



UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA



NATHÁLIA ARIANE THOMAZELLA

Compostos N,S-quelantes de paládio(II) contendo fosfinas: síntese,
citotoxicidade e interação com biomoléculas.

Araraquara

2020

NATHÁLIA ARIANE THOMAZELLA

**Compostos N,S-quelantes de paládio(II) contendo fosfinas:
síntese, citotoxicidade e interação com biomoléculas.**

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

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto
Co-Orientadora: Profa. Dra. Carolina Valério Barra Rocha

Araraquara
2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Thomazella, Nathália Arianne
T452c Compostos N,S-quelantes de paládio(II) contendo
fosfinas: síntese, citotoxicidade e interação com
biomoléculas / Nathália Arianne Thomazella. –
Araraquara : [s.n.], 2020
182 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto
Coorientador: Carolina Valério Barra Rocha

1. Tiossemicarbazonas. 2. Complexos metálicos.
3. Paládio. 4. Química bioinorgânica. 5. Citotoxicidade.
I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

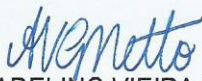
TÍTULO DA TESE: "Compostos N, S-quelantes de paládio(II) contendo fosfinas: síntese, citotoxicidade e interação com biomoléculas"

AUTORA: NATHÁLIA ARIANE THOMAZELLA

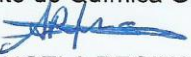
ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

COORIENTADORA: CAROLINA VALÉRIO BARRA

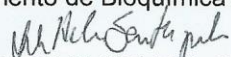
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

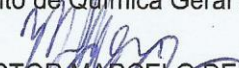
Departamento de Química Geral e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof.^a Dr.^a ANGELA REGINA ARAUJO

Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof.^a Dr.^a SILVIA HELENA SANTAGNELI

Departamento de Química Geral e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. VICTOR MARCELO DEFLON

Departamento de Química e Física Molecular / Instituto de Química - USP - São Carlos


Prof. Dr. ANTONIO GILBERTO FERREIRA

Departamento de Química / Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia - UFSCar - São Carlos

Araraquara, 20 de março de 2020

Dados Curriculares

1. Dados Pessoais

Nome: Nathália Ariane Thomazella

Data de Nascimento: 09 de janeiro de 1987

Naturalidade: Rio Claro – SP

Nacionalidade: Brasileira

Filiação: Pai: Valdeci Thomazella

Mãe: Sandra Aparecida Deroldo Thomazella

Endereço profissional

Departamento de Química Geral e Inorgânica, Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”- UNESP, Araraquara - SP.

e-mail: nathalia.thomazella@unesp.br

2. Formação Acadêmica

2016-2020 Doutorado em Química

Área de Concentração: Química Inorgânica.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, IQ-UNESP, Araraquara.

Tese: Compostos N,S-quelantes de paládio(II) contendo fosfinas: síntese, citotoxicidade e interação com biomoléculas.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto.

Bolsa: CAPES (set/2016 a abril/2017)

2014-2016 Mestrado em Química

Área de Concentração: Química Inorgânica.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, IQ-UNESP, Araraquara.

Dissertação: Compostos de Pd^{II} contendo ligantes N,S-quelantes: síntese, caracterização e investigação da atividade biológica.

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto.

Bolsa: CAPES.

2009-2013 Licenciatura em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, IQ-UNESP, Araraquara.

3. Atividades Científicas

3.1 Artigos publicados em periódicos.

THOMAZELLA, N. A.; LEMOS, S. C.; SOUZA, R. F. F. DE; SOUZA, R. A. DE; MAURO, A. E.; CARLOS, I. Z.; NETTO, A. V. G. Síntese, caracterização e avaliação da atividade citotóxica de compostos ciclopalladados que contêm benzaldeidossima orthometalado e etilenetiourea. *Química Nova*, v. 41, n. 10, p. 1150-1155, 2018.

DRAGALZEW, A. C.; THOMAZELLA, N. A.; SANCHES, B. C. P.; NETTO, A. V. G.; CONTIERO, J.; CHORILLI, M.; SILVA, P. B. Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo ramnolipídio para a incorporação de ciclopalladados para o

estudo frente a *Leishmania amazonensis*. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 38, p. 1, 2017.

3.2 Trabalhos publicados em anais de eventos.

XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry (BMIC) - VI Latin American Meeting on Biological Chemistry – VII Brazilian Meeting on Rare Earths, como colaboradora no poster intitulado “*In vitro* tripanocidal activity potential of palladium complexes and interactions with biomolecules”, realizado em Fortaleza – CE, no período de 24 e 29 de setembro de 2018.

II Internacional Symposium – Medicinal chemistry and regenerative medicine, apresentando pôster intitulado em “Synthesis and cytotoxic activity on Pd(II) complexes containing thiosemicarbazide”, realizado em Araraquara, no período de 22 a 24 de novembro de 2017.

I Medicina Regenerativa e Química Medicinal, em mini-curso “Introduction to Drug Delivery”, realizado na Universidade de Araraquara (UNIARA), em 21 de novembro de 2017.

64ª Jornada Farmacêutica e VII Congresso Farmacêutico da UNESP, como colaboradora no pôster intitulado “Desenvolvimento e caracterização de lipossomas contendo ramnolípido para a incorporação de ciclopaldados para o estudo frente a *Leishmania amazonensis*”, realizado em Araraquara – SP, 2017.

XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, realizado no Instituto de Química, na cidade de Araraquara referente à primeira etapa, no período de 30 de outubro a 01 de novembro de 2011. Trabalho/resumo aceito para ser apresentado na forma de painel: “Síntese e caracterização de um novo ciclopaldado contendo NCO- e 4-aminopiridina” dos autores THOMAZELLA, N. A.; MAURO, A.E. e de SOUZA, R. A.

IV Amostra de Pesquisa em Educação, realizado na Faculdade de Ciências e Letras (FCL), na cidade de Araraquara, no dia 25 de maio de 2010. Trabalho aceito para ser apresentado na forma de apresentação: “Objetos de aprendizagem no ensino de química” dos autores THOMAZELLA, N. A. e BIZELLI, M. H. S. S.

VIII Evento de Educação em Química, “Os Instrumentos de Avaliação no Ensino de Química”, na apresentação oral “Objetos de aprendizagem: uma experiência no ensino de cálculo” realizado no período de 25 a 27 de agosto de 2010, Instituto de Química, UNESP-Araraquara

3.3 Participação em Reuniões Científicas, Congressos e Encontros.

I Escola de Verão em Química, como colaboradora do minicurso “Planejamento e investigação das potencialidades medicinais de compostos metalo-orgânicos” realizada no Instituto de Química de Araraquara- UNESP, no período de 26 de março a 02 de fevereiro de 2018.

Treinamento das Bases de Dados da Elsevier, realizado no Instituto de Química, 2017

1º Workshop de Inovação e empreendedorismo do Instituto de Química – Unesp, realizado nos dias 29 e 30 de março de 2016, UNESP-Araraquara.

Workshop Escrita Criativa, realizado no dia 17 de agosto de 2016, FO/CAr – Araraquara.

1st UNESP NMR Symposium - Recent Advances in NMR Spectroscopy: A Powerful Tool for Fundamental and Applied Research, realizado no dia 8 de novembro de 2014, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

41º Semana da Química, realizado no período de 17 a 21 de outubro de 2011, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

VIII Evento de Educação em Química, “Os Instrumentos de Avaliação no Ensino de Química”, na palestra “Políticas Públicas para melhoria da Educação no Brasil: Alguns impactos nas escolas de Educação Básica” realizado no período de 25 a 27 de agosto de 2010, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

VIII Evento de Educação em Química, “Os Instrumentos de Avaliação no Ensino de Química”, na oficina “Recursos Digitais para o Ensino de Química das animações aos ambientes virtuais de aprendizagem” realizado no período de 25 a 27 de agosto de 2010, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

VIII Evento de Educação em Química, “Os Instrumentos de Avaliação no Ensino de Química”, no mini-curso “As atividades experimentais investigativas e seu potencial na avaliação contínua da aprendizagem” realizado no período de 25 a 27 de agosto de 2010, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

II Quimiarte – Semana da Cultura e Arte do IQ. Realizada no período no dia 19 de junho de 2009, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

Ciclo de Seminários - Grupo PET. Festas e comemorações, realizado em 2010.

3.4 Comissão Organizadora.

X Evento de Educação em Química, “A Química como ferramenta interdisciplinar”, realizado no período de 29 a 31 de agosto de 2012, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

IX Evento de Educação em Química, “Linguagem no Ensino de Química”, realizado no período de 31 de agosto a 02 de setembro de 2011, Instituto de Química, UNESP-Araraquara.

4. Estágios, Bolsas e Auxílios.

Realização de supervisão científica intitulada em “Composto de paládio(II) contendo ligante N,S-quelante”, no período de outubro de 2017 a abril 2018, de Beatriz Moga.

CEMPEQC - Centro de Monitoramento e Pesquisa da Qualidade de Combustíveis, Petróleo e Derivados, estágio de 15 de agosto de 2012 a 13 de dezembro de 2013.

Estágio Voluntário no Programa de Extensão Inclusão Digital para a 3ª idade, realizada na UNESP-Araraquara no período de março a junho/2013.

Bolsa no Programa Institucional de Iniciação à docência – PIBID concedida pela CAPES de março/2012 a março/2013.

Bolsa de Iniciação Científica (IC) concedida pelo CNPq de Novembro/2010 a Outubro/2011, intitulada em: *Designs* de espécies moleculares e supramoleculares contendo cobre (II) e paládio (II).

Bolsa no Programa de Ensino de Ciências – PROENQ concedida pela UNESP-Araraquara de março a dezembro/2009 e março a dezembro/2010.

5. Experiência Profissional.

Governo do Estado de São Paulo - Secretária de Segurança Pública - Polícia Técnico Científica do Estado de São Paulo - Instituto de Criminalística (IC) - Araraquara, Fotógrafa Técnica Pericial, 21 de novembro de 2017 até o momento.

CEMPEQC - Centro de Monitoramento e Pesquisa da Qualidade de Combustíveis, Petróleo e Derivados, 15 de agosto de 2012 a 13 de dezembro de 2013.

Prefeitura Municipal de Araraquara, Agente Administrativo de Serviços Públicos, 09 de agosto de 2011 a 13 de agosto de 2012.

Hatsukoy Indústria e Comércio de Cosméticos Ltda, 07 de julho de 2008 a 02 de maio de 2009.

Marbel R. C. Comércio Importação Exportação Ltda, 06 de novembro de 2006 a 06 de fevereiro de 2008.

Renata A. dos Santos Arnold de Moraes, 07 de março de 2005 a 03 de outubro de 2005.

Dedico a todos com quem tive o privilégio de conviver ao longo desses anos.

“Eu, um universo de átomos, um átomo no universo”
Richard Feynman

Agradecimento

O Doutorado foi um período de muito aprendizado profissional e pessoal em minha vida. Como todo aprendizado existem momentos difíceis, mas muitos momentos alegres e prazerosos. A concretização só foi possível com a ajuda de inúmeras pessoas que contribuíram profissionalmente, pessoalmente e mentalmente. A vocês expresso minha mais profunda gratidão.

Meus sinceros agradecimentos, ao meu orientador, Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto, pela orientação competente, pelo exemplo de pesquisador, pela dedicação e paciência por me receber de portas abertas em sua sala, por todo ensinamento e ajuda sempre que precisei, pela sua empolgação contagiante pela ciência e em especial pela oportunidade e confiança no meu trabalho, sempre dando suporte para o meu desenvolvimento científico. O doutorado acaba, mas permanece o carinho imenso. Obrigada.

A Profa. Dra. Carolina pela contribuição de co-orientadora, pela generosidade, boa vontade e liberdade a esse trabalho.

O meu agradecimento se estende aos colaboradores científicos, funcionários do instituto de química com imensa capacidade técnica Ms. Rafael Romano Domeneguetti e Dr. Nivaldo Boralle por facilitar as atividades com a obtenção dos espectros no IV e RMN. Ao Prof. Dr. Flávio Junior Caires pela disponibilidade do aparelho e ao Ms. Richard Perosa Fernandes pela obtenção das curvas TG e DTA. Ao Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan e Prof. Dr. José Clayston Melo Pereira, pela estrutura disponibilizada para os experimentos biológicos, à pós-doc Isabel Cristiane da Silva e Ms. Débora Eduarda Soares Silva, pela realização dos ensaios de viabilidade celular. Agradeço também pelo suporte nas análises biológicas de interações com biomoléculas a pós-doc Mariete Barbosa Moreira. E ao Prof. Dr. Vitor Marcelo Deflon meu agradecimento pela elucidação estrutural via difratometria de raios X por monocristal.

Aos professores que participaram da minha banca de qualificação, Prof. Dr. Antonio Eduardo Mauro e Prof. Dr. José Clayston Melo Pereira, meu reconhecimento, pelas sugestões, orientações e indagações durante o exame. Aos professores da banca de defesa, agradeço não só por aceitarem o convite e dedicarem seu tempo à leitura e estudo deste trabalho, mas pela certeza de contribuição em valiosas sugestões.

Agradeço o conjunto de docentes do Departamento de Química Geral e Inorgânica, pelos encontros proveitosos, aos conselhos valiosos, pelos incentivos oferecidos e por motivar todos os seus alunos a seguir em frente. Aos funcionários da pós-graduação e da biblioteca, pelo carinho e atenção.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Organometálicos, pelo convívio agradável, colaboração do dia a dia, pela qualidade das discussões científicas, as ótimas conversas e pelos momentos de alegria e amizades. Os meus amigos de longa data, os amigos da graduação, da pós-graduação, meninas do futebol, pessoal do IC, agradeço por terem vivenciado comigo cada passo desta caminhada.

Agradeço a toda minha família, pelas palavras de motivação, encorajamento, torcida, carinho nesses anos de estudo e compreensão de minha ausência em vários momentos. Especialmente meus pais, Sandra e Valdeci por toda atenção, carinho e apoio. Obrigada pelo exemplo de perseverança, pelas lições ao longa da vida, por sempre me incentivarem a estudar, a adquirir novos conhecimentos e me motivar a olhar pra frente. Com certeza hoje somente estou aqui porque recebi amor, conforto

e toda a confiança que precisei. A vocês todo meu reconhecimento, gratidão e respeito. Amo vocês.

Ao meu esposo, Rodrigo, por nossa união, amizade, amor e cumplicidade. Obrigada pelo carinho e respeito que tem por mim, pelos abraços apertados, pelos beijos dados, por me fazer rir nas horas tristes, por estar sempre ao meu lado me apoiando e ajudando, por compartilhar os meus sonhos e percorrer comigo novos caminhos. Com você ao meu lado tudo é mais sublime.

A universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química-Araraquara, pela oportunidade de fazer o curso de Doutorado, por disponibilizar suas instalações e estrutura para a realização deste trabalho.

À CAPES agradeço pelo período de bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram positivamente, dando força e coragem para que eu chegasse ao final, por vibrarem juntos com as realizações e a conquista desse trabalho. Muito obrigado!

“Poucos são os que enxergam com os próprios olhos e sentem com o próprio coração.”

Albert Einstein

“Tenho a impressão de ter sido uma criança brincando à beira-mar, divertindo-me em descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma concha mais bonita que as outras, enquanto o imenso oceano da verdade continua misterioso diante de meus olhos”.
(Isaac Newton)

Resumo

Desde a descoberta da atividade anticâncer da cisplatina há 40 anos, tem havido um interesse crescente no campo da quimioterapia baseada em complexos metálicos, buscando novos compostos de coordenação com atividade antitumoral aprimorada e redução dos efeitos adversos da cisplatina. Entre os compostos à base de metal estudados, os derivados de paládio atraíram considerável atenção devido à semelhança com a química de coordenação da platina. Este trabalho descreve a síntese dos complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2), $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (5), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ (6), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})]\text{Cl}$ (7), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})]\text{Cl}$ (8), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})]\text{Cl}$ (9), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PCy}_3)]\text{Cl}$ (10) e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]\text{Cl}$ (11), em que TSCZ = tiossemicarbazida; FMTSC = N-metil-2-[4-(4-hidroxifenil)butan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotioamida, PPh_3 = trifenilfosfina; tfpp = tris(4-fluorofenil)fosfina; tmf = tris(4-metoxifenil)fosfina, tpf = tris(4-metil)fosfina, dpt = 4-metildifenilfosfina, PPh_2Pr = difenilpropilfosfina, PCy_3 = triciclohexilfosfina. Todos os complexos foram isolados e caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade molar, espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear 1D e 2D. Os resultados espectroscópicos evidenciaram a coordenação do ligante TSCZ ou FMTSC de modo neutro N,S-bidentado. A estrutura molecular e cristalina dos compostos 1 e 4 foi confirmada por difração de raio X de monocristal. A estabilidade química dos complexos nas soluções $\text{DMSO}-d_6$, $\text{DMSO}-d_6:\text{D}_2\text{O}$ e $\text{DMSO}-d_6:\text{D}_2\text{O}:\text{fosfato}$ foi avaliada antes dos ensaios citotóxicos.

Os complexos (1-10) tiveram sua atividade antiproliferativa, *in vitro*, investigada contra a linha celular de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7), mostrando resultados de IC_{50} na faixa de 16,22-30,21 μM . Todos os complexos foram cerca de 2 vezes mais ativos que a cisplatina contra a linha celular MCF-7. Ensaios de interação com o DNA envolvendo alguns complexos representativos foram realizadas por espectroscopia UV-vis, dicroísmo circular e experimentos de ligação competitivas com Hoechst 33258. As propriedades de ligação dos compostos representativos na albumina sérica humana (HSA) foram estudadas por espectroscopia de fluorescência e dicroísmo circular.

Abstract

Since the discovery of the anticancer activity of cisplatin 40 years ago, there has been a growing interest in the field of chemotherapy based on metal complexes, searching for new coordination compounds with enhanced antitumor activity and reduced adverse effects than cisplatin. Among the metal based compounds studied, palladium derivatives have attracted considerable attention due to the similarity with the coordination chemistry of platinum. This work describes the synthesis of the complexes $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2), $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (5), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ (6), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})]\text{Cl}$ (7), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})]\text{Cl}$ (8), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})]\text{Cl}$ (9), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PCy}_3)]\text{Cl}$ (10) and $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]\text{Cl}$ (11), where TSCZ = thiosemicarbazide; FMTSC = N-methyl-2-[4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-ylidene]hydrazine-1-carbothioamide, PPh_3 = triphenylphosphine; tfpp = tris(4-fluorophenyl)phosphine; tmf = tris(4-methoxyphenyl)phosphine, tpf = tris(4-methyl)phosphine, dpt = 4-methyldiphenylphosphine, PPh_2Pr = diphenylpropylphosphine, PCy_3 = tricyclohexylphosphine. All complexes were isolated, and characterized by elemental analysis, molar conductivity measurements, IR spectroscopy, 1D and 2D nuclear magnetic resonance. IR and NMR spectroscopic results evidenced the coordination of the TSCZ or FMTSC ligand in a neutral N,S-bidentate mode. The molecular and crystal structure of compounds 1 and 4 were confirmed by single crystal X-ray diffraction determination. The chemical stability of the complexes in $\text{DMSO}-d_6$, $\text{DMSO}-d_6:\text{D}_2\text{O}$ and $\text{DMSO}-d_6:\text{D}_2\text{O}$:phosphate buffer solutions was evaluated prior to cytotoxic assays.

The complexes (1-10) had their in vitro antiproliferative activity investigated against human breast adenocarcinoma (MCF-7) cell line, showing IC_{50} results in the range of 16.22-30.21 μM . All complexes were about 2-fold more active than cisplatin against MCF-7 cell line. DNA binding experiments involving some representative palladium complexes were carried out by means of UV-Vis spectroscopy, circular dichroism, and competitive binding experiments with Hoechst 33258. The binding properties of representative compounds on human serum albumin (HSA) were studied by fluorescence spectroscopy and circular dichroism.

Lista de Ilustrações

Figura 1. Alteração no perfil de mortalidade 2005-2030.	21
Figura 2. Transformação célula normal à metástase.	23
Figura 3. Estrutura cisplatina e derivados.....	27
Figura 4. Possíveis modos de ligação entre a cisplatina e o DNA.....	28
Figura 5. Mecanismo associativo de substituição de ligantes em complexos d^8	30
Figura 6. Arranjo estrutural tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona.....	32
Figura 7. Representação das formas tautoméricas e aniônicas da tiossemicarbazona.	33
Figura 8. Modo de coordenação para tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona.	33
Figura 9. Estrutura molecular do composto tioacetazona.....	35
Figura 10. Estrutura Triapina.....	35
Figura 11. Esquema representativo da ligação entre metais e ligantes fosfínicos terciários.....	39
Figura 12. Definição esquemática dos efeitos eletrônicos e estéricos.	39
Figura 13. Estrutura da Auranofina.	41
Figura 14. Estrutura molecular do complexo mononuclear.	41
Figura 15. Espectros vibracionais na região do IV para o ligante TSCZ e os compostos 1-4.....	64
Figura 16. Numeração das posições dos átomos de ligante TSCZ e dos complexos 1-4.	67
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do ligante TSCZ, em DMSO- d_6	68
Figura 18. Estruturas de ressonância de tioamidas possíveis para o ligante TSCZ.	69
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H dos complexos $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (1), $[PdBr(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (2) $[PdI(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (3), $[PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (4), em DMSO- d_6	70
Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C dos complexos $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (1), $[PdBr(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (2) $[PdI(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (3), $[PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (4), em DMSO- d_6	71
Figura 21. Espectro de RMN de ^{31}P dos complexos $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (1), $[PdBr(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (2) $[PdI(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (3), $[PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (4), em DMSO- d_6	73
Figura 22. Curvas TG/DTA dos compostos 1-4.	74
Figura 23. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (1), com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.	76
Figura 24. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (4), com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.	76
Figura 25. Representação da estrutura unitária do composto $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$	79

Figura 26. Representação da estrutura unitária do composto [PdSCN(TSCZ)(PPh ₃)]Cl.....	79
Figura 27. Ligações de hidrogênio envolvidas na estrutura cristalina do [PdCl(TSCZ)(PPh ₃)]Cl e os contatos intermoleculares.	80
Figura 28. Ligações de hidrogênio envolvidas na estrutura cristalina do [PdSCN(TSCZ)(PPh ₃)]Cl e os contatos intermoleculares.....	80
Figura 29. Espectros vibracionais dos compostos no IV do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).....	86
Figura 30. Numeração das posições dos átomos de ligante FMTSC e dos complexos.	90
Figura 31. Espectro de RMN de ¹ H e ¹³ C do ligante FMTSC, em CDCl ₃	90
Figura 32. Espectro de RMN de ¹ H dos complexos 5-11, em CDCl ₃	94
Figura 33. Espectro de RMN de ¹³ C dos complexos 5-11, em CDCl ₃	95
Figura 34. Setas de correlação observadas nos experimentos HSQC para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.	98
Figura 35. Mapa de contorno do experimento HSQC ¹ H- ¹⁵ N, em CDCl ₃ , para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.....	98
Figura 36. Setas de correlação observadas no experimento COSY ¹ H- ¹ H do complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.	100
Figura 37. Mapa de contorno do experimento COSY ¹ H- ¹ H, em CDCl ₃ , para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.....	100
Figura 38. Setas de correlação observadas no experimento HSQC ¹ H- ¹³ C e HMBC ¹ H- ¹³ C do complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.	101
Figura 39. Mapa de contorno do experimento HSQC ¹ H- ¹³ C, em CDCl ₃ , para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.....	102
Figura 40. Mapa de contorno do experimento HMBC ¹ H- ¹³ C, em CDCl ₃ , para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl.....	103
Figura 41. Espectro de RMN de ³¹ P dos complexos FMTSC em DMSO- <i>d</i> ₆	106
Figura 42. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto [PdCl(fmtsc)(PPh ₃)]Cl.H ₂ O, com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.	108
Figura 43. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto [PdCl(fmtsc)(PPh ₂ Me)]Cl, com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.	108
Figura 44. Representação da estrutura unitária do composto [PdCl(fmtsc)(PPh ₃)]Cl.H ₂ O.....	110
Figura 45. Representação da estrutura unitária do composto [PdCl(fmtsc)(PPh ₂ Me)]Cl.....	111

Figura 46. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ e $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ a 38°C , durante 48h.	112
Figura 47. Espectro de RMN de ^1H para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ e $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (a), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ (b), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ /tampão fosfato (c) e $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ /solução de NaCl (d) a 38°C , durante 48h.	113
Figura 48. Gráficos de viabilidade celular dos complexos nas linhagens celulares MRC-5, A549 e MCF-7.	115
Figura 49. Estrutura dupla hélice do DNA e emparelhamento de bases.	119
Figura 50. Titulação dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ via espectroscopia eletrônica com adições crescentes de ct-DNA. $[\text{Complexo}] = 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{DNA}] = 5,76 \times 10^{-6} - 4,03 \times 10^{-5} (\text{mol L}^{-1})$.	122
Figura 51. Espectro de dicroísmo circular na ausência e na presença dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, $[\text{ct-DNA}] = 7,43 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em Tris-HCl $10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ / NaCl $100 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $r = \text{razão molar } [\text{complex}]/[\text{DNA}]$.	125
Figura 52. Estrutura Hoechst-33258 e modo de ligação.	126
Figura 53. Variação da intensidade de fluorescência do sistema Hoechst-DNA por competição com os compostos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.	127
Figura 54. Representação da estrutura terciária da HSA, dividida em três sítios principais de ligação e subdomínios.	129
Figura 55. Espectro de CD para monitoramento da estrutura secundária da HSA na ausência e na presença de concentrações variadas dos complexos $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ a 25°C , $[\text{HSA}] = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{compostos}] (0-4,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$.	130
Figura 56. Espectros de supressão de fluorescência da HSA na presença e na ausência do complexo de paládio a 25°C (A) e 37°C (B), $\lambda_{\text{Ex}} = 280 \text{ nm}$; solução tampão Tris-HCl (pH= 7,2) $[\text{HSA}] = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Complexo}] = 1,0 - 8,0 (\times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$, (a-g), respectivamente.	132
Figura 57. Gráfico de $\log (F_0-F)/F$ versus $\log$ dos complexos em 25°C e 37°C .	135

Lista de Tabelas

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados.	50
Tabela 2. Dados da análise elementar e condutividade molar dos complexos 1-4... 61	61
Tabela 3. Atribuição das principais frequências presentes nos espectros no IV dos compostos $[PdX(TSCZ)PPh_3]Cl$, $X = Cl^-$ (1), Br^- (2), I^- (3) e SCN^- (4).....	65
Tabela 4. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C , do ligante TSCZ e dos complexos 1-4.....	67
Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN de ^{31}P para os complexos 1-4.....	73
Tabela 6. Dados referentes à análise térmica dos compostos 1-4.....	75
Tabela 7. Dados cristalográficos para os complexos 1 e 4.	77
Tabela 8. Distâncias interatômicas (Å) mais importantes e ângulos de ligação (°) dos complexos 1 e 4.	77
Tabela 9. Dados da análise elementar e condutividade molar dos complexos 5-11. 82	82
Tabela 10. Principais frequências na região do infravermelho do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).....	85
Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C , do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).	91
Tabela 12. Dados de espectroscopia de correlação heteronuclear de simples ligação para o complexo $[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl$, em $CDCl_3$	98
Tabela 13. Dados de RMN para o complexo $[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl$, em $CDCl_3$	99
Tabela 14. Ângulo de cone, deslocamento químico de ^{31}P (ppm) e pKa das fosfinas livres.	105
Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN de ^{31}P para os complexos 5-11.....	106
Tabela 16. Dados cristalográficos para os complexos $[PdCl(fmtsc)(PPh_3)]Cl.H_2O$ e $[PdCl(fmtsc)(PPh_2Me)]Cl$	108
Tabela 17. Distâncias interatômicas (Å) mais importantes e ângulos de ligação (°) dos complexos.....	109
Tabela 18 Valores de IC_{50} dos complexos (1-10) e dos ligantes TSCZ e FMTSC, assim como da cisplatina frente às linhagens A549, MRC-5 e MRC-7.....	114
Tabela 19. Valores de K_{SV} e K_q para o complexo de paládio na presença de HSA em diferentes temperaturas.....	133
Tabela 20. Constante de ligação (K_b) e número de sítios de ligação (n) envolvidos na interação da HSA com os complexos de paládio.	135
Tabela 21. Parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação entre a HSA e os complexos.....	137

Lista de Abreviaturas e Siglas

μ	micro
σ	ligação sigma
π	ligação pi
δ	deslocamento químico
ΔG°	variação da energia livre de Gibbs
ΔH°	variação de entalpia
ΔS°	variação de entropia
Å	angstrom
α	ângulo de desvio
δ	modo vibracional de deformação angular
ν_s	modo vibracional de estiramento simétrico
ν_{ass}	modo vibracional de estiramento simétrico assimétrico
ΛM	condutividade molar
γ	deformação fora do plano
β	deformação no plano
ϵ_C	coeficientes de absorção do complexo livre
ϵ_{D-C}	coeficientes de absorção do aduto complexo-DNA
t_0	tempo médio de vida no estado excitado da HSA na ausência do supressor
A e A_0	absorbâncias
A594	adenocarcinoma de pulmão humano
CD	dicroísmo circular
$CDCl_3$	clorofórmio deuterado
COSY	homonuclear correlation spectroscopy
Cys	cisteína
DEPT 135	distortionless enhancement by polarization transfer
DMEM	meio de cultura (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
DMF	4,4-dimetilformamida
$DMSO-d_6$	dimetilsulfóxido deuterado
DNA	ácido desoxirribonucleico
dpt	difenil-(p-toluil)-fosfina
DRX	difração de raios X
F_0	intensidades de fluorescência do fluoróforo (HSA) na ausência
F	intensidades de fluorescência do fluoróforo (HSA) na presença do supressor
FMTSC	N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotiamida
Glu	glutamina
His	histéina
HMBC	hetero multiple bond coherence
HSA	albumina humana
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
IC_{50}	concentração inibitória do crescimento celular em 50%
INCA	instituto nacional do câncer
IS	índice de seletividade
IV	infravermelho
K_1 e K_2	constantes de ligação
K_b	constante de formação aparente composto/droga
k_q	constante de velocidade de supressão bimolecular
K_{SV}	constante de supressão molecular de Stern-Volmer
MCF-7	câncer de mama humano não invasivo
MCR-5	fibroblasto de pulmão humano
MDR	resistência a múltiplos medicamentos

MEM	meio essencial mínimo (Modified Eagle Médium)
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5-difenil brometo de tetrazolium
n	número de sítios de ligação
PCy ₃	tricicloexilfosfina
pf	ponto de fusão
pH	potencial hidrogeniônico
pKa	constante de ionização
PPh ₂ Pr	difenilpropilfosfina
PPh ₃	trifenilfosfina
ppm	partes por milhão
Q	concentração do supressor
R	constante dos gases ideais (8,314 J·mol ⁻¹ K ⁻¹)
RMN de ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ³¹ P	ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
tfpp	tris(4-fluorofenil)fosfina
TG/DTA	análise termogravimétrica / análise térmica diferencial
tmf	tris(4-metoxifenil)fosfina
TMS	tetrametilsilano
tpf	tri(p-toluil)fosfina
Trp-124	triptofano
Tyr	tirosina
UV-Vis	espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta-visível

Sumário

1. Introdução.....	21
Motivação e planejamento da pesquisa.....	43
2. Objetivos	49
2.1 Objetivo geral	49
2.2 Objetivos específicos	49
3. Parte experimental.....	50
3.1 Reagentes e Solventes	50
3.2 Obtenção dos Complexos de Paládio	51
3.2.1 Síntese do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$	51
3.2.2 Síntese dos complexos $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$, sendo $\text{X} = \text{Cl}^-$ (1), Br^- (2), I^- (3), SCN^- (4).	51
3.2.3 Síntese do ligante frambiona-tiossemicarbazona (FMTSC: N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotiamida).....	52
3.2.4 Síntese dos complexos $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PR}_3)]\text{Cl}$	52
3.3 Caracterização dos compostos.....	52
3.3.1 Pesagens	53
3.3.2 Análise Elementar	53
3.3.3 Condutividade Molar.....	53
3.3.4 Ponto de Fusão	53
3.3.5 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho	53
3.3.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	53
3.3.7 Análise Termogravimétrica.....	54
3.3.8 Difratometria de Raios X por Monocristal.....	54
3.4 Ensaios biológicos.....	54
3.4.1 Determinação da viabilidade celular.....	54
4. Resultados e discussão	59
4.1 Família Tiossemicarbazida (TSCZ).....	59
4.1.1 Sínteses.....	59
4.1.2 Análise Elementar e Condutividade Molar.....	61
4.1.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)	62
4.1.4 Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C	67

4.1.5 Espectros de RMN de ^{31}P	72
4.1.6 Análise Termogravimétrica.....	74
4.1.7 Difratometria de Raios X por Monocristal.....	76
4.2 Família Tiossemicarbazona (FMTSC)	81
4.2.1 Síntese	81
4.2.2 Análise Elementar e Condutividade molar.....	82
4.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)	83
4.2.4 Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C	88
4.2.5 Espectros de RMN de ^{31}P	104
4.2.6 Difratometria de Raios X por Monocristal.....	107
4.3 Estudos de estabilidade em DMSO	111
4.4 Viabilidade Celular.....	114
4.5 Ensaios biológicos de interação dos complexos com biomoléculas alvos	118
4.5.1 Interação entre os Complexos de Paládio e Ácido Desóxiribonucleico (DNA)..	118
4.5.2 Interação entre os Complexos de Paládio e Albumina do Soro Humano (HSA) ...	127
5. Conclusão.....	138
6. Referências.....	140
7. Apêndices	156

1. Introdução

Desenvolvimento de novos agentes anticâncer

O termo médico para o câncer é neoplasia, que significa "um crescimento relativamente autônomo de tecidos" (AHLUWALIA; MADHU, 2008). É um termo utilizado para um grupo de doenças caracterizadas pela perda de controle do crescimento, divisão e disseminação do tecido celular para praticamente qualquer parte do corpo (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005). Existem mais de 100 patologias diferentes de câncer que afetam os seres humanos que podem variar, substancialmente, em seu comportamento e resposta ao tratamento (KELVIN; TYSON, 2011).

O câncer é atualmente um problema de saúde pública em todo o mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde, é atualmente a segunda causa de morte no mundo, com 12,7 milhões de casos diagnosticados a cada ano, das quais 7,6 milhões morrem, ficando atrás apenas das doenças cardíacas. Porém, estima-se que, ao longo do século XXI, o câncer se torne a principal causa de morte nos países subdesenvolvidos, devido à falta de acesso a programas de detecção precoce e à serviços de tratamento. A estimativa para 2030, diz que o número de novos casos anuais de morte, por câncer, esteja na ordem de 12 milhões, fazendo com que o câncer alcance a maior taxa de mortalidade comparada a outras doenças (Figura 1). Para o Brasil, é estimado cerca de 625 mil novos casos de câncer por ano de 2020 a 2022 (INCA, 2020).

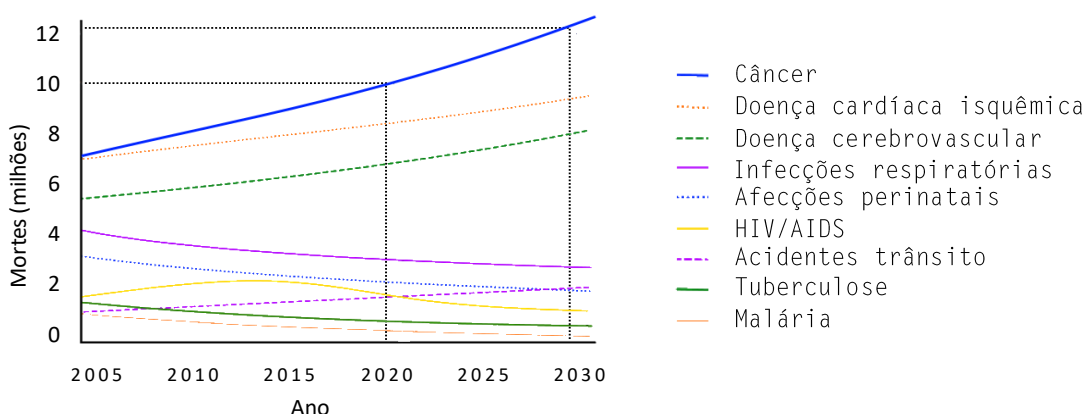


Figura 1. Alteração no perfil de mortalidade 2005-2030.

Fonte: Adaptada WHO (2003).

O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese. É caracterizado por vários estágios, no qual o dano ao material genético de uma célula altera a célula de normal para maligna, podendo levar vários anos para que uma célula

cancerosa se multiplique e origine um tumor (LIU et al., 2015). Normalmente os genes do DNA possuem um conjunto de instruções que informam à célula quais funções desempenhar, bem como se multiplicarem e se proliferarem de forma sistêmica e organizada de acordo com sinais regulares do sistema biológico. Quando as células envelhecem, elas morrem e novas células tomam o seu lugar. Alterações nas instruções podem fazer com que as células percam sua função normal e pode permitir que uma célula se torne cancerosa, escapando dos mecanismos de controle que normalmente regulam seu crescimento e divisão nos processos fisiológicos. Como resultado, passam a se acumular no corpo, usando oxigênio e nutrientes que normalmente nutrem outras células. O desenvolvimento de células cancerosas pode prejudicar o sistema imunológico e causar outras alterações que impedem o corpo de funcionar regularmente.

Várias diferenças biológicas entre o microambiente encontrado nos tumores sólidos e o tecido normal limitam efetivamente a eficácia dos fármacos quimioterapêuticos e dos nanoterapêuticos. O tecido sadio contém vasculatura organizada, fornecendo oxigênio, nutrientes e fármacos administrados sistemicamente a todas as células circundantes. O tecido canceroso apresenta múltiplas barreiras para o fornecimento bem-sucedido de oxigênio, nutrientes e medicamentos. Essas barreiras são "marcas registradas" do microambiente de tumores sólidos e incluem: vasculatura irregular e desorganizada, alta pressão de fluido intersticial (IFP), baixa tensão de oxigênio e hipóxia, baixo pH extracelular, e uma matriz extracelular densa (MEC) (CAIRNS; PAPANDREOU; DENKO, 2006; WAITE; ROTH, 2012).

Esses tumores quando apresentam uma massa bem delimitada, desenvolvimento lento e não são invasivos, são considerados benignos (não cancerígenos) (COOPER, 1993). Os perigosos são os cancerosos, que crescem rapidamente e o suficiente para que essas células mutadas entrem em contato com a corrente sanguínea e vasos linfáticos (KELVIN; TYSON, 2011), se espalham para tecidos e órgãos adjacentes, invadindo-os e implicando na formação de um câncer secundário. Esse processo de progressão da proliferação para outras partes do corpo é conhecido como metástase (INCA, 2012) (Figura 2).

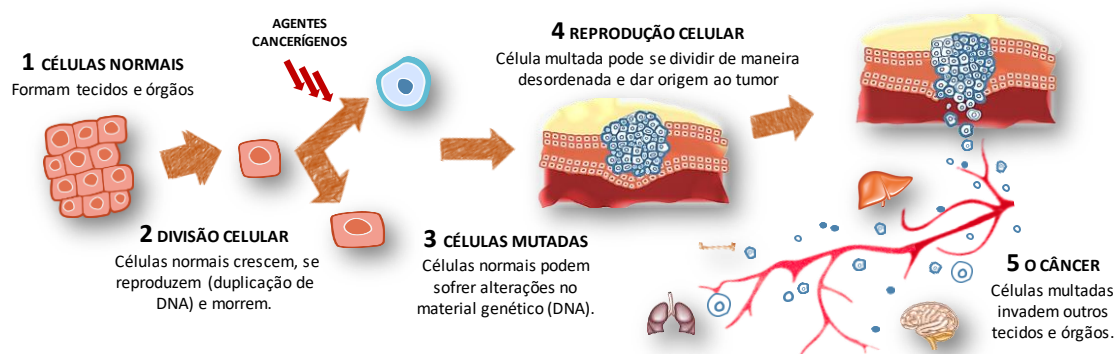


Figura 2. Transformação célula normal à metástase.

Fonte: Autora.

Ambos os tumores benignos e malignos são classificados de acordo com o tipo de célula da qual eles originam, a maioria dos cânceres se enquadram em: carcinomas quando começam na pele ou tecido que cobre a superfície dos órgãos internos; sarcomas quando se originam no tecido conjuntivo, como músculo, gordura, cartilagem ou osso; e leucemias, ou linfomas, nos glóbulos vermelho do sangue. Existem mais de 200 tipos de câncer correspondentes a um número similar de tipos de células no corpo (ELLIS, 2013).

Um aumento tão dramático da incidência de câncer com a idade sugere que a maioria dos cânceres se desenvolvem como consequência de múltiplas anormalidades, que se acumulam em períodos de muitos anos. Como o desenvolvimento de malignidade é um processo complexo de várias etapas, muitos fatores podem afetar a probabilidade de desenvolvimento do câncer, principalmente aqueles relacionados aos hábitos e costumes do estilo de vida, como radiação solar ultravioleta, tabaco, má alimentação, uso excessivo de bebidas alcoólicas, sedentarismo e obesidade. Estes agentes cancerígenos são geralmente referidos como agentes de iniciação, uma vez que a indução de mutações em genes, seja o evento inicial que leva ao desenvolvimento do câncer. Na minoria dos casos se desenvolve por causas geneticamente pré-determinadas.

O objetivo do tratamento do câncer é alcançar a cura, porém isso depende de situações específicas. Se a cura não for possível, os tratamentos podem ser usados para reduzir ou retardar o crescimento, permitindo que o portador amenize as sequelas e prolongue a vida. Dentre os tratamentos, cirurgia, radioterapia e quimioterapia constituem as principais opções de manejo do câncer. Atualmente, existem também como terapia hormonal, imunoterapia e outras terapias alvo (SUDHAKAR, 2009). A escolha do tipo de tratamento depende do tipo de câncer, de

sua evolução, tamanho, localização e estágio em que se encontra, bem como as condições e demandas do paciente (SOUHAMI; TOBIAS, 2005).

Quimioterapia contra o câncer

O uso da quimioterapia para tratar o câncer começou no início do século XX, mas o exercício da quimioterapia moderna contra o câncer data do final de 1947, após uma terapia bem-sucedida de mostarda nitrogenada (2-cloro-N-(2-cloroetil)-N-etiletanamina) contra linfomas (CHABNER; ROBERTS, 2005). Na década de 1960 houve sucesso no tratamento quimioterápico contra a leucemia infantil, e na década de 1970, na doença de Hodgkin avançada, superando a descrença predominante sobre a capacidade dos medicamentos no tratamento de cânceres avançados (DEVITA; CHU, 2008). Atualmente, a quimioterapia é a principal opção de tratamento. Nos EUA é utilizada em mais de 70% dos pacientes em estágio III e IV de vários tipos de câncer (DESANTIS et al., 2014).

Os quimioterápicos são utilizados principalmente no tratamento das neoplasias malignas. Eles interferem nos mecanismos de sobrevivência, proliferação e migração tanto de células tumorais, quanto de células saudáveis, visto que é um tratamento sistêmico (FUCHS, 2010) e possui uma ação seletivamente "antiproliferativa" em vez de propriedades seletivas "anticancerígenas". Podem ser administrados por via oral, por injeção ou sobre a pele, dependendo do tipo e estágio do câncer (ALLEN, 2002; ALMEIDA et al., 2014).

Com a quimioterapia os agentes antineoplásicos são enviados para destruir as células cancerosas em todo o corpo, que preferencialmente matam as células em divisão, atacando seu DNA em algum nível (síntese, replicação ou processamento). No entanto, estes fármacos não são verdadeiramente seletivos para as células cancerosas e sua eficácia terapêutica é limitada pelos danos que também causam à proliferação de células normais, acarretando efeitos colaterais tais como: náuseas, vômitos, perda de cabelo e maior susceptibilidade às infecções (WONG, E.; GIANDOMENICO, C., 1999). Os efeitos colaterais dependem principalmente do tipo e extensão do tratamento, mas também variam de pessoa para pessoa e podem até mudar de uma sessão de tratamento para outra.

As células tumorais podem ter resistência intrínseca aos compostos utilizados ou desenvolve-la por exposição contínua (HEFFETER et al., 2008; CHAKRABORTY;

RAHMAN, 2012), limitando o tratamento. A resistência inerente pode surgir de mutações espontâneas que inevitavelmente ocorrem na proliferação celular como parte da instabilidade genética, já a resistência adquirida é desenvolvida após a exposição aos quimioterápicos. Com demasiada frequência, observou-se que as células cancerígenas mostram resistência não apenas a um único medicamento quimioterapêutico, mas também a diferentes variedades de estruturas e grupos, a denominada resistência a múltiplos medicamentos (MDR) (GOTTESMAN, 2002). Os mecanismos que causam MDR são, por exemplo, modificação ou inativação de drogas (como na causa da cisplatina pela glutatona), diminuição da permeabilidade ou aumento do efluxo da droga (como glicoproteína P), aumento do reparo do DNA, alterações nos checkpoints que ocorrem durante o ciclo celular, entre outros (HOUSMAN et al., 2014; WU et al., 2014). A MDR foi inicialmente identificada no final da década de 60, quando alguns estudos verificaram que células neoplásicas apresentavam resistência cruzada a antibióticos e quimioterápicos (KESSEL; BOTTERILL; WODINSKYI, 1968; DY; ADJEI, 2008). Sendo assim, a MDR é considerada um fenótipo de resistência multifatorial (GILLET; GOTTESMAN, 2010). O uso de terapias combinadas, utilizando diferentes classes de fármacos é uma das formas usadas para tentar superar a resistência (HOUSMAN et al., 2014).

Pacientes com doença inoperável dependem inteiramente dos quimioterápicos atualmente disponíveis, mas fatores como resistência rápida, janelas terapêuticas minúsculas, toxicidade excessiva fora do alvo e propriedades farmacocinéticas precárias tornam muitos desses medicamentos terapeuticamente abaixo do ideal. Esse quadro destaca a necessidade essencial de novas opções de tratamento para melhorar a qualidade de vida e aumentar a sobrevida. Por isso o empenho no desenvolvimento de novos fármacos que possam ser administrados no tratamento quimioterápicos e, que sejam mais eficazes e menos agressivos ao organismo.

Compostos metálicos no tratamento de câncer e o advento da química inorgânica medicinal

Compostos de coordenação são fundamentais no estudo da química inorgânica medicinal. Estes contêm um átomo ou íon central (normalmente um metal de transição), ao qual se ligam moléculas neutras ou íons (FARIAS, 2009). Essas substâncias ganharam destaque com os estudos de Paul Ehrlich, prêmio Nobel em

Medicina e Fisiologia em 1908, pelo desenvolvimento de conceitos relacionados à estrutura-atividade e índice quimioterápico e a Alfred Werner, prêmio Nobel de Química em 1913, por propor uma explicação para a estrutura e a ligação química nos complexos metálicos (BERALDO, 2004). Mas a química inorgânica medicinal ganhou notoriedade com o trabalho pioneiro de Barnett Rosenberg e colaboradores, no final dos anos 1960, através de estudos desenvolvidos sobre o complexo de platina, *cis*-diaminodicloridoplatina (II), que inibiam com sucesso os processos de divisão celular sem influenciar no crescimento celular da bactéria *Escherichia coli*, formando filamentos alongados. Essa descoberta deu origem à busca dos agentes anticancerígenos entre os complexos metálicos.

Uso medicinal da cisplatina

A cisplatina foi o primeiro complexo metálico utilizado como antineoplásico (GUO; SADLER, 1999b), tornando-se um protótipo de uma classe única de agentes antineoplásicos que agora compreendem numerosos derivados. Ela abriu uma nova perspectiva de utilização de compostos de coordenação como agentes antitumorais.

A cisplatina é utilizada clinicamente no tratamento dos cânceres da bexiga, do pulmão (COSAERT; QUOIX, 2002) da cabeça, pescoço, do ovário, do colo do útero entre outros. Atualmente, além da cisplatina, outros dois fármacos de platina são liberadas pelos órgãos de controle para uso clínico mundial: a carboplatina (1985) (Paraplatina®) [diamino(1,1-iclobutanodicarboxilato)platina(II)] é amplamente utilizado no tratamento de câncer de ovário, por ser menos nefrotóxica que a cisplatina; e a oxaliplatina (1996), (Eloxatin®) *cis*-[1,2-diaminocicloexanooxalato)platina(II)], que tem atuação contra o câncer colo-retal, no qual a cisplatina não se apresenta ativa (Figura 3). Além disso, o uso de cisplatina em terapias combinadas leva frequentemente (85%) a curas no câncer de testículo. Outros complexos também tiveram uso clínico aprovado, porém restrito a alguns países devido a diferentes regulamentos: a nedaplatina foi aprovada apenas no Japão (1995) (câncer de pulmão, esôfago, cabeça e pescoço), a lobaplatina na China (2001) (doenças crônicas, leucemia mielóide (LMC), câncer de mama metastático inoperável e câncer de pulmão de pequenas células) e a heptalatina, somente na Coreia (1999) (câncer gástrico).

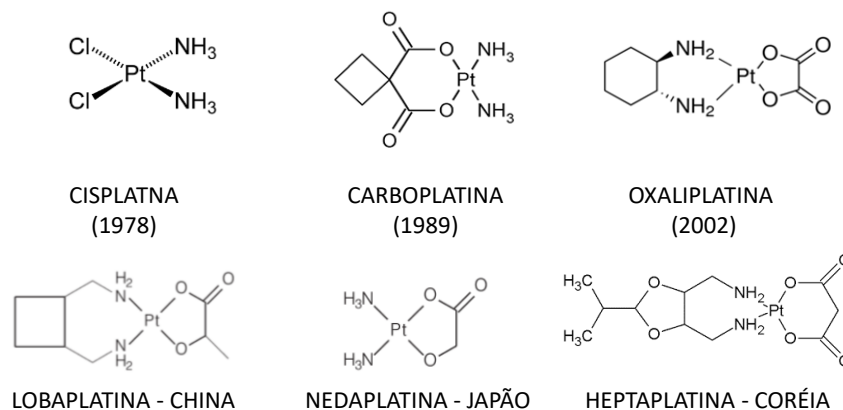


Figura 3. Estrutura cisplatina e derivados.

Fonte: Adaptado FONTES; ALMEIDA; NADER (1997).

Um dos mecanismos citotóxicos reconhecidos de ação da cisplatina envolve a ligação covalente ao DNA, embora reaja com diversas outras biomoléculas. A sua toxicidade depende da ativação intracelular por meio de uma reação de aquação, que implica na troca inicial dos dois grupos de saída clorido com água (GIBSON, 2009; KELLAND; FAREL, 2000; CARADONNA, 1982) e depois pelo nitrogênio N7 da guanina (PIZZARO; SADLER, 2009) (Figura 4). Os átomos do N7 são os mais densos em elétrons e acessíveis localizados no DNA para um ataque de platina, permitindo que a cisplatina se ligue covalentemente às guaninas do DNA, formando um aduto de DNA (MARZILLI, 1981). A estabilidade da ligação da platina ao nitrogênio 7 é favorecida não só pelo impedimento estérico (FONTES; DE ALMEIDA; NADER, 1997) dos outros átomos de nitrogênio como também pela alta basicidade do N7 com relação aos outros átomos (MARTIN; MARIAM, 1979). Os adutos formados pela cisplatina com o DNA são ligações 1,2-intrafitas guanina-guanina, formado pela ligação do metal a duas guaninas adjacentes, sendo o responsável mais provável pela citotoxicidade da cisplatina (PIZZARO; SADLER, 2009). Esses adutos resultam na inibição de enzimas envolvidas na transcrição do RNA, replicação do DNA e alongamento da cadeia da polimerização do DNA (ALAMA et al., 2009), induzem alterações estruturais que leva a parada do ciclo celular e a célula a morte por apoptose programada (DHAR; LIPPARD, 2011).

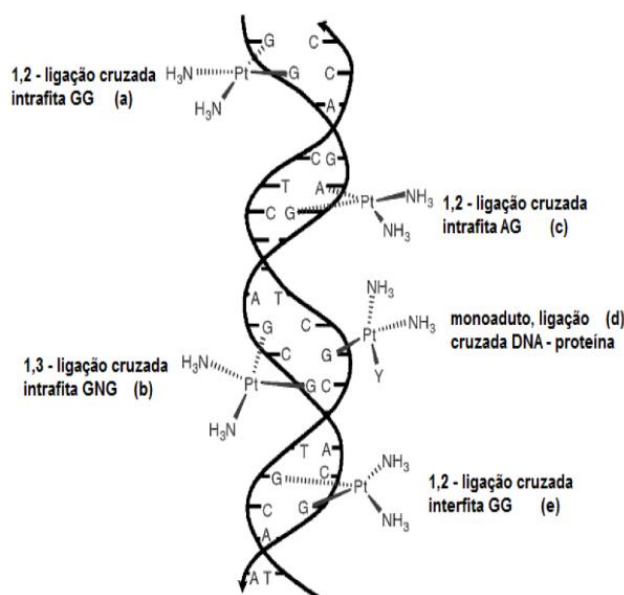


Figura 4. Possíveis modos de ligação entre a cisplatina e o DNA.
Fonte: Adaptado NEVES; VARGAS, (2011); PIZZARO; SADLER, (2009).

Apesar do sucesso terapêutico no tratamento de vários tipos de tumores, a alta eficácia dos medicamentos derivados de platina tem enfrentado certas limitações devido aos efeitos colaterais, como neurotoxicidade (MCWHINNEY; GOLDBERG; MCLEON, 2009) nefrotoxicidade (PABLA; DONG, 2008), hepatotoxicidade, ototoxicidade (RIBAK et al., 2007), distúrbios gastrintestinais, supressão da medula óssea, perda de cabelo e anemia. Estes efeitos adversos surgem principalmente devido à interação da cisplatina com proteínas e peptídeos, como a glutathione e metaloproteínas, o que leva ao seu acúmulo no organismo, gerando toxicidade (APPLETON et al., 1989; VAN DER VEER; REEDJIK, 1988). A interação decorre da afinidade da platina aos doadores de enxofre e de selênio presentes em muitas proteínas no plasma e no meio celular. A cisplatina rompe a função de diferentes proteínas e enzimas as quais não desempenha seu papel com eficácia, como confirmado pelo fato de que apenas 1% do fármaco administrado por via intravenosa realmente atinge o DNA (GONZALEZ et al., 2001). Assim a seletividade tem sido uma das grandes desvantagens desta forma de tratamento. Ainda não há o conhecimento detalhado das interações da cisplatina com os componentes celulares, devido à complexidade desses processos no meio intracelular e devido à falta de alvos moleculares únicos nas células cancerígenas. Verificou-se que os transportadores de cisplatina contribuem para a resistência através da redução do acúmulo de drogas na célula (MARZANO et al., 2011). No entanto, os principais mecanismos de resistência são: a diminuição da concentração nas células; a desintoxicação no citoplasma,

principalmente pela glutathione; o aumento do reparo do DNA; e a presença de tolerância a esse fármaco (CHOI; KIM, 2006).

Apesar das melhorias alcançadas, a busca de novos fármacos mais eficientes, que possuam um perfil de toxicidade mais aceitável, com menos efeitos colaterais e que não desenvolvam nenhum tipo de resistência, representa o maior desafio de centros de pesquisas, de indústrias farmacêuticas e universidades. O desenvolvimento de um novo agente antineoplásico é um processo de múltiplos estágios e inclui etapas como planejamento do complexo, síntese, caracterização, comprovação da atividade biológica, triagem pré-clínica e clínica (HAMBLEY, 2007a), levando muitos anos para um protótipo se transformar em medicamento comercializado.

Vantagens da introdução de centros metálicos no planejamento de fármacos

Nos últimos anos, muito esforço foi feito para aumentar o número de complexos terapêuticos metálicos. Historicamente, metais e complexos metálicos têm desempenhado um papel fundamental no desenvolvimento da farmácia e da quimioterapia moderna. Apesar da importância dos elementos inorgânicos para a descoberta de novos fármacos, eles ainda representam uma parcela diminuta dos fármacos comercializados atualmente (HAMBLEY, 2007b). Os metais, especialmente os de transição, oferecem algumas vantagens sobre os fármacos orgânicos. Dentre as vantagens estão os diversos números de coordenação e geometrias, resultando em grande diversidade estrutural; os diferentes estados de oxidação, o que permite a participação em processos biológicos redox (VAN RIJT; SADLER, 2009); assim como controle da cinética e de propriedades termodinâmicas (GUO; SADLER, 1999a). Além disso, metais de transição possuem propriedades intrínsecas como cinética de troca de ligantes, solubilidade, biodisponibilidade e biodistribuição, que podem ser modificadas a fim de aumentar os efeitos citotóxicos e reduzir os efeitos colaterais.

Avanços na química de coordenação medicinal dependem da compreensão da termodinâmica, da cinética e dos mecanismos de reação dos complexos metálicos, especialmente em condições biologicamente relevantes (GUO; SADLER, 1999a). É possível alcançar a especificidade da atividade biológica com o conhecimento prévio do mecanismo de ação (HAMBLEY, 2007b), diminuir a resistência com a camuflagem do composto no meio biológico, que não reconhece o fármaco quando complexado

ao cátion metálico, e a minimizar os efeitos colaterais tóxicos ao saber quais as interações entre o fármaco e o alvo são responsáveis pela toxicidade.

Complexos de paládio(II): uma nova alternativa para o design de agentes antitumorais

Uma molécula ativa e com eficácia elevada é reflexo das propriedades farmacodinâmicas (interação fármaco-receptor) e farmacocinéticas (fatores de absorção, distribuição, metabolismo e eliminação do fármaco), além da baixa toxicidade. Na busca por compostos protótipos com melhores resultados, faz-se necessário modificações moleculares capazes de ajustar suas propriedades farmacocinéticas sem comprometer suas características farmacodinâmicas essenciais à promoção da resposta terapêutica desejada (BARREIRO; FRAFGA, 2015).

Dentre os metais que vem atraindo o interesse, o paládio vem recebendo cada vez mais destaque devido à semelhança estrutural e considerável sobreposição na química de coordenação da platina. Os complexos de paládio (II) ganharam evidência na busca de novos agentes anticancerígenos, imediatamente após a aprovação pela FDA para a cisplatina. Ambos os metais possuem configuração eletrônica d^8 e comumente formam complexos diamagnéticos com geometria quadrática planar.

O estado de oxidação mais importante do paládio é +2 assumindo, quase na totalidade dos casos, número de coordenação quatro e geometria quadrática plana. O baixo estado de oxidação faz com que o mecanismo de substituição dos ligantes nesses complexos ocorra pelo mecanismo associativo (HUHEEY; KEITER; KEITER, 1993) (Figura 5). A substituição de um dos ligantes ocorre com um ataque por uma das faces do plano. O ataque bem sucedido irá ocasionar um rearranjo entre os ligantes na esfera de coordenação, passando pela etapa de transição onde o íon Pd^{II} acomoda cinco ligantes em um arranjo bipirâmide trigonal. Após a formação da ligação com o novo ligante ocorre a liberação do grupo abandonador.

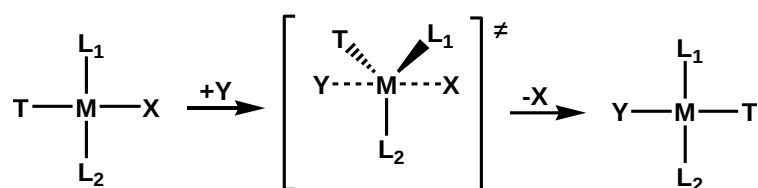


Figura 5. Mecanismo associativo de substituição de ligantes em complexos d^8 .

Fonte: Autora.

Ambos os íons metálicos (Pt^{II} e Pd^{II}) são caracterizados como ácidos macios formando ligações fortes com átomos doadores, como nitrogênio e enxofre. Mas apesar da semelhança química entre os dois metais de transição, a cinética destes é particularmente diferente. Comparando-se complexos de paládio(II) e de platina(II) estruturalmente análogos, contendo somente ligantes amônia e cloretos, os complexos de paládio são mais lábeis, reagindo aproximadamente 100 mil vezes mais rápido (FARREL, 1989; BUTOUR et al., 1997), o que pode prejudicar sua atividade biológica.

A reatividade dos complexos de paládio com as proteínas e outras biomoléculas do meio biológico impede o fármaco de atingir os alvos farmacológicos. Com a escolha de ligantes apropriados é possível reduzir a taxa de dissociação e de troca, criando estabilidade suficiente para manter sua integridade estrutural *in vivo* e fazendo com que o complexo alcance espécies reativas em alvos farmacológicos específicos (KAPDI; FAIRLAMB, 2014). A utilização de compostos multidentados é uma forma interessante para tentar manter sua estabilidade termodinâmica em condições fisiológicas e serem cineticamente menos lábeis. No entanto é necessário cuidado, pois o excesso de estabilização pode resultar em perda da atividade biológica (MESSORI et al., 2012). Os complexos de Pd^{II} têm a vantagem de serem normalmente mais solúveis que seus análogos de Pt^{II} (MEDICI et al., 2015), o que é desejável para os candidatos a metalo-fármacos. O fármaco Tookad, aprovado somente para União Europeia em 2017, é o primeiro complexo de paládio autorizado para o tratamento de câncer de próstata.

Tendo em vista todas estas considerações e o conhecimento adquirido sobre a química do paládio, muitos compostos têm sido sintetizados e caracterizados apresentando uma maior estabilidade química e um melhor perfil farmacológico (GABBIANI; CASINI; MESSORI, 2007; BARNARD; BERNERS-PRINCE, 2007; LESSA; BERALDO, 2011; CASTIÑEIRAS et al., 2012).

Tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona

Ligantes N,S-doadores como as tiossemicarbazidas e principalmente as tiossemicarbazonas representam uma classe versátil no qual suas complexas propriedades têm favorecido diversas pesquisas relacionadas aos propósitos medicinais. Na química bioinorgânica, têm sido correlacionados a capacidade

quelante eficiente para diversos centros metálicos, incluindo Pd^{II} e Pt^{II} (ARANCIBIA et al., 2015), ao seu mecanismo de ação (BERALDO; GAMBINO, 2004).

Estruturalmente, tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona (TSCs) são semelhantes, pois ambas apresentam em sua estrutura básica átomos dos mesmos elementos químicos interligados formando a estrutura básica (Figura 6). No entanto, a estrutura das tiossemicarbazonas possui o grupo C=N (azometino), formado durante a reação de condensação quimiosseletiva das tiossemicarbazidas com aldeídos ou cetonas. Normalmente encontram-se como mistura dos isômeros configuracionais *sin* e *anti* em relação ao átomo de nitrogênio da função tiocarbonila, sendo que a escolha entre os isômeros depende da natureza dos grupos substituintes, que buscam a maior estabilidade termodinâmica. Segundo Casas e colaboradores (CASAS; TASENDE; SORDO, 2000), as tiossemicarbazonas não substituídas apresentam o esqueleto essencialmente plano, com o átomo de enxofre em posição *anti* em relação ao átomo de nitrogênio azometínico (Figura 6). Fatores eletrônicos e estéricos contribuem para este arranjo estrutural, com destaque para o fato de que o átomo de enxofre na posição *anti* possibilita a formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o nitrogênio da imina e os hidrogênios da tioamida (CHATTOPADHYAY et al., 1989). De modo geral as tiossemicarbazonas derivadas de aldeídos tendem a formar majoritariamente isômeros E, enquanto as derivadas de cetonas assimétricas apresentam uma proporção entre os isômeros Z e E dependente dos substituintes ligados à carbonila (TENÓRIO et al., 2005).

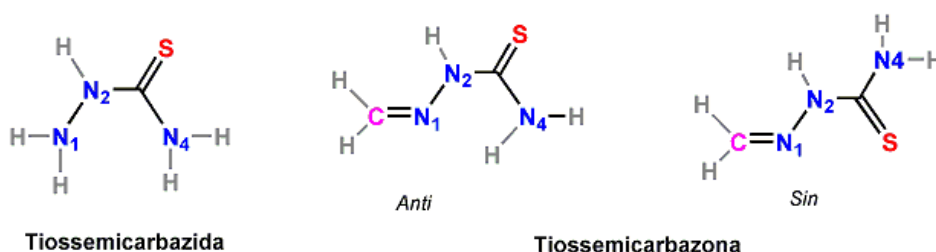


Figura 6. Arranjo estrutural tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona.

Fonte: Adaptada Tenório et al. (2005).

A estrutura de uma tiossemicarbazona apresenta um sistema com alta ressonância eletrônica (TENÓRIO et al., 2005), principalmente quando há grupos aromáticos ligados ao carbono azometínico, devido aos pares de elétrons livres e ligações duplas, o que permite, em solução aquosa, a existência de duas formas tautoméricas tiona e tiol (Figura 7). Do ponto de vista da química de coordenação, as tiossemicarbazonas apresentam-se como ligantes versáteis, podendo se ligar aos

centros metálicos tanto na forma neutra quanto na forma aniônica. A forma aniônica é gerada após a perda dos íons de hidrogênio N_2H ou SH .

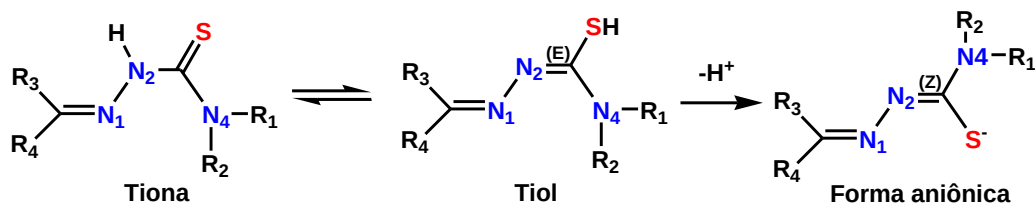


Figura 7. Representação das formas tautoméricas e aniônicas da tiossemicarbazona.

Fonte: Adaptada LOBANA et al. (2006a).

Além do amplo perfil farmacológico das TSCs, as mesmas ainda possuem uma alta versatilidade química, com várias modificações estruturais e modos de ligações diferentes, podendo alterar as propriedades físico-químicas dos ligantes, assim como a atividade biológica dos mesmos e de seus respectivos complexos, como mostram alguns estudos de relação estrutura-atividade encontrados na literatura (WEST; PADHYE; SONAWANE, 1991).

Devido a presença de enxofre e nitrogênio, as tiossemicarbazonas são ligantes com uma variedade imensa de diferentes conjuntos de doadores, flexíveis, com propriedades nucleofílicas, permitindo diversos modos de coordenação. Na Figura 8 são mostrados alguns já estabelecidos pela literatura para esta classe de ligantes. A ordem de reatividade dos nitrogênios segue $N-1 > N-2 > N-4$ (METWALLY et al., 2011). As TSCs podem se coordenar de modo mono, bi ou polidentado, através do átomo de enxofre, nitrogênio ou outro doador de elétrons. As variações no modo dependem dos substituintes R_1 , R_2 , R_3 e R_4 nas tiossemicarbazidas (LOBANA et al., 2009a). Sua capacidade quelante é extensamente utilizada na química de coordenação na preparação de complexos organometálicos (CASAS; TASENDE; SORDO, 2000).

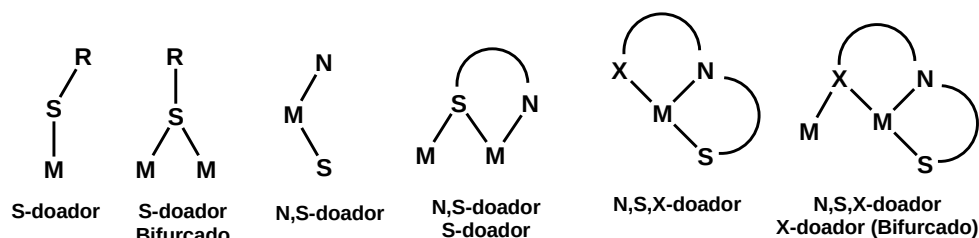


Figura 8. Modo de coordenação para tiossemicarbazidas e tiossemicarbazona.

