

Bárbara Regina Santos Feitoza

**Ortopaladação da *L*-fenilalanina-metil-éster: Síntese,
Caracterização, Reatividade e Estudos Biológicos**

Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

Araraquara

2023

F311o	<p>Feitoza, Bárbara Regina Santos</p> <p>Ortopaladação da L-fenilalanina-metil-éster : síntese, caracterização, reatividade e estudos biológicos / Bárbara Regina Santos Feitoza. -- Araraquara, 2023</p> <p>176 f.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara</p> <p>Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto</p> <p>Coorientador: Adriano Bof de Oliveira</p> <p>1. Compostos organometálicos de transição. 2. Fenilalanina. 3. DNA. 4. Sobrevivência celular. 5. Albumina. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Ortopaladação da L-fenilalanina-metil-éster: Síntese, Caracterização, Reatividade e Estudos Biológicos"

AUTORA: BÁRBARA REGINA SANTOS FEITOZA

ORIENTADOR: ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO

COORIENTADOR: ADRIANO BOF DE OLIVEIRA

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

Prof. Dr. ADELINO VIEIRA DE GODOY NETTO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. WENDELL GUERRA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Uberlândia - UFU - Uberlândia

Prof. Dr. JOÃO HONORATO DE ARAUJO NETO (Participação Virtual)
Departamento de Química Fundamental / Instituto de Química - USP - São Paulo

Dr^a. MARIETE BARBOSA MOREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Química / Universidade Estadual de Maringá - UEM - Maringá

Prof. Dr. JOSE CLAYSTON MELO PEREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Assinado de forma digital por
Adelino Vieira de Godoy
Netto:19560697803
Dados: 2023.08.25 16:14:05 -03'00'

Araraquara, 25 de agosto de 2023

Impacto potencial desta pesquisa

A busca por novas substâncias com potencial de se tornarem fármacos é um dos grandes pilares da pesquisa científica, pois envolve uma conexão com diversas áreas do conhecimento, caracterizando assim a multidisciplinaridade tão necessária atualmente para a superação tanto de questões emergentes como das têm perdurado por séculos. No universo das questões mais intrigantes que a ciência se debruça, a problemática do câncer ocupa uma posição privilegiada. Embora as indagações acerca do câncer sejam extensivamente abordadas na biologia e medicina, é indubitável que os maiores progressos feitos até então foram compassados pela química, confirmando que esta é, de fato, a “ciência central”.

Com um estilo de vida cada vez mais propício ao surgimento dos mais diversos tipos de cânceres, homens e mulheres têm convivido por incontáveis gerações com todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares, e o observatório Global do Câncer estima que até 2040 haverá um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Atualmente, existem diversos tratamentos para o câncer, os seis tipos mais comuns são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, imunoterapia e o transplante de medula óssea, o mesmo que transplante de células-tronco. A química teve (e tem) uma imensa contribuição no desenvolvimento de substâncias quimioterápicas que promovem o cessamento ou desaceleram o crescimento de células tumorais que têm como característica inerente o rápido crescimento e divisão.

Na presente tese de doutorado, foram desenvolvidas novas substâncias e, após uma triagem, o resultado mais promissor foi selecionado para os testes biológicos, revelando assim seu potencial anticâncer. Com isso, foi possível contribuir no desenvolvimento de novas substâncias que poderão vir a se tornarem fármacos anticâncer, temática esta de grande interesse regional e internacional.

Potential impact of this research

The search for new substances with the potential to become medicines is one of the great pillars of scientific research, as it involves a connection with different areas of knowledge, thus characterizing the multidisciplinary nature that is so necessary today to overcome both emerging issues and those that have lasted for centuries. In the universe of the most intriguing questions that science deals with, the problem of cancer occupies a privileged position. Although questions about cancer are extensively addressed in biology and medicine, it is undoubted that the greatest progress made so far has been paced by chemistry, confirming that this is, in fact, the “central science”.

With a lifestyle increasingly conducive to the emergence of the most diverse types of cancer, men and women have lived for countless generations with the entire set of diseases that characterize cancer. According to the World Health Organization, cancer is the second leading cause of death in the world, preceded only by cardiovascular diseases, and the Global Cancer Observatory estimates that by 2040 there will be an increase of 30.2 million new cases of cancer, in both sexes aged between 0-85 years. Currently, there are several treatments for cancer, the six most common types are: surgery, chemotherapy, radiotherapy, hormone therapy, immunotherapy and bone marrow transplantation, the same as stem cell transplantation. Chemistry had (and has) an immense contribution in the development of chemotherapeutic substances that promote the cessation or decelerate the growth of tumor cells that have as an inherent characteristic the rapid growth and division.

In this doctoral thesis, new substances were developed and, after screening, the most promising result was selected for biological tests, thus revealing their anticancer potential. With this, it was possible to contribute to the development of new substances that could become anticancer drugs, a topic of great regional and international interest.

DADOS CURRICULARES

1. Dados Pessoais

Nome: Bárbara Regina Santos Feitoza

E-mail: barbara.feitoza@unesp.br

Data de nascimento: 14/05/1990

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Aracaju – SE

Filiação: Jailson Cruz Feitoza e Cicera dos Santos Feitoza

Endereço para correspondência: Rua Cândido Arruda Botelho, 1120, bairro Santa Felícia, São Carlos – SP – Brasil

2. Dados Acadêmicos

- **2017 – 2019:** Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - Instituto de Química de Araraquara

Área de concentração: Química Inorgânica

Dissertação: Ciclometalados de Paládio(II) contendo ligantes N- e P- doadores bidentados: Síntese, Caracterização e Estudos Biológicos

Orientador: Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto

Co-orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

Bolsa: CAPES

- **2010 – 2016:** Graduação em Química Bacharelado

Universidade Federal de Sergipe

Iniciação científica (2013 – 2016)

Projeto: Síntese e determinação da estrutura cristalina/molecular de tiossemicarbazonas derivadas de produtos naturais e seus respectivos complexos metálicos visando aplicações farmacológicas

Orientador: Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira

3. Idiomas

Inglês: Compreende razoavelmente; Fala razoavelmente; Escreve razoavelmente; Lê razoavelmente.

4. Prêmios e Títulos

2015: Prêmio destaque de Iniciação científica no 25º Encontro de Iniciação Científica PIBIC 2014/2015 na Universidade Federal de Sergipe

2014: Um dos melhores painéis apresentados na Seção de Química Inorgânica realizada durante a 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

2014: Menção honrosa, I Escola de Química UFSCar – UFS

2012: Um dos melhores painéis apresentados na Seção de Química Inorgânica realizada durante a 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

5. Publicações

- 1) A.B. de Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, R.L. Farias, B.R.S. Feitoza. Crystal structure of *N*-ethyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-1-ylidene)hydrazinecarbothio-amide. *Acta Cryst. E*, **2017**, *E73*, 291–295.
- 2) A.B. de Oliveira, J. Beck, C. Landvogt, B.R.S. Feitosa, F.V. Rocha . Crystal structure of (*E*)-2-[4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-ylidene]hydrazine-1-carbothioamide. *Acta Cryst.E*, **2015**, v. 71, p. o33-o34.
- 3) A.B. de Oliveira, J. Beck, J. Daniels, B.R.S. Feitosa, Crystal Structure of 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-methylthiosemicarbazone. *X-Ray Struct. Anal. Online*, **2015**, 31, 5–6.

- 4) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, Crystal structure of cis-bis[4-phenyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamidato- $\kappa^2 N^1, S$]-nickel(II) monohydrate tetrahydrofuran disolvate. *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, 101–103.
- 5) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, Bis(4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-phenyl-thiosemicarbazonato- N^1, S)nickel(II). *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, m195.
- 6) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde-4-phenylthiosemicarbazone. *Acta Cryst. E*, **2014**, *E70*, o278.
- 7) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess, *N*-Methyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2014**, v. 70, p. o301-o302.
- 8) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess . *N*-Phenyl-2-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2014**, v. 70, p. o205-o205.
- 9) A.B. de Oliveira, J. Beck, J. Daniels, J. N. Santos, B.R.S. Feitosa. The charge-transfer complex 1-aminoanthraquinone 7,7 ,8,8 -tetracyanoquinodimethane (1/1). *Acta Cryst. E*, **2013**, v. 69, p. o301-o301.
- 10) A.B. de Oliveira, B.R.S. Feitosa, C. Näther, I. Jess. 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde thiosemicarbazone. *Acta Cryst. E*, **2013**, v. 69, p. o1861-o1861.
- 11) A.B. de Oliveira, C.S. Silva, C. Näther, I. Jess, B.R.S. Feitosa. 2-(1,2,3,4-Tetrahydronaphthalen-1-ylidene)hydrazinecarbothioamide. *Acta Cryst. E*, **2012**, v. 68, p. o2581-o2581.

6. Bolsas

- **2022 (01/01 – 30/06):** Bolsa de doutorado sanduíche concedida pelo DAAD.
- **2017 – 2019:** Bolsa de mestrado concedida pela CAPES.
- **2015 – 2016:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.
- **2014 – 2015:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.
- **2013 – 2014:** Bolsa de Iniciação científica concedida pelo CNPq.



Totus tuus, Virgo María



AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao meu Bom Deus por ser meu maior provedor e suprir todas as minhas necessidades, além de me mostrar que seus planos são sempre melhores do que os meus.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço ao DAAD pela bolsa de doutorado sanduíche na Alemanha.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto pela supervisão e apoio científico, sendo sempre profundamente humano e sensível.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. *rer. nat.* Adriano Bof de Oliveira pela orientação e dedicação mesmo que à distância.

Ao Prof. Dr. Ulrich Schatzschneider pelo apoio científico e acolhimento no seu grupo de pesquisa durante minha estadia na Uni-Würzburg.

A todo o nosso grupo de pesquisa por toda a contribuição no trabalho, direta ou indiretamente. Em especial ao Wladimir P. D. Badaró pela parceria.

Agradeço a toda comunidade do Mosteiro São Paulo da Cruz pelas orações e carinho, especialmente à Marta de Jesus Crucificado, atual superiora, pela oportunidade e confiança.

*Considero-me como um débil passarinho
coberto de leve plumagem. Não sou
águia; só tenho dela os olhos e o coração,
mas apesar da minha extrema pequenez,
atrevo-me a olhar fixamente para o Sol
divino, o Sol do amor, e o meu coração
sente em si todas as aspirações da águia.*

Santa Terezinha do Menino Jesus e da Sagrada Face

*Os desígnios do Senhor são
altíssimos, profundos, mas
ocultos: deixemo-nos guiar por
Ele como crianças.*

São Paulo da Cruz

*Onde é que te escondeste,
Amado, e me deixaste com
gemido?
Como o cervo fugiste,
Havendo-me ferido;
Saí, por ti clamando, e eras já ido.*

*Na interior adega
Do Amado meu, bebi; quando
saía,
Por toda aquela várzea
Já nada mais sabia,
E o rebanho perdi que antes
seguia.*

*Eis que a branca pombinha
Para a arca, com seu ramo,
regressou;
E, feliz, a rolinha
O par tão desejado
Já nas ribeiras verdes encontrou.*

São João da Cruz

RESUMO

O câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares. O *Global Cancer Observatory* estima que até 2040 observar-se-á um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Diante da grande problemática do câncer, a busca por novas substâncias antitumorais que superem as limitações dos medicamentos em uso atualmente constitui um dos pilares mais importantes da pesquisa científica. Desde a descoberta da atividade antitumoral do metalofármaco cisplatina, vários complexos inorgânicos e organometálicos emergiram como potenciais metalofármacos que venham a superar as limitações comuns do uso clínico da cisplatina, como a toxicidade e a resistência. Nesse contexto, os complexos ortopaladados são bastante promissores, especialmente pela similaridade química entre os metais paládio(II) e platina(II), como também por proporcionarem que compostos de tendência não genotóxica possam ser obtidos. Na presente tese de doutorado, seis novos ortopaladados da *L*-fenilalanina-metil-éster (LFME) foram obtidos, sendo: um dímero de azida de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, quatro complexos de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, onde X = Br, Cl, I, N₃ e PTA = 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano; e um complexo resultante do produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar: $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$, onde Tria = triazolato. Os complexos foram devidamente caracterizados através das técnicas de RMN (¹H, ¹³C e ³¹P) e ¹⁵N para os derivados de azida; Espectrometria de Massas (ESI) (com exceção do $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$), análise elementar (C,H,N,S) e DRX em monocristal (somente $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$). Ensaios *in vitro* de viabilidade celular do $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$ frente às linhagens tumorais A549 (pulmão), MDA-MB-231 (mama) e A2780 (ovário) demonstraram uma maior atividade do composto contra a linhagem A2780, além de uma baixa toxicidade frente a linhagem não tumoral MRC-5 (pulmão). Os estudos de interação com as biomoléculas Albumina de Soro Humano (HSA) e DNA revelaram uma afinidade considerável pela HSA, porém uma baixa afinidade pelo DNA.

Palavras-Chave: Ortopaladados, *L*-fenilalanina-metil-éster, triazolato, viabilidade celular, Albumina de Soro Humano (HSA), DNA.

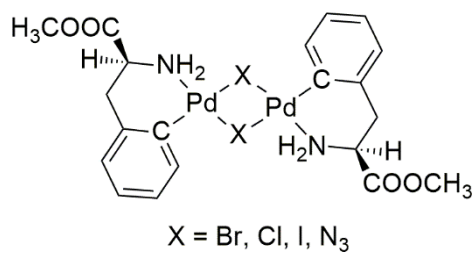
ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death in the world, preceded only by cardiovascular diseases. The Global Cancer Observatory estimates that by 2040 there will be an increase of 30.2 million new cases of cancer, in both sexes aged 0-85 years. Faced with the great problem of cancer, the search for new antitumor substances that overcome the limitations of drugs currently in use is one of the most important pillars of scientific research. Since the discovery of the antitumor activity of the metallopharmaceutical cisplatin, several inorganic and organometallic complexes have emerged as potential metallodrugs that may overcome the common limitations of the clinical use of cisplatin, such as toxicity and resistance. In this context, the orthopalladated complexes are very promising, especially due to the chemical similarity between palladium(II) and platinum(II) metals, as well as providing that non-genotoxic compounds can be obtained. In the present doctoral thesis, six new orthopalladated *L*-phenylalanine-methyl-ester (LFME) complexes were obtained, namely: an azide dimer with the formula $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, four complexes with the formula general $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, where $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$ and PTA = 1,3,5-triazo-7-phosphoadamantane; and a complex resulting from the 1,3-dipolar cycloaddition reaction: $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$, where Tria = triazolate. The complexes were properly characterized by NMR techniques (^1H , ^{13}C and ^{31}P) and ^{15}N for the azide derivatives; Mass Spectrometry (ESI) (with the exception of $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$), elemental analysis (C,H,N,S) and single crystal XRD (only $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$). In vitro cell viability assays of $[\text{Pd}(\text{C}^2, N\text{-LFME})(\text{Br})(\text{PTA})]$ against tumor cell lines A549 (lung), MDA-MB-231 (breast) and A2780 (ovary) demonstrated greater activity of compound against the A2780 lineage, in addition to low toxicity against the non-tumor MRC-5 lineage (lung). Interaction studies with the biomolecules Human Serum Albumin (HSA) and DNA revealed a considerable affinity for HSA, but a low affinity for DNA.

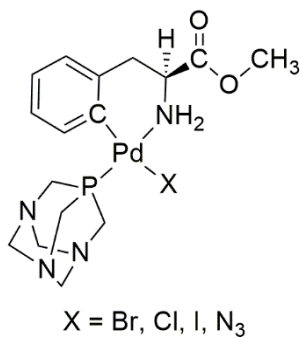
Keywords: Orthopalladated complexes, *L*-phenylalanine-methyl-ester, triazolate, cell viability, Human Serum Albumin (HSA), DNA.

