

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
(UNESP)**

INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA GERAL E INORGÂNICA

Ana Beatriz Lazzarini

**NOVOS COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO
TIOSEMICARBAZONAS: CITOTOXICIDADE, ESTUDOS DE INTERAÇÃO
COM PROTEÍNAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL**

ARARAQUARA

2019

ANA BEATRIZ LAZZARINI

**NOVOS COMPLEXOS DE PALÁDIO(II) CONTENDO
TIOSEMICARBAZONAS: CITOTOXICIDADE, ESTUDOS DE INTERAÇÃO
COM PROTEÍNAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Supervisor: MSc. Renan Lira de Farias

ARARAQUARA

2019

ANA BEATRIZ LAZZARINI


Novos complexos de paládio(II) contendo tiossemicarbazonas: citotoxicidade, estudos de interação com proteínas e avaliação do potencial antitumoral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química.

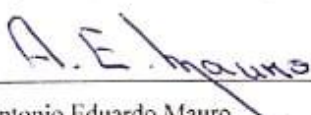
Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Supervisor: MSc. Renan Lira de Farias

Araraquara, 12 de dezembro de 2019


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Instituto de Química – UNESP Araraquara



Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro
Instituto de Química – UNESP Araraquara



Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem
Instituto de Química – UNESP Araraquara

Dedico esse trabalho a Deus, a minha família, aos meus amigos e a todas as pessoas que me ajudaram a evoluir ao longo dos anos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e por sempre acompanhar meus passos.

A minha família, Darli Lazzarini Júnior, Luciana de Lima Lazzarini e Gustavo Henrique Lazzarini por sempre me apoiarem frente a qualquer dificuldade e por serem meu porto seguro. Da mesma forma, aos meus avós Darli Domingos Lazzarini, Ercília Gava Lazzarini, Lúcia Travaglin de Lima e Joel Benedito Barbosa de Lima.

Ao professor Adelino Vieira de Godoy Netto e ao doutorando Renan Lira de Farias pela orientação, pelas dicas, pelo carinho e por todo o aprendizado.

A todas as amizades formadas no Instituto de Química, pelo companheirismo mesmo em épocas difíceis e por todos os momentos juntos.

Ao grupo de Organometálicos pelo acolhimento e por toda a ajuda.

A todos os professores do Instituto de Química que me agregaram conhecimento sobre diversas áreas.

Aos técnicos de laboratório. Em especial, Rafael Romano Domeneguetti, Nivaldo Boralle, Alberto Camilo Alécio, Naira Canevarolo Pesquero.

A todos os funcionários da Unesp que proporcionam um ambiente limpo e propício para as aulas e pesquisa. Da mesma forma, aos bibliotecários, uma vez que, sem eles, o acesso aos materiais didáticos seria dificultado.

Às agências de fomento pelo financiamento da pesquisa. Em especial, a CNPq pela bolsa PIBIC concedida.

A todos que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

“Life isn't about waiting for the storm to pass. It's about learning to dance in the rain.”

Vivian Greene

RESUMO

O câncer é a segunda doença mais fatal e onera em US\$1,16 trilhão/ano. Seu tratamento tem como base os quimioterápicos baseados em platina(II), em destaque, a cisplatina. Em contrapartida aos seus benefícios, tais compostos apresentam baixa seletividade e resultam em diversos efeitos colaterais. Dentre os metais mais promissores no desenvolvimento de novos metalofármacos, encontram-se os compostos baseados em paládio(II). Neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados quatro complexos metálicos (AB1-4) de fórmula geral $[Pd(TSC)PPh_3X]$, sendo $X = Cl^-, I^-, SCN^-, N_3^-$; PPh_3 = trifenilfosfina e TSC = tiossemicarbazona. Uma vez que os compostos AB1 e AB4 apresentaram significativo grau de pureza, foram avaliadas as suas respectivas interações com o DNA e a albumina do soro humano (HSA). O composto AB1 apresentou interação com ambas biomoléculas, suprimindo 77% da fluorescência da albumina e apresentando uma constante de ligação equivalente a $2,29 \times 10^4 M^{-1}$ com o DNA, levando à hipótese de a mesma ocorrer via os sulcos do DNA. Já o composto AB4 suprimiu 74% da fluorescência da albumina e não apresentou interação com o DNA. Uma vez que o composto AB1 mostrou ser mais promissor, realizou-se o teste de viabilidade celular para as linhagens humanas MCF-7 (célula tumoral mamária), A549 (célula tumoral pulmonar) e MRC5 (célula pulmonar sadia). Os resultados indicam que o complexo apresenta atividade antiproliferativa superior à cisplatina para a linhagem mamária ($IC_{50 AB1} = 6,48 \mu M$; $IC_{50 cisplatina} > 50 \mu M$) e equivalente para a linhagem pulmonar ($IC_{50 AB1} = 4,52 \mu M$; $IC_{50 cisplatina} = 4,97 \mu M$).

Palavras-chave: Câncer. Complexos de paládio(II). Atividade biológica.

ABSTRACT

Cancer is currently the second most fatal disease, with its management amounting to US\$1,16 trillion/year. Treatment of a significant number of cancers is based on platinum(II) compounds, especially cisplatin. In contrast to their benefits, such compounds exhibit low selectivity and lead to various side effects. Among the metals, palladium(II) compounds are believed to be the most promising alternative to platinum-based drugs. In this study, four metal complexes (AB1-4) with the general formula $[Pd(TSC)PPh_3X]$ were synthesized and characterized, in which $X = Cl^-, I^-, SCN^-, N_3^-$; PPh_3 = triphenylphosphine, and TSC = thiosemicarbazone. Since compounds AB1 and AB4 presented high levels of purity, their respective interactions with DNA and human serum albumin (HSA) were evaluated. AB1 interacted with both biomolecules, quenching 77% of HSA fluorescence and showing a binding constant equivalent to $2,29 \times 10^4 M^{-1}$ with DNA, which suggests that the process may involve DNA grooves. On the other hand, while AB4 quenched 74% of HSA fluorescence, it did not exhibit interactions with DNA. Given AB1's higher biomolecule-binding abilities, the compound was tested in viability assays with the human cell lines MCF-7 (breast cancer), A549 (lung cancer) and MRC5 (healthy lung, control cells). The results showed that AB1 presented antiproliferative activity higher than cisplatin in MCF-7 cells ($IC_{50 AB1} = 6,48 \mu M$; $IC_{50 cisplatin} > 50 \mu M$) and equivalent to cisplatin in A549 cells ($IC_{50 AB1} = 4,52 \mu M$; $IC_{50 cisplatin} = 4,97 \mu M$).

Keywords: Cancer. Palladium(II) complexes. Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estágios da carcinogênese.	17
Figura 2 - Tipos de câncer com maior incidência em 2018.	18
Figura 3 - Fórmula estrutural dos principais compostos baseados em Pt(II). (a) Cisplatina (b) Carboplatina (c) Oxaplatina (d) Lobaplatina (e) Nedaplatina (f) Heptaplatina.	19
Figura 4 - Mecanismo de ação da cisplatina no organismo.....	20
Figura 5 - Tipos de interação entre complexos metálicos e DNA. (a) Interação não-covalente via intercalação (b) Interação não-covalente via interação por sulcos (c) Interação não-covalente via interação eletrostática (d) Interação covalente via ligação à base nitrogenada (e) Interação covalente via ligação ao fosfato.	21
Figura 6 - Ângulo de cone de Tolman. Aqui, os anéis aromáticos estão representados por esferas vermelhas e o átomo de fósforo por uma esfera azul.	23
Figura 7 - Esquema geral de uma TSC e a ordem de numeração segundo a IUPAC, sendo que R = H, alquil, aril.	24
Figura 8 - Tautomerismo tiona-tiol.	25
Figura 9 - Albumina do Soro Humano.....	27
Figura 10 - Mecanismo de reação sugerido para a formação da tiossemicarbazona....	34
Figura 11 - Espectro vibracional na região do infravermelho.....	36
Figura 12 – Espectro de absorção na região do UV-Vis para a tiossemicarbazona livre e para o composto AB1, ambos com concentração 0,10 mmol L ⁻¹	38
Figura 13 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para os compostos AB2, AB3 e AB4.....	38
Figura 14 - Desdobramento do Campo Cristalino para sistemas quadrado-planares....	39
Figura 15 - Espectro de RMN ¹ H do ligante livre.	40
Figura 16 - Espectro de RMN ¹ H do complexo AB1.....	41
Figura 17 - Espectro de RMN ¹ H do complexo AB2.....	42
Figura 18 - Espectro de RMN ¹ H do complexo AB3.....	43
Figura 19 - Espectro de RMN ¹ H do complexo AB4.....	43
Figura 20 - Comparação entre os espectros de RMN ¹ H (a) em DMSO d ⁶ e (b) em clorofórmio d para o composto AB1. Os sinais indicados são referentes aos picos dos solventes.	44
Figura 21 - Espectros de RMN ³¹ P dos complexos AB1 e AB4.....	45

Figura 22 - Estrutura cristalina e molecular do complexo AB1 e esquema de identificação dos átomos. Elipsoides térmicos em nível de 50% de probabilidade. Átomos de hidrogênio representados no padrão de esferas com raio 0,15Å.	47
Figura 23 - Planos ideais que passam pelos átomos não-hidrogenóides dos fragmentos S36/Pd1/N30 e P8/Pd1/Cl37. O contra íon Cl ⁻ foi omitido para melhor visualização. Todos os átomos que não participam diretamente do ambiente de coordenação ao centro metálico estão como padrão linha.	49
Figura 24 - Espectro de RMN ¹ H do composto AB1 em (a) 0h (b) 24h (c) 48h.....	50
Figura 25 - Espectro de RMN ¹ H do composto AB4 em (a) 0h (b) 24h (c) 48h.....	51
Figura 26 - Aparecimento de sinais no espectro de RMN ¹ H do composto AB4.	52
Figura 27 - Espectro de absorção do composto AB1 na região do UV-Vis com adições constantes de 18µL de DNA na faixa de 0 a 42,0µmol.L ⁻¹	52
Figura 28 - Espectro de absorção do composto AB4 na região do UV-Vis com adições constantes de 18µL de DNA na faixa de 0 a 42,0µmol.L ⁻¹	53
Figura 29 - Supressão da Fluorescência de HSA a adições constantes de 0,4µL do composto AB1 de 4 a 32 µmol.L ⁻¹	54
Figura 30 - Supressão da Fluorescência de HSA a adições constantes de 0,4µL do composto AB4 de 4 a 32 µmol.L ⁻¹	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atribuições das bandas referentes aos espectros na região do infravermelho.	37
Tabela 2 - Medidas de condutividade.....	39
Tabela 3 - Atribuições dos sinais referentes ao espectro de RMN 1H para o ligante livre.	41
Tabela 4 - Atribuições dos sinais referentes ao espectro de RMN 1H para o composto AB1.....	42
Tabela 5 - Valores de CHN % para o composto AB1.	46
Tabela 6 - Dados do cristal, da coleta e do refinamento para AB1.	48
Tabela 7 - Parâmetros geométricos de comprimentos e ângulos de ligação para a unidade assimétrica de AB1.....	50
Tabela 8 - Viabilidade Celular.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2780wt: Linhagem celular de câncer de ovário

A549: Linhagem celular de câncer de pulmão.

AB1: [PdCl(PPh₃)TSC]

AB2: [PdI(PPh₃)TSC]

AB3: [Pd(PPh₃)(SCN)TSC]

AB4: [Pd(N₃)(PPh₃)TSC]

Cl⁻: Ligante clorido

Clorofórmio *d*: Clorofórmio deuterado

DMSO: Dimetilsulfóxido

DMSO *d*⁶: Dimetilsulfóxido deuterado

DNA: Ácido desoxirribonucleico

HeLa: Linhagem celular de câncer de útero

HSA: Albumina do Soro Humano

I⁻: Ligante iodido

IC₅₀: Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

K: Condutividade

K_b: Constante de ligação

MCF7: Linhagem celular de câncer de mama

MRC5: Linhagem celular sadia de pulmão

MTT: Sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

N₃⁻: Ligante azida

OPPh₃: Trifenilfosfinóxido

Pd(II): Paládio(II)

PPh₃: Trifenilfosfina

Pt(II): Platina(II)

RMN: Ressonância magnética nuclear

RR: Ribonucleotide Reductase

SCN⁻: Ligante tiocianato

TSC: Tiosemicarbazona

Trp-214: Fragmento 214 do triptofano da HSA

UV-Vis: Ultravioleta-visível

δ (IV): Deformação angular no plano

δ (RMN): Deslocamento

ν : Estiramento

Λ_m : Condutividade molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Câncer	16
1.2	Compostos de Platina(II) aplicados ao tratamento do câncer	19
1.3	Outros compostos como agentes antineoplásicos	22
1.4	Tiossemicarbazonas	24
1.5	Monitoramento da interação entre complexos e alvos biológicos	25
2	OBJETIVOS	29
2.1	Objetivo Geral	29
2.2	Objetivos Específicos	29
3	METODOLOGIA	30
3.1	Síntese da tiossemicarbazona e dos complexos metálicos	30
3.2	Caracterização	30
3.3	Análise da interação com biomoléculas	31
3.3.1	<i>Titulação Espectrofotométrica com DNA</i>	31
3.3.2	<i>Supressão da Luminescência da Albumina do Soro Humano</i>	31
3.3.3	<i>Viabilidade Celular</i>	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	Química	33
4.2	Caracterização	36
4.2.1	<i>Infravermelho</i>	36
4.2.2	<i>UV-Vis</i>	38
4.2.3	<i>Condutividade molar (Λ_M)</i>	39
4.2.4	<i>RMN</i>	40
4.2.5	<i>Análise Elementar</i>	46

4.2.6	<i>Difração de raios X por monocristal</i>	46
4.2.7	<i>Teste de Estabilidade Química em solução</i>	50
4.3	Testes Biológicos	52
4.3.1	<i>Titulação Espectrofotométrica com DNA</i>	52
4.3.2	<i>Supressão da Fluorescência da Albumina</i>	53
4.3.3	<i>Viabilidade Celular</i>	55
4	CONCLUSÃO	56
5	PERSPECTIVAS FUTURAS	57
	REFERÊNCIAS	58

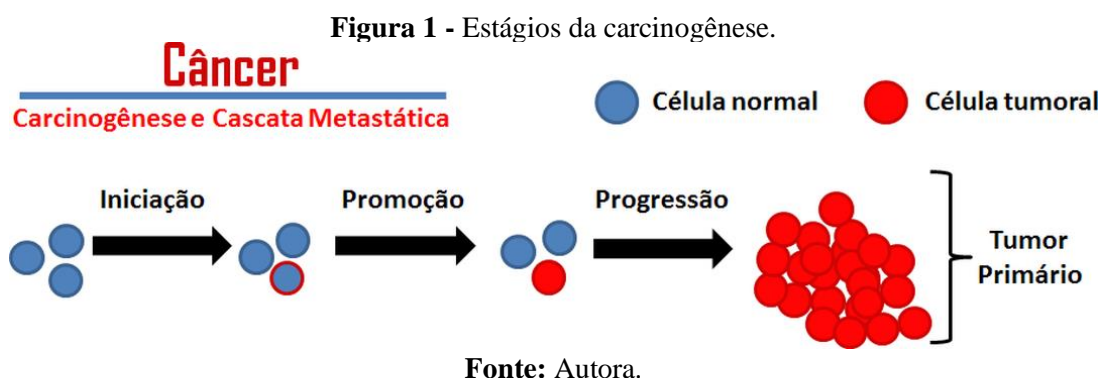
1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

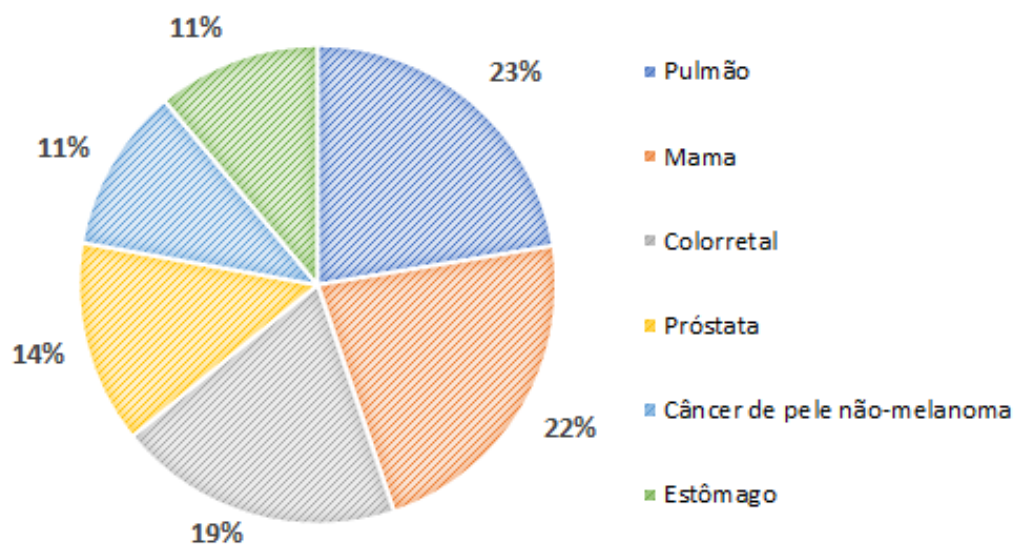
O câncer é uma disfunção na reprodução celular gerada a partir de mutações irreversíveis, a qual acontece em uma alta velocidade, originando tumores locais e/ou em partes distintas do corpo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019; INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2019). Devido à variação de regiões no organismo, os cânceres podem ser classificados em carcinomas e sarcomas, os quais se diferem a partir dos tecidos atingidos (epiteliais e conjuntivos, respectivamente) (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2019).

Os fatores físicos, químicos e biológicos, assim como maus hábitos, podem resultar na formação de tumores. Entre eles, pode-se citar a radiação ionizante, longo prazo de exposição a substâncias químicas carcinogênicas, uso do tabaco, infecções virais, parasitárias e bacterianas. Além disso, a combinação desses fatores potencializa as disfunções celulares (OLIVEIRA, P. A. *et al.*, 2007; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Do mesmo modo, observa-se uma alta incidência de diagnósticos de câncer em idosos, uma vez que, nesta situação, há o acúmulo das mutações genéticas ao longo dos anos (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018).