Fonte: Adaptada LOBANA et al. (2006a).

Do ponto de vista sintético, esses ligantes apresentam alta versatilidade e rapidez na obtenção, com rendimentos satisfatórios e uma vasta aplicação como intermediários de outras reações. A síntese de tiossemicarbazonas geralmente

envolve a condensação quimiosseletiva de tiossemicarbazidas com compostos carbonilados, como aldeídos ou cetonas, em um meio alcoólico, sob refluxo e quantidades catalíticas de ácido (TENÓRIO et al., 2005; CUNHA; SILVA, 2009), sendo caracterizados pela formação da ligação C=N (SOLOMONS; FRYHLE, 2013). A formação dos compostos é compreendida através da teoria ácido-base de Lewis (JONES, 2002), no qual o carbono carbonílico (aldeído/cetona) é pobre em elétrons devido à alta polarização da função carbonila (C=O), que desempenha o papel de ácido de Lewis, o reagente eletrofílico da reação, o qual sofrerá o ataque da tiossemicarbazida, rica em elétrons devido a presença de átomos de nitrogênio, portanto classificada como base de Lewis, o nucleofílico da reação (PEDERZOLLI, 2011). Apresentam baixo custo de síntese e seguem princípios da química verde, já que todos os átomos dos reagentes estarão presentes na molécula final (DU et al., 2002), com exceção da água que é liberada. Possuem rendimentos estequiométricos elevados e ausência de formação de produtos secundários indesejados (DUPONT, 2000).

O interesse no estudo das propriedades biológicas das tiossemicarbazonas começaram nos anos 50, com ênfase no tratamento da tuberculose e da lepra (BAVIN et al., 1950; KOCH; STUTTGEM, 1950). Nos anos 60, suas propriedades antivirais foram descobertas com o fármaco Metisazona comercializados para tratar a varíola (KUNE, 1964). Neste período, um dos primeiros resultados da atividade antitumoral para tiossemicarbazonas foi publicado (SARTORELLI; BOOTH, 1967).

Atualmente, as tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos recebem atenção devido às suas propriedades farmacológicas (BERALDO, 2004; PUNTEL et al., 2009). Encontradas em estudos como antivirais, com a 1-metilisatina-3-tiossemicarbazona aprovada no ano de 1963 e sendo comercializada na Índia no combate ao vírus da varíola (BERALDO, 2004).

Atualmente, o único composto da classe das tiossemicarbazonas a ser empregado clinicamente é a “tioacetazona” (4-acetamidobenzaldeído tiossemicarbazona, Figura 9), mostrando-se eficaz no tratamento da tuberculose. No entanto seu uso é limitado devido sua ação predominantemente bacteriostática *in vivo*, do aparecimento de cepas resistentes e dos efeitos colaterais como a indução de *diabetes melitus* e reações cutâneas (BERALDO; GAMBINO, 2004; BERALDO, 2004).

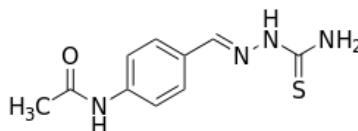


Figura 9. Estrutura molecular do composto tioacetazona.

Fonte: Adaptado BERALDO; GAMBINO, 2004; BERALDO, 2004.

French e Blanz (1965) já mostravam que a presença de um íon metálico sendo coordenado aumenta a atividade biológica apresentada pelos ligantes livres. As tiossemicarbazonas são ligantes polares e sua interação com um íon metálico carregado resulta em uma estrutura na qual a parte hidrofóbica da molécula fica exposta ao exterior, promovendo mudanças na lipofilia da molécula e isso facilita a penetração do complexo pela membrana celular. Assim, o complexo metálico tende a ser mais ativo que a tiossemicarbazona livre (FRENCH; BLANZ, 1965; WEST; PADHYE; SONAWANE, 1991). A coordenação pode levar a uma mudança no mecanismo de ação do fármaco e consequente redução da resistência (BERALDO; GAMBINO, 2004), já que resulta em mudança estrutural e assim o complexo pode estabelecer uma ligação do centro metálico a um sítio biológico ou o complexo metálico como um todo pode competir com o substrato natural pelo sítio de uma enzima, por exemplo.

A oncologia é uma das áreas mais promissoras em que os compostos de tiossemicarbazonas e de complexos metálicos estão sendo desenvolvidos. A Triapina (3-aminopiridina-2-carboxaldeído tiossemicarbazona, 3-AP, Figura 10), por exemplo, encontra-se hoje em ensaios clínicos na fase II para os tumores de próstata, pâncreas, rins, ovário e pulmão (BERALDO; GAMBINO, 2004; TENÓRIO et al., 2005). Perto de se tornar um fármaco, esse composto ainda demonstrou inibir o crescimento celular em concentrações nanomolares no combate a tipos específicos de células tumorais, tais como carcinoma de fígado M-109 e carcinoma de ovário humano A2789.

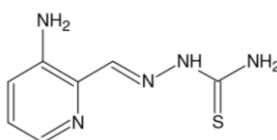


Figura 10. Estrutura Triapina

Fonte: Adaptado BERALDO; GAMBINO, 2004; TENÓRIO et al., 2005.

A atividade antitumoral dessa classe de ligantes e complexos é extremamente diferenciada e depende muito da tipologia das células tumorais. Torna difícil extrair da literatura informações gerais válidas para toda a classe de compostos, uma vez que

sua atividade é certamente devida a mais de um alvo na maquinaria celular. Os principais efeitos conhecidos relacionados à sua atividade anticancerígena são, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SHAO et al., 2006), inibição da topoisomerase II (HALL et al., 2000), ruptura de mitocôndrias (YUAN; LOVEJOY; CHARDSON, 2004), inibição de proteína de múltiplos fármacos (MDR1) (LUDWIG, et al., 2006; WU et al., 2007) e o mais significativo, inibição da ribonucleotídeo reductase (RDR) (BROCKMAN et al., 1970).

O principal mecanismo de ação proposto para as tiossemicarbazonas α -(N)-heterocíclicas tem sido atribuído à capacidade de inibição da biossíntese de DNA, possivelmente, através do bloqueio da enzima ribonucleotídeo difosfato redutase (RDR), ligando-se às bases nitrogenadas do DNA, impedindo a sua replicação e gerando lesões de ruptura oxidativa nas cadeias de DNA (YOUSEF et al., 2011), sendo até mil vezes mais potentes que a hidroxiuréia, o atual inibidor (SABAN; BUJAK, 2009). A RDR é uma enzima limitante envolvida na biossíntese do DNA, que catalisa a formação de deoxirribonucleotídeos dos ribonucleotídeos (ELLEDGE; ZHOU; ALLEN, 1992), sua inibição interrompe a produção de DNA e consequentemente a proliferação celular. Está envolvida na síntese do DNA, divisão de células e no mecanismo de reparação celular. Alterações na atividade dessa enzima podem estar associadas a doenças como o câncer, isto faz da RDR um alvo biológico atraente para a quimioterapia (ABRAS et al., 1990).

Segundo Bharti et al. (2003), Hang e Bertozzi (2001) as propriedades biológicas das tiossemicarbazonas são atribuídas à capacidade de formar complexos com cátions metálicos, atuando como agentes quelantes sequestrantes. Por outro lado, Greenbaum e colaboradores (2004) sugeriram que o mecanismo de ação das tiossemicarbazonas é ainda complexo e deve acontecer através da inibição de múltiplos alvos.

Complexos de paládio derivado da fenanterenoquinona tiossemicarbazona (PQTSC) mostraram notável atividade antitumoral em células mamárias cancerosas, com baixa toxicidade para as células normais (AFRASIABI et al., 2003). Pachye et al. (2005), mostrou que o complexo de paládio foi mais ativo do que complexos análogos de outros metais estudados anteriormente (Cu, Ni e Co), especialmente contra células MCF-7/DOX (células mamárias cancerosas), que exibem um alto nível de resistência contra agentes quimioterápicos convencionais. Estudos biológicos antitumorais revelaram que vários compostos de Pd^{II} com ligantes 2-acetilpiridinoN(4)-propil, N(4)-

dipropil e 3-hexametilenoiminotiossemicarbazona foram ativos em células leucêmicas P388 e L1210 (KOVALA-DEMERTZI et al., 1997).

Oliveira et al. (2019) relata estudos com complexo de paládio(II) derivado da tiossemicarbazona do tipo $[PdCl(PPh_3)(PrR)]$ (R: etil ou ciclohexil), se mostrando altamente potentes. A alteração do grupo substituinte R no ligante de tiossemicarbazona afeta a atividade antiproliferativa do complexo, como observado nos complexos derivado de ciclohexil, $IC_{50} = 7,59 \mu M$ e do derivado de etil, $IC_{50} = 0,74 \mu M$, frente a células de carcinoma do ovário humano (A2780) . Quando analisada frente a linhagem de células resistente à cisplatina por carcinoma ovariano humano (A2780Cis), mostraram que a potência do complexo com derivado de cicloexil é aumentada quando comparada à observada para A2780, com um valor de IC_{50} de $3,16 \pm 0,02 \mu M$. Já o complexo com derivados etil, perde sua potência nas células A2780Cis resistentes à cisplatina, com valor de IC_{50} de $35,8 \pm 0,8 \mu M$. Adicionalmente os complexos exibiram altos valores de IC_{50} para fibroblastos humanos (MRC5), mostrando que ambos compostos não são tóxicos contra as células saudáveis.

Vários outros complexos de paládio (II) derivados de tiossemicarbazonas com potente atividade antitumoral foram relatados (QUIROGA et al., 1999; NAVARRO-RANNINGER et al., 1996; QUIROGA et al., 1998), sua importância farmacológica é comprovada no envolvimento de íons dos metais paládio, platina e ouro (QUIROGA et al., 1998; KHANYE et al., 2010, LESSA et al., 2012). Estes complexos apresentam, de modo geral, menor nefrotoxicidade em comparação à cisplatina e seus análogos (BORCH; PLEASANTS, 1979). Diante deste cenário, fica evidente a importância da continuidade em investimentos para o desenvolvimento e em estudos de complexos derivados de tiossemicarbazonas com tais íons metálicos.

Fosfinas

Três categorias principais de compostos P(III) são conhecidos, o primeiro tipo são as trialquilfosfinas e triarilfosfinas contendo P-R (onde R é aril ou alquil); o segundo com ligações P-ER (onde E é heteroátomo, como N, O, R = aril, alquil), como os triorganofosfitos $P(OR)_3$; o terceiro contendo uma combinação dos outros dois, por exemplo, fosfonitos, $R'P(OR)_2$ e fosfinitos (R'_2POR). Também é conhecida uma variedade de compostos de fósforo (III) que contêm halogenos, que são usados principalmente como materiais de partida para a geração de outros compostos de

P(III), mas alguns também foram usados como ligantes, como PF_3 . Como resultado, os sistemas de fósforo (III) são considerados um dos ligantes auxiliares mais versáteis da química organometálica e inorgânica, constituem uma das poucas séries de ligantes nos quais propriedades eletrônicas e estéricas podem ser alteradas de uma maneira sistemática e previsível em uma faixa muito ampla, variando o substituinte R (LEEUEWEN; PIET, 2004). Assim, o grande interesse nessa classe de ligantes fosfínicos advém principalmente de sua versatilidade. A posição e os substituintes R ligados as fosfinas é considerada um dos fatores mais importantes nas propriedades da ligação com o metal, pois determinam a solubilidade, estabilidade e lipofilicidade na esfera de coordenação do centro metálico (LENERO et al., 2002).

Uma forma de avaliar quantitativamente estas propriedades para ligantes de fósforo monodentados é através dos parâmetros eletrônico (νCO) e espacial (θ), estabelecidos por Tolman em 1977. O parâmetro eletrônico é a medida do efeito das propriedades aceitadoras e doadoras de densidade eletrônica dos ligantes, alicerçado nos espectros vibracionais de complexos $[\text{Ni}(\text{CO})_3\text{P}]$. Segundo Tolman a frequência dos estiramentos simétricos das carbonilas no complexo pode ser medida com precisão suficiente para permitir a classificação sistemática dos ligantes de acordo com sua estrutura química através da correlação entre sua capacidade doadora de densidade eletrônica e de seu volume espacial (TOLMAN, 1977).

As fosfinas são ligantes de fósforo trivalente neutros, que podem se comportar como base de Lewis, usando seu par de elétrons livre e disponível para doar densidade eletrônica, formando ligações σ estáveis. Aliado a isto, possuem orbitais híbridos $3d$ e σ^* vazios, com simetria adequada para sobreposição com os orbitais t_{2g} de metais, sendo capazes de estabilizar uma retrodoação de elétrons provenientes do centro metálico, formando uma ligação π . Assim, a densidade eletrônica é sinergicamente compartilhada do $\text{M} \rightarrow \text{L}$ e $\text{L} \rightarrow \text{M}$, originando ligações mais estáveis, que tendem a se dissociarem menos em solução, uma vez que os efeitos σ -doador e π -receptor se reforçam mutuamente (GODOY NETTO, 1999). Ambos componentes são sinérgicos, ou seja, a retrodoação π do metal o faz melhor σ -aceitador, que por sua vez torna um P melhor σ -doador. A retrodoação explica a estabilização de metais em ampla gama de estados de oxidação (HARTWIG, 2010). A Figura 11 representa esta transferência de densidade eletrônica do metal para o átomo de fósforo. Um número significativo de fosfinas mono-, di- ou tridentadas, com variações na estrutura

e habilidades de coordenação, tem sido desenvolvida e preparada para aplicações diversas (BILBREY et al., 2013).

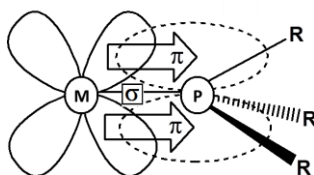


Figura 11. Esquema representativo da ligação entre metais e ligantes fosfínicos terciários.
Fonte: Autora.

O efeito estérico da fosfina foi quantificado por Tolmann (1977) e é dado por um parâmetro conhecido como ângulo de cone, θ . Ele é útil para avaliar as propriedades estéricas das fosfinas e seu comportamento de coordenação. O ângulo de cone do Tolman, pode ser definido como o ângulo do ápice de um cone cilíndrico centrado a 2,28 Å do centro do átomo de fósforo e as bordas mais externas dos átomos nos grupos R, tocando nos raios de van der Waals (BRINK, 2007) de todos os ligantes ou substituintes em todas as orientações de rotação. Complexos $[\text{Ni}(\text{CO})_3\text{L}]$, onde L é uma fosfina terciária, foram utilizados como padrão, o efeito estérico ocorre quando o tamanho ou a forma da molécula muda. Por exemplo, passando de $\text{P}(\text{p-C}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_3$ para $\text{P}(\text{o-C}_6\text{H}_4\text{CH}_3)_3$, seria esperada uma mudança no efeito estérico (MATHEW; THOMAS; SURESH, 2007), uma vez que a geometria espacial estaria maior, aumento seu tamanho e assim seu ângulo (Figura 12).

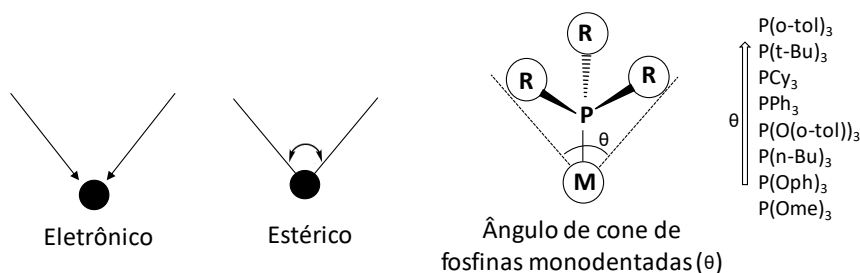


Figura 12. Definição esquemática dos efeitos eletrônicos e estéricos.
Fonte: Autora.

Assim, muito da versatilidade das fosfinas está associada ao seu impedimento estérico, pois modificando o tamanho e o caráter dos substituintes no grupo R é possível modificar os ângulos do cone de Tolmann (R-P-R), variar os ângulos entre o metal e o ligante, modificar a distância ao longo da ligação entre o metal-fósforo (M-P) e entre o metal-ligante (M-L). Variações no caráter doador dos pares de elétrons isolados do átomo de fósforo como consequência da variação entre os ângulos R-P-

R e das distâncias de ligação R-P ou M-P, favorece ou limita a coordenação de ligantes aos metais de baixo e alto estado de oxidação e até influencia a maneira como se ligam ao centro metálico, consequentemente modulam a atividade e seletividade. Intrinsecamente é difícil mudar um parâmetro sem afetar os outros, no entanto a quantificação e manipulação de parâmetros do ligante são, sem dúvida, uma das principais ferramentas de análise e desenvolvimento de novos ligantes. Mudanças convenientes do efeito eletrônico, sem sofrer muitas alterações em seus efeitos estéricos, são possíveis, como por exemplo o PBU_3 e P(OiPr)_3 que possuem efeitos estéricos similares, mas variam em seus efeitos eletrônicos. O inverso também é verdadeiro, pois o efeito estérico pode ser alterado sem provocar modificações profundas no efeito eletrônico como com o PMe_3 e o P(o-tolil)_3 , que possuem efeitos eletrônicos semelhantes, mas diferem em seus efeitos estéricos. É importante perceber que os efeitos eletrônicos podem ter importantes consequências estéricas e vice-versa. Pois, alterar os ângulos entre substituintes alterará a porcentagem do caráter s do par solitário de fósforo. A alteração da eletronegatividade dos átomos, mudando assim seus parâmetros eletrônicos, também pode afetar os ângulos e as distâncias de ligação. As energias da ligação CO no complexo $[\text{Ni(CO)}_3\text{L}]$, aumentam conforme substituintes mais retiradores de densidade eletrônica são adicionados nas fosfinas ($\text{L} = \text{fosfina} = \text{PMe}_3(1982 \text{ cm}^{-1}) < \text{PPh}_3(1990 \text{ cm}^{-1}) < \text{P(OEt)}_3(1996 \text{ cm}^{-1}) < \text{PPhCl}_2(2016 \text{ cm}^{-1})$). Portanto, os efeitos eletrônicos e estéricos estão fortemente relacionados e não são fáceis de se manipular separadamente quando tratamos de fosfinas com substituintes variados.

Outra vantagem que as fosfinas apresentam diz respeito ao fato do fósforo-31 (^{31}P) ser facilmente observado por meio da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (AMOROSO; YAP; FOGG, 2001), pois possui o isótopo ^{31}P , spin=1/2, de abundância relativa de 100% em ampla faixa de deslocamentos químicos. Esse fato aliado a análise dos deslocamentos químicos, multiplicidade e constante de acoplamento, permitem dar informações estruturais a respeito do modo de coordenação da fosfina e da própria reatividade do complexo. Mudanças no ambiente químico dos átomos de fósforo podem causar alterações nos espectros obtidos.

Desde a descoberta da atividade antiartrítica exibida pelo complexo Auranofina $[(2,3,4,6\text{-tetra-O-acetil-1-tio-}\beta\text{-D-glucopiranosato})(\text{trietilfosfina})\text{ouro(I)}]$ (Figura 13), aprovado no Estados Unidos em 1985, os estudos com ligantes fosfínicos na medicina

vêm crescendo e mostram-se promissores (QUEIROZ; BATISTA, 1996). Mais tarde foi revelado ser capaz de destruir células cancerosas em culturas e aumentar o tempo de sobrevivência de ratos com leucemia P388 (MIRABELLI et al., 1987).

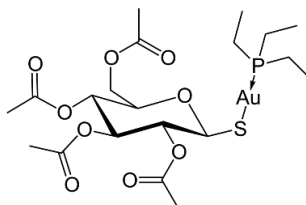


Figura 13. Estrutura da Auranofina.

Fonte: QUEIROZ; BATISTA (1996).

AYYANNAN et al. (2016) e colaboradores prepararam novos complexos de paládio como o $[Pd(L)(PPh_3)]$ e o $[Pd(L)(AsPh_3)]$ (Figura 14), utilizando o ácido 4-hidroxibenzóico(5-cloro-2-hidroxi-benzilideno)-hidrazida (H_2L). Testes biológicos realizados para estes complexos mostraram uma citotoxicidade considerável *in vitro* para câncer de colo de útero e câncer de mama. O estudo de mecanismo para estes complexos revelou uma forte interação dos mesmos com o DNA, indicando que os complexos interagem com o DNA-ct através de intercalação.

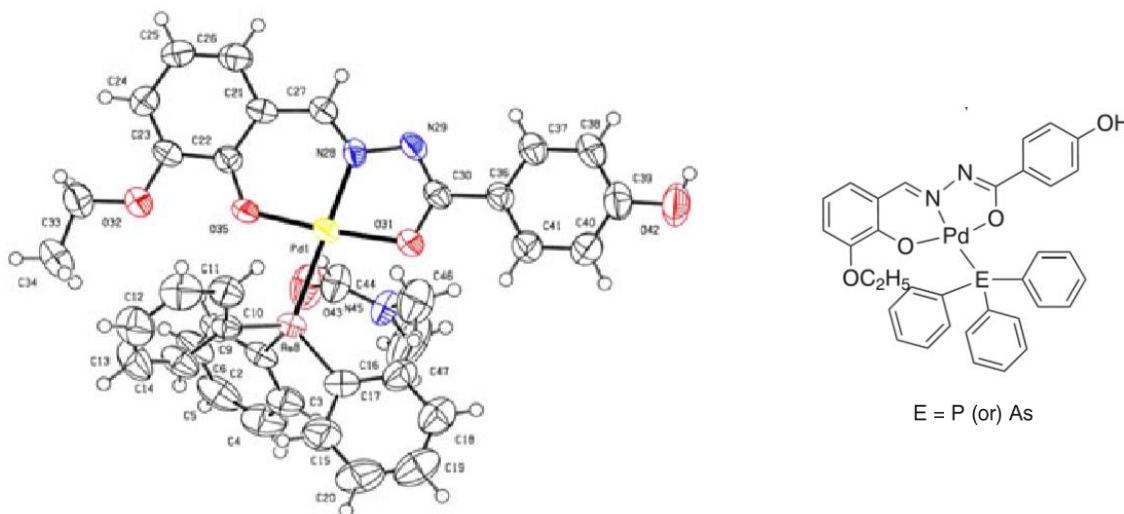


Figura 14. Estrutura molecular do complexo mononuclear.

Fonte: Adaptado AYYANNAN et al. (2016).

A utilização de ligantes fosfinicos, com anéis aromáticos, em complexos para fins quimioterápicos tendem a proporcionar melhor citotoxicidade por aumentar a lipofilicidade e, conseqüentemente auxiliar na permeabilidade através da membrana celular (QUEIROZ; BATISTA, 1996) além de exibir boa solubilidade em solventes orgânicos. Complexos contendo fosfina, tem se mostrado bastante ativos (GANDIN et al., 2010; TIEKINK, 2002; RACKHAM et al., 2007, BARREIRO et al., 2008). De acordo

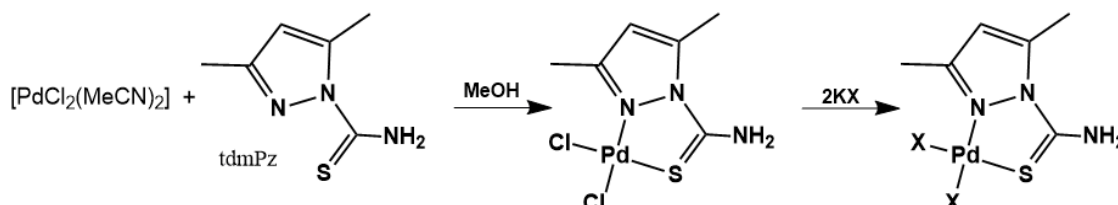
com Gandin e colaboradores (2010), complexos de ouro(I) contendo ligantes coordenados pelo átomo de enxofre e grupo fosfina apresentam melhor perfil de citotoxicidade do que seus complexos análogos contendo cloretos. A melhor citotoxicidade foi relacionada com a lipofilicidade (MIRABELLI et al.,1987), que é aumentada pela presença da fosfina, conferindo aos mesmos uma melhor penetração na membrana celular. Ligantes volumosos também são interessante sobre o ponto de vista cinético no planejamento de composto de paládio(II), pois dificulta a formação do intermediário pentacoordenado (Figura 5), diminuindo assim a cinética de substituição pelo mecanismo associativo, reduzindo assim a cinética de troca de ligantes e aumentando as chances de atingir o alvo farmacológico com a sua estrutura essencialmente intacta.

Motivação e planejamento da pesquisa

A incorporação de ligantes quelantes N,S-doadores e fosfinas monodentadas tem se mostrado uma estratégia eficiente no planejamento de complexos de paládio(II) biologicamente ativos e estáveis em solução (GONÇALVES et al, 2017; LOBANA et al., 2009a). Particularmente, tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas são empregadas com frequência para tal propósito, propiciando no aparecimento de um número significativo de complexos contendo o arcabouço “Pd(TSC)(PR₃)” (OLIVEIRA et al., 2014; MAIA et al., 2014; CHRISTLIEB; DILWORTH, 2006).

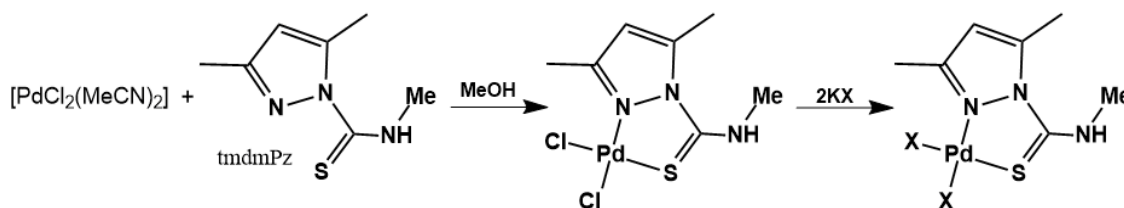
O estudo das potencialidades antitumorais de compostos de paládio é uma das linhas de pesquisa do Grupo de Química de Coordenação e Organometálicos (IQAr-UNESP). Estratégias de simplificação ou hibridação molecular têm sido empregadas tendo como ponto de partida as estruturas dos compostos bioativos descritos anteriormente pelo grupo. Tais estratégias têm nos direcionado a síntese de novos complexos, buscando detectar quais partes da estrutura são importantes para a atividade e quais não são.

Nosso interesse nessa classe de compostos de paládio iniciou-se em 2006 com a síntese e estudos da atividade citotóxica de complexos contendo 1-tiocarbamoil-3,5-dimetilpirazóis (tdmPz) como ligantes N,S-quelantes, sendo objeto de investigação da dissertação de alunos de mestrado e doutorado (ROCHA (2010); MOURA (2016); BARRA (2014)). Complexos do tipo [PdX₂(tdmPz)] (X = Cl, Br, I NCS) são obtidos a partir da reação entre o precursor [PdCl₂(MeCN)₂] e o ligante tdmPz e posterior adição de sais KX para substituição dos grupos Cl⁻ por grupos X, conforme ilustrado no esquema abaixo:



Os complexos [PdX₂(tdmPz)] apresentaram um efeito antiproliferativo moderado frente às células tumorais murinas LM3 (adenocarcinoma mamário), LMM3 (adenocarcinoma mamário com metástase no pulmão) e LP07 (adenocarcinoma pulmonar) (ROCHA et al., 2010). Objetivando estabelecer relações estrutura-atividade, nosso grupo sintetizou complexos análogos contendo o ligante *N*'-metil-3,5-

dimetil-1-tiocarbamoilpirazol (tmdmPz) (MOURA, 2016), conforme é mostrado no esquema abaixo:

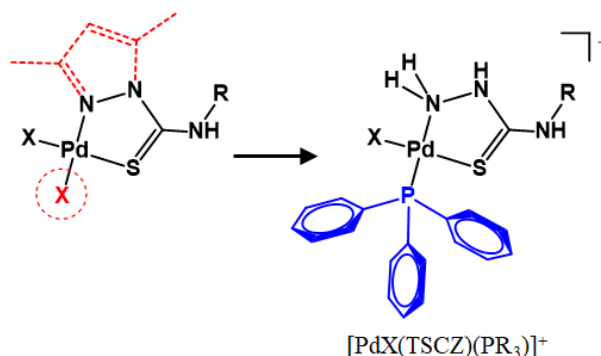


Ensaio de citotoxicidade evidenciaram que todos os compostos foram consideravelmente mais ativos (valores de IC_{50} variaram de 1,6 a 3,4 μM) contra as linhagens LM3 e LP07 que seus análogos $[\text{PdX}_2(\text{tmdmPz})]$. Alguns complexos foram capazes de interagir com o DNA na concentração de 10 μM . Entretanto, os resultados dos ensaios de citotoxicidade revelaram que todos os compostos são ativos em concentrações inferiores a 5 μM . Assim, outros alvos biológicos, além do DNA, podem estar envolvidos nos mecanismos citotóxicos destes complexos (BARRA et al., 2013).

Cabe destacar que a citotoxicidade dos complexos $[\text{PdCl}_2(\text{tmdmPz})]$ e $[\text{Pd}(\text{SCN})_2(\text{tmdmPz})]$ também foi avaliada contra as linhagens de células de carcinoma de ovário humano (A2780) e carcinoma de ovário humano resistente à cisplatina (A2780cisR) (BARRA et al., 2012). Comparado à cisplatina, o complexo $[\text{PdCl}_2(\text{tmdmPz})]$ apresentou praticamente o mesmo efeito citotóxico frente à A2780 e foi cerca de 10 vezes mais potente frente à linhagem resistente A2780cisR. O Fator de Resistência ($\text{FR} = \text{C}_{50}(\text{A2780cisR}) / \text{C}_{50}(\text{A2780})$) do $[\text{PdCl}_2(\text{tmdmPz})]$ foi de 0,9 ($\text{RF} < 1,5$), mostrando ausência de resistência cruzada. Por outro lado, o Índice Terapêutico ($\text{TI} = \text{DL}_{50} / \text{DE}_{50}$) do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{tmdmPz})]$ ($\text{TI} = 1,2$) foi menor que o da cisplatina ($\text{TI} = 4,7$), indicando que o clorido-complexo é menos seletivo que a cisplatina. Face o exposto; os complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{tmdmPz})]$ demonstraram ser tóxicos para células tumorais e células normais. A origem dessa elevada toxicidade deve estar relacionada provavelmente à presença de dois grupos abandonadores X na estrutura do complexo de paládio. No meio biológico; espera-se que esses ligantes X sejam hidrolisados para gerar espécies muito reativas e tóxicas.

Visando obter complexos mais estáveis cineticamente e, conseqüentemente, menos tóxicos, nosso grupo propôs realizar pequenas mudanças no arcabouço molecular desses complexos. A modificação inicial foi substituir um ligante aniônico (X) da estrutura dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{tRdmPz})]$ ($\text{tRdmPz} = 3,5$ -dimetil-tiocarbamoilpirazóis) por uma fosfina terciária monodentada (PR_3), como a

trifenilfosfina e a simplificação da estrutura molecular do ligante tRdmPz, gerando assim tiossemicarbazidas N,S-quelantes (TSCZ) e complexos do tipo $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PR}_3)]\text{X}$. O esquema abaixo resume as modificações estruturais e as fórmulas estruturais dos complexos obtidos.

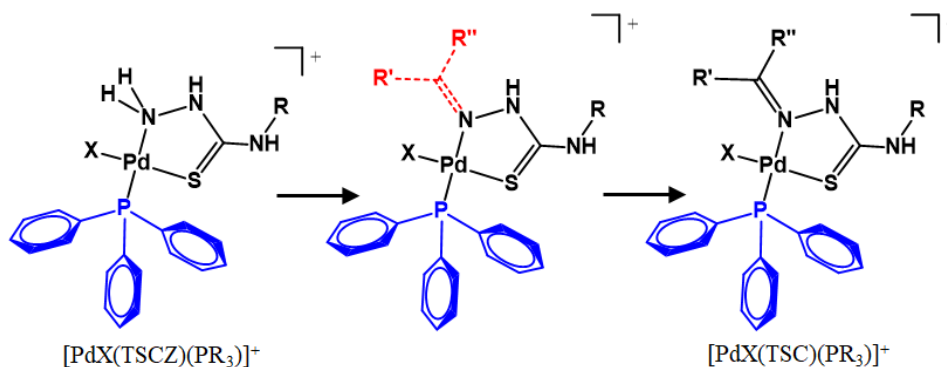


A síntese e investigação da atividade biológica dos complexos do tipo $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{X}$ { PPh_3 = trifenilfosfina, TSCZ = 4-metil-3-tiossemicarbazida (4-MeT) e a 4-fenil-3-tiossemicarbazida (4-PhT)} foi descrita alguns anos mais tarde. Os complexos $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{X}$ foram mais ativos que a cisplatina contra a linhagem LM3 enquanto que, contra a linhagem LP07; os compostos apresentaram um grau de citotoxicidade comparável ao da cisplatina. Em geral, os complexos $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{X}$ foram capazes de modificar a mobilidade eletroforética do DNA circular em concentrações elevadas (100 μM). Diante destes resultados, fica evidenciado que o DNA não deve ser o alvo principal dessa classe de complexos, pois os mesmos só foram capazes de interagir somente na concentração de 100 μM , enquanto que os índices de citotoxicidade destas moléculas variaram entre 2,79-8,84 μM e 3,56-7,11 μM frente as células tumorais LM3 e LP07, respectivamente (ROCHA et al., 2013).

Buscando investigar possíveis alvos terapêuticos desses complexos além do DNA, nosso grupo iniciou estudos de inibição das enzimas DNA-topoisomerases uma vez que estão presente em maior quantidade em células de rápida proliferação [FORTUNE & OSHEROFF, 2000], principalmente em células tumorais de pulmão, mama, próstata; sarcomas e neoplasias hematológicas [LARSEN; ESCARGUEIL; SKLADANOWSKI, 2003]. Como essas células tumorais se multiplicam mais rapidamente que as células normais, a ideia de ter estas enzimas como alvo está vinculada à maior seletividade destes agentes e consequentemente uma diminuição nos efeitos colaterais apresentados pela grande maioria dos fármacos utilizados atualmente. Os resultados indicaram que os compostos $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-MeT})]\text{I}$ e

$[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(4\text{-PhT})]\text{X}$ ($\text{X} = \text{Br}, \text{I}, \text{SCN}$) foram capazes de interromper a ação da enzima Top2 α sobre a estrutura super enovelada do DNA a partir de concentrações de 5 μM . Assim, sugere-se que a Top2 α seja um alvo em potencial destes complexos (ROCHA et al., 2016).

Considerando que o sítio da ATPase da Top2 seja um alvo promissor para esses complexos de paládio, foram realizados cálculos de ancoragem do complexo representativo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-MeT})]\text{I}$ no sítio do AMPPNP (PDB ID: 1ZXN) para auxiliar nossa compreensão sobre essa eventual competição com o ATP. Apesar da existência de interações favoráveis entre o complexo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-MeT})]\text{I}$ e o sítio de ligação, o arcabouço molecular do complexo não ocupou o bolsão do ATP de modo eficiente. Dessa forma, nosso grupo aplicou a metodologia de hibridização molecular no planejamento de novos complexos de paládio que sejam mais eficientes frente ao reconhecimento molecular do domínio ATPase. A primeira etapa objetivou substituir a tiossemicarbazida 4-MeT por uma tiossemicarbazona derivada do cinamaldeído (cTSC). A incorporação desse fragmento de cinamaldeído no átomo de N coordenado ao Pd resultaria em um efeito de inibição mais potente ao otimizar as interações com o bolsão hidrofóbico.

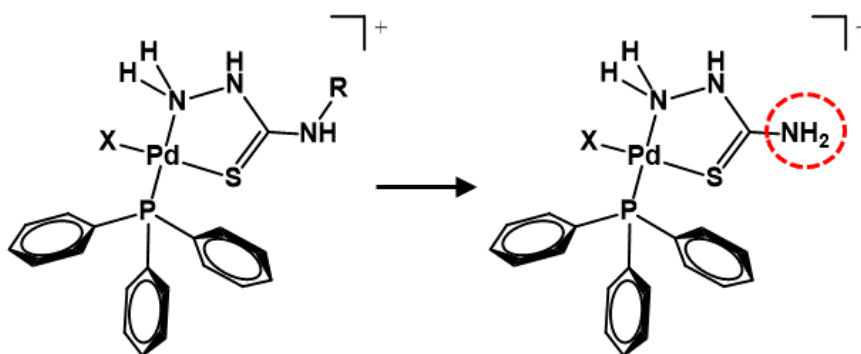


Os resultados dos ensaios de inibição da Top2 α mostraram que os complexos $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{cTSC})]\text{I}$ e $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(\text{cTSC})]\text{I}$ induziram a inibição em uma concentração de 25 μM enquanto que os complexos $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(\text{cTSC})]$ ($\text{X} = \text{NCS}, \text{NNN}$) o fizeram em 12,5 and 6,25 μM , respectivamente. A substituição do ligante 4MeT pela tiossemicarbazona não somente potencializou o efeito de inibição da Top2 α , mas também resultou em complexos mais ativos que a cisplatina ($\text{IC}_{50} = 19,6 \pm 4,2 \mu\text{M}$) contra células de câncer de mama MCF-7. Cabe destacar ainda que testes de toxicidade frente às células renais embrionárias humanas (HEK-293) foram

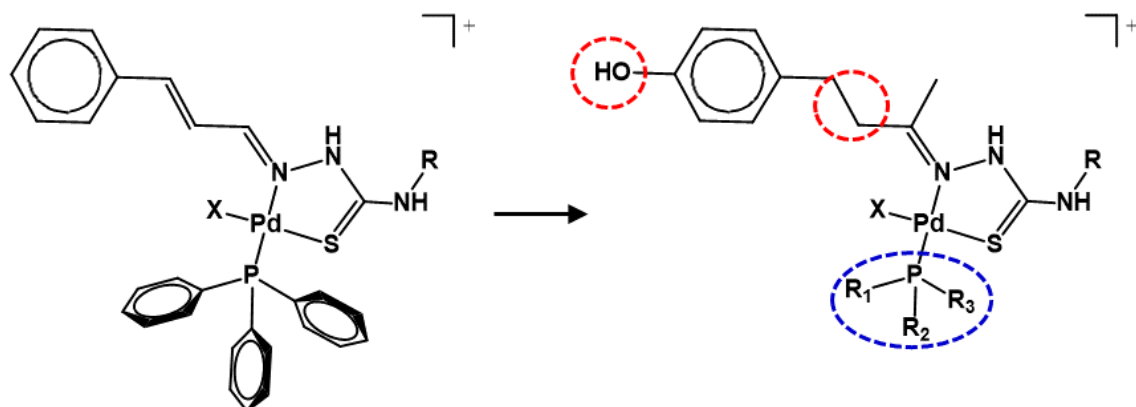
realizados, mostrando que os complexos $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(\text{cTSC})]$ ($\text{X} = \text{NCS}; \text{NNN}$) foram menos tóxicos que a cisplatina (ROCHA et al., 2019).

A partir do nosso conhecimento prévio à respeito das estruturas moleculares dos compostos de paládio descrito anteriormente, o presente trabalho tem como objetivo introduzir as pequenas variações nas estruturas dos protótipos $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-MeT})]\text{I}$ e $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(\text{cTSC})]$. A partir desse ponto, deverá ser sintetizado um determinado número de compostos análogos cuja estrutura irá apresentar pequenas variações em relação ao composto original, visando assim deduzir quais partes da molécula são importantes para a atividade citotóxica e quais não são.

Pretende-se investigar o efeito da substituição da 4-metiltiossemicarbazida (4-MeT) por uma tiossemicarbazida não substituída (TSCZ) na atividade citotóxica dos complexos do tipo $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(\text{TSCZ})]\text{X}$. Resultados anteriores na família dos complexos contendo tiocarbamoilpirazóis mostraram que a presença de um grupo metílico no nitrogênio da tioamida afeta significativamente a atividade observada:



Outra vertente do trabalho visa estudar o efeito da substituição da cinamaldeídotiossemicarbazona (cTSC) pela tiossemicarbazona derivadas da frambiona {cetona encontrada na framboesa, N-Metil-2-[4-(4-hidróxifenil)butan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotioamida (FMTSC)} na citotoxicidade dos complexos $[\text{PdX}(\text{PR}_3)(\text{FMTSC})]$.



Essa alteração tem como finalidade: i) aumentar a flexibilidade da cadeia carbônica a partir da substituição da insaturação HC=CH por $\text{-H}_2\text{C-CH}_2\text{-}$, permitindo assim uma melhor acomodação desse fragmento no bolsão hidrofílico da ATPase e da HSA; ii) acentuar a estabilização do complexo no bolsão hidrofílico de biomoléculas a partir da introdução de grupo -OH fenólico. Além disso, ancoragem do complexo no bolsão hidrofóbico do sítio da HSA pode ser potencializada pelo estabelecimento de interações mais favoráveis a partir da presença de diferentes grupos R das fosfinas terciárias (PR_3 = trifenilfosfina (PPh_3), tris(4-fluorofenil)fosfina (tfpp), tris(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tris(4-metilfenil)fosfina (tpf), 4-metilfenildifenilfosfina (dpt), difenilpropilfosfina (PPh_2Pr) e triclohexilfosfina (PCy_3)).

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Face o exposto, a presente trabalho visa sintetizar e avaliar o potencial antitumoral de compostos mononucleares de paládio (II) contendo a tiossemicarbazida (TSCZ) ou N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotiamida] (FMTSC) e fosfinas monodentadas como co-ligantes {trifenilfosfina (PPh_3), tris(4-fluorofenil)fosfina (tfpp), tris(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tris(4-metilfenil)fosfina (tpf), 4-metilfenildifenilfosfina (dpt), difenilpropilfosfina (PPh_2Pr) e triclohexilfosfina (PCy_3)}.

2.2 Objetivos específicos

- I. Sintetizar (Oliveira et al. (2012)) e caracterizar o ligante FMTSC;
- II. Sintetizar e caracterizar os complexos 1-11 por ressonância magnética nuclear utilizando como sonda isótopos de ^{31}P , ^1H , ^{13}C , análise elementar, condutividade molar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e determinação estrutural via DRX;
- III. Investigar a estabilidade química dos complexos em solução;
- IV. Investigar índice de citotoxicidade (IC_{50}) dos complexos preparados frente a célula normal (MRC-5) e linhagens tumorais (A549 e MCF-7);
- V. Avaliar interação dos complexos com DNA utilizando técnicas de espectroscopia UV-vis, dicroísmo circular e ensaio com Hoechst 33258;
- VI. Avaliar a interação dos complexos com HSA (albumina do soro humano) via dicroísmo circular e espectroscopia de fluorescência.

3. Parte experimental

A preparação do complexo precursor foi efetuada sob aquecimento, as demais reações se processam a temperatura ambiente. Os compostos obtidos são estáveis ao ar, não-higroscópicos, foram acondicionados em pequenos frascos devidamente rotulados e armazenados em dessecadores. A síntese, caracterização, viabilidade celular e a interação biológica dos compostos obtidos, envolve um entrelaçamento de técnicas e procedimentos que são descritos a seguir.

3.1 Reagentes e Solventes

As reações foram realizadas utilizando reagentes com alto grau de pureza e solventes P.A. Os mesmos foram utilizados como adquiridos, sem tratamento prévio. Suas fórmulas moleculares e procedências estão listados na Tabela 1. A 4-metil-tiossemicarbazida e as fosfinas dos complexos, foram obtidos comercialmente e usados conforme recebidos. A N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno] hidrazina-1-carbotiamida e o precursor $[PdCl_2(MeCN)_2]$ foram preparados segundo procedimentos padronizados.

Tabela 1. Reagentes e solventes utilizados.

Reagentes/Solventes	Fórmula molecular	Procedência
Albumina do Soro Humano		Aldrich
Acetona	C_3H_6O	Panreac
Acetonitrila	CH_3CN	Mallinkrodt
Ácido clorídrico	H_2CO_3	Synth
Ácido desoxirribonucleico		Aldrich
Azida de sódio	NaN_3	Merck
Brometo de potássio	KBr	Merck
Cisplatina	$PtCl_2N_2H_6$	Sigma Aldrich
Cloreto de paládio	$PdCl_2$	Degussa
Cloreto de sódio	$NaCl$	Synth
Clorofórmio	$CHCl_3$	Merck
ct-DNA		Sigma Aldrich
d ₆ -clorofórmio	$CDCl_3$	Aldrich
Dimetilformamida	C_3H_7NO	Merck
d ₆ -dimetilsulfóxido	$(CD_3)_2SO$	CIL
Dimetilsulfóxido	$(CH_3)_2SO$	Merck
Etanol	C_2H_5OH	Honeywell
Iodeto potássio	KI	Merck
Difenilpropilfosfina	$C_{15}H_{17}P$	Aldrich
Metanol	CH_3OH	Merck
Trizma	$NH_2C(CH_2OH)_3$	Aldrich
Tiocianato de potássio	KSCN	Merck
Tiossemicarbazida (TSCZ)	CH_5N_3S	Sigma-Aldrich

Triclohexilfosfina	$C_{18}H_{33}P$	Aldrich
Trifenilfosfina	$C_{18}H_{15}P$	Merck
Tris(4-fluorofenil)fosfina	$C_{18}H_{12}PF_3$	Tokio chemical
Tris(4-metilfenil)fosfina	$C_{21}H_{21}P$	Aldrich
Tris(4-metoxifenil)fosfina	$C_{21}H_{21}PO_3$	Aldrich
Trizma-HCl	C_2H_8NOCl	Sigma Aldrich
4-(4-hidrofenil)-2-butanona	$C_{10}H_{12}O_2$	Sigma
4-metil-3-tiossemicarbazida	$C_2H_7N_3S$	Aldrich
4-metilfenildifenilfosfina	$C_{19}H_{17}P$	Aldrich

3.2 Obtenção dos Complexos de Paládio

3.2.1 Síntese do complexo $[PdCl_2(MeCN)_2]$

A preparação do complexo precursor bis(acetonitrila)dicloropaládio(II), $[PdCl_2(MeCN)_2]$ (HOSSAIN; NAGAOKA; OGURA, 1996) foi realizada em um Balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados 40 mL de acetonitrila e aquecido a 80 °C. Após estabilização da temperatura foi adicionado lentamente, com auxílio de um funil de adição 2,00 g (11,3 mmol) de cloreto de paládio anidro ($PdCl_2$). A suspensão foi mantida sob agitação magnética por 4h a temperatura de 80 °C. Após período, o precipitado amarelo formado, foi isolado a partir de uma filtração simples. Rendimento 89%.

3.2.2 Síntese dos complexos $[PdX(TSCZ)(PPh_3)]Cl$, sendo X= Cl^- (1), Br^- (2), I^- (3), SCN^- (4).

O complexo de $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (1) foi preparado em um erlenmeyer de 25 mL contendo 0,050 g (0,19 mmol) de $[PdCl_2(MeCN)_2]$ suspenso em 10 mL de clorofórmio. Adicionou-se uma suspensão contendo 0,051 g (0,19 mmol) de trifenilfosfina (PPh_3) e 0,020 g (0,019 mmol) de tiossemicarbazida (TSCZ) em 3,0 mL de uma mistura $CHCl_3/MeOH$ (1:1). A mistura de reação foi mantida em agitação magnética durante 2 h. A suspensão resultante foi centrifugada e o sobrenadante foi deixado evaporar durante a noite. O sólido foi lavado com água e éter e seco in vácuo. Rendimento 83%, p.f. 137-142 °C. Os compostos $[PdBr(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (2), $[PdI(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (3) e $[PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ (4), foram obtidos por reações estequiométricas da substituição do íon cloreto (1) por equivalentes do brometo (0,045 g (0,19 mmol)), iodeto (0,063 g (0,19 mmol)) e tiocianato (0,019 g (0,19 mmol)), respectivamente em meios de metanol/água (4:1), a reação foi agitada magneticamente por mais 6 h, após foi realizado mesmo procedimento que para o (1). Rendimento 74% (2), 74% (3) e 74% (4). P.f. 144-149 (2), 95-101 (3) e 128-133 °C (4).

3.2.3 Síntese do ligante frambiona-tiossemicarbazona (FMTSC: N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotiamida).

A síntese do composto orgânico FMTSC foi realizada empregando-se uma adaptação de um procedimento já descrito na literatura por Oliveira et al. (2012), onde quantidades equimolares com 0,7 g (4,3 mmol) do reagente 4-(4-hidroxifenil)-2-butanona e 0,45 g (4,3 mmol) de tiossemicarbazida, foram misturados ainda nos estados sólidos, e então suspensos em etanol com ajuste para pH=3 utilizando ácido clorídrico. A suspensão branca foi mantida em agitação por 24h. Após, foi observado a formação de precipitado de coloração branca, a qual foi filtrada, lavada com água e seca sob vácuo com P₂O₅ no dessecador. Rendimento 82%.

3.2.4 Síntese dos complexos [PdCl(FMTSC)(PR₃)]Cl, sendo PR₃ = trifenilfosfina (PPh₃), tris(4-fluorofenil)fosfina (tfpp), tris(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tris(4-metilfenil)fosfina (tpf), 4-metilfenildifenilfosfina (dpt), difenilpropilfosfina (PPh₂Pr) e triclohexilfosfina (PCy₃).

O complexo de [PdCl(FMTSC)(PPh₃)]Cl, foi preparado em um erlenmeyer de 25 mL contendo 0,060 g (0,23 mmol) do precursor metálico [PdCl₂(MeCN)₂] e 0,058 g (0,23 mmol) de frambiona-tiossemicarbazona suspensos em 15 mL de acetonitrila, a suspensão alaranjada foi mantida sob agitação magnética por 24h. Adiciona-se então uma solução de 0,060 g (0,23 mmol) de trifenilfosfina em 3,0 mL de acetonitrila. A adição da trifenilfosfina deu origem a uma solução de cor amarela. A agitação magnética foi mantida durante mais 24 h. A solução resultante foi centrifugada e o sobrenadante foi deixado evaporar durante a noite. O sólido foi lavado com água e éter e seco in vácuo com P₂O₅ no dessecador. Rendimento 71%. P.f. 185-190°C. Os demais complexos foram obtidos seguindo o mesmo procedimento, com a modificação na fosfina adequada para cada reação, (0,073 g (0,23 mmol)) para tfpp, (0,082 g (0,23 mmol)) para tmf, (0,070 g (0,23 mmol)) para tpf, (0,064 g (0,23 mmol)) para dpt, (0,064 g (0,23 mmol)) para Cy₃ e (0,054 g (0,23 mmol)) para PPh₂Pr. Rendimento 78% (6), 74% (7), 70% (8), 68% (9), 68% (10), 72% (11). P.f. 209-216 (6), 208-215 (7), 195-202 (8), 190-195 (9), 209-216 (10), 184-189°C (11).

3.3 Caracterização dos compostos

Os compostos sintetizados foram caracterizados pelas técnicas de análise elementar de C, H e N, condutância molar, ponto de fusão, espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV), por espectroscopia de ressonância magnética nuclear

(RMN) de ^1H , ^{13}C e ^{31}P aliado ao DEPT-135 com as técnicas bidimensionais COSY, HSQC e HMBC, análise termogravimétrica e difratometria de raios X por monocristal.

3.3.1 Pesagens

As pesagens foram realizadas em uma balança analítica Mettler Toledo AB204, precisão 0,001g.

3.3.2 Análise Elementar

A determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos de paládio foram determinados no analisador Elemental Analyser 2400 CHN, série II da Perkin Elmer, na Central Analítica do Instituto de Química da USP, São Paulo.

3.3.3 Condutividade Molar

A condutividade dos complexos foi medida com o condutivímetro Digimed-DM31 usando soluções com o solvente DMF em concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.4 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão dos compostos foram determinados utilizando-se o equipamento MicroQuímica MQAPF-301.

3.3.5 Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho, foram realizados no IQ-Unesp-Araraquara pelo técnico Rafael Romano Domeneguetti, registrados em pastilhas de KBr no espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific na faixa de 4000-400 cm^{-1} .

3.3.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram realizados no IQ-Unesp Araraquara pelo Dr. Nivaldo Boralle, registrados no Espectrômetro Bruker modelo Avance III HD de 600 MHz. Foram obtidos espectros de ^1H , ^{13}C , ^{31}P , DEPT-135 (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), COSY ^1H - ^1H (homonuclear Correlation Spectroscopy), HSQC ^1H - ^{13}C e ^1H - ^{15}N (Heteronuclear Single Quantum Coherence) e HMBC ^1H - ^{13}C e ^1H - ^{15}N (Hetero Multiple Bond Correlation). Utilizou-se DMSO- d_6 ou CDCl_3 como solvente. O campo magnético utilizado foi de 14,1 T. Os espectros de ^1H RMN foram referenciados em relação ao TMS (0 ppm), DMSO- d_6 (2.50 ppm) ou CDCl_3 (7,26 ppm) e no espectro de ^{31}P pelo ácido H_3PO_4 (-310,65 ppm).

3.3.7 Análise Termogravimétrica

As curvas TG-DTA dos compostos foram realizadas no IQ-Unesp Araraquara pelo doutorando Richard Perosa Fernandes, e supervisão da Prof. Dr. Flávio Junior Caires. Empregando-se o modelo TA Instrumentes modelo SDQ 600, utilizando-se cadinhos de alumina para amostra e referência, que foram aquecidos desde a temperatura ambiente até 900 °C, obedecendo a uma razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹. Empregou-se o ar sintético como atmosfera de forno, com vazão média de 50 mLmin⁻¹. A massa das amostras utilizadas foi de aproximadamente 3 mg.

3.3.8 Difractometria de Raios X por Monocristal

As medidas de difração de raios X por monocristal dos compostos [PdCl(TSCZ)(PPh₃)]Cl (1) e [PdSCN(TSCZ)(PPh₃)]Cl (4) e dos compostos [PdCl(fmtsc)(PPh₃)]Cl e [PdCl(fmtsc)(PPh₂Me)]Cl, foram realizadas no Laboratório de Central de Análises Químicas (CAQI) do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo-USP, em colaboração com o Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon. As medidas foram coletadas em um difratômetro BRUKER APEX II Duo, equipado com duas micro fontes, de cobre e molibdênio e sistema OXFORD de baixa temperatura.

3.4 Ensaios biológicos

Ensaios biológicos foram conduzidos com o intuito de verificar a potencial atividade dos complexos sintetizados frente a diferentes tipos de células não tumorais e tumorais.

3.4.1 Determinação da viabilidade celular

Ensaios antitumorais *in vitro* da família TSCZ, envolvendo a linhagem não tumoral MRC-5 (fibroblastos do pulmão humano) e a tumoral A549 (carcinoma de pulmão humano); foram conduzidos no Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, em colaboração da pós-doc Isabel Cristiane da Silva e supervisão da Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan. As células foram obtidas da American Type Culture Collection (Manassas, VA, EUA) e incubadas em meio DMEM com suplementado com 10% de FBS e 1% de penicilina (100 µg/ml), reptomicina (100 µg/ml), incubadas por 24h à 37°C com 5% CO₂ para permitir a adesão celular. Os ensaios foram realizados com todos os compostos, os quais foram previamente diluídos em DMSO e posteriormente em meio de cultura, de tal modo que a concentração final de DMSO em solução não ultrapassou 1%. A determinação da

viabilidade celular dos compostos de Pd^{II} frente célula (MRC-5 e A549) foi quantificada pelo ensaio de redução de resazurina, que se baseia na redução do corante indicador, resazurina, na resorufina altamente fluorescente por células viáveis submetidas ao metabolismo ativo (O'BRIEN et al., 2000). As células não viáveis perdem rapidamente a capacidade metabólica de reduzir a resazurina e, portanto, não produzem um sinal fluorescente. As células foram tratadas com 0,25% de tripsina / EDTA (VitroCell, Brasil) e $2,5 \times 10^4$ células foram colocadas em cada poço de uma placa de cultura de 96 poços (Costar, EUA) em um volume total de 100 µl. As células foram deixadas aderir durante a noite e depois foram tratadas com diferentes concentrações dos complexos. Após 24 h de incubação na presença dos compostos, o meio foi removido e 50 µl de resazurina (Sigma – Aldrich) foram adicionados a cada poço a 0,01% p / v em DMEM, e as placas foram incubadas a 37 °C por 3 h. A fluorescência foi medida no leitor de placas Biotek Synergy H1 (Biotek, Winooski, VT) usando um comprimento de onda de excitação de 530 nm e um comprimento de onda de emissão de 590 nm. As células não tratadas constituíram o controle negativo (células viáveis) e as células tratadas com doxorrubicina a 100 nmol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) constituíram o controle positivo (células mortas). Todos os testes foram realizados em três ensaios independentes. Os valores de IC₅₀ representam as concentrações das amostras necessárias para inibir 50% da proliferação celular e foram calculados a partir de uma curva de calibração por curvas de regressão usando o Microsoft Excel.

Os ensaios de viabilidade para todos os complexos da família FMTSC frente as linhagens tumorais A549 (linha celular de carcinoma de pulmão humano) e MCF-7 (carcinoma de mama humano) e não tumoral MRC-5 (fibroblastos do pulmão humano), assim como os ensaios para a família TSCZ frente a MCF-7, foram conduzidos no laboratório de citotoxicidade no Departamento de Química Geral e Inorgânica do Instituto de Química de Araraquara, pela doutoranda Débora Eduarda Soares Silva. Os ensaios foram realizados com todos os compostos e com o padrão cisplatina, os quais foram previamente diluídos em DMSO e posteriormente em meio de cultura, de tal modo que a concentração final de DMSO em solução não ultrapassou 0,5%. A viabilidade celular dos compostos de Pd^{II} foi quantificada pela capacidade das células vivas reduzirem o MTT (GoldBio) (MOSMANN, 1983), que se baseia na redução do sal de tetrazólio amarelo em cristais de formazan roxo por células metabolicamente ativas. As células não viáveis rapidamente perdem a capacidade metabólica para reduzir e, portanto, não produzem os cristais. As células

foram descongeladas e cultivadas em meio DMEM (Vitrocell) enriquecido com 10% de soro fetal bovino (SFB) e acrescido de sulfato de gentamicina (50 mg/L) e anfotericina B (2 mg/L), incubadas à 37°C com 5% de CO₂ até atingir a confluência celular. Uma concentração de $1,5 \times 10^5$ células/mL foram semeadas em microplacas de 96 poços, com volume final de 100 µL, incubadas por 24h à 37°C com 5% CO₂ para permitir a adesão celular. E então, os compostos foram aplicados as placas em triplicata com tempo de tratamento de 48h. Após o período de tratamento foram adicionados 50 µL de uma solução de MTT 1 mg/mL em PBS, e depois de 3h o conteúdo da placa foi removido e 100 µL de álcool isopropílico foram adicionados a cada poço para solubilizar os cristais formados. A leitura da absorbância foi realizada no leitor ELISA Epoch (BioTek). Foram realizados dois experimentos independentes em função da concentração dos compostos. Os valores correspondentes à concentração que inibe 50% da proliferação celular (IC₅₀) dos compostos foram quantificados através da regressão não-linear de uma curva dose-resposta (log concentração da amostra x viabilidade celular) obtida com o auxílio do programa GraphPad Prism 6.

Os estudos de interação com o ácido desoxirribonucleico (DNA) e de interação com albumina do soro humano (HSA), foram conduzidos no laboratório de multiusuários no Instituto de Química de Araraquara, pela pós-doutoranda Dra. Mariete Barbosa Moreira.

Estudos de Interação com o Ácido Desoxirribonucleico (DNA)

a) Interação entre o complexo de paládio e ct-DNA via absorção UV-vísível

Os espectros eletrônicos foram registrados em um espectrofotômetro Thermo Scientific, na região de 190 a 1100 nm, foram empregadas cubetas de quartzo quadradas de caminho óptico igual a 1 cm. Foi preparada uma solução estoque de ct-DNA (calf thymus DNA) em solução tampão Tris-HCl $1,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹/ $10,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹ NaCl (pH = 7,2). A pureza do ct-DNA foi verificada por medidas de UV-vis através da razão das absorbâncias de 260 nm e 280 nm ($A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$), a qual foi observada próximo ao valor descrito na literatura de 1,85, o que indicou que o DNA está livre de proteína. A concentração da solução ct-DNA foi determinada espectrofotometricamente usando a Lei de Lambert Beer ($\epsilon_{260\text{nm}} = 6600 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$) sendo $1,21 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. O complexo de paládio em concentração fixada ($1,0 \times 10^{-5}$

molL⁻¹/DMSO), foi titulado com alíquotas da solução estoque de ct-DNA em uma faixa de concentração de $5,76 \times 10^{-6}$ - $4,03 \times 10^{-5}$ molL⁻¹.

b) Interação entre os complexos de paládio e ct-DNA via dicroísmo circular

Os espectros de dicroísmo circular do DNA na presença dos complexos de paládio foram obtidos em um espectropolarímetro Jasco, modelo J 815, na região de 216 -300 nm, com velocidade de varredura de 100 nm/min e 8 acumulações. A solução estoque de ct-DNA foi preparada em solução tampão Tris-HCl $1,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹/ $10,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹ NaCl (pH = 7,2) em concentração fixa de $7,53 \times 10^{-5}$ molL⁻¹. Foram adicionadas alíquotas crescentes do complexo de paládio em concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹ de modo que as razões molares (r) foram 0,02; 0,04; 0,05; 0,07 e 0,09. $r = [\text{complexo}]/[\text{DNA}]$.

c) Ensaio de Fluorescência com Hoechst 33258

A concentração de DNA foi mantida fixa em $8,35 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão tris-HCl (10 mM Tris-HCl / 100 mM NaCl em pH 7,2) e do Hoechst em $8,35 \times 10^{-6}$. A concentração da solução estoque dos complexos foi de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em DMSO. Uma amostra de 3 mL da solução de DNA e Hoechst foi titulada com alíquotas sucessivas de soluções de compostos ($1,6 \cdot 10^{-3}$ - 0,014 mol.L). Os espectros de emissão foram registrados na região de 358-660 nm (λ_{ex} = comprimento de onda de excitação de 338 nm) usando um fluorímetro acoplado a um espectropolarímetro modelo J815 da Jasco. As amostras foram incubadas por 5 minutos a 25°C.

Estudos de Interação com Albumina do Soro Humano (HSA)

a) Interação entre os complexos de paládio e HSA via dicroísmo circular

Os espectros de dicroísmo circular (CD) da solução de HSA ($5,0 \times 10^{-6}$ molL⁻¹) em tampão fosfato (pH 7,4) foram registrados na ausência e presença do complexo ($0-2,0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹) usando um espectropolarímetro Jasco, modelo 815 J, na faixa de 260 a 195 nm com taxa de varredura de 100 nm/min, 6 acumulações, em temperatura ambiente.

b) Interação entre os complexos de paládio e HSA via Espectroscopica de Fluorescência

Os espectros de emissão da HSA foram registrados usando cubetas de quartzo de 1 cm caminho ótico, em acessório de fluorescência de espectropolarímetro Jasco,

modelo J 815 (largura das fendas de excitação e de emissão: 5 nm). As amostras, em concentração de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, foram excitadas em 280 nm e as leituras de emissão de fluorescência foram realizadas na faixa entre 300 e 550 nm após 5 minutos. Os espectros de emissão foram obtidos nas temperaturas de 25 e 37°C.

A solução de albumina do soro humano foi preparada em solução tampão de Tris-HCl (pH = 7,2) na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Posteriormente esta mesma solução foi diluída para obter concentração final de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Foi preparada solução do complexo de paládio em DMSO na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Em uma cubeta contendo 3 mL da solução da proteína, foram adicionadas alíquotas da solução do complexo de paládio, em uma faixa de concentração inicial estequiométrica até o excesso do composto. A porcentagem de co-solvente utilizado não ultrapassou 2%, sendo mantida a integridade da proteína. Inicialmente foi registrado um espectro da albumina livre e em seguida foram registrados espectros das misturas de complexos e proteína em intervalos de cinco minutos. Na aquisição dos espectros de emissão de fluorescência da proteína foi utilizado comprimento de onda de excitação de 280 nm, as leituras foram realizadas na faixa entre 300 e 550 nm e os espectros de emissão foram obtidos nas temperaturas de 25 e 37°C. As medidas da intensidade de fluorescência foram corrigidas de acordo com a seguinte equação: $F_{\text{corrigida}} = F_{\text{Obs}} e^{\frac{A_{\text{emissão}} + A_{\text{excitação}}}{2}}$. Sendo F_{Obs} a intensidade de fluorescência medida experimentalmente, $A_{\text{emissão}}$ a absorbância no comprimento de onda do máximo de fluorescência e a $A_{\text{excitação}}$ é a absorbância para o comprimento de onda de excitação.

4. Resultados e discussão

A caracterização dos organometálicos por diferentes técnicas é essencial para dar robustez nos resultados encontrados, no evidenciar a formação dos compostos e o seu modo de coordenação. A análise elementar nos fornece informações sobre a fórmula mínima da molécula, a espectroscopia vibracional no infravermelho e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{31}P permitiram elucidação dos aspectos estruturais, assim como suas disposições e os modos que eles se correlacionam, já a difratometria de raios X por monocristal é categórica ao fornecer informações geométricas dos complexos no estado sólido, auxiliando na elucidação dos compostos sintetizados neste trabalho.

A tese está dividida para maior clareza, facilidade de leitura e comparação dos resultados entre as famílias de tiossemicarbazida (TSCZ) com complexos do tipo $[\text{PdX}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$, $\text{X}=\text{Cl}^-$, Br^- , I^- ou SCN^- e a família da frambionatiossemicarbazona (FMTSC) com $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PR}_3)]\text{Cl}$, $\text{PR}_3=\text{PPh}_3$, tfpp, tmf, tpf, dpt, PPh_2Pr e PCy_3 . Além disso, somente alguns espectros são apresentados como exemplos durante a tese, os demais estão presentes nos apêndices localizados no final desta tese. A formação dos compostos foi evidenciada visualmente pela mudança de cor e confirmadas, posteriormente, com o auxílio de algumas técnicas. Todos os compostos são sólidos, estáveis ao ar e possuem coloração que varia do amarelo ao vermelho. São solúveis em dimetilformamida e dimetilsulfóxido e pouco solúveis em metanol, etanol, acetona e clorofórmio.

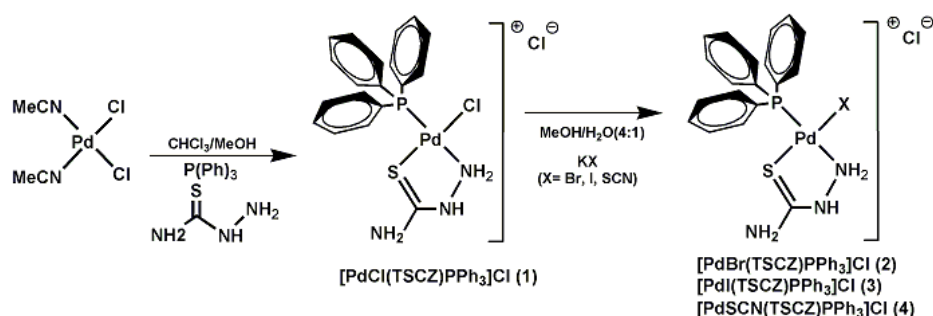
4.1 Família Tiossemicarbazida (TSCZ)

4.1.1 Sínteses

As reações entre precursor e ligantes na síntese dos complexos de 1-4 ocorreram em temperatura ambiente, sem necessidade de conduzir as sínteses em atmosfera inerte ou proteção contra a luz. Os complexos catiônicos foram obtidos a partir de sínteses entre o composto precursor $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$, o ligante TSCZ (tiossemicarbazida) (Esquema 1) com a trifenilfosfina (PPh_3). A elevada labilidade dos ligantes acetonitrila e cloreto presentes na esfera de coordenação do precursor o deixa suscetível a reações de troca de ligantes. A obtenção dos complexos envolveu essencialmente a troca dos ligantes acetonitrila e cloreto pelo ligante N-S doadores e

pela trifenilfosfina. A formação de um anel quelato de cinco membros favorece a formação dos complexos desejados, em parte devido ao aumento da entropia, uma vez que na reação de formação, cada ligante bidentado substitui dois ligantes monodentados, aumentando número de íons em solução, o que resulta em aumento de entropia (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007). Aliado ao efeito cinético, uma vez que reações de substituição ocorrem geralmente de forma mais lenta para os quelantes quando comparada a de um ligante monodentado, as explicações para esse efeito baseiam-se na energia necessária para retirar o primeiro átomo coordenado e a probabilidade da reversão dessa primeira etapa (MIESSLER; TARR, 2004).