FÓRMULAS ESTRUTURAIS

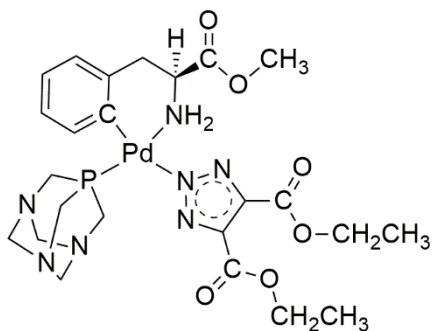
Dímeros precursores



Produtos da clivagem dos dímeros



Produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar



SUMÁRIO

Problemática	16
1. Câncer	16
2. Cisplatina: uso, resistência, toxicidade.....	21
Conceitos básicos	27
1. Compostos organometálicos e ciclometalados do grupo 10.....	27
2. Ortometalados de paládio – Ortopaladados.....	33
3. Ortometalados com atividade biológica.....	41
HIPÓTESE	45
OBJETIVOS	51
PARTE EXPERIMENTAL	52
1.1- Metodologia.....	52
1.1.1- Sínteses.....	52
1.1.2- Obtenção dos monocristais.....	53
1.2- Metodologia dos estudos biológicos	53
1.2.1- Ensaio de viabilidade celular.....	53
1.2.2- Leitor de microplacas e detector.....	54
1.2.3- Preparo da solução Tampão Tris-HCl.....	54
1.2.4- Preparo da solução de ctDNA (<i>Calf thymus</i>).....	54
1.2.5- Preparo da solução do corante Hoechst 33258.....	55
1.3- Ensaio da supressão de fluorescência da HSA.....	55
1.4- Ensaio com a biomolécula ctDNA.....	56
1.4.1- Titulação espectrofotométrica do DNA por UV-Vis.....	56
1.4.2- Ensaio de competição com Hoechst 33258 pelo DNA.....	57
2- Caracterização dos compostos	57
2.1- Análise elementar (C,H,N,S).....	57
2.2- Espectrometria de massas (ESI).....	58
2.3- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	58
2.4- Difração de raios X em monocristal.....	58
3. Sínteses	59
3.1- Síntese do derivado de L-fenilalanina metil-éster com triflato.....	59
3.2- Síntese dos dímeros precursores.....	60
3.3- Síntese dos complexos mononucleares.....	64
3.4- Síntese do produto de cicloadição.....	68
4. Resultados e discussão: caracterização dos compostos	69
4.1- Análise elementar (C,H,N,S).....	70
4.2- Espectrometria de massas (ESI).....	71
4.3- Difração de raios X em monocristal.....	89
4.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	93
5.0- Resultados e discussão: estudos biológicos	129
5.1- Ensaio de viabilidade celular com MTT.....	129
5.2- Ensaio da supressão de fluorescência da HSA.....	133
5.3- Ensaio de interação com o DNA.....	139
6. Considerações finais.....	142
REFERÊNCIA	144
ANEXO	153

Problemática

1. Câncer

No universo das questões mais intrigantes que a ciência se debruça, a problemática do câncer ocupa uma posição privilegiada. Para cada uma das principais áreas do conhecimento humano, é possível indagar ao menos uma questão atualmente sem resposta:

- **Na física:** qual o tamanho do Universo físico?¹⁻³
- **Na química:** se os organismos vivos são compostos por átomos e o corpo humano, devido a sua complexidade, pode ser considerado um dos (senão o maior) laboratório que existe, por que, então, não é possível harmonizar ou mesmo manipular as diversas reações químicas de um organismo inanimado a fim de mudá-lo em animado? Em outras palavras: por que a vida só pode ser por nós gerada e transmitida, mas nunca criada?
- **Na biologia-medicina:** qual a causa *exata* do câncer? Embora muitos dos fatores de risco que provocam o câncer tenham sido identificados, tais como, genética, tabagismo, agentes infecciosos e dieta; mas que antes contribuem para o desenvolvimento do câncer do que apontam a sua real causa.

Apesar da indagação acerca do câncer ser extensivamente abordada pela biologia e medicina, é indubitável que os maiores progressos feitos até então foram compassados pela química, confirmando que esta é, de fato, a “ciência central”.

O câncer é comumente definido como um conjunto de mais de 200 doenças que têm em comum o crescimento e a multiplicação de células anormais que, eventualmente, se espalham por outros tecidos do corpo num processo denominado de metástase (figura 1)⁴.

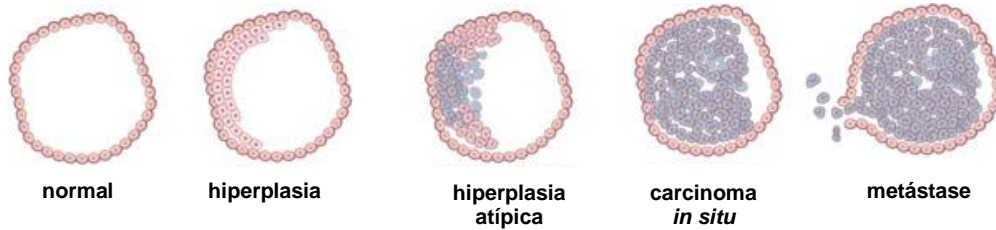


Figura 1: Surgimento e evolução das células tumorais até a metástase. Fonte: Nature Education, 2014.

Essas células anormais que dão origem ao câncer tiveram seus respectivos genes mutados. É importante salientar que essa mutação pode ocorrer por fatores externos (de risco) ou por um defeito no gene que foi herdado dos antepassados, sendo este último mais raro. Uma classe de células que tem sido um dos principais focos no estudo câncer, e que revelam a grande complexidade dessa problemática, é a classe das células-tronco tumorais (figura 2). Por serem capazes de, à semelhança das células-tronco normais, darem origem aos mais variados tipos de células de uma classe de tecido em particular, as células-tronco tumorais são as principais responsáveis pelo crescimento sustentado e descontrolado de tumores malignos, resistência a tratamentos de quimioterapia e radioterapia, além de causarem recidiva do câncer e metástase⁵.

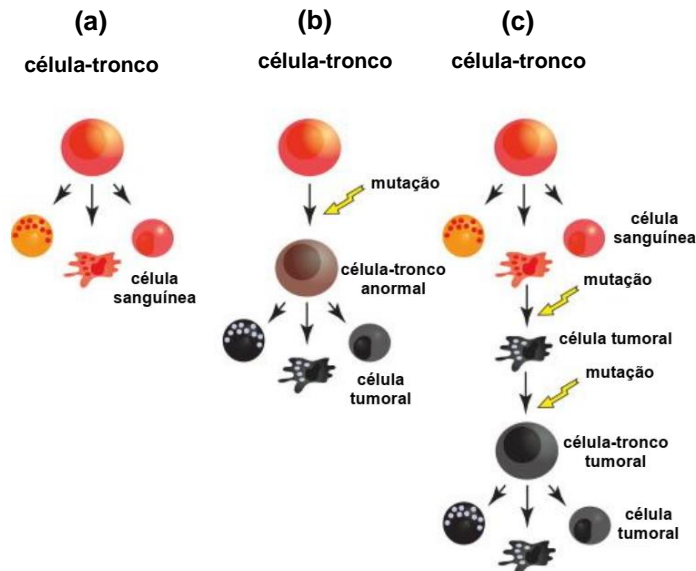
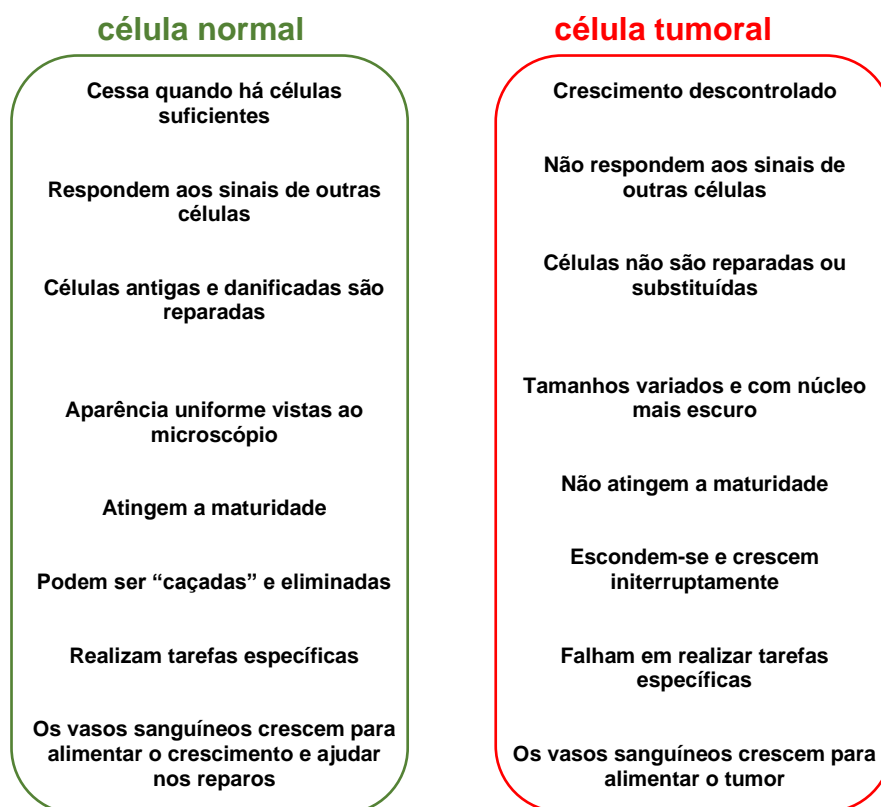


Figura 2: Processo de divisão de uma célula-tronco sanguínea normal (a). Havendo mutação na célula-tronco (b), esta se mudará em uma célula-tronco tumoral, dando origem às respectivas células tumorais do tecido em questão (sanguíneo). Em (c) é mostrada a capacidade que uma célula tumoral possui de mudar, após outra mutação, em célula-tronco tumoral, que por sua vez repetirá o processo ocorrido em (b). Fonte: Cancer Stem Cells⁵.

Clinicamente, quando o câncer se instala no organismo humano, é como se um “universo à parte” de células estranhas passasse a competir com as células normais pela sua existência no organismo humano. As células tumorais podem sim ser consideradas “à parte” pois assumem funções completamente díspares àquelas inerentes às células normais, especialmente no que concerne às características de: crescimento, comunicação, reparação e morte celular, aparência, maturação, evasão do sistema imunológico, função e suprimento de sangue⁶⁻¹⁰.

Resumidamente:



A dinâmica do surgimento, crescimento e disseminação de células tumorais através do organismo ainda é muito pouco conhecido. Recentemente, um estudo revelou um dado espantoso sobre o modo como as células tumorais circulantes se espalham, utilizando o meio de disseminação hematogênica¹¹. Foi observado que pacientes acometidos de câncer de mama experimentavam um aumento do número de células tumorais circulantes (CTCs) e do cluster CTC-WBC (célula tumoral circulante associada com glóbulos brancos) – responsáveis por causar a metástase – durante o sono, de modo que os hormônios que regulam o ritmo circadiano como melatonina, testosterona e glicocorticóides, ditam a dinâmica de geração das células

circulantes. Esse aumento é ainda mais significativo à medida que o paciente atingia os estágios mais avançados do câncer (figura 3). A associação da célula tumoral circulante com os glóbulos brancos é, atualmente, um dos principais biomarcadores que dão o indício da existência de metástase. No entanto, seu papel ainda não é conhecido, sendo apenas compreendido como um novo mecanismo usado pelas células tumorais para sua disseminação.

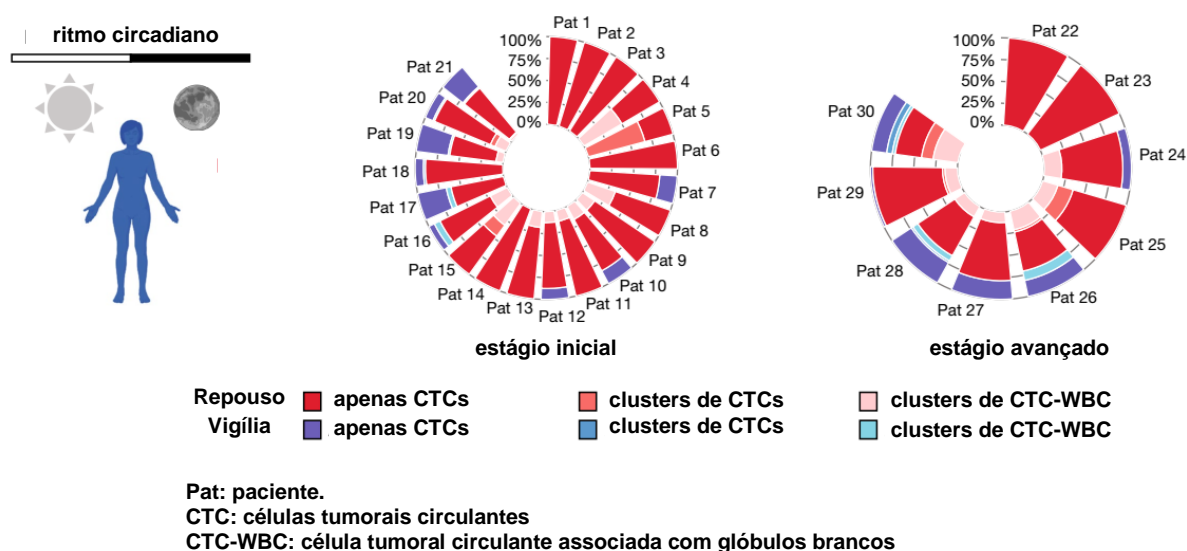


Figura 3: Histogramas radiais mostrando as porcentagens de CTCs e de clusters de CTC-WBC em 21 pacientes em estágio inicial da doença e em 9 pacientes em estágio avançado da doença, durante os períodos de repouso e de vigília. Fonte: Diamantopoulou, 2022.

Isso demonstra o impressionante caráter oportunista dessa doença, capaz de utilizar os meios mais “nobres” que o organismo possui de se recuperar e restabelecer, como o é o período do sono, para promover o mecanismo mais letal da doença: a metástase.

A classe das células-tronco tumorais, assim como a misteriosa e ao mesmo tempo assustadora dinâmica das células tumorais circulantes que desencadeiam metástase durante o sono, são exemplos que ilustram a profundidade da grande complexidade que é a problemática do câncer. À medida que pesquisas nessa área avançam, percebe-se o quanto se está distante de uma plena compreensão ou solução do problema, pelo contrário, a problemática vai ganhando um caráter sempre mais “arrojado”.

Com um estilo de vida cada vez mais propício ao surgimento dos mais diversos tipos de cânceres, homens e mulheres têm convivido por incontáveis

gerações com todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Segundo a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares. O *Global Cancer Observatory* estima que até 2040 observar-se-á um aumento de 30,2 milhões de novos casos de câncer, em ambos os sexos com idades na faixa de 0-85 anos. Em mulheres, o câncer de mama é o de maior incidência e mortalidade (figura 4, A)¹². Nos homens, o câncer de pulmão é o maior em incidência e mortalidade (figura 4, B)¹².

