



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE QUÍMICA – Araraquara



Dissertação de Mestrado

**INVESTIGAÇÃO DAS POTENCIALIDADES DE
COMPLEXOS PIRAZÓLICOS DE Pd(II) NO
DESENVOLVIMENTO DE NOVAS METALO-DROGAS**

Carolina Valério Barra

Araraquara
2010

CAROLINA VALÉRIO BARRA

Investigação das potencialidades de complexos pirazólicos de Pd(II) no desenvolvimento de novas metalo-drogas

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da UNESP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araraquara, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, Área de concentração Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro

Araraquara

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

B268i Barra, Carolina Valério
Investigação das potencialidades de complexos pirazólicos de Pd(II) no desenvolvimento de novas metalo-drogas / Carolina Valério Barra. – Araraquara : [s.n], 2010
96 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Antonio Eduardo Mauro

1. Química inorgânica. 2. Atividade biológica. 3. Complexos de Pd(II). I. Título.

CURRICULUM VITAE

DADOS PESSOAIS

Nome: Carolina Valério Barra

Data de Nascimento: 01 de maio de 1986

Naturalidade: Juiz de Fora – MG

Nacionalidade: Brasileira

Filiação:

Pai – Helder de Almeida Barra

Mãe – Maria Beatriz de Campos Valério Barra

Documento de Identidade: MG – 12.890.959

Endereço para Correspondência:

Av. Alberto Toloi, 185/43 – Bloco 5

Bairro: Quitandinha – CEP: 14800-105

Araraquara - SP

e-mail: krolvb@iq.unesp.br

FORMAÇÃO

Acadêmica

GRADUAÇÃO

Bacharel e Licenciada em Química

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)

Concluído em dezembro de 2007.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

01. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z. “Síntese, caracterização e estudo da atividade biológica de complexos de paládio(II) contendo ligantes pirazólicos”. In: **17º Encontro da SBQ – Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti**, Araraquara-SP, de 18 a 20 de outubro de 2009.
 02. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z. “Complexos de paládio(II) contendo o ligante 4-metilpirazol: Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral”. In: **17º Encontro da SBQ – Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti**, Araraquara-SP, de 18 a 20 de outubro de 2009.
 03. BARRA, C. V.; CÉSAR, E.T.; COELHO, J. N.; MELO, C. S.; AVELAR, A. P. B.; THOMAZ, A. C.; FRANCO, D. M.; REIS, R. C.; MARCELO, D. B. “Ciência Experimental na Escola: trabalhando com experiências de química na sala de aula”. In: **XXII Encontro**
-

- Regional da Sociedade Brasileira de Química**, Belo Horizonte-MG, de 6 a 9 de novembro de 2008.
04. BARRA, C. V.; SILVA, H.; ROCHA, F. V.; SIQUEIRA, L. M. S.; LOPES, M. T. P.; FONTES, A. P. S. "Effect of leaving group on cytotoxic activity of long aliphatic chain diamine platinum complexes". In: **I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry**, Foz do Iguaçu-PR, 31 de agosto a 4 de setembro de 2008.
 05. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; ROCHA, M. C.; CARLOS, I. Z. "Synthesis and antitumour properties of palladium(II) containing N,S-based ligands". In: **I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry**, Foz do Iguaçu-PR, 31 de agosto a 4 de setembro de 2008.
 06. BARRA, C. V.; SHIMURA, B.; ROCHA, F. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; ANANIAS, S. R.; CARLOS, I. Z. "Palladium(II) pyrazolyl complexes: Synthesis, characterization and biological studies". In: **I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry**, Foz do Iguaçu-PR, 31 de agosto a 4 de setembro de 2008.
 07. BARRA, C. V.; CÉSAR, E.T.; BITTENCOURT, G. C.; COELHO, J. N.; BORGES, M. A. ; REIS, R. C. "Relato dos Projetos de Iniciação Científica Júnior em Química Desenvolvidos no Colégio de Aplicação João XXIII/UFJF". In: **14º Encontro Nacional de Educação em Química (ENEQ)**, Curitiba-PR, 21 a 24 de julho de 2008.
 08. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; SILVA, H.; FONTES, A. P. S. "Novos complexos de platina(II) contendo ligantes N-alquilados de cadeia longa derivados da etilenodiamina e oxalato". In: **XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 26 a 29 de maio de 2008.
 09. BARRA, C. V.; SILVA, H.; ROCHA, F. V.; FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E.T.; LOPES, M. T. P. "Estudos "in vitro" de atividade citotóxica de complexos de platina (II) contendo oxalato e derivados da etilenodiamina como ligantes". In: **XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 31 de maio a 3 de junho de 2007.
 10. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; SILVA, H.; FONTES, A. P. S. "Síntese e caracterização de complexos de platina (II) com ligantes diaminados e carboxilatos". In: **XIII Seminário de Iniciação Científica da UFJF**, Juiz de Fora-MG, 3 a 5 de outubro de 2007.
 11. BARRA, C. V.; SILVA, H.; ROCHA, F. V.; FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E.T.; ALMEIDA, M. V. "Síntese e caracterização de novos complexos de platina (II) contendo oxalato e derivados da etilenodiamina como ligantes". In: **XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia-SP, 19 a 22 de maio de 2006.
-

12. BARRA, C. V.; FONTES, A. P. S.; SILVA, H.; ALMEIDA, M. V.; CÉSAR, E.T.; ODA, S. C.; COSTA, C. F. "Síntese e caracterização de complexos de platina (IV) com ligantes N-alquilados de cadeia longa derivados da etilenodiamina". In: **XIX Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química**, Ouro Preto-MG, 27 a 29 de novembro de 2005.
13. BARRA, C. V.; SILVA, H.; FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E.T.; ALMEIDA, M. V. "Síntese e Caracterização de Complexos de Platina (II) com ligantes N-alquilados de cadeia longa derivados da etilenodiamina". In: **XXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas-MG, 30 de maio a 2 de junho de 2005.
14. CÉSAR, E.T.; BARRA, C. V. "Desenvolvimento de Aulas Práticas para o Ensino de Química no Ensino Médio". In: **I Mostra de Iniciação Científica Júnior da UFJF**, Juiz de Fora-MG, 20 de outubro de 2004.
15. BARRA, C. V.; CÉSAR, E.T. "Desenvolvimento de Aulas Práticas para o Ensino de Química no Ensino Médio". In: **XI Seminário de Iniciação Científica da UFJF**, Juiz de Fora-MG, 23 a 28 de novembro de 2004.

PUBLICAÇÕES

01. SILVA, H.; BARRA, C. V.; COSTA, C. F.; ALMEIDA, M. V.; CÉSAR, E.T.; SILVEIRA, J. N.; GARNIER-SUILLEROT, A.; PAULA, F. C. S.; PEREIRA-MAIA, E. C.; FONTES, A. P. S. "Impact of the carbon chain length of novel platinum complexes derived from N-alkyl-propanediamines on their cytotoxic activity and cellular uptake". **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 767-772, 2008.
02. ROCHA, F. V.; BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z.; FREM R. C. G.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B.; STEVANATO, A.; ROCHA, M. C. "3,5-dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole and its Pd(II) complexes. Synthesis, spectral studies and antitumor activity". **European Journal of Medicinal Chemistry**, aceito.
03. BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; NETTO, A. V. G.; SHIMURA, B.; DA SILVA, D.A.M.; FREM R. C. G.; MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B. "New palladium(II) complexes with pyrazole ligands: Synthesis, spectral studies and antitumor evaluation". Em preparação.
04. TREU-FILHO, O.; BARRA, C.V.; ROCHA, F.V.; NETTO, A.V.G; MAURO, A.E; FREM, R.C.G.; PINHEIRO, J.C.; KONDO, R.T. "Experimental and DTF study on the compounds $[PdCl_2L_2]$ ($L = 4\text{-methylpyrazole, 4-iodopyrazole}$)". Em preparação.
05. SILVA, H.; BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; ALMEIDA, M. V.; CÉSAR, E.T.; SIQUEIRA, L. M. S.; LOPES, M. T. P.; FONTES, A. P. S. "Synthesis, characterization, and cytotoxic

activity of novel platinum(II) complexes derived from N-benzylethylenediamine and oxalato". **Chemical Biology & Drug Design**, aceito.

06. SILVA, H.; BARRA, C. V.; ROCHA, F. V.; LOPES, M. T. P.; FONTES, A. P. S. "*Novel platinum(II) complexes of long chain aliphatic diamine ligands with oxalato as the leaving group. Comparative citotoxic activity relative to chloride precursors*". **Journal of the Brazilian Chemical Society**, aceito.

PRÊMIOS E TÍTULOS

Melhor apresentação oral no XIII Seminário de Iniciação Científica da UFJF, com o trabalho "Síntese e caracterização de complexos de platina (II) com ligantes diaminados e carboxilatos", Juiz de Fora-MG, 3 a 5 de outubro de 2007.

ESTÁGIOS, BOLSAS E AUXÍLIOS

Estágio docente no Colégio de Aplicação João XXIII ministrando o módulo optativo "Reações em Química Orgânica" de maio a dezembro de 2007.

Estágio no Centro de Ciências da UFJF de agosto a dezembro de 2007.

Estágio no Laboratório de Química Inorgânica no Nupeq (Núcleo de Pesquisas Químicas) no Departamento de Química da UFJF de agosto de 2004 a agosto de 2005.

Bolsa de Mestrado (MS) concedida pelo CNPq de março de 2008 a março de 2010.

Bolsa de Iniciação Científica (IC) concedida pelo CNPq de agosto de 2005 a agosto de 2007.

Bolsa de Iniciação Científica Júnior (IC) concedida pela UFJF de abril de 2003 a janeiro de 2004.

CAROLINA VALERIO BARRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 22 de fevereiro de 2010.

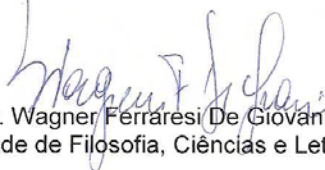
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi
Instituto de Química – UNICAMP, Campinas



Prof. Dr. Wagner Ferraresi De Giovani
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original."

Albert Einstein

"Ninguém poderá jamais aperfeiçoar-se, se não tiver o mundo como mestre. A experiência se adquire na prática."

William Shakespeare

"Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento."

Clarice Lispector

“Um dia a maioria de nós irá se separar.
Sentiremos saudades de todas as conversas jogadas fora,
das descobertas que fizemos, dos sonhos que tivemos,
dos tantos risos e momentos que compartilhamos.
Saudades até dos momentos de lágrima, da angústia,
das vésperas de finais de semana, de finais de ano,
enfim...do companheirismo vivido.”
(Vinícius de Moraes)

À memória de minhas avós

“Nesses anos todos, sob suas asas
Eu enriqueci
E tive a luz da vida
E os passos pra seguir
E como o vento, o tempo passa tão depressa
Eu cresci também
Eu não sou mais de vocês, agora é a minha vez
De ser alguém
Vou viajar sem bagagem
Deixo o amor, mas levo a coragem
Eu vou seguir, de mãos vazias
No peito trago a lição
Sei que um dia com meus filhos
Eu vou abrir meu coração
E falar dos meus pais
Quando a noite era um mar de pesadelos
Vinham me abraçar
E num sorriso aberto,
Com prazer de amar
Fui mimado, amado, nunca vi motivos
Pra me preocupar
Mas meu dia chegou,
Eu tenho a chance de tentar
De ser alguém”

(Roupa Nova)

**Ao Fillipe, meu amor e amigo,
por me ensinar o verdadeiro
significado da palavra
companheirismo.**

**Aos meus pais, por apoiarem
todas as minhas decisões e me
incentivarem sempre a lutar
pelos meus sonhos. Amo
vocês!**

“Assim como o oceano,
só é belo com o luar
Assim como a canção,
só tem razão se se cantar
Assim como uma nuvem,
só acontece se chover
Assim como o poeta,
só é bem grande se sofrer
Assim como viver sem ter amor,
não é viver
Não há você sem mim
E eu não existo sem você!”
(Vinícius de Moraes)

Agradeço...

Ao Professor Adelino, pela orientação e pela enorme paciência em atender sempre com um sorriso bem humorado as mil vezes que eu batia em sua porta para pedir ajuda e conselhos. Muito obrigada pela atenção e incentivo constantes.

Ao Professor Mauro, pela coorientação, amizade, confiança e pelas animadas conversas no laboratório.

Aos professores Clóvis Augusto Ribeiro e Sergio Roberto de Andrade Leite pelas sugestões no meu exame de qualificação.

Às professoras Regina e Vânia, pelas conversas do dia-a-dia e pela divertida companhia em Foz do Iguaçu. Precisamos repetir a dose!

Aos professores Luiz Antonio e Stanlei e à funcionária Valéria pelo convívio no Departamento de Química Geral e Inorgânica.

À Professora Iracilda Zeppone Carlos e à técnica Marisa Polesi, do laboratório de Imunologia Clínica, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, pela realização dos testes biológicos. À mestranda Marcela Bassi pela ajuda durante os testes, pela paciência e pela disposição em tirar sempre minhas inúmeras dúvidas.

À Irene, pelo bom dia sempre alegre e pelos vários espectros de infravermelho.

Ao Nivaldo, pela obtenção e ajuda com os espectros de RMN.

Às funcionárias da pós-graduação e da biblioteca pela prestatividade e atenção.

Aos meus colegas do laboratório de Química de Coordenação e Organometálicos: Alexandre, Alessandra, Cris, Fillipe, Gislaíne, Ian, Katinha, Natália, Patrícia, Rodrigo, Sahra, Silmar e Treu pela ajuda e pelas muitas conversas e distração.

À Professora Ana Paula (UFJF) pela orientação durante a iniciação científica. À pós-doutoranda Heveline (UFJF) pela ajuda constante, pelos muitos esclarecimentos e pelos ensinamentos de laboratório durante a minha graduação.

Ao Professor Eloi (UFJF), o grande responsável por minha escolha profissional, pelos ensinamentos, amizade, confiança e incentivo durante todos esses anos. Você terá sempre meu carinho e admiração.

À minha irmã Júlia pela amizade, carinho e pelas conversas no MSN, que me ajudaram a matar um pouco a saudade da família. Te amo muito, irmã!!!

A toda a minha família, que sempre torceu por mim e me apoiou em todos os momentos. Em especial às minhas primas Flávia e Márcia, pelos e-mails que sempre tornavam meus dias mais alegres e por me deixarem participar de momentos tão especiais de suas vidas.

AGRADECIMENTOS

À minha nova família, Suely, Luiz, Rapha, Léo e vó Zenir, pelo carinho desde sempre.

Às minhas amigas de infância, Clarice, Camila e Natália, de graduação, Arturene e Karen e de pós-graduação, Patrícia e Saha, que de perto ou de longe estão sempre presentes em minha vida, me ouvindo, me dando conselhos, carinho e me fazendo dar muitas, muitas risadas! Muito obrigada meninas!!!

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A Deus, por ter colocado todas essas pessoas maravilhosas em minha vida e ter me guiado até aqui.

RESUMO

A quimioterapia é uma das principais formas de combate ao câncer. Sendo assim, muitas pesquisas vêm sendo feitas com o objetivo de desenvolver compostos que solucionem, ou minimizem, os problemas decorrentes deste tipo de tratamento, como os efeitos colaterais e a resistência que as células desenvolvem aos medicamentos.

Os pirazóis e seus complexos são conhecidos por possuírem atividade antitumoral, antiinflamatória, antibacteriana e antipirética. Tendo em vista estas propriedades, ligantes pirazólicos foram utilizados na síntese de complexos de paládio(II) com a finalidade de obter compostos com atividade antitumoral. A escolha deste metal foi baseada na similaridade entre sua química de coordenação e a da platina(II), cujos complexos, como a cisplatina e a carboplatina, são amplamente utilizados como agentes antitumorais.

Neste contexto, o presente trabalho descreve a síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de duas séries de compostos paládio(II) de fórmula geral $[PdX_2(HdmIPz)_2]$ {HdmIPz = 3,5-dimetil-4-iodopirazol; X = Cl (**1**), Br (**2**), I (**3**), SCN (**4**)} e $[PdX_2(HmPz)_2]$ {HmPz = 4-metilpirazol; X = Cl (**5**), Br (**6**), I (**7**), SCN (**8**)}.

Os compostos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear de 1H e $^{13}C\{^1H\}$, termogravimetria e análise térmica diferencial.

Os complexos sintetizados e os ligantes livres foram submetidos a testes de atividade citotóxica frente a células tumorais murinas. A cisplatina foi usada como droga padrão, sendo submetida às mesmas condições. A citotoxicidade dos compostos **1-4** também foi avaliada frente a macrófagos peritoneais de camundongos.

Palavras-chave: complexos de paládio(II), pirazóis, espectroscopias vibracional e RMN, atividade biológica.

ABSTRACT

Chemotherapy is one of the main methods of treating cancer. Thus, much research has been undertaken with the aim of developing compounds that can solve or minimize the problems caused by this type of treatment, as the side effects and cell resistance.

Pyrazoles and their complexes are known to possess antitumor, anti-inflammatory, antiamebic, antibacterial, antipyretic activities. Considering these properties, pyrazole ligands were used in the synthesis of palladium(II) complexes with the aim to obtain compounds displaying antitumor activity. The choice for using this metal was based on the similarity of its coordination chemistry to that of platinum(II) whose compounds, such as cisplatin and carboplatin, are widely used as antitumor agents.

In this context, this work describes the synthesis, characterization and investigation of the antitumor activity of two series of palladium(II) complexes of general formulae $[\text{PdX}_2(\text{HdmIPz})_2]$ {HdmIPz = 3,5-dimethyl-4-iodopyrazole; X = Cl (**1**), Br (**2**), I (**3**), SCN (**4**)} e $[\text{PdX}_2(\text{HmPz})_2]$ {HmPz = 4-methylpyrazole; X = Cl (**5**), Br (**6**), I (**7**), SCN (**8**)}.

The compounds were characterized by elemental analysis, infrared vibrational spectroscopy, ^1H and $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ nuclear magnetic resonance, thermogravimetry and differential thermal analysis.

The complexes and the free ligands were tested for cytotoxic activity against murine tumor cells. Cisplatin was used as standard drug, being subject to the same conditions. The cytotoxicity of compounds **1-4** was also evaluated towards peritoneal macrophages of mice.

Key-words: palladium(II) complexes, pyrazoles, IR and NMR spectroscopy, biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Complexo de paládio(I) onde ocorre ligação metal-metal	24
Figura 2. Cisplatina (a), Carboplatina (b) e Oxaloplatina (c)	26
Figura 3. Ligações de hidrogênio entre os pares de bases nitrogenadas	28
Figura 4. Fórmula estrutural do complexo [(benzil)Pd{bis(tiossemicarbazonato)}]	30
Figura 5. Ligantes derivados de bases de Schiff: asme (a) e asbz (b)	30
Figura 6. Fórmulas estruturais dos compostos de fórmula <i>trans</i> -[PdCl ₂ L ₂] (L = 3-hidroxipiridina, 2-hidroxipiridina e 4- hidroxipiridina).....	31
Figura 7. Fórmulas estruturais dos complexos [PdCl ₂ (dmnp) ₂] e [Pd ₂ Cl ₄ (dmnp) ₂]	31
Figura 8. Fórmulas estruturais dos complexos de paládio(II) com o ligante 1-metilcitosina ..	32
Figura 9. Fórmulas estruturais dos complexos <i>trans</i> - [PdCl ₂ (L)(piridina)] (1a) e <i>trans</i> -[PdCl ₂ (L) ₂] (1b)	33
Figura 10. Família dos 1,2-azóis.....	34
Figura 11. Modos de coordenação dos ligantes pirazólicos.	35
Figura 12. Estruturas moleculares dos compostos <i>trans</i> -[Co(NCS) ₂ (HPz) ₄] (a) e [Pd ₂ (μ-dppz) ₂ (Hida) ₂] (b)	35
Figura 13. Estruturas moleculares dos compostos [Zr(η ² -dmpz) ₂ Cl ₂ (η ¹ -dmpz) ₂] (a) e [Os(η ⁵ -3,5- ^t Bupz)(η ⁵ -pmCp)] (b).....	36
Figura 14. Fórmula estrutural do complexo [Pt ₂ (μ-Pz)(μ-OH)(NH ₃) ₄](NO ₃) ₂	37
Figura 15. Possíveis fórmulas estruturais para o composto [{Au(mpz)Cl ₂ }] ₂	37
Figura 16. Fórmulas estruturais dos compostos análogos à cisplatina testados	38
Figura 17. Estruturas moleculares dos complexos [PdL ₂] (a) e [PdL' ₂] (b), L = 3-oxo-5-fenil-1H-pirazol-2(3H)-carbotioamida e L' = 4-etil-5-metil-3-oxo-1H-pirazol-2(3H)-carbotioamida.....	39
Figura 18. Fórmula estrutural dos complexos de Pd(II), Pt(II) e Cu(II) com ligante pirazólico	39
Figura 19. Fórmula estrutural do composto [PdCl ₂ (L ²) ₂] (L ² = 5-(2-hidróxifenil)-1,3-dimetil-4-metóxicarbonil-1-H-pirazol.....	40
Figura 20. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm ⁻¹ do IV para o ligante livre HdmlPz e os complexos 1-4.....	53
Figura 21. Modos de coordenação mais comuns do íon tiocianato (NCS ⁻)	55
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol	56

Figura 23. Espectros de RMN de ^1H para os compostos 1-4.....	57
Figura 24. Esquema de numeração adotado para a análise dos espectros de RMN de HdmIPz e complexos 1-4.....	58
Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol.....	59
Figura 26. Espectros de RMN de ^{13}C para os complexos 1-4	60
Figura 27. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (1).....	62
Figura 28. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdBr}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (2)	63
Figura 29. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdI}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (3).....	64
Figura 30. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HdmIPz})_2]$ (4)	65
Figura 31. Difratograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do complexo 1	66
Figura 32. Estruturas propostas para os compostos $[\text{PdCl}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (1), $[\text{PdBr}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (2), $[\text{PdI}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (3), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HdmIPz})_2]$ (4)	67
Figura 33. Espectros vibracionais na região de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ do IV para o ligante livre HmPz e os complexos 5-8.....	68
Figura 34. Ligações de hidrogênio intermoleculares presentes nos pirazóis	69
Figura 35. Espectro de RMN de ^1H do ligante 4-metilpirazol.....	71
Figura 36. Espectros de RMN de ^1H para os compostos 5-8.....	71
Figura 37. Esquema de numeração adotado para a análise dos espectros de RMN de HmPz e complexos 5-8.....	72
Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C do ligante 4-metilpirazol.....	73
Figura 39. Espectros de RMN de ^{13}C para os complexos 5-8	74
Figura 40. Tautomerismo característico de pirazóis.....	75
Figura 41. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HmPz})_2]$ (5).....	76
Figura 42. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdBr}_2(\text{HmPz})_2]$ (6)	77
Figura 43. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdI}_2(\text{HmPz})_2]$ (7).....	78
Figura 44. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HmPz})_2]$ (8)	79
Figura 45. Estruturas propostas para os compostos $[\text{PdCl}_2(\text{HmPz})_2]$ (5), $[\text{PdBr}_2(\text{HmPz})_2]$ (6), $[\text{PdI}_2(\text{HmPz})_2]$ (7), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HmPz})_2]$ (8)	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estados de oxidação do paládio	23
Tabela 2. Valores de IC ₅₀ (μM) do composto [Pd(4-O-Acrid)(L)] e da cisplatina em linhagens celulares tumorais de ovário	32
Tabela 3. Valores de IC ₅₀ (μM) para o complexo pirazólico e cisplatina em diferentes linhagens celulares tumorais	38
Tabela 4. Procedência de solventes e reagentes	42
Tabela 5. Dados obtidos por espectroscopia no IV do ligante livre HdmIPz e dos complexos 1-4 e suas respectivas atribuições.	54
Tabela 6. Intervalos aproximados dos modos normais de vibração (cm ⁻¹) para os diferentes tipos de coordenação do tiocianato.	56
Tabela 7. Dados de RMN de ¹ H para o ligante livre HdmIPz e os complexos 1-4	57
Tabela 8. Dados de RMN de ¹³ C para o ligante HdmIPz e os compostos 1-4	61
Tabela 9. Dados de análise térmica para os compostos 1-4.	66
Tabela 10. Dados obtidos por espectroscopia no IV do ligante livre HmPz e dos complexos 5-8 e suas respectivas atribuições	69
Tabela 11. Dados de RMN de ¹ H para o ligante livre HmPz e os complexos 5-8	72
Tabela 12. Dados de RMN de ¹³ C para o ligante HmPz e os compostos 5-8	73
Tabela 13. Dados de análise térmica para os compostos 5-8.	80
Tabela 14. Valores de IC ₅₀ obtidos frente às linhagens LM3 e LP07	82
Tabela 15. Valores de IC ₅₀ para os compostos 1-4, HdmIPz e cisplatina para macrófagos com 24 horas de exposição.	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

dec. – decomposição

diars – 1,2-bis(dimetilarsênio)benzeno

dmsO – dimetilsulfóxido

dmsO-d₆ – dimetilsulfóxido deuterado

DNA – Ácido desoxirribonucléico

HdmIPz – 3,5-dimetil-4-iodopirazol

HmPz – 4-metilpirazol

hpp – ânion do 1,3,4,6,7,8-hexahidro-2H-pirimido[1,2-a]pirimidina

HPz – pirazol

IC₅₀ – Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular

LM3 – Linhagem tumoral de adenocarcionama mamário

LP07 – Linhagem tumoral de adenocarcionama pulmonar

MEM – (Modified Eagle Médium): meio essencial mínimo (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular)

PBS – Tampão salino fosfato

PPh₃ – Trifenilfosfina

PMe₃ – Trimetilfosfina

RPMI – Meio de cultura RPMI (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	A Química de Coordenação do Paládio	23
1.2	Aplicações biológicas de complexos de paládio(II)	25
1.2.1	<i>Mecanismo de ação de compostos de paládio e platina</i>	27
1.2.2	<i>Complexos de paládio(II) com atividade antitumoral</i>	29
1.3	A Química de Coordenação dos Pirazóis	34
1.4	Aplicações biológicas de complexos pirazólicos	36
1.5	Complexos pirazólicos de paládio(II).....	39
2	OBJETIVOS.....	41
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	42
3.1	Procedência dos solventes e reagentes	42
3.2	Metodologias de síntese	42
3.2.1	<i>Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante HdmIPz</i> ..	43
3.2.2	<i>Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante HmPz</i>	43
3.3	Preparação dos compostos.....	44
3.3.1	<i>Síntese do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol (HdmIPz)</i>	44
3.3.2	<i>Síntese do precursor [PdCl₂(CH₃CN)₂]</i>	44
3.3.3	<i>Síntese dos compostos inéditos utilizando o ligante HdmIPz</i>	44
3.3.4	<i>Síntese dos compostos inéditos utilizando o ligante HmPz</i>	46
3.4	Testes biológicos para determinação da atividade antitumoral	48
3.4.1	<i>Preparo das soluções</i>	48
3.4.2	<i>Testes biológicos com macrófagos</i>	49
3.4.3	<i>Testes biológicos com células tumorais</i>	51
3.5	Métodos Instrumentais	51
3.5.1	<i>Medidas de temperatura de fusão ou decomposição</i>	51
3.5.2	<i>Espectroscopia da absorção na região do infravermelho (IV)</i>	52
3.5.3	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	52
3.5.4	<i>Análise elementar de C, H, N</i>	52
3.5.5	<i>Termogravimetria</i>	52

3.5.6	<i>Difração de raios-X – Método do pó</i>	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1	Compostos contendo o ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol (HdmIPz)	53
4.1.1	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	53
4.1.2	<i>Espectroscopia de RMN de ¹H</i>	56
4.1.3	<i>Espectroscopia de RMN de ¹³C{¹H}</i>	59
4.1.4	<i>Análise Termogravimétrica</i>	61
4.1.5	<i>Proposição Estrutural</i>	67
4.2	Compostos contendo o ligante 4-metilpirazol (HmPz)	68
4.2.1	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	68
4.2.2	<i>Espectroscopia de RMN de ¹H</i>	70
4.2.3	<i>Espectroscopia de RMN de ¹³C{¹H}</i>	73
4.2.4	<i>Análise Termogravimétrica</i>	75
4.2.5	<i>Proposição Estrutural</i>	80
4.3	Atividade Biológica	81
4.3.1	<i>Atividade frente a células tumorais</i>	81
4.3.2	<i>Atividade frente a macrófagos</i>	83
5	CONCLUSÕES.....	86
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	87
	REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

Muitos metais têm um papel importante nos sistemas vivos, uma vez que se ligam e interagem com moléculas biológicas tais como proteínas e o DNA, e apresentam afinidade por moléculas cruciais para a vida, como a de oxigênio, O₂, ou a de óxido nítrico, NO. Sendo assim, a evolução natural incorporou os metais às funções essenciais à vida.

Ainda que a elucidação dos mecanismos de ação dos metais no organismo seja relativamente recente, seu uso em Medicina vem sendo praticado há aproximadamente 5000 anos. De fato, os egípcios usavam cobre para esterilizar a água 3000 anos antes de Cristo, e o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e na China há 3500 anos, mais em razão da natureza preciosa do metal do que de suas propriedades medicinais, pois se acreditava que um metal nobre deveria trazer benefícios ao organismo. Medicamentos contendo ferro eram usados no Egito 1500 anos antes de Cristo e já no século dezesseis o médico suíço Theophrastus Paracelsus (1493-1541) desenvolvia e usava medicamentos à base de mercúrio. No entanto, somente nos últimos cem anos as propriedades medicinais de compostos inorgânicos começaram a ser investigadas de forma racional, com o emprego de compostos de ouro no tratamento da tuberculose, dos antimoniais para o tratamento de leishmaniose e de compostos à base de arsênio para o tratamento da sífilis¹.

