHIKAWA; GOUVÊA, 2012).

4.4.3 Avaliação da fragmentação do DNA

A fragmentação do DNA circular do plasmídeo pUC-19 foi avaliada pela conversão da forma circular do DNA dupla fita superenrolado na forma aberta e relaxada, se os compostos induzirem a quebra do DNA. Foi utilizado 1 μg de DNA plasmidial, que foi incubado a 37 °C por 30 min em tampão TE (Tris 10 mM, pH 8,0, contendo EDTA 1 mM) com os compostos a 5 μM , em volume final de 20 μL . A reação foi paralisada pela adição de tampão da amostra, composto por TE contendo glicerol a 30% (v/v) e azul de bromofenol 0,25% (m/v). A seguir o DNA foi separado por eletroforese em gel de agarose 1% (m/v), por 1 h a 80 V em tampão Tris-borato-EDTA (CHEN; WU; LIN, 2007). Foi utilizado como marcador de massa molecular o DNA do vírus fago λ digerido com a enzima Hind III.

5 ANÁLISE DOS RESULTADOS E DISCUSSÕES

No capítulo 5 se encontram os dados obtidos através das técnicas de caracterização utilizadas e a interpretação desses dados, juntamente com algumas discussões.

5.1 CARACTERIZAÇÃO

Os dados obtidos pelas técnicas de caracterização para cada um dos compostos sintetizados estão relatados nesse tópico.

5.1.1 Ligante nitrogenado p-diben

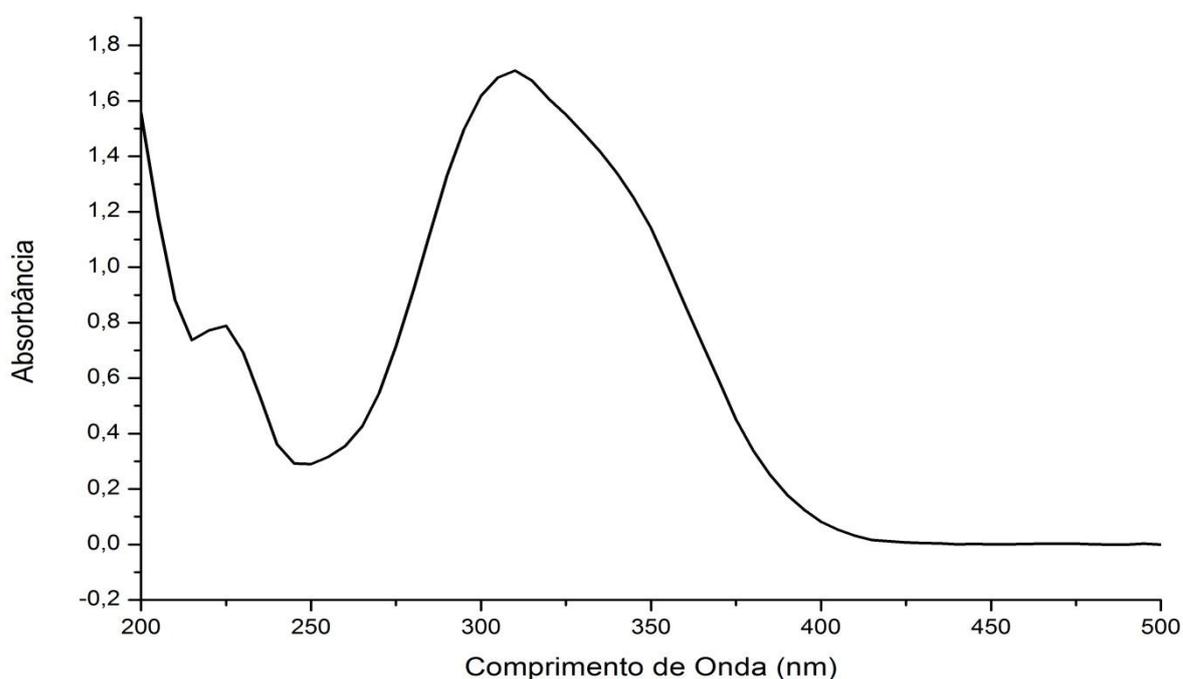
Como já discutido anteriormente, o composto orgânico obtido apresenta coloração branca e ponto de fusão em 184 °C. Com a análise desse dado, é possível concluir que houve a formação de um novo composto, visto que o ponto de fusão encontrado se difere dos pontos de fusão dos reagentes de partida, no caso o 4-dimetilaminobenzaldeído (73 °C) e a etilenodiamina (9 °C). Apresentou alta solubilidade em acetona, acetonitrila, diclorometano, clorofórmio, THF e DMSO. Insolubilidade em água, metanol e etanol. A solubilidade nestes solventes permitiu a realização das análises espectroscópica na região do UV-Vis (MeCN).

5.1.1.1 Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis

Uma das evidências de reação mais fácil de ser observada é a mudança de cor de um meio reacional. Como as cores estão relacionadas com a absorção de radiação eletromagnética de comprimento de onda na região do visível do espectro.

O estudo dessa técnica se torna uma importante ferramenta na diferenciação de compostos. Logo a absorção molecular na região do ultravioleta e do visível depende da estrutura eletrônica da molécula. Cada molécula apresenta espectro diferente do outro. Na prática, a espectrometria no UV-Vis é limitada a sistemas conjugados e complexos metálicos. No ligante imínico, foram avaliadas as conjugações. O espectro (FIGURA 23) do composto imínico apresenta bandas nas regiões 225 e 310 nm provenientes das transições π - π^* do anel aromático e do grupo C=N, respectivamente, além de apresentar um ombro por volta de 350 nm, relacionado à transição n- π^* , também do grupo C=N (PAVIA, 2010).

FIGURA 23 - Espectro UV-Vis do composto *p*-diben



Fonte: Do autor

5.1.1.2 Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho

Analisando o espectro do reagente de partida 4-dimetilaminobenzaldeído, é possível detectar a presença de uma banda intensa em 1694 cm^{-1} . Essa banda corresponde ao estiramento do grupo (-C=O-) conjugado ao anel aromático.

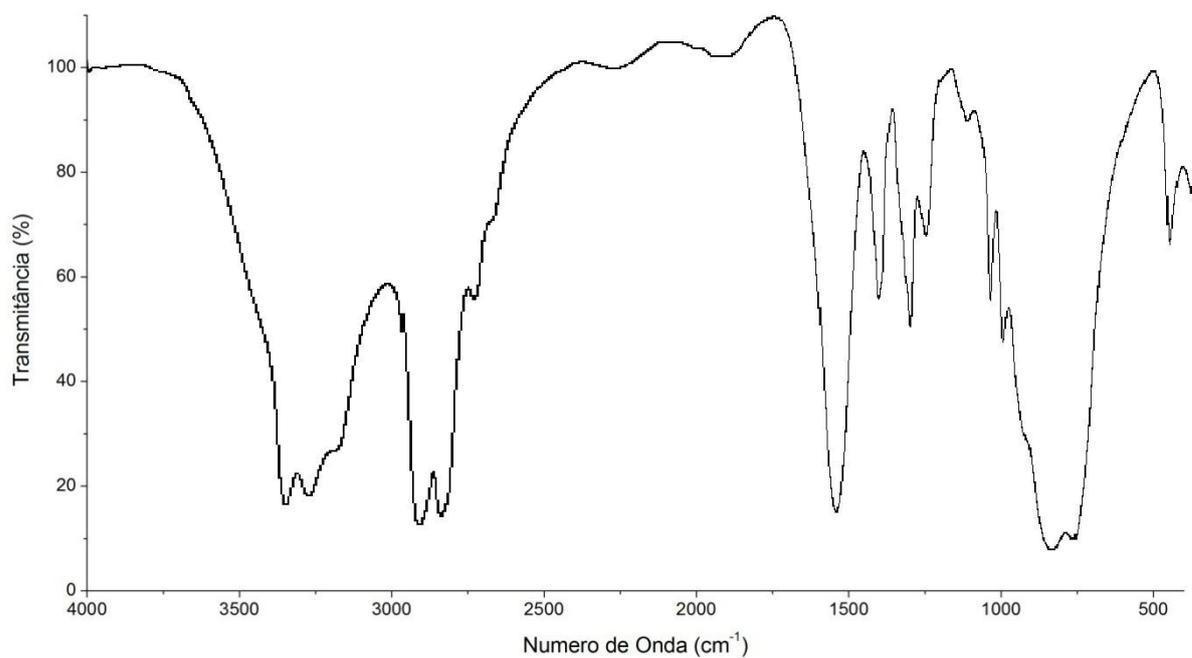
O fato de ela não aparecer no espectro do ligante imínico já é um indício que ocorreu a reação de condensação.

Já através da análise do espectro da etilenodiamina, observa-se a presença de bandas acima de 3000 cm^{-1} . Essas bandas são atribuídas ao modo vibracional $\nu(\text{N-H})$. Portanto, a sua inexistência no espectro do ligante imínico é mais uma evidência da reação.

Outro modo vibracional importante que corrobora a formação do ligante *p*-diben é o $\nu(\text{C=N})$ do grupo imina, que normalmente aparece entre 1640 e 1690 cm^{-1} . Entretanto, quando este grupo está conjugado a um anel aromático, esses valores passam a ser menores (JARZĄBEK; KACZMARCZYK; SEK, 2009) O estiramento da ligação $-\text{C=N}-$ aparece em 1638 cm^{-1} . Analisando essa mesma região nos espectros dos reagentes de partida, existem outras bandas intensas. O 4-dimetilbenzaldeído apresenta uma banda em 1602 cm^{-1} , referente ao estiramento do anel aromático. Esta banda também aparece no espectro da base de Schiff sintetizada. Já a etilenodiamina apresenta uma banda larga em 1597 cm^{-1} , referente ao modo vibracional “tesoura” da amina terciária. Essa banda deixa de existir no espectro da base de Schiff, sendo esta, mais uma evidência de formação.

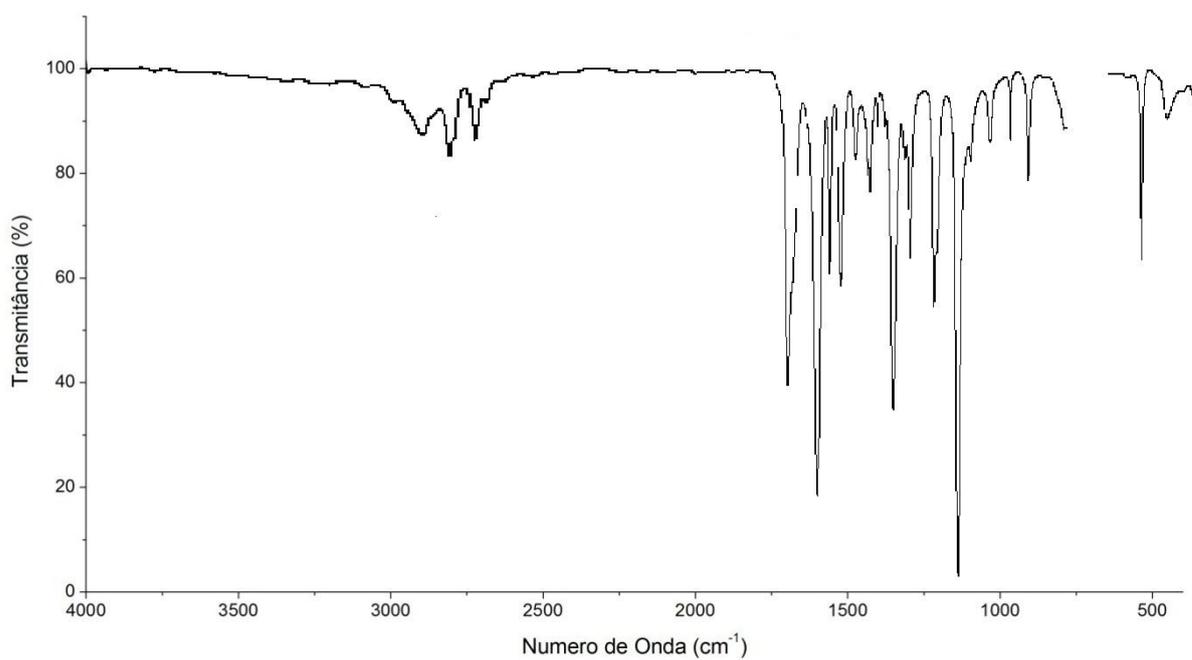
Outras bandas que merecem destaque são as que aparecem entre 1187 e 1171 cm^{-1} , referentes ao estiramento da ligação simples entre o carbono e o nitrogênio da imina, além das bandas em 1363 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento da ligação C-N das aminas terciárias ligadas aos anéis aromáticos, e em 807 cm^{-1} , relacionada a deformação angular fora do plano da ligação C-H em anel aromático 1,4 dissubstituído.

FIGURA 24 - Espectro IV do reagente etilenodiamina

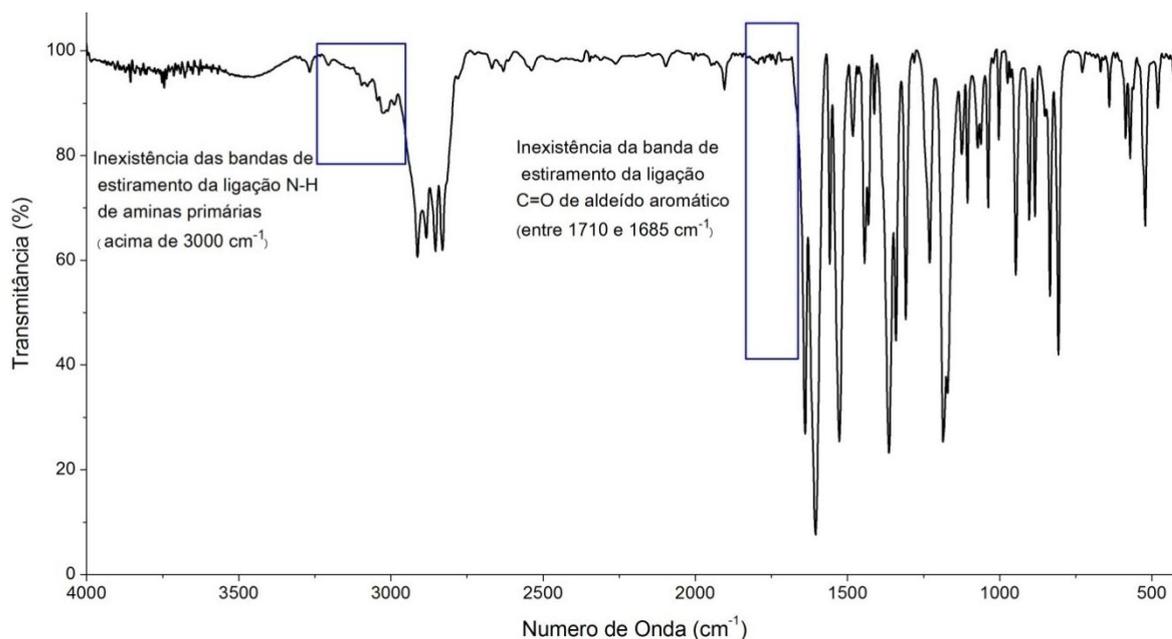


Fonte: KINUGASA; TANABE; TAMURA, 2013

FIGURA 25 - Espectro IV do reagente 4-dimetilaminobenzaldeído



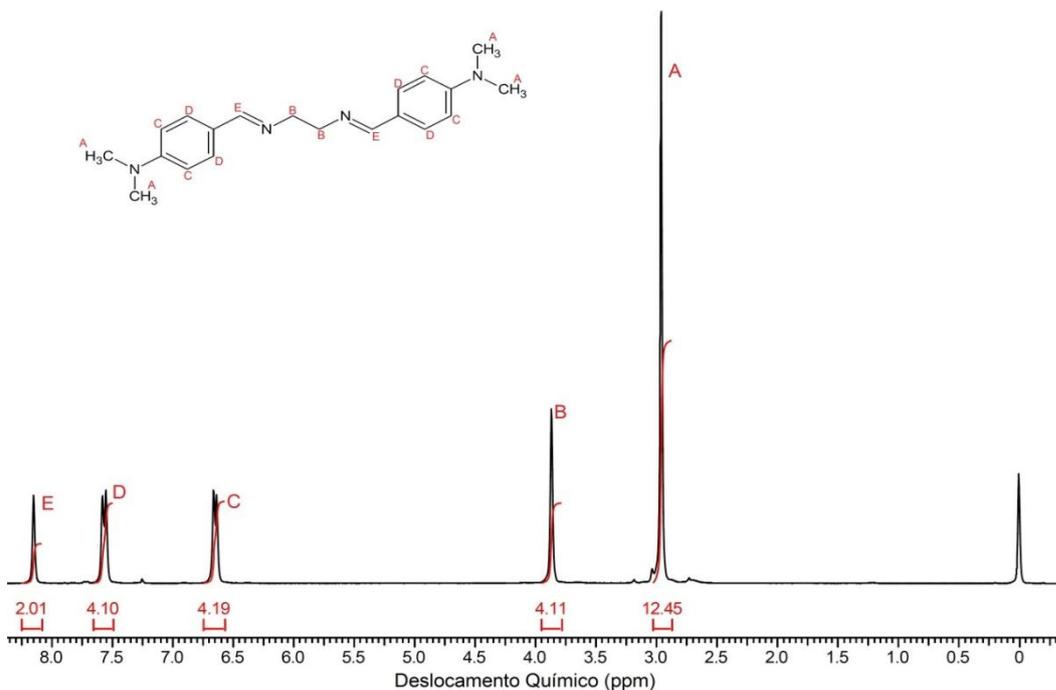
Fonte: KINUGASA; TANABE; TAMURA, 2013

FIGURA 26 - Espectro IV do composto *p*-diben

Fonte: Do autor

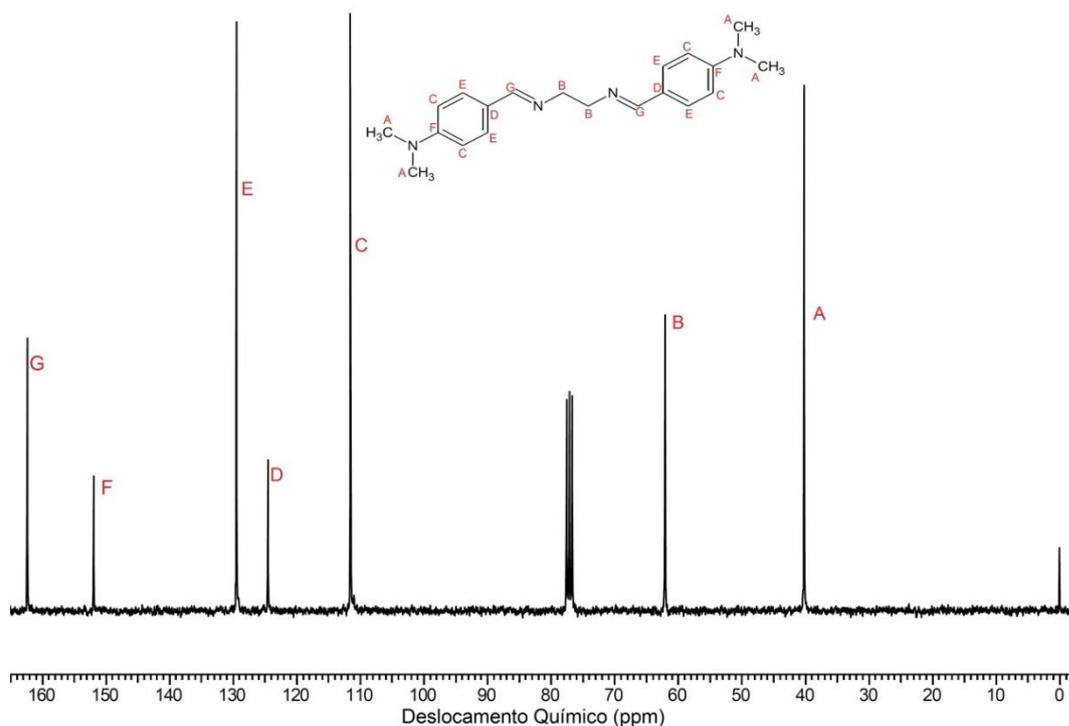
5.1.1.3 Ressonância Magnética Nuclear

A FIGURA 27 apresenta o espectro RMN ^1H do composto *p*-diben com os valores das integrais e com a atribuição dos sinais aos hidrogênios correspondentes. Os sinais com menores valores de deslocamento químico correspondem aos hidrogênios mais blindados. De acordo com Signorini (1996), atribui-se ao hidrogênio ligado ao grupo imina $-\text{N}=\text{C}(\text{H})-$ a região entre 8,4 e 8,2 ppm. No composto sintetizado esse sinal se encontra em 8,15 ppm. Ao analisarmos a região dos sinais dos anéis aromáticos, os hidrogênios denominados C são os mais blindados, mesmo estando mais próximos dos nitrogênios terciários. Isso ocorre porque a amina terciária é um substituinte orto-para-dirigente, fazendo com que a densidade eletrônica nas posições orto e para em relação a esse substituinte do anel seja maior, acarretando uma maior blindagem. Esse efeito será discutido posteriormente.