Esquema 1. Rota sintética dos complexos 1 a 4.



As fosfinas são ligantes π -aceitadores, ou seja, apresentam a característica de interagir com o centro metálico, a partir do par de elétrons livres, formando uma ligação σ mas também comportam-se como π -aceitadores, ou seja, são capazes de acomodar densidade eletrônica retrodoada pelo centro metálico devido à existência de orbitais de simetria adequada no átomo de fósforo. Sendo assim, espera-se que a trifenilfosfina se coordene de maneira *trans* ao átomo de nitrogênio, visto que a situação inversa incorre em uma competição entre os átomos de S e P pelos elétrons disponíveis na subcamada d do átomo metálico, enfraquecendo ambas ligações Pd-S e Pd-P (VICENTE et al., 1999). Além disso, a afinidade descrita pela dureza e maciez de ácidos e bases de Pearson, diz que o fósforo, uma base macia, tende a interagir, preferencialmente a um ácido macio, como o paládio, favorecendo a reação.

Na família das tiossemicarbazidas, uma segunda etapa envolveu a substituição do ligante aniônico, respeitando suas afinidades pelo Pd^{II} , deslocando assim o cloreto por brometo, iodeto ou tiocianato (PEARSON, 1968). A substituição ocorreu devido à maior nucleofilicidade apresentada por estes ligantes em relação ao cloro (ATKINS et al., 2010) e também por serem bases de Pearson mais moles que o ânion a ser trocado, uma vez que o íon de Pd^{II} é um ácido mole possuindo uma maior tendência em se ligar a bases moles (PEARSON, 1968).

4.1.2 Análise Elementar e Condutividade Molar

Os resultados das análises elementares e condutividade molar dos compostos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Dados da análise elemental e condutividade molar dos complexos 1-4.

Composto	% C(calc)	% H (calc)	% N (calc)	Cond. Molar
[PdCl(TSCZ)(PPh ₃)]Cl (1)	43,87 (43,00)	3,89 (3,80)	6,01 (7,92)	25,5
[PdBr(TSCZ)(PPh ₃)]Cl.½CHCl ₃ (2)	36,22 (36,89)	4,12 (3,25)	6,92 (6,62)	17,6
[PdI(TSCZ)(PPh ₃)]Cl.CHCl ₃ (3)	31,60 (32,39)	2,74 (2,85)	5,81 (5,67)	30,2
[Pd(SCN)(TSCZ)(PPh ₃)]Cl.½CHCl ₃ (4)	39,97 (40,16)	3,12 (3,37)	10,73 (9,14)	39,3

Os resultados de análise elemental encontrados mostram que a porcentagem encontrada para cada elemento concorda com a estequiometria acima propostas para os compostos catiônicos do tipo [PdX(TSCZ)(PPh₃)]Cl, X=Cl⁻ (1), Br⁻ (2), I⁻ (3) ou SCN⁻ (4).

As medidas de condutividade para os complexos 1-4 foram obtidas em solução de DMF de concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ e esta apresentada no Gráfico 1.

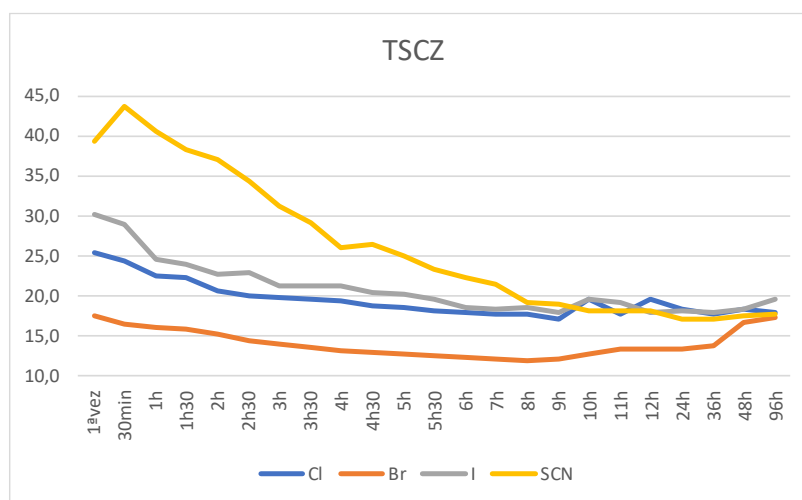


Gráfico 1. Dados de condutividade molar dos complexos 1-4, em DMF de concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A condutividade dos complexos em solução foi verificada através do acompanhamento das condutividades molares em DMF durante 96h (Gráfico 1), a temperatura ambiente ($T \sim 25^\circ \text{C}$) logo após o preparo das soluções ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Velho (2006) reporta que complexos metálicos que atuam como eletrólitos do tipo 1:1 em DMF devem apresentar valores de condutividade na faixa de $37 - 122 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.

Os complexos derivados de tiosemicarbazida (1-4) apresentam faixa de condutividade de 25,5 a 39,3 $\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$. Acreditando que todos os compostos se comportem de maneira semelhante, sendo a maioria compatíveis com as soluções condutoras, os caracterizamos assim como de natureza de eletrólitos 1:1, indicando a presença de contra íon, mostrando que são complexos catiônicos. O valor encontrado para alguns dos complexos se apresenta como abaixo do padrão de referência, mas isso pode ser resultado de uma baixa mobilidade iônica de alguns compostos em solução. Vale destacar, que os complexos demostram ser quimicamente estáveis em solução de DMF.

4.1.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

A espectroscopia de absorção no infravermelho (IR) mede a quantidade de radiação absorvida por moléculas na região do IV, em função da frequência, sendo definida como a interação entre a matéria e a luz. É uma técnica útil para a determinação, identificação e análise estrutural de uma variedade de compostos inorgânicos e orgânicos puros, visto que, todas as espécies moleculares (exceto O_2 , N_2 e Cl_2) absorvem radiação infravermelha (SKOOG et al., 2013), essa energia absorvida altera o estado dos átomos dentro da molécula, essas mudanças geralmente são manifestas em alterações na frequência e amplitude das vibrações moleculares, que podem ser medidas e plotadas para produzir um espectro infravermelho. Para que ocorra absorção da radiação infravermelha é necessário que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula (magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga) como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional.

O objetivo dessa técnica é a determinação de grupos funcionais de um determinado composto. Como cada grupo funcional absorve em frequência característica de radiação no IV, se torna possível prever e caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou material desconhecido, através do espectro de absorção da amostra (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Uma molécula pode ser identificada comparando seu espectro de absorção no IV com um banco de dados de espectros.

Tiosemicarbazidas com seus derivados assim como as fosfinas apresentam bandas características na região do infravermelho. Quando esses ligantes interagem

com centros metálicos esperam-se alterações nestas bandas, por exemplo deslocamento, surgimento e/ou desaparecimento de algumas delas. Assim, os espectros de absorção na região do infravermelho oferecem informações que evidenciam a complexação dos ligantes. As atribuições foram baseadas em comparações com os espectros dos ligantes e dados da literatura.

Na série da tiossemicarbazida (TSCZ), os compostos orgânicos que contêm um grupo tioamida (HNCS) dão origem a quatro bandas características no IV, que são conhecidos como bandas “tioamida”. A banda tioamida I aparece próximo de 1500 cm^{-1} , possuindo contribuição dos modos vibracionais δNH , δCH e $\nu\text{C-N}$. A banda tioamida II ocorre na região de 1200 e 1300 cm^{-1} , apresenta contribuição dos modos vibracionais $\nu\text{C-N}$, δNH , δCH e $\nu\text{C=S}$. A banda tioamida III em torno de 1000 cm^{-1} , corresponde à contribuição dos modos vibracionais $\nu\text{C-N}$, $\nu\text{C=S}$. Já a banda tioamida IV ($850\text{-}700\text{ cm}^{-1}$) tem contribuição significativa do modo $\nu\text{C=S}$ (SINGH; THAKUR, 1974). A observação das alterações dessas bandas é de suma importância no entendimento do modo de coordenação dos ligantes utilizados.

As tiossemicarbazidas sofrem tautomerismo e podem co-existir nas formas de tiona (C=S) ou tiol (S-H), a banda de absorção tiol $\nu(\text{S-H})$ localiza-se na região do espectro de infravermelho na faixa de $2500\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ com intensidade forte (TENÓRIO et al., 2005). Já a predominância da forma tiona $\nu(\text{C=S})$ ocorre entre $1250\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$ (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006), sendo uma banda com baixa intensidade. A Figura 15 ilustra os espectros no IV da tiossemicarbazida livre (TSCZ) e dos complexos 1-4. Para facilitar o entendimento dos espectros, as atribuições das frequências vibracionais presentes na TSCZ e nesses complexos são mostradas na Tabela 3.

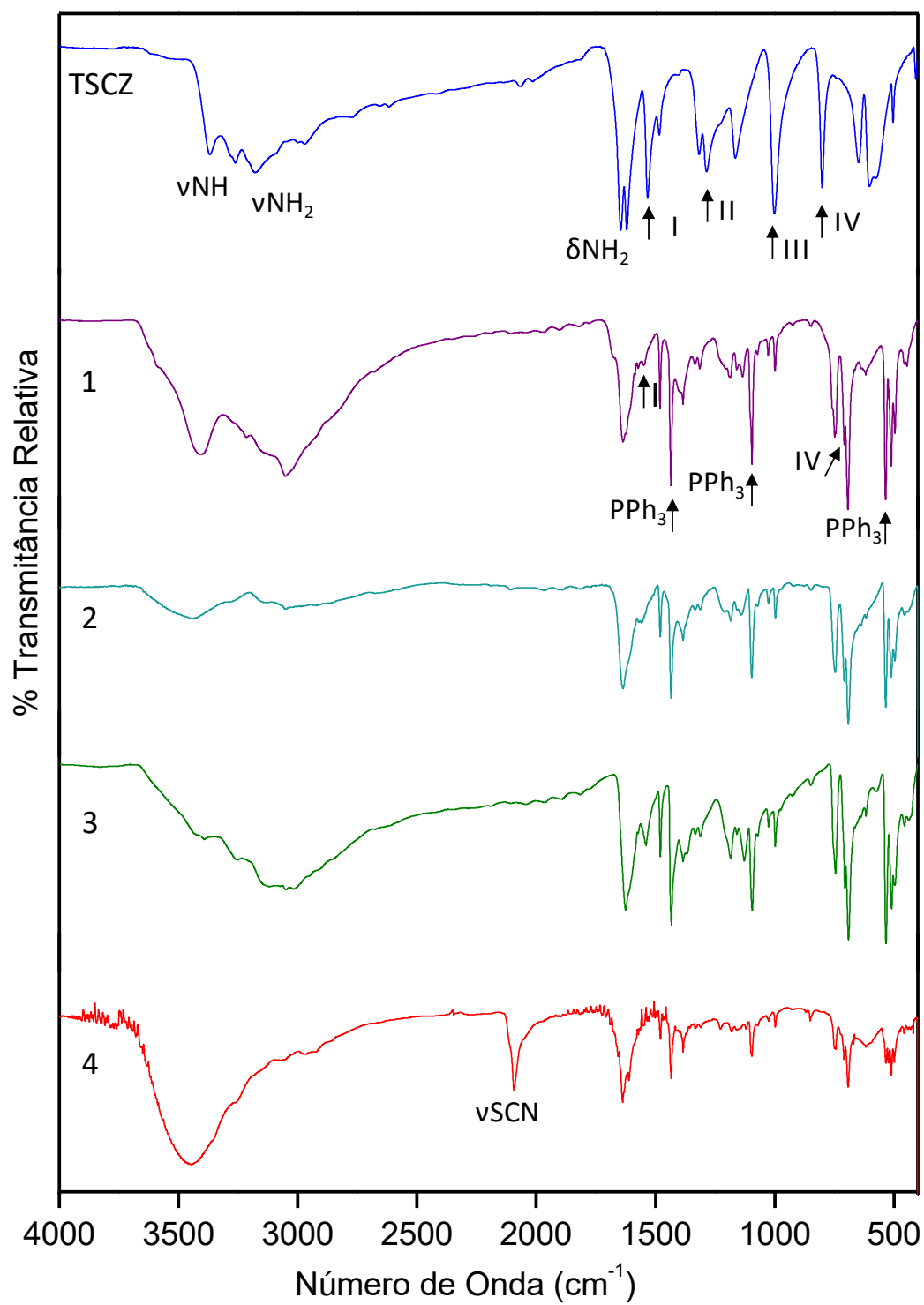


Figura 15. Espectros vibracionais na região do IV para o ligante TSCZ e os compostos 1-4.
Fonte: Autora.

Tabela 3. Atribuição das principais frequências presentes nos espectros no IV dos compostos [PdX(TSCZ)PPh₃]Cl, X= Cl⁻ (1), Br⁻ (2), I⁻ (3) e SCN⁻ (4).

Atribuição	Frequência / cm ⁻¹				
	TSCZ	1	2	3	4
$\nu_{as}NH_2$	3370 F	3391 F	3393 F	3393 F	3387 F
ν_sNH_2	3266 F	3215 F	3276 F	3270 F	3266 F
$\nu_{as}NH$	3179 F	3141 F	3168 F	3136 F	3137 F
ν_sNH	2970 F	3055 F	3052 F	3019 F	3080 F
$\nu CH_{aromático}$	-	2665 m	2647 m	2655 m	2679 m
νSCN	-	-	-	-	2107 mF
δNH_2	1644 F	1635 F	1638 F	1625 F	1640 F
$\delta NH + \nu C=N$ (Tioamida I)	1533 F	1565 f	1557 f	1549 f	1556 f
$\nu CC_{aromático}$	-	1483 m	1481 m	1478 m	1478 m
$\nu CC_{aromático}$	-	1434 m	1433 m	1426 m	1436 m
$\nu C=N + \delta NH + \nu C=S$ (Tioamida II)	1287 m	1134 f	1185 f	1130 f	1144 f
$\nu P-Ph$	-	1102 F	1095 F	1092 F	1097 F
$\nu C=N + \nu C=S$ (Tioamida III)	1001 F	992 f	994 f	996 f	997 f
γ_{anel}	-	749 m	749 m	744 m	744 m
νCS (Tioamida IV)	800 F	709 f	710 f	705 f	715 f
β_{anel}	-	691 m	692 m	691 m	687 m
δPPh_3	-	534 f	538 f	534 f	534 f
δPPh_3	-	515 f	509 f	510 f	506 f

ν_{as} =estiramento assimétrico, ν_s = estiramento simétrico, δ = deformação angular, γ = deformação fora do plano, β = deformação no plano.

Intensidades: mF= muito forte, F= forte, m= média, f = fraca

O espectro no infravermelho do ligante livre TSCZ (Figura 15) é caracterizado por bandas larga na região 3270-3266 cm⁻¹ atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétricos do (NH₂) da tioamida, o valor em 3179-2970 cm⁻¹ corresponde aos $\nu(N-H)$. A banda intensa e estreita correspondente à deformação tesouro δNH_2 aparece em 1644 cm⁻¹ e o estiramento fraco $\nu(C=S)$ aparece em duas regiões no espectro, em 1110-1001 cm⁻¹, relativa ao estiramento $\nu(C=S)$ acoplado com o fragmento N-C-N (WILES et al., 1967) e 800-846 cm⁻¹, que representa melhor o estiramento $\nu(C=S)$ (OFFIONG; MARTELLI, 1997). A ausência da banda de S-H (tiol), observada em geral entre 2500–2600 cm⁻¹ e a presença da banda de C=S em 1287 cm⁻¹ no ligante livre e na faixa 1130-1185 cm⁻¹ para os complexos confirma que as estruturas de todas as tiossemicarbazidas no estado sólido se encontram na forma tiona (BHARTI et al., 2002; FEHLHAMMER; DAHL, 1972).

Nos espectros dos complexos 1-4, é possível observar bandas oriundas do ligante TSCZ, da PPh₃, indicando que ocorreu a formação dos complexos.

Deslocamentos de algumas absorções nos espectros dos complexos são importantes para aferir o modo de coordenação dos ligantes, a deformação angular do grupo NH_2 se encontra deslocada para região de $1625\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$, o que representa uma frequência mais baixa do que no espectro do ligante livre (1644 cm^{-1}), esse deslocamento de bandas é resultado de uma alteração da intensidade e da força de ligação entre os átomos, então, indica que ocorre um enfraquecimento da ligação NH devido à doação de pares de elétrons livres do nitrogênio para o metal. Esta redução é atribuída à coordenação do nitrogênio com o metal (LESSA; BERALDO, 2011; PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011). O mesmo fenômeno ocorre com a banda da Tioamida IV referente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{S})$, importante banda que sofre deslocamento para baixa frequência ocorrendo na faixa de $705\text{-}715\text{ cm}^{-1}$ para os complexos, neste caso, este modo vibracional tem um decréscimo em sua energia devido à interação Pd-S , o enxofre ao doar densidade eletrônica ao metal enfraquece a ligação $\text{C}=\text{S}$, indicando coordenação do metal pelo átomo de enxofre (LESSA; BERALDO, 2011; PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011; REIS et al., 2010). Estes deslocamentos das bandas nos espectros dos complexos evidenciam a coordenação do ligante tiossemicarbazida ao paládio de modo bidentado via átomo de enxofre e nitrogênio do grupo NH_2 (1).

No espectro do composto 4 aparecem a banda intensas atribuída ao estiramento do grupo tiocianato ($\nu\text{C-N}$), este pode se coordenar ao metal através do átomo de nitrogênio, originando os complexos isotiocianato ($2100\text{-}2050\text{ cm}^{-1}$), pelo átomo de enxofre, formando os complexos tiocianato ($2125\text{-}2110\text{ cm}^{-1}$), ou por ambos (M-NCS-M) ($2165\text{-}2100\text{ cm}^{-1}$), estabelecendo uma ponte entre os centros metálicos (GOLUB; KOHLER; SKOPENKO, 1986). As coordenações são atribuídas de acordo com as posições espectrais em que se encontram as bandas, já que cada íon apresenta vibrações em regiões bem características no espectro de IV. Assim, no complexo 4 o estiramento em 2107 cm^{-1} é atribuído ao estiramento do grupo tiocianato (SCN) quando coordenado pelo átomo de enxofre de modo S-terminal (BAILEY et al., 1971).

A coordenação da trifenilfosfina ao metal é evidenciada devido à presença de suas bandas características na região de $1426\text{-}1483\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento do anel aromático ($\nu\text{C}_{\text{aromático}}$), $1102\text{-}1097\text{ cm}^{-1}$ ($\nu\text{P-fenil}$) e a vibração de dobramento C-H fora do plano em anel aromático monosubstituído é encontrado em $538\text{-}506\text{ cm}^{-1}$ ($\delta\text{CH}_{\text{aromático}}$) (PAULING, 1960).

4.1.4 Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C

A espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C foram empregadas com a finalidade de auxiliar na caracterização estrutural do ligante e dos quatro complexos derivados da tiossemicarbazida. Todos os espectros foram obtidos em $\text{DMSO-}d_6$ e adquiridos em 600MHz e 14,1 T. Os sinais foram atribuídos de acordo com a numeração do esquema representado pela Figura 16.

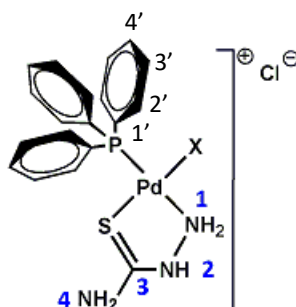


Figura 16. Numeração das posições dos átomos de ligante TSCZ e dos complexos 1-4.
Fonte: Autora.

As atribuições dos deslocamentos químicos RMN de ^1H e ^{13}C para o ligante TSCZ e para os complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2), $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3) e $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4) se encontram na Tabela 4. A Figura 17 apresenta o espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do ligante TSCZ.

Tabela 4. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C , do ligante TSCZ e dos complexos 1-4

Atrib.	Deslocamento químico / ppm				
	TSCZ	1	2	3	4
$^1(\text{NH}_2)$	4,49 s	8,53 sl	8,52 sl	8,38 sl	8,68 sl
$^4(\text{NH}_2)$	^1H 7,55/7,19 s	8,40 s	8,35 s	8,38 s	8,24 s
$^2(\text{NH})$		11,20 s	11,16 s	11,15 s	11,18 s
PPh_3	-	7,54/7,65 m	7,46/7,54 m	7,58/7,65 m	7,60/7,67 m
$\text{C}=\text{S}$	181,17	177,63	178,24	177,53	177,28
$1'$	-	128,62	128,98	130,18	127,26
$2'$	^{13}C	134,03	134,51	134,31	134,01
$3'$		128,85	129,34	128,79	129,25
$4'$		131,86	132,29	131,79	132,38
SCN	-	-	-	-	79,22

s = singleto; sl =singleto largo; m = multipeto

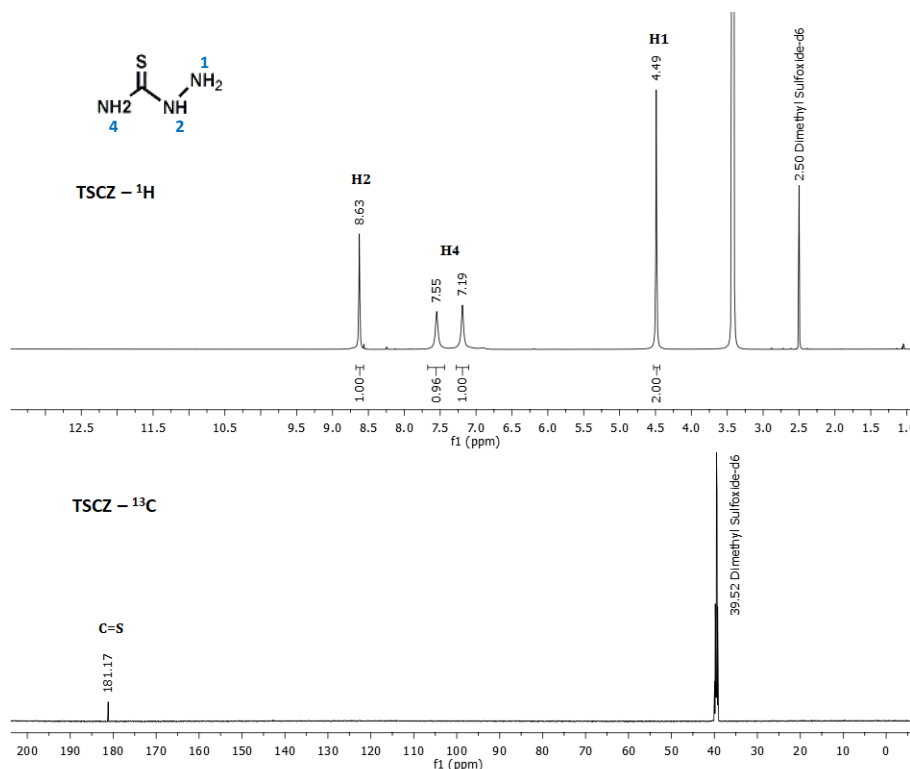


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do ligante TSCZ, em $\text{DMSO-}d_6$.

Fonte: Autora.

O espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H do ligante livre TSCZ (Figura 17) mostra um conjunto de três sinais. O aparecimento de dois singletos em 7,55 e 7,19 ppm são associados ao grupo NH_2 (4), um singlete em 4,49 ppm atribuído ao grupo amina da posição 1, enquanto que o átomo de hidrogênio do grupo NH (2) está associado ao sinal alargado em 8,63 ppm.

O sinal de hidrogênio da posição 4 aparece como dois singletos em 7,55 e 7,19 ppm, devido à restrição na rotação desse grupo ao longo do eixo da ligação. Este fenômeno pode ser explicado pela planaridade de tiossemicarbazidas não substituídas, como relatou Casas; Tasende e Sordo (2000), permitindo uma maior sobreposição dos orbitais não-ligantes causando dessa forma a deslocalização dos elétrons π do par isolado do nitrogênio, fazendo com que a ligação C-N (4) não possua caráter de ligação simples (ELSAYED et al., 2010), desta forma, torna os hidrogênios diastereotópicos (TARASCONI et al., 2000; JOAUD et al., 2001). De fato, segundo um modelo proposto por Wiberg e Rablen (1995), a ressonância de tioamidas pode ser representada pelas estruturas 1 e 2 (Figura 18).

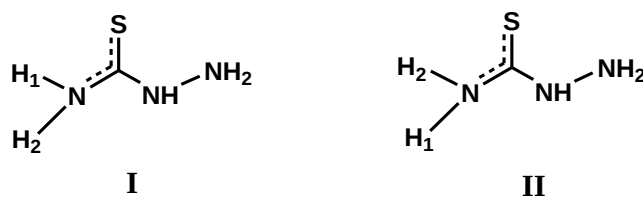


Figura 18. Estruturas de ressonância de tioamidas possíveis para o ligante TSCZ.
Fonte: Adaptado WILBERG e RABLEN (1995).

Além destes, o espectro apresenta outros dois sinais, em 2,50 ppm e em 3,35 ppm, referentes ao próprio solvente e a água, respectivamente (SILVERSTEIN;WEBSTER;KIEMLE, 2006). O espectro de RMN de ^{13}C fornece informação direta sobre a estrutura de carbono da molécula. O sinal C=S observado no 181,17 ppm é característico para o grupo tiocarbonilo presente no ligante.

Para os complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2) $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), as atribuições dos deslocamentos químicos RMN de ^1H e ^{13}C e as correlações observadas se encontram na Tabela 4. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos complexos 1-4 estão representados pelas Figuras 19 e 20, respectivamente.

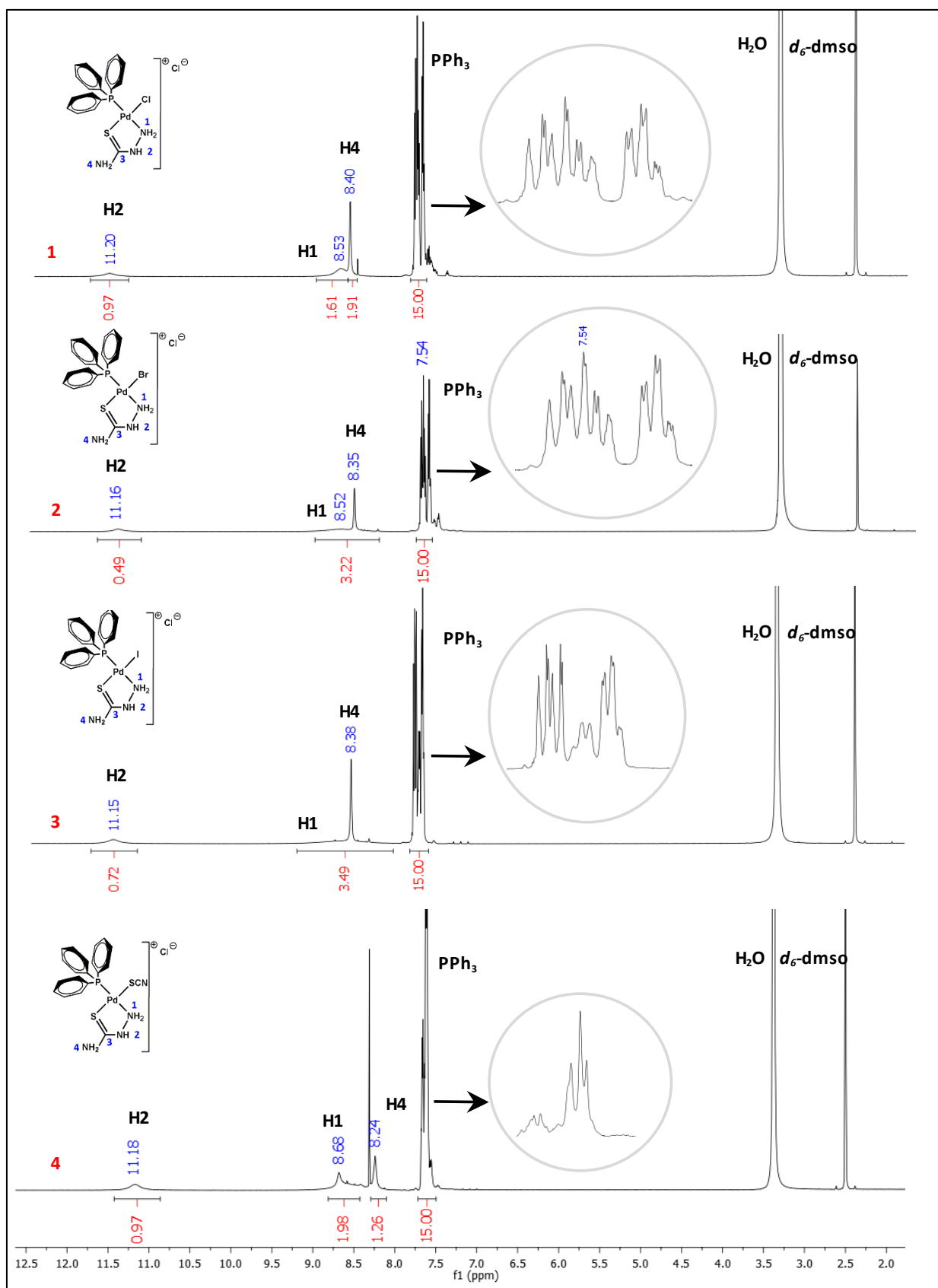


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H dos complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdB}r(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2) $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), em $\text{DMSO-}d_6$.

Fonte: Autora.

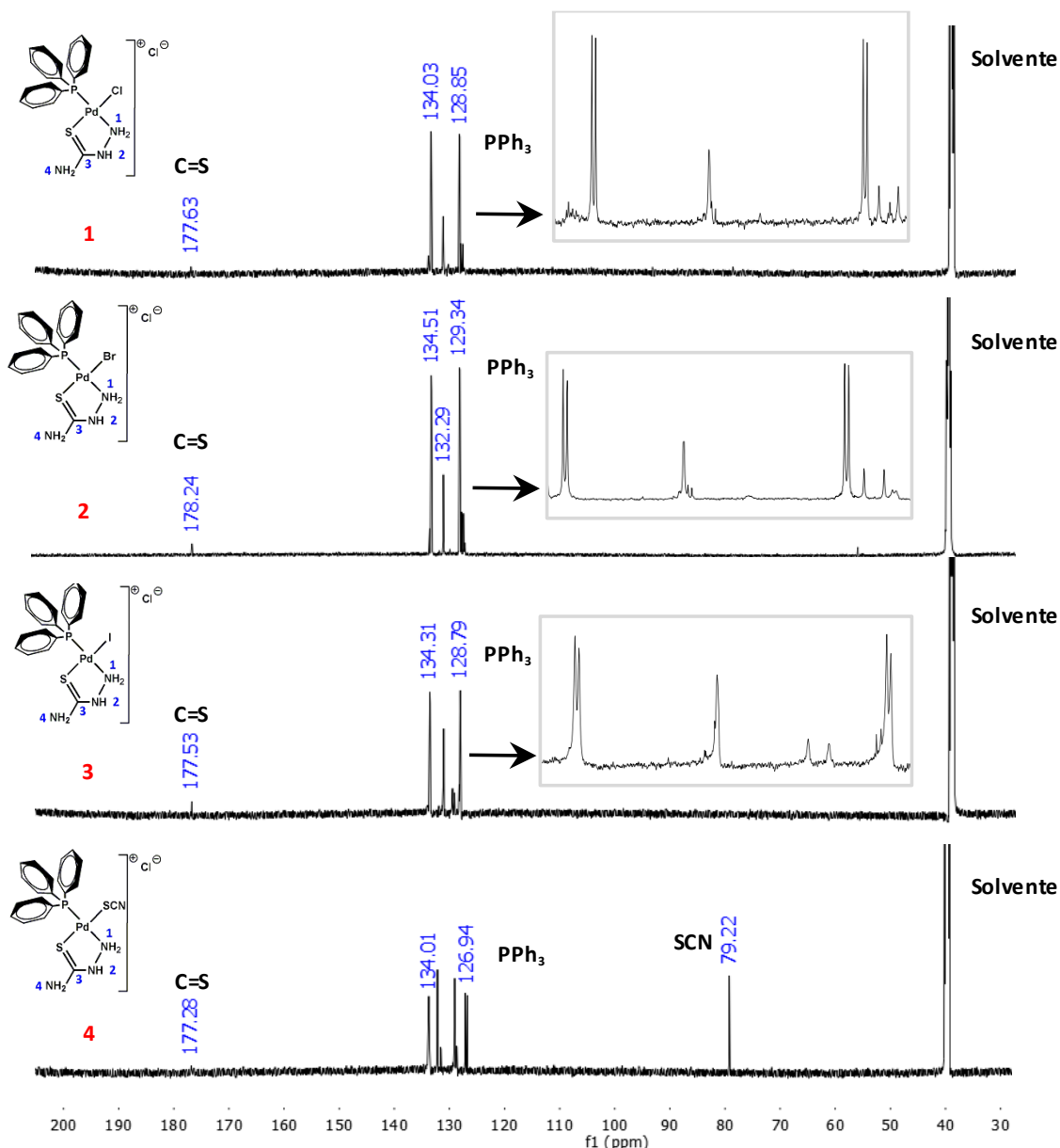


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C dos complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2) $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), em $\text{DMSO}-d_6$.

Fonte: Autora.

Para os espectros de RMN de ^1H dos complexos 1-4 o aparecimento do sinal associado ao hidrogênio da posição 2 (11,20 ppm (1); 11,16 ppm (2), 11,15 ppm (3) e 11,18 ppm (4)) sugere a coordenação da tiossemicarbazida como um ligante neutro. O aparecimento de um único conjunto de sinais para a TSCZ e PPh_3 sugere a existência de uma única espécie em solução.

O singlete associado ao hidrogênio ao grupo NH_2 (4) dos complexos 1-4, se apresenta na faixa de 8,24-8,40 ppm, mostrando deslocamento para regiões desblindadas, indicando que ocorreu coordenação através do átomo de enxofre. A variação do hidrogênio referente ao singlete atribuído ao grupo NH_2 (1), sofre

deslocamento para 8,38-8,68 ppm. Quanto maior for o deslocamento, maior é a possibilidade da região em volta dos hidrogênios analisados estar envolvida na coordenação, uma vez que esses deslocamentos dos hidrogênios do ligante TSCZ para regiões mais desblindadas do espectro para todos os compostos estão relacionadas a um deslocamento da densidade eletrônica da molécula em função da coordenação do ligante ao metal paládio(II) que irá atrair os elétrons fazendo com que a densidade eletrônica se concentre no anel formado, deixando assim que os hidrogênios adjacentes sofram menos efeito de blindagem (YONEDA et al., 2007). A presença da trifenilfosfina coordenada é evidenciada nos complexos pelo aparecimento de multipletos na região desblindada de 7,46-7,67 ppm, devido ao efeito anisotrópico gerado pelos elétrons π das duplas ligações presentes no anel aromático. Assim, pelo espectro de RMN ^1H , a quantidade relativa de hidrogênios indicadas pela integração dos sinais condiz com uma estrutura do complexo catiônica em que não ocorreu desprotonação da tiossemicarbazida (TSCZ).

Nos espectro de ^{13}C dos complexos 1-4, o sinal C=S é deslocado 2,93-3,89 ppm para regiões blindadas, este resultado confirma a coordenação pelo átomo de enxofre ao paládio(II) (LOBANA et al., 1997). A coordenação da trifenilfosfina é evidenciada pelo aparecimento do conjunto de sinais em 126,94-134,51 ppm, batendo com a proposta estrutural.

4.1.5 Espectros de RMN de ^{31}P

Foram realizados RMN de ^{31}P para os compostos, no qual os deslocamentos químicos observados estão apresentados na Figura 21 e resumidos na Tabela 5.

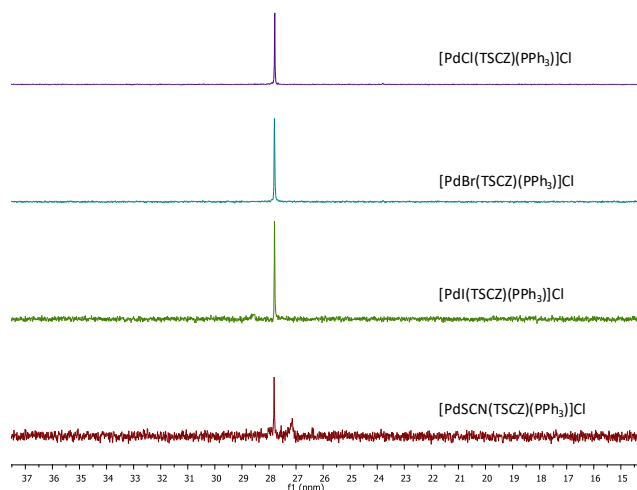


Figura 21. Espectro de RMN de ^{31}P dos complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), $[\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (2) $[\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (3), $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), em $\text{DMSO}-d_6$.

Fonte: Autora.

Tabela 5. Deslocamentos químicos de RMN de ^{31}P para os complexos 1-4.

Composto	$\delta(\text{ppm})$
$[\text{PdCl}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	27,79
$[\text{PdBr}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	27,80
$[\text{PdI}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	27,80
$[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	27,81

O sinal dos fósforo em todos os complexos mostram deslocados químicos de ^{31}P para regiões mais desblindadas, por aproximadamente 36 ppm, quando comparado com a trifenilfosfina livre que ocorre em -7,8 ppm (ISAB et al., 1999; BLACKER et al., 1999; ALLMAN; GOEL, 2011), devido ao fluxo de densidade eletrônica do átomo de fósforo para o paládio após a formação do complexo, o que comprova a coordenação das fosfinas ao paládio.

Todos os complexos das séries TSCZ apresentaram espectros de ressonância magnética nuclear de ^{31}P característicos e similares, sendo observado um único sinal de alta intensidade na faixa de 27 ppm, resultado da presença de apenas um ligante fosfínico na esfera de coordenação, estando de acordo com o arranjo trans do nitrogênio ao ligante de fósforo e da ausência de isômeros (QUEIROZ et al. 1998). A pequena variação no valor do deslocamento químico entre os complexos mostrou que os ligantes haletos não interferem significativamente na mudança da densidade eletrônica envolvida na região próxima do fósforo. Podemos observar pequenos sinais na região de 42 ppm, deslocamento condizente com óxido de fósforo (BURT, 1987).

4.1.6 Análise Termogravimétrica

Existem várias técnicas de análise térmicas, mas neste trabalho serão apresentadas a termogravimetria (TGA) que determina a mudança de massa devido à interação com a atmosfera, vaporização e decomposição e a análise térmica diferencial (DTA) que determina a variação de temperatura da amostra em relação a um referencial inerte. As chamadas análises térmicas, técnicas térmicas ou técnicas termoanalíticas são técnicas que acompanham as variações de uma propriedade física de uma determinada amostra (ou de seus produtos de reação) enquanto a mesma é submetida a uma programação de temperatura e aquecimento (MACKENZIE, 1984). Para isso, as medidas necessitam de uma microbalança eletrônica, um forno de temperatura programável e um controlador que permite que a amostra seja aquecida e pesada (SHRIVER et al., 2008). Os resultados da análise são apresentados na forma de uma curva termogravimétrica, onde a variação de massa é caracterizada em função da temperatura ou do tempo (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). Essa técnica é extremamente utilizada e conhecida pelos químicos inorgânicos, uma vez que, ela fornece informações sobre a estabilidade térmica dos compostos e presença de moléculas de solvente de cristalização (FARIAS, 2009). As curvas TG/DTA dos compostos 1-4 estão apresentadas pela Figura 22 e suas atribuições apresentadas na Tabela 6.

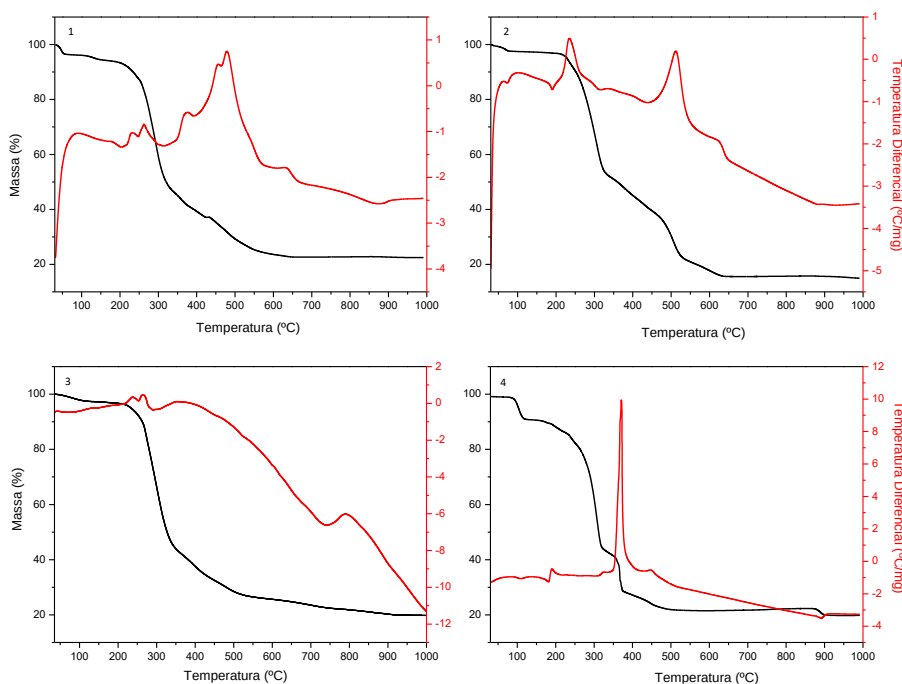


Figura 22. Curvas TG/DTA dos compostos 1-4.

Fonte: Autora.

Tabela 6. Dados referentes à análise térmica dos compostos 1-4.

Etapa	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$	$\Delta m/\%$		Picos DTA/ $^{\circ}\text{C}$		Atribuição
		Obt.	Calc	Endo	Exo	
1	1	96-646	77,68	79,77	478	-TSCZ, -PPh ₃ , -2Cl ⁻
	Resíduo		22,32	23,17	872	PdO
2	1	98-828	80,88	83,19	237	-TSCZ, -PPh ₃ , -Br ⁻ , -Cl ⁻ , - $\frac{1}{2}\text{CHCl}_3$
	Resíduo		19,12	19,38	791	PdO
3	1	76-652	84,93	82,62	511	-TSCZ, -PPh ₃ , -I ⁻ , -Cl ⁻ , -CHCl ₃
	Resíduo		14,35	15,07	879	PdO
4	1	91-118	9,38	9,72		- $\frac{1}{2}\text{CHCl}_3$
	2	118-317	58,52	58,03	370	-PPh ₃ , -SCN ⁻ , -Cl ⁻
	3	317-370	12,32	14,86		- TSCZ
	Resíduo	370-515	19,78	19,23	889	-
						PdO

A Curva TG do composto 4 é a que melhor descreve a perda dos ligantes devido a suas saídas estarem mais nítidas, mostrando que é termicamente estável até 91 °C, ocorrendo, então, o início da decomposição dos ligantes coordenados ao metal (80,52%) até 515 °C, estando de acordo com a porcentagem calculada para o composto de 82,61%. Perdas consecutivas de massa, iniciando com solvente $\frac{1}{2}\text{CHCl}_3$ ($\Delta m_{\text{calc.}} = 9,72\%$), onde é observada uma perda de massa de 9,38% da massa total, seguido pelo tiocianato, cloreto e a trifenilfosfina (58,03%), correspondendo a 58,52% da massa total com associação ao pico exotérmico no DTA em 370 °C, então o ligante quelante tiosemicarbazida (14,86%), é o último a ser perdido da esfera de coordenação dando 12,32% da massa total. Como resultado da decomposição encontra-se 19,78%, referente ao óxido de paládio, condizente com o resultado esperado de 19,23%, confirmando a estequiometria do complexo (PRASAD et al., 2013).

Nas curvas dos complexos 1, 2 e 3 as eliminações dos ligantes ocorrem de maneira sobrepostas mas de forma similar nos comportamentos do de tiocianato, propondo que se percam em etapas consecutivas inicialmente o solvente, os haletos, seguindo da trifenilfosfina e por último o ligante bidentado da tiosemicarbazida.

4.1.7 Difractometria de Raios X por Monocristal

Neste trabalho os dados espectroscópicos foram confirmados por análise de difração de Raio X por monocristal. Foram obtidas as estruturas cristalinas para os complexos $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1) e $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4) conforme mostrado a estrutura molecular nas Figura 23 e Figura 24, onde temos a confirmação dos modos de coordenação propostos para o sistema. Os dados dos cristais e os detalhes sobre refinamento das estruturas estão dispostos na Tabela 7. Distâncias interatômicas e ângulos de ligação intramolecular selecionado dos complexos estão coletados na Tabela 8.

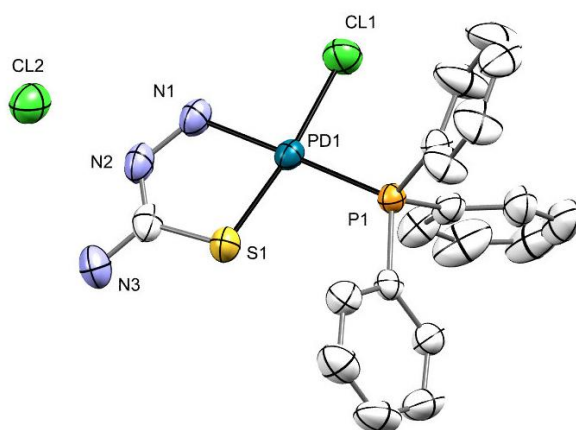


Figura 23. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (1), com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.

Fonte: Autora.

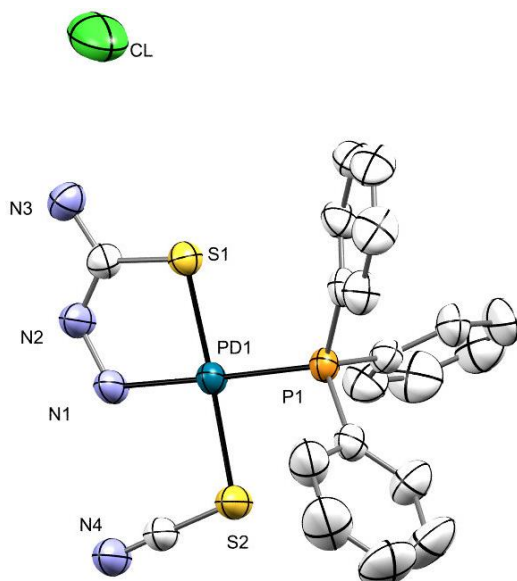


Figura 24. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.

Fonte: Autora.

Tabela 7. Dados cristalográficos para os complexos 1 e 4.

Código	[PdCl(TSCZ)(PPh ₃)] Cl	[PdSCN(TSCZ)(PPh ₃)]Cl
Fórmula empírica	C ₁₉ H ₂₀ Cl ₂ N ₃ PPdS	C ₂₀ H ₂₀ ClN ₄ PPdS ₂
Peso molecular	530,75	553,38
Temperatura (K)	283-303	283-303
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 ₁ /c	P 2 ₁ /c
Dimensões da célula unitária		
a(Å)	14.0696(9)	13.8856(5)
b(Å)	19.2536(12)	8.5099(2)
c(Å)	9.2310(6)	24.8109(9)
α (°)	90	90.
β (°)	104.576(2)	90.617(10)
γ (°)	90	90
Volume (Å³)	2420.11	2931.61
Z	4	4
Densidade calculada (mg.m⁻³)	1.457	1.254

Tabela 8. Distâncias interatômicas (Å) mais importantes e ângulos de ligação (°) dos complexos 1 e 4.

Distância de ligação	[PdCl(TSCZ)(PPh₃)]Cl	[PdSCN(TSCZ)(PPh₃)]Cl
Pd(1)S(1)	2,254	2,289
Pd(1)N(1)	2,098	2,093
Pd(1)P(1)	2,264	2,269
Pd(1)Cl/SCN(1)	2,333	2,365
N(1)N(2)	1,402	1,410
N(2)C	1,314	1,308
CS(1)	1,730	1,718
Ângulo de ligação	[PdCl(TSCZ)(PPh₃)]Cl	[PdSCN(TSCZ)(PPh₃)]Cl
N(1)Pd(1)S(1)	84,49	84,65
N(1)Pd(1)Cl/SCN(1)	87,76	83,83
P(1)Pd(1)S(1)	95,39	94,24
P(1)Pd(1)Cl/SCN(1)	92,28	97,45
N(1)Pd(1)P(1)	176,34	174,82
S(1)Pd(1)Cl/SCN (1)	172,18	177,58

Os monocristais foram obtidos a partir da evaporação lenta da solução mãe das reações contendo mistura de solventes clorofórmio/metanol, obtendo-se cristais de cor amarela, ou laranja, que foram investigados por cristalografia de raios X. As estruturas nos dão informações não somente sobre a conectividade entre os átomos, mas também a posição espacial de cada um deles. O ligante tiossemicarbazida, nesses complexos, estão coordenados ao centro de Pd^{II} pelos seus átomos doadores NH₂(1) e S em modo *cis* N,S-bidentado neutro, através dos átomos de nitrogênio azometino e ao átomo de enxofre, formando um anel de cinco membros incluindo o íon metálico. As distâncias das ligações Pd–N para os complexos 1 e 4 apresentam valores de 2,098 e 2,093 Å, enquanto que os valores das distâncias Pd–S são 2,254

e 2,289 Å, respectivamente. Estas distâncias são bastante semelhantes às encontradas por Rocha et al. (2013) para o complexo $[PdI(PPh_3)(1)]$ (1= 4-phenyl-3-thiosemicarbazide) com valores de distância de ligação Pd-S, Pd-N e Pd-P iguais a 2,290, 2,094 e 2,249 Å, respectivamente.

Os sítios de coordenação remanescentes são ocupados por um átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina, coordenada via átomo de fósforo de maneira trans ao átomo de nitrogênio, além de um grupo cloro ou tiocianato S-coordenado, que completa a esfera de coordenação. São compostos monocatiônicos, necessitando assim do ânion Cl^- como contra íon para o balanço de carga. Fato confirma o observado pelo experimento de condutividade, no qual um contra íon foi identificado, apresentando soluções com eletrólitos 1:1. As principais distâncias das ligações Pd-N(1), Pd-S e Pd-P estão de acordo com os valores reportadas na literatura para compostos semelhantes (MATHEW; PALENIK, 1987; KALAIVANI et al., 2012; PAUL et al., 2011; CASAS et al., 2008; RUIZ et al., 2008).

A geometria de coordenação ao redor dos centros de Pd^{II} é mais bem definida como quadrática plana levemente distorcida, com distorções nos ângulos das ligações N(1)-Pd-P de 176,34 Å (1) e 174,82 Å (4) e para S(1)-Pt-Cl(1) próximos de 172,18 Å (1) e 177,58 Å (4). O ângulo que mais se distancia de 90,00°, é aquele formado pelos átomos N(1)Pd(1)S(1) de 84,49 Å para o complexo 1 e o ângulo entre P(1)Pd(1)SCN de 97,45° para o complexo 4, evidenciando distorção da geometria quadrada planar formada para os complexos. Enquanto que o ligante trifenilfosfina, está coordenada em posição trans ao átomo de nitrogênio da tiossemicarbazona, como observado para complexos similares já publicados (PAUL et al., 2011; LOBANA et al., 2009b) visto que a situação *cis* causaria uma competição pelos elétrons disponíveis na subcamada d do átomo metálico, enfraquecendo ambas ligações Pd-S e Pd-P (VICENTE et al., 1999). A unidade assimétrica da estrutura cristalina contém uma molécula dos complexos. Existem quatro desses complexos nas células unitárias (Figura 25 e 26), no qual a cada dois complexos da célula fazem ligação de hidrogênio com o cloreto de contra íon, ficando interligados $NH_2(1) \cdots Cl$ e $NH(2) \cdots Cl \cdots NH_2(1)$ para o complexo $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ e $NH(2) \cdots N$, $SCN \cdots N$ e $NH_2(4) \cdots Cl^-$ (contra íon) para o complexo $PdSCN(TSCZ)(PPh_3)]Cl$. Observa-se também contatos intermoleculares menores que a soma dos raios van der Waals dos átomos envolvidos, como $NH_2(1) \cdots Cl \cdots H$; $NH(2) \cdots Cl \cdots NH(1)$; $NH(4) \cdots H$; $Cl \cdots H$; $CH(PPh_3) \cdots N$ para o complexo $[PdCl(TSCZ)(PPh_3)]Cl$ e $NH(2) \cdots N$, $NH_2(4) \cdots Cl^-$ (contra íon), $SCN \cdots H$ e $NH(2)-$

$\text{NH}_2(4) \cdots \text{N}$ para o complexo $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ mostrando que estão próximos (Figuras 27 e 28).

Com base nos resultados obtidos a partir da espectroscopia no infravermelho, RMN de ^1H e com os resultados de análise elementar e termogravimétrica espera-se que os compostos 2 e 3 apresentem a mesma geometria quadrática plana encontrada para os complexos 1 e 4. E que seus sítios de coordenação estejam ocupados pelo ligante N,S-bidentado da TSCZ, PPh_3 , e um ânion, de forma análoga a descrita anteriormente.

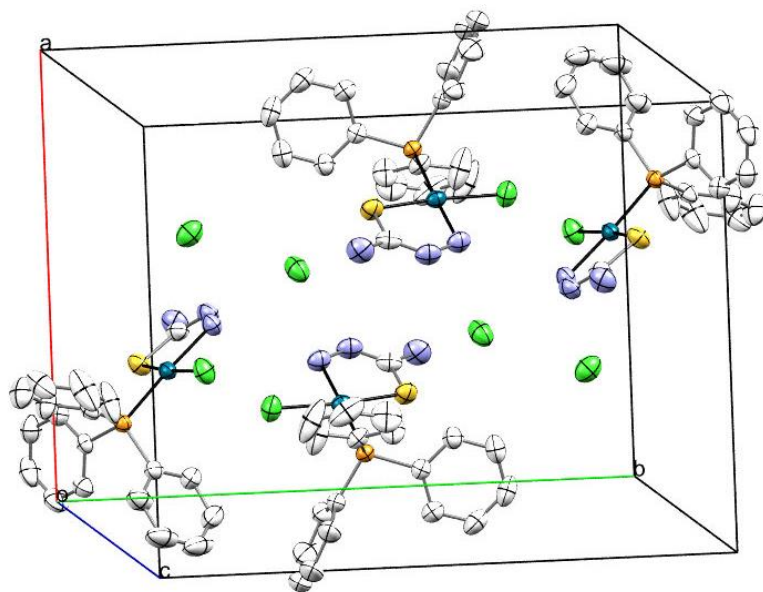


Figura 25. Representação da estrutura unitária do composto $[\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$.
Fonte: Autora.

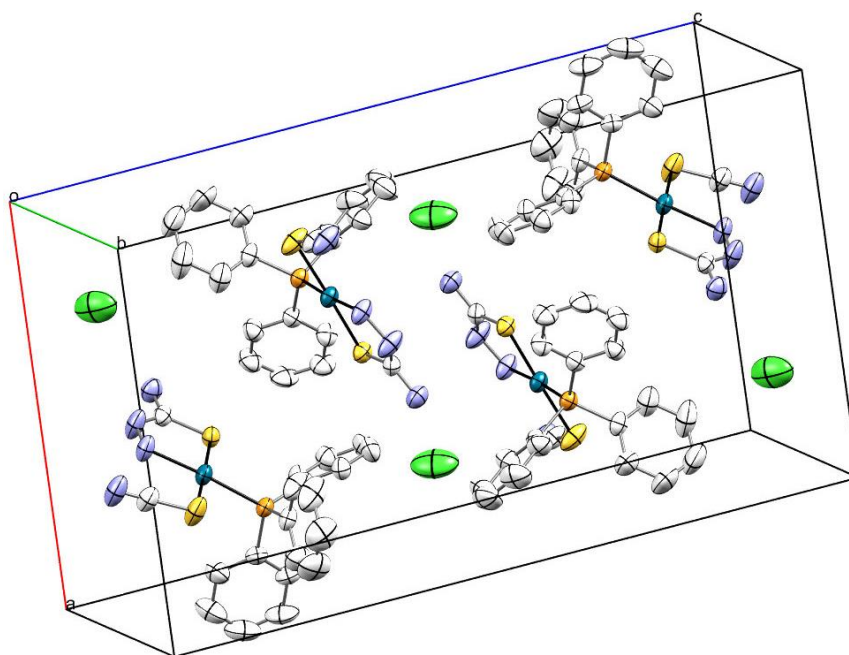


Figura 26. Representação da estrutura unitária do composto $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$.
Fonte: Autora.

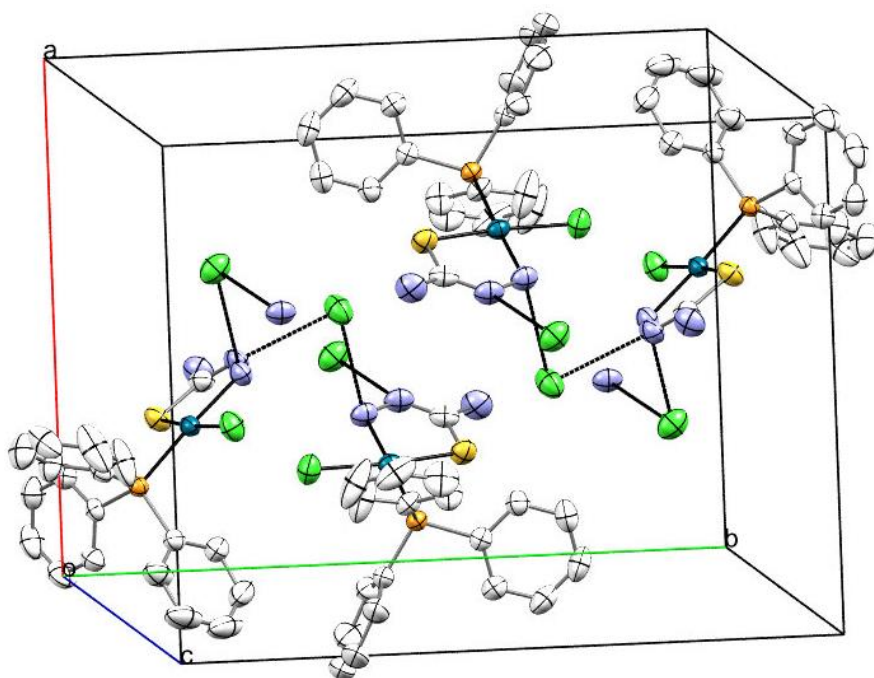


Figura 27. Ligações de hidrogênio envolvidas na estrutura cristalina do [PdCl(TSCZ)(PPh₃)]Cl e os contatos intermoleculares.

Fonte: Autora.

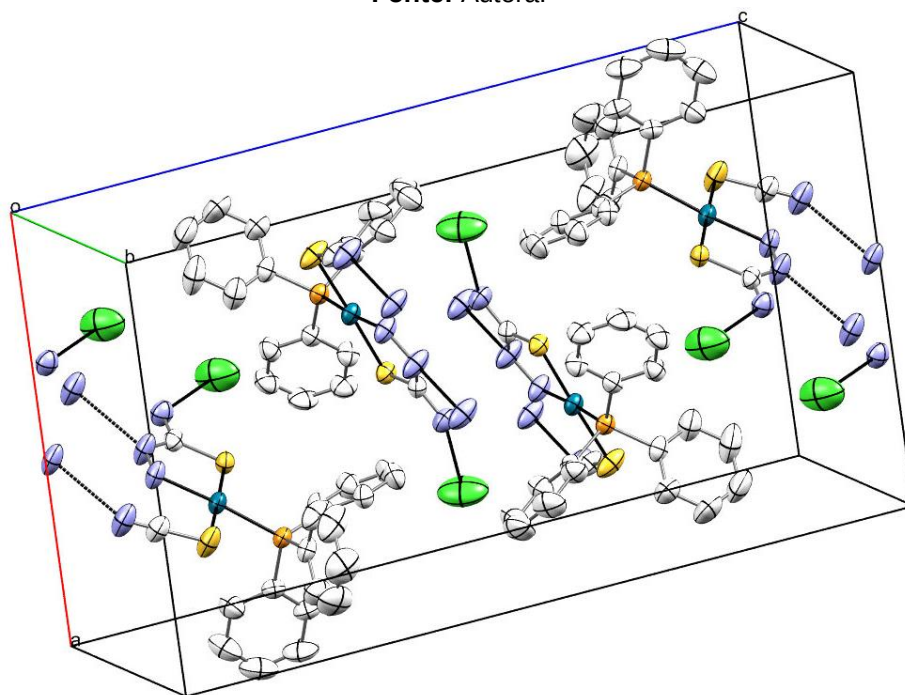


Figura 28. Ligações de hidrogênio envolvidas na estrutura cristalina do [PdSCN(TSCZ)(PPh₃)]Cl e os contatos intermoleculares.

Fonte: Autora.

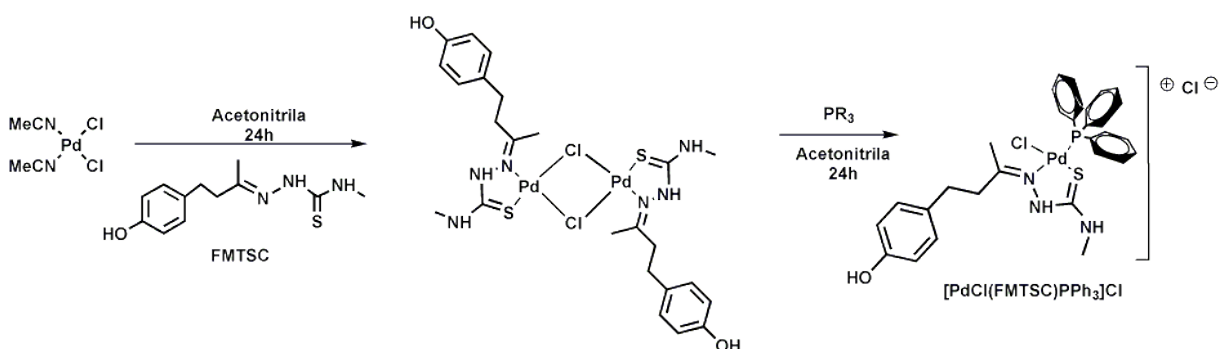
4.2 Família Tiossemicarbazona (FMTSC)

4.2.1 Síntese

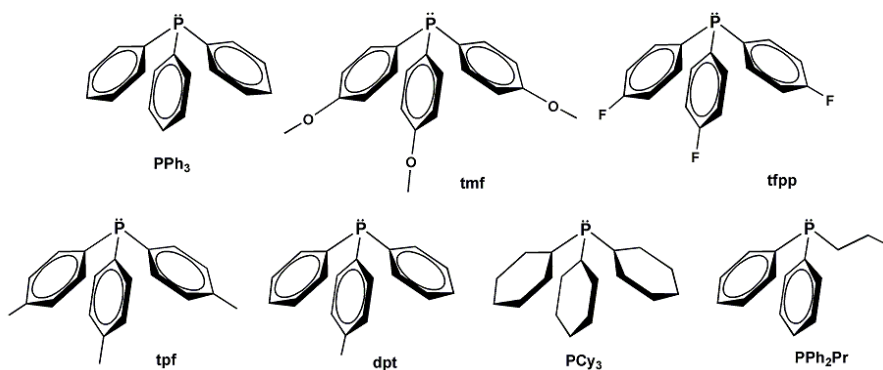
O ligante FMTSC foi preparado através de reação de condensação, entre um equivalente da tiossemicarbazida desejada e um equivalente do 4-(4-hidroxifenil)-2-butanona, em etanol, com a adição de HCl, com adaptações do procedimento descrito por Oliveira et al. (2012).

As reações entre precursor e ligantes na síntese dos complexos de 5-11 ocorrem em temperatura ambiente, sem necessidade de conduzir as sínteses em atmosfera inerte ou proteção contra a luz. Os complexos catiônicos foram obtidos a partir de sínteses entre o composto precursor $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$, o ligante FMTSC (N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-ilideno]hidrazina-1-carbotiamina) (Esquema 2) e a fosfina monodentada apropriada como a trifenilfosfina (PPh_3), tris(4-fluorofenil)fosfina (tfpp), tris(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tris(4-metilfenil)fosfina (tpf), 4-metilfenildifenilfosfina (dpt), triciclohexilfosfina (PCy_3) ou difenilpropilfosfina (PPh_2Pr), na razão molar de 1:1:1, respectivamente.

Esquema 2. Rota sintética dos complexos 5-11.



PR₃:



A elevada labilidade dos ligantes acetonitrila e cloreto da esfera de coordenação do composto de partida o deixa suscetível a reações de troca, no qual ocorre suas substituições pelo ligante N-S doadores e pelas fosfinas. A formação de um anel quelato de cinco membros favorece a formação dos complexos devido ao aumento da entropia (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007), aliado ao efeito cinético (MIESSLER; TARR, 2004).

As fosfinas formam uma ligação σ mas também comportam-se como π -receptores, acomodando densidade eletrônica retrodoada pelo centro metálico devido à existência de orbitais de simetria adequada no átomo de fósforo. Espera-se assim, que as fosfinas se coordenem de maneira *trans* ao átomo de nitrogênio, visto que a situação inversa incorre em uma competição entre os átomos de S e P pelos elétrons disponíveis na subcamada d do átomo metálico (VICENTE et al., 1999).

4.2.2 Análise Elementar e Condutividade molar

Os resultados das análises elementares e condutividade molar dos compostos 5-11 estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Dados da análise elemental e condutividade molar dos complexos 5-11.

Composto	% C(calc)	% H (calc)	% N (calc)	Cond. Molar
FMTSC	56,82 (57,34)	6,87 (6,82)	16,11 (16,72)	-
[PdCl(FMTSC)(PPh ₃)]Cl (5)	51,72 (52,15)	4,71 (4,67)	5,95 (6,08)	35,8
[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl (6)	46,39 (48,37)	3,83 (3,92)	4,80 (5,95)	29,9
[PdCl(FMTSC)(tmf)]Cl (7)	51,77 (50,75)	5,60 (4,90)	5,35 (5,38)	37,2
[PdCl(FMTSC)(tpf)]Cl (8)	53,35 (54,07)	5,43 (5,23)	5,20 (5,73)	24,8
[PdCl(FMTSC)(dpt)]Cl (9)	53,91 (52,81)	6,70 (4,86)	8,01 (5,96)	29,7
[PdCl(FMTSC)(PCy ₃)]Cl (10)	51,37 (50,81)	5,10 (7,11)	5,50 (5,93)	33,1
[PdCl(FMTSC)(PPh ₂ Pr)]Cl (11)	46,28 (49,36)	5,20 (5,22)	5,56 (6,40)	25,0

Os resultados de análise elemental mostram que a porcentagem obtida para cada elemento concorda com a composição propostas para os compostos catiônicos do tipo [PdCl(FMTSC)(PR₃)]Cl, PR₃= PPh₃, tfpp, tmf, tpf, dpt, PPh₂Pr e PCy₃.