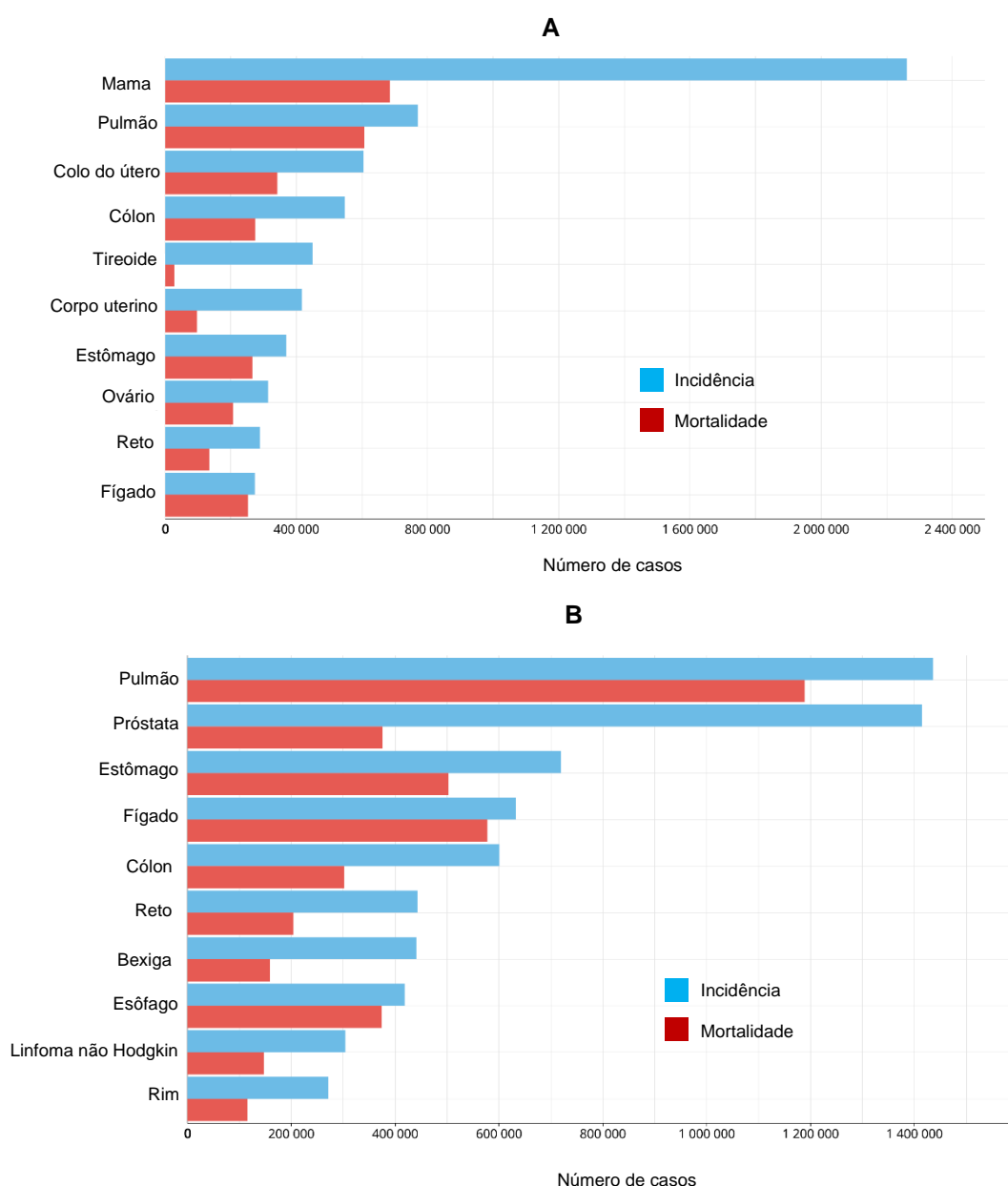


Figura 4: Número estimado de casos incidentes e mortes no mundo em 2020 para mulheres (A) e homens (B), na faixa etária 0-85 anos. Fonte: Adaptado de *Global Cancer Observatory*, 2023.

No presente momento, existem diversos tratamentos para o câncer, os seis tipos mais comuns são: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, imunoterapia e o transplante de medula óssea, o mesmo que transplante de células-tronco. A escolha do tipo de tratamento dependerá do estágio no qual o câncer se encontra, podendo ocorrer também a combinação de diferentes tratamentos. A química teve (e tem) uma imensa contribuição no desenvolvimento de substâncias quimioterápicas que promovem o cessamento ou desaceleram o crescimento de células tumorais que têm como característica inerente o rápido crescimento e divisão. Devido a particularidade dos quimioterápicos de atuarem diretamente na célula tumoral, essas substâncias auxiliam na eficácia de outros tratamentos, como por exemplo, na diminuição do tamanho do tumor antes que este seja removido por cirurgia ou radioterapia; destrói células tumorais remanescentes do tratamento por cirurgia ou radioterapia. Em suma, a quimioterapia auxilia na melhor eficácia dos demais tratamentos¹³⁻¹⁶.

2. Cisplatina: uso, resistência, toxicidade

Um passo de grande importância dado pela química no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos foi aquele de 1965 liderado por Barnett Rosenberg, então professor de química e biofísica na Universidade do Estado de Michigan, nos EUA. Rosenberg observou: sais de platina estariam exercendo um forte efeito antiproliferativo em organismos vivos. O experimento conduzido por Rosenberg consistiu no estudo do efeito da passagem da corrente elétrica em uma solução contendo bactérias *Escherichia coli*, na presença de eletrodos de platina. À medida que a corrente elétrica passava na solução, as bactérias cessavam sua replicação, porém continuavam a crescer em comprimento, cerca de 300 vezes maior do que o normal. Rosenberg inicialmente atribuiu essa ação antiproliferativa à corrente elétrica. No entanto, após estudos mais minuciosos, concluiu-se que uma das substâncias geradas a partir do eletrodo de platina era a verdadeira responsável pela ação antiproliferativa observada¹⁷. Após a identificação da substância, esta ficou então conhecida como cisplatina. Em seguida, no ano de 1970, a equipe de Rosenberg realizou experimentos *in vivo* em camundongos com a cisplatina no intuito de investigar sua capacidade de inibir a divisão celular nos tumores Sarcoma

180 e Leucemia L1210. Observou-se que a cisplatina teve uma eficácia de até 100% na inibição do crescimento desses tumores¹⁸. No ano de 1972, em parceria com o *National Cancer Institute*, deu-se início aos testes clínicos e em 1978 a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o uso da cisplatina para os cânceres de testículo e de ovário, e em 1993 para o câncer de bexiga; sendo, ainda hoje, a utilização para o câncer de testículo a mais eficaz. O espectro de atividade anticâncer da cisplatina foi crescendo progressivamente, podendo ser utilizada para outros tipos de cânceres, incluindo pulmão, aparelho gástrico, mama, cabeça, pescoço, região cervical, mesotelioma maligno e outros tumores mais raros. Concomitantemente, os efeitos indesejados do uso da cisplatina também se tornaram evidentes, especialmente a resistência (intrínseca e adquirida) e a toxicidade, sendo a nefrotoxicidade a mais comum (figura 5)¹⁹

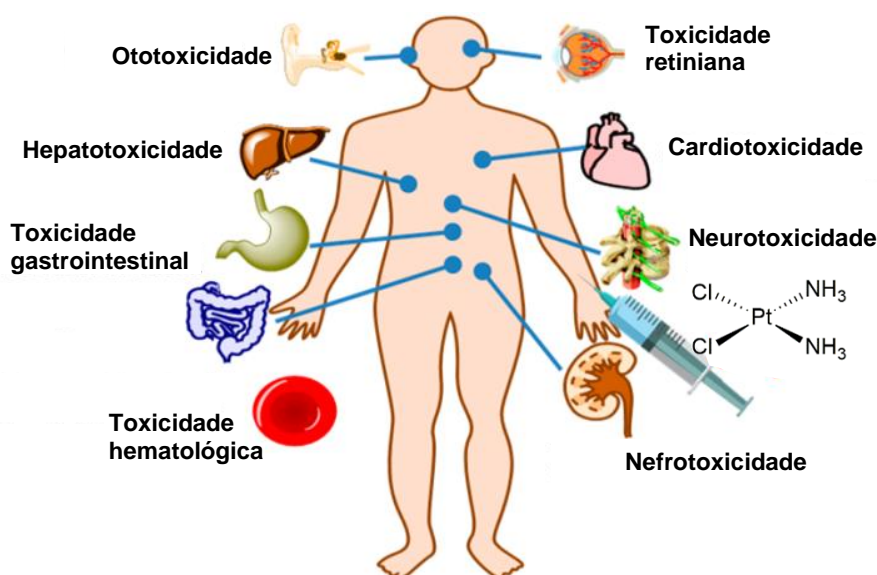


Figura 5: Exemplos das toxicidades mais comuns ocasionadas pelo uso da cisplatina. Fonte: Adaptado de Qi et al., 2019.

Para contornar essas limitações decorrentes do uso da cisplatina, se faz necessário abordar o problema a partir de considerações feitas acerca do mecanismo de ação da cisplatina – quando em meio biológico – e quais refinamentos estruturais poderiam ser feitos a fim de superar as limitações.

O mecanismo de ação da cisplatina é bastante conhecido. Com uma constituição química relativamente simples, a molécula de complexo da cisplatina pode facilmente trocar seus ligantes, transpondo assim as barreiras mais comuns do meio extra e intracelular até atingir seu alvo principal: o DNA. Ao ser administrada na

corrente sanguínea, a troca dos ligantes cloridos permite que a molécula de complexo permeie pelo interior da célula. Isso acontece devido a diferença nas concentrações de íons Cl^- do meio extra e intracelular. No citoplasma celular a concentração de Cl^- é menor do que no exterior, favorecendo o transporte passivo da cisplatina para o interior da célula (figura 6)²⁰.

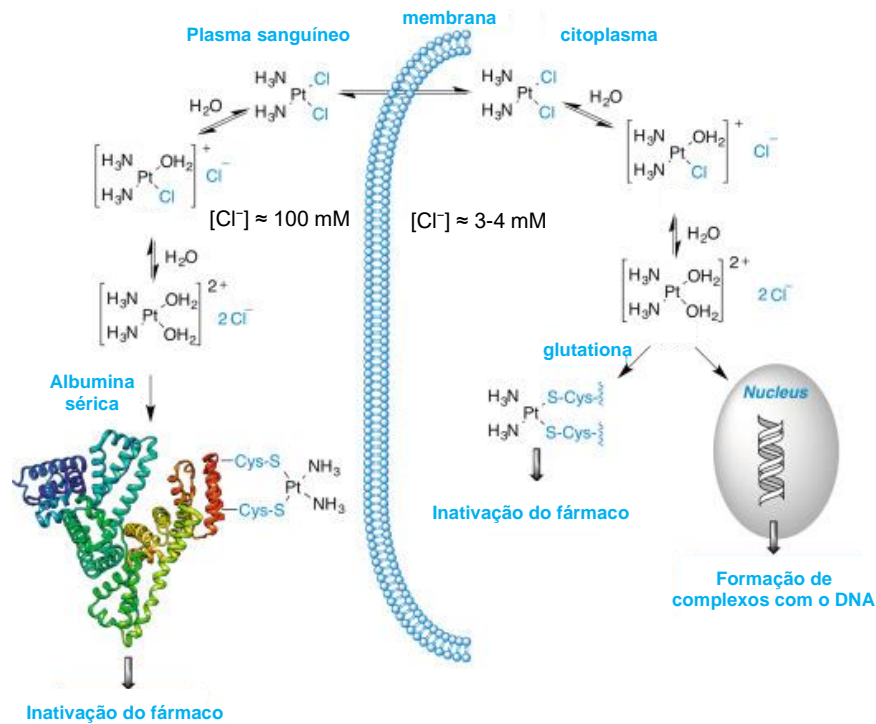


Figura 6: Mecanismo hidrolítico e potenciais alvos moleculares da cisplatina no interior das células. Fonte: Adaptado de Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs.

A menor concentração de íons cloreto no interior da célula promove a troca dos ligantes clorido por ligantes aqua, também como consequência do efeito *trans* exercido pelo ligante amino no clorido. É devido a essa hidrólise da molécula de complexo da cisplatina, com formação dos aquacomplexos, que esta é capaz de reagir com grande facilidade com alvos biomoleculares como proteínas, pequenas moléculas N,S-doadoras e DNA. Os modos de interação mais comuns da cisplatina com o DNA são mostrados na figura 7 a seguir.

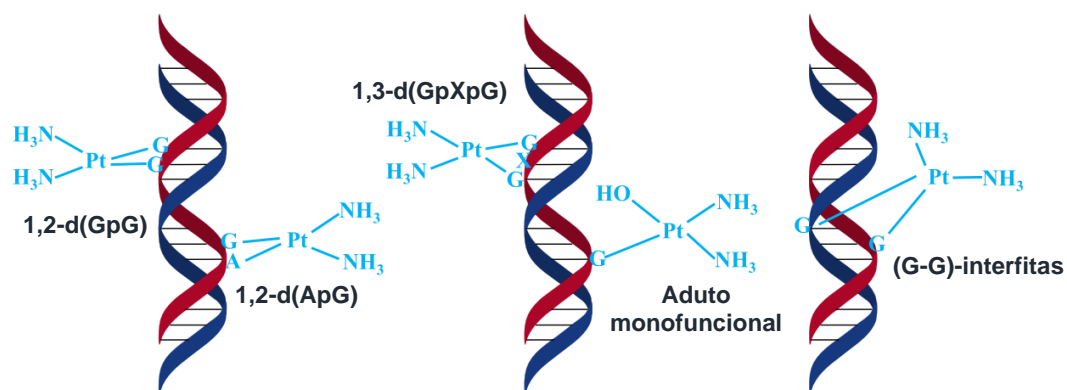


Figura 7: Complexos de ligação cruzada formados entre a cisplatina e o DNA. Fonte: Adaptado de Qi *et al.*, 2019.

Os aquacomplexos catiônicos $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ dificilmente seriam capazes de se difundirem no interior da célula sem antes se ligarem a esses alvos biomoleculares. No entanto, essa não-exclusividade da cisplatina pela biomolécula alvo (DNA) é o fator primário responsável por sua toxicidade e resistência^{21,22}. Experimentos demonstraram que, após a administração no meio celular, apenas 10% da cisplatina se liga ao DNA²³.

A atividade genotóxica/anticâncer da cisplatina, caracterizada pela indução das células tumorais à apoptose, é comumente associada à sua interação com o DNA nuclear. No entanto, novos estudos têm demonstrado que o DNA mitocondrial é um dos principais alvos da cisplatina e que mais contribui para a nefrotoxicidade. O rim possui uma alta densidade de mitocôndrias no túbulo renal proximal e a cisplatina tende a se ligar ao DNA presente nas mitocôndrias, causando um inchaço das mitocôndrias, sendo esta uma das primeiras alterações histopatológicas devido ao uso clínico da cisplatina. Além disso, o DNA mitocondrial tem uma capacidade de reparação muito pequena, o que aumenta a sensibilidade à toxicidade da cisplatina¹⁹. A elevada nefrotoxicidade foi alvo de intensos estudos desde antes da aprovação do uso clínico da cisplatina pela FDA em 1978. Ainda em 1977 um grupo de pesquisa liderado pelo Dr. Esteban Cvitkovic – que mais tarde lideraria também os estudos clínicos com oxaliplatina²⁴ –, associou a toxicidade renal da cisplatina com aquela observada quando há intoxicação por metais pesados, tal como o mercúrio, na qual o uso do diurético osmótico manitol reduziria a toxicidade renal aguda observada. Nesta correlação, experimentos *in vivo* em cães administrados com cisplatina e manitol revelaram uma inibição da toxicidade renal²⁵. A presença de íons cloreto durante a diurese poderia estar inibindo a hidrólise da

cisplatina, reduzindo assim sua toxicidade¹⁷. Essa foi uma evidência indireta de que uma possível manipulação estrutural na molécula de complexo da cisplatina poderia causar um efeito direto na redução da nefrotoxicidade, como também nos demais efeitos indesejados. A partir dessas manipulações ou refinamentos estruturais novas gerações de metalofármacos derivados da cisplatina foram desenvolvidos, sendo a oxaliplatina, de terceira geração, capaz de evitar a nefrotoxicidade^{26,27}.

Na figura 8 a seguir é mostrada uma lista, juntamente com a cisplatina, das gerações posteriores de metalofármacos que estão atualmente em uso^{28,29}.

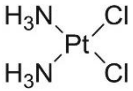
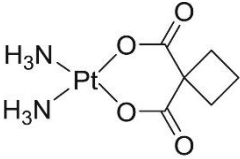
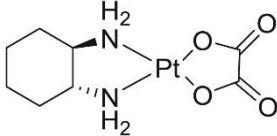
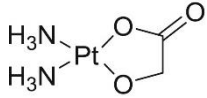
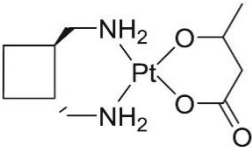
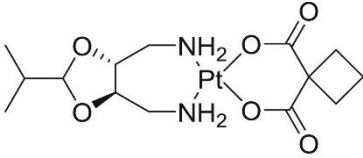
Metalofármaco	Geração	DLT (mais comum)	País com uso aprovado
 Cisplatina	Primeira	Nefrotoxicidade	Global
 Carboplatina	Segunda	Hemotoxicidade	Global
 Oxaliplatina	Terceira	Neurotoxicidade	Global
 Nedaplatina	Segunda	Mielossupressão	Japão
 Lobaplatina	Terceira	Trombocitopenia	China
 Heptaplatina	Terceira	Nefrotoxicidade	Coreia

Figura 8: Metalofármacos anticâncer que estão em uso clínico atualmente no mundo ou em alguns países. DLT = Toxicidade Limitante de Dose. Fonte: Autor.