Um dos maiores avanços na Química Inorgânica Medicinal foi a descoberta da atividade antitumoral do composto *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], a cisplatina, por Rosenberg^{2,3} no final dos anos 60. Atualmente, a droga é usada em vários tipos de neoplasias como câncer de pulmão, cabeça, esôfago, linfomas, melanoma, osteossarcoma, de mama e cérvix, sobretudo em associação com outras drogas em vários esquemas terapêuticos⁴⁻⁶.

Desde então, houve um grande interesse por complexos metálicos como possíveis agentes terapêuticos, e iniciou-se uma nova era de busca por compostos metálicos com propriedades farmacológicas. O interesse nas aplicações da Química Inorgânica em Medicina continua a crescer, com a procura por novos alvos e novas oportunidades de intervenção da Química de Coordenação na Química Medicinal¹.

1.1 A Química de Coordenação do Paládio

O paládio é o mais abundante elemento de um grupo de metais conhecidos como “metais nobres”, composto por rutênio, ródio, paládio, ósmio, irídio e platina. Eles são assim denominados, pois não são muito reativos e são redutores mais fracos que o hidrogênio⁷. Eles são frequentemente encontrados em baixas concentrações nos minérios dos metais mais comuns. Em consequência disto, são normalmente obtidos como subprodutos, durante o processamento destes minérios e a purificação do metal que está sendo produzido⁸. Em geral, estes metais ocorrem juntos, devido à grande semelhança de suas propriedades químicas⁷.

Uma das características mais notáveis do paládio é sua capacidade de absorver H₂ gasoso, mais que qualquer outro metal. Quando Pd é aquecido ao rubro e esfriado na presença de H₂, ele pode absorver um volume desse gás 935 vezes maior que seu próprio volume. Outros gases, inclusive He, não são absorvidos e esse processo é utilizado para purificar H₂⁹.

Diferentemente do que seria esperado, o paládio apresenta configuração $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^{10} 5s^0$. Mesmo com os subníveis *d* completos, ele se comporta como um elemento de transição típico, pois no Pd(II), que é seu estado de oxidação mais comum, a configuração é d^8 , isto é, o nível *d* está parcialmente preenchido [9]. Apesar da química do paládio ser constituída, em sua maior parte, por compostos de Pd(II), o elemento pode assumir outros estados de oxidação, como (0), (I), (III) e (IV), como mostra a Tabela 1¹⁰.

Tabela 1. Estados de oxidação do paládio

Estado de oxidação	Número de coordenação	Geometria	Exemplos
Pd ⁰ , d^{10}	3	Trigonal Plana	[Pd(PPh ₃) ₃]
	4	Tetraédrica	[Pd(PF ₃) ₄]
Pd ^I , d^9	4	Quadrado-planar	[Pd ₂ (PMe ₃) ₆] ²⁺
Pd ^{II} , d^8	4	Quadrado-planar	[Pd(NH ₃) ₄]Cl ₂ , [Pd(CN) ₄] ²⁻
	5	Bipirâmide trigonal	[PdCl(diars) ₂] ⁺
	6	Octaédrica	[PdI ₂ (diars) ₂]
Pd ^{III} , d^7	6	Octaédrica	[Pd ₂ Cl ₂ (hpp) ₄]
Pd ^{IV} , d^6	6	Octaédrica	[PdCl ₆] ²⁻

Compostos de paládio no estado de valência zero, em geral, são estabilizados por ligantes fosfínicos. Assim, o complexo carbonílico simples $[\text{Pd}^0(\text{CO})_4]$ não é conhecido, porém o complexo $[\text{Pd}^0(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ é estável⁹. Complexos de paládio(I) são, na maioria, dímeros onde ocorre ligação metal-metal, como no $[\text{Pd}_2\text{Cl}_4(\text{CO})_2]^{2-}$ (Figura 1)¹⁰.

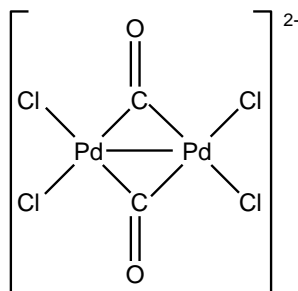


Figura 1. Complexo de paládio(I) onde ocorre ligação metal-metal

O estado de oxidação (+II) é o mais importante para o paládio. São conhecidos óxidos, haletos, nitratos, sulfatos e diversos complexos de Pd(II). O íon $[\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ é formado em solução aquosa e é diamagnético⁹. O emparelhamento de todos os elétrons indica uma estrutura quadrado-planar, que ocorre quase invariavelmente em complexos de Pd(II), com exceção de complexos com ligantes volumosos, onde podem ocorrer distorções. Apesar da maioria dos complexos de Pd(II) apresentar número de coordenação quatro, complexos que possuem cinco átomos ligados ao metal e geometria de bipirâmide trigonal são conhecidos, como o complexo $[\text{PdCl}(\text{pp}_3)]$ ($\text{pp}_3 = \text{tris}(2\text{-(difenilfosfino)-etil)fosfina}$)¹¹.

Compostos de Pd(III) são muito raros, com poucos casos descritos na literatura. Em geral, esses compostos apresentam, na realidade, valência mista, como o composto $\text{Pd}^{2+}[\text{Pd}^{\text{IV}}\text{F}_6]^{2-}$, contendo Pd(II) e Pd(IV)⁹. Com exceção do composto $[\text{Pd}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2]$, formado na dissolução de Pd em ácido nítrico concentrado, os complexos de Pd(IV) são octaédricos do tipo $[\text{PdX}_6]^{2-}$, onde X = F, Cl ou Br. São compostos bastante reativos, que são decompostos por água quente¹⁰.

De acordo com a classificação de Pearson, o íon Pd(II) é um ácido mole e por essa razão forma ligações mais fortes com bases moles, como I^- , SCN^- e CN^- . As principais diferenças entre ácidos e bases moles e duros são tamanho e polarizabilidade, assim os moles são maiores e mais polarizáveis, enquanto os duros são pequenos e não muito polarizáveis⁸. Apesar do Pd(II) possuir baixa afinidade com o oxigênio, muitas exceções são

conhecidas, como o acetato de paládio(II), que destaca-se por sua importância como precursor em várias sínteses e na participação de reações orgânicas catalisadas por Pd¹⁰.

Os complexos de paládio(II) são extensivamente investigados há décadas e apresentam diversas aplicações como em catálise homogênea¹², automontagem de supramoléculas¹³, na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos¹⁴, na área médica como agentes antitumorais¹⁵, entre outras. Estes compostos também apresentam uma grande reatividade frente a ligantes orgânicos e inorgânicos originando, assim, espécies com uma rica variedade estrutural.

1.2 Aplicações biológicas de complexos de paládio(II)

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células em alguma parte do corpo¹⁶. Estas células dividem-se muito rapidamente, formando os tumores ou neoplasias malignas. Em alguns casos, pode ocorrer o processo de metástase, ou seja, a disseminação das células anormais do tumor para outras partes do corpo além do local original em que elas apareceram. Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Assim, existem diversos tipos de câncer de pele pois a pele é formada por vários tipos de células.

As estatísticas do câncer são preocupantes. Em 2005, ele representou 13% das mortes no mundo. Os cânceres de pulmão, estômago, fígado, cólon e mama foram os principais responsáveis¹⁷. No Brasil, o câncer deixou para trás todas as causas de morte, a não ser os problemas cardiovasculares, basicamente ataques do coração e derrames, que, desde a década de 1960, lideram as estatísticas de óbitos. Um em cada oito óbitos é provocado por tumores malignos¹⁶. As estimativas para o ano de 2010 apontam que ocorrerão 489.270 novos casos de câncer no país¹⁷.

O câncer pode ter causas internas e externas ao organismo, sendo que 80 a 90% dos casos são associados a fatores ambientais, como tabagismo, hábitos alimentares, alcoolismo, hábitos sexuais, medicamentos e radiação solar¹⁷. Os fatores podem ainda se relacionar, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais.

O tratamento pode ser feito através de cirurgia, radioterapia e quimioterapia, sendo que, em muitos casos, é necessário combinar essas modalidades. O objetivo da quimioterapia é erradicar todas as células malignas sem afetar as células normais, no entanto, as diferenças bioquímicas e morfológicas entre essas células são mínimas. Assim, a

maioria dos quimioterápicos atua de forma não-específica, atingindo ambos os tipos de células. Essa é a causa dos vários efeitos colaterais, como náuseas e perda de cabelo, associados ao tratamento com quimioterapia¹⁸. Além disso, a rápida resistência que as células cancerosas desenvolvem ao medicamento é outro problema enfrentado no uso desta terapia. Soma-se ainda o fato de que alguns complexos contendo metais de transição, principalmente os de platina, são muito tóxicos ao organismo, sendo alguns deles tão fatais quanto o próprio câncer.

Inicialmente, compostos contendo metais eram estudados apenas por seu potencial carcinogênico e não por qualquer propriedade anticancerígena que pudessem apresentar¹⁹. Esse cenário começou a mudar no fim da década de 60, no século XX, quando foi descoberta a atividade do complexo *cis*-diamindicloroplatina(II) (cisplatina) (Figura 2a)^{2,3}. Apesar de ser usada no tratamento de diversas neoplasias⁴⁻⁶, existem vários obstáculos para o tratamento com essa droga, que incluem: o surgimento de resistência celular, a baixa solubilidade em água, o reduzido espectro de atividade e graves efeitos colaterais, que surgem, principalmente, devido ao seu acúmulo no organismo em função da complexação da cisplatina com proteínas e peptídeos²⁰.

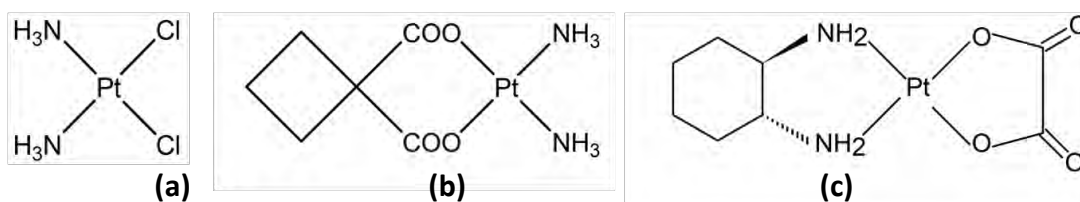


Figura 2. Cisplatina (a), Carboplatina (b) e Oxaloplatina (c)

Além da cisplatina, outras drogas a base de platina são usadas no tratamento do câncer, como a carboplatina (Figura 2b) e a oxaloplatina (Figura 2c). A carboplatina, [diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)platina(II)], apesar de não atuar em células resistentes à cisplatina, apresenta menor nefrotoxicidade e vem sendo usada em todo o mundo desde 1989, quando foi aprovada para uso contra o câncer de ovário^{21,22}. A oxaloplatina, *cis*-[1,2-diaminocicloexanooxalatoplatina(II)], demonstra atividade antitumoral contra células resistentes à cisplatina²³⁻²⁵.

As novas pesquisas têm buscado solucionar os problemas enfrentados no tratamento à base de quimioterapia através da produção de compostos que apresentem melhor

espectro de atividade antitumoral, menor resistência celular e menos efeitos colaterais¹⁹. Apesar do uso de paládio na medicina ser limitado, tendo como única aplicação o isótopo radioativo ¹⁰³Pd no tratamento de câncer de próstata²⁶, complexos de paládio(II) vêm apresentando propriedades antitumorais muito promissoras²⁷.

A escolha do íon paládio(II) como centro metálico é baseada em três fatores: i) compostos de paládio são, em geral, mais solúveis que os de platina, o que facilitaria as interações no meio biológico; ii) o paládio é mais barato que a platina, o que diminuiria os custos finais do fármaco; iii) por causa da contração lantanídica, os raios iônicos de Pd(II) e Pt(II) possuem valores muito próximos, o que se reflete na similaridade entre a química de coordenação de seus compostos²⁸⁻³⁰.

1.2.1 Mecanismo de ação de compostos de paládio e platina

Apesar de uma vasta literatura sobre as interações entre complexos metálicos e o DNA, a natureza destas ligações, bem como suas geometrias, ainda é assunto de debate²⁹. Em geral, como os complexos possuem um centro metálico carregado positivamente, eles podem ligar-se a biomoléculas negativamente carregadas, o que faz com que proteínas e ácidos nucleicos sejam excelentes alvos para essas drogas³¹. Sabe-se que a cisplatina manifesta sua atividade antitumoral através de interação covalente com o DNA. Ao ligar-se ao DNA, o complexo de platina causa lesões que alteram a estrutura conformacional do mesmo, interferindo nas suas funções de replicação e transcrição e finalmente causando a morte celular³²⁻³⁴.

A molécula do DNA é formada por duas fitas, cada uma delas composta por uma seqüência de nucleotídeos, que por sua vez é constituído por três diferentes tipos de moléculas: um açúcar (a 2'-desoxi-D-ribose), um grupo fosfato e uma base nitrogenada. As bases nitrogenadas podem ser púricas [guanina (G) e adenina (A)] ou pirimídicas [citosina (C) e timina (T)]. A proximidade entre as bases nitrogenadas de cada fita possibilita a formação de ligações de hidrogênio (G-C e A-T) que mantêm a estrutura de dupla hélice do DNA (Figura 3).

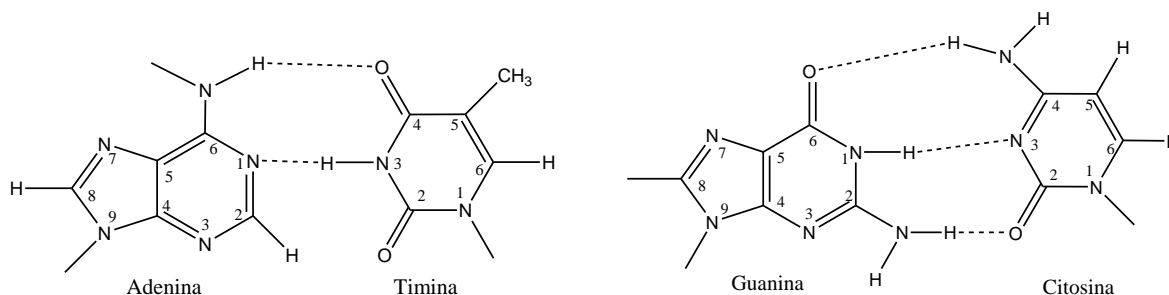


Figura 3. Ligações de hidrogênio entre os pares de bases nitrogenadas

A cisplatina interage com o DNA através da formação de adutos intrafita (quando as duas ligações ocorrem na mesma fita do DNA) ou interfitas (quando cada ligação é feita em uma fita do DNA)³⁵⁻³⁶. Alguns complexos de paládio(II) com ligantes *N,S*, como as tiossemicarbazonas, mostraram-se ativos frente a células tumorais resistentes à cisplatina. Investigações a respeito do mecanismo de ação sugerem que esses compostos se liguem ao DNA através de coordenação interfitas, ao contrário da cisplatina, que interage predominantemente com duas guaninas na mesma fita, ou seja, através de coordenação intrafita. Acredita-se que seria esta a razão pela qual os complexos de tiossemicarbazonas se mostram ativos nas células resistentes³⁷.

Gao *et al.* estudaram a interação do complexo $[PdCl_2(bipy)]$ (*bipy* = 2,2' bipyridina) com o DNA³⁸. Diferentemente da cisplatina, que se liga preferencialmente ao nitrogênio N7 da base guanina, seguido por N7-adenina, N1-adenina e N3-citosina³⁹, a interação do complexo com a base adenina deu-se através dos átomos de nitrogênio N3 e N9. Além disso, o complexo estudado revelou forte ação de intercalação com o DNA.

Outro trabalho recente estudou complexos de Pd(II) e Pt(II) do tipo $[M(Bu-dtc)(bipy)]NO_3$ (*M* = Pd(II) ou Pt(II), *Bu-dtc* = butilditiocarbamato) e mostrou que o composto de paládio(II) interagiu mais fortemente com o DNA que o complexo análogo com platina⁴⁰. Também foi mostrado que os compostos induzem diferentes mudanças conformacionais no DNA. O composto de paládio(II) conseguiu desnaturar o DNA em concentrações baixas, o que indica que caso ele possa ser usado como um antitumoral, baixas doses serão necessárias.

Um estudo feito com compostos ciclopaladados mostrou que eles são capazes de induzir apoptose⁴¹. A apoptose é um tipo de “morte programada” que ocorre de forma ordenada e é usada para manter o equilíbrio interno dos organismos multicelulares. Ela

ocorre quando a célula não consegue reparar o DNA modificado. Neste caso, os compostos induziram mudanças no DNA que não foram reparadas pela célula e levaram à apoptose.

Diversos outros trabalhos^{29,30,42} indicam que os complexos de paládio(II), assim como os de platina, interagem com o DNA. A diferença nas atividades antitumorais apresentadas por eles parece estar no tipo de mudança causada no DNA.

1.2.2 Complexos de paládio(II) com atividade antitumoral

Os primeiros ensaios citotóxicos com complexos de paládio(II) não foram muito promissores, pois mostraram que estes eram bem menos ativos em relação aos compostos de Pt(II). Muitos autores sugeriram que os avanços nesta área seriam limitados, provavelmente, em função de parâmetros cinéticos, uma vez que complexos de Pd(II) reagem $\approx 10^5$ vezes mais rapidamente que seus análogos de Pt(II)⁴³. Assim, a baixa atividade antitumoral de parte dos complexos de Pd(II) foi atribuída aos rápidos processos de hidrólise que conduzem à dissociação dos grupos abandonadores em solução e, conseqüentemente, à formação de espécies muito reativas incapazes de atingir seus alvos farmacológicos²⁹.

Nos últimos anos, no entanto, o interesse no uso medicinal de complexos de Pd(II) foi renovado com a publicação de vários trabalhos científicos que relataram propriedades antitumorais muito promissoras desta classe de compostos⁴⁴.

Complexos de paládio (II) e platina (II) derivados de tiossemicarbazonas se mostraram ativos em células tumorais resistentes à cisplatina, como os complexos de fenilacetaldéido tiossemicarbazona (HL) do tipo $[MCl_2(HL)]^{37}$, os quais são citotóxicos frente a uma variedade de linhagens tumorais, com um bom índice terapêutico, e valores de concentrações inibitórias (IC_{50}) muito menores para células resistentes à cisplatina do que para células normais.

Um outro estudo relatou a síntese de complexos de paládio(II) com ligantes *N,S* doadores derivados da tiossemicarbazona⁴⁵. Foram realizados testes *in vitro* com duas linhagens celulares tumorais humanas, HL-60 (leucemia promielocítica) e U-937 (linfoma histiocítico). Em geral, os compostos apresentaram atividade próxima ou melhor que a da cisplatina, sendo que o complexo $[Pd(L^2)(PPh_3)]$ (H_2L^2 = 2-hidroxiacetofenona tiossemicarbazona) se mostrou bem mais citotóxico que a cisplatina nas duas linhagens testadas.

Outros derivados de tiossemicarbazidas também apresentaram ótimos resultados. O composto $[(\text{benzil})\text{Pd}\{\text{bis}(\text{tiossemicarbazonato})\}]$ (Figura 4) apresentou valores de IC_{50} similares aos da cisplatina e notável atividade em linhagens celulares tumorais resistentes à droga⁴².

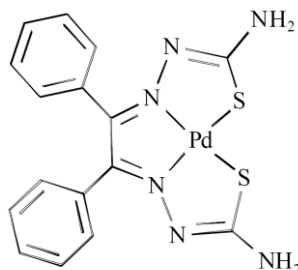


Figura 4. Fórmula estrutural do complexo $[(\text{benzil})\text{Pd}\{\text{bis}(\text{tiossemicarbazonato})\}]$

Vários trabalhos têm relatado estudos envolvendo a comparação da atividade citotóxica de complexos análogos com diversos metais. Os compostos de fórmula $[\text{Pd}(\text{asme})_2]$ e $[\text{Pd}(\text{asbz})_2]$ com ligantes derivados de bases de Schiff (Figura 5) apresentaram atividade frente a duas linhagens celulares tumorais, enquanto os compostos de platina foram inativos⁴⁶.

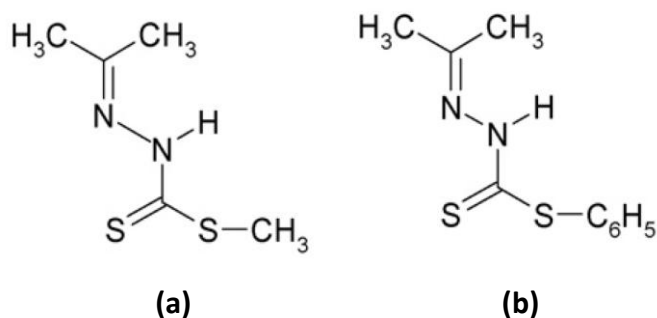


Figura 5. Ligantes derivados de bases de Schiff: asme (a) e asbz (b)

Outro estudo comparativo foi realizado por Friebolin *et al.*, onde foi avaliada a atividade antitumoral de complexos contendo ligantes derivados do bis(O-alquilditiocarbonato) com diferentes metais. Foram estudados complexos de paládio(II), platina(II), ouro(I), níquel(II), cobre(II), ródio(II) e bismuto(II). Os menores valores de IC_{50} foram obtidos para os complexos de paládio, chegando a ser, inclusive, bem inferiores aos da cisplatina⁴⁷.

Complexos com ligantes heterocíclicos *N* doadores também vêm se mostrando bastante promissores. Compostos de fórmula geral *trans*-[PdCl₂L₂] (L = 3-hidroxi-piridina, 2-hidroxi-piridina e 4-hidroxi-piridina) (Figura 6) foram testados frente às linhagens celulares tumorais de ovário: A2780, A2780_{cisR}, A2780_{ZD0473R}⁴⁸. Os compostos são menos ativos que a cisplatina, com exceção do composto com L = 2-hidroxi-piridina; porém foram mais ativos nas células resistentes.

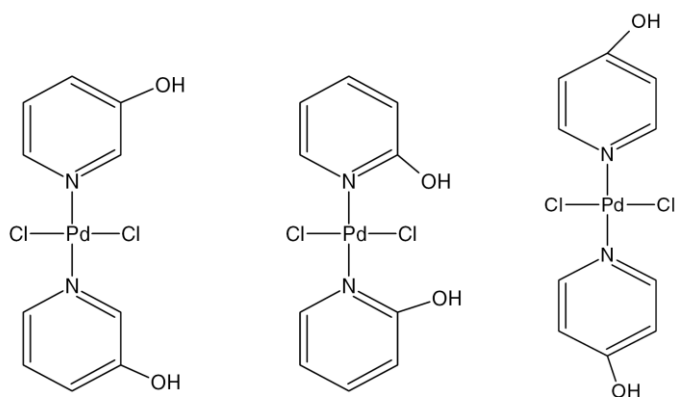


Figura 6. Fórmulas estruturais dos compostos de fórmula *trans*-[PdCl₂L₂] (L = 3-hidroxi-piridina, 2-hidroxi-piridina e 4- hidroxi-piridina)

A investigação da atividade antitumoral do complexo mononuclear [PdCl₂(dmnp)₂] e do dinuclear [Pd₂Cl₄(dmnp)₂] (dmnp = 2,6-dimetil-4-nitro-piridina) (Figura 7) foi realizada *in vitro* com quatro linhagens tumorais humanas: SW707 (adenocarcinoma de reto), T47D (câncer de mama), HCV29T (câncer de bexiga) e A549 (carcinoma pulmonar)⁴⁹. O composto mononuclear apresentou elevada atividade citotóxica em quase todas as linhagens comparada à cisplatina, enquanto o ligante livre e o complexo dinuclear tiveram atividade moderada.

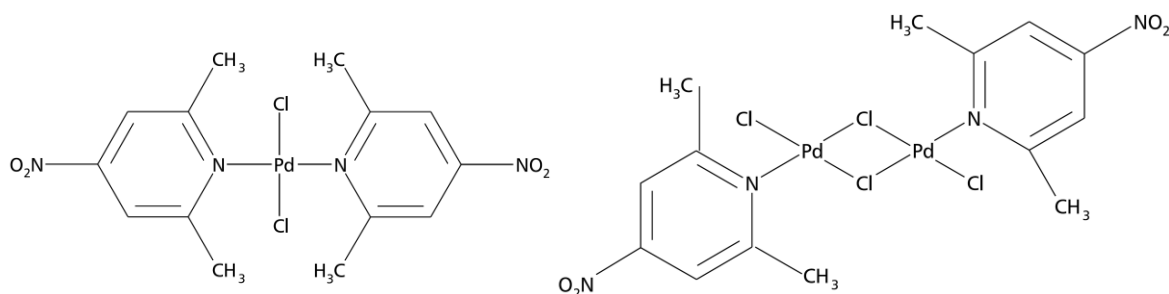


Figura 7. Fórmulas estruturais dos complexos [PdCl₂(dmnp)₂] e [Pd₂Cl₄(dmnp)₂]

D. Pucci *et al.* mostraram a atividade citotóxica do complexo ciclopaladado [Pd(4-O-Acrid)(L)], com os ligantes quelantes fenilpiridina (L) e 4-hidroxiacridina

(4-O-Acrid)⁵⁰. Os testes foram feitos em três tipos de células tumorais humanas de ovário e foi usada a cisplatina como droga padrão. Os valores de IC₅₀ para a cisplatina e para o composto encontram-se na Tabela 2. O complexo de paládio foi bem mais tóxico que a cisplatina em todas as linhagens estudadas.

Tabela 2. Valores de IC₅₀ (μM) do composto [Pd(4-O-Acrid)(L)] e da cisplatina em linhagens celulares tumorais de ovário

Composto	IC ₅₀ (μM)		
	A2780	OVCAR 5	OVCAR 8
Cisplatina	15,9 ± 1,5	10,4 ± 3,5	38,9 ± 13,3
[Pd(4-O-Acrid)(L)]	3,8 ± 1,9	5,6 ± 1,2	4,7 ± 1,1

Novos complexos organometálicos de paládio(II) (Figura 8) foram sintetizados utilizando como ligante a 1-metilcitosina (Mecyt), sendo que nos compostos **a-d** estão presentes ligantes *N,N* doadores, derivados de pirazol (**a,b**), piridina (**c**) e etilenodiamina (**d**)⁵¹. O estudo da citotoxicidade dos compostos foi feito com células tumorais de leucemia (HL-60) e revelou que praticamente todos foram mais ativos que a cisplatina num período de incubação de 24 h. Além disso, os complexos foram capazes de induzir a apoptose.

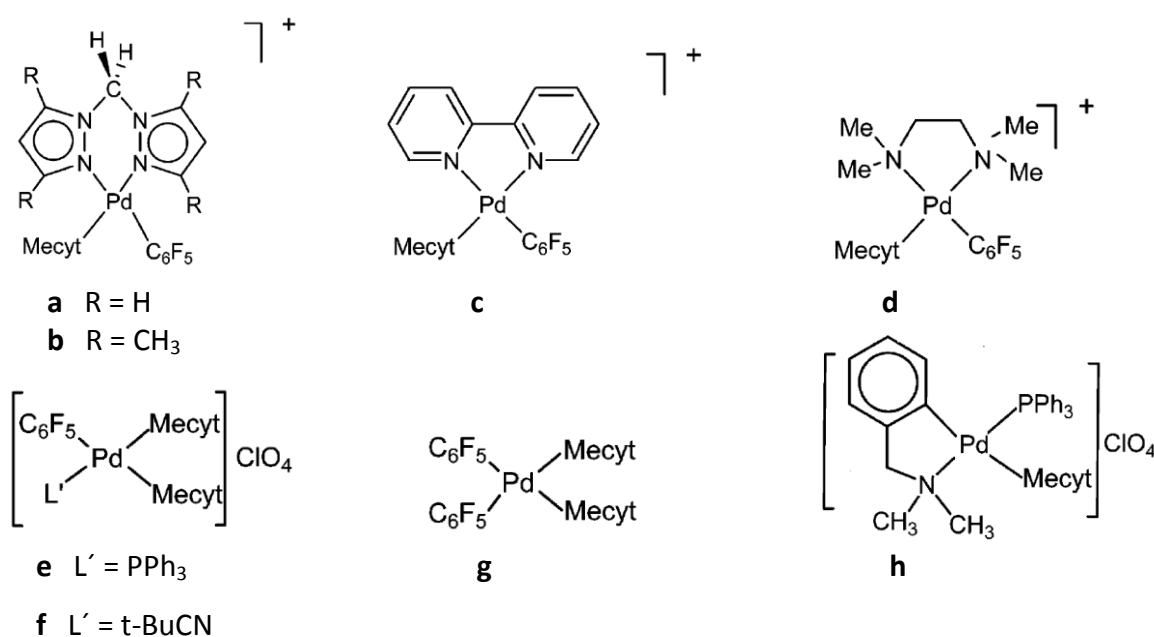


Figura 8. Fórmulas estruturais dos complexos de paládio(II) com o ligante 1-metilcitosina

Ray *et al.* estudaram a atividade antitumoral de dois novos complexos organometálicos de paládio(II) (Figura 9) frente às linhagens de câncer cervical (HeLa),

câncer de mama (MCF-7) e adenocarcinoma de colo (HCT 116) obtendo excelentes resultados⁵². O composto **1b** se apresentou mais ativo que a cisplatina nos três casos. Os valores de IC₅₀ da cisplatina para HeLa, MCF-7 e HCT 116 foram 8, 15 e 16 μM, respectivamente enquanto que os valores correspondentes para o composto **1b** foram 4, 1 e 0,8 μM.