O processo de carcinogênese (formação de tumores) pode ser subdividido em três estágios (SCHULTE-HERMANN, R. *et al.*, 1995; NOWAK, R.; OLECH, M.; NOWACKA, N, 2014; WHITE, M. C. *et al.*, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019) (Figura 1). A primeira etapa (iniciação) consiste no contato com agentes carcinogênicos, alterando o conteúdo genético de um pequeno número de células. Em sequência, no segundo estágio (promoção), as células transformadas tornam-se malignas. Por fim, no terceiro estágio (progressão), há a proliferação descontrolada e irreversível de células mutadas com a formação do tumor (BARRA, C. V. *et al.*, 2016; FRICKER, S. P., 2010; OLIVEIRA, P. A. *et al.*, 2007). Quando o câncer parte do sítio primário e invade outros órgãos ou tecidos por meio da corrente sanguínea ou de vasos linfáticos, denomina-se metástase, sendo esta a principal causa de óbitos devido ao câncer (INSTITUTO ONCOGUIA, 2015; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018).



Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), mundialmente, o câncer é a segunda doença mais fatal. Em 2018, houve 9,6 milhões de registros de morte, com 70% da incidência em países de baixa e média renda (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018). Dentre os tipos de câncer com maior incidência, destacam-se o de pulmão, mama e colorretal com 23, 22 e 19%, respectivamente (Figura 2). De maneira semelhante, a Organização Mundial de Saúde (OMS) disponibilizou dados que, em 2015, dos 1,3 milhões de óbitos no continente americano devido ao câncer, 47% deste total são constituídos de pessoas pertencentes às regiões situadas desde o Caribe à América Latina (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2018; NOWAK, R.; OLECH, M.; NOWACKA, N, 2014; SHULMAN, N. L.; TORODE, J, 2014.). Tal doença, além de ser um problema de saúde pública, gera um problema econômico, uma vez que onera em, aproximadamente, US\$1,16 trilhão/ano (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018).

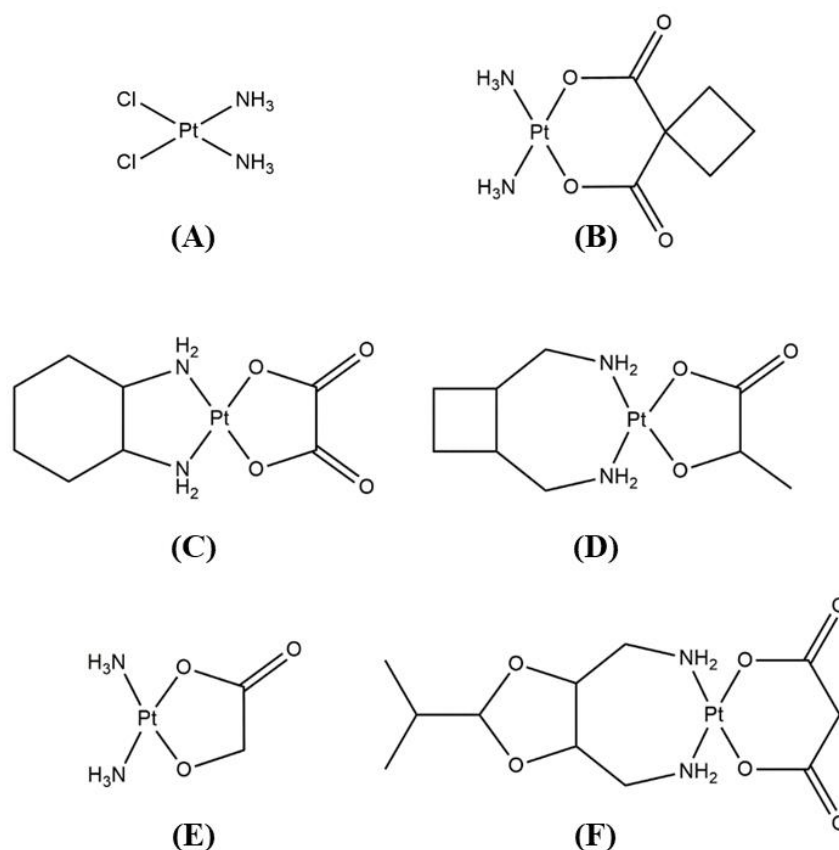
Figura 2 - Tipos de câncer com maior incidência em 2018.

Fonte: ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018.

Visando solucionar esse problema de saúde pública, fundamentam-se os tratamentos em cirurgias, imunoterapia, radioterapia e quimioterapia (FUNDAÇÃO DO CÂNCER, 2019; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2018). Dentre as medidas adotadas, destaca-se a quimioterapia por exibir maior eficiência terapêutica para os casos clínicos mais severos. A quimioterapia consiste na administração (oral ou intramuscular) de compostos citotóxicos capazes de promover a morte celular por vias de sinalização de apoptose ou por necrose (FUNDAÇÃO DO CÂNCER, 2019; OUYANG, L. *et al.*, 2012).

Dentro desse contexto, os principais agentes antitumorais usados em casos clínicos, em aproximadamente 50%, atuando sozinhos ou em conjunto com outro fármaco, são os complexos contendo o íon platina(II) como centro metálico, por exemplo, cisplatina, carboplatina, oxaplatina, lobaplatina, nedaplatina e heptaplatina (Figura 3) (AHMAD, S., 2017; ALDERDEN, R. A.; HALL, M. D.; HAMBLEY, T. W., 2006; ANDREWS, P. A.; WUNG, W. E.; HOWELL, S. B., 1984; FANELLI, M. *et al.*, 2016; OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J., 2018). A cisplatina, como representante de tais compostos, apresenta IC_{50} equivalente a $(16,7 \pm 5,7) \mu\text{M}$ para linhagem celular MCF-7 (câncer de mama), $(3,6 \pm 0,2) \mu\text{M}$ para HeLa (câncer de útero) e $(0,7 \pm 0,2) \mu\text{M}$ para A2780wt (câncer de ovário) (N'SOUKPOÉ-KOSSI, C. N. *et al.*, 2008).

Figura 3 - Fórmula estrutural dos principais compostos baseados em Pt(II). (a) Cisplatina (b) Carboplatina (c) Oxaplatina (d) Lobaplatina (e) Nedaplatina (f) Heptaplatina.



Fonte: Autora.

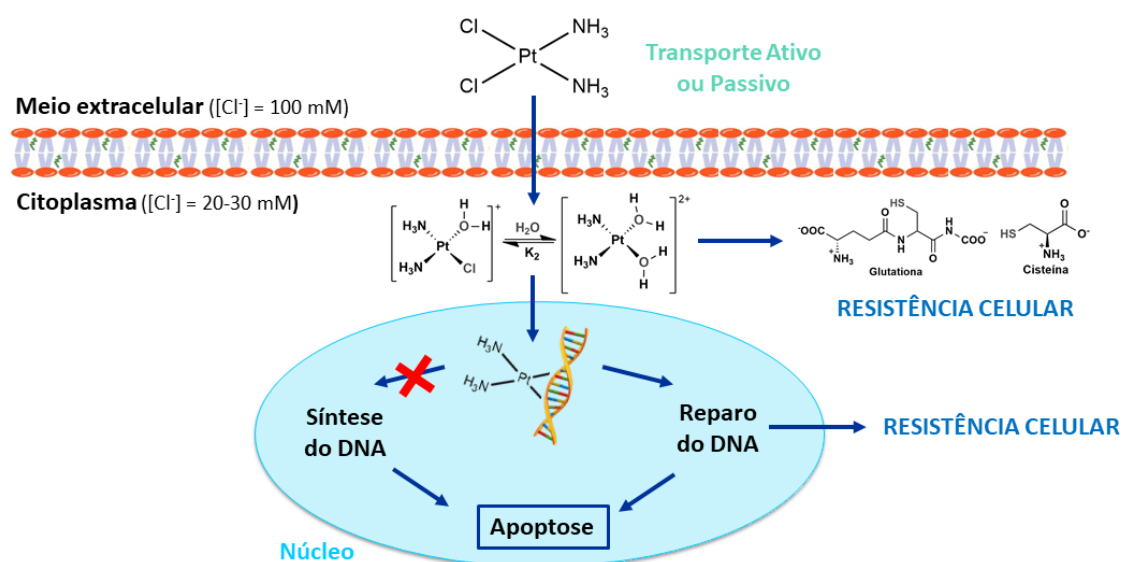
1.2 Compostos de Platina(II) aplicados ao tratamento do câncer

A química de coordenação com foco na química medicinal é um ramo da ciência em notório crescimento. Isso se justifica pelas diferentes possibilidades de planejamento de complexos com propriedades intrínsecas aos centros metálicos, as quais não são acessíveis aos compostos puramente orgânicos (MJOS, K. D.; ORVIG, C., 2014). Entretanto, desde a fortuita descoberta da atividade biológica da cisplatina, [PtCl₂(NH₃)₂] por Barnett Rosenberg (MUGGIA, F.; LEONE, R.; BONETTI, A., 2014), este complexo vem sendo utilizado como principal modelo estrutural para o preparo de novos metalofármacos, isto é, derivados de 2^a e 3^a geração (FANELLI, M. *et al.*, 2016).

A cisplatina tem o seu mecanismo de ação (Figura 4) baseado na substituição dos grupos cloridos no citoplasma e a sua substituição por moléculas de água, uma vez que, no meio extracelular, a concentração de cloreto ([Cl⁻] = 100 mM) é superior à concentração do mesmo em meio intracelular ([Cl⁻] = 20-30 mM). Como consequência,

o composto que antes era neutro, se torna catiônico e apresenta forte interação com moléculas negativamente carregadas. Dentre os possíveis alvos farmacológicos, encontra-se o DNA, que é um poliânion e pode interagir por cinco maneiras com o fármaco no organismo (Figura 5). Os adutos formados entre os complexos catiônicos e o DNA apresentam conformação diferente da conformação inicial do DNA, fazendo com que as enzimas responsáveis pela sua replicação, não consigam interagir com o sítio ativo, levando a célula à apoptose (AHMAD, S., 2017; ANDREWS, P. A.; WUNG, W. E.; HOWELL, S. B., 1984; PERES, L. A. B.; CUNHA JÚNIOR, A. D., 2013; ROCHA, C. R. R. *et al.*, 2018; TAKAHARA, P. M. *et al.*, 1995). A célula tumoral pode apresentar mecanismos de resistência celular intrínseca ou adquirida, como o reparo do DNA e a desativação dos complexo catiônico via conjugação com aminoácidos/peptídeos portadores de grupos sulfidrilas, como exemplo, a glutatona e a cisteína.

Figura 4 - Mecanismo de ação da cisplatina no organismo.

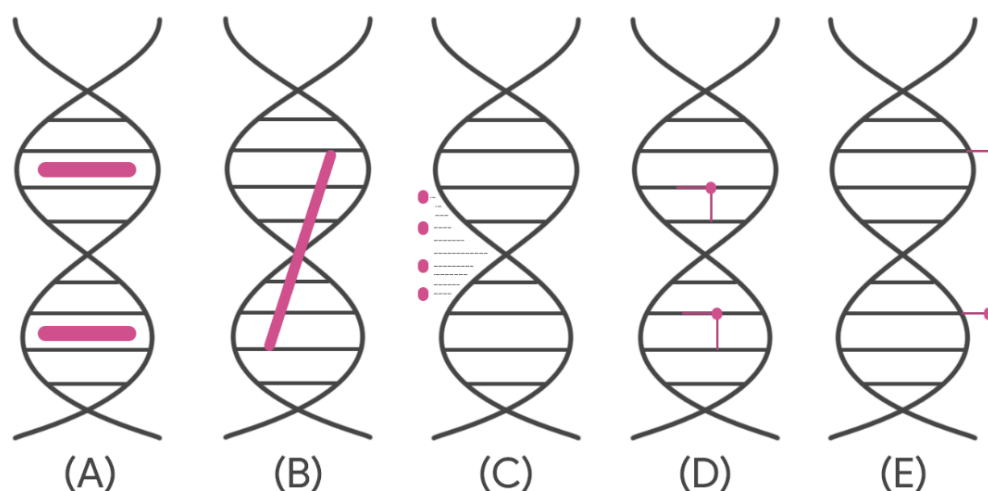


Fonte: Autora.

No caso, tendo em vista as similaridades dos arcabouços moleculares entre a cisplatina e os derivados de 2ª e 3ª geração, todos compartilham os mesmos alvos biológicos e modos de ação, sendo o principal deles a formação de ligações cruzadas 1,2-intrafitas com as bases nitrogenadas do DNA, principalmente via o nitrogênio N7 da guanina localizado no sulco maior, em 65% dos casos, o que é justificado pela sua nucleofilicidade, reatividade e acessibilidade para se ligar ao metal (AHMAD, S., 2017; ANDREWS, P. A.; WUNG, W. E.; HOWELL, S. B., 1984; JOHNSTONE, T. C.; PARK,

G. Y.; LIPPARD, S. J., 2014; PERES, L. A. B.; CUNHA JÚNIOR, A. D., 2013; RABER, J.; ZHU, C.; ERIKSSON, L. A., 2005; ROCHA, C. R. R. *et al.*, 2018; TAKAHARA, P. M. *et al.*, 1995; WU, Y. *et al.*, 2004).

Figura 5 - Tipos de interação entre complexos metálicos e DNA. (a) Interação não-covalente via intercalação (b) Interação não-covalente via interação por sulcos (c) Interação não-covalente via interação eletrostática (d) Interação covalente via ligação à base nitrogenada (e) Interação covalente via ligação ao fosfato.



Fonte: Adaptado de BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015.

Em contrapartida, como o DNA está presente tanto nas células tumorais como nas células não tumorais, observam-se baixos índices de seletividade (IS), ou seja, células tumorais e normais são ambas afetadas pelos mecanismos citotóxicos (ANDREWS, P. A.; WUNG, W. E.; HOWELL, S. B., 1984). Como resultado, não são raros os efeitos colaterais limítrofes da administração dos metalofármacos baseados no íon Pt(II), a saber: nefrotoxicidade, neurotoxicidade, mielossupressão, dores de cabeça, náusea, vômito, entre outros, durante o tratamento (BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015; FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H., 2005; GAO, L. *et al.*, 2019; IVANOV, A. I. *et al.*, 1998). Ressaltam-se ainda os mecanismos de defesa e resistência celulares que diminuem o nível de eficiência dos fármacos (BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015).

O papel do metal no complexo é fundamental, ele pode exercer funções de transportar ligantes ativos, ponto de conexão com uma biomolécula ou, por exemplo, proporcionar uma conformação específica a um domínio proteico de uma biomolécula alvo (ROCHA, F. V., 2013).

Assim, o panorama atual do câncer reafirma a necessidade por investimento em pesquisa científica engajada no desenvolvimento de novos compostos com pronunciada atividade anticâncer, sobretudo com maior eficiência às linhagens celulares tumorais resistentes aos fármacos atuais.

1.3 Outros compostos como agentes antineoplásicos

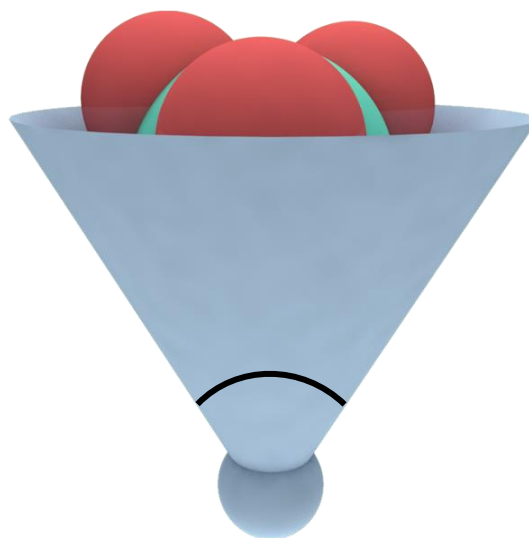
Dentre os complexos que se destacam como potenciais fármacos, encontram-se os baseados em cobalto (por ser um elemento essencial com grande importância e presente na vitamina B12), cobre (que apresentam permeabilidade seletiva em membranas celulares e atividade em linhagens de células resistentes aos compostos de platina(II) (WU, D.; GUO, L.; LI, S.-J., 2020) e rutênio, que, dentre tantas propriedades, se destaca devido ao seu potencial redox, ou seja, processos de transferência de elétrons associados às propriedades citotóxicas (MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015). Entre os compostos mais promissores, encontram-se também os complexos de paládio(II).

Ambos os cátions, Pd(II) e Pt(II), possuem raios iônicos próximos (0,86Å e 0,96Å, respectivamente (SOUZA, R. F. de; RAILSBACK, L. B., 2012), formam complexos diamagnéticos com mesma geometria espacial, principalmente quadrática-planar, e são ácidos de Lewis macios que podem formar ligações cineticamente estáveis com grupos *N*- e *S*-doadores (GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N., 2009; ROCHA, F. V., 2013). Ressalta-se que a similaridade entre os raios iônicos se deve à contração lantanídica, uma vez que a platina apresenta orbitais *4f* internos e preenchidos, os quais blindam de maneira ineficiente os orbitais mais externos em comparação aos orbitais *s*, *p* ou *d* (SOUZA FILHO, P. C. de; SERRA, O. A., 2014).

Uma vez que estes metais apresentam variabilidade cinética de substituição de ligantes, os complexos de Pd(II) podem promover seus mecanismos de ação frente a diferentes alvos biológicos àqueles da cisplatina e seus derivados. Dentre os possíveis alvos biológicos, encontram-se, principalmente, biomacromoléculas essenciais, tais como as topoisomerasas, catepsinas e kinases, que apresentam, em suas estruturas, grupos tióis livres e resíduos de sulfidrilas disponíveis para coordenação (FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H., 2005). Além disso, os compostos de Pd(II) apresentam toxicidade inferior aos de Pt(II) nos rins, devido aos processos diferenciados de excreção (JAHROMI, E.Z. *et al.*, 2016; ŞEN, B. *et al.*, 2019).

Por outro lado, os compostos de coordenação baseados em Pd(II) têm reatividade cinética 10^5 vezes maior que os análogos de Pt(II). Como consequência, os complexos de Pd(II) podem sofrer indesejáveis processos de hidrólise antes de chegarem ao alvo de interesse (BUGARČIĆ, Ž. D.; BOGOJESKI, J.; VAN ELDIK, R. 2015; FANELLI, M. *et al.*, 2016; MEDICI, S. *et al.*, 2015). Nesse sentido, para diminuir a velocidade de substituição de ligantes, faz-se uso de moléculas com alto impedimento estérico, pois complexos quadrático-planos trocam ligantes por mecanismo associativo, ou seja, através da formação de um intermediário pentacoordenado (FANELLI, M. *et al.*, 2016). A diminuição da cinética da reação na presença de uma fosfina terciária na estrutura do composto se deve ao ângulo de cone equivalente a, aproximadamente, 170° , o qual aumenta a energia de ativação da espécie intermediária e dificulta a troca entre ligantes (BILBREY, J. A. *et al.*, 2013) (Figura 6).

