



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



Tese de Doutorado

INVESTIGAÇÃO ESTRUTURAL E EFEITOS IMUNOLÓGICOS E TUBERCULOSTÁTICOS DE COMPLEXOS DE PALÁDIO(II)

Alessandra Stevanato

Araraquara
2009

Alessandra Stevanato

**INVESTIGAÇÃO ESTRUTURAL E EFEITOS
IMUNOLÓGICOS E TUBERCULOSTÁTICOS DE
COMPLEXOS DE PALÁDIO(II)**

**Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de
Química de Araraquara – UNESP como parte dos
requisitos para a obtenção do título de doutor, no
curso de Pós-graduação em Química, Área de
concentração Química Inorgânica.**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro

Co-Orientadora: Profa. Dra. Sandra Regina Ananias

Araraquara
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

R484i	Ribeiro, Alessandra Stevanato Alves Investigação estrutural e efeitos imunológicos e tuberculostáticos de complexos de paládio(II) / Alessandra Stevanato Alves Ribeiro. – Araraquara : [s.n], 2009 177 f. : il. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Antonio Eduardo Mauro Co-orientadora: Sandra Regina Ananias 1. Química inorgânica. 2. Atividade biológica. 3. Complexos de paládio(II). I. Título.
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara

Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Nome: Alessandra Stevanato

Data de nascimento: 08 de janeiro de 1978

Naturalidade: Jaú - SP

Nacionalidade: Brasileira

Filiação:

Pai - Antonio Aparecido Stevanato

Mãe – Maria Luisa Machi Stevanato

Documento de Identidade: 27.650.458-6

Endereço para correspondência:

Rua Francisca Alves Pereira Borges, 25

Jardim São Caetano - CEP: 17340-000

Barra Bonita – SP

e-mail: alessandrastevanato@yahoo.com.br

Formação Acadêmica

➤ Graduação

02/1997 – 12/2000 **Bacharelado em Química**, com habilitações em Química Tecnológica e Licenciatura
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

➤ Pós-graduação

02/2001 – 12/2003 **Mestrado em Química** (Química Analítica)
Instituto de Química – UNESP – Araraquara

Trabalhos Científicos Publicados

MORO, A. C.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; LEGENDRE, A. O. Synthesis, characterization and thermal behavior of Pd(II) compounds containing N,S-donors ligands. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 87, n. 3, p. 721-724, 2007.

LUCCA NETO, V. A. de; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; MORO, A. C. Síntese e emprego do [Pd(dmba)(NCO)(PPh₃)] em processos catalíticos envolvendo a preparação de derivados da uréia e de alcóxicarbonil complexos. **Eclet. Quím.**, v. 31, n. 3, p. 75-81, 2006.

PEREIRA, E. A.; TAVARES, M. F. M.; STEVANATO, A.; CARDOSO, A. A. Avaliação de contaminantes inorgânicos e orgânicos em álcool combustível utilizando a eletroforese capilar. **Quím. Nova**, v. 29, n. 1, p. 66-71, 2006. (Capa da revista)

PEREIRA, E. A.; STEVANATO, A.; CARDOSO, A. A.; TAVARES, M. F. M. Indirect determination of chloride and sulphate ions in alcohol fuel by capillary electrophoresis. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 380, p. 178-182, 2004.

Experiência Profissional

“Escolas Integradas Prof. Nivaldo Salch Stipp” - Anglo Sistema de Ensino (Barra Bonita) - Professora de ensino médio na disciplina Química, de janeiro de 2002 a janeiro de 2006.

Fundação Barra Bonita de Ensino (FUNBBE) - Professora voluntária do ensino médio (junho a dezembro de 2003).

Estágio docência em Química Analítica Qualitativa - UNESP (agosto de 2001 a dezembro de 2001).

Dierberger Óleos Essenciais – DIERBERGER – Barra Bonita (janeiro de 1999 a fevereiro de 1999).

Usina da Barra S. A. Açúcar e Álcool (UBASA) – Barra Bonita (julho de 1998), atual COSAN – unidade Barra Bonita..

Outras Produções Bibliográficas

Monografia apresentada a Universidade Estadual de Londrina: “**A presença de dióxido de enxofre em águas de precipitação e na atmosfera na região de Londrina**”, dezembro 2000.

“Poluição Atmosférica” e “Toda chuva é ácida”. Home page: <www.imodelo.com/cienciaagora>, 2002.

Softwares sem Registro ou Patente

Informática Educativa & Educação à Distância, 1998.

Software com desenhos do meio ambiente (ar, água e solo), focalizando os principais poluentes ambientais, suas causas e consequências.

Trabalhos Apresentados em Congressos

1. MORO, A. C.; STEVANATO, A.; SOUZA, R. A.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.: “Complexos de paládio(II) e suas potenciais aplicações no tratamento da tuberculose”. In: **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 26 a 29 de maio de 2008.
 2. STEVANATO, A.; GODOY NETTO, A. V.; SOUZA, R. A.; SANTANA, A. M.; MAURO, A. E. ; ANANIAS, S. R.; CARLOS, I. Z.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. “Synthesis, characterization and evaluation of the antitumor activity of the cyclopalladated complexes of the type $[Pd(bzan)(X)(dppp)]$, $X = SCN, NCO$ ”. In: **XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry**, Foz do Iguaçu – PR, 31 de agosto a 04 de setembro de 2008.
 3. STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.. “Synthesis, characterization and thermal behaviour of cyclopalladated compounds containing isonicotinamide”. In: **14th International Congress on Thermal Analysis and Calorimetry / VI Brazilian Congress on Thermal Analysis and Calorimetry**, São Pedro - SP, 14 a 18 de setembro de 2008.
 4. STEVANATO, A.; ANANIAS, S. R.; MAURO, A. E.; ROCHA, M. C.; CARLOS, I. Z. ; GODOY NETTO, A. V. “Avaliação da resposta imunológica e citotoxicidade do organometálico $[Pd(bzan)(SCN)(dppe)]$ e dos ligantes N,N'-benzilidenoanilina (bzan) e 1,1'-bis(difenilfosfina)etileno (dppe)”. In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007.
 5. ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; GODOY NETTO, A. V.; ROCHA, M. C.; SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z. “Investigação da atividade imunológica de $[Pd(bzan)(dppf)(NCS)]$, bzan e dppf (bzan = benzilidenoanilina)”. In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007.
 6. ANANIAS, S. R.; LEGENDRE, A. O.; STEVANATO, A.; GODOY NETTO, A. V.; ROCHA, M. C.; MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z. “Atividade antiproliferativa de complexos de cobre(II) sobre a linhagem tumoral celular LMM3 (adenocarcinoma mamário murino)”. In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007.
 7. ROCHA, M. C.; ANANIAS, S. R.; GODOY NETTO, A. V.; STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; PLACERES, M. C. P.; CARLOS, I. Z. “Compostos ciclopalladados: citotoxicidade sobre células tumorais de Ehrlich e macrófagos”. In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007.
-

-
-
8. MORO, A. C.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; LEGENDRE, A. O. ‘Comportamento térmico de complexos de Pd(II) contendo ligantes N,S-doadores’. In: **V Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria**, Poços de Caldas – MG, 02 a 05 de abril de 2006.
 9. STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; MORO, A. C.; SANTANA, A. M. ‘Síntese, caracterização espectroscópica e determinação da estrutura cristalina e molecular do composto [Pd(bzan)(dppp)(SCN)].CDCl₃’. In: **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia – SP, 19 a 22 de maio de 2006.
 10. STEVANATO, A.; ANANIAS, S. R.; GODOY NETTO, A. V.; MAURO, A. E.; ROCHA, M. C.; CARLOS, I. Z.; PLACERES, M. C. P. ‘Evaluation of N,N'-benzilidenoaniline (bzan), 1,1'-bis(diphenylphosphine)ethylene (dppe) and cyclopalladated complex [Pd(bzan)(NCS)(dppe)] citotoxicity and immune response’. In: **The 3rd Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry**, São Pedro, 12 a 15 de novembro de 2006.
 11. ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; GODOY NETTO, A. V.; ROCHA, M. C.; SANTANA, A. M.; CARLOS, I. Z.; MAURO, A. E.; PLACERES, M. C. P. ‘Investigation of immunologic activity mediated by benzilidenoaniline (bzan), 1,1'-bis(diphenylphosphine)ferrocene (dppf) and cyclopalladated complex [Pd(bzan)(dppf)(NCS)]’. In: **The 3rd Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry**, São Pedro, 12 a 15 de novembro de 2006.
 12. GODOY NETTO, A. V.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; ROCHA, M. C.; CARLOS, I. Z.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; TAKAHASHI, P. M.; PLACERES, M. C. P. ‘Effects of 3,5-dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole (tdmPz) and [PdCl₂(tmPz)] on the NO and H₂O₂ production by murine peritoneal macrophages’. In: **The 3rd Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry**, São Pedro, 12 a 15 de novembro de 2006.
 13. ANANIAS, S. R.; CARLOS, I. Z.; ROCHA, M. C.; GODOY NETTO, A. V.; STEVANATO, A.; MAURO, A. E.; LEGENDRE, A. O.; FERREIRA, J. G.; SANTOS, R. H. A. ‘Crystal, molecular structure and immunologic activity of [Cu(pn)(SCN)]_n, pn = 1,3-propanediamine’. In: **XIII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry**, Fortaleza - CE, 03 a 06 de setembro de 2006.
 14. MORO, A. C.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; STEVANATO, A.; KLEIN, I. S. ‘Investigação via espectroscopia no infravermelho (IV) da capacidade sensora de depósitos de tiouréia (tu) em KBr frente ao benzeno’. In: **15º Encontro Regional de Química**, Ribeirão Preto, 10 e 11 de outubro de 2005.
-

-
-
15. UGUCIONE, C.; STEVANATO, A.; CARDOSO, A. A. “Colunas C-18 impregnadas com TEA 11% para amostragem de SO₂ atmosférico: uma nova proposta”. In: **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas – MG, 20 a 23 de maio de 2002.
 16. PEREIRA, E. A.; TAVARES, M. M. F.; STEVANATO, A.; CARDOSO, A. A. “Determinação de aldeídos de baixa massa molar em água de chuva por eletroforese capilar”. In: **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Poços de Caldas – MG, 20 a 23 de maio de 2002.
 17. STEVANATO, A.; PEREIRA, E. A.; CARDOSO, A. A.; TAVARES, M. M. F. . “Desenvolvimento de metodologia para a determinação de aldeídos em amostras de álcool combustível por eletroforese capilar”. In: **XLII Congresso Brasileiro de Química**, Rio de Janeiro, 09 a 13 de setembro de 2002.
 18. STEVANATO, A.; PEREIRA, E. A.; CARDOSO, A. A. “Desenvolvimento de metodologia para a determinação de sulfato e cloreto em amostras de álcool combustível por eletroforese capilar”. In: **XLII Congresso Brasileiro de Química**, Rio de Janeiro, 09 a 13 de setembro de 2002.
 19. PELICHO, A. F.; STEVANATO, A.; PERONI, F. H. G.; MARTINS, L. D.; LOBO, M. L. C.; SOLCI, M. C. “Estudo da composição de águas de precipitação em região continental subtropical”. In: **IX Encontro de Química da Região Sul**, Londrina, 07 a 09 de novembro de 2001.
 20. PELICHO, A. F.; STEVANATO, A.; PERONI, F. H. G.; MARTINS, L. D.; LOBO, M. L. C.; SOLCI, M. C. “Estudo da composição de águas de precipitação em região continental subtropical”. In: **11º Encontro Nacional de Química Analítica**, Campinas, 18 a 21 de setembro de 2001.

Participação em banca de trabalho de conclusão de curso de graduação

Iolanda Santana Klein

Reações de substituição do [PdCl₂(CH₃CN)₂]: obtenção de novas espécies contendo trifenilfosfinas e tiouréias. Instituto de Química de Araraquara – UNESP, 2006.

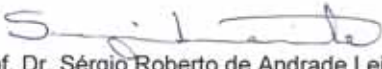
ALESSANDRA STEVANATO ALVES RIBEIRO

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

Araraquara, 18 de fevereiro de 2009.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara


Prof. Dr. Sérgio Roberto de Andrade Leite
Instituto de Química – UNESP, Araraquara


Prof. Dr. Benedito dos Santos Lima Neto
Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos


Prof. Dr. Roberto Santana da Silva
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, Ribeirão Preto


Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida
Universidade de Alfenas - UNIFAL, Alfenas

Dedico este trabalho...

Ao meu filhote Alexandre, que nasceu no início do doutorado, e que mesmo com alguns obstáculos para eu dar conta de tudo, foi meu grande incentivador, foi por nós que cheguei até aqui. Obrigada por você existir MEU AMOR!!!!!!!!!!!!

Pai e Mãe, obrigada só por vocês existirem!!! E claro, por me apoiarem em todas as minhas decisões, sejam elas corretas ou não. Obrigada por serem meu porto seguro e meu referencial para conduzir minha vida e a do meu filho. Amo vocês!!! Agradecer é pouco por tudo o que vocês fizeram e fazem por mim durante todo esse tempo. Obrigada, obrigada, obrigada...

Aos meus queridos irmãos, Ana e Gustavo, que me ouviram, ligaram e ajudaram incentivando este doutorado, sempre pensando em uma vida melhor para mim. Adoro vocês queridos!!!!!!!!!!!!

Meu muito obrigada...

Ao Prof. Dr. Mauro, que me recebeu de braços abertos, sempre muito atencioso, presente, me aconselhando e me ouvindo, seja nos problemas do laboratório, seja em muitos problemas pessoais, muito obrigada professor, o senhor tem toda minha admiração e gratidão.

A Profa. Dra. Sandra Regina Ananias, pela co-orientação neste trabalho e pelos conselhos na área biológica, obrigada Sandrinha!!!

Ao Prof. Adelino, que mesmo antes de ser professor já me ajudava muito com suas sugestões de trabalho e tira dúvidas!!!

Ao Prof. Dr. Anderson Martinez Santana, que antes, ainda doutorando, era conhecido como Congo, foi meu grande incentivador à começar na Química Inorgânica, meu muito obrigada pelos conselhos, conversas e instruções.

A Profa. Dra. Ângela Regina Araújo e a Profa. Dra. Regina Célia Galvão Frem di Nardo pelas sugestões no meu exame de qualificação.

Aos professores Vânia, Stanlei e Luiz Antonio, pelo convívio no Departamento de Química Geral e Inorgânica.

A Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos e a técnica Marisa Polesi, do laboratório de Imunologia Clínica, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, pela receptividade com que fui acolhida para a realização dos testes imunológicos.

Ao pessoal do laboratório de imunologia clínica Michelão, Flávia, Cleso e a minha grande amiga Ber, que graças a estes testes construímos uma linda amizade!!!!

A Profa. Dra. Clarice Queico e ao mestrando Fernando Pavan, pelos testes antituberculosstáticos realizados, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara.

A Profa. Dra. Regina Helena de Almeida Santos e a Janaína do Instituto de Química de São Carlos - USP, pela determinação estrutural do monocristal.

Gostaria de agradecer à Irene, pelas conversas, conselhos e os infravermelhos de última hora.
Sentirei saudades suas viu!!!

Ao Nivaldo (RMN), pela paciência e bom humor com que fez meus espectros, principalmente os de fósforo, rsrs, depois de horas para ajustar o equipamento, os espectros estão aqui!!!
Obrigada!!!

Ao Gaspar pelas plotagens dos painéis dos congressos e as muitas risadas e desespero quando o ploter não funcionava, o gloss paper acabava e só sobrava o sulfite mesmo ou até quando tivemos que sair correndo atrás de tinta.... obrigada viu!!!!

As meninas da biblioteca que me ajudaram desde o mestrado, em especial a Valéria, a Priscila e a Ritinha.

Ao pessoal da pós-graduação, Patrícia, Célia e Sandra, pelas inúmeras informações fornecidas.

Aos meus colegas de laboratório de inorgânica: Adriana, Adriano, Alexandre, Amadeu, Antonio, Carol Barra, Congo, Cristiana, Filipe, Francisco, Gislaine, Iolanda, Janaína, João Régis, Juliana, Katinha, Natália, Patrícia, Pedro, Rafael, Rodrigo, Sahra, Sandrinha, Talita e Treu, que me auxiliaram pela amizade, convivência e pelas conversas na salinha da eletroquímica.

Ao Macaco pela convivência e pelos bons momentos juntos!!

Gostaria muito de agradecer uma pessoa, que quando cheguei no departamento de Química Geral e Inorgânica, tinha certeza que não gostava de mim, e que agora, somos tão amigas, que só de pensar que de repente não estaremos tão próximas já me deixa triste. Patrícia, obrigada pelas conversas, ajudas, risadas e por você participar da SBQ 2008 pra me acompanhar.... afinal, de repente vou morar no Amazonas.... rsrs.

Cris, obrigada pela amizade que conquistamos em tão pouco tempo, você também é minha irmã de coração.

Às minhas amigas de faculdade: Fernanda, Graziela, Lígia, Fabrize, Dani e Cássia, que mesmo nos vendo pouco ou quase nada durante esses últimos anos, sempre nos falamos, seja pelas conversas por telefone, e-mails, ou em alguns poucos casamentos que pudemos nos reencontrar, nunca deixamos de torcer umas pelas outras. Saudades da melhor época das nossas vidas!!! Cursar Química, morar em Londrina e praticamente morarmos todas juntas durante quatro anos!! Sim, porque mesmo as que não moravam na república viviam em casa, nas horas de alegria e festa e principalmente nas horas sofridas!!!... Quantas histórias meninas!!

A todos os funcionários do Instituto de Química.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

E claro, a Deus, pela minha existência e a de todas as pessoas com quem convivo.

“Preciso de alguém que me olhe nos olhos quando falo, que ouça minhas tristezas e neuroses
com paciência.

E ainda que não compreenda, respeite os meus sentimentos.

Preciso de alguém, que venha brigar ao meu lado sem precisar ser convocado;
Alguém amigo o suficiente para dizer-me verdades que não quero ouvir, mesmo sabendo que
posso odiá-lo por isso...

Que teime em ser leal, simples e justo, que não vá embora se algum dia eu perder meu ouro e
não for mais a sensação da festa.

Preciso de um amigo que receba com gratidão o meu auxílio,

A minha mão estendida, mesmo que isto seja muito pouco para as suas necessidades.

Preciso de um amigo que também seja companheiro, nas farras, nas guerras e alegrias, e que
no meio da tempestade, grite em coro comigo:

“Nós ainda vamos rir muito disso tudo” e ria muito mesmo.

E nessa busca, empenho minha alma, pois com uma amizade verdadeira, a vida se torna mais
simples, mais rica e bela...”

(Charles Chaplin)

"Já perdoei erros quase imperdoáveis, tentei substituir pessoas insubstituíveis e esquecer pessoas inesquecíveis.

Já fiz coisas por impulso, já me decepcionei com pessoas quando nunca pensei me decepcionar, mas também decepcionei alguém.

Já abracei pra proteger, já dei risada quando não podia, fiz amigos eternos, amei e fui amado, mas também já fui rejeitado, fui amado e não amei.

Já gritei e pulei de tanta felicidade, já vivi de amor e fiz juras eternas, “quebrei a cara muitas vezes”!

Já chorei ouvindo música e vendo fotos, já liguei só para escutar uma voz, me apaixonei por um sorriso, já pensei que fosse morrer de tanta saudade e tive medo de perder alguém especial (e acabei perdendo).

Mas vivi, e ainda vivo! Não passo pela vida...

E você também não deveria passar!

Viva!

Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é “**MUITO**” para ser insignificante."

(Charles Chaplin)

Saudade...

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 lágrimas, da angústia, das vésperas de finais de semana, de finais de ano, enfim!... do companheirismo vivido.
Sempre pensei que as amizades continuassem para sempre.
Hoje não tenho mais tanta certeza disso.
Em breve cada um vai pra seu lado, seja pelo destino, ou por algum desentendimento, segue a sua vida, talvez continuemos a nos encontrar quem sabe... nos e-mails trocados. Podemos nos telefonar... conversar algumas bobagens...
Passam os dias, vão passar meses... anos... até este contato tornar-se cada vez mais raro.
Vamos nos perder no tempo... Um dia nossos filhos verão aquelas fotografias e perguntarão:
Quem são aquelas pessoas?
Diremos... Que eram nossos amigos.
...E isso vai doer tanto...
Foram meus amigos, foi com eles que vivi os melhores anos de minha vida!
A saudade vai apertar bem dentro do peito.
Vai dar uma vontade de ligar, ouvir aquelas vozes novamente...
Quando o nosso grupo estiver incompleto... nos reuniremos para um último adeus de um amigo.
E entre lágrimas nos abraçaremos. Faremos promessas de nos encontrar mais vezes daquele dia em diante.
Por fim, cada um vai para o seu lado continuar a viver a sua vidinha isolada do passado.
E! nos perderemos no tempo...
Por isso, fica aqui um pedido deste humilde amigo: não deixes que a vida passe em branco, e que pequenas adversidades seja a causa de grandes tempestades...
Eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos!"

(Vinícius de Moraes)

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a síntese de compostos de paládio(II) utilizando como reagentes o acetato de paládio(II), o cloreto de paládio(II), a N-benzilidenoanilina (bzan), a N,N-dimetilbenzilamina (dmba), os sais KCl, KBr, KSCN, KNCO e NaN₃ para posterior formação das espécies precursoras, a saber: [Pd(bzan)(μ-X)]₂, X = Cl, SCN, NCO e N₃ e [Pd(dmba)(μ-X)]₂, X = Cl, Br, NCO e N₃.

A obtenção de novos compostos a partir dos dímeros anteriores ocorreu empregando ligantes contendo fósforo como átomo doador, tais como as difosfinas 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) e a *cis*-1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet). A escolha destes ligantes foi norteada por suas relevantes propriedades farmacológicas. O ligante isonicotinamida (isn), que contém nitrogênio como átomo doador, foi escolhido devido à sua semelhança estrutural com a isoniazida, já utilizada como droga antituberculostática. Estes ligantes foram selecionados com o intuito de aplicar seus complexos de paládio(II) em testes biológicos.

Ressalte-se a repreparação dos complexos do tipo [Pd(bzan)(X)(dppp)], X = Cl, SCN, NCO e N₃ e a 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), para seu emprego em testes antitumorais utilizando linhagens humanas e em testes contra o bacilo de Koch, causador da tuberculose. Esta repreparação possibilitou a obtenção de um monocristal do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl₃ e a difração de raios-X de monocristal forneceu todas as características estruturais da espécie no estado sólido, mostrando uma geometria quadrado planar ao redor do átomo de paládio(II), a coordenação do ligante bzan pelo átomo de carbono, havendo a clivagem da ligação entre o paládio e o nitrogênio imínico da bzan presente nas espécies precursoras diméricas, o pseudohaleto coordena-se terminalmente via átomo de enxofre (Pd-SCN) e a difosfina dppp coordena-se ao centro metálico de forma quelante. Esta estrutura subsidiou a proposta estrutural das séries subseqüentes contendo as difosfinas dppf e dppet.

Os compostos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C{¹H} e de ³¹P{¹H}, e por termogravimetria.

Os dados obtidos permitiram inferir que os complexos, de fórmula geral [Pd(bzan)(X)(L)], L = dppf e dppet apresentam estruturas monoméricas; os haletos (cloreto e brometo) e os pseudohaleto (SCN, NCO e N₃) coordenam-se de modo terminal, sendo o

tiocianato via átomo de enxofre e o cianato via átomo de nitrogênio. O ligante bzan coordena-se ao paládio(II) pelo átomo de carbono e a dmmba através dos átomos de carbono e nitrogênio, a isn pelo nitrogênio piridínico e as difosfinas dppp, dppf e dppet coordenam-se de forma quelante ao centro metálico.

Os espectros de RMN ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ contém um conjunto de sinais que comprovam a coordenação dos ligantes ao centro metálico; bem como comprovam a presença de várias espécies em solução.

A partir dos dados da termogravimetria foi possível estabelecer uma ordem decrescente de estabilidade térmica, considerando a temperatura inicial de decomposição para complexos da mesma série.

Os compostos ciclopaladados $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ e $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$, os ligantes bzan, dppf e dppet, além da cisplatina utilizada como droga padrão, foram aplicados em testes biológicos, como viabilidade celular, liberação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO) por macrófagos peritoneais de camundongos, tendo como finalidade a investigação de suas potencialidades farmacológicas, em particular suas atividades antitumorais.

Os complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{SCN}$ e NCO e $[\text{Pd}(\text{dmmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$, Br , NCO e N_3 , além dos ligantes bzan, dppp, dmmba e isn, foram submetidos a ensaios frente à inibição do crescimento de *Mycobacterium tuberculosis*, causadora da tuberculose.

ABSTRACT

The aim of this research was the synthesis of palladium(II) compounds by using as reagents palladium(II) acetate, palladium(II) chloride, N-benzylideneaniline (bzan), N,N-dimethylbenzylamine (dmba) and the salts KCl, KBr, KSCN, KNCO and NaN_3 for the subsequent preparation of the precursor species $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{SCN}, \text{NCO}$ e N_3 , and $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{NCO}$ e N_3 .

The obtainment of new compounds from the previously cited dimers was performed by reacting them with ligands containing phosphorous as the donor atom, like the diphosphines 1,1'-bis(diphenylphosphine)ferrocene (dppf) and *cis* 1,2-bis(diphenylphosphine)ethylene (dppet). These ligands were chosen due to their relevant pharmacological properties. Isonicotinamide, a ligand containing nitrogen as donor atom, was chosen due to its structural resemblance with isoniazid, used as a antituberculostatic drug. These ligands were selected with the intention of applying their complexes in biological tests.

The known compounds of the type $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{SCN}, \text{NCO}$ and N_3 and dppp = 1,3-bis(diphenylphosphine)propane, were reprepared in order to be applied in antitumor tests with human cells and in tests against the Koch bacillus, which causes tuberculosis. These re preparations allowed us the obtainment of single-crystals of the compound $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$. CDCl_3 and the single-crystal X-ray diffraction technique gave us all of its structural features in the solid state, showing a square-planar geometry around the palladium(II) atom; the pseudohalide is terminally coordinated by the sulphur atom (Pd-SCN), the diphosphine is bound in the chelating mode and the bzan ligand is coordinated by the carbon atom, revealing the cleavage of the bond between the palladium and the iminic nitrogen from the bzan, present in the dimmeric precursor species. The knowledge of this structure supported the structural purposes for the series of compounds containing the diphosphines dppf and dppet.

The compounds were characterized by elemental analysis, infrared vibrational spectroscopy, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ and $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nuclear magnetic resonance, thermogravimetry and differential thermal analysis.

The data set allowed us to infer that the complexes of general formula $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{L})]$, $\text{L} = \text{dppf}$ e dppet, present monomeric structures; the halides (chloride and bromide) and the pseudohalides (SCN, NCO and N_3) are terminally coordinated, with the thiocyanate bound by the sulfur atom and the cyanate by the nitrogen atom. The bzan ligand is

coordinated to the palladium(II) by the carbon atom, the dmbs by both carbon and nitrogen, the isn by the pyridinic nitrogen and the diphosphines dppp, dppf and dppet and bound in the chelating mode to the metallic center.

The ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR spectra show a set of signals that confirm the coordination of the ligands to the metallic center and also the presence of several species in solution.

The thermogravimetric data allowed us to establish the thermal stability order from the initial decomposition temperature for each series of complexes.

The cyclopalladated compounds $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ and $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$, the ligands bzán, dppf and dppet and standard drug cisplatin were applied in biological tests like cellular viability and hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitric oxide (NO) release by murine peritoneal macrophages, with the purpose of investigating their pharmacological potentials, particularly their antitumor activities.

The complexes $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{SCN}$ and NCO , and $[\text{Pd}(\text{dmbs})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$, Br , NCO and N_3 , and the ligands bzán, dppp, dmbs and isn were used in tests for the growth inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis*, which causes tuberculosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática de formação do anel ciclometalado.	36
Figura 3. Exemplos de ciclopaladados com vários grupos doadores.	37
Figura 4. Formação de compostos ciclometalados ou não mediante reações com ligantes aniônicos, neutros ou catiônicos.	38
Figura 5. Tipos de câncer mais incidentes, estimados para o ano de 2008, exceto pele não melanoma, na população brasileira.	39
Figura 6. Hidrólise da cisplatina.	40
Figura 7. Representação das interações da cisplatina com as bases nitrogenadas adenina (a) e guanina (b).	41
Figura 8. Representação da cisplatina atuando intrafita e interfita nas bases do DNA.	41
Figura 9. Algumas das drogas de segunda geração utilizadas no tratamento contra o câncer, além da cisplatina, droga de primeira geração.	42
Figura 10. Ciclopaladados com atividade antitumoral.	43
Figura 11. Estruturas: (a) da tiossemicarbazona e (b) de complexos de paládio e platina (M = Pd e Pt).	43
Figura 12. Fórmulas estruturais planas dos organometálicos [Pd(dmba)(NCS)(dppp)] (a) e [Pd ₂ (dmba) ₂ (N ₃) ₂ (μ-dppb)] (b), dmba = N,N-dimetilbenzilamina, dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano e dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano.	44
Figura 13. Streptomicina: primeiro antibiótico capaz de atuar sobre a tuberculose.	46
Figura 14. Fármacos comumente utilizados para o tratamento da tuberculose.	47
Figura 15. Representação do ligante isonicotinamida.	48
Figura 16. Possíveis modos de ligação de hidrogênio que ocorre na molécula de isonicotinamida.	49
Figura 17. O sal de tetrazólio (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio) sofre metabolização pelas proteinases mitocondriais das células vivas formando cristais de formazana.	69
Figura 18. Mecanismo de reação usada no Método de Griess.	70
Figura 19. Placa de cultura de 96 cavidades utilizada nos ensaios microbiológicos.	74
Figura 20. Modos de coordenação mais comuns do tiocianato (SCN).	77
Figura 21. Modos de coordenação mais comuns do cianato (NCO).	77
Figura 22. Modos de coordenação mais comuns da azida (N ₃).	78

Figura 23. Espectro de absorção na região do IV do ligante bzan.	80
Figura 24. Representação da ligação metal-fósforo.....	81
Figura 25. Formas de coordenação do ligante dppf: (I) monodentada, (II) bidentada, (III) ponte e (IV) quelante.	82
Figura 26. Representação ORTEP do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl ₃	86
Figura 27. Representação ORTEP do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] e ilustração da ligação de hidrogênio existente entre o N do grupo –SCN de uma molécula [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl ₃ e um hidrogênio(H20) de outra molécula de [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl ₃	88
Figura 28. Espectros de absorção na região do IV dos compostos [Pd(bzan)(X)(dppp)], X = Cl (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N ₃ (C4).....	89
Figura 29. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp).	90
Figura 30. Estrutura proposta para os compostos [Pd(bzan)(X)(dppp)], X = Cl (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N ₃ (C4) no estado sólido.	91
Figura 31. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do ligante dppp livre, obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	92
Figura 32. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(Cl)(dppp)], obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	93
Figura 33. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)], obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	94
Figura 34. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(NCO)(dppp)], obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	95
Figura 35. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(N ₃)(dppp)], obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	96
Figura 36. Possíveis espécies em solução, sugerida pelos espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H}.....	99
Figura 37. Curvas TG/DTA do composto [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1).	100
Figura 38. Curvas TG/DTA do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2).	100
Figura 39. Curvas TG/DTA do composto [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3).....	101
Figura 40. Difratoograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1).	102

Figura 41. Espectros de absorção na região do IV dos compostos [Pd(bzan)(X)(dppf)], X = Cl (C15), SCN (C6), NCO (C7) e N ₃ (C8).....	103
Figura 42. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf).....	104
Figura 43. Estrutura proposta para os compostos [Pd(bzan)(X)(dppf)], X = Cl (C5), SCN (C6), NCO (C7) e N ₃ (C8) no estado sólido.	105
Figura 44. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do ligante dppf livre, obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	107
Figura 45. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(Cl)(dppf)] (C5), obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	109
Figura 46. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	110
Figura 47. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	111
Figura 48. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do composto [Pd(bzan)(N ₃)(dppf)] (C8), obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	112
Figura 49. Estruturas propostas em solução para o complexo [Pd(bzan)(SCN)(dppf)], N-C = N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), referente ao equilíbrio entre os isômeros I e II de ligação (M-SCN/M-NCS).....	114
Figura 50. Estruturas propostas em solução para o complexo [Pd(bzan)(X)(dppf)], X = Cl, SCN, NCO e N ₃ . (a) coordenação da dppf em ponte ao centro metálico e (b) coordenação da dppf de forma quelante.	115
Figura 51. Espectros de absorção na região do IV dos compostos [Pd(bzan)(X)(dppet)], X = Cl (C9), SCN (C10), NCO (C11) e N ₃ (C12).	117
Figura 52. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante <i>cis</i> 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet).....	118
Figura 53. Estrutura proposta para os compostos [Pd(bzan)(X)(dppet)], X = Cl (C9), SCN (C10), NCO (C11) e N ₃ (C12) no estado sólido.	119
Figura 54. Espectros de RMN de ¹ H (a) e de ³¹ P{ ¹ H} (b) do ligante dppet livre, obtidos em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	120
Figura 55. Espectro de RMN de ¹ H composto [Pd(bzan)(Cl)(dppet)] (C9), obtido em CDCl ₃ . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	122

Figura 56. Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	122
Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	123
Figura 58. Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{N}_3)(\text{dppet})]$ (C12), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	123
Figura 59. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{Cl})(\text{dppet})]$ (C9).	125
Figura 60. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10).	126
Figura 61. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11).	127
Figura 62. Difrátograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{Cl})(\text{dppet})]$ (C9).	128
Figura 63. Espectros no IV dos complexos sintetizados com isonicotinamida. $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{iso})]$ (C13), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{iso})]$ (C14), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{iso})]$ (C15) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{iso})]$ (C16).	130
Figura 64. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante isonicotinamida.	131
Figura 65. Proposta estrutural para os complexos da série $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$, Br , NCO e N_3	133
Figura 66. Numeração utilizada para a atribuição dos deslocamentos químicos do ligante isonicotinamida.	133
Figura 67. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante isonicotinamida livre em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	134
Figura 68. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})]$ (C13), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	135
Figura 69. Espectro de RMN de ^1H (a) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})]$ (C14), obtido em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	136
Figura 70. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (C15), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	137
Figura 71. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (C16), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.	138
Figura 72. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})]$ (C13).	141
Figura 73. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})]$ (C14).	142
Figura 74. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (C15).	143
Figura 75. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (C16).	144

Figura 76. Difratoograma de raios X, método do pó, do PdO obtido no final da termod decomposição do composto [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (C13).	146
Figura 77. Efeitos dos compostos e ligantes na liberação de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis.	153
Figura 78. Liberação de óxido nítrico (NO) em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis... ..	157

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais solventes utilizados nas sínteses.	51
Tabela 2 - Principais reagentes utilizados nas sínteses.	52
Tabela 3 - Siglas utilizadas para identificação dos complexos ciclopaladados e seus ligantes.	53
Tabela 4 - Principais frequências vibracionais, em cm^{-1} , observadas nos espectros no IV de pseudohaletos em complexos.	79
Tabela 5 - Principais modos vibracionais observados no espectro de absorção na região do IV para o ligante N-benzilidenoanilina (bzan).	80
Tabela 6 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , e suas respectivas atribuições para complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3	81
Tabela 7 - Principais deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3	83
Tabela 8 - Principais dados cristalográficos obtidos para $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})] \cdot \text{CDCl}_3$	85
Tabela 9 - Distâncias de ligação ($\text{\AA}$) para o complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})] \cdot \text{CDCl}_3$	87
Tabela 10 - Principais ângulos de ligação ($^\circ$) para o complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})] \cdot \text{CDCl}_3$	87
Tabela 11 - Ligação de hidrogênio ($\text{\AA}$) existente no cristal.	88
Tabela 12 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} =$ Cl (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N_3 (C4) e suas respectivas atribuições.	90
Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos contendo difenilfosfina dppp, obtidos a $\nu = 300 \text{ MHz}$	97
Tabela 14 - Principais dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e prováveis espécies formadas em solução dos complexos C1-C4.	98
Tabela 15 - Etapas de termodecomposição térmica dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppp})]$ (C1), $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$ (C2) e $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppp})]$ (C3).	102
Tabela 16 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $\text{X} =$ Cl (C5), SCN (C6), NCO (C7) e N_3 (C8).	105
Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C5), SCN (C6), NCO (C7) e N_3 (C8).	108

Tabela 18 - Principais dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e prováveis espécies formadas em solução dos complexos C5-C8. (s = singlete, d = dublete)	115
Tabela 19 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C9), SCN (C10), NCO (C11) e N_3 (C12).	118
Tabela 20 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C9), SCN (C10), NCO (C11) e N_3 (C12).	121
Tabela 21 - Perdas de massa (%) e intervalos de temperatura observados nas curvas TG/DTA dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C1), SCN (C2) e NCO (C3).....	127
Tabela 22 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{iso})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C13), Br (C14), NCO (C15) e N_3 (C16).	132
Tabela 23 - Dados de RMN ^1H e suas atribuição de deslocamentos químicos, δ (em ppm), dos ligantes livres (dmba e isn) e dos complexos obtidos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C13), Br (C14), NCO (C15) e N_3 (C16).....	139
Tabela 24 - Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e suas atribuição de deslocamentos químicos, δ (em ppm), dos ligantes livres (dmba e isn) e dos complexos obtidos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C13), Br (C14), NCO (C15) e N_3 (C16).	139
Tabela 25 - Perdas de massa (%) e intervalos de temperatura observados nas curvas TG/DTA dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{x} = \text{Cl}$ (C13), Br (C14), NCO (C15) e N_3 (C16).....	145
Tabela 26 - Índices de citotoxicidade (IC_{25} e IC_{50}) da cisplatina (C), dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (C6), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ (C7), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11), e dos ligantes bzán (C17), dppf (C19) e dppet (C20) para os macrófagos de camundongos saudáveis e para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, do tipo Balb/C após 24 h de exposição.....	150
Tabela 27 - Efeitos da cisplatina (C), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (C6), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ (C7), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11) e os ligantes bzán (C17), dppf (C19) e dppet (C20), sobre a produção de H_2O_2 em macrófagos de camundongos saudáveis e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida após 24h de exposição, utilizando os índices de citotoxicidade IC_{25} e IC_{50}	152
Tabela 28 - Efeitos da cisplatina (C), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (C6), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ (C7), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10), $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11) e os ligantes bzán (C17), dppf (C19) e dppet (C20), sobre a produção de NO em macrófagos de	

camundongos sadios e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24h de exposição utilizando os índices de citotoxicidade IC ₂₅ e IC ₅₀	155
Tabela 29 - Porcentagem de inibição quando utilizadas as doses de IC ₂₅ e IC ₅₀ da cisplatina (C), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11) e os ligantes bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20), sobre a produção de H ₂ O ₂ em macrófagos de camundongos sadios e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24h de exposição.	158
Tabela 30 - Porcentagens de inibição quando utilizadas as doses de IC ₂₅ e IC ₅₀ da cisplatina (C), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), dos ligantes bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20), sobre a liberação de NO em macrófagos peritoneais de camundongos sadios e portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24 h de exposição.	160
Tabela 31 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos complexos de paládio(II) [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2), [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3), [Pd(dmmba)(Cl)(isn)] (C13), [Pd(dmmba)(Br)(isn)] (C14), [Pd(dmmba)(NCO)(isn)] (C15), [Pd(dmmba)(N ₃)(isn)] (C16), além dos ligantes bzan (C17), dppp (C18), dmmba (C21) e isn (C22), frente o <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv ATCC - 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO.	163

LISTA DE ABREVIATURAS

bzan – N-benzilidenoanilina

dppp – 1,3-bis(difenilfosfina)propano

dppf – 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno

dppet – *cis* 1,2'-bis(difenilfosfina)etileno

OAc – acetato

dmba – N,N-dimetilbenzilamina

isn – isonicotinamida

DMSO-d₆ – Dimetil-sulfóxido deuterado

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

MEM-C – Meio essencial mínimo completo

MTT – Sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,4-difeniltetrazolio

RPMI-C – Meio de cultura RPMI completo (meio RPMI-1640 suplementado com estreptomicina, penicilina, β-mercaptoetanol e soro fetal bovino 5%)

RPMI-1640 – Meio de cultura RPMI (mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular)

DMSO – dimetilsulfóxido

***cis*-DDP** – cisplatina

ANOVA – análise de variância

IC₂₅ – Índice de citotoxicidade 75%

IC₅₀ – Índice de citotoxicidade 50%

LM3 – Linhagem tumoral de adenocarcionama mamário

LMM3 – Linhagem tumoral murina de adenocarcinoma mamário

LP07 – Linhagem tumoral de adenocarcionama pulmonar

PMA – 13-acetato 1,2-miristato forbol

PBS – tampão fosfato de sódio

LPS – lipopolissacarídeo

C+ – controle positivo

C- – controle negativo

DP – desvio padrão

p – nível de significância

CEMIB – Centro multidisciplinar para a investigação biológica

rpm – Rotação por minuto

IL-1 – interleucina-1

TNF- α – fator de necrose tumoral alfa

IS – Índice de seletividade

MABA – Microplate Alamar Blue (ensaio com azul de Alamar em microplaca)

CIM – Concentração inibitória mínima

ν_{as} – estiramento assimétrico no espectro de absorção na região do IV

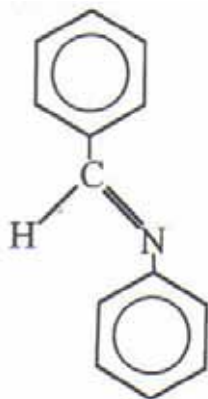
ν_s – estiramento simétrico no espectro de absorção na região do IV

δ – deformação angular referente à absorção na região do infravermelho (IV) ou deslocamento químico referente à ressonância magnética nuclear (RMN)

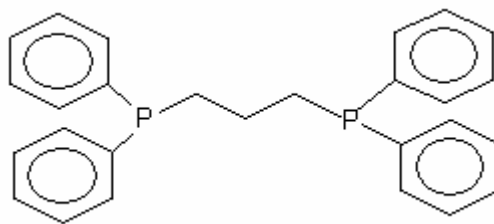
J – constante de acoplamento

μ – grupo ou ligante coordenado em ponte

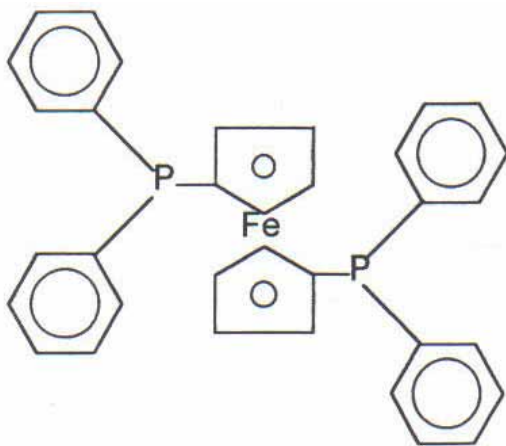
FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS LIGANTES



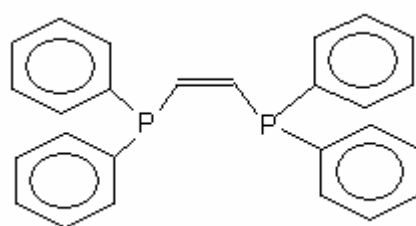
N-benzilidenoanilina (**bzan**)



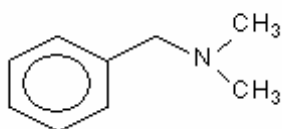
1,3-bis(difenilfosfina)propano (**dppp**)



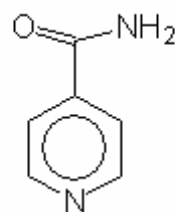
1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (**dppf**)



cis 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (**dppet**)



N,N-dimetilbenzilamina (**dmba**)



isonicotinamida (**isn**)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	36
1.1. Compostos Ciclometalados.....	36
1.2. Agentes Antitumorais.....	38
1.3. Tuberculose.....	45
2. OBJETIVOS.....	50
3. PARTE EXPERIMENTAL	51
3.1. Solventes e Reagentes	51
3.2. Metodologia	54
3.2.1. Sínteses	54
3.2.2. Recristalização.....	54
3.3. Caracterização dos compostos	54
3.3.1. Medidas de temperatura de fusão ou decomposição	54
3.3.2. Espectroscopia da absorção na região do infravermelho (IV)	54
3.3.3. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	55
3.3.4. Análise elementar de C, H e N.....	55
3.3.5. Análise térmica.....	55
3.3.6. Difração de raios X - Método do pó	56
3.3.7. Difração de raios X de monocristal	56
3.4. Síntese dos compostos precursores utilizando a N-benzilidenoanilina (bzan) .	57
3.4.1. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-OOCCH}_3)]_2$	57
3.4.2. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-Cl})]_2$	57
3.4.3. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$ (X = SCN, NCO).....	58
3.4.4. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-N}_3)]_2$	58
3.5. Síntese de compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp)	59
3.5.1. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppp})]$ (C1); dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano ...	59
3.5.2. Síntese do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$; X = SCN (C2), NCO (C3) e N ₃ (C4); dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano	59

3.6. Síntese de novos compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf).	60
3.6.1. Síntese do [Pd(bzan)(Cl)(dppf)] (C5); dppf = 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno.	60
3.6.2. Síntese do [Pd(bzan)(X)(dppf)]; X = SCN (C6), NCO (C7) e N ₃ (C8); dppf = 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno	60
3.7. Síntese de novos compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a cis 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet)	61
3.7.1. Síntese do [Pd(bzan)(Cl)(dppet)] (C9); dppet= cis 1,2'-bis(difenilfosfina)etileno	61
3.7.2. Síntese do [Pd(bzan)(X)(dppet)]; X = SCN (C10), NCO (C11) e N ₃ (C12); dppet= cis 1,2-bis(difenilfosfina)etileno.	61
3.8. Síntese de precursores utilizando N,N-benzilamina (dmba)	62
3.8.1. Síntese do [Pd(dmba)(μ-Cl)] ₂	62
3.8.2. Síntese do [Pd(dmba)(μ-Br)] ₂	62
3.8.3. Síntese do [Pd(dmba)(μ-NCO)] ₂	63
3.8.4. Síntese do [Pd(dmba)(μ-N ₃)] ₂	63
3.9. Síntese de novos ciclopaladados de dmba utilizando o ligante isonicotinamida (isn)	64
3.9.1. Síntese do [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (C13); isn = isonicotinamida	64
3.9.2. Síntese do [Pd(dmba)(Br)(isn)] (C14); isn = isonicotinamida	64
3.9.3. Síntese do [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (C15); isn = isonicotinamida.	65
3.9.4. Síntese do [Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (C16); isn = isonicotinamida.	65
3.10. Ensaios Biológicos	66
3.10.1. Preparo das soluções	66
3.10.2. Linhagem celular adenocarcinoma mamário de linhagem LMM3 <i>in vitro</i> e meio de cultura empregado.	66
3.10.3. Animais	67
3.10.4. Inoculação das células tumorais	67
3.10.5. Determinação do volume dos tumores.	67
3.10.6. Obtenção de macrófagos do exsudato peritoneal	68
3.10.7. Determinação da viabilidade celular pela técnica do MTT	68

3.11. Verificação da ativação dos mediadores químicos, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e óxido nítrico (NO), produzidos por macrófagos peritoneais in vitro	69
3.11.1. Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	69
3.11.2. Óxido Nítrico (NO).....	70
3.12. Determinação da atividade inibitória dos compostos em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos quanto à produção de H₂O₂ e NO.....	71
3.12.1. Peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	71
3.12.2. Óxido nítrico (NO).....	72
3.12.3. Cálculo da porcentagem de inibição	72
3.12.4. Análise Estatística.....	72
3.13. Testes Microbiológicos para Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às cepas padrões de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv.....	73
3.13.1. Preparação da solução reveladora.....	73
3.13.2. Preparação da suspensão bacteriana	73
3.13.3. Determinação da CIM em microplaca utilizando Azul de Alamar como revelador	74
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.1. Considerações Espectroscópicas a Respeito dos Compostos Precursores do Tipo [Pd(bzan)(μ-X)]₂, X = Cl, SCN, NCO e N₃.....	76
4.1.1. Grupo tiocianato (SCN)	76
4.1.2. Grupo cianato (NCO).....	77
4.1.3. Grupo azida (N ₃).....	78
4.1.4. N-benzilidenoanilina (bzan).....	79
4.1.5. Fosfinas	81
4.1.6. Ressonância Magnética Nuclear.....	82
4.2. Série de Compostos do Tipo [Pd(bzan)(X)(dppp)], X = Cl (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N₃ (C4); bzan = N-benzilidenoanilina, dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano.....	84
4.2.1. Difração de raios-X de monocristal do [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl ₃	84
4.2.2. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho	88
4.2.3. Ressonância Magnética Nuclear.....	91
4.2.4. Análise Térmica.....	99

4.3. Série de Compostos do Tipo [Pd(bzan)(X)(dppf)], X = Cl (C5), SCN (C6), NCO (C7), N₃ (C8) bzan = N-benzilidenoanilina, dppf = 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno	103
4.3.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	103
4.3.2. Ressonância Magnética Nuclear.....	106
4.4. Série de Compostos do Tipo [Pd(bzan)(X)(dppet)], X = Cl (9), SCN (C10), NCO (C11), N₃ (C12) bzan = N-benzilidenoanilina, dppet = <i>cis</i> 1,2-bis(difenilfosfina)etileno.....	116
4.4.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	116
4.4.2. Ressonância Magnética Nuclear.....	119
4.4.3. Análise Térmica.....	124
4.5. Série de Compostos do Tipo [Pd(dmba)(X)(isn)], X = Cl (C13), Br (C14), NCO (C15), N₃ (C16), dmba = N,N-dimetilbenzilamina, isn = isonicotinamida	129
4.5.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	129
4.5.2. Ressonância Magnética Nuclear.....	133
4.5.3. Análise Térmica.....	141
5. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS COMPLEXOS CICLOPALADADOS ..	148
5.1. Aplicação dos Complexos Ciclopaladados e seus Ligantes em Ensaio Biológicos como Agentes Antitumorais	148
5.1.1. Determinação da viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos sadios e de camundongos portadores de tumor sólido LMM3 frente aos diferentes compostos pela técnica de MTT.....	149
5.1.2. Liberação de H ₂ O ₂ por macrófagos de camundongos sadios e camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida.....	151
5.1.3. Liberação de NO por macrófagos de camundongos sadios e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida.....	154
5.1.4. Determinação da inibição de H ₂ O ₂	158
5.1.5. Determinação da inibição de NO	159
5.2. Atividade biológica frente ao bacilo de Koch	161
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	165
REFERÊNCIAS.....	169

1. INTRODUÇÃO

Os compostos organometálicos destacam-se, ao longo das últimas décadas, por apresentarem diversas aplicações, como por exemplo, em catálise homogênea [1, 2], química supramolecular [3], na área tecnológica como materiais líquido-cristalinos [4, 5] e na área médica atuando principalmente como agentes antitumorais [6, 10], entre outras. Inseridos nesta classe de complexos estão os ciclometalados de paládio (II) ou ciclopaladados. Na literatura há muitos trabalhos publicados sobre ciclometalados, sendo então apresentado nesta introdução um breve comentário sobre ciclopaladados enfatizando suas aplicações biológicas.