É importante destacar que muitas outras substâncias derivadas da cisplatina também se encontram atualmente em fase de testes clínicos^{28,29}. Certamente, as potencialidades inspiradoras da cisplatina ainda não se exauriram, sendo, portanto, um excelente ponto de partida para a obtenção de novos e poderosos metalofármacos antitumorais.

Os refinamentos estruturais da cisplatina que originaram e originam um grande número de potenciais metalofármacos, tiveram como característica unânime a substituição dos ligantes da esfera de coordenação da platina. Mas uma outra aproximação tem se revelado bastante promissora: a substituição da platina pelo paládio. Devido às similaridades químicas entre os íons Pt(II) e Pd(II), como o raio atômico da Pt(II) (2,13 Å) e Pd(II) (2,10 Å), assim como as configurações eletrônicas do tipo d^8 , o paládio se mostra um metal estratégico no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos com baixa toxicidade quando comparados àqueles derivados da cisplatina. No entanto, diferentemente da cisplatina, o composto *cis*-[Pd(NH₃)₂Cl₂] não possui atividade anticâncer devido a sua rápida troca de ligantes, cerca de 10⁵ vezes mais rápida do que *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂], não permitindo que o complexo chegue intacto ao DNA, principal alvo biológico da cisplatina³⁰. Essa maior labilidade dos complexos de paládio pode ser atribuída, dentre outras razões, à facilidade que o paládio tem de aumentar seu número de coordenação devido à pequena diferença energética existente entre os níveis $(n - 1)d \rightarrow np$, o que facilita uma possível reibridização. Esta diferença energética, nos metais de transição, diminui na seguinte ordem: 5d > 4d > 3d. Logo, como a platina(II) possui configuração 5d⁸, seus complexos serão mais estáveis do que aqueles de paládio(II) que possui configuração 4d⁸.³¹

Na química de coordenação, a estabilidade do centro metálico será proporcionada, principalmente, pela natureza do ligante. E ligantes do tipo polidentados quelantes podem facilmente dar origem a complexos estáveis de paládio. Os complexos organometálicos ciclometalados têm sido bastante utilizados, pois o anel ciclometalado é formado por ligações $\sigma(\text{Pd} - \text{C})$ além de ligações com heteroátomos, que estabilizam o centro metálico de Pd(II). Na próxima seção serão abordados conceitos básicos da química dos compostos organometálicos ciclopaladados e como explorar essas características no contexto do planejamento de novos metalofármacos.

Conceitos básicos

1. Compostos organometálicos e ciclometalados do grupo 10

Os compostos organometálicos são definidos como espécies químicas que possuem ao menos uma ligação química metal-carbono (M – C), definição esta que pode ser ampliada ao considerar também os compostos organometalóides, caracterizados pela presença de ligação E – C, onde E = B, Si, Ge, Sn, As, Sb, Te³².

A polaridade característica da ligação química metal-carbono ($M^{\delta+} - C^{\delta-}$) confere certa singularidade aos compostos organometálicos, pois é o que distingue esses compostos daqueles puramente orgânicos onde o carbono, geralmente mais eletropositivo, encontra-se ligado a elementos não-metálicos como nitrogênio, oxigênio, flúor, cloro ou bromo, por exemplo. Dependendo da natureza do metal, essa ligação poderá ser de caráter iônico ou covalente, tornando a porção carbaniônica mais ou menos susceptível ao ataque por eletrófilos, como também o metal ao ataque por nucleófilos. Essa característica da ligação organometálica é um dos aspectos mais importantes que governam a reatividade desses compostos³³.

A química de coordenação inorgânica e organometálica, com seus complexos de metais de transição, expandiu consideravelmente a compreensão até então existente acerca da natureza da ligação química observada nessa classe de compostos. Desde o surgimento dos primeiros complexos, muitos esforços foram empreendidos na tentativa de explicar suas respectivas estruturas e composição. Devido à presença de orbitais *d* com energia e simetria adequadas para se sobreporem com os orbitais dos ligantes, os complexos com metais de transição são uma revolução em termos de possibilidades estruturais, de reatividade e aplicação. O primeiro complexo organometálico de metal de transição, denominado sal de Zeise (figura 9, (a)), permaneceu um mistério por muitas décadas após seu descobrimento. A presença da ligação sinérgica do tipo retrodoação (figura 9, (b)) entre o átomo metálico de platina e o ligante eteno, além da geometria quadrática plana do complexo, é o que confere beleza e elegância a esse complexo³⁴.

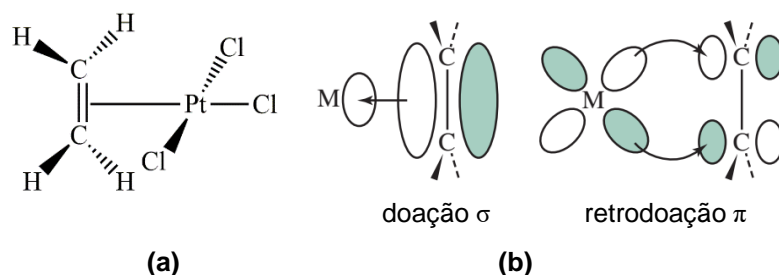


Figura 9: Estrutura do ânion $[\text{Pt}(\eta^2\text{-C}_2\text{H}_4)(\text{Cl}_3)]^-$ do sal de Zeise em (a). Representação da ligação sinérgica de retrodoação em (b). Fonte: Adaptado de Miessler 2014.

A elucidação estrutural do sal de Zeise por difração de nêutrons revela, de forma precisa, algumas das principais particularidades dos complexos quadráticos planos³⁵. A coordenação do ligante eteno através da dupla ligação ocorre de modo que seus carbonos permaneçam equidistantes da Pt(II). A retrodoação $d\pi\text{-}p\pi^*$ é confirmada pelo alongamento da ligação C – C, quando comparada com o eteno na forma livre. Além disso, a forte influência *trans* do ligante eteno resulta em um alongamento da ligação Pt – Cl *trans* ao eteno.

A investigação da atividade biológica do sal de Zeise tem demonstrado sua capacidade de inibir a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2), associada com o desenvolvimento, proliferação e metástase de células tumorais. Essa inibição enzimática ocorre especialmente devido ao efeito *trans* exercido pelo eteno no ligante clorido, possibilitando a troca desse clorido por resíduos de aminoácidos presentes na enzima COX-2 (figura 10)³⁶⁻³⁷.

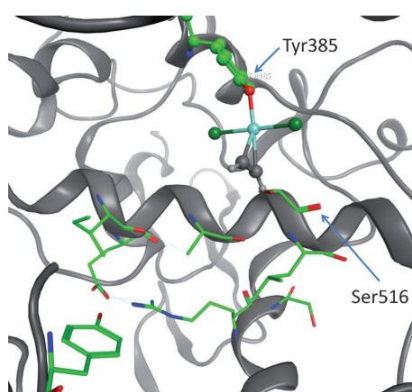


Figura 10: Interações dos resíduos Tyr385 e Ser516 do sítio ativo da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) com o fragmento do sal de Zeise. Fonte: Gust 2015.

Nesse contexto da atividade biológica do sal de Zeise, é interessante destacar as diferenças significativas observadas entre o sal de Zeise e seu análogo *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$, a cisplatina. Sintetizado no ano de 1845, duas décadas após a

síntese do sal de Zeise, a cisplatina se tornou o metalofármaco mais utilizado no tratamento do câncer³⁸. Seu mecanismo de ação é predominantemente genotóxico, ou seja, o complexo *cis*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂] interage diretamente com as fitas do DNA da célula tumoral, impedindo sua replicação. No entanto, apesar das similaridades estruturais com o sal de Zeise, a cisplatina é praticamente inativa quanto a sua capacidade de inibir a enzima COX-2, enquanto o sal de Zeise não apresenta atividade antitumoral com mecanismo genotóxico. Embora ambos os complexos sigam, nos primeiros estágios dos seus respectivos mecanismos de ação, os mesmos eventos químico-estruturais (hidrólise do ligante em *trans*, interação com a biomolécula etc.), uma simples diferença na natureza dos ligantes é capaz de conduzir esses complexos por vias distintas de atuação, porém com a mesma finalidade: combater células tumorais. Assim, a importância de sintonizar a natureza do ligante, com a natureza do metal e a geometria do complexo, por exemplo, se torna evidente quando se pretende obter complexos inorgânicos e organometálicos para uma determinada aplicação.

Os complexos organometálicos do tipo ciclometalados, nos quais a ligação M – C é estabilizada pela coordenação intramolecular de outro(s) átomo(s) ligante(s) ao centro metálico M, são repletos de características que fazem desses compostos uma classe muito especial na química de coordenação organometálica. O primeiro ciclometalado de metal de transição, sintetizado em 1963 (figura 11)³⁹, não foi imediatamente denominado de ciclometalado devido, principalmente, às incertezas acerca do modo como os ligantes se coordenavam ao centro metálico de níquel, como também da natureza, ou mesmo existência, da ligação σ (M – C) característica dessa classe de compostos.

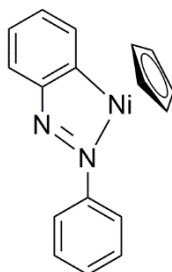


Figura 11: Esquema estrutural do primeiro complexo ciclometalado sintetizado resultante da reação entre o metaloceno Ni(η^5 -C₅H₅)₂ e azobenzeno. Fonte: Autor.

Em 1965, uma série de novos ciclometalados, com derivados do azobenzeno e com os metais paládio e platina, foram sintetizados⁴⁰. Esses novos

complexos, além de contribuírem para uma completa descrição da ciclometalação dos metais do grupo 10, impulsionaram definitivamente a classificação e sistematização dos ciclometalados, assim como a investigação da natureza da ligação $\sigma(M - C)$ e as características reacionais dessa classe de compostos. O experimento realizado para a constatação da existência da ligação $M - C$ agregou também a importante informação de que ciclometalados derivados de compostos aromáticos são formados por ortometalação, ou seja, ao realizar a ciclometalação de um composto aromático observar-se-á a coordenação do carbono que esteja na posição *orto* ao substituinte que realiza a coordenação intramolecular (figura 12). Assim, considerando a ciclometalação de compostos aromáticos, ortometalado torna-se sinônimo de ciclometalado.

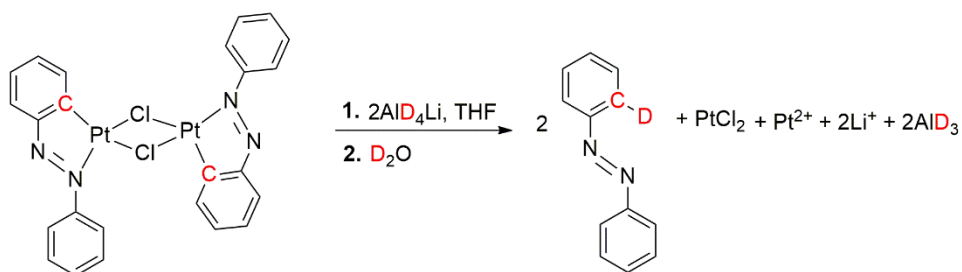


Figura 12: Reação de redução do azobenzene com deutereto de lítio e alumínio (AlD_4Li). A presença do deutério ligado ao carbono *orto* ao substituinte do anel é prontamente verificada por RMN de 1H , confirmando assim a natureza ortometalada do complexo. Fonte: Autor.

De forma geral, para que uma ciclometalação aconteça, é necessária a ativação prévia da ligação $C - H$, que ocorre como consequência da coordenação reversível do átomo ligante Y ao centro metálico M (figura 13)⁴⁴. Essa ativação favorece a abstração do próton, resultando na formação da ligação $\sigma(M - C)$ ⁴¹.

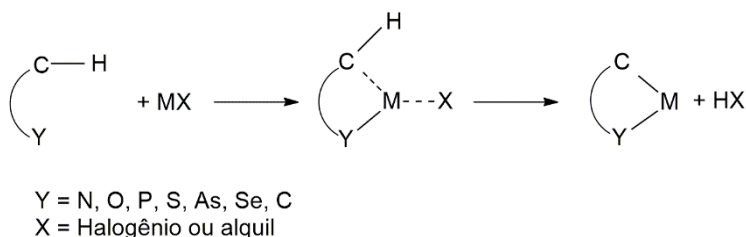


Figura 13: Esquema geral de uma reação de ciclometalação. Fonte: Adaptado de Meseras 2005.

A reação de ortometalação consiste na formação de uma ligação $\sigma(M - C)$ decorrente da abstração do próton de um substrato aromático. A coordenação do átomo Y ao centro metálico induz a abstração do próton diretamente ligado ao

carbono *orto* ao grupo Y. É exatamente devido a essa regioseletividade que a ortometalação é possível. A ciclometalação com os metais M^{2+} do grupo 10 deve acontecer de modo que o complexo resultante tenha geometria quadrática plana, a fim de que os ângulos de ligação fiquem próximos dos 90° , valor ideal para essa geometria, pois dessa forma é possível também acomodar melhor os átomos hibridizados sp^2 e sp^3 do grupo ortometalado que possuem ângulos ideais na faixa de $109-120^\circ$. Para que esses requisitos sejam satisfeitos, o tamanho ideal do anel ciclometalado deve ser de 5 ou 6 membros. Como já mencionado, devido a polaridade da ligação M – C, esta pode se tornar susceptível ao ataque tanto por eletrófilos como por nucleófilos, mas a formação do ciclometalado implica na formação de um anel quelato, então o efeito quelato resultante confere grande estabilidade ao anel ciclometalado.

A ativação da ligação C – H é um dos tópicos mais importantes da química organometálica, e a reação de ciclometalação é um dos meios mais eficazes para esse fim. Na química são muitas as áreas que exploram os ciclometalados, como por exemplo na química medicinal, na catálise e na síntese orgânica. Dentre os três metais do grupo 10, o paládio é o metal mais amplamente utilizado na síntese desses compostos. No entanto, devido a sua cinética característica, sua utilização pode se tornar desafiadora. No exemplo mostrado na figura 12, os autores escolheram realizar o experimento com o complexo de platina, afirmando também que as sínteses para obtenção dos ciclometalados de paládio se mostraram cineticamente mais rápidas do que aquelas com a platina. É muito provável que isso possa ter gerado consequências no momento da análise por RMN, por exemplo, pois se determinado evento a ser analisado ocorrer em uma faixa de tempo muito rápida e que esteja fora do limite de detecção do experimento, não será possível obter um resultado analítico satisfatório. Essa maior cinética de troca dos ligantes, comum aos complexos de paládio, se comparados aos de platina, é uma característica que tem sido observada desde os sistemas mais simples como *cis*- $[Pt(NH_3)_2(Cl)_2]$ (cisplatina) e *cis*- $[Pd(NH_3)_2(Cl)_2]$, e que se tornou um dos principais desafios a serem transpostos na obtenção de complexos de paládio estáveis. Ao sintonizar a natureza dos átomos ligantes com o efeito quelato que a ciclometalação promove, é possível aumentar a estabilidade dos complexos de paládio⁴²⁻⁴⁴.