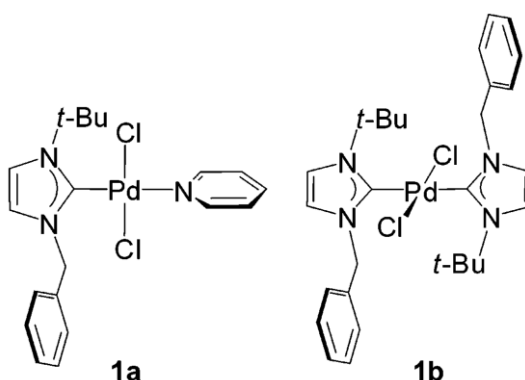


Figura 9. Fórmulas estruturais dos complexos *trans*- [PdCl₂(L)(piridina)] (**1a**) e *trans*- [PdCl₂(L)₂] (**1b**)

Diferentemente dos complexos de platina(II), cuja atividade, em geral, se manifesta em compostos de geometria *cis*¹⁹, complexos de paládio(II) na geometria *trans* também se mostram bastante promissores. O composto *trans*-[PdCl₂(L)(dmsO)] (L = 7-metóxi-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol) apresentou atividade superior a da cisplatina frente às linhagens leucêmicas P388, L1210 e K562⁵³.

Os complexos de paládio(II) têm enorme potencial como agente anticancerígeno, pois podem aliar alta atividade e baixa toxicidade comparados aos análogos de platina(II)⁴⁰. A elevada cinética do processo de hidrólise sofrido pelos complexos levando à rápida substituição dos ligantes lábeis, indicada, inicialmente, como a causa para a baixa atividade destes compostos, pode ser suprimida a partir do planejamento de complexos termodinamicamente estáveis e cineticamente inertes³⁷.

1.3 A Química de Coordenação dos Pirazóis

Azóis são heterocíclicos aromáticos contendo um átomo de nitrogênio e mais um outro heteroátomo dispostos na posição-1,2 de um anel de cinco membros. Os pirazóis pertencem à família dos 1,2-azóis, juntamente com os isotiazóis e isoxazóis⁵⁴ (Figura 7).

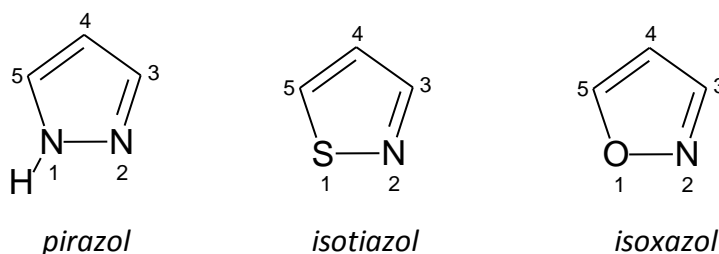


Figura 10. Família dos 1,2-azóis

Os pirazóis são ligantes σ -doadores que podem interagir de diferentes modos com metais e ocupam uma posição similar à amônia e piridina na série espectroquímica⁵⁵. A presença de dois átomos de nitrogênio quimicamente diferentes dispostos na posição 1,2 do anel de cinco membros confere aos pirazóis uma grande versatilidade quanto aos seus modos de coordenação⁵⁶. Assim, os pirazóis, sem substituintes coordenantes, são capazes de atuar como:

a) *Ligantes neutros monodentados*: a coordenação ocorre via átomo de nitrogênio piridínico do pirazol neutro (Figura 11a).

b) *Ligantes aniônicos monodentados*: quando a coordenação se dá por apenas um átomo de nitrogênio do pirazol aniônico (pirazolato) (Figura 11b).

c) *Ligantes aniônicos exobidentados*: quando os dois átomos de nitrogênio do grupo pirazolato ligam-se a centros metálicos diferentes (Figura 11c).

d) *Ligantes aniônicos endobidentados*: ocorre quando os dois átomos de nitrogênio do grupo pirazolato ligam-se simultaneamente ao mesmo centro metálico (Figura 11d).

e) *Ligantes pentahapto (η^5)*: ocorre quando todos os átomos do anel pirazolato interagem com o centro metálico, de modo similar ao ânion ciclopentadienilo no modo pentahapto (Figura 11e).

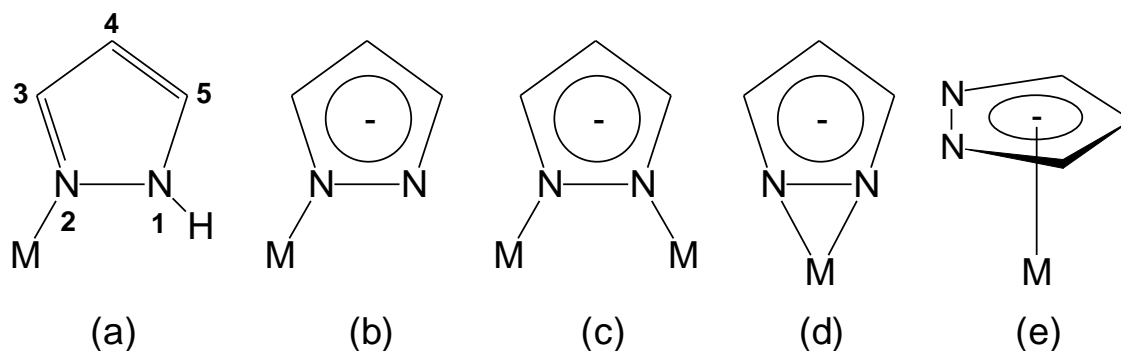


Figura 11. Modos de coordenação dos ligantes pirazólicos.

O modo de coordenação neutro monodentado é exemplificado, entre outros, pelo trabalho de Takahashi *et al.*⁵⁷ no qual foi descrito a obtenção e caracterização estrutural do complexo *trans*-[Co(NCS)₂(HPz)₄] (Figura 12a). O comportamento exobidentado do grupo pirazolato é observado no complexo [Pd₂(μ-dppz)₂(Hida)₂] (dppz = 3,5-difenilpirazolato, Hida = iminodiacetato⁵⁸ (Figura 12b). O trabalho de Sanz *et al.*⁵⁹, no qual foi relatado a determinação da estrutura molecular do complexo [Zr(η²-dmpz)₂Cl₂(η¹-dmpz)₂] (Hdmpz = 3,5-dimetilpirazol) (Figura 13a), é um exemplo da coordenação pirazólica no modo endobidentado. Por outro lado, é rara a coordenação de ânions pirazolatos no modo pentahapto (η⁵), semelhante ao ciclopentadienilo. Arachchige *et al.*⁶⁰ descreveram a obtenção e determinação estrutural da espécie [Os(η⁵-3,5-*t*Bupz)(η⁵-pmCp)] (3,5-*t*Bupz = 3,5-di-*t*-butilpirazolato, pmCp = pentametilciclopentadienil) (Figura 13b).

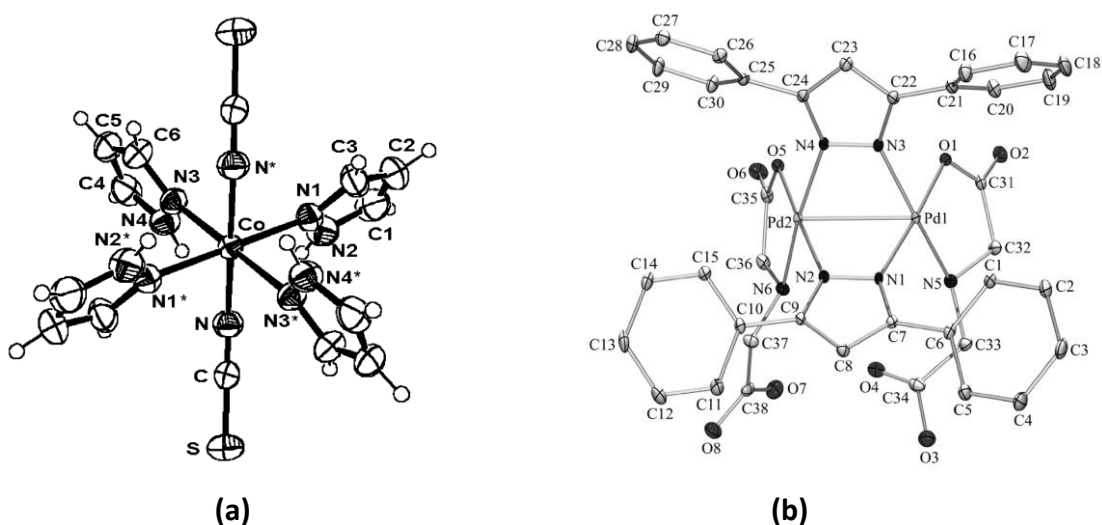


Figura 12. Estruturas moleculares dos compostos *trans*-[Co(NCS)₂(HPz)₄] (a) e [Pd₂(μ-dppz)₂(Hida)₂] (b)

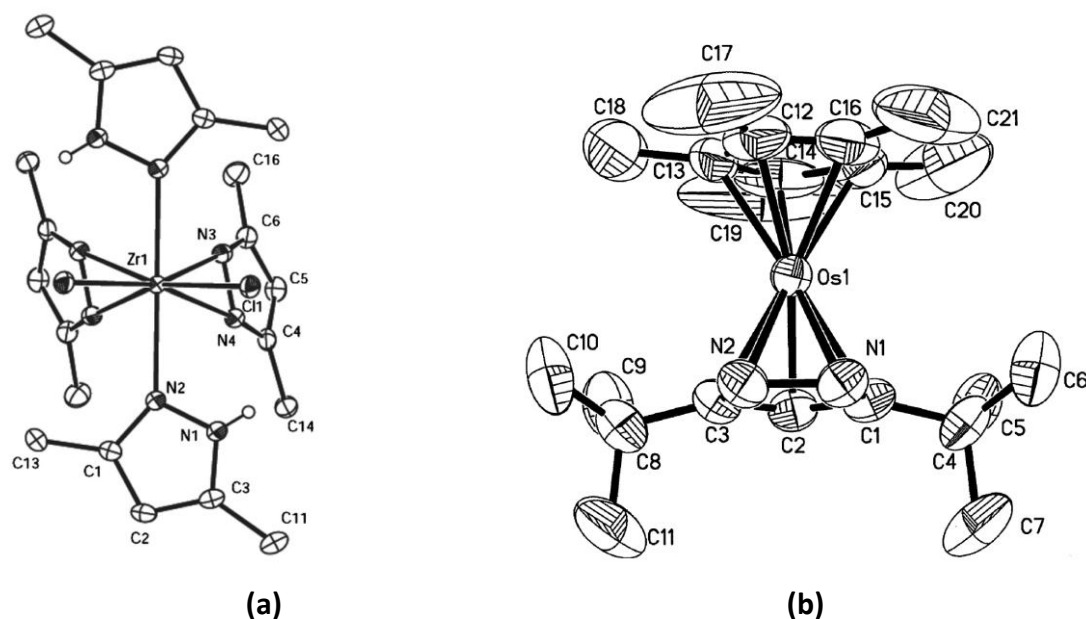


Figura 13. Estruturas moleculares dos compostos $[\text{Zr}(\eta^2\text{-dmpz})_2\text{Cl}_2(\eta^1\text{-dmpz})_2]$ (a) e $[\text{Os}(\eta^5\text{-3,5-}t\text{Bupz})(\eta^5\text{-pmCp})]$ (b).

1.4 Aplicações biológicas de complexos pirazólicos

Os compostos pirazólicos atraem grande atenção em função de sua potencial aplicação como catalisadores⁶¹, cristais-líquidos⁶², reagentes complexantes para determinação analítica⁶³, entre outras^{64,65}.

Na Química Medicinal, destacam-se suas potenciais atividades biológicas. Compostos de fórmula geral $[\text{Au}(\text{L})(\text{PPh}_3)]$ (L = pirazol, imidazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol) demonstraram atividade antimicrobiana seletiva e efetiva contra duas bactérias Gram-positivas, *B. subtilis*, *S. aureus*, e atividade modesta contra a levedura *C. albicans*⁶⁶.

Sakai *et al.*⁶⁷ verificaram que o complexo *cis*- $[\text{PtCl}_2(\text{HPz})_2]$ apresentou modesta atividade antitumoral frente às linhagens de células humanas cancerosas colo-retais (DLD-1, HCT15 e HT29) e gástricas (AGS).

Komeda *et al.*⁶⁸ compararam a citotoxicidade de alguns complexos azólicos de Pt(II) com a cisplatina frente às linhagens de células humanas cancerosas MCF7 e EVSA-T (câncer de bexiga), WIDR (câncer de cólon), IGROV (câncer de ovário), M19 (melanoma), A498 (câncer renal) e H226 (câncer de células pulmonares). Dentre os compostos estudados, destaca-se o complexo catiônico $[\text{Pt}_2(\mu\text{-Pz})(\mu\text{-OH})(\text{NH}_3)_4](\text{NO}_3)_2$ (Figura 14) que foi 39 vezes

mais efetivo que a cisplatina frente à linhagem MCF7 e 37 vezes mais citotóxico do que a cisplatina frente à M19.

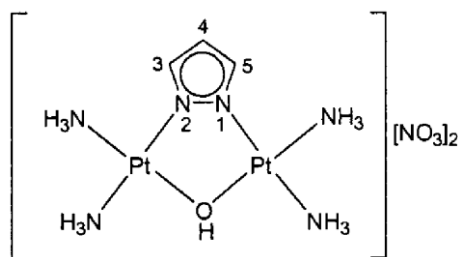


Figura 14. Fórmula estrutural do complexo $[Pt_2(\mu\text{-Pz})(\mu\text{-OH})(NH_3)_4](NO_3)_2$.

Os compostos pirazólicos $[Au(pz)Cl_2]_2$ e $[Au(mpz)Cl_2]_2$ (Figura 15), onde Hpz = pirazol e Hmpz = 3-metilpirazol, tiveram suas atividades antitumorais testadas em linhagens tumorais humana e murina⁶⁹. Os dois complexos se revelaram mais ativos que a cisplatina em ambas as linhagens.

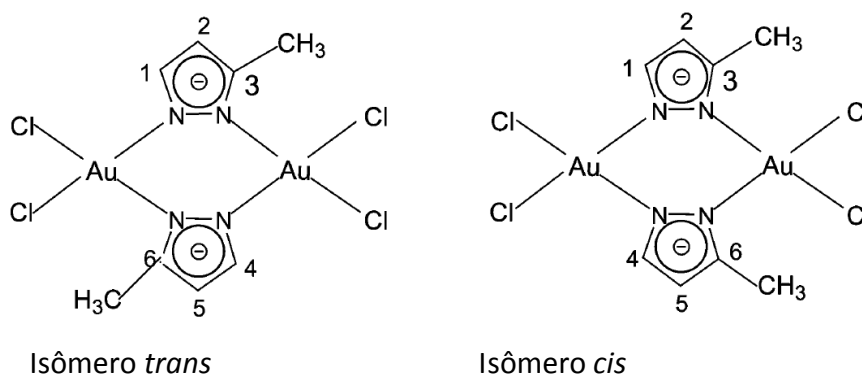


Figura 15. Possíveis fórmulas estruturais para o composto $[Au(mpz)Cl_2]_2$

E. Ciesielska *et al.* descreveram a síntese e o estudo da atividade citotóxica de quatro complexos análogos à cisplatina contendo pirazóis como ligantes não-abandonadores (Figura 16)⁷⁰. Os compostos foram testados em uma linhagem de leucemia murina (L1210) e as drogas de referência utilizadas foram cisplatina e carboplatina. Apesar de apresentarem menor atividade que a cisplatina, todos os compostos foram mais citotóxicos que a carboplatina.

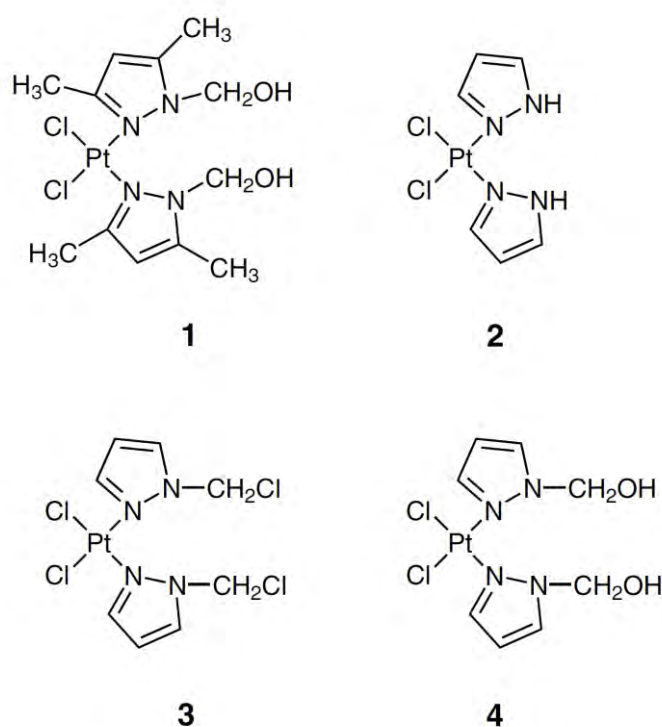


Figura 16. Fórmulas estruturais dos compostos análogos à cisplatina testados

O complexo aniônico dinuclear de platina(IV) $[(PtMe_3)_2(\mu-I)(\mu-pz)_2]^-$, que contém o ânion pirazolato, foi testado frente às seguintes linhagens tumorais: câncer de tireóide (8505C), tumores de cabeça e pescoço (A253 e FaDu), câncer cervical (A431), câncer de pulmão (A549), câncer de ovário (A2780) e carcinoma de colo (DLD-1, HCT-8 e HT-29), sendo as linhagens 8505C e DLD-1 com baixa sensibilidade à cisplatina (Tabela 3)⁷¹. O complexo foi mais ativo que a cisplatina nas linhagens pouco sensíveis à droga e apresentou valores de IC_{50} próximos aos da cisplatina frente às outras células.

Tabela 3. Valores de IC_{50} (μM) para o complexo pirazólico e cisplatina em diferentes linhagens celulares tumorais

Composto	IC_{50} (μM)								
	8505C	A253	A431	A549	A2780	DLD-1	FaDu	HCT-8	HT-29
Cisplatina	5	0,8	0,65	1,5	0,55	5	1,2	1,5	0,6
$[(PtMe_3)_2(\mu-I)(\mu-pz)_2]^-$	1,96	1,13	0,95	2,30	1,49	2,51	2,32	3,76	2,18

1.5 Complexos pirazólicos de paládio(II)

Em um trabalho recente foram descritas a síntese e a avaliação da atividade citotóxica de complexos de paládio(II) contendo ligantes derivados do pirazol⁷² (Figura 17). Os compostos foram testados frente às linhagens celulares de carcinoma ovariano humano A2780 (sensível à cisplatina) e A2780_{cisR} (resistente à cisplatina). A atividade antitumoral observada nos compostos foi similar ou maior que a da cisplatina, sendo que um dos compostos apresentou atividade equiparada a da cisplatina em células do tipo A2780, porém foi aproximadamente 16 vezes mais potente que a droga de referência nas células da linhagem resistente.

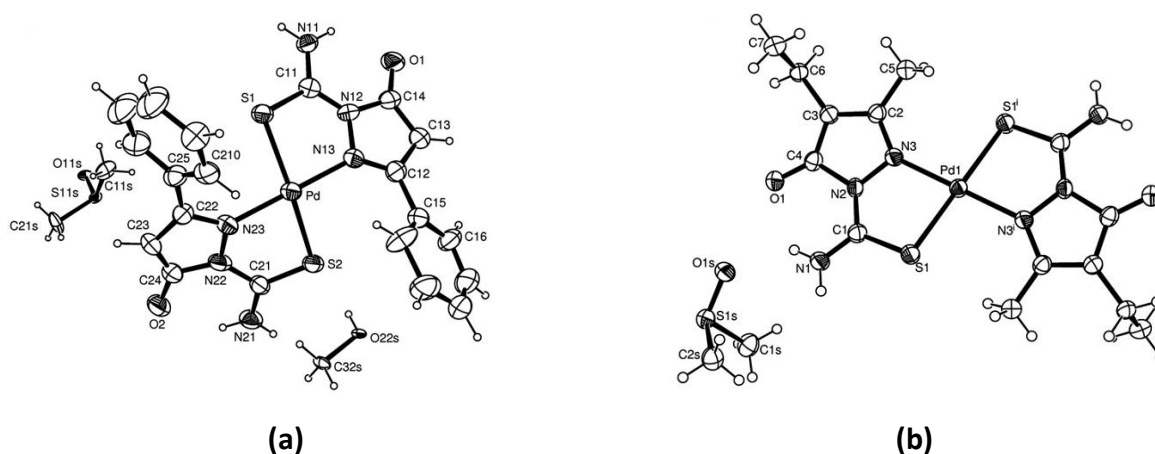


Figura 17. Estruturas moleculares dos complexos [PdL₂] (a) e [PdL'₂] (b), L = 3-oxo-5-fenil-1H-pirazol-2(3H)-carbotioamida e L' = 4-etil-5-metil-3-oxo-1H-pirazol-2(3H)-carbotioamida

Compostos de Pd(II), Pt(II) e Cu(II) (Figura 18) com o mesmo ligante pirazólico tiveram suas citotoxicidades estudadas⁷³. Apesar de ter se mostrado o menos ativo entre os três, o complexo de paládio apresentou IC₅₀ = 135,6 ± 27,5 μM na linhagem WM-115 (melanoma humano), enquanto o valor para a carboplatina foi de 422,2 ± 50,2 μM.

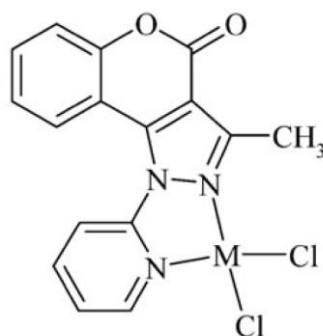


Figura 18. Fórmula estrutural dos complexos de Pd(II), Pt(II) e Cu(II) com ligante pirazólico

Budzisz *et al.*⁷⁴ testaram a citotoxicidade de complexos de fórmula geral $[MCl_2L_2]$ $\{M = Pd(II), Pt(II); L = 5-(2\text{-hidróxifenil})\text{-}1,3\text{-dimetil}\text{-}4\text{-}(\text{dimetóxi})\text{fosfonil}\text{-}1\text{H}\text{-pirazol} (L^1); 5-(2\text{-hidróxifenil})\text{-}1,3\text{-dimetil}\text{-}4\text{-metóxicarbonil}\text{-}1\text{H}\text{-pirazol} (L^2)\}$ (Figura 19) frente às linhagens de células leucêmicas HL-60 e NALM-6. Dentre os complexos testados, a maior citotoxicidade foi observada para o $[PdCl_2(L^2)_2]$, embora seja menos citotóxico que a cisplatina e a carboplatina.

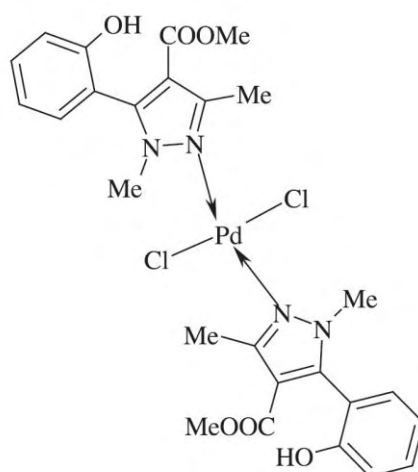


Figura 19. Fórmula estrutural do composto $[PdCl_2(L^2)_2]$ ($L^2 = 5-(2\text{-hidróxifenil})\text{-}1,3\text{-dimetil}\text{-}4\text{-metóxicarbonil}\text{-}1\text{H}\text{-pirazol}$)

Os principais objetivos no desenvolvimento de novos quimioterápicos consistem em obter compostos que atuem nas células resistentes à cisplatina, que possuam maior espectro de atividade e provoquem menos efeitos colaterais nos pacientes. Com base no exposto anteriormente, fica clara tanto a potencialidade biológica dos compostos de paládio(II) quanto dos complexos com ligantes derivados de pirazóis. Assim, neste trabalho foram preparados complexos de paládio(II) com os ligantes pirazólicos 3,5-dimetil-4-iodopirazol e 4-metilpirazol e os ânions Cl^- , Br^- , I^- e SCN^- . Os compostos foram testados frente a células tumorais e frente a macrófagos peritoneais.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivos:

i) Síntese e caracterização espectroscópica de novos compostos de Pd(II) de fórmula geral $[PdX_2(HdmIPz)_2]$ e $[PdX_2(HmPz)_2]$, onde HdmIPz = 3,5-dimetil-4-iodopirazol, HmPz = 4-metilpirazol e $X = Cl^-, Br^-, I^-, SCN^-$.

ii) Caracterização térmica dos compostos preparados.

iii) Avaliação da atividade antitumoral dos complexos.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Procedência dos solventes e reagentes

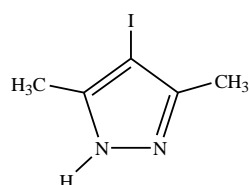
Os reagentes (p.a.) foram utilizados nas sínteses sem purificação prévia. Os solventes (p.a.) empregados nas reações foram tratados com peneira molecular para remoção de excesso de água e armazenados em frascos de vidro escuro. A Tabela 4 apresenta a procedência de solventes e reagentes empregados neste trabalho.

Tabela 4. Procedência de solventes e reagentes

Reagentes	Procedência	Solventes	Procedência
Cloreto de paládio	<i>Vetec</i>	Acetonitrila	<i>Mallinckrodt Chemicals</i>
3,5-dimetilpirazol	<i>Aldrich</i>	Metanol	<i>Merck</i>
4-metilpirazol	<i>Agros Organics</i>	Clorofórmio	<i>Merck</i>
Iodo	<i>Carlo Erba</i>	Dimetilsulfóxido deuterado	<i>Tedia</i>
Carbonato de sódio	<i>Fisher</i>		
Brometo de potássio	<i>Merck</i>		
Iodeto de potássio	<i>Merck</i>		
Tiocianato de sódio	<i>Riedel-de Haen</i>		

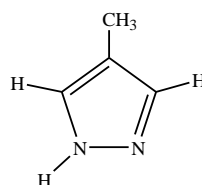
3.2 Metodologias de síntese

Na síntese dos complexos foram empregados os ligantes 3,5-dimetil-4-iodopirazol (HdmIPz) e 4-metilpirazol (HmPz).



3,5-dimetil-4-iodopirazol

HdmIPz

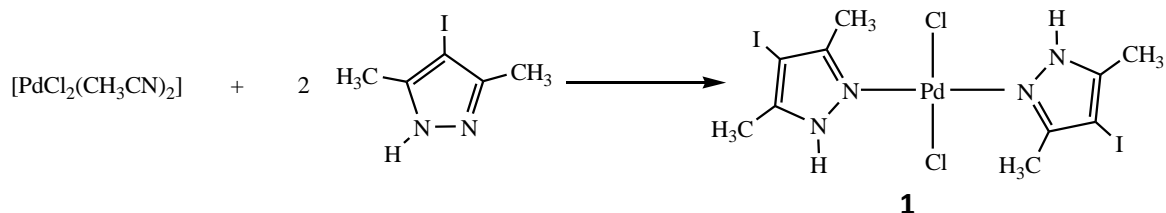


4-metilpirazol

HmPz

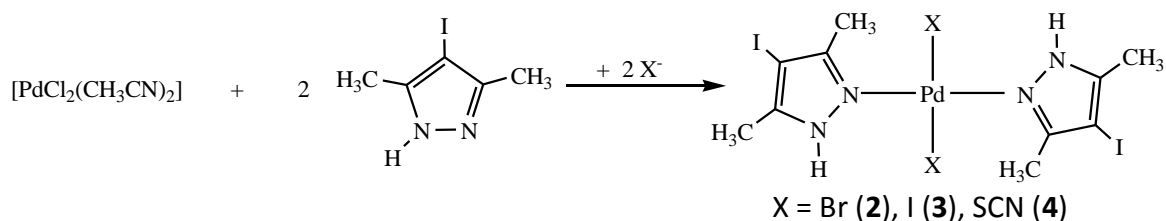
3.2.1 Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante HdmIPz

O cloro-complexo **1** foi preparado em metanol, à temperatura ambiente, segundo a equação a seguir.