Figura 6 - Ângulo de cone de Tolman. Aqui, os anéis aromáticos estão representados por esferas vermelhas e o átomo de fósforo por uma esfera azul.



Fonte: Adaptado de ATKINS, P.; OVERTON, T., 2010.

Outra característica inerente ao uso destes ligantes consiste no aumento da lipofilicidade da molécula, o que pode auxiliar a entrada do composto no citoplasma através da membrana celular (FANELLI, M. *et al.*, 2016).

Além disso, o uso de ligantes quelantes pode aumentar a estabilidade cinética dos complexos, tendo em vista um número maior de etapas associadas ao deslocamento do ligante polidentado com relação ao centro metálico. Além disso, tendo em vista o aumento

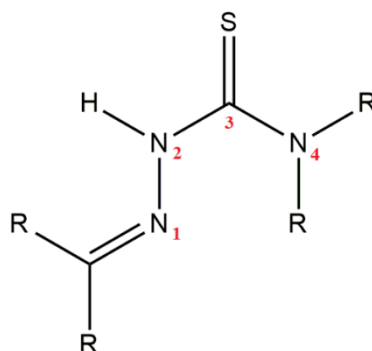
entrópico do sistema (efeito quelato), espera-se maior estabilidade termodinâmica (FARIAS, R. D., 2005).

1.4 Tiossemicarbazonas

Os ligantes podem ser os fatores decisivos sobre quais células serão os alvos biológicos, como pode ser observado quando o ligante 1,1-ciclobutanodicarboxilato exibe atividade citotóxica em células tumorais humanas A549 (câncer de pulmão) e HCT-116 (câncer colorretal), mas de maneira menos pronunciada em células mamárias MCF-7 (adenocarcinoma mamário) (FANELLI, M. *et al.*, 2016; XU, G. *et al.*, 2015).

Uma classe de ligantes quelantes que pertence ao grupo dos *N,S*-doadores e que desperta interesse crescente na química inorgânica medicinal é a das tiossemicarbazonas (TSC), Figura 7, uma vez que, quando coordenadas, têm a sua atividade biológica potencializada em comparação com a atividade biológica do ligante livre (ŞEN, B. *et al.*, 2019). Dentre as aplicações biológicas das tiossemicarbazonas, destacam-se as atividades antibacteriana, antiviral, antifúngica e antitumoral (ŞEN, B. *et al.*, 2019; ZHANG, X. *et al.*, 2020). A sua interação no organismo se deve à inibição da atividade enzimática da ribonucleotídeo reductase (RR) na etapa de formação de deoxirribonucleotídeos (REICHARD, P.; EHRENBERG, A., 1983; ŞEN, B. *et al.*, 2019). A síntese de tal classe consiste na condensação de tiossemicarbazidas na presença de aldeídos e cetonas (ANDERSON, F. E.; DUCA, J. C.; SCUDI, J. W., 1951; GINGRAS, B. A. HORNAL, R. W. BAYLEY, C. H., 1960; LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S., 2009; SAH, P. T.; DANIEAL, T. C., 1950).

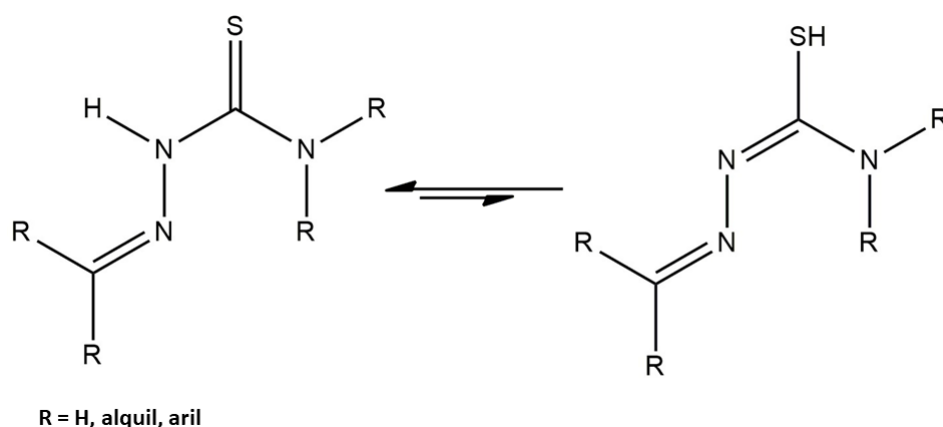
Figura 7 - Esquema geral de uma TSC e a ordem de numeração segundo a IUPAC, sendo que R = H, alquil, aril.



Fonte: Autora.

As tiossemicarbazonas são bases de Schiff que podem se coordenar tanto pelo átomo de nitrogênio, quanto pelo átomo de enxofre (coordenação monodentada) ou por ambos (coordenação bidentada) (BRUICE, P. Y., 2006; LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S., 2009). Em condições favoráveis, na presença de mais átomos doadores de elétrons em sua estrutura (como oxigênio, por exemplo), podem se coordenar de modo tridentado (PAL, I.; BASULI, F.; BHATTACHARYA, S., 2002). Tais ligantes apresentam tautomerismo tiona-tiol (Figura 8), o qual tem, como base, a desprotonação do hidrogênio ácido do fragmento hidrazínico da molécula, visto que há o deslocamento da densidade eletrônica pelo átomo de nitrogênio. Como consequência, tiossemicarbazonas desprotonadas apresentam carga líquida negativa e atuam como ânions, enquanto que tiossemicarbazonas protonadas apresentam carga líquida nula e, portanto, são neutras (LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S., 2009; PAL, I.; BASULI, F.; BHATTACHARYA, S., 2002).

Figura 8 - Tautomerismo tiona-tiol.



Fonte: Autora.

1.5 Monitoramento da interação entre complexos e alvos biológicos

O DNA é o primeiro alvo biológico a ser investigado quando se prepara novos complexos metálicos com foco em seu perfil citotóxico. Dentre as técnicas que avaliam as interações entre a fita de DNA e compostos metálicos, destaca-se a titulação espectrofotométrica (ABDEL-RAHMAN, L. H. *et al.*, 2019; MUDAVATH, R. *et al.*, 2019). Por meio de alterações na absorvância (hipocroísmo ou hipercroísmo) e/ou deslocamentos de bandas (batocromismo ou hipsocromismo), é possível determinar o tipo

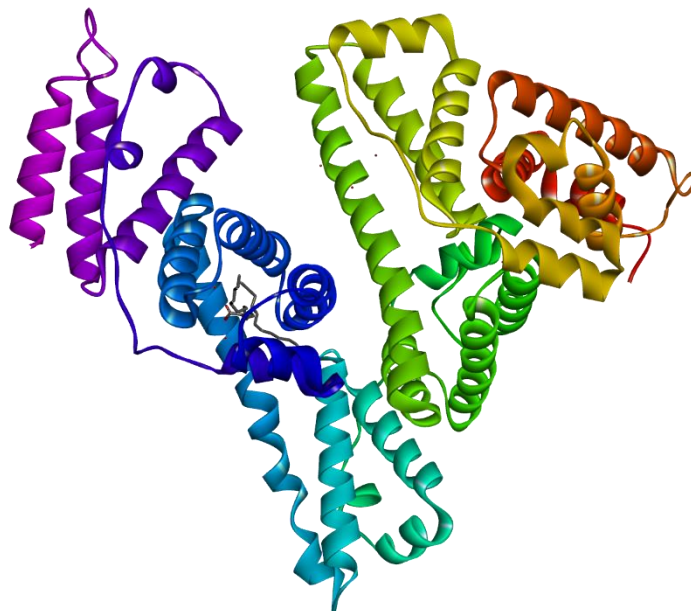
de interação entre ambas as espécies. Um exemplo são os compostos intercaladores, os quais tendem a interagir via os orbitais π^* do ligante e π das bases nitrogenada do DNA, resultando na diminuição da energia necessária para a absorção da radiação eletromagnética (transição $\pi-\pi^*$) e, conseqüentemente, no deslocamento da banda para a região do infravermelho (batocromismo) (ABDEL-RAHMAN, L. H. *et al.*, 2019; BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015; SHAHABADI, N.; KASHANIAN, S.; DARABI, F., 2010). O hipocromismo, quando combinado com o deslocamento batocrômico, também indica a presença de um intercalador, o que é justificado devido ao orbital π semipreenchido e a conseqüente menor probabilidade de transição $\pi-\pi^*$ (BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015). Por outro lado, quando a interação ocorre por meio de atração eletrostática ou ligação covalente, observa-se a existência de hiperromismo entre as bandas (BARRA, C. V.; NETTO, A. V., 2015).

Utilizando da Equação de Benesi (Equação 1) e visando quantificar a interação entre o DNA e o complexo, calcula-se a constante de ligação (K_b) entre ambas as espécies, a qual consiste na relação entre os coeficientes linear e angular da reta. Em tal equação, A_0 é a absorbância do composto sem adição de DNA, A é a absorbância do sistema a cada adição de DNA com concentração $[DNA]$, ϵ_G é o coeficiente de absorvidade molar do complexo livre e ϵ_{H-G} o coeficiente de absorvidade molar do complexo-DNA.

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} + \left(\frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} * \frac{1}{K[DNA]} \right) \quad (1)$$

Além do DNA, a albumina é outra biomolécula fundamental ao organismo, uma vez que é a proteína encontrada em maior abundância no plasma sanguíneo (60% da sua composição) (HU, Y.-J. *et al.*, 2005; ZHANG, G. *et al.*, 2008) e é responsável pelo controle da pressão osmótica, além de ser a principal carreadora de compostos endógenos e exógenos, tais como esteroides, ácidos graxos, metais pesados e fármacos pequenos (KRAGH-HANSEN, U., 1981; MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015; ROOPENIAN, D. C., 2015; ZHANG, G. *et al.*, 2008). Ela é sintetizada no fígado e subdividida em seis regiões (IA, IB, IIA, IIB, IIIA e IIIB), sendo que a IIA e a IIIA são as capazes de armazenar compostos (Sítios de Sudlow) (MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015; ROTHSCHILD, M. A.; ORATZ, M.; SCHREIBER, S. S., 1988).

Figura 9 - Albumina do Soro Humano.



Fonte: Protein Data Bank, Número PDB:4iw2

A albumina presente no soro humano contém apenas um fragmento de triptofano, o qual, dentre os 585 aminoácidos que compõe a cadeia polipeptídica, localiza-se no fragmento 214 (Trp-214) e no subdomínio IIA (HU, Y.-J. *et al.*, 2005; MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015). Face ao exposto, ao excitar a albumina em 280nm, detecta-se um sinal referente à emissão máxima do triptofano, da tirosina e da fenilalanina em 350nm (ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A., 2018; MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015). Entretanto, se excitada em 295nm, à emissão da albumina é referente apenas ao triptofano e, com isso, por meio da supressão da fluorescência, é possível monitorar a sua interação com o composto de estudo (ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A., 2018). Tal interação é avaliada, de maneira quantitativa, por meio de equações termodinâmicas que relacionam a intensidade de fluorescência com os parâmetros termodinâmicos Energia Livre de Gibbs, Entalpia e Entropia (Equação de Stern-Volmer) (Equação 2), na qual F_0 é a intensidade de fluorescência inicial da albumina, F é a intensidade de fluorescência da albumina após interação com o complexo, $[Q]$ é concentração do supressor, K_b é a constante de supressão de Stern-Volmer e n é o número de sítios de ligação (ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A., 2018; HU, Y.-J. *et al.*, 2005).

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [Q] \quad (2)$$

Um fármaco que possui alta afinidade pela HSA mostra boa biodistribuição pelo corpo. Essa característica corrobora com seu efeito terapêutico. Logo, durante as etapas iniciais de investigação das propriedades biológicas de um protótipo a fármaco, deve-se monitorar seu perfil de interação frente a esta proteína (MOREIRA, M. B. *et al.*, 2015).

Assim sendo, visando obter um melhor entendimento acerca da obtenção de complexos de Pd(II) contendo tiossemicarbazona como ligantes e suas propriedades biológicas, neste trabalho realizou-se a síntese, caracterização e análise de atividades bioquímica e citotóxicas de complexos metálicos de fórmula geral $[Pd(PPh_3)(TSC)X]$, sendo $X = Cl^-$, I^- , SCN^- , N_3^- ; PPh_3 = trifenilfosfina e TSC = tiossemicarbazona.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto envolve a síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de novos compostos de Pd(II) contendo ambos os ligantes tiossemicarbazona (derivada do cinamaldeído) e trifenilfosfina.

2.2 Objetivos Específicos

- Síntese e caracterização do ligante tiossemicarbazona e seus complexos de Pd(II);
- Determinar a citotoxicidade e seletividade a partir da comparação dos valores de IC_{50} em células tumorais humanas com elevada relação incidência/mortalidade (MCF-7 e A549) e em células normais (MRC5);
- Investigar o perfil de interação frente às biomoléculas DNA e HSA (*in vitro*) para o complexo mais promissor.

3 METODOLOGIA

3.1 Síntese da tiossemicarbazona e dos complexos metálicos

Para a síntese da *N*-4-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona, manteve-se sob refluxo, durante 3 horas em álcool etílico, a reação de condensação entre o cinamaldeído (aldeído cinâmico ou 3-fenil-2-propenal) e a 4-etil-3-tiossemicarbazida. O ligante formado apresenta coloração marrom e o rendimento da síntese foi de 64%.

O composto de fórmula $[Pd(PPh_3)(TSC)X]X$ foi sintetizado a partir da reação entre K_2PdCl_4 , *N*-4-etil-cinamaldeído tiossemicarbazona e trifenilfosfina (PPh_3), usando a proporção Pd:TSCH: PPh_3 (1:1:1). Manteve-se a agitação em acetonitrila durante 48 horas a temperatura ambiente. O composto formado apresenta coloração amarelada e o rendimento da síntese foi de 77%.

A substituição do ligante clorido do $[PdCl(TSCHE)(PPh_3)]Cl$ por grupos I^- , N_3^- , SCN^- foi realizada *in situ* mantendo agitação durante 4 horas a temperatura ambiente e visando gerar complexos do tipo $[Pd(PPh_3)(TSC)X]X$. O composto AB2 apresenta coloração alaranjada e rendimento de 64%. Os compostos AB3 e AB4 apresentam coloração amarelada e rendimentos de 79% e 74% respectivamente.

3.2 Caracterização

Realizaram-se análises quantitativas dos elementos C, H e N por meio do analisador elementar Perkin Elmer 2400 series II com detector de condutividade térmica (TCD) através do método Pregl – Dumas, disponível na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP). A investigação estrutural dos complexos envolveu as espectroscopias de absorção vibracional no IV, de RMN, de UV-Vis e condutividade. Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram gerados no espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific na faixa de $400 - 4000\text{ cm}^{-1}$, utilizando pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) para os núcleos de 1H e ^{31}P foram obtidos no espectrômetro multinuclear BRUKER Avance III HD 600 (14, 1T), equipamento disponível na forma de multiusuário no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

(UNESP). As medidas de condutividade foram realizadas em condutivímetro DM 31 Digimed. Utilizou-se como solvente DMSO ($\Lambda_m = 1,05 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mol}^{-1}$) e as soluções analisadas tinham concentração de $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Os monocristais obtidos durante o desenvolvimento do trabalho foram encaminhados ao Prof. Dr. Javier Alcides Ellena (USP-São Carlos), objetivando determinar suas estruturas molecular e cristalina.

3.3 Análise da interação com biomoléculas

3.3.1 Titulação Espectrofotométrica com DNA

Espectros de UV-Vis foram obtidos para os complexos na presença de quantidades crescentes de DNA na região de 200 a 800 nm em tampão salino Tris-HCl (pH 7,4). A titulação foi realizada a 25°C mantendo a concentração do complexo fixa em $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, enquanto a concentração de DNA foi variada de 0 até $4,2 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Partindo de uma solução do complexo $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ preparado em DMSO, foram adicionados $60 \mu\text{L}$ do composto em $2940 \mu\text{L}$ de tampão tris-HCl (pH 7,4) em uma cubeta de quartzo de 3 mL. Uma segunda cubeta para o branco foi preparada com $60 \mu\text{L}$ de DMSO e $2940 \mu\text{L}$ de tampão tris-HCl (pH 7,4). Após a primeira leitura do complexo livre da presença de DNA, foram adicionados $18 \mu\text{L}$ de uma solução fresca de DNA $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, tanto na cubeta contendo o complexo quanto no branco.

Foram realizadas adições sucessivas de $18 \mu\text{L}$ da solução de DNA (tanto no branco quanto no complexo) até um total de 10 adições. A proporção molar complexo:DNA foi variada de 0,3 a 3,0 com intervalos de 0,3 em cada adição.

3.3.2 Supressão da Luminescência da Albumina do Soro Humano

As leituras de fluorescência foram realizadas em um espectropolarímetro JASCO J-815, com uma cubeta de quartzo de 10 mm, excitação em 280 nm, numa faixa de 290 a 500 nm, largura de banda de 5,0 nm, acumulação de 1 scan na temperatura de 25°C . A concentração de HSA foi mantida fixa no experimento em $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ enquanto o complexo, preparado em DMSO (1 mM), foi adicionado de modo a obter concentrações

na faixa de 4 a 32 μM . A porcentagem de DMSO adicionada no experimento foi inferior 4%.