Apesar da estabilidade do anel ciclometalado geralmente ser maior naqueles de 5 membros do que nos de 6 ou 4 membros, mais uma vez a sintonização da natureza dos átomos ou grupos coordenantes com a formação do anel quelato desempenha um papel fundamental na obtenção do ciclometalado estável⁴⁵. Na figura 13 a seguir são mostrados dois complexos de paládio, sendo aquele em (b) um ciclometalado de 6 membros³⁴. Ambos os complexos tiveram suas respectivas estruturas confirmadas por DRX em monocristal. É interessante ressaltar que o complexo em (a), embora não seja um ciclometalado, provém de uma reação de clivagem do dímero ciclometalado $[Pd(C^2,N\text{-bzox})(\mu\text{-Cl})]_2$, onde bzox = benzaldeído-oxima, com a difosfina 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (Dppf) que se coordena na forma quelante ao átomo de paládio(II)⁴⁶.

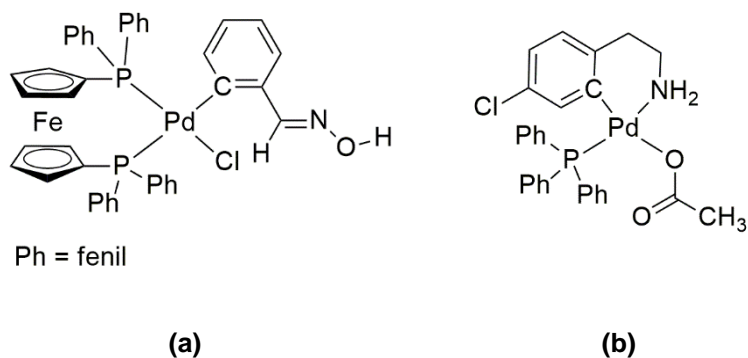


Figura 13: Em (a) é mostrado um complexo organometálico no qual seu anel ciclometalado sofreu uma abertura como consequência da coordenação bidentada do ligante Dppf. Em (b) é representado um ciclometalado de 6 membros. Fonte: Autor.

O exemplo mostrado na figura 13 é bastante apropriado para demonstrar a dependência da estabilidade de um anel ciclometalado com a natureza dos átomos ou grupos ligantes que estão posicionados em *trans*. No complexo em (a), embora inicialmente fosse um ciclometalado de 5 membros, o efeito *trans* exercido pelo átomo de fósforo da difosfina no átomo de nitrogênio do ciclometalado foi suficiente para causar a abertura do anel. Além disso, deve-se considerar também o efeito quelato dessa difosfina quando coordenada no modo bidentado. No ciclometalado em (b), a presença do ligante monofosfínico trifetilfosfina não foi capaz de ocasionar a abertura do anel ciclometalado de 6 membros, mesmo este sendo considerado menos estável do que um de 5 membros. Com isso, é possível concluir que a ortometalação se apresenta como um método promissor para a obtenção de ciclometalados de Pd(II) estáveis.

2. Ortometalados de paládio – Ortopaladados

Os metais de um mesmo grupo da tabela periódica são frequentemente descobertos juntos, podendo ainda acontecer de serem encontrados também os metais dos grupos imediatamente vizinhos. O paládio teve sua descoberta praticamente de forma acidental. No início de 1800, um trabalho em conjunto entre os cientistas William Hyde Wollaston e Smithson Tennant impulsionou o refino e a fabricação da platina. Com o objetivo de explorar potenciais minas de platina, Wollaston se dedicou ao estudo de algumas regiões da América do Sul onde, em 1803, veio a descobrir o metal paládio e logo depois, em 1804, o metal ródio^{47,48}. De acordo com o International Platinum Group Metals Association, nas minas nativas de platina, como aquelas da América do Sul, o metal paládio pode ser encontrado associado com a platina em minerais como a cooperita (Pt,Pd)S e a moncheita (Pt,Pd)(Te,Bi)₂.⁴⁹ Desde então, a associação do paládio com a platina tem sido muito além da constituição mineral natural de ambos os elementos.

Pertencente ao grupo 10 da tabela periódica, o paládio teve seu caráter reacional por vezes estudado em conjunto com os elementos desse grupo, o que permitiu traçar um perfil químico de um metal com propriedades únicas, tal como uma extensa atuação catalítica, podendo até mesmo ser considerado como o metal nobre com o caráter catalítico mais bem estudado, e fazendo com que pesquisadores granjeassem um prêmio Nobel por reações inéditas tendo o paládio como único protagonista⁵⁰. Atualmente, os catalisadores de paládio capazes de reagir com o metano não queimado de carros movidos a GNV têm sido um dos principais focos no contexto da redução de gases de efeito estufa, pois estima-se que o gás CH₄ tenha um potencial de cerca de 86 vezes maior do que o gás CO₂ de contribuir para o aumento do aquecimento global. E, não surpreendentemente, a associação da platina em catalisadores de paládio que oxidam o metano, como o Pd/CeO₂, que após a associação torna-se PtPd/CeO₂, aumenta consideravelmente o desempenho catalítico do paládio devido à influência da platina no estado eletrônico do paládio, embora o mecanismo, por ora, não tenha sido esclarecido⁵¹. Ainda como exemplo de características reacionais que fazem parte do perfil químico do paládio, as reações de substituição eletrofílica em sistemas aromáticos, ou ortopaladação, ganharam destaque após o trabalho pioneiro de Cope e Siekman que investigou a

natureza da ligação ortometalada $\sigma(M - C)$, mais precisamente no sistema ciclometalado de platina, pois o sistema com paládio se mostrou mais difícil de manipular (figura 4). Após este trabalho, o paládio se revelou como um metal que necessitaria de estudos mais minuciosos que auxiliassem numa melhor compreensão do seu comportamento reacional, motivando assim o desenvolvimento da química dos ortopaladados. As diferenças observadas na ortometalação dos derivados do azobenzeno com paládio ou platina, por exemplo, foram definitivamente estabelecidas pela utilização do azobenzeno na forma de organometálico de mercúrio. Essa estratégia promoveu a obtenção do dímero de paládio com rendimento quantitativo, porém foi ineficiente para obter qualquer quantidade significativa do dímero de platina (figura 14)⁵².

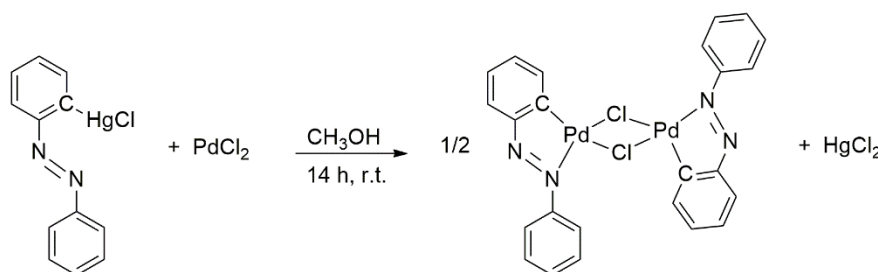


Figura 14: Esquema reacional da síntese do dímero de paládio a partir de um derivado organomercurio do azobenzeno. Fonte: Autor.

Nesta reação de obtenção do dímero de paládio com azobenzeno a partir do organomercurio, uma das características mais importantes acerca da reatividade do paládio que se pode notar é seu caráter eletrofílico. É possível deduzir essa informação se se considerar que a ligação química $Hg - C(sp^2)$ possui um caráter covalente pois as eletronegatividades de ambos os elementos são similares. Assim, essa ligação organometálica $Hg - C$ possui certa estabilidade, sendo estável, por exemplo, ao ar e à umidade. Além disso, não apresenta uma tendência para reagir com os eletrófilos orgânicos comuns, tais como haletos de alquila e compostos carbonílicos. Portanto, ao observar a especificidade dessa ligação $Hg - C$ de reagir com o paládio, é possível concluir que o paládio é um bom eletrófilo⁵³. O organomercurio do azobenzeno pode ser considerado uma peça-chave para a compreensão do modo como o paládio é adicionado a um anel aromático. De forma geral, a adição do mercúrio ao benzeno se dá através de uma substituição eletrofílica aromática (figura 15). Se houver um substituinte coordenante no anel,

essa adição será exatamente na posição *orto*, gerando um ortometalado, como observado no organomercúrio do azobenzeno.

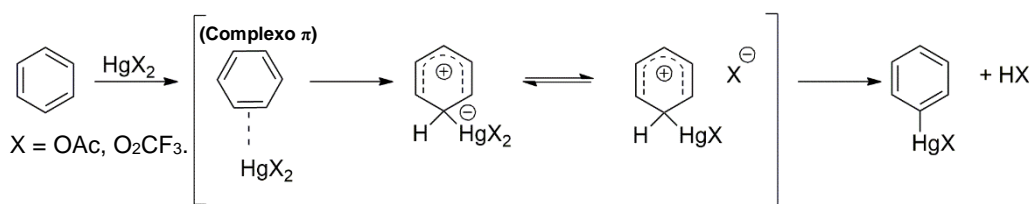


Figura 15: Adição eletrofílica do mercúrio ao anel benzênico. A formação do complexo π auxilia na formação da ligação $\sigma(\text{Hg} - \text{C})$. Fonte: Autor.

A utilização estratégica do organomercúrio do azobenzeno para a obtenção do dímero de paládio (figura 14) permite tirar duas conclusões de suma importância sobre a formação de um ortometalado de Pd(II): a adição do paládio ao anel aromático é, de fato, regioseletiva, já que apenas o produto ortometalado é obtido; o mecanismo de adição do paládio é idêntico ao observado com o mercúrio, podendo existir algumas variações mecanísticas, especificamente no modo de ativação da ligação C – H. Essa última conclusão é comprovada pelo primeiro estudo inédito feito acerca do mecanismo da reação de formação de um ortometalado de Pd(II), e que se tornou o mecanismo mais bem estabelecido (figura 16)⁵⁴.

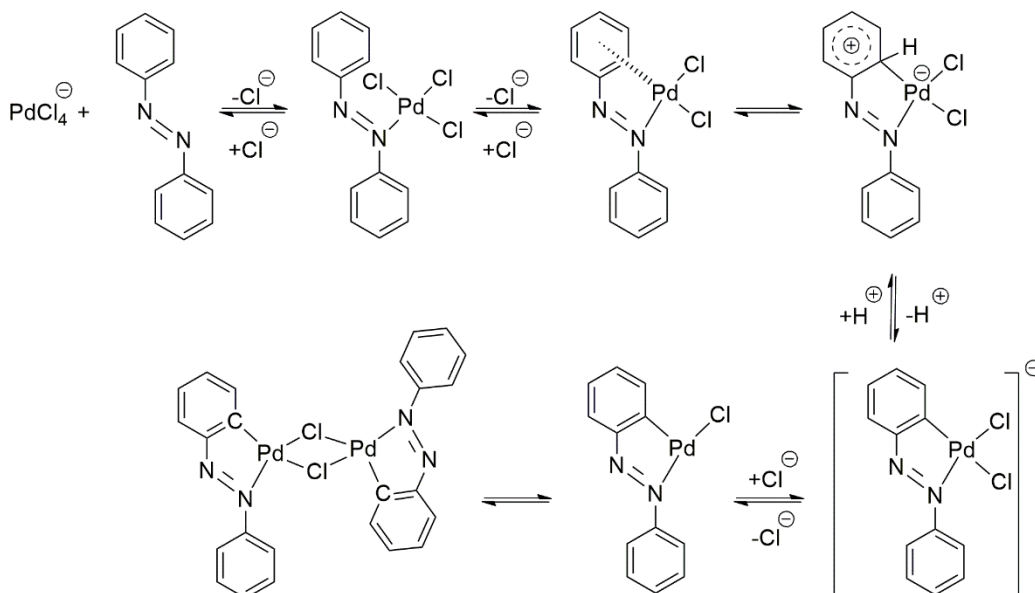


Figura 16: Mecanismo de ortopaladação através de substituição eletrofílica aromática com ativação da ligação C-H por meio da formação de complexo π . Fonte: Adaptado de Parshall 1970.

Nesta proposta de mecanismo, a ativação da ligação C – H ocorre no momento da formação do complexo π entre o anel a ser ortometalado e o paládio.

Existe também uma segunda via de ativação da ligação C – H e que determina o tamanho do anel ciclometalado que será gerado. Esta segunda via de ativação se dá através da formação de uma ligação agóstica entre o hidrogênio do carbono *orto* e o centro metálico (figura 17, B)⁵⁵.

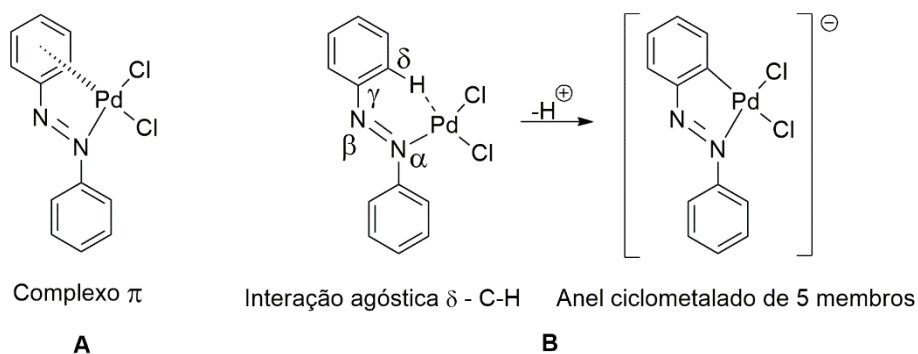


Figura 17: Modos de ativação da ligação C – H: formação de complexo π em A e interação agóstica δ (C – H) em B.

Por definição, os complexos ciclopaladados podem ser classificados como CY ou YCY, onde Y é comumente um heteroátomo ou, mais raramente, outro átomo de carbono (figura 18)⁴¹. O tamanho do anel ciclopaladado da classe CY varia de 3 a 11 membros, sendo os ciclopaladados de 5 ou 6 membros os mais comuns e estáveis.

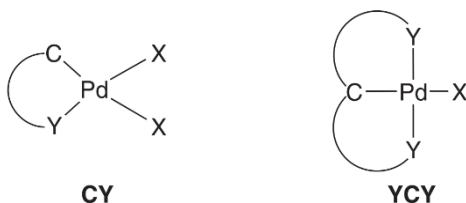


Figura 18: Classificação dos ciclopaladados em CY e YCY. Outros átomos ou grupos ligantes são representados por X.

Os ciclopaladados da classe YCY são denominados complexos do tipo pinça. São encontrados tanto na forma simétrica, ou seja, dois anéis de 5 membros ou dois anéis de 6 membros; como também assimétrica, tendo um anel de 5 e outro de 6 membros⁴¹. Por razões práticas, não será feita uma descrição mais detalhada sobre os ciclopaladados YCY pois estão fora do escopo desse trabalho de tese.

O produto dimérico ortopaladado obtido por meio de ciclometalação pode dar origem a outros derivados ortopaladados (figura 19). Na transciclometalação, o anel ortometalado do dímero pode ser substituído por outro anel ao escolher uma molécula (C[^]Y') que seja menos básica e mais mole do que a anterior (C[^]Y). Através

da reação de metátese, as espécies em ponte, geralmente haletos ou pseudohaletos, podem ser substituídos por outros haletos, pseudohaletos e CO, por exemplo. As reações de clivagem geram monômeros com propriedades especiais, estas introduzidas pela escolha adequada do ligante L.

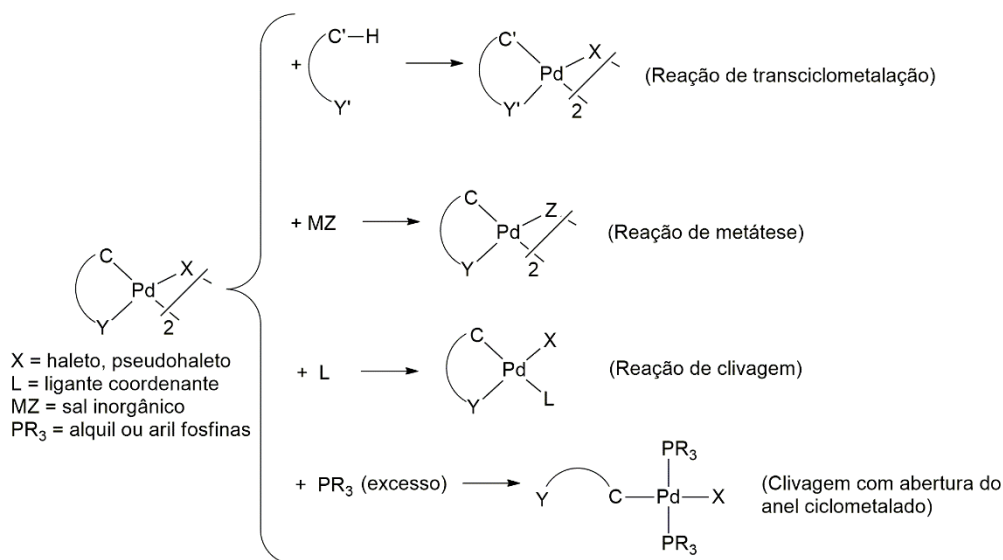


Figura 19: Algumas das reações mais comuns dos ciclopaladados utilizando um composto dimérico como precursor. Fonte: Autor.