Esquema 1. Síntese do composto **1**

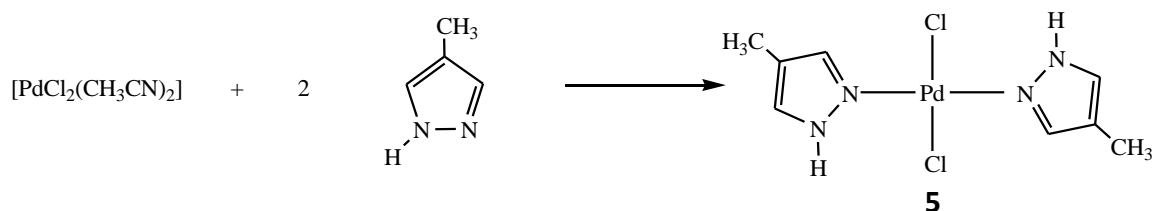
Os compostos **2-4** foram obtidos a partir da reação entre o complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$, o 3,5-dimetil-4-iodopirazol (HdmIPz) e os respectivos ligantes aniônicos (Br^- , I^- , SCN^-), segundo a equação a seguir.



Esquema 2. Síntese dos compostos **2-4**

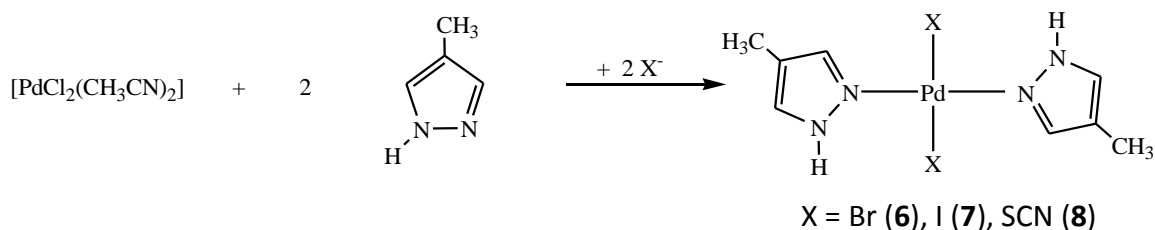
3.2.2 Metodologia para preparação dos complexos contendo o ligante HmPz

O complexo **5** foi preparado a partir da reação entre o complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ e o ligante pirazólico, em metanol, à temperatura ambiente, segundo a equação a seguir.



Esquema 3. Síntese do composto **5**

Os compostos **6**, **7** e **8** foram obtidos *in situ* a partir de reações de substituição do CH_3CN e do Cl^- da esfera de coordenação do $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ pelo 4-metilpirazol (HmPz) e pelos ligantes aniônicos Br^- , I^- e SCN^- , respectivamente, segundo a equação a seguir.



Esquema 4. Síntese dos compostos 6-8

3.3 Preparação dos compostos

3.3.1 Síntese do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol (*HdmIPz*)

O ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol foi sintetizado de maneira análoga ao método empregado na obtenção do 4-iodopirazol⁷⁵. Foi feita a dissolução do 3,5-dimetilpirazol (7,03 g, 73 mmol) e do Na₂CO₃ anidro (4,10 g, 39 mmol) em 60 mL de água quente. Sobre esta mistura adicionou-se uma solução de I₂ (18,64 g, 73 mmol) e KI (26,00 g, 157 mmol) em 70 mL de H₂O. A seguir, acrescentou-se mais um volume de 70 mL de H₂O ao meio reacional antes de submetê-lo a um refluxo durante 30 min. a 100 °C. Filtrou-se a mistura a quente e a solução avermelhada obtida foi resfriada a 0 °C. O sólido formado foi separado da solução por filtração, lavado com água gelada e seco sob vácuo. Rendimento: 80 %.

3.3.2 Síntese do precursor [PdCl₂(CH₃CN)₂]

Em um erlenmeyer de 200 mL de capacidade contendo 40 mL de acetonitrila a 80 °C foram adicionados lentamente 2,00 g (11,3 mmol) de cloreto de paládio anidro (PdCl₂). A reação ficou sob intensa agitação magnética. Um precipitado amarelo foi formado após 30 min. de reação. O sólido foi isolado a partir de uma filtração simples e lavado com éter de petróleo. Rendimento: 75 %. Análise Elementar: obtido (calculado) %C = 18,05 (18,52); %N = 10,40 (10,80); %H = 2,49 (2,34).

3.3.3 Síntese dos compostos inéditos utilizando o ligante *HdmIPz*

Preparação do [PdCl₂(*HdmIPz*)₂] (**1**)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de [PdCl₂(CH₃CN)₂] suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,086 g

(0,39 mmol) de 3,5-dimetil-4-iodopirazol em 1 mL de metanol. Durante a adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. Houve formação de um precipitado amarelo claro após o final da adição do heterociclo. A agitação magnética foi mantida durante 1 h e o sólido obtido foi isolado a partir de uma filtração simples e lavado com metanol. O composto é bastante solúvel em dmso. Rendimento: 68 %. P. f. (°C) = 252 (dec). Análise Elementar: obtido (calculado para $C_{10}H_{14}N_4Cl_2I_2Pd$) %C = 19,73 (19,33); %H = 2,19 (2,27); %N = 9,13 (9,02).

Preparação do $[PdBr_2(HdmIPz)_2]$ (2)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de $[PdCl_2(CH_3CN)_2]$ suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,086 g (0,39 mmol) de 3,5-dimetil-4-iodopirazol em 1 mL de metanol. Durante a adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. Houve formação de um precipitado amarelo claro após o final da adição do heterociclo. A agitação magnética foi mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,046 g (0,39 mmol) de brometo de potássio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de um precipitado amarelo intenso. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. O sólido obtido foi isolado a partir de uma filtração simples e lavado com metanol. O composto é bastante solúvel em dmso. Rendimento: 63 %. P. f. (°C) = 242 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $C_{10}H_{14}N_4Br_2I_2Pd$) %C = 17,05 (16,91); %H = 2,05 (1,99); %N = 7,99 (7,89).

Preparação do $[PdI_2(HdmIPz)_2]$ (3)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de $[PdCl_2(CH_3CN)_2]$ suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,086 g (0,39 mmol) de 3,5-dimetil-4-iodopirazol em 1 mL de metanol. Durante a adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. Houve formação de um precipitado amarelo claro após o final da adição do heterociclo. A agitação magnética foi mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,064 g (0,39 mmol) de iodeto de potássio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de um precipitado verde escuro. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. O sólido obtido foi isolado a partir de

uma filtração simples e lavado com metanol. O composto é bastante solúvel em dmsu. Rendimento: 87 %. P. f. (°C) = 214 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $C_{10}H_{14}N_4I_3Pd$) %C = 14,89 (14,93); %H = 1,85 (1,75); %N = 7,04 (6,97).

Preparação do $[Pd(SCN)_2(HdmIPz)_2]$ (4)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de $[PdCl_2(CH_3CN)_2]$ suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,086 g (0,39 mmol) de 3,5-dimetil-4-iodopirazol em 1 mL de metanol. Durante a adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. Houve formação de um precipitado amarelo claro após o final da adição do heterociclo. A agitação magnética foi mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,031 g (0,39 mmol) de tiocianato de sódio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de um precipitado laranja. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. O sólido obtido foi isolado a partir de uma filtração simples e lavado com metanol. O composto é bastante solúvel em dmsu. Rendimento: 60 %. P. f. (°C) = 212 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $C_{12}H_{14}N_6I_2S_2Pd$) %C = 21,42 (21,62); %H = 2,27 (2,12); %N = 12,24 (12,61).

3.3.4 Síntese dos compostos inéditos utilizando o ligante HmPz

Preparação do $[PdCl_2(HmPz)_2]$ (5)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de $[PdCl_2(CH_3CN)_2]$ suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,032 g (0,39 mmol) de 4-metilpirazol em 1 mL de metanol. Após o fim da adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. A agitação magnética foi mantida durante 1 h. Após vários dias, formou-se um sólido laranja de aspecto cristalino. O composto é bastante solúvel em dmsu. Rendimento: 51 %. P. f. (°C) = 248 (dec.). Análise Elementar: obtido (calculado para $C_8H_{12}N_4Cl_2Pd$) %C = 28,09 (28,13); %H = 3,51 (3,54); %N = 16,29 (16,40).

Preparação do [PdBr₂(HmPz)₂] (6)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de [PdCl₂(CH₃CN)₂] suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,032 g (0,39 mmol) de 4-metilpirazol em 1 mL de metanol. Após o fim da adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. A agitação magnética foi mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,046 g (0,39 mmol) de brometo de potássio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de uma solução laranja. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. Após vários dias, formou-se um sólido laranja de aspecto cristalino. O composto é bastante solúvel em dmsO. Rendimento: 54 %. P. f. (°C) = 206. Análise Elementar: obtido (calculado para C₈H₁₂N₄Br₂Pd) %C = 24,01 (22,32); %H = 2,95 (2,81); %N = 13,58 (13,02).

Preparação do [PdI₂(HmPz)₂] (7)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de [PdCl₂(CH₃CN)₂] suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,032 g (0,39 mmol) de 4-metilpirazol em 1 mL de metanol. Após o fim da adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. A agitação magnética foi mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,064 g (0,39 mmol) de iodeto de potássio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de uma solução vermelho intenso. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. Após vários dias, formou-se um sólido marrom de aspecto cristalino. O composto é bastante solúvel em dmsO. Rendimento: 42 %. P. f. (°C) = 200 (dec). Análise Elementar: obtido (calculado para C₈H₁₂N₄I₂Pd) %C = 19,16 (18,32); %H = 2,20 (2,31); %N = 10,97 (10,68).

Preparação do [Pd(SCN)₂(HmPz)₂] (8)

Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 0,050 g (0,19 mmol) de [PdCl₂(CH₃CN)₂] suspenso em 5 mL de metanol foi gotejada uma solução contendo 0,032 g (0,39 mmol) de 4-metilpirazol em 1 mL de metanol. Após o fim da adição do ligante, formou-se uma solução límpida e de coloração mais clara que a inicial. A agitação magnética foi

mantida durante 30 min. Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 0,031 g (0,39 mmol) de tiocianato de sódio dissolvidos em 1 mL de água, conduzindo à formação de uma solução laranja escuro. A reação ficou sob agitação por mais 1 h. Após vários dias, formou-se um sólido laranja de aspecto cristalino. O composto é bastante solúvel em dmsO. Rendimento: 50 %. P. f. (°C) = 160. Análise Elementar: obtido (calculado para $C_{10}H_{12}N_6S_2Pd$) %C = 28,85 (31,05); %H = 2,78 (3,13); %N = 19,86 (21,73).

3.4 Testes biológicos para determinação da atividade antitumoral

Os experimentos biológicos foram realizados no Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP, em colaboração com a Prof^a. Dr^a. Iracilda Z. Carlos, a Prof^a. Dr^a. Sandra R. Ananias e a mestranda Marcela Bassi. Foi avaliado o índice de citotoxicidade dos complexos **1-8** frente às células tumorais LM3 e LP07. Os compostos **1-4** também foram testados frente a macrófagos peritoneais murinos Swiss.

3.4.1 Preparo das soluções

Todas as soluções foram preparadas momentos antes da aplicação das amostras nos ensaios biológicos, em concentração máxima de dmsO de 4% v/v diluídas em meio de cultura RPMI para os testes com macrófagos e MEM para os testes com células tumorais. As diluições foram realizadas a partir da solução-mãe empregando-se pipetas automáticas com capacidade variando de 1000 μ L a 100 μ L e de 100 μ L a 0,5 μ L e ponteiros descartáveis apropriadas para cada pipeta.

Preparo da solução-mãe dos ligantes 3,5-dimetil-4-iodopirazol e 4-metilpirazol

Um volume de 5000 μ L da solução-mãe dos ligantes foi obtido dissolvendo-se 50 μ mol de composto em 50 μ L de dmsO e posterior diluição com 4950 μ L de meio de cultura RPMI para os testes com macrófagos e MEM para os testes com células tumorais. Foram empregadas concentrações de 250-150 μ mol L⁻¹ para determinação da viabilidade celular frente a culturas de macrófagos e de 700-100 μ mol L⁻¹ para os testes com células tumorais.

Preparo da solução-mãe dos complexos 1-8

Um volume de 5000 μL da solução-mãe dos complexos foi obtido dissolvendo-se 5 μmol de composto em 50 μL de dmsO e posterior diluição com 4950 μL de meio de cultura RPMI para os testes com macrófagos e MEM para os testes com células tumorais. Foram empregadas concentrações de 100-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação da viabilidade celular frente a culturas de macrófagos e de 140-20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os testes com células tumorais.

Preparo da solução-mãe de cisplatina

Um volume de 5000 μL da solução-mãe de cisplatina foi obtido dissolvendo-se 1500 μL da solução de cisplatina em 3500 μL de meio de cultura RPMI para os testes com macrófagos e MEM para os testes com células tumorais. Foram empregadas concentrações de 60-15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação da viabilidade celular frente a culturas de macrófagos e de 40-5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os testes com células tumorais.

3.4.2 Testes biológicos com macrófagos

Animais

Foram utilizados camundongos não isogênicos Swiss machos de 6 semanas, pesando entre 18 e 25 g, fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – campus de Araraquara. Os animais foram mantidos em gaiolas de policarbonato, com água e ração Purina® *ad libitum* em local climatizado (Temperatura = $23 \pm 2^\circ \text{C}$, Umidade relativa do ar = $56 \pm 2\%$), com controle de claro e escuro a cada período de 12 h.

Obtenção de macrófagos do exsudato peritoneal

Os procedimentos foram seguidos conforme descrito na literatura, com pequenas modificações⁷⁶. Os animais foram previamente inoculados intraperitonealmente com 3,0 mL de tioglicolato de sódio a 3%. Após decorridos 3 a 4 dias de estímulo, eles foram sacrificados em atmosfera de CO_2 . Logo em seguida expôs-se o peritônio abrindo-se a pele do animal, no qual inoculou-se 5,0 mL de solução salina tamponada de fosfato estéril com pH 7,2 e fez-se leve massagem manual no peritônio. As células foram colhidas do peritônio com a mesma seringa e dispensadas em tubo cônico estéril para o preparo da suspensão celular. Esta suspensão foi centrifugada de 3 a 4 vezes a 2000 rpm durante 5 min., separando assim, as

células do exsudato peritoneal. As células foram ressuspensas em meio de cultura RPMI suplementado com 5% de soro fetal bovino, 1 U mL⁻¹ de estreptomicina, 1 U mL⁻¹ de penicilina e 5.10⁻² mol L⁻¹ de β-mercaptoetanol, sendo então assim designado como RPMI Completo (RPMI-1640-C). Em seguida, as células foram contadas em câmara hemocitométrica tipo Neubauer, empregando corante vital líquido de Lázarus, sendo ajustado à concentração de 5 x 10⁶ células mL⁻¹ em meio de RPMI Completo para os testes de viabilidade celular.

Determinação da viabilidade celular

Da suspensão de macrófagos peritoneais em meio RPMI, ajustados a uma concentração de 5x10⁶ células mL⁻¹, foram adicionados 100 µL em cada poço de placas para cultivo de tecidos de 96 poços (Corning). Sobre essas células, foram adicionados em triplicata, 100 µL das soluções dos compostos HdmiPz, **1-4** e cisplatina nas diferentes concentrações, em µmol L⁻¹, a serem testadas e 100 µL de RPMI completo como controle de células. A incubação das placas foi feita durante 24 h em estufa a 37 °C, com tensão constante de 7,5% de CO₂. Após esse período os sobrenadantes das culturas foram descartados e 100 µL de uma solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio (MTT) diluído em tampão PBS a 5 mg mL⁻¹ e posteriormente em meio RPMI-1640-C na proporção 1:5, foram adicionados em cada poço da placa, que foi incubada por 3 h (37 °C, 7,5 % de CO₂). O sal de tetrazólio, nessas condições, é metabolizado pelas proteinases mitocondriais das células vivas formando cristais de formazana. Após a incubação foi adicionado 100 µL de isopropanol para solubilizar os cristais. A leitura da absorbância foi realizada no fotocolorímetro multicanal UV-Vis Multiscan Ascent (Labsystems) a 540 nm com filtro de referência a 620 nm.

Os valores correspondentes à concentração que reduz em 50% a viabilidade celular (IC₅₀) dos compostos foram quantificados através da regressão linear de uma curva dose-resposta (Concentração da Amostra x Viabilidade Celular), realizada com 95% de confiabilidade. A equação da reta do tipo, Y= A + BX origina os valores de IC₅₀, na qual Y = Absorbância; X = Concentração.

3.4.3 Testes biológicos com células tumorais

Linhagens celulares

As linhagens tumorais foram cedidas pela Dr^a. Elisa Bal de Kier Joffé, do Instituto de Oncologia Angel H. Roffo – Buenos Aires – Argentina. Foram utilizadas as linhagens celulares tumorais murinas de mama (LM3) e de pulmão (LP07).

O cultivo celular foi mantido em meio MEM (Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de gentamicina, em estufa a 37 °C, com atmosfera úmida e tensão constante de 7,5% de CO₂. O número de células foi determinado pela contagem em câmara hemocitométrica tipo Neubauer (Boeco), utilizando corante azul de Tripán, a 0,04% em PBS, e ajustado a uma concentração de 5×10^4 células mL⁻¹ em meio MEM.

Determinação da viabilidade celular

Foram adicionados 200 μL das células tumorais ajustadas em cada poço de placas de 96 poços. Após 24 h de incubação, período necessário para as células aderirem à placa, foram colocados 200 μL dos compostos investigados em cada poço. Após incubação por mais 24 h, as células foram expostas ao MTT por 3 h. Depois, o conteúdo da placa foi novamente vertido e 100 μL de álcool isopropílico (Mallinckrodt) foram adicionados a cada orifício para solubilizar os cristais de formazana formados. A leitura da absorbância foi realizada em fotocolorímetro UV/Visível (Multiskan Ascent, Labsystems), em comprimento de onda de 540 nm e filtro de referência 620 nm.

Os valores correspondentes à concentração que reduz em 50% a viabilidade celular (IC₅₀) dos compostos foram quantificados através da regressão linear de uma curva dose-resposta (Concentração da Amostra x Viabilidade Celular), realizada com 95% de confiabilidade. A equação da reta do tipo, $Y = A + BX$ origina os valores de IC₅₀, na qual $Y =$ Absorbância; $X =$ Concentração.

3.5 Métodos Instrumentais

3.5.1 Medidas de temperatura de fusão ou decomposição

Os intervalos de temperatura de fusão foram medidos utilizando-se um aparelho MICROQUÍMICA modelo MQAPF - 302.

3.5.2 Espectroscopia da absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados no espectrofotômetro NICOLET modelo SX-FT Impact 400, na região de 4000 – 400 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , utilizando pastilha de KBr.

3.5.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram registrados no Espectrômetro multinuclear VARIAN, modelo INOVA 500, operando a 500 MHz para hidrogênio. Utilizou-se $\text{dms}\text{-d}_6$ para dissolução das amostras.

3.5.4 Análise elementar de C, H, N

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados no analisador automático Perkin Elmer modelo 240, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo-SP (IQ-USP).

3.5.5 Termogravimetria

As curvas TG e DTA foram obtidas no equipamento SDTQ 600, fabricado pela TA Instruments. Cada amostra foi disposta em cadinho de α -alumina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 900 $^{\circ}\text{C}$, com taxa aquecimento de 20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sob atmosfera de ar sintético e fluxo de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

3.5.6 Difração de raios-X – Método do pó

Os difratogramas de raios X foram registrados no Difratômetro Siemens, modelo D-5000, que operou utilizando radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,544 \text{ \AA}$). A amostra é exposta à radiação sob ângulos $5^{\circ} \leq 2\theta \leq 70^{\circ}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Compostos contendo o ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol (HdmIPz)

4.1.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 20 representa os espectros no IV do ligante HdmIPz e dos complexos obtidos. As freqüências vibracionais presentes nos espectros no IV dos compostos foram atribuídas e encontram-se listadas na Tabela 5.

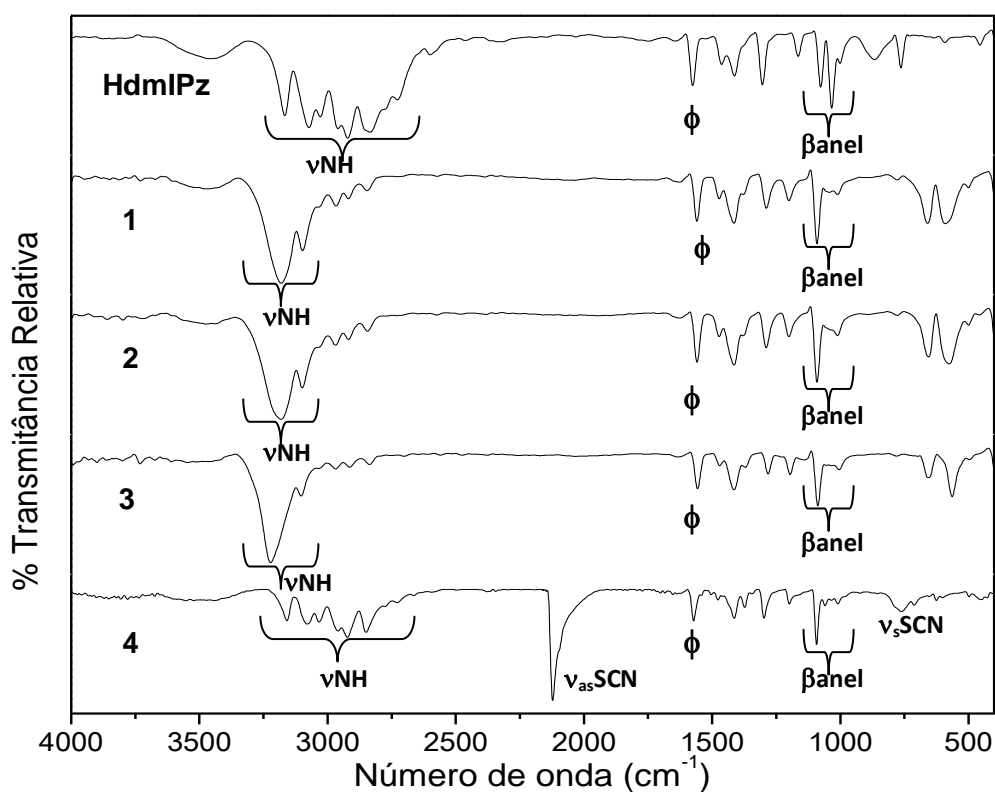


Figura 20. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm^{-1} do IV para o ligante livre HdmIPz e os complexos 1-4.

Tabela 5. Dados obtidos por espectroscopia no IV do ligante livre HdmlPz e dos complexos **1-4** e suas respectivas atribuições.

Composto					Atribuição
HdmlPz	1	2	3	4	
3170-3000 <i>F</i>	3180-3090 <i>F</i>	3190-3090 <i>F</i>	3230-3100 <i>F</i>	3160-3080 <i>F</i>	ν NH
2960-2800 <i>F</i>	2970-2840 <i>f</i>	2970-2840 <i>f</i>	2970-2830 <i>f</i>	2960-2850 <i>F</i>	ν CH ₃
-	-	-	-	2121 <i>F</i>	ν_{as} SCN
1575 <i>m</i>	1560 <i>m</i>	1558 <i>m</i>	1558 <i>m</i>	1571 <i>m</i>	ϕ (“respiração do anel”)
1463 <i>m</i>	1473 <i>f</i>	1473 <i>f</i>	1469 <i>f</i>	1477 <i>f</i>	vanel + β NH
1413 <i>m</i>	1415 <i>m</i>	1413 <i>m</i>	1413 <i>m</i>	1413 <i>m</i>	δ_{as} CH ₃
-	1379 <i>om</i>	1379 <i>om</i>	1371 <i>om</i>	1373 <i>om</i>	vanel + β NH
1303 <i>m</i>	1288 <i>m</i>	1290 <i>f</i>	1282 <i>f</i>	1298 <i>m</i>	β NH
1164 <i>f</i>	1201 <i>f</i>	1201 <i>mf</i>	1195 <i>f</i>	1199 <i>f</i>	vanel + β NH
1076 <i>m</i> , 1033 <i>F</i>	1091 <i>m</i> , 1016 <i>f</i>	1091 <i>m</i> , 1010 <i>f</i>	1087 <i>m</i> , 1004 <i>f</i>	1093 <i>m</i> , 1010 <i>f</i>	β anel
-	-	-	-	761 <i>m</i>	ν_s SCN
865 <i>f</i>	659 <i>m</i>	655 <i>m</i>	655 <i>f</i>	624 <i>f</i>	γ NH
763 <i>m</i>	590 <i>m</i>	574 <i>m</i>	563 <i>m</i>	599 <i>f</i>	γ vanel + γ NH

ν_{as} =estiramento assimétrico, ν_s =estiramento simétrico, ϕ =“respiração do anel”, β =deformação no plano, δ_{as} =deformação angular assimétrica no plano, γ = deformação fora do plano. Intensidades: *F* = forte, *mF* = média-forte, *m* = média, *mf* = média-fraca, *f* = fraca, *om* = ombro.

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é de fundamental importância na determinação do modo de coordenação dos pirazóis. Alguns modos vibracionais são relevantes para se determinar de qual maneira o pirazol se coordena ao átomo metálico, principalmente os modos ν NH e “respiração do anel” (ϕ)⁷⁷⁻⁷⁹. A presença da banda ν NH no espectro indica a coordenação do ligante no modo neutro, visto que quando o ligante se coordena de modo aniônico, essa banda não está presente no espectro. A “banda respiração do anel” (ϕ) também auxilia no diagnóstico dos modos de coordenação dos pirazóis. Estudos mostraram que esta banda, observada na região de 1596-1533 cm⁻¹ no caso dos pirazóis livres, desloca-se para 1572-1512 cm⁻¹ quando o pirazol se coordena de modo monodentado. Quando o ligante atua no modo exobidentado ela se desloca para frequências ainda mais baixas (1520-1490 cm⁻¹) e ocorre também o desaparecimento da banda ν NH⁸⁰.

Os dados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho obtidos para os compostos sugerem a coordenação monodentada do 3,5-dimetil-4-iodopirazol no caso dos complexos **1**, **2** e **3**. Observa-se a banda na região de 3200 cm⁻¹, atribuída ao modo ν NH, e

além disso, pode notar-se o deslocamento da banda ϕ (“respiração do anel”) de 1575 cm^{-1} (HdmlPz) para 1560 (**1**) e 1558 cm^{-1} (**2** e **3**).

No caso do complexo **4**, observa-se que em seu espectro no IV, as bandas associadas ao ligante HdmlPz não sofreram alterações muito significativas. Dessa forma, de acordo com os dados de espectroscopia no IV, o heterociclo não teria se coordenado ao Pd(II). Entretanto, foi possível evidenciar a coordenação com a técnica de ressonância magnética nuclear, como será visto posteriormente. Os dados de espectroscopia no IV, no entanto, forneceram informações valiosas a respeito do modo de coordenação do grupo tiocianato.

Modos de coordenação do íon tiocianato

O íon tiocianato possui vários modos de coordenação. Ele pode coordenar-se a um único metal (coordenação terminal) ou a dois ou mais centros metálicos (coordenação em ponte). Se os dois centros metálicos forem unidos por um único e mesmo átomo do íon, observa-se a coordenação μ -1,1 ou end-on. Caso os dois metais sejam conectados pelos átomos presentes em cada extremidade do íon, tem-se a coordenação μ -1,3 ou end-to-end (Figura 21).

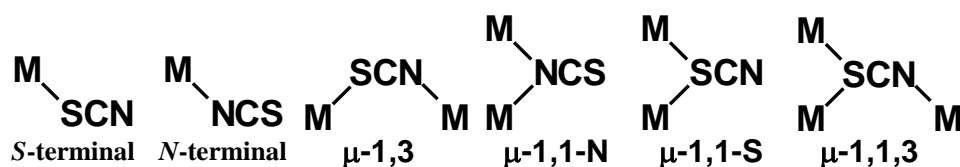


Figura 21. Modos de coordenação mais comuns do íon tiocianato (NCS⁻)

Os principais modos vibracionais no espectro no IV do íon NCS⁻ são: estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{SCN})$, estiramento simétrico $\nu_s(\text{SCN})$ e deformação δNCS [81,82]. A presença das bandas $\nu_{as}(\text{SCN})$ e $\nu_s(\text{SCN})$ na região de $2060\text{-}2090\text{ cm}^{-1}$ e $830\text{-}854\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, indica que o íon se liga ao metal pelo átomo de nitrogênio. Caso as bandas encontrem-se em $2100\text{-}2120\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{as}(\text{SCN})$) e $696\text{-}711\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_s(\text{SCN})$), a coordenação ocorre pelo átomo de enxofre. Atuando como ponte, a banda $\nu_{as}(\text{SCN})$ desloca-se para regiões acima de 2130 cm^{-1} , enquanto que a $\nu_s(\text{SCN})$ é pouco afetada neste modo de coordenação. Estas informações estão resumidas na Tabela 6.

Tabela 6. Intervalos aproximados dos modos normais de vibração (cm^{-1}) para os diferentes tipos de coordenação do tiocianato.

Coordenação	$\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$	$\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$	δNCS
NCS^-	2053	746	486-471
M-NCS	2090-2060	854-830	485-475
M-SCN	2120-2100	711-696	470-430
M-NCS-M	2165-2130	800-750	470-440

Assim, a presença de uma absorção intensa no IV em 2121 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{SCN}$) e uma banda de média intensidade em 761 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{SCN}$), como no complexo **4**, é um forte indicativo da coordenação do íon tiocianato no modo terminal via átomo de S.