1.1. Compostos Ciclometalados

Os compostos ciclometalados constituem uma classe distinta de complexos organometálicos e originam-se de reação com formação de um anel quelato [11], como apresentado na Figura 1.

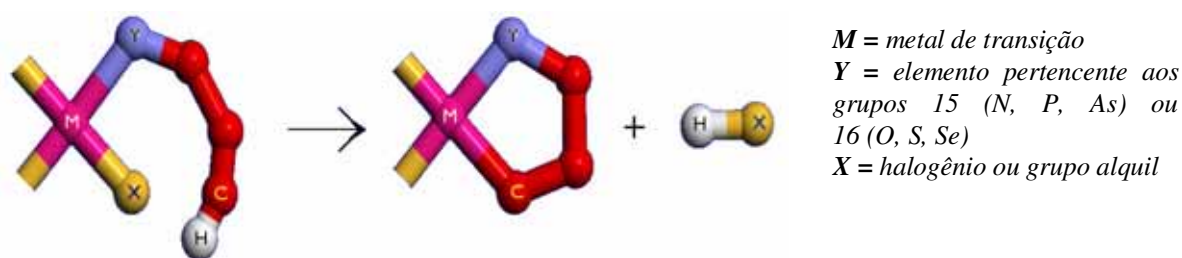


Figura 1. Representação esquemática de formação do anel ciclometalado.

O anel ciclometalado é constituído por uma ligação de coordenação entre um metal de transição M e um átomo doador de elétrons Y , pertencente aos grupos 15 (N, P, As) ou 16 (O, S, Se) da Tabela Periódica e uma ligação covalente metal-carbono [2]. A ligação $M-C$ é formada pela ruptura intramolecular de uma ligação $C-H$ de um composto de coordenação inicial, sendo X um halogênio ou um grupo alquil [12].

A Figura 2 mostra exemplos de ciclopaladados com aminas (1), iminas (2), piridinas (3), tiocetonas (4), amidas (5), amidinas (6), oxazolinas (7) e também mostra ciclometalados contendo como átomos doadores o fósforo (8 e 9), o enxofre (10), o oxigênio (11) e arsênio (12). Os ciclopaladados mais comuns são derivados de aminas e iminas terciárias e formam anéis de cinco ou seis membros [13].

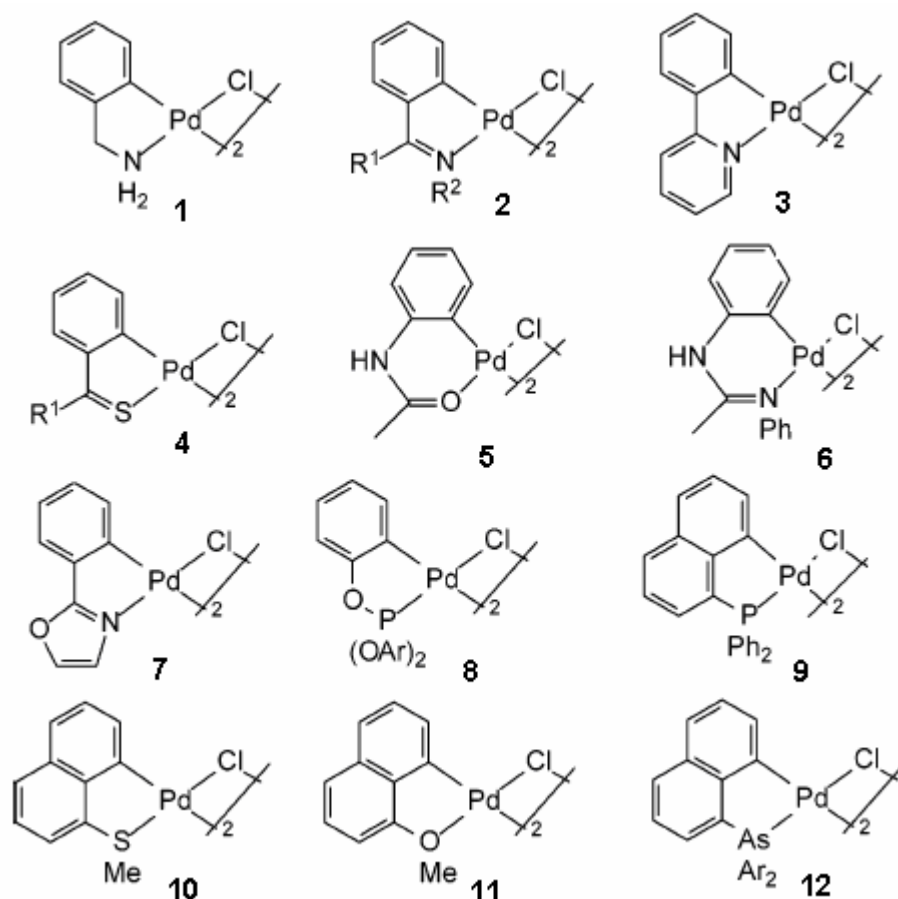


Figura 2. Exemplos de ciclopaladados com vários grupos doadores.

A reatividade dos compostos ciclopaladados origina uma ampla variedade de complexos. Cite-se por exemplo a clivagem de ciclopaladados contendo haletos em ponte por ligantes neutros como piridinas e fosfinas [14, 15] e ligantes aniônicos como a azida, cianato, tiocianato, entre outros [16, 17]. Algumas das muitas reações dos compostos ciclometalados estão ilustradas na Figura 3.

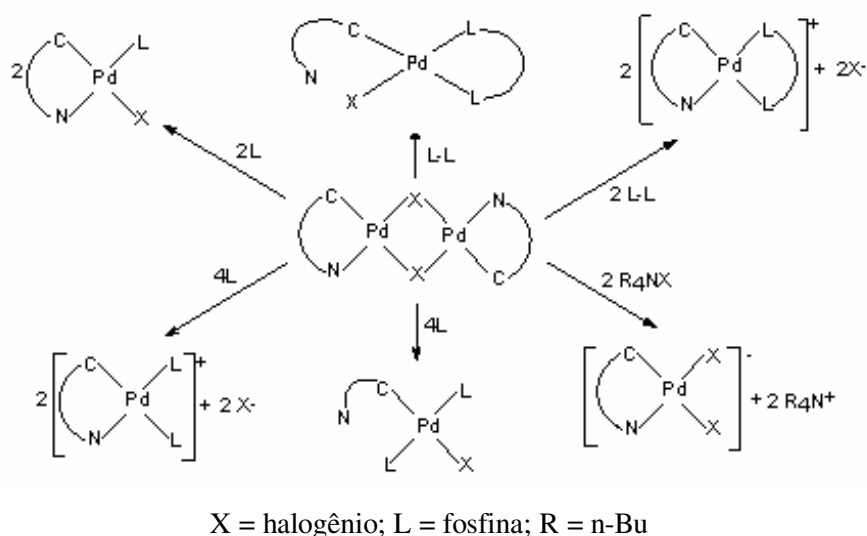


Figura 3. Formação de compostos ciclopaladados ou não mediante reações com ligantes aniônicos, neutros ou catiônicos.

Há vários estudos relatando que os complexos ciclopaladados podem apresentar propriedades relevantes como moléculas bioativas, em especial, na área médica como possíveis agentes antitumorais, o que será comentado nas páginas subseqüentes.

1.2. Agentes Antitumorais

O sucesso de compostos organometálicos no combate a doenças, particularmente o câncer, aumentou o interesse farmacêutico nestes compostos [18], acarretando em muitos esforços para o desenvolvimento de diagnósticos e terapias para a cura do câncer [19].

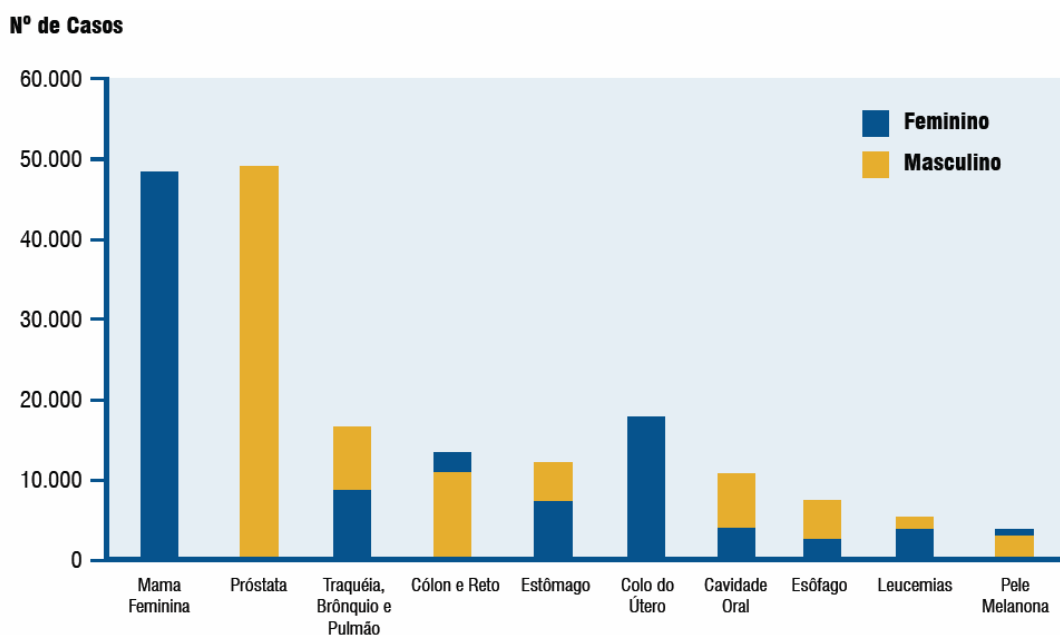
A Química Farmacêutica teve seu início nos trabalhos de Paul Ehrlich, prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1908 e Alfred Werner, prêmio Nobel de Química em 1913, o primeiro a ser conferido a um Químico Inorgânico. Werner é considerado o pai da Química de Coordenação pelo desenvolvimento de sua teoria para explicar a estrutura e a ligação química nos complexos metálicos [20].

Apesar da relevância dos trabalhos de Ehrlich e Werner, a Química Farmacêutica voltava-se principalmente à investigação e aplicação de compostos orgânicos e produtos naturais até a descoberta, feita pelo físico Barnett Rosenberg [21] em 1965, das propriedades antitumorais do *cis*-diamindicloroplatina (II), $cis[Pt(Cl_2)(NH_3)_2]$, conhecido como cisplatina

ou *cis*-DDP. As investigações sobre a cisplatina constituem possivelmente o maior sucesso da Química Farmacêutica, pois a partir de seu uso clínico iniciado em 1978, o número de óbitos de homens por tumor de testículo [22] diminuiu cerca de 80%.

Atualmente, segundo a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a terceira causa de óbitos no mundo (12%), matando cerca de 6 milhões de pessoas por ano [23].

No Brasil, as estimativas indicam para o ano de 2008, que ocorrerão 466.730 novos casos de câncer, sendo 231.860 para o sexo masculino e 234.870 para o sexo feminino. Prevê-se que o câncer de pele do tipo não melanoma (115 mil casos novos) será o mais incidente na população brasileira, acompanhado pelos tumores de próstata (49 mil), de mama feminina (49 mil), de pulmão (27 mil), de cólon e reto (27 mil), de estômago (22 mil) e de colo do útero (19 mil), Figura 4.



Fonte: Ministério da Saúde (MS)/Instituto Nacional de Câncer - INCA

Figura 4. Tipos de câncer mais incidentes, estimados para o ano de 2008, exceto pele não melanoma, na população brasileira.

O câncer pode ser tratado por cirurgia, radiação, hormônios, imunoterapia e quimioterapia [24]. O objetivo maior da quimioterapia citotóxica é eliminar as células neoplásicas, preservando as normais. Contudo, a maioria dos agentes quimioterápicos age de forma não-específica, lesando tanto células malignas quanto normais, particularmente as

células de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia: náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções [25].

Uma das alternativas para inibir o crescimento do câncer é cessar o fluxo de informação genética através do DNA, e esse é o mecanismo de ação da cisplatina. A cisplatina antes de alcançar as células, apresenta reações de substituição, como a hidrólise. Do lado externo da célula, no plasma sanguíneo, a concentração de cloreto é alta (100 mmol/L), impedindo a hidrólise dos ligantes cloro, e mantém a cisplatina inalterada. Ao entrar na célula, a diminuição na concentração de cloreto (cerca de 4 mmol/L) permite a hidrólise do complexo, formando outras espécies que podem reagir mais prontamente com o DNA [26], conforme mostra a Figura 5.

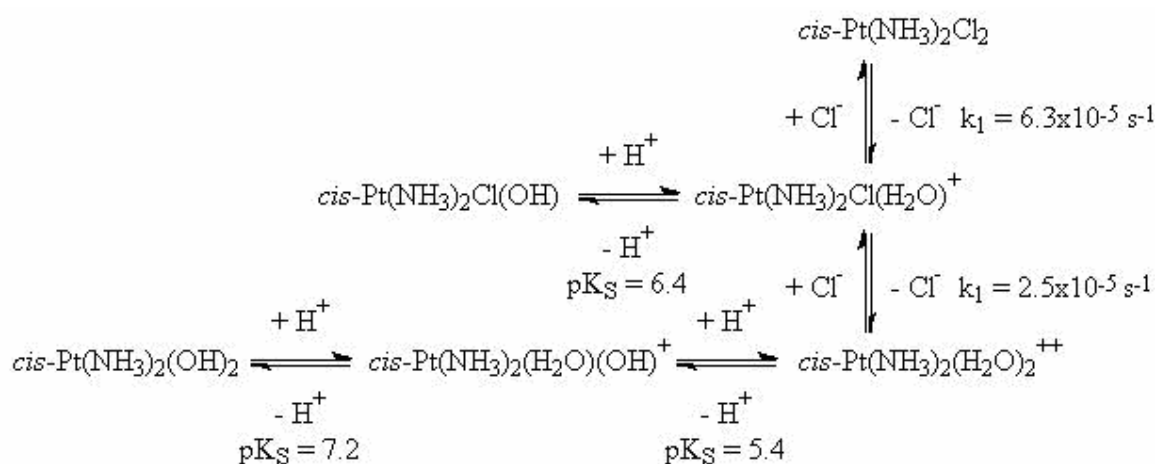


Figura 5. Hidrólise da cisplatina.

A cisplatina se liga ao DNA através do N7 de duas bases guanina ou adenina e guanina. Interações não covalentes entre o complexo metálico e o DNA incluem ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e intercalação [27], Figura 6.

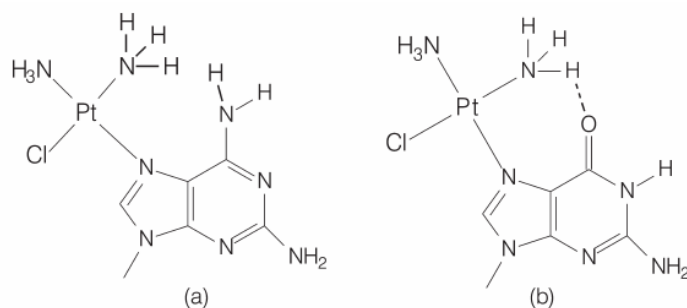


Figura 6. Representação das interações da cisplatina com as bases nitrogenadas adenina (a) e guanina (b).

Para a cisplatina, o complexo encontrado majoritariamente corresponde à ligação intrafita (Figura 7), envolvendo bases guaninas adjacentes, o que sugere ser a formação desse complexo a maior responsável pela sua atividade antitumoral, pois provoca lesões no DNA difíceis de serem reparadas. A habilidade da cisplatina de se ligar ao DNA e de distorcer sua estrutura sugere que o composto interfira no funcionamento normal desse componente celular. Os processos de replicação e de transcrição de DNA são essenciais para a divisão celular e para a produção de proteínas. Qualquer agente que interfira nesses processos pode ser citotóxico. A inibição da replicação do DNA sugere que o composto possa causar a morte das células cancerosas ao bloquear sua habilidade de sintetizar novas moléculas de DNA, necessárias para a divisão celular [28].

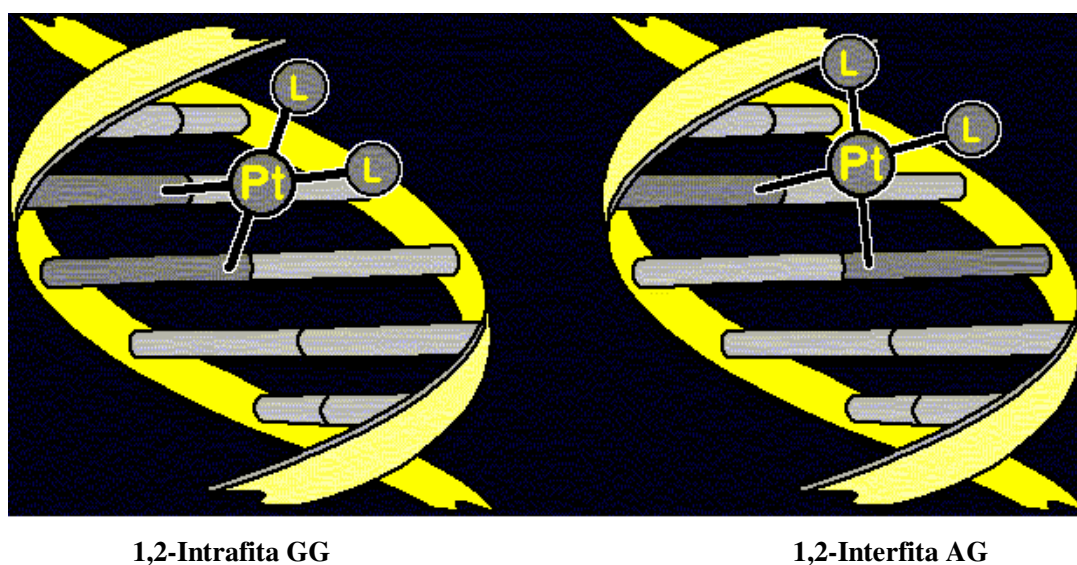


Figura 7. Representação da cisplatina atuando intrafita e interfita nas bases do DNA.

Apesar do sucesso com o uso da cisplatina, há várias limitações como um número restrito de tumores, dentre eles estão o tumor de testículo e outros tumores sólidos, como o de

ovário, pescoço, bexiga e cabeça [29] além de uma série de efeitos colaterais como nefrotoxicidade, ototoxicidade [30, 31], náuseas, vômitos e neurotoxicidade [30], a qual é dose-dependente [24]. Outro aspecto relevante é que alguns tumores apresentam resistência natural à cisplatina, enquanto outros desenvolvem esta resistência após o início do tratamento [29].

Vários análogos da cisplatina como a carboplatina ou loboplatina, e seus derivados são aplicados em tumores que exibem resistência à cisplatina, Figura 8. Esses compostos são chamados de compostos de segunda geração. Por exemplo, a carboplatina foi utilizada em triagem clínica no início da década de 80 e mostrou-se eficiente contra câncer de ovário; seu mecanismo de ação é similar ao da cisplatina [32].

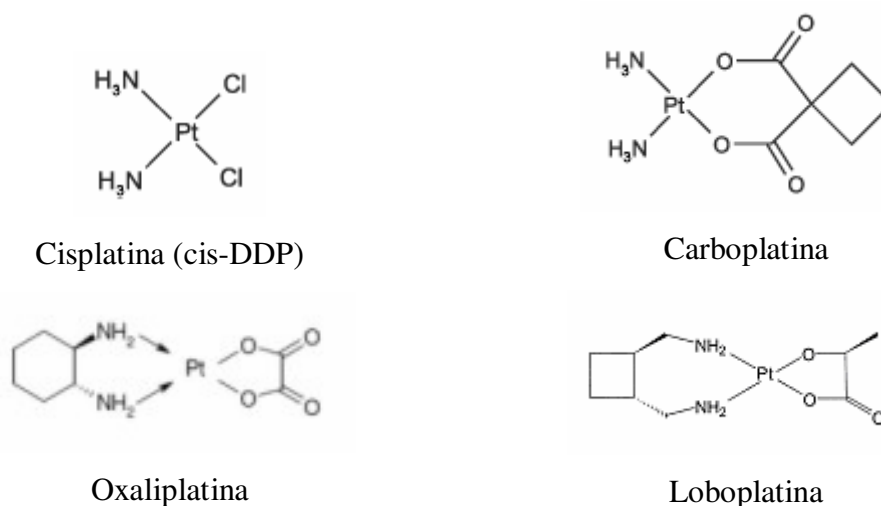


Figura 8. Algumas das drogas de segunda geração utilizadas no tratamento contra o câncer, além da cisplatina, droga de primeira geração.

Considerando esta gama de inconvenientes, se faz necessário a investigação de novas drogas antitumorais, não somente utilizando platina(II), mas com outros íons metálicos como o paládio(II).

Compostos ciclopaladados foram recentemente utilizados com êxito [8, 10], como espécies com atividade citotóxica, pois além de complexos estáveis o suficiente para permitir uma ação eficaz da droga no organismo em concentrações baixas, também possuem uma citotoxicidade consideravelmente menor que os compostos análogos de platina [10]. A Figura 9 apresenta dois complexos que exibiram considerável atividade antitumoral.

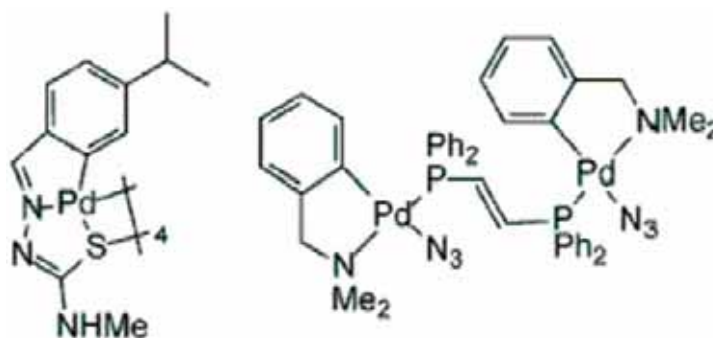


Figura 9. Ciclopaladados com atividade antitumoral.

Destacam-se também derivados de Pd(II) organopaladados mono, bi e polinucleares. Por exemplo, o organopaladado $[\text{Pd}(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S})\text{Cl}_2]$ contendo o ligante derivado da tiosemicarbazona, apresentou atividade citotóxica *in vitro* frente a certos tipos de células cancerosas, sendo o mesmo superior ao análogo de platina(II) [33]. A Figura 10 ilustra as estruturas da tiosemicarbazona (**a**) e dos compostos contendo Pd e Pt (**b**).

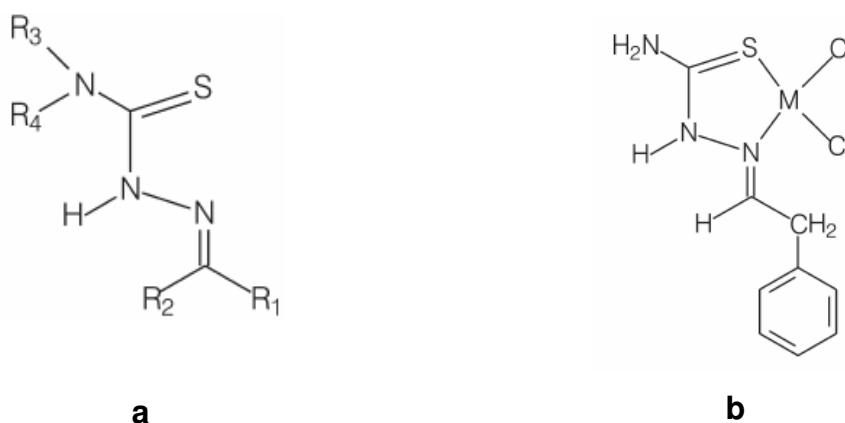


Figura 10. Estruturas: (**a**) da tiosemicarbazona e (**b**) de complexos de paládio e platina (M = Pd e Pt).

Compostos de Pd(II) ciclometalados ou não, contendo como ligantes as difosfinas (Figura 11), mostraram atividades biológicas promissoras frente à células cancerosas cultivadas *in vitro* [34], em três linhagens de células tumorais humanas; **HeLa** (colon do útero), **Hep-2** (orofaringe) e **C6** (glioma cerebral) [10].

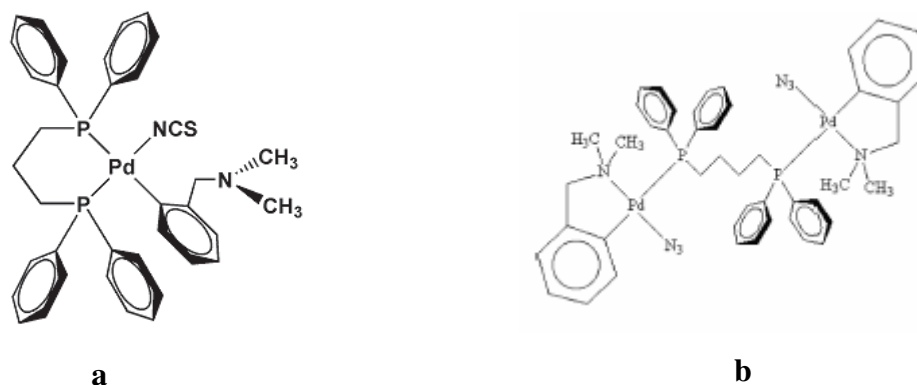


Figura 11. Fórmulas estruturais planas dos organometálicos $[\text{Pd}(\text{dmab})(\text{NCS})(\text{dppp})]$ **(a)** e $[\text{Pd}_2(\text{dmab})_2(\text{N}_3)_2(\mu\text{-dppb})]$ **(b)**, dmab = N,N-dimetilbenzilamina, dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano e dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano.

Embora seja constatada uma forte tendência na investigação da atividade biológica envolvendo interações entre complexos inorgânicos com o DNA e RNA, verifica-se que há raros trabalhos enfatizando a estimulação de macrófagos do sistema imunológico por estas espécies químicas.

Os macrófagos constituem um dos principais componentes do sistema imunológico e são as primeiras células a serem ativadas para participar de uma resposta imunológica [34, 35] quando o organismo é exposto a fatores exógenos como bactérias, vírus, fungos, e substâncias endógenas. Os macrófagos podem ser ativados mediante uma série de estímulos, como a produção de citocinas, entre elas o fator de necrose tumoral (TNF), interferon- γ (IFN- γ), interleucina-1 (IL-1) e indução da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), secreção de óxido nítrico (NO), ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) [36].

Os intermediários reativos de oxigênio (ROIs), como o radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o íon hidroxila ($\text{OH}^{\bullet}$), são importantes na destruição de microorganismos invasores e de células cancerígenas. A geração de H_2O_2 é um processo celular natural, resultante de várias reações específicas essenciais à atividade celular; porém quantidades significativas de H_2O_2 liberadas induzem a quebra da fita do DNA e/ou perturbação no citoesqueleto da membrana, causando a morte celular [36].

Por outro lado a importância fisiológica dos intermediários reativos de nitrogênio (IRNs), como o NO, deve-se ao fato do mesmo atuar como um importante mensageiro, ativando ou inibindo diversas moléculas-alvo envolvidas em processos tão diversos quanto a regulação do tônus muscular, controle imunológico da relação patógeno-hospedeiro e a

neurotransmissão [37]. No sistema imunológico, o óxido nítrico é produzido em quantidades significativas durante a resposta inflamatória por macrófagos e outras células do sistema imune [35, 37]. O NO gerado ocasiona danos oxidativos letais às células-alvo. Uma variação nos níveis de concentração do NO endógeno (deficiência ou excesso), acarreta vários processos fisiopatológicos. A deficiência na produção de NO pode resultar em hipertensão, angina e impotência, a superprodução de NO pode ocasionar respostas inflamatórias severas, choque circulatório ou até mesmo o infarto [37].

Por apresentarem resultados promissores como agentes antitumorais, e por não haver na literatura relatos de pesquisa com complexos de paládio(II) contra o bacilo de Koch, agente causador da tuberculose, nosso grupo de pesquisa iniciou testes com estes complexos para avaliar seus potenciais tuberculostáticos, o que será apresentado adiante.

1.3. Tuberculose

A tuberculose (TB) é uma doença contagiosa grave, com relatos de médicos na Grécia e na Roma antiga e, atualmente, acredita-se que esta doença já era conhecida também no antigo Egito, já que pesquisadores encontraram lesões de tuberculose em múmias. No entanto, somente em 1882 a bactéria responsável pela doença, o *Mycobacterium tuberculosis*, foi isolada pelo cientista alemão Robert Koch; e em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK) [38].

Essa doença infecto-contagiosa causada por uma bactéria, afeta principalmente os pulmões, mas também pode ocorrer em outros órgãos do corpo, como ossos, rins e meninges. Esta doença está associada a fatores comportamentais, como alcoolismo e fumo, que podem causar vulnerabilidade ao organismo, além de ser um risco para pacientes com o vírus HIV [39], pois estes apresentam o sistema de defesa imunológico debilitado. Ela é transmitida pelo ar, pelo contato próximo com as gotículas de saliva de uma pessoa infectada. Os sintomas incluem tosse prolongada, dor no peito e escarro, que pode ter sangue [39]. Normalmente, 90% das pessoas que carregam o bacilo em seu organismo nunca irão desenvolver a tuberculose, tampouco serão capazes de transmiti-la pelo ar.

A tuberculose (TB) constitui um importante problema mundial, especialmente em países em desenvolvimento, face à desigualdade social, aos aglomerados populacionais, aos movimentos migratórios, o aparecimento de cepas de bacilos resistentes (multi-droga

resistentes) aos fármacos conhecidos e ao surgimento da AIDS na década de 80. Atualmente acarreta a morte de aproximadamente 1,6 milhões de pessoas a cada ano.

Estima-se que 1/3 da população mundial esteja infectada com o bacilo da tuberculose. A Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que em vinte anos, trinta milhões de pessoas estejam infectadas [40]. A cada ano surgem aproximadamente oito milhões de novos casos e dois milhões de mortes [41]. Atualmente, o número de casos de tuberculose no Brasil está estimado em um milhão [42].

Em 1944, Selman Waksman, descobriu a estreptomicina (SM) (Figura 12), produzida por um microorganismo, a bactéria *Streptomyces griseus*, sendo o primeiro antibiótico capaz de atuar de maneira eficaz no combate à tuberculose [38].

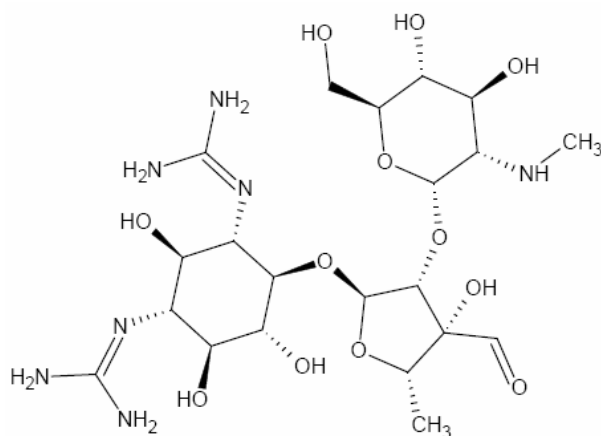


Figura 12. Streptomicina: primeiro antibiótico capaz de atuar sobre a tuberculose.

Após a descoberta da estreptomicina [38], novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a isoniazida (INH) em 1952, a rifampicina (RPM) em 1965; o etambutol (EMB), sintetizado em 1960, porém só empregado em 1968 e a pirazinamida (PZA) sintetizada em 1936 e só utilizada em 1970 (Figura 13).

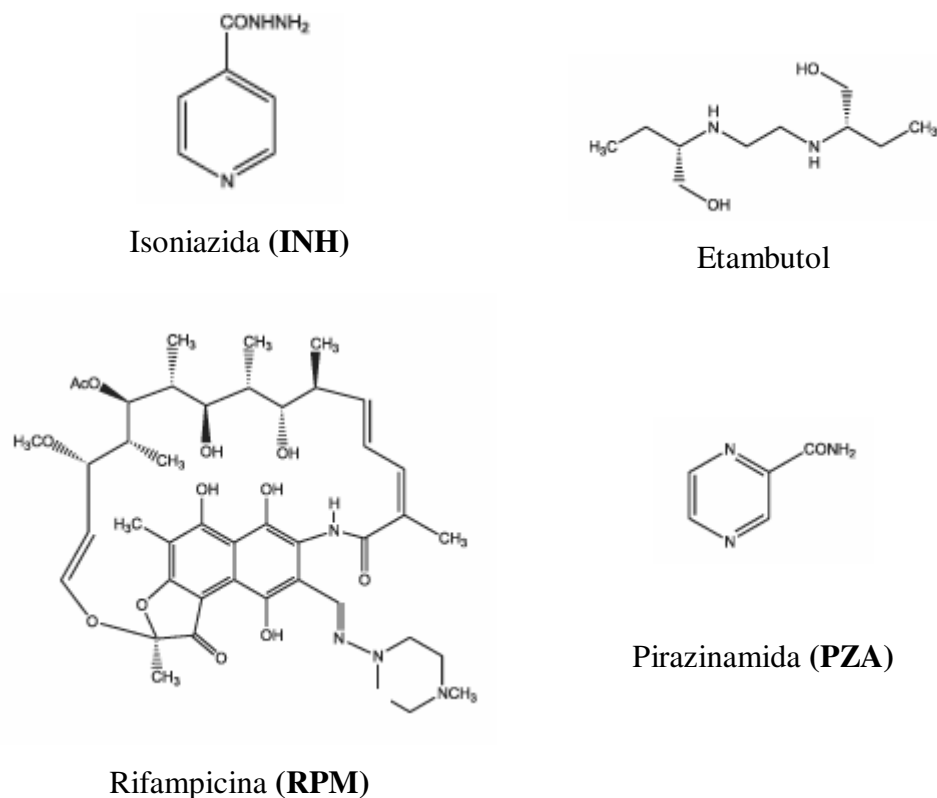


Figura 13. Fármacos comumente utilizados para o tratamento da tuberculose.

A pirazinamida (PZA) é uma importante droga de primeira linha usada para o tratamento da tuberculose. Juntamente com a isoniazida (INH), rifampicina (RPM) e o etambutol, é responsável por matar os bacilos resistentes da tuberculose durante a fase inicial da quimioterapia [43, 44]. A pirazinamida [45] foi a chave para diminuir o tempo de tratamento de 9-12 meses para 6 meses. No entanto, a pirazinamida não tem atividade em pH neutro, porém em meio ácido, elimina mais de 76% dos bacilos. A Concentração Mínima Inibitória (CIM) é a concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano em mais de 90%, e a pirazinamida em pH 5.5–6.0, apresenta CIM na faixa de 50-100 mg/L [44].

Apesar da melhoria na quimioterapia, o controle da tuberculose é gravemente afetado pela resistência do *Mycobacterium tuberculosis* às drogas desenvolvidas. Por isso, se faz necessário produzir ou encontrar novas drogas capazes de reduzirem os casos de tuberculose [45].

O mecanismo de ação de algumas drogas contra a tuberculose foi desvendado no final dos anos 90. O fármaco interfere na síntese dos ácidos micólicos, uma das vias químicas responsáveis pela produção das paredes celulares do bacilo de Koch e, assim, interrompem a

formação plena dessa estrutura rígida, essencial para a proteção das células do patógeno. Conseqüentemente, a droga não deixa a bactéria se multiplicar, levando-a à morte [46].

Drogas seletivas e refinadas, que ataquem mais o bacilo e menos o homem, podem levar a uma redução considerável no tempo necessário para tratamento da tuberculose, hoje de seis meses, durante os quais quatro distintos medicamentos são ministrados aos pacientes. A terapia é longa e, devido aos efeitos colaterais da quimioterapia (náuseas, vômitos e mais raramente a icterícia), uma parte considerável dos pacientes não completa o longo tratamento [46]. Por estes e outros problemas como infecções oportunistas causadas por micobactérias ou vírus, se faz necessário buscar novas drogas sintéticas, mais eficazes e menos tóxicas, reduzindo o tempo de tratamento e os efeitos colaterais [47].

Desta forma, foram realizados testes da atividade antimicobacteriana *in vitro* frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, com complexos de paládio(II) contendo isonicotinamida como ligante.

A isonicotinamida (Figura 14) é um derivado da piridina com um grupo amido (-CONH₂) na posição γ. Possui propriedades anti-tuberculostática, anti-pirética, fibrinolítica e anti-micobacteriana [48-51]. Devido a seus efeitos farmacológicos, sais de isonicotinamida são extensivamente usados como drogas em diversos processos biológicos e medicinais [48, 50].

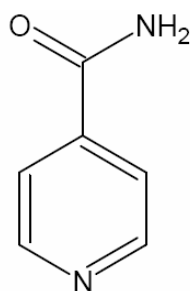


Figura 14. Representação do ligante isonicotinamida.

O grupo funcional amida é capaz de formar arranjos supramoleculares via ligação de hidrogênio [49] N-H...O. A Figura 15 exemplifica algumas possibilidades de ligação de hidrogênio para a molécula de isonicotinamida [52].

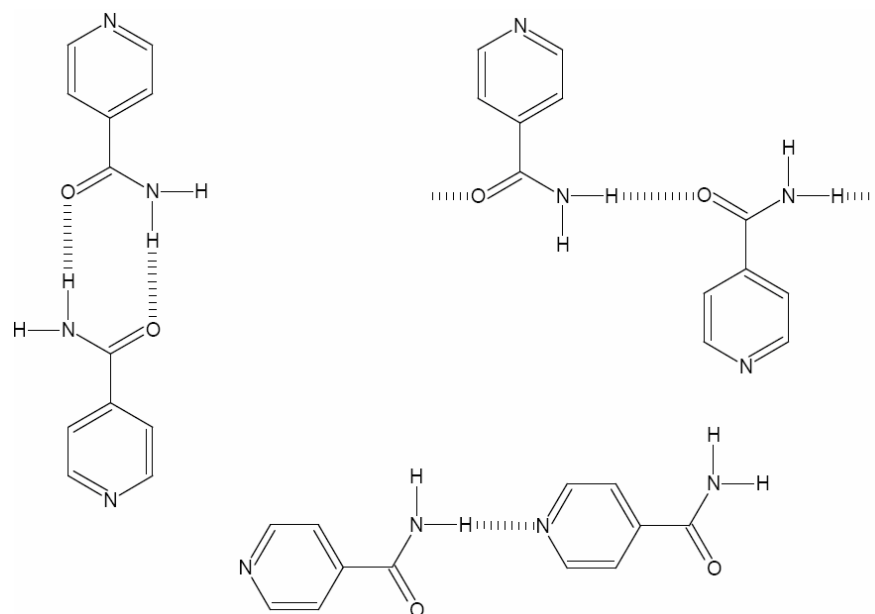


Figura 15. Possíveis modos de ligação de hidrogênio que ocorre na molécula de isonicotinamida.

Sendo assim, foi realizada a preparação de complexos de paládio(II) utilizando o ligante isonicotinamida (isn), e este foi escolhido por apresentar estrutura similar às drogas utilizadas no tratamento da tuberculose, como a isoniazida (INH) e a pirazinamida (PZA).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve os seguintes objetivos:

- I) Síntese, caracterização espectroscópica e estrutural de complexos de paládio(II) utilizando como haletos o cloreto (Cl^-) e brometo (Br^-) e os pseudohaletos tiocianato (SCN^-), cianato (NCO^-) e azida (N_3^-) e os ligantes difosfínicos: 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet) e 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp) além do ligante nitrogenado isonicotinamida (isn);
- II) Investigação do comportamento térmico dos compostos acima sintetizados;
- III) Investigação de suas potencialidades biológicas: viabilidade celular, produção e inibição de intermediários reativos de oxigênio, como NO e H_2O_2 em macrófagos de camundongos saudáveis e camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida;
- IV) Verificação de potencialidades tuberculostáticas de complexos de paládio(II) contendo o ligante isonicotinamida (isn) e 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Solventes e Reagentes

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

Tabela 1 - Principais solventes utilizados nas sínteses.

Solvente	Fórmula	Procedência
Clorofórmio	CHCl_3	<i>Merck</i>
Diclorometano	CH_2Cl_2	<i>Merck</i>
Metanol	CH_3OH	<i>Merck</i>
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	<i>Merck</i>
Acetona	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	<i>Merck</i>
Pentano	C_5H_{12}	<i>Merck</i>
Clorofórmio deuterado	CDCl_3	<i>Aldrich</i>
Dimetilsulfóxido (DMSO)	$\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$	<i>Aldrich</i>
Álcool Isopropílico	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$	<i>Mallinckrodt Chemical</i>

Tabela 2 - Principais reagentes utilizados nas sínteses.

Reagente	Fórmula	Procedência
Cloreto de Paládio (II)	PdCl_2	Sigma Aldrich
Acetato de Paládio (II)	$\text{Pd}(\text{OOCCH}_3)_2$	Sigma Aldrich
Cloreto de Lítio	LiCl	Carlo Erba
Azida de sódio	NaN_3	Riedel-de Haen
Tiocianato de Potássio	KSCN	Riedel-de Haen
Cianato de Potássio	KOCN	Riedel-de Haen
<i>N</i> -benzilidenoanilina (bzan)	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}$	Aldrich
Trietilamina	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$	Carlo Erba
1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp)	$(\text{H}_5\text{C}_6)_2\text{P}-(\text{CH}_2)_3-\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	Aldrich
1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf)	$\text{Fe}[(\eta^5-\text{C}_5\text{H}_4\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_2)_2]$	Aldrich
cis 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet)	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{P}_2$	Aldrich
Sal de tetrazólio (3 -(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio) (MTT)	$\text{C}_{40}\text{H}_{30}\text{N}_{10}\text{O}_6\text{Cl}_2$	Across Organics
<i>N,N</i> -dimetilbenzilamina (dmba)	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}$	Aldrich
Isonicotinamida (isn)	$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	Merck
Violeta cristal		
Vermelho de fenol		Bersee
RPMI-1640-C		Sigma
Cloreto de Sódio	NaCl	Merck
Dextrose		Merck
Peroxidase de raiz forte tipo II		Sigma
Hidróxido de sódio	NaOH	Sigma Chemical
Forbol miristato acetato (PMA)		Sigma Chemical
Tioglicolato de Sódio	$\text{SH-CH}_2\text{-COONa}$	Difco

Para facilitar o entendimento dos resultados subsequentes, os compostos e ligantes receberão siglas para sua identificação. A Tabela 3 indica as siglas utilizadas para os compostos de paládio(II) e seus ligantes.

Tabela 3 - Siglas utilizadas para identificação dos complexos ciclopaladados e seus ligantes.

Compostos	Siglas
[Pd(bzan)(Cl)(dppp)]	C1
[Pd(bzan)(SCN)(dppp)]	C2
[Pd(bzan)(NCO)(dppp)]	C3
[Pd(bzan)(N ₃)(dppp)]	C4
[Pd(bzan)(Cl)(dppf)]	C5
[Pd(bzan)(SCN)(dppf)]	C6
[Pd(bzan)(NCO)(dppf)]	C7
[Pd(bzan)(N ₃)(dppf)]	C8
[Pd(bzan)(Cl)(dppet)]	C9
[Pd(bzan)(SCN)(dppet)]	C10
[Pd(bzan)(NCO)(dppet)]	C11
[Pd(bzan)(N ₃)(dppet)]	C12
[Pd(dmba)(Cl)(isn)]	C13
[Pd(dmba)(Br)(isn)]	C14
[Pd(dmba)(NCO)(isn)]	C15
[Pd(dmba)(N ₃)(isn)]	C16
Ligantes	Siglas
bzan	C17
dppp	C18
dppf	C19
dppet	C20
dmba	C21
isn	C22
cisplatina	C

3.2. Metodologia

3.2.1. Sínteses

As reações foram feitas em atmosfera aberta e à temperatura ambiente, em frascos erlenmeyer com tampa esmerilhada. Não foram necessários cuidados especiais como atmosfera inerte e nem abrigo da luz, já que os compostos são estáveis ao ar e à luz.

3.2.2. Recristalização

A maioria dos compostos sintetizados foi recristalizada utilizando-se diclorometano ou clorofórmio como solvente e pentano como agente precipitante, à temperatura ambiente.

3.3. Caracterização dos compostos

3.3.1. Medidas de temperatura de fusão ou decomposição

As temperaturas de decomposição foram medidas em um aparelho digital MQAPF-302 da Microquímica, com temperatura de até 350 °C.

3.3.2. Espectroscopia da absorção na região do infravermelho (IV)

Os compostos 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.

3.3.3. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ foram registrados no Espectrômetro multinuclear *VARIAN*, modelo *INOVA 500*, operando a 500 MHz para hidrogênio, 125 MHz para carbono e 300 MHz para fósforo. Utilizou-se CDCl_3 para dissolução das amostras. Como padrões externos empregaram-se o tetrametilsilano (TMS) para o núcleo de ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e o ácido fosfórico (H_3PO_4) 85% para o núcleo de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$.

3.3.4. Análise elementar de C, H e N

As análises quantitativas dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas no analisador automático Elemental analyser CHN, modelo 2400 da Perkin Elmer, que permite a determinação de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio com precisão de 0,01%, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química de São Paulo – USP.

3.3.5. Análise térmica

As curvas TG e DTA foram obtidas no equipamento *SDT 2960*, fabricado pela *TA Instruments* modelo SDQ 600, capaz de operar da temperatura ambiente até 1500 °C. Os termopares para amostra e referência são de Pt-Pt/Rh 13%, com sensibilidade da balança de 0,1 µg e precisão de ±1%, capacidade de peso 200 mg, sensibilidade ΔT (DTA) de 0,001 °C. Cada amostra foi disposta em cadinho de α -alumina, o qual foi submetido a um aquecimento desde a temperatura ambiente até 900 °C, com taxa de aquecimento de 20 °C/min, sob atmosfera de ar sintético e fluxo contínuo de 50 mL/min. As massas utilizadas foram pesadas no intervalo de 6-10 mg. As atribuições propostas para cada etapa das termodecomposições foram feitas baseadas na estequiometria dos complexos.

3.3.6. Difração de raios X - Método do pó

Os difratogramas de raios X, pelo método de pó, dos resíduos formados nas termodecomposições, foram obtidos em um difratômetro Siemens D-5000 utilizando-se radiação CuK_α ($\lambda = 1.541 \text{ \AA}$). Os picos foram identificados utilizando a base de dados ICDD [53].

3.3.7. Difração de raios X de monocristal

As determinações estruturais por difração de raios X de monocristal foram realizadas em um difratômetro automático ENRAF-NONIUS, modelo CAD4. As estruturas foram resolvidas pelo método Patterson e refinadas pelo método dos mínimos quadrados, através de cálculos sucessivos de séries de Fourier utilizando sistemas computacionais apropriados. Esses dados foram coletados em colaboração com a Profa. Dra. Regina Helena de Almeida Santos, do Instituto de Química de São Carlos – USP.

3.4. Síntese dos compostos precursores utilizando a N-benzilidenoanilina (bzán) [54]

3.4.1. Síntese do $[Pd(bzán)(\mu-OOCCH_3)]_2$

Inicialmente, foram colocados em um balão de fundo redondo 1,9 g (10,5 mmol) de acetato de paládio(II), 2,3 g (10 mmol) de N-benzilidenoanilina, em 20 mL de ácido acético como solvente. A mistura reacional foi aquecida sob refluxo por 40 min, e após o resfriamento, adicionou-se 10 mL de água destilada, precipitando um sólido de cor amarela. A este adicionou-se CH_2Cl_2 havendo solubilização e transferiu-se para um funil de separação, resultando duas fases homogêneas. A fase inferior foi extraída com 80 mL de CH_2Cl_2 em pequenas quantidades, concentrada e cromatografada em coluna de sílica gel de 20 cm, utilizando-se como eluente 150 mL de uma solução de diclorometano/etanol (99:1). A solução eluída foi concentrada sob pressão reduzida, em rota vapor, à qual foi adicionada pentano provocando a precipitação de um sólido amarelo, que após recristalização em $CHCl_3$, forneceu cristais de cor marrom com massa igual a 3,00 g, correspondendo a 96% de rendimento. Análise elementar - % calc. (% enc.): C: 51,5 (51,0); H: 3,75 (3,6); N: 4,1 (4,1). Intervalo de decomposição: 210-220 °C.