O exemplo mostrado no quarto tipo de reação, utilizando excesso de fosfina para clivagem e abertura do anel ciclometalado, ilustra uma das formas mais primitivas de comprovação da formação da ligação $\sigma(\text{Pd} - \text{C})$ ⁵⁶.

A química dos ciclopaladados evoluiu significativamente a partir do momento em que uma maior atenção foi dada à influência da natureza do ligante aromático a ser ciclometalado. Certamente, a primeira indagação feita foi a de se a reação de ortometalação, especialmente com os metais Pd(II) e Pt(II), estaria limitada aos derivados do azobenzeno⁵⁷. Essa influência foi extensivamente estudada com derivados da benzilamina na presença dos sais Li₂PdCl₄, PdCl₂ e K₂PtCl₄. Um experimento de competição onde, no mesmo meio reacional, *N,N*-dimetilbenzilamina e azobenzeno foram colocados para reagir na presença de Li₂PdCl₄, demonstrou que apenas o produto ortopaladado de *N,N*-dimetilbenzilamina havia sido formado, revelando assim o grande potencial dos derivados da benzilamina de serem ortopaladados. Após uma série de experimentos utilizando benzilaminas primárias, secundárias e terciárias, foram observadas as seguintes condições nas quais a reação de ortopaladação deveria satisfazer para que houvesse a formação do produto ortopaladado:

- (i) O átomo de nitrogênio do derivado benzilamina deve ser terciário;
- (ii) A adição do Pd(II) ao anel ocorre por substituição eletrofílica aromática. Portanto, benzilaminas com grupos desativadores como *p*-NO₂ devem ser evitadas;
- (iii) O anel ciclometalado formado deve ser de 5 membros.

As três observações listadas acima ficaram então conhecidas como Regras de Cope. Com o surgimento dessas regras, durante muito tempo, acreditou-se que a obtenção de ortopaladados a partir de derivados de benzilaminas primárias não seria possível. Uma comprovação da força dessa crença são os títulos audazes de alguns dos trabalhos publicados nas décadas seguintes nos quais uma sistematização adequada para a obtenção de ortopaladados de benzilaminas primárias havia sido desenvolvida:

“The First Synthesis of Six-Membered Palladacycles from Primary Amines Containing Electron-Withdrawing Substituents: End of the Limiting Rules of Cope and Friedrich on Cyclopalladation of Benzyl- and Phenethylamines”⁵⁸

“ORTHO-PALLADATION OF PRIMARY AMINES: THE MYTH DISPELLED”⁵⁹

No entanto, para o sistema estudado por Cope e Friedrich na década de 60 – benzilaminas primárias, secundárias, terciárias e sais halogenados de Pd(II) e Pt(II) – essas regras funcionam perfeitamente. Ao ser possível sintetizar ortopaladados de derivados de benzilaminas primárias através de uma rota diferente daquela proposta por Cope e Friedrich, não anula as regras por eles observadas. É razoável concluir que uma anulação das regras de Cope só seria plausível caso fosse possível sintetizar um ortopaladado de benzilamina primária utilizando o mesmo sistema por eles estudado (benzilamina primária + PdCl₂ ou K₂PdCl₄). Ironicamente – como será mostrado a seguir –, o sistema adequado para a obtenção de ortopaladados derivados de benzilaminas primárias não será adequado para obter também ortopaladados derivados de benzilaminas secundárias ou terciárias, confirmando que essas duas aproximações estratégicas de síntese antes se complementam do que se invalidam.

A partir da década de 70 surgiram os primeiros trabalhos demonstrando a obtenção de ortopaladados derivados de benzilaminas primárias e que desvelaram aquilo que é o diferencial na rota de síntese desses compostos: a utilização de

$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ ao invés dos sais halogenados Li_2PdCl_4 e PdCl_2 .⁶⁰⁻⁶¹ Assim como para as benzilaminas secundárias e terciárias foi observado um padrão de reatividade, também no sistema (benzilamina primária + $\text{Pd}(\text{OAc})_2$) logo se observou que existem certas condições que garantem o sucesso da ortopaladação:

- (i) Utilização de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ como precursor de Pd(II);
- (ii) Uma razão molar de 1:1 entre o $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ e a benzilamina primária;
- (iii) Utilização de solvente polar;
- (iv) Temperatura de reação ideal entre 60-80 °C.

De acordo com estudos mecanísticos⁶², a primeira etapa da reação é idêntica para ambos os sistemas, onde é observada a coordenação do átomo de nitrogênio ao Pd(II) (figura 20, A). No entanto, a coordenação da benzilamina primária se dá de um modo mais efetivo pois não existem grupos substituintes no átomo de nitrogênio que causariam um possível impedimento estérico. Como já mencionado, a ativação da ligação C – H está relacionada com o caráter eletrofílico do Pd(II) e esse caráter sofre uma diminuição devido a coordenação efetiva do nitrogênio da benzilamina primária ao Pd(II), ou seja, quanto mais forte for a ligação Pd – N, menor o caráter eletrofílico resultante do paládio. É nesta disposição do sistema, aparentemente conflitiva, que a combinação das condições (i-iv) promoverá a ortopaladação. O acetato de paládio é, de fato, o grande diferencial que permite ortometalar benzilaminas primárias. Sua função no ambiente reacional é tripla:

1. Devido ao seu grande volume, auxilia na solvólise do complexo A (figura 20, A – C);
2. Aumenta a eletrofilicidade do paládio, pois o complexo formado $[\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{amina})(\text{S})]$ é mais eletrofílico do que aquele $[\text{PdCl}_2(\text{amina})(\text{S})]$ do sistema de Cope e Friedrich, onde amina = benzilamina primária ou terciária;
3. Atua como uma base intramolecular auxiliando na remoção do próton (figura 20, D).

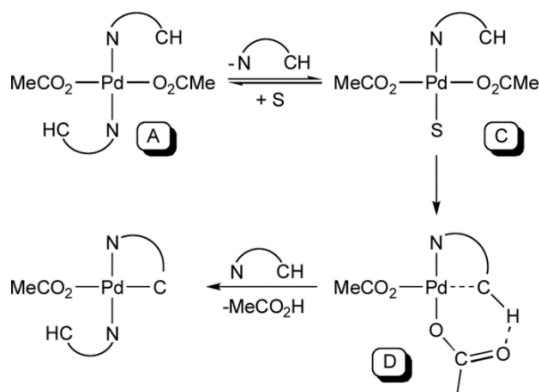


Figura 20: Proposta de mecanismo para a ortopaladação de benzilamina primária utilizando Pd(OAc)₂ em solvente polar. Fonte: Vicente 2007.

A razão molar 1:1 entre o acetato de paládio e a benzilamina garante que o complexo A (figura 20, A) reaja com mais acetato de paládio, gerando o complexo B (figura 21, B) e facilitando a solvatação do complexo em C (figura 20, A – C).

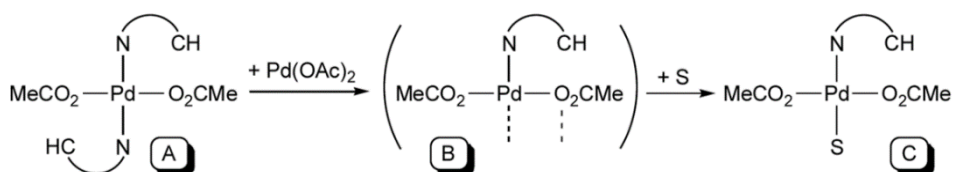


Figura 21: Processo de solvatação auxiliado pelo acetato de paládio. Fonte: Vicente 2007.

Todos esses eventos são dependentes da temperatura e, a maioria deles, de aquecimento. Apenas a formação do complexo A (figura 20, A) ocorre à temperatura ambiente (25 °C). Os demais eventos ocorrem numa faixa de 60-80 °C.

Aminas primárias aromáticas derivadas de aminoácidos, tal como a *L*-fenilalanina, ao mesmo tempo que são um alvo interessante para ortometalação, trazem consigo um elemento desafiador que é sua facilidade de formar também complexos do tipo Pd-N,O, dificultando a obtenção do ortometalado Pd-N,C (figura 22).

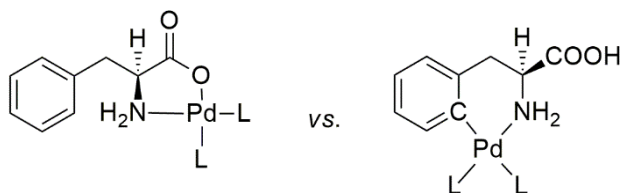


Figura 22: Possíveis modos de coordenação do aminoácido *L*-fenilalanina. L é um ligante genérico. Fonte: Autor.

É possível contornar essa limitação através de uma funcionalização do grupo carboxílico da porção ácida por meio de uma metilação, gerando a *L*-fenilalanina-

metil-éster. Isso permite que novos ortopaladados derivados de aminoácidos sejam obtidos a fim de terem suas propriedades biológicas investigadas. Esses bioligantes podem agregar propriedades importantes aos ortopaladados formados, tornando-os biologicamente promissores. A ortometalação da *L*-fenilalanina-metil-éster pode auxiliar no reconhecimento molecular e celular do complexo pois agrega a este a característica de possuir em sua composição uma biomolécula semelhante à já presente no organismo (aminoácido), de modo que o complexo poderá se difundir com maior facilidade através da membrana celular, formada principalmente de proteínas hidrofóbicas, e se ligar assim ao alvo biológico⁶³⁻⁶⁴.

Diante dessa potencialidade demonstrada pela *L*-fenilalanina-metil-éster, o presente trabalho de tese de doutorado foi dedicado à síntese e investigação biológica de ortopaladados derivados da *L*-fenilalanina-metil-éster.

3. Ortometalados com atividade biológica

Os ciclopaladados representam uma promissora classe de compostos na busca por novas substâncias biologicamente ativas frente às mais diversas doenças. Essas doenças abrangem desde aquelas consideradas negligenciadas, como a doença de chagas e a leishmaniose, por exemplo, até todo o conjunto de doenças que caracterizam o câncer. Apesar dos inúmeros compostos puramente orgânicos empregados na química medicinal e indústria farmacêutica, uma parte dos potenciais fármacos ou mesmo dos fármacos já utilizados atualmente - como os derivados da cisplatina no tratamento do câncer - são compostos de coordenação. A utilização desses compostos tem permitido superar as limitações emergentes do uso daqueles puramente orgânicos, revelando o papel importante que o centro metálico pode desempenhar na relação estrutura-atividade de fármacos (figura 23)⁶⁵.

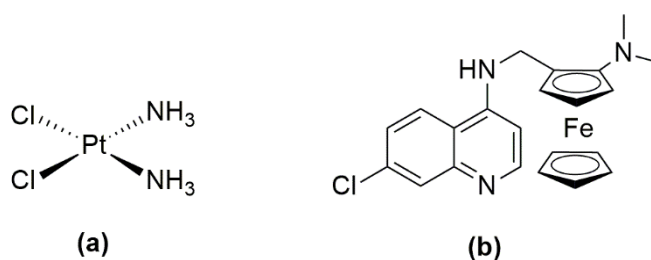


Figura 23: Fórmulas estruturais dos compostos cisplatina (a) e ferroquina (b). Sendo a cisplatina atualmente empregada no tratamento de vários tipos cânceres, enquanto a ferroquina, que se encontra atualmente na Fase II dos testes clínicos, possui atividade anticâncer e atimalarial⁶⁵.

Recentemente, alguns ortopaladados têm demonstrado grande eficácia na inibição desses tipos de cânceres, sendo, na maioria dos casos, mais eficazes do que a cisplatina⁶⁶. Estudos *in vitro* e *in vivo* da atividade antitumoral de ortopaladados (figura 24) frente à linhagem celular A2780, derivada do câncer de ovário, revelaram não somente que esses ortopaladados são capazes de inibir as células tumorais, como também de estimular a angiogênese e a anti-angiogênese⁶⁷.

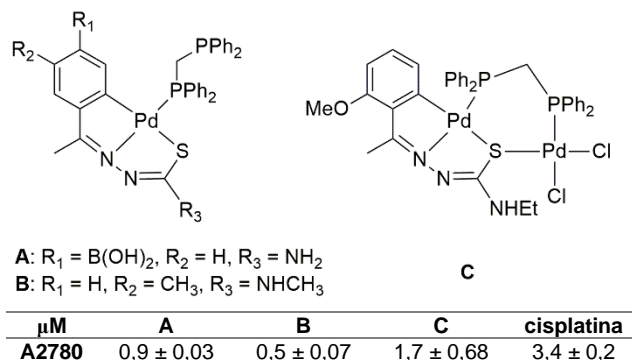


Figura 24: Ortopaladados com atividade antitumoral frente à linhagem A2780 e seus respectivos valores de IC₅₀ em μM. Fonte: Autor.

A angiogênese consiste na formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pré-existentes. É, portanto, um processo fisiológico vital pois é através dos vasos sanguíneos que o oxigênio e os nutrientes são transportados para os tecidos do corpo. Contudo, as células tumorais também se beneficiam da angiogênese já que são os vasos sanguíneos que suprem aos tumores os nutrientes necessários para crescerem. Um tumor é capaz de enviar sinais químicos ao organismo que, por sua vez, estimula a angiogênese. À medida que o tumor aumenta de tamanho, novos tecidos são atingidos, formando assim novas colônias de células tumorais por todo o organismo, processo denominado de metástase. Ao utilizar substâncias que estimulem a anti-angiogênese de células tumorais, é possível bloquear o crescimento do tumor, impedindo assim uma possível metástase. Os ensaios *in vivo* em embrião de galinha, utilizando o biomaterial CAM (The Chorioallantoic Membrane), revelaram que o ortopaladado A (figura 25, (C)) foi o que apresentou anti-angiogênese, enquanto o B (figura 25, (D)) apresentou angiogênese, podendo este último ser útil em aplicações clínicas que requeiram a angiogênese (figura 25).

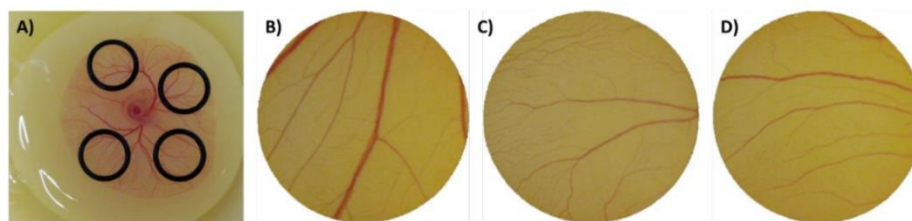


Figura 25: Ensaio da membrana cório-alantoide de ovo embrionado de galinha. (A) Imagem representativa da distribuição de O-rings no embrião de galinha. (B) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com DMSO 0,1% (v/v). (C) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com 0,9 μM do ortopaladado A. (D) Aspecto do interior do O-ring após 24 h de incubação com 0,5 μM do ortopaladado B. Fonte: Reigosa-Chamorro 2021.

Os melhores resultados, tanto *in vivo* como *in vitro*, observados para os compostos A e B, pode ser justificado pela coordenação monodentada do ligante difosfínico que, ao contrário do composto C, promove uma maior flexibilidade estrutural e uma mais fácil internalização dos complexos no meio biológico.