4.1.2 Espectroscopia de RMN de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H do ligante HdmIPz e dos complexos **1-4** estão representados pelas Figuras 22 e 23, respectivamente. Os valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H estão contidos na Tabela 7. Todos os espectros foram obtidos usando dmsO-d_6 como solvente.

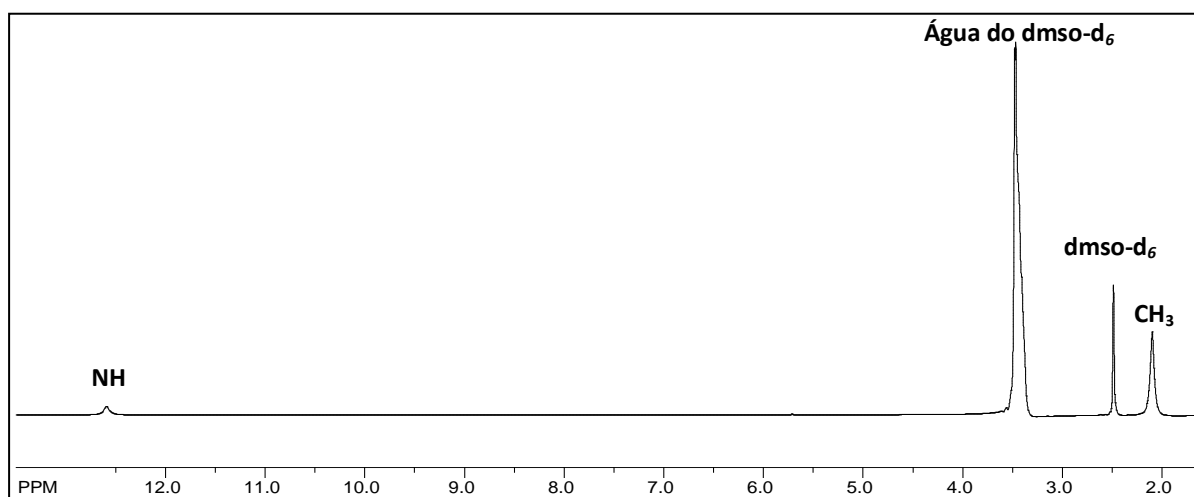


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol

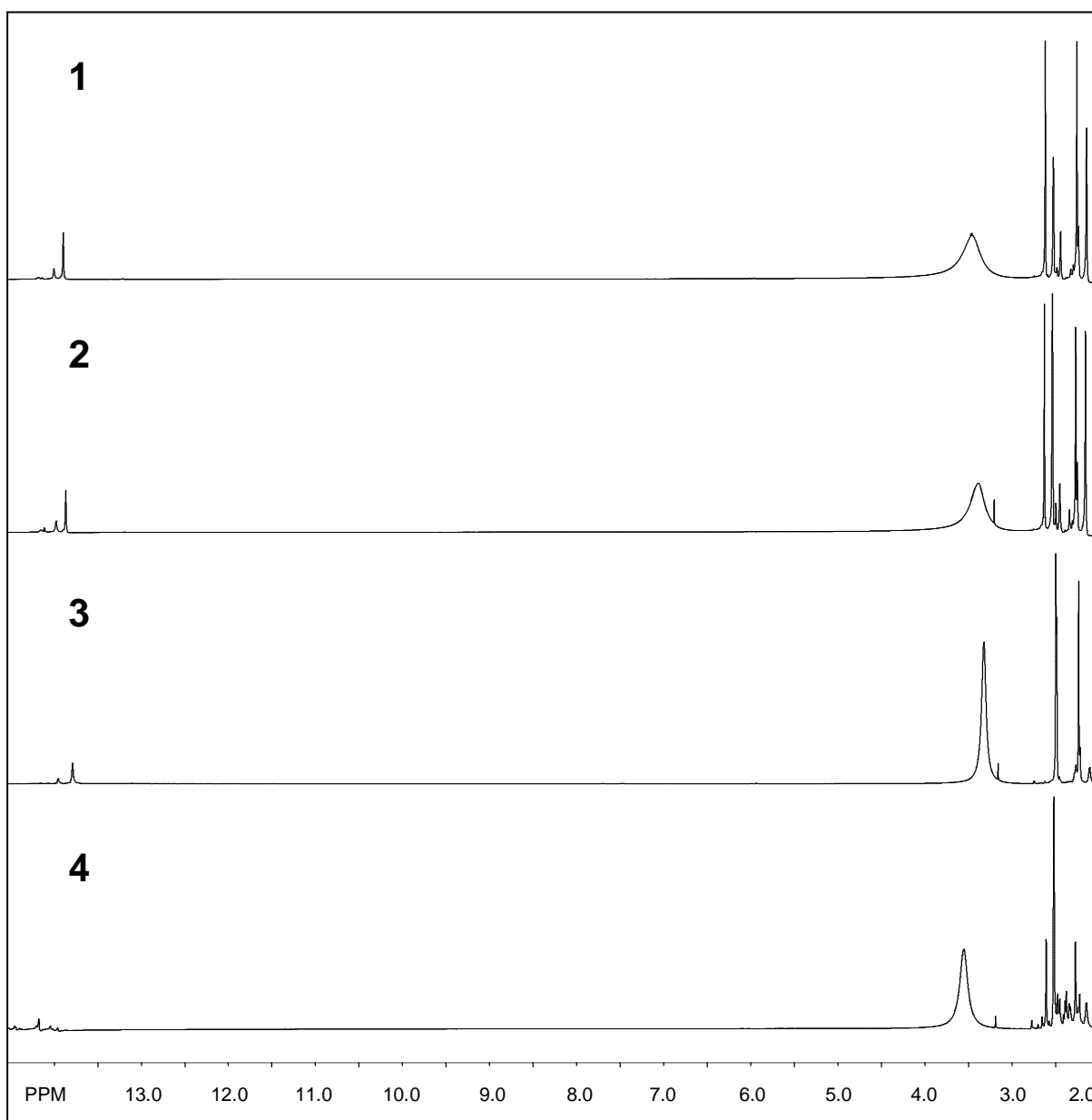


Figura 23. Espectros de RMN de ^1H para os compostos 1-4

Tabela 7. Dados de RMN de ^1H para o ligante livre Hdmpz e os complexos 1-4

Atribuições	Composto				
	Hdmpz	1	2	3	4
3-CH ₃	2,09	2,61	2,61	2,53	2,61
5-CH ₃	2,09	2,25	2,25	2,27	2,27
NH	12,60	13,87	13,87	13,78	14,18

A análise dos espectros será feita de acordo com o esquema de numeração indicado na Figura 24.

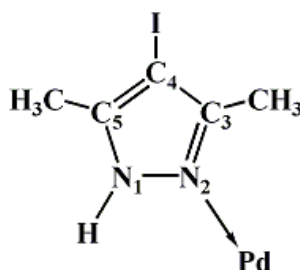


Figura 24. Esquema de numeração adotado para a análise dos espectros de RMN de HdmIPz e complexos 1-4

O espectro de RMN de ^1H do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol apresenta apenas dois sinais, em δ 12,60 correspondente ao hidrogênio do N-H e em δ 2,09 que corresponde aos hidrogênios das duas metilas, magneticamente equivalentes. Nos complexos, a coordenação monodentada do HdmIPz neutro é evidenciada pela presença do sinal característico de N-H na região de 13,8-14,2 ppm. A interação entre o paládio(II) e o ligante pirazólico resulta na perda da equivalência magnética dos grupos metílicos 3- CH_3 e 5- CH_3 . O grupo metílico 3- CH_3 sofre maior desproteção devido à sua proximidade ao sítio de coordenação, apresentando sinais na região de 2,53-2,61 ppm. Já o grupo 5- CH_3 apresenta sinal em campo mais alto (δ 2,27). A existência de outro conjunto de sinais nos espectros indica a presença de pelo menos um isômero em solução⁵⁷.

Ao contrário dos resultados obtidos via espectroscopia no IV, a espectroscopia de RMN forneceu resultados conclusivos do comportamento do HdmIPz no complexo **4**. A coordenação do ligante neutro de forma monodentada foi diagnosticada no espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HdmIPz})_2]$ pelo aparecimento do sinal típico do grupo N-H pirrólico em δ 14,18. Além disso, a perda da equivalência magnética dos grupos metílicos das posições 3- CH_3 e 5- CH_3 , que ocorre como consequência da coordenação do ligante ao metal, é evidenciada pela presença dos singletos em δ 2,27 e δ 2,61, atribuídos aos hidrogênios das metilas.

4.1.3 Espectroscopia de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$

Os espectros de RMN de ^{13}C do ligante Hdmpz e dos complexos **1-4** estão representados pelas Figuras 25 e 26, respectivamente. Os valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C estão contidos na Tabela 8. Todos os espectros foram obtidos usando $\text{dms}\text{-d}_6$ como solvente.

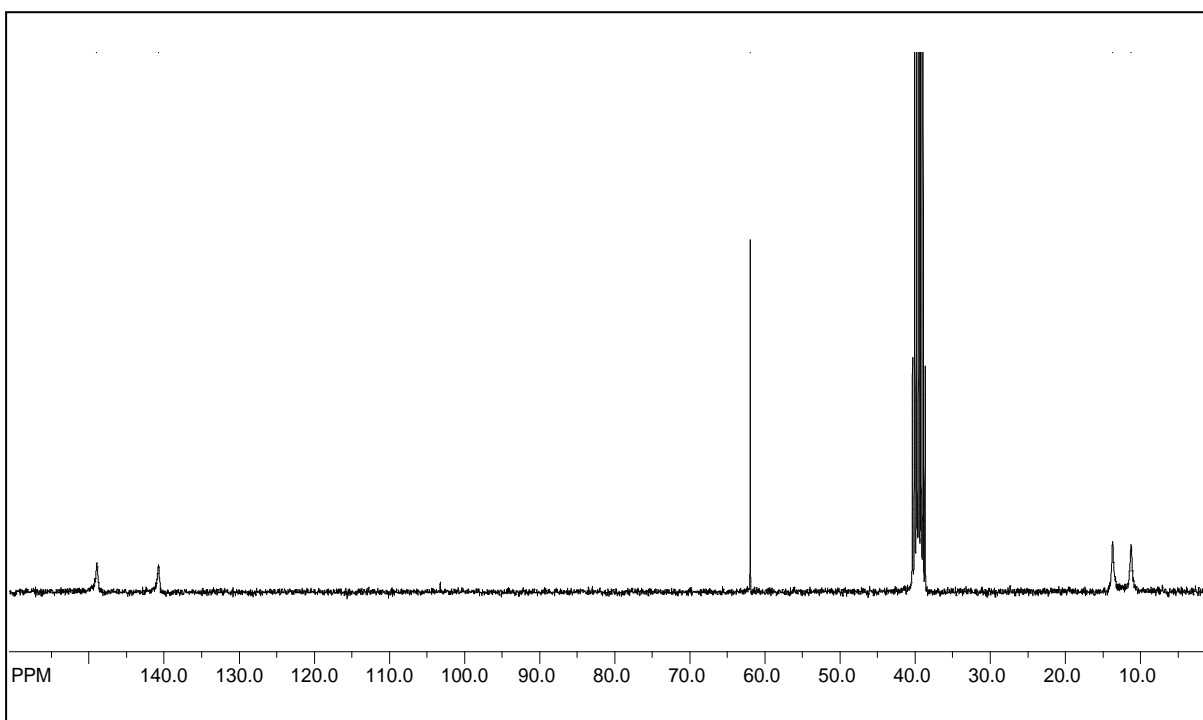


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C do ligante 3,5-dimetil-4-iodopirazol

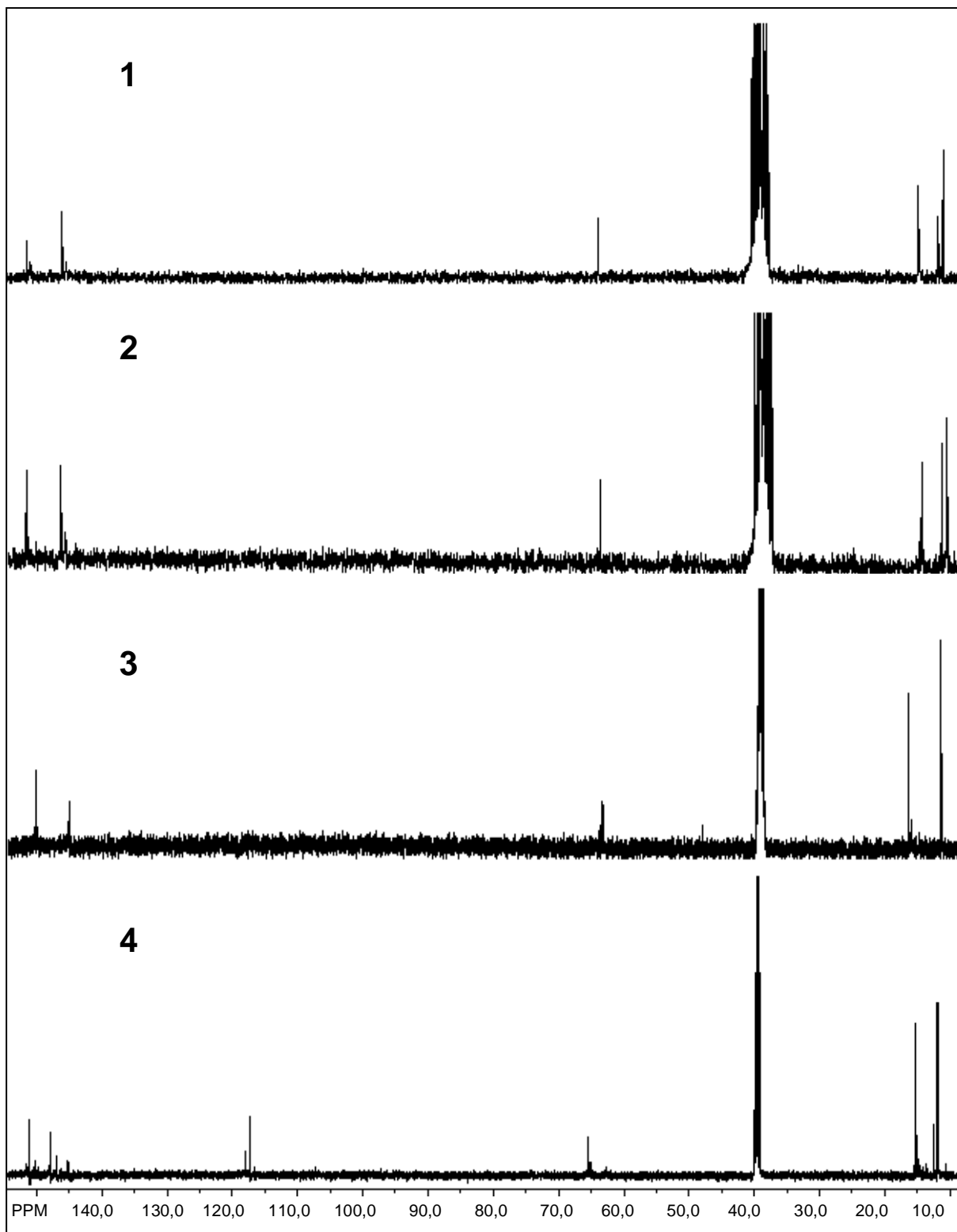


Figura 26. Espectros de RMN de ^{13}C para os complexos 1-4

Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C para o ligante HdmpPz e os compostos 1-4

Atribuições	Composto				
	HdmpPz	1	2	3	4
3-CH ₃	13,73	15,55	15,55	16,65	15,31
5-CH ₃	11,26	11,77	11,77	11,71	11,85
C-3	148,97	150,91	150,94	151,21	151,08
C-4	61,95	64,24	64,21	63,87	65,53
C-5	140,78	145,67	145,67	145,99	147,95
SCN	-	-	-	-	117,23

O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante apresentou sinais em δ 11,26 e 13,73 referentes aos grupos metílicos. O C-4 apresenta um sinal em δ 61,95. Os sinais em δ 140,78 e 148,97 são atribuídos aos carbonos C-5 e C-3, respectivamente.

Nos espectros dos complexos, pode-se observar que todos os sinais estão deslocados para campo mais baixo comparativamente aos do ligante livre, o que é atribuído aos efeitos de desproteção proporcionados pelo deslocamento da densidade eletrônica ao paládio, que ocorre com a coordenação do HdmpPz ao metal. No caso do complexo **4**, o sinal referente ao ^{13}C do íon SCN^- em δ 117,23 ocorre em uma região característica de S-tiocianato-complexos^{83,84}.

4.1.4 Análise Termogravimétrica

Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HdmpPz})_2]$ (**1**)

A curva TG referente ao complexo **1**, Figura 27, mostra que o composto é termicamente estável até 251 °C, ocorrendo, então, o início de sua decomposição térmica. A perda dos dois ligantes pirazólicos e dos dois átomos de cloro ($\Delta m_{\text{calc.}} = 82,22\%$) ocorre entre 251-556 °C, onde é observada uma perda de massa de 82,58% da massa total, associada a um pico endotérmico em 288 °C e um exotérmico em 390 °C. Nesta etapa ocorrem três perdas sucessivas, porém não foi possível atribuir perdas parciais dos ligantes. Na segunda etapa (556-812 °C), nota-se um ganho de massa (2,88%), atribuído à incorporação de O_2 ($\Delta m_{\text{calc.}} = 2,57\%$), formando PdO. A decomposição do PdO a Pd é observada na última perda de massa (3,01%) entre 812 e 868 °C ($\Delta m_{\text{calc.}} = 2,57\%$), acompanhada de um pico

endotérmico em 830 °C. O resíduo final (16,46%) está de acordo com a porcentagem de paládio metálico calculada para **1** (17,14%).

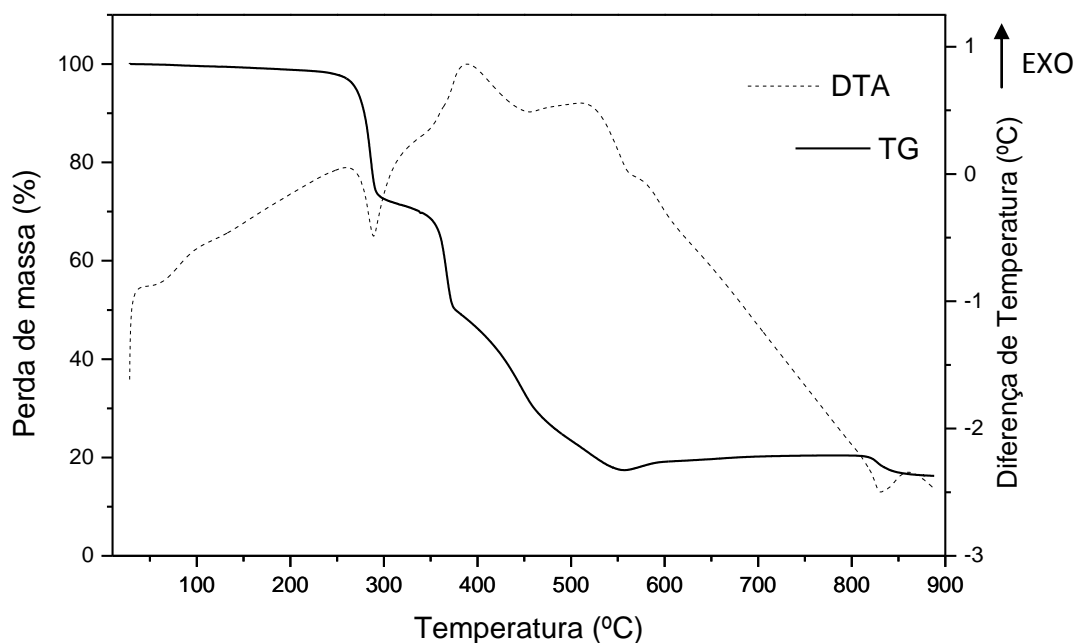


Figura 27. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**1**)

Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdBr}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**2**)

A curva TG do complexo **2**, Figura 28, mostrou-se similar à do complexo **1**, visto que na etapa de perda dos ligantes ocorreram três perdas sucessivas. Novamente não foi possível fazer a atribuição das perdas parciais dos ligantes. Nesta etapa (225-562 °C) a saída de dois HdmIPz e dois átomos de bromo, representa uma perda de massa de 84,96% ($\Delta m_{\text{calc.}} = 85,00\%$). A este evento estão associados um pico endotérmico em 290 °C e um pico exotérmico em 389 °C. A segunda etapa (562-811 °C) é acompanhada de um ganho de massa de 2,39%, o que indica a incorporação de O_2 com sucessiva formação de PdO ($\Delta m_{\text{calc.}} = 2,25\%$). Em seguida (811-865 °C), ocorre mais uma perda de massa (3,09%) levando à formação do resíduo de Pd ($\Delta m_{\text{calc.}} = 2,25\%$). Na curva DTA, este processo está associado a um pico endotérmico em 827 °C.

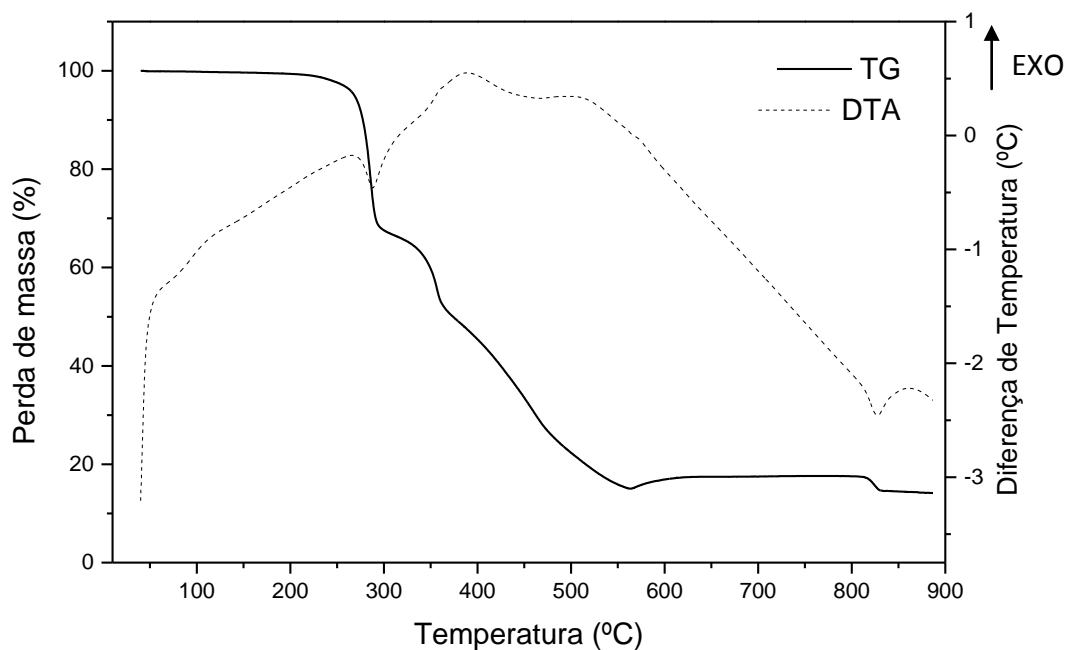


Figura 28. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdBr}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**2**)

*Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdI}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**3**)*

O composto **3**, cujas curvas TG e DTA estão na Figura 29, apresenta-se estável até 173 °C. Os ligantes coordenados ao metal ($\Delta m_{\text{calc.}} = 86,76\%$) são perdidos entre 173-471 °C, o que representa uma perda de massa de 85,66%. De acordo com as curvas, observa-se que nesta etapa ocorre uma perda entre 173-252 °C e outra entre 252-471 °C. Esta primeira perda leva à formação de um intermediário estável, porém não é possível atribuí-lo sem que ele seja isolado e caracterizado. A incorporação de O_2 na etapa seguinte (471-744 °C) leva a um ganho de massa de 1,14% ($\Delta m_{\text{calc.}} = 1,99\%$). Na terceira etapa (744-820 °C), o PdO formado é reduzido a Pd, com perda de massa de 2,66% e acompanhado de um pico endotérmico em 764 °C na curva DTA ($\Delta m_{\text{calc.}} = 1,99\%$).

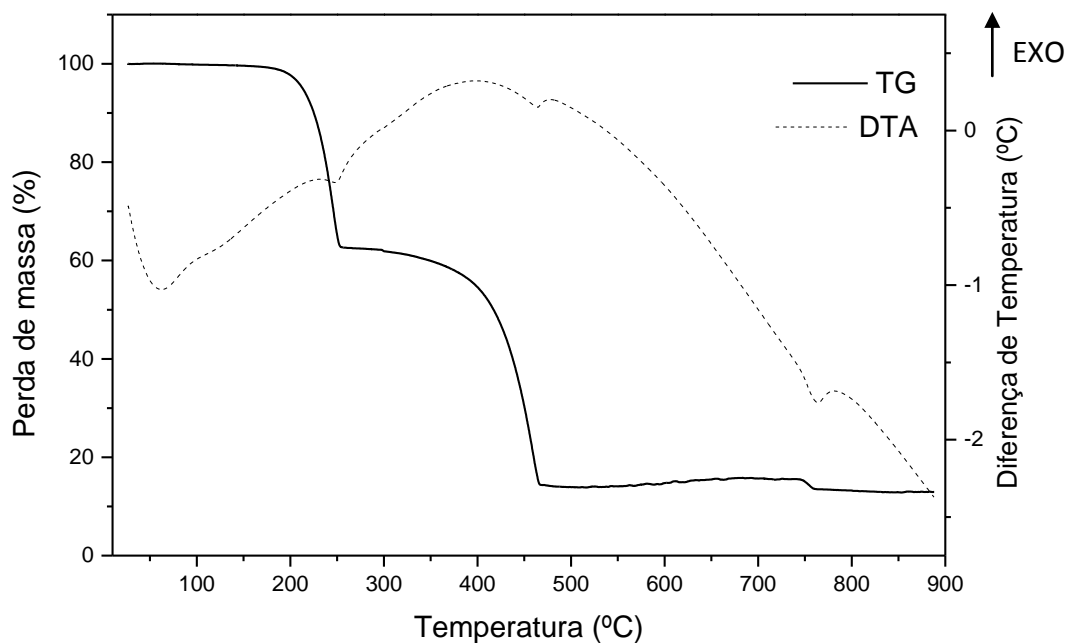


Figura 29. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdI}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**3**)

*Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**4**)*

A curva TG do complexo **4**, Figura 30, revela a decomposição térmica do composto em três etapas, iniciando em 137 °C. A perda dos dois ligantes pirazólicos e dos dois grupos tiocianato ocorre na primeira etapa (137-605 °C). A curva DTA para esta etapa indica que ela está associada a dois picos exotérmicos em 392 e 577 °C. O ganho de massa de 2,36% na segunda etapa (605-806 °C) indica a incorporação de O_2 e formação de PdO. A terceira etapa (806-865 °C) mostra que o O_2 incorporado está sendo perdido e o PdO se decompõe em Pd. Um pico endotérmico em 828 °C está associado a este evento. A porcentagem encontrada no resíduo final (15,45%) está de acordo com o esperado para o teor de paládio metálico (15,98%).

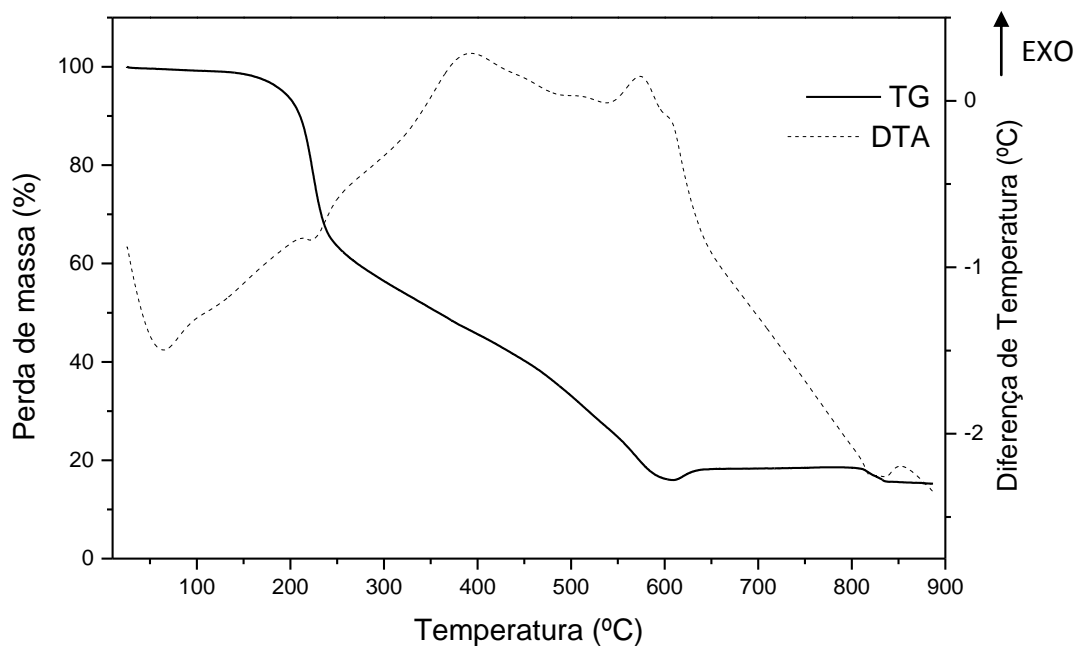


Figura 30. Curvas TG/DTA do composto [Pd(SCN)₂(HdmIPz)₂] (4)

As curvas termogravimétricas (TG) das novas espécies obtidas mostram que as decomposições levam à formação de paládio metálico após atingir a temperatura aproximada de 800 °C, na qual o PdO originado sofre decomposição.