As medidas de condutividade para os complexos 5-11 foram obtidas em solução de DMF de concentração $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ e estão apresentadas nos Gráficos 2.

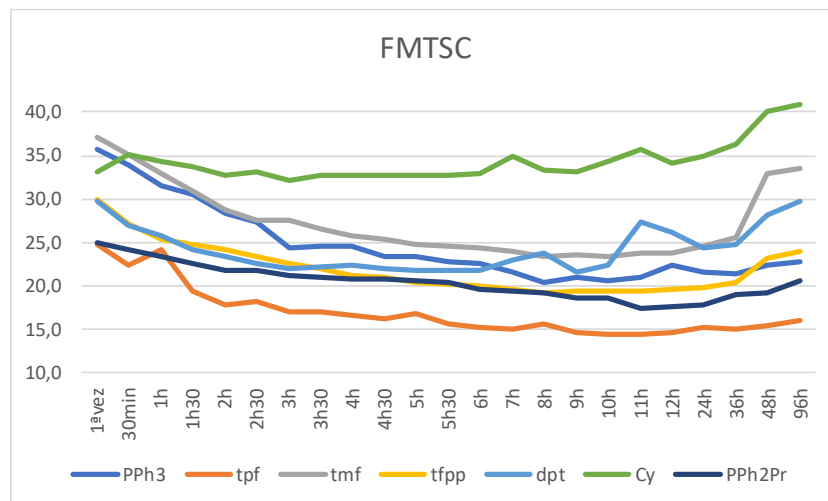


Gráfico 2. Dados de condutividade molar dos complexos 5-11, em DMF.

A condutividade dos complexos em solução foi verificada através do acompanhamento das condutividades molares em DMF durante 96h (Gráficos 2), a temperatura ambiente ($T \sim 25^\circ \text{C}$) logo após o preparo das soluções ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Velho (2006) reporta que complexos metálicos que atuam como eletrólitos do tipo 1:1 em DMF devem apresentar valores de condutividade na faixa de $37 - 122 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. Os complexos derivados da frambiona tiossemicarbazona apresentam faixa de condutividade na faixa $24,8$ a $37,2 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. Acreditando que todos os compostos se comportem de maneira semelhante, os caracterizamos assim como de natureza de eletrólitos 1:1, compatíveis com soluções condutora, indicando a presença de contra íon, mostrando que são complexos catiônicos.

4.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

As tiossemicarbazonas ($\text{R}^1\text{R}^2\text{C}^1=\text{N}^1-\text{N}^2\text{H}-\text{C}^3(=\text{S})\text{N}^4\text{H}_2$) apresentam bandas características aos grupos funcionais presentes em sua estrutura e em frequências específicas. Nesse contexto, as tiossemicarbazonas monossustituídas apresentam duas bandas para o estiramento $\nu(\text{NH})$, uma entre $3450-3210 \text{ cm}^{-1}$ atribuída ao grupo $-\text{N}^4\text{H}_2$ e $3180-3150 \text{ cm}^{-1}$ associada a vibração de estiramento da ligação do hidrogênio hidrazínico $-\text{N}^2\text{H}_2$ (SILVA; ALVES; NASCIMENTO, 1998; KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006). A presença da banda correspondente ao grupo $-\text{N}^2\text{H}$ sugere a coordenação da

tiossemicarbazona no modo neutro, enquanto que a sua ausência indica a desprotonação do hidrogênio hidrazínico após a coordenação. Em geral, no espectro dos complexos contendo tiossemicarbazonas coordenadas no modo neutro, observa-se um deslocamento para frequências mais altas das bandas associadas ao grupo $-N^4H_2$ ($3490-3200\text{ cm}^{-1}$) e um ligeiro deslocamento para frequências mais baixas das absorções atribuídas ao hidrogênio hidrazínico $-N^2H$ ($3160-3120\text{ cm}^{-1}$). Por outro lado, os espectros no IV dos complexos derivados da tiossemicarbazona aniônica apresentam somente as bandas referentes aos modos vibracionais dos grupos $-N^4H$, no intervalo de $3500-3260\text{ cm}^{-1}$, ligeiramente deslocado para frequências mais baixas em relação ao ligante livre. As absorções de forte intensidade relativas aos modos δ ($-N^4H_2$) e $\nu C=N$ do ligante livre são detectadas na região de $1635-1470\text{ cm}^{-1}$ (ERGENÇ et al., 1999; ABBADY et al., 2003). Com a coordenação, essas bandas são levemente deslocadas para frequências mais altas ou baixas, sendo observadas no intervalo de $1630-1500\text{ cm}^{-1}$. A coordenação das tiosemicarbazonas na forma neutra via átomo de enxofre resulta em deslocamentos significativos da posição da banda $\nu C=S$, localizada na região de $850-800\text{ cm}^{-1}$, enquanto que os espectros no IV de complexos contendo a tiossemicarbazona aniônica mostram deslocamentos pronunciado para frequências mais baixas no intervalo espectral de $820-790\text{ cm}^{-1}$ (LOBANA et al., 2006a; LOBANA et al., 2006b; SAHA et al., 2003; JAMES, 2009). A Figura 29 ilustra os espectros no IV do ligante FMTSC e dos compostos 5-11. As atribuições dos valores das frequências vibracionais observadas na FMTSC e em seus complexos são mostradas na Tabela 10.

Tabela 10. Principais frequências na região do infravermelho do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).

Atribuição	Frequência/cm ⁻¹							
	FMTSC	5	6	7	8	9	10	11
vOH	3352 m	3434 m	3423 m	3435 m	3417 m	3415 m	3438 m	3404 m
vNH _{tioamina}	3220 F	3141 F	3221 F	3237 F	3164 F	3178 F	3288 F	3214 F
vNH _{hidrazínico}	3207 F	3000 F	3063 F	3014 F	3015 F	3053 F	3121 F	3012 F
vCH _{aromático}	2959 m	2951 m	2928 m	2927 m	2918 m	3009 m	3140 m	2961 m
vCH _{alifático}	2910 m	2918 m	2847 m	2831 m	2862 m	2928 m	2927/2842 F	2921 m
vC=N + δ NH	1665 F	1678 F	1591 F	1594 F	1631 F	1628 F	1631 F	1593 F
vCC _{aromático}	1521 m	1513 m	1511 m	1515 m	1512 m	1511 m	1517 m	1537 m
vCC _{aromático}	1480 m	1432 m	1493 m	1497 m	1490 m	1480 m		1515 m
vC=S + C=N	1224 F	1216 m	1234 m	1289 m	1443 m	1435 m	1445 m	1438 m
vP-C _{Ph}	-	1095 m	1106 m	1173 m	1165 m	1190 m	1171 m	1206 m
vC=S + C=N	1057 F	1071 f	1093 f	1097 f	1096 f	1092 f	1129 f	1101 f
N-N	847 m	992 m	1015 m	1018 m	1015 m	1015 m	1004 m	1025 m
Anel	827 f	827 m	828 m	826 m	807 m	817 m	897 m	
γ _{Anel}	790 f	757 m		795 m	716 m	745 m	736 m	744 m
vCS	755 m	645 f	640 f	646 f	643 f	694 f	625 f	
β _{Anel}	659 f	705 F	612 F	615 F	613 F	630 F	585 F	694 F
δ CH _{aromático}	582 f	689 m	532 m	535 m	531 m	532 m	514 m	518 m
δ CH _{aromático}	453 f	539 F	453 F	504 F	509 F	502 F	487 F	490 F

v = estiramento, δ = deformação angular, γ = deformação fora do plano, β = deformação no plano.
 Intensidades: F= forte, m= média, f = fraca

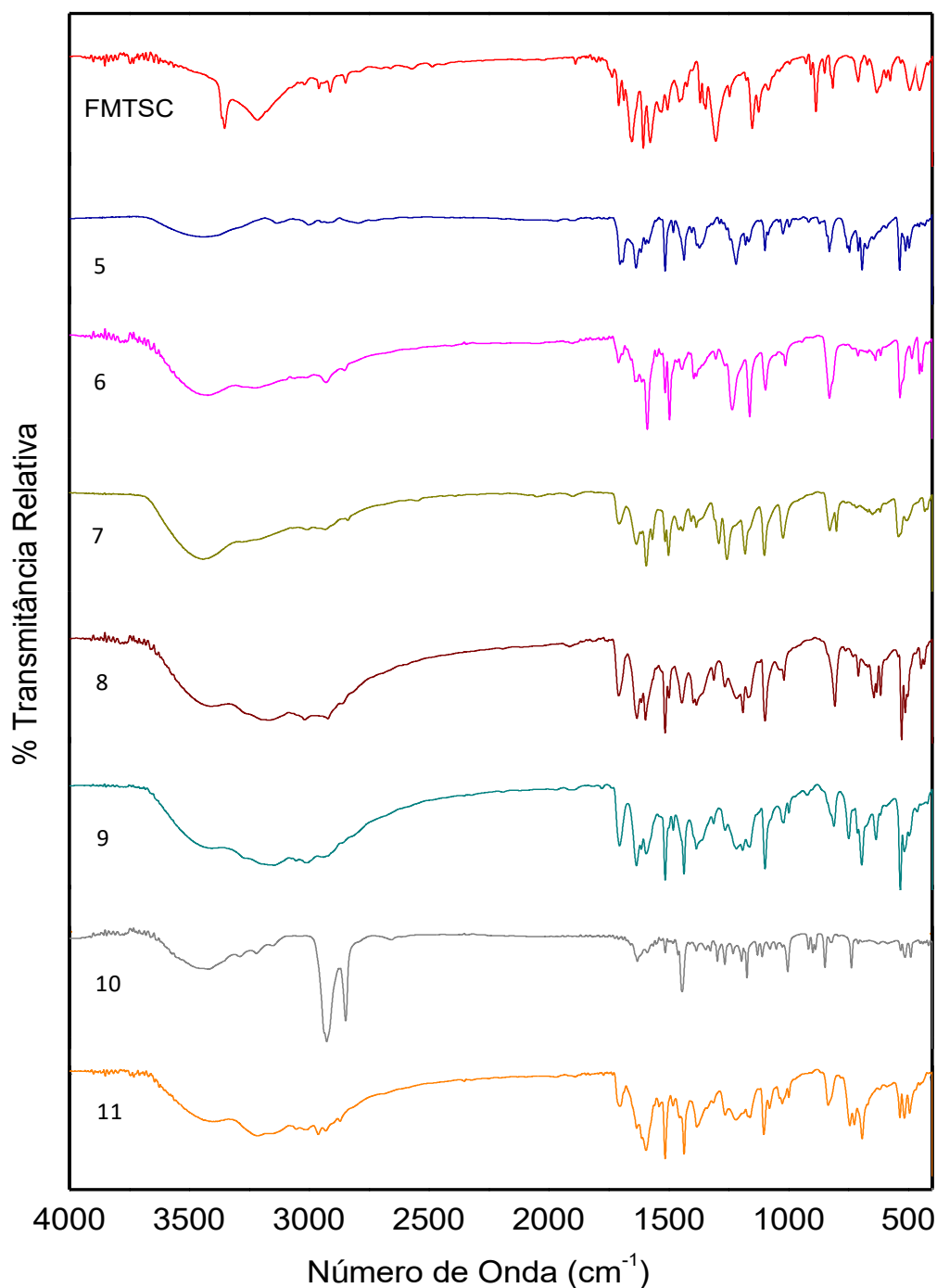


Figura 29. Espectros vibracionais dos compostos no IV do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).
Fonte: Autora.

O espectro no infravermelho do ligante livre frambiona-tiossemicarbazona (Figura 29) apresenta três bandas na região de alta energia entre $3352\text{--}3207\text{cm}^{-1}$ que podem ser atribuídas aos $\nu(\text{O-H})$ e $\nu(\text{N-H})$. A banda no ligante em 3352 cm^{-1} de intensidade média foi atribuída ao $\nu(\text{O-H})$, que se desloca para frequências entre $3438\text{--}3404\text{ cm}^{-1}$, podendo ser explicada pela formação de ligações de hidrogênio intermoleculares (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). A banda em 3207 cm^{-1}

¹ referente ao hidrogênio hidrázinico no ligante, que segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2006) em amostras sólidas ocorrem na faixa de 3330-3060 cm⁻¹, sofre deslocamento para menores frequências nos complexos, 3000-3121 cm⁻¹. Frequências em 3220 cm⁻¹ as quais são características do estiramento do $\nu(\text{NH})$ da tioamida, sofreu deslocamento para região entre 3288-3141 cm⁻¹, as quais são características do estiramento quando coordenado (LOBANA et al., 2006a).

O estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$, cuja banda de intensidade forte é encontrada em 1665 cm⁻¹ no espectro do FMTSC livre, sofre um deslocamento para menores números de onda após a coordenação, sendo observado na faixa em 1591-1675 cm⁻¹ para os complexos de Pd^{II}, o que representa uma frequência de aproximadamente 20 cm⁻¹ mais baixo do que no espectro livre, sendo condizente com a coordenação via nitrogênio imínico (LESSA; BERALDO, 2011; PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011). A banda de $\nu(\text{N}-\text{N})$ sofre um deslocamento para frequências mais elevadas no IV dos complexos, em torno de 1000 cm⁻¹, devido ao aumento da força da ligação (JOSEPH et al., 2006), causada pela deslocalização eletrônica da ligação C=N envolvida na coordenação com o centro metálico, esse fato confirma a coordenação via átomo de nitrogênio azometino (LESSA; BERALDO, 2011; PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011).

O estiramento $\nu(\text{C}=\text{S})$, em 755 cm⁻¹ no espectro do FMTSC, desloca-se para menores frequências após a complexação (625-745 cm⁻¹), de maneira condizente com a coordenação via átomo de enxofre (HAMEED et al., 2015). Esse fato pode ser explicado com base na teoria de Pearson, no qual o átomo de enxofre é classificado como base “mole” devido a sua grande polarizabilidade e eletronegatividade, aliado ao íon Pd^{II} que também é classificado como ácido “mole”, por ser é um átomo grande e polarizável, sendo compatíveis para coordenação. Esses deslocamentos para frequências mais baixa no espectro no infravermelho é devido a coordenação do ligante ao centro metálico implicando no enfraquecimento das ligações C=S e C=N (SINGH; THAKUR, 1974; OFFIONG; MARTELLI, 1997; WILES et al. 1967).

Observa-se também a ausência de banda na faixa de 2500-2600 cm⁻¹, indicando que no estado sólido a FMTSC se coordena na forma tiona (NAKAMOTO, 1986), aliado ao não desaparecimento de uma das bandas $\nu(\text{NH})$ mostra que o ligante se coordenou de maneira neutra ao centro metálico, deixando o complexo como catiônico. Deste modo, os espectros no IV são consistentes com a coordenação em modo neutro N,S-bidentado do ligante FMTSC.

A coordenação das fosfinas ao paládio é evidenciada pelas bandas atribuídas as vibrações $\nu_{\text{CC}_{\text{aromático}}}$, $\nu_{\text{P-C}_{\text{Ph}}}$ e $\delta_{\text{C-H}}$. Estas vibrações envolvem variações no comprimento da ligação das fosfinas, isto porque abrangem movimentos dos átomos de carbono, hidrogênio e do estiramento da ligação P-fenil. Assim, quando comparada as frequências atribuídas a essas bandas no espectro das fosfinas livres, 1493-1451 cm^{-1} (ν_{CC}), 818-796 cm^{-1} , ($\nu_{\text{P-Ph}_3}$) e 506-490 cm^{-1} (δ_{CH}) (PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011) e dos complexos, 1537-1432 cm^{-1} (ν_{CC}), 1206-1095 cm^{-1} ($\nu_{\text{P-Ph}_3}$) e 689-453 cm^{-1} (δ_{CH}) (PRABHAKARAN; KALAIVANI, 2011), observa-se um deslocamento para maiores frequências, sugerindo fortemente a coordenação das fosfinas (JAMES, 2009). Diferente dos outros monômeros o ligante fosfínico triclohexilfosfina no complexo pode ser evidenciado através das bandas de carbono com hibridização sp^3 em 2927-2842 cm^{-1} $\nu(\text{C-H})$.

4.2.4 Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C

A espectroscopia de RMN é uma das técnicas mais importantes da elucidação das estruturas de complexos. Considerando o componente estrutural básico de uma tiossemicarbazona como $>\text{C}^2=\text{N}^3-\text{N}^2\text{H}-\text{C}^1(=\text{S})\text{N}^1\text{H}_2$, a interação entre um metal e a tiossemicarbazona induz alterações na posição dos sinais de RMN desses núcleos e essa diferença observada nos deslocamentos químicos dos sinais dos hidrogênios nos da informação sobre as estruturas formadas. Para isso, é de vital importância conhecer o intervalo espectral em que cada um desses sinais é localizado. A coordenação N,S-quelante neutra da tiossemicarbazona resulta no deslocamento dos sinais referentes aos hidrogênios dos grupos $-\text{N}^2\text{H}$ e $-\text{N}^1\text{H}_2$. Os sinais alargados associados aos átomos de hidrogênio hidrazínicos dos ligantes livres ($-\text{N}^2\text{H}$) localizam-se na região de 8,74–11,57 ppm, dependendo da natureza dos substituintes ligados ao carbono 2 (LOBANA et al., 2006a; LOBANA et al., 2006b; LOBANA et al., 2006c; LOBANA et al., 2009a; SAHA et al., 2003). Os hidrogênios do grupo amino das tiossemicarbazona livre ($-\text{N}^1\text{H}_2$) apresentam dois sinais alargados nas regiões de 7,17–8,12 e 6,29–7,79 ppm, respectivamente, devido à rotação restrita desse grupo ao longo do eixo da ligação C^1-N^1 , causada pela deslocalização do par de elétrons livre sobre o nitrogênio N1 (LOBANA et al., 2006a; LOBANA et al., 2006b; LOBANA et al., 2006c; LOBANA et al., 2009a; SAHA et al., 2003). Nos espectros de RMN de complexos contendo ligantes N,S-quelantes neutros, dois sinais $-\text{N}^1\text{H}_2$ são

observados e o singlete associado ao $-N^2H$ é deslocado para região desblindada, pois a formação das ligações M-S e M-N³ aumenta a contribuição da estrutura de ressonância no anel formado, resultando na diminuição da densidade eletrônica sobre o hidrogênio hidrazínico.

Por outro lado, quando a tiossemicarbazona está coordenada no modo aniônico, o sinal referente ao grupo $-N^2H$ desaparece e um único sinal é atribuído ao grupo $-N^1H_2$ em regiões blindadas (4,71–5,92 ppm) (MARINO et al., 2006). Tal fato é atribuído à formação do ânion tiossemicarbazonato após a desprotonação do grupo N^2H junto com a redução da ordem de ligação da ligação C^1N^1 , resultando no desimpedimento da rotação do fragmento $-N^1H_2$ na temperatura ambiente.

No que diz respeito aos espectros de ^{13}C das tiossemicarbazonas, informações relevantes podem ser obtidas analisando os deslocamentos dos sinais referentes aos carbonos tionílico C^1 (177-178 ppm) e imínico C^2 (132–163 ppm) (LOBANA et al., 2006a; LOBANA et al., 2006b; LOBANA et al., 2006c; LOBANA et al., 2009a; SAHA et al., 2003). Após a coordenação, o sinal associado ao C^1 sofre um deslocamento para regiões blindadas (168-182 ppm) enquanto que o do C^2 desloca-se para regiões desblindadas (142–172 ppm). O deslocamento para regiões blindadas sinal do grupo tionila (C^1) comparado ao do ligante livre indica a diminuição da ordem de ligação da ligação $C=S$ após a coordenação. Já o deslocamento do sinal associado ao carbono imínico evidencia a desproteção resultante do deslocamento da densidade eletrônica do nitrogênio imínico para o metal.

A espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C foram empregadas com a finalidade de auxiliar na caracterização estrutural do ligante e dos complexos da família da frambiona e também verificar sua pureza. Todos os espectros foram obtidos em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) e adquiridos em 600MHz. Os sinais foram atribuídos de acordo com a numeração do esquema representado pela Figura 30. Os experimentos de DEPT-135, HSQC e HMBC, auxiliaram na atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C e encontram-se no Apêndice B dessa tese.

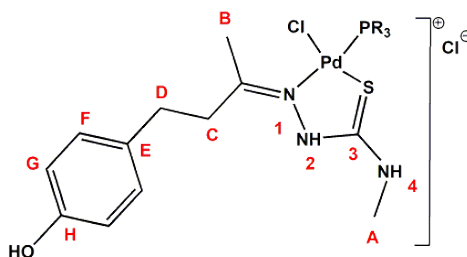


Figura 30. Numeração das posições dos átomos de ligante FMTSC e dos complexos.
Fonte: Autora.

As atribuições dos deslocamentos químicos RMN de ^1H e ^{13}C , para o ligante FMTSC e para os complexos $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (5), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ (6), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})]\text{Cl}$ (7), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})]\text{Cl}$ (8), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})]\text{Cl}$ (9), $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PCy}_3)]\text{Cl}$ (10) e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]\text{Cl}$ (11), se encontram na Tabela 11. A Figura 31 apresenta o espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do ligante FMTSC.

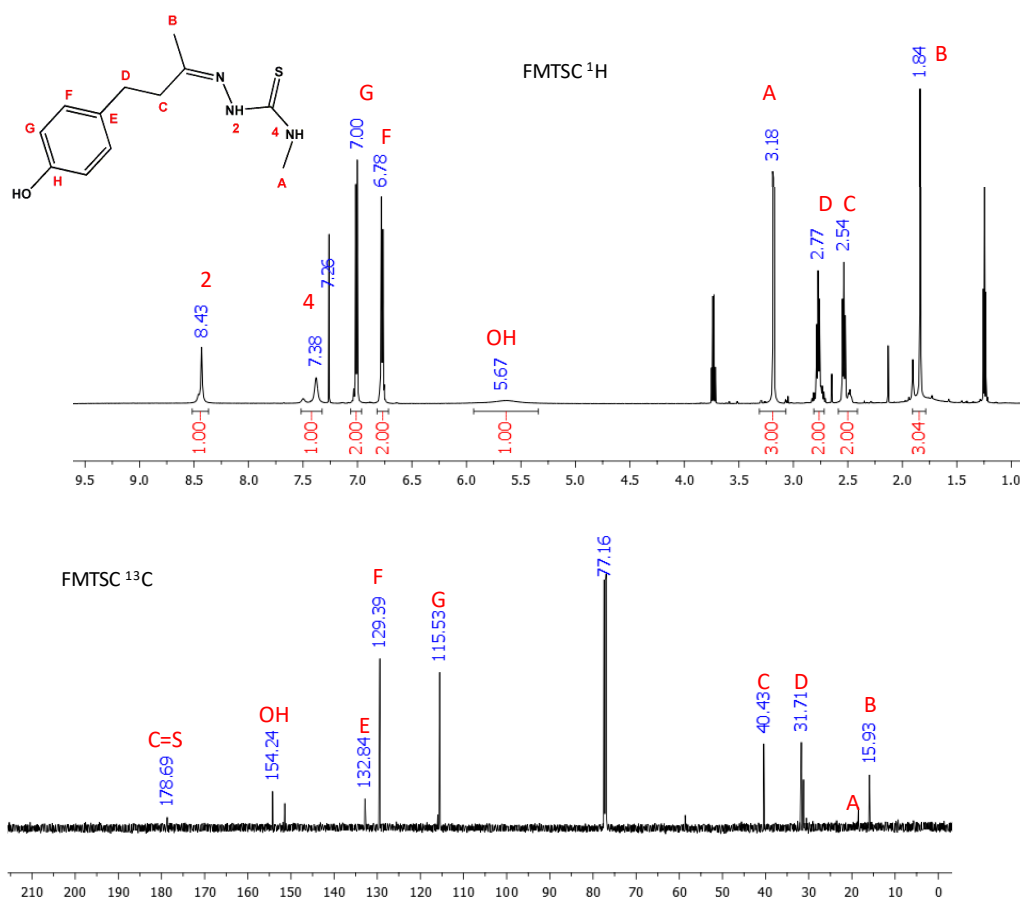
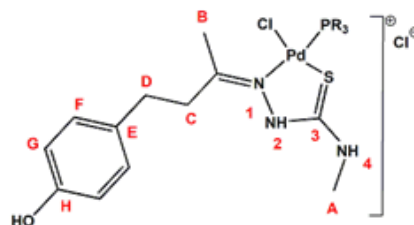


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do ligante FMTSC, em CDCl_3 .
Fonte: Autora.

Tabela 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C , do ligante FMTSC e dos complexos (5-11).

Deslocamento Químico/ppm													
Atribuições	B	D	C	A	H/OH	G	F	4 (CSNH)	2 (CNNH)	E	PR ₃	#	
FMTSC	^1H	1,84 s	2,77 t 7Hz	2,54 t 7Hz	3,18 s	5,67 sl	6,78 d 9Hz	7,00 d 9Hz	7,38; 7,41 sl	8,43 sl	-	-	-
	^{13}C	15,93	31,71	40,43	18,50	154,24	115,53	129,39	178,69	151,42	132,84	-	-
5	^1H	2,12 s	2,81 t 8Hz	2,71 t 8Hz	2,74 s	5,37 sl	6,78 d 8Hz	7,02 d 8Hz	8,95 sl	10,66 sl	-	7,68-7,43 m	-
	^{13}C	29,05	28,95	45,62	31,39	154,19	115,53	129,36	177,00	208,59	133,07	134,65-129,51	-
6	^1H	2,13 s	2,81 t 8Hz	2,71 t 8Hz	2,76 s	5,37 sl	6,77 d 8Hz	7,01 d 8Hz	7,92 sl	8,90 sl	-	7,66-7,13 m	-
	^{13}C	29,04	28,92	45,61	30,27	154,22	115,52	129,50	179,27	208,57	132,76	136,93-116,40	-
7	^1H	2,12 s	2,80 t 8Hz	2,70 t 8Hz	2,75 s	5,69 sl	6,79 d 8Hz	7,01 d 8Hz	8,93 sl	10,58 sl	-	7,58-6,93 m	3,81
	^{13}C	29,06		45,63	30,27	154,32	115,58	129,47	162,47	208,64	132,84	136,28-114,09	55,47
8	^1H	2,12 s	2,81 t 8Hz	2,71 t 8Hz	2,76 s	5,71 sl	6,79 d 8Hz	7,01 d 8Hz	8,95 sl	10,64 sl	-	7,54-7,21 m	2,37
	^{13}C	30,28	29,06	45,63	31,39	154,31	115,58	125,69	179,88	208,68	132,84	142,10-125,69	21,68
9	^1H	2,12 s	2,72 t 8Hz	2,81 t 8Hz	2,74 s	5,46 sl	6,78 d 8Hz	7,03 d 8Hz	8,93 sl	10,62 sl	-	7,66-7,42 m	2,38
	^{13}C	29,05	31,39	45,62	30,28	154,24	115,55	129,49		208,60	132,95	134,54-128,65	21,70
10	^1H	2,13 s	2,72 t 8Hz	2,82 t 8Hz	3,01 s	6,52 sl	6,78 d 8Hz	7,03 d 8Hz	9,15 sl	11,08 sl	-	-	1,91-1,28
	^{13}C	30,16	28,92	45,63	31,60	154,29	115,54	129,49	175,25	208,59	132,94	-	29,81-26,09
11	^1H	2,12 s	2,80 t 8Hz	2,71 t 8Hz	2,80 s	5,69 sl	6,79 d 8Hz	7,02 d 8Hz	8,95 sl	10,60 sl	-	7,66-7,45 m	1,02; 2,48; 2,51
	^{13}C	30,28	29,06	45,63	31,54	154,31	115,56	129,37	174,59	208,64	132,87	128,91-133,34	15,84; 27,44; 29,54

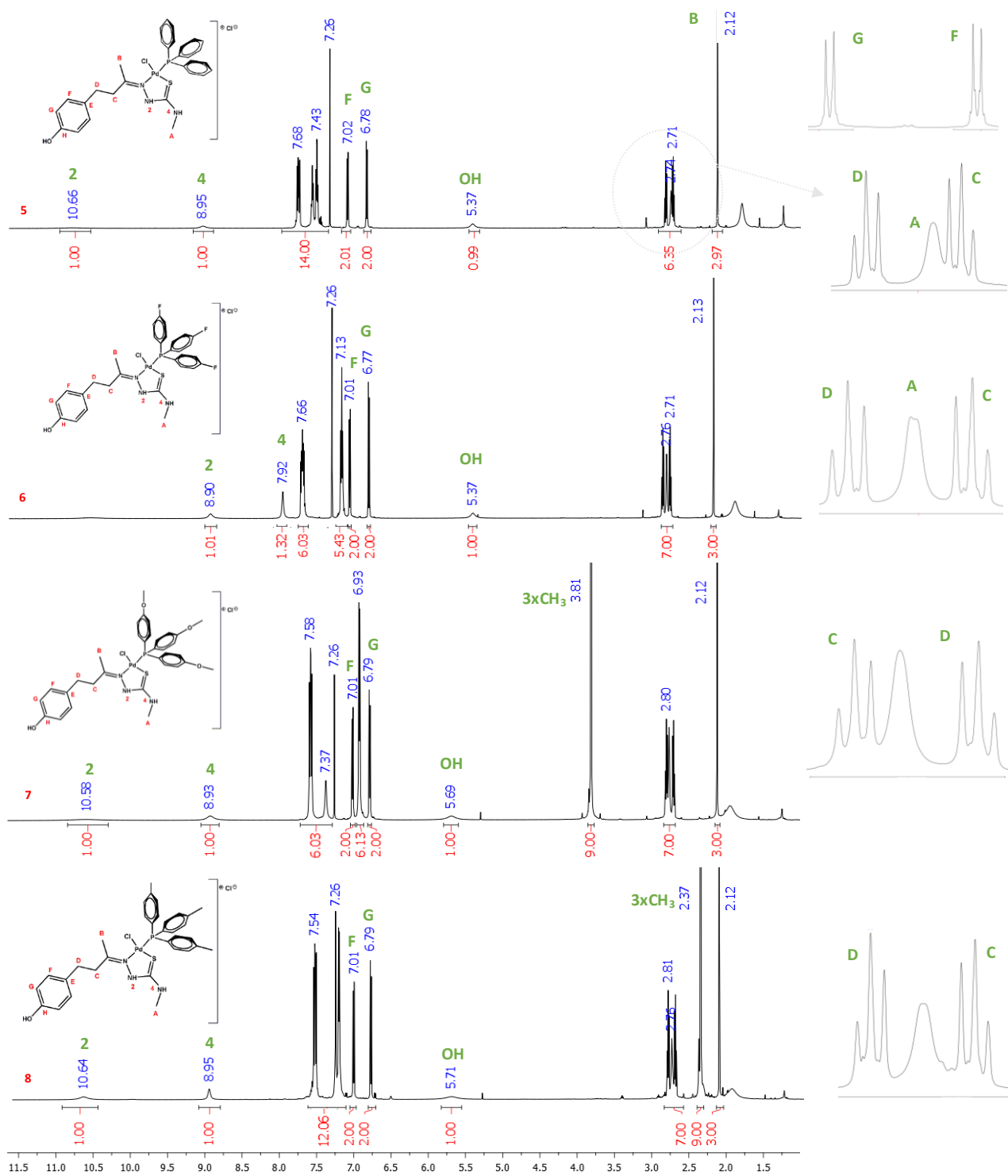


Para a tiossemicarbazona livre, os sinais obtidos no espectro são concordantes com a sua estrutura molecular. O núcleo de hidrogênio do grupo hidrazínico está relacionado ao sinal em 8,43 ppm enquanto que dois sinais alargados pertencem ao átomo de hidrogênio do grupo tioamida em 7,38 e 7,41 ppm. A presença de dois dupletos em 7,00 e 6,78 ppm é característico de um anel benzênico p-substituído. O sinal alargado em 5,67 ppm está associado ao grupo hidroxila ligado ao anel aromático. O arcabouço alifático da molécula também foi evidenciado pelo aparecimento de dois tripletos em 2,54 e 2,77 ppm, associados aos grupos metilênicos C e D e um singlete em 1,84 ppm, atribuído ao grupo metila da posição A.

O sinal referente ao grupo metílico ligado na tioamida aparece como dois singletos em 3,18 e 3,17 ppm. Isso ocorre devido ao par de elétrons isolado do nitrogênio, que causa uma deslocalização dos elétrons da ligação π , que é possível devido a simetria dos orbitais p no átomo N(4) e a planaridade da estrutura, fazendo com que essa deslocalização restrinja a rotação dessa ligação C-NHCH₃, fazendo com que não possua caráter de ligação simples (MORO et al., 2007; TARASCONI et al., 2000; GOMES et al., 2012). Assim, tanto o hidrogênio NH como o grupo CH₃ da tioamida encontram-se em ambientes químico diferentes, conferindo a eles dois sinais no espectro do ligante FMTSC.

No espectro de RMN de ¹³C nota-se o sinal do carbono terciário C=N aparece em torno de 151,42 ppm, resultado condizente aos encontrados por outros ligantes derivados de tiossemicarbazona (MARINO et al., 2006), enquanto que os sinais de carbono C=S aparecem próximo de 178,69 ppm que são característicos para o grupo tiocarbonilo presente no ligante. O sinal em 18,50 ppm atribuído ao carbono do grupo metílico da posição A e os sinais em 15,93; 31,71 e 40,43 ppm, atribuídos a B, D e C, respectivamente. Os carbonos referentes ao anel aromático do ligante E, F, G e H se encontram em regiões desblindadas, com valores de deslocamento 132,84, 129,39, 115,53 e 154,24 ppm, respectivamente.

Para os complexos [PdCl(FMTSC)(PPh₃)]Cl (5), [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl (6), [PdCl(FMTSC)(tmf)]Cl (7), [PdCl(FMTSC)(tpf)]Cl (8), [PdCl(FMTSC)(dpt)]Cl (9), PdCl(FMTSC)(PCy₃)]Cl (10) e [PdCl(FMTSC)(PPh₂Pr)]Cl (11), as atribuições dos deslocamentos químicos RMN de ¹H e ¹³C e as correlações observadas se encontram na Tabela 11. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C dos complexos estão representados pelas Figuras 32 e 33, respectivamente.



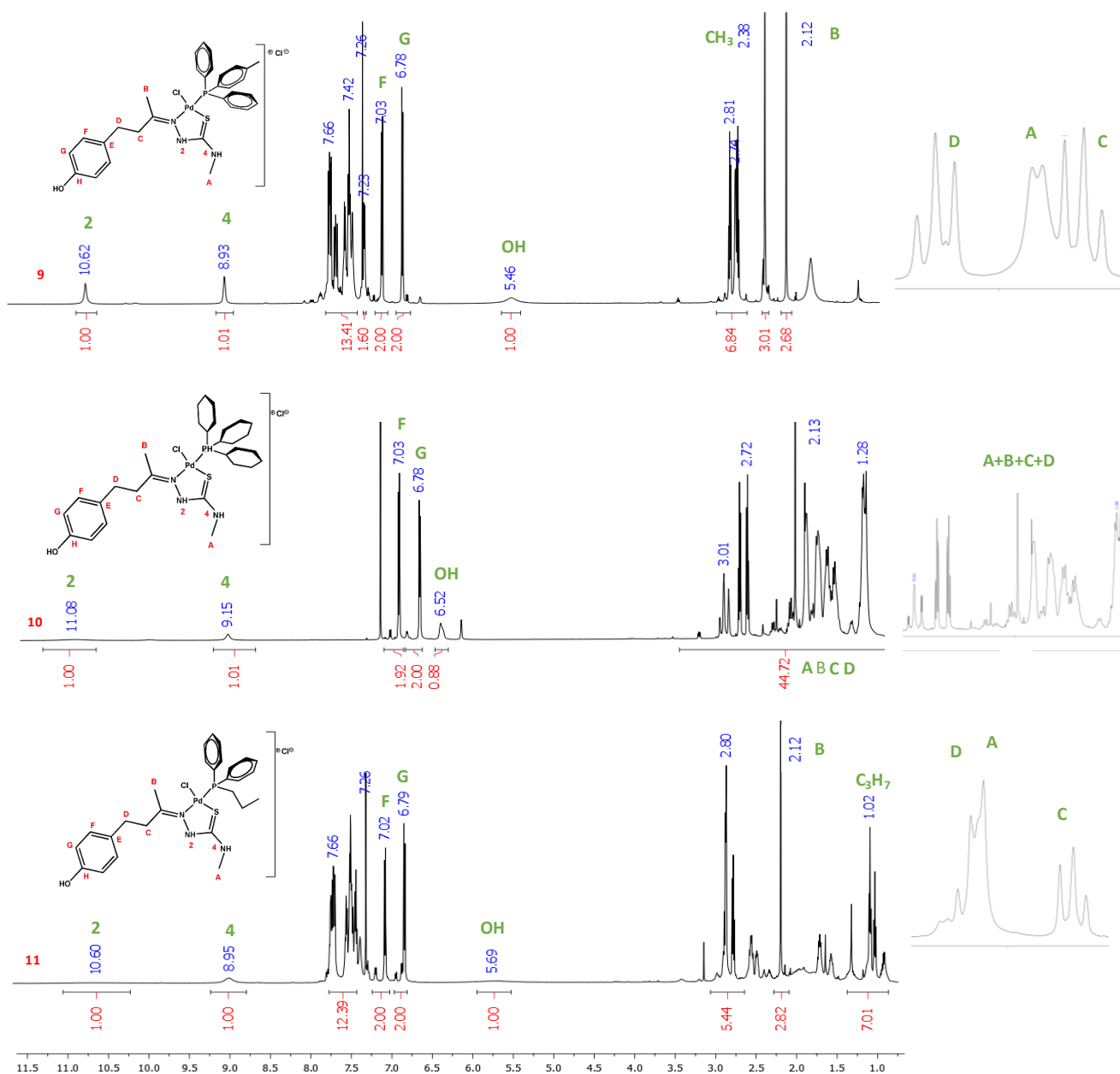


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H dos complexos 5-11, em CDCl_3 .
Fonte: Autora.

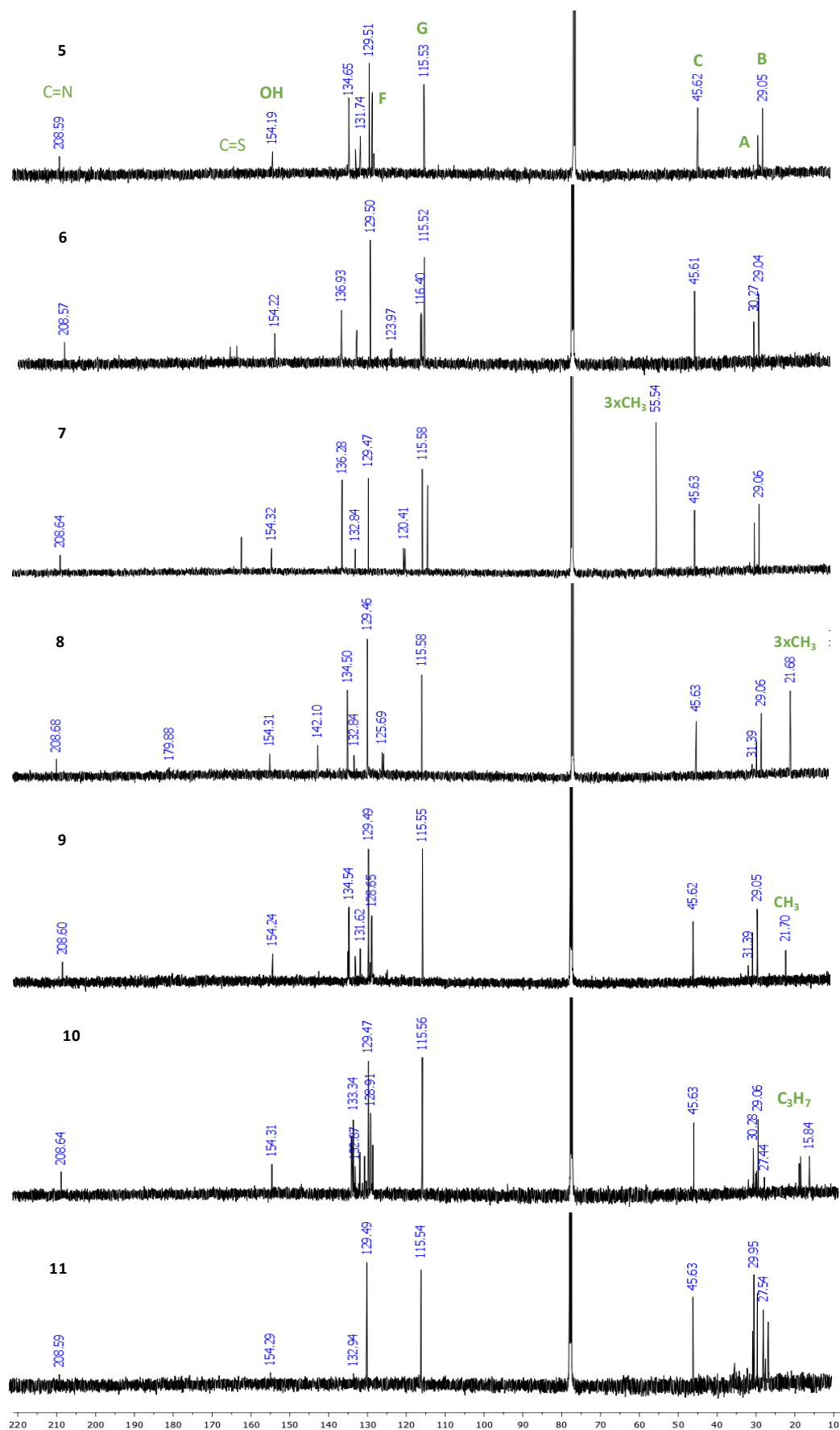


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C dos complexos 5-11, em CDCl_3 .

Fonte: Autora.

Os espectros de RMN de ^1H dos complexos são bem semelhantes e indicam a coordenação dos ligantes ao metal. O aparecimento do sinal associado ao hidrogênio da posição 2 na região 8,9-11 ppm, sugerem a coordenação da tiossemicarbazona como um ligante neutro para todos os compostos. A ocorrência de um único isômero formado é evidenciado, a partir da constatação de que os sinais referentes ao hidrogênio ligado ao grupo imínico ($\text{HC}=\text{N}$) aparece em único singleto, ao invés de sinais duplicados como quando uma mistura de isômeros E/Z está presente (ESPÍNDOLA et al, 2015). Lessa et al. (2010) observaram que o hidrogênio do nitrogênio ligado a imina (N-2) com deslocamento químico de ~ 10 ppm indicando a configuração E e deslocamento de ~ 14 ppm a configuração Z (LESSA et al., 2010), evidenciando que os compostos apresentam configuração E, a mais estável. Pelo espectro de RMN ^1H , a quantidade de hidrogênios indicadas pela integração dos sinais condiz com uma estrutura do complexo catiônica em que não ocorreu desprotonação da tiossemicarbazona (FMTSC).

O singleto associado ao hidrogênio ao grupo NH (4) dos complexos, se apresenta na faixa de 7,92-9,15 ppm, mostrando deslocamento de aproximadamente 1,50 ppm para regiões mais desblindadas. Os deslocamentos observados dos dois conjuntos de tripletos, em 2,70-2,82 e 2,72-2,81 ppm, associados aos hidrogênios (CH_2) da posição C e D, e de um singleto em 2,12-2,13 ppm, atribuído ao grupo metila da posição B para regiões mais desblindadas, está de acordo a coordenação através do átomo de nitrogênio azometínico. As variações dos prótons do ligante FMTSC para regiões de menor proteção ocorrem devido aos hidrogênios estarem mais desblindados depois da complexação do metal, uma vez que haverá um deslocamento de densidade eletrônica na direção do centro metálico. O sinal alargado na faixa de 5,37-6,52 ppm está associado ao grupo $-\text{OH}$ ligado ao anel aromático. O singleto, atribuído ao grupo metila da tioamida sofre deslocamento para região blindada (2,74-3,01 ppm), provavelmente em função da anisotropia magnética causado pela proximidade espacial associada à ligação $\text{C}=\text{S}$ do grupamento tioamida.

A ocorrência de multipletos na região entre 6,93-7,68 ppm evidencia a presença dos hidrogênios aromáticos dos ligantes fosforados, uma vez que essa região é normalmente associada a hidrogênios diretamente ligados a átomos de carbono sp^2 ($\text{C}=\text{C}$). Para o composto contendo o ligante fosfínico, tmf, observa sinal de nove hidrogênio adicionais em 3,81 ppm e o composto com tpf em 2,37 ppm. O composto com a fosfina dpt, possui três hidrogênios em 2,38 ppm, para PCy_3 , nota-se um

conjunto de sinais na região 1,28-1,91 ppm, atribuídos ao grupo $-\text{CH}_2-$ alifático e PPh_2Pr apresenta sinais em 1,02, 2,48, 2,51 ppm. A coordenação das fosfinas é evidenciada observando os deslocamentos comparados aos ligantes livres.

Nos espectros de ^{13}C dos complexos, observa-se um deslocamento de cerca de 10 ppm para regiões mais desblindadas (208,57-208,68) dos sinais imínicos $\text{C}=\text{N}$, enquanto que os sinais tionílico $\text{C}=\text{S}$ são deslocados para região mais blindada em relação ao ligante, aparecendo em torno de 162,47-179,88 ppm. Estes resultados confirmam a coordenação pelo átomo de enxofre e pelo nitrogênio azometínico ao paládio (II) (LOBANA et al., 1997). Os átomos de carbono adjacentes aos locais de coordenação A, B, C e D são deslocados para regiões desblindadas, comparadas às suas posições no ligante livre, isso ocorre devido à formação do anel de cinco membros, que faz com a densidade eletrônica se concentre mais sobre o anel, deixando assim, os carbonos adjacentes mais desblindados. Os átomos de carbono do anel aromático E, F, G e H não apresentam mudanças significativas, sofrendo leve desblindamento. A coordenação das fosfinas é evidenciada pelo aparecimento do conjunto de sinais em 114,09-142,10 ppm. Para o complexo contendo o ligante fosfínico, tmf, observa sinal dos carbonos das metilas em 55,47 ppm, o composto com tpf se apresenta em 21,68 ppm, o composto com dpt em 21,70 ppm, para PCy_3 , nota-se um conjunto de sinais em 26,09-29,81 ppm e PPh_2Pr em 15,84, 27,44 e 29,54 ppm.

Para uma melhor elucidação das estruturas, os complexos foram investigados mediante técnicas de correlação bidimensional COSY ^1H - ^1H , HSQC ^1H - ^{13}C e ^1H - ^{15}N e HMBC ^1H - ^{13}C . Os espectros obtido para o complexo com a fosfina tfpp será representativo para a elucidação da estrutura, uma vez que os complexos (5-11) apresentam perfil semelhante dos sinais observados nos espectros, indicando assim estrutura similar em solução, deste modo, a interpretação para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ pode ser estendida para os demais compostos estudados, os espectros dos complexos estão no Apêndice C.

Assim, o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ (6) foi investigado mediante a Espectroscopia de Correlação Heteronuclear de simples ligação HSQC ^1H - ^{15}N (SILVERSTEIN;WEBSTER;KIEMLE, 2006), as correlações observadas no mapa de contorno dos hidrogênios e nitrogênios envolvidos bem como suas respectivas atribuições são mostradas na Tabela 12. As setas de correlação são apresentadas na Figura 34. Os sinais foram atribuídos de acordo com a numeração do esquema

representado pela Figura 30. O espectro de HSQC do complexo, está representado pela Figura 35.

Tabela 12. Dados de espectroscopia de correlação heteronuclear de simples ligação para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, em CDCl_3 .

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)	
	HSQC ^1H - ^{15}N	
	$\delta^1\text{H}$ (m, n° H)	$\delta^{15}\text{N}$
2	8,90 (sl, 1H)	67,06
4	7,92 (sl, 1H)	97,73

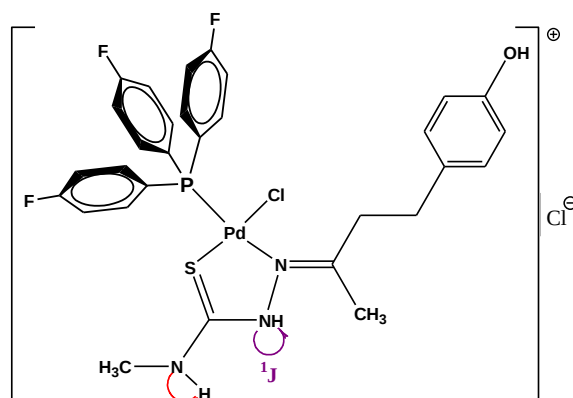


Figura 34. Setas de correlação observadas nos experimentos HSQC para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

Fonte: Autora.

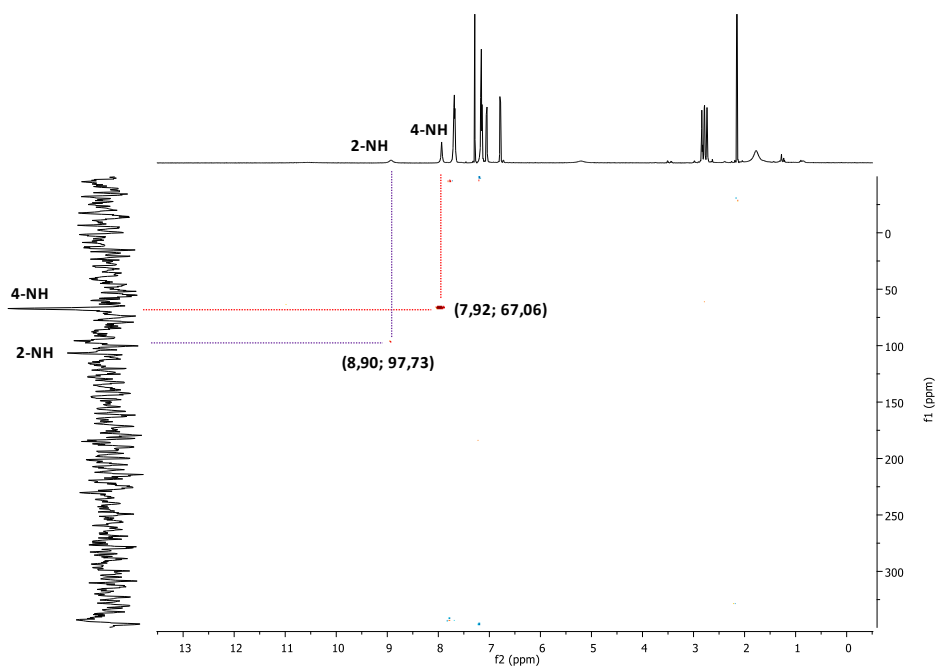


Figura 35. Mapa de contorno do experimento HSQC ^1H - ^{15}N , em CDCl_3 , para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

Fonte: Autora.

O HSQC correlaciona os núcleos de ^{15}N com os de hidrogênios que se encontram diretamente ligado às eles, ou seja, acoplados à distância de apenas uma ligação ($^1J_{\text{NH}}$). No mapa de contorno do experimento HSQC ^1H - ^{15}N (Figura 30) podem ser observados dois contornos no espectro, um referente ao hidrogênio hidrazínico acoplado com o 2-N em 97,73 ppm e o hidrogênio da tioamida com 4-N em 67,06 ppm, confirmando seus respectivos picos. Além disso, novamente a coordenação da tiossemicarbazona como um ligante neutro pode ser comprovada.

O complexo também foi investigado mediante espectrometria de COSY, o qual revela as interações de acoplamento ^1H - ^1H numa molécula (ZEGLIS; DIVILOV; LEWIS, 2011). A Tabela 13 mostra as correlações observadas entre os hidrogênios envolvidos bem como suas respectivas atribuições. As setas de correlação são apresentadas na Figura 36. O espectro de COSY ^1H - ^1H do complexo está representado pela Figura 37.

Tabela 13. Dados de RMN para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, em CDCl_3 .

Deslocamento químico (ppm)					
Atribuição	HSQC ^1H - ^{13}C		HMBC ^1H - ^{13}C		COSY ^1H - ^1H
	$\delta^1\text{H}$ (m, J=Hz, n° H)	$\delta^{13}\text{C}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
A	2,76 (s, 3H)	30,27		C=S	H4
B	2,13 (s, 3H)	29,04	C=N	C	
C	2,71 (t, 7Hz, 2H)	45,61	D, C=N	E	D
D	2,81 (t, 7Hz, 2H)	28,92	C, E	F, C=N	C
E		132,76	D	C, G	
F	7,01 (d, 8Hz, 2H)	129,50		D, H	G
G	6,77 (d, 8Hz, 2H)	115,52	H	E	F
H	5,37 (sl, 1H)	154,22	G	F	
1		208,57	B, C	D	
2	8,90 (sl, 1H)				
3		179,27			
4	7,92 (sl, 1H)		C=S		A
tfpp	1'	-		Ψ	
	2'	7,66 (m, 6H)	136,93	-	Φ
	3'	7,13 (m, 6H)	116,40	Φ	α
	4'	-	164,01	Ψ	β

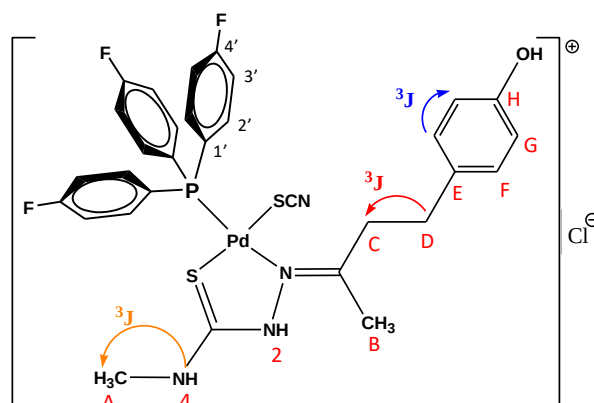


Figura 36. Setas de correlação observadas no experimento COSY ^1H - ^1H do complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.
Fonte: Autora.

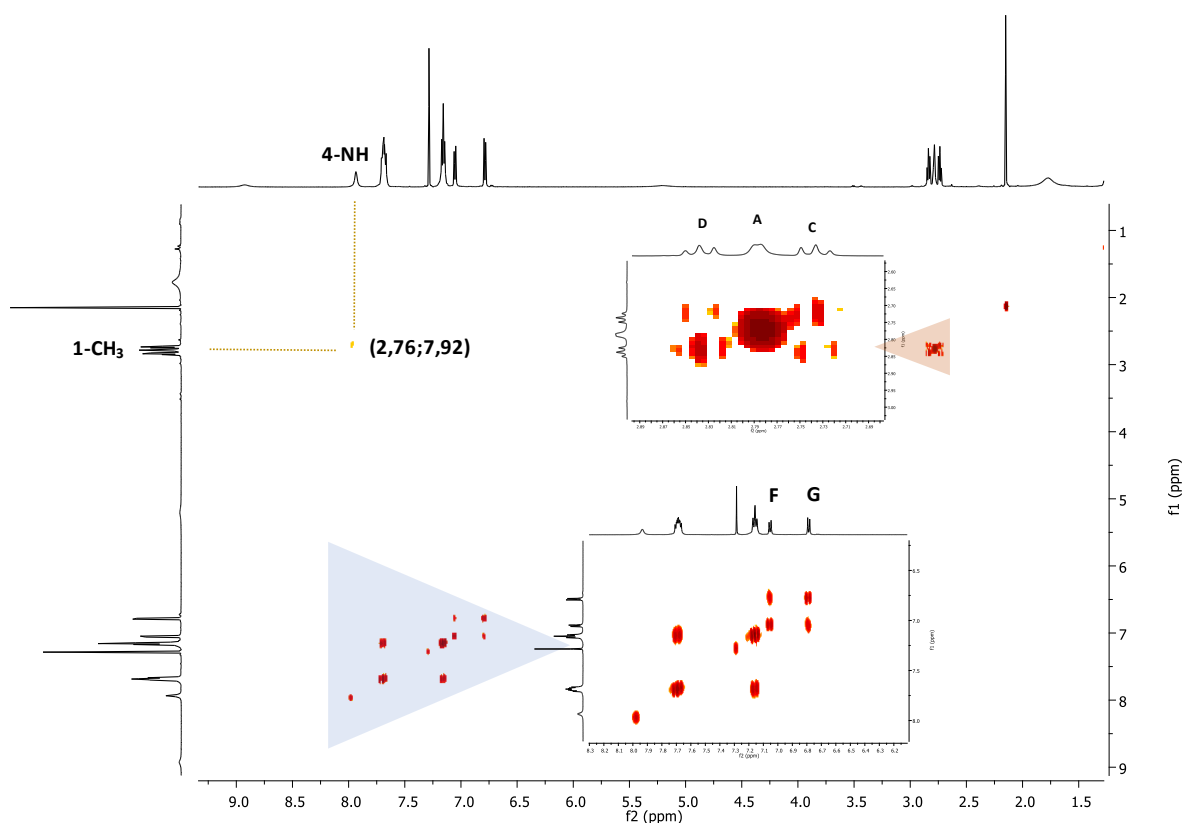


Figura 37. Mapa de contorno do experimento COSY ^1H - ^1H , em CDCl_3 , para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.
Fonte: Autora.

O experimento de COSY permitiu a distinção clara entre os sinais de NH da posição 2 e 4, visto que o hidrogênio do NH da tioamida 7,92 ppm apresenta correlações homonucleares com os hidrogênios da metila (2,76 ppm). Interações de acoplamento entre os hidrogênios associados aos tripletos dos grupos CH_2 nas posições C e D, são observados nos contornos que ocorrem em 2,71 ppm e 2,81 ppm,

verificando que de fato, há uma correlação entre os hidrogênios vizinhos. Observamos também na região de 6,77-7,01 ppm que ocorre à correlação dos dubletos referentes aos hidrogênios da posição G e F do anel aromático do ligante FMTSC. O hidrogênio da posição F (δ_H 7,01 ppm) se correlaciona com o hidrogênio da posição G (δ_H 6,77 ppm). A correlação entre os hidrogênios da trifenilfosfina ocorre na região de 7,13-7,66 ppm.

O mapa de contorno do experimento HSQC e HMBC ^1H - ^{13}C mostra os acoplamentos entre os átomos a curtas (^1J) ou longas ligações (^2J) e (^3J) (OFFIONG; MARTELLI, 1997; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Para a correlação os espectros foram medidos usando o método DEPT-135, que auxilia na atribuição dos sinais de carbonos pois no experimento os sinais de metino (CH) e metila (CH_3) são positivos, enquanto que carbonos quaternários (C) e metileno (CH_2) são negativos. A Tabela 13 mostra as correlações observadas entre os hidrogênios envolvidos bem como suas respectivas atribuições. As setas de correlação são apresentadas na Figura 38. O espectro de HSQC do complexo está representado pela Figura 39 e o espectro de HMBC está representado pela Figura 40.

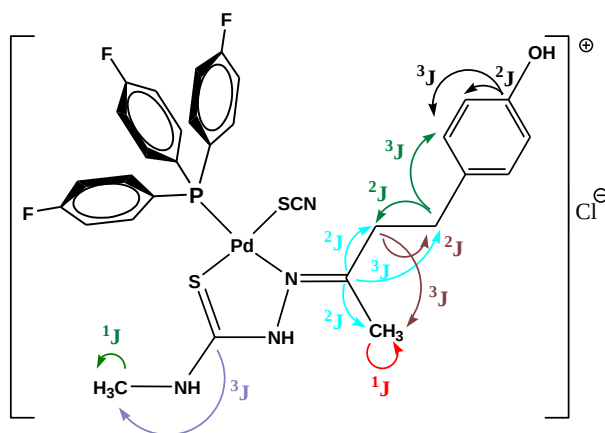


Figura 38. Setas de correlação observadas no experimento HSQC ^1H - ^{13}C e HMBC ^1H - ^{13}C do complexo $[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl$.

Fonte: Autora.

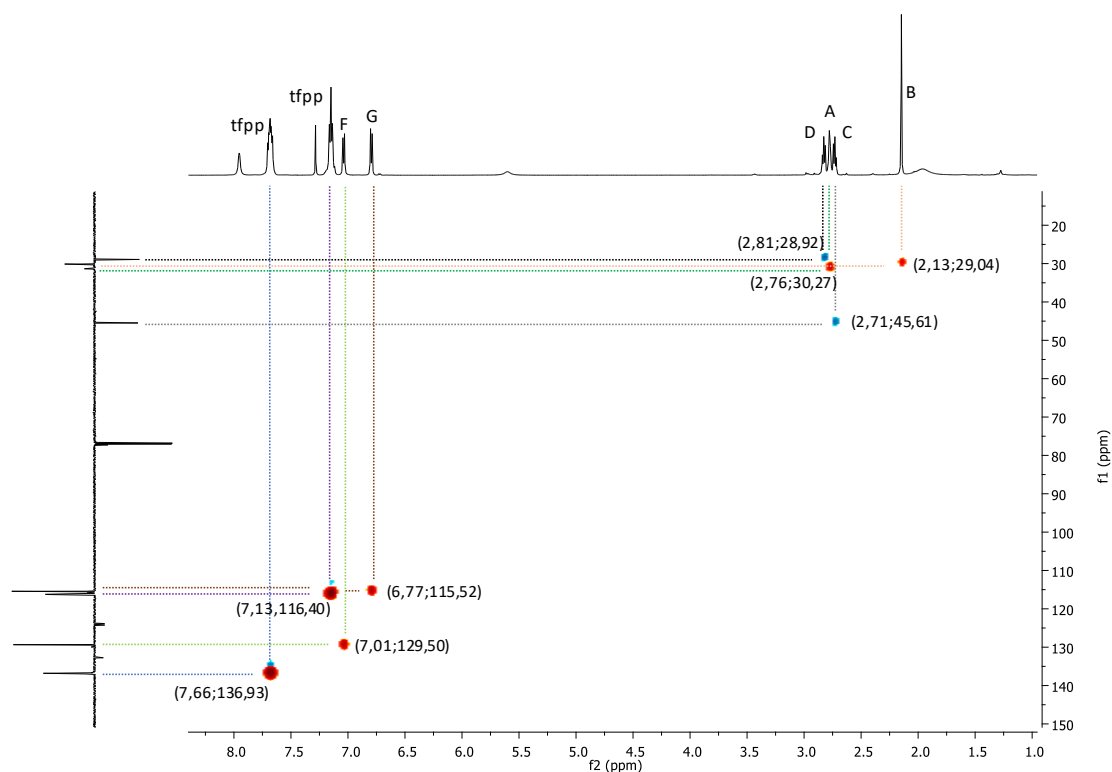


Figura 39. Mapa de contorno do experimento HSQC ^1H - ^{13}C , em CDCl_3 , para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

Fonte: Autora.

No mapa de contorno do experimento HSQC ^1H - ^{13}C (Figura 39), observamos a correlação dos carbonos aromáticos em regiões desblindadas como o sinal do hidrogênio F (7,01 ppm) se acoplando ao C^{F} em 129,50 ppm e o sinal em 6,77 ppm, se correlaciona em 115,52 ppm com o carbono da posição G. O sinal da metila em 2,13 ppm, correspondente ao hidrogênio B, se correlaciona com o sinal em 29,04 ppm. O grupo metilênico é observado em 28,92 ppm, que correspondendo ao C^{D} e o sinal do C^{C} é evidenciado em 45,61 ppm. A metila da tiamida (2,76 ppm) acopla em 30,27 ppm com o C^{A} . Pode-se ainda predizer que os carbonos em 208,57; 179,27; 154,22 e 132,76 ppm são quaternários, pois não apresentam nenhuma correlação direta com os hidrogênios. Além disso, é evidenciado os acoplamentos da 4-fluorofosfina em 116,40 e 136,93 ppm com 7,13 e 7,66 ppm.

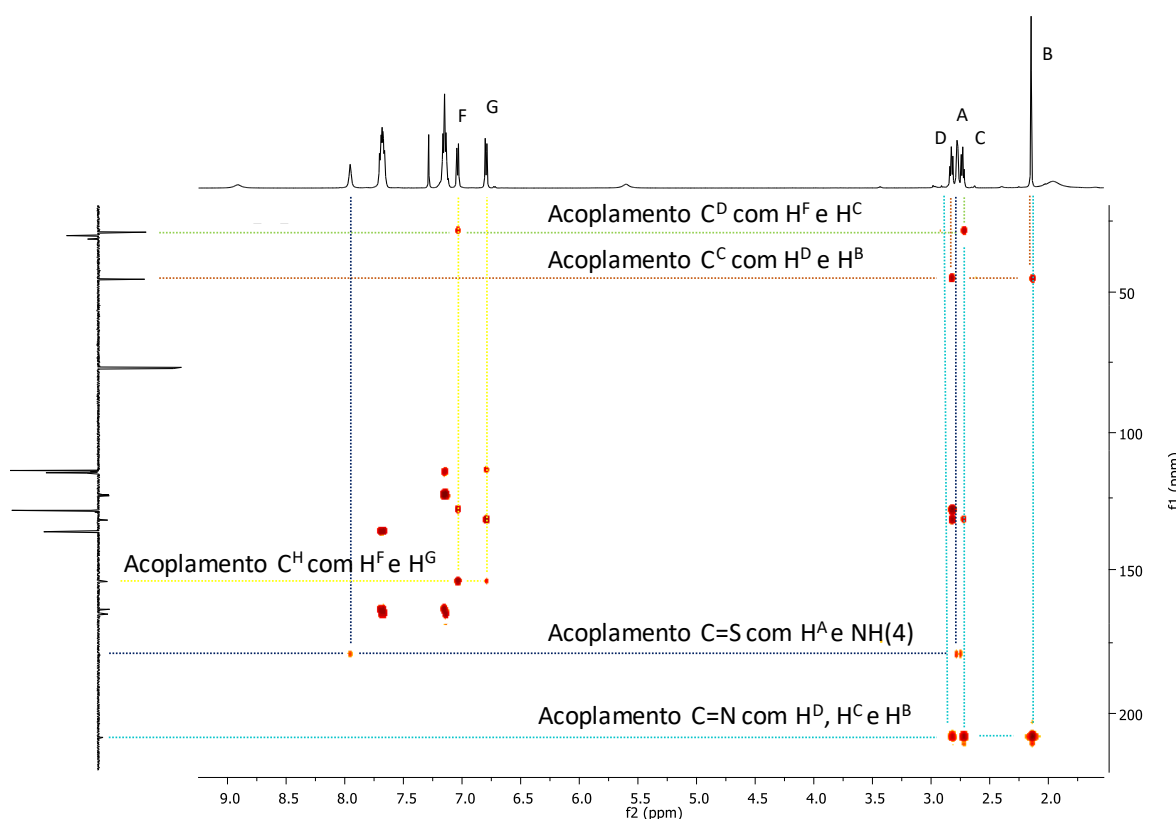


Figura 40. Mapa de contorno do experimento HMBC ^1H - ^{13}C , em CDCl_3 , para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

Fonte: Autora.

O espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (Figura 40) apresenta a correlação heteronuclear a longa distancias (^2J , ^3J ou até mesmo ^4J) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006), proporcionando uma confirmação dos sinais e suas atribuições de acordo com seus vizinhos. No espectro vemos o sinal do carbono metilênico em 28,92 ppm se correlacionando a três ligações (^3J) com o sinal 7,01 ppm do H^{F} e com o hidrogênio (2,71 ppm) do CH_2 da posição C a duas ligações (^2J), comprovando que se refere-se ao C^{D} . O sinal do C^{C} em 45,61 ppm evidencia correlação com o sinal do CH_2 da posição D (2,81 ppm) e com o sinal em 2,13 ppm (CH_3) a três ligações (^3J).