FIGURA 27 - Espectro RMN ^1H do composto *p*-diben em CDCl_3 

Fonte: Do autor

O espectro RMN ^{13}C do composto *p*-diben está representado na FIGURA 28 e pode ser interpretado de maneira semelhante ao espectro de ^1H . A amina terciária como substituinte do anel provoca uma maior blindagem nos carbonos C e D, enquanto desblinda os carbonos F e E. O sinal para o carbono do grupo imina foi observado em 162 ppm, concordando com dados da literatura (ARANHA, et al. 2007)

FIGURA 28 - Espectro RMN ^{13}C do composto *p*-diben em CDCl_3 

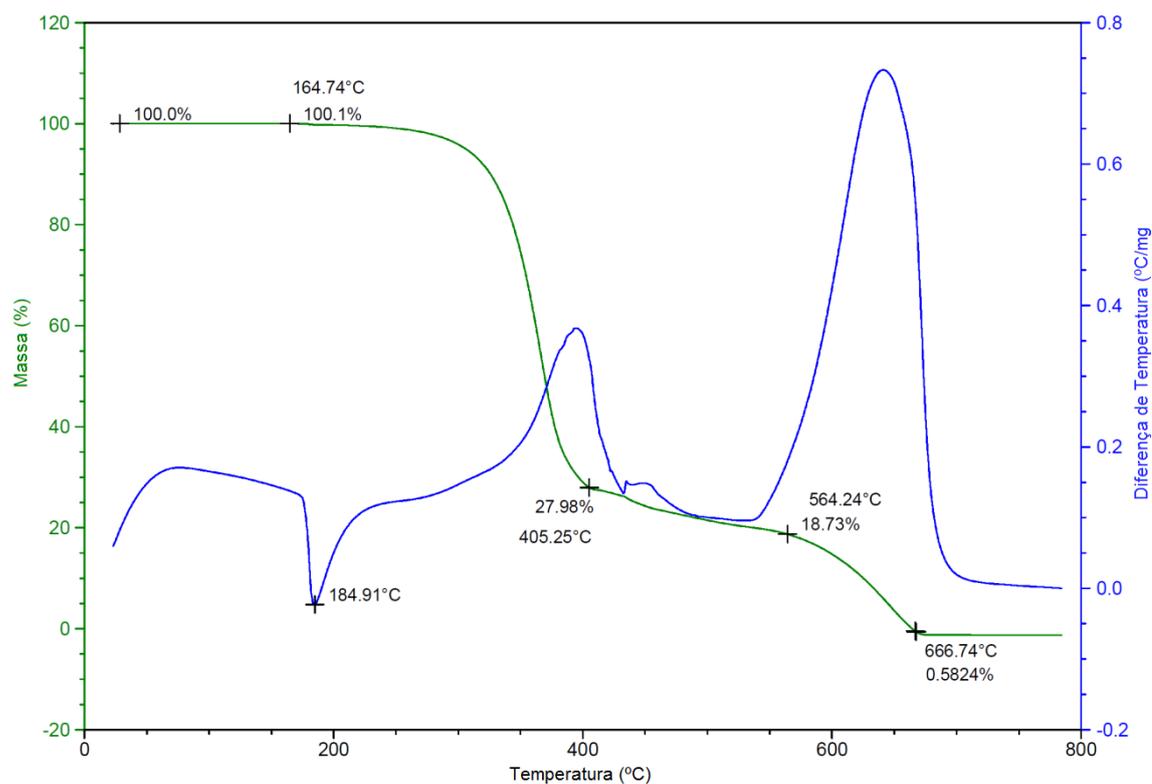
Fonte: Do autor

5.1.1.4 Análise térmica

Através dos dados obtidos pela análise TGA, é possível identificar que o material residual após a queima total da amostra é 0,58%, ou seja, praticamente zero (a diferença entre o valor encontrado e zero está dentro do erro intrínseco do equipamento). Com isso, é possível concluir que o ligante possui uma composição estritamente orgânica, pois esse foi decomposto totalmente.

Já através da análise da curva DTA, é possível a identificação clara de um pico endotérmico por volta de 181 °C, que corresponde ao ponto de fusão do composto (dado esse que corrobora o resultado obtido nas análises de ponto de fusão). Além disso, as decomposições perceptíveis na TGA são acompanhadas de picos exotérmicos na DTA.

FIGURA 29 - Curva TG-DTA do composto p-diben



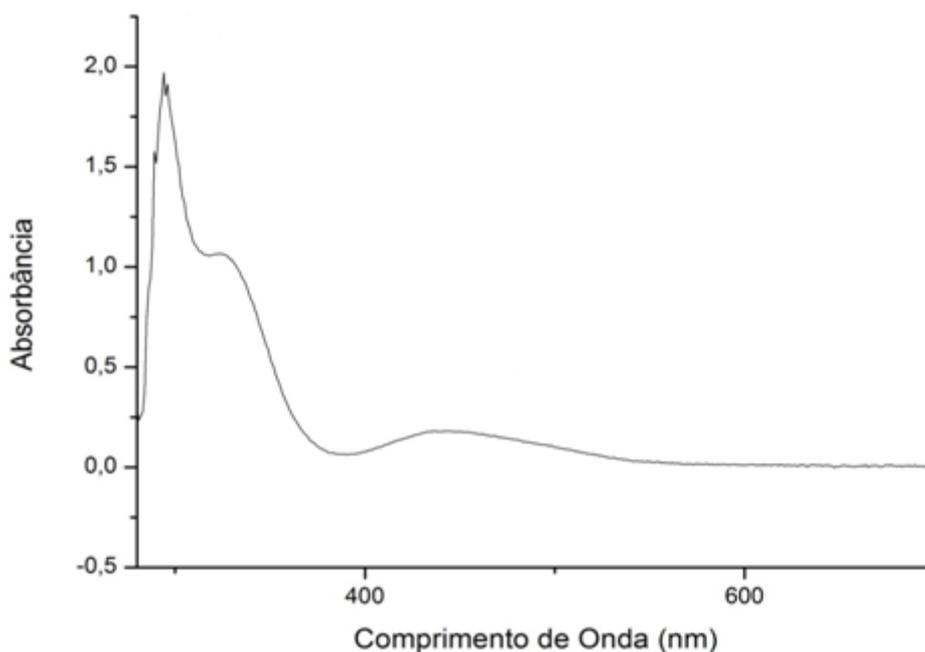
Fonte: Do autor

5.1.2 Composto [Pd(p-diben)Cl₂]

O complexo foi sintetizado na proporção estequiométrica 1:1 ($\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$: ligante imínico). A síntese produziu um sólido de cor laranja, rendimento de 91%. Esse composto apresentou baixa solubilidade em metanol, etanol e acetona e solubilidade apreciável em acetonitrila, THF, DMSO, clorofórmio e diclorometano. Ocorreu a formação de cristais, porém estes foram geminados, e, por esse fato, foram ressolubilizados para uma nova tentativa de recristalização.

Laporte e, portanto, ocorrem com intensidades muito baixas. Para uma melhor elucidação da posição das bandas referentes às transições d-d, foi obtido o espectro eletrônico na região do UV-Vis para o composto $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$ (FIGURA 31). Três bandas correspondentes às transições $^1A_{1g} \leftarrow ^1A_{2g}$, $^1A_{1g} \leftarrow ^1B_{1g}$ e $^1A_{1g} \leftarrow ^1E_g$ são esperados no espectro eletrônico de um quadrado plano d^8 complexo (DUAN, et al, 1998).

FIGURA 31 - Espectro UV-Vis do composto $\text{Li}_2[\text{PdCl}_4]$



Fonte: Do autor

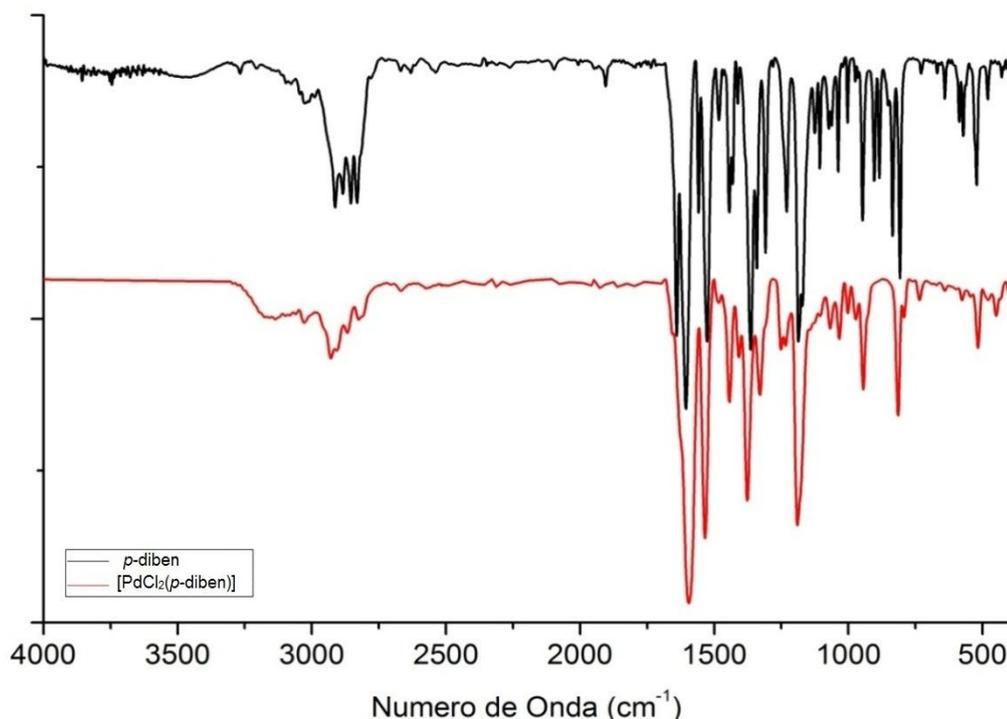
5.1.2.2 Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho

Através da análise do espectro de absorção na região do IV (FIGURA 32), verificou-se que um grande número de bandas é derivado ao 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 paládio (II) age como um retirador de densidade eletrônica, esta é deslocada para a formação da ligação coordenativa. Isso acarreta um enfraquecimento na ligação $\text{C}=\text{N}$, fazendo com que seu estiramento ocorra em menores frequências e, conseqüentemente, menores

números de onda (NAKAMOTO, 1986). Assim, a banda correspondente ao estiramento (-C=N-) se desloca e se sobrepõe à banda referente ao estiramento do anel aromático, formando uma banda mais larga em uma frequência menor (1595 cm^{-1}). Essa sobreposição é corroborada pela formação de um ombro por volta de 1624 cm^{-1} (FIGURA 33). Esse deslocamento significativo contribuiu para a proposta da formação do novo complexo.

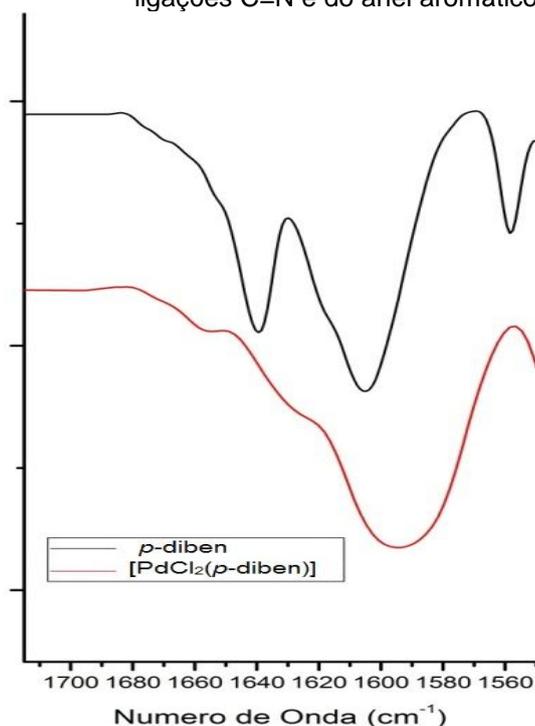
Outro dado relevante na análise de infravermelho é que a banda em 807 cm^{-1} do espectro do ligante sofreu um pequeno deslocamento. Porém, a não formação de uma banda em 900 cm^{-1} , característica de anel aromático 1,2,4 trissubstituído evidencia que não ocorreu a formação da ligação (Pd-C) (SILVERSTEIN, 2005).

FIGURA 32 - Comparação entre os espectros IV dos compostos *p*-diben e $[\text{PdCl}_2(\textit{p}\text{-diben})]$



Fonte: Do autor

FIGURA 33 - Destaque da sobreposição das bandas dos estiramentos das ligações C=N e do anel aromático



Fonte: Do autor

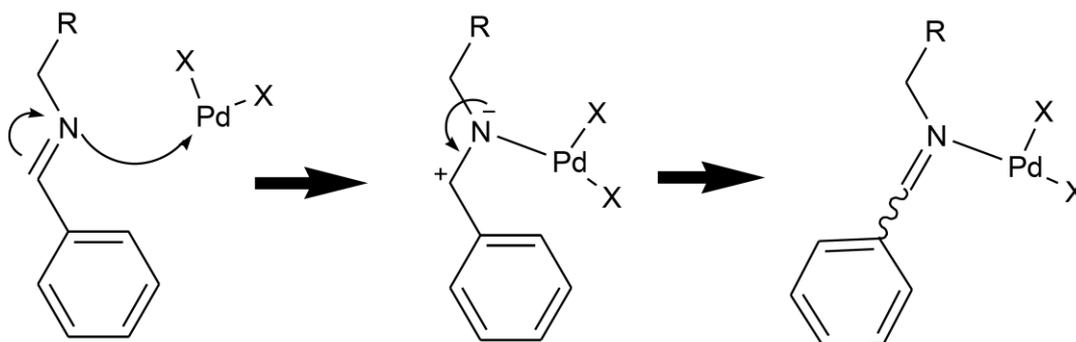
5.1.2.3 Ressonância Magnética Nuclear

O composto [PdCl₂(*p*-diben)] apresentou baixa solubilidade em CDCl₃, limitando consideravelmente a resolução dos espectros obtidos com esse solvente. Foi utilizado, portanto DMSO-d₆, no qual o cloro-complexo e os demais sintetizados apresentaram uma solubilidade um pouco maior. Essa baixa solubilidade prejudicou a obtenção dos espectros de RMN, sendo que esses se apresentaram ruidosos em alguns casos.

A análise do espectro de RMN ¹H 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. O deslocamento da banda referente aos hidrogênios das iminas de 8,15 ppm no ligante livre para 9,62 ppm indica que esses hidrogênios foram fortemente desblindados. Como já discutido na interpretação do espectro no IV desse composto, a coordenação com o metal desloca densidade eletrônica para a formação da ligação coordenativa. A região onde aparecem as

sinais referentes aos hidrogênios do anel aromático também sofre uma mudança significativa que pode ser justificada por um efeito denominado isomerização E/Z de imina (ALBERT, et al, 1997) (AL-NAJJAR, 1988). Esse efeito é caracterizado pela possibilidade de mudança de isomeria da ligação C=N do ligante imínico pela complexação com o paládio para diminuição de impedimento estérico. Isso é possível porque a complexação diminui o caráter de dupla da ligação C=N, aumentando a liberdade de rotação desta para a minimização de energia. A FIGURA 34 elucida o mecanismo da isomerização E/Z.

FIGURA 34 - Mecanismo de Isomerização E/Z de imina

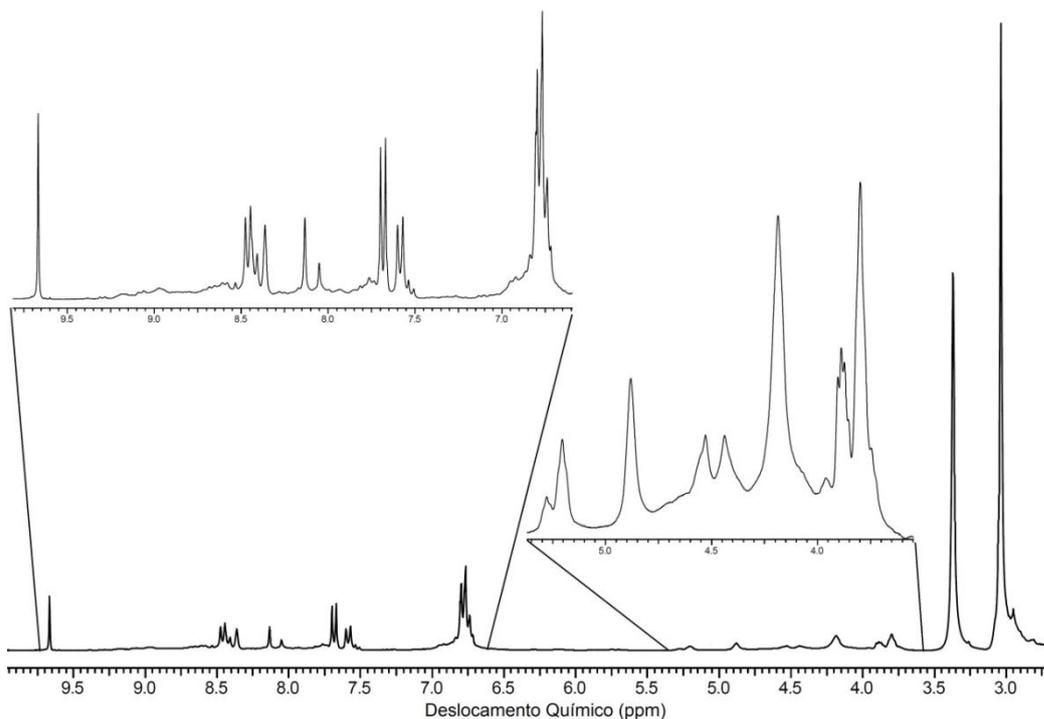


Fonte: Do autor

A inversão da isomeria dessa ligação depende do grupo substituinte do metal, no caso o X. Quando esse grupo é muito volumoso (por exemplo, o iodeto), a tendência é que o efeito estérico muito acentuado promova a formação majoritariamente de ligações Z. A mudança na região dos hidrogênios aromáticos no espectro elucidado na FIGURA 35 mostra que ocorreu uma perda de equivalência do sinal desses hidrogênios, acusando que há uma diferenciação entre os anéis aromáticos. Uma das ligações C=N pode ter alterado sua isomeria, provocando essa diferenciação. Outra explicação pertinente é a formação de uma mistura de isômeros, devido a relativa facilidade de interconversão das ligações C=N. Essas modificações são observadas também nos sinais relativas aos hidrogênios de CH₂ ligado a nitrogênio. No ligante livre, aparece um único e intenso sinal em para esses quatro hidrogênios em 3,87 ppm. Já para o cloro-complexo, esse sinal se desdobra, ocorrendo o aparecimento de diversas pequenos sinais entre 4,00 e 5,30 ppm. Esse desdobramento de sinal é mais uma evidência da formação de uma mistura de isômeros. O sinal que aparece em 3,80 ppm acompanhada de um quadrupeto em