A partir das curvas TG dos compostos, é proposta a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica, considerando suas temperaturas iniciais de decomposição:



O resíduo final das termodecomposições foi identificado como paládio metálico (ficha nº 05-0681) a partir da técnica de difração de raios-X pelo método do pó, como ilustrado na Figura 31. Esta figura é representativa também para os demais resíduos formados.

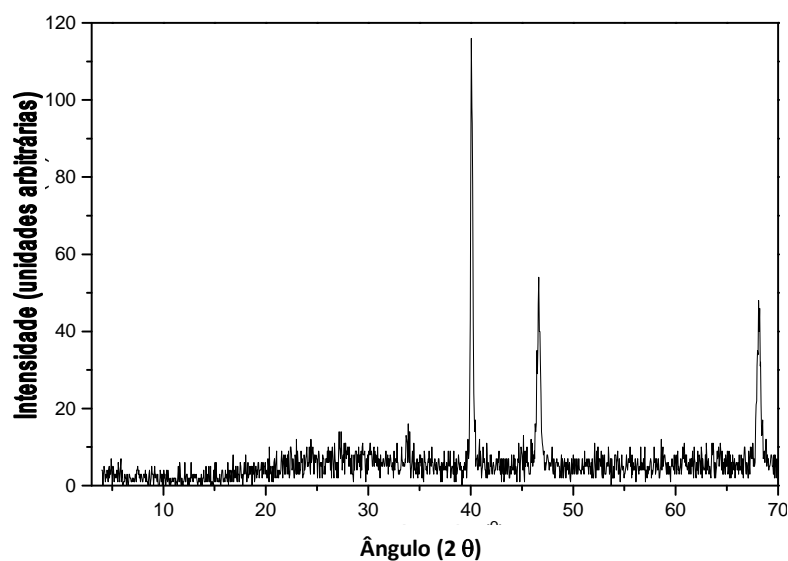


Figura 31. Difratograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do complexo 1

Um resumo dos dados termoanalíticos é apresentado na Tabela 9.

Tabela 9. Dados de análise térmica para os compostos 1-4.

Complexo	Etapa	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$		Picos DTA/ $^\circ\text{C}$		Atribuição
			Obt.	Calc.	endo	exo	
1	1	251-556	-82,58	-82,88	288	390	-2Cl^- , -2HdmIPz
	2	556-812	2,88	2,57	-	-	$0,5\text{O}_2$
	3	812-868	-3,01	-2,57	830	-	$-0,5\text{O}_2$
	Resíduo		16,46	17,14			
2	1	225-562	-84,96	-85,00	290	389	-2Br^- , -2HdmIPz
	2	562-811	2,39	2,25	-	-	$0,5\text{O}_2$
	3	811-865	-3,09	-2,25	827	-	$-0,5\text{O}_2$
	Resíduo		14,33	14,99			
3	1	173-471	-85,66	-86,76	-	-	-2I^- , -2HdmIPz
	2	471-744	1,14	1,99	-	-	$0,5\text{O}_2$
	3	744-820	-2,66	-1,99	764	-	$-0,5\text{O}_2$
	Resíduo		12,91	13,24			
4	1	137-605	-83,98	-84,02	-	392, 577	-2SCN^- , -2HdmIPz
	2	605-806	2,36	2,40	-	-	$0,5\text{O}_2$
	3	806-865	-2,82	-2,40	828	-	$-0,5\text{O}_2$
	Resíduo		15,45	15,98			

4.1.5 Proposição Estrutural

De acordo com os dados obtidos pela espectroscopia de absorção no IV, espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , em correlação aos resultados de análise elementar, sugere-se para os compostos **1-4** estruturas monoméricas em que a geometria de coordenação ao redor do átomo de paládio é quadrado-planar, com seus sítios de coordenação ocupados por dois átomos de cloro (**1**), bromo (**2**), iodo (**3**) ou dois grupos S-tiocianato (**4**) e duas moléculas de 3,5-dimetil-4-iodopirazol, provavelmente arranjadas em uma configuração *trans* para minimizar as interações de repulsão⁸⁵, conforme é ilustrado na Figura 32.

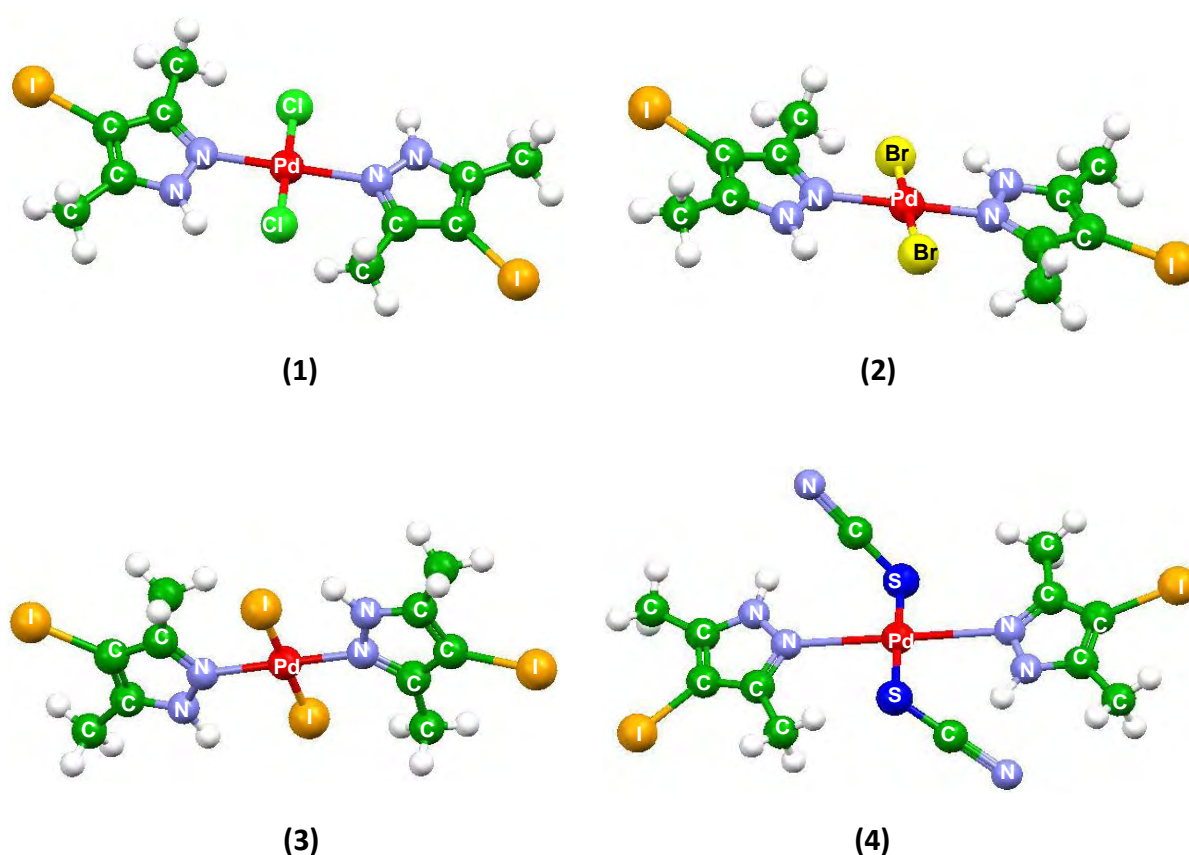


Figura 32. Estruturas propostas para os compostos $[\text{PdCl}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**1**), $[\text{PdBr}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**2**), $[\text{PdI}_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**3**), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HdmIPz})_2]$ (**4**).

4.2 Compostos contendo o ligante 4-metilpirazol (HmPz)

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros no IV do ligante livre HmPz e dos complexos **5-8** estão representados na Figura 33. Na Tabela 10 estão listadas as atribuições das frequências vibracionais presentes nos espectros no IV.

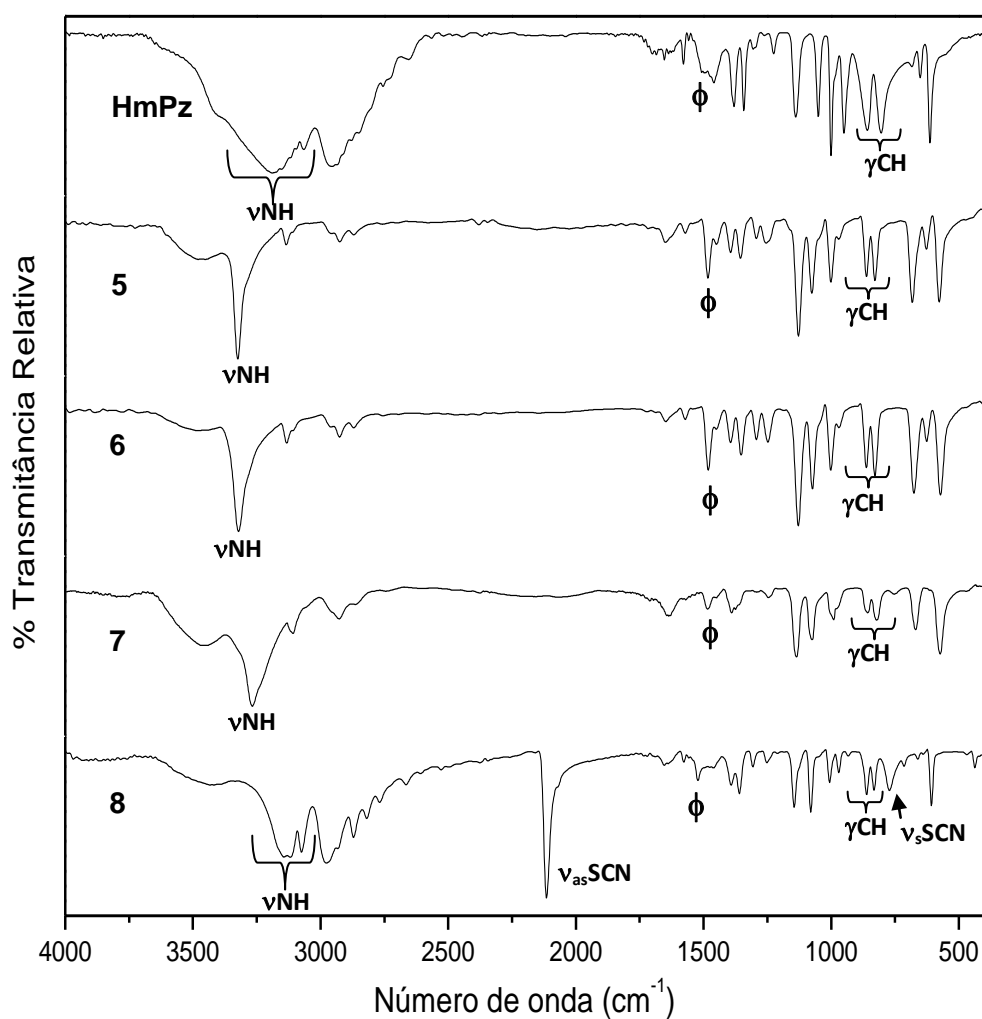


Figura 33. Espectros vibracionais na região de 4000-400 cm^{-1} do IV para o ligante livre HmPz e os complexos **5-8**

Tabela 10. Dados obtidos por espectroscopia no IV do ligante livre HmPz e dos complexos 5-8 e suas respectivas atribuições

Composto					Atribuição
HmPz	5	6	7	8	
3190 <i>F</i>	3325 <i>F</i>	3321 <i>F</i>	3269 <i>F</i>	3134 <i>F</i>	ν NH
3066 <i>mF</i>	3134 <i>F</i>	3132 <i>m</i>	3111 <i>m</i>	3074 <i>F</i>	ν CH
2954 <i>F</i> , 2655 <i>f</i>	2925 <i>f</i> , 2869 <i>f</i>	2925 <i>f</i> , 2869 <i>f</i>	2925 <i>f</i> , 2864 <i>f</i>	2977-2665 <i>F</i>	ν_{as} CH ₃ , ν_s CH ₃
-	-	-	-	2115 <i>F</i>	ν_{as} SCN
1577 <i>f</i>	1571 <i>f</i>	1571 <i>f</i>	1571 <i>f</i>	1577 <i>f</i>	ϕ (respiração do anel)
1508 <i>f</i>	1483 <i>m</i>	1481 <i>m</i>	1483 <i>f</i>	1521 <i>f</i>	vanel + β NH + β CH
1460 <i>f</i>	1450 <i>f</i>	1450 <i>f</i>	1458 <i>f</i>	1475 <i>f</i>	δ_{as} CH ₃
1380 <i>m</i>	1394 <i>f</i>	1394 <i>m</i>	1390 <i>f</i>	1392 <i>f</i>	vanel + β anel + β NH
1342 <i>m</i>	1355 <i>m</i>	1352 <i>m</i>	1363 <i>f</i>	1359 <i>f</i>	vanel + β CH + β NH
1296 <i>f</i>	1292 <i>f</i>	1292 <i>f</i>	1292 <i>f</i>	1305 <i>f</i>	β CH + vanel + β NH
1139 <i>m</i>	1128 <i>F</i>	1128 <i>F</i>	1137 <i>F</i>	1145 <i>m</i>	vanel + β CH + β NH
1051 <i>m</i>	1076 <i>m</i>	1074 <i>mF</i>	1078 <i>m</i>	1080 <i>m</i>	β CH
1001 <i>m</i> , 950 <i>F</i>	1001 <i>m</i> , 972 <i>f</i>	1001 <i>m</i> , 970 <i>f</i>	997 <i>m</i> , 970 <i>f</i>	1006 <i>f</i> , 970 <i>f</i>	β anel
858 <i>m</i> , 804 <i>m</i>	862 <i>m</i> , 829 <i>m</i>	860 <i>f</i> , 829 <i>m</i>	860 <i>f</i> , 821 <i>m</i>	860 <i>m</i> , 831 <i>f</i>	γ CH
-	-	-	-	771 <i>f</i>	ν_s SCN
651 <i>f</i> ,	682 <i>F</i> ,	675 <i>F</i> ,	671 <i>m</i> ,	661 <i>f</i> ,	γ anel + γ NH
613 <i>F</i>	576 <i>F</i>	578 <i>F</i>	574 <i>F</i>	607 <i>m</i>	

ν_{as} =estiramento assimétrico, ν_s =estiramento simétrico, ϕ =respiração do anel, β =deformação no plano, δ_{as} =deformação angular assimétrica no plano, γ = deformação fora do plano. Intensidades: *F* = forte, *mF* = média-forte, *m* = média, *mf* = média-fraca, *f* = fraca, *om* = ombro.

Nos espectros no IV dos ligantes livres, o modo ν NH caracteriza-se por uma absorção larga e intensa na região de 3500-3000 cm^{-1} devido à existência de ligações de hidrogênio intermoleculares (Figura 34). Esta associação supramolecular é destruída quando os pirazóis coordenam-se de modo monodentado pelo envolvimento do par de elétrons do nitrogênio piridínico na formação da ligação coordenada. Dessa forma, nos espectros no IV dos complexos deve notar-se que as bandas ν NH tornam-se muito mais finas comparativamente àquelas observadas nos espectros dos ligantes livres.

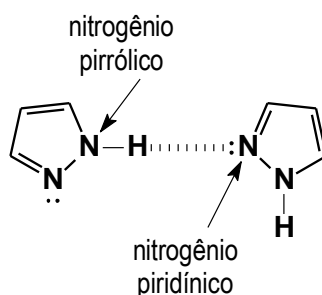


Figura 34. Ligações de hidrogênio intermoleculares presentes nos pirazóis

Além das importantes bandas referentes aos modos ν_{NH} e ϕ (respiração do anel), a coordenação mono ou bidentada dos pirazóis também é evidenciada através da banda referente à deformação angular da ligação C-H⁸⁰. No caso de ligantes pirazólicos substituídos na posição 4 do anel, aparecem duas bandas γ_{CH} na região de 850 cm⁻¹ quando a coordenação é monodentada. Se o ligante se coordenar ao centro metálico de maneira exobidentada, ocorre o aparecimento de apenas uma banda em aproximadamente 820 cm⁻¹. O ligante livre 4-metilpirazol apresenta duas bandas γ_{CH} , em 858 e 804 cm⁻¹. No complexo [PdCl₂(HmPz)₂], onde ele atua no modo monodentado, as bandas aparecem em 862 e 829 cm⁻¹. Já no complexo [Pd(μ -mPz)₂]_n, onde a forma de coordenação é exobidentada, aparece apenas uma banda γ_{CH} em 818 cm⁻¹.

A coordenação monodentada do 4-metilpirazol ao paládio nos compostos **5-8** é sugerida pela espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Nos espectros no IV dos complexos, foi observado o afinamento da banda referente ao modo ν_{NH} (aproximadamente 3200 cm⁻¹) comparada à banda do ligante livre e também o deslocamento da banda ϕ (respiração do anel) de 1577 cm⁻¹ (HmPz) para 1571 cm⁻¹ (**5**, **6** e **7**). Este modo de coordenação também é evidenciado pelo aparecimento de duas bandas γ_{CH} nos espectros dos complexos: **5** (862 e 829 cm⁻¹), **6** (860 e 829 cm⁻¹), **7** (860 e 821 cm⁻¹) e **8** (860 e 831 cm⁻¹).

No caso do complexo **8**, observa-se que em seu espectro no IV, não houve nenhuma alteração na banda de respiração do anel, porém a presença da banda ν_{NH} , bem como das duas bandas γ_{CH} , indica a coordenação monodentada do ligante 4-metilpirazol.

Ainda de acordo com os dados fornecidos pela técnica, o íon tiocianato coordenou-se ao paládio através do átomo de enxofre no composto **8**, visto que seu espectro apresentou uma absorção intensa em 2115 cm⁻¹ (ν_{asSCN}) e uma banda de média intensidade em 771 cm⁻¹ (ν_{sSCN}).

4.2.2 Espectroscopia de RMN de ¹H

Os espectros de RMN de ¹H do ligante HmPz e dos complexos **5-8** estão representados pelas Figuras 35 e 36, respectivamente. Os valores dos deslocamentos químicos de RMN de ¹H estão contidos na Tabela 11. Todos os espectros foram obtidos usando dmsO-d₆ como solvente.

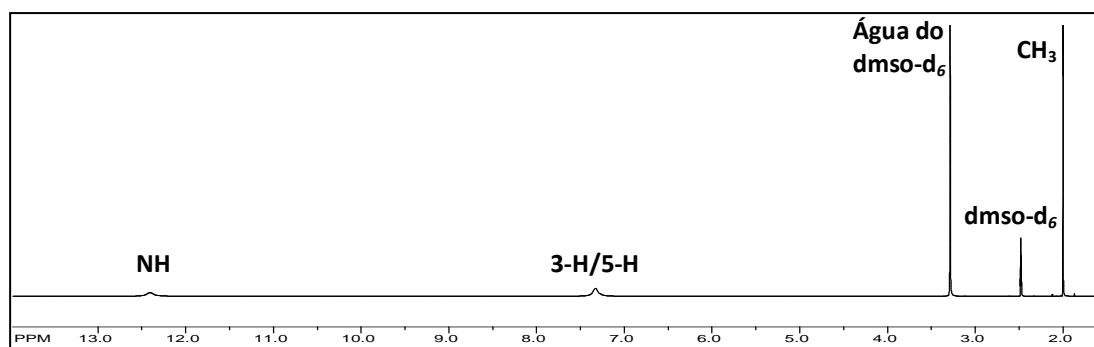
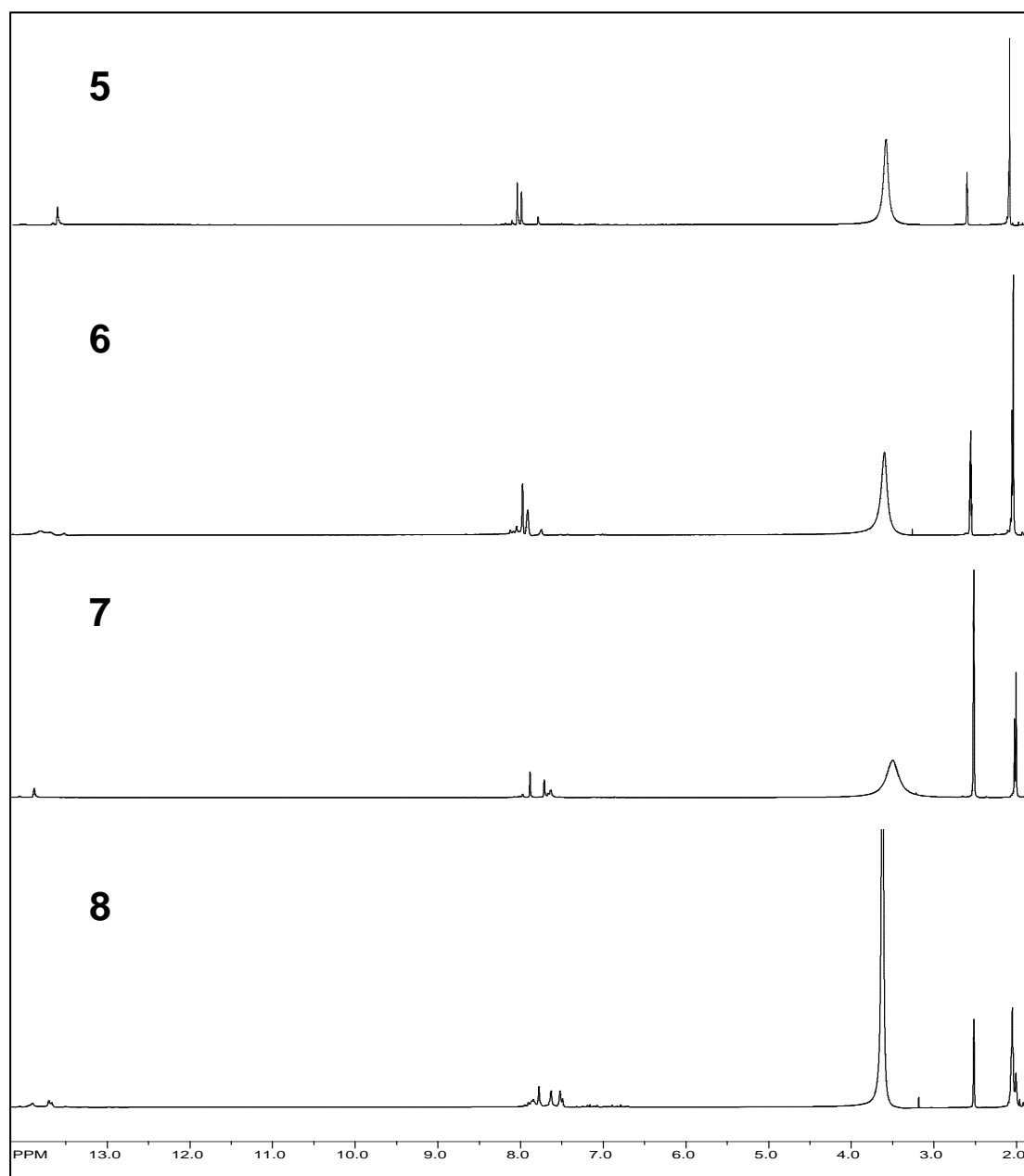
Figura 35. Espectro de RMN de ^1H do ligante 4-metilpirazolFigura 36. Espectros de RMN de ^1H para os compostos 5-8

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H para o ligante livre HmPz e os complexos 5-8

Atribuições	Composto				
	HmPz	5	6	7	8
CH ₃	1,99	2,02	2,01	1,98	2,05
3-H	7,33	7,65	7,64	7,63	7,77
5-H	7,33	7,60	7,58	7,47	7,63
NH	12,41	13,60	13,68	13,89	13,71

A Figura 37 indica o esquema de numeração utilizado para a análise dos espectros.

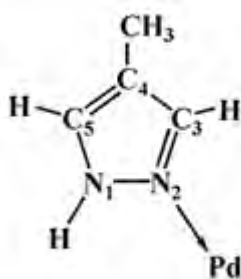


Figura 37. Esquema de numeração adotado para a análise dos espectros de RMN de HmPz e complexos 5-8

A equivalência magnética dos hidrogênios ligados aos carbonos 3 e 5, do ligante livre, é confirmada em seu espectro de RMN de ^1H pela presença de um único sinal a eles atribuído em δ 7,33. Os outros sinais presentes referem-se aos hidrogênios da metila, em 1,99 ppm, e ao grupo NH em 12,41 ppm.

A coordenação neutra monodentada do 4-metilpirazol ao paládio é confirmada nos espectros de RMN dos complexos através da perda da equivalência magnética dos hidrogênios 3 e 5 e da presença do sinal de NH. Além do desdobramento do sinal de 3-H e 5-H em dois sinais, estes estão deslocados para campo mais baixo, indicando que estão menos protegidos que no ligante livre. O efeito de desproteção causado pela coordenação ao paládio é observado em todos os hidrogênios do composto, visto que os sinais de CH₃ e NH também deslocaram-se para campo mais baixo. Os espectros indicam a existência de isômeros (*cis/trans*) em solução devido à presença de sinais adicionais na região típica dos núcleos 3-H e 5-H uma vez que a isomerização *cis/trans* em solução envolvendo complexos pirazólicos de fórmula $[\text{PdX}_2\text{L}_2]$ é bem estabelecida na literatura⁵⁷.

4.2.3 Espectroscopia de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$

A Tabela 12 apresenta os valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C obtidos dos espectros do ligante HmPz e dos complexos **5-8**, Figuras 38 e 39, respectivamente. Todos os espectros foram obtidos usando $\text{dms}\text{-}d_6$ como solvente.