O sinal do grupo tiocarbonilo pode ser evidenciado pela correlação do sinal em 179,27 ppm com o 2,76 ppm da metila da tioamida, a três ligações (^3J) e com o sinal em 7,92 ppm do NH da tiamida a duas ligações (^2J). O sinal referente ao hidrogênio azometínico, se apresenta em 208,57 ppm, se correlacionando a 2 ligações (^2J) com o grupo CH_2 da posição C (2,71 ppm), com o singlete do hidrogênio da metila da posição B (2,13 ppm) e a 3 ligações (^3J) com o sinal do grupo metilênico da posição D (2,81 ppm). Em 154,22 ppm, observa dois contornos no espectro, referentes ao acoplamento do C^{H} aos hidrogênios H^{F} e H^{G} do anel aromático do ligante.

4.2.5 Espectros de RMN de ^{31}P

Variações no deslocamento químico e nas constantes de acoplamento (PREGOSIN, 2008) dos átomos de fósforo presentes no complexo no RMN de ^{31}P dependem dos efeitos estéricos e efeitos eletrônicos como eletronegatividade dos átomos ligados ao fósforo, os ângulos de cone, a natureza do átomo em posição trans ao fósforo e o tamanho do anel quelato formado pelo ligante fosfínico (PREGOSIN, 2008). A trifenilfosfina, tri(p-toluil)fosfina, tris(4-fluorfenilfosfina), tris(4-metoxifenil)fosfina e a difenil(p-toluil)fosfina possuem o mesmo valor de ângulo de cone, $\theta = 145^\circ$, a triclohexilfosfina apresenta ângulo de cone $\theta = 170^\circ$ e a fenilpropilfosfina o de $\theta = 140^\circ$, como mostrado na Tabela 14. Ligantes menos volumosos apresentam menor ângulo de cone de Tolman e maiores deslocamentos químicos (TOLMAN, 1977), tal fato pode ser observado visto que para PH_3 o valor do ângulo de cone de Tolman é $\theta = 87^\circ$ e deslocamento $\delta(^{31}\text{P}) = 240$ ppm, enquanto que em PEt_3 o valor do ângulo de cone é $\theta = 132^\circ$ e $\delta(^{31}\text{P}) = 20,1$ ppm (TOLMAN, 1977). Como a maioria das fosfinas apresentam mesmos valores de ângulo de Tolman, não é esperado influência do ângulo na variação dos deslocamentos químicos do fósforo, entretanto pode ocorrer influência dos substituintes no ligante fosfínico nestes casos.

Quanto maior o número de anéis aromáticos conectados ao átomo de fósforo, menor é o deslocamento químico da fosfina e menor o valor de pka (HAAV et al., 2012). Fosfinas substituídas com arilas são bases mais fracas que fosfinas substituídas com ligantes alquilas, isso devida a conjugação entre o anel aromático e o par isolado de elétrons do átomo de fósforo aliada ao efeito indutivo do campo no anel aromático. Assim, para PPh_3 , uma fosfina volumosa ($\theta = 145^\circ$), a presença dos três anéis aromáticos tem significativa contribuição para sua basicidade (pka = 2,73) (BLACKER et al., 1999; CLAVIER; NOLAN, 2010), com deslocamento de -6 ppm (TOLMAN, 1977) já a fosfina PPh_2Pp que possui ausência de um dos anéis aromáticos, apresentando deslocamento de 6,4 ppm e pka = 4,59.

O acréscimo de substituintes metílicos na trifenilfosfina, aumenta o efeito indutivo e conseqüentemente também o valor do pka. Assim, valores superiores de pka para a tri(p-toluil)fosfina (pka = 3,08) e para adifenil-(p-toluil)-fosfina (pka = 3,01) é encontrada quando comparada a trifenilfosfina (pka = 2,73). Esses substituintes doam densidade eletrônica e desblindam o núcleo de fósforo, aumentando seu

deslocamento químico, como por exemplo tpf tem deslocamento químico (-6,8 ppm) maior que a fosfinas com apenas uma metila dpt (-8,7 ppm) (ISAB et al., 1999). Substituintes com átomos eletronegativos e/ou grupos retiradores de densidade eletrônica como tfpp apresenta o menor pka devido a presença de um átomo de flúor que retiram densidade, deixando o fósforo mais deficiente em elétrons, gerando uma maior blindagem do núcleo, deslocando o sinal para regiões de menor deslocamento químico. Os substituintes metóxi aumentam consideravelmente o valor do pka = 4,57 da trifenilfosfina, o que é causado pela capacidade elétron-doadora do grupo metóxi (HAAV et al., 2012) (Tabela 14).

Tabela 14. Ângulo de cone, deslocamento químico de ^{31}P (ppm) e pKa das fosfinas livres.

Ligante	Ângulo de cone $\theta/(^{\circ})$	$\delta (^{31}\text{P})(\text{ppm})$	pKa
Trifenilfosfina	145 ^{a,b,c,d,e}	-7,8 ^{b,f} (s)	2,73 ^{c,f,g}
Tris-(4-fluorfenil)-fosfina	145 ^c	-9,27 ^{c,f} (s)	1,97 ^{c,f,g}
Tris(4-metoxifenil)fosfina	145 ^c	-10,55 ^{c,f} (s)	4,57 ^{c,f,g}
Tri(p-toluil)fosfina	145 ^{b,d,e}	-6,8 ^{b,f} (s)	3,08 ^{f,g}
Difenil-(p-toluil)-fosfina	145 ^b	-8,7 ^b (s)	3,01 ^{f,g}
DifenilPropilFosfina	140 ^b	6,4 ^b (s)	4,59 ^g
Triciclohexilfosfina	170 ^{b,c,d,e}	8,2 ^{b,f} (s)	9,7 ^{c,f}

s = singleto

Fontes: ^a TOLMAN, 1977; ^b ISAB et al., 1999; ^c BLACKER et al. 1999; ^d CLAVIER; NOLAN, 2010, ^e JOVER; CIRERA, 2019, ^f ALLMAN; GOEL, 2011, ^gBUSH; ANGELICI, 1988.

Diante do exposto, foram realizados RMN de ^{31}P para os compostos 5-11, no qual os deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de ^{31}P para os compostos da série FMTSC e estão apresentados na Figura 41.

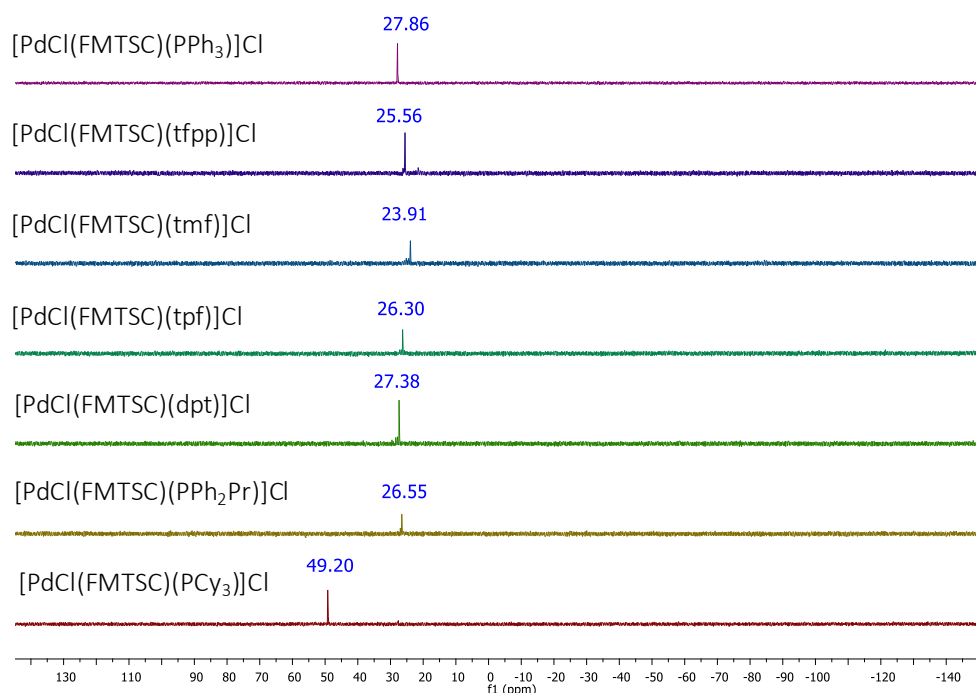


Figura 41. Espectro de RMN de ^{31}P dos complexos FMTSC em $\text{DMSO-}d_6$.

Fonte: Autora.

Os deslocamentos químicos no espectro de RMN de ^{31}P observados para os complexos da série FMTSC estão resumidos na Tabela 15.

Tabela 15. Deslocamentos químicos de RMN de ^{31}P para os complexos 5-11.

Composto	$\delta(\text{ppm})$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$	27,86
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$	25,56
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})]\text{Cl}$	23,91
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})]\text{Cl}$	26,30
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})]\text{Cl}$	27,38
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PCy}_3)]\text{Cl}$	49,20
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]\text{Cl}$	26,55

O sinal dos fósforo em todos os complexos mostram deslocados químicos de ^{31}P para regiões mais desblindadas, por aproximadamente 40 ppm, quando comparado com os ligantes fosfínicos livres que ocorrem entre -10,55 e 8,2 ppm (ISAB et al., 1999; BLACKER et al., 1999; ALLMAN; GOEL, 2011), devido ao fluxo de

densidade eletrônica do átomo de fósforo para o paládio após a formação do complexo, o que comprova a coordenação das fosfinas ao paládio.

Na série da FMTSC observa-se um sinal intenso na faixa de 23-49 ppm. Os espectros mostram que apenas uma fosfina foi coordenada ao centro metálico. A presença de grupos com maiores densidade eletrônica como o flúor (-9,27ppm) e a metoxi (-10,55 ppm) como substituinte nos anéis aromáticos da monofosfina gera uma maior blindagem do núcleo quando comparados ao sinal de ^{31}P da trifenilfosfina livre (-7,8 ppm). O mesmo efeito é observado quando ocorre a coordenação das fosfinas nos complexos, fazendo com que a fosfina sinta menos o campo magnético gerado tendo o sinal deslocado para regiões de menor deslocamento químico 25,56 ([PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl) e 23,91 ppm ([PdCl(FMTSC)(tmf)]Cl) quando comparada a trifenilfosfina (27,86 ppm). O sinal do deslocamento químico de ^{31}P para o ligante livre tpf (-6,8 ppm) se apresentam mais desblindados quando comparados ao sinal do ligante dpt (-8,7 ppm) e nos complexos ocorre o inverso [PdCl(FMTSC)(tpf)]Cl (26,30 ppm) e [PdCl(FMTSC)(dpt)]Cl (27,38 ppm) isso devido a doação de densidade eletrônica dos substituintes encontrados nesses anéis.

4.2.6 Difractometria de Raios X por Monocristal

A obtenção de cristais dos compostos derivados da tiossemicarbazona, foram buscados a partir da evaporação lenta da solução mãe da reação dos complexos contendo solvente acetonitrila e sob temperatura ambiente. Para as reações com o ligante frambiona-tiossemicarbazona (FMTSC) e as fosfinas trifenilfosfina (PPh_3) e a metildifenilfosfina (PPh_2Me), obteve-se cristais de cor amarela que foram investigados por cristalografia de raios X.

Os cristais obtidos possuem estrutura molecular conforme Figura 42 e 43. Os dados dos cristais e o refinamento das estruturas estão dispostos na Tabela 16. Distâncias interatômicas mais importantes e ângulos de ligação intramolecular dos complexos estão coletados na Tabela 17.

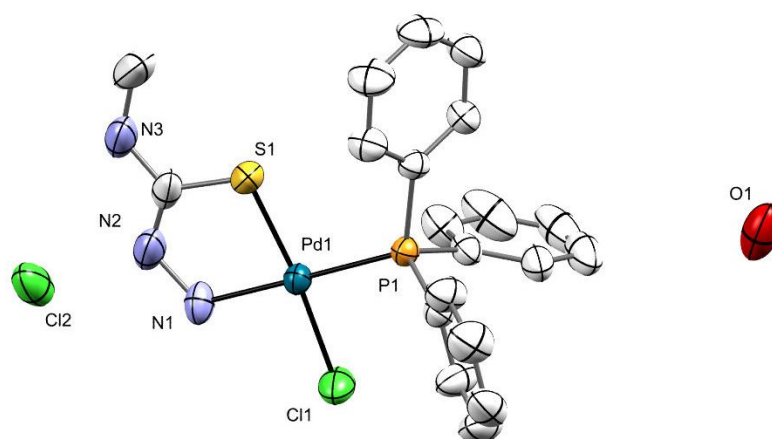


Figura 42. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_3)]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$, com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.

Fonte: Autora.

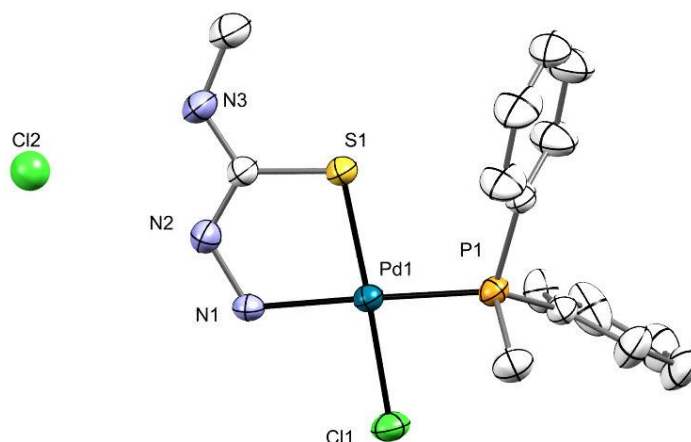


Figura 43. Representação da unidade assimétrica da estrutura cristalina e molecular determinada por difração de raios X em monocristal do composto $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_2\text{Me})]\text{Cl}$, com omissão dos hidrogênios para melhor visualização.

Fonte: Autora.

Tabela 16. Dados cristalográficos para os complexos $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_3)]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_2\text{Me})]\text{Cl}$.

Código	$[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_3)]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	$[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_2\text{Me})]\text{Cl}$
Fórmula empírica	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OPPdH}_2\text{O}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OPPdS}$
Peso molecular	560,74	480,65
Temperatura (K)	283-303	283-303
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	$P 2_1/c$	$P 2_1/n$
Dimensões da célula unitária		
$a(\text{\AA})$	14.0347(6)	14.0777(5)
$b(\text{\AA})$	19.1902(9)	9.4383(3)
$c(\text{\AA})$	9.2771(4)	14.7984(5)
$\alpha(^{\circ})$	90	90
$\beta(^{\circ})$	103.893(1)	95.441(1)
$\gamma(^{\circ})$	90	90
Volume ($\text{\AA}^3$)	2425.50(19)	1957.40(11)

Z	4	4
Densidade calculada (mg.m⁻³)	1.536	1.631
Coeficiente de absorção (mm⁻¹)	1,153	1,410
h, k, l máx	17,24,11	26,17,27

Tabela 17. Distâncias interatômicas (Å) mais importantes e ângulos de ligação (°) dos complexos.

Distância de ligação	[PdCl(fmtsc)(PPh₃)]Cl.H₂O	[PdCl(fmtsc)(PPh₂Me)]Cl
Pd(1)S(1)	2,251	2,257
Pd(1)N(1)	2,094	2,100
Pd(1)P(1)	2,267	2,241
Pd(1)Cl	2,325	2,325
N(1)N(2)	1,405	1,405
N(2)C	1,322	1,322
CS(1)	1,737	1,737
Ângulo de ligação	[PdCl(fmtsc)(PPh₃)]Cl.H₂O	[PdCl(fmtsc)(PPh₂Me)]Cl
N(1)Pd(1)S(1)	94,95	85,73
N(1)Pd(1)Cl	97,61	90,95
P(1)Pd(1)S(1)	95,24	94,40
P(1)Pd(1)Cl	92,20	90,95
N(1)Pd(1)P(1)	177,65	175,18
S(1)Pd(1)Cl/SCN (1)	172,08	174,11

Na estrutura molecular do produto cristalino obtido, é possível observar que o ligante frambiona-tiossemicarbazona não se encontra em sua forma íntegra, mostrando que ocorreu uma quebra da ligação na parte ímínica do ligante, causando a saída de toda cadeia lateral. O arranjo da esfera de coordenação ocorreu através dos átomos de nitrogênio azometínico o enxofre ao centro paládio(II), igualmente observada para os demais complexos dessa tese. A eliminação do hidrogênio azometínico não modificou a força da ressonância no anel dos complexos, como pode-se observar com as distâncias das ligações entre os átomos N-N, N-C e C-S, no qual para ambos os cristais com clivagem do ligante os valores são 1,405, 1,322 e 1,737 Å respectivamente, comparado com o cristal do complexo [PdCl(TSCZ)(PPh₃)]Cl onde os valores são 1,402, 1,314 e 1,730 Å respectivamente, concluímos que são valores próximos provando comportamento semelhante.

A clivagem do ligante ocorre devida a uma decomposição, uma vez que foi utilizado na síntese sua forma íntegra e pura. A geometria de coordenação ao redor dos centros de Pd^{II} é definida como quadrática plana distorcida, possuindo o valor para o ângulo formado pelos átomos N(1)Pd(1)Cl de 97,61 Å para o complexo [PdCl(fmtsc)(PPh₃)] e o mais distante dos 90,00° para o complexo [PdCl(fmtsc)(PPh₂Me)] de 94,40 Å no ângulo P(1)Pd(1)S(1), valores que confirma a

natureza irregular do quadrado. As principais distâncias das ligações Pd–N(1), Pd–S e Pd–P são semelhantes com os valores encontrados nos outros cristais e reportadas na literatura (MATHEW; PALENIK, 1987; KALAIVANI et al., 2012; PAUL et al., 2011; CASAS et al., 2008; RUIZ et al., 2008). O ligante se coordena de forma N,S bidentado, pelo átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina ou metildifenilfosfina, coordenada de maneira trans ao átomo de nitrogênio e um grupo cloro coordenado trans ao átomo de enxofre, que completa a esfera de coordenação formando complexos catiônicos, assim ambos complexos possuem um cloreto como contra íon para neutralizar o complexo. A unidade assimétrica contém uma molécula dos complexos e existem quatro desses complexos nas células unitárias (Figura 44 e 45). A unidade assimétrica do complexo $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_3)]$ também continha uma molécula de água co-cristalizado.

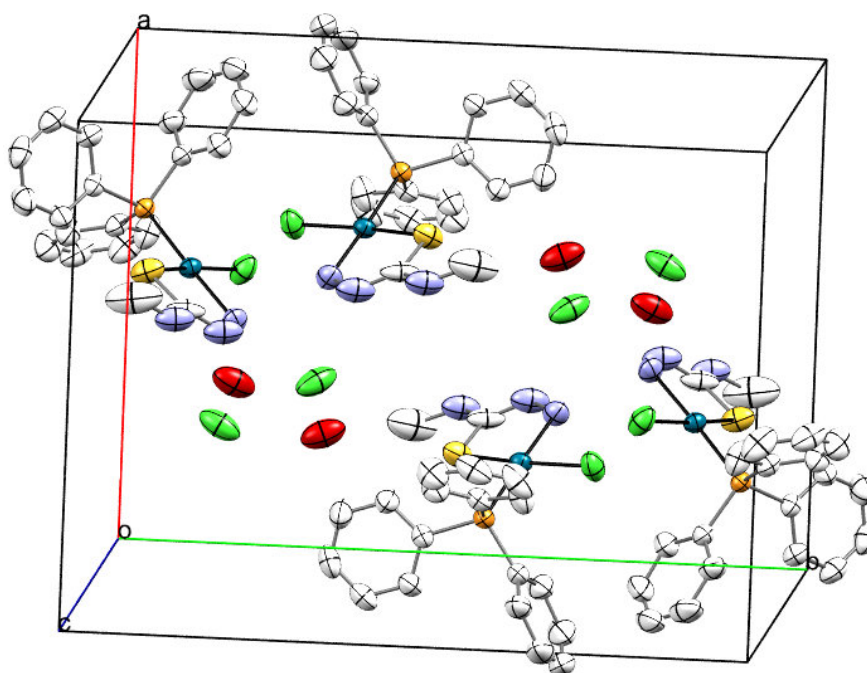


Figura 44. Representação da estrutura unitária do composto $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$
Fonte: Autora.

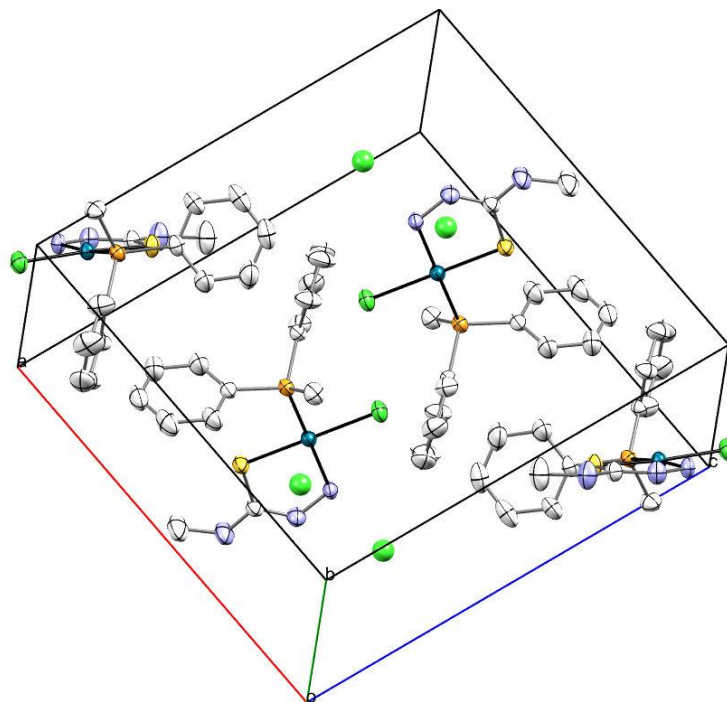


Figura 45. Representação da estrutura unitária do composto $[\text{PdCl}(\text{fmtsc})(\text{PPh}_2\text{Me})]\text{Cl}$.
Fonte: Autora.

4.3 Estudos de estabilidade em DMSO

A estabilidade no meio de DMSO e água é um pré-requisito para estudos ensaios de interação com as biomoléculas HSA e DNA e na determinação da citotoxicidade *in vitro* dos mesmos. Sua determinação foi realizada com espectroscopia de RMN de ^1H e ^{31}P em um período de 48h. Para determinação foi utilizada como um exemplo representativo das tiossemicarbazidas o complexo $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (4), os espectros dos demais complexos (1-3) estão no Apêndice D e apresentam perfil semelhante dos sinais, mostrando um comportamento similar em solução. Já para a família dos complexos 5-11 os ensaios foram feitos com o composto $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]\text{Cl}$ (5) e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ (6).

Os experimentos de ^{31}P foram realizados com o solvente $\text{DMSO-}d_6$ (Figura 46). O estudo com via RMN ^1H foram realizados utilizando-se quatro soluções diferentes para compreender o comportamento dos complexos em diferentes soluções: i) solução de $\text{DMSO-}d_6$, mimetizando a solução mãe usada nos experimentos de citotoxicidade e de interação com biomoléculas; ii) mistura de solvente $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}$ (60:40), objetivando evidenciar processos de hidrólise; iii) solução $\text{DMSO-}d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{tampão fosfato}$ (100:90:10), reproduzindo pH do meio de cultura celular; iv)

solução salina de DMSO- d_6 /D $_2$ O (109:90:1), reproduzindo a [Cl $^-$] no meio extracelular, com o intuito de observar se a hidrólise pode ocorrer nessas condições. (Figura 47).

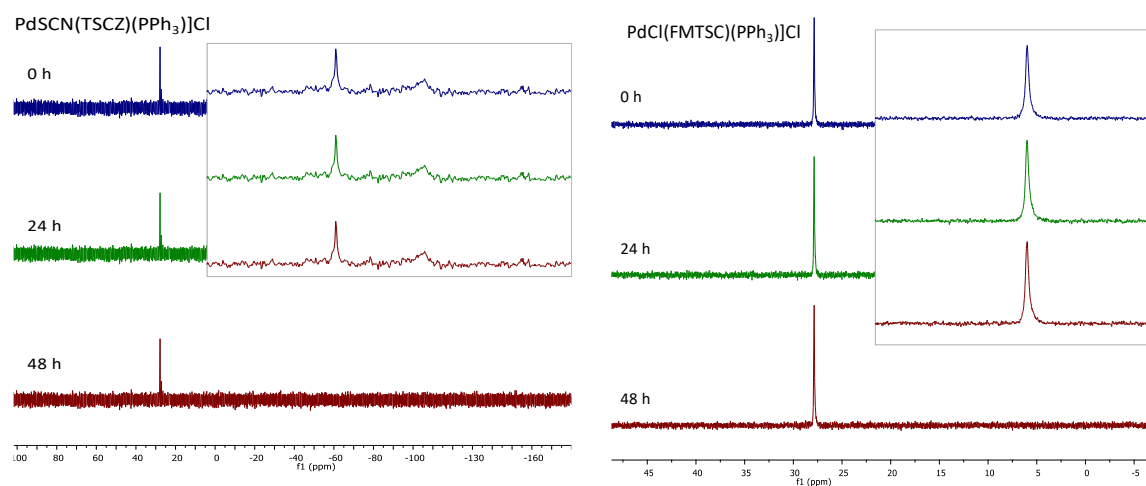
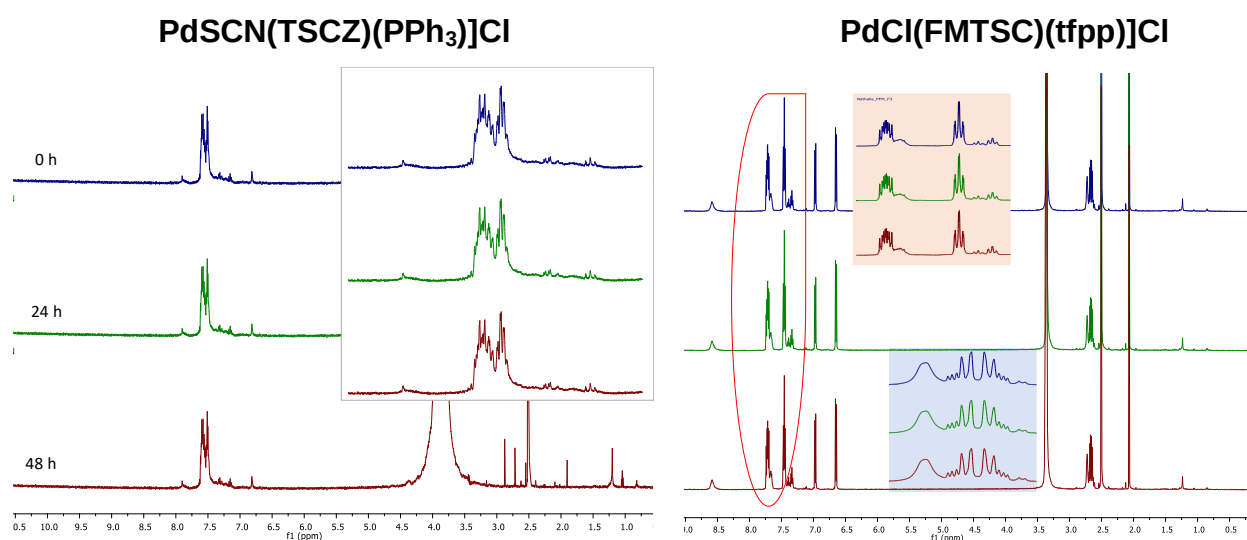


Figura 46. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdSCN(TSCZ)(PPh}_3\text{)]Cl}$ e $\text{PdCl(FMTSC)(PPh}_3\text{)]Cl}$ em DMSO- d_6 a 38°C, durante 48h.

Fonte: Autora.



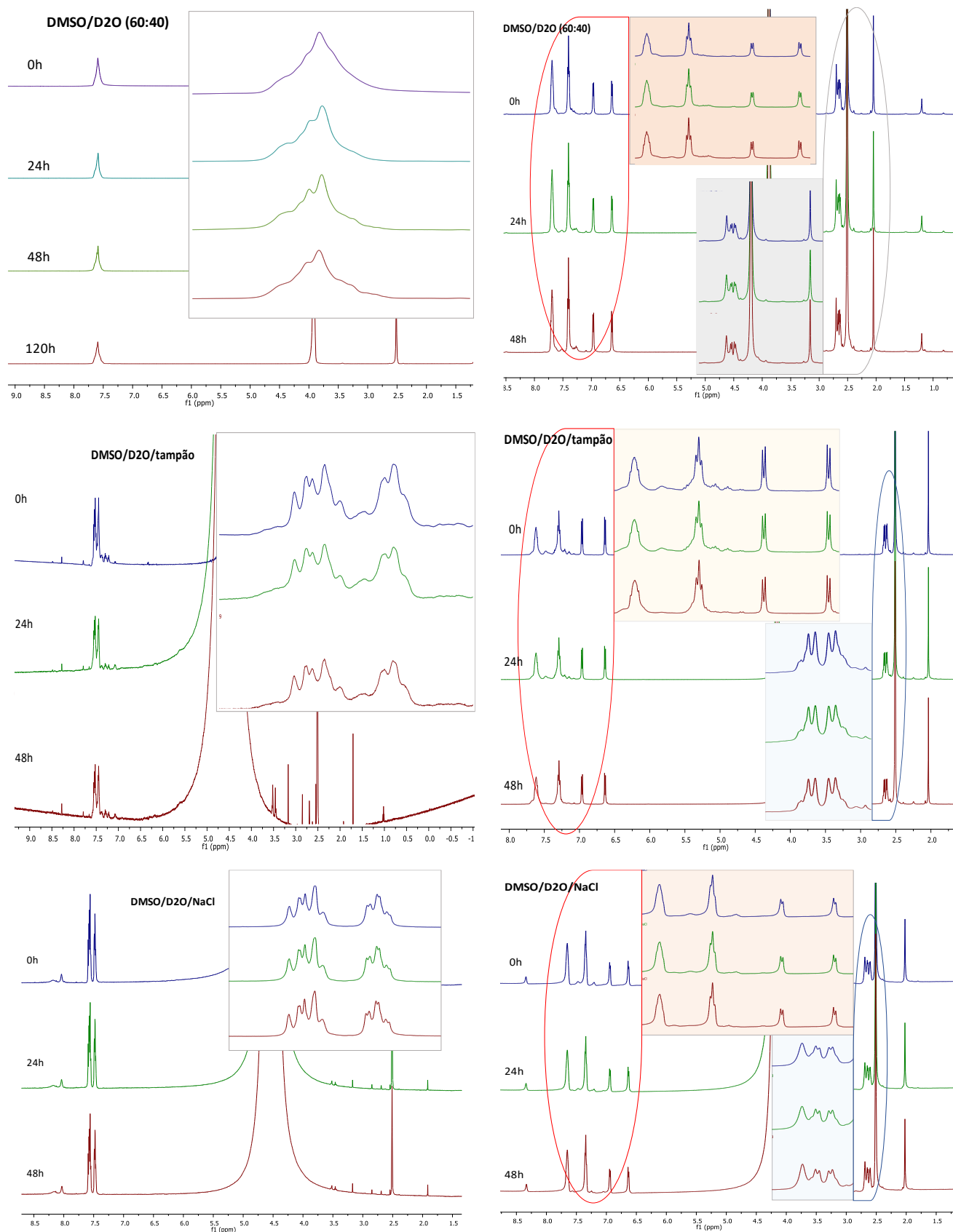


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ e $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpp})\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (a), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ (b), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{tampão}$ fosfato (c) e $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{solução de NaCl}$ (d) a 38°C , durante 48h.

Fonte: Autora.

A estabilidade nas condições de RMN ^{31}P empregadas, não foram detectadas alterações, mostrando que a estrutura molecular dos complexos é mantida em DMSO- d_6 no período estudado. No estudo de RMN ^1H não há alteração nos espectros e nem o surgimento de um novo conjunto de sinais. Assim, podemos concluir que nessas condições, os compostos não apresentam reatividade frente ao solvente DMSO- d_6 e são estáveis para experimentos de interação com biomoléculas e para ser empregado na determinação dos valores de citotoxicidade. No entanto, não exclui a possibilidade que, no ambiente celular, alguma transformação ocorra.

4.4 Viabilidade Celular

Os dois ligantes livres (TSCZ e FMTSC) e todos os complexos de paládio desta tese, com exceção do $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})\text{PPh}_2\text{Pr}]\text{Cl}$, foram submetidos a ensaios biológicos visando analisar seus potenciais citotóxicos frente a linhagem celular de adenocarcinoma de pulmão humano (A549) e a de câncer de mama (MCF-7), a fim de verificar seu potencial citotóxico. O efeito da viabilidade celular dos compostos foi também verificado em células pulmonares de fibroblastos (MRC-5), linhagem não tumorigênica utilizada para verificação da seletividade ($\text{IS} = \text{IC}_{50}(\text{linhagem não tumorigênica}) / \text{IC}_{50}(\text{linhagem tumoral})$). A cisplatina foi usada nos testes como fármaco de referência, sendo submetida ao mesmo experimento. Os valores do índice de citotoxicidade IC_{50} são apresentados na Tabela 18. Esse valor é uma medida da eficiência de uma substância na inibição de uma função no processo biológica, indicando a concentração molar necessária para que um composto induza 50% das células estudadas à morte. Os gráficos de viabilidade celular dos complexos nas linhagens celulares MRC-5, A549 e MCF-7 estão na Figura 48.

Tabela 18 Valores de IC_{50} dos complexos (1-10) e dos ligantes TSCZ e FMTSC, assim como da cisplatina frente às linhagens A549, MRC-5 e MCF-7.

Viabilidade Celular (IC_{50}) em μM				
Composto	MRC-5	A549	IS	MCF-7
TSCZ	>870	>560	-	>200
$[\text{PdCl}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	5,76 (5,3-6,3)	19,7 (17,4-22,2)	0,3	$20,28 \pm 1,42$
$[\text{PdBr}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	21,78 (18,96-23,93)	54,78 (32,6-60,2)	0,4	$16,22 \pm 0,82$
$[\text{PdI}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	4,45 (4,2-4,8)	15,8 (13,3-18,8)	0,3	$19,18 \pm 1,13$
$[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	5,15 (3,9-6,7)	14,1 (10,8-18,5)	0,4	$17,96 \pm 0,56$
Cisplatina	4,5 ^a	12,0 ^b	0,4	$52,22 \pm 0,94$
FMTSC	>100	>100	-	>100

$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	$6,60 \pm 0,35$	$42,04 \pm 0,13$	$0,2$	$25,94 \pm 2,08$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$	$9,27 \pm 0,14$	$30,70 \pm 2,46$	$0,3$	$15,40 \pm 2,31$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})]\text{Cl}$	$7,90 \pm 0,1$	$39,06 \pm 0,95$	$0,2$	$26,49 \pm 0,72$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})]\text{Cl}$	$10,27 \pm 0,55$	$46,57 \pm 1,81$	$0,2$	$18,53 \pm 1,14$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})]\text{Cl}$	$7,16 \pm 0,27$	$36,49 \pm 0,1$	$0,2$	$28,67 \pm 0,30$
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})\text{PCy}_3]\text{Cl}$	$5,60 \pm 0,14$	$10,46 \pm 0,27$	$0,5$	$30,21 \pm 2,23$
Cisplatina	$19,86 \pm 1,22$	$23,36 \pm 0,42$	$0,8$	$52,22 \pm 0,94$

Fontes: ^aSERENORIV et al., 2014; ^bDHAR; LIPPARD, 2009.

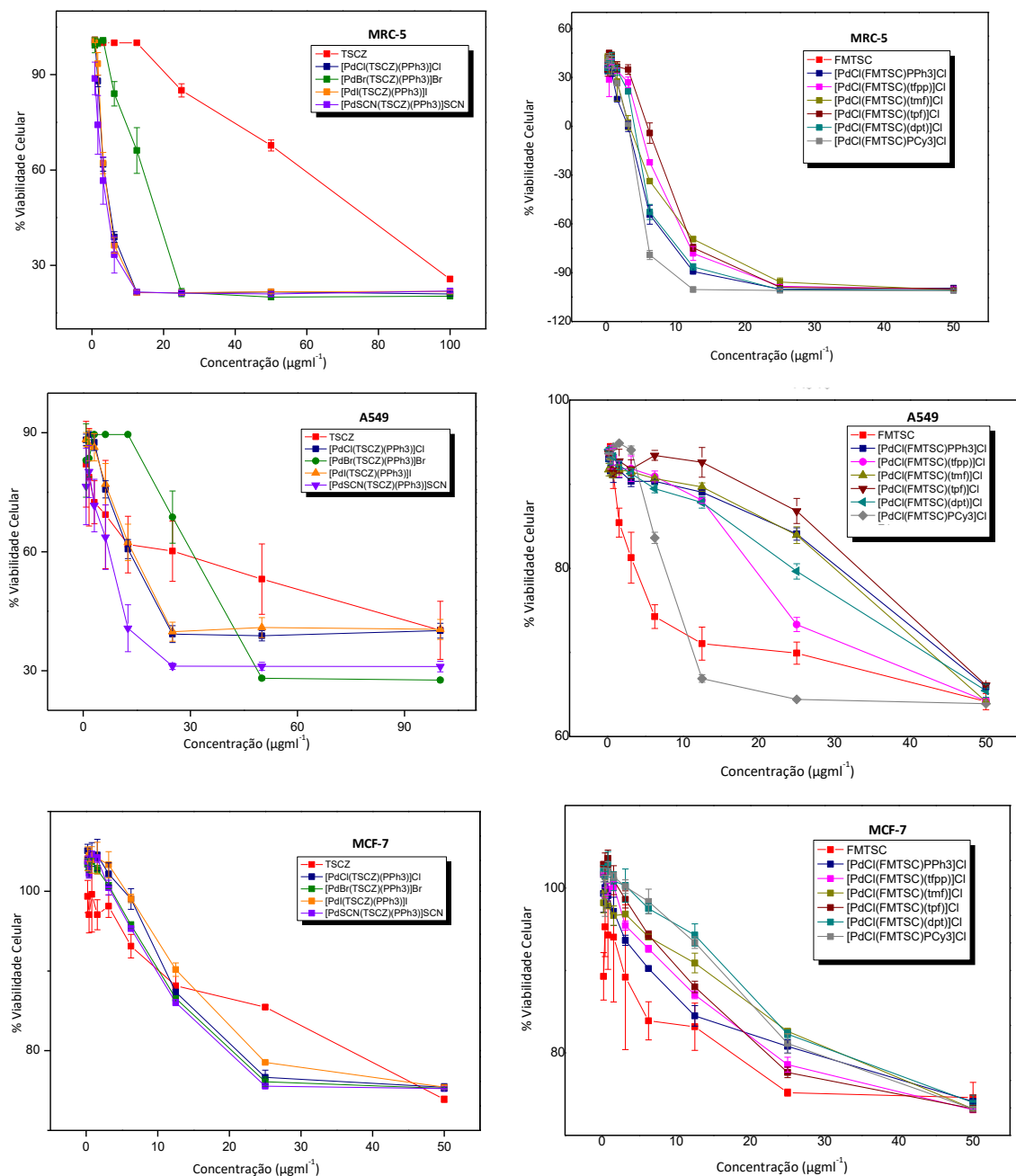


Figura 48. Gráficos de viabilidade celular dos complexos nas linhagens celulares MRC-5, A549 e MCF-7.

Fonte: Autora.

Observando os resultados para os complexos de TSCZ apresentados na Tabela 18 com seus intervalos de confiança, evidenciamos que estes complexos demonstraram ser mais ativos (16,22-20,28 μM) que a cisplatina (52,22 μM) frente a linhagem tumoral MCF-7. Quando comparamos com resultados (8,78-10,63 μM) obtidos em nosso grupo em composto do tipo $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(4\text{-MeT})]\text{X}$ $\{\text{PPh}_3 =$ trifenilfosfina; 4-MeT = 4-metil-3-tiossemicarbazida; $\text{X} = \text{Cl}(1), \text{Br}(2), \text{I}(3), \text{SCN}(4)\}$, observa uma diminuição da citotoxicidade com a ausência da metila na tioamida. Para a linhagem A549 (Tabela 18) apresentam valores comparáveis com o da cisplatina, com exceção do bromido-complexo (2) que se desvirtuou dos demais. Além de serem ativos, os complexos também apresentam moderada toxicidade (4,45-5,76 μM). O fato de os compostos exibirem uma viabilidade celular semelhante entre si dentro da mesma linhagem, sugere que a natureza do ânion presente na esfera de coordenação, apesar das diferenças lipofílicas, não influenciou na citotoxicidade *in vitro*. Portanto, os compostos podem dar origem a uma espécie ativa similar em solução.

Na família da FMTSC observando os resultados com os desvios padrões, evidenciamos a potencialidade destes complexos frente à linhagem de câncer de mama MCF-7, com valores na faixa de 15,40-30,21 μM , contra 52,22 μM da cisplatina, indicando um valor próximo de 50% inferior ao fármaco de referência. Estes resultados indicam que os compostos foram mais citotóxicos que a cisplatina, uma vez que quantidades menores destes foram necessárias para inibir o mesmo crescimento celular. Ao comparar os resultados obtidos entre os substituintes das fosfinas, tem-se que quando há grupos retiradores de elétrons (tfpp) tendem a atividade inibitória a aumentar e quando o efeito doador de elétrons do substituinte aumenta, a atividade inibitória tende a diminuir (Cy_3). Para a linhagem de câncer de pulmão (A549), observamos resultados moderados quanto à capacidade de limitar a proliferação deste tipo de células neoplásicas malignas, com exceção do composto com a fosfina PCy_3 .

Ambos ligantes livres TSCZ e FMSC não apresentam atividade citotóxica frente às linhagens celulares estudadas, ao contrário do que ocorreu com os complexos, mostrando que atividade não depende somente do ligante ou somente do metal, mas que a coordenação potencializa a citotoxicidade dos compostos formados.

A fim de selecionar candidatos a fármacos como antitumorais para os futuros estudos *in vivo*, o índice de seletividade foi calculado ($\text{IS} =$

IC_{50} linhagemcelularsaudável/ IC_{50} linhagemcelulartumoral) no qual o valor pode estimar a segurança no composto, de modo que quanto maior o valor deste índice, maior a diferença entre os IC_{50} tumoral e normal e, portanto, maior a seletividade do composto em células neoplásicas. De acordo com a literatura (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007) é considerado significativo para compostos antitumorais, IS igual ou superior a 2, o que indica que o composto pode ser aplicado no dobro da concentração sem apresentar citotoxicidade em células normais, ou seja, esse valor significa que o composto é duas vezes mais ativo em linhagem de células tumorais do que em células normais. Analisando o índice de seletividade destes complexos mostram que nenhum apresentam IS superior a dois, o que indica não serem seguros para células normais (auto efeito colateral), no entanto se analisarmos a cisplatina, ela também não possui IS superior a 2, assim o IS é um indicativo do que se esperar, mas sozinho não pode ser decisivo para seleção de compostos promissores para testes seguintes.

Além disso, compostos com ligantes tiossemicarbazidas e as tiossemicarbazonas exercem sua atividade antiproliferativa interagindo com diversos alvos, como o DNA (ROCHA et al., 2013, SINDHUJA et al., 2014; NADEEM et al., 2009) ou através da indução da liberação da enzima lactato desidrogenase (LHD) (PRABHAKARAN et al., 2013), topoisomerase II (BACHER et al., 2013; NITISS, 2009) ou HSA (NADEEM et al., 2009; SINDHUIA et al., 2014). Maiores estudos envolvendo a interação entre complexo-meio biológico devem ser realizadas para entender o mecanismo de ação dos complexos desta tese.

4.5 Ensaios biológicos de interação dos complexos com biomoléculas alvos

Os complexos de metais de transição vêm sendo amplamente analisadas nos estudos de interação com macromoléculas tendo o objetivo de desenvolver novos fármacos com propriedades farmacológicas significativas. Os complexos mais citotóxicos e com melhores índice de seletividade de ambas as famílias $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, foram submetidos a estudos de interação com biomoléculas alvo (ct-DNA e HSA). Com o intuito de determinar de que forma o complexo mononuclear de paládio interage com o DNA, foram utilizadas as técnicas de espectroscopia eletrônica (UV-Vis), espectroscopia de dicroísmo circular (DC) e competição com HOECHST. A interação entre os complexos e a albumina do soro humano (HSA) foi investigada por meio de espectroscopia de fluorescência e espectroscopia de dicroísmo circular (DC). A determinação exata do mecanismo de ação de um composto promissor a fármaco é algo complexo, considerando a possibilidade de diversos mecanismos ocorrerem simultaneamente no organismo vivo. Entretanto, o estudo avaliativo de interações com biomoléculas isoladas pode esclarecer possíveis alvos biológicos para estes compostos, assim como fornecer importantes informações sobre os sítios de ligação, transporte e metabolismo das moléculas no corpo humano (GUIZADO, 2014).

4.5.1 Interação entre os Complexos de Paládio e Ácido Desóxirribonucleico (DNA)

Entre os maiores avanços científicos já registrados, a descoberta da estrutura em dupla hélice da molécula do ácido desoxirribonucleico (DNA), por Maurice Wilkins, Watson e Crick, homenageados com prêmio Nobel de Medicina em 1953, merece destaque. A manipulação do DNA e de seus genes é uma revolução científica que vem permitindo o entendimento da ação de várias doenças e a produção de medicamentos específicos.

O DNA é uma molécula que possui destaque por armazenar e transmitir a informação genética, herdadas de pais para filhos assim como as informações necessárias para a construção das proteínas e RNA. Essas proteínas, atuam na estrutura e nas funções metabólicas das células e consequentemente no funcionamento de todo o organismo. É o DNA quem determina a nossa “coleção” de

proteínas e dessa maneira influência tanto as características próprias da espécie humana, quanto as características próprias de cada indivíduo.

A molécula de DNA é formada por uma sequência de nucleotídeos, na qual cada um é formado por um açúcar, chamado desoxirribose, um grupo fosfórico e uma das quatro possíveis bases nitrogenadas, que pode ser púrica como adenina (A) e guanina (G) ou pirimídica como timina (T) e citosina (C). Por conta das características químicas de cada base nitrogenada, elas se ligarão em pares da mesma maneira: A-T, C-G. Assim, em uma molécula de DNA, sempre teremos quantidades equivalentes de A/T e C/G. Os nucleotídeos são organizados em dois filamentos torcidos em uma dupla-hélice na forma de espiral (KOOLMAN; RÊOHM, 2005). A ligação entre os dois filamentos se dá pelas bases nitrogenadas unidas por pontes de hidrogênio, contribuindo para a manutenção e estabilidade das fitas do DNA. Já os filamentos são formados por nucleotídeos ligados por uma ligação covalente fosfodiéster entre o grupamento 5'-fosfato de um nucleotídeo com a extremidade 3'-hidroxil do seguinte (KOOLMAN; RÊOHM, 2005). Esse arranjo faz uma cadeia alternada de grupos fosfato e de açúcar desoxirribose no polímero DNA, uma estrutura conhecida como esqueleto de açúcar-fosfato (Figura 49).

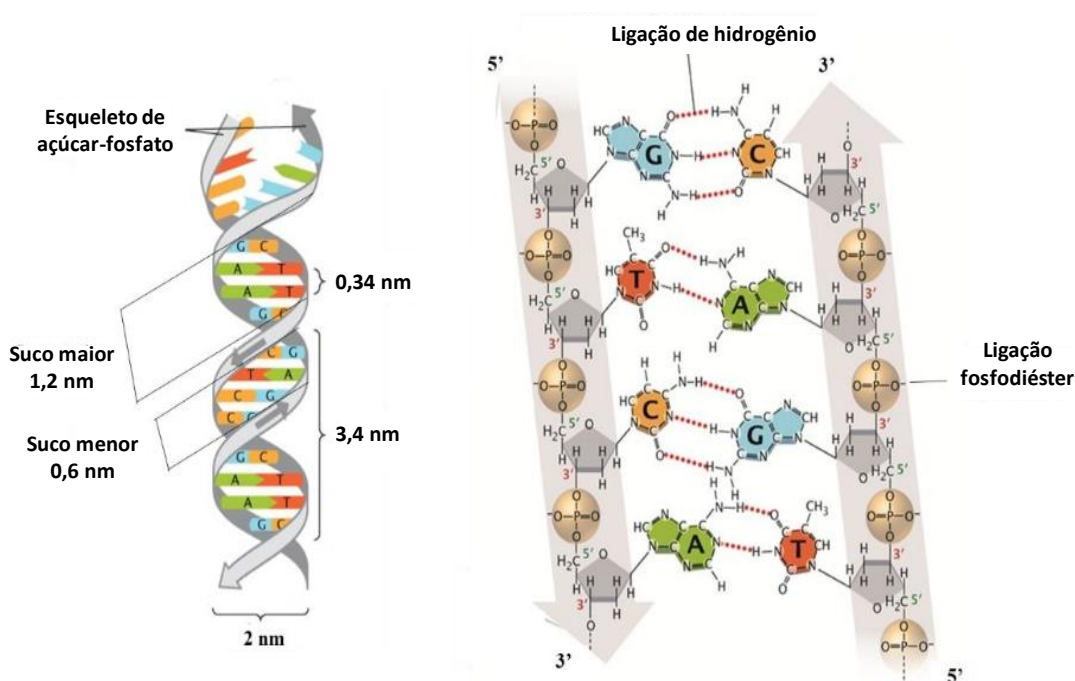


Figura 49. Estrutura dupla hélice do DNA e emparelhamento de bases.

Fonte: Adaptado de SLETTEN; FROYSTEIN, 2009.

Os filamentos de nucleotídeos entrelaçados dão origem ao DNA, uma molécula dinâmica e flexível que pode adotar várias conformações diferentes, como α -DNA, β -DNA e Z-DNA (KOOLMAN; RÈOHM, 2005; SNUTAD; SIMMONS, 2006). A estrutura na forma β do DNA é a conformação mais estável e mais abundante nas células vivas (LEHNINGER; NELSON; COX, 2011). Essas conformações são dependentes da sequência de bases e/ou proteínas ligadas (SNUTAD; SIMMONS, 2006). Entre os filamentos é formado duas cavidades de larguras diferentes, denominados sulcos maior e menor, o que pode facilitar a ligação com proteínas específicas. Na estrutura do DNA conhecida como forma β , a hélice faz uma curva a cada 3,4 nm, e a distância entre dois pares de bases vizinhos é de 0,34 nm, o sulco principal é visível na parte superior e inferior, enquanto o sulco menor está no meio. Ambos os sulcos têm profundidade moderada e são bem solvatados pelas moléculas de água.

Dada a diversidade estrutural e reatividade dos complexos de metais de transição, uma variedade de interações frente ao DNA é conhecida (KOOLMAN; RÈOHM, 2005), os complexos metálicos são capazes de interagir com o DNA através das bases nitrogenadas e dos grupos fosfatos estabelecendo interações inter ou intra-fitas do DNA com íons metálicos carregados positivamente (LEMMMA; SHI; ELDING, , 2000). Estas interações podem ser eletrostáticas, intercalativa ou covalente, bem como combinações desses modos.

As interações intercalativas ocorrem quando ligantes planos com extensa superfície π são alocados entre os pares de base do DNA, formando interações do tipo de Van der Waals e π -stacking. Estas interações levam a uma dessorção do DNA, ocasionando mudança conformacional do mesmo e consequentemente impedindo a replicação. Interações puramente eletrostáticas também ocorrem entre complexos e grupos fosfato externos à estrutura da biomolécula, ou com as bases nitrogenadas através dos sulcos maiores e menores do DNA, devido à interação dipolo-dipolo entre o metal complexado e o esqueleto de açúcar-fosfato do DNA. Estas interações costumam ser mais fracas, mas também podem levar à perda da função da biomolécula. As interações covalentes são as que mais danos causam ao DNA, sendo na maioria das vezes irreversíveis, por causar a fragmentação das fitas. A coordenação ocorre pela labilização de um dos ligantes do complexo e posterior coordenação do sítio vago às bases nitrogenadas, grupos fosfatos ou nas hidroxilas das pentoses (SUBBARAJ et al., 2015). A cisplatina, *cis*-[diaminodicloroplatina(II)], e seus derivados são exemplos de agentes terapêuticos amplamente utilizados que

possuem como alvo a inibição da síntese e da replicação do DNA com formação de adutos (interação covalente), originando ligações intra e intercadeias que induzem alterações estruturais e levam a célula a apoptose. O DNA é o principal alvo de muitos agentes terapêuticos que estão em uso clínico ou em ensaios clínicos avançados, pois desempenha um papel crucial nos processos biológicos, sendo responsável pelo transporte dos códigos de informação hereditária, essenciais para as sínteses de proteínas e enzimas, e na regulação das funções celulares por meio da transcrição (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; RIZVI et al., 2015; TABASSUM et al., 2012).

Devido a importância do DNA como alvo farmacológico, a interação entre os complexos de Pd^{II} e o ct-DNA foi investigada nesse trabalho empregando-se espectroscopia no UV-vis, dicroísmo circular e competição com Hoechst.

4.5.1.1 Espectroscopia Eletrônica de absorção UV-visível

Todo composto químico absorve, transmite ou reflete a luz (radiação eletromagnética) em uma certa faixa de comprimento de onda. Quanto mais difícil a excitação dos elétrons do orbital HOMO para o LUMO, menor o comprimento de onda da luz absorvida e mais alta é a frequência. A espectrofotometria de absorção UV-visível, técnica que mede o quanto uma substância química absorve ou transmite a luz visível e ultravioleta, é utilizada para analisar a estrutura química da substância, medindo a quantidade de fótons (a intensidade da luz) que passa por uma amostra e comparando com a intensidade da luz sem amostra.

Com a espectroscopia de absorção UV-visível conseguimos estudar a estabilidade do DNA e suas interações com complexos metálicos, revelando indícios do modo de ligação envolvido entre a biomolécula e um composto de coordenação, além disso, permite determinar a concentração e a pureza do DNA (BARRA et al., 2016). Mudança na conformação e estrutura do DNA que ocorre durante as interações com os compostos resulta em uma alteração no seu comportamento espectral sugerindo o modo de ligação presente na interação. Duas principais características dos espectros de DNA são o hipocromismo e hiperchromismo, efeitos resultantes da diminuição ou do aumento da intensidade de absorbância, surgem devido a uma mudança na estrutura helicoidal da dupla hélice do DNA. A alteração na intensidade da absorção pode ser acompanhada por deslocamentos para a região do vermelho

(batocromismo) ou para a região do azul (hipsocromismo) (LISSI; CALDER; CAMPOS, 2013).

Compostos que interagem com DNA através intercalação na dupla hélice geralmente resulta em hipocromismo e batocromismo. Por causa do modo intercalativo envolvendo a interação entre os orbitais π^* do complexo metálico e os orbitais π das bases nitrogenadas do DNA, resulta em um decréscimo do nível de energia do orbital π^* do complexo, provocando o deslocamento para a região do vermelho do espectro UV-visível (RIZVI et al., 2015; BARRA et al., 2016; BARRA; NETTO, 2015; LI et al., 2014). Aliado, o preenchimento dos orbitais π das bases nitrogenadas causa uma diminuição da probabilidade de transição eletrônica resultando em decréscimo nos valores de absorbância. O hipercromismo pode indicar a ocorrência de desnaturação da estrutura do DNA, perdendo suas interações de empilhamento, o efeito hidrofóbico entre as bases e o rompimento das ligações de hidrogênio presentes na dupla hélice da molécula, resultando em um aumento significativo na absorção das bases nitrogenadas, devido muitas bases estarem em sua forma livre. O efeito hipercrômico também pode ser atribuído à ligação eletrostática entre o complexo catiônico e grupos fosfatos da espinha dorsal do DNA, causando o desenovelamento da estrutura helicoidal secundária do DNA expondo mais bases do DNA, causando um aumento da absorbância UV da solução (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). A Figura 50 apresenta os espectros eletrônicos dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ na presença de alíquotas crescentes de ct-DNA.

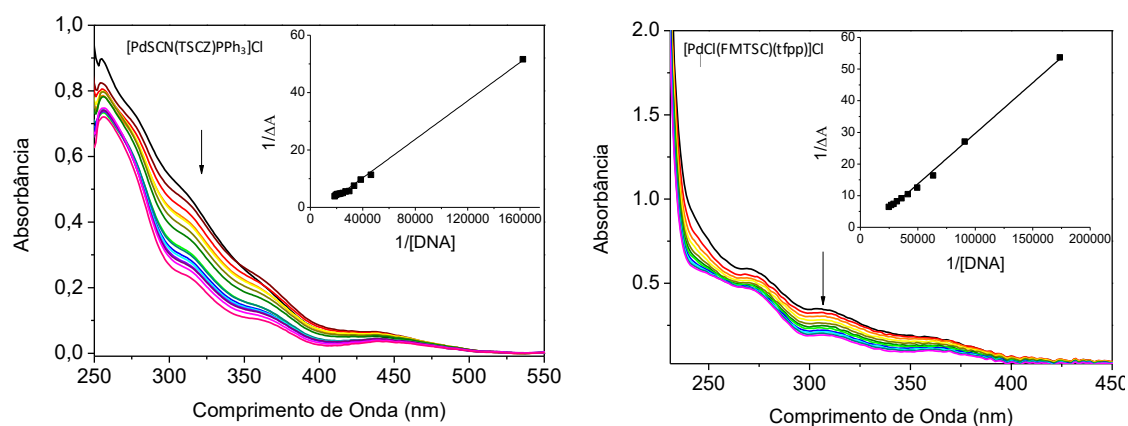


Figura 50. Titulação dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ via espectroscopia eletrônica com adições crescentes de ct-DNA. $[\text{Complexo}] = 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{DNA}] = 5,76 \times 10^{-6} - 4,03 \times 10^{-5} (\text{mol L}^{-1})$.

Fonte: Autora.

Os espectros eletrônicos dos complexos na ausência e na presença de alíquotas crescentes de ct-DNA, evidenciam que o aumento da concentração do ct-DNA resulta em um perfil hipocrômico para os complexos representantes de ambas famílias. Observa-se bandas de transição interna dos ligantes com máximo de absorção para [PdSCN(TSCZ)PPh₃]Cl em 270, 322 e 360nm e para [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl em 275, 307 e 360 nm, sem deslocamentos para região de maior ou de menor energia. Essa alteração espectral, de acordo com a literatura, sugere que o modo de ligação pode ser formação de uma ligação por intercalação, com hipocromismo não acompanhado do batocromismo. Esse modo de ligação entre um complexo metálico e o DNA pode ser confirmado por meio da magnitude dos valores das constantes de ligação (K_b), onde compostos intercaladores clássicos e metalintercaladores apresentam valores de K_b no intervalo entre 10^5 - 10^7 M⁻¹, valores inferiores a estes sugerem a presença de outros modos de ligação não covalente entre o DNA e um composto (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). O valor da constante de ligação (K_b) entre o ct-DNA e os complexos foi obtido por meio da equação de Benesi-Hildebrand:

$$\frac{A}{(A - A_0)} = \frac{\epsilon_c}{(\epsilon_{D-C} - \epsilon_c)} \times \frac{1}{K_b [DNA]}$$

onde A e A₀ são as absorbâncias do complexo livre e do aduto complexo-DNA respectivamente, ϵ_c e ϵ_{D-C} são os coeficientes de absorção do complexo livre e do aduto complexo-DNA e K_b é a constante de ligação (VAIDERGORN et al., 2018; BENESI; HILDEBRAND, 1949). Por meio da equação acima, foi construído o gráfico de 1/ ΔA em função de 1/[DNA], representado na Figura 50. O valor da constante de ligação (K_b) encontrada para o complexo [PdSCN(TSCZ)PPh₃]Cl foi de $9,24 \times 10^3$ M⁻¹ (coeficiente de correlação de 0,9968) e para o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl foi de $7,19 \times 10^3$ M⁻¹ (coeficiente de correlação de 0,9969), o que são consideravelmente inferiores aos valores esperados por compostos intercaladores (10^5 - 10^7 M⁻¹). Assim então, os valores de constante de ligação obtidos para os complexos metálicos estudados não são consistentes com o modo de ligação por intercalação. Esse comportamento já foi reportado no estudo da interação entre o DNA e complexos de Zn(II) e Cu(II), de acordo com autores (KAZEMI, 2015; PAIXÃO et al., 2019), isso ocorre devido efeitos da orientação do movimento no ambiente mais hidrofóbico do sulco do DNA. Além disso, como os complexos de ambas famílias são catiônicos, não podem ser descartadas as interações com a cavidade do DNA por meio de forças eletrostáticas com o grupo fosfato da estrutura do DNA. O complexo

[PdSCN(TSCZ)PPh₃]Cl apresenta o grupo tiamida NH₂ e o complexo [PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl as metilas da posição A e B além da hidroxila, que podem interagir por meio de ligações de hidrogênio e/ou forças de Van der Waals. Além disso os compostos estudados possuem anéis aromáticos ligados por ligações com liberdade de torção, podendo adotar uma conformação apropriada que combina com a volta helicoidal do DNA (KAZEMI, 2015), causando uma estabilização da dupla hélice simulando uma ligação intercalativa.

4.5.1.2 Dicroísmo circular

A espectroscopia de dicroísmo circular (DC) é uma técnica utilizada para diagnosticar mudanças na estrutura do DNA quando este interage com outras moléculas (GARBETT; RAGAZZON; CHAIRES, 2007). Esta técnica monitora a diferença na absorbância da luz polarizada circular direita (RHC) e esquerda (LHC) de uma molécula quiral. A grande maioria das moléculas biológicas são quirais, como 19 dos 20 aminoácidos comuns, algumas proteínas, DNA e RNA. O estudo das interações complexo-DNA é fundamental para uma compreensão dos mecanismos de ação dos agentes terapêuticos, uma vez que a maioria dos fármacos quimioterápicos anticâncer usados atualmente vêm, ou são derivados, de ligantes que interagem com a dupla hélice do DNA, através de quatro modos de ligação: intercalação, ligação ao sulco, interação eletrostática e ligação covalente (BLACKBURN et al., 1997). O espectro de CD do DNA livre é composto por uma banda positiva a 275 nm atribuída ao empilhamento π - π^* das bases nitrogenadas e uma negativa em torno de 245 nm referente à helicidade da forma β do DNA (RODGER; NORDÉN, 1997; SILVEIRA et al., 2011; GRAY, 1992). A biomolécula pode sofrer mudanças conformacionais na sua estrutura como resultado do processo de interações com diferentes compostos (CHANG; CHEN; HOU, 2012), as alterações espectrais das bandas indicam o modo de ligação envolvido na interação. Os compostos que interagem entre as bases do DNA por intercalação são reconhecidos por alterarem as interações entre as bases do DNA aumentando o seu empilhamento e estabilizando a helicidade, o que provoca o hipocromismo (MOREIRA, 2015). Já a simples ligação ao sulco e a interação eletrostática mostram pouca ou nenhuma alteração espectral (REHMAN, 2015; ZHAO, 2014). A Figura 51 apresenta o espectro de CD do ct-DNA na presença de

crescentes alíquotas dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

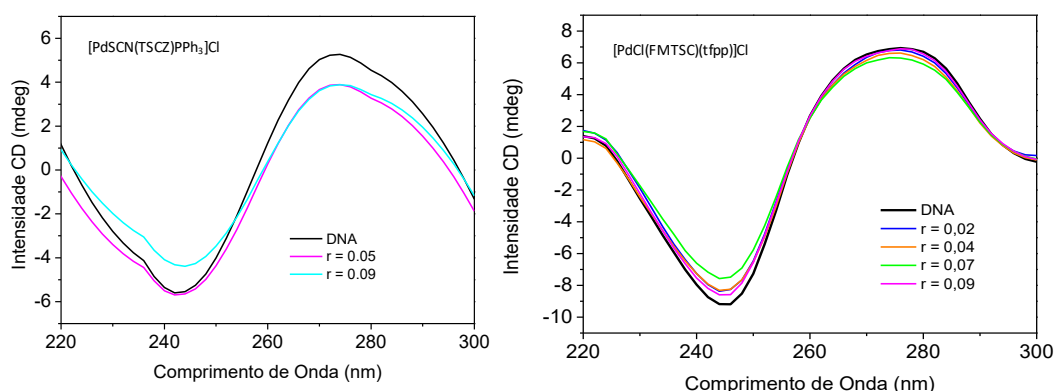


Figura 51. Espectro de dicroísmo circular na ausência e na presença dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, $[\text{ct-DNA}] = 7,43 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{Tris-HCl } 10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ / $\text{NaCl } 100 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $r = \text{razão molar } [\text{complexo}]/[\text{DNA}]$.

Fonte: Autora.

O espectro de CD do DNA na ausência e na presença de crescentes alíquotas do complexo $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$, mostra que o aumento da concentração do complexo metálico levou a uma diminuição na intensidade da banda negativa (245 nm) na razão molar de 0,09, sugerindo que o complexo interaja a modo de mudar a conformação do DNA de β -DNA para Z-DNA (CHEN et al., 2008a).

Já a diminuição da intensidade da banda positiva (275 nm), embora esta alteração espectral seja observada para a interação entre o DNA e compostos intercaladores, neste caso, a magnitude do valor da constante de ligação é muito inferior aos valores reportados na literatura para compostos intercaladores. Aliado a um não comportamento do tipo intercalante clássico, em que seria observado hipocromismo na intensidade da banda de interações π - π^* e uma estabilização da elipsicidade do DNA na forma β (CHEN et al., 2008b). é provável que uma parte do ligante pode ter sido inserida parcialmente entre as bases nitrogenadas perturbando a interação empilhamento π - π^* das bases (HE et al., 2009), o que corrobora com a hipótese de que este complexo aja ou através dos sulcos do DNA ou por interações eletrostáticas.

O espectro CD do DNA na ausência e na presença do complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ é mostrado que a adição de alíquotas do complexo não resultou em mudanças significativas na intensidade da banda positiva ($\sim 275 \text{ nm}$), de acordo com a literatura este comportamento é encontrado para compostos que não realizam ligações por meio de intercalação, sendo indicadas neste caso, ligação por meio de uma das cavidades presentes na estrutura do DNA (sulcos) ou interações de

natureza eletrostáticas estabelecidas entre complexos de natureza catiônica e os grupos fosfatos do DNA negativamente carregados. Observa-se ainda uma ligeira diminuição da elipticidade da banda negativa (~ 245 nm), indicando que a presença do derivado metálico causou mínima alteração na estrutura helicoidal da biomolécula. Desta forma, os perfis espectrais de CD e os valores da constante de ligação sugerem que a interação entre o ct-DNA e os complexos de paládio ocorram por meio de ligações com o sulco do DNA e/ou interações eletrostáticas.

4.5.1.3 Estudos de ligação competitiva com Hoechst 33258.

A fim de melhor investigar o modo de interação do DNA aos complexos, foram realizadas experimentos de ligação competitiva com a molécula Hoechst 33258, que liga-se fortemente ao sulco menor da cadeia dupla do DNA β com especificidade para a sequência rica em A-T (HUSAIN et al., 2017; HUANG et al., 2015) (Figura 52). Hoechst produz fluorescência fraca em solução aquosa, no entanto sua intensidade de fluorescência é substancialmente aumentada quando o corante se liga ao DNA. (MIRZAEI-KALAR, 2018). Qualquer molécula pequena que se ligue ao DNA pelo mesmo modo que Hoechst, o substituirá do sulco menor do DNA, resultando em atenuação da intensidade de fluorescência do sistema Hoechst-DNA (REHMAN et al., 2014), sugerindo que o corante Hoechst foi substituído pelo composto, evidenciando assim que a interação ocorreu do modo ao sulco, em vez de intercalativa.