3.3.3 Viabilidade Celular

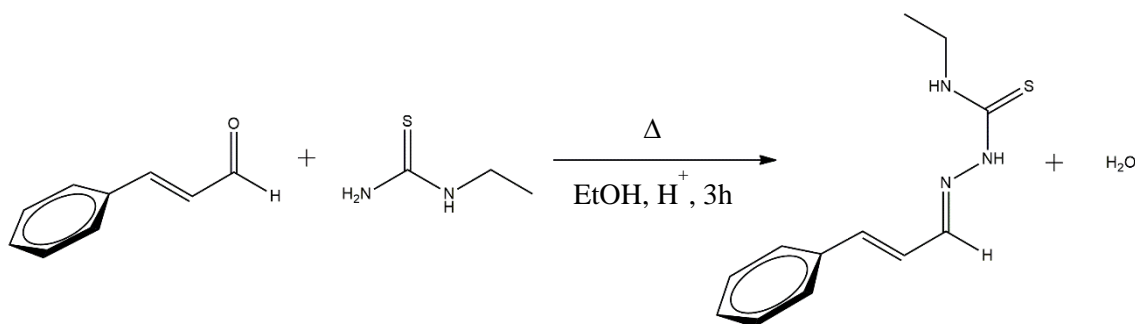
A atividade antiproliferativa dos complexos foi avaliada através do ensaio colorimétrico MTT, [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo], frente às culturas celulares MCF-7 (adenocarcinoma mamário, ATCC HTB-22) e MRC-5 (linhagem não tumoral de pulmão, ATCC CCL-171). O cultivo celular foi mantido em meio DMEM (Vitrocell[®]), enriquecido com 10% de soro bovino fetal inativado pelo calor (FBS) e suplementado com sulfato de gentamicina (50 mg L^{-1}) e anfotericina B (2 mg L^{-1}), à 37°C em atmosfera de CO_2 umidificada à 5%. 1×10^4 células/poço foram semeadas em microplacas de 96-poços (Corning Costar) e incubadas por 24h para adesão celular. As células foram tratadas em soluções de DMSO (0.5% v/v) com diferentes concentrações por 48h. Assim, uma alíquota (100 μL) da solução de MTT (1 mg mL^{-1}) foi adicionada em cada poço e incubada por 4h. Os cristais de formazam foram dissolvidos em 100 μL de isopropanol. A densidade óptica foi mensurada em 540 nm usando um leitor de 96-poços. Os valores de IC_{50} foram obtidos a partir de curvas dose-resposta (viabilidade celular vs log [concentração do complexo]) para três experimentos independentes. Os “*plots*” das curvas de viabilidade celular foram gerados através do software Graph Pad Prism.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Química

A tiossemicarbazona foi sintetizada a partir da reação de condensação entre o cinalmaldeído e a tiossemicarbazida apropriada, conforme ilustrado no Esquema 1.

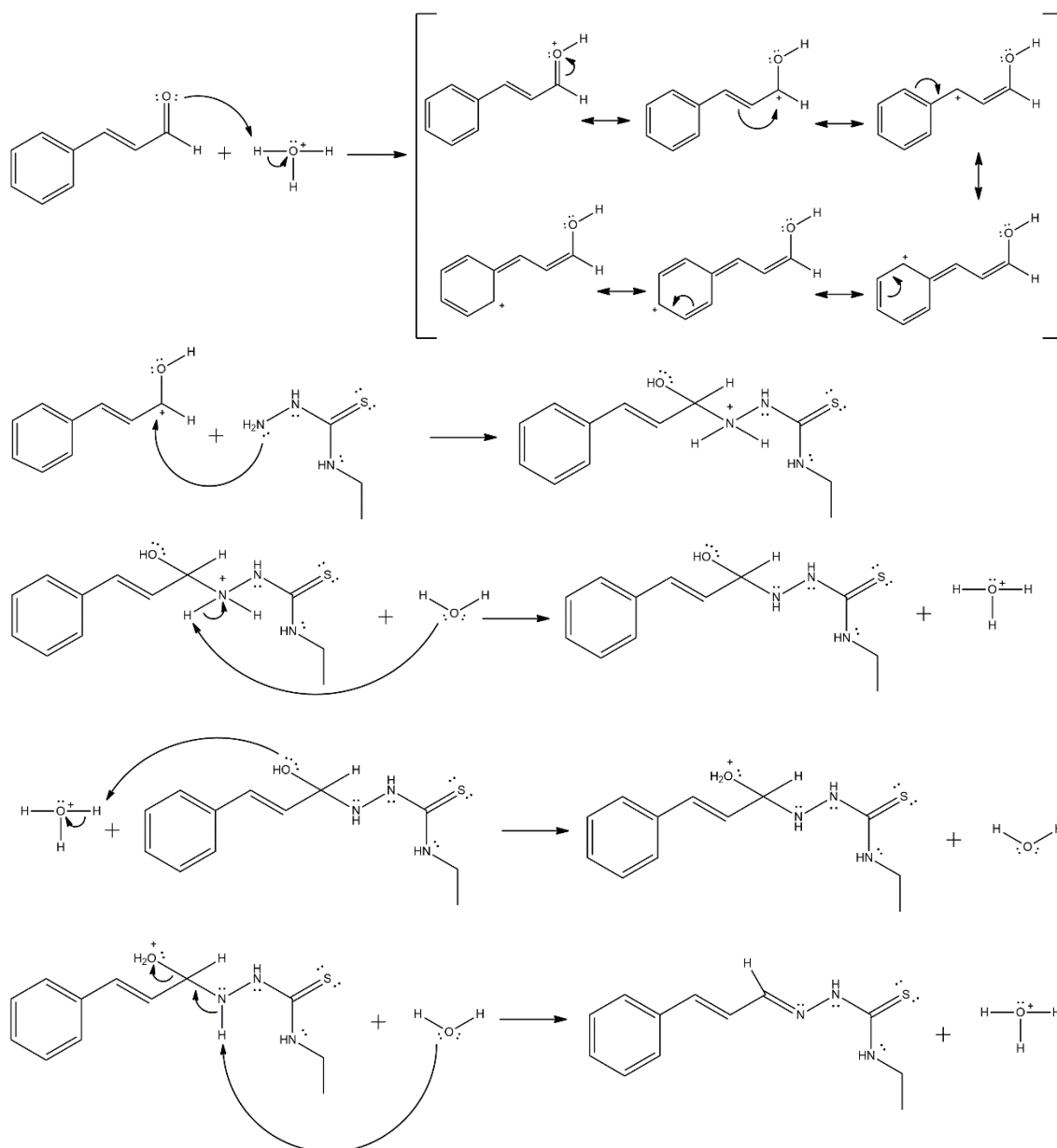
Esquema 1 - Síntese do ligante N-4-etil-cinalmaldeído tiossemicarbazona.



Fonte: Autora.

A reação de condensação apresentada é uma reação de adição nucleofílica, na qual os elétrons pertencentes ao orbital HOMO da tiossemicarbazida (nucleófilo) associam-se, covalentemente, com o orbital LUMO do composto carbonilado. A geometria trigonal plana do carbono da carbonila favorece a reação, uma vez que o ataque do nucleófilo pode ocorrer de maneira *sin* ou *anti* (SOLOMONS, T. W. G., 2012). As etapas do mecanismo sugerido estão expressas na Figura 10.

Figura 10 - Mecanismo de reação sugerido para a formação da tiossemicarbazona.

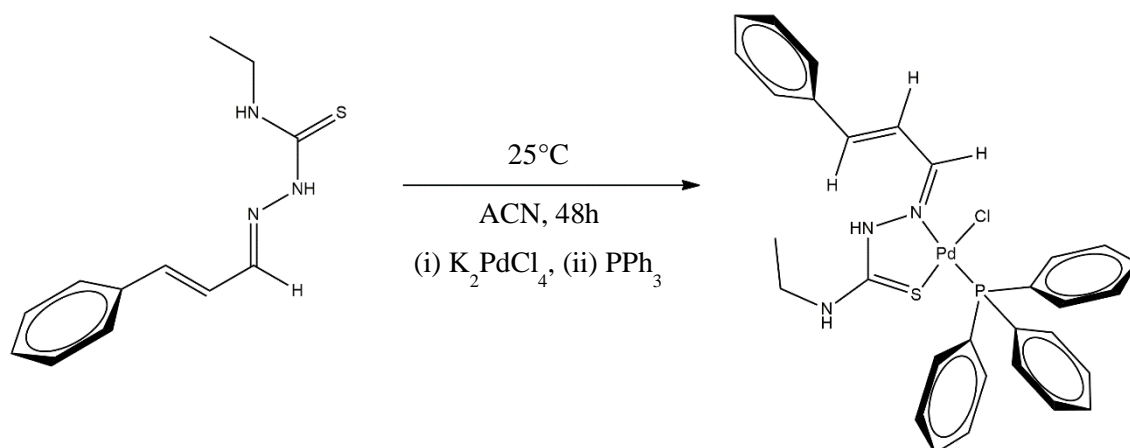


Fonte: Autora.

Ressalta-se que a utilização do cinamaldeído para formação de complexos metálicos teve, como base, potencializar suas atividades biológicas, dentre elas, suas propriedades antitumorais (FIGUEIREDO, C. *et al.*, 2018; KA, H. *et al.*, 2003).

A reação geral para a formação do composto AB1 está ilustrada no Esquema 2.

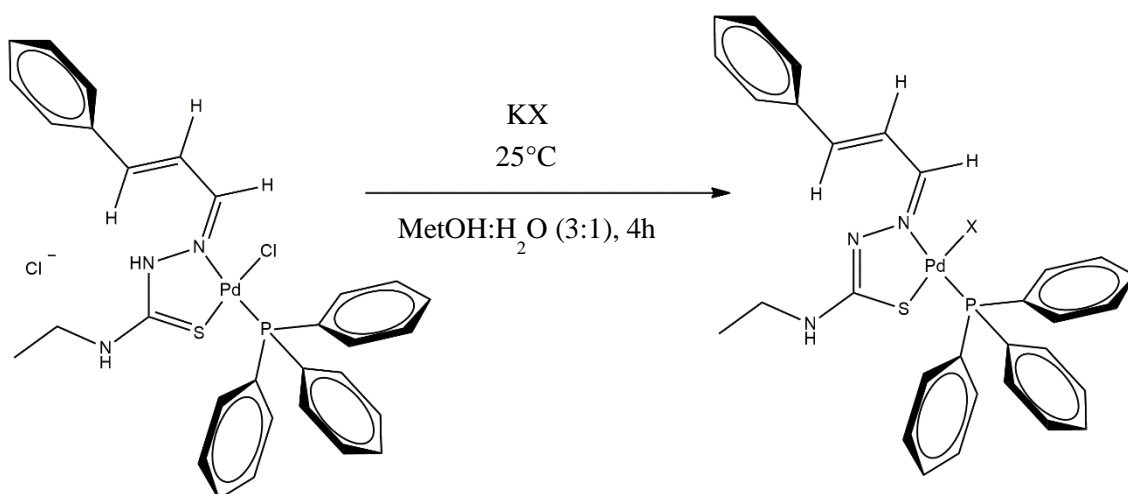
Esquema 2 – Síntese do composto AB1



Fonte: Autora.

Já a síntese de troca de ligantes (Esquema 3) fundamenta-se no mecanismo associativo, ou seja, há a formação de um intermediário com número de coordenação superior ao número de coordenação do complexo inicial (ATKINS, P.; OVERTON, T., 2010).

Esquema 3 - Síntese dos compostos de fórmula geral $[\text{PdX}(\text{TSCHEt})(\text{PPh}_3)]$ (TSCHEt = cinamaldeído-N-4-etil-tiossemicarbazona; $\text{X} = \text{I}^-$, SCN^- , NNN^- ; PPh_3 = trifetilfosfina).



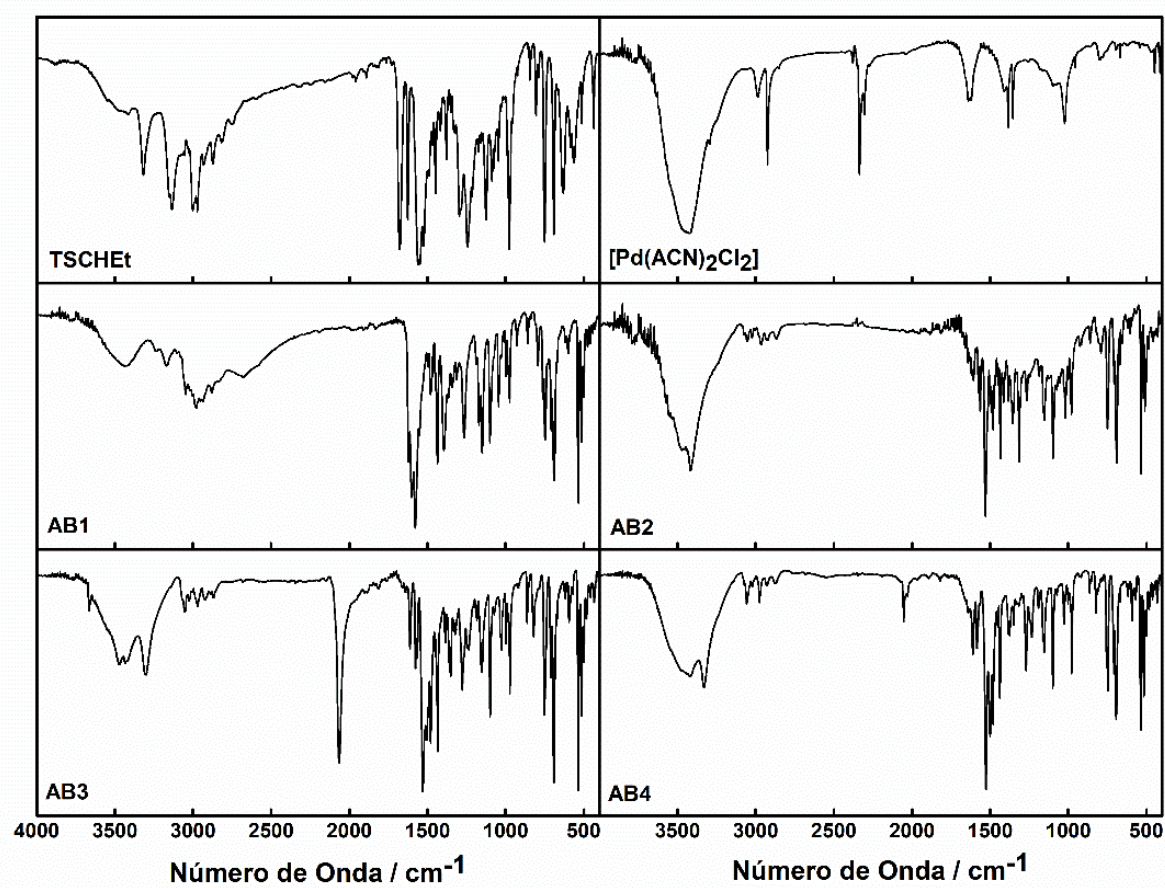
Fonte: Autora.

4.2 Caracterização

4.2.1 Infravermelho

Foram obtidos espectros na região do infravermelho para os compostos e os resultados estão expressos na Figura 11 e as atribuições na tabela 1.

Figura 11 - Espectro vibracional na região do infravermelho.



Fonte: Autora.

Tabela 1 - Atribuições das bandas referentes aos espectros na região do infravermelho.

	Número de Onda / cm^{-1}					
	TSCHEt	[Pd(ACN) ₂ Cl ₂]	AB1	AB2	AB3	AB4
vNH tioamida	3416, <i>m</i>	-	3439, <i>f</i>	3471, <i>m</i>	3471, <i>m</i>	3421, <i>m</i>
vNH hidrazina	3317, <i>m</i>	-	3169, <i>f</i>	3415, <i>m</i>	3301, <i>m</i>	3329, <i>m</i>
δNH + vC=N + vC=C	1676-1559, <i>F</i>	-	1577, <i>F</i>	1529, <i>F</i>	1529, <i>F</i>	1526, <i>F</i>
vP-C_{Ph3}	-	-	1148, <i>m</i>	1155, <i>m</i>	1098, <i>m</i>	1098, <i>m</i>
vC=S	750, <i>f</i>	-	792, <i>f</i>	790, <i>f</i>	820, <i>f</i>	821, <i>f</i>
vM-NCS	-	-	-	-	2064, <i>s</i>	-
vaNNN	-	-	-	-	-	2051, <i>f</i>
vsNNN	-	-	-	-	-	2051, <i>f</i>
vC-N	1124, <i>F</i>	-	1097, <i>m</i>	1097, <i>m</i>	1098, <i>m</i>	1098, <i>m</i>
vC\equivN	-	2335, <i>m</i>	-	-	-	-

Fonte: Autora.

A partir das atribuições feitas às bandas dos espectros de infravermelho, observa-se que houve de fato a complexação esperada nos 4 compostos, uma vez que há o deslocamento de bandas referentes às tiossemicarbazonas livres para as complexadas, como pode ser exemplificado por meio dos estiramentos vC=S e vC=N e pelo aparecimento de bandas, como a vP-C_{Ph3} (BARBOSA, L. C. D. A., 2007; LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S., 2009; NAKAMOTO, K., 1997; PAVIA, D. L. *et al.*, 2009; ROBERT, M. S.; FRANCIS, X. W.; DAVID, J. K., 2005). Após a coordenação da tiossemicarbazona, a banda atribuída ao estiramento simétrico em 1559 cm^{-1} (v_sC=N) sofre um deslocamento significativo para 1577 cm^{-1} . Ressalta-se também a existência de diversas bandas na faixa de 1563-700 cm^{-1} devido às interações existentes entre as ligações C=S e C-N referente ao grupo tioamida, como por exemplo, as encontradas nas regiões de 1524 cm^{-1} e 1548 cm^{-1} (ROBERT, M. S.; FRANCIS, X. W.; DAVID, J. K., 2005). As bandas referentes à ligação Pd-Cl encontram-se na região limite do infravermelho ou em números de onda inferiores a 400 cm^{-1} e isso resulta em uma limitação instrumental para identificação da banda no espectro (NAKAMOTO, K., 1997).

4.2.2 UV-Vis

Foram obtidos, para o ligante e para os compostos de estudo (AB1-4), espectros na região do ultravioleta/visível, os quais estão ilustrados na Figuras 12 e 13.

Figura 12 – Espectro de absorção na região do UV-Vis para a tiossemicarbazona livre e para o composto AB1, ambos com concentração $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$.