Tabela 12. Dados de RMN de ^{13}C para o ligante HmPz e os compostos **5-8**

Atribuições	Composto				
	HmPz	5	6	7	8
CH ₃	8,54	8,42	8,38	8,42	8,54
C-3	133,72	141,09	141,06	143,73	141,04
C-4	113,82	115,79	115,96	116,32	114,96
C-5	133,72	131,06	131,16	131,22	132,89
SCN	-	-	-	-	117,42

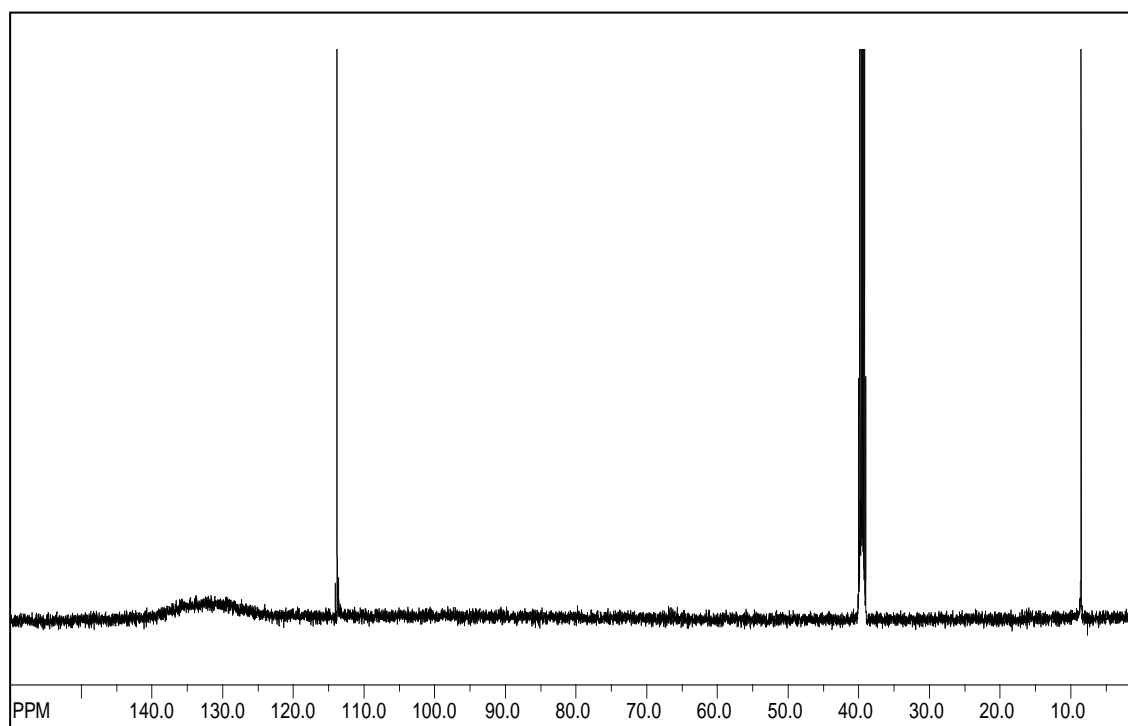


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C do ligante 4-metilpirazol

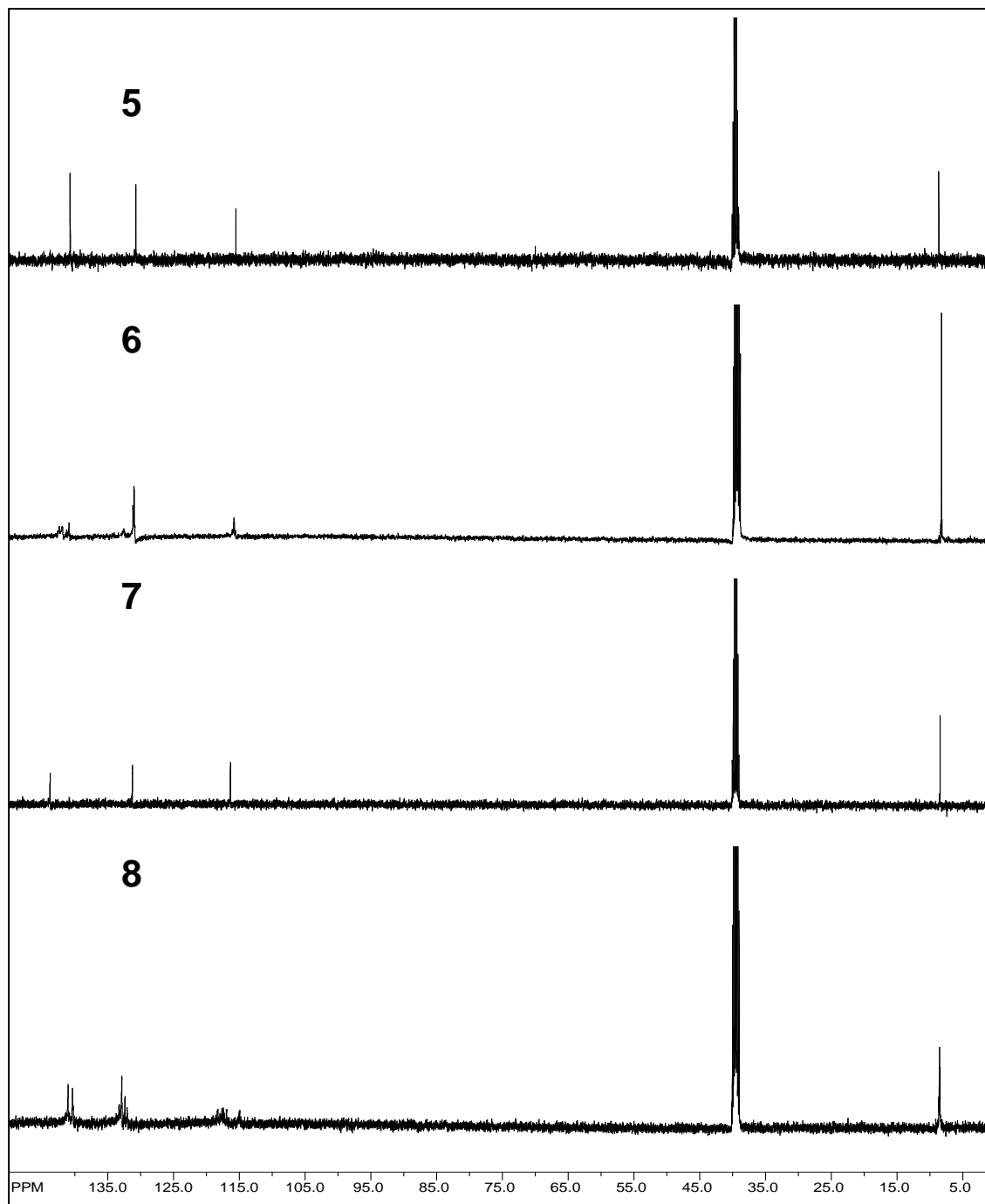


Figura 39. Espectros de RMN de ^{13}C para os complexos 5-8

No espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante 4-metilpirazol são observados três sinais. Os sinais em δ 8,54 e 113,82 correspondem ao carbono da metila e ao C-4, respectivamente. A ocorrência de um sinal alargado em δ 133,72, atribuído a C-3 e C-5, é justificada pelo rápido equilíbrio tautomérico estabelecido em solução (Figura 40) que torna magneticamente equivalentes as posições 3 e 5 do anel⁸⁶. Este equilíbrio varia de acordo com a temperatura e o solvente utilizado⁵⁴.

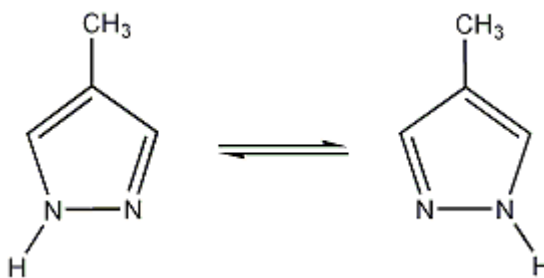


Figura 40. Tautomerismo característico de pirazóis

A coordenação do ligante ao paládio é confirmada nos espectros dos complexos, onde observa-se o aparecimento de quatro sinais, indicando a perda da equivalência magnética dos carbonos das posições 3 e 5. Os sinais referentes a eles estão nas regiões de δ 141 e 131, respectivamente.

No espectro do complexo **8**, o sinal em δ 117,42 referente ao ^{13}C do íon SCN^- , concorda com as informações obtidas a partir da espectroscopia no IV, pois ocorre em uma região característica de S-tiocianato-complexos.

4.2.4 Análise Termogravimétrica

Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HmPz})_2]$ (**5**)

A curva TG para o composto **5**, Figura 41, mostra que entre 231-792 °C ocorre a perda dos dois ligantes 4-metilpirazol e dos dois cloros e a formação de PdO. Estes eventos estão relacionados a um pico endotérmico em 256 °C e um exotérmico em 390 °C. A redução do PdO a paládio metálico ocorre entre 792-865 °C, o que gera um pico endotérmico em 838 °C na curva DTA. A porcentagem encontrada no resíduo final (31,18%) está de acordo com a calculada para Pd^0 (31,18%).

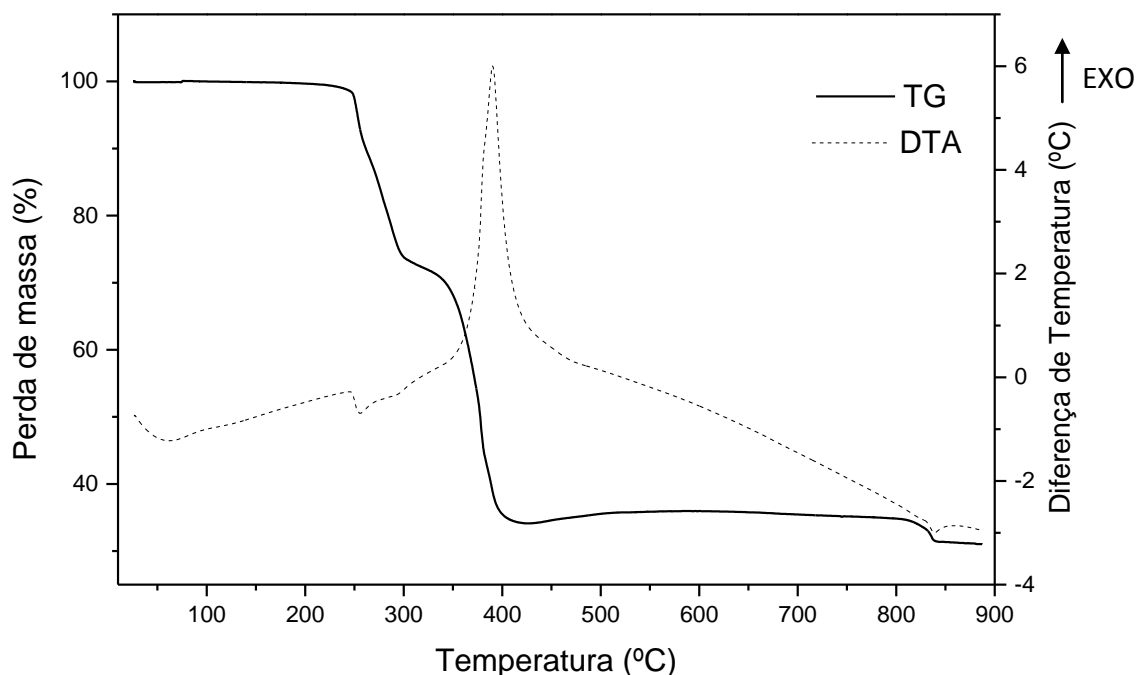


Figura 41. Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdCl}_2(\text{HmPz})_2]$ (**5**)

*Curvas TG/DTA do composto $[\text{PdBr}_2(\text{HmPz})_2]$ (**6**)*

As curvas TG/DTA de decomposição térmica do composto **6** são mostradas na Figura 42. A perda dos ligantes coordenados ao centro metálico de paládio(II), bem como a transformação do paládio presente na amostra em óxido de paládio, acontece entre 187-818 °C. De acordo com a curva TG, em 818 °C, a amostra é composta de 28,35% de PdO, o que está de acordo com o calculado (28,46%). Na última etapa, o O₂ incorporado anteriormente é perdido, o que corresponde a uma perda de massa de 3,35% ($\Delta m_{\text{calc.}} = 3,72\%$) e um pico endotérmico em 837 °C na curva DTA. É formado paládio metálico como resíduo final.

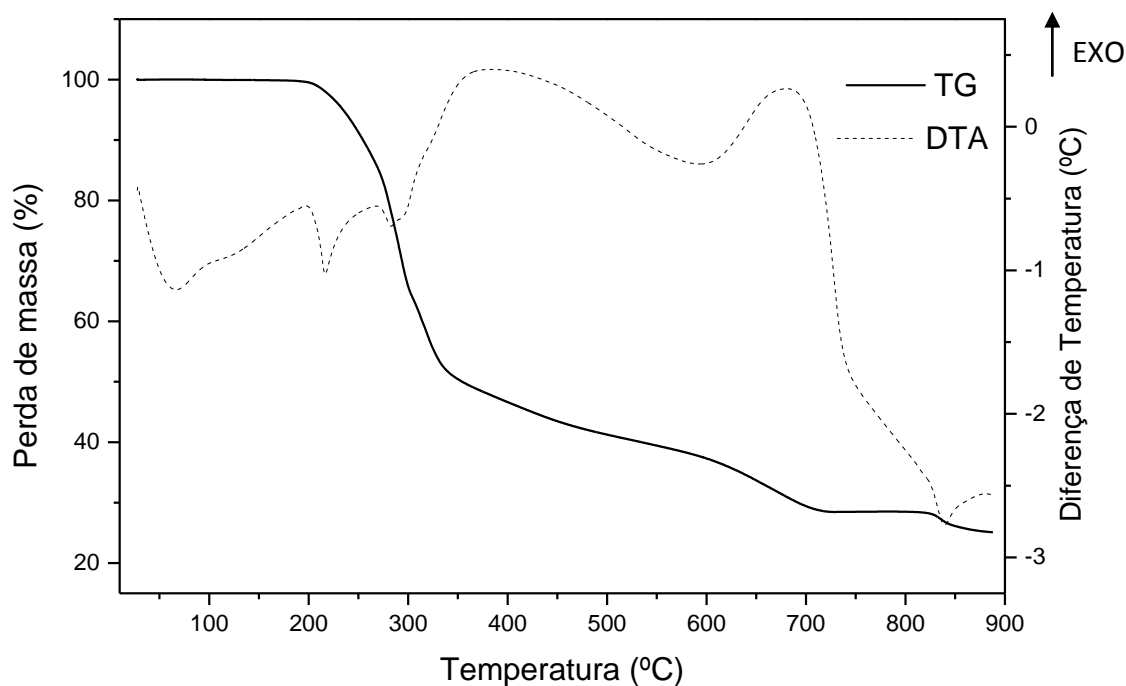


Figura 42. Curvas TG/DTA do composto $[PdBr_2(HmPz)_2]$ (6)

Curvas TG/DTA do composto $[PdI_2(HmPz)_2]$ (7)

A curva TG do composto **7**, Figura 43, mostra que o complexo perde todos os ligantes entre 131-473 °C ($\Delta m_{\text{calc.}} = 79,69\%$), o que corresponde a uma diminuição de 79,12% da massa da amostra. Nesta etapa, ocorrem duas perdas, sendo que a primeira delas (131-200 °C) gera um intermediário estável. No entanto, para que seja possível precisá-lo é necessário que ele seja isolado e caracterizado. Entre 473-811 °C ocorre um pequeno ganho de massa (2,87%), que corresponde à incorporação de O_2 ($\Delta m_{\text{calc.}} = 3,05\%$). Nesta etapa há formação de PdO, que reduz-se a Pd^0 entre 811-859 °C. Esta última perda associa-se a um pico endotérmico em 832 °C na curva DTA.

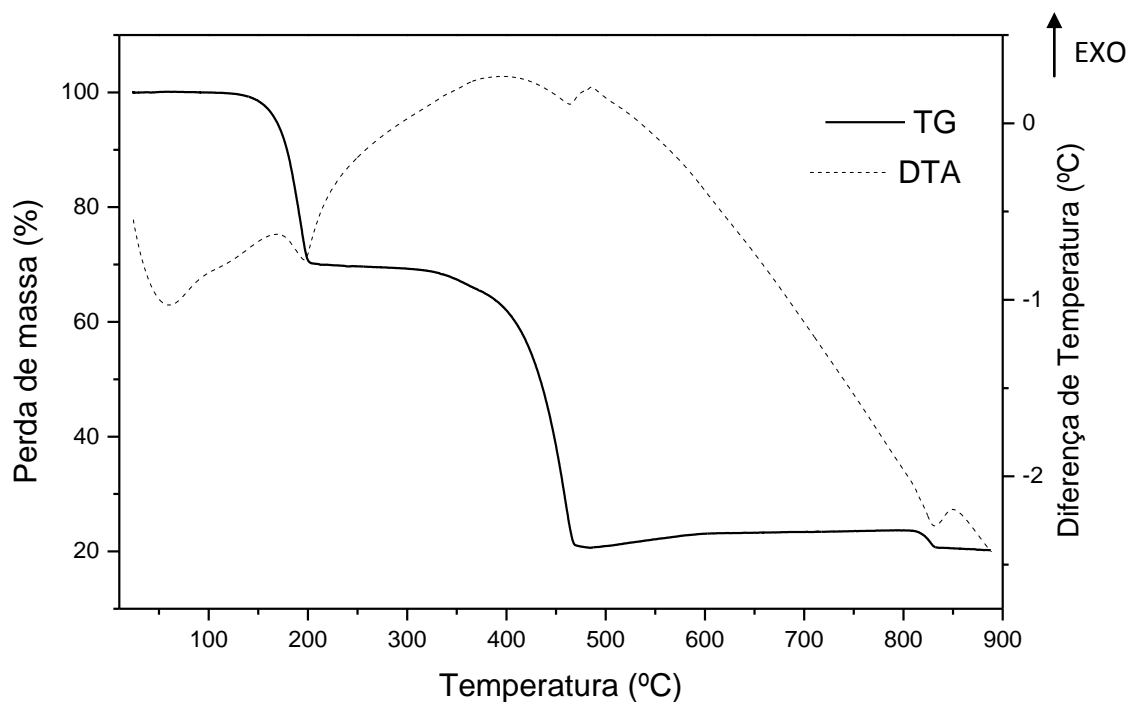


Figura 43. Curvas TG/DTA do composto [PdI₂(HmPz)₂] (7)

Curvas TG/DTA do composto [Pd(SCN)₂(HmPz)₂] (8)

De acordo com a curva TG do composto **8**, Figura 44, entre 134-775 °C os ligantes coordenados ao metal são perdidos e é formado óxido de paládio. Na DTA, esses eventos estão associados a um pico endotérmico em 166 °C e a picos exotérmicos em 416 e 522 °C. A porcentagem de óxido de paládio a 775 °C obtida da curva (31,89%) está de acordo com a calculada (31,67%). A última perda de massa (775-865 °C), de 4,35%, refere-se à perda do O₂ incorporado anteriormente ($\Delta m_{\text{calc.}} = 4,14\%$), que leva à formação do paládio metálico. Este evento é registrado na curva DTA como um pico endotérmico em 832 °C.

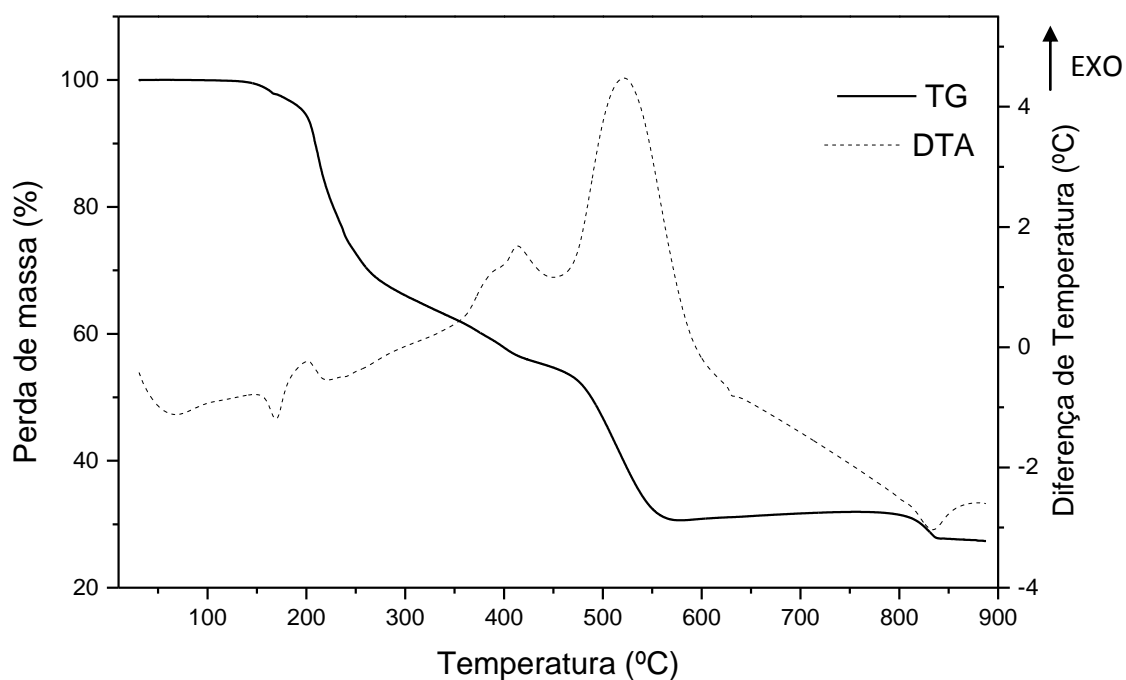
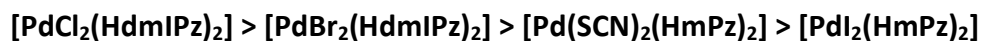


Figura 44. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HmPz})_2]$ (**8**)

A partir das curvas TG dos compostos, é proposta a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica, considerando suas temperaturas iniciais de decomposição:



A Tabela 13 apresenta um resumo dos dados obtidos nas curvas TG e DTA.

Tabela 13. Dados de análise térmica para os compostos 5-8.

Complexo	Etapa	$\Delta T/^\circ\text{C}$	$\Delta m/\%$		Picos DTA/ $^\circ\text{C}$		Atribuição
			Obt.	Calc.	endo	exo	
5	1	231-422	-65,85	-66,01	256	390	-2Cl ⁻ , -2HmPz, 0,3O ₂
	2	422-792	1,67	1,87	-	-	0,2O ₂
	3	792-865	-4,69	-4,68	838	-	-0,5O ₂
	Resíduo		31,18	31,18			
6	1	187-718	-71,42	-71,90	216	-	-2Br ⁻ , -2HmPz, 0,45O ₂
	2	718-818	0,07	0,37	-	-	0,05O ₂
	3	818-878	-3,35	-3,72	837	-	-0,5O ₂
	Resíduo		25,17	24,74			
7	1	131-473	-79,12	-79,69	196	-	-2I ⁻ , -2HmPz
	2	473-811	2,87	3,05	-	-	0,5O ₂
	3	811-859	-3,27	-3,05	832	-	-0,5O ₂
	Resíduo		20,38	20,31			
8	1	134-574	-69,37	-69,99	166	416, 522	-2SCN ⁻ , -2HmPz, 0,3O ₂
	2	574-775	1,21	1,65	-	-	0,2O ₂
	3	775-865	-4,35	-4,14	832	-	-0,5O ₂
	Resíduo		27,59	27,53			

4.2.5 Proposição Estrutural

Os dados obtidos pela espectroscopia de absorção no IV, espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C e análise elementar, sugerem as seguintes estruturas para os compostos **5-8**: monômeros com o átomo de paládio em um ambiente quadrado-planar, ligado a dois átomos de cloro (**5**), bromo (**6**), iodo (**7**) ou dois grupos S-tiocianato (**8**) e duas moléculas de 4-metilpirazol coordenadas de modo neutro monodentado. Os compostos devem apresentar configuração *trans*, como em outros complexos análogos que tiveram suas estruturas determinadas por difração de raios-X^{85,87}. A Figura 45 apresenta as estruturas propostas para os complexos **5-8**.

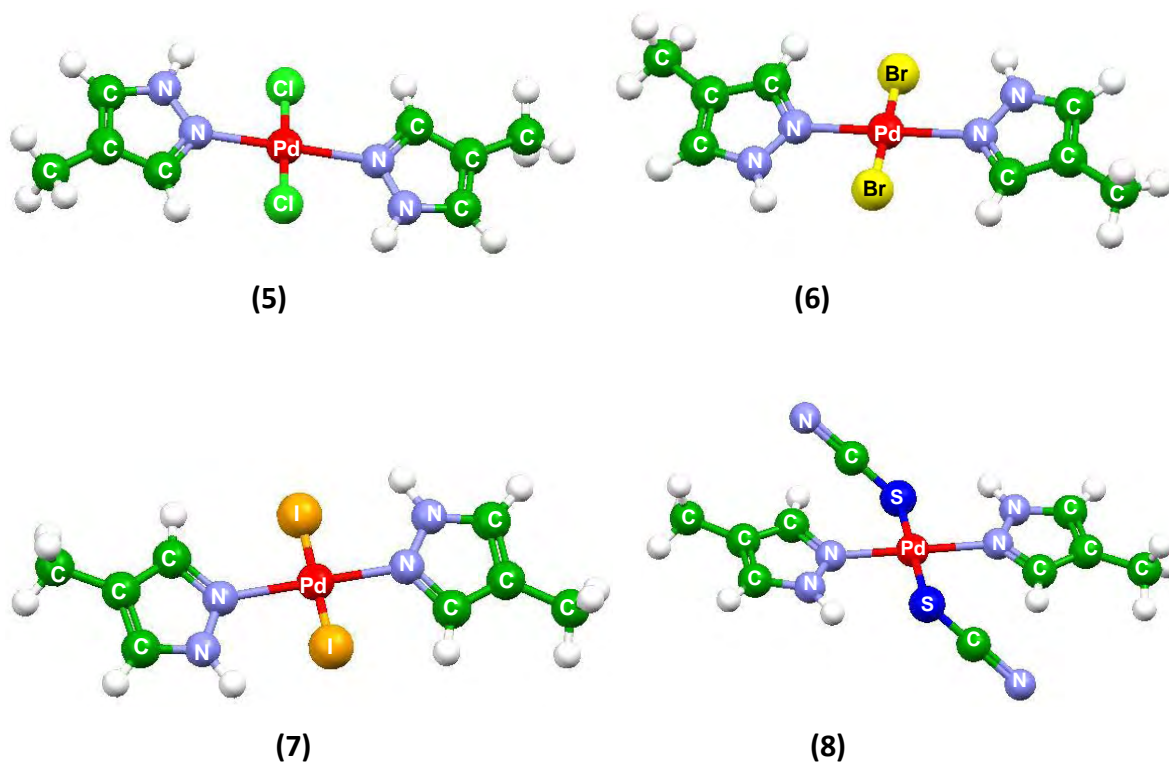


Figura 45. Estruturas propostas para os compostos $[\text{PdCl}_2(\text{HmPz})_2]$ (5), $[\text{PdBr}_2(\text{HmPz})_2]$ (6), $[\text{PdI}_2(\text{HmPz})_2]$ (7), $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{HmPz})_2]$ (8).

4.3 Atividade Biológica

4.3.1 Atividade frente a células tumorais

Os oito compostos sintetizados, assim como os ligantes pirazólicos utilizados, tiveram sua atividade antitumoral testada frente a células de tumores de mama (LM3) e pulmão (LP07), ambas murinas. A cisplatina foi usada nos testes como droga de referência, sendo submetida às mesmas condições. Os valores de IC_{50} encontrados estão representados na Tabela 14.

Tabela 14. Valores de IC₅₀ obtidos frente às linhagens LM3 e LP07

Composto	IC ₅₀ (μM)	
	LM3	LP07
3,5-dimetil-4-iodopirazol	>700	>700
4-metilpirazol	>700	>700
1	>140	>140
2	>140	>140
3	>140	>140
4	>140	>140
5	>140	>140
6	>140	>140
7	>140	>140
8	>140	>140
Cisplatina	30,30 ± 3,72	4,34 ± 0,45

Os dois ligantes pirazólicos utilizados apresentaram IC₅₀ > 700 μmol.L⁻¹ e os oito complexos tiveram IC₅₀ > 140 μmol.L⁻¹ nas duas linhagens celulares tumorais testadas. Como a droga de referência cisplatina se mostrou muito mais tóxica, com valores de IC₅₀ iguais a 30,30 μmol.L⁻¹ na linhagem LM3 e 4,34 μmol.L⁻¹ na linhagem LP07, os compostos não foram testados em concentrações acima das indicadas. Este resultado não é um indicativo da total inatividade dos compostos frente a células tumorais, pois diversos trabalhos relatam variações significativas na atividade de acordo com o tipo de linhagem estudada.

R. Lindner *et al.* estudaram o comportamento de um complexo pirazólico de platina(IV) frente a nove tipos de linhagens tumorais⁷¹. Os valores de IC₅₀ do composto variaram de 4,82 μM na linhagem de câncer de ovário (A2780) a 44,97 μM na de carcinoma de colo (HCT-8). A. G. Quiroga *et al.* mostram em um estudo que a própria cisplatina tem valores de IC₅₀ que variam de 7 μM na linhagem sensível a 157 μM na linhagem resistente³⁷.

Assim, os compostos que se apresentaram inativos frente às linhagens LM3 e LP07 podem ser ativos contra outros tipos de tumores. Visto que o objetivo de sintetizar novas drogas para o combate ao câncer é que elas sejam mais ativas e menos tóxicas do que as já

utilizadas, é necessário conhecer também a toxicidade dos compostos sintetizados em células normais. Desse modo, foram realizados testes com macrófagos. Os complexos menos tóxicos para esse tipo de célula são mais indicados para serem testados frente a outros tipos de linhagens tumorais.

4.3.2 Atividade frente a macrófagos

Os leucócitos, ou glóbulos brancos, são células especializadas na defesa do organismo, combatendo vírus, bactérias e outros agentes invasores que penetrem no corpo. O sistema imunológico é constituído por diferentes espécies de glóbulos brancos e pelos órgãos onde ocorre maturação e multiplicação desses glóbulos. Alguns tipos de leucócitos combatem diretamente os invasores, enquanto outros os atacam à distância, por meio de anticorpos. Existem também glóbulos brancos que coletam e distribuem informações sobre a invasão às outras células de combate. Uma das primeiras células a serem ativadas quando um organismo é exposto a fatores que desafiem a integridade do indivíduo, como substâncias irritantes, toxinas, agentes infecciosos e células neoplásicas, são os macrófagos. Eles têm como principais funções fagocitar partículas estranhas (patógenos, macromoléculas e até tecidos próprios que estejam lesados ou mortos) e iniciar a resposta imunológica, através da liberação de substâncias conhecidas como mediadores químicos, como enzimas, espécies de oxigênio reativo e citocinas⁸⁸.

O câncer, tratando-se de um processo patológico, pode provocar uma resposta imunológica. Quando ativados, os macrófagos são capazes de reconhecer, se ligar e, conseqüentemente, matar células tumorais, incluindo aquelas resistentes a drogas citostáticas. A atividade citotóxica é exercida preferencialmente sobre células neoplásicas em relação às normais, indicando que eles possuem capacidade de reconhecê-las, provavelmente em função de composições diferentes da membrana celular. No entanto, a citotoxicidade exercida pelos macrófagos é um processo lento, que depende do contato com cada célula. Além disso, a suscetibilidade da célula tumoral ao macrófago depende do tipo de tumor⁸⁹.

Atualmente, a terapia do câncer procura combinar compostos que possuam ação antitumoral e também imunomodulatória, como é o caso da cisplatina, que além de exercer efeito sobre as células neoplásicas, atua no sistema imunológico, auxiliando no combate aos

tumores. Macrófagos de murinos tratados com cisplatina adquirem uma capacidade maior em lisar células tumorais *in vitro* e produzir mediadores químicos importantes na resposta imunológica⁹⁰.

Com o intuito de avaliar-se o potencial citotóxico sobre as células de defesa do organismo, os complexos **1-4** e o ligante HdmlPz foram submetidos a testes de citotoxicidade frente a macrófagos peritoneais murinos. Os valores de IC₅₀ encontrados estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Valores de IC₅₀ para os compostos **1-4**, HdmlPz e cisplatina para macrófagos com 24 horas de exposição.