3.4.2. Síntese do $[Pd(bzán)(\mu-Cl)]_2$

Foram colocados em um erlenmeyer de 50 mL, 0,5 g (0,7 mmol) de $[Pd(bzán)(\mu-OOCCH_3)]_2$ dissolvidos em 15 mL da solução metanol/acetona (2:1). Em seguida, adicionou-se 0,11 g (1,5 mmol) de KCl solubilizado em 0,5 mL de água destilada e 10 mL da solução metanol/acetona (2:1), originando uma suspensão amarela. A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética por 1 h quando, ao término desta, o volume da solução foi reduzido até a metade. A adição de pentano provocou a precipitação de um sólido amarelo que foi lavado com metanol, pentano e seco sob vácuo. A recristalização da massa obtida utilizando $CHCl_3$ como solvente forneceu alguns cristais amarelos e uma massa amorfa correspondentes a 0,5 g, equivalendo a 96% de rendimento. Análise elementar – % calc. (% enc.): C: 48,5 (48,3); H: 3,1 (3,0); N: 4,5 (4,7).

3.4.3. Síntese do $[Pd(bzan)(\mu-X)]_2$ ($X = SCN, NCO$)

Inicialmente, em um erlenmeyer, adicionou-se 0,10 g (0,15 mmol) de $[Pd(bzan)(\mu-OOCCH_3)]_2$ em 45 mL de metanol/acetona (2:1). Cada sal foi previamente solubilizado em 0,5 mL de água destilada e posteriormente adicionado 15 mL da solução metanol/acetona (2:1). Para KSCN foi utilizado 0,29 mmol, o equivalente a 0,03 g e para KNCO foi utilizado 0,29 mmol, o equivalente a 0,02 g. As soluções permaneceram sob agitação magnética por 1h. Após a redução do volume de solução, formaram-se sólidos amarelos provenientes das reações com KSCN e KNCO, que foram precipitados com pentano e água destilada, respectivamente. Estes produtos foram filtrados, lavados com água, éter-etílico, pentano e secos sob vácuo. Os compostos foram recristalizados em acetona/metanol 1:1. As massas obtidas de 0,95 g e 0,66 g, corresponderam a 90% e 75% de rendimento, respectivamente de $[Pd(bzan)(\mu-SCN)]_2$ e $[Pd(bzan)(\mu-NCO)]_2$. Análise elementar – % calc. (% enc.): **$[Pd(bzan)(\mu-SCN)]_2$** : C: 48,8 (48,3), H: 2,9 (2,9), N: 8,1 (8,0). Temperatura de decomposição: ≥ 240 °C. **$[Pd(bzan)(\mu-NCO)]_2$** : C: 51,2 (51,3); H: 3,1 (3,0); N: 8,5 (8,5). Temperatura de decomposição: ≥ 240 °C.

3.4.4. Síntese do $[Pd(bzan)(\mu-N_3)]_2$

Inicialmente, em um erlenmeyer, adicionou-se 0,10 g (0,15 mmol) de $[Pd(bzan)(\mu-OOCCH_3)]_2$ em 45 mL de metanol/acetona (2:1), 0,29 mmol (0,02 g) de NaN_3 solubilizado em 0,5 mL de água destilada e acrescido de 15 mL metanol/acetona (2:1). A solução permaneceu sob agitação magnética por 1h. Após a redução do volume de solução, houve a formação de um sólido amarelo. Este foi solubilizado em 10 mL de CH_2Cl_2 , filtrado e lavado com éter-etílico e precipitado com pentano e seco sob vácuo. O rendimento foi equivalente a 96% (0,08 g). Análise elementar – % calc. (% enc.) **$[Pd(bzan)(\mu-N_3)]_2$** C: 48,8 (48,3), H: 2,9 (2,9), N: 8,1 (8,0). Temperatura de decomposição: ≥ 250 °C.

3.5. Síntese de compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp) [54].

3.5.1. Síntese do $[Pd(bzan)(Cl)(dppp)]$ (C1); $dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano$

Inicialmente foram suspensos sob agitação magnética, em um erlenmeyer, 0,10 g (0,15 mmol) do $[Pd(bzan)(\mu-Cl)]_2$ em 15 mL de acetona. Foram adicionados lentamente, 0,13 g (0,31 mmol) de dppp solubilizados em 5 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida sob agitação magnética por 1 h, finda a qual a solução foi concentrada até a secura. O composto foi recristalizado em $CHCl_3$, e após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido amarelo, o qual foi seco sob vácuo. O rendimento foi equivalente a 97%. Análise Elementar - % calc. (% enc.) C: 65,0 (65,2); H: 4,8 (4,9), N: 1,9 (2,0). Temperatura de decomposição: > 163 °C. Cristais adequados para a determinação da estrutura cristalina e molecular resultaram da evaporação do composto dissolvido em $CDCl_3$ dentro do tubo de ressonância.

3.5.2. Síntese do $[Pd(bzan)(X)(dppp)]$; $X = SCN$ (C2), NCO (C3) e N_3 (C4); $dppp = 1,3-bis(difenilfosfina)propano$

Em três erlenmeyers de 50 mL de capacidade e tampa esmerilhada foram adicionados respectivamente 0,10 g (0,14 mmol) dos ciclopaladados diméricos $[Pd(bzan)(\mu-SCN)]_2$, $[Pd(bzan)(\mu-NCO)]_2$ e $[Pd(bzan)(\mu-N_3)]_2$, juntamente com 15 mL de acetona. As soluções foram mantidas sob agitação constante e foram adicionados lentamente, 0,13 g (0,31 mmol) de dppp solubilizados em 5 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida sob agitação magnética por 1 h, finda a qual as soluções foram concentradas até a secura. Os compostos foram recristalizados em $CHCl_3$, e após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido amarelo, o qual foi seco sob vácuo. Os rendimentos foram equivalentes 80-90%. As temperaturas de decomposição foram maiores que 163 °C. Análise Elementar - % calc. (% enc.):

$[Pd(bzan)(SCN)(dppp)]$ - C: 64,9 (64,2); H: 5,0 (4,9), N: 3,7 (3,3).

$[Pd(bzan)(NCO)(dppp)]$ - C: 64,9 (65,0); H: 5,0 (5,1), N: 3,7 (3,3).

$[Pd(bzan)(N_3)(dppp)]$ - C: 63,3 (64,2); H: 5,0 (5,2), N: 7,4 (7,4).

3.6. Síntese de novos compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf).

3.6.1. Síntese do $[Pd(bzan)(Cl)(dppf)]$ (C5); $dppf = 1,1'$ -bis(difenilfosfina)ferroceno

Em um erlenmeyer foram adicionados, sob agitação magnética, 0,10 g (0,15 mmol) do $[Pd(bzan)(\mu-Cl)]_2$ em 15 mL de diclorometano. A seguir foram adicionados lentamente, 0,17 g (0,31 mmol) de 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) solubilizados em 10 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida sob agitação por 1 h, finda a qual a solução foi concentrada até a secura. O composto foi recristalizado em $CHCl_3$, e após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido laranja, o qual foi seco sob vácuo. A massa obtida foi de 0,97 g, equivalente ao rendimento de 94%. Análise Elementar - % calc. (% enc.) C: 60,0 (60,7); H: 4,3 (4,3), N: 2,3 (2,3). Temperatura de decomposição: > 145 °C.

3.6.2. Síntese do $[Pd(bzan)(X)(dppf)]$; $X = SCN$ (C6), NCO (C7) e N_3 (C8); $dppf = 1,1'$ -bis(difenilfosfina)ferroceno

Em um erlenmeyer foram adicionados sob agitação magnética, 0,10 g (0,145 mmol) do $[Pd(bzan)(\mu-SCN)]_2$; 0,10 g (0,15 mmol) de $[Pd(bzan)(\mu-NCO)]_2$; ou 0,10 g (0,17 mmol) do $[Pd(bzan)(\mu-N_3)]_2$ em 10 mL de diclorometano. A seguir foram adicionados lentamente, 0,16 g (0,29 mmol) de 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) solubilizados em 7 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida sob agitação por 1 h, finda a qual a solução foi concentrada até a secura. O composto foi recristalizado em $CHCl_3$, e após a evaporação do solvente, obteve-se um sólido amarelo, o qual foi seco sob vácuo. As massas obtidas foram de 0,97 g para $[Pd(bzan)(SCN)(dppf)]$; 0,91 g para $[Pd(bzan)(NCO)(dppf)]$ e 0,96 g para $[Pd(bzan)(N_3)(dppf)]$, equivalentes aos rendimentos de 96%, 90% e 94%, respectivamente. Análise Elementar - % calc. (% enc.): $[Pd(bzan)(SCN)(dppf)]$ - C: 64,1 (64,5); H: 4,3 (4,3), N: 3,1 (3,2); $[Pd(bzan)(NCO)(dppf)]$ - C: 65,3 (65,2); H: 4,3 (4,3), N: 3,2 (3,1); $[Pd(bzan)(N_3)(dppf)]$ - C: 59,3 (60,2); H: 4,2 (4,6); N: 9,2 (10,3). Temperatura de decomposição dos compostos: > 145 °C.

3.7. Síntese de novos compostos utilizando o ligante N-benzilidenoanilina (bzan) e a *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet)

3.7.1. Síntese do $[Pd(bzan)(Cl)(dppet)]$ (C9); *dppet* = *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno

Adicionou-se em um erlenmeyer, 0,10g (0,16 mmol) do dímero $[Pd(bzan)(\mu-Cl)]_2$ em 15 mL de acetona. Em seguida foram adicionados, lentamente, 0,13 g (0,33 mmol) de *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (*dppet*) solubilizados em 5 mL de diclorometano. A reação foi mantida sob agitação magnética por 1 h e seu volume reduzido até *secura*. A recristalização foi feita utilizando $CHCl_3$ e o agente precipitante foi o pentano, obtendo-se um sólido amarelo claro, que foi seco sob vácuo. O rendimento obtido foi de 96% (0,09 g). Análise Elementar - % calc. (% enc.): C: 65,2 (65,1); H: 4,5 (4,5); N: 1,9 (2,1). Temperatura de decomposição: < 185 °C.

3.7.2. Síntese do $[Pd(bzan)(X)(dppet)]$; $X = SCN$ (C10), NCO (C11) e N_3 (C12); *dppet* = *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno.

Adicionou-se em um erlenmeyer, 0,10 g (0,15 mmol) do composto $[Pd(bzan)(\mu-SCN)]_2$ ou 0,10 g (0,15 mmol) do $[Pd(bzan)(\mu-NCO)]_2$ em 10 mL de acetona. Em seguida, foram adicionados lentamente, 0,12 g (0,29 mmol) de *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (*dppet*) solubilizados em 5 mL do mesmo solvente. A reação foi mantida sob agitação magnética por ½ h e seu volume reduzido até *secura*. A recristalização foi feita utilizando $CHCl_3$ e o agente precipitante foi o pentano, obtendo-se um sólido amarelo claro, o qual foi seco sob vácuo. O rendimento obtido foi de 96% (0,09 g). Análise Elementar - % calc. (% enc.): $[Pd(bzan)(SCN)(dppet)]$ - C: 64,8 (64,2); H: 4,4 (4,2); N: 3,8 (3,6); $[Pd(bzan)(NCO)(dppet)]$ - C: 66,3 (66,5); H: 4,5 (4,5), N: 3,9 (3,7), Temperatura de decomposição dos compostos: > 175 °C. Para a síntese do composto $[Pd(bzan)(N_3)(dppet)]$ - adotou-se o mesmo procedimento e a mesma razão molar precursor/ligante, mas utilizando-se diclorometano como solvente. O rendimento foi de 94% (0,09 g). Análise Elementar - % calc. (% enc.): C: 64,6 (66,1); H: 4,5 (4,4); N: 7,7 (7,8). Temperatura de decomposição: <184 °C.

3.8. Síntese de precursores utilizando N,N-dimetilbenzilamina (dmba) [55]

3.8.1. Síntese do $[Pd(dmba)(\mu-Cl)]_2$

Uma massa de 2,0 g (11,3 mmol) de cloreto de paládio(II) foi parcialmente solubilizada, sob aquecimento, em 200 mL de metanol. Nesta solução adicionou-se 0,96 g (22,6 mmol) de cloreto de lítio. A mistura permaneceu sob agitação magnética e aquecimento até que a solução ficasse marrom avermelhada. A solução foi filtrada e após o resfriamento houve a adição, sob agitação, de 1,7 mL (11,3 mmol) de N,N-dimetilbenzilamina (dmba). Posteriormente adicionou-se lentamente e sob agitação magnética 2 mL (14,4 mmol) de trietilamina em 10 mL de metanol. A solução foi mantida sob agitação por 8 h, havendo a formação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com metanol e éter etílico e seco sob vácuo. Após a recristalização do sólido em acetona como solvente e água como agente precipitante obteve-se um rendimento equivalente a 90% (2,85 g). Análise elementar: % calc. (% enc): C: 39,1 (39,4); H: 4,3 (4,2); N: 5,1 (5,0). Intervalo de decomposição: 158-161 °C.

3.8.2. Síntese do $[Pd(dmba)(\mu-Br)]_2$

Em um erlenmeyer de 50 mL de capacidade contendo 0,50 g (0,91 mmol) de $[Pd(dmba)(\mu-Cl)]_2$ em 20 mL de metanol e 10 mL de acetona (proporção 2:1). Nesta suspensão foi gotejada uma solução contendo 0,22 g (1,81 mmol) de KBr dissolvidos em 0,5 mL de água destilada, conduzindo a formação de uma solução de coloração amarela clara. A agitação magnética foi mantida durante 1 h. Um sólido amarelo foi precipitado pela adição do pentano à solução-mãe. O complexo foi filtrado, lavado com pentano e seco sob vácuo. O rendimento obtido foi de 93%. Análise elementar: % calc. (% enc). C: 33,7 (33,8); H: 3,9 (3,9); N: 4,4 (4,5). Temperatura de decomposição: 162 °C.

3.8.3. Síntese do $[Pd(dmba)(\mu-NCO)]_2$

Foram adicionados 0,35 g de $[Pd(dmba)(\mu-Cl)]_2$ em 20 mL de metanol e 10 mL de acetona. Nesta suspensão adicionou-se sob agitação magnética constante, 0,10 g de KNCO solubilizado em 0,5 mL de água destilada, acrescido de 10 mL de metanol e 5 mL de acetona. Após 30 min. houve a precipitação de um sólido amarelo, que foi filtrado, lavado com éter etílico e seco sob vácuo. Após a recristalização do sólido em diclorometano como solvente e posterior precipitação com pentano, obteve-se uma massa de 0,35 g do produto, correspondente a 100% de rendimento. Análise elementar: % calc. (% enc): C: 42,5 (42,9); H: 4,3 (4,9); N: 9,9 (9,5). Temperatura de decomposição: 156 °C.

3.8.4. Síntese do $[Pd(dmba)(\mu-N_3)]_2$

Foram adicionados 1,46 g de $[Pd(dmba)(\mu-Cl)]_2$ em 30 mL de acetona. À suspensão resultante, mantida sob agitação magnética, foi adicionada uma solução de 0,07 g de NaN_3 solubilizada em 0,5 mL de água destilada e 20 mL de acetona. Após 30 min. houve a precipitação de um sólido amarelo levemente esverdeado, que foi separado por filtração. O precipitado foi lavado com água destilada e pentano e seco sob vácuo. Rendimento de 90%, equivalente a 0,28 g. Análise elementar: % calc. (% enc): C: 37,3 (38,1); H: 4,3 (4,6); N: 19,3 (19,8). Temperatura de decomposição: 186 °C.

3.9. Síntese de novos ciclopaladados de dmbs utilizando o ligante isonicotinamida (isn)

3.9.1. Síntese do $[Pd(dmbs)(Cl)(isn)]$ (C13); isn = isonicotinamida

Inicialmente 15 mL da solução metanol/acetona (2:1) foi adicionada a 0,15 g do $[Pd(dmbs)(\mu-Cl)]_2$ havendo a formação de uma suspensão amarela. Em seguida, solubilizou-se 0,04 g de isonicotinamida com 5 mL de metanol e esta foi adicionada lentamente à suspensão. Ao adicionar a isonicotinamida observou-se a formação de uma solução límpida. Esta solução permaneceu sob agitação magnética constante por 1 h, finda a qual seu volume foi reduzido até secar. O sólido resultante foi solubilizado com 10 mL de metanol/acetona, a solução foi filtrada e em seguida adicionado pentano. O produto formado possui coloração branca acinzentada com rendimento de 94% (0,94 g). Análise elementar: % calc. (% obtida) – C: 45,9 (45,2); H: 4,3 (4,6); N: 10,3 (10,6). Intervalo de decomposição: 212,7 – 213,6 °C.

3.9.2. Síntese do $[Pd(dmbs)(Br)(isn)]$ (C14); isn = isonicotinamida

Inicialmente 25 mL da solução metanol/acetona (2:1) foi adicionada a 0,20 g (0,31 mmol) do dímero $[Pd(dmbs)(\mu-Br)]_2$ havendo a formação de uma suspensão amarela. Em seguida adicionou-se uma solução contendo 0,08 g (0,63 mmol) de isonicotinamida solubilizada em 5 mL de metanol. Ao adicionar a isonicotinamida, a solução tornou-se transparente, e esta permaneceu sob agitação magnética por 1 h, finda a qual seu volume foi reduzido até secar. O sólido resultante foi solubilizado com 10 mL de CH_2Cl_2 , a solução foi filtrada e em seguida foi adicionado pentano. O produto formado possui coloração branca. O rendimento obtido foi de 95%. Análise elementar: % calc. (% obtida) – C: 40,7 (40,5); H: 4,1 (4,2); N: 9,5 (9,6). Intervalo de decomposição: 196 – 199 °C.

3.9.3. Síntese do $[Pd(dmba)(NCO)(isn)]$ (**C15**); *isn* = isonicotinamida

Inicialmente 15 mL da solução metanol/acetona (2:1) foi adicionada a 0,15 g de $[Pd(dmba)(\mu-NCO)]_2$ havendo a formação de uma suspensão amarela. Em seguida, foi solubilizada em 0,03 g de isonicotinamida com 5 mL de metanol e esta foi adicionada lentamente à suspensão. Ao adicionar a isonicotinamida, observou-se a solubilização desta suspensão. Esta solução permaneceu sob agitação magnética constante por 1 h, finda a qual seu volume foi reduzido até *secura*. O sólido resultante foi solubilizado com 10 mL de metanol/acetona, a solução foi filtrada e em seguida adicionado pentano. O produto formado possui coloração branca. Obteve-se uma massa de 0,95 g, o equivalente a 82% de rendimento. Análise elementar: % calc. (% obtida) – C: 40,8 (47,5); H: 4,3 (4,5); N: 12,0 (13,8). Intervalo de decomposição: 206 – 207 °C.

3.9.4. Síntese do $[Pd(dmba)(N_3)(isn)]$ (**C16**); *isn* = isonicotinamida

Inicialmente 15 mL da solução metanol/acetona (2:1) foi adicionada a 0,15 g do dímero $[Pd(dmba)(\mu-N_3)]_2$ havendo a formação de uma suspensão amarela. Em seguida adicionou-se uma solução contendo 0,06 g de isonicotinamida com 5 mL de metanol. Observou-se ao adicionar a isonicotinamida um leve clareamento da suspensão, e esta permaneceu sob agitação magnética por 1 h, finda a qual seu volume reduzido até *secura*. O sólido resultante foi solubilizado com 10 mL de CH_2Cl_2 , a solução foi filtrada e em seguida foi adicionado pentano. O produto formado possui coloração branca. O rendimento obtido foi de 95% (0,05 g). Análise elementar: % calc. (% obtida) – C: 45,0 (44,5); H: 4,6 (4,5); N: 20,5 (20,8). Intervalo de decomposição: 196 – 199 °C.

3.10. Ensaios Biológicos

3.10.1. Preparo das soluções

Os compostos ciclopaladados foram solubilizadas em DMSO, tratado conforme os métodos convencionais [56], sendo que as soluções-mãe foram preparadas em concentração máxima de DMSO de 4% v/v, RPMI-C/DMSO para ensaios com macrófagos e MEM-C/DMSO para testes com linhagens de células de adenocarcinoma mamário (LMM3). As soluções foram diluídas em meio de cultura apropriado a cada ensaio biológico (PBS ou RPMI para macrófagos e MEM-C para células LMM3). As diluições foram realizadas empregando-se pipetadores automáticos com capacidade variando de 1000 µL a 100 µL e de 100 µL a 0,5 µL e ponteiros descartáveis apropriadas a cada pipetador. Foram empregadas concentrações 1×10^{-3} mol/L, 1×10^{-4} mol/L, 1×10^{-5} mol/L e 1×10^{-6} mol/L nas investigações prévias. Posteriormente, foram empregadas soluções variando suas concentrações µmol/L para a determinação da viabilidade celular frente à culturas de macrófagos e cultura celular LMM3.

3.10.2. Linhagem celular adenocarcinoma mamário de linhagem LMM3 in vitro e meio de cultura empregado

A linhagem tumoral de adenocarcinoma murino MM3, foi cedida pela Dra. Elisa Bal de Kier Joffé, do Instituto de Oncologia Angel H. Roffo – Buenos Aires – Argentina. Essa linhagem celular foi originada de adenocarcinoma mamário obtido em camundongos Balb/C, transplantável, com metástase para o pulmão. Essas células são tetraplóides, ou seja, são resultantes em geral de uma falha da conclusão de uma divisão por clivagem inicial do zigoto (4n), não possuem capacidade de produzir fibronectina e induzirem metástase no pulmão.

O cultivo celular foi mantido em meio MEM (Modified Eagle Medium), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 4 µg/mL de gentamicina, em estufa a 37 °C, com atmosfera úmida e tensão constante de 7,5% de CO₂. Foram realizados repiques três vezes por semana. O número de células foi determinado pela contagem em câmara hemocitométrica tipo

Neubauer, utilizando corante azul de Tripan, a 0,04% em PBS, e ajustado a uma concentração de 3×10^4 células/mL em meio MEM.

3.10.3. Animais

Foram utilizados camundongos isogênicos tipo Balb/C, fêmeas de 4-5 semanas, com peso variando entre 18 e 25 g, adquiridos do Biotério da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP - Cemib (Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica). Os animais foram mantidos em gaiolas de polycarbonato, com água, ração e maravalha autoclavadas, em local climatizado (23 ± 2 °C, $56 \pm 2\%$ de umidade relativa do ar), controle de claro e escuro em períodos de 12 h. Os procedimentos foram realizados conforme exigido pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara.

3.10.4. Inoculação das células tumorais

Os camundongos foram inoculados subcutâneamente com 0,1 mL da suspensão tumoral ajustada na concentração de 2×10^6 células/mL em meio MEM-incompleto.

3.10.5. Determinação do volume dos tumores

Uma vez iniciado o desenvolvimento dos tumores, foram realizadas medidas semanais dos diâmetros das massas tumorais da seguinte maneira: cada animal teve a pele completamente esticada na região abdominal para facilitar a visualização do nódulo e também auxiliar na medida do comprimento de cada nódulo com o auxílio de paquímetro. Quando o volume tumoral excedeu $0,5 \text{ cm}^3$, os animais foram sacrificados e conduzidos à realização dos testes biológicos, sendo que para se determinar o volume tumoral foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Volume tumoral (cm}^3\text{)} = 0,523 \times \text{comprimento} \times \text{largura} \times \text{altura}$$

3.10.6. Obtenção de macrófagos do exsudato peritoneal

Os camundongos foram inoculados intraperitonealmente com 3 mL de tioglicolato de sódio a 3% em água deionizada. Decorridos 3-4 dias de estímulo, os animais foram sacrificados em câmara de CO₂. Após a morte e exposição do peritонеo em câmara de fluxo laminar, foram inoculados intraperitonealmente 5,0 mL de solução tampão fosfato estéril (PBS) pH 7,2. Foi realizada leve massagem manual no peritонеo e as células foram coletadas e transferidas para tubos cônicos estéreis e mantidas em banho de gelo. Para o preparo da suspensão celular, centrifugou-se as células peritoneais 200xg durante 5 min. à temperatura ambiente. As células sedimentadas foram lavadas três vezes com 5 mL de PBS. Em seguida, foram ressuspensas em 1 mL do meio de cultura RPMI-1640-C, suplementado com 5% de soro fetal bovino, 1U/mL de estreptomicina, 1 U/mL de penicilina e 5×10^{-2} mol/L β -mercaptoetanol e assim designado como RPMI completo (RPMI – 1640 - C). O número de células foi determinado pela contagem em câmara hemocitométrica tipo Neubauer e ajustadas para as concentrações de cada teste imunológico realizado.

3.10.7. Determinação da viabilidade celular pela técnica do MTT [57]

Em alíquotas de 100 μ L das suspensões de macrófagos, contidas em cada poço de placas de cultivo de tecidos com 96 cavidades e ajustadas a uma concentração de 5×10^6 células/mL em meio RPMI-1640-C, foram adicionados em triplicata, 100 μ L de: cisplatina (C) utilizada como padrão, [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), além dos ligantes bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20), em diferentes concentrações (μ mol/L) e o mesmo volume de RPMI-C como controle de células. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C, com tensão constante de 7,5% de CO₂ por 24 h para a formação do tapete celular. Após esse período, os sobrenadantes das culturas foram descartados e 100 μ L da solução de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio) (MTT) diluído em tampão PBS a 5 mg/mL e posteriormente em meio RPMI-C foram adicionados em cada cavidade da placa, incubada por 3 h em estufa a 37 °C com tensão constante de 7,5 % de CO₂. O sal de tetrazólio sofre metabolização pelas proteinases mitocondriais das células vivas formando cristais de formazana (Figura 16). Após a incubação desprezou-se o sobrenadante e adicionou-se 100 μ L

de isopropanol para solubilização dos cristais. A absorbância foi lida em 540 nm em espectrofotômetro UV/visível para microplacas (Multiskan Ascent, Labsystems, Finlândia).

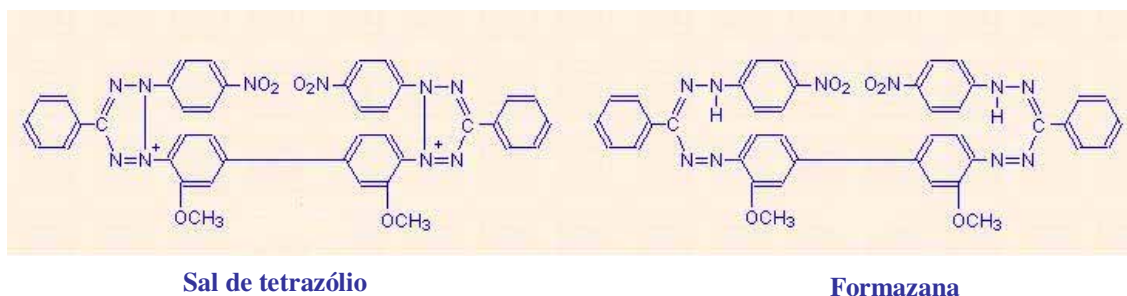


Figura 16. O sal de tetrazólio (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazólio) sofre metabolização pelas proteinases mitocondriais das células vivas formando cristais de formazana.

A determinação de 25% e 50% da concentração inibitória do composto (IC_{25} e IC_{50}), ou seja, a concentração do agente que reduz em 25 e 50% a viabilidade celular foi quantificada 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, $Y = A + BX$ forneceu os valores de IC_{25} e IC_{50} , na qual Y = Absorbância; X = Concentração.

3.11. Verificação da ativação dos mediadores químicos, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO), produzidos por macrófagos peritoneais *in vitro*

3.11.1. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Após a determinação da concentração celular do exsudato peritoneal, as células foram ajustadas à 2×10^6 células/mL em solução completa de vermelho de fenol, contendo 140 mmol/L de NaCl, 10 mmol/L de tampão fosfato de potássio, pH 7,0; 5,5 mmol/L de dextrose; 0,56 mmol/L de vermelho de fenol e peroxidase de raiz forte, tipo II a 0,01 mg/mL.

Foram adicionados em cada poço da placa de 96 cavidades, 100 μ L da suspensão celular e 50 μ L dos compostos nas concentrações dos IC_{25} e IC_{50} de 24 h: cisplatina (C) utilizada como padrão, [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), bzan (C17), dppf (C19) e

dppet (C20). Posteriormente a placa foi incubada por 1 h a 37 °C em estufa com tensão constante de 7,5% de CO₂. Para o controle negativo foram utilizadas somente células em solução completa de vermelho de fenol, acrescidas de 50 µL de tampão fosfato de potássio pH 7,0 e como controle positivo foram utilizadas somente células em solução completa de vermelho de fenol adicionadas de 50 µL de uma solução de PMA a 0,2 µmol/L. Decorrido o período de incubação, a reação foi interrompida pela adição de 50 µL de NaOH 5 N. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Visível a 620nm. As amostras foram feitas em triplicata e os resultados expressos em µmols de H₂O₂/2 x 10⁶ células peritoneais, expressos a partir de curva padrão, constituída de concentrações molares conhecidas de H₂O₂ em tampão vermelho de fenol.

3.11.2. Óxido Nítrico (NO)

O óxido nítrico foi quantificado pelo acúmulo de nitrito em meio de cultura e medido espectrofotometricamente utilizando o reagente de Griess com nitrito de sódio (NaNO₂) (Sigma) como padrão [58]. O método oficial para determinação do nitrito envolve os procedimentos espectrofotométricos baseados na reação de Griess, onde o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido. O diazo composto formado reage com o cloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina (NED), gerando um composto de coloração vermelha intensa, como mostra a Figura 17. A reação é controlada pelo tempo, e o produto deve ser determinado entre 10 min e 2 h após a mistura dos reagentes [59].

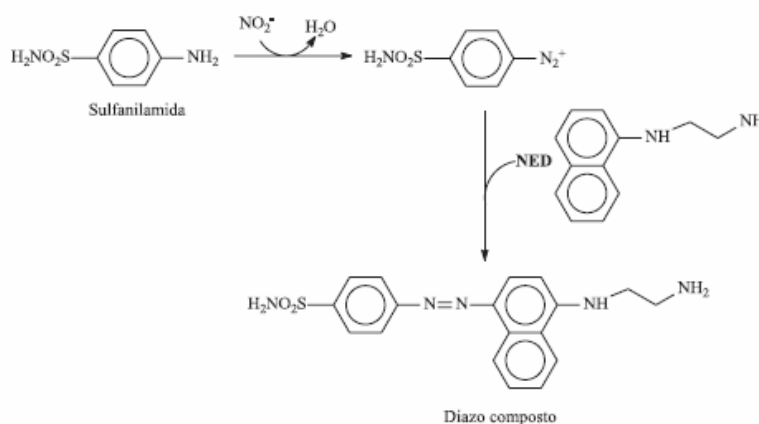


Figura 17. Mecanismo de reação usada no Método de Griess.

A suspensão celular obtida foi ajustada a 5×10^6 células/mL em meio de RPMI-1640-C (Sigma) e foram distribuídas 100 μ L dessa suspensão celular em placas de 96 cavidades estéreis (Corning). Em algumas cavidades da placa, foram adicionados 100 μ L da solução de LPS (lipolissacarídeo) a 10 μ g/mL como agente estimulante. Em outras cavidades, foram adicionadas 100 μ L de meio RPMI-1640-C à suspensão celular, como controle de células (controle negativo). Como controle dos reagentes foi utilizado somente meio de cultura RPMI-1640-C e LPS (Sigma), sem a suspensão celular. Os compostos utilizados para este ensaio foram a cisplatina (C) utilizada como padrão, [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20). A placa assim constituída foi incubada por 24 h em estufa a 37 °C com tensão constante de CO₂ (5 %). Após a incubação, foram retiradas alíquotas de 50 μ L de cada amostra, passadas para outra placa e adicionadas mais 50 μ L/cavidade de reagente de Griess, constituído de 0,1% de N-1-(naftil)-etilenodiamina, 1% de sulfanilamida em solução ácido fosfórico a 2,5%. Após 10 min. à temperatura ambiente, a absorbância das placas foi lida em 540 nm em espectrofotômetro UV/Visível. As concentrações de nitrito foram calculadas a partir de uma curva padrão previamente estabelecida com concentrações molares conhecidas de NaNO₂ em meio RPMI-1640-C. Os testes foram realizados em triplicata e os valores expressos em μ mol de NO/5 $\times 10^5$ células. A concentração de NO foi calculada a partir de uma curva padrão.

3.12. Determinação da atividade inibitória dos compostos em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos quanto à produção de H₂O₂ e NO

3.12.1. Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

Os macrófagos (2×10^6 células/mL) foram incubados com 50 μ L de PMA a 0,2 μ mol/L e 50 μ L dos compostos nas concentrações de IC₂₅ e IC₅₀ de 24 h: cisplatina (C), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20), durante 1 h em estufa a 37 °C com tensão constante de 7,5% de CO₂. A produção de H₂O₂ foi medida espectrofotometricamente em 620 nm.

3.12.2. Óxido nítrico (NO)

Os macrófagos (5×10^6 células/mL) foram incubados com 100 μ L de solução de LPS a 10 μ g/mL e 100 μ L dos compostos nas concentrações de IC₂₅ e IC₅₀ de 24 h: cisplatina (C), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20). A incubação foi feita em 24 h em estufa a 37 °C com tensão constante de 7,5% de CO₂. A produção de NO foi medida espectrofotometricamente através do acúmulo de nitrito no meio de cultura com a utilização do reagente de Griess em 540 nm.

3.12.3. Cálculo da porcentagem de inibição

Foram calculadas as porcentagens de inibição mediante comparação com os controles negativos. Nos experimentos em que os compostos apresentaram efeitos inibitórios sobre a produção de H₂O₂ e NO, a seguinte equação foi utilizada para o cálculo:

$$\text{Inibição (\%)} = (A - B / A - C) \times 100$$

Onde:

Teste de H ₂ O ₂	Teste de NO
A = PMA (controle positivo) + célula	A = LPS (controle positivo) + célula
B = Composto + PMA + célula	B = Composto + LPS + célula
C = Tampão fosfato (PBS)	C = RPMI-C (controle negativo) + célula

3.12.4. Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados foi realizado empregando o programa MicrocalTM OriginTM 6.1 para regressão linear e determinação dos índices de citotoxicidade IC₂₅ e IC₅₀. Foi empregada também análise de variância (ANOVA), utilizando o teste de Tukey do programa InStat GraphPad para dados não paramétricos. As diferenças foram consideradas significativas quando *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

3.13. Testes Microbiológicos para Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às cepas padrões do *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Em colaboração com a Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e com o aluno Fernando R. Pavan, do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, foram realizados ensaios microbiológicos para os complexos [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (**C2**), [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (**C3**), [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (**C13**), [Pd(dmba)(Br)(isn)] (**C14**), [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**C15**) e [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**), além de seus ligantes bzan (**C17**), dppp (**C18**), dmba (**C21**) e a *isn* (**C22**), objetivando determinar sua capacidade de inibir a reprodução do *Mycobacterium tuberculosis* causador da tuberculose.

3.13.1. Preparação da solução reveladora

Foi preparada uma mistura 1:1 v/v contendo Azul de Alamar (Accumed International) e solução de Tween 80 (Interlab) a 10%. Esta mistura foi preparada imediatamente antes da adição aos orifícios da microplaca [60].

3.13.2. Preparação da suspensão bacteriana

Foi transferida uma alçada de bactérias, proveniente do meio de LJ, para um tubo de ensaio contendo esferas de vidro e 0,50 mL de água destilada estéril (120 °C em autoclave). Após agitação para a desagregação da massa celular, foi adicionado um volume 2,0 – 3,0 mL de água estéril. Após nova agitação, gotas desta suspensão foram transferidas para um outro tubo contendo água, até turvação equivalente à escala McFarland nº 1. A partir desta suspensão, foram feitas diluições sucessivas: para diluição igual a 10⁻¹, um volume de 0,50 mL desta suspensão foi transferido para um tubo contendo 4,50 mL de água estéril; para uma diluição igual a 10⁻², foi transferido um volume de 0,50 mL da suspensão obtida anteriormente para outro tubo contendo 4,5 mL de água estéril e assim sucessivamente até obtenção das diferentes diluições da suspensão [60].

3.13.3. Determinação da CIM em microplaca utilizando Azul de Alamar como revelador

A determinação da CIM frente às cepas padrões do *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv foi realizada segundo técnica proposta por Franzblau [61]. Em uma microplaca estéril Becton Dickinson de 96 orifícios, distribuídos em oito fileiras horizontais e doze verticais, foram depositados 200 µL de água destilada estéril em todos os orifícios da periferia da microplaca, para evitar a evaporação durante a incubação na estufa. Cada orifício recebeu um volume total igual a 200 µL entre o meio 7H₉, o complexo sólido e a suspensão bacteriana. Os orifícios restantes foram usados para os controles necessários: controle do meio (200 µL de meio 7H₉, sem bactérias), controle positivo (100 µL de meio 7H₉ + 100 µL de suspensão bacteriana) e controle da droga (150 µL de meio 7H₉ + 50 µL da droga a ser testada). As placas foram, então, seladas com parafilme e incubadas a 37 °C, e após o 5º dia de incubação, foram adicionados 25 µL do indicador Azul de Alamar em alguns dos orifícios que continham o controle positivo. No dia seguinte, após a constatação da reação positiva nesses orifícios, adicionou-se o corante Azul de Alamar nos demais orifícios e após 24 h fez-se a leitura (Figura 18).

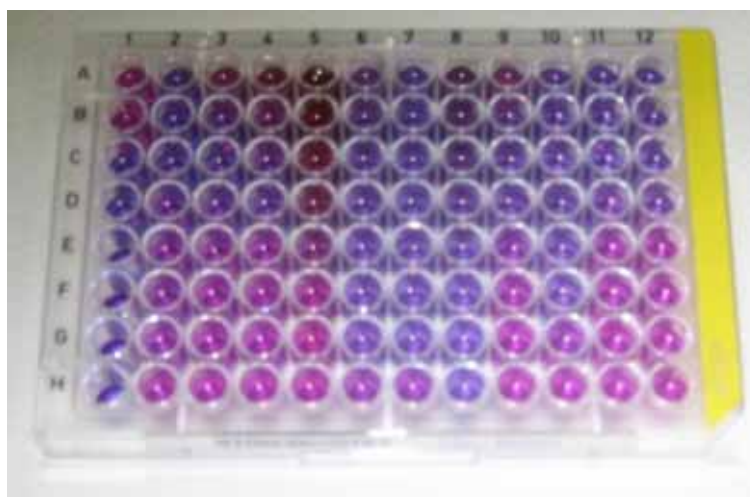


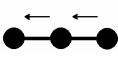
Figura 18. Placa de cultura de 96 cavidades utilizada nos ensaios microbiológicos.

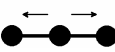
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Considerações Espectroscópicas a Respeito dos Compostos Precursores do Tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})_2]$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{SCN}, \text{NCO}$ e N_3 .

Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A investigação estrutural requer o emprego de técnicas que possibilitem inferir sobre as moléculas presentes na espécie em estudo por conseguir identificar certos grupos funcionais, o modo de coordenação dos ligantes, e detectar ligações de hidrogênio. Com estas finalidades empregou-se a espectroscopia de absorção no infravermelho para amostras no estado sólido; esta técnica permitiu identificar com clareza compostos contendo pseudohaletos, já que estes ligantes possuem três modos vibracionais ativos no infravermelho:

estiramento assimétrico (ν_{as}): 

estiramento simétrico (ν_{s}): 

deformação angular (δ): 

O estiramento assimétrico ocorre em uma região ampla e limpa do espectro eletromagnético, entre e 2000 e 2270 cm^{-1} , na qual há a ausência de bandas de outros ligantes; possibilitando diagnosticar os modos de coordenação dos pseudohaletos e obter informações quanto à nuclearidade dos complexos. A seguir serão feitas algumas considerações sobre os pseudohaletos tiocianato, cianato e azida utilizados neste trabalho [62, 63].

4.1.1. Grupo tiocianato (SCN)

O íon tiocianato possui três modos vibracionais, todos ativos no IV [62, 63]: o estiramento assimétrico $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$, o estiramento simétrico $\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$ e a deformação angular $\delta(\text{NCS})$. O íon tiocianato pode se coordenar como ligante em ponte nos modos *end-on* ou

end-to-end, terminal ou iônico. Também pode se coordenar ao metal através do átomo de nitrogênio ou enxofre ou por ambos (M-NCS-M). A Figura 19 ilustra os modos de coordenação do tiocianato.

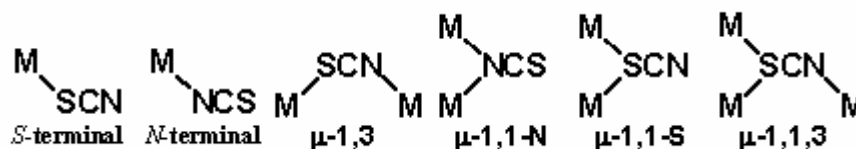


Figura 19. Modos de coordenação mais comuns do tiocianato (SCN).

A formação da ligação Pd-NCS é caracterizada pela presença das bandas $\nu_{as}(\text{SCN})$ e $\nu_s(\text{SCN})$ na região de $2100\text{-}2050\text{ cm}^{-1}$ e $870\text{-}820\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Quando coordenado pelo átomo de enxofre (Pd-SCN) a frequência do estiramento $\nu_{as}(\text{SCN})$ é observada entre $2125\text{-}2110\text{ cm}^{-1}$ e a frequência do estiramento $\nu_s(\text{SCN})$ situa-se na região de $760\text{-}700\text{ cm}^{-1}$. Quando coordenado em ponte, o estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{SCN})$ localiza-se entre $2165\text{-}2100\text{ cm}^{-1}$.

4.1.2. Grupo cianato (NCO)

O íon cianato pode se coordenar ao metal através do átomo de oxigênio, nitrogênio ou por ambos, sendo predominante a coordenação pelo átomo de nitrogênio [62, 63] e possui três modos vibracionais ativos no IV: o estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{NCO})$, o estiramento simétrico $\nu_s(\text{NCO})$ e a deformação angular $\delta(\text{NCO})$. A frequência de estiramento assimétrico ν_{as} corresponde à frequência de estiramento CN, ocorrendo entre $2240\text{-}2190\text{ cm}^{-1}$ e o estiramento simétrico (ν_s) está relacionado ao estiramento CO situado entre $1300\text{-}1210\text{ cm}^{-1}$. A Figura 20 representa os modos coordenação do cianato.

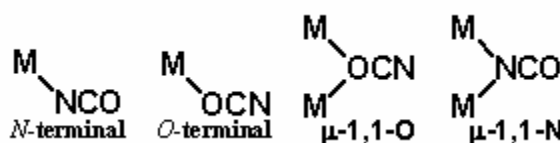


Figura 20. Modos de coordenação mais comuns do cianato (NCO).

A coordenação do grupo N-cianato de modo terminal ao átomo de paládio(II) é evidenciada pelo aparecimento das bandas de estiramento $\nu_{as}(\text{NCO})$ e $\nu_s(\text{NCO})$ na região de $2260\text{--}2170\text{ cm}^{-1}$ e $1355\text{--}1310\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, enquanto a deformação angular $\delta(\text{NCO})$ situa-se entre $620\text{--}580\text{ cm}^{-1}$. Quando o cianato atua como ligante em ponte entre os centros metálicos, observa-se o deslocamento do estiramento assimétrico $\nu(\text{NCO})$ para frequências menores.

4.1.3. Grupo azida (N_3)

O íon azida possui três modos vibracionais: o estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{N}_3)$, o estiramento simétrico $\nu_s(\text{N}_3)$ e a deformação angular $\delta(\text{N}_3)$. O grupo azida pode se coordenar ao metal de forma terminal, em que o estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{N}_3)$ ocorre na região de $2050\text{--}2010\text{ cm}^{-1}$; também pode se coordenar em ponte entre dois centros metálicos pelo mesmo átomo de nitrogênio, modo de coordenação end-on e sua frequência situa-se entre $2080\text{--}2050\text{ cm}^{-1}$. A Figura 21 apresenta os principais modos de coordenação da azida.

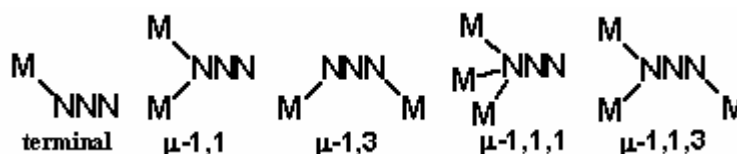


Figura 21. Modos de coordenação mais comuns da azida (N_3).

O íon azida ainda pode se coordenar como ligante em ponte entre dois centros metálicos, por dois átomos de nitrogênio, modo de coordenação *end-to-end*, evidenciado pelo aparecimento de bandas referentes ao estiramento assimétrico $\nu_{as}(\text{N}_3)$ ocorrendo entre $2100\text{--}2080\text{ cm}^{-1}$, o estiramento simétrico $\nu_s(\text{N}_3)$ entre $1290\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$, e a deformação angular $\delta(\text{N}_3)$ encontrada entre $570\text{--}550\text{ cm}^{-1}$.

A Tabela 4 resume as principais frequências e suas atribuições para os complexos contendo os pseudohaletos citados: SCN, NCO e N_3 .

Tabela 4 - Principais frequências vibracionais, em cm^{-1} , observadas nos espectros no IV de pseudohaletos em complexos.

Modo de coordenação	$\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$	$\nu_{\text{s}}(\text{SCN})$	$\delta(\text{SCN})$
SCN ⁻ livre	2053	746	486
N-terminal	2100-2050	870-820	490-450
S-terminal	2125-2110	760-700	440-400
<i>end-to-end</i>	2165-2100	800-750	470-440
Modo de coordenação	$\nu_{\text{as}}(\text{NCO})$	$\nu_{\text{s}}(\text{NCO})$	$\delta(\text{NCO})$
NCO ⁻ livre	2165	1207	630
N-terminal	2260-2170	1355-1310	620-580
O-terminal	2240-2190	1300-1210	640-595
N- <i>end-on</i>	2220-2170	1350-1300	670-650
Modo de coordenação	$\nu_{\text{as}}(\text{NNN})$	$\nu_{\text{s}}(\text{NNN})$	$\delta(\text{NNN})$
NNN ⁻ livre	2041	1344	645
N-terminal	2050-2010	1304-1285	590-570
<i>end-on</i>	2080-2050	1290-1200	570-550
<i>end-to-end</i>	2100-2080	1290-1200	570-550

4.1.4. *N*-benzilidenoanilina (bzan)

O espectro de absorção na região do IV apresenta bandas do ligante bzan em aproximadamente 3050, 758 e 659 cm^{-1} , referentes aos modos vibracionais $\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ e $\delta(\text{C-H})_{\text{aromático}}$, respectivamente, característico dos sistemas aromáticos orto-substituídos [64, 65]. Em 1623 cm^{-1} há a presença de bandas intensas correspondentes ao estiramento do grupo $\nu(\text{C=N})$, característico da bzan, como ilustrado pela Figura 22.

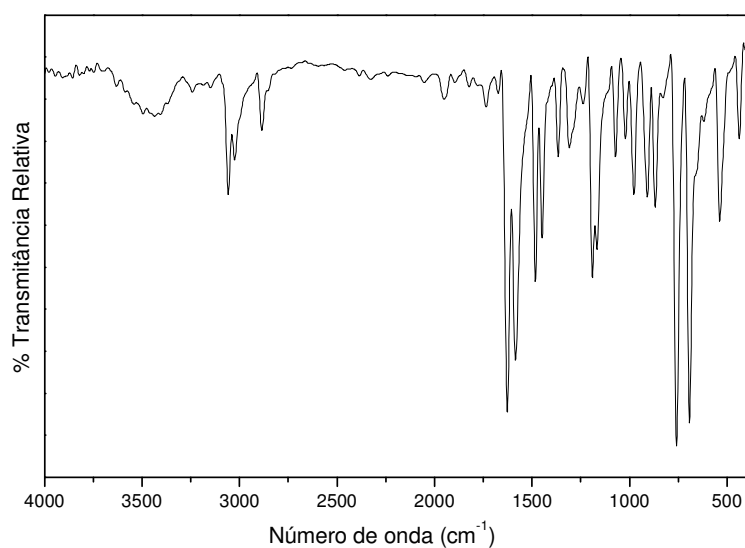


Figura 22. Espectro de absorção na região do IV do ligante bz.

Os principais modos vibracionais e suas respectivas atribuições estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Principais modos vibracionais observados no espectro de absorção na região do IV para o ligante N-benzilidenoanilina (bz).

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuição
3054 (<i>f</i>)	$\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$
1623 (<i>m</i>)	$\nu(\text{C=N})$
1374 (<i>f</i>)	$\nu(\text{C-C})_{\text{ar}}$
755 (<i>m</i>)	$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$
686 (<i>m</i>)	$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$

Intensidades: *m* = média, *f* = fraca, *ar* = aromático

Com a coordenação do ligante bz ao centro metálico - paládio(II), via par de elétrons livre do nitrogênio imínico, houve um deslocamento da banda relativa ao modo vibracional $\nu(\text{C=N})$ de 1623 para 1580 cm⁻¹, característico da N-benzilidenoanilina [66, 67]. A Tabela 6 reúne algumas atribuições para os complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{bz})_2(\mu\text{-X})_2]$, X = Cl, SCN, NCO e N₃.