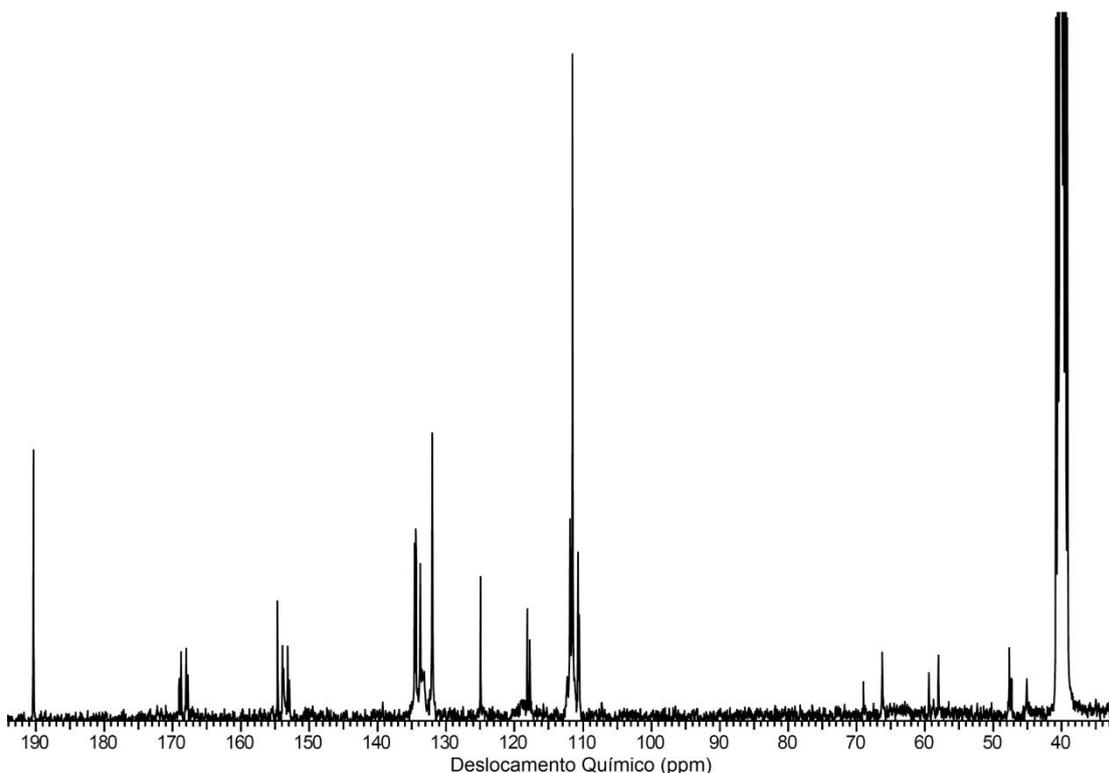
3,88 ppm é referente aos hidrogênios do metanol, utilizado na síntese e o sinal em 3,37 ppm é referente a água oriunda do DMSO-d₆.

FIGURA 35 - Espectro RMN ¹H do composto [PdCl₂(*p*-diben)] em DMSO-d₆



Fonte: Do autor

O espectro RMN de ¹³C ilustrado na FIGURA 36 corrobora os dados obtidos na análise do espectro de ¹H. O deslocamento do sinal referente ao carbono da imina de 162,36 ppm, no ligante livre, para 190,13 ppm também evidencia a formação de um composto quelato ligado pelos dois nitrogênios das iminas. As alterações na região dos sinais dos carbonos aromáticos e dos ligados aos nitrogênios das iminas indicam a existência de uma mistura de isômeros, devido ao desdobramento desses sinais quando comparado com a base de Schiff livre. Esse desdobramento ocorre porque os carbonos deixam de ser equivalentes (quando acontece a inversão da isomeria de somente uma das ligações imínicas), ou mantém a equivalência, só que em outro valor de deslocamento químico (quando as duas ligações C=N são invertidas). O sinal referente às metilas ligadas ao nitrogênio terciário é sobreposto pelo sinal do próprio solvente, no caso o DMSO-D₆, que aparece por volta de 40 ppm. O sinal que aparece em 47,55 ppm é referente ao carbono do metanol, utilizado na síntese.

FIGURA 36 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

Fonte: Do autor

Também foram obtidos espectros RMN ^1H e ^{13}C do composto $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ utilizando o solvente CDCl_3 (Anexo A). Devido à baixa solubilidade desse complexo em clorofórmio, esses espectros, principalmente o de ^{13}C , não apresentaram uma boa resolução. Entretanto, é possível notar que a mudança de solvente não causou deslocamentos e mudanças significativos. Isso implica que, mesmo o DMSO-d_6 sendo um agente coordenante, ele atua somente como solvente.

5.1.2.4 Análise térmica

As análises térmicas dos complexos obtidos não foram significativas para a caracterização desses compostos, visto que ocorreu a formação de “puffs carbônicos”, como demonstrado na FIGURA 37. Durante a decomposição térmica, a fração orgânica do composto sofre carbonização. Entretanto, pelo fato de a decomposição liberar gases residuais, em alguns casos, esses ficam retidos pela rede carbônica, causando uma expansão e resultando em um material escuro e

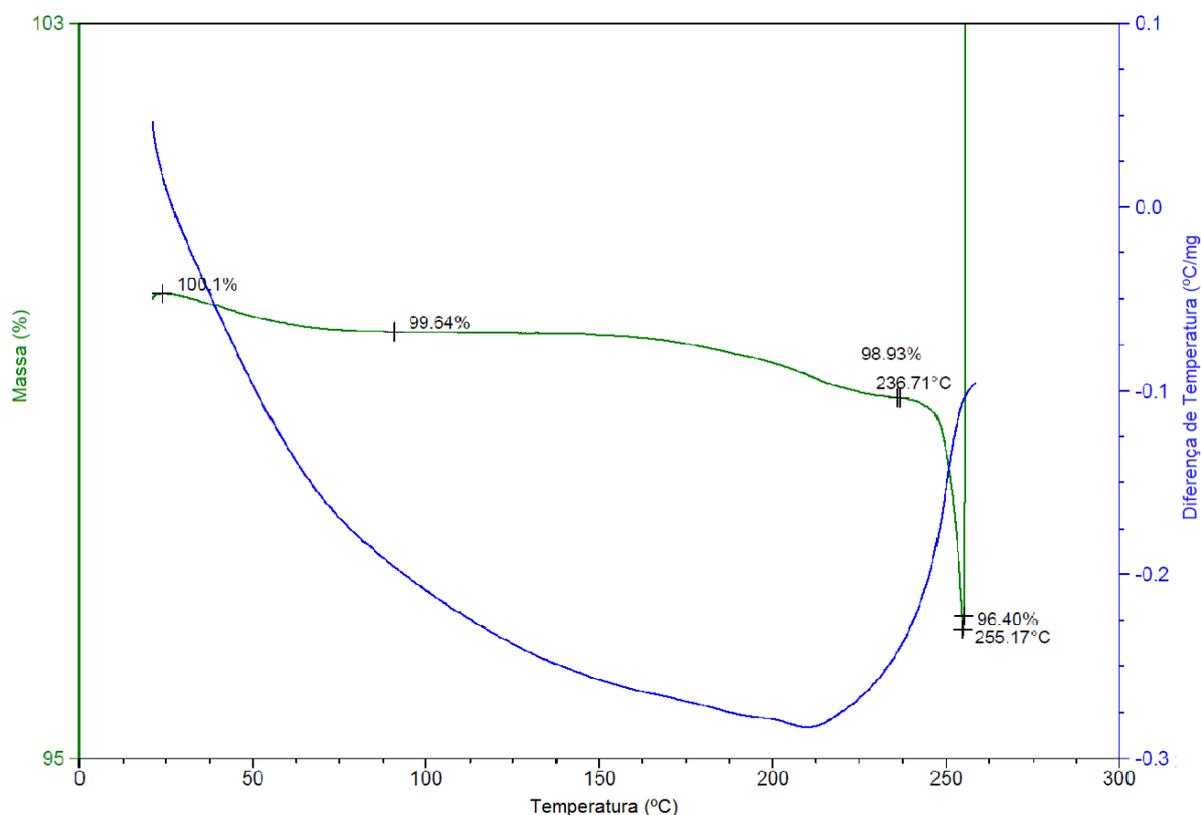
quebradiço e com reticulações semelhantes a uma esponja. (COSTA, et al, 2007). Esse aumento do volume pode ocasionar em contato com a superfície do forno, acarretando um erro na medição da massa dessa amostra.

FIGURA 37 - "Puff carbônico"



Fonte: Do autor

Foram feitas as análises dos compostos $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$. Ambas apresentaram o mesmo problema. Conseqüentemente, as demais amostras a serem analisadas foram submetidas a uma análise preliminar (aquecimento em bico de Bunsen). Foi possível perceber que todos os complexos obtidos apresentaram comportamento semelhante ao apresentado na FIGURA 38. Portanto, pode-se concluir que os dados obtidos nas análises TG-DTA dos complexos apresentaram poucas informações.

FIGURA 38 - TG-DTA do composto $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ 

Fonte: Do autor

5.1.3 Compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$

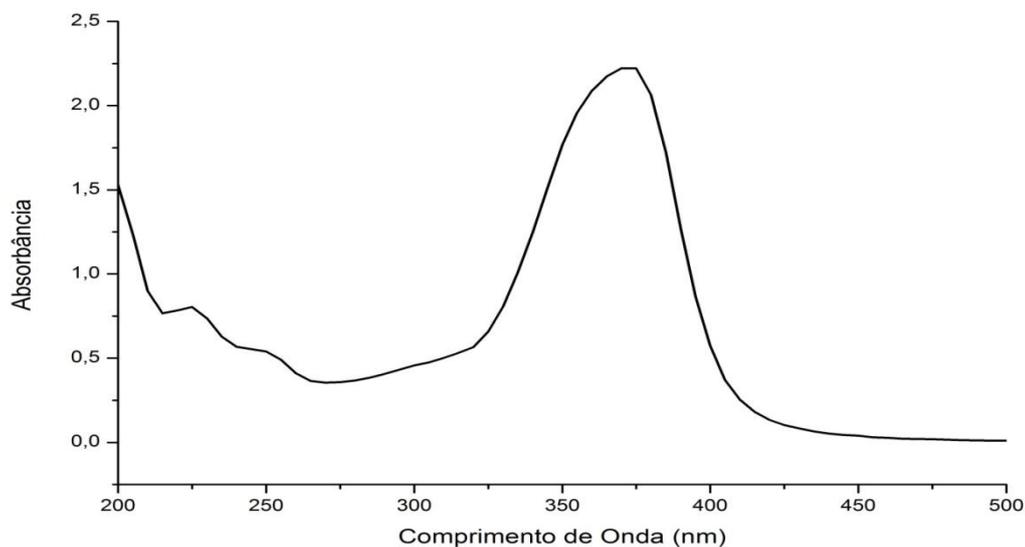
Os compostos $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ e $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ apresentaram dados semelhantes, sendo estes, portanto, organizados em um único tópico.

5.1.3.1 Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis

A substituição do íon cloreto pelo pseudohaleta azida acarretou algumas mudanças significativas no espectro. Primeiramente, houve um deslocamento da banda que, no composto $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$ era em 345 nm, para 370 nm (FIGURA 39). Esse deslocamento é denominado batocrômico, pois ocorreu uma diminuição na energia da transição eletrônica. Provavelmente esse deslocamento se dê pela

transferência de carga ligante-metal (TCLM) entre os orbitais da azida e do paládio (II).

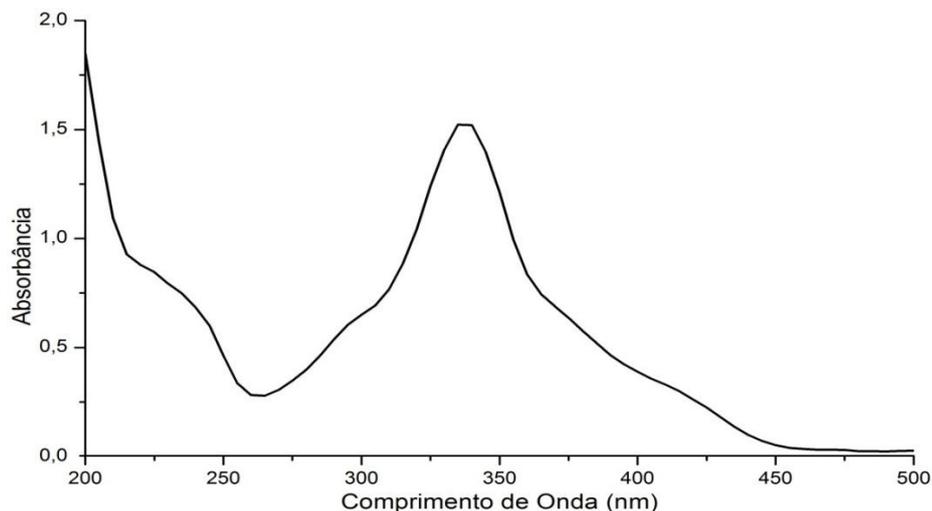
FIGURA 39 - Espectro UV-Vis do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$



Fonte: Do autor

Analisando, porém, o espectro UV-Vis obtido para o composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$, é possível notar que não houve diferença significativa entre este e o espectro do composto precursor de cloro. Porém, posteriormente, é possível verificar a presença do pseudohaleta NCO^- no composto através da espectroscopia no Infravermelho. Esse fator, portanto, corrobora a informação de que esse ânion está coordenado da mesma maneira que o íon cloreto no reagente de partida.

FIGURA 40 - Espectro UV-Vis do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$



Fonte: Do autor

5.1.3.2 Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho

Pelo fato de a espectroscopia no infravermelho ser uma técnica que possibilita investigar principalmente grupos funcionais presentes nas espécies químicas orgânicas e inorgânicas, ela permite a identificação da presença de pseudohaletos, tais como N_3 , NCO e SCN , nos complexos metálicos sintetizados. Estes ânions apresentam três modos vibracionais ativos no infravermelho (FIGURA 41).

FIGURA 41 - Estiramentos ativos no IV dos pseudohaletos

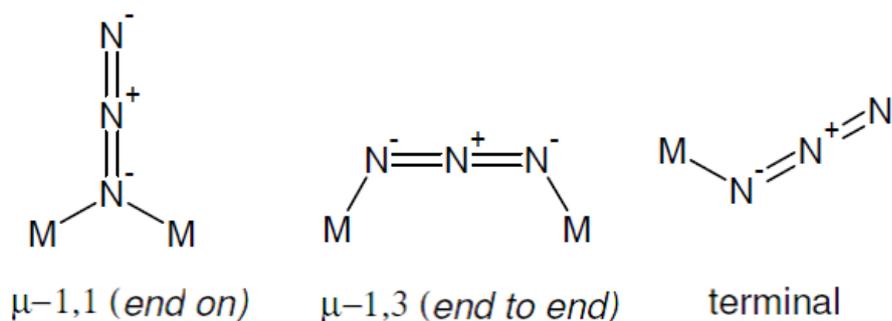


Fonte: SILVERSTEIN, 2005 (adaptado)

O estiramento assimétrico é o mais facilmente detectável, pois 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. Isso possibilita o diagnóstico dos modos de coordenação dos pseudohaletos (NAKAMOTO, 1986; GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). Para a azida, o estiramento simétrico ($1290 - 1344\text{ cm}^{-1}$) e a deformação angular ($550 - 645\text{ cm}^{-1}$) se encontram em regiões coincidentes com outras bandas, sendo, então, pouco utilizadas na caracterização (DA SILVA, 2010)

A azida pode se coordenar ao metal de forma terminal, em ponte entre dois centros metálicos pelo mesmo átomo de nitrogênio (modo de coordenação *end-on*), e 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 42 apresenta os principais modos de coordenação da azida.

FIGURA 42 - Principais modo de coordenação da azida



Fonte: do autor

De maneira geral, os complexos contendo o grupo azida em ponte entre dois átomos, em estruturas do tipo *end-on*, apresentam vibrações $\nu_{as}(N_3)$ na faixa de 2060 a 2090 cm^{-1} , enquanto as estruturas do tipo *end-to-end*, mostram $\nu_{as}(N_3)$ em frequências maiores que 2090 cm^{-1} . Frequências abaixo de 2060 cm^{-1} são características de azida coordenadas de forma terminal. (DE GOIS, 2011) De posse dessas informações, é possível, de maneira confiável, propor a maneira como o pseudohaleta azida se ligou ao metal. A TABELA 5 apresenta as faixas de localização das bandas no espectro infravermelho para os diferentes modos de coordenação da azida. Observa-se no espectro IV a presença de uma intensa banda em 2027 cm^{-1} , sendo esta um forte indicativo de que a azida se coordenou ao paládio (II) de modo termina.

TABELA 5 - Valores do Número de onda (cm^{-1}) no espectro Infravermelho dos estiramentos assimétricos para os diferentes modos de coordenação da azida

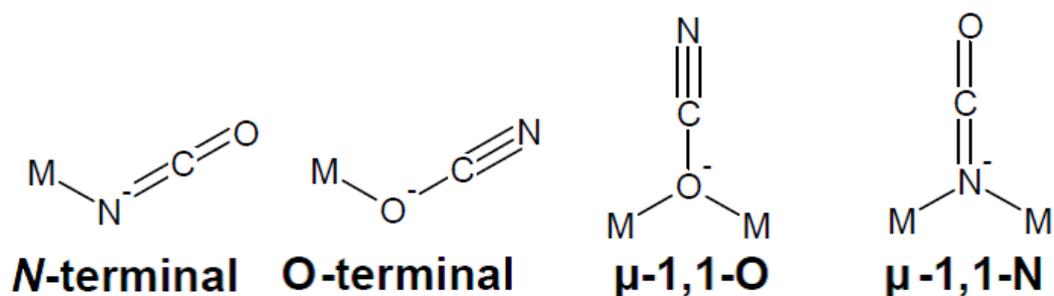
Coordenação	$\nu_{as}N_3$
NNN^- (livre)	2041
M-NNN-M (<i>end-to-end</i>)	2100-2080
M-(N3)-M (<i>end-on</i>)	2080-2050
M-NNN (<i>terminal</i>)	2050-2010

Fonte: DE GOIS, 2011

O íon cianato pode se coordenar ao metal através do átomo de oxigênio, nitrogênio ou por ambos. Levando em consideração que o íon metálico paládio (II) é caracterizado como um ácido macio, de acordo com a teoria de Pearson, a interação ocorre preferencialmente pelo átomo de nitrogênio do ânion, visto que este é o sítio

mais macio deste (SHRYVER, ATKINS, 2008). Esse íon apresenta os mesmos modos ativos no infravermelho que a azida, porém apresenta mais modos de coordenação, devido a uma maior variedade de átomos em sua composição (FIGURA 43).

FIGURA 43 - Modos de coordenação mais comuns para o íon cianato



Fonte: do autor

Como o estiramento da ligação CO e a deformação angular do cianeto apresentam bandas entre $1070-1350\text{ cm}^{-1}$ e $590-660\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, que são regiões coincidentes com outras bandas de funções orgânicas, a banda do estiramento da ligação CN se torna a principal evidência da substituição regioespecífica. A TABELA 6 apresenta as faixas de localização das bandas desse estiramento no espectro no infravermelho, de acordo com o modo de coordenação do íon cianato.