Composto	IC ₅₀ (μM)
1	13,0 ± 4,0
2	16,7 ± 1,7
3	118,0 ± 2,5
4	133,0 ± 3,0
3,5-dimetil-4-iodopirazol	203,0 ± 2,4
Cisplatina	49,8 ± 2,9

De acordo com a tabela, observa-se que o ligante livre apresenta o maior valor de IC₅₀ dentre os compostos testados. Já os complexos se apresentaram mais citotóxicos do que o HdmlPz, indicando uma potencialização citotóxica quando este se coordena ao centro metálico. Assim, fica clara a influência da coordenação do paládio nos valores de índice de citotoxicidade obtidos. Com relação à influência do ligante aniônico no potencial citotóxico, nota-se que a citotoxicidade diminui na sequência complexo de Cl, Br, I e SCN. Esta ordem pode ser atribuída ao fato do íon paládio(II), por ser um ácido mole, forma ligações mais fortes com bases moles, como I⁻ e SCN⁻⁸, o que dificultaria a saída destes ligantes no meio biológico e, conseqüentemente, diminuiria sua interação com um determinado alvo farmacológico.

Ainda com base na Tabela 15, pode-se observar que o iodo (**3**) e o tiocianato-complexo (**4**) apresentam valores de IC₅₀ maiores que o da droga padrão cisplatina, isto é, foram menos citotóxicos, o que, neste caso, é interessante, visto que os testes foram

realizados com macrófagos, que são células de defesa do organismo. Estes complexos poderão ser muito promissores caso apresentem elevada atividade em outras linhagens celulares tumorais, diferentes de LM3 e LP07.

5 CONCLUSÕES

Foram preparados oito complexos de paládio(II) inéditos a partir da interação do complexo precursor $[\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2]$ com os ligantes pirazólicos 3,5-dimetil-4-iodopirazol (**1-4**) e 4-metilpirazol (**5-8**) e os ânions Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- . As sínteses apresentaram ótima reprodutibilidade e não exigiram condições especiais como atmosfera inerte e controle da temperatura.

A caracterização dos compostos foi feita através de análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C . Este conjunto de técnicas permitiu inferir sobre o modo de coordenação dos ligantes pirazólicos nos complexos. Em ambas as séries, de fórmula geral $[\text{PdX}_2(\text{HdmIPz})_2]$ e $[\text{PdX}_2(\text{HmPz})_2]$, os pirazóis coordenaram-se de modo neutro monodentado.

Nos complexos **4** e **8**, a coordenação terminal pelo átomo de enxofre do íon tiocianato foi diagnosticada através das posições das bandas $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$ nos espectros no IV e da presença de um sinal na região de δ 117 nos espectros de RMN de ^{13}C .

O estudo termogravimétrico dos compostos mostrou que inicialmente ocorre a perda dos ligantes coordenados ao metal. Com a incorporação de O_2 todo o paládio presente na amostra é levado a forma de PdO e, finalmente, forma-se o resíduo final de paládio metálico. Em alguns casos, houve a formação de intermediários bastante estáveis durante o processo de decomposição.

Os estudos de atividade antitumoral mostraram que os complexos são menos citotóxicos que a cisplatina nas linhagens murinas de adenocarcinoma de mama e pulmão. Os testes realizados frente a células normais (macrófagos) com os compostos **1-4** e o ligante livre HdmIPz revelaram que ocorre potencialização citotóxica quando há coordenação ao paládio(II).

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Obtenção de monocristais dos compostos para determinação de suas estruturas moleculares e cristalinas;
 - Realização de espectros no IV a baixa frequência dos compostos para inferir sobre suas conformações (cis/trans);
 - Isolar e caracterizar os intermediários estáveis formados durante o processo de decomposição térmica dos complexos **3** e **7**;
 - Testar os complexos frente a outras linhagens celulares tumorais, principalmente aquelas resistentes à cisplatina.
 - Usar como droga padrão não só a cisplatina, mas também a carboplatina.
 - Realizar testes frente a macrófagos peritoneais murinos com os compostos da série $[\text{PdX}_2(\text{HmPz})_2]$ (**5-8**).
-

REFERÊNCIAS

- 1 BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Quím. Nova Esc.**, n. 6, p. 4-6, 2005. Cadernos temáticos.
 - 2 ROSEMBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, H. V. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, p. 385-386, 1969.
 - 3 ROSEMBERG, B.; VAN CAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer Res.**, v. 30, p. 1799-1802, 1970.
 - 4 KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Rev.**, v. 7, p. 573-584, 2007.
 - 5 LOEHRER, P. J.; EINHORM, L. H. Cisplatin. **Ann. Intern. Med.**, v. 100, p.704-713, 1984.
 - 6 FIORENTINO, M. V.; GHIOTTO, C. Exploitation of platinum for human solid tumors. **Inorg. Chim. Acta**, v. 137, p. 59-61, 1987.
 - 7 HARTLEY, F. R. Chemistry of the platinum group metals. In: HARTLEY, F.R. (Ed.). **Study in inorganic chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 1991. v. 11, cap. 1, p. 9-31.
 - 8 JONES, C. J. **A química dos elementos dos blocos d e f**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 184 p.
 - 9 LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2000. 527 p.
 - 10 COTTON, F. A.; WILKSON, G.; MURILLO, C. A.; BOCHMANN, M. **Advanced inorganic chemistry**. 6 th ed. New York: Wiley-Interscience, 1999. p. 1063-1081.
 - 11 AIZAWA, S.; IIDA, T.; FUNAHASHI, S. Mechanistic studies on halo-ligand substitution of five-coordinate trigonal-bipyramidal palladium(II) complexes of tris(2-(diphenylphosphino)ethyl)phosphine with trimethyl phosphite in chloroform at various temperatures and pressures. **Inorg. Chem.**, v. 35, p. 5163-5167, 1996.
-

- 12 HERRMANN, W. A.; BÖHM, V. P. W.; REINSINGER, C. P. Application of palladacycles in Heck type reactions. **J. Organomet. Chem.**, v. 576, p. 23-41, 1999.
- 13 CARINA, R. F.; WILLIAMS, A. F.; BERNARDINELLI, G. Cyclometallated fragments as building blocks for self-assembly reactions. **J. Organomet. Chem.**, v. 548, p. 45-48, 1997.
- 14 SACCOMANDO, D. J.; BLACK, C.; CAVE, G. W. V.; LYDON, D. P.; ROURKE, J. P. Chiral cyclopalladated liquid crystals from amino acids. **J. Organomet. Chem.**, v. 601, p. 305-310, 2000.
- 15 NAVARRO-RANNINGER, C.; LÓPEZ-SOLERA, I.; GONZÁLEZ, V. M.; PÉREZ, J. M.; ALVAREZ-VALÉZ, A.; MARTIN, A.; RAIBITHBY, P. R.; MASAGUER, J. R.; ALONSO, C. 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. 5181-5187, 1996.
- 16 PIVETTA, M. Câncer: esperanças divididas. **Pesq. FAPESP**, n. 99, p. 46-53, maio 2004.
- 17 BRASIL. Ministério da Saúde. **Incidência de câncer no Brasil e estimativa 2008**. Disponível em: <www.inca.gov.br/estimativa/2010>. Acesso em: 02 mar. 2010.
- 18 ALMEIDA, V. L. de; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quím. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- 19 FONTES, A. P. S.; GAMA, S.; NADER, L. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Quím. Nova**, v. 20, p. 398-406, 1997.
- 20 APPLETON, T. G.; CONNOR, J. W.; HALL, J. R.; PRENZLER, P. D. NMR Study of the reactions of the *cis*-diamminediaqua platinum(II) cation with glutathione and amino acids containing a thiol group. **Inorg. Chem.**, v. 28, p. 2030-2037, 1989.
- 21 CVITKOVIC, E.; SPAULDING, J.; BETHUNE, V.; MARTIN, J.; WHITMORE, W. F. Improvement of *cis*-dichlorodiammineplatinum (NCS 119875): therapeutic index in an animal model. **Cancer**, v. 39, p. 1357-1361, 1977.
-

- 22 DE LENA, M.; LARUSSO, V.; PARADISO, A.; TOMMASI, S. Therapeutic efficacy of various dosages and modalities of administration. **Inorg. Chim. Acta**, v. 137, p. 91-97, 1987.
- 23 FUERTES, M. A.; ALONSO, C.; PÉREZ, J. M. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. **Chem. Rev.**, v. 103, p. 645-662, 2003.
- 24 KIDANI, Y.; INAGAKI, K.; IIGO, M.; HOSHI, A.; KURETANI, K. Antitumor activity of 1,2-diaminocyclohexane-platinum complexes against sarcoma-180 ascites form. **J. Med. Chem.**, v. 21, n. 12, p. 1315-1318, 1978.
- 25 RAYMOND, E.; FAIVRE, S.; CHANEY, S.; WOYNAROWSKI, J.; CVITKOVIC E. Cellular and molecular pharmacology of oxaliplatin. **Mol. Cancer Ther.**, v. 1, p. 227-235, 2002.
- 26 STONE, N. N.; STOCK, R. G. Complications following permanent prostate brachytherapy. **Eur. Urol.**, v. 41, p. 427-433, 2002.
- 27 GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coord. Chem. Rev.**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.
- 28 RAUTERKUS, M. J.; FAKIH, S.; MOCK, C.; PUSCASU, I.; KREBS, B. Cisplatin analogues with 2,2'-dipyridylamine ligands and their reactions with DNA model nucleobases. **Inorg. Chim. Acta**, v. 350, p. 355-365, 2003.
- 29 KASHANIAN, S.; SHAHABADI, N.; ROSHANFEKR, H.; SHALMASHI, K.; OMIDFAR, K.; DNA binding studies of PdCl₂(LL) (LL = chelating diamine ligand: N,N-dimethyltrimethylenediamine) complex. **Biochemistry (Moscow)**, v. 73, n. 8, p. 929-936, 2008.
- 30 GORBACHEVA, P. B.; TIKHOMIROV, A. G.; DEDERER, L. Y.; IVANOVA, N. A.; EROFEEVA, O. S.; OCHERTYANOVA, L. I.; EFIMENKO, I. A. Molecular-biological questions in the creation of therapeutic agents and studies of their mechanisms of action. **Pharm. Chem. J.**, v. 42, n. 2, p. 53-55, 2008.
- 31 KETER, F. K.; KANYANDA, S.; LYANTAGAYE, S. S. L.; DARKWA, J.; REES, D. J. G.; MEYER, M. *In vitro* evaluation of dichloro-bis(pyrazole)palladium(II) and dichloro-
-

bis(pyrazole)platinum(II) complexes as anticancer agents. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v. 63, p. 127-138, 2008.

32 FARRELL, N. Transition metal complexes as drugs and chemotherapeutic agents. In: UGO, R.; JAMES, B. R. (Ed.). **Catalysis by metal complexes**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989. v. 11, cap. 2, p. 46-66.

33 REEDIJK, J.; FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J.; VAN OOSTEROM, A. T.; VAN DE PUTTE, P. Platinum amine coordination compounds as anti-tumor drugs. Molecular aspects of the mechanism of action. **Struct. Bond.**, v. 67, p. 53-89, 1987.

34 SHERMAN, S. E.; LIPPARD, S. J. Structural aspects of platinum anticancer drug interactions with DNA. **Chem. Rev.**, v. 87, p. 1153-1181, 1987.

35 LIANG, X.; SHEN, D.; GOTTESMAN, M. M. A pleiotropic defect reducing drug accumulation in cisplatin-resistant cells. **J. Inorg. Biochem.**, v. 98, p. 1599-1606, 2004.

36 TAKAHARA, P. M.; ROSENWEING, A. C.; FREDERICK, C. A.; LIPPARD, S. J. Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. **Nature**, v. 377, p. 649-652, 1995.

37 QUIROGA, A. G.; PÉREZ, J. M.; MONTERO, E. I.; MASAGUER, J. R.; ALONSO, C.; NAVARRO-RANNINGER, C. Palladated and platinated complexes derived from phenylacetaldehyde thiosemicarbazone with cytotoxic activity in *cis*-DDP resistant tumor cells. Formation of DNA interstrand cross-links by these complexes. **J. Inorg. Biochem.**, v. 70, p. 117-123, 1998.

38 GAO, E. J.; YIN, H. X.; ZHU, M. C.; SUN, Y. G.; GU, X. F.; WU, Q.; REN, L. X. Study on the interaction of a palladium complex with DNA. **J. Struct. Chem.**, v. 49, n. 6, p. 1048-1054, 2008.

39 MANSY, S.; CHU, G. Y. H.; DUNCAN, R. E.; TOBIAS, R. S. Heavy metal nucleotide interactions. 12. competitive reactions in systems of four nucleotides with *cis*- or *trans* diammineplatinum(II). Raman difference spectrophotometric determination of the relative nucleophilicity of guanosine, cytidine, adenosine, and uridine monophosphates as well as the analogous bases in DNA. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 100, p. 607-616, 1987.

40 MANSOURI-TORSHIZI, H.; I-MOGHADDAM, M.; DIVSALAR, A.; SABOURY, A. 2,2'-Bipyridinebutyldithiocarbamatoplatinum(II) and palladium(II) complexes: synthesis,

characterization, cytotoxicity, and rich DNA-binding studies. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 16, p. 9616-9625, 2008.

41 RUIZ, J.; LORENZO, J.; VICENTE, C.; LÓPEZ, G.; LÓPEZ-DE-LUZURIAGA, J. M.; MONGE, M.; AVILÉS, F. X.; BAUTISTA, D.; MORENO, V.; LAGUNA, A. New palladium(II) and platinum(II) complexes with 9-aminoacridine: structures, luminiscence, theoretical calculations, and antitumor activity. **Inorg. Chem.**, v. 47, p. 6990-7001, 2008.

42 MATESANZ, A. I.; PÉREZ, J. M.; NAVARRO, P.; MORENO, J. M.; COLACIO, E.; SOUZA, P. Synthesis and characterization of novel palladium(II) complexes of bis(thiosemicarbazone). Structure, cytotoxic activity and DNA binding of Pd(II)-benzyl bis(thiosemicarbazone). **J. Inorg. Biochem.**, v. 76, p. 29-37, 1999.

43 ZHAO, G.; LIN, H.; YU, P.; SUN, H.; ZHU, S.; SU, X.; CHEN, Y. Ethylenediamine-palladium(II) complexes with pyridine and its derivatives: synthesis, molecular structure and initial antitumor studies. **J. Inorg. Biochem.**, v. 73, p. 145-149, 1999.

44 ABU-SURRAH, A. S.; AL-SA'DONI, H. H.; ABDALLA, M. Y. Palladium-based chemotherapeutic agents: routes towards complexes with good antitumor activity. **Cancer Ther.**, v. 6, p. 1-10, 2008.

45 HALDER, S.; PENG, S.; LEE, G.; CHATTERJEE, T.; MUKHERJEE, A.; DUTTA, S.; SANYAL, U.; BHATTACHARYA, S. Synthesis, structure, spectroscopic properties and cytotoxic effect of some thiosemicarbazone complexes of palladium. **New J. Chem.**, v. 32, p. 105-114, 2008.

46 ALIA, M. A.; MIRZAA, A. H.; BUTCHERB, R. J.; TARAFDERC, M. T. H.; KEAT, T. B.; ALI, A. M. Biological activity of palladium(II) and platinum(II) complexes of the acetone Schiff bases of S-methyl- and S-benzylidithiocarbazate and the X-ray crystal structure of the [Pd(asme)₂] (asme = anionic form of the acetone Schiff base of S-methylidithiocarbazate) complex. **J. Inorg. Biochem.**, v. 92, p. 141-148, 2002.

47 FRIEBOLIN, W.; SCHILLING, G.; ZÖLLER, M.; AMTMANN, E. Antitumoral activity of non-platinum xanthate complexes. **J. Med. Chem.**, v. 48, p. 7925-7931, 2005.

48 HUQ, F.; TAYYEM, H.; BEALE, P.; YU, J. Q. Studies on the activity of three palladium(II) compounds of the form: *Trans*-PdL₂Cl₂ where L = 2-hydroxypyridine, 3-hydroxypyridine, and 4-hydroxypyridine. **J. Inorg. Biochem.**, v. 101, p. 30-35, 2007.

-
- 49 KUDUK-JAWORSKA, J.; PUSZKO, A.; KUBIAK, M.; PEŁCZYŃSKA, M. Synthesis, structural, physico-chemical and biological properties of new palladium(II) complexes with 2,6-dimethyl-4-nitropyridine. **J. Inorg. Biochem.**, v. 98, p. 1447-1456, 2004.
- 50 PUCCI, D.; ALBERTINI, V.; BLOISE, R.; BELLUSCI, A.; CATALDI, A.; CATAPANO, C. V.; GHEDINI, M.; CRISPINI, A. Synthesis and anticancer activity of cyclopalladated complexes containing 4-hydroxy-acridine. **J. Inorg. Biochem.**, v. 100, p. 1575-1578, 2006.
- 51 RUIZ, J.; CUTILLAS, N.; VICENTE, C.; VILLA, M. D.; LÓPEZ, G. New palladium(II) and platinum(II) complexes with the model nucleobase 1-methylcytosine: antitumor activity and interactions with DNA. **Inorg. Chem.**, v. 44, p. 7365-7376, 2005.
- 52 RAY, S.; MOHAN, R.; SINGH, J. K.; SAMANTARAY, M. K.; SHAIKH, M. M.; PANDA, D.; GHOSH, P. Anticancer and antimicrobial metallopharmaceutical agents based on palladium, gold, and silver N-heterocyclic carbene complexes. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 15042-15053, 2007.
- 53 AL-ALLAF, T. A. K.; RASHAN, L. J. Synthesis and cytotoxic evaluation of the first *trans*-palladium(II) complex with naturally occurring alkaloid harmine. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 33, p. 817-820, 1998.
- 54 ELGUERO, J. Pyrazoles and their benzo derivatives. In: KATRITZKY, A. R.; REES, C. W. (Ed.). **Comprehensive heterocyclic chemistry: the structure, reactions, synthesis and uses of heterocyclic compounds**. Oxford: Pergamon Press, 1984. v. 5. cap. 4.04, p. 167-302.
- 55 TROFIMENKO, S. The coordination chemistry of pyrazole-derived ligands. **Chem. Rev.**, v. 72, n. 5, p. 497-509, 1972.
- 56 HALCROW, M. A. Pyrazoles and pyrazolides—flexible synthons in self-assembly. **Dalton Trans.**, n. 12, p. 2045-2256, 2009.
- 57 TAKAHASHI, P. M.; MELO, L. P.; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; SANTOS, R. H. A.; FERREIRA, J. G. Self-assembly of metallocsupramolecules directed by (N–H)₂···SCN–M (M = Co, Ni), C–H···π and π–π synthons. **J. Mol. Struct.**, v. 783, p. 161-167, 2006.
- 58 CHAKRABORTY, J.; SAHA, M. K.; BANERJEE, P. Synthesis, crystal structures and properties of two Pd(II) and Pt(II) complexes involving 3,5-diphenylpyrazole and NO₂ donor ligands. **Inorg. Chem. Commun.**, v. 10, p. 671-676, 2007.
-

-
- 59 SANZ, M.; MOSQUERA, M. E. G.; CUENCA, T.; ARELLANO, C. R.; SCHORMANN, M.; BOCHMANN, M. Bis(3,5-dimethylpyrazol-1-ato) zirconium complexes as precursors for ethylene polymerisation upon activation with MAO: Syntheses, characterisation and X-ray molecular structure of $[\text{Zr}(\eta^2\text{-3,5-Me}_2\text{Pz})_2\text{Cl}_2(\eta^1\text{-3,5-Me}_2\text{PzH})_2] \cdot (3,5\text{-Me}_2\text{PzH})$ and $[\text{Zr}(\eta^2\text{-3,5-Me}_2\text{Pz})_2(\text{CH}_2\text{Ph})_2]$ (3,5-Me₂Pz = 3,5-dimethylpyrazol-1-ato). **Polyhedron**, v. 26, p. 5339-5348, 2007.
- 60 ARACHCHIGE, S. M.; HEEG, M. J.; WINTER, C. H. Synthesis and structural characterization of unsymmetrical osmocenes containing the pentamethylcyclopentadienyl ligand. **J. Organomet. Chem.**, v. 690, p. 4356-4365, 2005.
- 61 LI, K.; DARKWA, J.; GUZEI, I. A.; MAPOLIE, S. F. Synthesis and evaluation of substituted pyrazoles palladium(II) complexes as ethylene polymerization catalysts. **J. Organomet. Chem.**, v. 660, p. 108-115, 2002.
- 62 TORRALBA, M. C.; CANO, M.; CAMPO, J. A.; HERAS, J. V.; PINILLA, E.; TORRES, M. R. Mesogenic Pd(II) complexes based on 3-substituted pyrazol ligands. **Inorg. Chem. Commun.**, v. 5, p. 887-890, 2002.
- 63 CHRUSCINSKI, L.; MLYNARZ, P.; MALINOWSKA, K.; OCHOCKI, J.; BODUSZEK, B.; KOZLOWSKI, H. Methylphosphonate, hydroxymethylphosphonate and aminomethylphosphonate ligands containing pyridine, pyrazole or imidazole side chains: the coordination abilities towards Cu(II) ions. **Inorg. Chim. Acta**, v. 303, p. 47-53, 2000.
- 64 RANJAN, S.; LIN, S-Y.; HWANG, K-C.; CHI, Y.; CHING, W-L.; LIU, C-S.; TAO, Y-T.; CHIEN, C-H.; PENG, S-M.; LEE, G-H. Realizing green phosphorescent light-emitting materials from rhenium(I) pyrazolato diimine complexes. **Inorg. Chem.**, v. 42, p. 1248-1255, 2003.
- 65 GUST, K. R.; HEEG, M. J.; WINTER, C. H. Synthesis, structure, and properties of niobium and tantalum imido complexes bearing pyrazolato ligands. Crystal structures of $\text{Ta}(\text{N}t\text{-Bu})(t\text{-Bu}_2\text{Pz})_3$, $\text{Ta}(\text{N}i\text{-Pr})(t\text{-Bu}_2\text{Pz})_3$, $\text{Ta}(\text{N}t\text{-Bu})(\text{Me}_2\text{Pz})_3(\text{py})$, and $\text{Ta}(\text{N}t\text{-Bu})(t\text{-Bu}_2\text{Pz})_2(\text{Cl})(\text{py})$. **Polyhedron**, v. 20, p. 805-813, 2001.
- 66 NOMIYA, K.; NOGUCHI, R.; OHSAWA, K.; TSUDA, K.; ODA, M. Synthesis, crystal structure and antimicrobial activities of two isomeric gold(I) complexes with nitrogen-containing heterocycle and triphenylphosphine ligands, $[\text{Au}(\text{L})(\text{PPh}_3)]$ (HL = pyrazole and imidazole). **J. Inorg. Biochem.**, v. 78, p. 363-370, 2002.
-

- 67 SAKAI, K.; TOMITA, Y.; UE, T.; GOSHIMA, K.; OHMINATO, M.; TSUBOMURA, T.; MATSUMOTO, K.; OHMURA, K.; KAWAKAMI, K. Syntheses, antitumor activity, and molecular mechanics studies of *cis*-PtCl₂(pzH)₂ (pzH-pyrazole) and related complexes. Crystal structure of a novel Magnus-type double-salt [Pt(pzH)₄][PtCl₄][*cis*-PtCl₂(pzH)₂]₂ involving two perpendicularly aligned 1D chains. **Inorg. Chim. Acta**, v. 297, p. 64-71, 2000.
- 68 KOMEDA, S.; LUTZ, M.; SPEK, A. L.; CHIKUMA, M.; REEDIJK, J. New antitumor-active azole-bridged dinuclear platinum(II) complexes: synthesis, characterization, crystal structures, and cytotoxic studies. **Inorg. Chem.**, v. 39, p. 4230-4236, 2000.
- 69 FAN, D.; YANG, C.; RANFORD, J. D.; VITTAL, J. J. Chemical and biological studies of gold(III) complexes with uninegative bidentate N–N ligands. **Dalton Trans.**, p. 4749-4753, 2003.
- 70 CIESIELSKA, E.; SZULAWSKA, A.; STUDZIAN, K.; OCHOCKI, J.; MALINOWSKA, K.; KIK, K.; SZMIGIERO, L. Comparative studies on the mechanism of cytotoxic action of novel platinum II complexes with pyrazole ligands. **J. Inorg. Biochem.**, v. 100, p. 1579-1585, 2006.
- 71 LINDNER, R.; KALUDEROVIC, G. N.; PASCHKE, R.; WAGNER, C.; STEINBORN, D. Synthesis and characterization of dinuclear pyrazolato bridged platinum(IV) complexes. **Polyhedron**, v. 27, p. 914-922, 2008.
- 72 CASAS, J. S.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J.; GARCÍA-TASENDE, M. S.; PÉREZ-PARALLÉ, M. L.; SÁNCHEZ, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, A.; SORDO, J.; TOUCEDA, A. New Pd(II) and Pt(II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminary study of their *in vitro* antitumoral activity. **J. Inorg. Biochem.**, v. 102, p. 33-45, 2008.
- 73 BUDZISZ, E.; LORENZ, I.; MAYER, P.; PANETH, P.; SZATKOWSKI, L.; KRAJEWSKA, U.; ROZALSKID, M.; MIERNICKAA, M. Synthesis, crystal structure, theoretical calculation and cytotoxic effect of new Pt(II), Pd(II) and Cu(II) complexes with pyridine-pyrazoles derivatives. **New J. Chem.**, v. 32, p. 2238-2244, 2008.
- 74 BUDZISZ, E.; KRAJEWSKAB, U.; ROZALSKIB, M.; SZULAWSKAC, A.; CZYZC, M.; NAWROTD, B. Biological evaluation of novel Pt(II) and Pd(II) complexes with pyrazole-containing ligands. **Eur. J. Pharm.**, v. 502, p. 59-65, 2004.
- 75 MEZEI, G.; RAPTIS, R. G. Effect of pyrazole-substitution on the structure and nuclearity of Cu(II)-pyrazolato complexes. **Inorg. Chim. Acta**, v. 357, p. 3279-3288, 2004.
-

-
- 76 MOREIRA, R. R. D.; TIOSSI, L. C. L.; FURUKAWA, C. R.; MAIA, D. C. G.; SANTOS, L. E.; PLACERES, M. C. P.; CARLOS, I. Z. Liberação de óxido nítrico e TNF-alfa em macrófagos peritoneais na presença de *Melampodium divaricatum* (Asteraceae). **Rev. Ciências Farm.**, v. 22, p. 251-261, 2001.
- 77 GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO A. E. Low-weight coordination polymers derived from the self-assembly reactions of Pd(II) pyrazolyl compounds and azide ion. **Polyhedron**, v. 24, p. 1086-1092, 2005.
- 78 SILVA, P. B. da; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. Pyrazolyl coordination polymers of cadmium(II). **Inorg. Chem. Commun.**, v. 9, p. 235-238, 2006.
- 79 TAKAHASHI, P. M.; FREM, R. C. G.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; MATOS, J. R. Thermal studies on nickel(II) 4-iodopyrazole complexes. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 87, n. 3, p. 797-800, 2007.
- 80 GODOY NETTO, A. V. **Aplicação de pseudo-haletos e pirazóis como unidades estruturais na formação de espécies mono e polinucleares de paládio(II). Emprego de polímeros de coordenação em sistema hóspede-hospedeiro.** 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
- 81 NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra for inorganic and coordination compounds.** Part B: applications in coordination, organometallic, and bioinorganic chemistry. 5 th ed. New York: Wiley-Interscience, 1997. p. 116-121.
- 82 BAILEY, R. A.; KOZAK, S. L.; MICHELSEN, T. W.; MILLS, W. N. Infrared spectra of complexes of the thiocyanate and related ions. **Coord. Chem. Rev.**, v.6, p.407-445, 1971.
- 83 KARGOL, J. A.; CRECELY, R. W.; BURMEISTER, J. L. ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of coordinated thiocyanate. **Inorg. Chim. Acta**, v. 25, p. L109-L110, 1977.
- 84 ĐAKOVIC, M.; POPOVIC, Z.; GIESTER, G.; RAJIC´-LINARIC, M. Synthesis, spectroscopic and structural investigation of Zn(NCS)₂(nicotinamide)₂ and [Hg(SCN)₂(nicotinamide)]_n. **Polyhedron**, v. 27, p. 465-472, 2008.
- 85 GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; SANTANA, A. M.; SANTOS, R. H. A.; ZOIA, J. R. Synthesis and structural characterization of dichlorobis(1-phenyl-3-
-

methylpyrazole)palladium(II) and diazidobis(1-phenyl-3-methylpyrazole)palladium(II). **J. Coord. Chem.**, v. 54, p. 129-141, 2001.

86 ELGUERO, J. Annular tautomerism in the solid state: a high resolution N.M.R. study. **J. C. S. Chem. Comm.**, p.1207-1208, 1981.

87 GODOY NETTO, A. V.; TAKAHASHI, P. M.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E.; ZOREL JÚNIOR, H. E. Thermal decomposition of palladium(II) pyrazolyl complexes. Part I. **J. Anal. Appl. Pyrolysis**, v. 72, p. 183-189, 2004.

88 JANEWAY, C. J. **Imunobiologia**: o sistema imunológico na saúde e na doença. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1999. 634 p.

89 KLIMP, A. H.; DE VRIES, E. G. E.; SCHERPHOF, G. L.; DAEMEN, T. A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. **Critic. Rev. Oncol./Hematol.**, v. 44, p. 143-161, 2002.

90 SHISHODIA, S.; SODHI, A.; SHRIVASTAVA, A. Cisplatin-induced activation of murine bone marrow-derived macrophages require protein tyrosine phosphorylation. **Int. J. Immunopharmac.**, v. 19, p. 683-690, 1997.