Tabela 6 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , e suas respectivas atribuições para complexos do tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})_2]$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{SCN}, \text{NCO}$ e N_3 .

Complexos	bzan			X		
	$\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{imínico}}$	$\delta(\text{C-H})_{\text{arom}}$	ν_{as}	ν_{s}	δ
$[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-Cl})_2]$	3051 <i>f</i>	1581 <i>F</i>	759 <i>f</i>	—	—	—
$[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-SCN})_2]$	3049 <i>f</i>	1587 <i>F</i>	757 <i>f</i>	2141 <i>mF</i>	840 <i>m</i>	436 <i>f</i>
$[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-NCO})_2]$	3048 <i>f</i>	1587 <i>F</i>	613 <i>f</i>	2170 <i>mF</i>	1330 <i>m</i>	613 <i>f</i>
$[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-N}_3)_2]$	3058 <i>f</i>	1580 <i>F</i>	759 <i>f</i>	2056 <i>mF</i>	1356 <i>m</i>	—

Intensidades: *mF* = muito forte; *F* = forte; *m* = média; *f* = fraca; *mf* = muito fraca.

4.1.5. Fosfinas

Estas moléculas podem se coordenar a diversos metais de transição e em diferentes estados de oxidação; são normalmente utilizadas para estabilizar compostos organometálicos ou intermediários em reações de catálise em fase homogênea [68]. São ligantes facilmente sintetizados e podem apresentar diferentes propriedades eletrônicas e estereoquímicas, devido à diversidade de substituintes no átomo de fósforo [69]. As fosfinas terciárias apresentam forte tendência π -aceitadora, o que as torna ligantes fortes, já que a ligação metal-fósforo é fortalecida pela retrodoação de densidade eletrônica dos orbitais **d**, preenchidos do metal, para os orbitais **d** vazios do fósforo [11], como exemplificada pela Figura 23.

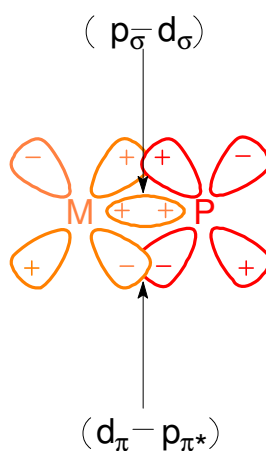


Figura 23. Representação da ligação metal-fósforo.

As difosfinas 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp) e a 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno, difosfinas bidentadas, utilizadas neste trabalho, são capazes de se coordenar ao átomo de paládio(II) [68] de maneira monodentada (I), bidentada (II), ponte (III) e quelante (IV). A Figura 24 exemplifica estes modos de coordenação acima citados.

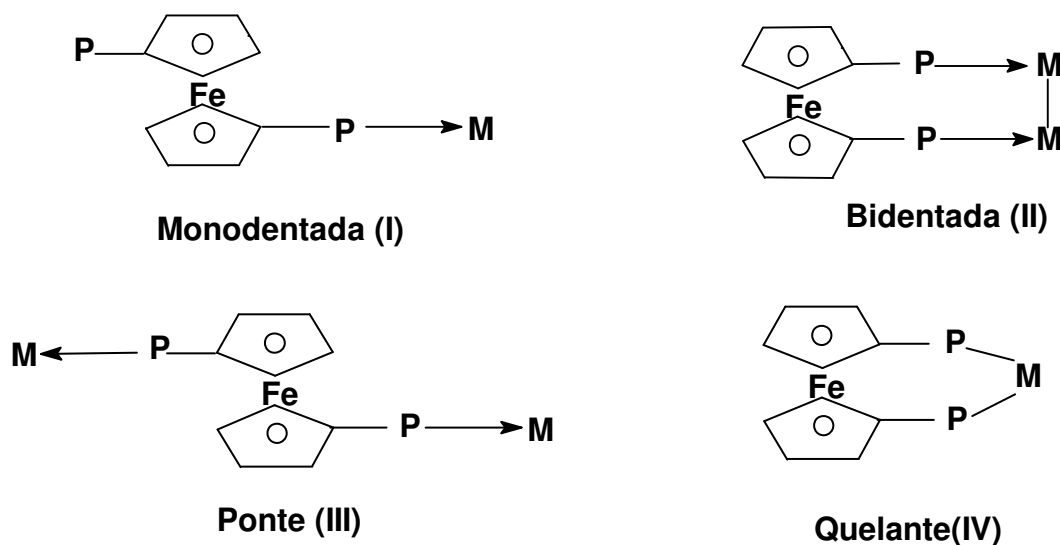


Figura 24. Formas de coordenação do ligante dppf: (I) monodentada, (II) bidentada, (III) ponte e (IV) quelante.

Cabe ressaltar que o modo de coordenação das difosfinas é influenciado pelo comprimento e pela natureza de sua cadeia carbônica, bem como salientar que a fosfina 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet) coordena-se de forma quelante aos centros metálicos.

4.1.6. Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos compostos precursores $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})_2]$, $\text{X} = \text{SCN}$, NCO e N_3 , obtidos em $\text{DMSO-}d_6$ apresentam deslocamentos químicos que confirmam a coordenação do ligante bzan. A formação do anel ciclometalado é mostrada devido ao sinal associado ao carbono da ligação $\sigma(\text{Pd-C})$ em torno de $\delta = 147$ ppm. Um resumo dos sinais mais relevantes para estes complexos estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Principais deslocamentos químicos, em ppm, observados nos espectros dos compostos [Pd(bzan)(μ -X)]₂, X = Cl, SCN, NCO e N₃.

Compostos	¹ H		¹³ C{ ¹ H}		
	δ (*H-CN)	δ (H _{arom})	δ (Pd-C)	δ (H*C=N)	δ (C _{arom})
bzan livre	8,59 [s, 1H]	7,95-7,23 [m, 10H]	–	160,6	120,9-129,1
[Pd(bzan)(μ -SCN)] ₂	8,46 [s, 2H]	7,53-7,12 [m, 18H]	147,6	177,6	131,5-123,2
[Pd(bzan)(μ -NCO)] ₂	8,39 [s, 2H]	7,48-7,16 [m, 18H]	146,5	176,1	134,3-122,4
[Pd(bzan)(μ -N ₃)] ₂	8,59 [s, 2H]	7,47-7,10 [m, 18H]	147,7	175,6	131,5-123,2

Como os compostos ciclometalados de paládio(II) vêm recebendo considerável atenção por possuírem aplicações em diversas áreas, principalmente por apresentarem potencialidades biológicas e como estes compostos são capazes de formar diversos compostos de acordo com os ligantes escolhidos, foi encontrado na literatura informações sobre ligantes difosfínicos coordenados ao paládio(II) que contemplam sua potencialidade antitumoral. Este fato nos estimulou a investigar estes complexos utilizando a *N*-benzilidenoanilina (bzan) e as difosfinas 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) e *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet). As considerações anteriores serão úteis para efeitos de comparação com as novas espécies de complexos de paládio(II) sintetizadas.

4.2. Série de Compostos do Tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N_3 (C4); $\text{bzan} = \text{N-benzilidenoanilina}$, $\text{dppp} = 1,3\text{-bis(difenilfosfina)propano}$

Para caracterizar estruturalmente compostos de coordenação, geralmente são necessárias diversas técnicas espectroscópicas e analíticas. Contudo, quando se consegue obter monocristais, a difratometria de raios X de monocristal fornece todas as características estruturais da espécie no estado sólido. Mais do que isso, possibilita subsidiar propostas de estruturas de outros compostos que guardem certa analogia com o complexo em questão. Assim, esta série de compostos tem início com a discussão dos dados estruturais obtidos para o composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})].\text{CDCl}_3$.

4.2.1. Difração de raios-X de monocristal do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})].\text{CDCl}_3$

Monocristais adequados para a determinação da estrutura cristalina e molecular foram obtidos após recristalização do composto, utilizando-se clorofórmio deuterado como solvente. Estes cristais foram obtidos no tubo de ressonância após a medida espectroscópica do composto. Os mesmos foram enviados ao grupo de cristalografia da Profa. Dra. Regina Helena de Almeida Santos do IQSC/USP - São Carlos. Cabe salientar que a difração de raios-X de monocristal é de suma importância para a confirmação estrutural de compostos no estado sólido, já que quando dissolvido em determinados solventes, com constantes dielétricas diferentes, os complexos de paládio(II) podem formar isômeros em solução, principalmente quando se utilizam ligantes difosfínicos coordenados ao centro metálico. Os principais dados cristalográficos da estrutura obtida estão mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 - Principais dados cristalográficos obtidos para [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl₃.

Fórmula molecular	CHCl ₃ , 2(C ₄ H ₃₆ N ₂ P ₂ PdS)
Massa molecular	1633,66
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n
a (Å)	9,9975(6)
b (Å)	16,6007(10)
c (Å)	24,147(3)
β (°)	92,037(7)
V (Å ³)	4005,0(6)
Z (moléculas/cela unitária)	2
D(calc)(MG/m ³)	1,355
Coeficiente de absorção (mm ⁻¹) μ(MoKα)	0,726
F(000)	1667,8
Dimensões do cristal (mm)	0,25 x 0,25 x 0,30
Temperatura (K)	293
θ Mín-Máx (°)	2.4, 30.4
Número de reflexões com I > 2.0σ(I)	5909

A difração de raio-X de monocristal do [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl₃, Figura 25, veio elucidar a distribuição espacial dos átomos na esfera de coordenação do metal.

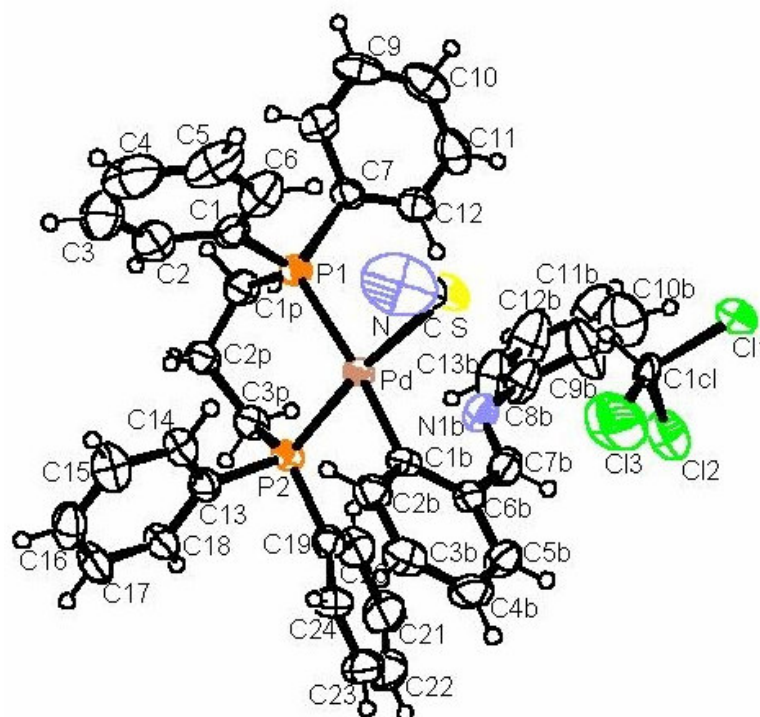


Figura 25. Representação ORTEP do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})].\text{CDCl}_3$.

De acordo com os dados cristalográficos obtidos, verifica-se uma geometria quadrado-planar distorcida ao redor do átomo de paládio, já que este está ligado ao carbono presente no anel aromático da bzan (C1b), com distância de ligação de 2.029(7) Å, ao átomo de enxofre do grupo –SCN com distância de 2.423(2) Å e aos átomos de fósforo do ligante dppp, Pd-P1 e Pd-P2, com distâncias de ligação de 2,354(2) e 2,2562(18) Å, respectivamente.

O enxofre do grupo –SCN encontra-se trans ao átomo de fósforo do ligante fosfínico e o carbono do ligante bzan encontra-se trans a outro átomo de fósforo do ligante dppp, portanto observou-se que houve a clivagem do dímero precursor $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-SCN})]_2$ e a coordenação do ligante quelante dppp, além da presença de uma molécula de clorofórmio deuterado na estrutura do monocristal. As principais distâncias (Å) e ângulos interatômicos (°) do complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})].\text{CDCl}_3$ estão inseridos nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9 - Distâncias de ligação (Å) para o complexo [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl₃.

Distâncias de ligação (Å)			
Pd-S	2.423(2)	Cl3-C1CL	1.68(2)
Pd-P1	2.354(2)	S-C	1.673(10)
Pd-P2	2.2562(18)	N1b-C8b	1.419(13)
Pd-C1b	2.029(7)	N1b-C7b	1.279(12)
Cl1-C1CL	1.79(2)	N-C	1.137(15)
Cl2-C1CL	1.77(3)	C1Cl-H	0.9797

Tabela 10 - Principais ângulos de ligação (°) para o complexo [Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl₃.

Ângulos de ligação (°)			
S-Pd-P1	92.72(7)	Pd-S-C	104.4(4)
S-Pd-P2	172.67(7)	S-C-N	176.0(11)
S-Pd-C1b	87.31(19)	Cl1-C1CL-Cl2	108.1(9)
P1-Pd-P2	94.45(7)	Cl1-C1CL-Cl3	109.3(16)
P1-Pd-C1b	171.2(2)	Cl2-C1CL-Cl3	110.6(10)
P2-Pd-C1b	85.84(19)	C7b-N1b-C8b	121.5(8)
Pd-P1-C1	108.1(2)	Cl1-C1CL-H	109.68
Pd-P1-C1P	117.7(3)	Cl2-C1CL-H	109.49
Pd-P1-C7	118.4(2)	Cl3-C1CL-H	109.64
Pd-P2-C3P	114.1(3)	N1b-C7b-C6b	124.8(7)
Pd-P2-C13	113.9(2)	N1b-C8-C9	120.9(9)
Pd-P2-C19	118.1(2)		

A dissolução do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] em clorofórmio deuterado, resultou na formação de uma estrutura supramolecular (Figura 26) mediante ligações de hidrogênio entre o N do grupo –SCN de uma molécula e um hidrogênio(H20) de outra molécula. As principais distâncias (Å) de ligação de hidrogênio (Å) existentes no cristal estão inseridas na Tabela 11.

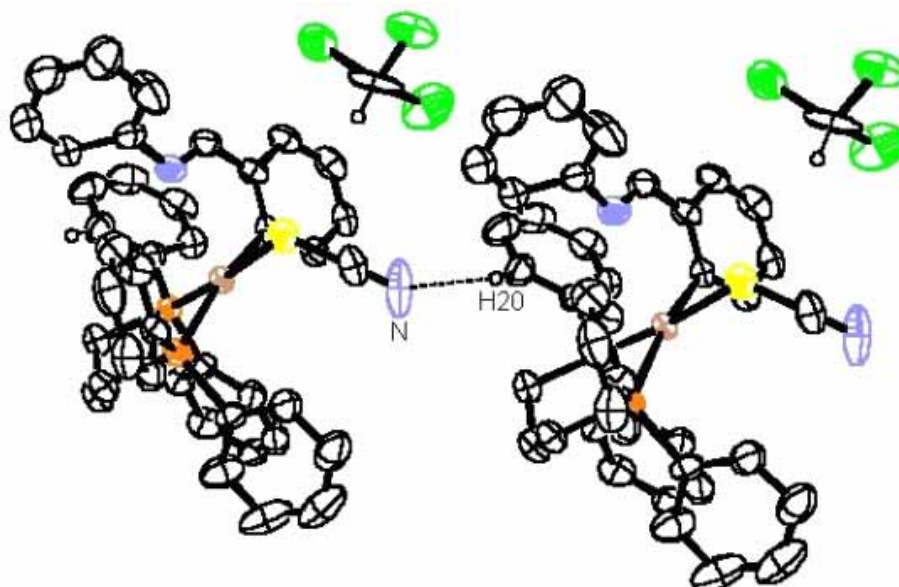


Figura 26. Representação ORTEP do composto $[Pd(bzan)(SCN)(dppp)]$ e ilustração da ligação de hidrogênio existente entre o N do grupo $-SCN$ de uma molécula $[Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl_3$ e um hidrogênio(H20) de outra molécula de $[Pd(bzan)(SCN)(dppp)].CDCl_3$.

Tabela 11 - Ligação de hidrogênio (Å) existente no cristal.

D-H $\cdots$ A	D-H (Å)	H $\cdots$ A (Å)	H $\cdots$ A (Å)	D-H $\cdots$ A (°)
C20—H20 $\cdots$ N ^a	0,9296	2,4519	3,322	155,90

Assim, pode-se concluir que a molécula de $[Pd(bzan)(SCN)(dppp)]$ é monomérica, na qual o átomo de Pd encontra-se em um ambiente quadrado planar distorcido, fato observado no ângulo da ligação S-Pd-P1, igual a $92,72(7)^\circ$, enquanto que o ângulo de ligação P1-Pd-P2 é igual a $94,45(7)^\circ$. O pseudohaleta SCN está ligado de forma terminal ao centro metálico pelo átomo de enxofre e o ligante dppp coordena-se ao centro metálico de forma quelante.

4.2.2. Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

Os espectros no IV dos complexos $[Pd(bzan)(X)(dppp)]$, X = Cl (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**) apresentaram as bandas referentes aos modos vibracionais do ligante bzan, tais como, $\nu(C-H)_{arom}$, $\nu(C=N)_{imínico}$ e $\delta(C-H)_{arom}$. Constatou-se também o deslocamento da banda referente ao modo vibracional $\nu(C=N)_{imínico}$ para a região de menor energia,

sugerindo a ausência da ligação Pd-N presente no anel ciclometalado dos dímeros precursores, indicando a clivagem e conseqüente formação de monômeros através da ligação Pd-C do ligante bzan. Foi observado também que as bandas atribuídas aos estiramentos assimétricos dos pseudohaletos (ν_{as}), foram deslocadas para regiões de menor energia do espectro, confirmando a quebra da ligação em ponte existente nos dos dímeros e a formação de espécies monoméricas em que os pseudohaletos encontram-se coordenados de forma terminal ao centro metálico. A Figura 27 ilustra os espectros no IV dos compostos desta série.

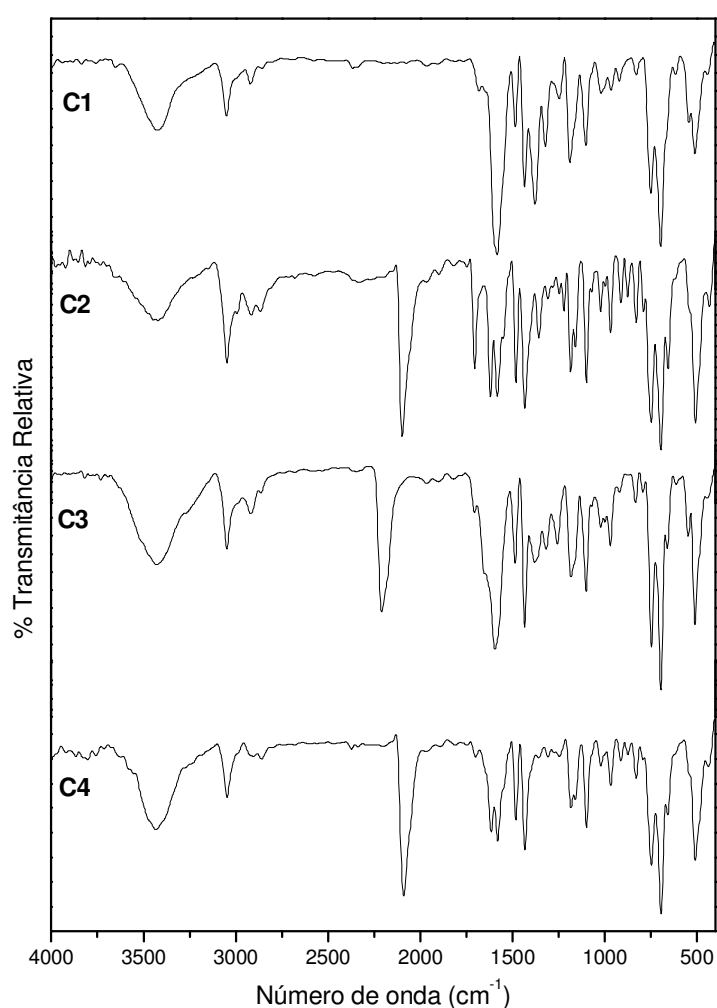


Figura 27. Espectros de absorção na região do IV dos compostos $[Pd(bzan)(X)(dppp)]$, X = Cl (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N_3 (C4).

A coordenação da difosfina dppp fica evidenciada pela presença de bandas atribuídas aos modos vibracionais $\nu(P-C)_{arom}$ e a deformação angular $\delta(H_5C_6)$, sugerindo a sua

coordenação de forma quelante ao átomo de paládio. A Figura 28 ilustra o espectro no IV do ligante dppp livre.

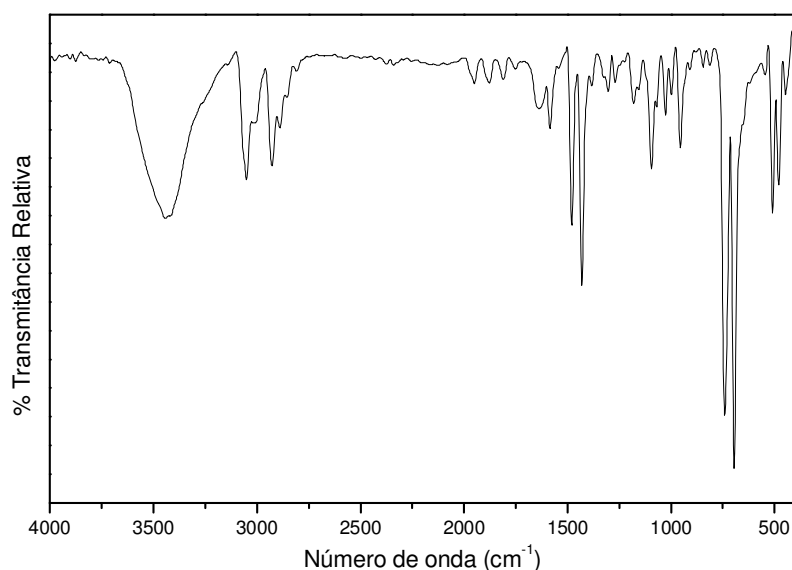


Figura 28. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp).

De acordo com os dados oriundos dos espectros de absorção na região do infravermelho, um resumo dos principais modos vibracionais e suas respectivas atribuições encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppp})]$, X = Cl (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**) e suas respectivas atribuições.

	<i>N</i> -benzilidenoanilina (bzán)			<i>Pseudohaleta</i>		<i>Fosfina</i>	
Complexos	$\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$	$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$	ν_{as}	ν_{s}	$\nu(\text{PC})_{\text{ar}}$	$\delta(\text{H}_5\text{C}_6)$
C1	3050 f	1587 F	754 m	—	—	1086 m	688 mF
C2	3050 f	1577 f	744 m	2096 mF	827 f	1106 m	688 mF
C3	3060 f	1587 F	744 m	2235 mF	1346 f	1096 m	698 mF
C4	3041 f	1577 f	754 m	2054 mF	1179 m	1086 m	679 mF

Intensidades: mF = muito forte; F = forte; m = média; f = fraca; mf = muito fraca.

Com base nos resultados obtidos a partir da espectroscopia no infravermelho e em concordância com os resultados de microanálise, sugere-se a seguinte estrutura (Figura 29) para os compostos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppp})]$, X = Cl (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**).

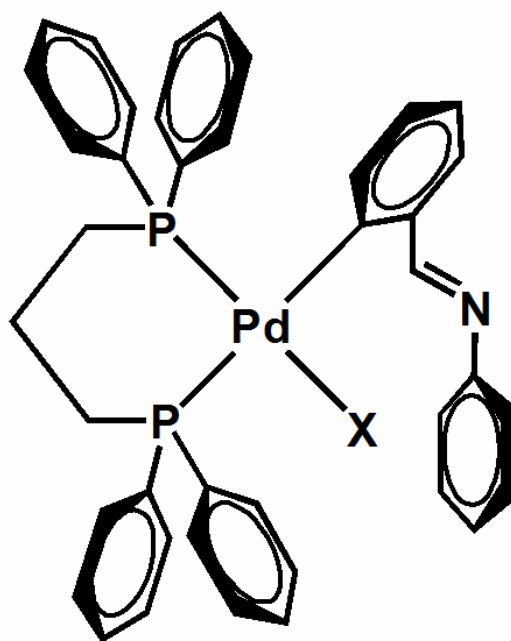


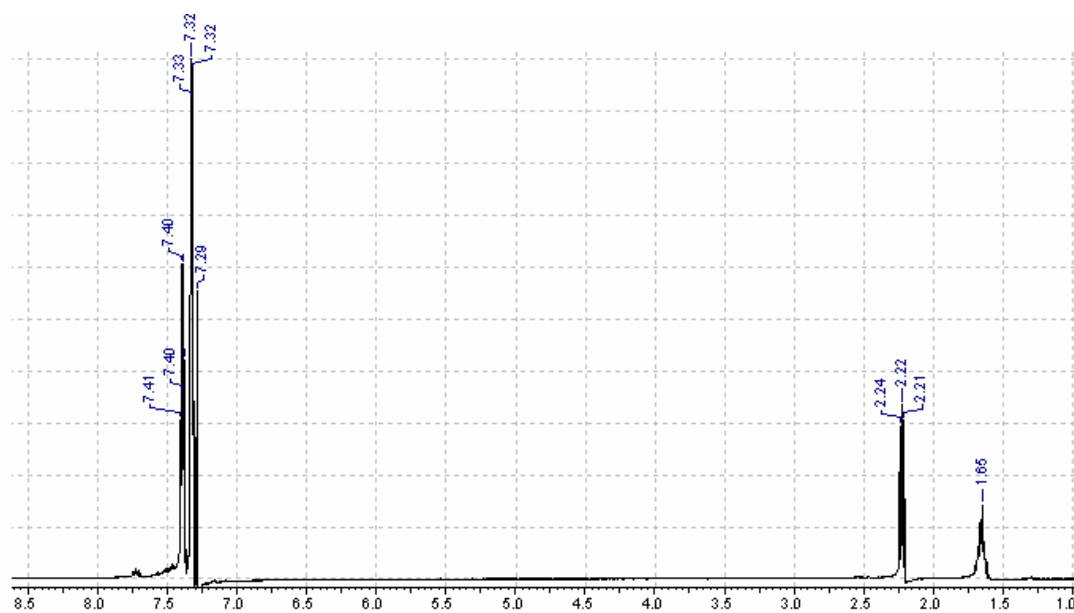
Figura 29. Estrutura proposta para os compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**) no estado sólido.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ também foram investigados afim de subsidiar os dados espectrais provenientes do IV. Os espectros dos compostos **C1-C4** serão discutidos a seguir.

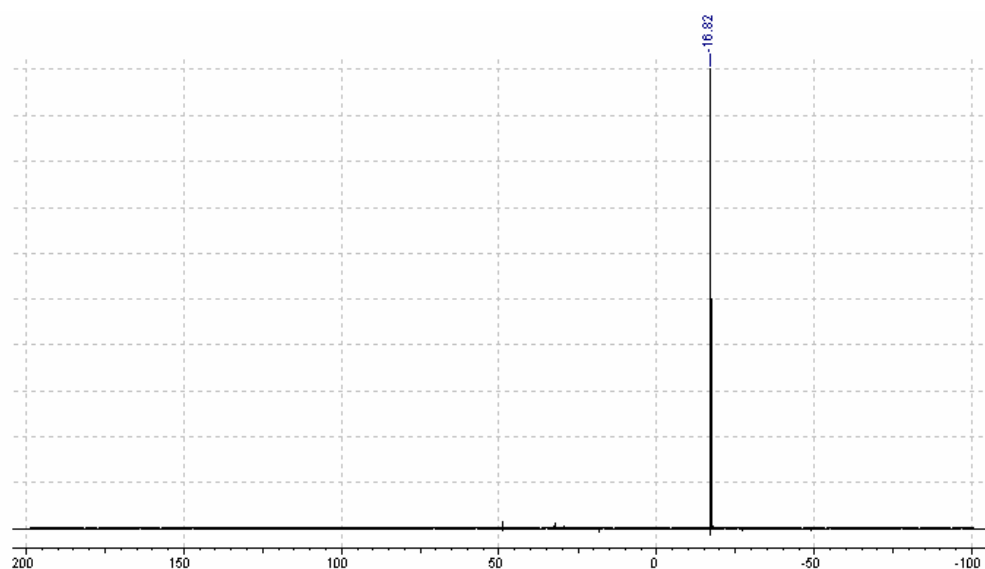
4.2.3. Ressonância Magnética Nuclear

Foram obtidos os espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de $\text{Pd}(\text{II})$ da série $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**), medidos em clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente.

O espectro de RMN de ^1H da dppp livre apresenta dois sinais no espectro, um em $\delta = 1,65$ correspondente aos hidrogênios metilênicos e outro em $\delta = 2,22$ atribuído aos hidrogênios das metilas ligadas aos átomos de fósforos. Na região de $\delta = 7,41\text{-}7,29$ há multipletos correspondentes aos hidrogênios aromáticos. O espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresenta um sinal em $\delta = -16,82$, atribuído aos núcleos dos átomos de fósforo do ligante dppp. A Figura 30 ilustra os espectros de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do ligante dppp livre.



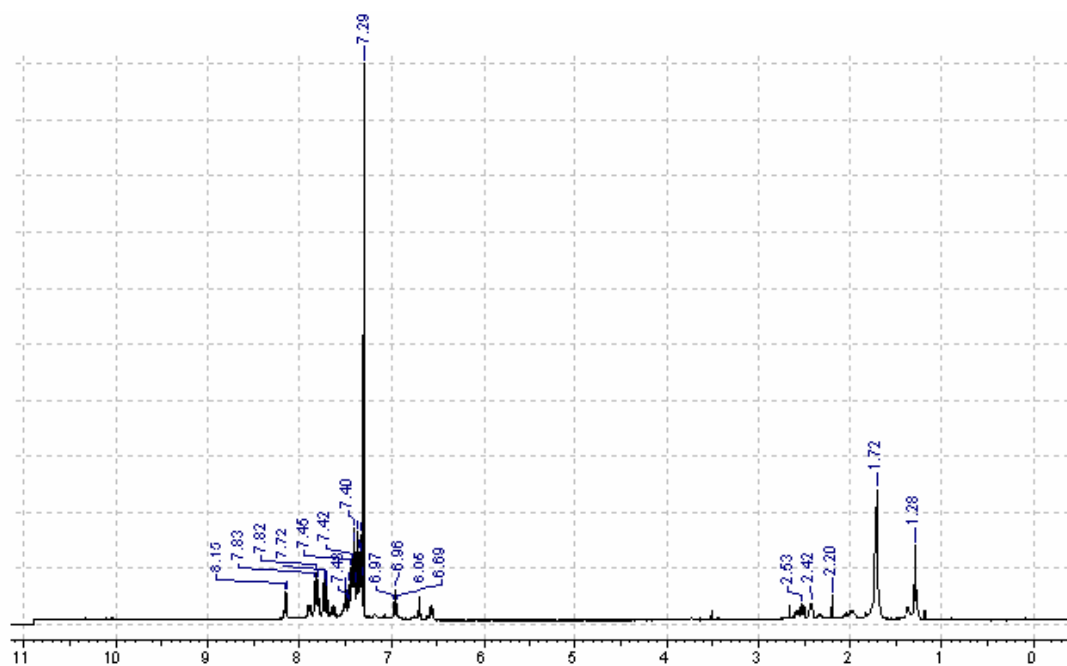
(a)



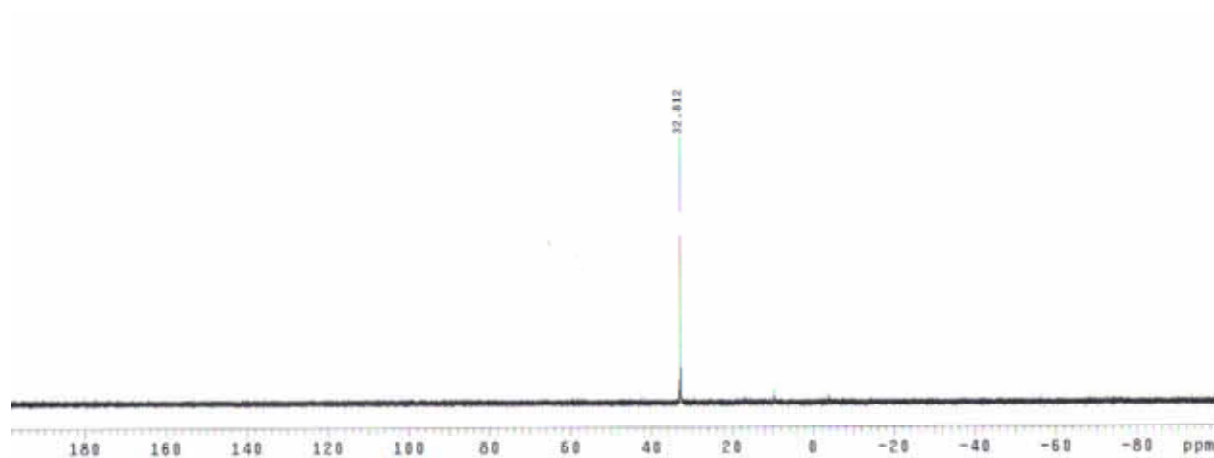
(b)

Figura 30. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante dpmp livre, obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Os espectros de RMN de ^1H e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos compostos do tipo $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dpmp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C1), SCN (C2), NCO (C3) e N_3 (C4), estão ilustrados nas Figuras 31 a 34.

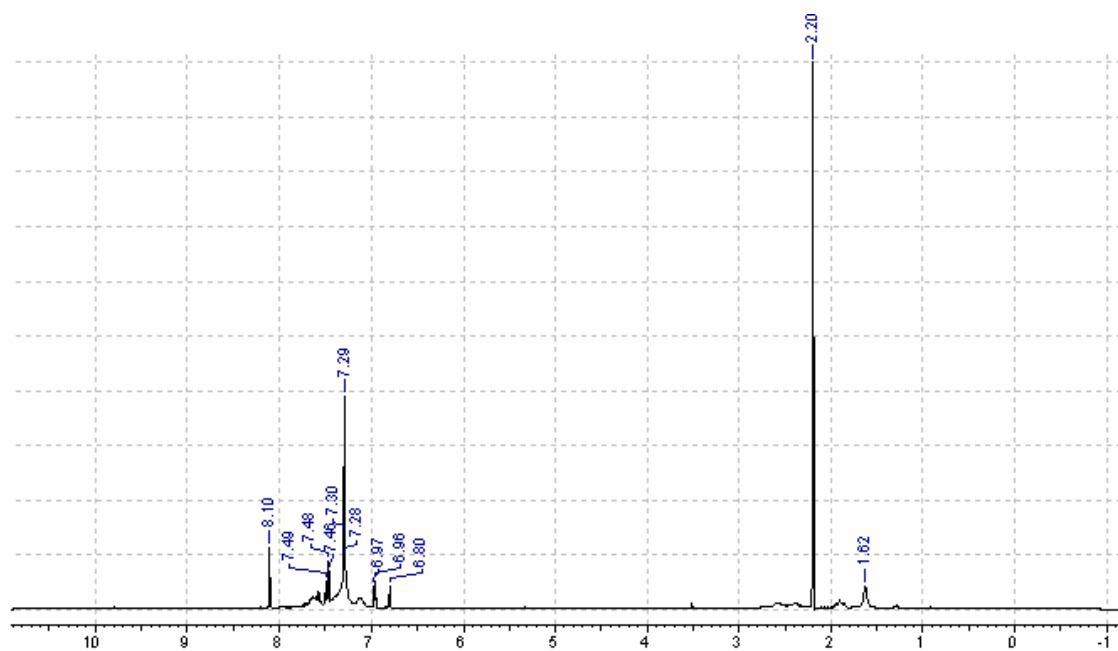


(a)

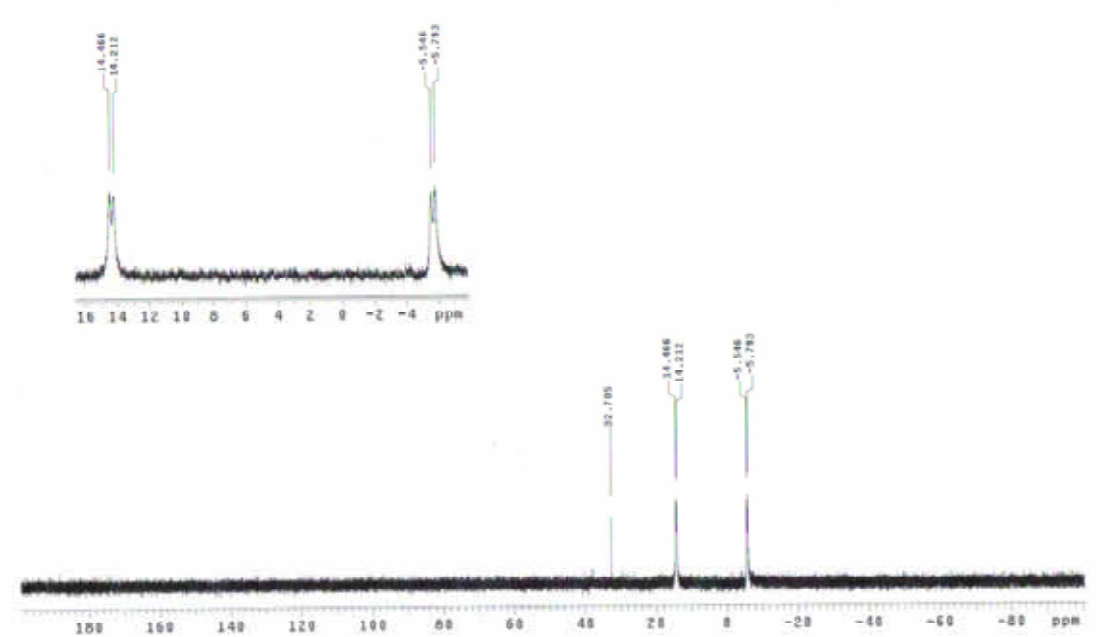


(b)

Figura 31. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppp})]$, obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



(a)



(b)

Figura 32. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$, obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

A Tabela 13 reúne os principais sinais e suas atribuições para os espectros de RMN de ^1H dos seguintes compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**).

Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos contendo difenilfosfina dppp, obtidos a $\nu = 300$ MHz.

Ligante e Complexos	<i>N</i> -benzilidenoanilina		1,3-bis(difenilfosfina)propano	
	$\text{H}_{\text{aromáticos}}$	(HC=N)	(-CH ₂ -)	R-[P-(C ₆ H ₅) ₂] ₂
dppp	—	—	2,22	—
C1	7,83-7,48(m)	8,10(s)	6,97-6,69(m)	7,40-7,29(m)
C2	7,49-7,46(m)	8,10(s)	6,97-6,80(m)	7,30-7,28(m)
C3	7,94-7,25(m)	8,4(m)	6,78-6,70(m)	7,00-6,80(m)
C4	7,54-7,27(m)	8,28(s)	7,10-6,83(m)	7,27-7,10(m)

m = multipeto, *s* = singleto

Os espectros dos compostos **C1-C4** apresentam um sinal acima de 8,00 ppm, referente ao hidrogênio imínico do ligante bzan ($\text{H}^*\text{C}=\text{N}$), o qual encontra-se em campo mais alto quando comparado aos compostos precursores $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, que situa-se em 8,5 ppm. Este deslocamento químico sugere a descoordenação do nitrogênio imínico do ligante bzan ao átomo de paládio(II) e a possível coordenação da fosfina dppp de forma quelante ao centro metálico.

Em $\delta = 7,94\text{-}6,80$ são encontrados multipletos referentes aos hidrogênios aromáticos dos ligantes bzan e dppp; em $\delta = 7,10\text{-}6,69$ são encontrados multipletos dos hidrogênios alifáticos da difosfina dppp. Os demais sinais observados nestes espectros de ressonância podem sugerir a existência de outras espécies em solução.

Nos espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N_3 (**C4**), surgem diversos sinais, justificando a formação das várias espécies em solução, como já identificado via espectros de RMN de ^1H . Estes espectros mostram a presença de dubletos associados à espécie proposta no estado sólido, Figura 29, em que a fosfina encontra-se coordenada de forma quelante ao centro metálico, o pseudohaleta coordena-se de forma terminal ao paládio(II) e o ligante bzan liga-se somente através do átomo de carbono, havendo a clivagem da ligação do nitrogênio imínico. Todos os compostos

apresentam deslocamentos químicos na região de 32,812 a 32,668 ppm, referentes ao singlete, sugerindo que dois átomos de fósforo podem ser magneticamente equivalentes [70], contendo uma fosfina em ponte entre duas unidades [Pd(bzan)(X)], havendo a provável coordenação do nitrogênio imínico (HC=N) ao centro metálico. A coexistência destas espécies pode ser atribuída à característica π -aceitadora da fosfina dppp.

A Tabela 14 mostra os deslocamentos químicos e suas constantes de acoplamento para os compostos [Pd(bzan)(X)(dppp)], X = Cl (**C1**), SCN (**C2**), NCO (**C3**) e N₃ (**C4**) e na Figura 35, encontra-se a proposta estrutural para os compostos no estado sólido.

Tabela 14 - Principais dados de RMN de ³¹P{¹H} e prováveis espécies formadas em solução dos complexos **C1**-**C4**.

Complexos	[Pd(bzan)(X)(P-P)] (δ , ppm)	[Pd(bzan)(X)(P-P)] (J_{PP} , Hz)
dppp livre	-16,82 (s)	—
[Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1)	32,812 (s)	—
	32,705 (s)	—
[Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2)	-5,546; -5,793 (d)	49,92
	14,466; 14,212 (d)	51,33
	32,668 (s)	—
[Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3)	15,996; 15,755 (d)	48,71
	-3,072; -3,312 (d)	48,50
	-6,653; -6,905 (d)	50,93
	32,748 (s)	—
[Pd(bzan)(N ₃)(dppp)] (C4)	-7,197; -7,458 (d)	52,75
	-6,136; -6,401 (d)	53,56
	18,052 (s)	—

Multiplicidade: s = singleto, d = dubleto, t = tripleto

Além da espécie sugerida no estado sólido, pode haver a formação de espécies contendo a difosfina dppp coordenada de forma monodentada e em ponte. A Figura 35, ilustra as possíveis estruturas, em solução, dos compostos desta série.

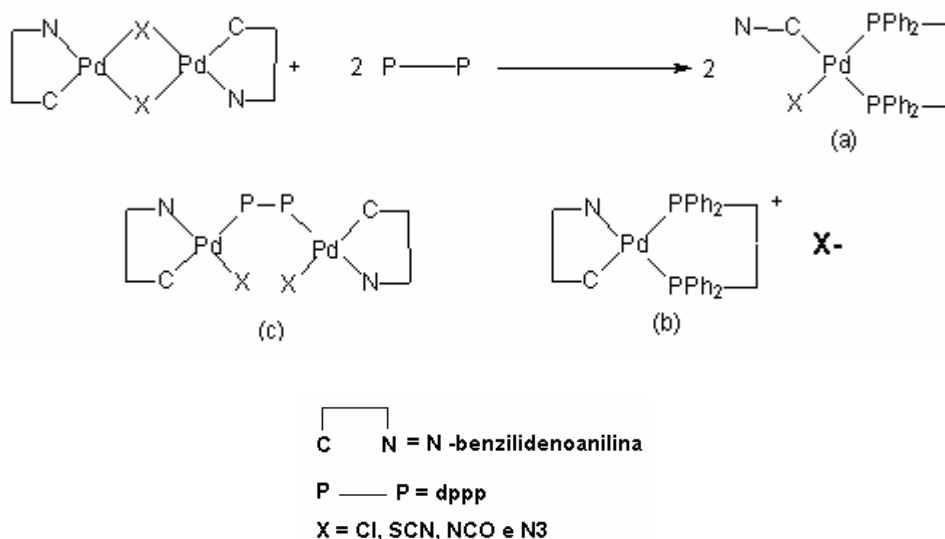


Figura 35. Possíveis espécies em solução, sugerida pelos espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.

4.2.4. Análise Térmica

Curva TG/DTA do ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{Cl})(\text{dppp})]$ (C1)

As curvas TG-DTA deste composto, Figura 36, mostram sua decomposição em etapas consecutivas, de forma que não foi possível atribuir as perdas parciais dos ligantes. A termodecomposição inicia-se em 150 °C com uma grande perda de massa, e em 800 °C ocorre a formação de paládio metálico. A DTA não permitiu identificar os picos exo e endotérmicos, devido a imprecisão da linha base.

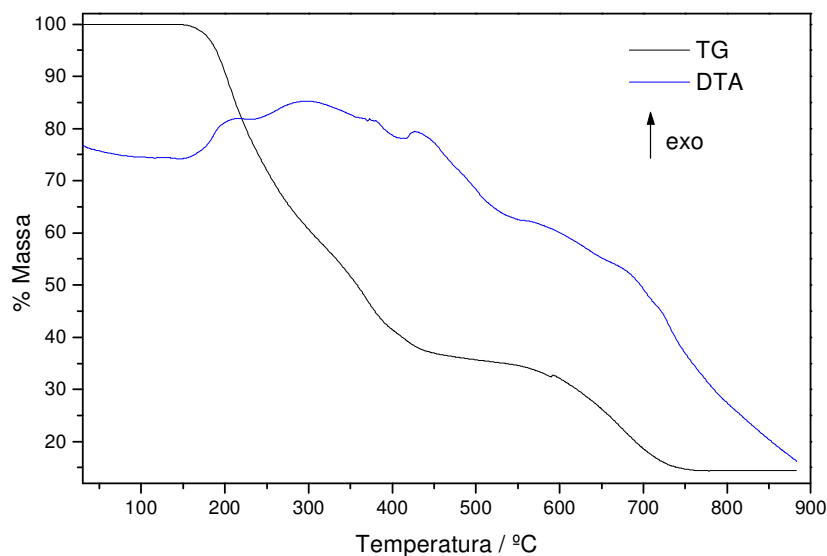


Figura 36. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppp})]$ (C1).

Curva TG/DTA do ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$ (C2)

As curvas TG/DTA, Figura 37, mostram decomposições térmicas consecutivas do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$, já que o término da primeira etapa coincide com o início de uma segunda etapa (ponto de inflexão), impossibilitando a atribuição das perdas dos ligantes. Nesta etapa, iniciada em 181 °C até atingir 774 °C, origina paládio metálico como resíduo. A DTA vem acompanhada de vários sinais exotérmicos em 224, 388, 469 e 579 °C, referentes às queimas da matéria orgânica.

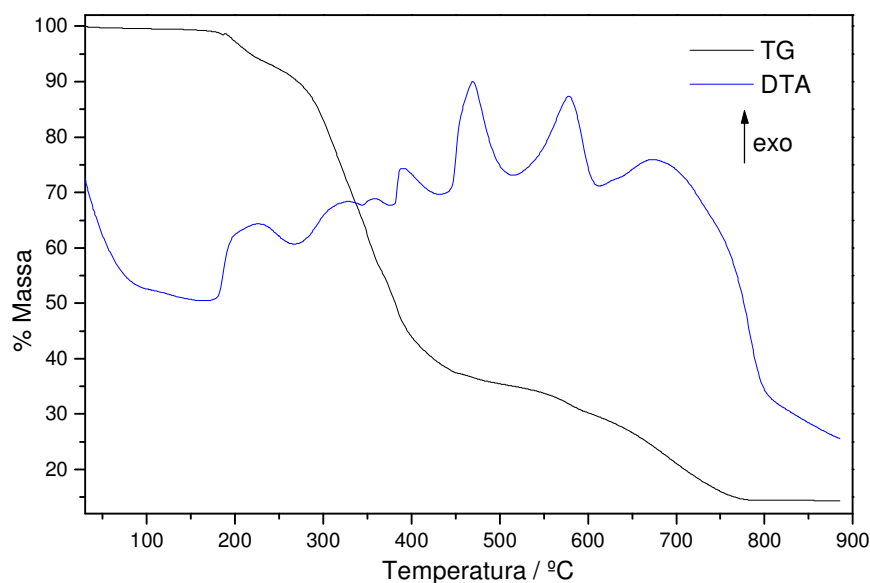


Figura 37. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$ (C2).

Curva TG/DTA do ciclopaladado [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3)

Uma única etapa de perda de massa é indicativa da saída dos ligantes para o complexo [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3) e por fim, em 700 °C, a etapa subsequente é condizente com a formação de paládio metálico. A curva DTA exibe um pico exotérmico em 452 °C, referente à queima de matéria orgânica e observa-se um pico endotérmico em 373 °C devido à perda de oxigênio do PdO e posterior formação de paládio metálico, como ilustrado pela Figura 38.