TABELA 6 - Valores do Número de onda (cm^{-1}) no espectro Infravermelho dos estiramentos assimétricos para os diferentes modos de coordenação do cianato

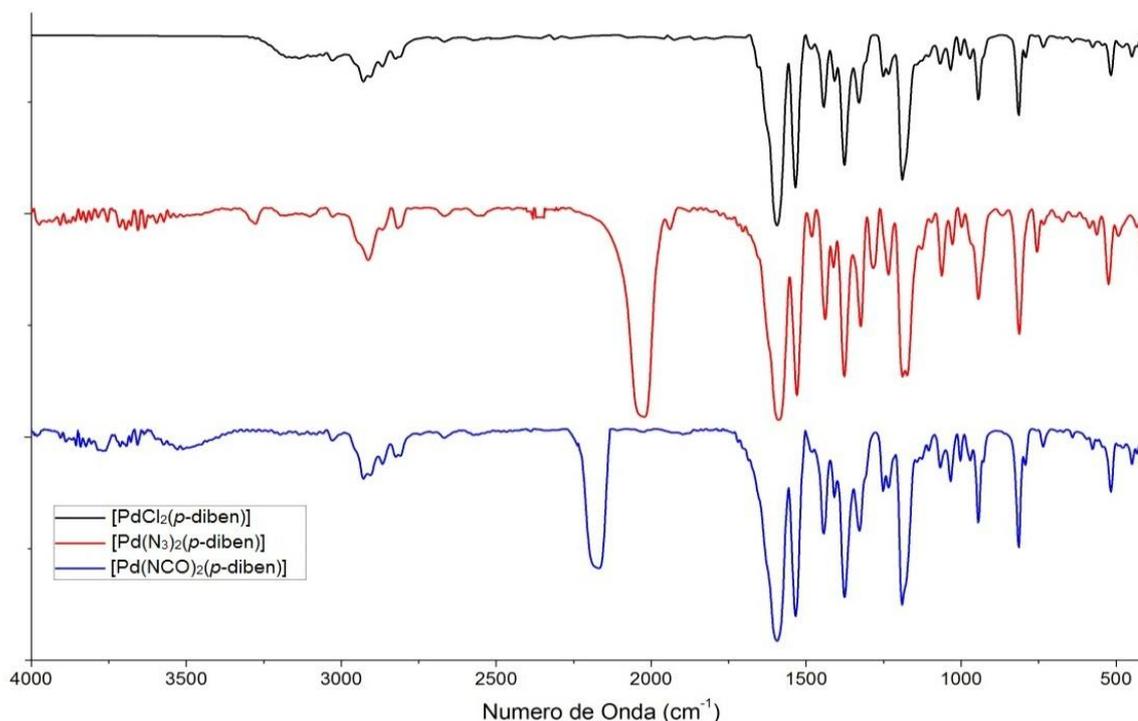
Coordenação	$\nu(\text{CN})\ (\text{cm}^{-1})$
NCO^- (livre)	2165
N-terminal	2240 – 2170
N-end-on	2210 – 2150
O-terminal	2240 - 2200

Fonte: DE GOIS, 2011

Mais uma vez, como ocorreu no caso da azida, a coordenação ocorre de forma terminal, onde o átomo ligante do pseudohaletos é o nitrogênio, como esperado. Essa informação é evidenciada pela presença de uma banda em 2197 cm^{-1} ,

correspondente ao estiramento (C=N) do cianato nesse tipo de coordenação. (NAKAMOTO, 1986; MEGURO et. al., 2008). Na FIGURA a seguir, está representada uma comparação entre os espectros no IV do precursor de cloreto e das duas substituições por pseudohaletos.

FIGURA 44 - Comparação entre os espectros IV do complexo com Cl^- , N_3^- e NCO^- .



Fonte: Do autor

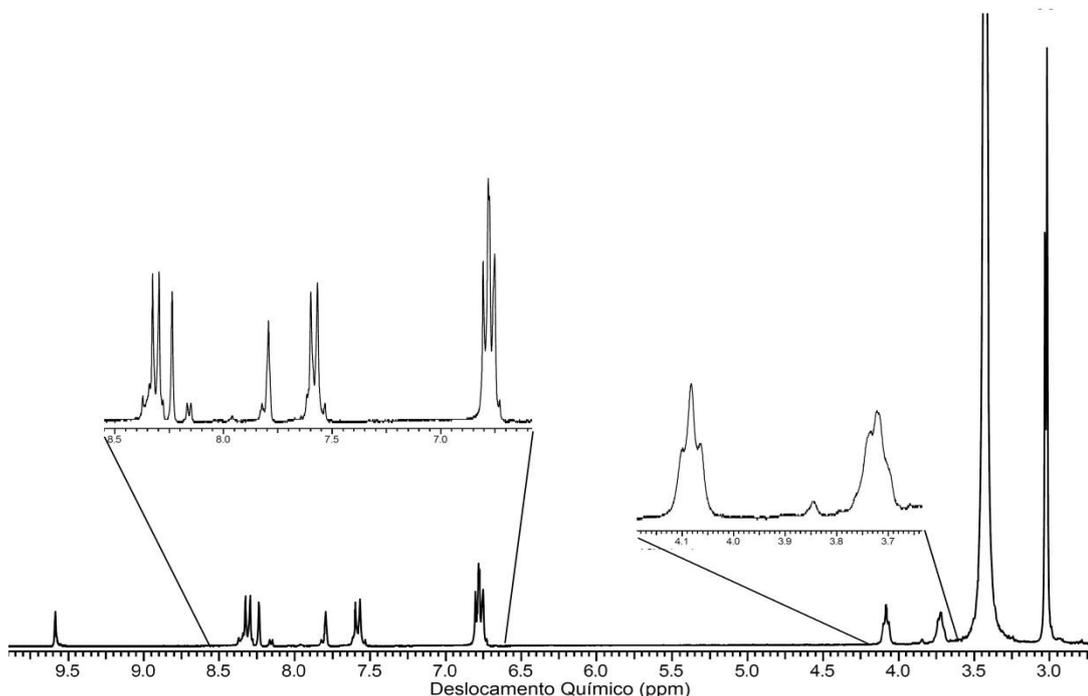
5.1.3.3 Ressonância Magnética Nuclear

Analisando os espectros RMN de ^1H e ^{13}C do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$, observa-se que eles são muito semelhantes com os espectros obtidos para o complexo contendo cloro. Entretanto, é possível perceber que o desdobramento dos sinais referentes aos componentes dos anéis aromáticos e dos CH_2 ligados aos nitrogênios das iminas, em ambos os espectros originou um menor número de sinais em comparação com os do complexo $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$.

Analisando faixa onde se encontra os sinais dos CH_2 ligados aos nitrogênios das iminas no espectro de ^1H (FIGURA 45), observa-se a existência de dois tripletos bem definidos. Isso indica que os hidrogênios dos carbonos diferentes não se

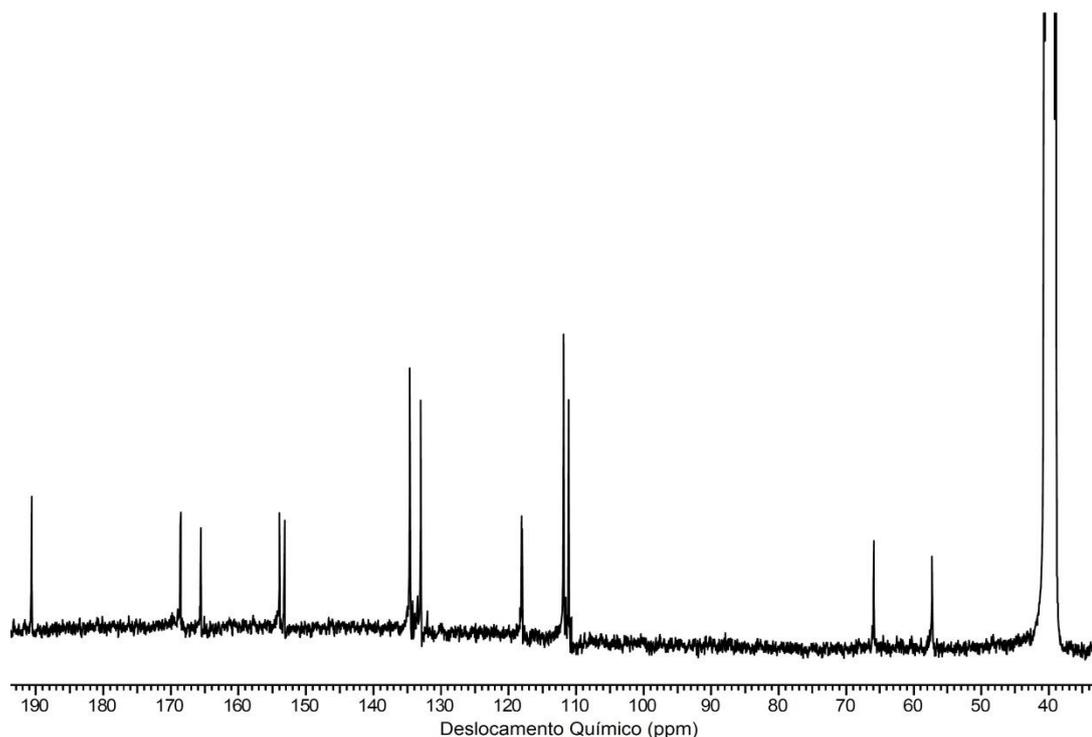
equivalem. Uma proposta que explica essa diferenciação tão delimitada é a formação de uma imina do tipo Z e outra do tipo E no mesmo composto, causando uma diferenciação nos hidrogênios dos carbonos vizinhos.

FIGURA 45 - Espectro RMN ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6



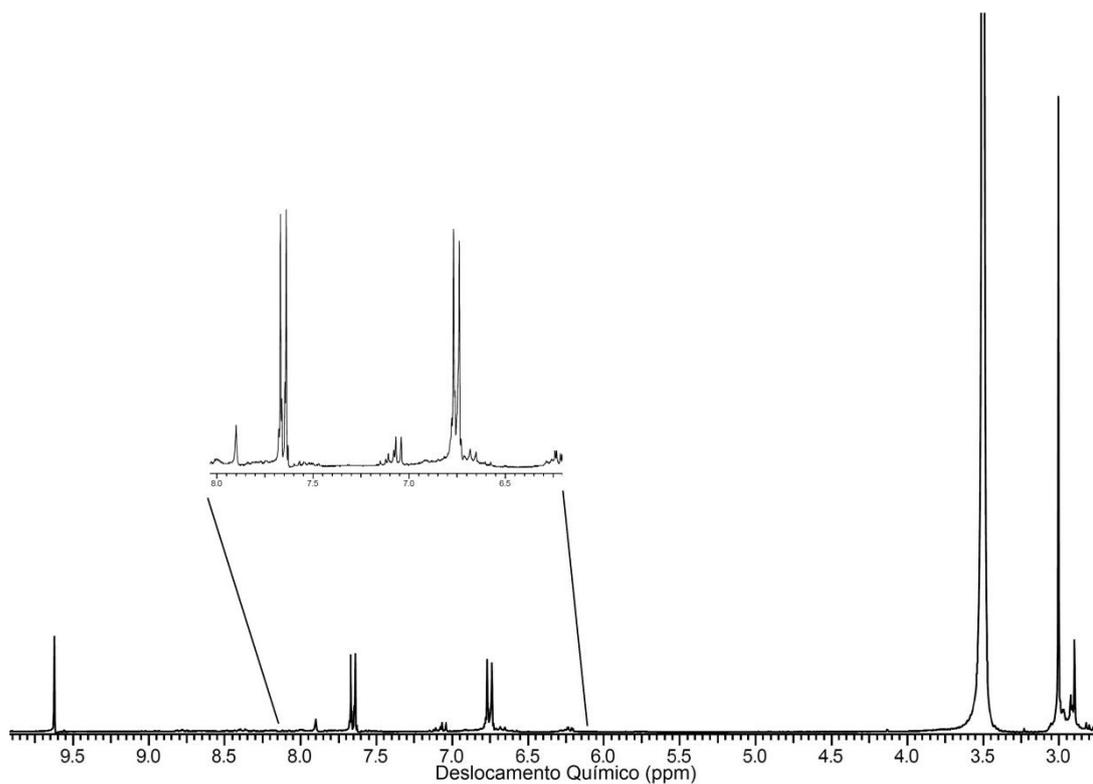
Fonte: Do autor

No espectro de ^{13}C (FIGURA 46), essa diferenciação entre as duas ligações $\text{C}=\text{N}$ fica ainda mais clara. Nota-se a existência de dois sinais referentes aos carbonos ligados aos nitrogênios das iminas (57,29 e 65,92 ppm). Além disso, a região dos carbonos aromáticos é muito semelhante à do ligante livre, entretanto com sinais duplicados (entre 110 e 170 ppm). O sinal dos carbonos das iminas também aparece bem deslocado (190,42 ppm).

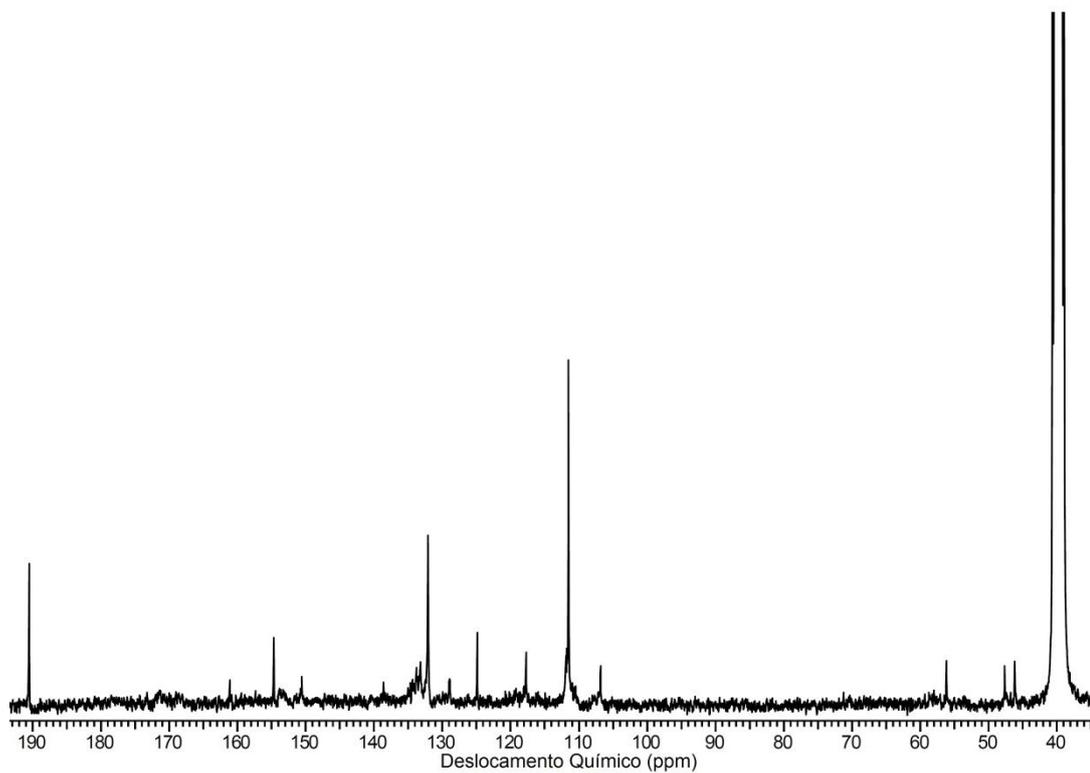
FIGURA 46 - Espectro RMN ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

Fonte: Do autor

Os espectros de RMN do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ elucidam que a substituição dos íons cloreto pelos íons iodeto favoreceu a formação de um complexo onde as duas ligações imínicas se equivalem. A existência de dois dupletos bem definidos na região dos sinais dos hidrogênios aromáticos do espectro de ^1H (FIGURA 47) indica que existe equivalência entre os dois anéis aromáticos. Entretanto, pequenos sinais próximos a esses dupletos sugere a existência de traços de outros isômeros. Essa informação é corroborada pelo espectro de ^{13}C (FIGURA 48), onde aparecem sinais de pouca intensidade em 46,13, 47,61 e 56,15 ppm. Esses sinais são referentes aos carbonos dos CH_2 ligados aos nitrogênios das iminas, o que indica uma diferença entre as duas ligações $\text{C}=\text{N}$. Porém, pelo fato de o grupo isocianato ser relativamente grande, o composto formado majoritariamente foi o no qual as duas ligações imínicas apresentam configuração E.

FIGURA 47 - Espectro RMN ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

Fonte: Do autor

FIGURA 48 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

Fonte: Do autor

5.1.3.4 Difração de raios X por monocristal

O monocristal (FIGURA 49) 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 monocristal.

FIGURA 49 - Monocristal obtido do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$



Fonte: Do autor

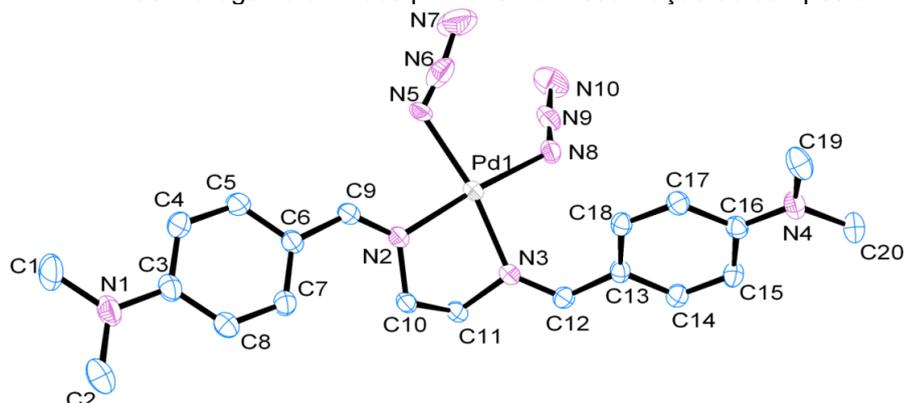
Os dados cristalográficos (dados cristalinos, de coleta e refinamento) estão apresentados na TABELA 7 e a apresentação ORTEP do composto pode ser verificada na FIGURA 50. A FIGURA 51 ilustra o empacotamento molecular na cela.

TABELA 7 - Dados Cristalográficos para o composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$

Fórmula Molecular	$\text{C}_{20} \text{H}_{25} \text{N}_{10} \text{Pd}$
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo Espacial	P 21/n
Parâmetros de Cella (Å)	$a = 13,9552(4)/ b = 8,2896(2) c = 20,0633(7)$
Ângulos da Cella (°)	$\alpha = 90/ \beta = 106.738(4)/ \gamma = 90$
Volume da Cella (Å³)	2222,65
Fator R (%)	4,25
Z (moléculas por cela)	4
Dimensões do Cristal	0,3674 x 0,2692 x 0,0438 mm

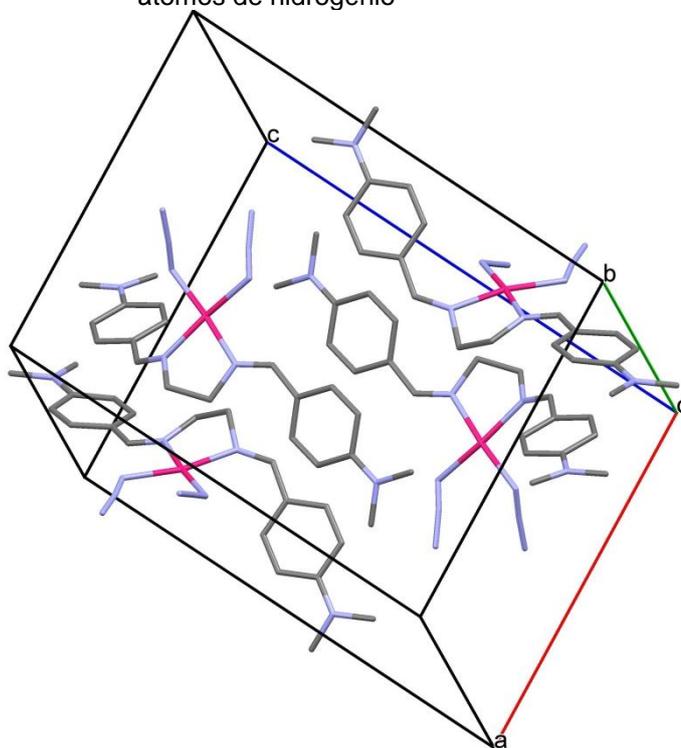
Fonte: Do autor

FIGURA 50 - Representação Ortep do complexo $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ com elipsoides representando 50% de probabilidade, sendo os átomos de hidrogênio omitidos para melhor visualização do composto.