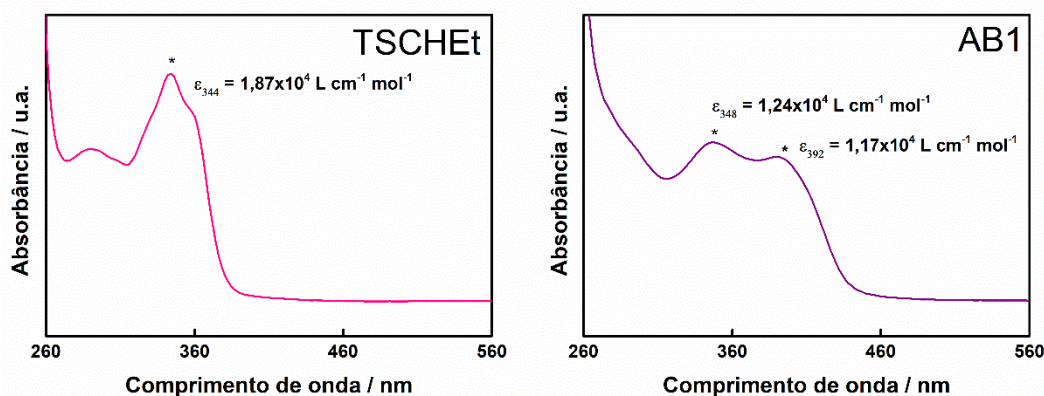
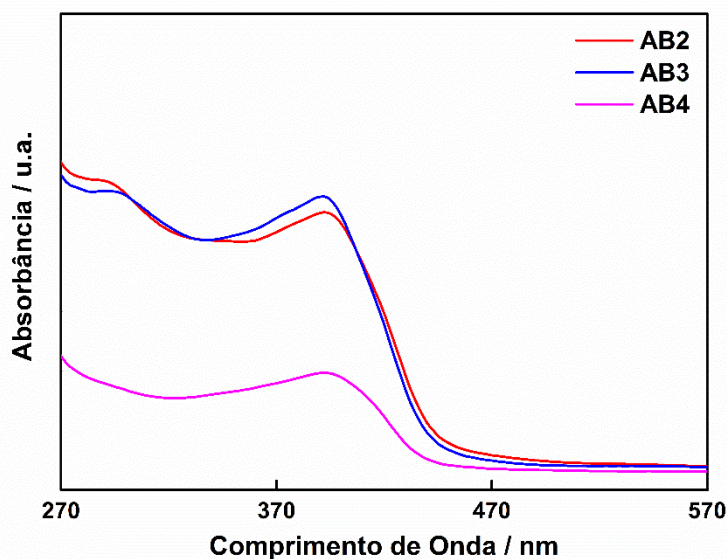


Figura 13 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para os compostos AB2, AB3 e AB4.

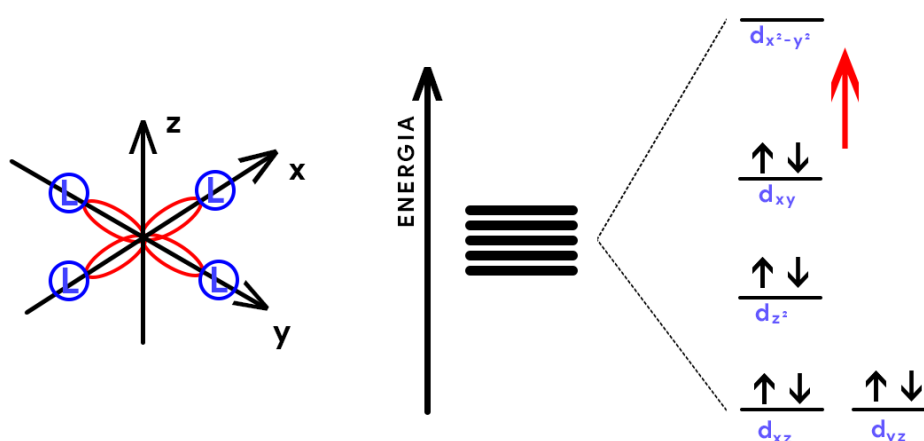


Fonte: Autora.

Segundo a Teoria do Campo Cristalino, íons metálicos com configuração eletrônica d^8 , assim como Pd(II), ao serem coordenados com ligantes fortes, tendem a apresentar geometria quadrática-plana. Os orbitais d destes compostos, ao perderem a degenerescência devido à maior interação frontal (σ) entre os ligantes e os orbitais do metal, que não possuem componente z , sofrendo maiores desdobramentos (Figura 14). Como consequência, os elétrons pertencentes ao orbital d_{xy} , ao absorverem energia

eletromagnética, são promovidos ao orbital $d_{x^2-y^2}$, uma das transições observadas pelos complexos metálicos (AB1-4) na região de 340 a 390nm (ATKINS, P.; OVERTON, T., 2010; FARIAS, R. D., 2005). Considerando os valores elevados de absortividade molar (ϵ) encontrado para essas bandas ($\epsilon_{348} = 1,24 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; $\epsilon_{392} = 1,17 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), essas absorções também podem ser atribuídas a uma combinação de transições de transferência de carga ligante-metal (TCLM) do tipo $p_{\pi}(\text{S}) \rightarrow d_{\pi}(\text{Pd})$ e $p_{\pi}(\text{Cl}) \rightarrow d_{\pi}(\text{Pd})$ bem como transferência de carga metal-ligante- (TCML) do tipo $d_{\pi}(\text{Pd}) \rightarrow \sigma_{\text{P-C}}^*$ e $d_{\pi}(\text{Pd}) \rightarrow \pi_{\text{N=C}}^*$ (LEVER, A. B. P., 1986).

Figura 14 - Desdobramento do Campo Cristalino para sistemas quadrado-planares.



Fonte: Autora.

4.2.3 Condutividade molar (Λ_M)

As medidas de condutividade foram realizadas em DMSO. Os resultados estão expressos na tabela 2.

Tabela 2 - Medidas de condutividade.

	AB1	AB2	AB3	AB4
$\Lambda_M / \mu\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$	21,75	2,94	1,29	0,99

Fonte: Autora.

Segundo Velho (2016), em DMSO, eletrólitos 1:1 apresentam condutividade molar entre 20 a 62 $\text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$ e eletrólitos 1:2, de 50 a 110 $\text{S.cm}^2.\text{mol}^{-1}$. No caso de estudo, os compostos AB2, AB3 e AB4 apresentaram condutividade molar inferior a 20 $\mu\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$, conclui-se que os mesmos, quando dissolvidos em DMSO, são neutros. Tal

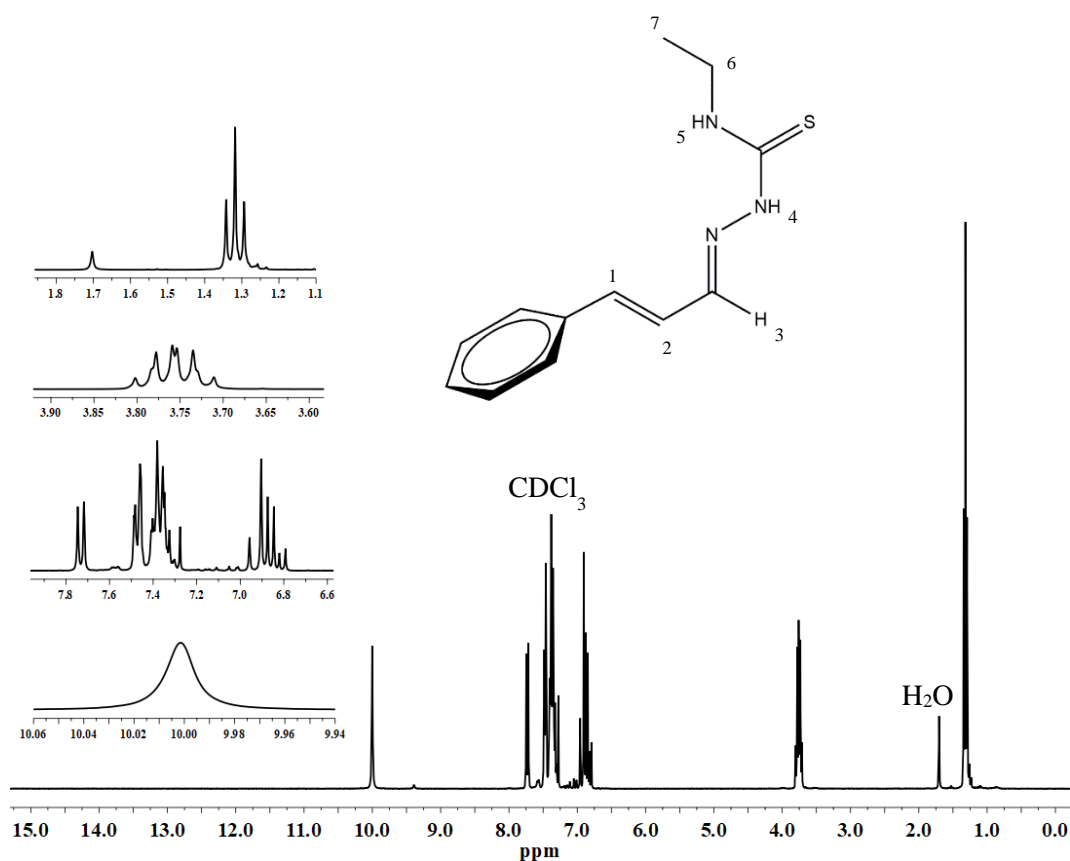
fato ocorre devido à desprotonação do hidrogênio hidrazínico, que é ácido, pela água do DMSO, a qual age como uma base de Lewis. Já o composto AB1 encontra-se na faixa de condutividade 1:1.

4.2.4 RMN

4.2.4.1 RMN 1H

Obteve-se o espectro de RMN 1H para o ligante livre em clorofórmio-*d* (Figura 15). As atribuições estão expressas na Tabela 3.

Figura 15 - Espectro de RMN 1H do ligante livre.



Fonte: Autora

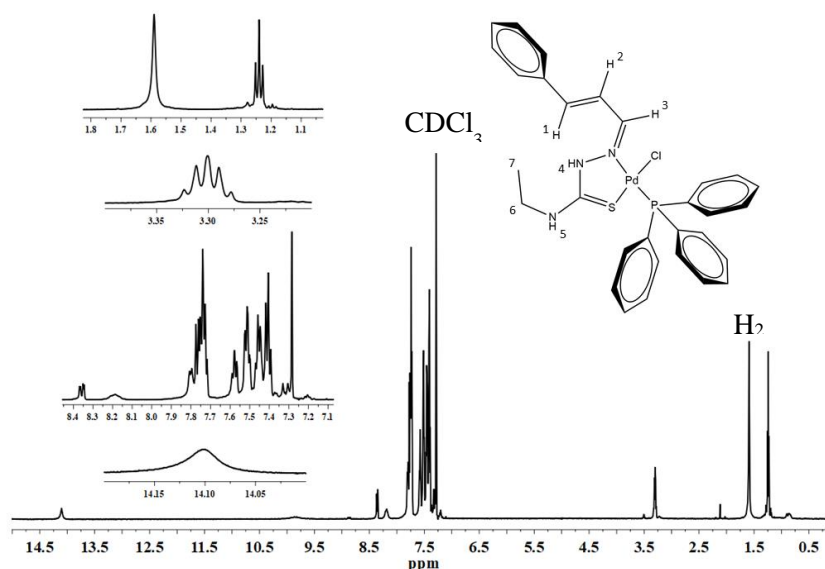
Tabela 3 - Atribuições dos sinais referentes ao espectro de RMN ^1H para o ligante livre.

	Multiplicidade	Hidrogênios Equivalentes	δ / ppm	J / Hz
H₁	<i>Porção AB</i>	2H	6,96-6,79	$J_{12} = 16$
H₂				$J_{13} = 6$
H₃	<i>Porção X, d</i>	1H	7,75	$J_{23} = 14$
H₅				$J_{23} = 14$
H₅	<i>s</i>	1H	10,00	-
H₆	<i>dq</i>	2H	3,80	6
H₇	<i>t</i>	3H	1,32	7

Fonte: Autora.

Os hidrogênios H₁, H₂ e H₃ formam um sistema de spin ABX, sendo o fragmento A referente ao hidrogênio H₁, o fragmento B referente ao hidrogênio H₂ e o fragmento X referente ao hidrogênio H₃. No caso em questão, o hidrogênio H₃ é diferenciado dos outros, porém não é possível fazer distinção dos sinais referentes aos hidrogênios H₂ e H₃ no espectro, apenas que são localizados na região de 6,96 a 6,79 ppm. Destaca-se também que o acoplamento entre os hidrogênios H₁ e H₃ pode ser justificado pelo acoplamento alílico, devido à ligação dupla entre os carbonos que apresenta uma influência positiva entre os dois spins nucleares (BARFIELD, M.; SPEAR, R. J.; STERNHELL, S., 1976; PAVIA, D. L. *et al.*, 2009).

Para os complexos metálicos, partindo do espectro de RMN ^1H do complexo AB1 em clorofórmio *d* (Figura 16), atribui-se, para cada sinal, o hidrogênio equivalente na molécula (Tabela 3).

Figura 16 - Espectro de RMN ^1H do complexo AB1.

Fonte: Autora

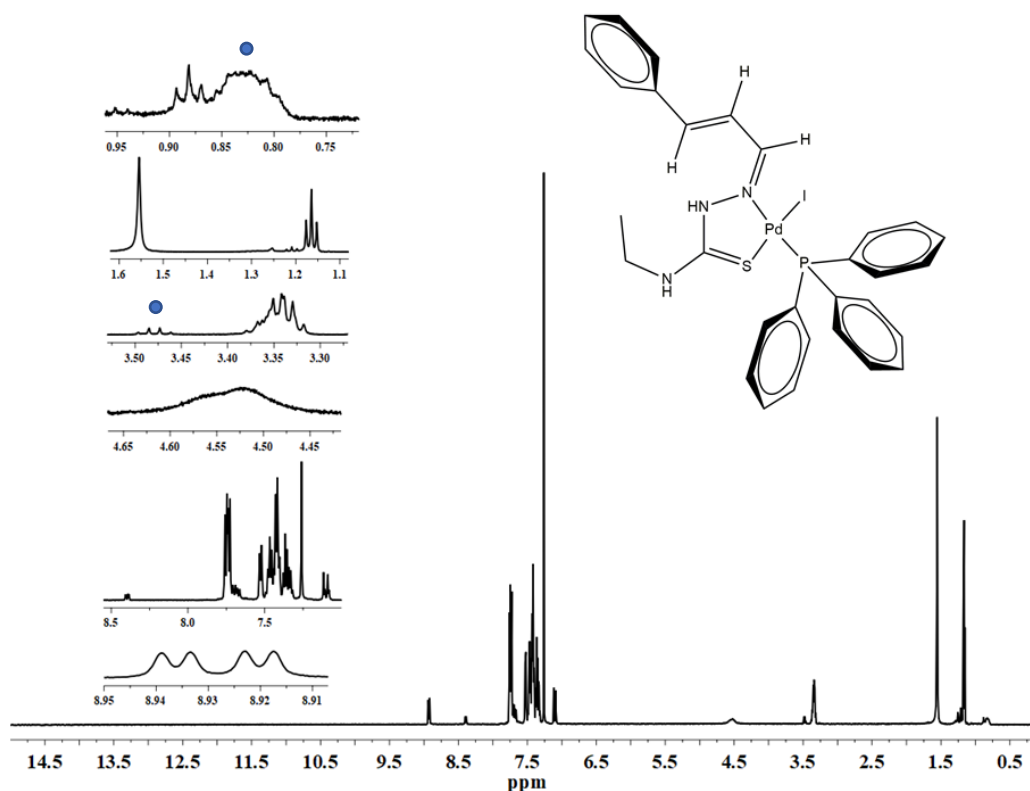
Tabela 4 - Atribuições dos sinais referentes ao espectro de RMN ^1H para o composto AB1.

	Multiplicidade	Hidrogênios Equivalentes	δ / ppm	J / Hz
H₃	<i>dd</i>	1H	8,33	11
H₄	<i>s, br</i>	1H	14,08	-
H₅	<i>s</i>	1H	9,82	-
H₆	<i>dq</i>	2H	3,28	7
H₇	<i>t</i>	3H	1,22	7

Fonte: Autora.

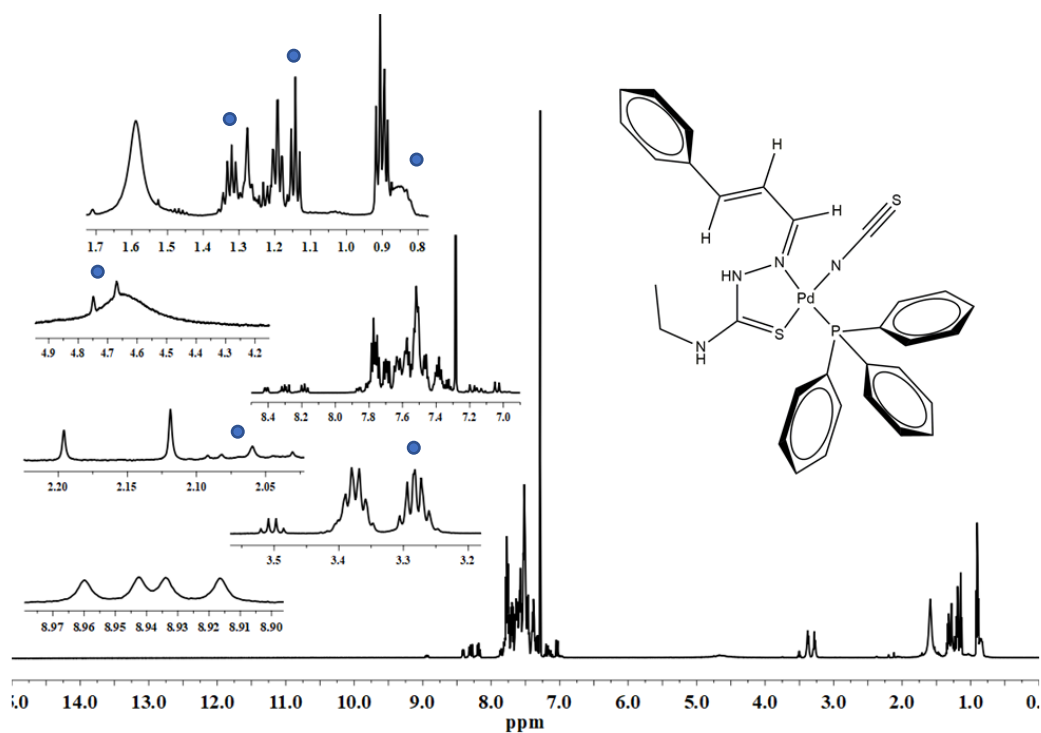
Vale ressaltar que os multipletos são referentes aos anéis aromáticos pertencentes tanto à trifenilfosfina ($\delta \approx 7,39\text{-}7,59$ ppm) quanto à tiossemicarbazona ($\delta \approx 7,76$ ppm) e aos hidrogênios H₁ e H₂ (PAVIA, D. L. *et al.*, 2009).