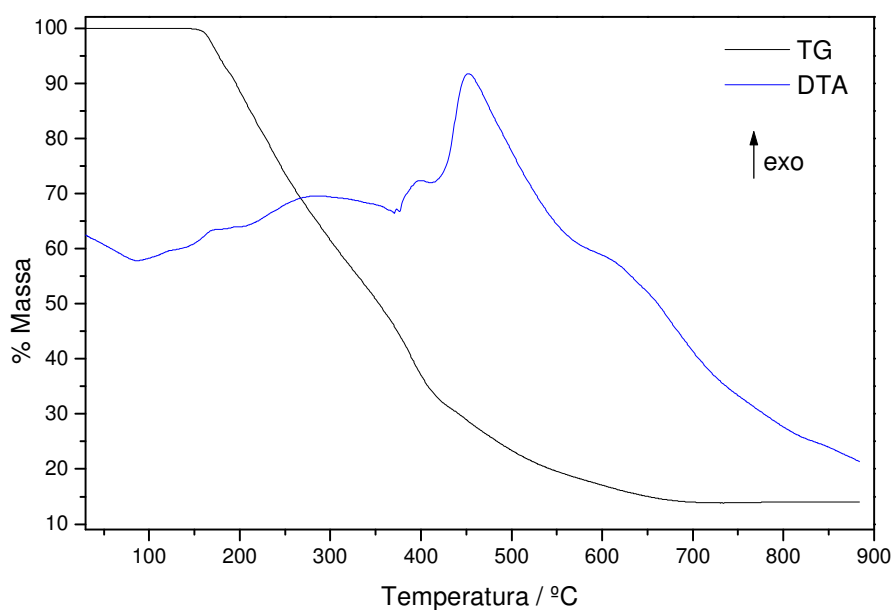


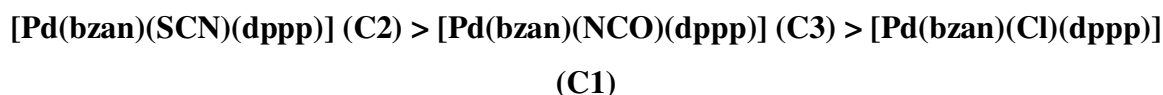
Figura 38. Curvas TG/DTA do composto [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3).

Um resumo dos principais dados obtidos a partir das curvas TG/DTA dos compostos [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1), [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2) e [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3) é apresentado na Tabela 15. Não foi possível obter as curvas TG/DTA para o composto [Pd(bzan)(N₃)(dppp)] (C4).

Tabela 15 - Etapas de termodecomposição térmica dos compostos [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1), [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2) e [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3).

Compostos	T _{inicial} - T _{final} (°C)	Δm (%)		Resíduo (%)		Etapas sugeridas
		Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	
C1	150-800	85,56	85,51	14,44	14,49	- bzan, -dppp, - Cl
C2	181-774	85,26	85,95	14,74	14,05	- bzan, -dppp, - SCN
C3	153-700	86,00	85,64	14,00	14,36	- bzan, -dppp, - NCO

Considerando as temperaturas iniciais de decomposição térmica dos compostos **C1-C3**, propõe a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica:



A identificação do resíduo final das termodecomposições como paládio metálico foi realizada através da difração de raios-X pelo método do pó, mostrando valores de distâncias interplanares $d(hkl)$ e intensidades ($I\%$) característicos desse composto [53]. A título de ilustração, a Figura 39 mostra o DRX de pó do resíduo final da decomposição térmica do composto [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1).

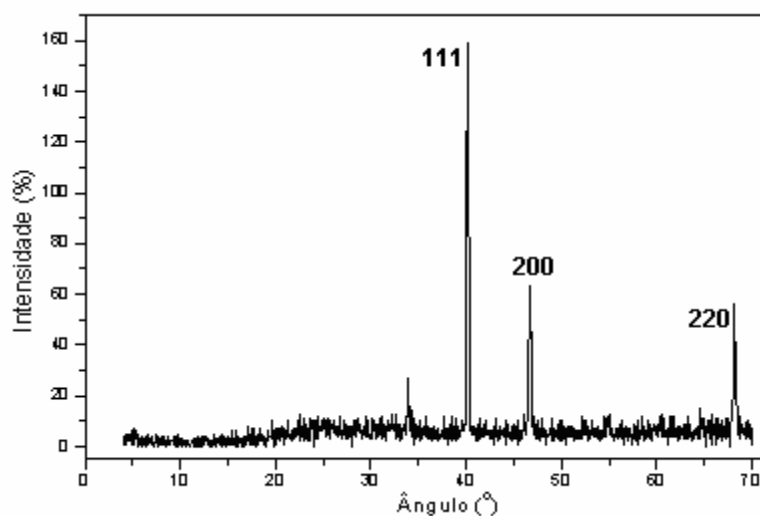


Figura 39. Difratoograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do [Pd(bzan)(Cl)(dppp)] (C1).

4.3. Série de Compostos do Tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C5), SCN (C6), NCO (C7), N_3 (C8) $\text{bzan} = \text{N-benzilidenoanilina}$, $\text{dppf} = 1,1'$ -bis(difenilfosfina)ferroceno

4.3.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C5), SCN (C6), NCO (C7) e N_3 (C8) foram obtidos a partir de reações entre $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$ e o ligante dppf na razão molar 1:2. Todos os compostos são amarelos e estáveis ao ar.

Considerando os espectros de absorção no IV desta série de compostos (Figura 40) foram observadas bandas referentes aos estiramentos $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$, $\nu(\text{C=N})_{\text{imínico}}$ e à deformação angular $\delta(\text{C-H})$ do anel aromático; uma banda larga atribuída ao modo vibracional $\nu(\text{OH})$, indica a presença de água. A Figura 40 apresenta os espectros de absorção no IV dos compostos C5-C8.

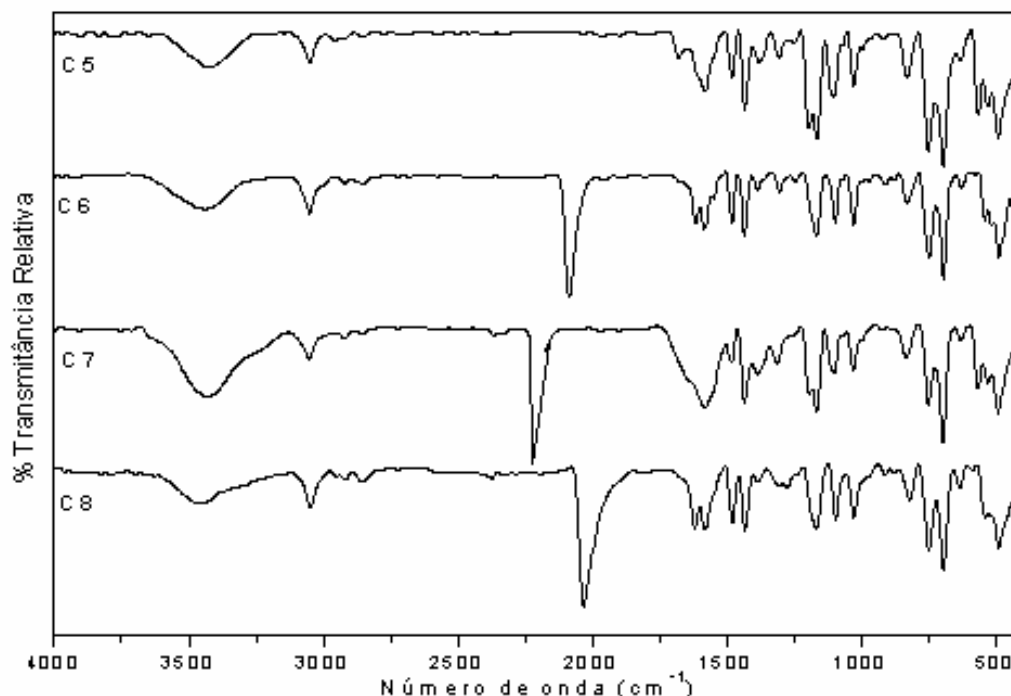


Figura 40. Espectros de absorção na região do IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (C15), SCN (C6), NCO (C7) e N_3 (C8).

Constatou-se a presença de novas bandas atribuídas aos modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{CC})_{\text{arom}}$, $\nu(\text{PC})$, $\nu(\text{CC})$ do anel ciclopentadieno (Cp) e à deformação angular $\delta(\text{CH})$ do anel Cp da dppf. A Figura 41 ilustra o espectro do ligante livre dppf.

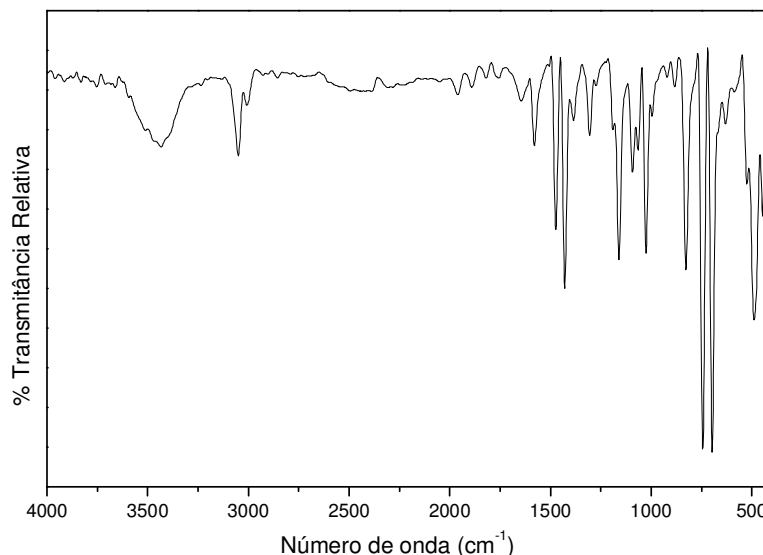


Figura 41. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf).

Os espectros de absorção no IV dos novos compostos, mostram um deslocamento das bandas atribuídas ao estiramento $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$ do anel aromático do ligante bzan para regiões de menor energia. Houve o deslocamento da banda relativa ao modo vibracional $\nu(\text{C=N})$ de 1620 para 1580 cm^{-1} , sugerindo a ligação do Pd apenas pelo carbono da bzan, havendo assim, ausência da ligação Pd-N existente nas espécies diméricas. Com relação aos pseudohaletos presentes nos compostos, notou-se o deslocamento das bandas atribuídas aos estiramentos assimétricos $\nu_{\text{as}}(\text{X})$ dos ciclopaladados diméricos de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$ $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3 , para regiões de frequências mais baixas, indicando a alteração da coordenação ao metal de ponte para terminal. A fosfina dppf coordena-se ao átomo de paládio(II) de forma quelante.

Os principais modos vibracionais observados e suas atribuições encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, X = Cl (**C5**), SCN (**C6**), NCO (**C7**) e N_3 (**C8**).

Complexos	<i>N</i> -benzilidenoanilina (bzan)				<i>Pseudohaleta</i>		<i>Fosfina</i>	
	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$	$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$	ν_{as}	ν_{s}	$\nu(\text{PC})_{\text{ar}}$	$\delta(\text{H}_5\text{C}_6)$
C5	3434 m	3048 f	1587 f	750 mF	—	—	1193 m	636 f
C6	3434 m	3053 f	1585 f	738 mF	2084 F	1306 f	1166 m	628 f
C7	3434 m	3048 f	1583 F	745 mF	2220 F	1312 f	1193 m	634 f
C8	3457 m	3048 f	1583 f	750 mF	2037 F	1306 F	1170 m	637 f

Intensidades: mF = muito forte; F = forte; m = média; f = fraca; mf = muito fraca.

De acordo com os dados dos espectros no IV, foi possível inferir que nas quatro espécies sintetizadas, o átomo de Pd(II) permaneceu em um ambiente quadrado planar, já que os pseudohaletos coordenaram-se terminalmente; o tiocianato através do átomo de enxofre (Pd-SCN), o cianato coordena-se via átomo de nitrogênio (Pd-NCO) e a fosfina dppf coordena-se de forma quelante ao metal. O composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$ foi utilizado como referência para propor a estrutura dos demais compostos sintetizados.

Diante dos dados de infravermelho e análise elementar, propõe-se a seguinte estrutura no estado sólido para os compostos: $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, X = Cl, SCN, NCO e N_3 , Figura 42.

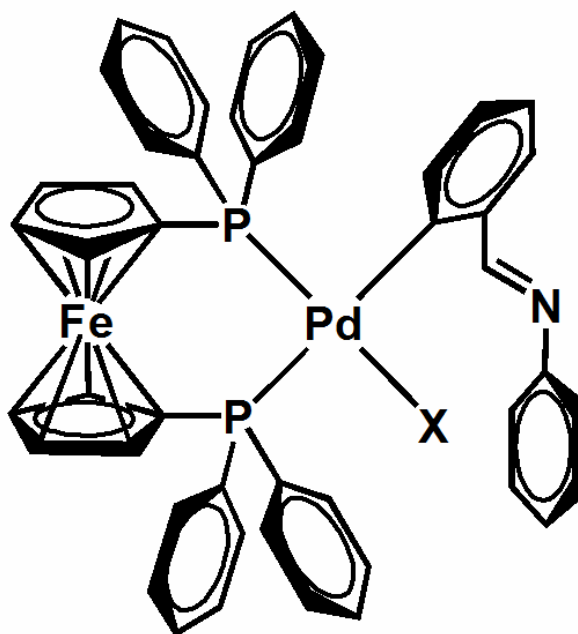


Figura 42. Estrutura proposta para os compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, X = Cl (**C5**), SCN (**C6**), NCO (**C7**) e N_3 (**C8**) no estado sólido.

4.3.2. Ressonância Magnética Nuclear

O espectro de RMN de ^1H da dppf livre apresenta dois sinais referentes aos hidrogênios aromáticos na região de 7,26 a 7,20 ppm, em 4,21 a 3,95 ppm aparecem os sinais atribuídos aos hidrogênios do anel ciclopentadienil (Cp), o sinal em 7,27 ppm refere-se ao clorofórmio deuterado e em 1,77 ppm é provavelmente água do solvente. O espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresenta um sinal em $\delta = -16,524$, atribuído aos núcleos dos átomos de fósforo do ligante dppf. A Figura 43 apresenta os espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do ligante dppf livre.

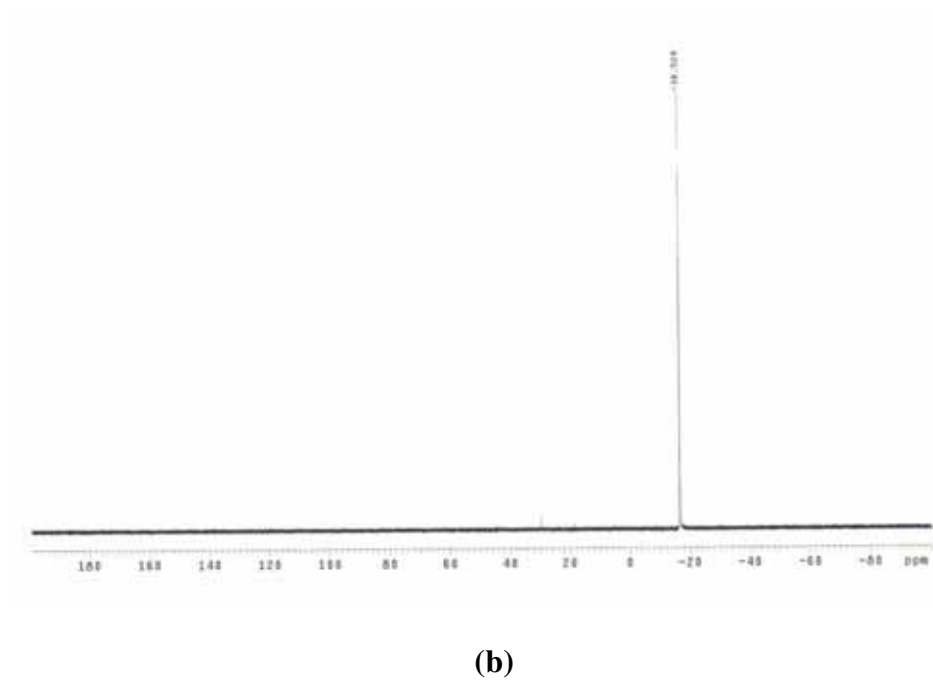
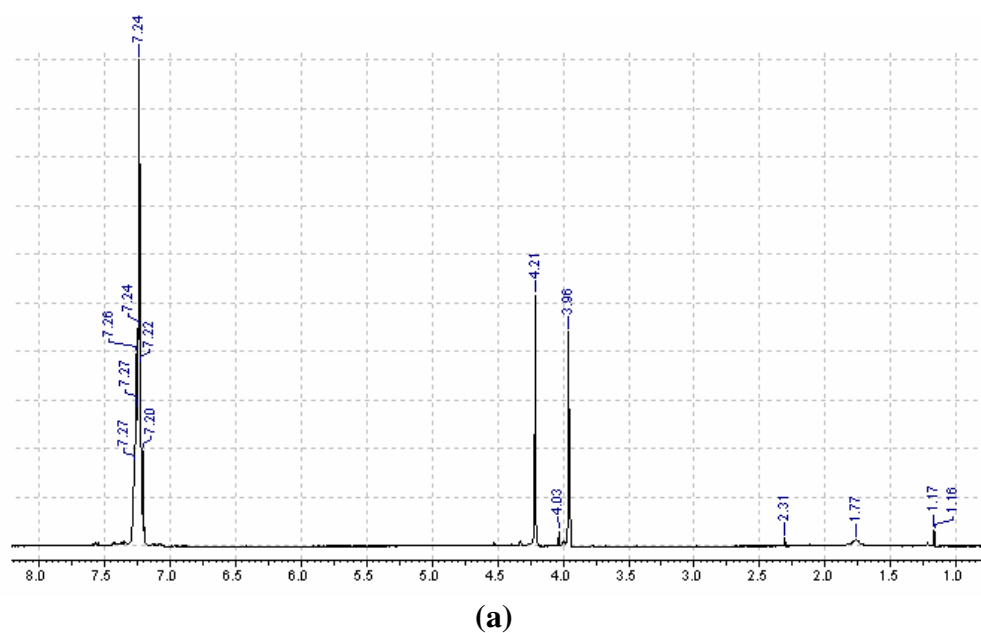


Figura 43. Espectros de RMN de ^1H **(a)** e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ **(b)** do ligante dppf livre, obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Os espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos compostos de Pd(II) de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppf})]$, X = Cl (**C5**), SCN (**C6**), NCO (**C7**) e N_3 (**C8**), mostrados nas Figuras 44 a 47, foram obtidos utilizando como solvente CDCl_3 . A Tabela 17 ilustra os principais sinais e suas atribuições para os espectros de ^1H .

Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppf})]$, X = Cl (**C5**), SCN (**C6**), NCO (**C7**) e N_3 (**C8**).

Ligante e Complexos	<i>N</i> -benzilidenoanilina		1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno		
	$\text{H}_{\text{aromáticos}}$	(HC=N)	(-CH ₂ -)	-[P-(C ₆ H ₅) ₂] ₂	(H _{Cp})
dppf	—	—	—	7,26-7,20(m)	4,21-3,95(m)
C5	7,59-7,34(m)	8,19-8,13(m)	3,59-3,45(m)	7,20-6,56(m)	4,64-4,08(m)
C6	7,42-7,39(m)	8,04(s)	—	7,19-7,16(m)	4,3-4,2(m)
C7	7,55-7,34(m)	8,3(s)	2,38-2,11(m)	2,38-2,11(m)	4,64-4,21(m)
C8	7,88-7,26(m)	8,29(s)	3,8-3,35(m)	7,20-6,73(m)	4,64-4,06(m)

m = multipeto, *s* = singeto

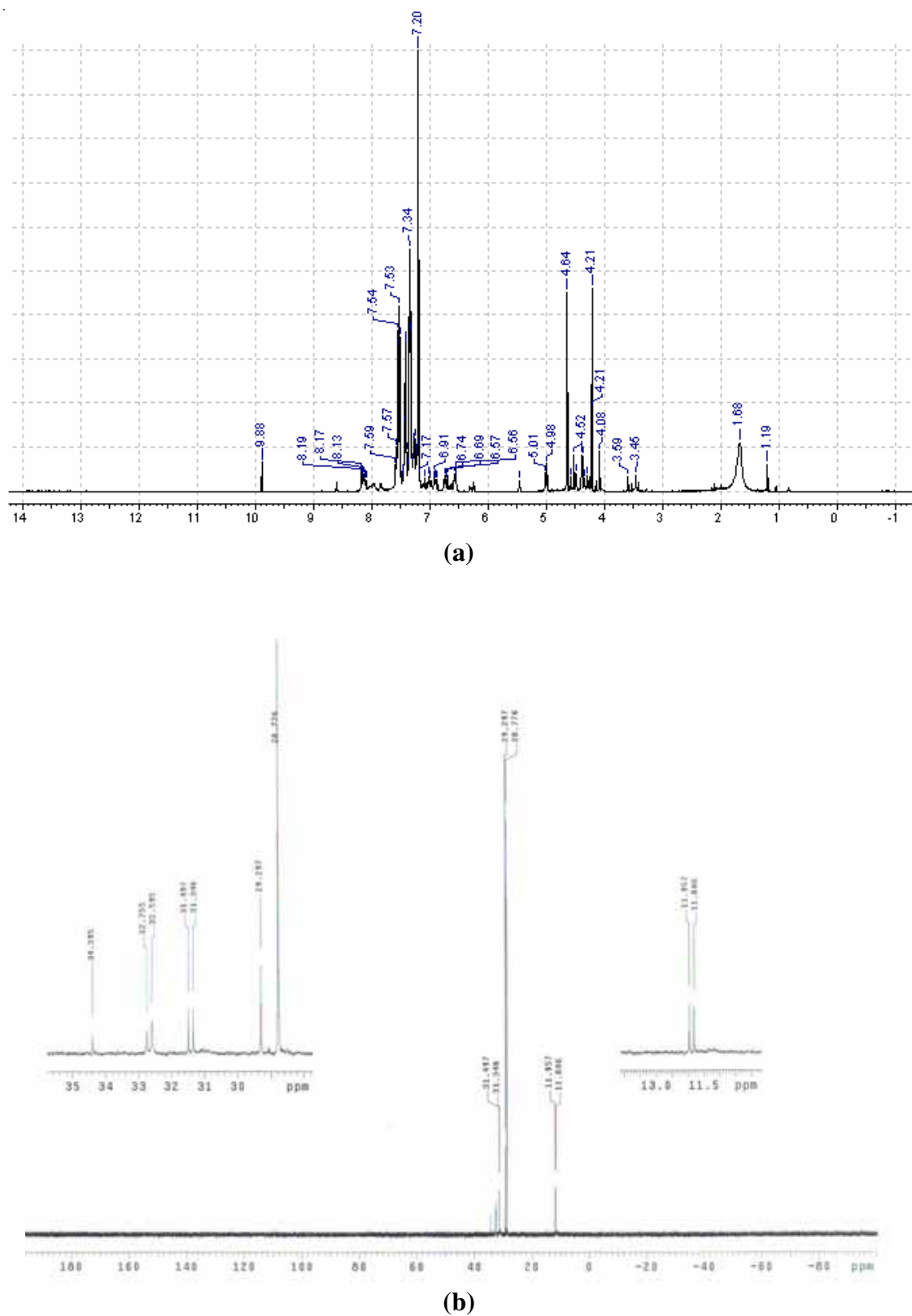
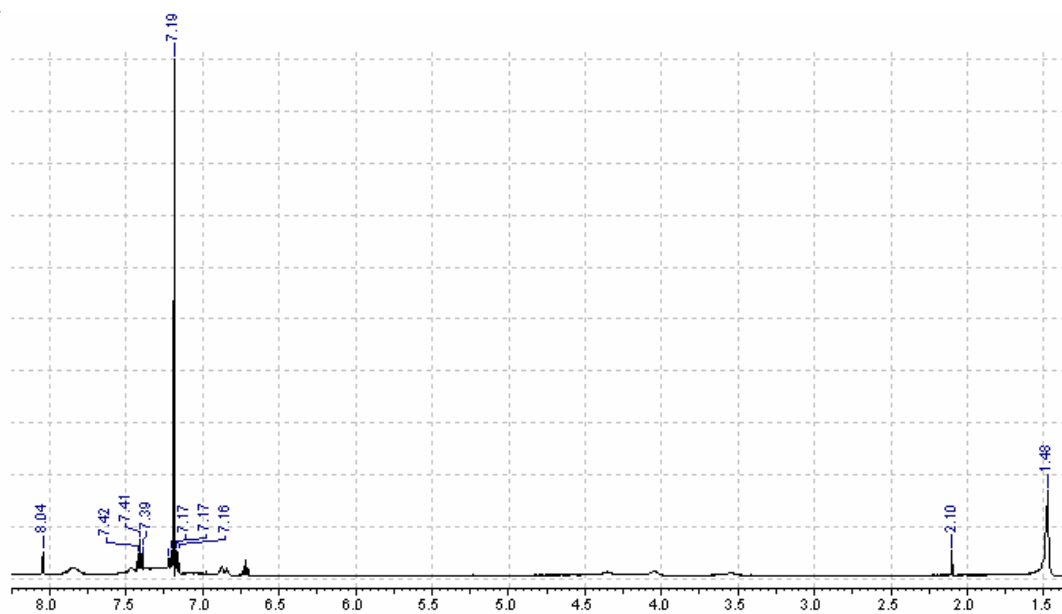
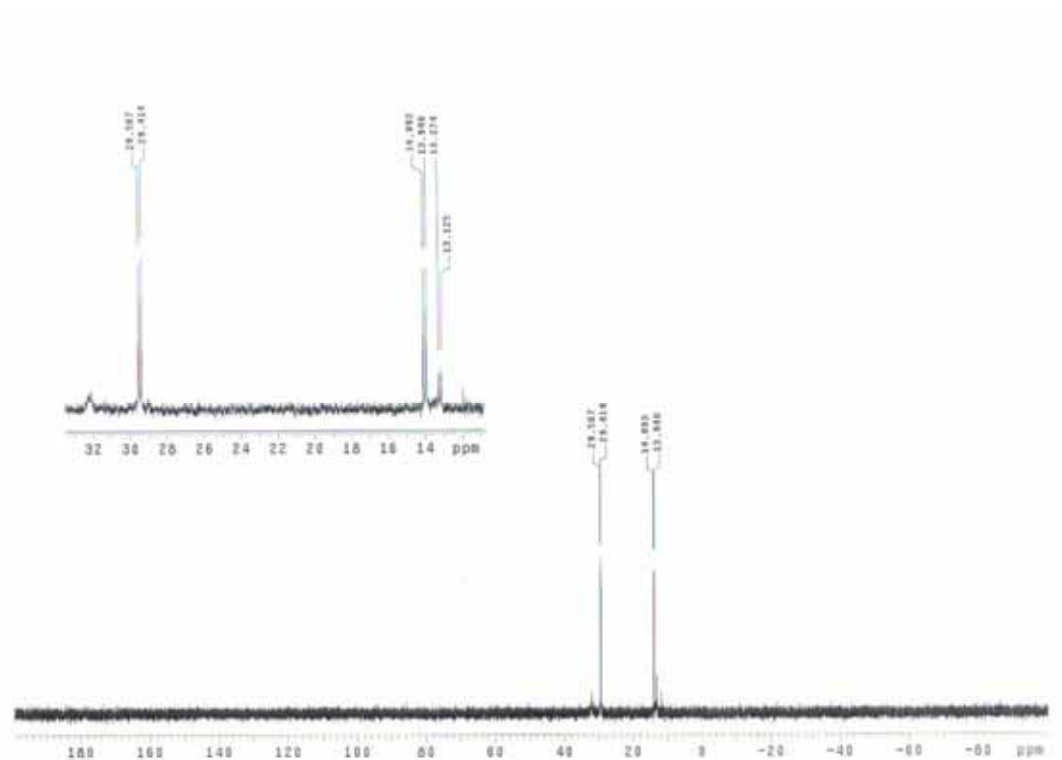


Figura 44. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppf})]$ (**C5**), obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

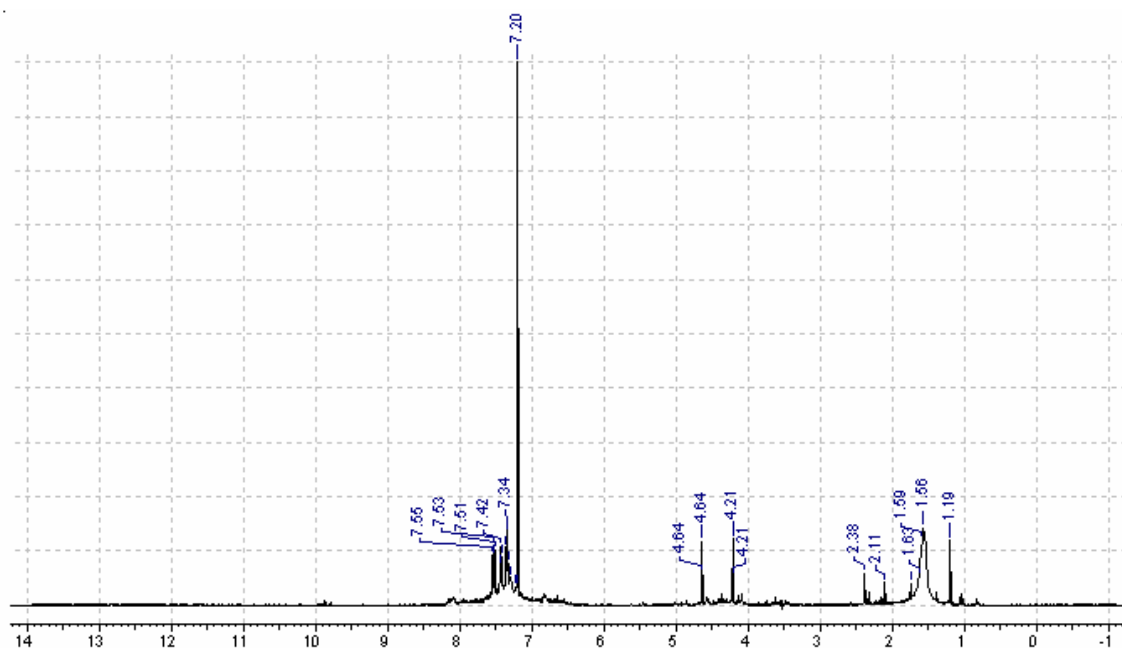


(a)

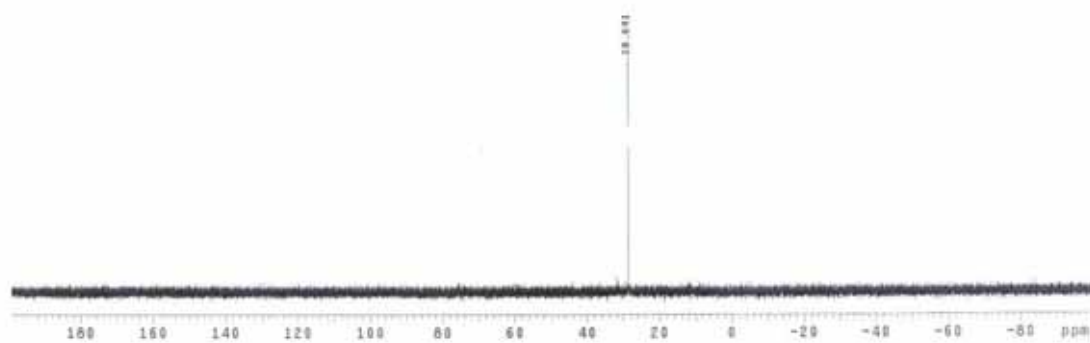


(b)

Figura 45. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (C6), obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

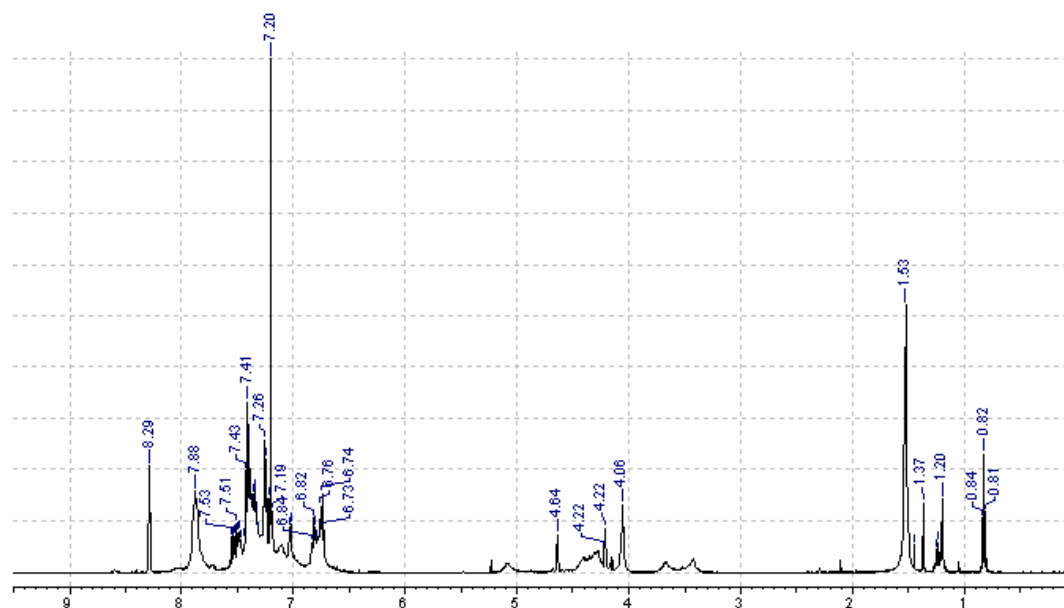


(a)

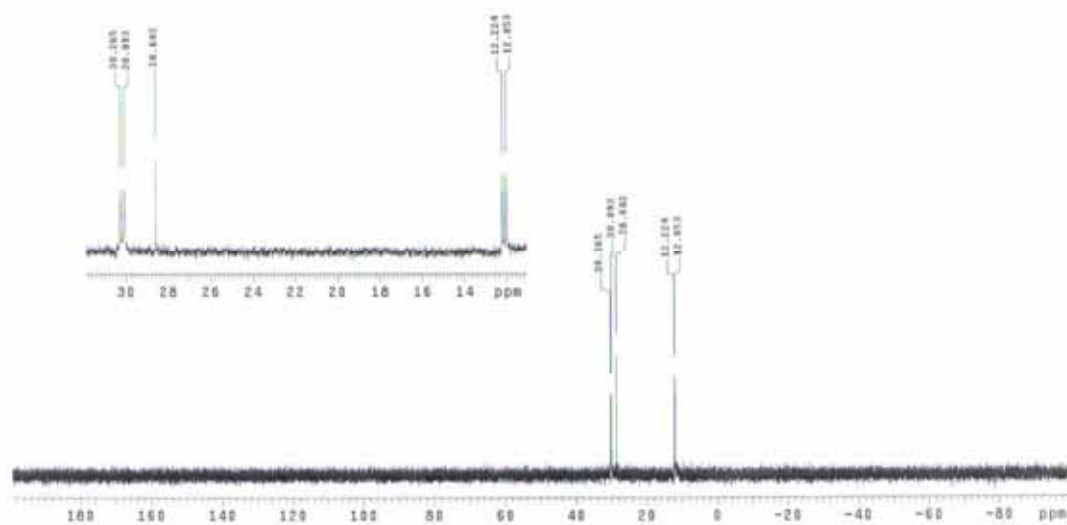


(b)

Figura 46. Espectros de RMN de ¹H (a) e de ³¹P{¹H} (b) do composto [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), obtidos em CDCl₃. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



(a)



(b)

Figura 47. Espectros de RMN de ¹H (a) e de ³¹P{¹H} (b) do composto [Pd(bzan)(N₃)(dppf)] (**C8**), obtidos em CDCl₃. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Nos espectros de RMN de ^1H de cada composto, Figuras 44 a 47, o sinal observado na região de $\delta = 8,2$ a $8,0$ é atribuído ao hidrogênio do grupo imínico ($\text{H}^*\text{C}=\text{N}$) do ligante bzan. Este está localizado em campo mais alto quando comparado ao sinal associado ao mesmo grupo, em $\delta = 8,5$, presente nos espectros dos precursores $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3 . Desta forma, pode-se sugerir que as fosfinas estão coordenadas de forma quelante ao centro metálico (Figura 42), devido à descoordenação do nitrogênio imínico, aumentando o efeito de proteção sobre o núcleo de hidrogênio do grupo imínico ($\text{H}^*\text{C}=\text{N}$). Na região de $\delta = 7,9$ a $7,2$ há multipletos referentes aos hidrogênios aromáticos do ligante bzan. No intervalo de $\delta = 7,1$ a $6,7$, notam-se multipletos atribuídos aos sinais de hidrogênios fenílicos da dppf e na região de $\delta = 4,7$ a $4,0$ encontram-se multipletos referentes aos hidrogênios dos anéis ciclopentadienos (Cp) da dppf.

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos utilizando CDCl_3 como solvente e H_3PO_4 85% como padrão externo.

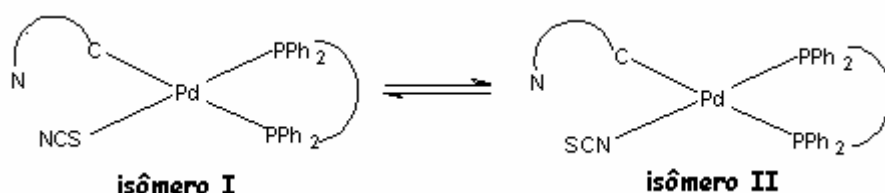
Para o composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppf})]$, observaram-se dubletos: o primeiro em $\delta = 32,755$; $32,595$ ($J_{\text{PP}} = 32,34$ Hz), em $\delta = 31,497$; $31,346$ ($J_{\text{PP}} = 30,52$ Hz) correspondente ao fósforo coordenado ao metal de forma *trans* ao ligante cloro e *cis* ao carbono da bzan; e outro em $\delta = 11,957$; $11,806$ ($J_{\text{PP}} = 30,52$ Hz) referente ao fósforo *trans* ao carbono da bzan e *cis* ao ligante cloro, estes valores sugerem a existência de uma espécie em solução contendo a dppf coordenada ao Pd de forma quelante, associando-se à espécie proposta no estado sólido $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppf})]$, exemplificada pela Figura 42. Já a presença dos singletos, indica a coordenação da fosfina em ponte ao centro metálico, como mostra a Figura 49 (a).

No espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$, observaram-se três dubletos: o primeiro em $\delta = 29,567$; $29,414$ ($J_{\text{PP}} = 30,92$ Hz) e em $\delta = 14,093$; $13,340$ ($J_{\text{PP}} = 152,18$ Hz); outro em $\delta = 13,274$; $13,125$ ($J_{\text{PP}} = 30,11$ Hz). Estes valores sugerem a existência de duas espécies em solução, sendo que uma delas associa-se à espécie proposta no estado sólido (Figura 42), em que a fosfina coordena-se de forma quelante ao Pd, a bzan está coordenada ao centro metálico apenas pelo átomo de carbono e o grupo tiocianato está coordenado ao Pd de forma terminal pelo átomo de enxofre.

Vale salientar que estes dados permitem sugerir a presença de uma outra espécie em solução e, conseqüentemente, a ocorrência de um equilíbrio entre formas isoméricas do composto. A possibilidade de formação de isômeros em solução existe para tiocianato-complexos, levando em consideração a influência do solvente no modo de coordenação do referido pseudohaleta. Este desempenha um importante papel na coordenação do íon

tiocianato, pois a ligação Pd-SCN é favorecida por solventes com altas constantes dielétricas (dmf, dmso, py, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, CH_3CN), enquanto que solventes com baixa constante dielétrica (C_6H_6 , CCl_4 , CHCl_3 , CH_2Cl_2) favorecem a ligação Pd-NCS, pois solventes com alta constante dielétrica tendem a intensificar interações de natureza covalente, enquanto que os solventes com baixa constante dielétrica favorecem as interações de natureza iônica [71].

A coexistência destas espécies também pode ser atribuída ao fato da dppf possuir forte capacidade π -receptora, tornando-a um ligante forte, ou seja, a ligação metal-fósforo é fortalecida pela retrodoação entre os orbitais **d** preenchidos do metal, para os orbitais **d** vazios do fósforo [71]. A Figura 48 mostra a representação esquemática das espécies propostas.



equilíbrio tiocianato-isotiocianato

Figura 48. Estruturas propostas em solução para o complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$, N-C = N-benzilidenoanilina (bzan) e a 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), referente ao equilíbrio entre os isômeros I e II de ligação (M-SCN/M-NCS).

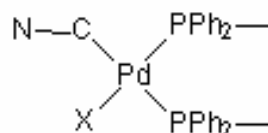
O composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ apresentou apenas um sinal em 28,641 ppm, sugerindo apenas uma espécie em solução, este sinal indica a equivalência magnética dos átomos de fósforos, o que confere a coordenação em ponte da fosfina dppf; já para $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{N}_3)(\text{dppf})]$ observam-se dubletos: o primeiro em $\delta = 30,265$; 30,093 ($J_{PP} = 34,76$ Hz) corresponde ao fósforo coordenado ao paládio(II) de forma *trans* ao ligante cloro e *cis* ao carbono da bzan [72] e em $\delta = 12,224$; 12,053 ($J_{PP} = 34,56$ Hz) referente ao fósforo *trans* ao carbono da bzan e *cis* ao ligante cloro [73]. Há um singlete em $\delta = 26,602$, desta forma pode-se prever a existência de duas espécies em solução, uma contendo a dppf coordenada ao Pd de forma quelante, associando-se à espécie proposta para o estado sólido (Figura 42) e uma espécie contendo a difosfina coordenada em ponte. A Tabela 18 mostra os principais deslocamentos químicos (ppm) e seus deslocamentos químicos para o ligante livre e os compostos **C5-C8**.

Assim como verificado na série anterior contendo a difosfina dppp, os compostos contendo a difosfina dppf, podem formar diferentes espécies. As possíveis espécies formadas são exemplificadas conforme indicado pela Figura 49.



X = Cl, NCO e N₃

(a)



X = Cl, SCN e N₃

(b)

Figura 49. Estruturas propostas em solução para o complexo [Pd(bzan)(X)(dppf)], X = Cl, SCN, NCO e N₃. (a) coordenação da dppf em ponte ao centro metálico e (b) coordenação da dppf de forma quelante.

Tabela 18 - Principais dados de RMN de ³¹P{¹H} e prováveis espécies formadas em solução dos complexos C5-C8. (*s* = *singlete*, *d* = *dubleto*)

Complexos	[Pd(bzan)(X)(P-P)] (δ, ppm)	[Pd(bzan)(X)(P-P)] (J _{PP} , Hz)
dppf livre	-16,524(s)	—
[Pd(bzan)(Cl)(dppf)] (C5)	34,395(s)	—
	32,755; 32,595(d)	32,34
	31,497; 31,346(d)	30,52
	29,297(s)	—
	28,776(s)	—
	11,957; 11,806(d)	30,52
[Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6)	29,567; 29,414(d)	30,92
	14,093; 13,340(d)	152,18
	13,274; 13,125(d)	30,11
[Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7)	28,641(s)	—
[Pd(bzan)(N ₃)(dppf)] (C8)	30,265; 30,093(d)	34,76
	26,602(s)	—
	12,224; 12,053(d)	34,56

4.4. Série de Compostos do Tipo [Pd(bzan)(X)(dppet)], X = Cl (9), SCN (C10), NCO (C11), N₃ (C12) bzan = N-benzilidenoanilina, dppet = *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno

4.4.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Nos espectros de absorção no IV dos compostos [Pd(bzan)(X)(dppet)], X = Cl (C9), SCN (C10), NCO (C11) e N₃ (C12), Figura 50, há bandas típicas do ligante bzan, tais como $\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$, $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{imínico}}$ e $\delta(\text{CH})_{\text{ar}}$, bem como uma banda larga indicando a presença de água, atribuída ao modo vibracional $\nu(\text{OH})$.

A coordenação do ligante bzan ao centro metálico, mediante o par de elétrons do nitrogênio imínico, provocou o deslocamento da banda relativa ao modo vibracional $\nu(\text{C}=\text{N})$ de aproximadamente 1620 para 1595 a 1567 cm^{-1} , sugerindo a ausência da ligação Pd-N presente no anel ciclometalado das espécies precursoras [Pd(bzan)(μ -X)]₂, X = Cl, SCN, NCO e N₃, sendo assim, o ligante bzan liga-se ao átomo de paládio(II) apenas pelo carbono da bzan. As bandas atribuídas aos modos vibracionais dos pseudohaletos foram deslocadas para regiões de menor energia, confirmando sua coordenação terminal após haver a clivagem dos dímeros em ponte.

A Figura 50 ilustra o espectro de absorção na região do infravermelho dos compostos utilizando a fosfina dppet.

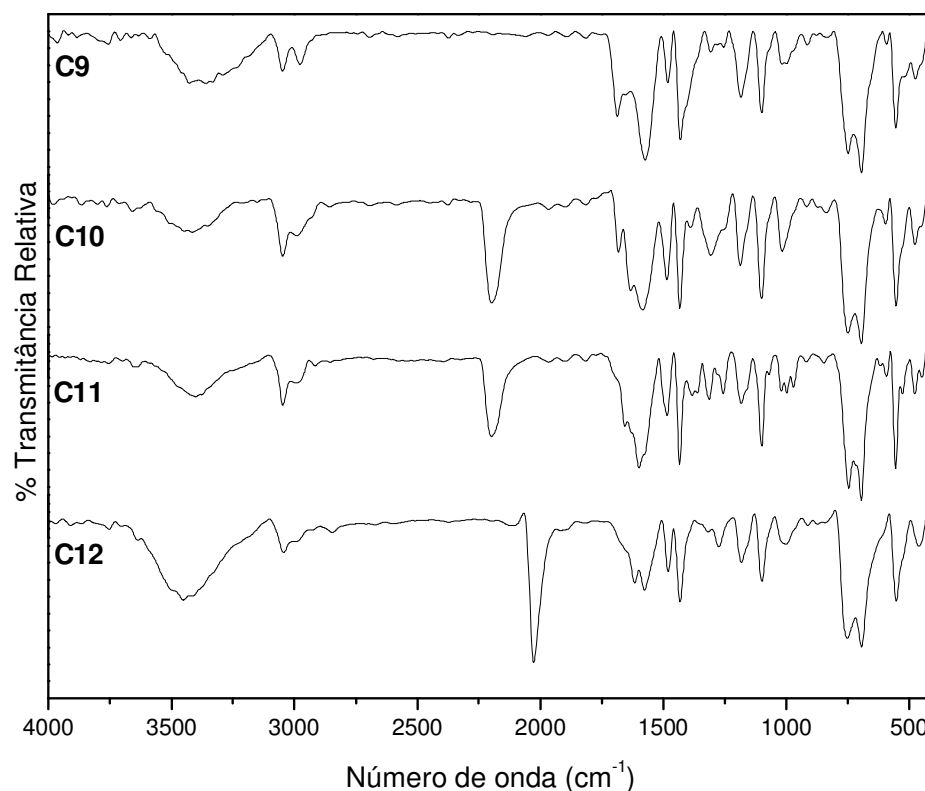


Figura 50. Espectros de absorção na região do IV dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**).

Nos espectros de absorção na região do infravermelho dos compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**) (Figura 50), notam-se além das bandas da bzan, bandas da fosfina dppet, como por exemplo aquelas atribuídas aos estiramentos $\nu(\text{PC})_{\text{ar}}$ e $\delta(\text{H}_5\text{C}_6)$, como ilustrado pelo espectro da dppet livre, Figura 51.

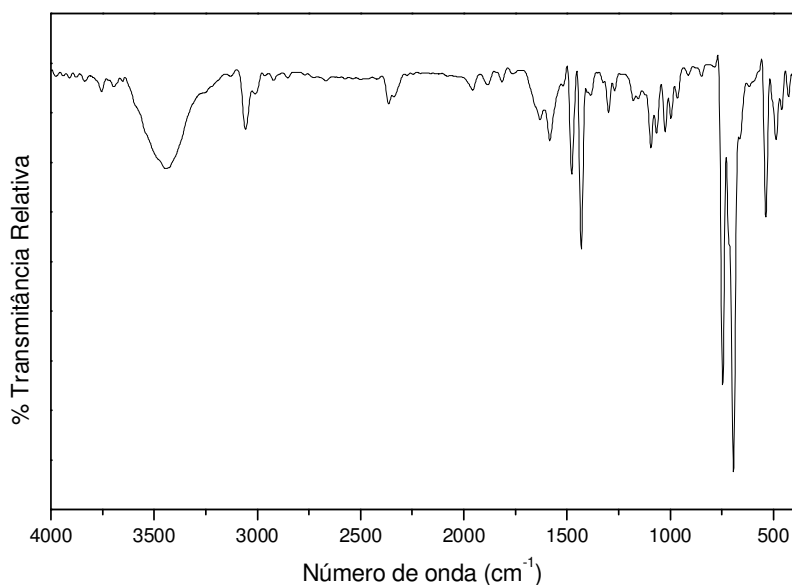


Figura 51. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet).

A Tabela 19 resume as principais bandas observadas e suas atribuições para os compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**).

Tabela 19 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**).