Fonte: Do autor

FIGURA 51 - Empacotamento molecular do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$ na cela. com omissão dos átomos de hidrogênio



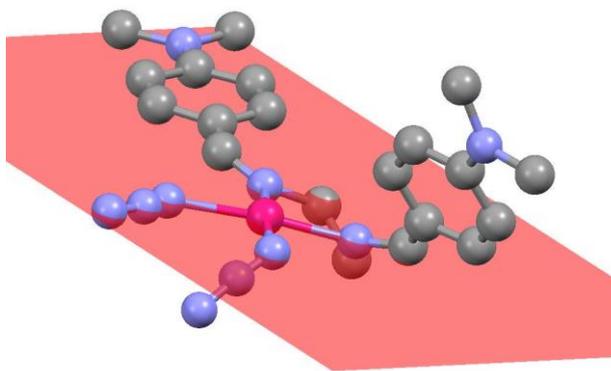
Fonte: Do autor

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. 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 B.

A partir dos dados de difração de raios X de monocristal verifica-se que os átomos coordenantes se encontram no mesmo plano do metal. A ausência de desvios foi verificada traçando um plano através dos átomos (FIGURA 52), com isso verificou-se que todos não desviam do plano traçado, como sumarizado na TABELA 8.

FIGURA 52 - Plano traçado entre os átomos de nitrogênio ligados ao paládio



Fonte: Do autor

TABELA 8 - Distância dos átomos coordenados ao metal ao plano traçado

Átomo	Distância (Å)
N2	0.070
N3	0.069
N5	0.061
N8	0.060
Pd1	0.084

Fonte: Do autor

Entretanto, ao analisarmos os ângulos de coordenação, é notável um pequeno desvio em relação ao padrão para uma geometria quadrado plana, 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 N8-Pd1-N3 ser maior do que o formado por N5-Pd1-N2. Os ângulos entre as ligações entre o átomo metálico e os ligantes estão na TABELA 9. Os demais ângulos de ligação podem ser encontrados no Anexo C.

TABELA 9 - Dados cristalográficos de ângulos de ligação

1	2	3	Ângulo (°)
N8	Pd1	N3	93.4(1)
N8	Pd1	N5	93.8(1)
N3	Pd1	N2	81.8(1)
N5	Pd1	N2	90.8(1)

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.

5.1.4 Compostos [PdBr₂(p-diben)] e [PdI₂(p-diben)]

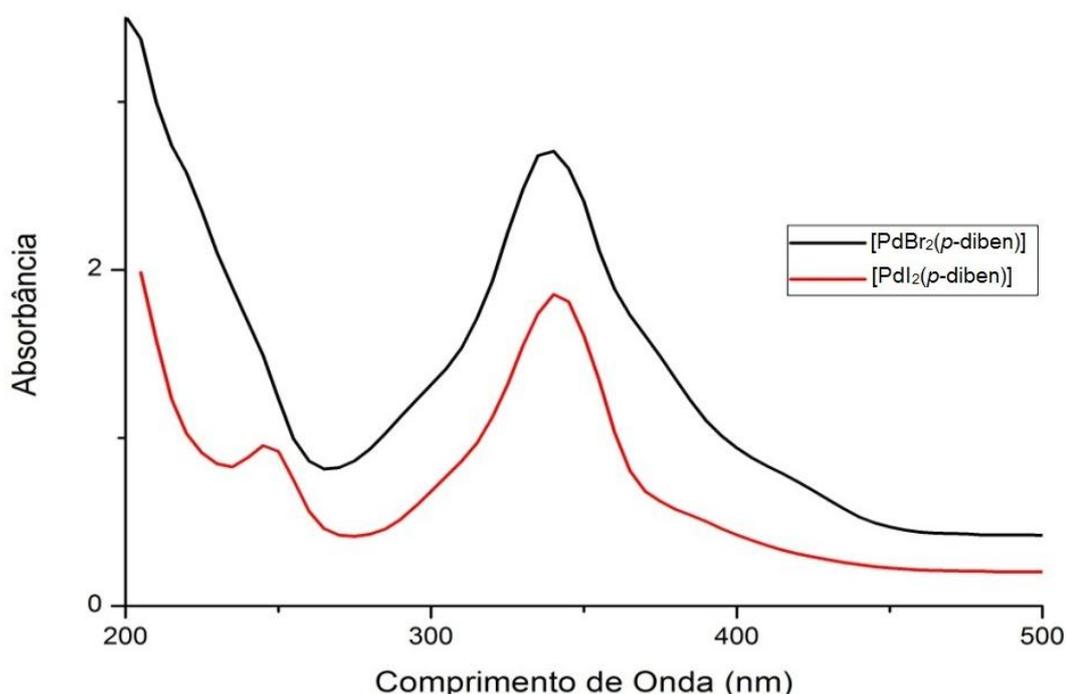
Os compostos [PdBr₂(p-diben)] e [PdI₂(p-diben)] também apresentaram dados de caracterização semelhantes, e, conseqüentemente, estes foram apresentados em um mesmo tópico.

5.1.4.1 Espectroscopia de absorção na Região do UV-Vis

A interpretação do espectro obtido para esse composto é muito semelhante à dos espectros dos compostos com cloreto e isocianato, visto que estes não apresentaram diferenças significativas.

Já para o complexo $[\text{PdI}_2(\textit{p}\text{-diben})]$, no qual ocorreu a substituição do haleto Cl^- pelo I^- , também apresentou deslocamento da banda 345 nm para 335 nm. Além disso, a banda por volta de 240 cm^{-1} aparece de maneira mais intensa que nos demais compostos e deslocada para uma região de mais baixa energia.

FIGURA 53 - Espectros UV-Vis dos compostos $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ e $[\text{PdI}_2(\textit{p}\text{-diben})]$

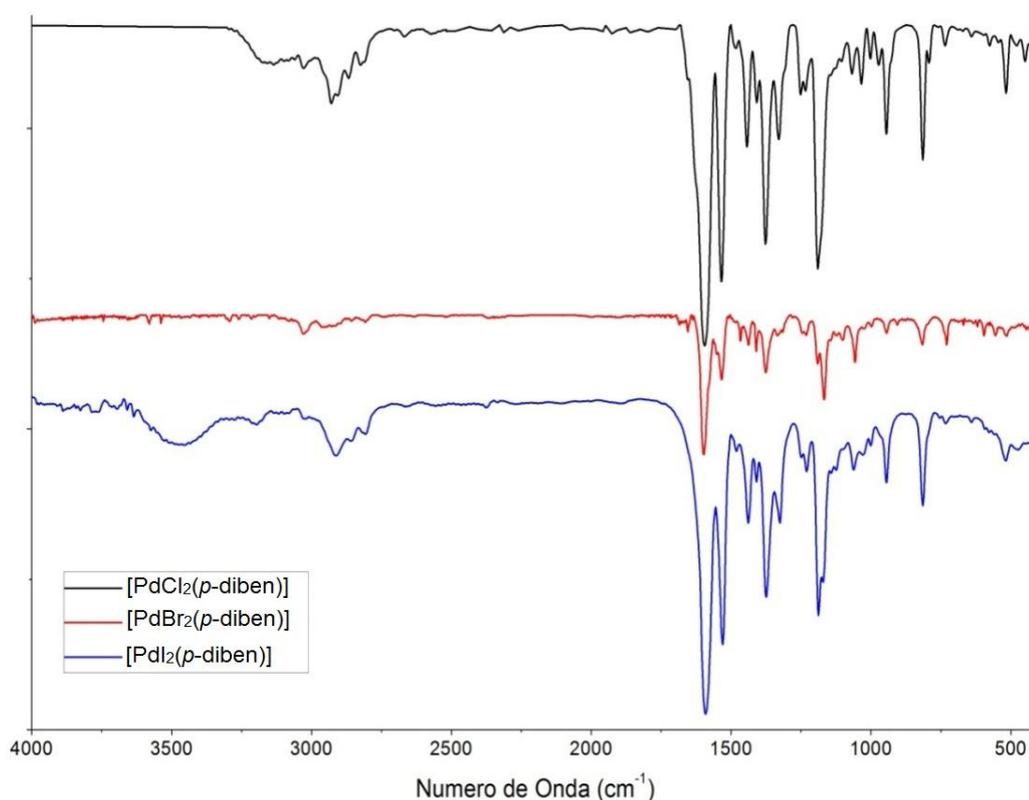


Fonte: Do autor

5.1.4.2 Espectroscopia de absorção na Região do Infravermelho

Tanto o espectro do composto $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ quanto o do $[\text{PdI}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ são muito semelhantes com o do precursor de cloro, como pode ser visto na FIGURA 54, impossibilitando a diferenciação deles por análise de IV.

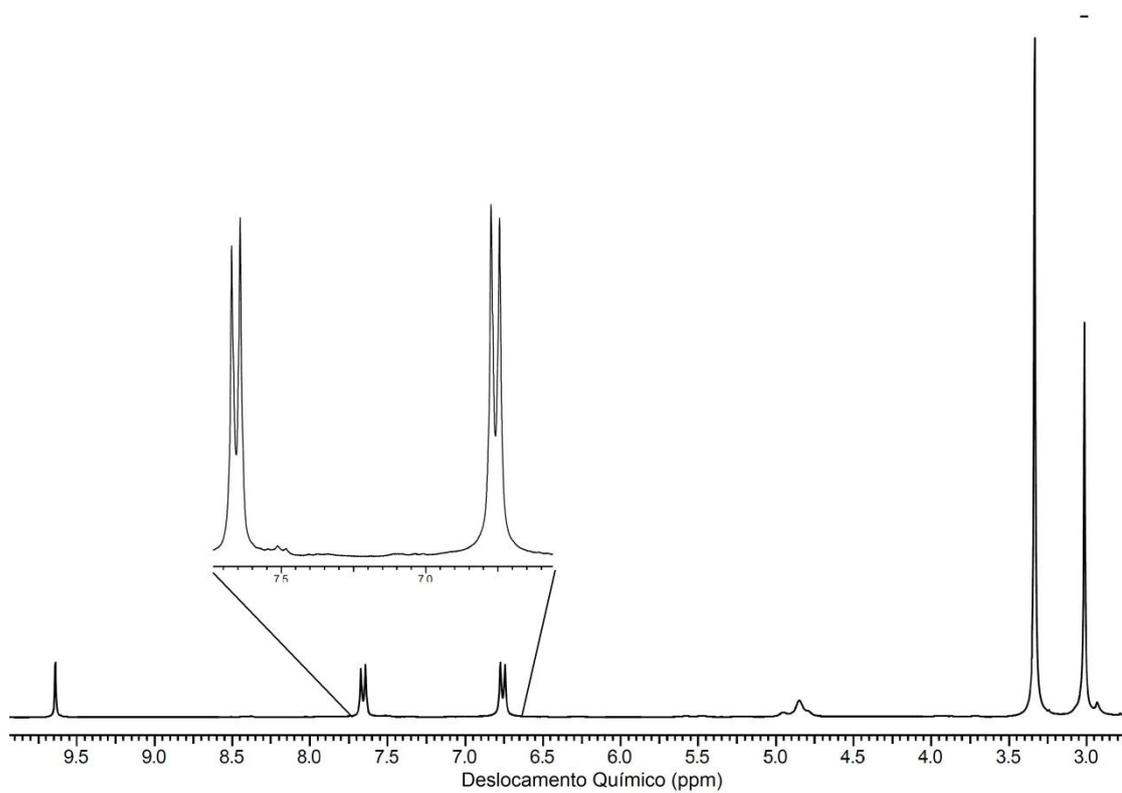
FIGURA 54 - Comparação entre os espectros IV dos compostos com Cl^- , Br^- , e I^- .



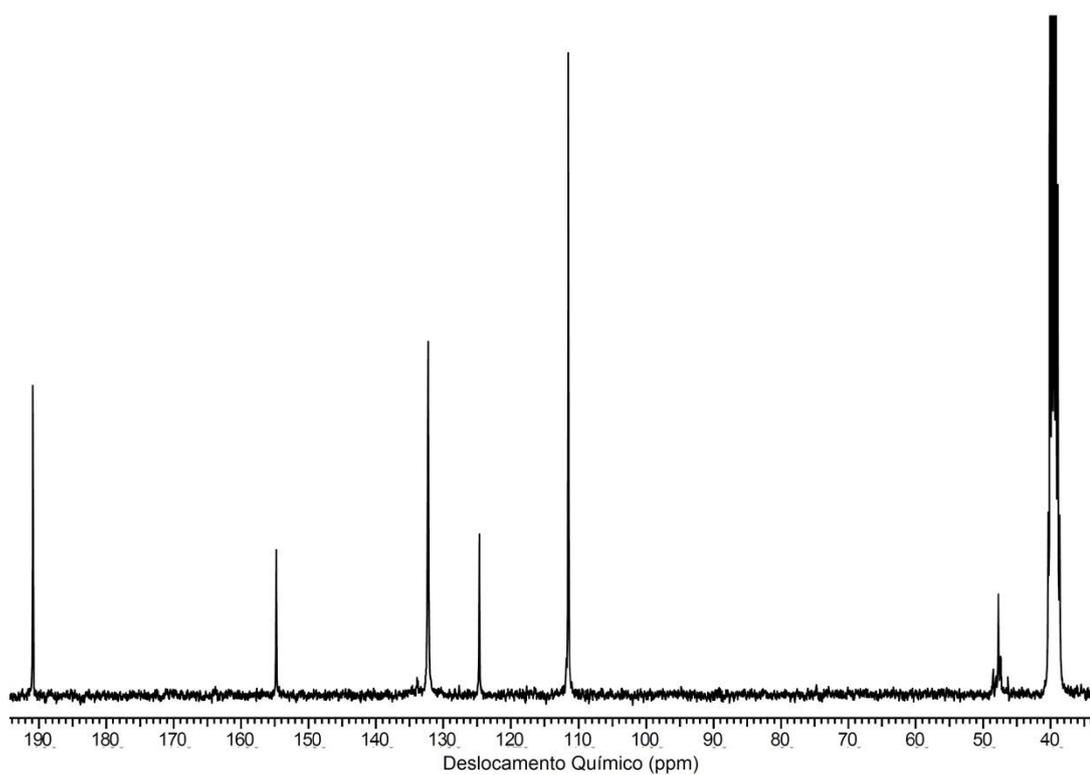
Fonte: Do autor

5.1.4.3 Ressonância Magnética Nuclear

A interpretação dos espectros obtidos para os compostos $[\text{Pd Br}_2(\text{p-diben})]$ e $[\text{PdI}_2(\text{p-diben})]$ se assemelha à dos espectros do complexo $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(\text{p-diben})]$, visto que estes se apresentam muito semelhantes. O espectro de RMN de ^1H do bromo-complexo (FIGURA 55) apresenta na região dos sinais dos hidrogênios aromáticos dois dupletos. Já o espectro de ^{13}C desse mesmo composto (FIGURA 56) exibe sinais muito semelhantes aos do ligante na região dos carbonos aromáticos. Isso mostra que o complexo sintetizado apresenta equivalência entre os carbonos dos dois anéis aromáticos, indicando que as ligações imínicas apresentam a mesma simetria. Pelo fato de o brometo ser um substituinte volumoso, espera-se a formação de duas configurações E nas iminas.

FIGURA 55 - Espectro RMN ^1H do composto $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

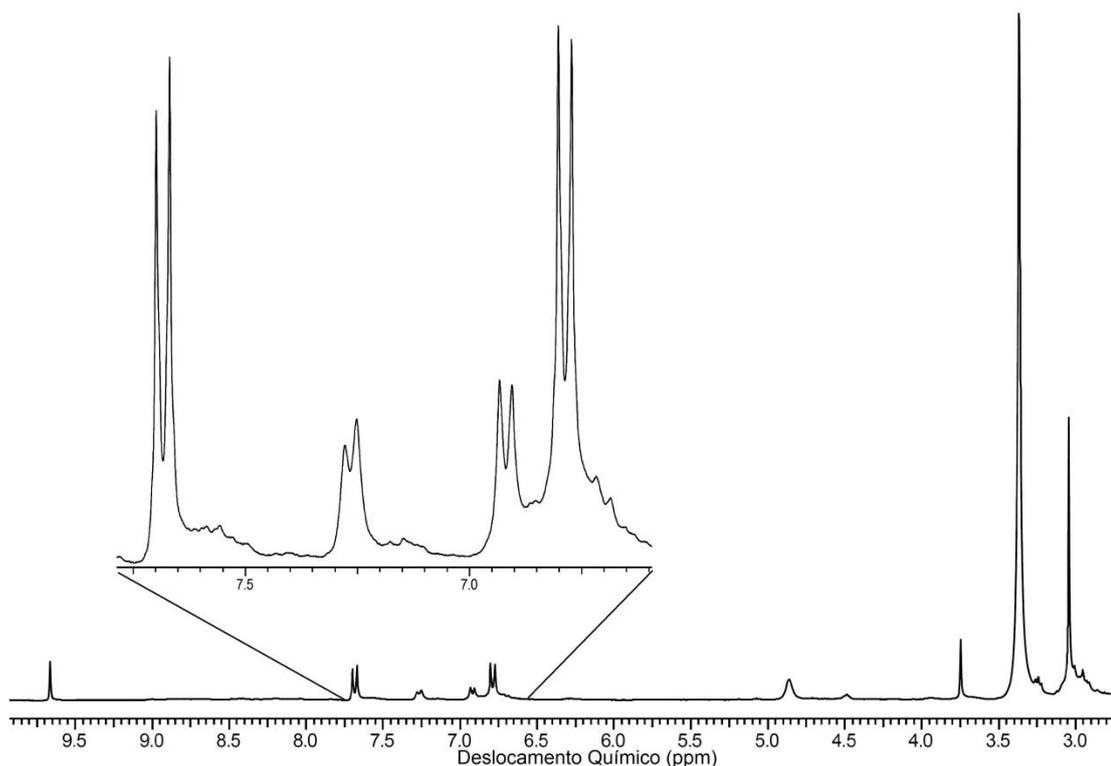
Fonte: Do autor

FIGURA 56 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[\text{PdBr}_2(\textit{p}\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

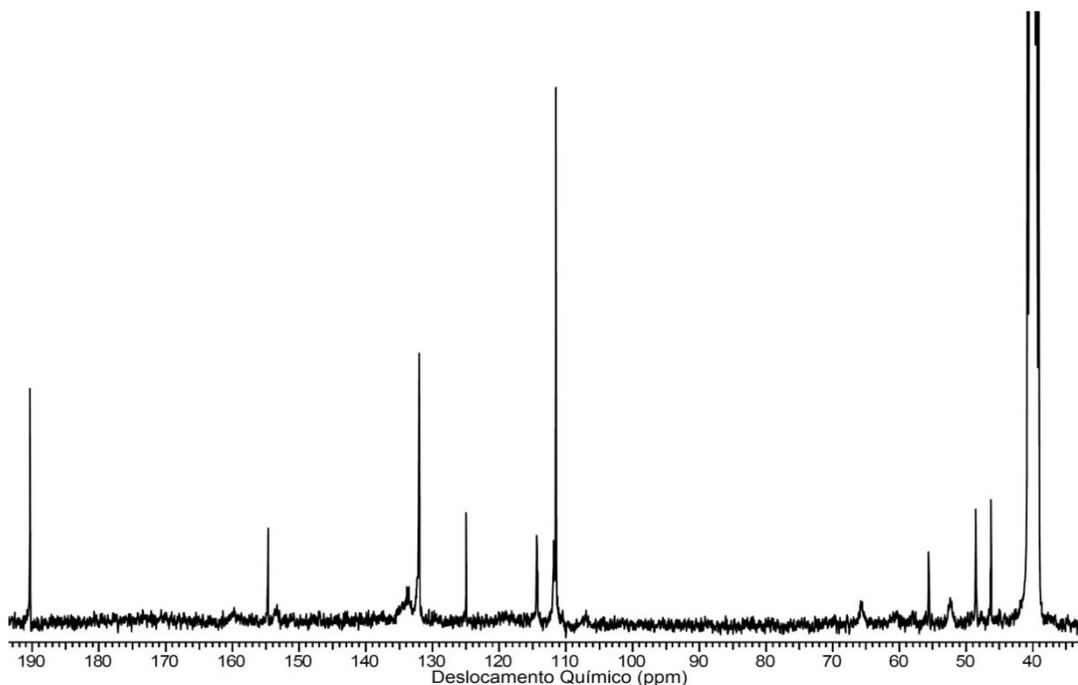
Fonte: Do autor

O espectro de ^1H do composto $[\text{PdI}_2(p\text{-diben})]$ (FIGURA 57) também apresenta dois dupletos na região dos hidrogênios aromáticos. Entretanto, além desses dupletos, aparecem outros sinais de menor intensidade. Esses sinais sugerem que ocorreu a formação de uma mistura de isômeros. Esse fato é corroborado pela existência de sinais entre 3,80 e 4,80, referentes à diferenciação entre os hidrogênios dos CH_2 ligados aos nitrogênios das iminas. Além disso, os sinais entre 45 e 67 ppm no espectro de ^{13}C (FIGURA 58) também indicam a formação dessa mistura, bem como o surgimento de mais sinais na região dos carbonos aromáticos em comparação com o espectro do composto $[\text{PdBr}_2(p\text{-diben})]$. Entretanto, avaliando a intensidade dos sinais e o volume do grupo iodeto, é proposta a formação majoritária do complexo onde as duas ligações $\text{C}=\text{N}$ apresentam isomeria E.