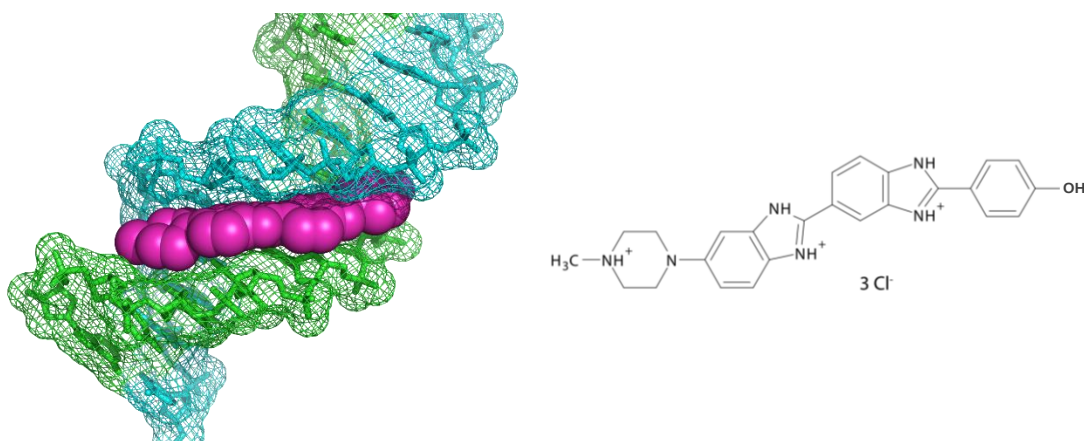


Figura 52. Estrutura Hoechst-33258 e modo de ligação.
Fonte: Autora

Neste sentido, a avaliação do modo de ligação foi realizada adicionando concentrações crescente dos complexos selecionados ao sistema contendo DNA-Hoechst em concentrações fixas. Na Figura 53 abaixo estão descritos o estudo de

competição a partir da sonda Hoechst-33258 para o composto $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

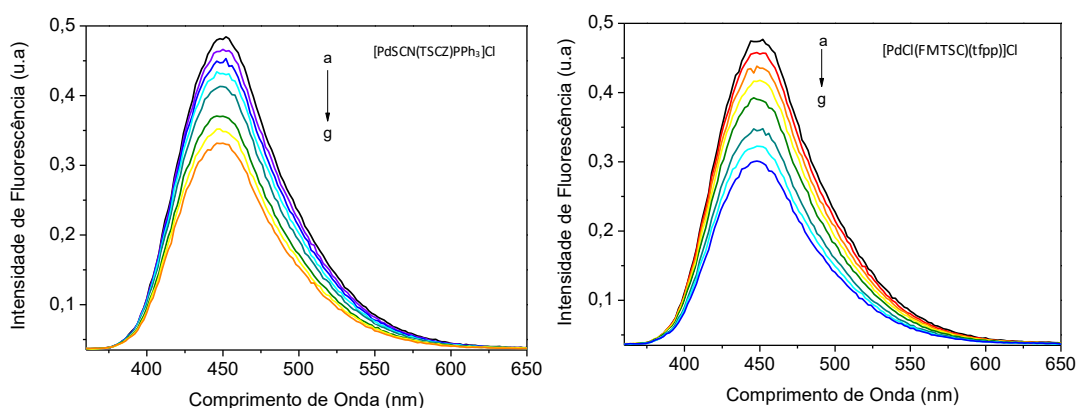


Figura 53. Variação da intensidade de fluorescência do sistema Hoechst-DNA por competição com os compostos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$.

Fonte: Autora.

A partir dos ensaios de competição com o Hoechst, pôde-se notar que a medida que se mantinha fixa a concentração do DNA e adicionava-se quantidades crescentes dos compostos, houve o decréscimo de parte do sinal de intensidade de fluorescência para ambos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$, o que evidencia mais uma vez que a interação entre os complexos e o DNA ocorre via ligação ao sulco do DNA mediada por interações eletrostáticas, ratificando os dados obtidos no UV e DC (MIRZAEI-KALAR, 2018).

4.5.2 Interação entre os Complexos de Paládio e Albumina do Soro Humano (HSA)

A albumina foi reconhecida pela primeira vez como um importante componente do plasma sanguíneo em 1839, e seus cristais têm sido obtidos desde o final do século XIX, quando Behrens, Spiekerman e seus colaboradores relataram cristais de HSA com a sequência completa dos resíduos de aminoácidos que constituem a estrutura primária da HSA. A partir disso, numerosos estudos foram empregados na tentativa de elucidar sua estrutura secundária e terciária, porém, só depois de 150 anos que resultados conclusivos de difração de raios X foram apresentados (HE; CARTER, 1992; SUGIO et al., 1999). Desde então, vários relatos de cristais de albumina ou de sua combinação com diferentes ligantes vêm sendo obtidos, aumentando assim o conhecimento das características estruturais da proteína e de suas interações com diferentes moléculas.

A albumina do soro humano (HSA) é o principal constituinte proteico do plasma sanguíneo (60%) (KHAN; HOSSAIN; KUMAR, 2013) e uma das proteínas mais estudadas. Se encontra principalmente nos fluídos corporais, possuindo funções fisiológicas importantes no organismo como na solubilização, distribuição e transporte, devido a sua alta capacidade como portadora e como reservatório de substâncias endógenas e exógenas, como fármacos, hormônios, aminoácidos, ácidos graxos e cátions metálicos no plasma, mas principalmente é responsável pela manutenção do pH do sangue (SHAIKL et al., 2007). Ademais, ela é reconhecida por se acumular em tumores, podendo ser tomada em altos níveis pelas células tumorais em relação às células normais (TABASSUM et al., 2012). Possui a capacidade de ligar-se a uma gama extraordinariamente diversa de moléculas, devido a sua carga negativa, que facilita a ligação eletrostática a muitas substâncias, atuando como armazenamento e veículo de muitos compostos.

Sua estrutura terciária possui uma única cadeia peptídica na forma de coração com lados de aproximadamente 80 Å e com profundidade de 30 Å (CARTER; HO, 1994). Possui 585 aminoácidos, estabilizados por 17 ligações de sulfeto, distribuídos em três domínios homólogos (I-III) que se agrupam para formar a proteína. Essa estrutura é estável, mas flexível, o que permite que a molécula acomode muitos compostos ligados a proteínas. Cada domínio sendo composto por dois subdomínios (A e B), que são únicos e mostram um certo grau de especificidade de ligação (RYAN et al., 2011).

A investigação das interações fármaco e HSA sempre foram de grande interesse do ponto de vista farmacológico, em meados da década de 1970, Sudlow e colaboradores usaram uma variedade de fármacos e aminoácidos danilados fluorescentes em estudos de ligação e competição para identificar os principais sítios de ligação de fármacos na HSA (SUDLOW; BIRKETT; WADE, 1975) e identificaram que estão localizados nas cavidades hidrofóbicas dos subdomínios IIA e IIIA (RYAN et al., 2011), chamados sítios de Sudlow, como ilustrado na Figura 54.

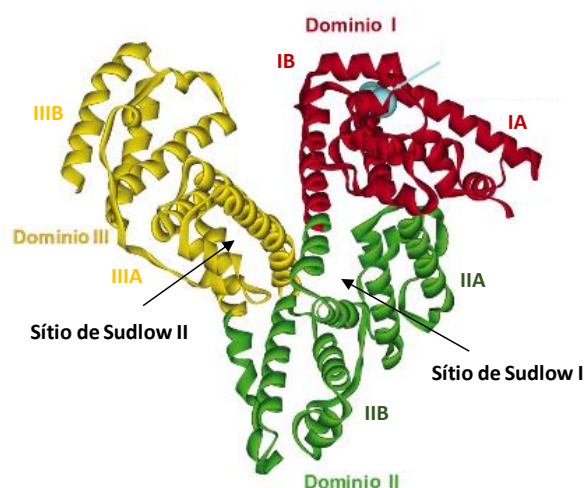


Figura 54. Representação da estrutura terciária da HSA, dividida em três sítios principais de ligação e subdomínios.

Fonte: Adaptado MOREIRA (2015).

O conceito de Pearson (1968) sobre “duros” ou “moles” para compostos de coordenação, é útil para a previsão das espécies do substrato biológico com as quais os complexos poderão se ligar com maior afinidade. As proteínas, em geral, oferecem vários tipos de sítios de coordenação para íons metálicos, as cadeias laterais ligantes mais importantes são o grupo SH da Cys-cisteína, o imidazol da His-histidina, o carboxilato do Asp-aspartato e Glu-glutamato, e o fenolato da Tyr-tirosina.

Carter e Ho (1994), sistematizaram os resultados obtidos por vários autores com seus dados de difração de raio X, fornecendo evidências desses sítios de ligação. O consenso é que ligantes heterocíclicos pequenos, ácidos carboxílicos e compostos aromáticos possuem afinidade por dois sítios entre os subdomínios IIA e IIIA (sítios de ligação I e II); ácidos graxos de cadeia longa teriam outro sítios de alta afinidade (ditos III); e os íons metálicos teriam dois sítios específicos: o resíduo Cys34 e a sequência dos três primeiros resíduos da cadeia N-terminal. Verificou-se que as principais interações da cisplatina com HSA envolve a ligação Pt–S da cisteína (TIMERBAEV et al., 2006). O único resíduo triptofano (Trp-124) está localizado no subdomínio IIA o qual é capaz de se ligar a fármacos por interações hidrofóbicas (ABOU-ZIED et al., 2013; TABASSUM et al., 2012; SHAIKH et al., 2007)

Assim, os estudos das interações entre um candidato a fármaco e a albumina pode fornecer informações importantes sobre a disponibilidade do complexo metálico em estudo. Consequentemente, a atenção tem sido focada na ligação de medicamentos à albumina.

4.5.2.1 Dicroísmo circular

A estrutura secundária das proteínas é composta predominantemente por conformações de α -hélice, e em menor proporção por folhas- β e conformação randômica. As medidas de CD de interesse são as ligações peptídicas que absorvem abaixo de 240nm, os resíduos de aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano que possuem absorção na faixa dos 250 a 290 nm, e as ligações de dissulfeto com fraca absorção, por volta de 260 nm. A HSA é uma proteína interessante para estes estudos, pois devido à alta porcentagem de α -hélices em sua estrutura, apresenta um sinal no espectro de CD da estrutura secundária bastante característico na região do UV-distante, duas bandas fortemente negativas de intensidade próximas, uma na região de 222 nm atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ e outra em 208 nm atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ dos grupos amida, estas bandas são sensíveis a alterações na helicidade da proteína induzidas pela presença de moléculas (HAVEL, 1995). A Figura 55 mostra espectros de dicroísmo circular da HSA na presença e na ausência dos compostos registrados na região de 195 a 260 nm.

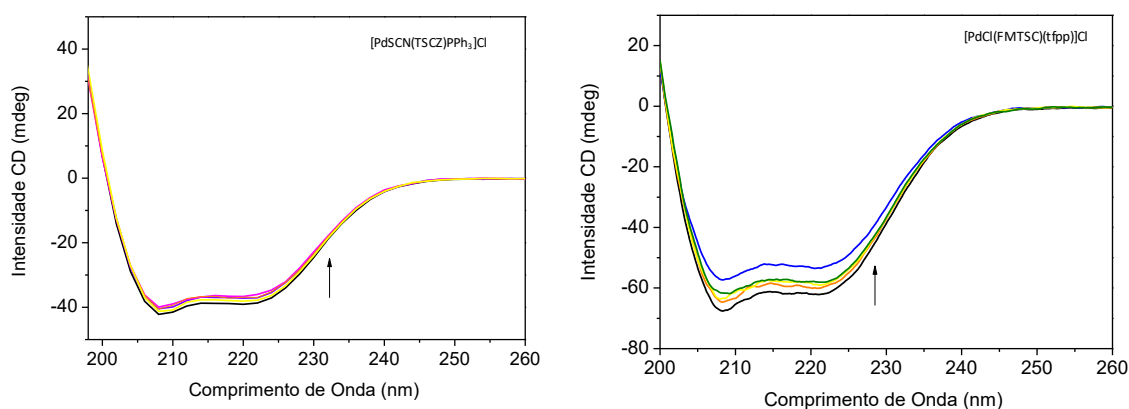


Figura 55. Espectro de CD para monitoramento da estrutura secundária da HSA na ausência e na presença de concentrações variadas dos complexos $\text{PdSCN(TSCZ)PPh}_3\text{Cl}$ e $[\text{PdCl(FMTSC)(tfpp)}]\text{Cl}$ a 25°C, $[\text{HSA}] = 1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{compostos}] (0-4,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1})$.

Fonte: Autora.

Através dos espectros de dicroísmo circular observa-se que à medida que se aumenta a concentração dos complexos $\text{PdSCN(TSCZ)PPh}_3\text{Cl}$ ou $[\text{PdCl(FMTSC)(tfpp)}]\text{Cl}$ ocorre uma pequena diminuição da intensidade das bandas da HSA e os espectros continuam similares em forma, quando comparados aquele que contem somente HSA, indicando que a ligação complexo-HSA não resultou em alterações significativas no perfil espectral da proteína CD, sugerindo que a presença do complexo metálico não causou alterações conformacionais na estrutura secundária da HSA (SHAHABADI; MAGHSUDI, 2009), indicando interações fracas na superfície

da proteína. Além disso, os espectros mostram que as mudanças causadas pelo complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ são muito mais expressivas do que as causadas pelo complexo $\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3\text{Cl}$, o que sugere que $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ esteja interagindo mais fortemente com a proteína. Pode-se verificar também que não houve mudanças na estrutura terciária da albumina humana, já que não houve variações na região de 260 nm para ambos complexos.

4.5.2.2 Espectroscopia Eletrônica de Fluorescência

Devido à sua alta sensibilidade, a espectroscopia de fluorescência é empregada para estudar as interações entre complexos metálicos e biomacromoléculas, assim como para obter os parâmetros relevante sobre as interações moleculares (GALKINDA; PROSKURNIN, 2018; LAKOWICZ, 2006; PETERS Jr, 1995). A interação entre HSA com moléculas pequenas pode alterar o microambiente da estrutura secundária da cadeia proteica. Em grande parte desses casos, ocorre a supressão da fluorescência da HSA, o qual é proveniente dos resíduos dos aminoácidos triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe). A fluorescência de cada um desses resíduos de aminoácidos pode ser distinguida pela excitação em determinados comprimentos de onda. Essa supressão pode ser induzida por diversos processos no estado excitado como rearranjos moleculares, formação de complexo no estado fundamental, transferência de energia e colisões moleculares (PETERS Jr, 1995). Assim investigar a interação entre esta proteína e metalofármacos é de fundamental importância para o entendimento da ação dos fármacos no organismo (PETERS Jr, 1995; HE; CARTER, 1992; LOVESCU et al., 2015; WANG et al., 2007).

Entre os fluoróforos a emissão do Trp localizado no subdomínio IIA é a mais significativa (SHAIKH et al., 2007). Variações no ambiente molecular na vizinhança do fluoróforo pode ser geralmente notado por alterações nos espectros de fluorescência na ausência e presença do complexo. A interação entre os complexos de paládio $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ e a HSA foi estudada utilizando a supressão de fluorescência intrínseca da proteína. O espectro de emissão da HSA apresenta fluorescência quando excitados em 280nm, mostrando uma banda intensa e alargada na região de 329 nm, referente aos resíduos de aminoácidos de Trp e de Tyr. A adição de alíquotas de solução dos complexos $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ levou a uma diminuição gradativa da intensidade dessa banda.

Essa supressão é atribuída a possíveis alterações conformacionais na estrutura secundária da proteína levando a mudanças no microambiente do triptofano da HSA, evidenciando interação do composto com a HSA (Figura 56).

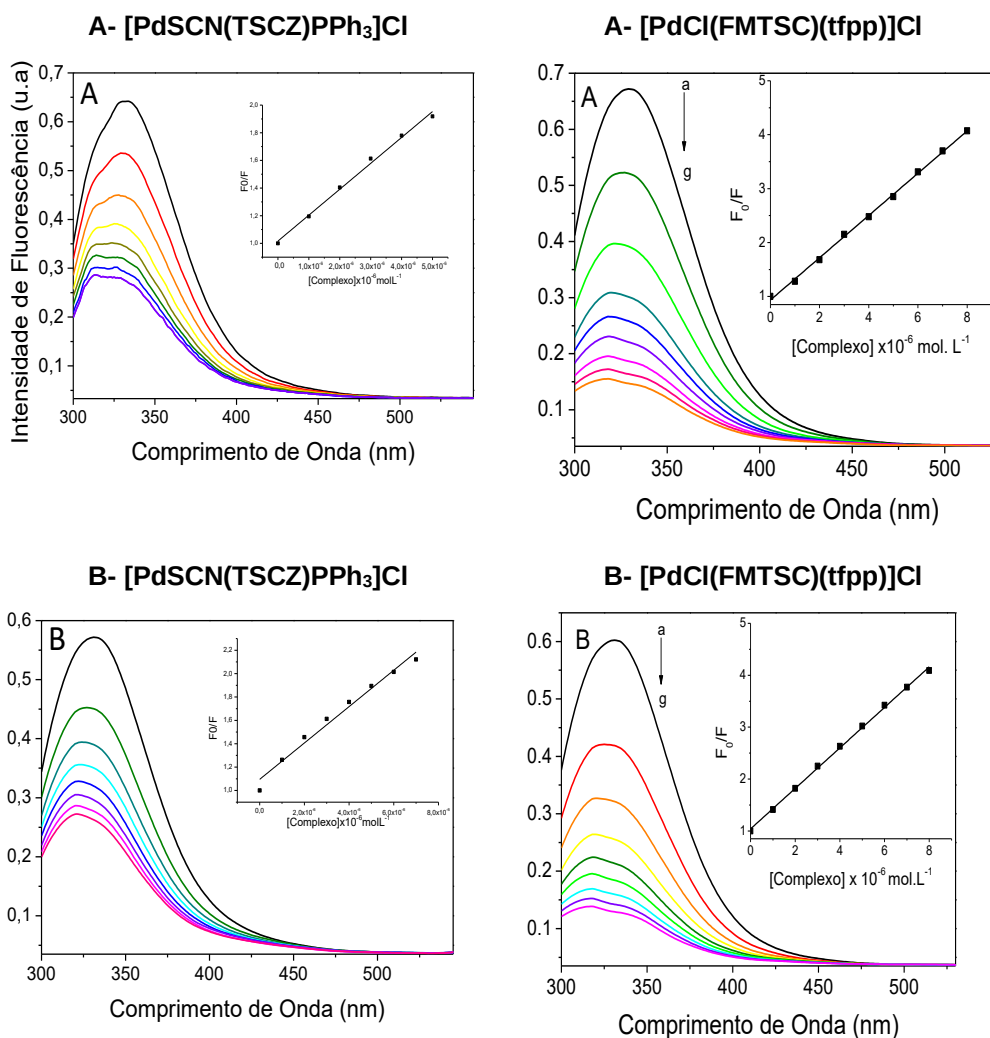


Figura 56. Espectros de supressão de fluorescência da HSA na presença e na ausência do complexo de paládio a 25°C (A) e 37°C (B), $\lambda_{\text{Ex}}=280 \text{ nm}$; solução tampão Tris-HCl (pH= 7,2) $[\text{HSA}]=1,0 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$; $[\text{Complexo}] = 1,0 - 8,0 (\times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1})$, (a-g), respectivamente.

Fonte: Autora.

Os mecanismos envolvidos na interação para supressão da fluorescência intrínseca de uma proteína podem ser classificados como mecanismo dinâmico, estático ou uma combinação de ambos. Em todos, é necessário o contato entre um fluoróforo e o agente supressor. No mecanismo estático ocorre a formação de um complexo fluoróforo-supressor no estado fundamental não fluorescente entre HSA e o complexo metálico, causando alterações no espectro de absorção de HSA. Neste caso a estabilidade é diminuída com o aumento da temperatura, e consequentemente, os valores da constante de supressão (K_{sv}) diminuem (LAKOWICZ, 2006). Se for o

caso de supressão dinâmica, a supressão ocorre por meio de colisões durante o tempo de vida do estado excitado da biomolécula, então não deve haver alteração no espectro de absorbância da HSA na presença de ligante. O aumento da temperatura provoca uma diminuição da viscosidade favorecendo as colisões entre o complexo metálico e a HSA excitada, tendo como consequência aumento da constante de supressão (K_{SV}). Os mecanismos de supressão de fluorescência envolvido na interação entre a HSA e o complexo de paládio pode ser distinguido, qualitativamente, por meio da relação entre os valores da constante de supressão de Stern-Volmer (K_{SV}) e a temperatura (LAKOWICZ, 2006; VIGNISH et al., 2014):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q]$$

onde a constante de supressão molecular de Stern-Volmer, K_{SV} , corresponde à inclinação do gráfico de F_0/F versus $[Q]$, F_0 e F são as intensidades de fluorescência do fluoróforo (HSA) na ausência e na presença do supressor, K_q é a constante bimolecular de supressão da albumina, τ_0 é o tempo médio de vida no estado excitado da biomolécula na ausência do supressor ($\sim 10^{-8}$ s) (WANG et al., 2011) e $[Q]$ é a concentração do supressor (PETERS Jr, 1995; LAKOWICZ, 2006; HE; CARTER, 1992; VIGNISH et al., 2014; LOVESCU et al., 2015; SHAIKH et al., 2007). A partir da regressão linear desta figura, foram obtidos os valores de K_{SV} e K_q para a interação entre o complexo metálico e a proteína em diferentes temperaturas, conforme apresentado na Tabela 19.

Tabela 19. Valores de K_{SV} e K_q para o complexo de paládio na presença de HSA em diferentes temperaturas.

Compostos	T (°C)	$K_{SV} \times 10^5$ (Lmol ⁻¹)	$K_q \times 10^{13}$ (Lmol ⁻¹ s ⁻¹)	R*
[PdSCN(TSCZ)PPh ₃]Cl	25	1,87	1,87	0,9937
	37	1,56	1,56	0,9770
[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl	25	3,92	3,92	0,9984
	37	3,90	3,90	0,9985

R* coeficiente de correlação

O gráfico de Stern-Volmer de F_0/F em função da concentração do complexo metálico apresenta perfil linear e descreve a supressão biomolecular de um fluoróforo (HSA) na presença de um supressor (Figura 56). Os dados apresentados na Tabela 09 mostram que o aumento da temperatura resultou no decréscimo do valor da constante de Stern-Volmer (K_{SV}), indicando que o processo de supressão predominante é o mecanismo estático, no qual a supressão de fluorescência ocorreu

devida a formação de um complexo entre a proteína e os compostos estudados. Aliado a isso, os valores encontrados para a constante bimolecular K_q , que informa a eficiência da supressão e a acessibilidade dos fluoróforos aos supressores (WANG et al., 2011), possui três ordens de grandeza superior ao valor do coeficiente de difusão da proteína ($2.0 \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$), resultado que confirma o mecanismo estático (TAKARADA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2016).

Determinação da constante de ligação e número de sítios de ligação

Com o processo de supressão qualitativamente definido é necessário avaliar o grau de interação entre a proteína HSA e os complexos. A HSA possui habilidade de se ligar reversivelmente a vários tipos de ligantes (REIS et al., 2016) com grande afinidade, sendo possível supor que qualquer metalofármaco apresentará algum tipo de interação com esta macromolécula. A afinidade da interação entre HSA e o complexo é um parâmetro relevante na farmacocinética de um fármaco, pois interfere na absorção, metabolização, na eficácia deste novo medicamento, assim como o seu transporte no plasma sanguíneo (DIVSALAR et al., 2009). A afinidade entre a proteína e o complexo de paládio foi investigada por meio do valor da constante de formação aparente (K_b) do aduto complexo-albumina e pelo número de sítios ocupados pelo complexo na estrutura da HSA. Estes parâmetros foram determinados por meio da equação modificada de Stern-Volmer (LAKOWICZ, 2006; KALANUR; SEETHARAMAPPA; KALALBANDI, 2010).

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

sendo que F_0 e F são as intensidades de fluorescência da proteína na ausência e na presença do complexo de paládio respectivamente, n é o número de sítios de interação que o composto ocupou na estrutura da biomolécula e $[Q]$ é a concentração do complexo metálico. Os valores da constante de formação aparente (K_b) e o número de sítios que o composto ocupa na estrutura da proteína (n) são calculados a partir dos valores dos coeficientes angular e linear obtidos pela equação de inclinação da reta no gráfico de $\log (F_0 - F)/F$ vs o $\log [Q]$, Figura 57, os valores são apresentados na Tabela 20.

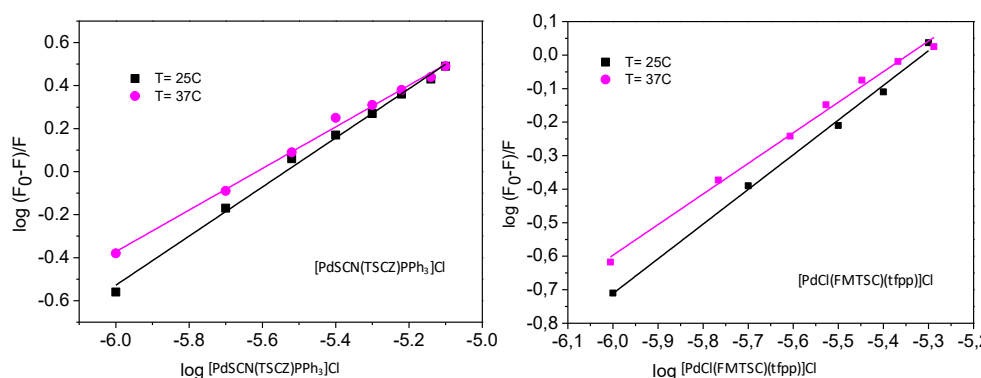


Figura 57. Gráfico de $\log (F_0-F)/F$ versus $\log$ dos complexos em 25°C e 37°C.

Fonte: Autora.

Tabela 20. Constante de ligação (K_b) e número de sítios de ligação (n) envolvidos na interação da HSA com os complexos de paládio.

Compostos	T (°C)	K_b (molL ⁻¹)	N	R*
[PdSCN(TSCZ)PPh ₃]Cl	25	$31,48 \times 10^4$	1,03	0,9946
	37	$5,28 \times 10^3$	0,71	0,9931
[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl	25	$2,10 \times 10^6$	1,14	0,9950
	37	$2,69 \times 10^5$	0,97	0,9956

R* coeficiente de correlação.

A constante de formação aparente (K_b) expressa a afinidade na formação de adutos entre a HSA e o supressor. Essa interação precisa ser forte suficiente para que os complexos consigam ser carregados até seus alvos, a magnitude para $K_b \sim 10^4$ e 10^6 L mol⁻¹ indica que a ligação estabelecida entre o derivado metálico e a proteína é forte (DIVSALAR et al., 2009) e consequentemente podem ser transportados pela proteína com eficácia (DIVSALAR et al., 2009; REIS, 2016). Observa-se a partir dos dados da Tabela 20, uma diminuição dos valores de constante aparente (K_b) com o aumento da temperatura, isso nos sugere que o aduto formado HSA-[PdSCN(TSCZ)PPh₃]Cl e HSA-[PdCl(FMTSC)(tfpp)]Cl possuem seu tempo de estabilidade no interior da biomolécula reduzida com a elevação da temperatura. Entretanto a magnitude observada para $K_b \sim 10^3$ e 10^6 indica que a ligação estabelecida entre os derivados metálicos e a proteína é forte/moderada suficiente para que o complexo pode ser transportado pela proteína no plasma sanguíneo com eficiência (DIVSALAR et al., 2009). Além disso, o valor do número de sítio ligante para as duas temperaturas em ambos complexos, evidenciam que os complexos se ligam a biomolécula por apenas um sítio de ligação na estrutura da biomolécula, provável na região do triptofano.

Determinação de parâmetros termodinâmicos

A supressão de fluorescência em diferentes temperaturas permite calcular os parâmetros termodinâmicos associados à ligação entre a proteína e o composto metálico, sendo possível inferir a espontaneidade do processo e a natureza da ligação estabelecida, que podem envolver ligações de hidrogênio, força de Van der Waals, interações eletrostáticas e hidrofóbicas (YU et al., 2012; DING et al., 2009; LIU et al., 2011).

Valores positivos de ΔS° indicam um aumento da desordem do sistema em estudo, enquanto, valores negativos de ΔS° indicam aumento na organização do sistema. Quando ocorre a formação de aglomerados de moléculas hidrofóbicas em meio aquoso, as moléculas do solvente ficam livres para se movimentar, causando uma desorganização por parte do solvente e, por conseguinte, um aumento na entropia do sistema ($\Delta S^\circ > 0$), assim, as ligações de hidrogênio formadas entre as moléculas de água serão quebradas e ΔH° será maior que zero. Quando a somatória da energia da quebra das ligações é maior que a somatória da energia necessária para formação das mesmas, ΔH° possui valores positivos e o processo é denominado endotérmico (ATKINS; PAULA, 2006). Esses parâmetros termodinâmicos indicam que a interação entre o complexo e a HSA é constituída por forças hidrofóbicas. Considerando as ligações de hidrogênio e forças de van der Waals, a formação das ligações de hidrogênio entre as moléculas ($\Delta H^\circ < 0$) diminui a entropia do sistema devido à organização resultante das moléculas que estão se ligando ($\Delta S^\circ < 0$). O mesmo ocorre com as interações de van der Waals, pois a aproximação/interação entre moléculas polarizadas ocorre por um processo exotérmico ($\Delta H^\circ < 0$) e, assim, ocorre uma organização do sistema ($\Delta S^\circ < 0$) (GARRETT; GRISHAM, 2005). Para que ocorra uma interação eletrostática entre as moléculas, é necessária a reorganização da esfera de solvatação dos íons e, neste caso, a energia necessária para as interações entre as espécies iônicas é maior que a energia necessária para o rompimento entre as moléculas de água da esfera de solvatação ($\Delta H^\circ < 0$). A quebra da esfera de solvatação dos íons provoca a desorganização do sistema, consequentemente, $\Delta S^\circ > 0$ (ROSS; SUBRAMANIAN, 1981; GARRETT; GRISHAM, 2005).

O valor da variação da entalpia (ΔH) envolvido na ligação entre a HSA e os complexos de paládio $[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$ e $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$ foram calculados utilizando a Equação de Van't Hoff (DIVSALAR et al., 2009):

$$\ln (K_2/K_1) = [(1/T_1)-(1/T_2)]\Delta H^\circ/R$$

sendo K_1 e K_2 são constantes de ligação, T_1 e T_2 são temperaturas e R é a constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\text{K}^{-1}$) (BALL, 2005). Os valores da variação da entropia (ΔS) e da variação da energia livre de Gibbs (ΔG) para o sistema complexo-proteína foram determinados por meio das equações a seguir:

$$\Delta G^\circ = -RT\ln K$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$$

onde ΔH° é a variação de entalpia, ΔG° é a variação da energia livre de Gibbs, $T(\text{K})$ a temperatura expressa em graus kelvin, K a constante de ligação (K_b) e R a constante dos gases ideais ($8,314510 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$). Os valores dos parâmetros termodinâmicos obtidos são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Parâmetros termodinâmicos envolvidos na interação entre a HSA e os complexos.

Compostos	T (°C)	ΔH (kJmol^{-1})	ΔS ($\text{Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$)	ΔG (kJmol^{-1})
$[\text{PdSCN}(\text{TSCZ})\text{PPh}_3]\text{Cl}$	25	-261,44	-772,05	-31,37
	37		-772,10	-22,09
$[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})]\text{Cl}$	25	-131,42	-319,93	-36,08
	37		-320,00	-32,22

O sinal e magnitude dos parâmetros termodinâmicos foram associados com várias interações que podem ocorrer nos processos de associações com proteínas. Os valores dos parâmetros termodinâmicos encontrados foram $\Delta H < 0$ que mostram que o processo de ligação entre os complexos de paládio e os resíduos de aminoácidos presentes na albumina é espontâneo e $\Delta S < 0$ e $\Delta G < 0$ indicando que o caráter das forças de ligação entre complexo-proteína é eletrostático, envolvendo ligações de hidrogênio e ou forças de Van der Waals.

5. Conclusão

O presente trabalho consistiu na obtenção, caracterização de onze complexos monometálicos de Pd^{II} inéditos na literatura. Os dados experimentais sugerem que, em todos os casos, a coordenação dos ligantes TSCZ e FMTSC ocorrera através do átomo de enxofre do grupo tiocarbonila e pelo nitrogênio azometínico. A difração de Raio X de monocristal de dois compostos confirmam a estrutura molecular dos complexos com geometria quadrado planar e presença de contra íon.

Os complexos (1-10) foram testados frente à linhagem câncer de mama MCF7 e a maioria se mostraram promissores, apresentando um índice citotóxico de metade do valor da cisplatina, isto é, todos os compostos foram mais citotóxicos que a cisplatina. Para a linhagem A549 foi observada atividade citotóxica moderado. Ambos ligantes livres TSCZ e FMSC não apresentam atividade citotóxica, ao contrário do que ocorreu com os complexos, mostrando que a atividade depende diretamente da coordenação ao metal.

As variações na estrutura do protótipo original (ROCHA et al., 2013) resultaram em uma variação citotóxica nos complexos 1-4. Como observado entre os trabalhos de Moura (2016) e Rocha et al. (2010), no qual os complexos que possuíam metila eram consideravelmente mais ativos, o mesmo ocorre com os compostos (TSCZ) dessa tese quando comparados com Rocha et al. (2013). Os compostos 1-4 apresentam uma diminuição da atividade citotóxica (16,22-20,28 μM), apesar disso continuam promissores pois se mostram mais ativos que a cisplatina frente a linhagem MCF-7 (52,22 μM).

Quando comparamos os resultados obtidos dos compostos de cinamaldeído de Rocha et al. 2016 para linhagem MCF-7 (8,78-10,63 μM) com os compostos 5-10 (15,40-30,21 μM), é notável a maior citotoxicidade, sugerindo que a estratégia de mobilidade da cadeia lateral, assim como o incremento de substituintes de natureza eletrônica distinta no carbono imínico (como grupos metilas), ou mesmo a presença de grupos polares que podem vim a formar ligações de hidrogênio (como grupo hidroxila), não é tão satisfatória.

Os complexos mononucleares avaliados frente a interação com o DNA por titulação espectroscópica, dicroísmo circular e competição com Hoescht-33258, sugerem que a interação, nas concentrações testadas, entre o ct-DNA e os complexos de paládio ocorram por meio de ligações com o sulco do DNA por interações

eletrostáticas como ligações de hidrogênio e/ou forças de Van der Waals. Mostrando que o complexo provoca mudanças conformacionais na estrutura do DNA diferentes daquelas induzidas pela cisplatina. Com isso, acredita-se que o DNA seja um dos alvos moleculares destes complexos e exerça influência nas atividades biológicas.

No estudo de interação com a HSA por dicroísmo circular e titulação espectrofluorimétrica, os resultados corroboram indicando que houve a formação da ligação complexo-HSA. A constante de formação aparente (K_b), que expressa a afinidade na formação de adutos entre a HSA e o supressor, se apresenta como forte/moderada suficiente para que o complexo possa ser transportado pela proteína, no plasma sanguíneo, com eficiência e apresenta uma distribuição *in vivo* adequada para que sejam liberados. Além disso, foi evidenciado que os complexos se ligam a biomolécula por apenas um sítio de ligação na estrutura, provável na região do triptofano.

6. Referências

- ABBADY, M. A. et al. Syntheses of new unsymmetrical and symmetrical diaryl-sulphides and diarylsulphones containing thiazoliny and thiazolidinonyl moieties using 4,4'-diacetyldiphenylsulphide. **Molecules**, v. 8, p. 622-641, 2003.
- ABOU-ZIED, O. K. et al. Binding of hydroxyquinoline probes to human serum albumin: combining molecular modeling and Förster's resonance energy transfer spectroscopy to understand flexible ligand binding. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 117, n. 4, p. 1062-1074, 2013.
- ABRAS, A. et al. Spectroscopic studies of metal complexes containing π -delocalized sulfur ligands. Mössbauer and kinetic studies of iron(II) and iron(III) complexes of the antitumor agent 2-formylpyridine thiosemicarbazone. **Inorganic Chimica Acta**, v. 172, n. 1, p. 113-127, 1990.
- AFRASIABI, Z. et al. Transition metal complexes of phenanthrenequinone thiosemicarbazone as potential anticancer agents: synthesis, structure, spectroscopy, electrochemistry and in vitro anticancer activity against human breast cancer cell-line, T47D. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 95, n. 4, p. 306-314, 2003.
- AHLUWALIA, V.K.; MADHU C. **Medicinal Chemistry**. India: Ane Books, 2008, 982 p.
- ALAMA, A. et al. Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 9-10, p. 500-508, 2009.
- ALLEN, T. M. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 10, p. 750-763, 2002.
- ALLMAN, T.; GOEL, R. G. The basicity of phosphines. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 716-722, 2011.
- ALMEIDA, S. M. V. de. et al. Compostos coordenados híbridos de platina no tratamento do câncer. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas Aplicadas**, v. 35, p. 337-345, 2014.
- AMOROSO, D.; YAP, G. P. A.; FOGG, D. E. The life, death, and ROMP activity of ruthenium complexes containing the basic, chelating diphosphine bis(dicyclohexyl)-1,4-phosphinobutane. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 79, n. 5-6, p. 958-963, 2001.
- APPLETON, T. G. et al. NMR Study of the Reactions of the cis-diamminediaqua-platinum(II) cation with glutathione and amino acids containing a thiol group. **Inorganic Chemistry**, v. 28, p. 2030-2037, 1989.
- ARANCIBIA, R. et al. Palladium (II) and platinum (II) complexes containing organometallic thiosemicarbazone ligands: synthesis, characterization, X-ray structures and antitubercular evaluation. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 55, p. 139-142, 2015.
- ATKINS, P. W.; PAULA, J. **Physical chemistry**. 3th ed. Oxford: Oxford University Press, 2006, 908 p.
- ATKINS, P. et al. **Inorganic chemistry**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2010, 824 p.
- AYYANNAN, G. et al. Biological evaluation of organometallic palladium(II) complexes containing 4-hydroxybenzoic acid (3-ethoxy-2-hydroxybenzylidene)hydrazide: synthesis, structure, DNA/protein binding, antioxidant activity and cytotoxicity. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 3, n. 5, p. 1-13, 2016.

- BACHER, F. et al. Copper(II) complexes with highly water-soluble L- and D-proline-thiosemicarbazone conjugates as potential inhibitors of topoisomerase II α . **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 8895-8908, 2013.
- BAILEY, R. A. et al. Infrared spectra of complexes of the thiocyanate and related ions coordination. **Chemistry Reviews**, v. 6, p. 407-445, 1971.
- BALL, D. W. **Físico-Química**, vol 2. São Paulo: Editora Pioneira Thomson Learnin, 2005, 877 p.
- BARNARD, P. J.; BERNERS-PRICE, S. J. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, p. 1889-1902, 2007.
- BARRA, C. V. et al. Structure, cytotoxic activity and DNA binding of Pd(II) complexes bearing N'-methyl-1-thiocarbamoyl-3,5-dimethylpyrazole. **International Symposium on Metal Complexes 2012 (ISMEC2012)**.
- BARRA, C. V. et al. Synthesis, cytotoxic activity and DNA interaction of Pd(II) complexes bearing N--methyl-3,5-dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole. **Polyhedron**, v. 65, p. 214-220, 2013.
- BARRA, C. V. **Novos complexos de 'Pd'(II): síntese, caracterização e efeito dos ligantes na citotoxicidade e interação com DNA**. 2014.165 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.
- BARRA, C. V.; NETT A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 1998-2016, 2015.
- BARRA C. V. et al. DNA binding, topoisomerase inhibition and cytotoxicity of palladium(II) complexes with 1,10-phenanthroline and thioureas. **Inorganic Chemistry Acta**, v. 446, p. 54-60, 2016.
- BARREIRO E. et al. Synthesis, structure and cytotoxicity of triphenylphosphinegold(I) sulfanylpropenoates. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 184-192, 2008.
- BARREIRO, E. J.; FRAFGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3th ed. Porto Alegre: Artmed, 2015, 608 p.
- BAVIN, E. M. et al. The tuberculostatic activity of some thiosemicarbazones. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 764-772, 1950.
- BEHRENS, P. Q., SPIEKERMAN, A. M.; BROWN, J.R. Structure of human serum albumin. **Federation Proceedings**, v. 34, n. 3, p. 591, 1975.
- BENESI, H. A.; HILDEBRAND, J. H. A Spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. **Journal American of Chemical Society**, v. 71, p. 2703-2707, 1949.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2062-2067, 2007.
- BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.
- BERALDO, H.; GAMBINO, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. **Mini-reviews in medicinal chemistry**, v. 4, n. 1, p. 31-39, 2004.
- BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. Cadernos temáticos de Química Nova na Escola, n. 6, p. 4-6, 2005.
- BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. Phosphines in medicine. **Chemistry Britain**, v. 23, n. 6, p. 541-544, 1987.
- BHARTI, N. et al. Synthesis and in vitro antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, n. 23, p. 3475-3478, 2002.

- BHARTI, N. et al. New palladium(II) complexes of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones. synthesis, spectral studies and in vitro anti-amoebic activity. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 13, p. 2923-2929, 2003.
- BILBREY, J. A. et al. Exact Ligand Solid Angles. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 9, n. 12, p. 5734-5744, 2013.
- BLACKBURN, M. et al. **Nucleic Acids in Chemistry and Biology**. 3th ed. New York: Oxford University Press, 1997, 470 p.
- BLACKER, A. J. et al. Use of tricyclohexylphosphine to control regiochemistry in palladium-catalyzed allylic alkylation. **Organic Letters**, v. 1, n. 12, p. 1969-1971, 1999.
- BORCH, R. F.; PLEASANTS, M. E. Inhibition of cis-platinum nephrotoxicity by diethyldithiocarbamate rescue in a rat model. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.76, n. 12, p. 6611-6614, 1979.
- BRINK A. **Rhodium (I) Betadiketonate complexes as model catalysts in methanol carbonylation**. MSc dissertation. University of the Free State, 2007.
- BROCKMAN, R. W. et al. Heterocyclic thiosemicarbazones: correlation between structure, inhibition of ribonucleotide reductase, and inhibition of DNA viruses. **Experimental Biology and Medicine**, v. 133, n. 2, p. 609-614, 1970.
- BURT, C. T. **Phosphorus NMR in biology**. New York: Taylor & Francis Group, 1987, 21 p.
- BUSH, R. C., ANGELICI, R. J. Phosphine basicities as determined by enthalpies of protonation. **Inorganic Chemistry**, v. 27, p. 681-686, 1988.
- BUTOUR, J. L. et al. Palladium (II) compounds with potential antitumour properties and their platinum analogues: a comparative study of the reaction of some orotic acid derivatives with DNA in vitro. **Chemico Biological Interactions**, v. 104, n. 2-3, p. 165-178, 1997.
- CAIRNS, R.; PAPANDREOU, I.; DENKO, N. Overcoming physiologic barriers to cancer treatment by molecularly targeting the tumor microenvironment. **Molecular Cancer Research**, v. 4, n. 2, p. 61-70, 2006.
- CARADONNA, J. P. et al. The antitumor drug cis- dichlorodiammineplatinum forms an intrastrand d(GpG) crosslink upon reaction with [d(ApGpGpCpCpT)]₂. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, n. 21, p. 5793-5795, 1982.
- CARTER, D. C. e HO, J. X. Structure of serum albumin. **Advance Protein Chemistry**, v. 45, p. 153-203, 1994.
- CASAS, J. S.; TASENDE, M. S. G.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 209, n. 1, p. 197-261, 2000.
- CASAS, J. S. et al. New Pd(II) and Pt(II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: Molecular and supramolecular structure and preliminary study of their in vitro antitumoral activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 33-45, 2008.
- CASTIÑEIRAS, A. et al. Supramolecular architecture in gold(I) and gold(III) 2-pyridineformamide thiosemicarbazone complexes by secondary interactions: synthesis, structures, and luminescent properties. **Crystal Growth Design**, v. 12, p. 1432-1442, 2012.
- CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, p. 65-72, 2005.
- CHAKRABORTY, S.; RAHMAN, T. The difficulties in cancer treatment. **E cancer medical science**, v. 6, p. 1-5, 2012.

- CHANG, Y.; CHEN, C. K.; HOU M. Conformational changes in DNA upon ligand binding monitored by circular dichroism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 3394-3413, 2012.
- CHATTOPADHYAY, D. et al. Structure of 1-(3,4-dichlorophenyl)-4-methylthiosemicarbazide. **Acta Crystallographica**, v. 45, n. 2, p. 314-317, 1989.
- CHEN, Z. et al. Comparison of DNA binding and cleavage abilities between mono- and trinuclear copper(II) complexes of benzimidazole derivatives. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 11, n. 11, p. 1392-1396, 2008a.
- CHEN, L-M. et al. Experimental and theoretical studies on the DNA-binding and spectral properties of water-soluble complex $[Ru(MeIm)_4(dpq)]^{2+}$. **Journal of Molecular Structure**, v. 881, n. 1-3, p. 156-166, 2008b.
- CHOI, M. -K.; KIM D. -D. Platinum transporters and drug resistance. **Archives of Pharmacal research**, v. 29, n. 12, p. 1067-1073, 2006.
- CHRISTLIEB, M.; DILWORTH, J. R. Ligands for molecular imaging: the synthesis of bis(thiosemicarbazone) ligands. **Chemistry European Journal**, v. 12, n. 24, p. 6194-6206, 2006.
- CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D. **Análise Instrumental**. 2th ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2000, 146 p.
- CLAVIER, H.; NOLAN, S. P. Percent buried volume for phosphine and N-heterocyclic carbene ligands: steric properties in organometallic chemistry. **Chemical Communications**, v. 46, p. 841-861, 2010.
- COOPER, G. M. **The cancer book: a guide to understanding the causes, prevention, and treatment of cancer**. Boston: Jones and Bartlett, 1993, 236 p.
- COSAERT, J.; QUOIX, E. Platinum drugs in the treatment of non-small-cell lung cancer. **British Journal Cancer**, v. 87, n. 8, p. 825-833, 2002.
- CUNHA, S.; SILVA, T. L. da. One-pot and catalyst-free synthesis of thiosemicarbazones via multicomponent coupling reactions. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 18, p. 2090-2093, 2009.
- DESANTIS, C. E. et al. Cancer treatment and survivorship statistics. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n.4, p. 252-271, 2014.
- DEVITA, V. T.; CHU, E. A history of cancer chemotherapy. **Cancer research**, v. 68, n. 21, p. 8643-8653, 2008.
- DHAR, S.; LIPPARD, S. J. Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate. **Proceedings of the national Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, p. 22199, 2009.
- DHAR, S.; LIPPARD, S. J. **Current status and mechanism of action of platinum based anticancer drugs. Bioinorganic medicinal chemistry**. New York, 2011, 79-95 p.
- DING, F. et al. A study of the binding of C.I. Mordant red 3 with bovine serum albumin using fluorescence spectroscopy. **Dyes and Pigments**, v. 82, p. 65-70, 2009.
- DIVSALAR, A. et al. Investigation on the Interaction of newly designed anticancer Pd(II) complexes with different aliphatic tails and human serum albumin. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, p. 14035-14042, 2009.
- DU, X. et al. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the Trypanosomal Cysteine Protease Cruzain. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 13, p. 2695-2707, 2002.
- DUPONT, J. Economia de átomo, engenharia molecular e catálise organometálica bifásica: conceitos moleculares para tecnologias limpas. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 825-831, 2000.

- DY, G. K.; ADJEI, A. A. Systemic cancer therapy: Evolution over the last 60 years. **Cancer**, v. 113, p. 1857-1887, 2008.
- ELLEDGE, S. J.; ZHOU, Z.; ALLEN, J. B. Ribonucleotide reductase: regulation, regulation, regulation. **Trends Biochemical Sciences**, v. 17, n. 3, p. 119-123, 1992.
- ELLIS, K. **Shattering the cancer myth: a positive guide to beating cancer**. 4th ed. Madrid: Self-Publishing, 2013, 470 p.
- ELSAYED, A. M. et al. Transition metal complexes of 2-formylpyridinethiosemicarbazone (HFpyTSC) and X-ray crystal structures of $[Pd(FpyTSC)(PPh_3)]PF_6$ and $[Pd(FpyTSC)(SCN)]$. **Inorganica Chimica Acta**, n. 363, p. 2526-2532, 2010.
- ERGENÇ, N. et al. Synthesis and hypnotic activity of new 4-thiazolidinone and 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **Archiv der Pharmazie**, v. 332, n. 10, p. 343-347, 1999.
- ESPÍNDOLA et al. Synthesis and structure activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxy thiosemicarbazones inhibiting Trypanosoma cruzi cruzain. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 818-835, 2015.
- FARIAS, R. F. De. **Química de coordenação: fundamentos e atualidades**. 2th ed. São Paulo: Editora átomo, 2009, 317 p.
- FARRELL, N. P. **Transition metal complexes as drug and chemotherapeutic agents**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1989, 291 p.
- FEHLHAMMER, W. P.; DAHL, L. F. Structural characterization of the di- μ -azido-bis(diazidopalladate(II)) anion, $[Pd_2(N_3)_6]^{2-}$. Stereochemical similarity between stable bridging azide ligands of the N-diazonium type and terminal azide ligands. **Journal of the American Chemical Society**, v. 94, n. 10, p. 3377-3382, 1972.
- FRENCH, F. A.; BLANZ, E. J. J. The carcinostatic activity of alpha-(N) heterocyclic carboxaldehyde thiosemicarbazones. I. Isoquinoline-1-carboxaldehyde thiosemicarbazone. **Cancer Research**, v. 25, n. 9, p. 1454-1458, 1965.
- FONTES, A. P. S.; DE ALMEIDA, S. G.; NADER, L. A. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, v. 20, p. 398-406, 1997.
- FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Química Nova na Escola** (cadernos temáticos), n.6, 2005.
- FUCHS, F. D. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 1284 p.
- GABBIANI, C.; CASINI, A.; MESSORI, L. Gold(III) compounds as anticancer drugs. **Gold Bull**, v. 40, p. 73-81, 2007.
- GALKINDA, P. A.; PROSKURNIN, M. A. Supramolecular interaction of transition metal complexes with albumins and DNA: Spectroscopic methods of estimation of binding parameters. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 4150, p. 1-25, 2018.
- GANDIN, V. et al. Cytotoxicity in human cancer cells and mitochondrial dysfunction induced by a series of new copper(I) complexes containing tris(2-cyanoethyl) phosphines. **Biochemical Pharmacology**, v. 79, p. 90-101, 2010.
- GARBETT, N. C.; RAGAZZON, P. A.; CHAIRES, J. B. Circular dichroism to determine binding mode and affinity of ligand-DNA interactions. **Nature Protocols**, v. 2, n. 12, p. 3166-3172, 2007.
- GARRETT, R. H.; GRISHAM, C. M. **Biochemistry**. 3th ed. Belmont: Thomas Brooks/Cole, 2005, 1085 p.
- GIBSON, D. The mechanism of action of platinum anticancer agents - what do we really know about it?. **Dalton Transactions**, n. 48, p. 10681-10689, 2009.
- GILLET J. P.; GOTTESMAN, M.M. Mechanisms of multidrug resistance in cancer. **Methods Molecular Biology**, v. 596, p. 47-76, 2010.

- 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.
- GOLUB, A. M.; KOHLER, H.; SKOPENKO, V. V. **Chemistry of pseudohalides**. Amsterdam: Elsevier, 1986. 479 p.
- GONÇALVES, A. C. R. et al. Pt^{II}, Pd^{II} and Au^{III} complexes with a thiosemicarbazone derived from diacetylmonooxime: Structural analysis, trypanocidal activity, cytotoxicity and first insight into the antiparasitic mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, 2017.
- GONZALEZ, V. M. et al. Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis. **Molecular Pharmacology**, v. 59, n. 4, p. 657-663, 2001.
- GOTTESMAN, M. M. Mechanisms of cancer drug resistance. **Annual review of medicine**, v. 53, n.1, p. 615-627, 2002.
- GRAY, M. Circular Dichroism Spectroscopy of DNA. **Methods in Enzymology**, v. 211, p. 389-406, 1992.
- GREENBAUM, D. C. et al. Synthesis and structure-activity relationships of parasitocidal thiosemicarbazone cysteine protease inhibitors against plasmodium falciparum, trypanosoma brucei, and trypanosoma cruzi. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 3212-3219, 2004.
- GUIZADO, T. Analysis of the structure and dynamics of human serum albumin. **Journal of Molecular Modeling**, v. 20(10):2450, p. 1-13, 2014.
- GUO, Z.; SADLER, P. J. Metals in Medicine. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, n. 11, p. 1512-1531, 1999a.
- GUO, Z.; SADLER, P. J. Medicinal Inorganic Chemistry. **Advances in Inorganic Chemistry**, v. 49, p. 183-306, 1999b.
- HAAV, K. et al. Basicity of phosphanes and diphosphanes in acetonitrile. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 11, p. 2167-2172, 2012.
- HALL, I. H. et al. Cytotoxicity of copper and cobalt complexes of furfural semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives in murine and human tumor cell lines. **Pharmazie**, v. 55, n. 12, p. 937-941, 2000.
- HAMBLEY, T.W. Developing new metal-based therapeutics: challenges and opportunities. **Dalton Transactions**, v. 43, p. 4929-4937, 2007a.
- HAMBLEY, T. W. Chemistry-metal-based therapeutics. **Science**, v. 318, n. 5855, p. 1392-1393, 2007b.
- HAMEED, A. et al. Me₃N-promoted synthesis of 2,3,4,4a-tetrahydroxanthene-1-one: preparation of thiosemicarbazone derivatives, their solid state self-assembly and antimicrobial properties. **New Journal of Chemistry**, v. 39, n. 12, p. 9351-9357, 2015.
- HANG, H. C; BERTOZZI, C. R. Chemoselective approaches to glycoprotein assembly. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, n. 9, p. 727-736, 2001.
- HARTWIG, J. F. **Organotransition metal chemistry: from bonding to catalysis**. Sausalito Calif: University Science Books, 2010, 1160 p.
- HAVEL, H. A. **Spectroscopic methods for determining protein structure in solution**. Wiley-VCH, New York, 1995, 264 p.
- HE, X. M.; CARTER, D. C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. **Nature**, v. 358, p. 209-215, 1992.
- HE, J. et al. Phosphodiester hydrolysis and specific DNA binding and cleavage promoted by guanidinium-functionalized zinc complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 103, n. 5, p. 851-858, 2009.

- HEFFETER, P. et al. Resistance against novel anticancer metal compounds: differences and similarities. **Drug Resistance Updates**, v. 11, n. 1-2, p. 1-16, 2008.
- HOSSAIN, A. G. M.; NAGAOKA, T.; OGURA, K. Electrocatalytic reduction of carbon dioxide by substituted pyridine and pyrazole complexes of palladium. **Electrochimica Acta**, v. 41, n. 17, p. 2773-2789, 1996.
- HOUSMAN, G. et al. Drug resistance in cancer: an overview. **Cancers**, v. 6, n. 3, p. 1769-1792, 2014.
- HUANG, S. et al. Thermodynamic investigation of the interaction between the $[(\eta^6\text{-p-cymene})\text{Ru}(\text{benzaldehyde-N4-phenylthiosemicarbazone})\text{Cl}]\text{Cl}$ anticancer drug and ct-DNA: multispectroscopic and electrochemical studies. **RSC Advances**, v. 5, n. 53, p. 42889-42902, 2015.
- HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4th ed. New York: HarperCollins, 1993, 964 p.
- HUSAIN, M. et al. Interaction of indomethacin with calf thymus DNA: a multi-spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling approach. **MedChemComm**, v. 8, n. 9, p. 1283-1296, 2017.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER José Alencar Gomes da Silva. **ABC DO CÂNCER: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro: Inca, 2012. 129 p. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/abc_do_cancer_2ed.pdf>. Acesso em: 06 set. 2019.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>>. Acesso em: 04 fev. 2020.
- ISAB, A. A. et al. ^{13}C , ^{15}N and ^{31}P NMR study of the disproportionation of cyanogold(I) complexes: $[\text{R}_3\text{PAu}^{13}\text{C}^{15}\text{N}]$. **Polyhedron**, v. 18, n. 10, p. 1401-1409, 1999.
- JAMES, S. L. Phosphines as building blocks in coordination-based self-assembly. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 6, p. 1744-1758, 2009.
- JOAUD, E. M. et al. Synthesis, structural and spectral studies of 5-methyl 2-furaldehydethiosemicarbazone and its Co, Ni, Cu and Cd complexes. **Polyhedron**, v. 20, n. 1-2, p. 67-74, 2001.
- JONES, C. J. **A química dos elementos dos blocos d e f**. Porto Alegre: Bookman, 2002, 184 p.
- JOSEPH, M. et al. Structural, antimicrobial and spectral studies of copper(II) complexes of 2-benzoylpyridine n(4)-phenyl thiosemicarbazone. **Polyhedron**, n. 25, p. 61-70, 2006.
- JOVER, J.; CIRERA, J. Computational assessment on the Tolman cone angles for P-ligands. **Dalton Transactions**, v. 48, p. 2-34, 2019.
- KALAIVANI, P. et al. Influence of terminal substitution on structural, DNA, protein binding, anticancer and antibacterial activities of palladium(II) complexes containing 3-methoxy salicylaldehyde-4(N) substituted thiosemicarbazones. **Dalton Transactions**, v. 41, p. 2486-2499, 2012.
- KALANUR, S. S.; SEETHARAMAPPA, J.; KALALBANDI, V. K. A. Characterization of interaction and the effect of carbamazepine on the structure of human serum albumin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, p. 660-666, 2010.

- KAPDI, A. R.; FAIRLAMB, I. J. S. Anti-cancer palladium complexes: a focus on PdX_2L_2 , palladacycles and related complexes. **Chemistry Society Reviews**, n. 43, v. 13, p. 4751-4777, 2014.
- KAZEMI, Z. Synthesis, characterization, crystal structure, DNA- and HSA-binding studies of a dinuclear Schiff base Zn(II) complex derived from 2-hydroxynaphtaldehyde and 2-picolyamine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1096, p. 110-120, 2015.
- KELLAND, L.R.; FARELL N.P. **Platinum-based drugs in cancer therapy**. Humana Press Inc. Totowa: New Jersey, 2000, 341 p.
- KELVIN, J. F.; TYSON, L. B. **100 Questions and Answers About Cancer Symptoms and Cancer Treatment Side Effects**. 2th ed. Kindle Edition: Jones and Bartlett Publishers, 2011, 249 p.
- KESSEL, D.; BOTTERILL, V.; WODINSKYI, I. Uptake and retention of daunomycin by mouse leukemic cells as factors in drug response. **Cancer Research**, v. 28, n. 5, p. 938-941, 1968.
- KHAN, A. Y.; HOSSAIN, M.; KUMAR, G. S. Binding of plant alkaloids berberine and palmatine to serum albumins: a thermodynamic investigation. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 1, p. 553-566, 2013.
- KHANYE, S. D. et al. Gold (I) derived thiosemicarbazone complexes with rare halogen-halogen interaction-reduction of $[\text{Au}(\text{damp-C1,N})\text{Cl}_2]$. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 10, p. 2697-2700, 2010.
- KOCH, O.; STUTTGEN, G. Clinical and experimental studies on the effects of thiosemicarbazones. **Naunyn Schmiedebergs Archiv Exp Pathologie und Pharmakologie**, v. 210, n. 4-5, p. 409-423, 1950.
- KOOLMAN, J.; RËOHM, K. -H. **Color atlas of biochemistry**. 2th ed. New York: Thieme Stuttgart, 2005, 467 p.
- KOVALA-DEMERTZI, D. et al. Palladium(II) complexes of 2-acetylpyridine $\text{N}(4)$ -propyl, $\text{N}(4)$ -dipropyl- and 3-hexamethyleneiminylthiosemicarbazones with potentially interesting biological activity. Synthesis, spectral properties, antifungal and in vitro antitumor activity. **Polyhedron**, v. 16, n. 20, p. 3625-3633, 1997.
- KÜÇÜKGÜZEL, G. et al. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisal hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 353-359, 2006.
- KUNE, G. A. To-day's drugs: methisazone. **British Medical Journal**, v. 2, n. 5409, p. 621, 1964.
- LAKOWICZ, R. L. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 7th ed. India: Springer Science, 2006, 954 p.
- LEEUEWEN, V.; PIET, W. N. M. **Homogeneous catalysis: understanding the art**. Holanda: Springer Netherlands, 2004, 408 p.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5th ed. São Paulo: Sarvier, 2011, 1202 p.
- LEMMA, K.; SHI, T.; ELDING, L. I. Kinetics and mechanism for reduction of the anticancer prodrug trans, trans, trans- $[\text{PtCl}_2(\text{OH})_2(\text{c-C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_2)(\text{NH}_3)]$ (JM335) by thiols. **Inorganic Chemistry**, v. 39, n. 8, p. 1728-34, 2000.
- LENERO, K. A. et al. Ruthenium Dihydrogen Complexes with Wide Bite Angle Diphosphines. **Inorganic Chemistry**, v. 42, p. 2859-2866, 2002.
- LESSA, J. A. et al. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones: Cytotoxic activity in nanomolar doses against malignant gliomas. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 5671-5677, 2010.

- LESSA, J. A.; BERALDO, H. Antimony(III) complexes with pyridine-derived thiosemicarbazones: structural studies and investigation on the antitrypanosomal activity. **Polyhedron**, n. 30, p. 372-380, 2011.
- LESSA, J. et al. Spectroscopic and electrochemical characterization of gold(I) and gold(III) complexes with glyoxaldehyde bis(thiosemicarbazones): cytotoxicity against human tumor cell lines and inhibition of thioredoxin reductase activity. **Biomaterials**, v. 25, n. 3, p. 587-598, 2012.
- LI, G. et al. DNA condensation induced by metal complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 281, p. 100-113, 2014.
- LISSI, E.; CALDER, C.; CAMPOS, A. Evaluation of the Number of Binding Sites in Proteins From Their Intrinsic Fluorescence: Limitations and Pitfalls. **Photochemistry and Photobiology**, v. 89, p. 1413-1416, 2013.
- LIU, R. et al. Study on the interaction between salvianic acid A sodium and bovine serum albumin by spectroscopic methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, p. 535-1539, 2011.
- LIU, Y. et al. NME₂ reduces proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells to limit metastasis. **Plos One**, v. 10, n. 2, p. 1-14, 2015.
- LOBANA, T. S. et al. Symmetrisation, isomerism and structural studies on novel phenylmercury(II) thiosemicarbazones: correlation of the energy barrier to rotation of the amino group with the bonding parameters of the thioamide group. *Journal of the Chemical Society*, **Dalton Transaction**, n. 22, p. 4289-4299, 1997.
- LOBANA, T. S. et al. Bonding trends of thiosemicarbazones in mononuclear and dinuclear copper(I) complexes: syntheses, structures, and theoretical aspects. **Inorganic Chemistry**, v. 45, p. 1535-1542, 2006a.
- LOBANA, T. S. et al. Synthesis, crystal structures and multinuclear NMR spectroscopy of copper(I) complexes with benzophenone thiosemicarbazone. **Polyhedron**, v. 25, p. 2755-2763, 2006b.
- LOBANA, T. S. et al. Thiosemicarbazones of ruthenium(II): Crystal structures of [bis(diphenylphosphino)butane][bis(pyridine-2-carbaldehydethiosemicarbazonato)]ruthenium(II) and [bis(triphenylphosphine)][bis(benzaldehydethiosemicarbazonato)]ruthenium(II). **Polyhedron**, v. 25, p. 2897-2903, 2006c.
- LOBANA, T. S. et al. S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals-An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 977-1055, 2009a.
- LOBANA, T. S. et al. The influence of substituents at C2 carbon of thiosemicarbazones on the bonding pattern of bis(diphenylphosphino)alkanes in palladium(II) complexes. **Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, v. 635, p. 1447-1453, 2009b.
- LOVESCU, A. et al. A combined binding mechanism of nonionic ethoxylated surfactants to bovine serum albumin revealed by fluorescence and circular dichroism. **Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology**, v. 153, p. 198-205, 2015.
- LUDWIG, J. A. et al. Selective toxicity of NSC73306 in MDR1-positive cells as a new strategy to circumvent multidrug resistance in cancer. **Cancer Research**, v. 66, n. 9, p. 4808-4815, 2006.
- MACKENZIE, R. C. De Calore: Prelude to thermal analysis. **Thermochimica Acta**, v. 73, p. 251-306, 1984.
- MAIA, P. I. S. et al. Gold(III) complexes in medicinal chemistry. **Dalton Transactions**, v. 6, n. 13, p. 1515-1536, 2017.

- MARINO, M. et al. Synthesis and crystal structure analysis of ferrocenylthiosemicarbazone complexes of palladium(II): unusual σ Pd-C bond cleavage. **Polyhedron**, n. 25, p. 1449-1456, 2006.
- MARTIN, R. B.; MARIAM, Y. H. **Metal Ions in Biological Systems**. New York: Marcel Decker, v.18, 1979, 369 p.
- MARZANO, C. et al. Gold (III)-dithiocarbamate anticancer agents: activity, toxicology and histopathological studies in rodents. **International Journal of Cancer**, v. 129, n. 2, p. 487-496, 2011.
- MARZILLI, L. G. Metal complexes of nucleic acid derivatives and nucleotides: binding sites and structures. **Advance inorganic biochemistry**, v. 3, p. 47-85, 1981.
- MATHEW, M.; PALENIK, G. J. Structure of trans-diiodobis(triphenylstibine)palladium(II) and observations on the Pd-I bond length. **Acta Crystallographica Section C**, v. 43, p. 21-24, 1987.
- MATHEW, J.; THOMAS T.; SURESH, C. H. Quantitative Assessment of the Stereoelectronic Profile of Phosphine Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 10800-10809, 2007.
- MCWHINNEY, S. R.; GOLDBERG, R. M.; MCLEON, H. L. Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. **Molecular cancer therapeutics**, v. 8, n. 1, p. 10-16, 2009.
- MEDICI, S., et al. Noble metals in medicine: latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329-350, 2015.
- MERTZ, W. The essential trace elements. **Science**, v. 213, p. 1332-1338, 1981.
- MESSORI, L, et al. Gold(III) complexes with 2-substituted pyridines as experimental anticancer agents: solution behavior, reactions with model proteins, antiproliferative properties. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 108, p. 123-127, 2012.
- METWALLY, M. A. et al. Thiosemicarbazides: synthesis and reactions. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 32, n. 5, p. 489-519, 2011.
- MIessler, G. L.; TARR, D. A. **Inorganic chemistry**. 3th ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2004, 706 p.
- MIRABELLI, C. K. et al. Antitumor activity of bis (diphenylphosphino) alkanes, their gold(I) coordination complexes, and related compounds. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 30, n. 12, p. 2181-2190, 1987.
- MIRZAEI-KALAR, Z. In vitro binding interaction of atorvastatin with calf thymus DNA: multispectroscopic, gel electrophoresis and molecular docking studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 161, p. 101-109, 2018.
- MOREIRA M. B. Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Química. Nova**, v. 38, p. 227-232, 2015.
- MORO, A. C. et al. Mono and dinuclear palladium(II) compounds containing N,S donor ligands. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, p. 721-724, 2007.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- MOURA, T. R. **Compostos de Pd(II) contendo ligantes N,S-doadores: síntese, caracterização e estudo da atividade citotóxica**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) -Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.
- NADEEM, S. et al. Synthesis and characterization of palladium(II) complexes of thioureas. X-ray structures of [Pd(N,N'-dimethylthiourea)₄]Cl₂.2H₂O and [Pd(tetramethylthiourea)₄]Cl₂. **Transition Metal Chemistry**, v. 34, n. 2, p. 197-202, 2009.

- NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: Wiley Interscience, 1986, 484 p.
- NAVARRO-RANNINGER, C. et al. Cyclometalated complexes of platinum and palladium with N-(4-chlorophenyl)-*r*-benzoylbenzylideneamine. In vitro cytostatic activity, DNA modification, and interstrand cross-link studies. **Inorganic Chemistry**, v. 35, n. 18, p. 5181-5187, 1996.
- NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer Neves. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 196-209, 2011.
- NITISS, J. L. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions. **Nature Reviews Cancer**, v. 9, p. 327-337, 2009.
- O'BRIEN, J. et al. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 17, p. 5421-5426, 2000.
- OFFIONG, O. E.; MARTELLI, S. Stereochemistry and antitumour activity of platinum metal complexes of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones. **Transition Metal Chemistry**, v. 22, n. 3, p. 263-269, 1997.
- OLIVEIRA, A. B. de et al. 2-(1,2,3,5-tetra-hydro-naphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothio-amide. **Acta Crystallografica Section E**, v. 68, 2012.
- OLIVEIRA, C. G. Manganese(II) complexes with thiosemicarbazones as potential anti-Mycobacterium tuberculosis agents. **Journal Inorganic Biochemistry**, v. 132, p. 31-29, 2014.
- OLIVEIRA, R. S. et al. A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin. **Polyhedron**, v. 114, p. 232-241, 2016.
- OLIVEIRA, C. G. Palladium(II) complexes with thiosemicarbazones derived from pyrene as topoisomerase IB inhibitors. **Dalton Transactions**, v. 48, n. 44, p. 16509-16517, 2019.
- PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. **Kidney International**, v. 73, n. 9, p. 994-1007, 2008.
- PACHYE, S. et al. Antitumor Metallothiosemicarbazones: structure and antitumor activity of palladium complex of phenanthrenequinonethiosemicarbazone. **Inorganic Chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1154-1156, 2005.
- PAIXÃO, D. A. et al. In vitro anti-Trypanosoma cruzi activity of ternary copper(II) complexes and in vivo evaluation of the most promising complex. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v. 109, p. 157-166, 2019.
- PAUL, P. et al. Syntheses, structures and efficient catalysis for C–C coupling of some benzaldehyde thiosemicarbazone complexes of palladium. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 344, p. 62-73, 2011.
- PAULING, L. **The nature of the chemical bond**. 3th ed. New York: Cornell University Press, 1960. 644 p.
- PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, v. 45, n. 9, p. 581-587, 1968.
- PEARSON, R. G. **In Survey of Progresses in Chemistry**. Academic Press: A. F. Scott ed, 1969, 352 p.
- PEDERZOLLI, F. R. S. **Estudo estrutural de ligantes tiossemicarbazonas e de um complexo de níquel(II)**. 2011, 135 f. Dissertação (Mestrado em química tecnológica e ambiental). Escola de Química e Alimentos-FURG, Rio Grande - RS, 2011.
- PETERS Jr, T. **All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications**. Academic Press: Elsevier Inc, 1995, 432 p.

- PIZZARO, A. M.; SADLER, P. J. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. **Biochimie**, v. 91, n. 10, p. 1198-1211, 2009.
- PRABHAKARAN, R.; KALAIVANI, P. Can geometry control the coordination behavior of 2-hydroxy-1-naphthaldehyde-N(4)-phenylthiosemicarbazone? A study towards its origin. **Inorganica Chimica Acta**, n. 376, p. 317-324, 2011.
- PRABHAKARAN, R. et al. Synthesis, DNA/protein binding and in vitro cytotoxic studies of new palladium metallothiosemicarbazones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 6742-6742, 2013.
- PRASAD, K. S. et al. Palladium(II) complexes as biologically potent metallo-drugs: synthesis, spectral characterization, DNA interaction studies and antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 107, p. 108-116, 2013.
- PREGOSIN, P. S. ^{31}P and ^{13}C NMR studies on metal complexes of phosphorus donors recognizing surprises. **Coordination Chemistry Reviews**, n. 252, p. 2156-2170, 2008.
- PUNTEL, G. O. et al. Butane-2,3-dionethiosemicarbazone: an oxime with antioxidant properties. **Chemico-Biological Interactions**, v. 177, p. 153-160, 2009.
- QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina. **Química Nova**, v. 19, n. 19, p. 651-659, 1996.
- QUEIROZ, S. L. et al. The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(θ -pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenediamine. **Inorganic Chimica Acta**, v. 267, p. 209-221, 1998.
- QUIROGA, A. G. et al. Palladated and platinated complexes derived from phenylacetaldehyde thiosemicarbazone with cytotoxic activity in cis-DDP resistant tumor cells. Formation of DNA interstrand cross-links by these complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 70, n. 2, p. 117-123, 1998a.
- QUIROGA, A. G. et al. Synthesis and characterization of Pd (II) and Pt(II) complexes of p-isopropylbenzaldehyde N-protected thiosemicarbazones. Cytotoxic activity against ras-transformed cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 75, n. 4, p. 293-301, 1999.
- RACKHAM, O. et al. A gold(I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: Implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria. **Biochemistry Pharmacological**, v. 74, p. 992-1002, 2007.
- REHMAN, S.U. et al. Interaction of mercaptopurine with calf thymus DNA - deciphering the binding mode and photoinduced DNA Ddmage. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e93913, 2014.
- REHMAN, U. Studying non-covalent drug-DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 576, p. 49-60, 2015.
- REIS, F. C. C. et al. A new homoleptic coordination compound of ruthenium and norfloxacin and its interaction with human serum albumin. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 63, p. 96-100, 2016.
- RIZVI, M. A. et al. Nuclear blebbing of biologically active organoselenium compound towards human cervical cancer cell (HeLa): In vitro DNA/HSA binding, cleavage and cell imaging studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 90, p. 876-888, 2015.
- ROCHA, F. V. et al. 3,5-Dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole and its Pd(II) complexes: Synthesis, spectral studies and antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1698-1702, 2010.

- ROCHA, F. V. **Estudo da atividade biológica de compostos de paládio(II)**. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) -Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- ROCHA, F. V. et al. Synthesis, Characterization, X-ray Structure, DNA Cleavage, and Cytotoxic Activities of Palladium(II) Complexes of 4-Phenyl-3-thiosemicarbazide and Triphenylphosphane. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2013, p. 4499-4505, 2013.
- ROCHA, F. V. et al Cationic Pd(II) complexes acting as topoisomerase II inhibitors: Synthesis, characterization, DNA interaction and cytotoxicity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 159, p. 165-168, 2016.
- ROCHA, F. V. et al. Computational studies, design and synthesis of Pd(II)-based complexes: Allosteric inhibitors of the Human Topoisomerase-II α . **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 199, p. 110725, 2019.
- RODGER, A.; NORDÉN, B. **Circular dichroism and Linear dichroism**. Oxford University Press: Oxford, 1997, 160 p.
- ROSS, P. D.; SUBRAMANIAN, S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability. **Biochemistry**, v. 20, p. 3096-3102, 1981.
- RUIZ, J. et al. Palladium(II) and platinum(II) organometallic complexes with 4,7-dihydro-5-methyl-7-oxo[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine. Antitumor activity of the platinum compounds. **Inorganic Chemistry**, v. 47, p. 4490-4505, 2008.
- RYAN, A. J. et al. Structural basis of binding of fluorescent, site-specific dansylated amino acids to human serum albumin. **Journal Structural Biology**, v. 174, n. 1, p. 84-91, 2011.
- SABAN, N.; BUJAK, M. Hydroxyurea and hydroxamic acid derivatives as antitumor drugs. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 64, n. 2, p. 213-221, 2009.
- SAHA, N. C. et al. Synthesis and spectroscopic identification of new iron(III) complexes with 5-methyl-3-formylpyrazole-3-piperidinylthiosemicarbazone (HMPz₃Pi): X-ray structure of [Fe(MPz₃Pi)₂]ClO₄.2H₂O. **Polyhedron**, v. 22, p. 375-381, 2003.
- SARTORELLI A. C.; BOOTH, B. A. Inhibition of the growth of sarcoma 180 ascites cells by combinations of inhibitors of nucleic acid biosynthesis and the cupric chelate of kethoxal bis-(thiosemicarbazone). **Cancer Research**, v. 27, p. 1614-1619, 1967.
- SERENORIV, L. et al. Synthesis and evaluation of series of diazine-bridged dinuclear platinum(II) complexes through in vitro toxicity and molecular modeling: correlation between structure and activity of Pt(II) complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 1442, 2014.
- SHAHABADI, N.; MAGHSUDI, M. Binding studies of a new copper (II) complex containing mixed aliphatic and aromatic dinitrogen ligands with bovine serum albumin using different instrumental methods. **Journal of Molecular Structure**, v. 929, n. 133, p. 193-199, 2009.
- SHAIKL, S. M. T. et al. A study of the interaction between bromopyrogallol red and bovine serum albumin by spectroscopic methods. **Dyes and Pigment**, v. 73, n. 2, p. 211-216, 2007.
- SHAO, J. et al. A Ferrous-triapine complex mediates formation of reactive oxygen species that inactivate human ribonucleotide reductase. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 5, n. 3, p. 586-592, 2006.
- SHRIVER, D. F., et al. **Química Inorgânica**. 4th ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2008, 847 p.

- SILVA, M. J.; ALVES, A. J.; NASCIMENTO, S. C. Synthesis and cytotoxic activity of N-substituted thiosemicarbazones of 3-(3,4-methylenedioxy)-phenylpropanal. **II Farmaco**, v. 53, p. 241-243, 1998.
- SILVEIRA, V. C da et al. Binding of oxindole-Schiff base copper(II) complexes to DNA and its modulation by the ligand. **Journal Inorganic Biochemistry**, v. 105, p. 1692-1703, 2011.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Espectrometria no infravermelho. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7th ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda, 2006, 122 p.
- SINDHUJA, E. et al. DNA/protein interaction and cytotoxicity of palladium(II) complexes of thiocarboxamide ligands. **Inorganic Chimica Acta**, v. 416, p. 1-12, 2014.
- SINGH, B.; THAKUR, K. P. Thioamide bands and nature of bonding-II. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 36, p. 1735-1737, 1974.
- SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 124, p. 1-19, 2013.
- SKOOG, D. A., et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8th ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2013, 995 p.
- SLETTEN, E.; FROYSTEIN, N. A. **Sequence selective binding of transition metal complexes to DNA**. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. 30 p.
- SNUTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Principles of genetics**. New York: John Wiley & Sons, 2006, 840 p.
- SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 10th ed, v. 2. Rio de Janeiro: LTC, 2013, 613 p.
- SOUHAMI, R.; TOBIAS, J. **Bone and soft-tissue sarcomas**. Cancer and its management. Chichester: Blackwell Publishing Ltd, 2005, 404 p.
- SUBBARAJ, P. et al. Synthesis, characterization, DNA interaction and pharmacological studies of substituted benzophenone derived Schiff base metal(II) complexes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 19, n. 2, p. 207-216, 2015.
- SUDHAKAR, A. History of cancer, ancient and modern treatment methods. **Journal of cancer Science & therapy**, v.1, n. 2, p. 1-4, 2009.
- SUDLOW, G.; BIRKETT, D. J.; WADE, D. N. The characterization of two specific drug binding sites on human serum albumin. **Molecular Pharmacology**, n. 11, p. 824-832, 1975.
- SUGIO, S. et al. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. **Protein Engineering**, v. 12, n. 6, p. 439-446, 1999.
- TABASSUM, S. et al. Synthesis, characterization and interaction studies of copper based drug with human serum albumin (HAS): spectroscopic and molecular docking investigations. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 114, p. 132-139, 2012.
- TAKARADA, J. E. et al. Ru/Fe bimetallic complexes: synthesis, characterization, cytotoxicity and study of their interactions with DNA/HSA and human topoisomerase IB. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 636, p. 28-41, 2017.
- TARASCONI, P. et al. Synthesis, spectroscopic characterization and biological properties of new natural aldehydes thiosemicarbazones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 157-162, 2000.
- TENÓRIO, R. P. et al. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

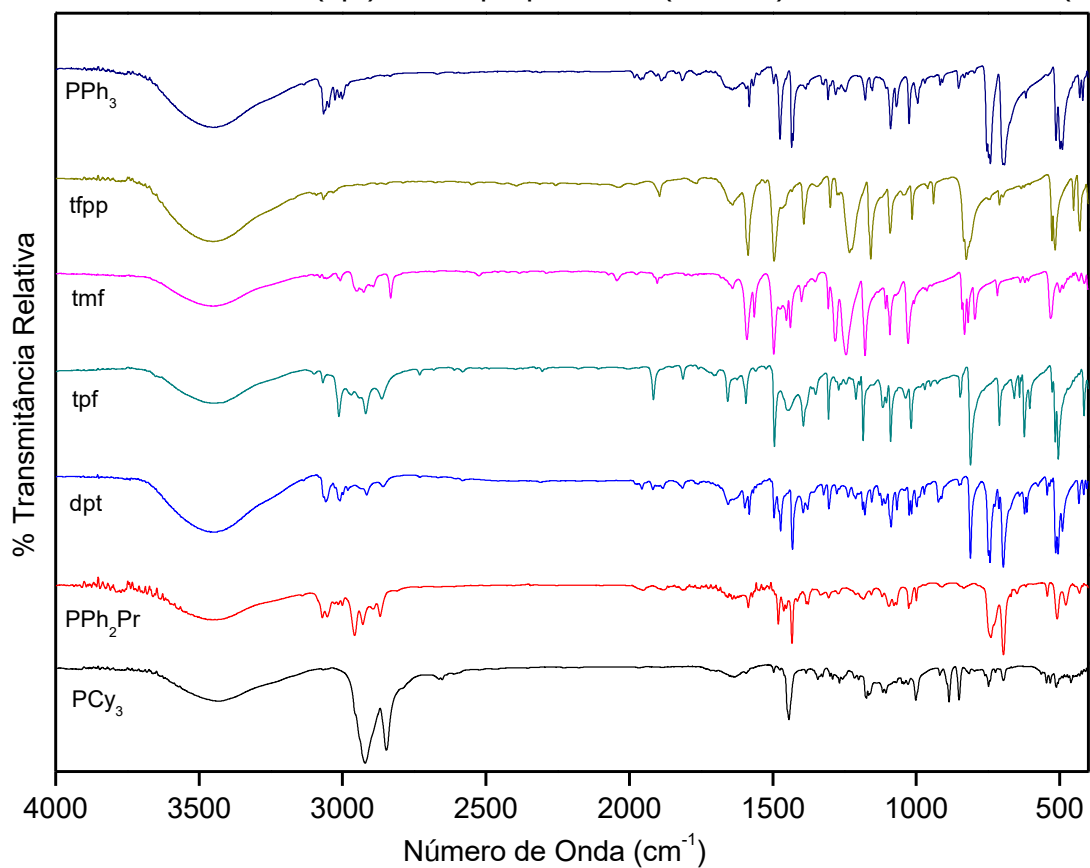
- TIEKIMK, E. R. T. Antimony and bismuth compounds in oncology. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 42, n. 2, p. 217-224, 2002.
- TIMERBAEV, A. R. et al. Interactions of antitumor metallodrugs with serum proteins: advances in characterization using modern analytical methodology. **Chemical Reviews**, v. 106, n. 6, p. 2224-2248, 2006.
- TOLMAN, C. A. Steric effects of phosphorus ligands in organometallic chemistry and homogeneous catalysis. **Chemical Reviews**, v. 77, n. 3, p. 313-348, 1977.
- VAIDERGORN, M. M. et al. β -amino alcohols and their respective 2-phenyl-N-alkyl aziridines as potential DNA minor groove binders. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 27, p. 657-664, 2018.
- VAN DER VEER, J. L.; REEDJIK, J. Investigating antitumour drug mechanisms. **Chemistry in Britain**, v. 24, p. 775-780, 1988.
- VAN RIJT, S. H.; SADLER, P. J. Current applications and future potencial for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 23-24, p. 1089-1097, 2009.
- VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. 170 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- VICENTE, J. et al. Synthesis and reactivity of 2-aminophenylpalladium(II) complexes: insertion reactions of oxygen and carbon monoxide into carbon-palladium bonds-new examples of "transphobia". **Chemistry: a European Journal**, v. 5, n. 10, p. 3066-3075, 1999.
- VIGNISH, G. et al. Protein binding and biological evaluation of apolymer-anchored cobalt(III) complex containing a 2,20-bipyridine ligand. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 4, p. 57483-57492, 2014.
- WAITE, C.L.; ROTH, C.M. Nanoscale drug delivery systems for enhanced drug penetration into solid tumors: current progress and opportunities. **Critical Reviews in Biomedical Engineering**, v. 40, n 1, p. 21-41, 2012.
- WANG, Q. et al. Controlled release of ciprofloxacin hydrochloride from chitosan/polyethylene glycol blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 2, p. 336-343, 2007.
- WANG, Y. X. et al. Spectroscopic study on the inherent binding information of cationic perfluorinated surfactant with bovine serum albumin. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 132, n. 7, p. 489-494, 2011.
- WEST, D. X., PADHYE, S. B.; SONAWANE, P. B. Structural and physical correlation in the biological properties of transition metal N-hetero-cyclic thiosemicarbazones and S-alkyldithiocarbamate complexes. **Structure and Bonding**, v. 76, p. 1-50, 1991.
- WILBERG, K. B.; RABLEN, P. R. Why does thioformamide have a larger rotational barrier than formamide?. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, n. 8, p. 2201-2209, 1995.
- WILES, D. M. et al. The C=S stretching vibration in the infrared spectra of some thiosemicarbazones. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 45, p. 469-473, 1967.
- WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. **Chemical Reviews**, n. 99, p. 2451-2466, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global cancer rates could increase by 50% to 15 million by 2020**. Geneve: WHO, 2003. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/releases/2003/pr27/en>>. Acesso em: 06 set. 2019.

- WU, C. et al. Evidence for dual mode of action of a thiosemicarbazone, NSC73306: a potent substrate of the multidrug resistance linked ABCG2 transporter. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 6, n.12, p. 3287-3296, 2007.
- WU, Q., et al. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: mechanisms and lab approaches. **Cancer letters**, v. 347, n. 2, p. 159-166, 2014.
- YONEDA, J. D., et al. Cânfora: um bom modelo para ilustrar técnicas de RMN. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2053-2056, 2007.
- YOUSEF, T. A. et al. In vitro and in vivo antitumor activity of some synthesized 4-(2-pyridyl)-3-thiosemicarbazides derivatives. **International Journal of Medicine and Medical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 37-46, 2011.
- YU, X. et al. Study on the interaction between NCP-(4-hydroxycoumarins) and bovine serum albumin by spectroscopic techniques. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 91, p. 113-117, 2012.
- YUAN, J.; LOVEJOY, D. B.; RICHARDSON, D. R. Novel di-2-pyridyl-derived iron chelators with marked and selective antitumor activity: in vitro and in vivo assessment. **Blood**, v. 104. n. 5, p. 1450-1458, 2004.
- ZEGLIS, B. M.; DIVILOV, V.; LEWIS, J. S. Role of metalation in the topoisomerase II α inhibition and antiproliferation activity of a series of α -heterocyclic-N4 -substituted thiosemicarbazones and their Cu(II) complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 2391-2398, 2011.
- ZHAO, T. In vitro studies on the behavior of salmeterol xinafoate and its interaction with calf thymus DNA by multi-spectroscopic techniques. **Spectrochimica Acta, Part A**, v. 132, p. 198-204, 2014.

7. Apêndices

APÊNDICE A.

Figura 1. Dados de IV obtidos para as fosfinas livres: trifenilfosfina (PPh_3), tris(4-fluorofenil)fosfina (tfpp), tris(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tris(4-metilfenil)fosfina (tpf), 4-metilfenildifenilfosfina (dpt), difenilpropilfosfina (PPh_2Pr) e triclohexilfosfina (PCy_3).



APÊNDICE B. Espectros de RMN de ^1H e DEPT-135 e expansões para os ligantes L = trifenilfosfina (PPh_3), tris(4-fluorfenil)fosfina (tfpp), tris-(4-metoxifenil)fosfina (tmf), tri(p-toluil)fosfina (tpf), difenil(p-toluil)fosfina (dpt), tricilohexilfosfina (PCy_3) e difenilpropilfosfina (PPh_2Pr), respectivamente.

Figura 1. Espectro de RMN de ^1H e expansão para PPh_3 em CDCl_3 .

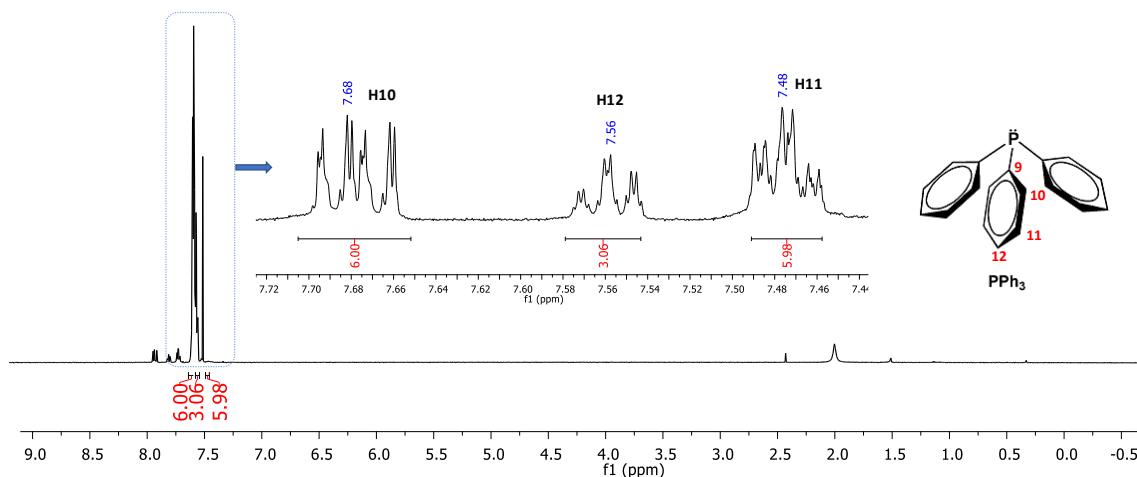


Figura 2. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para PPh_3 em CDCl_3 .

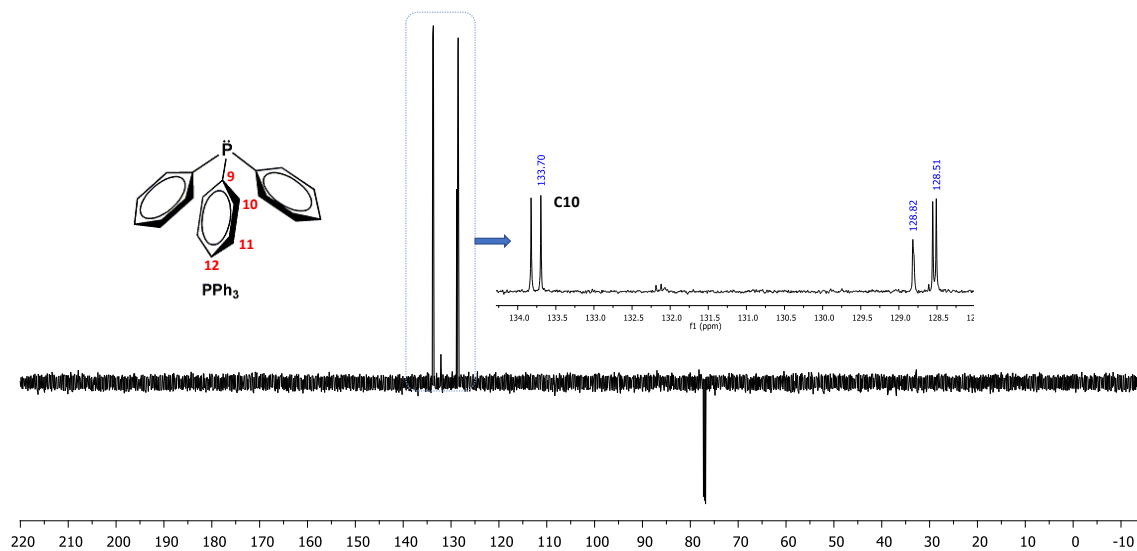


Figura 3. Espectro de RMN de ^1H e expansão para tfpp em CDCl_3 .

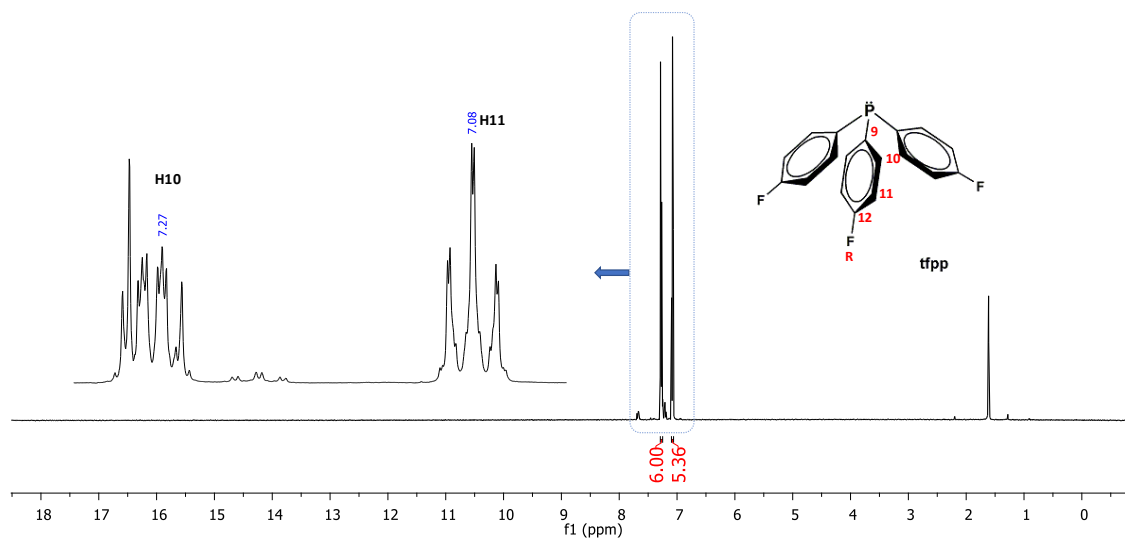


Figura 4. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para tfpp em CDCl_3 .

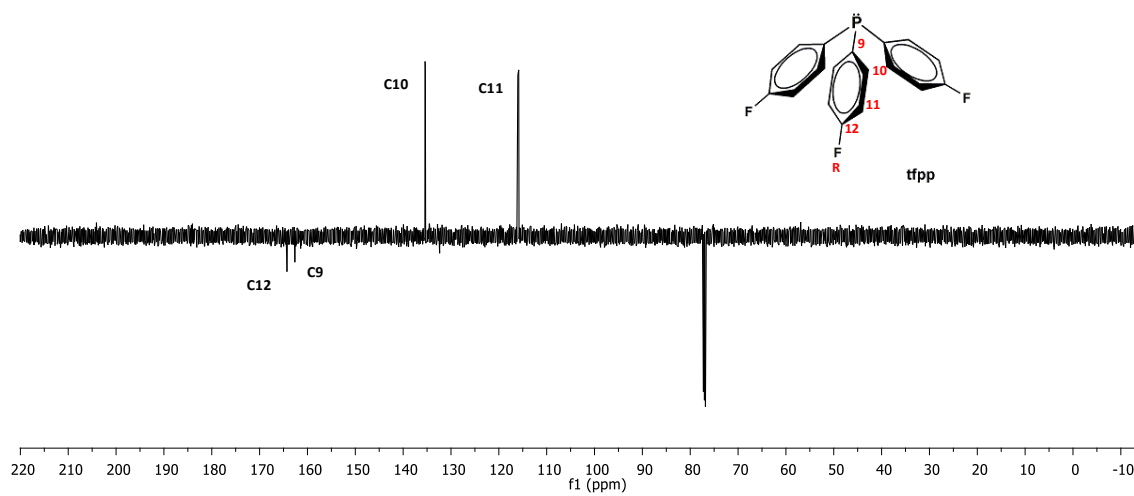


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H e expansão para tmf em CDCl_3 .

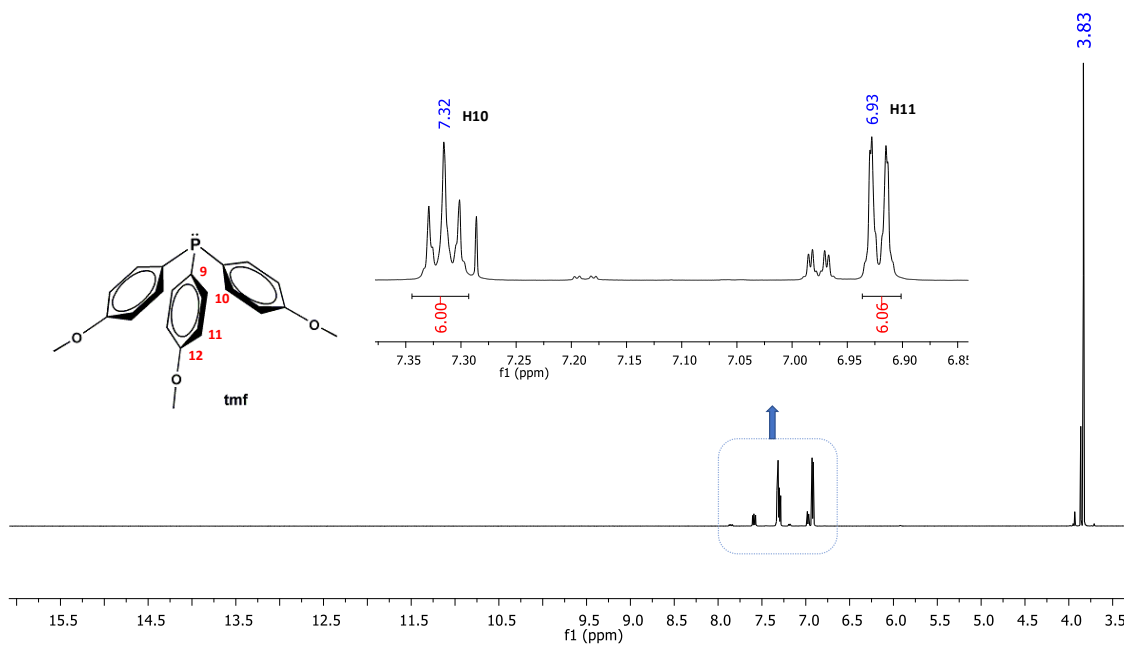


Figura 6. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para tmf em CDCl_3 .

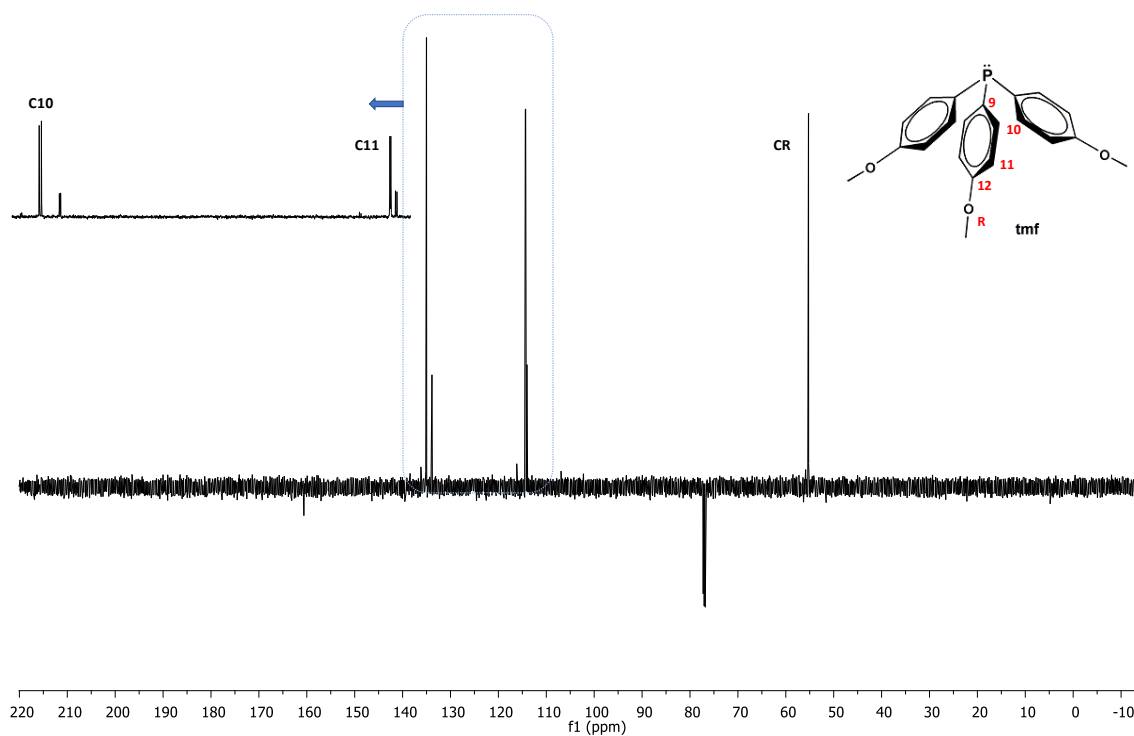


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H e expansão para tpf em CDCl_3 .

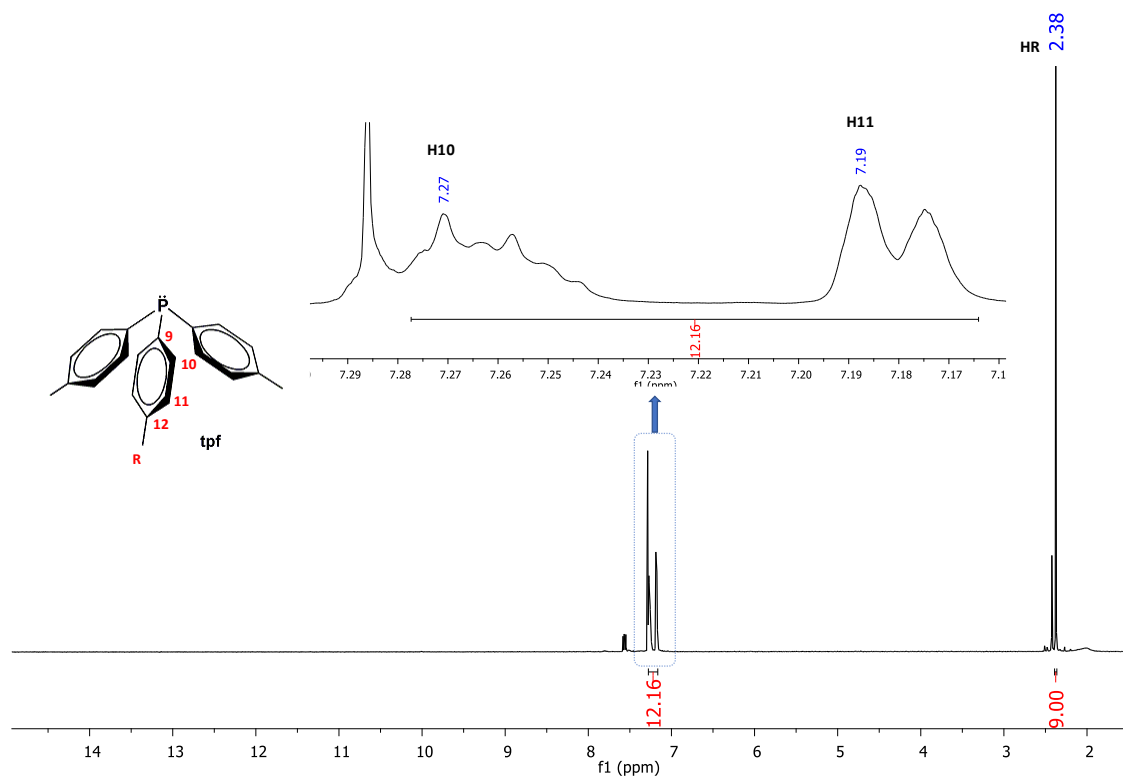


Figura 8. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para tpf em CDCl_3 .

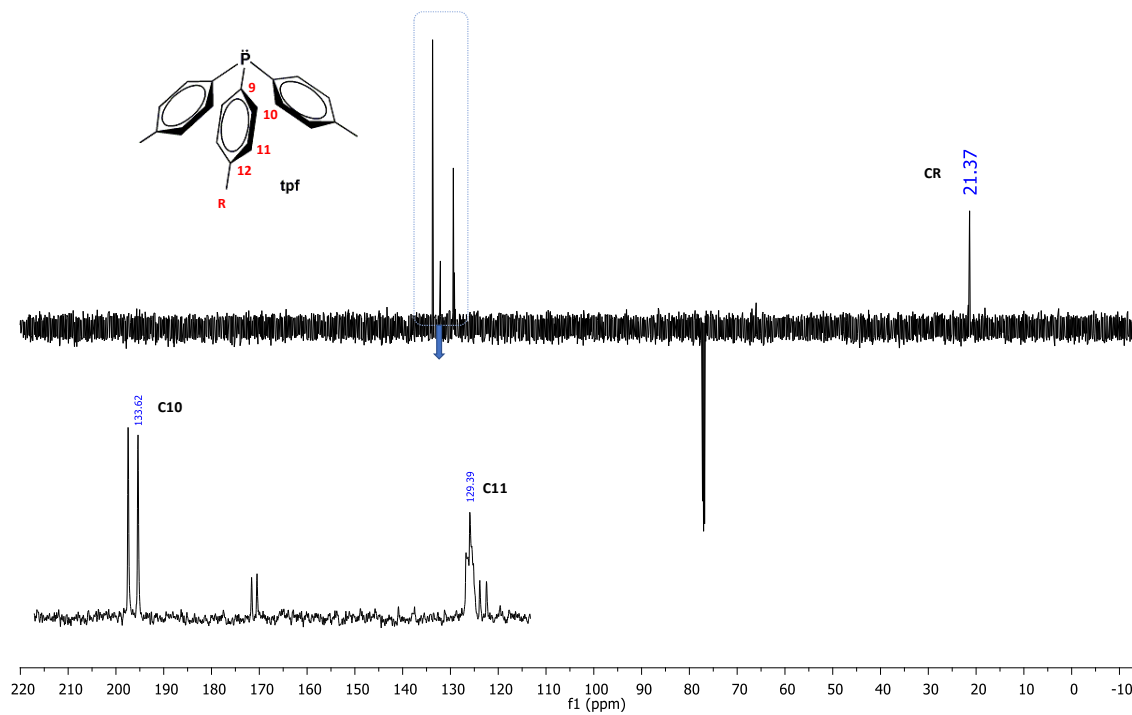


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H e expansão para dpt em CDCl_3 .

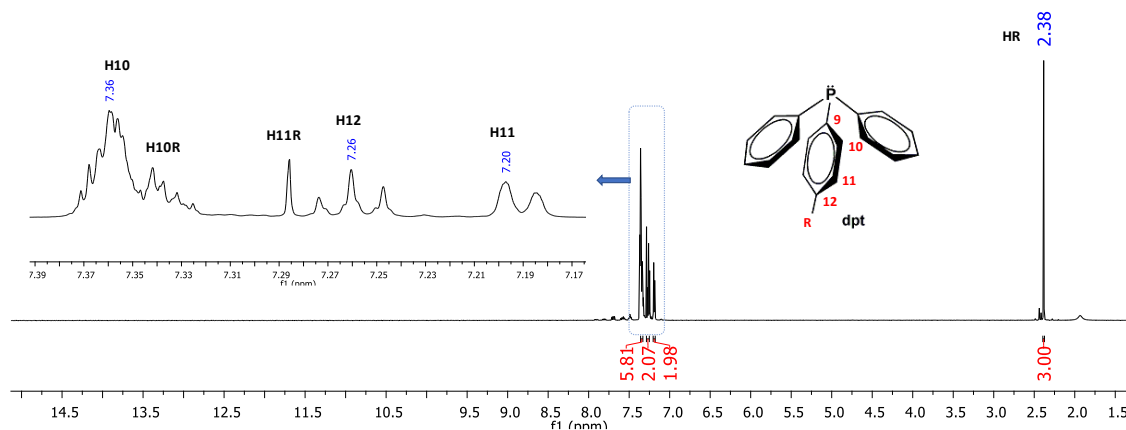


Figura 10. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para dpt em CDCl_3 .

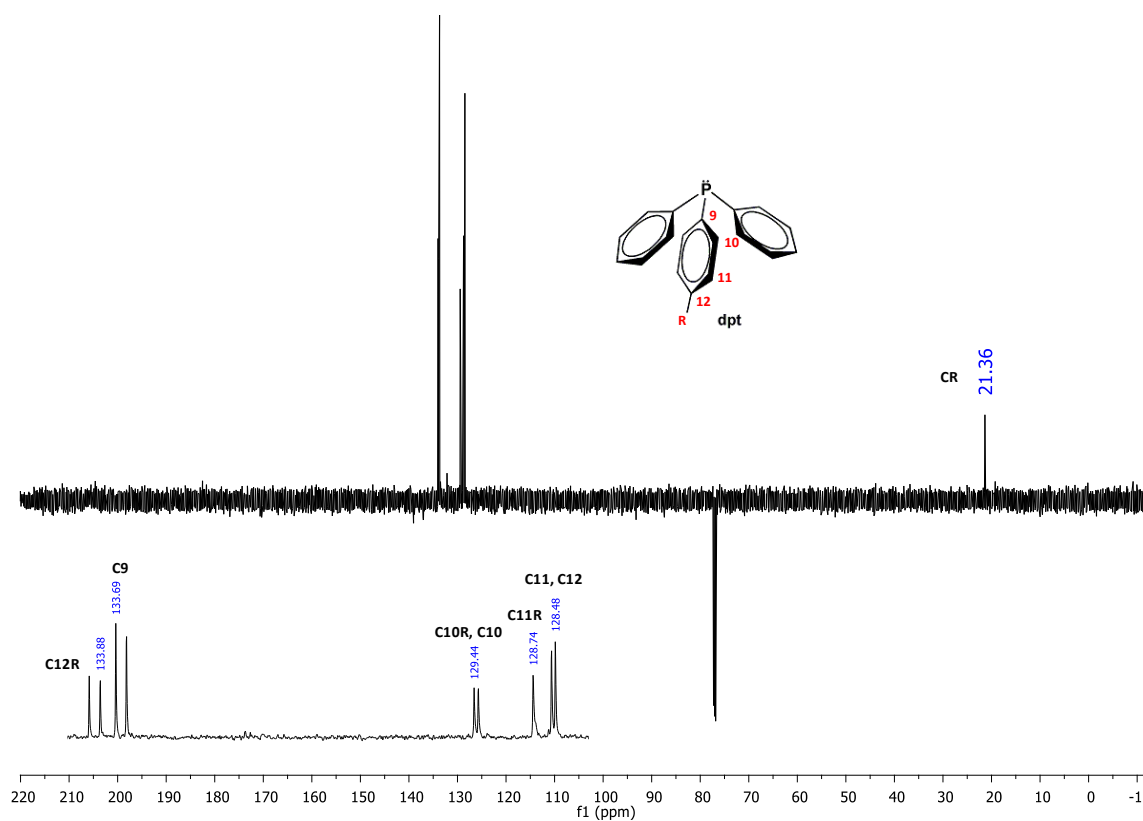


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H e expansão para PPh_2Pr em CDCl_3 .

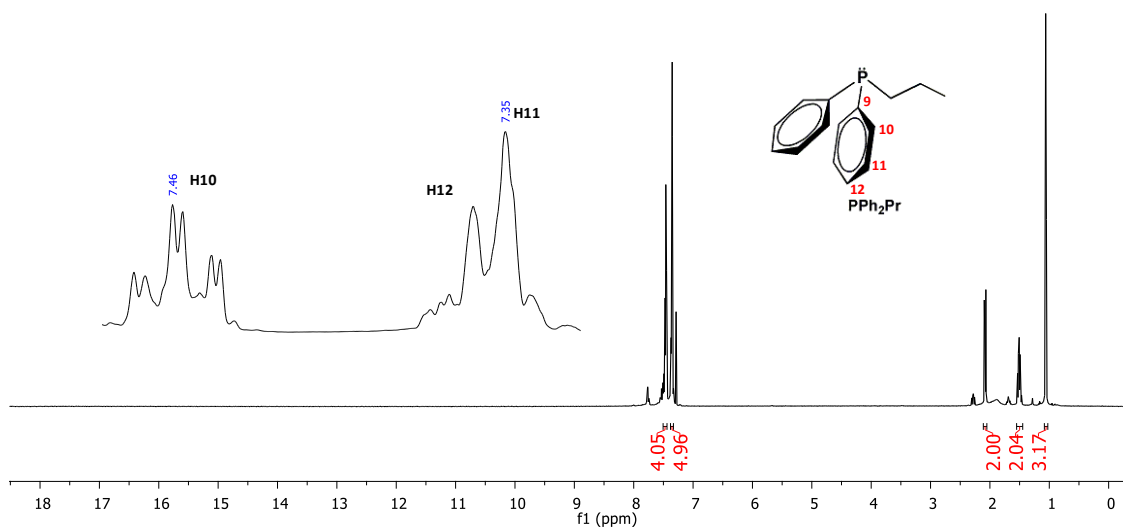


Figura 12. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para PPh_2Pr em CDCl_3 .

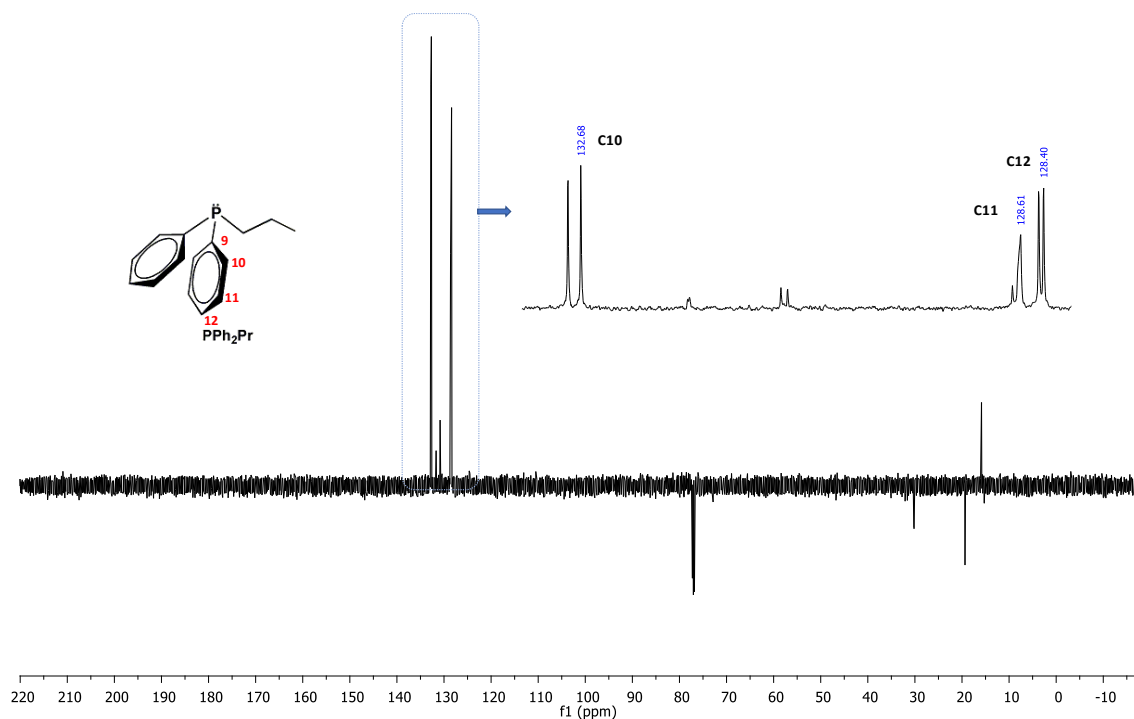


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H e expansão para PCy_3 em CDCl_3 .

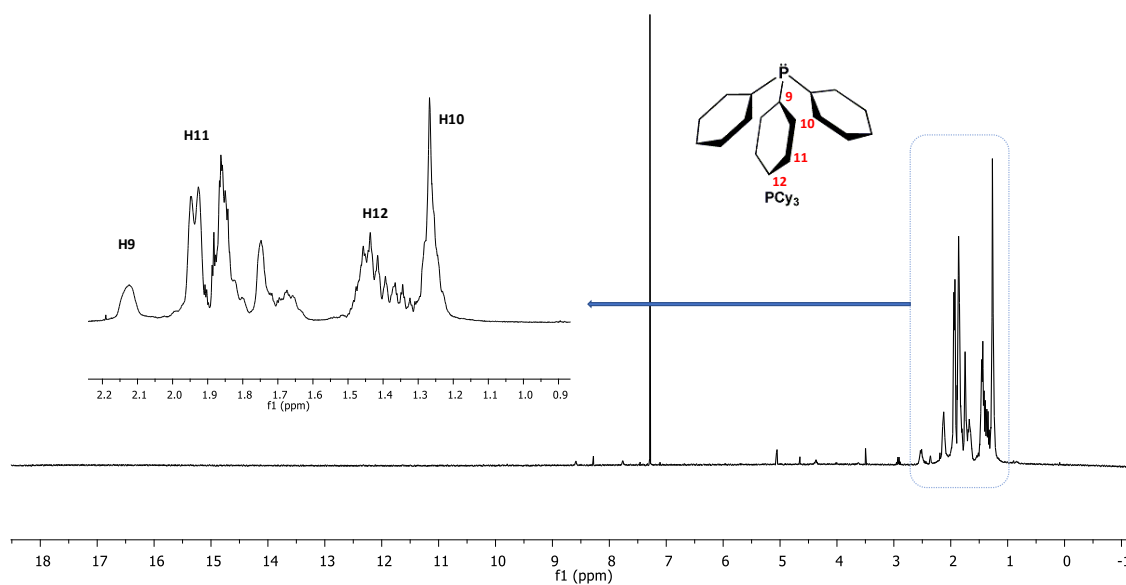
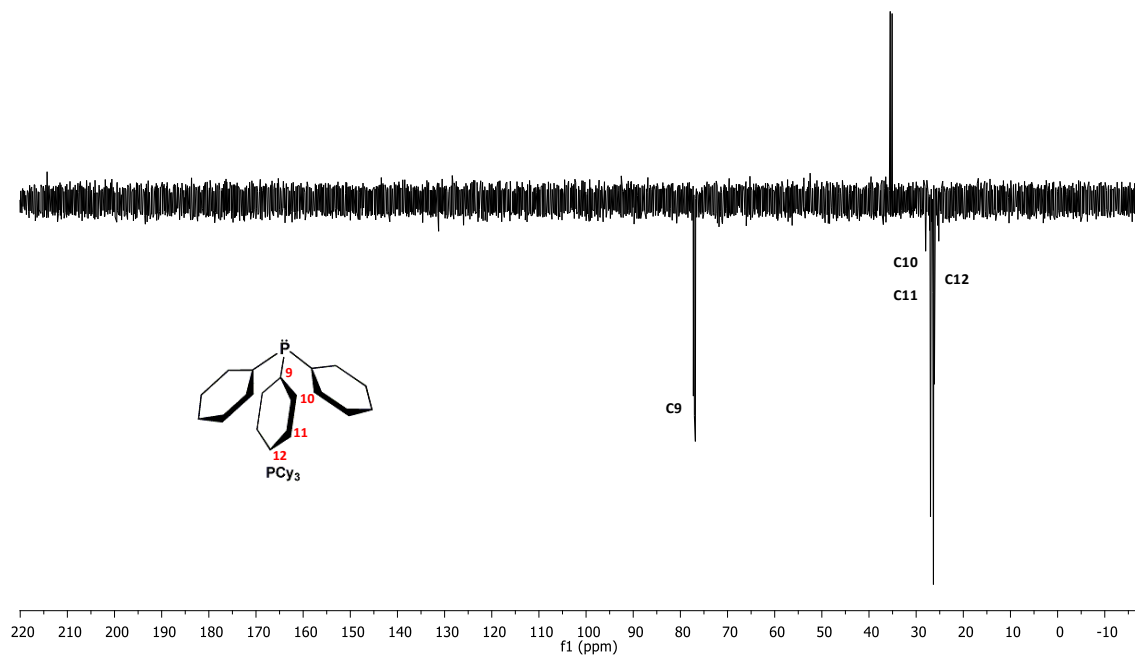


Figura 14. Espectro de RMN de DEPT-135 e expansão para PCy_3 em CDCl_3 .



APÊNDICE C. Dados de RMN obtidos para os complexos TSCZ e FMTSC em DMSO- d_6 .

Figura 1. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em DMSO- d_6 a 38°C , durante 48h.

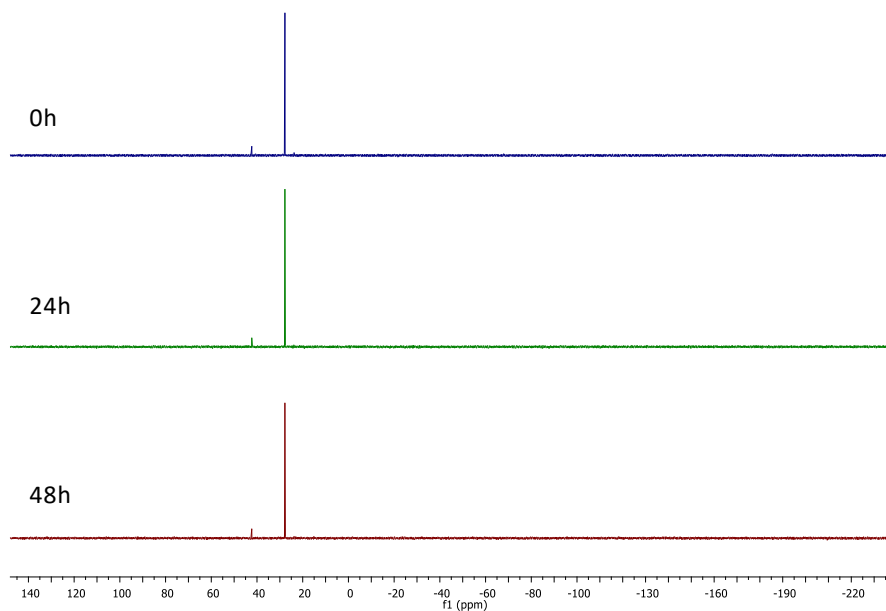


Figura 2. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em DMSO- d_6 a 38°C , durante 48h.

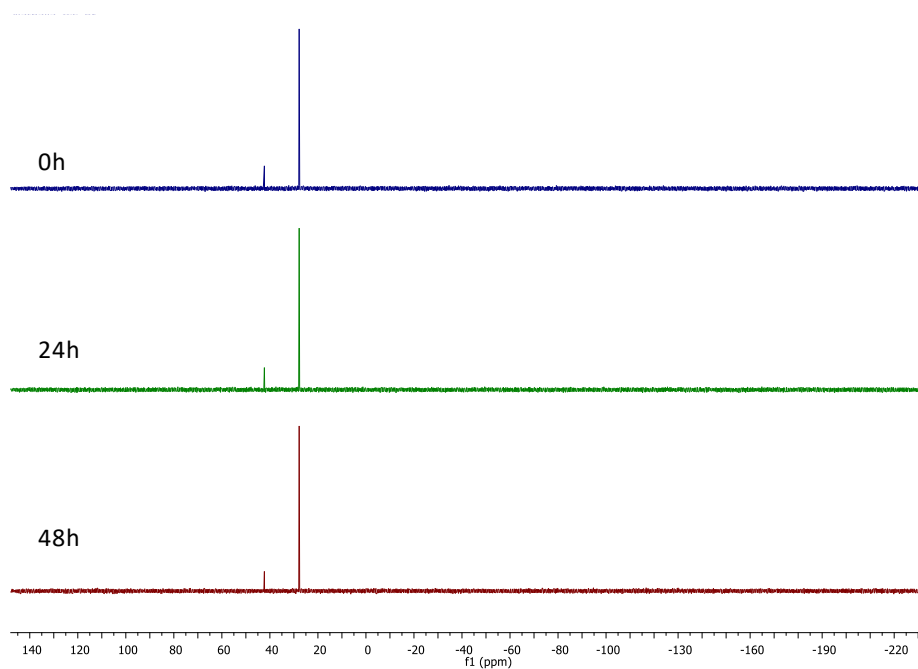


Figura 3. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO-}d_6$ a 38°C , durante 48h.

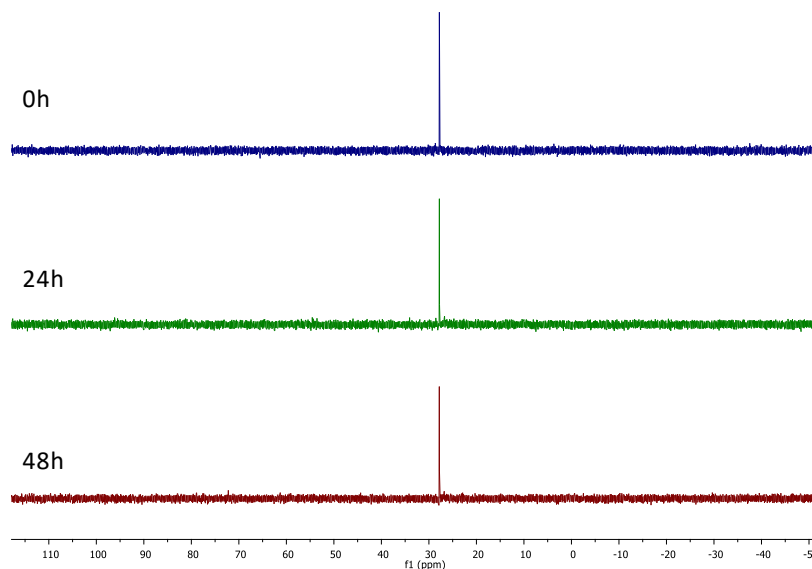


Figura 4. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO-}d_6$ a 38°C , durante 48h.

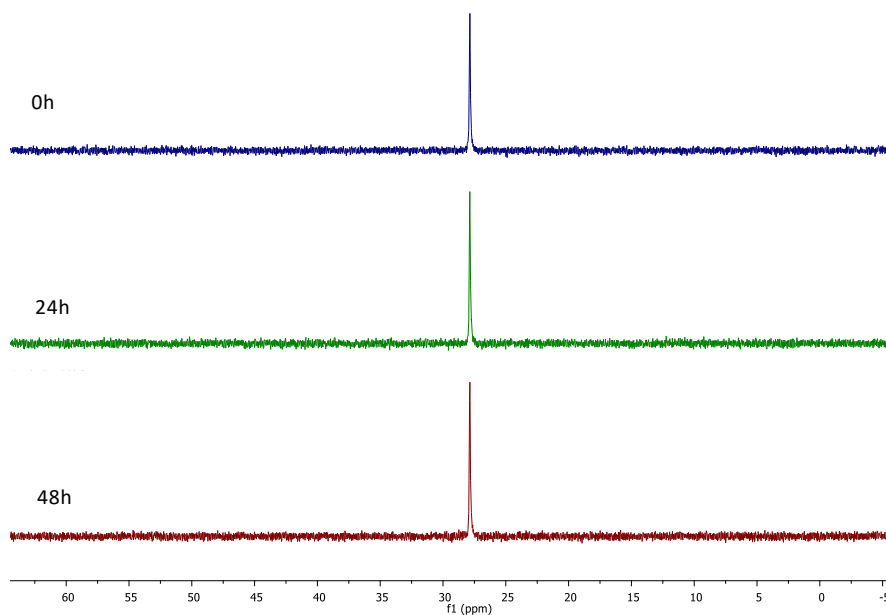


Figura 5. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tfpp})\text{Cl}$ em $\text{DMSO-}d_6$ a 38°C , durante 48h.

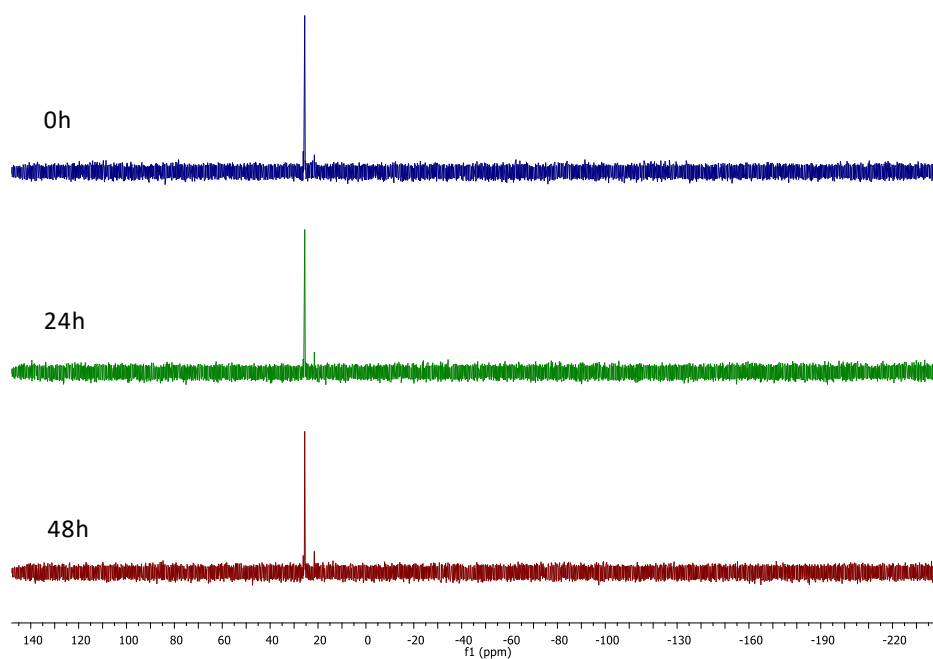


Figura 6. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tmf})\text{Cl}$ em $\text{DMSO-}d_6$ a 38°C , durante 48h.

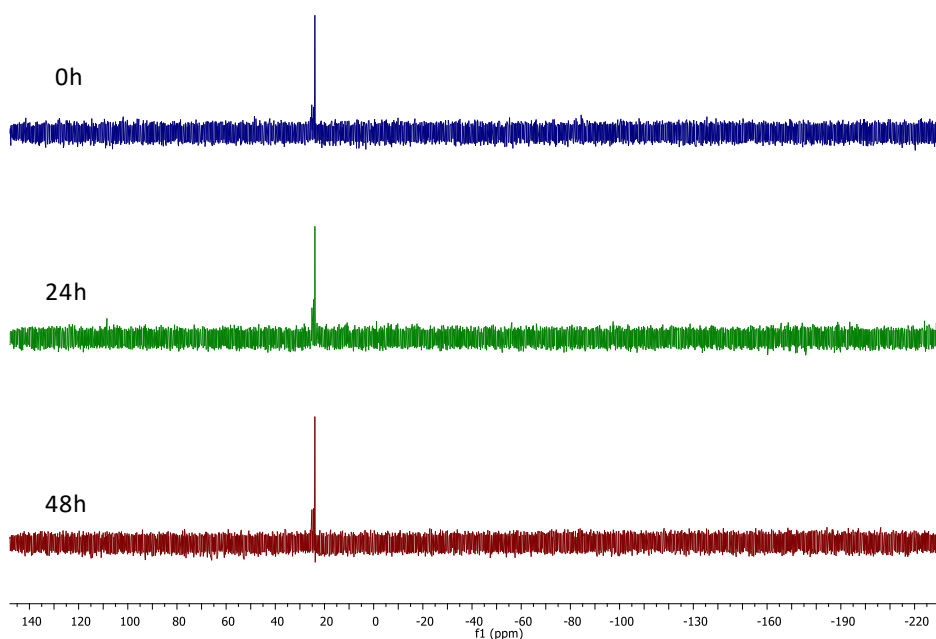


Figura 7. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{tpf})\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ a 38°C , durante 48h.

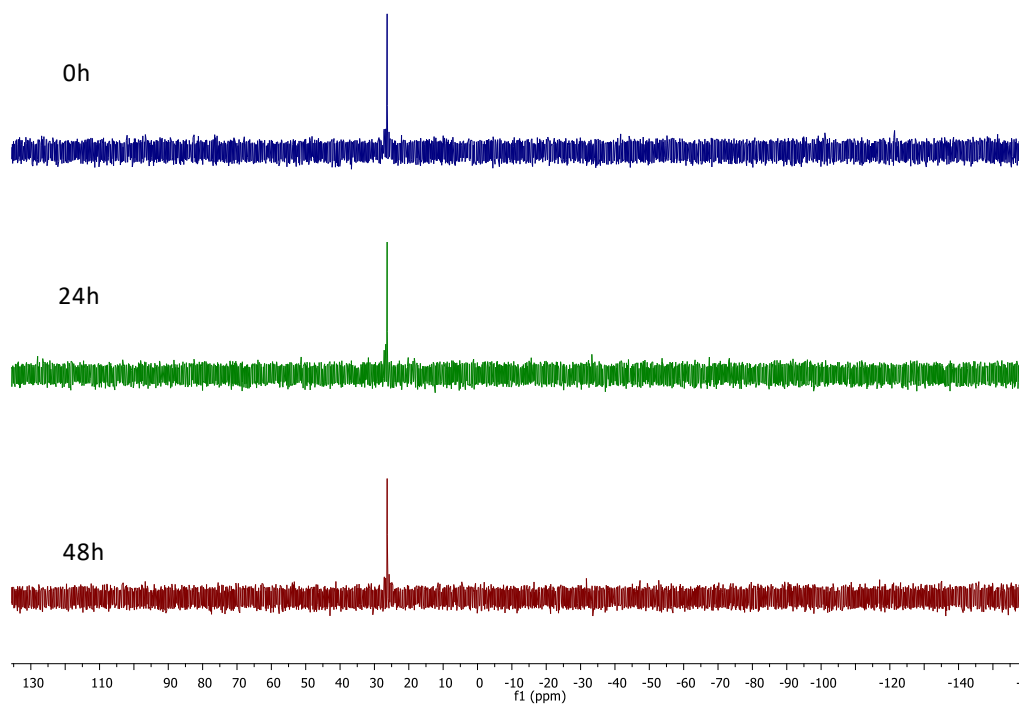


Figura 8. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{dpt})\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ a 38°C , durante 48h.

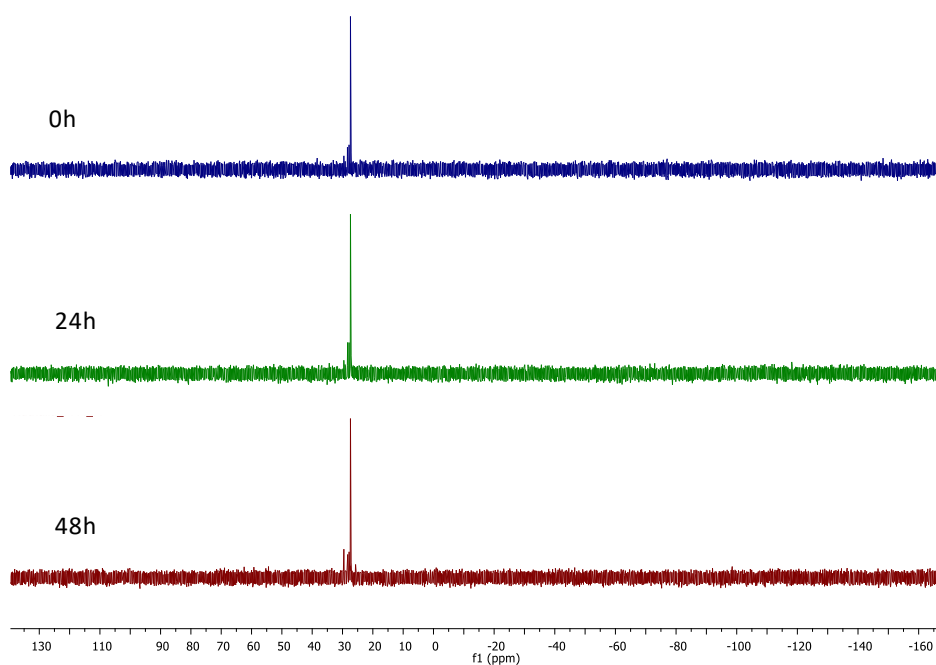


Figura 9. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ a 38°C , durante 48h.