Complexos	<i>N</i> -benzilidenoanilina (<i>bzan</i>)				<i>Pseudohaleta</i>		<i>Fosfina</i>	
	$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$	$\nu(\text{C=N})_{\text{imina}}$	$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}}$	ν_{as}	ν_{s}	$\nu(\text{PC})_{\text{ar}}$	$\delta(\text{H}_5\text{C}_6)$
C9	3371 m	3050 f	1567 ml	750 F	—	—	1186 m	556 m
C10	3423 m	3053 f	1578 Fl	761 F	2197 Fl	1436 mF	1186 m	551 m
C11	3402 m	3048 f	1595 Fl	750 F	2202 Fl	1430 mF	1181 m	556 m
C12	3457 Fl	3048 f	1567 ml	755 F	2032 mF	1425 mF	1178 m	551 m

Intensidades: mF = muito forte; F = forte; m = média; f = fraca; mf = muito fraca, l = larga

Estes dados evidenciam a clivagem da ligação metal-nitrogênio do ligante *bzan*, a coordenação quelante da fosfina *dppet* e a coordenação terminal dos pseudohaletos ao centro metálico, Figura 52, sendo que o grupo tiocianato liga-se através do átomo de enxofre e o grupo cianato via átomo de nitrogênio. Assim sendo, propõe-se para esta série de compostos uma estrutura análoga àquela do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$, Figura 25.

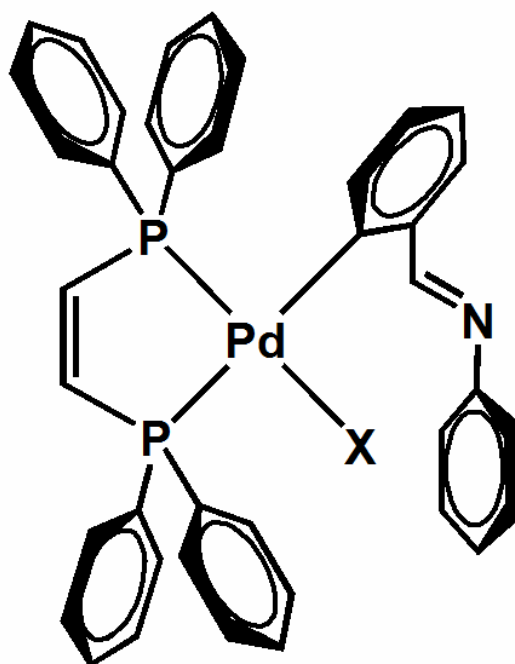
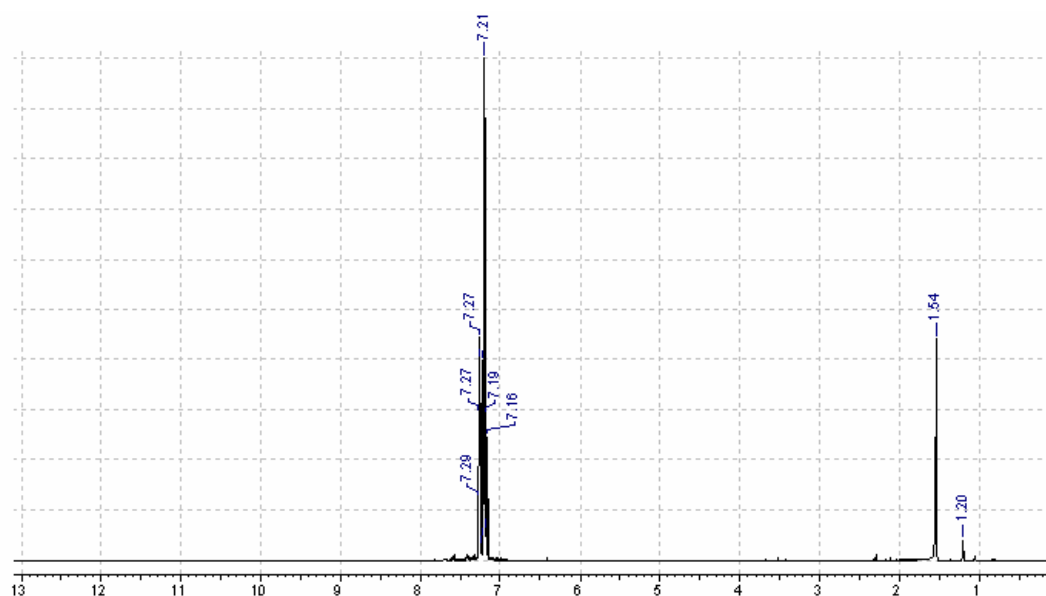


Figura 52. Estrutura proposta para os compostos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**) no estado sólido.

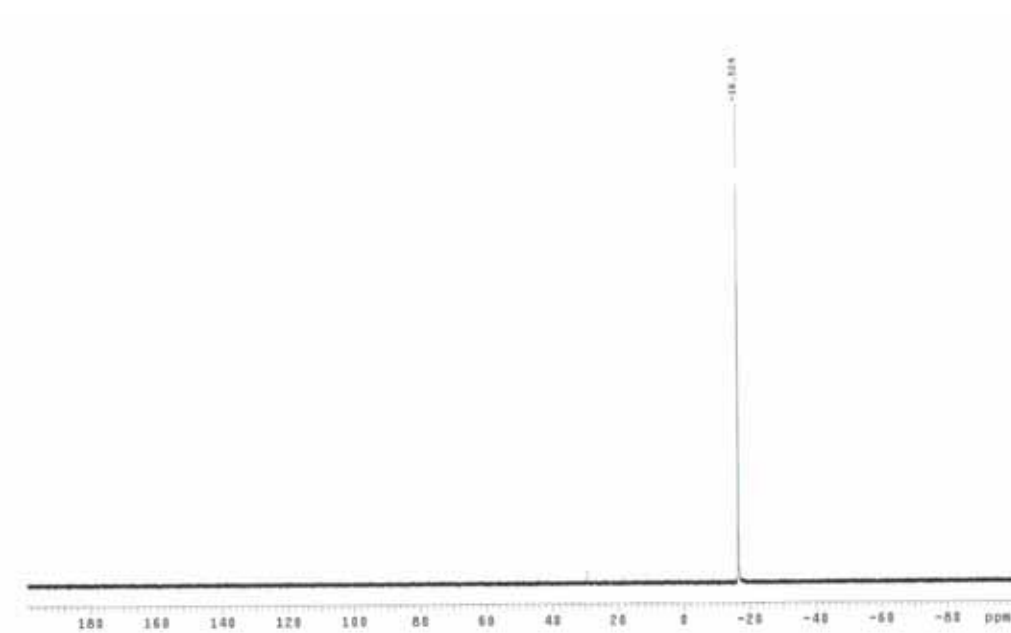
A ressonância magnética nuclear de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ também foi investigada para os compostos **C9** a **C12**, como discutido a seguir.

4.4.2. Ressonância Magnética Nuclear

O espectro de RMN de ^1H da dppet livre apresenta dois sinais referentes aos hidrogênios aromáticos na região de 7,29 a 7,16 ppm e em 1,54 ppm encontra-se os sinais de hidrogênio alifáticos da dppet. Em 1,20 ppm aparece um sinal atribuído provavelmente a água do solvente. O espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresenta um sinal em $\delta = -16,524$, atribuído aos núcleos equivalentes dos átomos de fósforo do ligante dppet. Na Figura 53 estão os espectros de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do ligante dppet livre.



(a)



(b)

Figura 53. Espectros de RMN de ^1H (a) e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante dppe livre, obtidos em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Nas Figuras 54 a 57 estão os espectros de RMN de ^1H dos compostos de Pd(II) de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**). Os espectros foram obtidos com a frequência de 500 MHz a 25 °C, utilizando como solvente CDCl_3 . A Tabela 20 ilustra os principais sinais e suas atribuições para os espectros de RMN de ^1H .

Tabela 20 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm) dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C9**), SCN (**C10**), NCO (**C11**) e N_3 (**C12**).

Ligante e Complexos	<i>N</i> -benzilidenoanilina		1,2-bis(difenilfosfina)etileno	
	$\text{H}_{\text{aromáticos}}$	(HC=N)	H alifáticos	$-\text{[P-(C}_6\text{H}_5)_2\text{]}_2$
dppet	—	—	1,54(s)	7,29-7,16(m)
C9	7,89-7,09(m)	9,86(s)	2,57-1,79(m)	6,15-6,12(m)
C10	8,18-7,20(m)	9,86-9,81(d) ($^2J = 25 \text{ Hz}$)	3,61(s)	7,09-6,61(m)
C11	8,27-7,29(m)	9,95(s)	1,74(s)	7,12-6,71(m)
C12	7,66-7,29(m)	8,21(s)	1,70(s)	7,11-6,64(m)

m = multipeto, *d* = dubleto, *s* = singleto

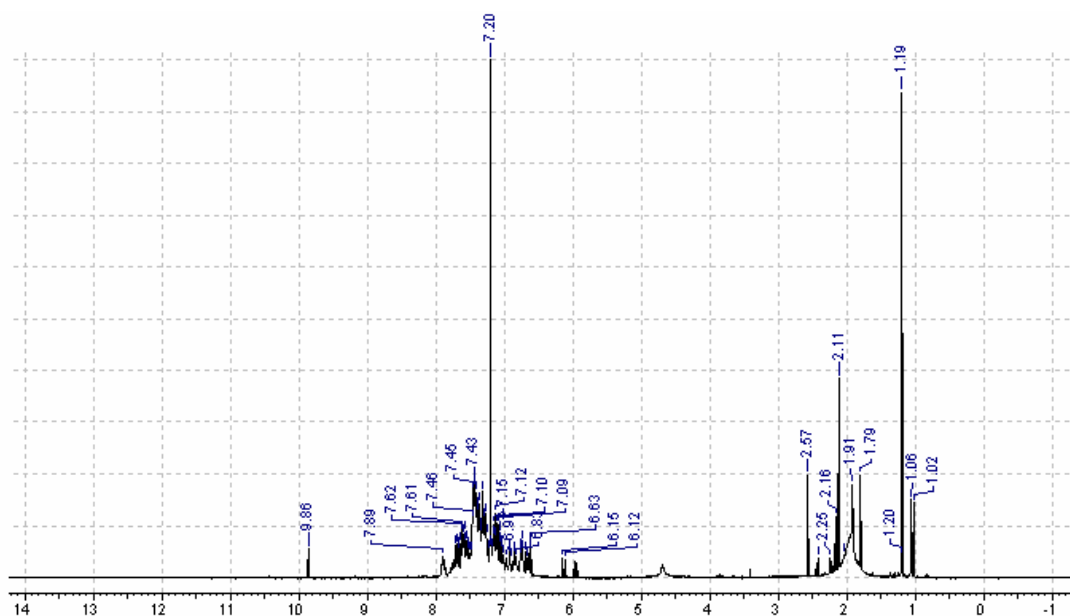


Figura 54. Espectro de RMN de ^1H composto [Pd(bzan)(Cl)(dppet)] (C9), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

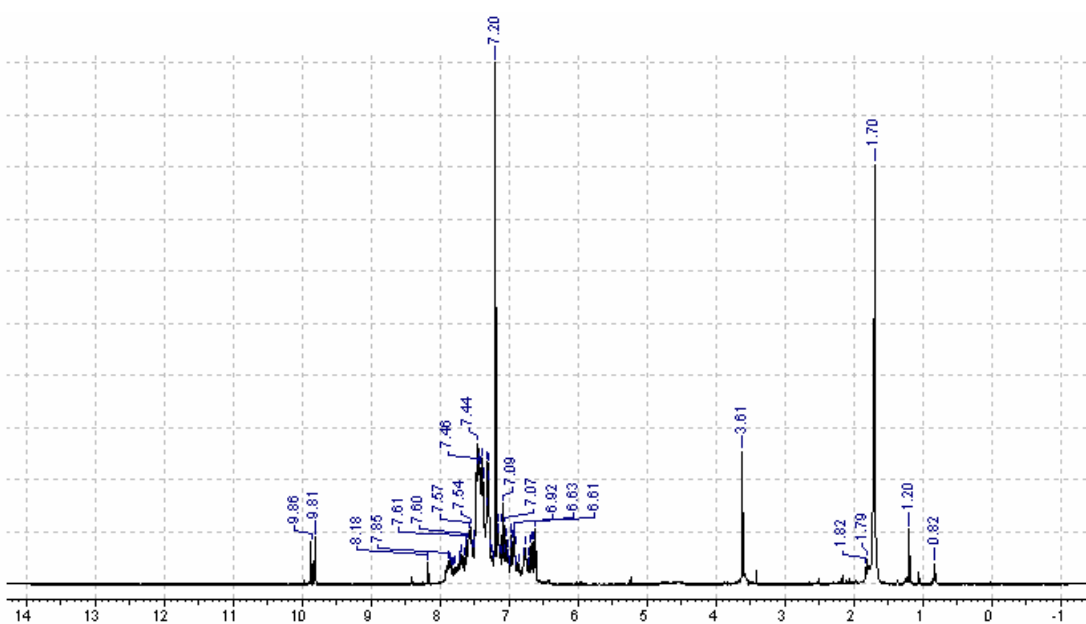


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H do composto [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

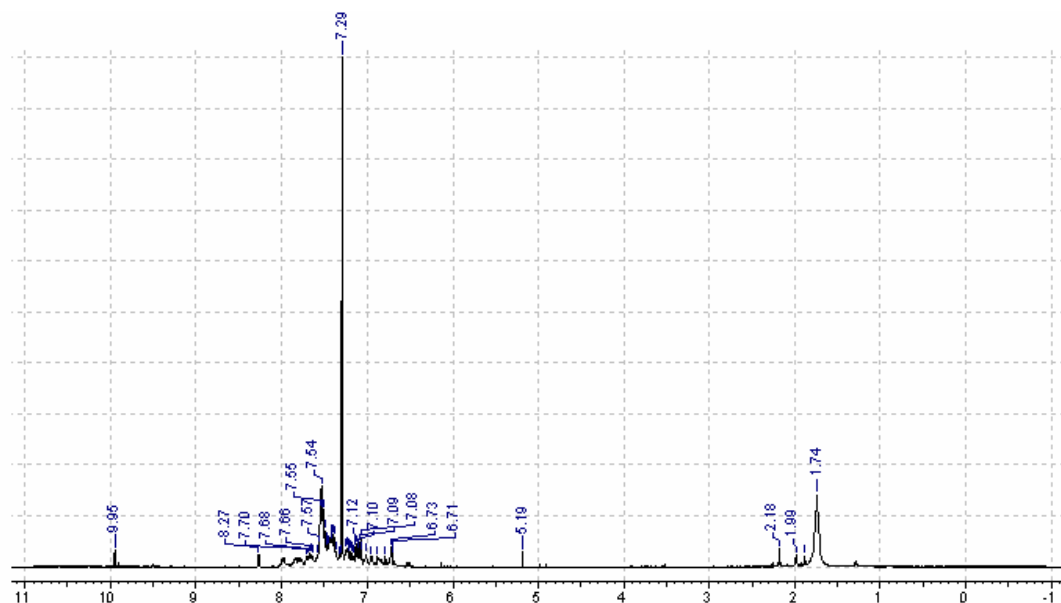


Figura 56. Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (**C11**), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

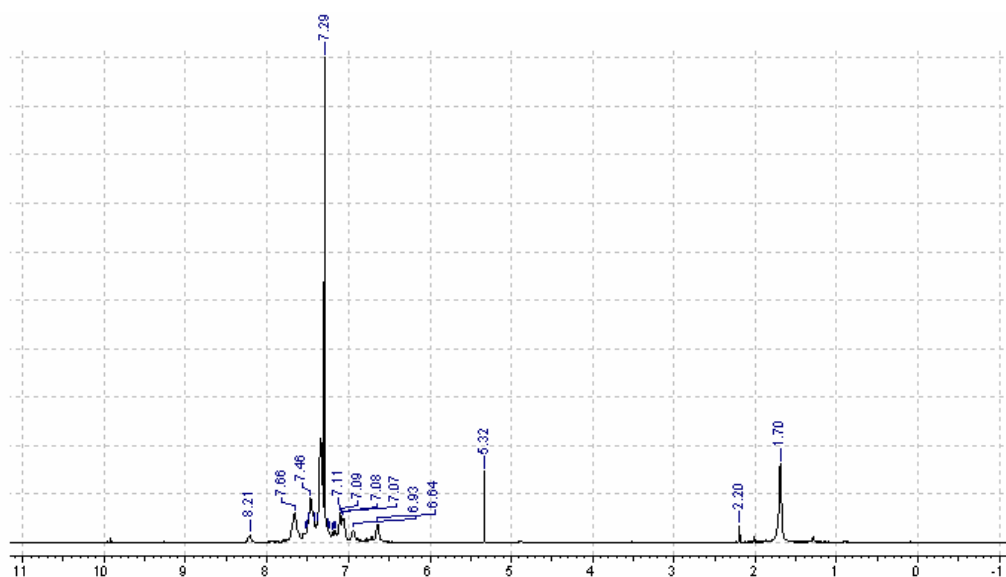


Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{N}_3)(\text{dppet})]$ (**C12**), obtido em CDCl_3 . Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Os espectros de ^1H dos compostos **C9** a **C12** mostram sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da bzan e dppet, estes encontram-se na região de 8,27 a 6,12 ppm. Nota-se o deslocamento químico do hidrogênio imínico ($\text{H}^*\text{C}=\text{N}$) do ligante bzan quando comparado aos sinais dos compostos precursores ($\delta = 8,5$). Este fato sugere a descoordenação do átomo de nitrogênio do ligante bzan e desta forma, ocorre a coordenação da fosfina dppet de forma quelante ao centro metálico. Há multipletos no intervalo de 7,29 a 6,12 ppm, correspondentes aos hidrogênios do anel da dppet, além dos hidrogênios alifáticos da dppet, na região de 3,61 a 1,54 ppm. Observam-se sinais em campo alto ($\delta = 2,20$ a 0,82) associados aos núcleos de hidrogênios mais protegidos magneticamente, indicando uma possível formação de outras espécies em solução, além da espécie formada no estado sólido, como ilustrado pela Figura 52.

4.4.3. Análise Térmica

Curva TG/DTA do ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})]$ (**C9**)

As curvas TG/DTA do complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})]$ obtidas em atmosfera de ar sintético, Figura 58, mostram sua decomposição em etapas consecutivas, não sendo possível atribuir perdas parciais dos ligantes. A termodecomposição inicia-se em 150 °C com uma grande perda de massa, acompanhada de um sinal exotérmico na DTA em 465 °C. Paládio metálico foi identificado como resíduo final.

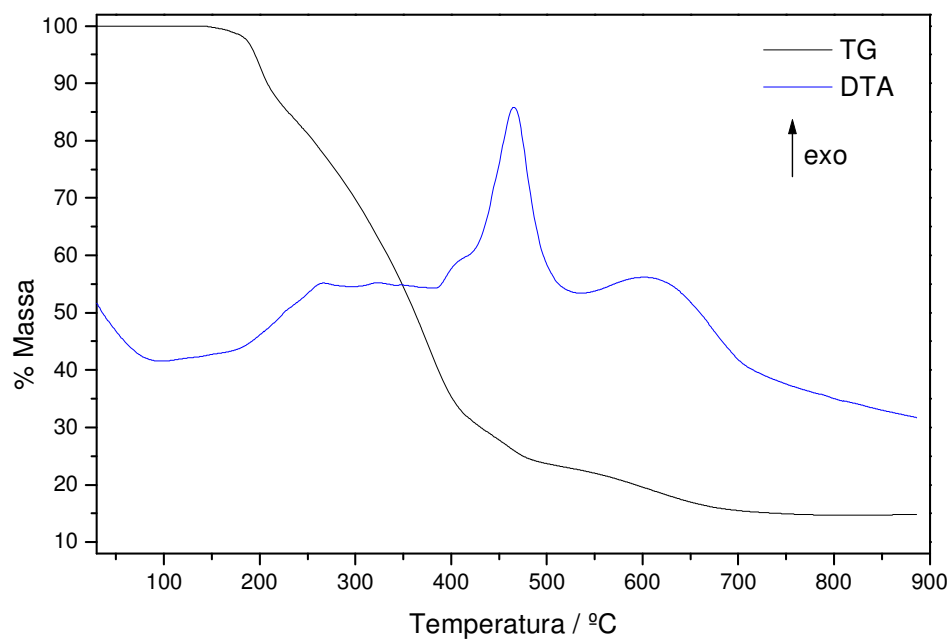


Figura 58. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})]$ (C9).

Curva TG/DTA do ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10)

As curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})]$, Figura 59, mostram que sua decomposição térmica ocorre em uma única etapa. Todos os ligantes são eliminados entre 160 e 750 °C e em 750 °C obtém-se paládio metálico como resíduo. Os sinais exotérmicos que ocorrem entre 300 e 620 °C deve-se à queima dos ligantes.

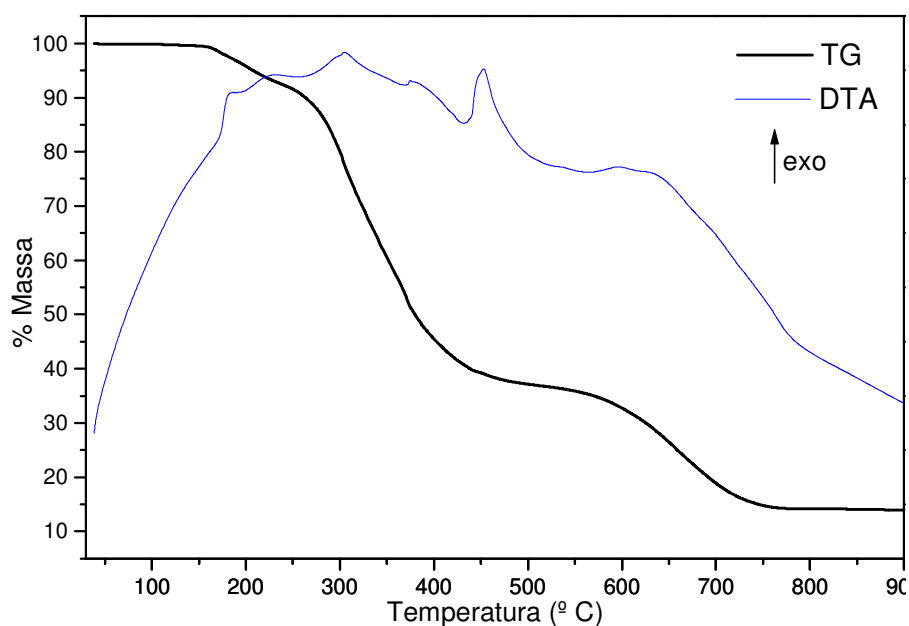


Figura 59. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (C10).

Curva TG/DTA do ciclopaladado $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11)

As curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$, Figura 60, mostram que sua decomposição térmica ocorre em 3 etapas. Todos os ligantes são eliminados entre 120 e 510 °C e o paládio é parcialmente oxidado a PdO. O sinal exotérmico em 465 °C deve-se à queima dos ligantes. De 510 a 814 °C, o restante do paládio metálico é oxidado a PdO. Na terceira etapa, 814 - 861 °C, todo o óxido de paládio(II) é reduzido a paládio metálico, com um sinal endotérmico na DTA.

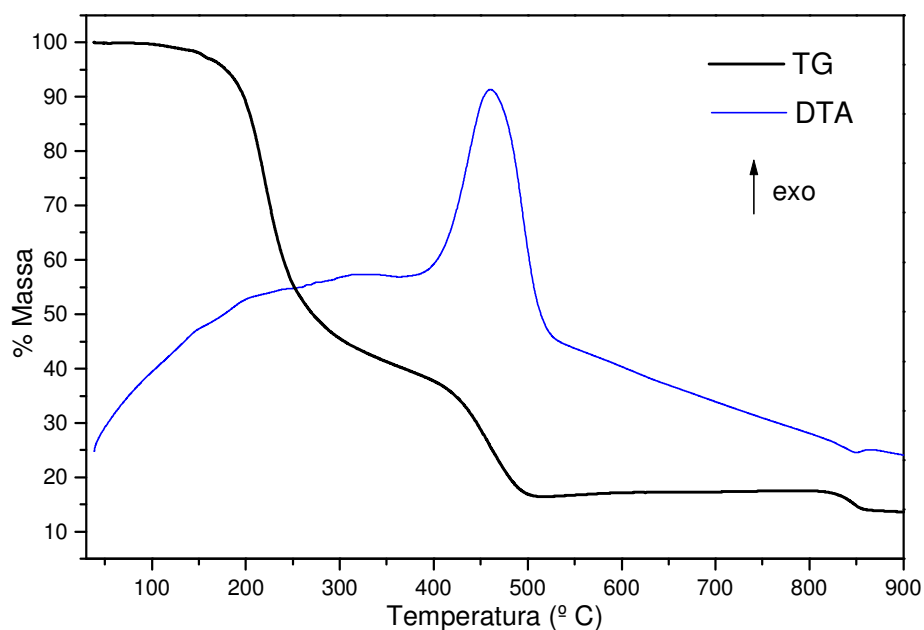


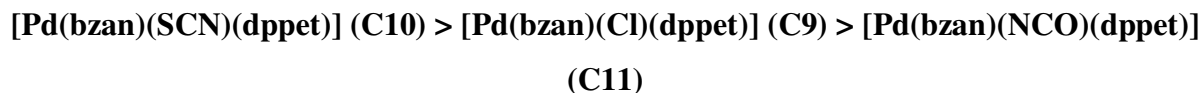
Figura 60. Curvas TG/DTA do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (C11).

Os principais dados termoanalíticos são mostrados na Tabela 21.

Tabela 21 - Perdas de massa (%) e intervalos de temperatura observados nas curvas TG/DTA dos complexos $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, X = Cl (C1), SCN (C2) e NCO (C3).

Composto	Etapa	ΔT (°C)	Atribuição	Variação de massa (%)	
				Calc.	Obt.
C9	1	150-750	-dppet, -bzan, -Cl	85,21	84,38
			Resíduo	14,79	15,62
C10	1	160-750	-dppet, -bzan, -SCN	-85,68	-85,77
			Resíduo	14,32	14,23
C11	1	120-510	-dppet, -bzan, -NCO, + 0,3O ₂	-84,05	-83,55
	2	510-814	+0,2 O ₂	+0,89	+0,93
	3	814-861	-0,5 O ₂	-2,21	-3,37
			Resíduo	14,63	14,01

Diante das temperaturas iniciais de decomposição dos compostos, propõe-se a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica:



O resíduo final foi identificado como paládio metálico e esta identificação foi feita utilizando a difração de raios-X pelo método do pó. Os valores de distâncias interplanares $d(hkl)$ e intensidades (%), são característicos desse resíduo [53]. A Figura 61 ilustra o difratograma de raios-X de pó do resíduo final da termodecomposição do composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})] \text{ (C9)}$.

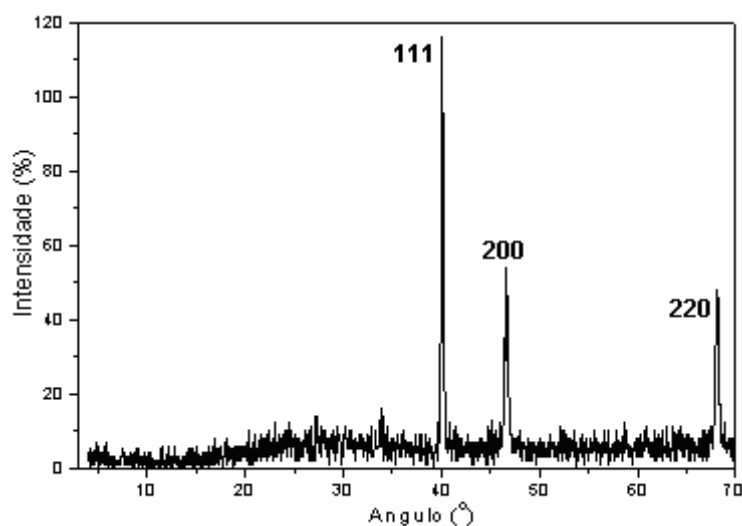


Figura 61. Difratograma de raios-X, método do pó, do resíduo final da termodecomposição do $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})] \text{ (C9)}$.

4.5. Série de Compostos do Tipo [Pd(dmba)(X)(isn)], X = Cl (C13), Br (C14), NCO (C15), N₃ (C16), dmba = N,N-dimetilbenzilamina, isn = isonicotinamida

4.5.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

A caracterização dos compostos precursores [Pd(dmba)(μ-X)]₂, X = Cl, Br, NCO e N₃ está descrita na literatura [16, 55], no entanto serão realizadas algumas considerações sobre os mesmos para que sejam feitas comparações entre os precursores e as novas espécies obtidas.

Os principais modos vibracionais da N,N-dimetilbenzilamina (dmba) livre, apresentam bandas atribuídas ao $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$ em 3031 cm⁻¹, $\nu\text{CH}[-\text{N}(\text{CH}_3)_2]$ em 2942 cm⁻¹, $\nu\text{CH}(-\text{N-CH}_2-)$ em 2772 cm⁻¹, $\nu(\text{C-C})_{\text{arom}}$ em 1570 cm⁻¹ e a $\delta(\text{C-H})_{\text{arom}}$ em 740 cm⁻¹. No entanto quando complexadas ao centro metálico, ocorre um deslocamento para frequências mais altas, como por exemplo, em compostos do tipo [Pd(dmba)(μ-X)]₂, X = Cl, Br, NCO e N₃, as bandas atribuídas ao $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$ são deslocadas para 3058-3054 cm⁻¹; $\nu\text{CH}[-\text{N}(\text{CH}_3)_2]$ em 2973-2912 cm⁻¹ e $\nu\text{CH}(-\text{N-CH}_2-)$ em 2889-2857 cm⁻¹.

Os pseudohaletos apresentam bandas características no espectro IV, possibilitando inferir sobre sua coordenação ao centro metálico. Os espectros de absorção na região do IV para os dímeros precursores mostram o estiramento assimétrico cianato ($\nu_{\text{as}} \text{NCO}$) em 2175 cm⁻¹ e seu estiramento simétrico ($\nu_{\text{s}} \text{NCO}$) em 1287 cm⁻¹, caracterizando sua coordenação em ponte ao centro metálico através do átomo de nitrogênio; enquanto o composto contendo azida, apresenta banda de estiramento assimétrico ($\nu_{\text{as}} \text{N}_3$) em 2057 cm⁻¹ e estiramento simétrico ($\nu_{\text{s}} \text{N}_3$) em 1356 cm⁻¹, o que também mostra sua coordenação em ponte (*end-on*) ao átomo de paládio.

Comparando-se as bandas características dos dímeros precursores [Pd(dmba)(μ-X)]₂, X = Cl, Br, NCO e N₃, com aquelas obtidas para os compostos sintetizados, pôde-se diagnosticar alterações em suas frequências vibracionais, caracterizando assim a formação de novos compostos. A Figura 62 ilustra os espectros no IV dos complexos preparados.

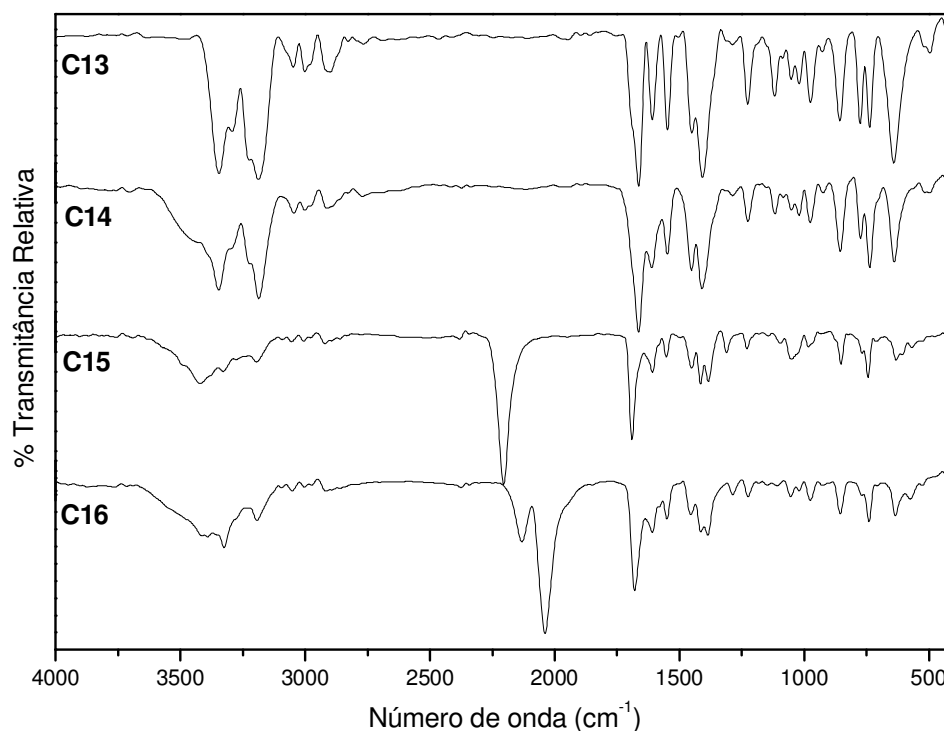


Figura 62. Espectros no IV dos complexos sintetizados com isonicotinamida. [Pd(dmba)(Cl)(iso)] (**C13**), [Pd(dmba)(Br)(iso)] (**C14**), [Pd(dmba)(NCO)(iso)] (**C15**) e [Pd(dmba)(N₃)(iso)] (**C16**).

Inicialmente nota-se o deslocamento das bandas referentes a dmba, ou seja, os estiramentos $\nu(\text{C-H})_{\text{arom}}$ em 3197-3049 cm^{-1} , $\nu\text{CH}[-\text{N}(\text{CH}_3)_2]$ em 2979-2923 cm^{-1} , $\nu\text{CH}(-\text{N}-\text{CH}_2-)$ em 2897-2885 cm^{-1} e $\nu(\text{C-C})_{\text{arom}}$ em 1579-1542 cm^{-1} , o que evidencia a clivagem do dímero precursor e posterior formação de monômeros. Observam-se também novas bandas oriundas dos pseudohaletos cianato e azida. O estiramento assimétrico do cianato encontra-se em 2212 cm^{-1} , o que permite inferir sua coordenação ao centro metálico terminalmente via átomo de nitrogênio e o da azida em 2039 cm^{-1} , também coordenada terminalmente ao átomo de paládio.

Já o ligante isonicotinamida possui três sítios doadores: nitrogênio do anel piridínico; nitrogênio do grupo amido e o oxigênio do grupo carbonil. As bandas mais significativas do grupo amida da isonicotinamida [77] são $\nu(\text{NH})_{\text{as}}$ 3370 e $\nu(\text{NH})_{\text{s}}$ 3187 cm^{-1} , $\nu(\text{CO})$ 1668 cm^{-1} , $\nu(\text{CN})$ 1391 cm^{-1} , além da ϕ (respiração do anel) em 993 cm^{-1} . A Figura 63 ilustra o espectro do ligante isonicotinamida.

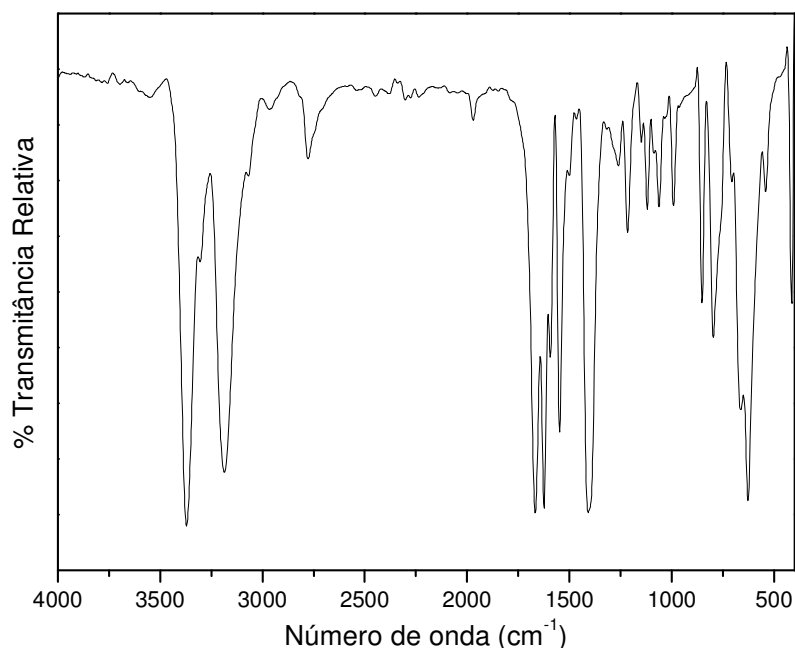


Figura 63. Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante isonicotinamida.

Analisando os espectros no IV dos compostos **1-4**, evidenciou-se a presença do ligante isonicotinamida nos complexos supracitados. A isonicotinamida comporta-se como ligante monodentado, sendo assim sua reação com $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-X})_2]$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{NCO}$ e N_3 leva à clivagem dos dímeros, formando os monômeros $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{iso})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**). Estas evidências são decorrentes do aparecimento de bandas na região de $3349\text{-}3184\text{ cm}^{-1}$, originadas dos estiramentos assimétrico e simétrico $\nu(\text{N-H})$ da isn, além do estiramento $\nu(\text{CO})$ do grupo amida entre $1689\text{-}1662\text{ cm}^{-1}$. A isonicotinamida coordena-se ao $\text{Pd}(\text{II})$ através do nitrogênio piridínico, devido ao deslocamento de aproximadamente $50\text{-}70\text{ cm}^{-1}$, para frequências mais altas da respiração do anel (ϕ) em relação ao ligante livre (993 cm^{-1}) [77].

Para facilitar o entendimento dos espectros, e as atribuições das frequências vibracionais presentes na isn e nos complexos, a Tabela 22 ilustra os dados obtidos.

Tabela 22 - Principais modos vibracionais, em cm^{-1} , dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{iso})]$, X = Cl (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**).

Frequências (cm^{-1})						
Atribuição	dmba	isn	C13	C14	C15	C16
$\nu_{\text{as}}(\text{NH})+\nu_{\text{s}}(\text{NH})$	–	3370-3187 <i>F</i>	3343-3184 <i>mF</i>	3349-3184 <i>m</i>	3328-3188 <i>f</i>	3324-3184 <i>f</i>
$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}$	3031 <i>m</i>	–	3049 <i>m</i>	3053 <i>f</i>	3053 <i>f</i>	3197 <i>m</i>
$\nu(\text{C-H})$ [$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$]	2942 <i>F</i>	–	2979 <i>m</i>	2970 <i>f</i>	2879 <i>f</i>	2923 <i>f</i>
$\nu(\text{CH})$ ($-\text{N-CH}_2-$)	2772 <i>F</i>	–	2896 <i>f</i>	2897 <i>f</i>	2896 <i>f</i>	2885 <i>f</i>
$\nu_{\text{as}}(\text{NCO})$	–	–	–	–	2212 <i>mF</i>	–
$\nu_{\text{as}}(\text{NNN})$	–	–	–	–	–	2039 <i>mF</i>
$\nu(\text{C-C})_{\text{arom}}$	1570 <i>m</i>	–	1548 <i>m</i>	1542 <i>f</i>	1550 <i>f</i>	1579 <i>f</i>
$\nu(\text{C=O})$	–	1666 <i>F</i>	1662 <i>mF</i>	1667 <i>F</i>	1689 <i>F</i>	1677 <i>F</i>
$\nu(\text{C-NH}_2)$	–	1404 <i>mF</i>	1398 <i>mF</i>	1398 <i>F</i>	1398 <i>f</i>	1387 <i>f</i>
$\nu(\text{C-CONH}_2)$	–	1124 <i>f</i>	1127 <i>m</i>	1117 <i>f</i>	1086 <i>mf</i>	1056 <i>mf</i>
$\nu_{\text{s}}(\text{NCO})$	–	–	–	–	1315 <i>f</i>	–
$\nu_{\text{s}}(\text{NNN})$	–	–	–	–	–	1283 <i>f</i>
ϕ (respiracao do anel)	–	993 <i>f</i>	1044 <i>f</i>	1044 <i>f</i>	1059 <i>f</i>	1059 <i>f</i>
$\delta(\text{NCO})$	–	–	–	–	634 <i>f</i>	–
$\delta(\text{NNN})$	–	–	–	–	–	573 <i>f</i>

Intensidades: *mF* = muito forte; *F* = forte; *m* = média; *f* = fraca; *mf* = muito fraca.

Estes resultados apontam para uma geometria quadrado planar do Pd(II), havendo a coordenação dos pseudohaletos de forma terminal, a isonicotimanida coordenando-se pelo átomo de nitrogênio do grupo piridínico e o ligante dmbs ligando-se através dos átomos de carbono e nitrogênio. De acordo com os dados de análise elementar e IV, pôde-se propor a estrutura para a série de compostos do tipo $[\text{Pd}(\text{dmbs})(\text{X})(\text{isn})]$, X = Cl, Br, NCO e N_3 , mostrado na Figura 64.

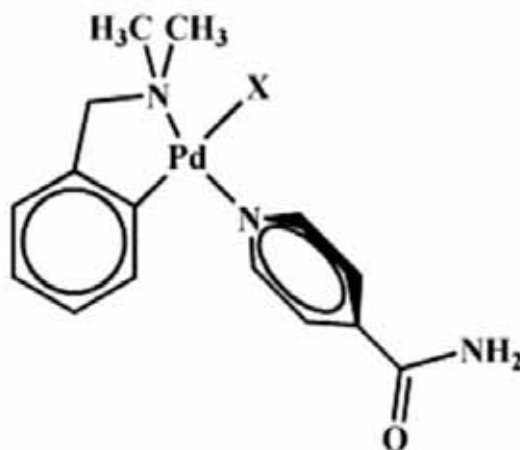


Figura 64. Proposta estrutural para os complexos da série $[Pd(dmba)(X)(isn)]$, $X = Cl, Br, NCO$ e N_3 .

Com o intuito de confirmar estas informações, utilizou-se a técnica de RMN de 1H e de $^{13}C\{^1H\}$ para subsidiar a proposta estrutural.

4.5.2. Ressonância Magnética Nuclear

Foram obtidos os espectros de RMN de 1H e $^{13}C\{^1H\}$ dos complexos de Pd(II) da série $[Pd(dmba)(X)(isn)]$, $X = Cl$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**), medidos em dimetilsulfóxido ($DMSO-d_6$) como solvente, já que estes compostos são pouco solúveis em clorofórmio. Os deslocamentos químicos referentes ao ligante isonicotinamida livre serão discutidos conforme indicado pela numeração da Figura 65.

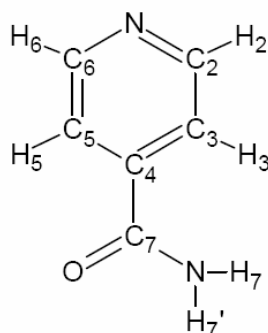
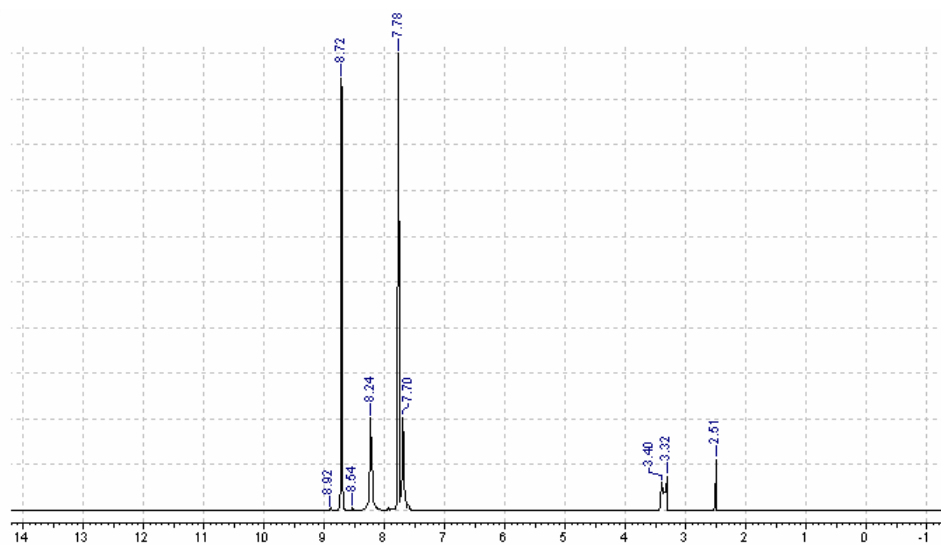
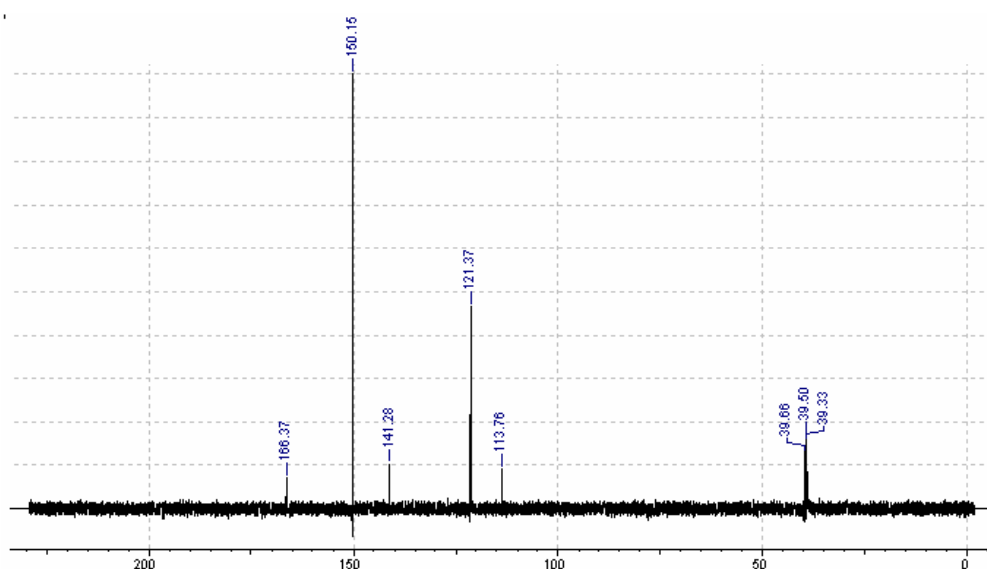


Figura 65. Numeração utilizada para a atribuição dos deslocamentos químicos do ligante isonicotinamida.

Os sinais dos deslocamentos químicos de 1H e $^{13}C\{^1H\}$ da isonicotinamida livre está ilustrado na Figura 66.



(a)



(b)

Figura 66. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do ligante isonicotinamida livre em $\text{DMSO-}d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

As Figuras 67 a 70 ilustram os espectros de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos compostos de Pd(II) de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, X = Cl (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**). Os espectros foram obtidos com a frequência de 500 MHz a 25 °C, utilizando como solvente $\text{DMSO-}d_6$.