FIGURA 57 - Espectro RMN ^1H do composto $[\text{PdI}_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6



Fonte: Do autor

FIGURA 58 - Espectro RMN ^{13}C do composto $[\text{PdI}_2(p\text{-diben})]$ em DMSO-d_6 

Fonte: Do autor

5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

A TABELA 10 apresenta os códigos utilizados nos ensaios biológicos para cada um dos compostos sintetizados.

TABELA 10 - Codificação utilizada nos testes biológicos para os compostos sintetizados

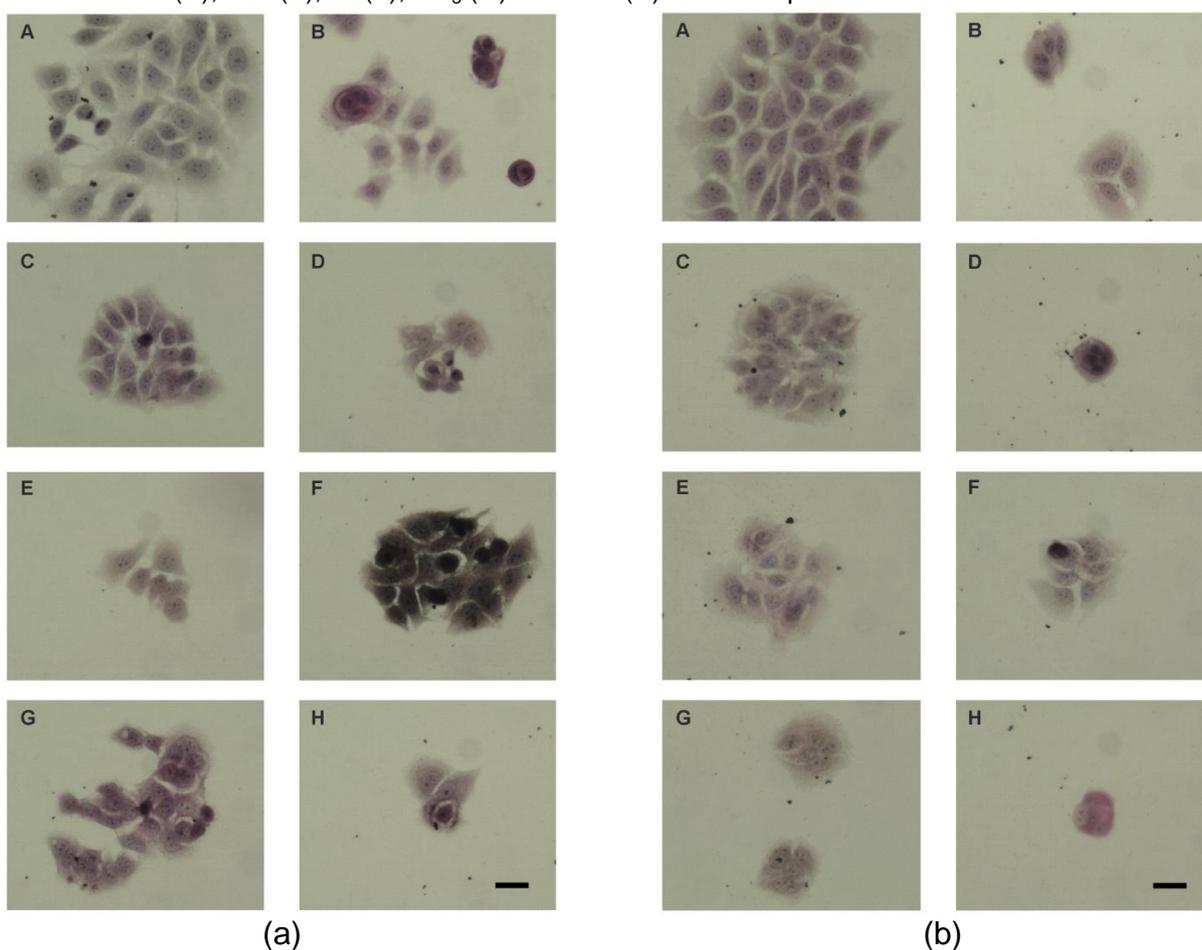
Composto	Símbolo	Composto	Símbolo
<i>p</i> -diben	LC	$[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$	CNCO
$[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$	CCl	$[\text{PdBr}_2(p\text{-diben})]$	CBr
$[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$	CN ₃	$[\text{PdI}_2(p\text{-diben})]$	CI

Fonte: Do autor

O estudo qualitativo a respeito da morte celular causada pela aplicação dos compostos em células MCF-7 demonstrou que ocorreu uma modificação significativa na morfologia das células cancerosas, como é possível observar nas FIGURAS a seguir. As células do controle negativo apresentam forma irregular e se agrupam em

colônias maiores. Ao compararmos essas células ao controle positivo, no caso as tratadas com cisplatina, nota-se uma diminuição no tamanho da colônia e um arredondamento de algumas células. Esses dois fatores são indicativos de morte celular. Além disso, as células em processo de morte sofrem condensação da cromatina e compactação de componentes citoplasmáticos. Por esse fato, as células mortas apresentam uma coloração mais escura que as vivas, sendo este mais um indicativo de citotoxicidade dos compostos.

FIGURA 59 - Morfologia das células MCF-7 controle (A) e tratadas (B-H) por 24 h (a) e por 48 h (b), com compostos a 5 μ M, coradas com hematoxilina-eosina. Cisplatina (B); LC (C), CCl (D), CBr (E), Cl (F), CN₃ (G) e CNCO (H). 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. 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

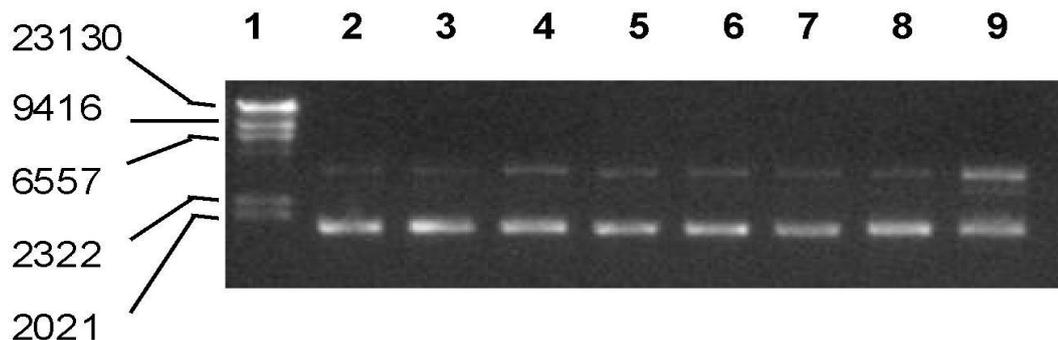
apresentaram mais evidências de morte celular do que a base de Schiff livre. Comparando os resultados das células tratadas com os complexos, os que apresentaram, qualitativamente, mais atividade foram os compostos CCI e CNCO.

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 análise de interação com DNA por eletroforese também apresentou resultados apreciáveis. O DNA de plasmídeo utilizado apresenta alta densidade, originando uma banda bem evidente na parte inferior do gel de eletroforese. À medida que esse DNA é clivado, banda superior à inicial aparece e se intensifica. Quanto mais intenso a banda obtida, maior a interação do composto testado com o DNA.

Analisando os padrões de eletroforese (FIGURA 60), a base de Schiff apresentou um padrão (3) semelhante ao controle negativo (4), indicando pouca interação com o DNA. A partir da amostra 4, que é a cisplatina, é possível notar uma intensificação da banda do DNA clivado, indicando uma maior interação com o DNA para os complexos sintetizados. O composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ apresentou uma banda de DNA clivado mais intensa que a da cisplatina. Essa informação corrobora os dados obtidos no estudo da morfologia celular e sugere que o mecanismo de ação desses complexos é por interação direta com o DNA. Os números à esquerda da FIGURA 60 indicam a massa molar do fragmento referente a cada banda do marcador.

FIGURA 60 - Eletroforese em gel de agarose de DNA do plasmídeo. 1, marcador λ /Hind III; 2, controle; 3, LC; 4, cisplatina; 5, CCl; 6, CBr; 7, Cl; 8, CN₃; 9, CNCO.



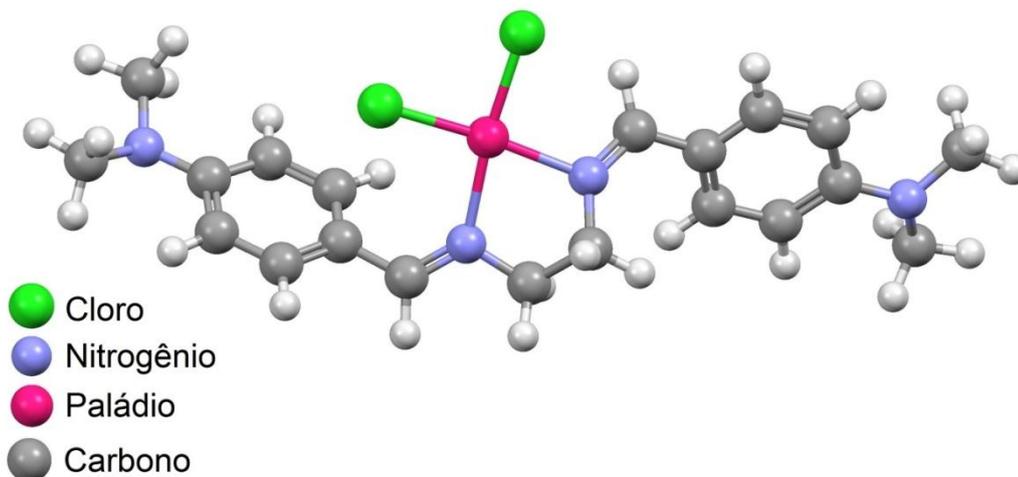
Fonte: Do autor

5.3 DISCUSSÕES

Os resultados obtidos através das análises espectroscópicas e elementar levaram a conclusão de que não houve a formação de um composto organometálico. O deslocamento das bandas referentes aos componentes das ligações imínicas, tanto no espectro de Infravermelho (do estiramento da ligação C=N) quanto nos espectros de RMN de ¹H (-HC=N-) e de ¹³C (-HC=N-) leva a conclusão de que a coordenação ocorreu pelos dois átomos de nitrogênio dessas ligações. Essa informação é confirmada pelos dados obtidos pela difração de raios X do monocristal do composto [Pd(*p*-diben)(N₃)₂].

A grande semelhança, somente com mudanças pontuais, entre os espectros de UV-Vis e Infravermelho dos complexos sintetizados, como é observado no Anexo D, indica uma conservação na estrutura geral dos compostos a partir da substituição dos cloretos do composto [PdCl₂(*p*-diben)]. Entretanto as peculiaridades apresentadas pelos espectros de RMN desses complexos sugere a formação de isômeros através do processo de isomerização E/Z. A semelhança clara entre os espectros de RMN dos compostos [PdCl₂(*p*-diben)] e [Pd(N₃)₂(*p*-diben)] sugere que estes apresentem estruturas muito semelhantes. A estrutura proposta para o cloro-complexo está ilustrada na FIGURA 61, sendo muito semelhante a estrutura obtida através da difração de raios X do monocristal de [Pd(N₃)₂(*p*-diben)]. Lembrando que as estrutura propostas representam o produto majoritário da reação.

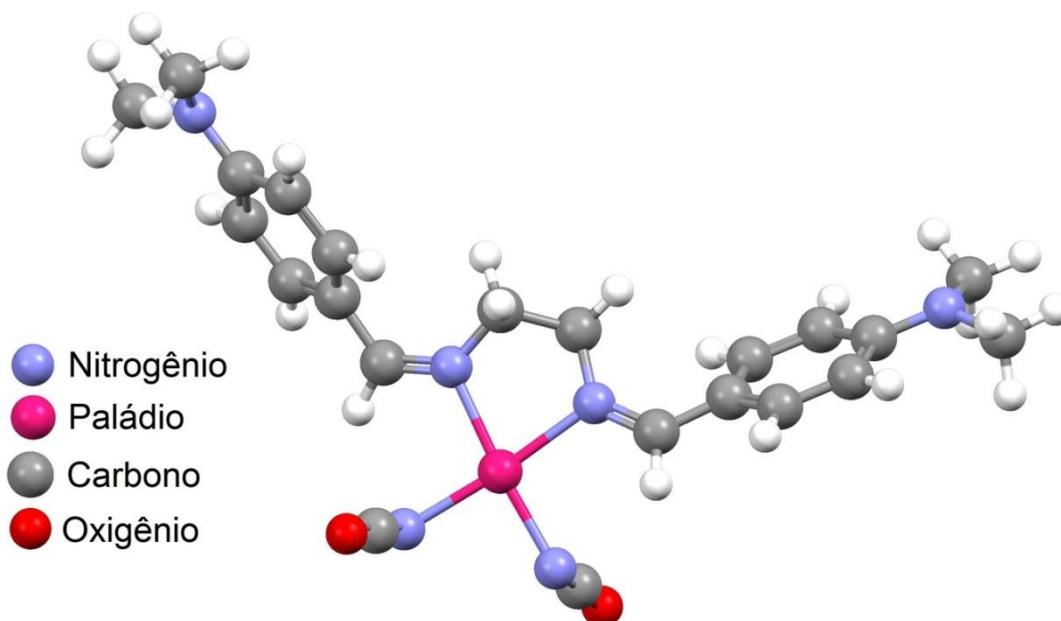
FIGURA 61 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto
[PdCl₂(*p*-diben)]



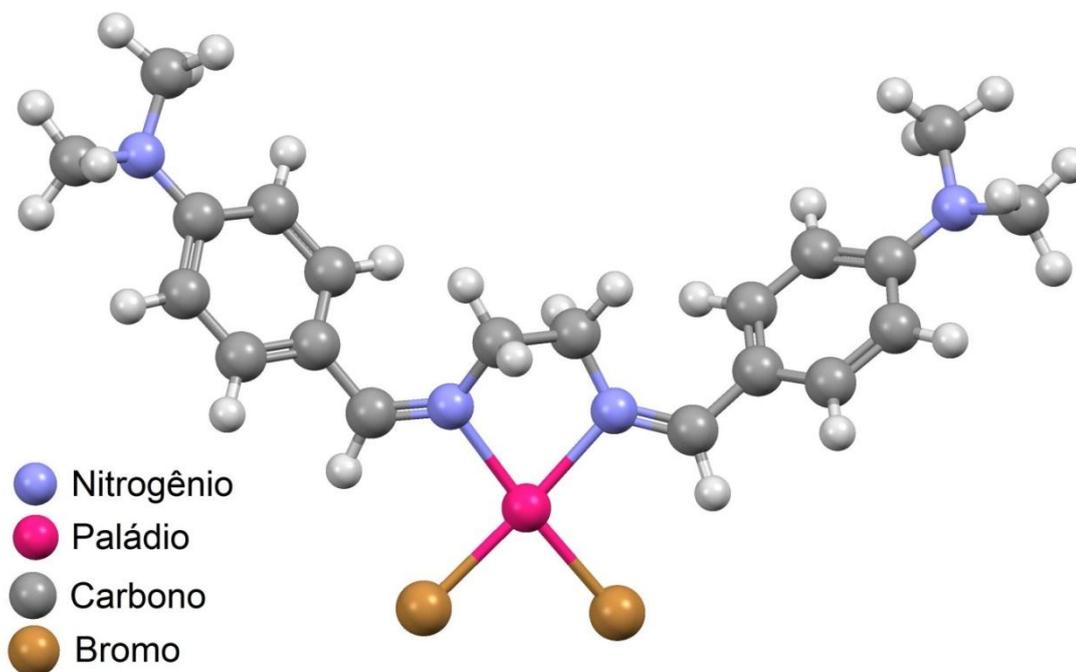
Fonte: Do autor

A análise dos espectros de RMN dos compostos [PdBr₂(*p*-diben)], [Pd(NCO)₂(*p*-diben)] e [PdI₂(*p*-diben)] mostra que estes se assemelham consideravelmente, o que indica, portanto, a formação de estruturas semelhantes para esses três complexos, como as apresentadas nas FIGURAS 62, 63 e 64.