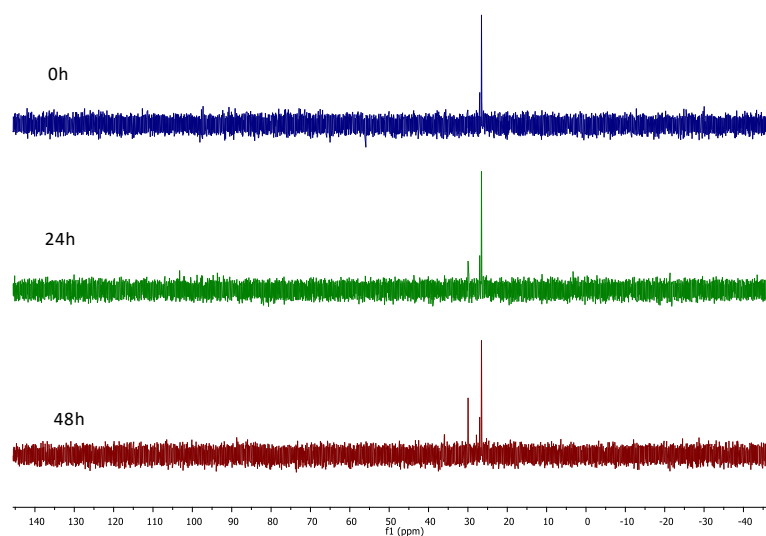


Figura 10. Espectro de RMN de ^{31}P para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PCy}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ a 38°C , durante 48h.

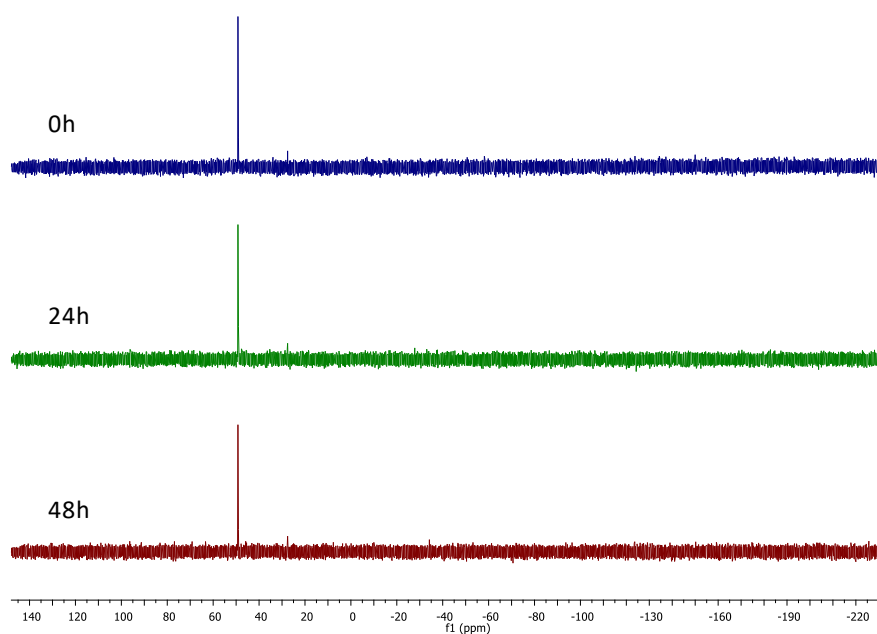


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdCl}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (a), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ (b), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{tamp\~ao}$ fosfato (c) e $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}/\text{solu\~ao}$ de NaCl (d) a 38°C , durante 48h.

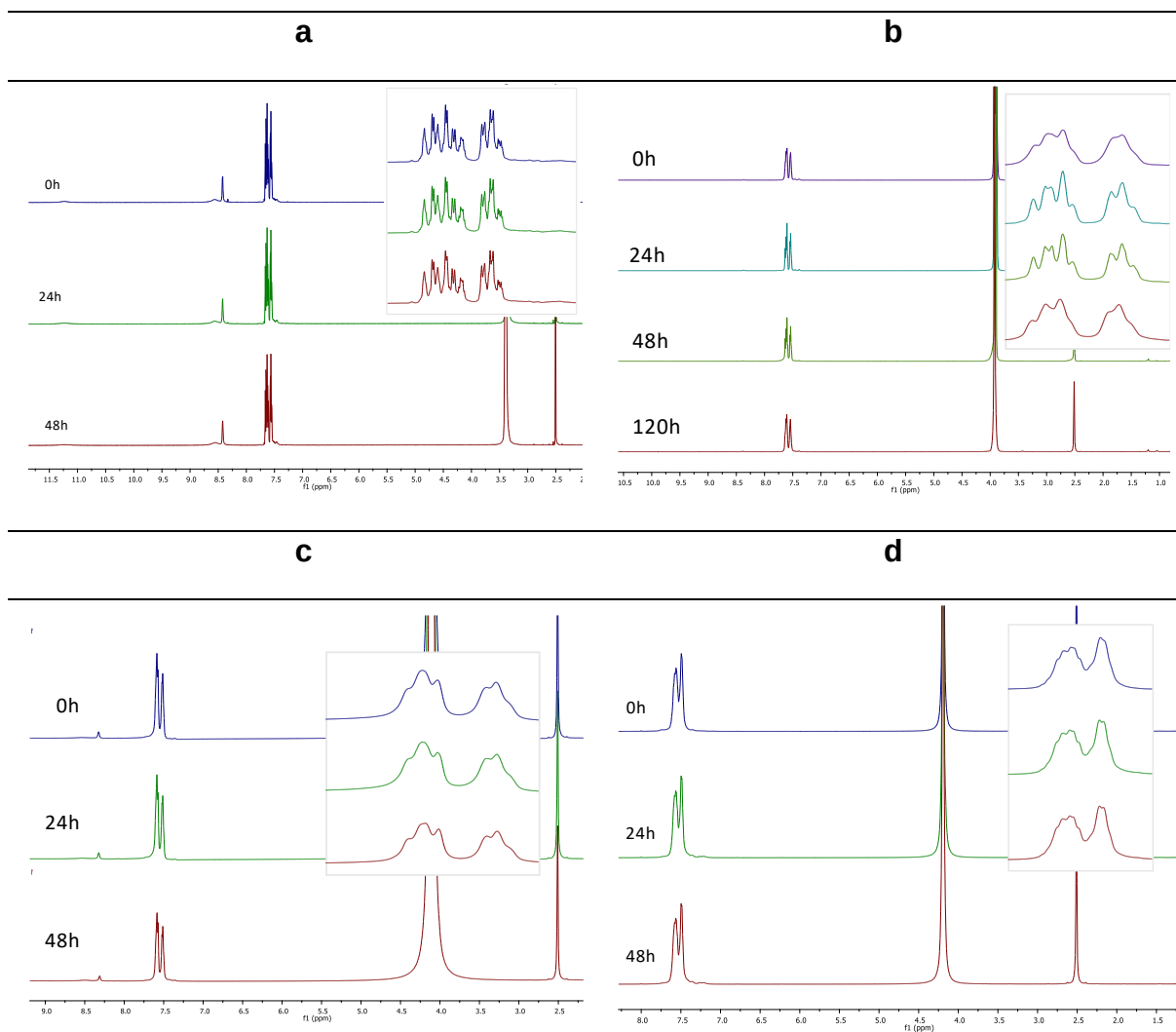
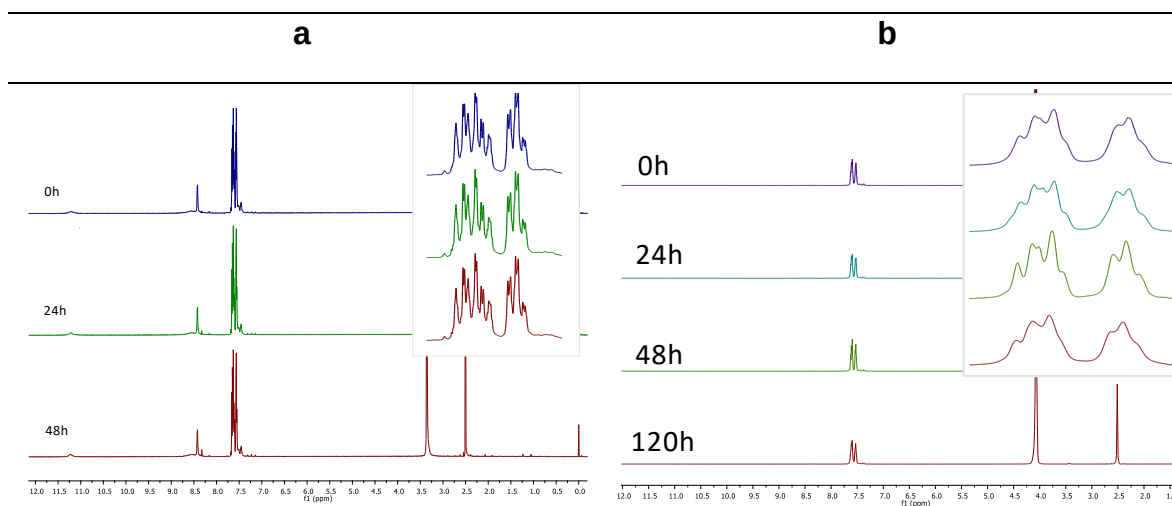
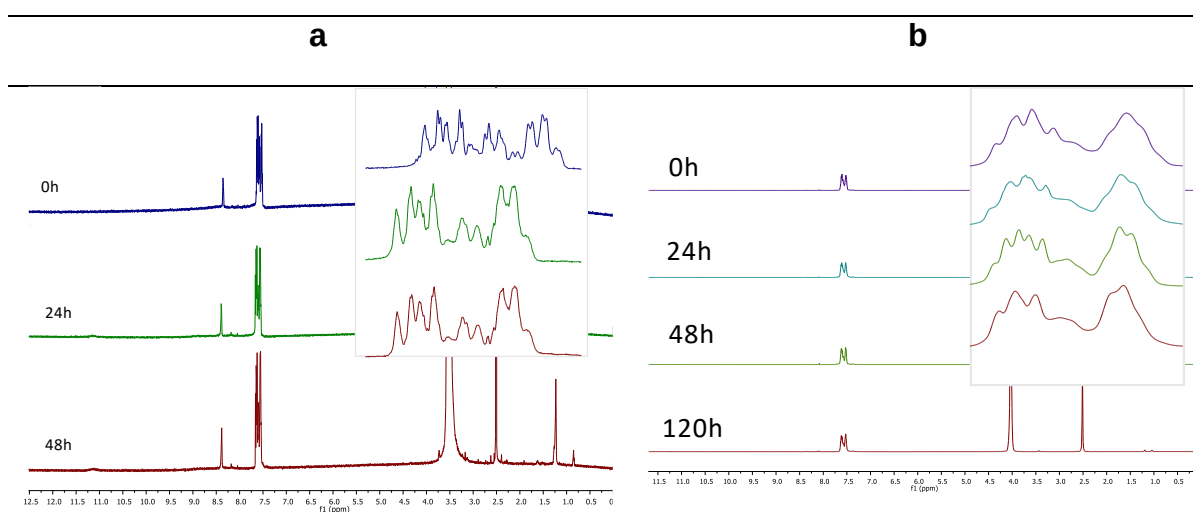


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdBr}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (a), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ (b) a 38°C , durante 48h.



Espectro de RMN de ^1H para o teste de reatividade dos complexos $\text{PdI}(\text{TSCZ})(\text{PPh}_3)\text{Cl}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (a), $\text{DMSO}-d_6/\text{D}_2\text{O}$ (b) a 38°C , durante 48h.



APÊNDICE D. Dados de RMN 2D obtidos para os complexos FMTSC em CDCl_3 .

Figura 1. Mapa de contorno HSQC para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]$.

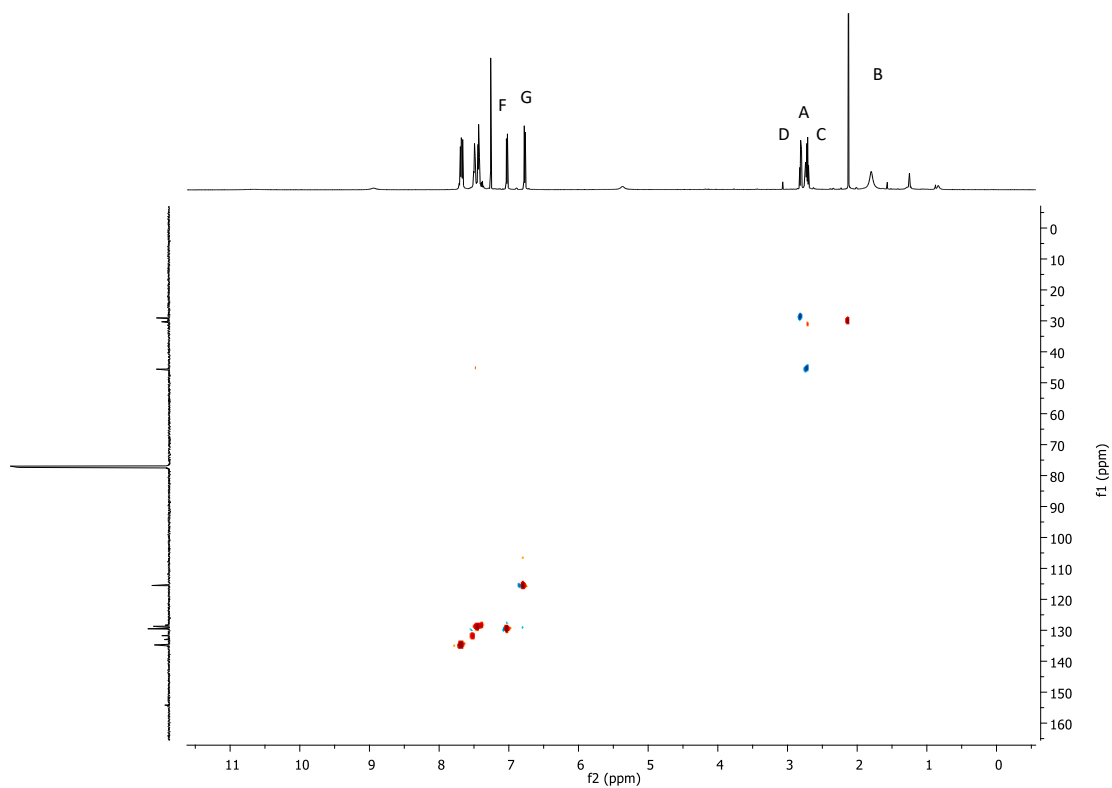


Figura 2. Mapa de contorno HMBC para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_3)]$.

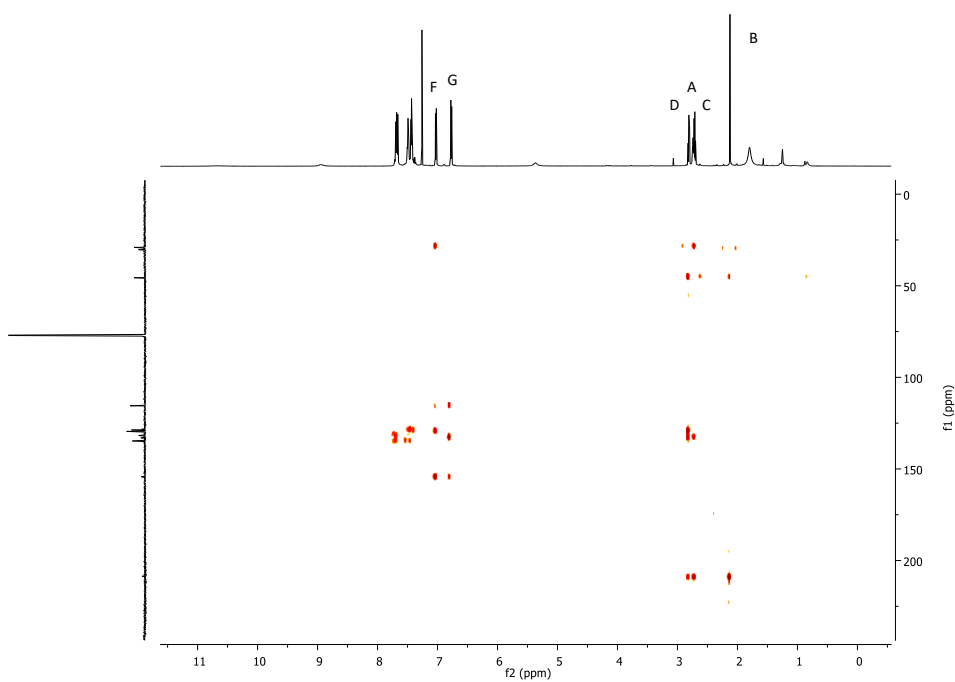


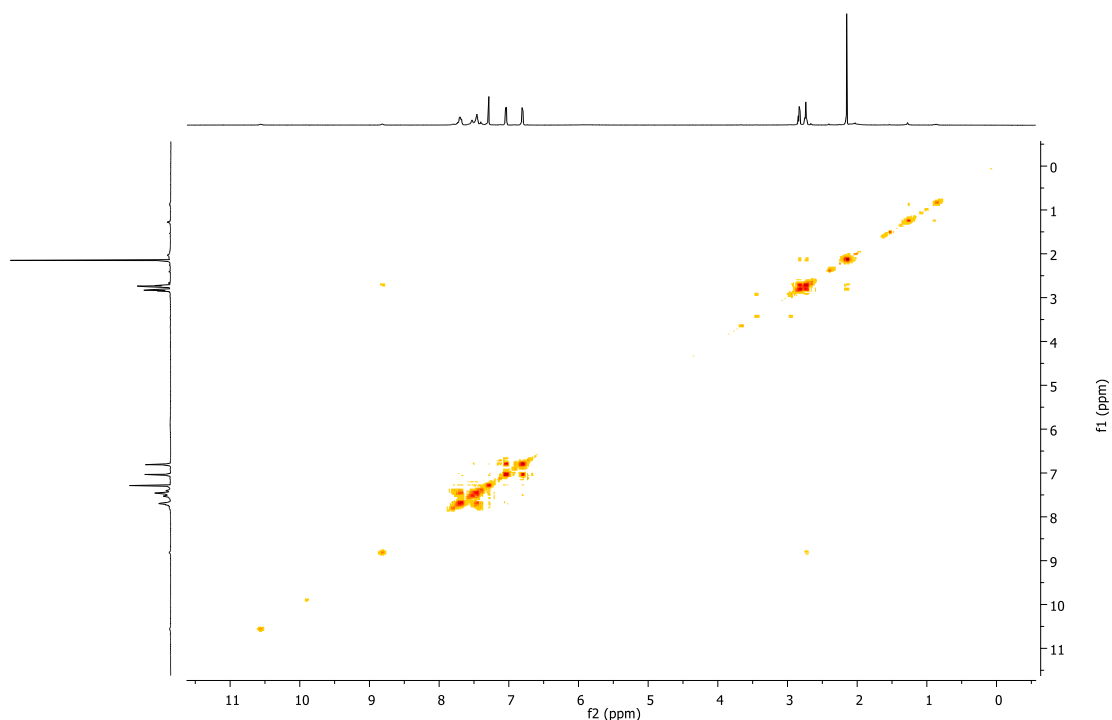
Figura 3. Mapa de contorno COSY para o complexo [PdCl(FMTSC)(PPh₃)].

Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(PPh₃)].

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)				
	HSQC ¹ H- ¹³ C		HMBC ¹ H- ¹³ C		COSY ¹ H- ¹ H
	δ ¹ H (m, J=Hz, n° H)	δ ¹³ C	² J _{CH}	³ J _{CH}	
A	2,74 (s, 3H)	31,35		C=S	H4
B	2,12 (s, 3H)	29,05	C=N	D	
C	2,71 (t, 7Hz, 2H)	45,62	D, C=N	E	D
D	2,81 (t, 7Hz, 2H)	28,92	C, E	F, C=N	C
E		132,76	D	C, G	
F	7,02 (d, 8Hz, 2H)	129,34	G	D, H	G
G	6,78 (d, 8Hz, 2H)	115,53	H	E	F
H	5,37 (sl, 1H)	154,19	G	F	
1		204,48	B, C	D	
2	10,66 (sl, 1H)				
3		179,27			
4	8,95 (sl, 1H)		C=S		A
PPh₃	1' -	131,75		Ψ	
	2' 7,68 (m, 6H)	134,55	-	Φ	Ψ
	3' 7,43 (m, 6H)	129,51	Φ	α	β
	4' 7,45 (m, 3H)	132,01	Ψ	β	

multiplicidade: s=singlete; sl=sinleto largo; d= dublete; t=tripleto; m=multipleteo

Figura 4. Mapa de contorno HSQC para o complexo [PdCl(FMTSC)(tmf)].

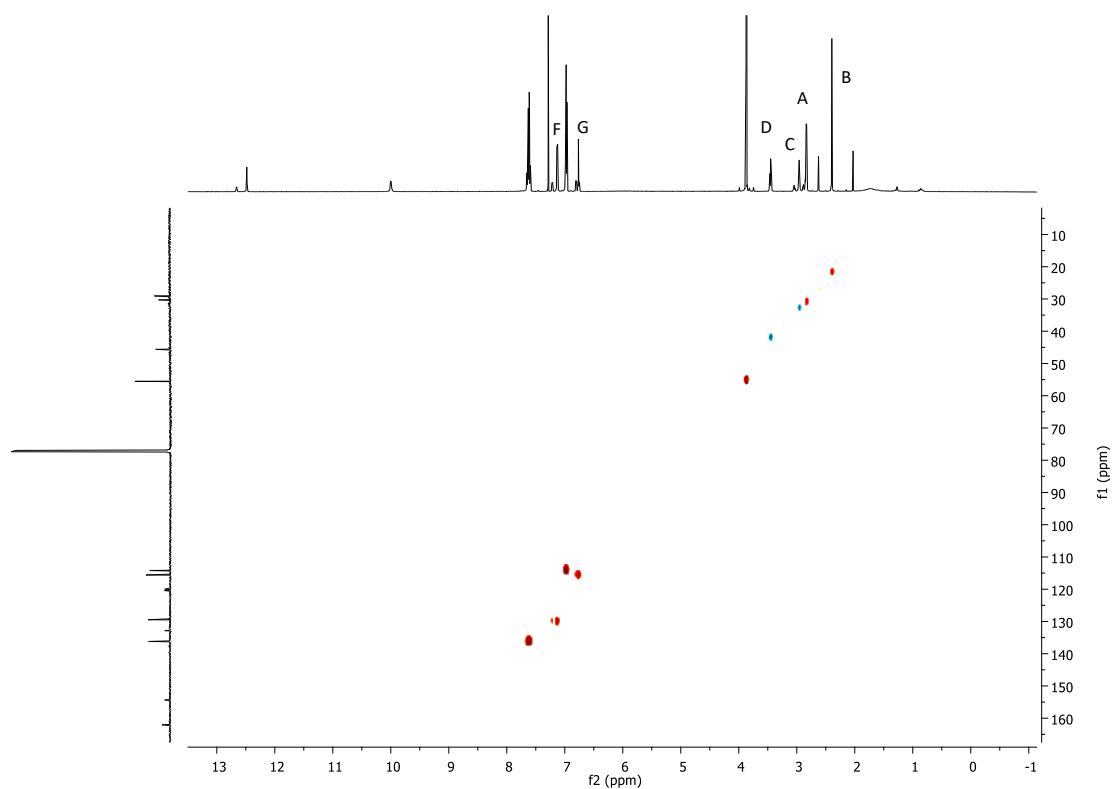


Figura 5. Mapa de contorno HMBC para o complexo [PdCl(FMTSC)(tmf)].

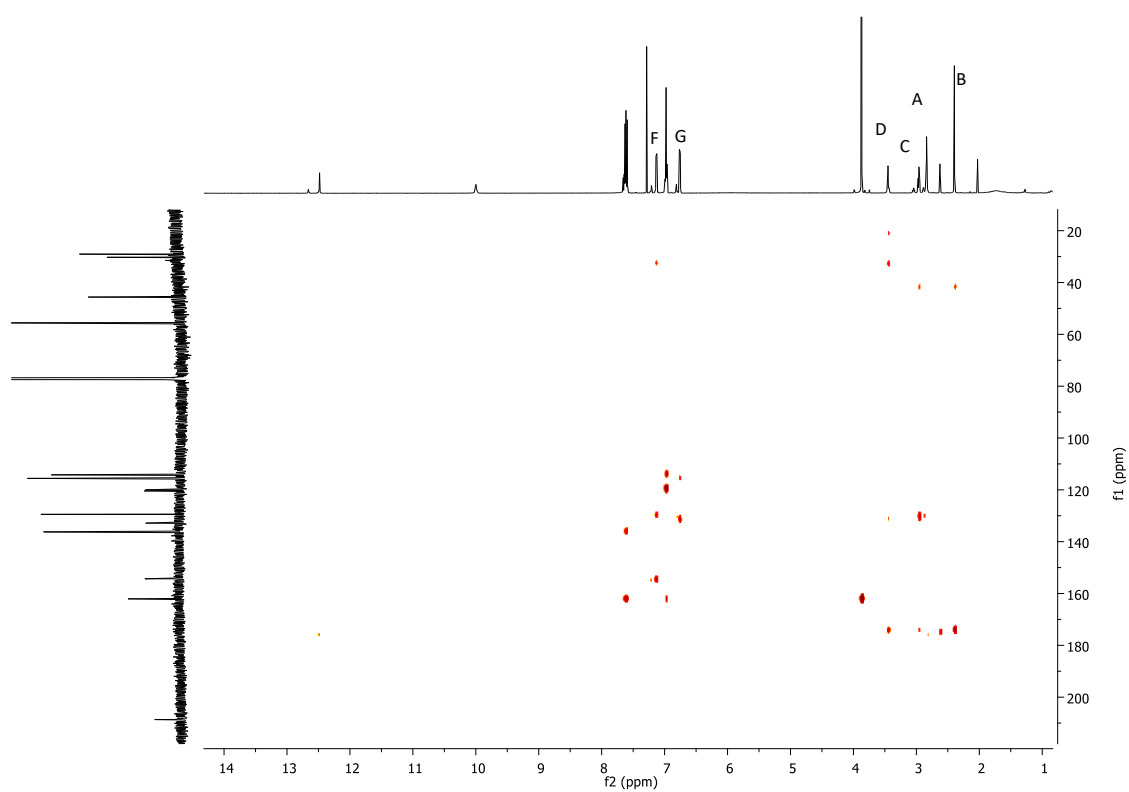


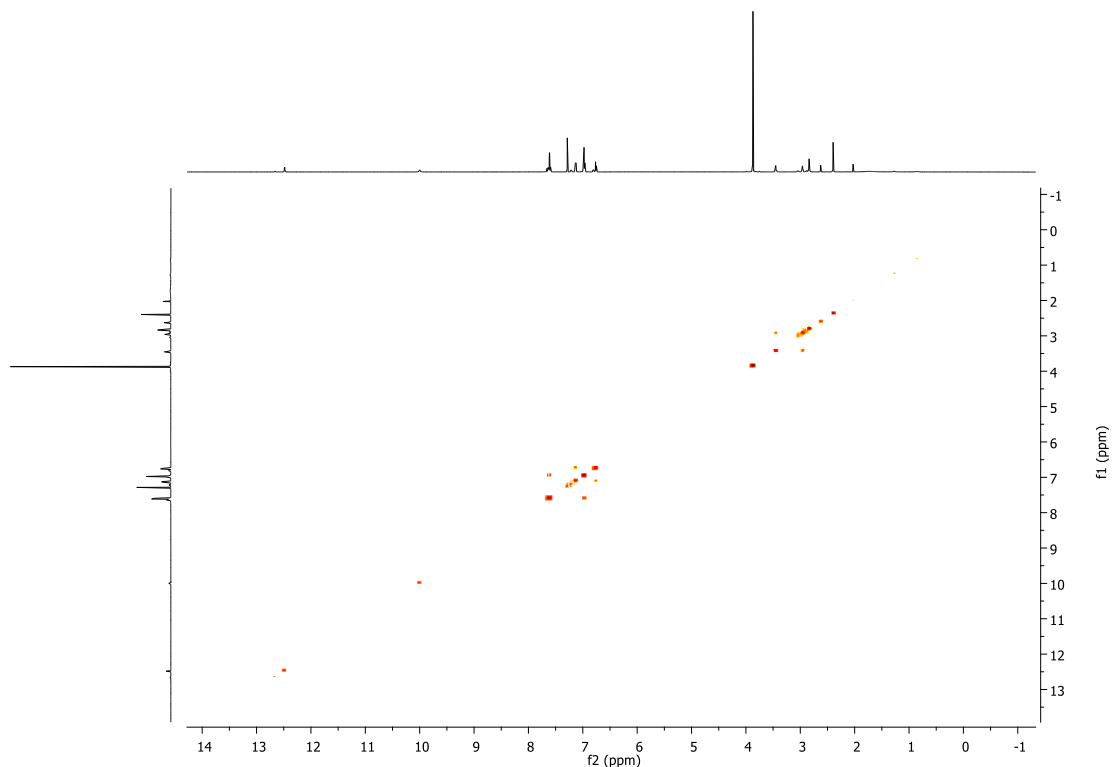
Figura 6. Mapa de contorno COSY para o complexo [PdCl(FMTSC)(tmf)].

Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(tmf)].

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)				
	HSQC ^1H - ^{13}C		HMBC ^1H - ^{13}C		COSY ^1H - ^1H
	$\delta^1\text{H}$ (m, J=Hz, n° H)	$\delta^{13}\text{C}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
A	2,75 (s, 3H)	31,26		C=S	H4
B	2,12 (s, 3H)	21,97		D	
C	2,70 (t, 7Hz, 2H)	42,19	D, B	E	D
D	2,80 (t, 7Hz, 2H)	33,21	E, C	B	C
E		132,84	D	C, G	
F	7,01 (d, 8Hz, 2H)	129,47	G, E	D, H	G
G	6,79 (d, 8Hz, 2H)	115,58	F, H	E	F
H	5,69 (sl, 1H)	154,32	G	F	
1		208,64			
2	10,58 (sl, 1H)		C=S		
3		175,56		A	
4	8,93 (sl, 1H)				A
3xOCH ₃	3,81 (s, 9H)	55,47			
1'	-	120,00			
2'	7,58 (m, 6H)	136,28	-	Φ	Ψ
3'	6,93 (m, 6H)	114,09	Φ	α	β
4'	-	120,41			

multiplicidade: s=singleteo; sl=sinleto largo; d= dubleto; t=tripleto; m=multipleteo

Figura 7. Mapa de contorno HSQC para o complexo [PdCl(FMTSC)(tpf)].

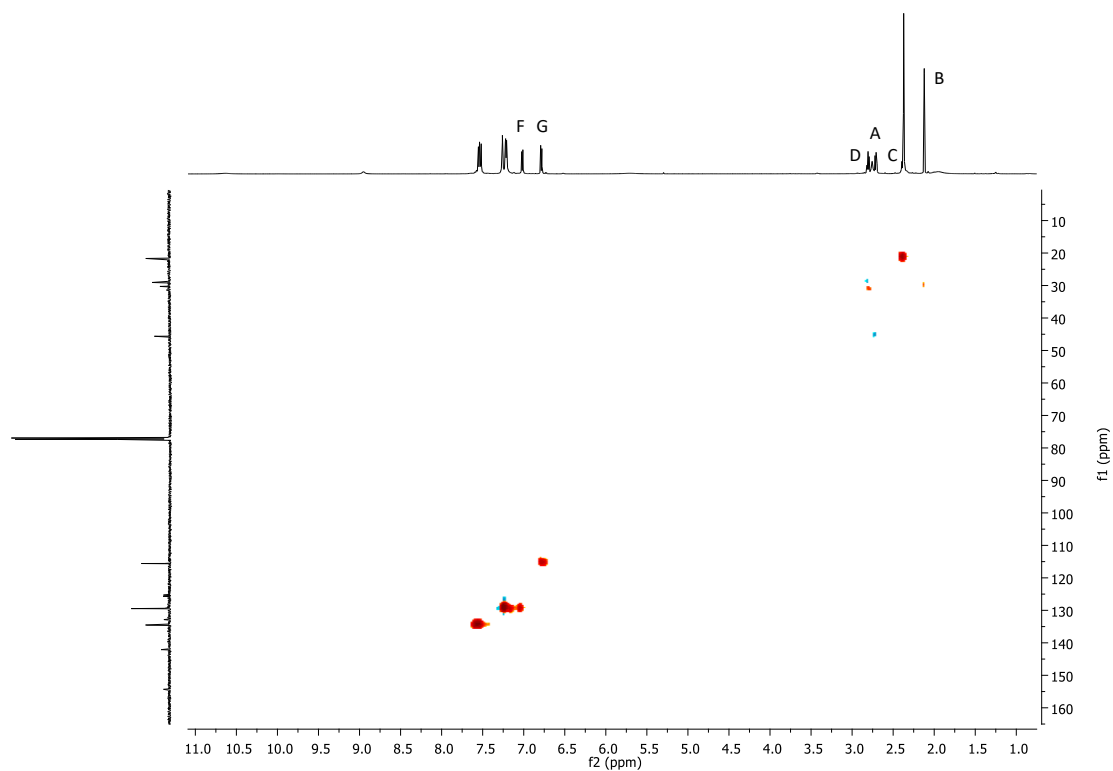


Figura 8. Mapa de contorno HMBC para o complexo [PdCl(FMTSC)(tpf)].

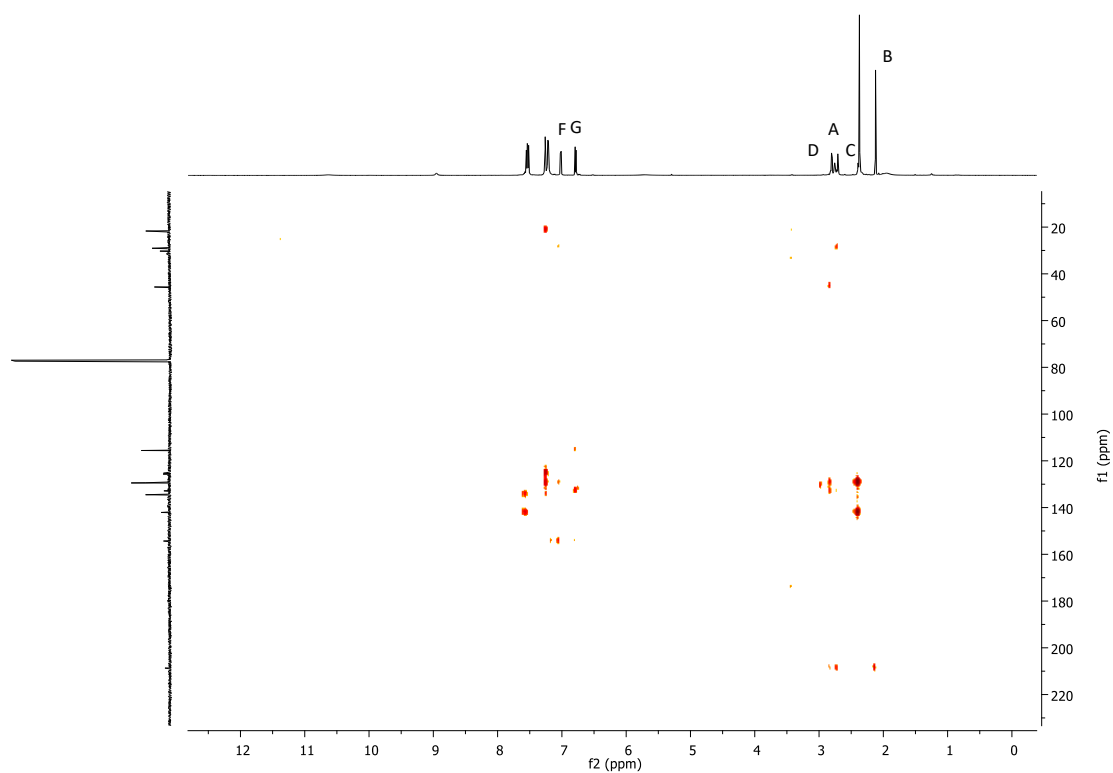


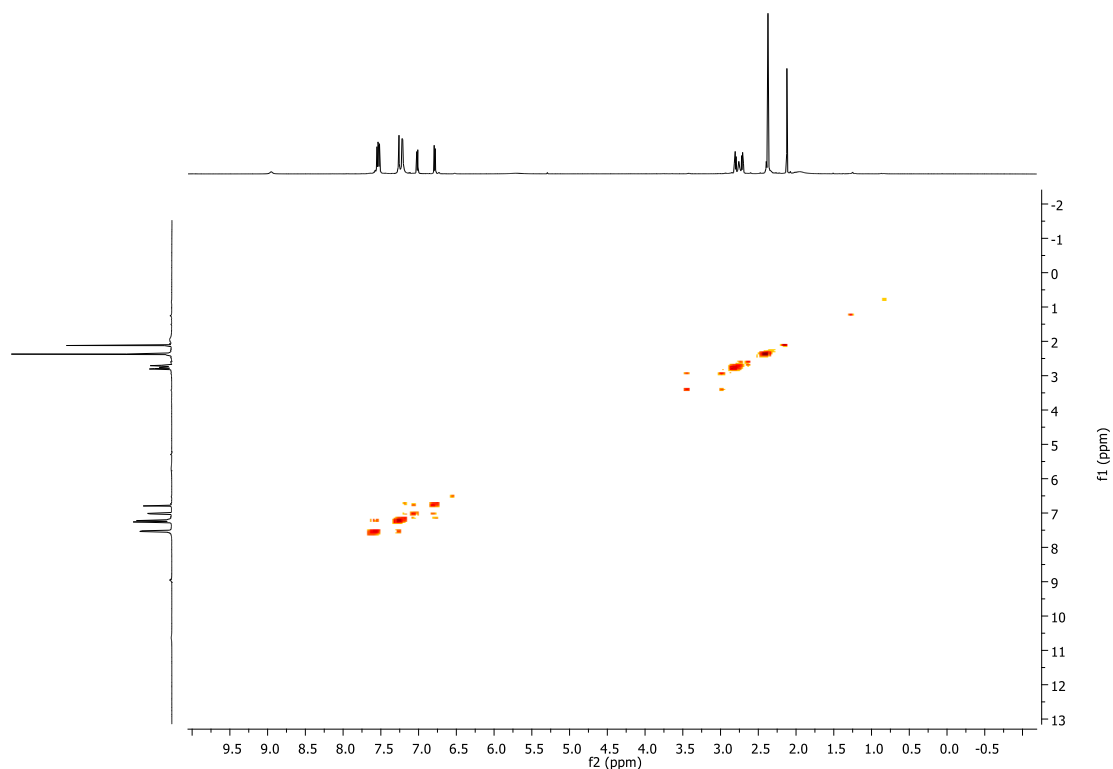
Figura 9. Mapa de contorno COSY para o complexo [PdCl(FMTSC)(tpf)].

Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(tpf)].

Deslocamento químico (ppm)					
Atribuição	HSQC ^1H - ^{13}C		HMBC ^1H - ^{13}C		COSY ^1H - ^1H
	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
	(m, J=Hz, n° H)				
A	2,76 (s, 3H)	31,39			H4
B	2,12 (s, 3H)	30,28	C=N		
C	2,71 (t, 7Hz, 2H)	45,63	D, C=N	E	D
D	2,81 (t, 7Hz, 2H)	29,06	C, E	C=N	C
E		132,84	D	G	
F	7,01 (d, 8Hz, 2H)	125,69	G	D, H	G
G	6,79 (d, 8Hz, 2H)	115,58			F
H	5,71 (sl, 1H)	154,31	G	F	
1		208,68	B, C	D	
2	10,64 (sl, 1H)		C	A, D	
3		179,88			
4	8,95 (sl, 1H)				A
3xCH ₃	2,36 (s, 9H)	21,60	Ψ		
tpf	1'	125,69			
	2'	7,54 (m, 6H)	-	Φ	Ψ
	3'	7,21 (m, 6H)	β	α	β
	4'	-	134,80		

multiplicidade: s=singlete; sl=sinleto largo; d= dubleto; t=tripleto; m=multipleto

Figura 10. Mapa de contorno HSQC para o complexo [PdCl(FMTSC)(dpt)].

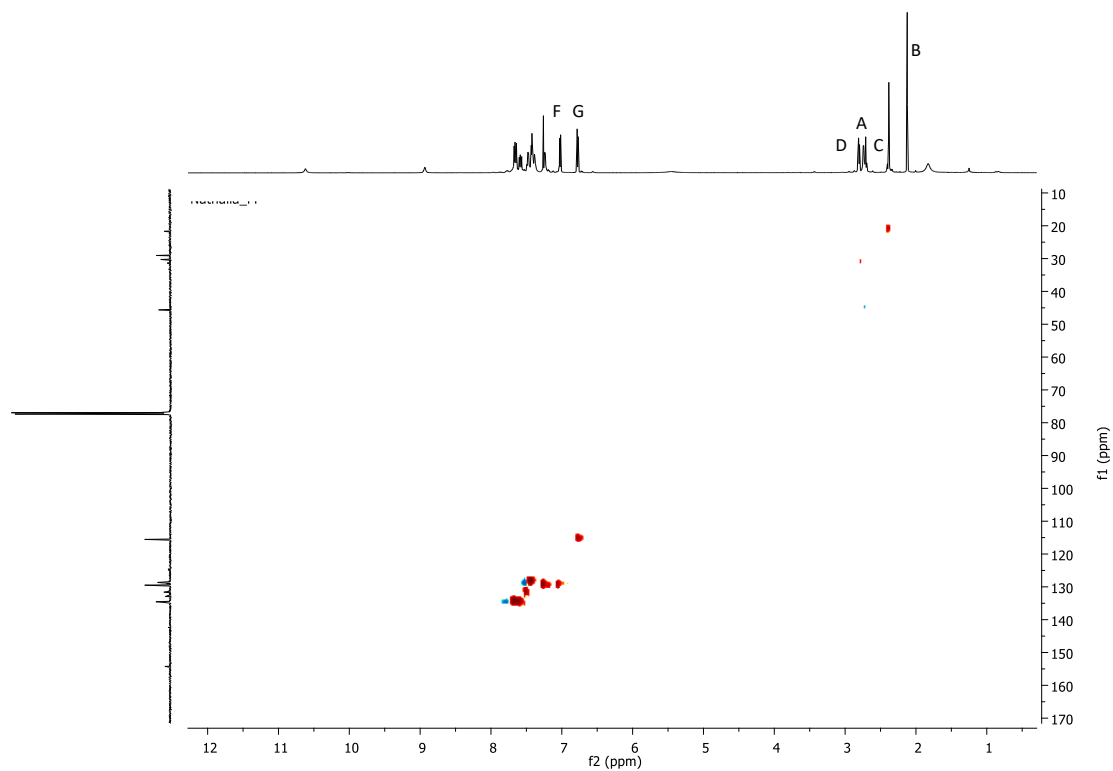


Figura 11. Mapa de contorno HMBC para o complexo [PdCl(FMTSC)(dpt)].

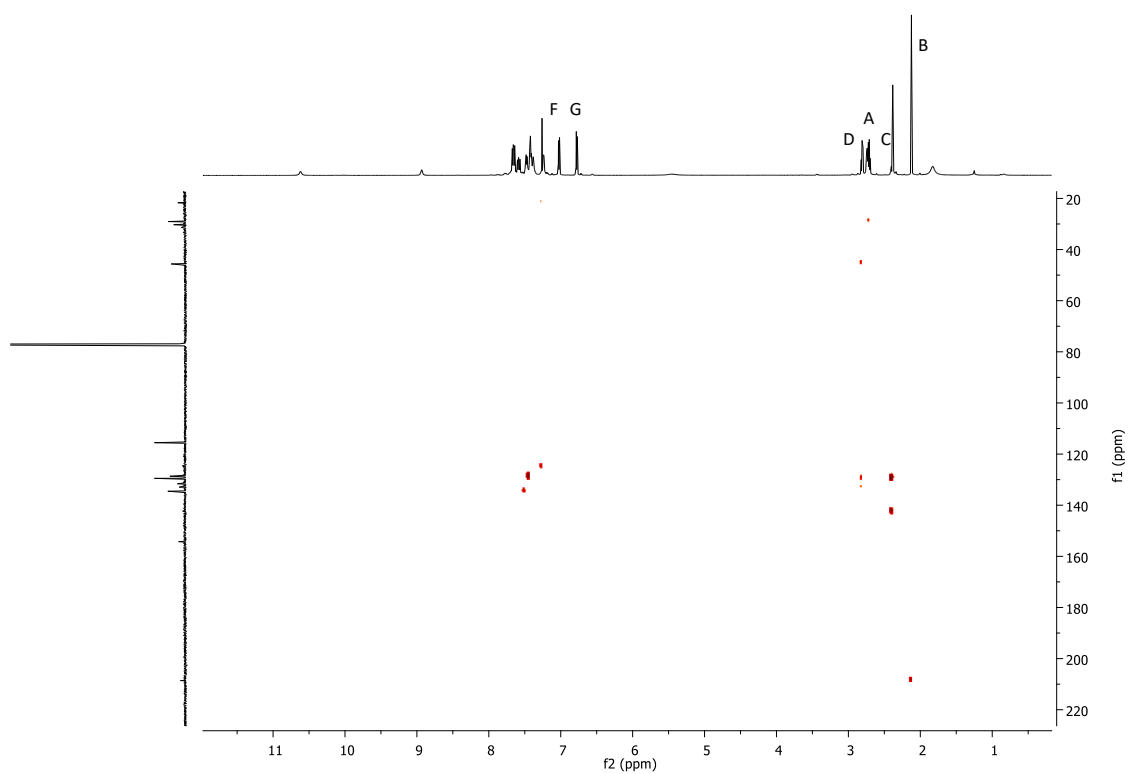


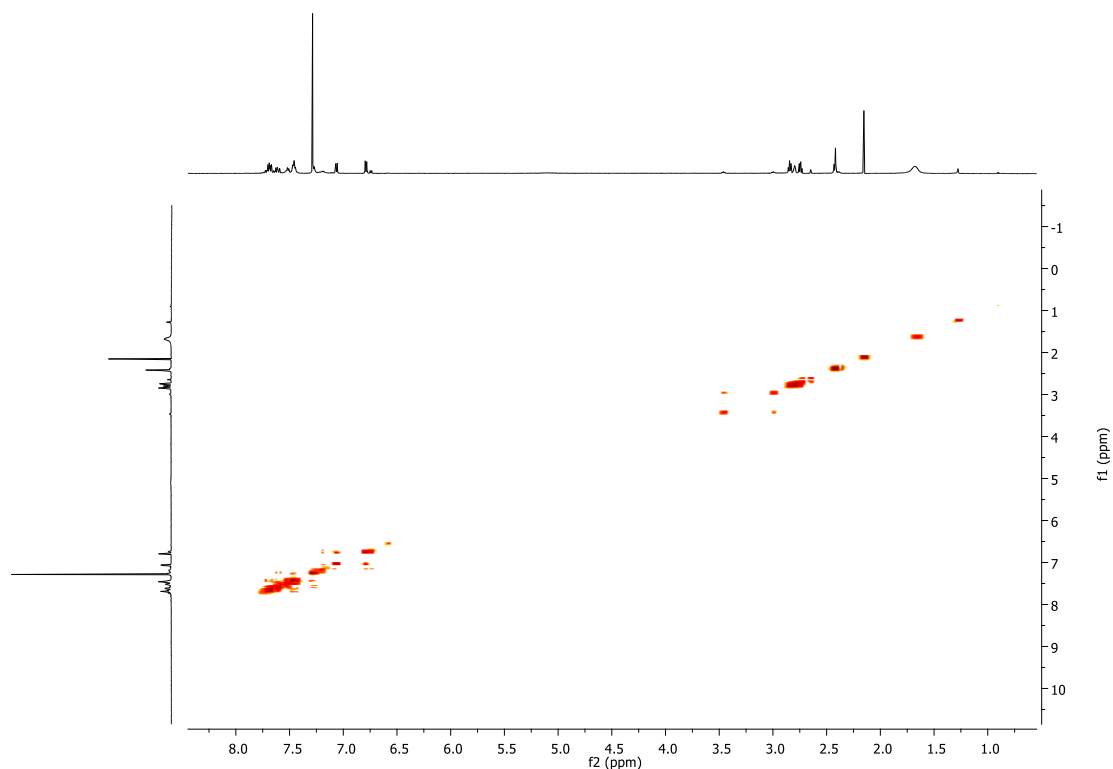
Figura 12. Mapa de contorno COSY para o complexo [PdCl(FMTSC)(dpt)].

Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(dpt)].

Deslocamento químico (ppm)						
Atribuição	HSQC ^1H - ^{13}C		HMBC ^1H - ^{13}C		COSY ^1H - ^1H	
	$\delta 1\text{H}$	$\delta 13\text{C}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$		
	(m, J=Hz, n° H)					
A	2,74 (s, 3H)	31,39			H4	
B	2,12 (s, 3H)	30,28	C=N	D		
C	2,72 (t, 7Hz, 2H)	45,62			D	
D	2,81 (t, 7Hz, 2H)	29,06			C	
E		132,95				
F	7,03 (d, 8Hz, 2H)	129,05			G	
G	6,78 (d, 8Hz, 2H)	115,55			F	
H	5,46 (sl, 1H)	154,24	G	F		
1		208,60	B			
2	10,62 (sl, 1H)					
3						
4	8,93 (sl, 1H)				A	
CH ₃	2,38 (s, 2H)	21,70		α		
dpt	1'	-				
	2'	7,66 (m, 6H)	131,62	-	Φ	Ψ
	3'	7,42 (m, 6H)	128,65	Φ		β
	4'	7,59 (m, 2H)	128,65			

multiplicidade: s=singleteo; sl=sinleteo largo; d= dubleteo; t=tripleto; m=multipleteo

Figura 13. Mapa de contorno HSQC para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]$.

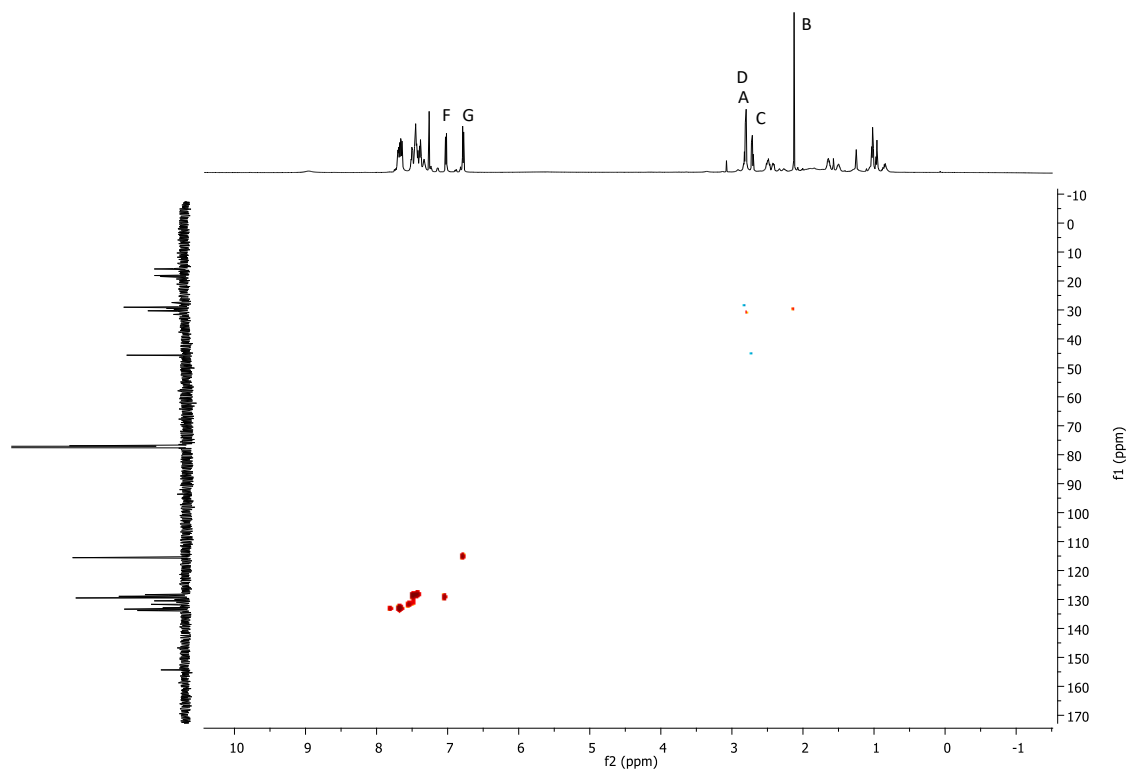


Figura 14. Mapa de contorno HMBC para o complexo $[\text{PdCl}(\text{FMTSC})(\text{PPh}_2\text{Pr})]$.

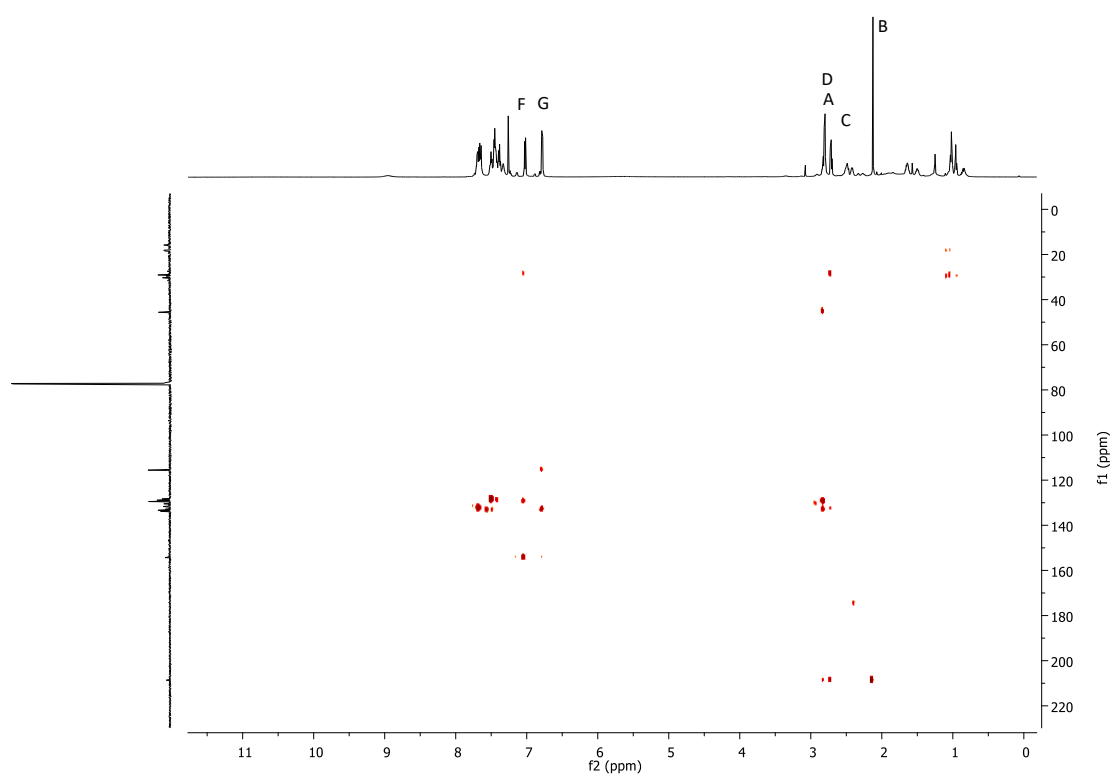


Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(PPh₂Pr)].

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)			
	HSQC ¹ H- ¹³ C		HMBC ¹ H- ¹³ C	
	^δ 1H (m, J=Hz, n° H)	^δ 13C	² J _{CH}	³ J _{CH}
A	2,80 (s, 3H)	31,54		C=S
B	2,12 (s, 3H)	30,28	C=N	D
C	2,71 (t, 7Hz, 2H)	45,63	D, C=N	E
D	2,80 (t, 7Hz, 2H)	29,06	C, E	F, C=N
E		132,97	D	C, G
F	7,02 (d, 8Hz, 2H)	129,37	G	
G	6,78 (d, 8Hz, 2H)	115,56	H	
H	5,69 (sl, 1H)	154,31	G	F
1		208,64	B, C	D
2	10,60 (sl, 1H)			
3		174,25		
4	8,95 (sl, 1H)		C=S	
CH₂CH₃	2,48 (s, 2H)	29,60		
CH₂CH₃	1,07 (s, 3H)	15,84		
	1'	-		
		131,67		
PPh₂Pr	2'	7,70 (m, 6H)	133,83	-
	3'	7,45 (m, 6H)	128,91	Φ
	4'	7,66 (m, 2H)	133,34	α

multiplicidade: s=singlete; sl=sinlete largo; d= dublete; t=tripleto; m=multiplete

Figura 15. Mapa de contorno HSQC para o complexo [PdCl(FMTSC)(PCy₃)].

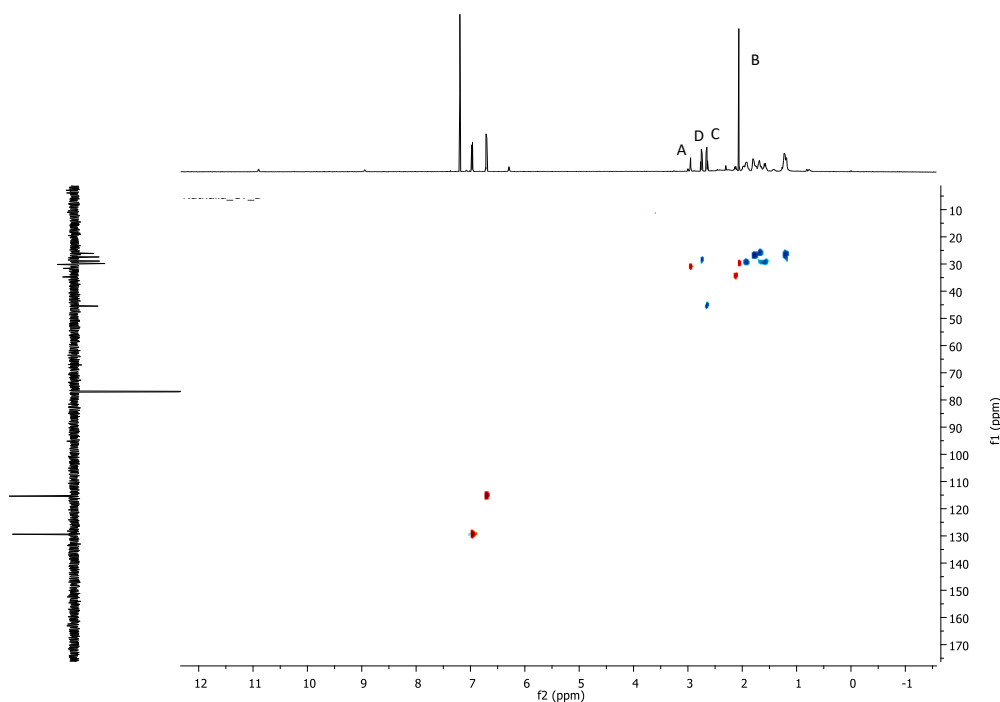


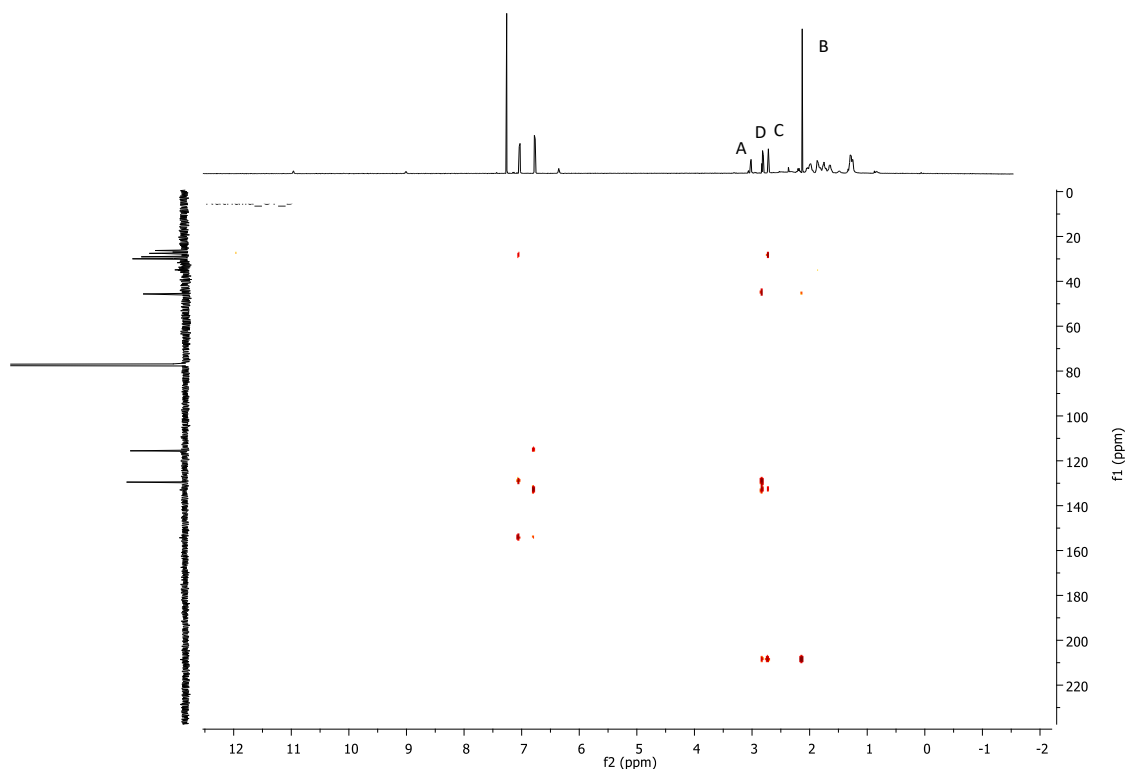
Figura 16. Mapa de contorno HMBC para o complexo [PdCl(FMTSC)(PCy₃)].

Tabela resumindo os dados obtidos por RMN para o complexo [PdCl(FMTSC)(PCy₃)].

Atribuição	Deslocamento químico (ppm)			
	HSQC ¹ H- ¹³ C		HMBC ¹ H- ¹³ C	
	δ ¹ H (m, J=Hz, n° H)	δ ¹³ C	² J _{CH}	³ J _{CH}
A	3,01 (s, 3H)	31,60		
B	2,13 (s, 3H)	30,16	C=N	
C	2,72 (t, 7Hz, 2H)	45,63	D, C=N	
D	2,82 (t, 7Hz, 2H)	28,92	C	C=N, F
E		132,94	D	C, G
F	7,03 (d, 8Hz, 2H)	129,38	G	D
G	6,73 (d, 8Hz, 2H)	115,54	F	
H	6,52 (sl, 1H)	154,29	G	F
1		208,59	B, C	D
2	11,08 (sl, 1H)			
3				
4	9,15 (sl, 1H)			
PCy₃	1' 1,91 (m, 3H)	29,81		
	2' 1,20 (m, 12H)	27,74		
	3' 1,78 (m, 12H)	27,29		
	4' 1,66 (m, 6H)	26,09		

multiplicidade: s=singleteo; sl=sinleteo largo; d= dubleteo; t=tripleto; m=multipleteo

APÊNDICE E. Síntese do ligante frambiona-tiossemicarbazona (FMTSC)
(FMTSC: N-metil-2-[4-hidroxifenilbutan-2-ilideno]hidrazina-1-carbotiamida).

A síntese do composto orgânico FMTSC quando realizada empregando-se procedimento já descrito na literatura por Oliveira et al. (2012), onde adiciona-se a 4-(4-hidrofenil)-2-butanona em EtOH/H₂O (3:1) e 3 gotas de HCl, após 2h adiciona-se a tiossemicarbazida e mantém sob refluxo por 6h. O resultado obtido é um ligante com sinais duplicados (Figura 1). A proposta para isso é que durante a reação é formado estereoisômeros, onde o composto orgânico possui mesma conectividade dos átomos, porém difere o arranjo no espaço (Figura 2).

Figura 1. Espectro de RMN de ¹H do FMTSC.

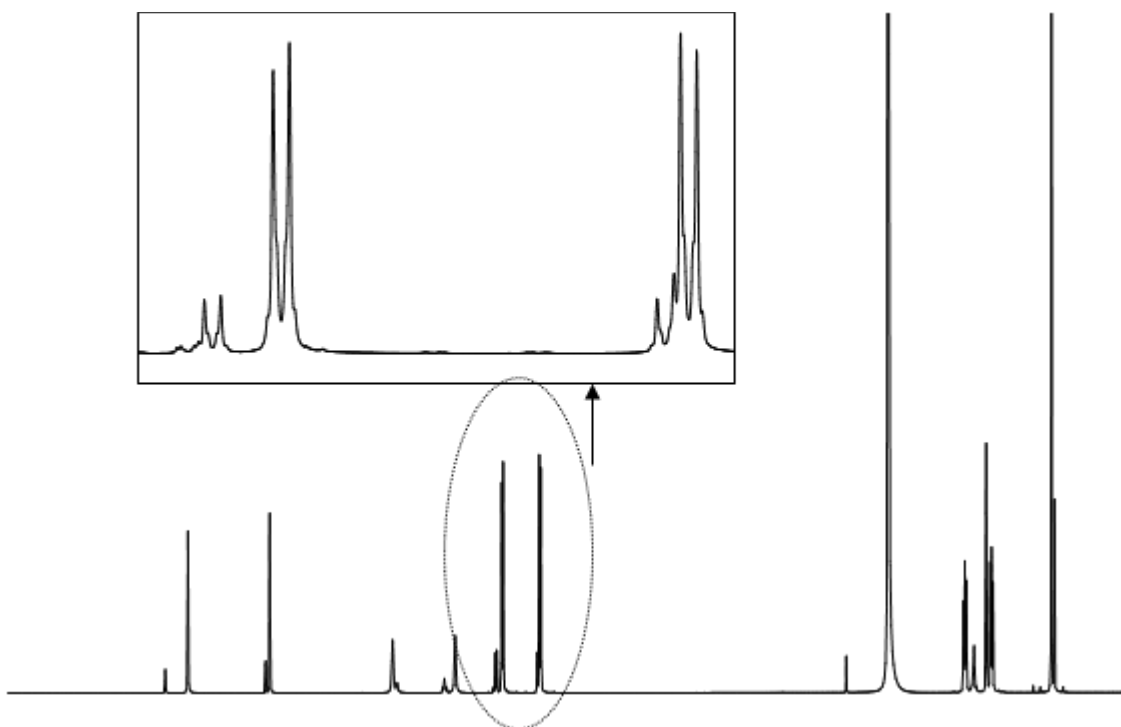


Figura 2. Proposta estrutural.