De maneira análoga ao complexo AB1, foram analisados os espectros de RMN ^1H para os compostos AB2, AB3 e AB4 (Figuras 17-19).

Figura 17 - Espectro de RMN ^1H do complexo AB2.

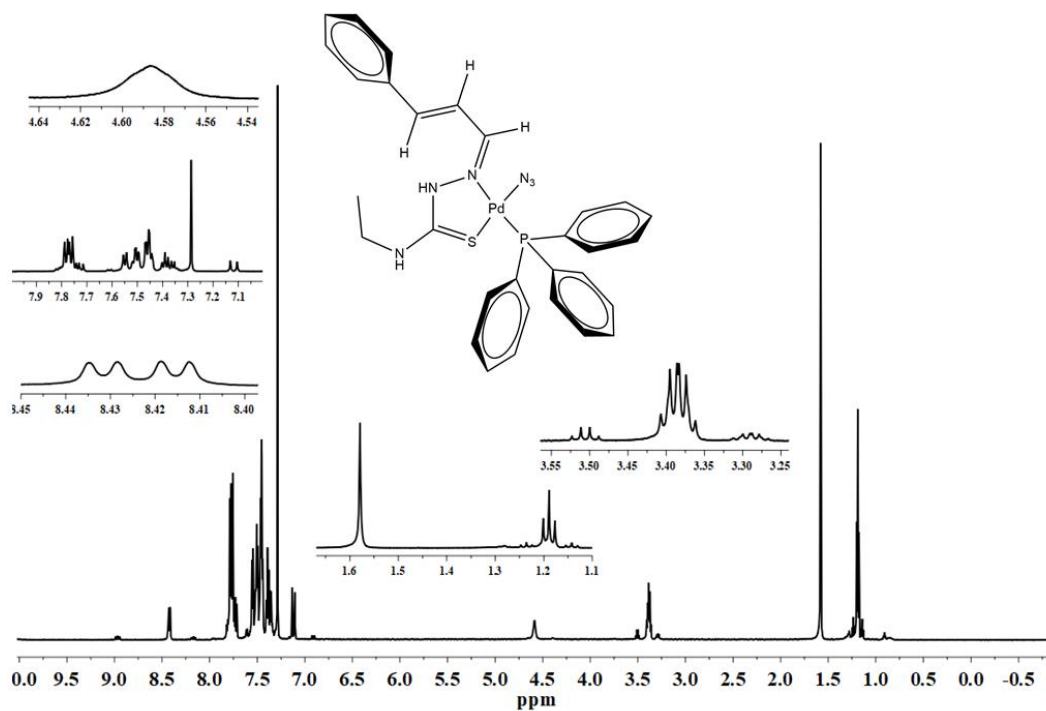
Fonte: Autora.

Figura 18 - Espectro de RMN ^1H do complexo AB3.



Fonte: Autora.

Figura 19 - Espectro de RMN ^1H do complexo AB4.



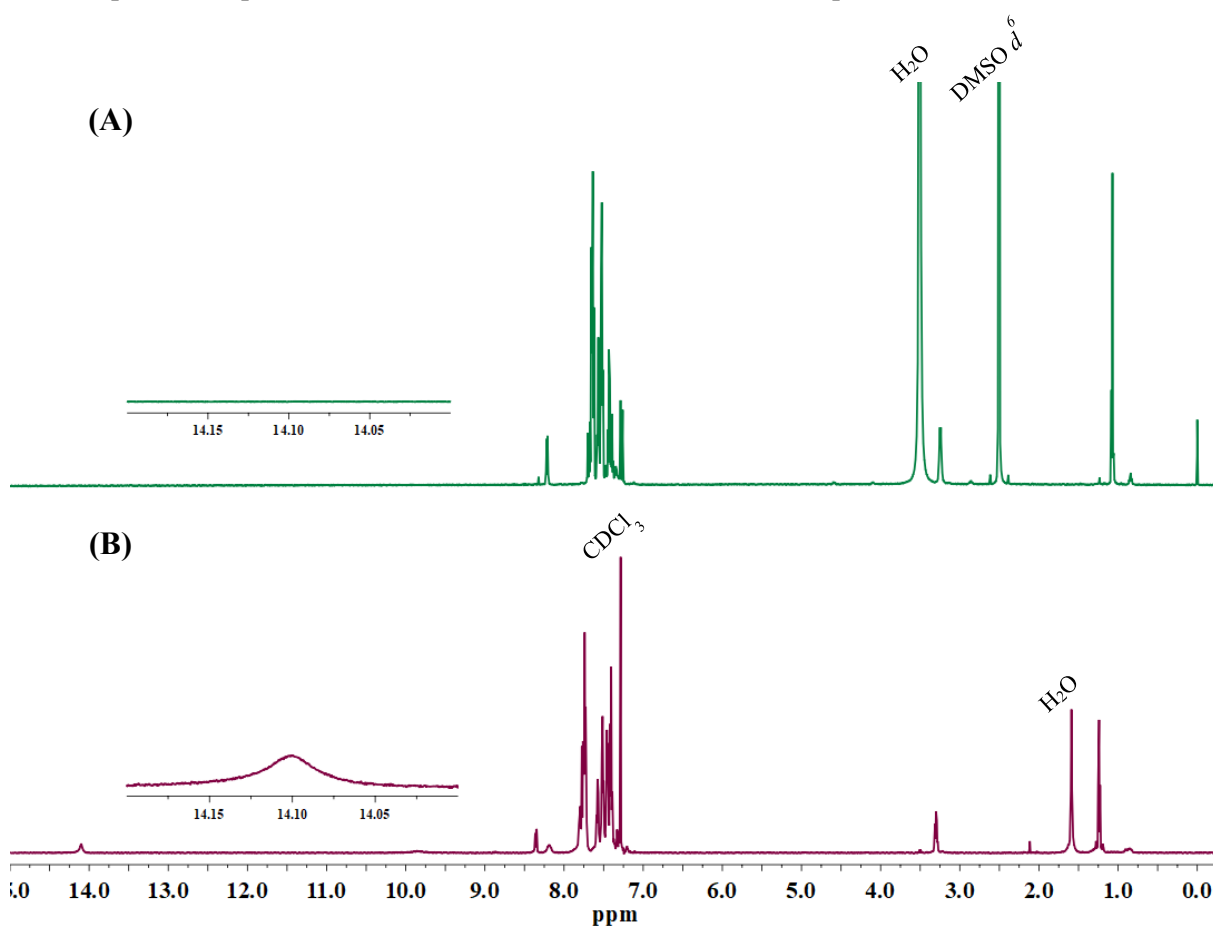
Fonte: Autora.

A partir dos espectros de RMN ^1H , percebe-se que os complexos AB2 e AB3 apresentam outros sinais além dos esperados (sinalizados pelos círculos azuis), o que

pode ser justificado devido à existência de mais de uma molécula, mesmo após processo de purificação dos compostos. Um exemplo de conjunto de sinais não esperados pode ser observado na região entre 0,80 e 1,38 ppm do composto AB3. A reação de síntese baseia-se na saída do grupo clorido do complexo AB1 e a substituição por outro haleto ou pseudo-haleto. Face ao exposto, pode-se concluir que nem todo complexo AB1 reagiu e que a similaridade estrutural entre os compostos dificulta a separação entre as moléculas. Com base nisso, continuou-se o trabalho apenas com os compostos AB1 e AB4.

Por meio dos espectros de RMN ^1H , comprova-se também a desprotonação do hidrogênio do fragmento hidrazínico em função do solvente que o complexo é solubilizado. Em clorofórmio, percebe-se tal sinal em 14,08 ppm, enquanto que, em DMSO, o mesmo não é observado (Figura 20).

Figura 20 - Comparação entre os espectros de RMN ^1H (a) em DMSO d^6 e (b) em clorofórmio d para o composto AB1. Os sinais indicados são referentes aos picos dos solventes.

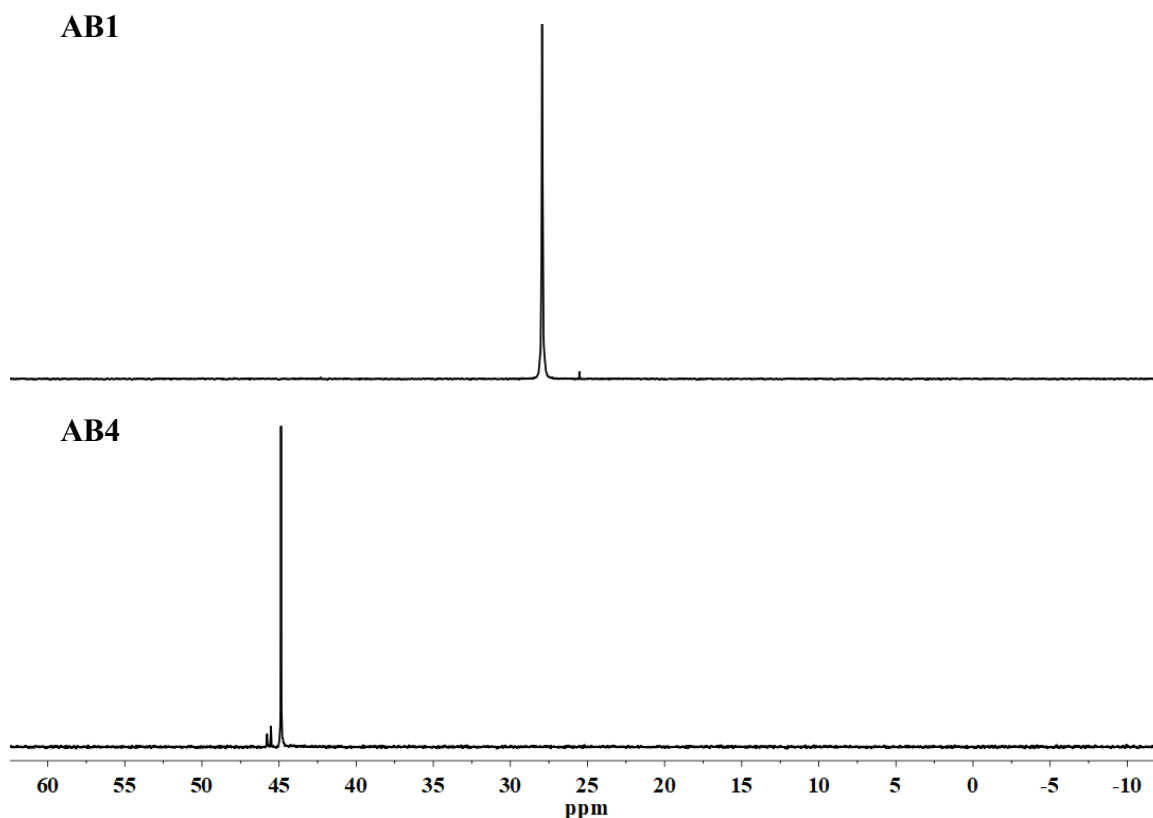


Fonte: Autora.

4.2.4.2 RMN ^{31}P

Foram obtidos espectros de RMN ^{31}P em clorofórmio *d* para os compostos AB1 e AB4 (Figura 21).

Figura 21 - Espectros de RMN ^{31}P dos complexos AB1 e AB4.



Fonte: Autora.

Sinais referentes à trifenilfosfina livre localizam-se em -4,84ppm e em 30,16ppm, sendo que este último é referente à oxidação da mesma, gerando o produto OPPh_3 (FERNANDES, A. G. D. A., 2007). Uma vez que os espectros para AB1 e AB4 apresentam, respectivamente, apenas os sinais localizados em 27,94 e 44,87 ppm, os quais são referentes ao fósforo da trifenilfosfina complexado em posição *trans* a nitrogênio, conclui-se que ambos foram obtidos em pureza adequada.

4.2.5 *Análise Elementar*

Os dados de análise elementar constam na Tabela 4. Com base nos resultados, conclui-se que o composto AB1 obtido foi sintetizado com êxito, uma vez que os valores calculado e experimental, em porcentagem, de carbono, hidrogênio e nitrogênio são similares e comparáveis e, portanto, estão de acordo com a fórmula proposta $C_{30}H_{30}N_3SPCl_2Pd$.

Tabela 5 - Valores de CHN % para o composto AB1.

	%C	%H	%N
Calculado	53,54	4,49	6,24
Experimental	53,62	3,88	6,23

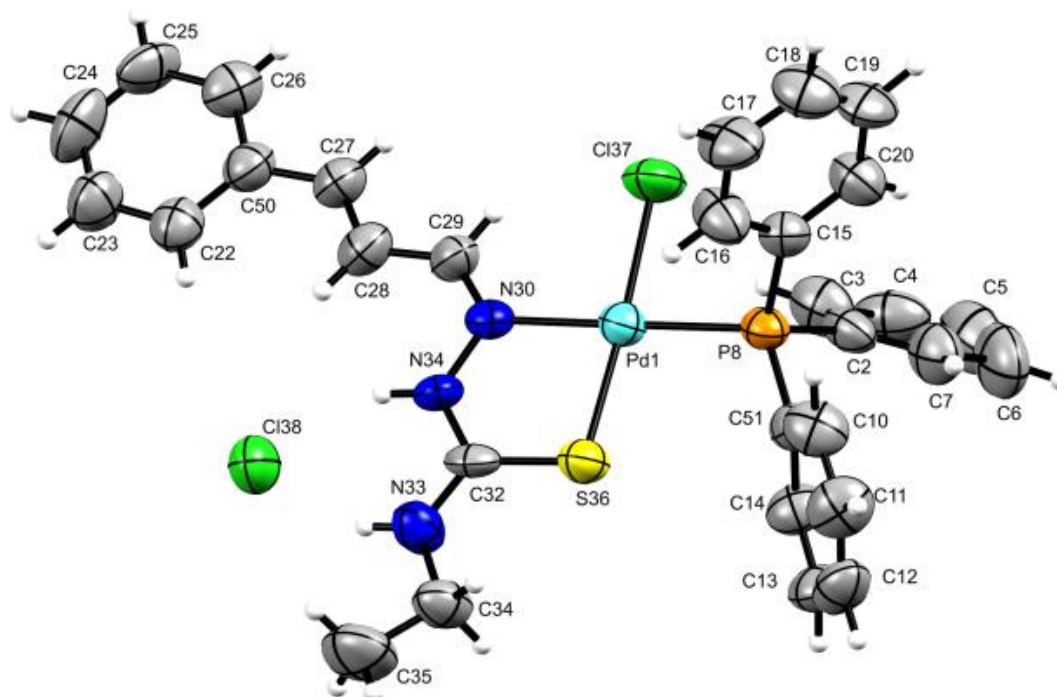
Fonte: Autora.

Ressalta-se que a presença de dois átomos de cloro na estrutura deve-se ao cloreto do complexo $([PdCl(PPh_3)(TSCHEt)]Cl)$, que é justificado devido à presença do hidrogênio hidrazínico da tiossemicarbazona, tornando o complexo catiônico. Infelizmente, os resultados de análise elementar para o complexo AB4 estão em processo na central analítica da USP, mas serão adicionados posteriormente na versão final deste trabalho de conclusão de curso, antes da submissão do mesmo a base de dados da biblioteca do IQAr.

4.2.6 *Difração de raios X por monocristal*

A estrutura cristalina resolvida para os complexos AB1 confirmam através da respectiva unidade assimétrica (Figura 22) o sucesso na obtenção do complexo mononuclear de Pd(II).

Figura 22 - Estrutura cristalina e molecular do complexo AB1 e esquema de identificação dos átomos. Elipsóides térmicos em nível de 50% de probabilidade. Átomos de hidrogênio representados no padrão de esferas com raio 0,15Å.



Fonte: Autora

AB1 cristaliza no sistema monoclinico com sua estrutura cristalina determinada no grupo espacial $P2_1/c$ (Nº 14). A unidade assimétrica é composta por uma molécula do complexo e um contra íon cloreto. A cela unitária apresenta quatro fórmulas mínimas ($Z = 4$), as quais se correlacionam no espaço através dos operadores de simetria 2_1 (com direção [010]) e n perpendicular ao eixo cristalográfico b com componente $\frac{1}{2}$ em c . O refinamento final para as celas resultaram em $R_1 = 0,0927$, $wR_2 = 0,2761$, Tabela 5.

Tabela 6 - Dados do cristal, da coleta e do refinamento para AB1.

Identification code	AB1
Empirical formula	C ₃₄ H ₃₆ Cl ₃ N ₄ O ₄ PPdS
Formula weight	840.45
Temperature/K	293(2)
Crystal system	Monoclinic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>
<i>a</i> /Å	15.4700(13)
<i>b</i> /Å	10.0460(7)
<i>c</i> /Å	26.9487(17)
α /Å	90
β /Å	103.910(7)
γ /Å	90
Volume/Å ³	4065.3(5)
<i>Z</i>	4
ρ_{calc} g/cm ³	1.373
μ /mm ⁻¹	0.783
<i>F</i> (000)	1712.0
Crystal size/mm ³	0.35 × 0.27 × 0.12
Radiation	MoK α (λ = 0.71073)
2 θ range for data collection/°	5.112 to 68.918
Index ranges	-16 ≤ <i>h</i> ≤ 24, -15 ≤ <i>k</i> ≤ 15, -39 ≤ <i>l</i> ≤ 42
Reflections collected	45370
Independent reflections	16435 [<i>R</i> _{int} = 0.0758, <i>R</i> _{sigma} = 0.1055]
Data/restraints/parameters	16435/0/345
Goodness-of-fit on <i>F</i> ²	1.043
Final <i>R</i> indexes [<i>I</i> >= 2 σ (<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0.0927, <i>wR</i> ₂ = 0.2761
Final <i>R</i> indexes [all data]	<i>R</i> ₁ = 0.1785, <i>wR</i> ₂ = 0.3262
Largest diff. peak/hole / e Å ⁻³	1.26/-1.38

Fonte: Autora.