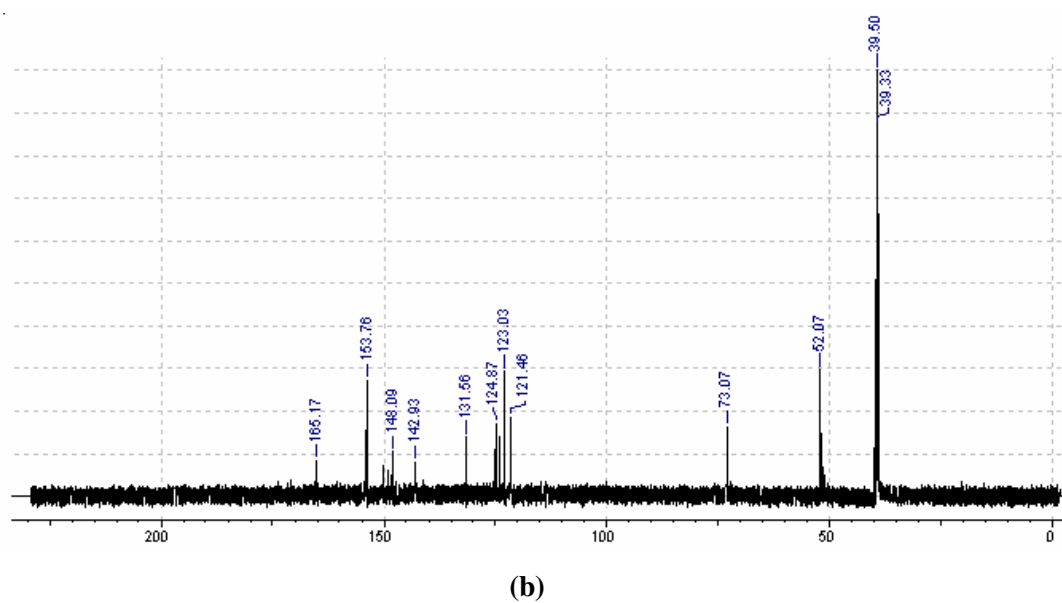
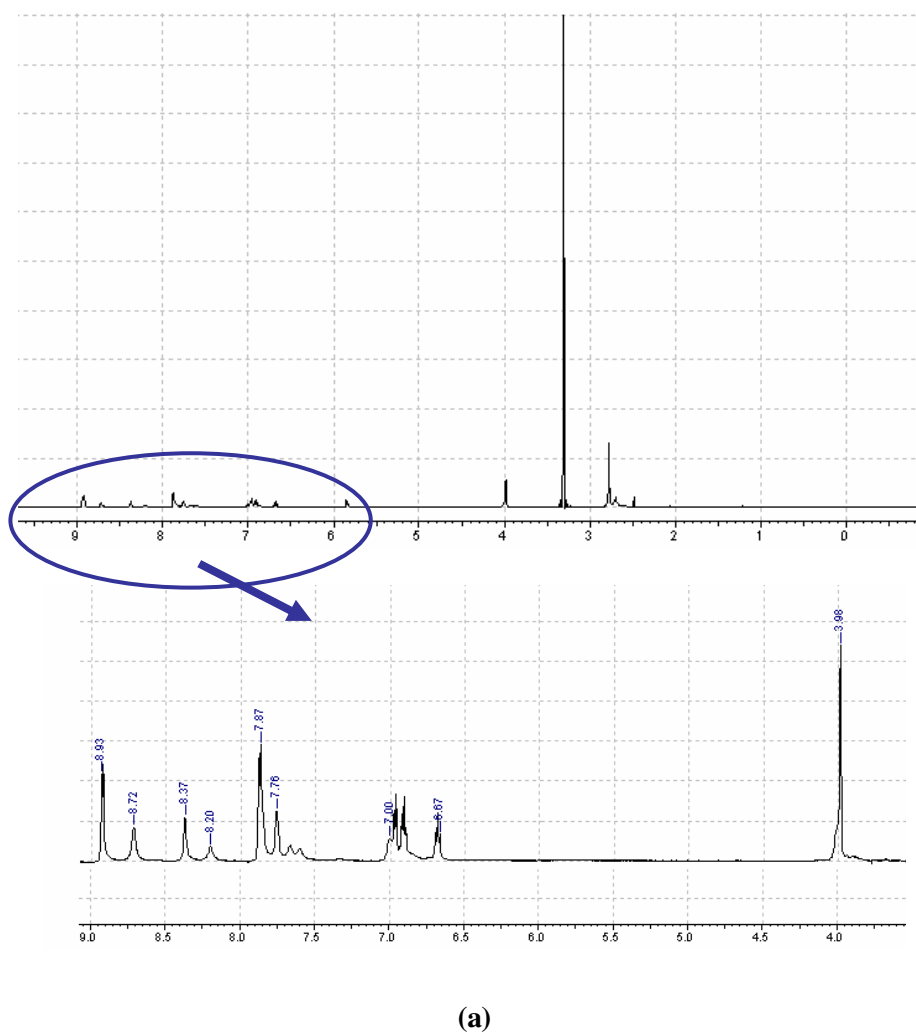
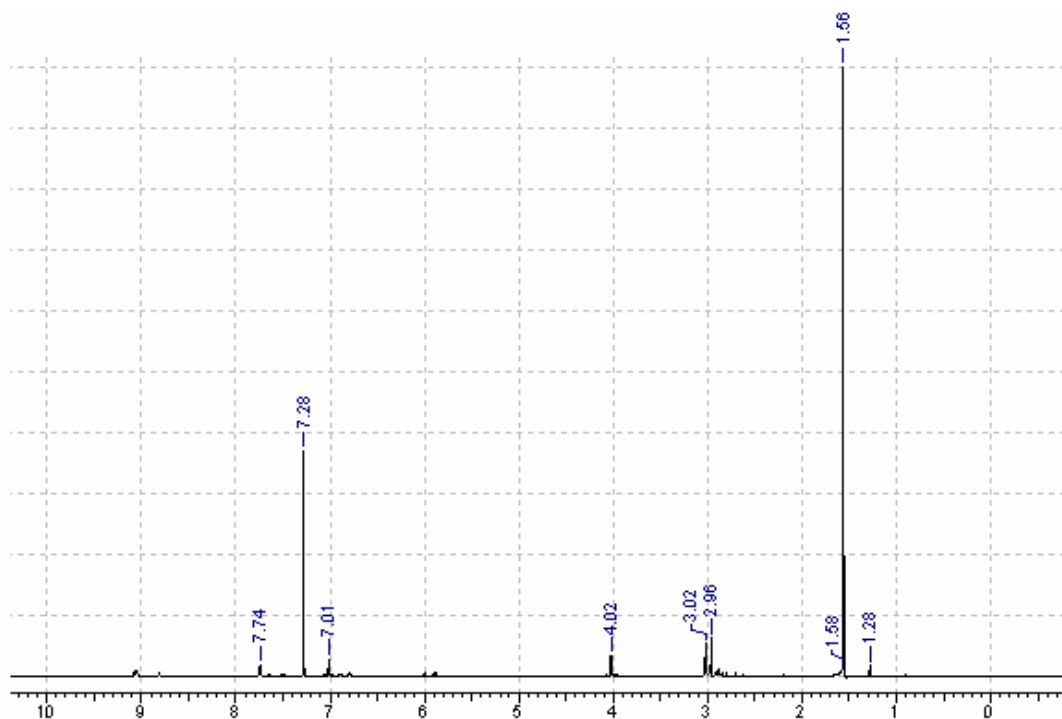


Figura 67. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})]$ (**C13**), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.



(a)

Figura 68. Espectro de RMN de ^1H (a) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})]$ (C14), obtido em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

Para o complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})]$, mesmo após 15 h de coleta de dados, os sinais apresentavam intensidades muito baixas, demonstrando que para este composto seria necessário um tempo de coleta demasiadamente longo, inviabilizando a conclusão da medida.

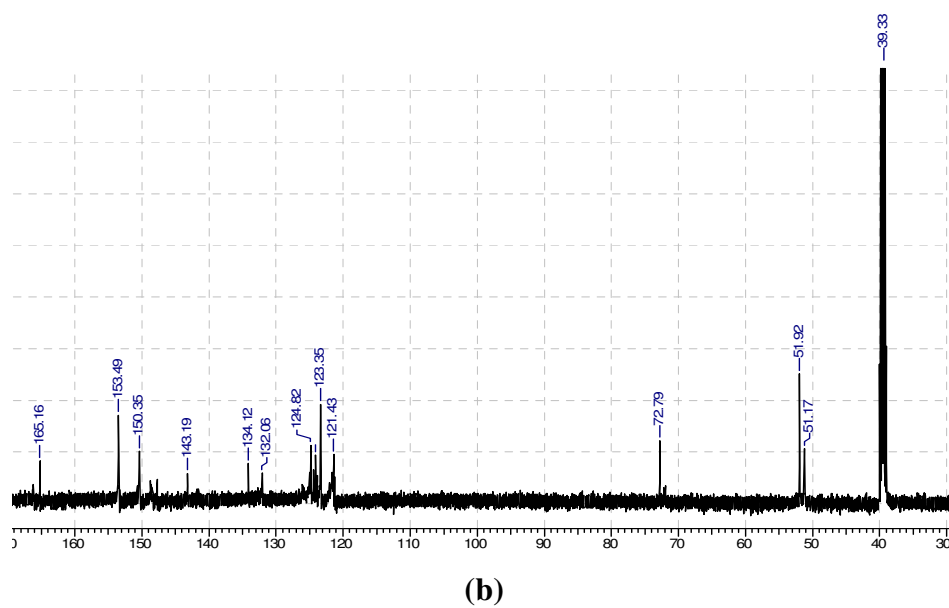
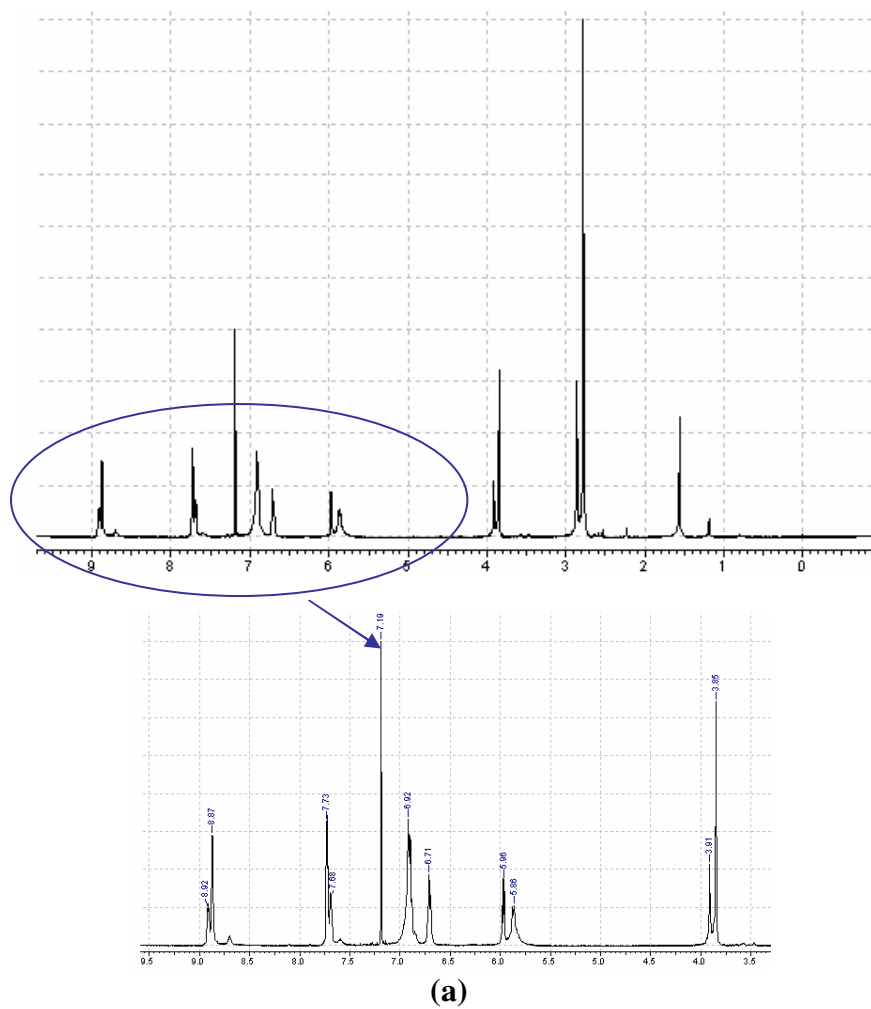


Figura 69. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**C15**), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

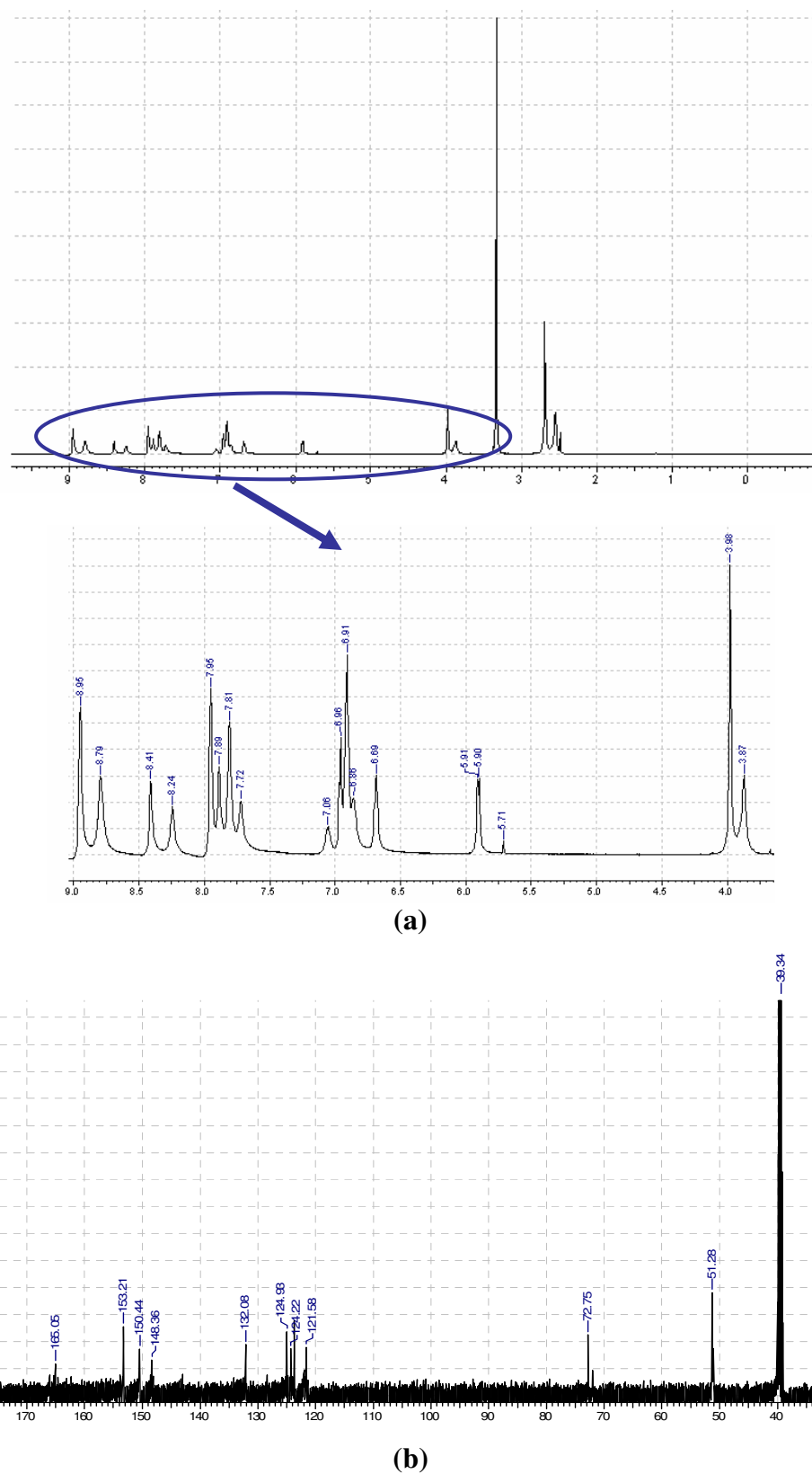


Figura 70. Espectros de RMN de ^1H (a) ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (b) do complexo $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (C16), obtidos em $\text{DMSO}-d_6$. Deslocamentos químicos (δ) em ppm.

As principais atribuições dos espectros de ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ para os complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**), são dadas nas Tabelas 23 e 24.

Tabela 23 - Dados de RMN ^1H e suas atribuição de deslocamentos químicos, δ (em ppm), dos ligantes livres (dmba e isn) e dos complexos obtidos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**).

Ligantes e Complexos	Deslocamentos químicos (δ) em ppm						
	dmba			isn			
	H arom	(-N-CH ₂ -)	[-N-(CH ₃) ₂]	H6/H2	H7'	H5/H3	H7
dmba livre	7,22-7,14 m	3,32 s	2,14 s	—	—	—	—
isn livre	—	—	—	8,71 d ($^3J = 5,97 \text{ Hz}$)	8,23 sl	7,76 d ($^3J = 5,97 \text{ Hz}$)	7,70 sl
C13	7,00-6,66(m)	3,98(s)	2,78(s)	8,93(s)	8,72(s)	7,87(s)	7,76(s)
C14	7,28(s)	4,02(s)	3,02-2,96(m)	9,10(s)	8,80(s)	7,74(m)	7,01(s)
C15	7,19(s)	3,98(s)	2,74(s)	8,92-8,87(m)	8,87(s)	7,83(m)	7,73(s)
C16	7,06-6,69(m)	3,98(s)	2,62(s)	8,95(s)	8,79(s)	7,95-7,72(m)	7,81(m)

Multiplicidade: s = singleto, m = multipeto, sl = sinal largo

Tabela 24 - Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e suas atribuição de deslocamentos químicos, δ (em ppm), dos ligantes livres (dmba e isn) e dos complexos obtidos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**).

Ligantes e complexos	Deslocamentos químicos (δ) em ppm									
	dmba				isn				Ciclotetralados	
	(-C-CH ₂ -N-)	C arom	(-N-CH ₂ -)	[-N(CH ₃) ₂]	C7	C6/C2	C4	C5/C3	X	C-Pd
dmba livre	138,51	128,42-126,41	63,9	44,7	—	—	—	—	—	—
isn livre	—	—	—	—	166,39	150,16	141,30	121,38	—	—
C13	131,56(s)	124,87-121,46(m)	73,07(s)	52,07(s)	165,17(s)	153,76(s)	148,09(s)	121,46(s)	—	148,09(s)
C15	132,06(s)	124,82-123,35(m)	72,79(s)	51,92(s)	153,49(s)	143,19(s)	150,35(s)	121,43(sl)	166,16(s)	134,12(s)
C16	132,08(s)	124,93-121,58(m)	72,75(s)	51,28(s)	153,21(s)	148,36(m)	150,44(s)	124,93(s)	165,05(m)	132,08(s)

Multiplicidade: s = singleto, m = multipeto, sl = sinal largo

Nos espectros de RMN de ^1H dos compostos da série $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}$ (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N_3 (**C16**), observam-se sinais de ressonância correspondentes aos sinais do ligante isonicotinamida em campo mais baixo com $\delta = 8,95\text{-}8,92$, quando comparados ao ligante livre em $\delta = 8,71$, indicando a coordenação do ligante ao centro metálico. Os espectros também apontam sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da dmbs na região de $\delta = 7,06\text{-}6,66$, havendo deslocamentos químicos significativos em relação ao ligante livre ($\delta = 7,22\text{-}7,14$). Este fato indica que esses hidrogênios sofreram proteção magnética após a coordenação e conseqüentemente ocorre um deslocamento químico para campo alto.

O aparecimento de outros sinais pode ser explicado pela provável formação de mais de uma espécie em solução bem como pela presença do ligante isonicotinamida livre em solução. Esta afirmação pode ser feita de acordo com os deslocamentos químicos observados para o ligante livre em $\delta = 8,72$ (**H₂** e **H₆**), $7,76$ (**H₃** e **H₅**) e $\delta = 8,20$ atribuído aos hidrogênios do grupo amido. Tal fato pode ser decorrente da labilidade do paládio(II) e ligantes piridínicos em sistemas quadrado-planares, e o possível tempo despendido para a realização das análises em $\text{DMSO-}d_6$.

Em aproximadamente $\delta = 2,48$ há um sinal do solvente utilizado ($\text{DMSO-}d_6$) e próximo a $\delta = 3,31$ aparece um sinal que provavelmente é atribuído à presença de água do solvente.

Nos espectros de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, evidencia-se a presença de sinais na região de $\delta = 124,82$ a $121,46$, atribuídos aos carbonos aromáticos da dmbs, sendo que estes sinais estão presentes em $\delta = 128,42$ a $126,41$ na dmbs livre. A coordenação ao átomo de paládio à dmbs é constatada pelo sinal do carbono da ligação C-Pd, que ocorre entre $148,09$ a $132,06$ ppm. Este sinal nos dímeros precursores $[\text{Pd}(\text{dmbs})(\mu\text{-X})]_2$ encontra-se próximo a $\delta = 146,08$, o que confirma a clivagem dos mesmos e a formação dos monômeros propostos.

Os sinais dos carbonos **C3/C5** do ligante isn para os compostos **C13**, **C15** e **C16**, encontram-se na região de $124,93$ a $121,43$ ppm, localizados em campo mais baixo em relação aos mesmos carbonos do ligante isn, que aparecem em $121,38$ ppm. Na região de $\delta = 153,76$ a $143,19$, atribui-se aos carbonos **C2/C6** dos complexos, visto que houve um deslocamento químico para campo mais baixo em relação ao ligante isn livre ($\delta = 150,16$), comprovando sua coordenação ao centro metálico.

4.5.3. Análise Térmica

Curva TG/DTA do ciclopaladado [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (C13)

A curva TG mostrou que a decomposição térmica do composto [Pd(dmba)(Cl)(isn)], Figura 71, ocorre em três etapas. Na primeira etapa, entre 201-441 °C, ocorre a saída dos ligantes dmba, isonicotinamida e do grupo cloro e está associada a um evento endotérmico em 224 °C. Nota-se a incorporação de O₂ na etapa subsequente, no intervalo de 441-604 °C, levando à formação de PdO associada ao pico exotérmico em 372 °C. Em seguida, entre 604-888 °C, há perda de massa originando paládio metálico como resíduo.

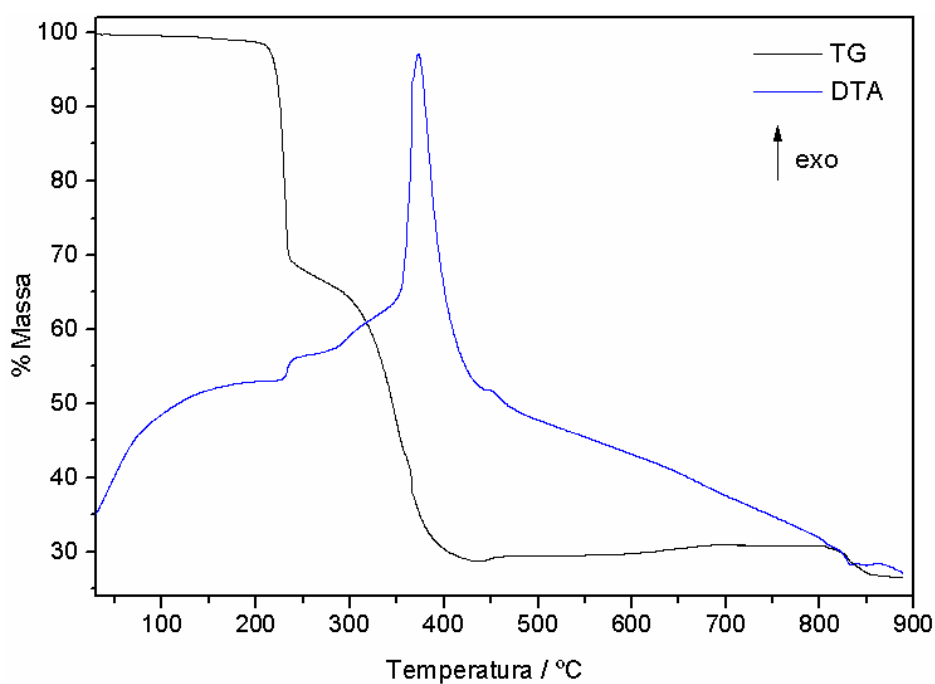


Figura 71. Curvas TG/DTA do composto [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (C13).

Curva TG/DTA do ciclopaladado [Pd(dmba)(Br)(isn)] (C14)

A curva TG evidenciou que a decomposição térmica do composto [Pd(dmba)(Br)(isn)], Figura 72, se faz em três etapas. Na primeira etapa, entre 193-524 °C, ocorre a liberação dos ligantes dmba, isonicotinamida e do grupo bromo e está associada a um evento endotérmico em 227 °C. Nota-se a incorporação de O₂ na etapa subsequente (524-811 °C), levando à formação de PdO associada ao pico endotérmico em 351 °C. A última etapa, que ocorre entre 811-885 °C, há perda de oxigênio resultando, como resíduo final, o Pd°.

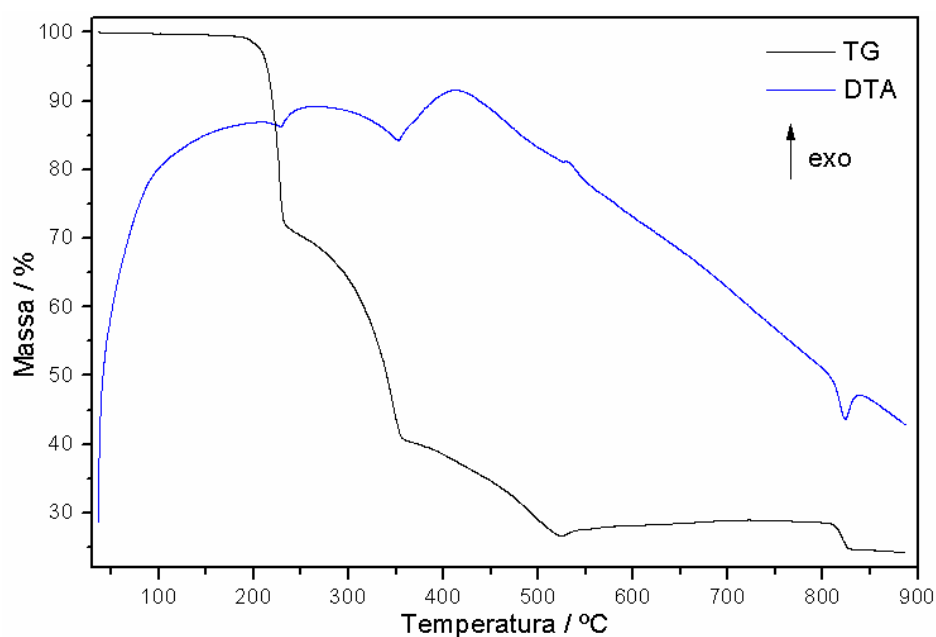


Figura 72. Curvas TG/DTA do composto [Pd(dmba)(Br)(isn)] (C14).

Curva TG/DTA do ciclopaladado [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (C15)

A decomposição térmica do composto [Pd(dmba)(NCO)(isn)], Figura 73, ocorre em duas etapas consecutivas. A primeira, entre 170-531 °C, corresponde a perda de um grupo dmba, isn e NCO acompanhada de um pico endotérmico de baixa intensidade em 192 °C e de um intenso pico exotérmico em 420 °C. A segunda etapa consiste em um ganho de massa atribuído à incorporação de O₂ no intervalo de 800-867 °C. A perda de massa atribuída à saída de O₂, origina o resíduo final identificado como paládio metálico.

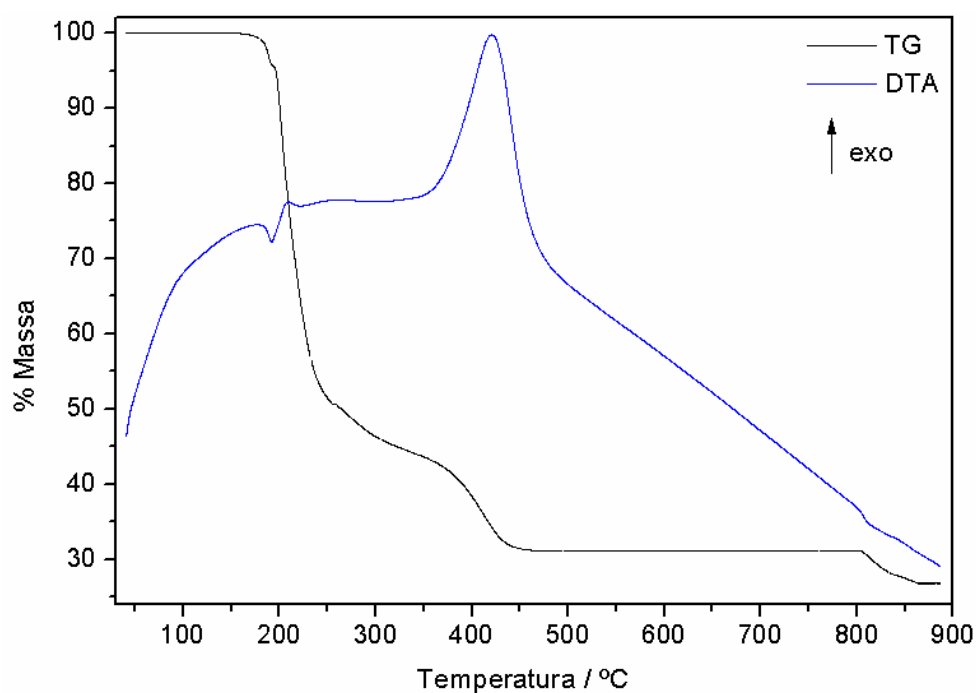


Figura 73. Curvas TG/DTA do composto [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (C15).

Curva TG/DTA do ciclopaladado [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**)

A curva do ciclopaladado [Pd(dmba)(N₃)(isn)] indica sua decomposição térmica em dois estágios consecutivos, Figura 74. Observa-se no intervalo de 158-379 °C a perda de um grupo dmba, isn e um íon azida. No intervalo de 780-856 °C há ganho de O₂ formando PdO seguido da eliminação de O₂ originando paládio metálico como resíduo final.

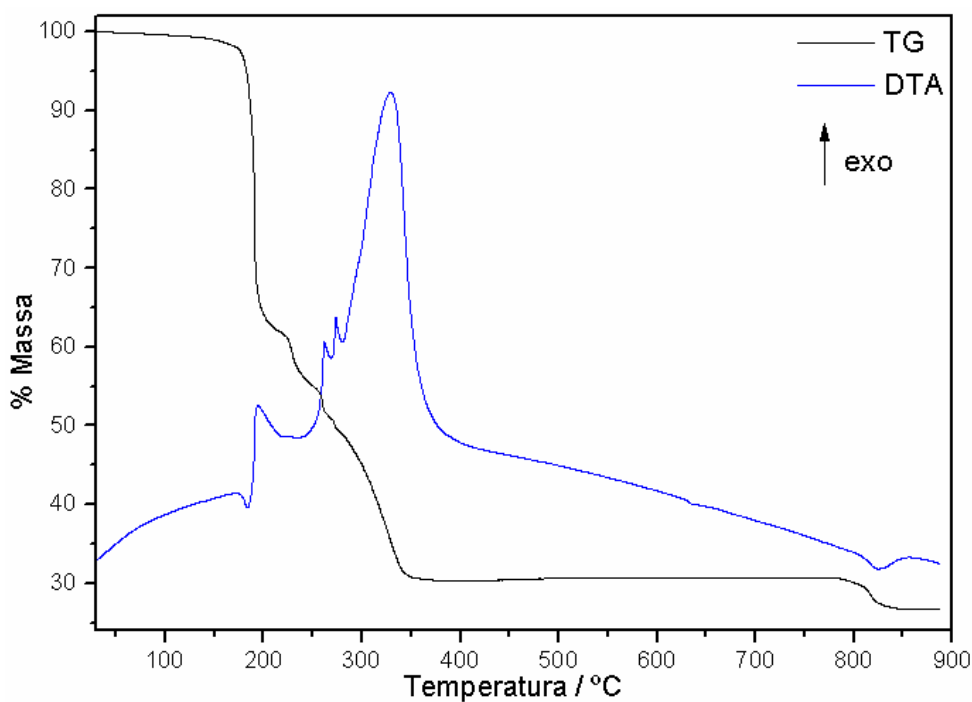


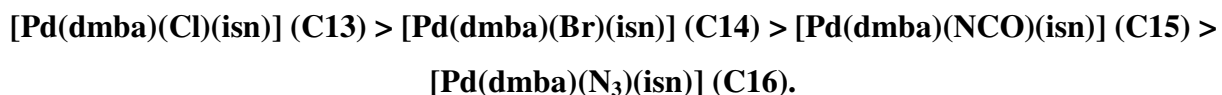
Figura 74. Curvas TG/DTA do composto [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**).

Um resumo dos principais dados obtidos a partir das curvas TG dos compostos [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (**C13**), [Pd(dmba)(Br)(isn)] (**C14**), [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**C15**) e [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**) é apresentado na Tabela 25.

Tabela 25 - Perdas de massa (%) e intervalos de temperatura observados nas curvas TG/DTA dos complexos [Pd(dmmba)(X)(isn)], x = Cl (**C13**), Br (**C14**), NCO (**C15**) e N₃ (**C16**).

Complexo	Etapas	$\Delta T / ^\circ\text{C}$	$\Delta m / \%$		DTA / $^\circ\text{C}$		Atribuição
			Obt.	Calc.	Endo	Exo	
C13	1	201–441	-72,67	-73,27	224	372	- dmmba, - Cl ⁻ , - isn
	2	441-790	+3,47	+4,02	—	452	+ 0,5 O ₂
	3	790-890	-4,29	-4,02	834	—	- 0,5 O ₂
	Resíduo	—	26,51	26,73	—	—	Pd ⁰
C14	1	193-524	-72,30	-74,15	227	—	- dmmba, - Br ⁻ , - isn, +0,25 O ₂
	2	524-811	+1,81	+1,87	351	—	+ 0,25 O ₂
	3	811-885	-3,74	-3,62	823	530	- 0,5 O ₂
	Resíduo	—	25,77	24,10	—	—	Pd ⁰
C15	1	170-531	-68,83	-69,76	192	207	- dmmba, - NCO ⁻ , - isn, + 0,5 O ₂
	2	800-867	-4,34	-3,95	804	420	- 0,5 O ₂
	Resíduo	—	26,81	26,29	—	—	Pd ⁰
C16	1	158-379	-69,34	-69,76	184	195, 262- 329	- dmmba, - N ₃ ⁻ , - isn
	2	780-856	-3,95	-4,01	824	—	+ 0,5 O ₂
	Resíduo	—	26,71	26,23	—	—	Pd ⁰

Considerando as temperaturas iniciais de termodecomposição dos compostos **C13-C16**, propõe-se a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica:



As curvas termogravimétricas das espécies obtidas mostram decomposições consecutivas em duas e três etapas, levando a formação de paládio metálico após atingir a temperatura aproximada de 800 $^\circ\text{C}$, no qual o PdO anteriormente originado sofre decomposição.

A identificação do resíduo final das termodecomposições como paládio metálico foi realizada através da difração de raio-X pelo método do pó, mostrando valores de distâncias interplanares $d(hkl)$ e intensidades ($I\%$) característicos desse composto [53]. A Figura 75 mostra o difratograma de raio-X de pó do resíduo final da decomposição térmica do composto **C13**, sendo esta figura representativa também para os demais resíduos finais formados pelos compostos **C14**, **C15** e **C16**.

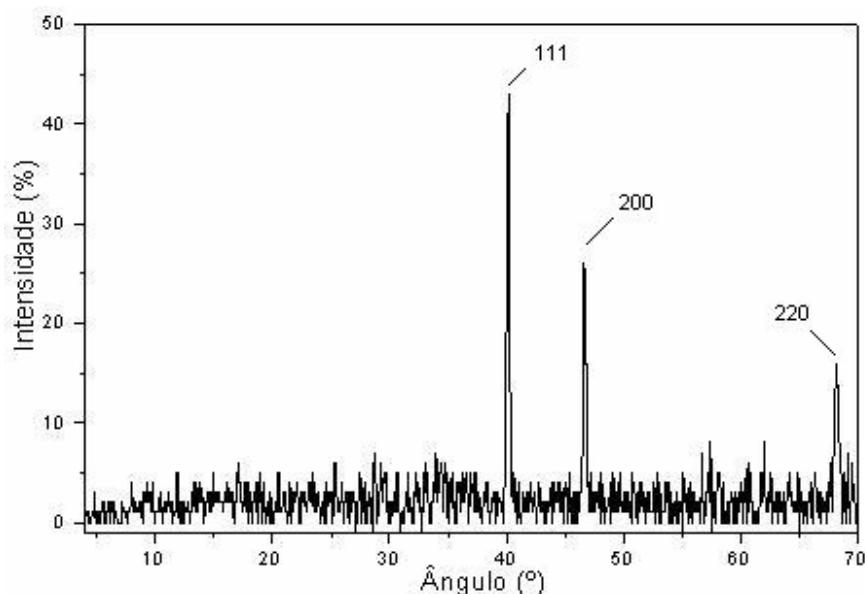


Figura 75. Difratograma de raios X, método do pó, do Pd^0 obtido no final da termodecomposição do composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})]$ (**C13**).

Após a investigação estrutural dos complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})]$ (**C13**), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})]$ (**C14**), $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**C15**) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$ (**C16**), estes foram submetidos a ensaios biológicos para avaliar seus potenciais antituberculosos e os dados obtidos encontram-se no capítulo seguinte que trata das Propriedades Biológicas.

5. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS COMPLEXOS CICLOPALADADOS

Os ensaios envolvendo os compostos ciclopaladados e seus ligantes frente à atividade antiproliferativa de células tumorais e a viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos, além da liberação de intermediários reativos de oxigênio como H_2O_2 e de nitrogênio como NO, foram realizados por mim, no laboratório Imunologia Clínica, do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP, sob a supervisão da Profa. Dra. Iracilda Zeppone Carlos.

5.1. Aplicação dos Complexos Ciclopaladados e seus Ligantes em Ensaios Biológicos como Agentes Antitumorais

Os compostos ciclopaladados $Pd(bzan)(SCN)(dppf)$ (**C6**), $[Pd(bzan)(NCO)(dppf)]$ (**C7**), $[Pd(bzan)(SCN)(dppet)]$ (**C10**) e $[Pd(bzan)(NCO)(dppet)]$ (**C11**) foram submetidos à ensaios biológicos, visando avaliar seus potenciais citotóxicos aos macrófagos (células de defesa) de camundongos saudáveis e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, concomitantemente analisou-se suas atuações no sistema imunológico mediante produção ou inibição dos mediadores químicos peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO) por macrófagos peritoneais de camundongos. Para a realização dos testes foram utilizados camundongos isogênicos do tipo *Balb/C*. Para minimizar possíveis contaminações e aplicar condições semelhantes a todos os animais, todos os materiais utilizados, entre eles, maravalha, ração e a água dos camundongos foram previamente autoclavados. Antes da distribuição da água nas garrafas, estas eram expostas por 30 min. à radiação UV em câmara de fluxo laminar. As gaiolas de polietileno eram limpas a cada um dia.

Além dos ciclopaladados supracitados, investigou-se a citotoxicidade e a resposta imunológica dos ligantes N-benzilidenoanilina (bzan) (**C17**), 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) (**C19**) e *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet) (**C20**) e a cisplatina (*cis*-DDP) (**C**), utilizada como droga padrão.

5.1.1. Determinação da viabilidade celular de macrófagos peritoneais de camundongos sadios e de camundongos portadores de tumor sólido LMM3 frente aos diferentes compostos pela técnica de MTT [57]

Foi empregada a técnica colorimétrica utilizando uma solução de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólico (MTT) para verificação da atividade e integridade mitocondrial, interpretada como uma medida da viabilidade celular [57]. A metodologia é baseada na redução de um sal de tetrazólio amarelo solúvel por enzimas do retículo endoplasmático e também pela enzima succinato desidrogenase mitocondrial de células viáveis. Essa redução gera a formazana, um produto insolúvel de cor púrpura, que se acumula nas células devido a sua incapacidade de atravessar a membrana celular. A adição do álcool isopropílico solubiliza e libera os cristais de formazana produzidos, possibilitando sua quantificação colorimétrica.

As concentrações de DMSO nas soluções-mãe e nas respectivas diluições finais das espécies investigadas não foram significativamente citotóxicas [78]. Foram testadas diferentes concentrações de DMSO em soluções-mãe e nas subseqüentes diluições utilizadas nas incubações de 24 h. Verificou-se que as concentrações de DMSO nas espécies testadas não foram citotóxicas em relação às células incubadas com RPMI-1640-C (Controle Negativo) para os macrófagos peritoneais e à linhagem tumoral LMM3, portanto não influenciando sobre a citotoxicidade das mesmas.

Nestes ensaios verificou-se a influência na citotoxicidade dos compostos ciclopaladados quanto à presença dos ligantes dppf e dppet, assim como dos pseudohaletos, SCN e NCO, em suas esferas de coordenação. Fez-se ainda uma comparação do potencial citotóxico dos compostos e seus ligantes com a droga padrão, a cisplatina.

Os macrófagos são células que se originam dos monócitos, oriundos da medula óssea. Constituem a segunda maior população celular do sistema imune. Estas células utilizam a fagocitose para desempenhar um papel importante na resposta imune inata [79].

Nos ensaios para determinação da citotoxicidade, verificou-se que os macrófagos de camundongos sadios e de camundongos portadores do tumor LMM3 na forma sólida foram sensíveis ao potencial tóxico da cisplatina (cis-DDP) (C), dos compostos [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10) e

[Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**), e dos ligantes N-benzilidenoanilina (bzan) (**C17**), 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) (**C19**) e *cis* 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet) (**C20**). Os valores dos índices de citotoxicidade correspondentes a 25% e 50%, IC₂₅ e IC₅₀, respectivamente, obtidos para os períodos de 24 h de exposição encontram-se na Tabela 26.

Tabela 26 - Índices de citotoxicidade (IC₂₅ e IC₅₀) da cisplatina (**C**), dos compostos [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**), e dos ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**) para os macrófagos de camundongos saudáveis e para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, do tipo *Balb/C* após 24 h de exposição.

Compostos	IC ₂₅ ^{1,2}		IC ₅₀ ^{1,2}	
	Camundongos Sadios	Camundongos portadores de tumor LMM3	Camundongos Sadios	Camundongos portadores de tumor LMM3
C	18,88 ± 2,14	48,12 ± 1,99	62,88 ± 2,14	104,68 ± 1,99
C6	43,64 ± 4,16	0,00	69,33 ± 4,16	28,18 ± 1,57
C7	49,10 ± 1,84	74,10 ± 2,31	83,66 ± 1,84	167,88 ± 2,31
C10	6,92 ± 3,85	3,48 ± 3,38	18,89 ± 3,85	7,75 ± 3,38
C11	7,20 ± 4,01	3,46 ± 7,37	19,05 ± 4,01	12,53 ± 7,37
C17	1486,03 ± 1,73	1268,24 ± 0,68	2794,25 ± 1,73	2116,85 ± 0,68
C19	116,46 ± 5,25	150,74 ± 0,48	188,66 ± 5,25	325,05 ± 0,48
C20	108,11 ± 2,04	204,94 ± 1,55	188,66 ± 2,04	326,27 ± 1,55

¹- 5 x 10⁶ células / cavidade da placa. ²- Os valores acima são calculados pela média ± desvio padrão (DP) de cinco animais em triplicata, valores determinados por uma curva dose-resposta expressos em µmol/L.

Dentre os compostos investigados, [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**) e [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**) apresentaram-se mais citotóxicos que os demais, inclusive quando comparados à cisplatina (**C**). Estas citotoxicidades dos compostos **C10** e **C11** ocorrem tanto para macrófagos de camundongos saudáveis quanto para macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida. Considerando as estruturas dos complexos investigados, verifica-se a influência do ligante dppet coordenado ao paládio(II), produzindo um efeito do complexo mais intenso que o do ligante, visto que os ligantes livres testados apresentaram-se pouco citotóxicos (Tabela 26), fato evidenciado pelos seus altos índices de IC₂₅ e IC₅₀.

Observou-se também que houve influência dos pseudohaletos, já que para os quatro ciclopaladados testados, os compostos **C6** e **C10**, contendo como pseudohaleta o SCN, apresentaram maior citotoxicidade sobre as células de macrófagos testadas.

5.1.2. Liberação de H_2O_2 por macrófagos de camundongos sadios e camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida

Uma das principais características dos macrófagos ativados é o aumento de sua capacidade em liberar mediadores pró-inflamatórios e citotóxicos como os intermediários reativos de oxigênio (na forma de H_2O_2) e nitrogênio (na forma de NO), enzimas hidrolíticas e citocinas citotóxicas que podem atuar na destruição de antígenos. A liberação em excesso e descontrolada de H_2O_2 pode destruir tecidos normais [80]. No entanto, ainda não se sabe qual é a concentração mínima de H_2O_2 liberada, capaz de danificar os tecidos sadios.

Adicionou-se às células de macrófagos peritoneais de camundongos sadios e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, soluções de concentrações correspondentes aos valores de IC_{25} e IC_{50} da cisplatina (**C**), $[Pd(bzan)(SCN)(dppf)]$ (**C6**), $[Pd(bzan)(NCO)(dppf)]$ (**C7**), $[Pd(bzan)(SCN)(dppet)]$ (**C10**), $[Pd(bzan)(NCO)(dppet)]$ (**C11**), dos ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), em período de exposição de 24 h, além do PMA (controle positivo) e o tampão completo de vermelho de fenol (controle negativo). As concentrações de H_2O_2 liberadas pelos compostos e ligantes estão ilustradas na Tabela 27.

Tabela 27 - Efeitos da cisplatina (**C**), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**) e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), sobre a produção de H₂O₂ em macrófagos de camundongos saudáveis e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida após 24h de exposição, utilizando os índices de citotoxicidade IC₂₅ e IC₅₀.

[H ₂ O ₂] μmol/2x10 ⁶ células				
IC ₂₅ ^{1,2}		IC ₅₀ ^{1,2}		
Compostos	Camundongos Sadios	Camundongos portadores de tumor LMM3	Camundongos Sadios	Camundongos portadores de tumor LMM3
C	3,02±0,43	0,00	3,33±0,41	0,00
C6	9,67±0,81	0,00	9,36±0,41	0,40±0,11
C7	0,00	0,00	0,79±0,56	0,00
C10	0,96±0,73	0,00	0,00	0,00
C11	0,00	0,00	0,00	0,00
C17	4,21±0,78	0,00	4,71±0,58	0,00
C19	4,50±0,05	0,00	6,57±1,59	0,00
C20	3,58±0,41	0,00	4,21±0,21	0,00
PMA	49,75±2,92		33,17±1,95	

1- 2 x 10⁶ células / cavidade da placa. 2- Os valores acima são calculados pela média ± desvio padrão (DP) de cinco animais em triplicata, valores determinados por uma curva dose-resposta expressos em μmol/L.

Considerando os ciclopalladados investigados, o complexo **C6** liberou maiores níveis de H₂O₂ para os macrófagos de camundongos saudáveis para os índices de citotoxicidade de IC₂₅ e IC₅₀, o composto **C7** liberou uma pequena quantidade de H₂O₂ apenas para o IC₅₀. Já os complexos contendo a difosfina dppet, apenas o **C10** liberou uma pequena concentração de H₂O₂ para o IC₂₅ de camundongos saudáveis.

Com relação aos camundongos portadores de tumor LMM3, apenas o composto **C6** liberou uma pequena quantidade de H₂O₂ para seu IC₅₀. Não se sabe ao certo quais são os mecanismos de atuação dos complexos testados em células cancerígenas, mas sabe-se que os macrófagos ativados podem distinguir células saudáveis ou normais de células tumorais, e assim, podem lisar apenas as tumorais. Essa seletividade pode ocorrer através da ligação de macrófagos ativados específicos na superfície da membrana celular [81]. Saliente-se que

todos os ciclopalladados, seus ligantes e a cisplatina, liberaram H_2O_2 em concentrações muito inferiores ao liberado pelo PMA (estimulante natural). A Figura 76, ilustra as concentrações de H_2O_2 liberados para os macrófagos de camundongos saudáveis após 24 h de incubação.

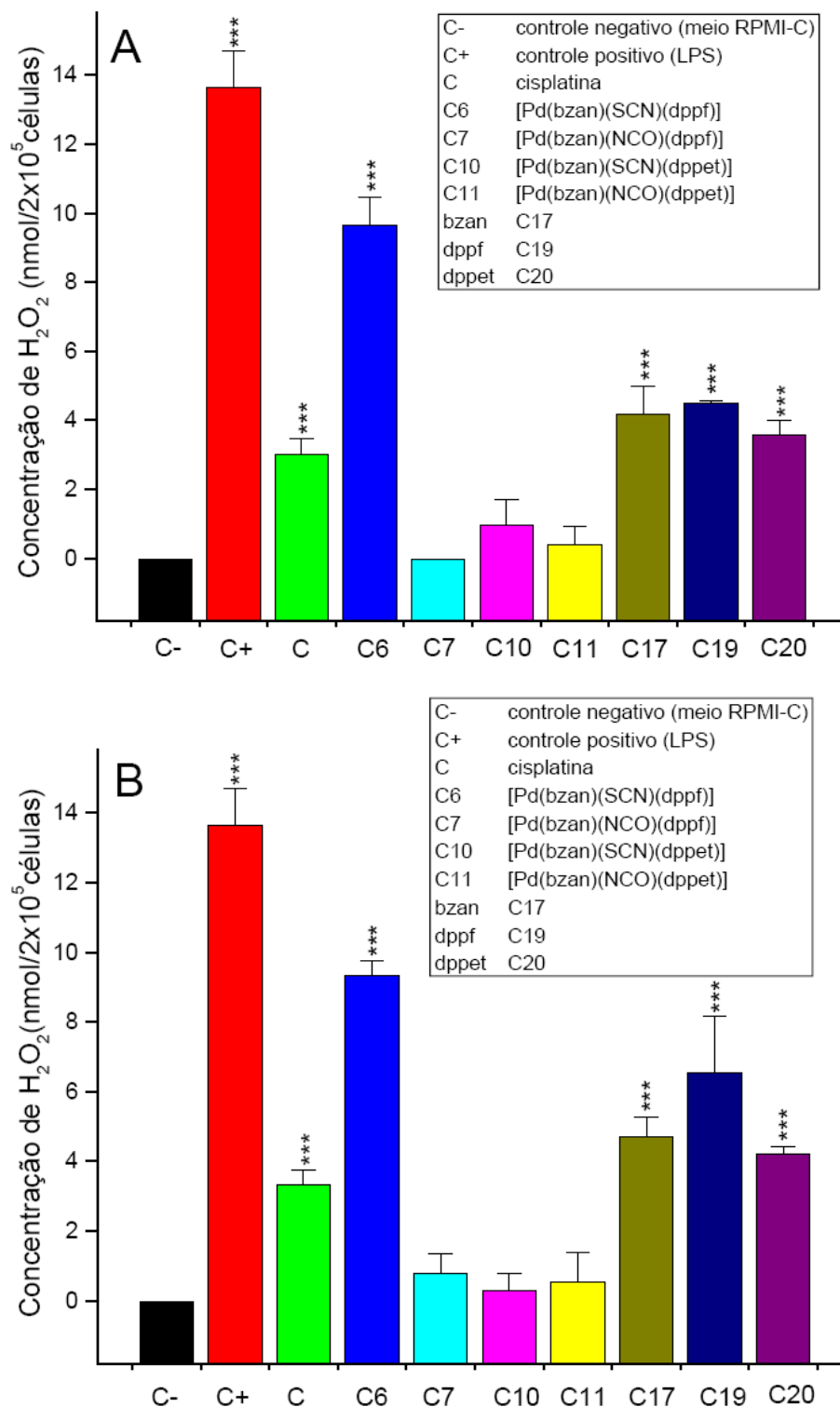


Figura 76. Efeitos dos compostos e ligantes na liberação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis. (A) IC_{25} e (B) IC_{50} .