A ortometalação é o principal fator responsável pela maior estabilidade de um complexo ortopaladado. Outras características, desejáveis especialmente no âmbito da aplicação biológica, tal como hidrofobicidade, podem ser moduladas pelos demais ligantes que compõem a esfera de coordenação do Pd(II). A atividade antitumoral de um ortopaladado frente à linhagem celular HepG2, derivada do câncer de fígado, está relacionada com a natureza hidrofóbica do bioligante α -aminoácido fenilalanina que se coordena no modo quelante-N,O ao ortopaladado (figura 26) promovendo uma fácil e intensa difusão do complexo ao interior da célula tumoral.

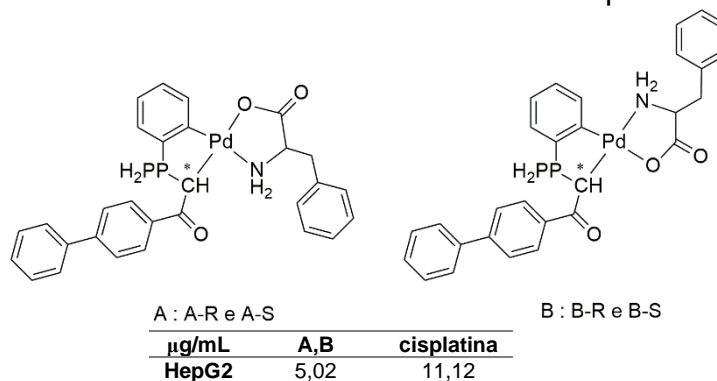


Figura 26: Ortopaladado A,B representado na forma dos seus isômeros conformacionais A e B, os quais existem na forma dos estereoisômeros R e S. Na base, valores de IC_{50} e o determinado para a cisplatina. Fonte: Autor.

Outra propriedade relevante para desenvolvimento de metalofármacos é a capacidade dos mesmos de serem solúveis ou parcialmente solúveis em água. Considerando que a maior parte do corpo humano é composta de água, uma

substância que seja solúvel ou parcialmente solúvel em água poderá ser distribuída por todo o organismo com maior facilidade. O uso de ligantes/coligantes capazes de aumentar a solubilidade dos complexos em água é uma das estratégias mais exploradas para obtenção de candidatos a metalofármacos solúveis em água. A fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamandano (PTA) (figura 27 (a)) é naturalmente solúvel em água, e sua coordenação a metais tem promovido a solubilidade em água dos complexos resultantes (figura 19 (b))⁶⁸.

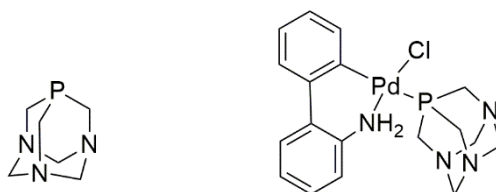


Figura 27: Representação molecular da fosfina PTA em (a). Em (b), a representação de um complexo ciclometalado de paládio tendo a PTA como um dos ligantes. Fonte: Adaptado de Lighvan 2020.

Uma das estratégias mais eficientes no planejamento racional de metalofármacos consiste no design estrutural de complexos visando a interação com biomoléculas alvo (DNA, enzimas etc.) que participam direta ou indiretamente da ação biológica investigada. Alguns estudos revelaram a relação que existe entre a resistência a metalofármacos de platina e a atividade enzimática da enzima poli[ADP-ribose] polimerase 1 ou PARP1. Esta enzima detecta a quebra das fitas do DNA causada pelos fármacos de cisplatina e seus derivados e entra em atividade tentando reparar os danos causados no DNA, gerando assim a resistência ao fármaco⁶⁹. No entanto, este tipo de resistência tem sido contornado com a utilização de complexos ciclometalados de ouro com o coligante PTA capazes de inibir a atividade da enzima PARP1 (figura 28).

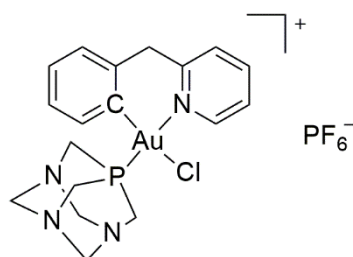


Figura 28: Complexo ciclometalado de ouro capaz de inibir a atividade da enzima PARP1 em concentração na escala de nanomolar. Fonte: Adaptado de Chaudhuri 2017.

A partir de dados experimentais da estrutura absoluta dessas biomoléculas alvo e utilizando ferramentas computacionais, é possível planejar

racionalmente uma substância para interagir em regiões específicas da biomolécula alvo de modo a inibir sua ação. Essa combinação de estratégias (sintética, computacional e biológica) permite uma correlação estrutura-atividade, otimizando as propriedades, tais como o potencial, a afinidade e a seletividade de uma substância candidata a metalofármaco.

HIPÓTESE

Nosso grupo de pesquisa possui algumas décadas de experiência na investigação das potencialidades biológicas dos complexos ciclopaladados. Em geral, dois aspectos principais são estudados quanto à influência que possam ter na atividade biológica. O primeiro aspecto é a natureza do anel ciclometalado, ou seja, qual a real contribuição que a classe de ligante ciclometalado traz na estabilidade do centro metálico de Pd(II). Outro aspecto é a influência exercida pelos demais co-ligantes, se são monodentados ou polidentados quelantes etc. Esses dois aspectos estruturais dos complexos ciclopaladados tendem sempre a modular as propriedades observadas da correlação estrutura-atividade. Além disso, a geometria quadrática plana dos complexos de Pd(II) permite que as características eletrônicas e estéricas do complexo possam ser facilmente manipuladas através da escolha de ligantes específicos que agregam propriedades específicas aos complexos.

A atividade antitumoral de ortopaladados com co-ligantes N-, S- e P-doadores e halogênios tem demonstrado ser bastante promissora. O ortopaladado derivado da *N,N*-dimetilbenzilamina (dmba) é o mais bem estudado pelo nosso grupo de pesquisa e, talvez, de toda a história dos ortopaladados desde sua obtenção por Cope e Friedrich em 1968⁵⁷. Os complexos ortopaladados [Pd(C^2,N -dmba)(X)(tu)], onde X = Cl, Br, I; e tu = tiouréia, foram testados frente às células de adenocarcinoma mamário (LM3) e adenocarcinoma de pulmão (LP07). (figura 29) e (quadro 1)⁷⁰⁻⁷¹.

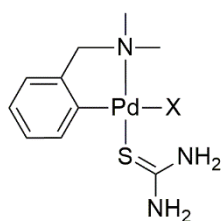


Figura 29: Ortopaladados com co-ligante tiouréia e haletos Cl, Br e I. Fonte: Autor.

Quadro 1: Citotoxicidade dos complexos $[Pd(C^2,N-dmba)(X)(tu)]$ frente às células tumorais LM3 e LP07.

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD	
	LM3	LP07
$[Pd(C^2,N-dmba)(Br)(tu)]$	29,6 ± 0,18	22,6 ± 1,93
$[Pd(C^2,N-dmba)(I)(tu)]$	14,4 ± 1,92	50,8 ± 2,15
$[Pd(C^2,N-dmba)(Cl)(tu)]$	72,4 ± 3,92	76,6 ± 1,99
Cisplatina	30,3 ± 3,72	4,34 ± 0,45

A simples mudança no tipo de halogênio refletiu significativamente na atividade citotóxica do complexo. Para este estudo de caso, haletos mais polarizáveis, como bromo ou iodo, contribuíram para um aumento da citotoxicidade, se comparado com o cloro (quadro 1). A potencialidade dos ciclopaladados em questão também é evidenciada pela maior citotoxicidade dos complexos de bromo e de iodo, se comparados à cisplatina, com exceção do complexo de iodo frente a linhagem LP07.

Recentemente, a atividade citotóxica de dois complexos ortopaladados de fórmula geral $[Pd(C^2,N-dmpa)(X)(lut)]$, onde *dmpa* = *N,N*-dimetil-1-feniletilamina, *X* = Cl, N₃; e *lut* = 2,6-lutidina, confirma a tendência observada na família de complexos anterior (figura 30).

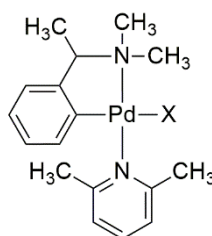


Figura 30: Ortopaladados de *N,N*-dimetil-1-feniletilamina com co-ligantes 2,6-lutidina e X (Cl e N₃). Fonte: Autor.

A similaridade estrutural entre *dmba* e *dmpa*, a presença de um ligante *N*-doador, mais o aumento na polarizabilidade entre os ligantes clorido e azida, reforçam a existência de uma sinergia entre o centro metálico de Pd(II) e os ligantes de sua esfera de coordenação, gerando um padrão sistemático de correlação estrutura-atividade (quadro 2)⁷².

Quadro 2: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-dmpa)(X)(lut)] frente às linhagens de glioblastoma (T98G e U251) e melanoma (HT144 e LB373MEL).

Linhagem	IC ₅₀ (μM) ± SD		
	[Pd(C ² ,N-dmpa)(N ₃)(lut)]	[Pd(C ² ,N-dmpa)(Cl)(lut)]	Cisplatina
T98G	1,7 ± 0,5	0,9 ± 0,1	1,7 ± 1,0
HT144	0,7 ± 0,4	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2
LB373MEL	1,3 ± 0,7	4,3 ± 2,4	5,6 ± 3,5
U251	1,0 ± 0,2	3,1 ± 0,5	1,1 ± 0,3

O estudo do comportamento desses complexos em solução por meio de experimentos de RMN de ¹H em D₂O/DMSO-d₆ (30/70 %) a 0, 24, 48 e 72 h, constatou que os complexos [Pd(C²,N-dmpa)(X)(lut)] eram convertidos nas espécies catiônicas [Pd(S)(C²,N-dmpa)(lut)]⁺ e [Pd(C²,N-dmpa)(S)₂]²⁺ (S = D₂O, DMSO), à semelhança da cisplatina que também sofre hidrólise formando as espécies catiônicas [Pt(NH₃)₂Cl(OH₂)]⁺ e [Pt(NH₃)₂(OH₂)₂]²⁺, como mencionado anteriormente. No entanto, ao contrário da cisplatina, esses complexos interagem fracamente com o DNA, o que sugere um mecanismo citotóxico diferente daquele observado com a cisplatina. Mas a afinidade dos complexos por outras biomoléculas como HSA (albumina de soro humano) indica uma real possibilidade de serem biodistribuídos através do organismo.

Outra classe de ortopaladados que tem sido bastante explorada pelo nosso grupo é a classe dos ortopaladados derivados de ligantes oxima, tais como benzaldeído-oxima, acetofenona-oxima e, mais recentemente, tetralona-oxima. A principal contribuição que o grupo oxima C=N-OH pode trazer para o anel ciclometalado é o aumento da estabilidade do mesmo em decorrência da formação de um sistema conjugado de ligações π.

Complexos ortometalados de fórmula geral [Pd(C²,N-bzox)(X)(L)], onde bzox = benzaldeído-oxima, X = Cl, Br, I; e L = etilenotiouréia apresentaram uma melhora significativa na atividade citotóxica frente à linhagem de adenocarcinoma mamário (LM3) quando comparados aos complexos derivados do dmba exemplificados na figura 29. A mudança de dmba para bzox, além de uma ligeira modificação na estrutura do co-ligante tiouréia (figura 31), foram suficientes para tornar todos os complexos mais ativos que a cisplatina (quadro 3)⁷³.

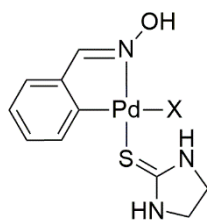


Figura 31: Ortopaladados de benzaldeído-oxima com co-ligante etilenotiurêia e haletos Cl, Br e I. Fonte: Autor.

Quadro 3: Citotoxicidade dos complexos $[Pd(C^2,N\text{-bzox})(X)(L)]$ frente à linhagem tumoral LM3.

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD
	LM3
$[Pd(C^2,N\text{-bzox})(I)(L)]$	18,2 ± 2,87
$[Pd(C^2,N\text{-bzox})(Br)(L)]$	19,9 ± 0,61
$[Pd(C^2,N\text{-bzox})(Cl)(L)]$	23,2 ± 1,77
Cisplatina	30,3 ± 3,72

É interessante destacar que para os complexos mostrados na figura 31 observa-se o mesmo comportamento de aumento da citotoxicidade com o aumento da polarizabilidade do haleto, ou seja, $I > Br > Cl$, o que sugere uma tendência comportamental dos ortopaladados.

O padrão de variação no qual a mudança é feita apenas no co-ligante do tipo L, de modo que o anel ortometalado e o halogênio permaneçam fixos, tem se revelado muito promissor. Sete complexos ortopaladados de fórmula geral $[Pd(C^2,N\text{-afox})(Cl)(L)]$, onde afox = acetofenona-oxima e L = ligantes derivados da tiourêia, quando testados quanto à atividade citotóxica, se mostraram, em quase todos os casos, melhores do que a cisplatina (figura 32)⁷⁴.

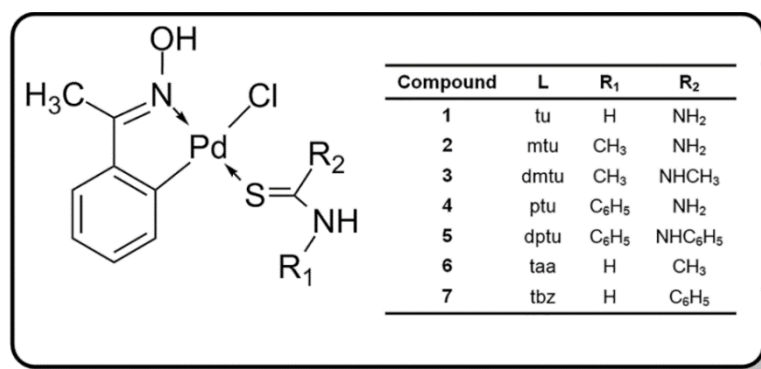


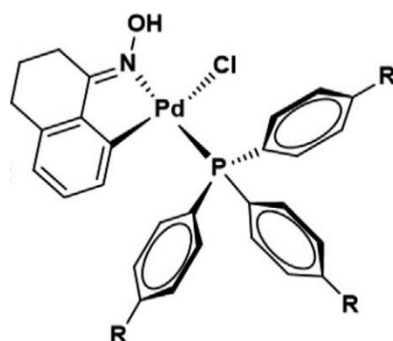
Figura 32: Ortopaladado da acetofenona-oxima com co-ligantes derivados da tiourêia. Fonte: Adaptado de de Souza *et al.*, 2019.

O aumento na lipofilicidade do co-ligante L nos complexos 4, 5 e 7, ocasionado pelo substituinte $-C_6H_5$, refletiu positivamente na citotoxicidade (quadro 4).

Quadro 4: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-afox)(Cl)(L)] com algumas das linhagens testadas: mama (4T1), melanoma (B16F10-nex2) e fígado (HepG2).

Composto	Linhagem celular			
	IC ₅₀ (μM)	4T1	B16F10-nex2	HepG2
1		84.62 ± 2.14	68.42 ± 5.77	41.48 ± 4.02
2		56.76 ± 3.54	54.47 ± 4.30	41.42 ± 2.29
3		47.17 ± 2.61	43.97 ± 7.23	31.59 ± 0.81
4		38.68 ± 3.57	33.07 ± 3.77	27.72 ± 1.00
5		45.87 ± 0.74	50.35 ± 5.02	15.92 ± 3.84
6		53.41 ± 2.97	43.69 ± 6.07	44.56 ± 6.03
7		34.70 ± 2.54	25.92 ± 3.52	33.32 ± 5.88
Cisplatina		108.54 ± 15.78	23.14 ± 1.27	60.30 ± 15.10

À semelhança do exemplo anterior, a utilização de co-ligantes fosfínicos, tal como a trifenilfosfina, pode, além de outros benefícios, auxiliar na lipofilicidade dos complexos. Ortopaladados derivados da tetralona-oxima de fórmula geral [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)] foram testados quanto à atividade citotóxica, a fim de avaliar a influência dos co-ligantes fosfínicos L na atividade biológica dos complexos (figura 33)⁷⁵.