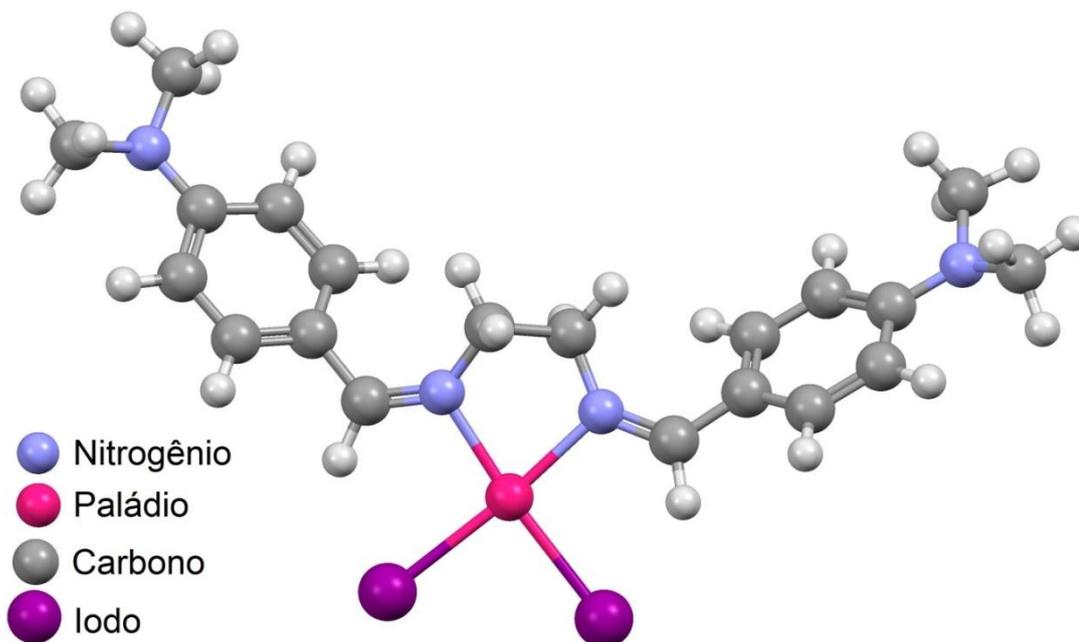
FIGURA 62 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto
[Pd(NCO)₂(*p*-diben)]



Fonte: Do autor

FIGURA 63 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto $[\text{PdBr}_2(p\text{-diben})]$ 

Fonte: Do autor

FIGURA 64 - Proposta estrutural do produto majoritário da síntese do composto $[\text{PdI}_2(p\text{-diben})]$ 

Fonte: Do autor

Como os grupos substituintes isocianato, brometo e iodeto são volumosos, uma explicação plausível para a equivalência entre os sinais apresentadas nos espectros de RMN é a inversão das duas ligações C=N, formando ligações E.

Como foi elucidado na FIGURA 14, em uma das etapas do processo de ciclometalação ocorre a interação entre o anel aromático e o íon metálico, no caso o paládio (II), através de um ataque nucleofílico. Porém, as características dos radicais ligados ao anel aromático podem comprometer a efetividade desse ataque. Sabe-se que existem radicais denominados ativadores, que fornecem densidade eletrônica para o anel, e também os denominados desativadores, que retiram densidade eletrônica.

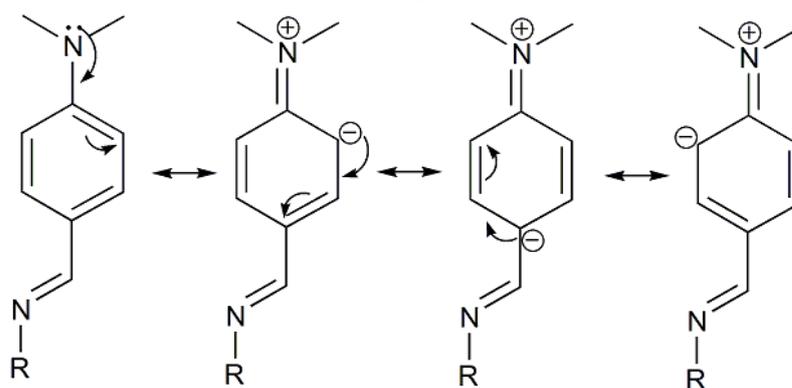
Os radicais ativadores são orto-para-dirigentes, ou seja, deslocam a densidade eletrônica para as posições orto e para, em relação ao próprio radical. Isso indica que essas posições ficam mais aptas a realizarem o ataque nucleofílico. Já os desativadores deslocam essa densidade para a posição meta em relação a eles, sendo denominados meta-dirigentes. A seguir, temos uma TABELA com as características de alguns radicais.

TABELA 11 - Efeito dos substituintes na substituição aromática eletrofílica

Orientadores <i>orto-para</i>	Orientadores <i>meta</i>
Ativadores Fortes -NH ₂ , -NHR, -NR ₂ , -OH, -O ⁻	Desativadores Moderados -C≡N, -SO ₃ H, -CO ₂ H, -CO ₂ R, -CHO -COR
Ativadores Moderados -NHCOCH ₃ , -NHCOR, -OCH ₃ , -OR	Desativadores Fortes -NO ₂ , -NR ₃ ⁺ , -CF ₃ , -CCl ₃
Ativadores Fracos -CH ₃ , -C ₂ H ₅ , -R, -C ₆ H ₅	
Desativadores Fracos -F, -Cl, -Br, -I	

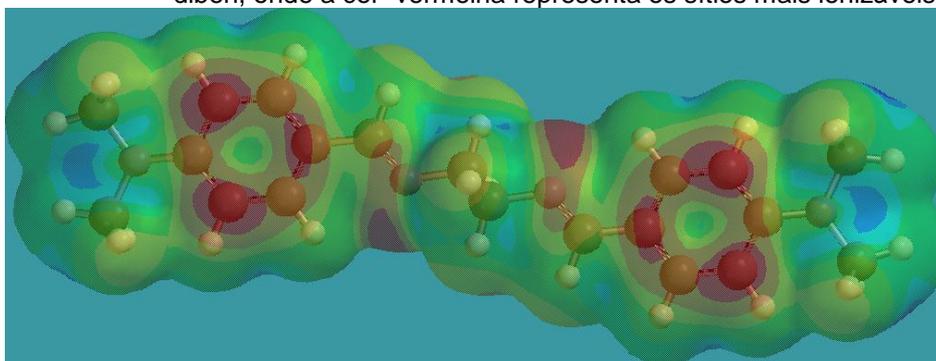
Fonte: SOLOMONS; FRUHLE, 2001

Analisando o ligante *p*-diben, nota-se que além do grupamento imina, os anéis aromáticos apresentam outro substituinte que é o grupo -N(CH₃)₂. Observando a TABELA 11, esse radical pode ser caracterizado como um forte ativador, orientando, portanto, substituições nas posições *orto* e *para*. A FIGURA 65 demonstra em um fragmento do ligante utilizado, através do efeito de ressonância, o princípio dessa orientação.

FIGURA 65 - Efeito causado pelo grupo ativador $-N(CH_3)_2$ 

Fonte: Do autor

Nota-se que, para que ocorra a ciclometalação, o paládio (II) deve se ligar ao carbono na posição orto em relação ao grupamento imina, para a formação de um anel estável de cinco membros. Porém essa posição não é favorável para um ataque eletrofílico, pois está na posição meta em relação ao grupo $-N(CH_3)_2$. Utilizando o software Spartan (HEHRE, 1999), foi possível simular o potencial de ionização dos átomos da base de Schiff utilizada na síntese. O resultado está ilustrado na (Figura 66). Nota-se que os carbonos com maior potencial de ionização e, conseqüentemente, mais nucleofílicos são os localizados nas posições *orto* e *para* em relação ao substituinte $-N(CH_3)_2$, sendo esta, portanto, uma plausível justificativa para a não ocorrência da ciclometalação.

FIGURA 66 - Simulação do potencial de ionização dos átomos do ligante *p*-diben, onde a cor vermelha representa os sítios mais ionizáveis.

Fonte: Do autor

Os parâmetros utilizados para o cálculo foram: geometria de equilíbrio para o estado fundamental utilizando-se do método Hartree-Fock (utilizando a função de base 3-21G) no vácuo.

6 CONCLUSÃO

Através das análises realizadas, foi possível determinar a formação de novos compostos, como o ligante imínico, o complexo deste com paládio (II) e os complexos formados com as substituições regioespecíficas do íon cloreto por íons haletos e pseudohaletos.

A tentativa de síntese de um composto ciclometalado, como os elucidados no início do trabalho, se mostrou ineficiente, visto que, através da análise dos dados obtidos, não ocorreu a formação da ligação entre o átomo de paládio e o carbono alvo do anel aromático da imina. Entretanto, ocorreu a formação de um composto de coordenação e este, portanto, passou a ser o foco dos estudos.

Os dados corroboram o fato de que as substituições não causaram mudanças significativas na estrutura da amostra, visto que os espectros, tanto de infravermelho, quanto de ultravioleta-visível, apresentaram dados muito semelhantes entre esses compostos (Anexo D e E), retratando somente alguns deslocamentos e, no caso do infravermelho, algumas bandas características dos ânions .substituintes. Já os espectros de Ressonância Magnética Nuclear indicaram a possibilidade de isomerismo entre os complexos, visto que as ligações C=N apresentam certa liberdade de rotação devido à complexação com o paládio (II) e à conjugação com o anel aromático.

A resolução cristalográfica da estrutura cristalina do composto $[\text{Pd}(\text{N}_3)_2(p\text{-diben})]$, veio confirmar as conclusões obtidas através das outras técnicas de caracterização. Entretanto, cabe salientar que a análise de um composto no estado sólido pode não apresentar os mesmos resultados de uma análise feita com uma solução (como RMN e UV-Vis), devido à presença de solventes e a formação de confôrmeros.

Os testes de citotoxicidade frente a células do tipo MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano mostraram que a administração desses compostos provocou uma considerável modificação na morfologia das células, principalmente os compostos $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$ e $[\text{PdCl}_2(p\text{-diben})]$. O tempo de exposição ao composto também se demonstrou um fator importante, visto que as amostras tratadas por 48 horas apresentaram resultados qualitativos mais expressivos que as tratadas por 24 horas. Além disso, a análise de interação com o DNA por eletroforese também apresentou

resultados satisfatórios, principalmente para o composto $[\text{Pd}(\text{NCO})_2(p\text{-diben})]$. Esses resultados classificam os compostos sintetizados como possíveis agentes antitumorais, apresentando como possível mecanismo de ação a interação com o DNA.

REFERÊNCIAS

ALBERT, J. et al. Steric and electronic effects on *E/Z* composition of exocyclic cyclopalladated *N*-benzylideneamines. **J Organomet Chem**, v. 545-546, p. 131-137, 1997.

AL-NAJJAR, I. M. A comparative study of neighbouring group effects on the isomerization of imines in platinum-imine complexes by ^1H , ^{13}C , ^{31}P and ^{198}Pt NMR spectroscopy. **Spectrochim Acta**, v. 44A, p. 57-62, 1988.

ALTOMARE, A. et al. SIR92 - a program for automatic solution of crystal structures by direct methods. **J. Appl. Cryst.** v. 27, p. 435, 1994.

ALVES, F. E; SILVA, P. P.; GUERRA, W. Metais do grupo da platina: história, propriedades e aplicações. **Química, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 119, p. 27-33, 2010.

ANDERSON, B.O. The breast health global initiative (BHGI): why it matters to all of us. **Oncology**, v. 24, p. 1-10, 2010.

ARANHA, P. E. et al. Synthesis characterization and spectroscopic studies of Tetradentate Schiff base chromium(III) complexes. **Polyhedron**, v. 26: p. 1373-1382, 2007.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Química Nova**, v. 30. p.2062-2067, 2007.

BENKHALED, M. et al. Synthesis of highly dispersed palladium alumina supported particles: Influence of the particle surface density on physico-chemical properties. **Applied Catalysis A: General**, v. 312, p. 1-11, 2006.

BERALDO, H.; Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p.4-6, 2005.

BOZIC, L. T. et al. Synthesis, characterization and antitumor activity of palladium(ii) complexes of monoethyl 8-quinolylmethylphosphonate. **Polyhedron**, v. 27, p. 1317-1328, 2008.

BRAGA, A. L.; LUDTKE, D. S.; ALBERTO, E. E. Chalcogen-containing oxazolines in the palladium-catalyzed asymmetric allylic alkylation **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n.1, p.11-15, 2006.

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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>, acesso em: 30 maio 2012.

BRUNO, I. J. et al. Retrieval of Crystallographically-Derived Molecular Geometry Information I. **J. Chem. Inf. Comput. Sci.**, v. 44, p. 2133-2144, 2004.

CAIRES, A. C. F. et al. Síntese e atividade de alguns azido-ciclopaladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Quím. Nova**, v.22, n.3, p.329,1999.

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, n. 1, p. 159-163, 2012.

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

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

CHEN, C. N.; WU, C. Li.; LIN, J. K. Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwanese propolis. **Cancer Letters**, v. 245, n. 1, p. 218-231, 2007.

CHRISTIANSON, D.W. Structural Chemistry and Biology of Manganese Metalloenzymes. **Prog. Biophys. Molec. Biol.** v. 67, p.217-252, 1997.

CORNELIS, R.; BORGUET, F.; KIMPE, J. D. Trace elements in medicine : Speciation: the new frontier. **Anal. Chim. Acta.** v.283, p.183, 1993.

COSTA, A. C. F. M. et al. Avaliação do tamanho da partícula do ZnO obtido pelo método Pechini. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, 2007.

CRAIG, C. A.; WATTS, R. J. Photophysical Investigation of Palladium(II) Ortho-Metalated Complexes. **Inorg. Chem.** v. 28, n. 2 p. 309–313, 1989.

DE ALMEIDA, E. T. **Compostos Organometálicos de Paládio(II): Investigação Espectroscópica, Comportamento Térmico e Aplicações Biológicas.** 145f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

DE GOIS, E. P. **Aspectos estruturais e potencialidade leishmanicida de compostos de paládio(ii) ciclometalados ou não, com o ligante Imínico H₃C-O-*p*-C₆H₄-(*E*)HC=N-C₆H₄-*p*-N=CH(*E*)-C₆H₄-*p*-O-CH₃.** 156f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2011.

DHARMARAJ, N.; VISWANATHAMURTHI, P.; NATARAJAN, K. Ruthenium(II) complexes containing bidentate Schiff bases and their antifungal activity. **Transition Metal Chemistry**, v. 26, n. 1-2, p. 105–109, 2001.

DJAKOVITCH, L. et al. Pd-catalyzed Heck arylation of cycloalkenes—studies on selectivity comparing homogeneous and heterogeneous catalysts. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 219, n. 1, p. 121-130, 2004.

DOS SANTOS, M. P. **Sistemas de cobre: agentes quimioterápicos potenciais para combater o crescimento de tumores malignos.** 246 f. Tese (Doutorado em Química – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

DUAN, C.Y. et al. Syntheses, electrochemistry and crystal structure studies of novel *cis*-configuration biferrrocene trinuclear complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, Columbia, v. 570, p. 155-162, 1998.

ESPINET, P. et al. Transition metal liquid crystals: advanced materials within the reach of the coordination chemist. **Coord.Chem.Rev.**, v.117, p.215, 1992.

FARRELL, N. **Transition Metals Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents**, Kluwer Academic Press: Holanda, 1989.

FARRUGIA, L. J. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **J. Appl. Cryst.** v. 45, p. 849-854, 2012.

FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n.6, p.13-18, Julho 2005.

GALE, G.; HOWLE, Cis-dichlorodiammineplatinum (II). Persistent and selective inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in vivo J. **Biochem. Pharmacol.**, v. 19, p. 2757, 1970.

GHAUCH, A.; TUGAN, A. Reductive destruction and decontamination of aqueous solutions of chlorinated antimicrobial agent using bimetallic systems. **Journal of Hazardous Materials**, New York, v. 164, p. 665-674, 2009.

GHEDINI, M. et al. Transition metals complexed to ordered mesophases. Synthesis, mesomorphism, x-ray and EPR characterization of a homologous series of N-(4-odecyloxysalicylidene)-4'-alkylanilines complexed to oxovanadium(IV). **Chem. Mat.**, v.5, p.883, 1993.

GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides**. Amsterdam: Elsevier, 1986.

GRAY, H. B. Biological inorganic chemistry at the beginning of the 21st century. **PNAS**. v.100, p.3563-3568, 2003.

GUERRA, W. et al. Síntese e caracterização de um novo complexo de platina (iv) a partir de seu análogo de platina (ii) utilizando iodo molecular como agente oxidante: uma rota sintética interessante para obtenção de novos complexos de platina. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p.56-58, 2007.

HALDAR, A. K.; SEN, P.; ROY, S. Use of antimony in the treatment of leishmaniasis: current status and future directions. **Molecular biology international**, v. 2011, n. 571242, 2011.

HAMAKER, C. G.; HALBACH, D. P. Synthesis, structure, and characterization of some ruthenium arene complexes of N-(arylmethylene)-2-(methylthio)anilines and 2-(methylthio)aniline. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, p. 846-852, 2006.

HAO, H.; ZHANG, H. *N,N'*-Bis[4-(Dimethylamino)benzylidene]-ethane-1,2-diamine. **Acta Cryst. E**, v. 61, p. o4274-o4275, 2005

HEHRE, Warren J.; HUANG, W. Wayne. **Chemistry with Computation: An introduction to SPARTAN**. Wavefunction, Inc., 1995.

HIGGIUS, J. D. Synthesis and cytotoxicity of some cyclometallated palladium complexes. **J. Inorg. Biochem**, v.49, p.149, 1993.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**, 2 ed. Harlow: Pearson, 2005.

HRDLICKA, J. A. et al. Mercury oxidation in flue gas using gold and palladium catalysts on fabric filters. **Environ Science Techno**, Iowa City, v. 42, p. 6677-6682, 2008.

JARZĄBEK, B.; KACZMARCZYK, B.; SEK, D. Characteristic and spectroscopic properties of the Schiff-base model compounds. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 74, n. 4, p. 949-954, 2009.

KICKELBICK, G. et al. Synthesis, Characterization, and Crystal Structures of [Cu(ca2en)(PPh₃)(X)] (X = Cl, Br, I, NCS, N₃) complexes. **Aust. J. Chem**, v. 56, p. 323-328, 2003.

KINUGASA S, TANABE K, TAMURA T. **Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)**; National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japão. Disponível em: < http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi>. Acesso em: 22 mar. 2013.

MACRAE, C. F. et al. Mercury CSD 2.0 - New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures. **J. Appl. Cryst.** v. 41, p. 466-470, 2008.

MALDONADO, C. R. et al. Nano-functionalization of metal complexes for molecular imaging and anticancer therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 19-20, p. 2668–2688, 2013.

MCAULIFFE, C. A.; SHARMA, H. L., TINKER, N. D. **Chemistry of the Platinum Group Metals-Recent Development**, v. 11, c. 16, Elsevier, Holanda, 1991.

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, 2008.

MELBY, P.C. Recent developments in leishmaniasis. **Curr. Opin. infect. Diseases** v. 15, p. 485 - 490, 2002.

MERCHANT, B. Gold, the Noble Metal and the Paradoxes of its Toxicology. **Biologicals**. v. 26,p. 49, 1998.

NAKAMOTO, K. **Infrared spectra of inorganic and coordination compounds**. 4. ed. New York: Wiley Interscience, 1986.

NAVARRO-RANNINGER, C. et al. Cyclometalated Complexes of Platinum and Palladium with 'N-(4-Chlorophenyl)- α -benzoylbenzylideneamine."In Vitro" Cytostatic Activity, DNA Modification, and Interstrand Cross-Link Studies. **Inorg. Chem.**, v.35, p.5181, 1996.

PARSHALL, G. W. Intramolecular aromatic substitution in transition metal complexes. **Accounts of Chemical Research**, v. 3, n. 4, p. 139-144, 1970.

PAVIA, Donald L. **Introdução a espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PINHO, V. F. S.; COUTINHO, E. S. F. Variáveis associadas ao câncer de mama em usuárias de unidades básicas de saúde. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, p. 1061-1069, 2007.

QUE, E. L.; CHANG, C. J. Responsive magnetic resonance imaging contrast agents as chemical sensors for metals in biology and medicine. **Chemical Society reviews**, v. 39, n. 1, p. 51–60, 2010.

RABELLO, A.; ORSINI, M.; DISCH, J. - Leishmania/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Ann. trop. Med. Parasit** v. 97, p. 17 - 28, 2003.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 35, n. 5, p. 523–34, 2002.

SHELDRIK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Cryst A**, v. 64, p. 112-122, 2008.

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

SIGNORINI, O. et al. Synthesis and characterization of Aquo[N,N'-ethylenebis(3-ethoxysalicylideneaminato)] dioxouranium(VI). **Polyhedron**, v. 15, p. 245-255, 1996.