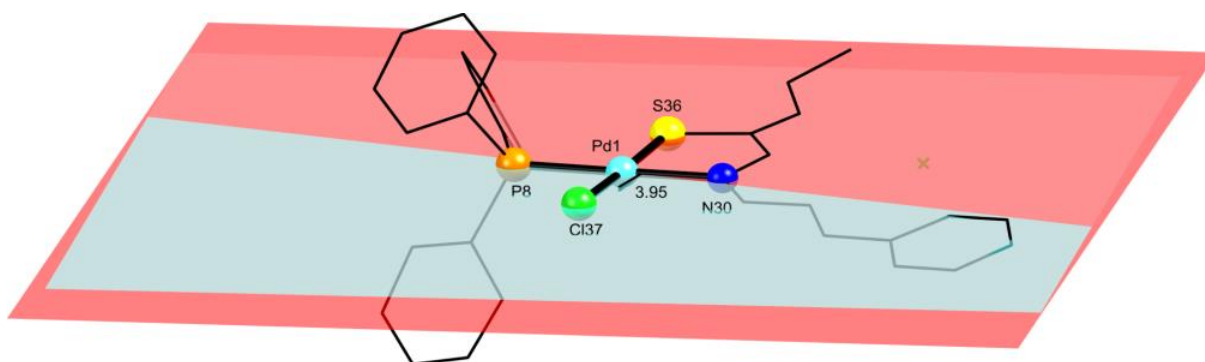
A estrutura molecular contém um centro metálico de Pd(II), assim como um ligante bidentado *N,S*-doador, uma trifenilfosfina e um clorido que completam a esfera de coordenação. Ambos os compostos apresentam geometria quadrática-planar, compatível para centros metálicos tetra-coordenados em configuração eletrônica *d*⁸ de baixo spin.

Como esperado, o ligante fosfínico coordena-se ao centro metálico pelo átomo de fósforo, P8, em posição *trans* ao nitrogênio imínico da tiossemicarbazona, N30, Figura 22. Os ângulos para N31—Pd1—P8 e N30—Pd1—P8 compreendem 176.75(9) e 179.4(1)°, respectivamente. Tendo em vista que os átomos de S e P possuem tanto características π -aceitadoras como σ -doadoras, uma coordenação em posição *trans* (entre

ambos) geraria competição pela densidade eletrônica do metal via retrodoação e, conseqüente, enfraquecimento das ligações Pd—P e Pd—S, fenômeno denominado transfobia.

O ligante tiossemicarbazona coordenam-se aos íons metálicos de forma bidentada, gerando metalo-anel de cinco membros. O ângulo de torção para o fragmento N30—N34—C32—S36 compreende $0.3(8)^\circ$. Este valor sugere leve distorção da planaridade. De fato, ângulo diedro formado a partir da intersecção dos planos ideais que passam pelos átomos não-hidrogenóides referentes aos fragmentos S36/Pd1/N30 e P8/Pd1/Cl37 compreendem $3,95^\circ$, simultaneamente, Figura 23.

Figura 23 - Planos ideais que passam pelos átomos não-hidrogenóides dos fragmentos S36/Pd1/N30 e P8/Pd1/Cl37. O contra íon Cl⁻ foi omitido para melhor visualização. Todos os átomos que não participam diretamente do ambiente de coordenação ao centro metálico estão como padrão linha.



Fonte: Autora

Parâmetros geométricos selecionados de comprimentos e ângulos de ligação para o cerne [Pd(Cl)(N,S)(P)] estão dispostos na Tabela 6. O ambiente tetra-coordenado é comprovado pelos valores de distâncias de ligação para Pd-N, Pd-S, Pd-Cl e Pd-P, em ambos os compostos, pois se apresentam menores que as respectivas somas dos raios covalentes para os átomos envolvidos (BOZZA, G. F. *et al.*, 2019).

Tabela 7 - Parâmetros geométricos de comprimentos e ângulos de ligação para a unidade assimétrica de AB1.

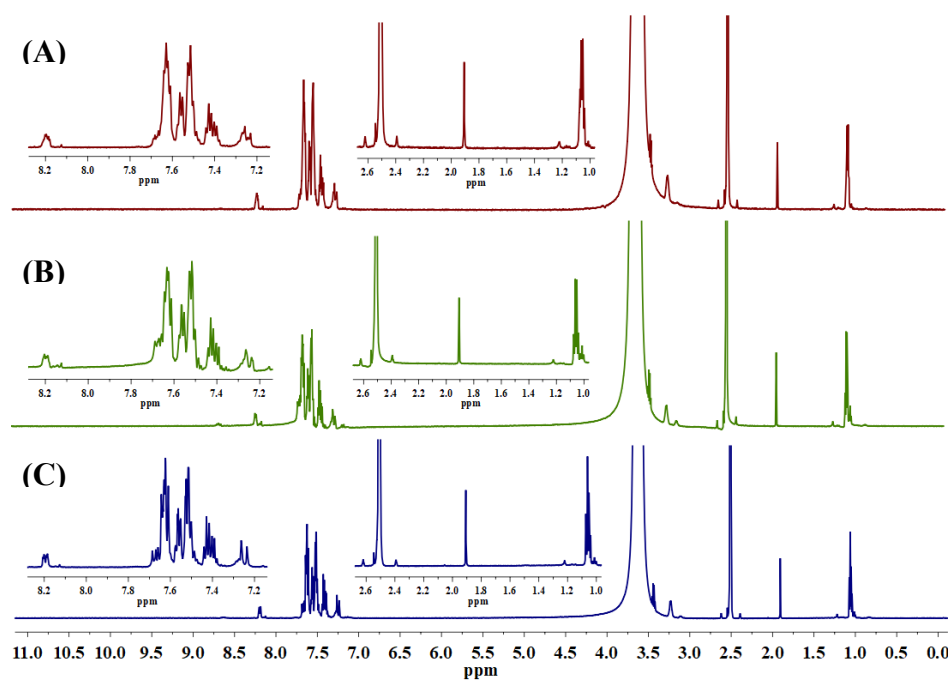
Ligação química		(Å)	
Pd1	P8	2,247(1)	
Pd1	S36	2,265(2)	
Pd1	Cl37	2,298(2)	
Pd1	N30	2,092(4)	
S36	C32	1,711(5)	
N34	N30	1,379(6)	
C28	C29	1,410(9)	
Ângulo de ligação			(°)
P8	Pd1	S36	95,51(6)
P8	Pd1	Cl37	86,35(6)
P8	Pd1	N30	179,4(1)
S36	Pd1	Cl37	175,64(7)
S36	Pd1	N30	84,8(1)
Cl37	Pd1	N30	93,3(1)

Fonte: Autora.

4.2.7 Teste de Estabilidade Química em solução

Utilizando da técnica de espectroscopia de RMN ^1H , testou-se a estabilidade química dos compostos AB1 e AB4 em DMSO d^6 (Figuras 24 e 25).

Figura 24 - Espectro de RMN ^1H do composto AB1 em (a) 0h (b) 24h (c) 48h.

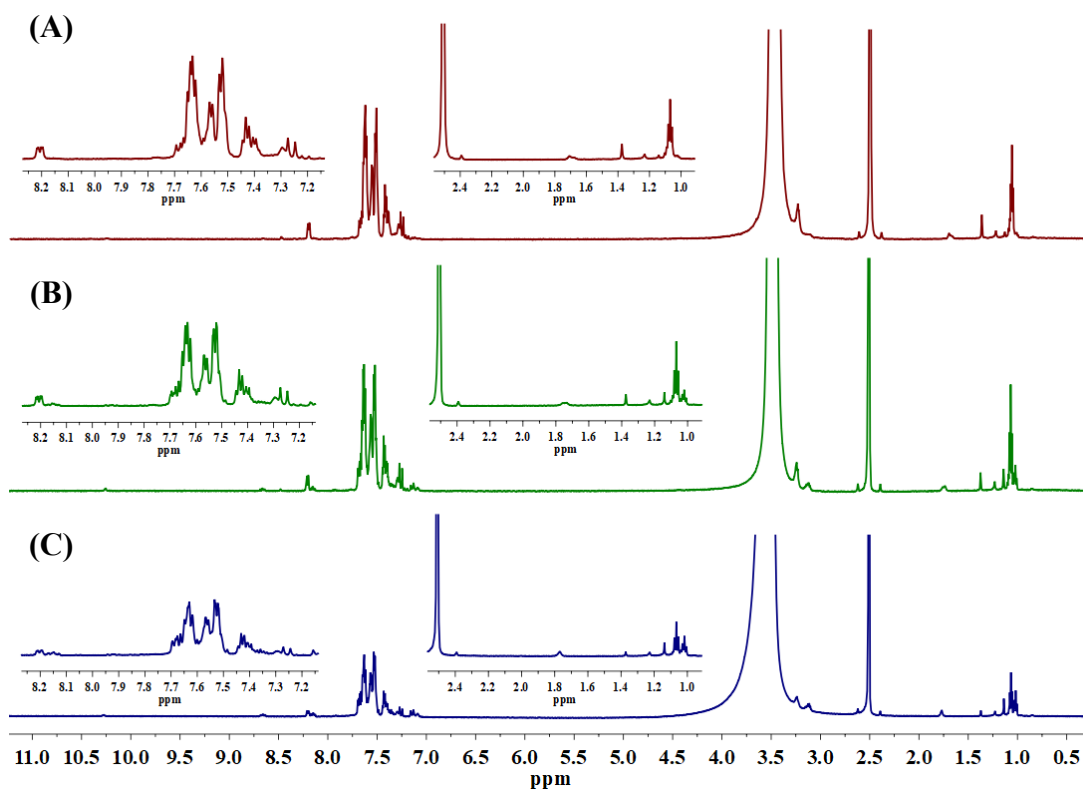


Fonte: Autora.

Ao comparar os espectros de RMN ^1H para os tempos referentes à 0h, 24h e 48h do composto AB1, percebe-se que todos os picos mantiveram a sua integridade, levando a conclusão de que o composto apresenta estabilidade cinética em ambiente hidrofílico em pelo menos 48h.

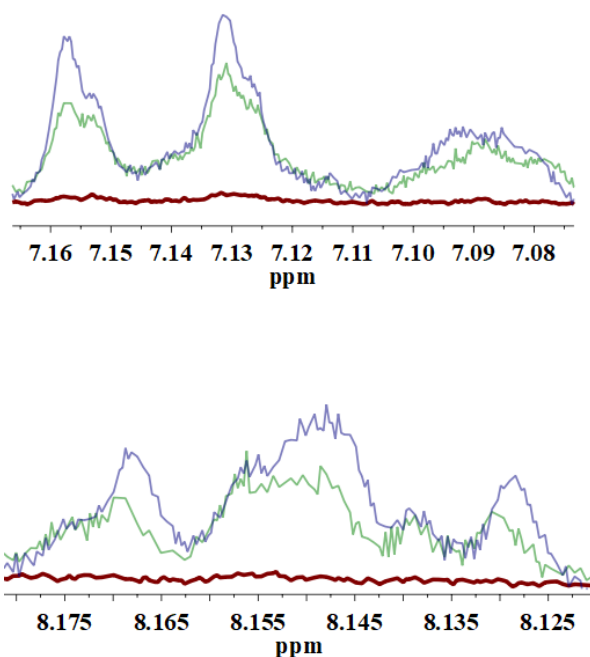
Em contrapartida ao complexo AB1, o composto AB4 apresentou o aparecimento de sinais em, aproximadamente, 7,07-7,17 ppm e 8,12-8,18 ppm ao longo de 24 e 48h (Figuras 25 e 26), o que pode ser justificado pela saída da tiossemicarbazona do complexo, sendo o sinal referente à tiossemicarbazona livre. Tal observação ocorre a partir do cálculo da constante de acoplamento (J) do sinal em 7,14 ppm, a qual equivale a 15,62 Hz no espectro em questão e 16,02 Hz para a tiossemicarbazona livre. Tal sinal representa o hidrogênio H_1 em posição *trans* a H_2 (vide numeração na Seção 4.2.4.1).

Figura 25 - Espectro de RMN ^1H do composto AB4 em (a) 0h (b) 24h (c) 48h.



Fonte: Autora.

Figura 26 - Aparecimento de sinais no espectro de RMN ^1H do composto AB4.



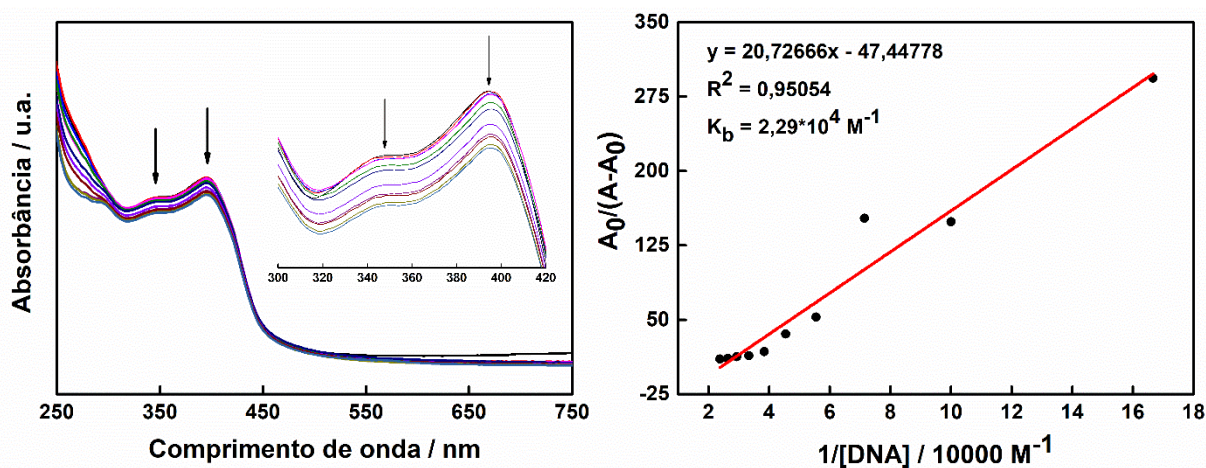
Fonte: Autora.

4.3 Testes Biológicos

4.3.1 Titulação Espectrofotométrica com DNA

Titularam-se, espectrofotometricamente, os complexos AB1 e AB4. Os resultados estão ilustrados nas Figuras 27 e 28.

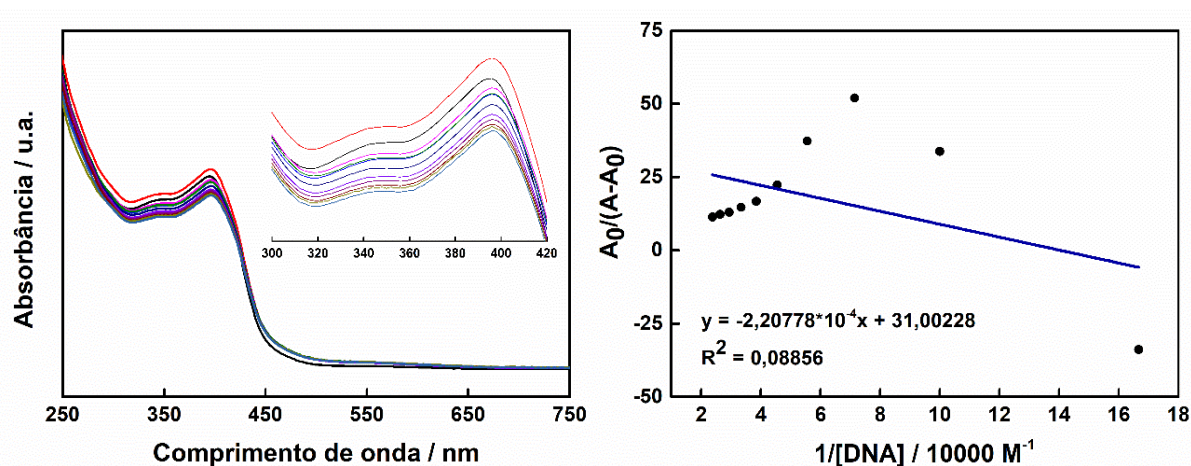
Figura 27 - Espectro de absorção do composto AB1 na região do UV-Vis com adições constantes de $18\mu\text{L}$ de DNA na faixa de 0 a $42,0\mu\text{mol.L}^{-1}$.



Fonte: Autora.

Para o estudo de interação entre AB1 e DNA, foram considerados os valores de absorbância do sistema a 346nm, uma vez que, no comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx}} = 394\text{nm}$), o coeficiente de determinação (R^2) que expressa a linearidade entre os pontos é inferior a 394nm ($R^2 = 0,88507$) em comparação com o obtido a 346nm ($R^2 = 0,95054$). A partir da Equação de Benesi, calculou-se o valor de K_b do composto AB1 em contato com o DNA. O valor obtido ($K_b = 2,29 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) representa uma interação fraca entre as espécies, possivelmente via sulcos do DNA.

Figura 28 - Espectro de absorção do composto AB4 na região do UV-Vis com adições constantes de 18 μL de DNA na faixa de 0 a 42,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.



Fonte: Autora.

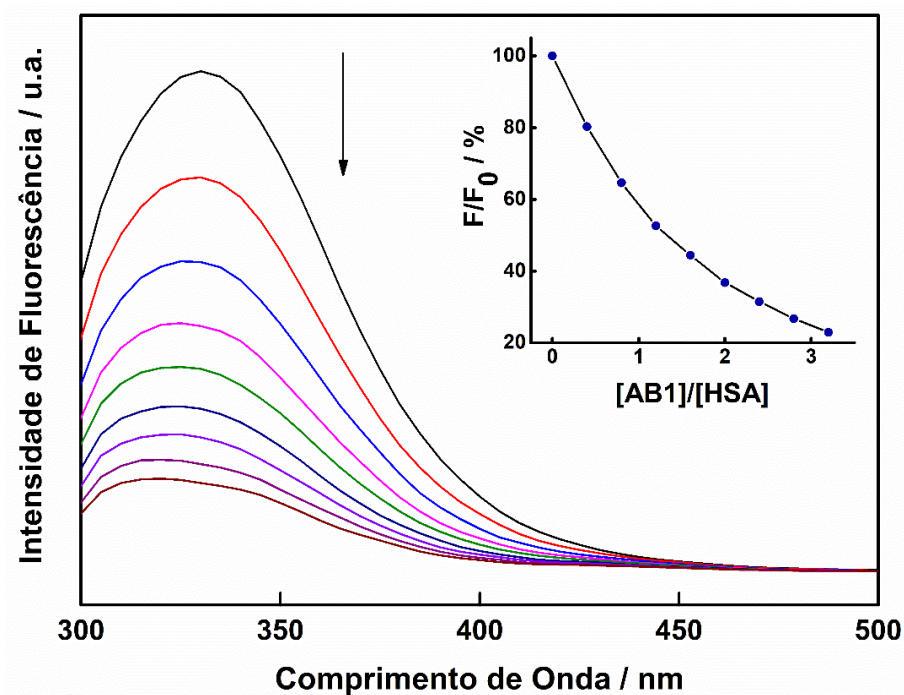
Já para o estudo de interação entre AB4 e DNA, os valores de absorbância não apresentam linearidade ($\lambda = 342\text{nm}$; $R^2 = 0,08856$) e com isso, pode-se sugerir que não há interação entre as espécies.