5.1.3. Liberação de NO por macrófagos de camundongos saudáveis e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida

O óxido nítrico (NO) é um radical livre produzido pelos macrófagos como resposta a estímulos sofridos pelo organismo, desempenhando um papel regulatório no início do desenvolvimento de várias respostas inflamatórias e imunes [82]. O NO não é um oxidante forte, porém essa molécula reage com o ânion superóxido (O_2^-), levando à formação de peroxinitrito (ONOO-) e ácido peroxinitroso (ONOOH), os quais dramaticamente aumentam a toxicidade do NO e O_2^- isolados [83].

O NO é um potente vasodilatador e seu papel na resposta inflamatória pode estar relacionado com sua capacidade em aumentar a permeabilidade vascular e do edema através de alterações no fluxo sanguíneo local e do aumento na produção de prostaglandinas pró-inflamatórias [84]. Também pode ser responsável pela vasodilatação presente na angiogênese fisiológica ou patológica, como no caso de tumores [85].

Hoje, sabe-se que os macrófagos podem ser ativados e assim tornarem-se citotóxicos para células tumorais, incluindo células resistentes à morte por outros componentes do sistema de defesa do hospedeiro e drogas antitumorais. Essa atividade dos macrófagos sobre algumas células tumorais ocorre por mecanismos dependentes da via óxido nítrico. O óxido nítrico possui várias funções, dentre elas, pode ser o regulador de funções fisiológicas e apresentar atividade tumoricida. Atua diretamente nas células tumorais, inibindo sua respiração celular e, indiretamente, provocando danos ao DNA celular [86].

Nestas experiências, adicionou-se às células de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, concentrações correspondentes aos valores de IC_{25} e IC_{50} da cisplatina (C), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (C6), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (C7), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (C10), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (C11), dos ligantes bzan (C17), dppf (C19) e dppet (C20), no período de 24 h, além do LPS (controle positivo) e meio RPMI-C (controle negativo). As concentrações de NO são mostradas na Tabela 28.

Tabela 28 - Efeitos da cisplatina (**C**), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**) e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), sobre a produção de NO em macrófagos de camundongos saudáveis e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24h de exposição utilizando os índices de citotoxicidade IC₂₅ e IC₅₀.

[NO] μmol/5x10 ⁶ células				
IC ₂₅ ^{1,2}		IC ₅₀ ^{1,2}		
Compostos	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3
C	10,74±10,74	7,48±0,42	8,45±0,32	6,92±0,91
C6	6,15±0,54	4,94±0,31	1,63±0,36	5,35±0,75
C7	0,16±0,20	0,00	0,24±0,33	0,00
C10	3,75±0,19	2,10±0,55	2,99±0,19	1,93±0,27
C11	0,13±0,15	2,18±0,79	0,00	0,00
C17	4,32±0,04	9,04±1,35	0,38±0,13	4,93±0,66
C19	17,76±0,67	11,36±1,18	14,88±1,36	8,70±1,92
C20	13,49±0,31	15,24±0,22	3,26±0,21	13,32±1,80
LPS	190,00±19,1		126,67±12,73	

¹- 5 x 10⁶ células / cavidade da placa. ²- Os valores acima são calculados pela média ± desvio padrão (DP) de cinco animais em triplicata, valores determinados por uma curva dose-resposta expressos em μmol/L.

Utilizando o índice de citotoxicidade IC₂₅ os compostos **C6** e **C10**, ambos contendo tiocianato, induziram a liberação de NO em níveis mais elevados para macrófagos de camundongos saudáveis e portadores de tumor LMM3 na forma sólida. Cabe salientar que os compostos **C10** e **C11**, pertencentes a mesma série de compostos, liberaram níveis próximo de NO para IC₂₅ de camundongos portadores de tumor LMM3.

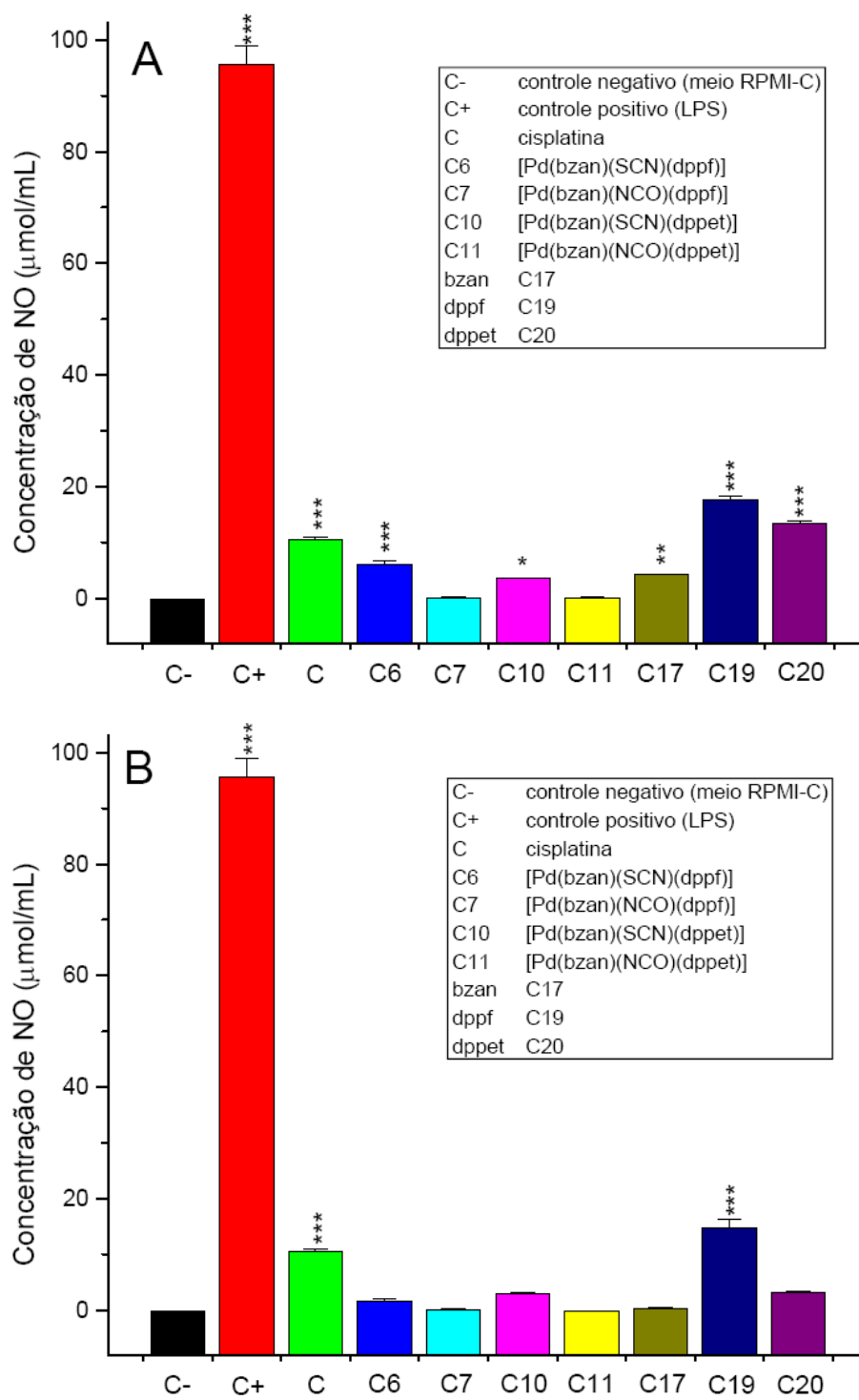
A mesma análise foi realizada para o índice de citotoxicidade IC₅₀ e neste caso o composto **C11** não induziu a liberação de NO nem para os macrófagos de camundongos saudáveis, nem para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida. O composto que mais liberou NO foi o **C10** para macrófagos de camundongos saudáveis e **C6** para camundongos portadores de tumor LMM3, ambos contendo o pseudohaletto SCN.

Constatou-se, claramente, que todos os compostos e ligantes induziram a liberação de NO em níveis bem inferiores ao produzidos pelo LPS, o estimulante de óxido nítrico.

Como ainda não foram realizados estudos que descrevam as interações dos compostos no organismo, uma das possibilidades para interpretar os baixos níveis de NO produzidos, é que reações secundárias na conversão de NO a NO_2^- podem ter acontecido. A interação dos complexos com o NO_2^- ou com o NO pode ser um fator positivo, já que quando os macrófagos liberam concentrações elevadas de NO, reações nocivas ao organismo ocorrem, entre elas, a nitrosação da flora intestinal, que implica em inflamações crônicas desencadeando o início de um câncer, além de converter agentes pré-carcinogênicos em carcinogênicos [87].

Contudo observou-se que foram os ligantes livres como a dppf (**C19**) e a dppet (**C20**) que induziram a maior liberação de NO e que quando coordenados ao centro metálico seus valores tornam-se muito baixos, não ocasionando os danos citados anteriormente, resultando numa possível ação anti-inflamatória dos compostos ciclopaladados.

A Figura 77, ilustra os níveis de NO detectados para compostos e ligantes em células de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis.



***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05 estatisticamente significante em relação ao controle negativo do animal

Figura 77. Liberação de óxido nítrico (NO) em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis. (A) IC₂₅ e (B) IC₅₀.

5.1.4. Determinação da inibição de H_2O_2

Os compostos cisplatina (**C**), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**), e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), inibiram a liberação de H_2O_2 quando utilizados as doses de IC_{25} e IC_{50} após 24 h de incubação. As porcentagens de inibição dos compostos sobre a produção de H_2O_2 em 24 h de exposição estão na Tabela 29.

Tabela 29 - Porcentagem de inibição quando utilizadas as doses de IC_{25} e IC_{50} da cisplatina (**C**), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**) e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), sobre a produção de H_2O_2 em macrófagos de camundongos saudáveis e macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24h de exposição.

Porcentagem de Inibição de H_2O_2				
Compostos	$IC_{25}^{1,2}$		$IC_{50}^{1,2}$	
	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3
C	100	72,25±2,16	100	100
C6	100	97,17±0,91	100	31,83±1,71
C7	100	98,68±0,42	100	100
C10	100	100	100	100
C11	100	98,68±0,42	100	100
C17	100	100	100	100
C19	100	100	100	98,79±0,39
C20	100	97,46±0,81	100	99,37±0,20

¹⁻ 2×10^6 células / cavidade da placa. ²⁻ Os valores acima são calculados pela média $\pm$ desvio padrão (DP) de cinco animais em triplicata, valores determinados por uma curva dose-resposta expressos em $\mu\text{mol/L}$.

De acordo com os dados obtidos da Tabela 29, os compostos **C6**, **C7**, **C10** e **C11** e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), além da cisplatina (**C**) inibiram a produção de H_2O_2 após 24 h de incubação. As porcentagens de inibição dos compostos sobre a produção de H_2O_2 foram de 100% para os IC_{25} e IC_{50} dos macrófagos de camundongos saudáveis. Para os

macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida as inibições foram bem próximas a 100%, exceto para IC₂₅ da cisplatina e IC₅₀ de **C6**, este apresentando SCN em sua composição.

5.1.5. Determinação da inibição de NO

Os compostos [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**) e os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**), dppet (**C20**) e a cisplatina (**C**) foram submetidos a testes de inibição de NO para macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis e portadores de tumor LMM3 na forma sólida, utilizando os índices de citotoxicidade IC₂₅ e IC₅₀ após 24 h de incubação. As porcentagens de inibição dos compostos sobre a liberação de NO em 24 h de exposição estão na Tabela 30.

Tabela 30 - Porcentagens de inibição quando utilizadas as doses de IC₂₅ e IC₅₀ da cisplatina (**C**), [Pd(bzan)(SCN)(dppf)] (**C6**), [Pd(bzan)(NCO)(dppf)] (**C7**), [Pd(bzan)(SCN)(dppet)] (**C10**), [Pd(bzan)(NCO)(dppet)] (**C11**), dos ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**), sobre a liberação de NO em macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis e portadores de tumor LMM3 na forma sólida, após 24 h de exposição.

Porcentagem de Inibição de NO				
Compostos	IC ₂₅ ^{1,2}		IC ₅₀ ^{1,2}	
	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3	Camundongos saudáveis	Camundongos portadores de tumor LMM3
C	53,29±2,59	39,66±1,40	62,951±1,10	48,59±0,59
C6	68,86±0,54	16,55±1,03	94,31±0,04	59,06±0,36
C7	29,01±2,96	87,42±1,23	59,20±2,79	100
C10	56,03±2,09	30,50±0,60	72,09±0,10	41,86±0,76
C11	24,32±3,43	41,54±1,85	82,45±1,06	89,74±0,85
C17	31,92±1,14	0,00	37,221±1,91	9,95±1,33
C19	31,21±3,90	0,00	55,00±0,66	9,82±0,65
C20	57,85±0,43	36,84±0,49	63,39±0,33	40,39±1,63

¹⁻ 5 x 10⁶ células / cavidade da placa. ²⁻ Os valores acima são calculados pela média ± desvio padrão (DP) de cinco animais em triplicata, valores determinados por uma curva dose-resposta expressos em µmol/L.

Nos valores de IC₂₅ para macrófagos de camundongos saudáveis, os compostos **C6** e **C10**, além do ligante dppet (**C20**) foram os que mais inibiram a produção de NO, inclusive quando comparados à cisplatina (**C**), sendo que ambos possuem o pseudohaletio tiocianato em sua esfera de coordenação. Para **C7** e **C11** a inibição de NO foi inferior a da cisplatina, neste caso, ambos possuem o cianato em sua esfera de coordenação. Considerando os macrófagos de camundongos portadores de tumor o composto **C7** induziu a maior porcentagem de inibição de NO, fato este que comprova que o animal portador de tumor pode apresentar níveis alterados de NO, ou mesmo sua inibição, em decorrência da condição patológica.

A inibição de NO também foi avaliada utilizando o IC₅₀. Tanto para macrófagos de camundongos saudáveis quanto para aqueles portadores de tumor LMM3 na forma sólida, as porcentagens mais baixas foram as dos ligantes **C17** e **C19**.

Considerando apenas os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, o composto **C7** inibiu 100% a produção de NO, seguido do **C11**, sugerindo

assim a influência do pseudohaletto NCO presente na esfera de coordenação do paládio(II). Provavelmente existem diferentes mecanismos de ação destes compostos na produção do óxido nítrico, sendo que o NCO deve participar do processo de forma distinta.

5.2. Atividade biológica frente ao bacilo de Koch

A parte relativa à atividade antimicobacteriana dos compostos ciclopaladados foi investigada pela Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite e pelo mestrando Fernando Rogério Pavan, do laboratório de Micobacteriologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP.

Atualmente o tratamento da tuberculose leva seis meses, desde que os pacientes tomem diariamente drogas associadas (coquetéis) como por exemplo, a isonizida e a pirazinamida. No entanto, como já mencionado, o tratamento da tuberculose além de ser longo, provoca diversos efeitos colaterais [46], por isso, a busca incessante por novas drogas (sintéticas ou não) que sejam mais eficazes, diminuindo drasticamente os efeitos causados pelos medicamentos, seu tempo de tratamento e que sejam capazes de eliminar a resistência apresentada pelo bacilo com o uso contínuo de medicamentos.

Um exemplo de composto sintético, é o $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{INH})]^{3-}$, um ferrocianeto associado à molécula de isoniazida (INH), que exibiu um valor de concentração mínima inibitória (CIM) de 0,2 $\mu\text{g/mL}$ e está em fase final de testes pré-clínicos com camundongos.

Desta forma, o Grupo de Organometálicos do Instituto de Química de Araraquara – UNESP, sintetiza compostos metálicos, com o objetivo de avaliar suas potencialidades frente ao bacilo de Koch, causador da tuberculose.

Neste trabalho, complexos de paládio(II) e seus ligantes foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do bacilo *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC-27194. Estes testes foram realizados em triplicata, com as amostras solubilizadas em DMSO e testadas segundo os procedimentos padrão de MABA (Microplate Alamar Blue Assay) [61]. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima (CIM) foram obtidos por medidas de luminescência, relacionadas às variações de intensidade de cor do revelador resazurina, em microfluorímetro SpectraFluor Plus da TECAN, e são apresentados na Tabela

31. Estes valores representam a menor concentração da amostra capaz de impedir a multiplicação das micobactérias, eliminando, no mínimo, 90% das mesmas.

Os complexos de paládio(II) [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (**C2**), [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (**C3**), [Pd(dmmba)(Cl)(isn)] (**C13**), [Pd(dmmba)(Br)(isn)] (**C14**), [Pd(dmmba)(NCO)(isn)] (**C15**), [Pd(dmmba)(N₃)(isn)] (**C16**), além dos ligantes bzan (**C17**), dppp (**C18**), dmmba (**C21**) e isn (**C22**), foram submetidos a ensaios de inibição do crescimento do *Mycobacterium tuberculosis* agente etiológico da tuberculose humana, linhagem H37Rv ATCC – 27194. Os valores encontrados para a concentração inibitória mínima (CIM) estão apresentados na Tabela 31.

Tabela 31 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos complexos de paládio(II) [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (**C2**), [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (**C3**), [Pd(dmba)(Cl)(isn)] (**C13**), [Pd(dmba)(Br)(isn)] (**C14**), [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**C15**), [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**), além dos ligantes bzan (**C17**), dppp (**C18**), dmba (**C21**) e isn (**C22**), frente o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC - 27194 pela técnica do MABA (Microplate Alamar Blue Assay), em DMSO.

Atividade antimicobacteriana	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CIM ($\mu\text{mol/L}$)
	90% inibição	90% inibição
Compostos		
[Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (C2)	3,9	5,15
[Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (C3)	3,9	5,26
[Pd(dmba)(Cl)(isn)] (C13)	62,5	157
[Pd(dmba)(Br)(isn)] (C14)	62,5	142
[Pd(dmba)(NCO)(isn)] (C15)	250	618
[Pd(dmba)(N ₃)(isn)] (C16)	15,6	38,5
Ligantes		
bzan (C17)	> 250	> 1379
dppp (C18)	*	*
dmba (C21)	> 250	> 1849
isn (C22)	> 250	> 2047
Sais dos pseudohaletos		
NaSCN	> 125	1542
KNCO	> 125	1541
NaN ₃	39	599,9
Drogas Padrões		
Isoniazida (INH)	0,015-0,05	0,11-0,36
Pirazinamida (PZA)	50-100	406,1-812,2

* O teste micobacteriano para o ligante dppp teve um comportamento inusitado, pois diferentemente dos demais compostos e ligantes, à medida em que se aumentava a concentração, aumentava-se também o crescimento micobacteriano e esperava-se um comportamento oposto.

Nota-se que os valores de CIM para todos os complexos foram inferiores aos dos ligantes livres e dos sais de pseudohaletos; exceção feita ao complexo [Pd(dmba)(NCO)(isn)] (**C15**).

Estes resultados são intrigantes, visto que, os complexos de paládio(II) com isonicotinamida (isn), que possui estrutura similar a isoniazida, apresentaram valores de CIM mais elevados do que os dos compostos contendo a difosfina dppp. Sabe-se que as difosfinas possuem potencial antitumoral e os testes realizados também indicam a possibilidade de suas aplicações como agentes tuberculostáticos, quando complexadas ao paládio(II).

Os resultados obtidos também foram comparados ao da pirazinamida (PZA), droga utilizada no tratamento da tuberculose, e que apresenta um CIM entre 50-100 µg/mL. Todos os ciclopaladados, exceto o **C15**, apresentaram CIM inferiores ao da pirazinamida.

A análise desses dados permite inferir que o átomo de paládio potencializa a ação dos complexos frente à atividade do *Mycobacterium tuberculosis*, já que os valores de CIM obtidos para os complexos (exceto para **C15**) foram menores do que os dos ligantes livres, salienta-se a baixa concentração encontrada para o composto [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**); este resultado é explicável pois o NaN₃ já tem um certo potencial tóxico frente às micobactérias e quando a azida é associada ao paládio, a sua atuação é potencializada.

Sendo assim, é válido ressaltar o potencial promissor de compostos ciclopaladados nesta aplicação biológica, em face aos resultados obtidos e à inexistência de relatos na literatura empregando os mesmos como agentes antituberculostáticos.

De um modo geral, pode-se observar que os valores de CIM obtidos para os compostos de paládio(II) como o [Pd(bzan)(SCN)(dppp)] (**C2**), [Pd(bzan)(NCO)(dppp)] (**C3**) e [Pd(dmba)(N₃)(isn)] (**C16**), são bastante satisfatórios, uma vez que valores de CIM ≤ 31,25 µg/mL são considerados promissores para substâncias sintéticas [60].

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Novos complexos de paládio(II) foram obtidos a partir de reações entre os precursores $[\text{Pd}(\text{bzan})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3 , $\text{bzan} = \text{N-benzilidenoanilina}$ e os ligantes difosfínicos 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) e 1,2-bis(difenilfosfina)etileno (dppet), bem como entre a série $[\text{Pd}(\text{dmba})(\mu\text{-X})]_2$, $\text{X} = \text{Cl}$, Br , NCO e N_3 , $\text{dmba} = \text{N,N-dimetilbenzilamina}$ e a isonicotinamida (isn).

Os compostos sintetizados $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$ e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$ foram caracterizados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho e esta técnica permitiu inferir sobre o modo de coordenação dos pseudohaletos, já que suas bandas estão em uma região bastante limpa do espectro. O estiramento assimétrico dos pseudohaletos mostra a coordenação terminal dos mesmos ao centro metálico, sendo que o íon tiocianato coordena-se via átomo de enxofre (Pd-SCN) e o cianato via átomo de nitrogênio (Pd-NCO). Também observou-se a clivagem dos dímeros precursores através quebra da ligação entre o paládio(II) e o nitrogênio imínico do ligante bzan e a coordenação de forma quelante das difosfinas utilizadas. Já para os complexos $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$ houve a coordenação do nitrogênio piridínico da isn ao centro metálico e o ligante dmba coordenou-se pelos átomos de carbono e nitrogênio, sendo assim, compostos com geometria quadrado-planar ao redor do paládio(II) foram obtidos.

Estes dados estão concordantes com a estrutura resolvida por difração de raios-X de monocristal do complexo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})]$ (**C2**). Observou-se uma estrutura mononuclear com uma geometria quadrado-planar ao redor do centro metálico. O tiocianato coordena-se terminalmente ao paládio(II), via átomo de enxofre *trans* ao átomo de fósforo do ligante difosfínico, o carbono do ligante bzan encontra-se *trans* a outro átomo de fósforo do ligante dppp e esta liga-se de forma quelante ao metal. Saliente-se que se trata de uma estrutura supramolecular originada mediante ligações de hidrogênio entre o nitrogênio do grupo $-\text{SCN}$ de uma molécula do complexo e um hidrogênio (H20) de outra molécula.

Os compostos do tipo $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppp})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$, $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{Cl}$, SCN , NCO e N_3 foram, também, investigados por espectroscopia de RMN de ^1H e de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, mostrando a presença em solução de várias espécies, incluindo, entre estas, aquela do estado sólido. Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para a série $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, serão ainda, objeto de uma investigação mais minuciosa.

O estudo termogravimétrico destes compostos possibilitou, a partir da temperatura inicial de decomposição, propor a seguinte ordem decrescente de estabilidade térmica para a série dppp: $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppp})] > [\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppp})] > [\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppp})]$; para a série dppet a ordem estabelecida é a seguinte: $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})] > [\text{Pd}(\text{bzan})(\text{Cl})(\text{dppet})] > [\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$.

Por espectroscopia de RMN de ^1H e de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para a série $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{NCO}$ e N_3 , constatou-se a formação de várias espécies em solução. A estabilidade térmica decrescente para estes complexos, de acordo com a temperatura inicial de decomposição, é a seguinte: $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Cl})(\text{isn})] > [\text{Pd}(\text{dmba})(\text{Br})(\text{isn})] > [\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})] > [\text{Pd}(\text{dmba})(\text{N}_3)(\text{isn})]$.

Quanto aos testes antitumorais, notou-se que o potencial citotóxico dos complexos de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppf})]$ e $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{X})(\text{dppet})]$, $\text{X} = \text{SCN}$ e NCO , está intimamente relacionado ao ligantes, os compostos mais citotóxicos foram $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (**C10**) e $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (**C11**), devido à presença da difosfina dppet, quando comparados aos demais complexos. Os ligantes bzan (**C17**), dppf (**C19**) e dppet (**C20**) mostraram um pequeno potencial citotóxico quando empregados frente aos macrófagos peritoneais de camundongos; entretanto, este potencial foi consideravelmente aumentado quando da coordenação dos mesmos ao centro metálico. Em alguns casos, os valores de IC foram superiores ao da cisplatina (**C**), utilizada como droga padrão. Cabe ressaltar que mesmo quando alguns compostos apresentaram elevados valores de índice de citotoxicidade, isso não se constitui em indicativo de que eles não sejam eficientes quando testados *in vivo*.

Deve-se mencionar, ainda, que foram realizados testes biológicos expondo os macrófagos peritoneais de camundongos saudáveis e de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, aos compostos de paládio(II) e à cisplatina em períodos de 24 e 48 h, no entanto os dados de 48 h não foram expostos neste trabalho, e estes testes mostraram-se tempo-dependentes, visto que as concentrações encontradas para os índices de citotoxicidade (IC_{25} e IC_{50}) após 48 h foram inferiores àqueles encontrados para o período de 24 h.

O composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (**C6**) estimulou a liberação de H_2O_2 para os macrófagos de camundongos saudáveis, em concentrações superiores à da cisplatina para os índices de IC_{25} e IC_{50} , o composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ (**C7**) liberou uma pequena quantidade de H_2O_2 apenas para o IC_{50} . Para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, apenas o composto $[\text{Pd}(\text{bzan})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (**C6**) liberou uma pequena quantidade de H_2O_2 . Para os testes de inibição de peróxido de hidrogênio, todos os

compostos foram capazes de inibir a liberação de H_2O_2 para os macrófagos de camundongos saudáveis. Para os macrófagos dos camundongos portadores de tumor apenas o complexo $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (**C6**) não inibiu completamente a produção de H_2O_2 .

O composto $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (**C6**) estimulou a liberação de NO em concentração mais significativa que os demais complexos, exceto para o IC_{50} de camundongos saudáveis, que neste, caso o composto que mais liberou NO foi o complexo $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppet})]$ (**C10**), no entanto, as concentrações de NO liberadas pelos complexos foram inferiores aos níveis de NO liberados pela cisplatina; tanto para os macrófagos de camundongos saudáveis quanto para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 no período de exposição de 24 h. Considerando os valores de IC_{25} e IC_{50} de para a inibição de NO, notou-se que para os macrófagos de camundongos saudáveis, o complexo $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{SCN})(\text{dppf})]$ (**C6**) inibiu consideravelmente a liberação do NO, inclusive quando comparado à cisplatina. Já para os macrófagos de camundongos portadores de tumor LMM3 na forma sólida, os complexos $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppf})]$ (**C7**) e $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{NCO})(\text{dppet})]$ (**C11**) inibiram a liberação de NO em níveis mais significativos, inclusive quando comparados à cisplatina, e esta inibição mais acentuada, pode estar associada à presença do íon NCO na esfera de coordenação dos complexos. Neste caso, diferentemente da viabilidade celular (testes com macrófagos), na qual a difosfina coordenada ao átomo de paládio(II) potencializou a citotoxicidade, para os testes de inibição de NO, o pseudohaletos pode ter sido o responsável pelos elevados níveis de inibição.

Com relação aos ensaios de atividade biológica frente ao bacilo de Koch, causador da tuberculose, notou-se que os valores de concentração inibitória mínima (CIM) para os complexos testados: $[\text{Pd}(\text{bzán})(\text{X})(\text{dppp})]$, X = SCN (**C2**), NCO (**C3**) e $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{X})(\text{isn})]$, X = Cl (**C13**), Br (**C14**) e N_3 (**C16**), foram inferiores aos dos ligantes livres, bzán (**C17**), dmba (**C21**), dppp (**C18**) e isn (**C22**) e aos dos sais de pseudohaletos (NaSCN , KNCO e NaN_3), exceto o composto $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**C15**). Estes valores também foram comparados ao da pirazinamida (PZA), droga já utilizada no tratamento da tuberculose e que apresenta um CIM entre 50 e 100 mg/mL e verificou-se que os compostos, exceto o $[\text{Pd}(\text{dmba})(\text{NCO})(\text{isn})]$ (**C15**) apresentaram concentrações mínimas inibitórias inferiores ao da PZA. Considerando os valores obtidos fica evidente que a coordenação dos ligantes ao átomo de paládio, produzem espécies com atividades tuberculostáticas substancialmente maiores que as dos ligantes livres.

Sendo assim, destaca-se o potencial promissor dos ciclopaladados em aplicações biológicas, portanto, testes utilizando estes compostos ainda serão continuados tanto na ação

contra o crescimento do *Mycobacterium tuberculosis*, quanto em testes antitumorais frente às linhagens murinas LP07 (pulmão) e LM3 (mama) e às linhagens humanas C6 (cérebro) e MCF-7 (adenocarcinoma). Estes estudos já estão em andamento, sendo necessário ainda uma reflexão mais criteriosa sobre os expressivos conjuntos de dados já obtidos.

REFERÊNCIAS

- 1 SELVAKUMAR, K.; VANCHEESAN, S. Cyclopalladated binuclear complexes of Schiff bases. **Polyhedron**, v. 15, n. 22, p. 3979-3986, 1996.
- 2 CAIRES, A. C. F.; MAURO, A. E.; ANANIAS, S. R.; MORO, A. C.; LEGENDRE, A. O. Síntese e emprego do ciclometalado [Pd(dmba)(N₃)(PPh₃)] em processos catalíticos envolvendo a N-carbonilação redutiva de nitroarenos a carbamatos e na síntese de derivados da uréia. **Quím. Nova**, v. 29, n. 4, p. 750-754, 2006.
- 3 LOPEZ, C.; CAUBET, A.; PEREZ, S.; SOLANS, X.; FONT-BARDIA, M. Assembly of cyclopalladated units: synthesis, characterization, X-ray crystal structure and study of the reactivity of the tetrametallic cyclopalladated complex [Pd{C₆H₄-CH=N-(C₆H₄-2-O)}]4·2CHCl₃. **J. Organomet. Chem.**, v. 681, p. 82-90, 2003.
- 4 SELVAKUMAR, K.; VANCHEESAN, S.; VARGHESE, B. Synthesis and characterization of cyclopalladated complexes of oximes by ligand-exchange method. **Polyhedron**, v. 16, n. 13, p. 2257-2262, 1997.
- 5 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.
- 6 SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; ALMEIDA, E. T.; GODOY NETTO, A. V. de; KLEIN, S. I.; SANTOS, R. H. A.; ZÓIA, J. R. 1,3-Dipolar cycloaddition of CS₂ to the coordinated azide in the cyclopalladated [Pd(bzan)(μ-N₃)]₂. Crystal and molecular structure of di(μ-N,S-1,2,3,4-thiatriazole-5-thiolate)bis(benzylideneaniline-C²,N)palladium(II). **J. Coord. Chem.**, v. 53, p. 163-172, 2001.
- 7 ALMEIDA, E. T.; SANTANA, A. M.; GODOY NETTO, A. V.; TORRES, C.; MAURO, A. E. Thermal study of cyclopalladated complexes of the type [Pd₂(dmba)₂X₂(bpe)]. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 82, p. 361-364, 2005.
- 8 RODRIGUES, E. G.; SILVA, L. S.; FAUSTO, D. M.; HAYASHI, M. S.; DREHER, S.; SANTOS, E. L.; PESQUERO, J. B.; TRAVASSOS, L. R.; CAIRES, A. C. F. Cyclopalladated compounds as chemotherapeutic agents: antitumor activity against a murine melanoma cell line. **Int. J. Cancer**, v. 107, p. 498-504, 2003.

- 9 BINCOLETTTO, C.; TERSARIOL, I. L. S.; OLIVEIRA, C. R.; DREHER, S.; FAUSTO, D. M.; SOUFEN, M. A.; NASCIMENTO, F. D.; CAIRES, A. C. F. Chiral cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis(diphenylphosphine)ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin B activity and as antitumoral agents. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 13, p. 3047-3055, 2005.
- 10 CAIRES, A. C. F.; ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; HEMERLY, J. P.; VALENTINI, S. R. Síntese e atividade citotóxica de alguns azido-ciclopaladados estabilizados com ligantes bifosfínicos. **Quím. Nova**, v. 22, n. 3, p. 329-334, 1999.
- 11 SANTANA, A. M. **Espécies organometálicas de paládio(II): novos aspectos estruturais e potencialidades biológicas**. 2004. 138 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.
- 12 O'KEEFE, B. J.; STEEL, P. J. Cyclometallated compounds. XVI. Double cyclopalladations of bis(2-pyridyloxy)naphthalenes. kinetic versus thermodynamic control of regioselectivity. **Organometallics**, v. 22, n. 6, p. 1281-1292, 2003.
- 13 DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SPENCER, J. The potential of palladacycles: more than just precatalysts. **Chem. Rev.**, n. 105, p. 2527-2571, 2005.
- 14 SANTANA, A. M.; ALMEIDA, E. T. de; GODOY NETTO, A. V. de; MAURO, A. E.; SOUZA JÚNIOR, J. de; SANTOS, R. H. A. Crystal structure of di- μ (N,S)-thiocyanato-bis[(N-benzylideneaniline- C^2 ,N)palladium(II)], [Pd(C₆H₄CH=NC₆H₅)(μ -SCN)]₂. **Z. Kristallogr. – New Cryst. Struct.**, v. 217, p. 147-148, 2002.
- 15 ANANIAS, S. R.; MAURO, A. E.; LUCCA NETO, V. A. de. Cleavage of the dimeric cyclopalladated [Pd(N,C²-dmba)(μ -X)]₂, dmba = N,N'-dimethylbenzylamine; X = SCN and NCO) by diphosphines. Palladium(II) compounds with distinct structures in the solid-state and in solution. **Transition Met. Chem.**, v. 26, p. 570-573, 2001.
- 16 LUCCA NETO, V. A. de; MAURO, A. E.; CAIRES, A. C. F.; ANANIAS, S. R.; ALMEIDA, E. T. de. Synthesis, characterization and thermal behaviour of cyclopalladated compounds of the type [Pd(C₆H₄CH₂N(CH₃)₂)(μ -X)]₂ (X = Cl, NCO, SCN, CN). **Polyhedron**, v. 18, p. 413-417, 1999.
- 17 SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; ZOREL JÚNIOR, H. E.; MATIOLLI, M. P. D.; LUCCA NETO, V. A. de. Thermal and spectroscopy investigation of cyclopalladated compounds of the type [Pd(C₁₃H₁₀N)(μ -X)]₂, (X = H₃CCOO, NCO, SCN, CN). **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 67, p. 425-431, 2002.

- 18 PUCCI, D.; BLOISE, R.; BELLUSCI, A.; BERNARDINI, S.; GHEDINI, M.; PIRILLO, S.; VALENTINI, A.; CRISPINI, A. Curcumin and cyclopalladated complexes: a recipe for bifunctional biomaterials. **J. Inorg. Biochem.**, n. 101, p. 1013-1022, 2007.
- 19 WANG, M. Z.; MENG, Z. X.; LIU, B. L.; CAI, G. L.; ZHANG, C. L.; WANG, X. Y. Novel tumor chemotherapeutic agents and tumor radio-imaging agents: potencial tumor pharmaceuticals of ternary copper(II) complexes. **Inorg. Chem. Commun.**, v. 8, p. 368-371, 2005.
- 20 ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chem. Rev.**, v. 99, n. 9, 1999.
- 21 ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. **Nature**, v. 222, p. 385-386, 1969.
- 22 DECATRIS, M. P.; SUNDAR, S. ÓBYRNE, K. J. Platinum – based chemotherapy in metastatic breast cancer: current status. **Cancer Treatment Rev.**, v. 4, p. 53-81, 2004.
- 23 BRASIL. Ministério da Saúde. **Incidência de câncer no Brasil e estimativa 2008**. Disponível em: <www.inca.gov.br/estimativa/2008>. Acesso em: 23 nov. 2008.
- 24 AMERICAN CANCER SOCIETY. **Câncer facts and figures 2004**. Atlanta, 2004. 60 p. Disponível em: <www.cancer.org>. Acesso em: 16 jan. 2007.
- 25 ALMEIDA, V. L.; 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.
- 26 SMITH, A. **CISPLATIN**: the invention of an anticancer drug. Disponível em: <www.chemcases.com/cisplat>. Acesso em: 01 fev. 2008.
- 27 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.
- 28 JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA Adducts. **Chem. Rev.**, v. 99, p. 2467-2498, 1999.

- 29 KOSTOVA, I. Platinum complexes as anticancer agents. **Recent Pat. Anti-Cancer Drug Discovery**, v. 1, p. 1-22, 2006.
- 30 BRUDZIŇKA, I.; MIKATA, Y.; OBATA, M.; OHTSUKI, C.; YANO, S. Synthesis, structural characterization, and antitumor activity of palladium(II) complexes containing a sugar unit. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 14, p. 2533-2536, 2004.
- 31 BOULIKAS, T. Low toxicity and anticancer activity of a novel liposomal cisplatin (Lipoplatin) in mouse xenografts. **Oncol. Reports**, v. 12, p. 3-12, 2004.
- 32 BAKHTIAR, R.; OCHIAI, E. I. Pharmacological applications of inorganic complexes. **Gen. Pharmacol.**, n. 32, p. 525-540, 1999.
- 33 BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Quím. Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.
- 34 ALMEIDA, E. T. A.; MAURO, A. E.; SANTANA, A. M.; GODOY NETTO, A. V. de; CARLOS, I. Z. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(II) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. **Quím. Nova**, v. 28, n. 3, p. 405-408, 2005.
- 35 LOPES, F. C. M.; BENZATTI, F. P.; JORDÃO JUNIOR, C. M.; MOREIRA, R. R. D.; CARLOS, I. Z. Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor- α in murine macrophages. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 41, n. 3, p. 401-405, 2005.
- 36 RAMASARMA, T. H_2O_2 has a role in cellular regulation. **Indian J. Biochem. Biophys.**, v. 27, p. 269-274, 1990.
- 37 BARRETO, R. L.; CORREIA, C. R.; MUSCARÁ, M. N. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Quím. Nova**, v. 28, n. 6, p. 1046-1054, 2005.
- 38 SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Quím. Nova**, v. 28, n. 4, p. 678-682, 2005.
- 39 CICILLINI, F. Tuberculose avança em 23 cidades da região. **Folha de S. Paulo**, São Paulo, 31, mar. 2008. Ribeirão, C1.

- 40 SRIRAM, D.; YOGEE SWARI, P.; DEVAKARAM, R. V. Synthesis, *in vitro* and *in vivo* antimycobacterial activities of diclofenac acid hydrazones and amides. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 14, p. 3113-3118, 2006.
- 41 PAULI, G. F.; CASE, R. J.; INUI, T.; WANG, Y.; CHO, S.; FISCHER, N. H.; FRANZBLAU, S. G. New perspectives on natural products in TB drug research. **Life Sci.**, v. 78, p. 485-494, 2005.
- 42 JANIN, Y. L. Antituberculosis drugs: ten years of research. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 15, p. 2479-2513, 2007.
- 43 ZHANG, Y.; MITCHISON, D. The curious characteristics of pyrazinamide: a review. **Int. J. Tuberc. Lung Dis.**, v. 7, n. 1, p. 6-21, 2003.
- 44 SOMOSKOVI, I.; WADE, M. M.; SUN, Z.; ZHANG, Y. Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 53, p. 192-196, 2004.
- 45 HIGUCHI, C. T.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; LEITE, S. R. A.; SACRAMENTO, L. V.; SATO, D. N. Triterpenes and antitubercular activity of *Byrsonima crassa*. **Quím. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1719-1721, 2008.
- 46 PIVETTA, M. Ferro na tuberculose. **Pesquisa FAPESP**, n. 97, p. 32-37, 2004.
- 47 SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Quím. Nova**, v. 28, n. 4, p. 678-682, 2005.
- 48 PASAOGLU, H.; GUVEN, S.; HEREN, Z.; BUYUKGUNGOR, O. Synthesis, spectroscopic and structural investigation of $\text{ZnI}_2(\text{nicotinamide})_2$, $\text{ZnI}_2(\text{isonicotinamide})_2$ and $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{picolinamide})_2]\text{I}_2$. **J. Mol. Struct.**, v. 794, p. 270-276, 2006.
- 49 TREU FILHO, O.; PINHEIRO, J. C.; COSTA, E. B.; KONDO, R. T.; SOUZA, R. A.; NOGUEIRA, V. M.; MAURO, A. E. Theoretical and experimental study of the infrared spectrum of isonicotinamide. **J. Molec. Struct.: Theochem.**, v. 763, p. 175-179, 2006.
- 50 YURDAKUL, S.; ATAÇ, A.; SAHIN, E.; ÍDE, S. Synthesis, spectroscopic and structural studies on metal halide complexes of isonicotinamide. **Vib. Spectrosc.**, v. 31, p. 41-49, 2003.

- 51 ATAÇ, A.; YURDAKUL, S.; ÍDE, S. Synthesis and vibrational spectroscopic studies of isonicotinamide metal(II) halide complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 783, p. 79-87, 2006.
- 52 SOUZA, R. A. **Potencialidades biológicas e aspectos estruturais de compostos contendo paládio(II) e isonicotinamida**. 2008. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.
- 53 INTERNATIONAL CENTER FOR DIFFRACTION DATA. **Powder diffraction file: release 1999**. Newtown Square, 1999. 1 CD-ROM. PDF n. 46-1043.
- 54 SANTANA, A. M. **Síntese, caracterização e reatividade de compostos ciclometalados de Pd(II) contendo pseudohalogênios**. 2000. 149 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
- 55 ALMEIDA, E. T. **Compostos organometálicos de paládio(II): investigação espectroscópica, comportamento térmico e aplicações biológicas**. 2003. 148 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.
- 56 PERRIN, D. D.; AMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. **Purification of laboratory chemicals**. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press, 1993.
- 57 MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: applications to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 37, p. 55-63, 1983.
- 58 GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLODOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J. S.; TANNENBAUM, S. R. Analysis of nitrate, nitrite and [^{15}N] nitrate in biological fluids. **Anal. Biochem.**, v. 126, p. 131-138, 1982.
- 59 RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Quím. Nova**, v. 29, n. 5, p. 1114-1120, 2006.
- 60 SATO, D. N. **Avaliação rápida do perfil de sensibilidade do agente da tuberculose às drogas sintéticas ou extratos vegetais empregando *Mycobacterium tuberculosis* contendo o gene da luciferase**. 2003. 75 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.
- 61 FRANZBLAU, S. G. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. **J. Clin. Microb.**, v. 32, p. 362-366, 1998.

- 62 GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides**. Amsterdam: Elsevier, 1986. 479 p.
- 63 NAKAMOTO, K. **Infrared spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: Wiley Interscience, 1986. 484 p.
- 64 SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 387 p.
- 65 COCKBURN, B. N.; HOWE, D. V.; KEATING, T.; JOHNSON, B. F. G.; LEWIS, J. Reactivity of co-ordinated ligands. Part XV. Formation of complexes containing group V donor atoms and metal-carbon σ -bonds. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, v. 4, p. 404-410, 1973.
- 66 SANTANA, A. M.; MAURO, A. E.; ZOREL JÚNIOR, H. E.; MATIOLLI, M. P. D.; LUCCA NETO, V. A. de. Thermal and spectroscopy investigation of cyclopalladated compounds of the type $[\text{Pd}(\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N})(\mu\text{-X})]_2$, ($\text{X} = \text{H}_3\text{CCOO}$, NCO , SCN , CN). **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 67, p. 425-431, 2002.
- 67 ONOUE, H.; MORITANI, I. *ortho*-Metalation reactions of N-phenylbenzaldimine and its related compounds by palladium(II) acetate. **J. Organomet. Chem.**, v. 43, p. 431-436, 1972.
- 68 ANDY HOR, T.; PHANG, L. XI*. 1,1' – Bis (diphenylphosphino)ferrocene – a bridging, chelating and unidentate ligand in the synthesis of $\text{M}_2(\text{CO})_{10}(\mu\text{-P-P})$, $\text{M}(\text{CO})_4(\eta^2\text{-P-P})$ and $\text{M}(\text{CO})_5(\eta^1\text{-P-P})$ (where $\text{M} = \text{Cr}$, Mo , W , and $\text{P-P} = \text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_4\text{PPh}_2)_2$). **J. Organomet. Chem.**, v. 373, p. 319-324, 1989.
- 69 VERSTUYFT, A. W.; REDFIELD, D. A.; CARY, L. W.; NELSON, J. H. Palladium(II) complexes of benzylphosphorous ligands. **Inorg. Chem.**, v. 6, n. 11, p. 2775-2787, 1977.
- 70 VILA, J. M.; GAYOSO, M.; PEREIRA, M. T.; ORTIGUEIRA, J. M.; TORRES, M. L.; CASTIÑEIRAS, A.; SUÁREZ, A.; FERNÁNDEZ, J.; FERNÁNDEZ, A. Cyclometallated complexes of palladium(II) with 1-methyl-2-phenylimidazole and tertiary diphosphines. Crystal and molecular structure of $[\{\text{Pd}(\text{o-C}_6\text{H}_4\text{C}=\text{NC}(\text{H})=\text{C}(\text{H})\text{NMe})\}(\text{Ph}_2\text{PCH}(\text{Me})\text{PPh}_2\text{-P,P})][\text{PF}_6]$. **J. Organomet. Chem.**, v. 547, p. 297-307, 1997.
- 71 GODOY NETTO, A. V. de. **Síntese e caracterização estrutural de compostos de coordenação de paládio(II) contendo pirazóis e pseudohaletos**. 1999. 132 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.

- 72 MA, J. F.; KOJIMA, Y.; YAMAMOTO, Y. Reactions of palladium complex of *N,N*-dimethylbenzylamine with aromatic phosphines bearing the methoxy groups at the 2,6-positions. **J. Organomet. Chem.**, v. 616, p. 149-156, 2000.
- 73 LÓPEZ, C.; CAUBET, A.; PÉREZ, S.; SOLANS, X. O.; FONT-BARDÍA, M. ; MOLINS, E. Chiral platinum(II) compounds containing ferrocenyl schiff bases acting as (N), (N,O)⁻, [C(sp², ferrocene),N]⁻ or [C(sp², ferrocene),N,O]⁻ ligands. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 19, p. 3974-3984, 2006.
- 74 CAUZZI, D.; GRAIFF, C.; MASSERA, C.; PREDIERI, G.; TIRIPICCHIO, A.; ACQUOTTI, D. Chelating *versus* bridging behaviour and NMR fluxionality of dppf in the *nido* clusters [M₃Se₂(CO)₇(dppf)] [M = Fe or Ru, dppf = Fe(η⁵-C₅H₄PPh₂)₂]. Crystal structure of the chelated ruthenium derivative. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, v. 19, p. 3515-3521, 1999.
- 75 LÓPEZ-TORRES, M.; JUANATEY, P.; FERNÁNDEZ, J. J.; FERNÁNDEZ, A.; SUÁREZ, A.; VÁZQUEZ-GARCIA, D.; VILA, J. M. Reactivity of cyclometallated palladium(II) compounds derived from *N*-(benzylidene)xylylendiamines. **Polyhedron**, v. 21, p. 2063-2069, 2002.
- 76 NAYA, L.; VÁZQUEZ-GARCIA, D.; LÓPEZ-TORRES, M.; FERNÁNDEZ, A.; VILA, J. M.; GÓMEZ-BLANCO, N.; FERNÁNDEZ, J. J. Activation of C-H and C-Br bonds in cyclopalladation reactions of Schiff bases ligands: influence of the benzylidene ring substituents. **J. Organomet. Chem.**, v. 693, p. 685-700, 2008.
- 77 AHMET, A.; YURDAKUL, S.; İDE, S. Synthesis and vibrational spectroscopic studies of isonicotinamide metal(II) halide complexes. **J. Mol. Struct.**, v. 783, p. 79-87, 2006.
- 78 ROCHA, M. C. **Investigação das propriedades citotóxicas e imunológicas de complexos de paládio(II) *in vitro* utilizando o modelo experimental de Erlich**. 2007. 159 f. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.
- 79 FUJIWARA, N.; KOBAYASHI, K. Macrophages in inflammation. **Curr. Drug. Targets Inflamm. Allergy.**, v. 4, p. 281-286, 2005.
- 80 MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 109-142, 1991.

-
- 81 FILDER, I. J.; SCHROIT, A. J. Recognition and destruction of neoplastic cells by activated macrophages : discrimination of altered self. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 948, p. 151-173, 1998.
- 82 MONCADA, S.; HIGGS, A. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. **Faseb J.**, v. 9, p. 1319-1330, 1995.
- 83 WANG, H. H.; McINTOSH, A. R.; HASINOFF, B. B.; RECTOR, E. S.; AHMED, N.; NANCE, D. M.; ORR, F. W. B16 melanoma cell arrest in the mouse liver induces nitric oxide release and sinusoidal cytotoxicity: a natural hepatic defense against metastasis. **Cancer Res.**, v. 60, p. 5862-5869, 2000.
- 84 SALVEMINI, D.; WANG, Z.; WYATT, P. S.; BOURDON, D. M.; MARINO, M. H.; MANNING, P. T.; CURRIE, M. G. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 118, p. 829-838, 1996.
- 85 ZICHE, M.; MORBIDELLI, L. Nitric oxid and angiogenesis. **J. Neurooncol.**, v. 50, p. 139-148, 2000.
- 86 QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. Funções biológicas do óxido nítrico. **Quím. Nova**, n. 4, v. 22, p. 584-590, 1999.
- 87 BERBERHARDT, M. K. **Reactive oxygen metabolites**: chemistry and medical consequences. Boca Raton: CRC Press 2001. 590 p.