SILVA, C. **Investigação estrutural e atividade tuberculostática de complexos mononucleares e binucleares de paládio (II)**. 2010, 98 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2010.

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

SOLOMON, E.I.; RANDALL, D.W.; GLASER, T. Electronic structures of active sites in electron transfer metalloproteins: contributions to reactivity. **Coord. Chem. Rev.** v.200, p.595, 2000.

SOLOMONS, T. W. G. , FRUHLE, C. B. , **Química Orgânica**, 7. ed. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A ., Rio de Janeiro, 2001.

STOCHEL, G. et al. Light and metal complexes in medicine. **Coord. Chem. Rev.** v.171, p.203, 1998.

TEIXEIRA, R. R.; BARBOSA, L. C. A. Reações de acoplamento cruzado de organossilanos catalisadas por paládio: aspectos históricos, sintéticos e mecanísticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 7, p. 1704-1720, 2007.

TORSONI, A. S. et al. Hypotensive properties and acute toxicity of trans-[Ru(NH(3))(4)P(OEt)(3)(NO)](PF(6))(3), a new nitric oxide donor. **Nitric oxide : biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society**, v. 6, n. 3, p. 247–54, 2002.

VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature Protoc.**, v. 1, n. 3, p. 1112-1116, 2006.

WAKATSUKI, Y. Study of Intramolecular Sensitization and Other Excited-State Pathways in Orthometallated Azobenzene Complexes of Palladium(II). **J. Am. Chem. Soc.** v. 107, n. 26, p. 8153–8159, 1985.

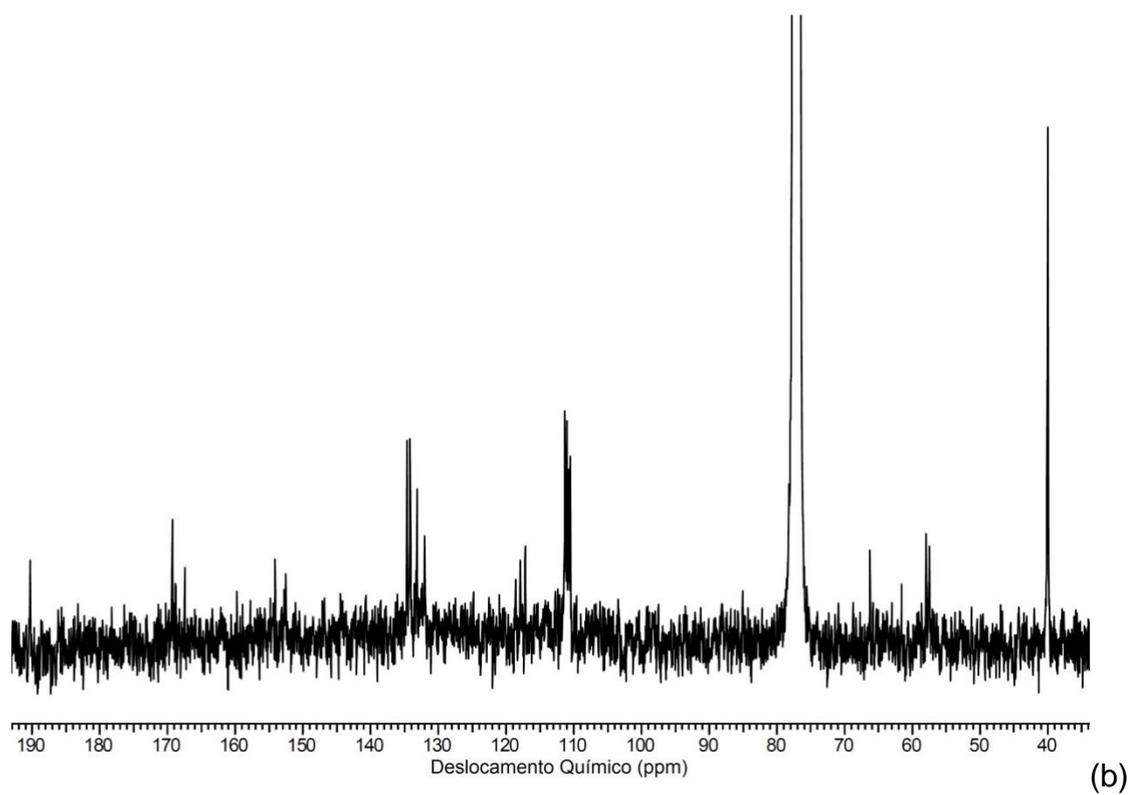
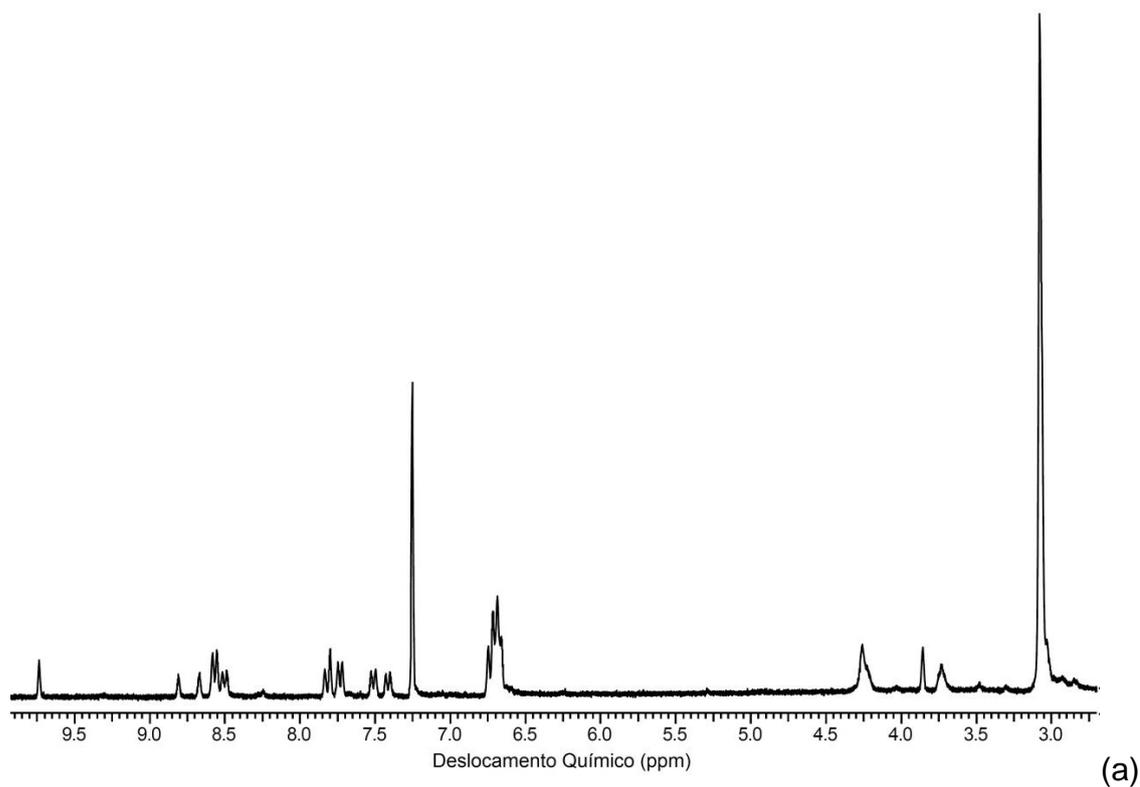
WEINBERG, E. D. Iron availability and infection. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1790, n. 7, p. 600–5, 2009.

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.

XIAO, L.; WANG, D. *N,N'*-Bis(4-Dimethylaminobenzylidene)-ethane-1,2-diamine. **Acta Cryst. E**, v. 62, p. o724-o725, 2006.

YU, Y. et al. Microwave-assisted synthesis of palladium nanocubes and nanobars. **Materials Research Bulletin**, v. 45, n. 2, p. 159-164, 2010.

ANEXOS

Anexo A - Espectros RMN ^1H (a) e ^{13}C (b) de $[\text{PdCl}_2(\text{p-diben})]$ em CDCl_3 

Anexo B - Tabela com dados cristalográficos de comprimento de ligação

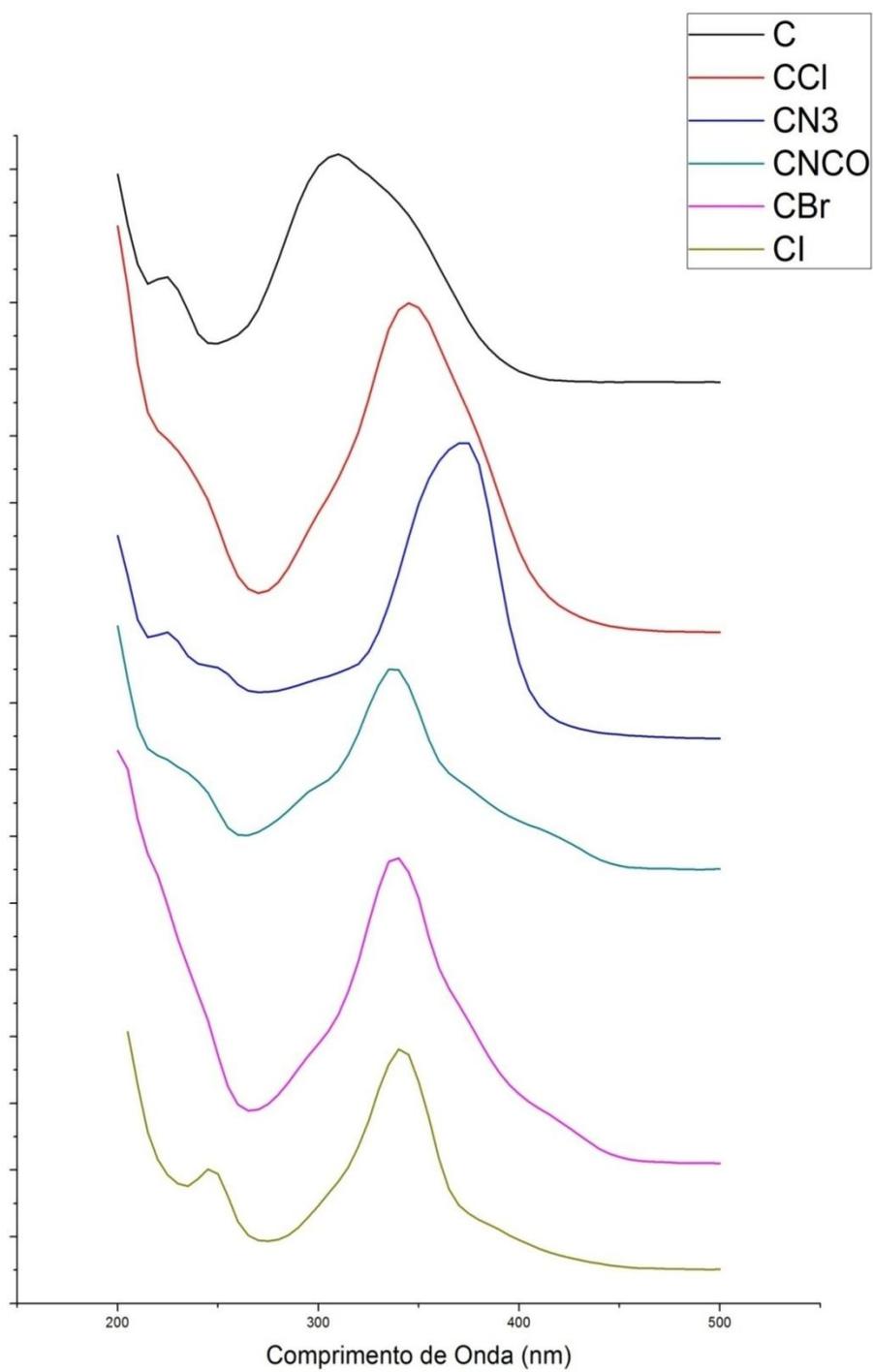
Fragmento	Número	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio Padrão	z-score	Valor final
C14 C13	10000	1.087	1.671	1.390	1.391	0.019	0.442	1.398
C15 C14	10000	0.882	1.692	1.383	1.383	0.019	0.736	1.369
C15 C16	10000	0.963	1.640	1.388	1.388	0.020	1.117	1.411
C17 C16	10000	0.963	1.640	1.388	1.388	0.020	1.045	1.410
C18 C13	10000	1.087	1.671	1.390	1.391	0.019	0.627	1.402
C18 C17	10000	0.882	1.692	1.383	1.383	0.019	0.616	1.371
C4 C3	10000	0.963	1.640	1.388	1.388	0.020	1.189	1.413
C4 C5	10000	0.882	1.692	1.383	1.383	0.019	1.253	1.359
C5 C6	10000	1.087	1.671	1.390	1.391	0.019	0.481	1.399
C7 C6	10000	1.087	1.671	1.390	1.391	0.019	0.824	1.406
C8 C3	10000	0.963	1.640	1.388	1.388	0.020	0.746	1.404
C8 C7	10000	0.882	1.692	1.383	1.383	0.019	1.126	1.361
C1 N1	9912	1.066	1.937	1.452	1.452	0.025	0.831	1.431
C19 N4	9912	1.066	1.937	1.452	1.452	0.025	0.217	1.447
C2 N1	9912	1.066	1.937	1.452	1.452	0.025	0.237	1.446
C20 N4	9912	1.066	1.937	1.452	1.452	0.025	0.014	1.453
N10 N9	3449	0.836	1.757	1.149	1.145	0.038	1.558	1.207
N7 N6	3449	0.836	1.757	1.149	1.145	0.038	2.340	1.237
C16 N4	3431	1.174	1.677	1.368	1.368	0.027	0.220	1.362
C3 N1	3431	1.174	1.677	1.368	1.368	0.027	0.218	1.362
C11 C10	2589	0.975	1.876	1.496	1.508	0.053	0.193	1.507
C13 C12	897	1.358	1.578	1.461	1.462	0.020	1.182	1.437
C6 C9	897	1.358	1.578	1.461	1.462	0.020	1.183	1.437
C10 N2	69	1.390	1.517	1.474	1.476	0.018	0.034	1.474
C11 N3	69	1.390	1.517	1.474	1.476	0.018	0.141	1.476
N6 N5	45	0.885	1.225	1.155	1.176	0.061	2.367	1.010
N9 N8	45	0.885	1.225	1.155	1.176	0.061	1.567	1.059
Pd1 N2	18	1.973	2.060	2.036	2.047	0.025	0.108	2.033
Pd1 N3	18	1.973	2.060	2.036	2.047	0.025	0.551	2.050
C12 N3	18	1.253	1.295	1.276	1.278	0.010	0.838	1.285
C9 N2	18	1.253	1.295	1.276	1.278	0.010	1.524	1.292
Pd1 N5	16	1.964	2.104	2.012	2.012	0.030	3.278	2.110
Pd1 N8	16	1.964	2.104	2.012	2.012	0.030	1.840	2.067

Anexo C - Tabela com dados cristalográficos de ângulos de ligação

					(continuação)				
Número	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo	Número	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo
	1	2	3	(°)		1	2	3	(°)
1	N8	Pd1	N3	93.4(1)	30	N2	C10	H10B	109.9(3)
2	N8	Pd1	N5	93.8(1)	31	N2	C10	C11	108.7(3)
3	N8	Pd1	N2	175.1(1)	32	H10A	C10	H10B	108.3(3)
4	N3	Pd1	N5	169.0(1)	33	H10A	C10	C11	110.0(3)
5	N3	Pd1	N2	81.8(1)	34	H10B	C10	C11	110.0(3)
6	N5	Pd1	N2	90.8(1)	35	N4	C16	C17	121.7(3)
7	Pd1	N8	N9	123.7(3)	36	N4	C16	C15	121.6(3)
8	N5	N6	N7	172.5(6)	37	C17	C16	C15	116.8(3)
9	Pd1	N3	C12	136.1(2)	38	C7	C6	C9	127.6(3)
10	Pd1	N3	C11	104.3(2)	39	C7	C6	C5	115.7(3)
11	C12	N3	C11	119.5(3)	40	C9	C6	C5	116.7(3)
12	Pd1	N5	N6	121.6(4)	41	C13	C14	H14	118.8(4)
13	Pd1	N2	C10	112.0(2)	42	C13	C14	C15	122.3(3)
14	Pd1	N2	C9	125.4(2)	43	H14	C14	C15	118.9(4)
15	C10	N2	C9	122.5(3)	44	N3	C12	C13	127.8(3)
16	N8	N9	N10	175.1(5)	45	N3	C12	H12	116.1(3)
17	C18	C13	C14	116.8(3)	46	C13	C12	H12	116.1(3)
18	C18	C13	C12	123.0(3)	47	C6	C7	H7	119.2(4)
19	C14	C13	C12	119.9(3)	48	C6	C7	C8	121.5(4)
20	C16	N4	C19	120.9(3)	49	H7	C7	C8	119.3(4)
21	C16	N4	C20	120.8(3)	50	C16	C15	C14	121.0(4)
22	C19	N4	C20	117.8(3)	51	C16	C15	H15	119.5(4)
23	H17	C17	C18	119.3(3)	52	C14	C15	H15	119.5(4)
24	H17	C17	C16	119.2(3)	53	N3	C11	C10	107.2(3)
25	C18	C17	C16	121.5(3)	54	N3	C11	H11A	110.3(3)
26	C13	C18	C17	121.6(3)	55	N3	C11	H11B	110.3(3)
27	C13	C18	H18	119.2(3)	56	C10	C11	H11A	110.3(3)
28	C17	C18	H18	119.2(3)	57	C10	C11	H11B	110.3(3)
29	N2	C10	H10A	109.9(3)	58	H11A	C11	H11B	108.5(3)

(Conclusão)

Número	Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Ângulo (°)	Número	Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Ângulo (°)
59	N1	C3	C8	122.6(4)	80	N4	C20	H20A	109.5(4)
60	N1	C3	C4	121.4(4)	81	N4	C20	H20B	109.4(4)
61	C8	C3	C4	116.0(4)	82	N4	C20	H20C	109.5(4)
62	N4	C19	H19A	109.5(4)	83	H20A	C20	H20B	109.5(4)
63	N4	C19	H19B	109.5(4)	84	H20A	C20	H20C	109.5(4)
64	N4	C19	H19C	109.5(4)	85	H20B	C20	H20C	109.4(4)
65	H19A	C19	H19B	109.5(4)	86	C3	C4	C5	120.8(4)
66	H19A	C19	H19C	109.4(4)	87	C3	C4	H4	119.6(4)
67	H19B	C19	H19C	109.4(4)	88	C5	C4	H4	119.6(4)
68	N2	C9	C6	131.3(3)	89	N1	C1	H1A	109.4(5)
69	N2	C9	H9	114.4(3)	90	N1	C1	H1B	109.4(5)
70	C6	C9	H9	114.3(3)	91	N1	C1	H1C	109.4(5)
71	C3	N1	C1	122.4(4)	92	H1A	C1	H1B	109.5(5)
72	C3	N1	C2	120.7(4)	93	H1A	C1	H1C	109.6(5)
73	C1	N1	C2	116.8(4)	94	H1B	C1	H1C	109.5(5)
74	C6	C5	H5	118.3(4)	95	N1	C2	H2A	109.5(5)
75	C6	C5	C4	123.3(4)	96	N1	C2	H2B	109.4(5)
76	H5	C5	C4	118.4(4)	97	N1	C2	H2C	109.5(5)
77	C7	C8	C3	122.5(4)	98	H2A	C2	H2B	109.5(6)
78	C7	C8	H8	118.7(4)	99	H2A	C2	H2C	109.5(6)
79	C3	C8	H8	118.8(4)	100	H2B	C2	H2C	109.5(6)

Anexo D – Comparação entre os espectros UV-Vis dos compostos

Anexo D – Comparação entre os espectros IV dos compostos