A partir dos resultados obtidos para AB1, sugere-se que ocorre interação não-covalente, uma vez que, se ocorresse de maneira análoga à cisplatina, com a saída do clorido, ambos compostos apresentariam resultados semelhantes e comparáveis de K_b .

4.3.2 Supressão da Fluorescência da Albumina

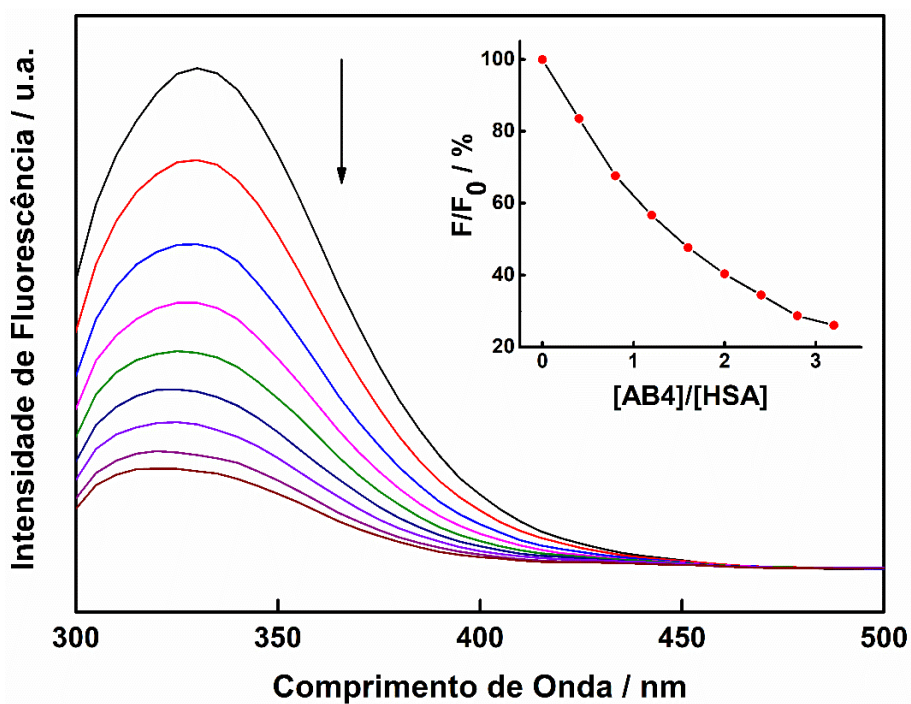
Os espectros de fluorescência da albumina do soro humano, conforme foram adicionados ao sistema volumes constantes dos compostos AB1 e AB4, estão ilustrados nas Figuras 29 e 30 respectivamente.

Figura 29 - Supressão da Fluorescência de HSA a adições constantes de 0,4 μ L do composto AB1 de 4 a 32 μ mol.L⁻¹.



Fonte: Autora.

Figura 30 - Supressão da Fluorescência de HSA a adições constantes de 0,4 μ L do composto AB4 de 4 a 32 μ mol.L⁻¹.



Fonte: Autora.

Uma vez que, em maiores concentrações, os compostos precipitam e, em menores, o equipamento de uso não apresenta sensibilidade suficiente para detectar a intensidade de fluorescência, a análise de interação entre HSA e os complexos metálicos foi realizada de maneira qualitativa. Vale destacar também que devido à limitação instrumental de sensibilidade do equipamento, as medidas foram realizadas com excitação a 280nm, uma vez que, ao excitar a albumina de soro humano a 295nm, a emissão detectada apresentava baixa intensidade de fluorescência. Contudo, a partir dos espectros, observa-se que ambos compostos, AB1 e AB4, suprimiram a fluorescência da albumina, sendo que o primeiro suprimiu 77%, e o segundo, 74%. Com isso, conclui-se que os dois complexos apresentam interação favorável pela HSA via sítios de Sudlow.

4.3.3 Viabilidade Celular

Fez-se a análise de viabilidade celular do AB1, que mostrou ser o complexo mais promissor, frente às linhagens humanas MCF-7 (célula tumoral mamária), A549 (célula tumoral pulmonar) e MRC5 (célula pulmonar sadia) (Tabela 7).

Tabela 8 - Viabilidade Celular

	IC ₅₀ / μ M			Seletividade*
	MCF-7	A549	MRC5	
AB1	6,48	4,52	18,31	4,05
Cisplatina	> 50	4,97	29,10	5,86

Fonte: Autora.

* seletividade para células de mesmo tecido.

Os resultados evidenciam que, para a linhagem tumoral mamária MCF-7, o composto AB1 apresenta atividade antiproliferativa superior à cisplatina, uma vez que $IC_{50} AB1 < IC_{50} cisplatina$. Já para a linhagem tumoral pulmonar A549, os valores de IC_{50} do complexo AB1 e da cisplatina são equivalentes, o que pode ser comprovado também pelos índices de seletividade com valores próximos. Ressalta-se que, para compostos que apresentam atividade antitumoral, índices de seletividade superiores a 3,0 já os faz serem considerados seletivos (ROCHA, F. V. *et al.*, 2019).

4 CONCLUSÃO

A partir de uma reação de troca de ligantes do composto inicial AB1, foram obtidos outros três complexos quadrado-planares com arcações moleculares semelhantes. Entretanto, mesmo por meio de técnicas que comprovam o êxito em todas as sínteses, como infravermelho, UV-vis e RMN de ^1H , os compostos AB2 e AB3 apresentaram grau de impureza significativo, possivelmente devido ao complexo precursor que não reagiu completamente e as suas semelhanças estruturais que dificultaram o processo de purificação. Os compostos AB1 e AB4 apresentaram interação com albumina, suprimindo, 77% e 74% respectivamente. Entretanto o composto AB4 não apresentou interação com o DNA, enquanto que a constante de ligação para o composto AB1 foi da ordem de 10^4 M^{-1} , o que expressa uma interação não covalente e possivelmente via os sulcos da biomolécula de DNA. O composto AB1, como mais promissor, apresentou citotoxicidade superior à cisplatina frente à linhagem celular MCF7 e equivalente para A549.

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como segue, os estágios iniciais do preparo de um potencial complexo de Pd(II) contendo trifenilfosfina e tiossemicarbazona foram com sucesso explorados nesse TCC. Contudo, abre-se um extenso leque de experimentos que podem ser introduzidos para uma melhor compreensão dos aspectos que governam a atividade biológica do composto AB1. Logo, as perspectivas futuras baseiam-se em estudos pré-clínicos mais específicos, como por exemplo, análise de apoptose, interferência no ciclo celular e hemólise. Além disso, estudos *in silico* podem auxiliar na compreensão do reconhecimento intermolecular (hóspede-hospedeiro) entre AB1 e as biomoléculas DNA e HSA.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, L. H. *et al.* Some new Ag(I), VO(II) and Pd(II) chelates incorporating tridentate imine ligand: Design, synthesis, structure elucidation, density functional theory calculations for DNA interaction, antimicrobial and anticancer activities and molecular docking studies. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 33, n. 4, p. e4699, 2019.
- AHMAD, S. Kinetic aspects of platinum anticancer agents. **Polyhedron**, v. 138, p. 109-124, 2017.
- ANDERSON, F. E.; DUCA, J. C.; SCUDI, J. W. **Chem. Soc.** 4967, 1951.
- ALDERDEN, R. A.; HALL, M. D.; HAMBLEY, T. W. The discovery and development of cisplatin. **Journal of Chemical Education**, v. 83, n. 5, p. 728, 2006.
- ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A. Spectroscopic and computational evaluation on the binding of safranal with human serum albumin: Role of inner filter effect in fluorescence spectral correction. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 203, p. 434-442, 2018.
- ANDREWS, P. A.; WUNG, W. E.; HOWELL, S. B. A high-performance liquid chromatographic assay with improved selectivity for cisplatin and active platinum (II) complexes in plasma ultrafiltrate. **Analytical Biochemistry**, v. 143, n. 1, p. 46-56, 1984.
- ATKINS, P.; OVERTON, T. **Shriver and Atkins' inorganic chemistry**. Oxford: Oxford University Press, 2010.
- BARBOSA, L. C. D. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: UFV, 2007.
- BARFIELD, M.; SPEAR, R. J.; STERNHELL, S. Allylic interproton spin-spin coupling. **Chemical Reviews**, v. 76, n. 5, p. 593-624, 1976.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.
- BARRA, C. V. *et al.* DNA binding, topoisomerase inhibition and cytotoxicity of palladium(II) complexes with 1,10-phenanthroline and thioureas. **Inorganica Chimica Acta**, v. 446, p. 54-60, 2016.
- BILBREY, J. A. *et al.* Exact ligand cone angles. **Journal of Computational Chemistry**, v. 34, n. 14, p. 1189-1197, 2013.
- BOZZA, G. F. *et al.* Palladium orthometallated complexes containing acetophenoneoxime: Synthesis, crystal structures and hirshfeld surface analysis. **Journal of Molecular Structure**, v. 1175, p. 195-207, 2019.

BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 2.

BUGARČIĆ, Ž. D.; BOGOJESKI, J.; VAN ELDIK, R. Kinetics, mechanism and equilibrium studies on the substitution reactions of Pd(II) in reference to Pt(II) complexes with bio-molecules. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 292, p. 91-106, 2015.

FANELLI, M. *et al.* New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 310, p. 41-79, 2016.

FARIAS, R. D. **Química de coordenação: fundamentos e atualidades**. Campinas: Átomo, 2005.

FERNANDES, A. G. D. A. **Síntese e caracterização estrutural de complexos de oxorrênio (V) com ligantes O, O- e N, O-doadores**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

FIGUEIREDO, C. *et al.* Óleo essencial da canela (cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 9, p. 192, 2018.

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

FRICKER, S. P. Cysteine proteases as targets for metal-based drugs. **Metallomics: Integrated Biometal Science**, v. 2, n. 6, p. 366-377, 2010.

FUNDAÇÃO DO CÂNCER. **Sobre o câncer**. 2019. Disponível em: <https://www.cancer.org.br/sobre-o-cancer/>. Acesso em: 31 ago. 2019.

GAO, L. *et al.* The improved antitumor efficacy of continuous intratumoral chemotherapy with cisplatin-loaded implants for the treatment of sarcoma 180 tumor-bearing mice. **Drug Delivery**, v. 26, n. 1, p. 208-215, 2019.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 9, p. 1384-1397, 2009.

GINGRAS, B. A. HORNAL, R. W. BAYLEY, C. H. **Can. J. Chem.** v. 38, p. 712, 1960.

HU, Y.-J. *et al.* Interaction of cromolyn sodium with human serum albumin: a fluorescence quenching study. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 24, p. 6609-6614, 2005.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil**. 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/campanhas/dia-nacional-de-combate-ao-cancer/2015/estimativa-2016-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 31 ago. 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é câncer?** 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 31 ago. 2019.

INSTITUTO ONCOGUIA. **O que é Metástase?** 2015. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/o-que-e-metastase/7478/889/>. Acesso em: 31 ago. 2019.

IVANOV, A. I. *et al.* Cisplatin binding sites on human albumin. *Journal of Biological Chemistry*, v. 273, p. 14721-14730, 1998.

JAHROMI, E.Z. *et al.* **J. Iran. Chem. Soc.** v. 13, p. 967–989, 2016.

JOHNSTONE, T. C.; PARK, G. Y.; LIPPARD, S. J. Understanding and improving platinum anticancer drugs—phenanthriplatin. **Anticancer research**, v. 34, n. 1, p. 471-476, 2014.

KA, H. *et al.* Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. **Cancer Letters**, v. 196, n. 2, p. 143-152, 2003.

KRAGH-HANSEN, U. Molecular aspects of ligand binding to serum albumin. **Pharmacological Reviews**, v. 33, n. 1, p. 17-53, 1981.

LEVER, A. B. P. **Inorganic Electronic Spectroscopy**. 2nd ed. Elsevier: New York, 1986; Cap. 4.

LOBANA, T. S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 7, p. 977-1055, 2009.

MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329-350, 2015.

MJOS, K. D.; ORVIG, C. Metallo drugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 8, p. 4540-4563, 2014.

MOREIRA, M. B. *et al.* Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Química Nova**, v. 38, p. 227-232, 2015.

MUDAVATH, R. *et al.* Design, synthesis, in vitro anticancer, antioxidant and antibacterial activity; DNA/BSA binding, photoleavage and docking studies of Cu(II) ternary metal complexes. **Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**, v. 38, n. 11, p. 874-900, 2019.

MUGGIA, F.; LEONE, R.; BONETTI, A. Platinum and other heavy metal coordinating compounds in cancer chemotherapy: Overview of Verona ISPCX XI. **Anticancer research**, v. 34, n. 1, p. 417-417, 2014.

N'SOUKPOÉ-KOSSI, C. N. *et al.* DNA interaction with novel antitumor estradiol–platinum (II) hybrid molecule: a comparative study with cisplatin drug. **DNA and cell biology**, v. 27, n. 2, p. 101-107, 2008.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. Part B.

NOWAK, R.; OLECH, M.; NOWACKA, N., Chapter 97 - Plant Polyphenols as Chemopreventive Agents. **Polyphenols in Human Health and Disease**, Watson, R. R.; Preedy, V. R.; Zibadi, S., Eds. Academic Press: San Diego, 2014.

OLIVEIRA, P. A. *et al.* Chemical carcinogenesis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, p. 593-616, 2007.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Folha informativa: câncer**. 2018. Disponível em:
https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094. Acesso em: 31 ago. 2019.

OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 19, p. 6645-6653, 2018.

OUYANG, L. *et al.* Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. **Cell Proliferation**, v. 45, n. 6, p. 487-498, 2012.

PAL, I.; BASULI, F.; BHATTACHARYA, S. Thiosemicarbazone complexes of the platinum metals: a story of variable coordination modes. **Journal of Chemical Sciences**, v. 114, n. 4, p. 255-268, 2002.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introduction to spectroscopy**. 4th ed. Belmont: Cengage Learning, 2009.

PERES, L. A. B.; CUNHA JÚNIOR, A. D. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares. **Brazilian Journal Nephrology**, v. 35, n. 4, p. 332-340, 2013.

RABER, J.; ZHU, C.; ERIKSSON, L. A. Theoretical Study of Cisplatin Binding to DNA: The Importance of Initial Complex Stabilization. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, n. 21, p. 11006-11015, 2005.

REICHARD, P.; EHRENBERG, A. Ribonucleotide reductase: a radical enzyme. **Science**, v. 221, n. 4610, p. 514-519, 1983.

ROBERT, M. S.; FRANCIS, X. W.; DAVID, J. K. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7th ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2005.

ROCHA, C. R. R. *et al.* DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. **Clinics**, v. 73, 2018

ROCHA, F. V. Síntese, caracterização e estudo da atividade antitumoral de complexos de paládio(II) com ligantes sulfurados e trifenilfosfina. 2013. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2013.

ROCHA, F. V. *et al.* Computational studies, design and synthesis of Pd(II)-based complexes: Allosteric inhibitors of the Human Topoisomerase-II α . **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 199, p. 110725, 2019.

ROOPENIAN, D. C. *et al.* Albumin-deficient mouse models for studying metabolism of human albumin and pharmacokinetics of albumin-based drugs. **mAbs**, v. 7, n. 2, p. 344-351, 2015.

ROTHSCHILD, M. A.; ORATZ, M.; SCHREIBER, S. S. Serum albumin. **Hepatology**, v. 8, n. 2, p. 385-401, 1988.

SAH, P. T.; DANIEAL, T. C. **Rec. Trav. Chim.** v. 69, p. 1545, 1950.

SCHULTE-HERMANN, R. *et al.* Role of active cell death (apoptosis) in multi-stage carcinogenesis. **Toxicology Letters**, v. 82/83, p. 143-148, 1995.

ŞEN, B. *et al.* Crystal structures, spectroscopic properties of new cobalt(II), nickel(II), zinc(II) and palladium(II) complexes derived from 2-acetyl-5-chloro thiophene thiosemicarbazone: Anticancer evaluation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 98, p. 550-559, 2019.

SHAHABADI, N.; KASHANIAN, S.; DARABI, F. DNA binding and DNA cleavage studies of a water soluble cobalt(II) complex containing dinitrogen Schiff base ligand: the effect of metal on the mode of binding. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 4239-4245, 2010.

SHULMAN, N. L.; TORODE, J. Preface and Methodology: 2014. **Cancer Medicines Review**. Union for International Cancer Control. P. 7, 2014.

SOLOMONS, T. W. G. **Química orgânica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SOUSA FILHO, P. C. de; SERRA, O. A. Terras raras no Brasil: histórico, produção e perspectivas. **Química Nova**, v. 37, n. 4, p. 753-760, 2014.

SOUZA, R. F. de; RAILSBACK, L. B. Uma tabela periódica dos elementos e seus íons para cientistas da terra. **Terrae Didactica**, v. 8, n. 2, p. 73-82, 2012.

TAKAHARA, P. M. *et al.* Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. **Nature**, 377, n. 6550, p. 649-652, 1995.

VELHO, R. G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 2006.

WHITE, M. C. *et al.* Age and cancer risk: a potentially modifiable relationship. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 46, n. 3, p. S7-S15, 2014. Supl. 1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/topics/cancer/en/>. Acesso em: 31 ago. 2019.

WU, D.; GUO, L.; LI, S.-J. Synthesis, structural characterization and anti-breast cancer activity evaluation of three new Schiff base metal (II) complexes and their nanoparticles. **Journal of Molecular Structure**, v. 1199, p. 126938, 2020.

WU, Y. *et al.* NMR solution structure of an oxaliplatin 1,2-d(GG) intrastrand cross-link in a DNA dodecamer duplex. **Journal of Molecular Biology**, v. 341, n. 5, p. 1251-1269, 2004.

XU, G. *et al.* **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v. 25, p. 221–224, 2015.

ZHANG, G. *et al.* Study of the interaction between icariin and human serum albumin by fluorescence spectroscopy. **Journal of Molecular Structure**, v. 881, n. 1, p. 132-138, 2008.

ZHANG, X. *et al.* Synthesis, structure, in silico ADME evaluation and in vitro antioxidant of (E)-N-(4-ethylphenyl)-2-(isomeric methylbenzylidene)thiosemicarbazone derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1199, p. 126972, 2020.