R = PPh₃, P(PhCH₃)₃, P(PhF₃)₃ e P(PhOCH₃)₃.
Figura 33: Ortopaladados de tetralona-oxima com co-ligantes fosfínicos e Cl. Fonte: Velasques et al., 2022.

Para todos os complexos [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)], observa-se uma atividade citotóxica superior à da cisplatina, independente do substituinte R no co-ligante fosfínico. Além disso, com exceção do complexo 4, os demais complexos se mostram menos tóxicos do que cisplatina, quando testados frente à linhagem celular de fibroblastos normal (MRC-5) (quadro 5).

Quadro 5: Citotoxicidade dos complexos [Pd(C²,N-tetrox)(Cl)(L)] com algumas das linhagens testadas: mama (MCF-7) e fibroblastos pulmonar normal (MRC-5).

Composto	IC ₅₀ (μM) ± SD	
	MCF-7	MRC-5
1 (R = PPh ₃)	19,22 ± 2,75	22,35 ± 1,74
2 (R = P(PhCH ₃) ₃)	26,33 ± 0,27	28,92 ± 0,17
3 (R = P(PhF) ₃)	22,39 ± 0,38	25,78 ± 0,58
4 (R = P(PhOCH ₃) ₃)	22,91 ± 1,90	8,12 ± 0,49
Cisplatina	>50	19,86 ± 1,22

Todos esses exemplos demonstram o grande potencial dos ortopaladados de atuarem como agentes quimioterápicos. Diante desse histórico bem-sucedido do nosso grupo de pesquisa acerca do estudo da atividade anticâncer de ortopaladados, o presente trabalho de tese de doutorado propõe uma série de ortopaladados com características distintas das que foram abordadas (e publicadas) pelo grupo até o presente momento. A primeira modificação é o aumento do tamanho do anel ciclometalado, o qual será de 6 membros. Isso permitirá avaliar se a estabilidade dos complexos de Pd(II) estará condicionada à tendência termodinâmica que afirma ser os anéis de 5 membros mais estáveis do que os de 6 membros. Além disso, a utilização da amina primária *L*-fenilalanina-metil-éster na ortopaladação agrega aos complexos um caráter biológico por se tratar de um derivado do aminoácido *L*-fenilalanina, o que poderá influenciar positivamente nos testes biológicos. As fosfinas estudadas pelo grupo até o presente momento visavam contribuir no aumento da lipofilicidade dos complexos. Dessa forma, será então introduzida a fosfina hidrofílica 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano (PTA) a fim de auxiliar num possível aumento da solubilidade dos complexos em meio aquoso. A influência da polarizabilidade dos halogênios nas propriedades dos novos complexos também será explorada com a utilização da série de halogênios: Br, Cl, I e N₃ (figura 34).

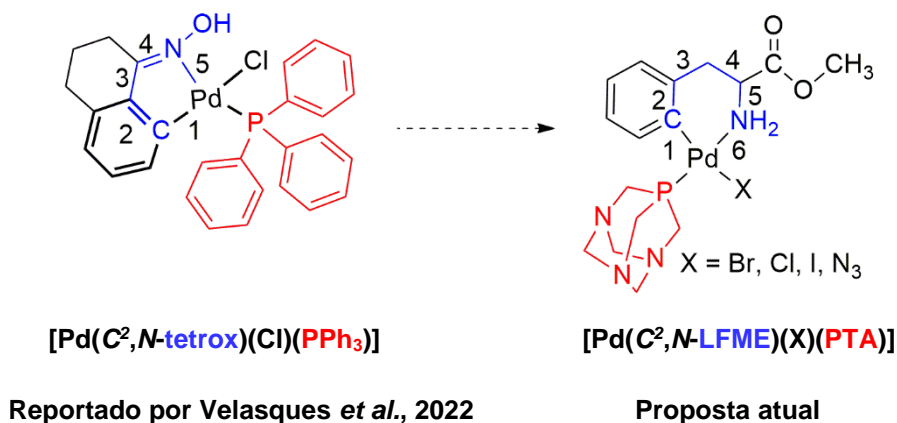


Figura 34: Esquema de derivação dos complexos ortopaladados investigados na presente tese de doutorado.

OBJETIVOS

- Sintetizar seis novos ortopaladados, sendo: um dímero precursor inédito de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N,-LFME})(\text{N}_3)]_2$, e os demais como produtos da clivagem de seus respectivos dímeros com a fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano (PTA) e que possuem fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N,-LFME})(\text{PTA})(\text{X})]$, onde $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$, sendo o ortopaladado $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N,-LFME})(\text{PTA})(\text{N}_3)]$ convertido em um produto de cicloadição com o alcino dietil-acetileno-dicarboxilato (DEAD).
- Caracterizar os complexos por meio das técnicas de análise elementar (C,H,N,S), espectrometria de massas (ESI-MS), espectroscopia de RMN e difração de raios X em monocristal.
- Realizar ensaios de viabilidade celular utilizando as linhagens tumorais A2780, MDA-MB-231 e A549, além da linhagem pulmonar normal MRC-5.
- Investigar a interação com as biomoléculas HSA (Human Serum Albumin), DNA e ensaio de competição com Hoechst.

PARTE EXPERIMENTAL

Os reagentes e solventes foram utilizados como recebidos e sem purificação prévia.

Quadro 6. Siglas utilizadas na nomenclatura simplificada dos compostos.

Composto	Fórmula	Sigla
L-fenilalanina-metil-éster	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	LFME
Ânion triflato	CF ₃ SO ₃	OTf
1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano	C ₆ H ₁₂ N ₃ P	PTA
Dietil-acetileno-dicarboxilato	C ₈ H ₁₀ O ₄	DEAD
triazolato ^{COOCH₂CH₃, COOCH₂CH₃}	C ₈ H ₁₀ N ₃ O ₄	Tria
[Pd(C ² ,N-LFME)(Br)(PTA)]	C ₁₆ H ₂₄ BrN ₄ O ₂ PPd	Pd-Br-PTA
[Pd(C ² ,N-LFME)(Cl)(PTA)]	C ₁₆ H ₂₄ ClN ₄ O ₂ PPd	Pd-Cl-PTA
[Pd(C ² ,N-LFME)(I)(PTA)]	C ₁₆ H ₂₄ IN ₄ O ₂ PPd	Pd-I-PTA
[Pd(C ² ,N-LFME)(μ-N ₃) ₂]	C ₂₀ H ₂₄ N ₈ O ₄ Pd ₂	Pd-N ₃
[Pd(C ² ,N-LFME)(N ₃)(PTA)]	C ₁₆ H ₂₇ N ₇ O ₂ PPd	Pd-N ₃ -PTA
[Pd(C ² ,N-LFME)(Tria)(PTA)]	C ₂₄ H ₃₄ N ₇ O ₆ PPd	Pd-Tria-PTA

1.1- Metodologia

Os reagentes sólidos foram pesados em balança analítica com precisão de 1,0 mg e de 0,1 mg. Enquanto os reagentes líquidos foram medidos utilizando pipeta automática com capacidade de 100 ou 1000 µL.

1.1.1- Sínteses

A obtenção dos dímeros precursores de fórmula geral [Pd(η²-C²,N-LFME)(μ-X)]₂ (X = Br, Cl, I, N₃) foi feita seguindo o procedimento experimental descrito na literatura⁸⁵. O dímero de azida [Pd(η²-C²,N-LFME)(μ-N₃)₂] inédito foi sintetizado de forma análoga ao de iodo.

As sínteses dos compostos inéditos de fórmula geral [Pd(C²,N-LFME)(X)(PTA)], onde X = Br, Cl, I, N₃, foram realizadas a partir da clivagem dos respectivos dímeros com a fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano (PTA). As reações foram feitas em condições ambientes e sem a necessidade de atmosfera inerte.

O composto de fórmula [Pd(C²,N-LFME)(Tria)(PTA)], resultante da reação de cicloadição 1,3-dipolar, foi sintetizado a partir do complexo [Pd(C²,N-LFME)(N₃)(PTA)] e do alcino DEAD. A reação foi feita em condições ambientes e sem a necessidade de atmosfera inerte.

1.1.2- Obtenção dos monocristais do complexo Pd-Br-PTA

Os cristais do complexo Pd-Br-PTA foram obtidos diretamente do conteúdo da reação, através da evaporação lenta do solvente acetona e à temperatura ambiente.

Os demais complexos não tiveram estabilidade em solução suficiente para que a evaporação do solvente se desse de forma lenta, possibilitando a formação de monocristais, mesmo utilizando um refrigerador. Em todos os casos, era formado um sólido de cor preta à medida que o solvente evaporava.

1.2- Metodologia dos estudos biológicos

1.2.1- Ensaio de viabilidade celular

O valor de IC₅₀ foi determinado frente às linhagens celulares de pulmão MRC-5 (não tumoral) e A549, linhagem de mama MDA-MB-231 e linhagem de ovário A2780. Os ensaios foram realizados pelo método colorimétrico MTT (brometo de 3-(4,5- dimetil-tiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólio)⁷⁶.

Para a realização dos ensaios de viabilidade celular, as células foram semeadas em placas de 96 poços, com uma densidade celular de $1,5 \times 10^4$ células/poço, em 150 µL de meio suplementado. Após 24 h de incubação (5% de CO₂ a 37 °C), as células foram tratadas com 0,75 µL das soluções estoque do composto em DMSO, sendo empregadas oito concentrações (100; 50; 25; 12,5; 6,3; 3,1; 1,6 e 0,8) µM. As placas foram novamente mantidas na incubadora (5% de CO₂ a 37 °C) por 48 h. Posteriormente, adicionaram-se 50 µL de uma solução de MTT (1 mg/mL) em cada poço. Em seguida, a placa foi incubada por mais 4 h. Após este período, a solução em cada poço foi cuidadosamente descartada, e no poço, foram adicionados 100 µL de isopropanol, a fim de solubilizar os cristais de formazan formados. A absorbância foi determinada no comprimento de onda de 540 nm com o auxílio do leitor de microplacas Epoch. Os valores de IC₅₀ foram determinados utilizando-se o software GraphPad Prism.

Os experimentos foram conduzidos pelo grupo do Prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha da Universidade Federal de São Carlos.

1.2.2- Leitor de microplacas e detector

Os espectros de absorção na região do Ultravioleta – Visível e a intensidade da fluorescência foram registrados no leitor BioTek Synergy HTX Multimode Reader - Agilent, pertencente ao laboratório de Organometálicos I, no Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica – IQAr/UNESP. O sistema ótico de detecção da absorvência utiliza uma lâmpada instantânea e um monocromador de xênon com comprimento de onda de 200 a 999 nm em incrementos de 1 nm. As determinações da fluorescência são feitas usando uma lâmpada de halogênio de tungstênio com filtros de interferência conjuntamente com um detector de PMT para a sensibilidade máxima. O filtro para determinação da intensidade fluorescência utilizado no experimento de interação com HSA, apresentava excitação em 280 nm e emissão em 320 nm, já no experimento de competição entre o DNA, Hoechst-33258 e o complexo, utilizou-se o filtro com excitação em 350 nm e emissão em 460/40 nm.

1.2.3- Preparo da solução Tampão Tris-HCl 5 mM + 50 mM de NaCl

Foi dissolvido 0,3029 g Tris(hidroximetil)aminometano (121,14 g/mol) em 500 mL de água destilada. Adicionou-se a solução anterior 1,462 g de NaCl (58,44 g/mol) e ajustou-se o pH entre 7,2 e 7,4 utilizando HCl 1M. O tampão foi armazenado em geladeira com a temperatura entre 2 e 8 °C.

1.2.4- Preparo da solução de ctDNA (*Calf thymus*)

A solução de ctDNA foi preparada pela adição aproximada de 10,00 mg da biomolécula em 5,00 mL de uma solução de tampão salina Tris-HCl, pH = 7,4. A razão entre as absorbâncias das bandas de absorção molecular em 260 e 280 nm resultou no valor de 1,85, indicando que a solução estava isenta de proteínas. Assim, a concentração de ctDNA foi determinada espectrofotometricamente através da lei de Lambert-Beer utilizando o coeficiente de absorvidade molar (ϵ) de 6600 L.mol⁻¹.cm⁻¹ para a banda de 260 nm, de acordo com a equação:

$$C = \frac{A_{260}}{6600 - b}$$

Sendo:

C = concentração de ctDNA

A₂₆₀ = banda de absorção em 260 nm

b = caminho óptico

1.2.5- Preparo da solução do corante Hoechst 33258 (1 mM)

Foram dissolvidos 6,239 mg do corante Hoeschst 33258 (623,96 g/mol) em 10,00 mL de água destilada. Devido a fotossensibilidade do Hoeschst, o recipiente de armazenamento foi protegido para evitar o contato com a iluminação.

1.3- Ensaio com HSA da supressão da fluorescência

Uma solução 1,00 mM de HSA (Human Serum Albumin) em Tris-HCl (pH 7,2) foi diluída para obter uma concentração final de 40 µM em cada poço. Além disso, foram preparadas soluções estoque do complexo de paládio, em DMSO, na concentração de 3,00 mM. Em uma microplaca de leitura com 96 poços, onde o volume de cada poço é de 200 µL, adicionaram-se alíquotas da solução do complexo, de modo a obter uma faixa de concentração de 0 a 75 µM. A porcentagem de DMSO não ultrapassou 2,5%, sendo mantida a integridade da proteína. Os espectros de absorbância e os valores de emissão da intensidade de fluorescência foram registrados pelo BioTek Synergy HTX Multimode Reader. Para aquisição dos espectros de emissão, foram utilizados filtros de fluorescências com um comprimento de onda de excitação de 280 nm, as leituras registradas em 320 nm e os espectros de absorbância foram obtidos entre 200 e 600 nm. Os experimentos foram realizados nas temperaturas 25, 31 e 37 °C e em triplicada.

Os valores da intensidade de fluorescência foram corrigidos de acordo com a equação:

$$F_{\text{corr}} = F_{\text{obs}} e^{(A_{\text{em}} + A_{\text{ex}})/2};$$

Sendo:

F_{obs} = intensidade da fluorescência medida experimentalmente.

A_{em} = absorvância no comprimento de onda do máximo da fluorescência.

A_{ex} = absorvância para o comprimento de onda de excitação.

1.4- Ensaio com a biomolécula ctDNA

1.4.1- Titulação espectrofotométrica do DNA por UV-Vis

Os espectros de UV-Vis do complexo foram obtidos na presença de quantidades crescentes de ctDNA, na região de 260 a 320 nm, em tampão salino Tris-HCl pH 7,4. As titulações foram realizadas em triplicadas, nas seguintes temperaturas: 25, 31 e 37 °C. A concentração do complexo foi fixada em 300 µM, enquanto houve a variação da concentração do ctDNA entre 0 até 75 µM.

Partindo de uma solução do complexo de 6 mM preparada em DMSO, foram adicionados 10,00 µL do composto em 185 µL de tampão, em cada poço de uma microplaca com 96 poços. Em seguida, foi adicionado 5 µL de soluções contendo tampão e ctDNA, de modo que a concentração de ctDNA variasse de 0 a 75 µM e a concentração do complexo fosse fixada em 300,00 µM em cada poço com um volume final de 200 µL. As leituras foram realizadas em triplicadas, com temperatura inicial de 25 °C. Na segunda leitura a temperatura foi aumentada para 31 °C e posteriormente para 37 °C, realizando assim as medidas de absorvância em três temperaturas diferentes.

A constante de ligação (K_b) foi obtida através da equação de Benesi-Hildebrand:

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} + \frac{\epsilon_G}{\epsilon_{H-G} - \epsilon_G} \times \frac{1}{K_b [\text{DNA}]}$$

Onde A_0 e A são as absorvâncias do complexo livre e do complexo com DNA, respectivamente. Os coeficientes ϵ_G e ϵ_{H-G} são os coeficientes de absorvância molar do complexo de Pd(II) livre e do aduto complexo-DNA, respectivamente.

Assim, K_b foi determinado através da razão entre o coeficiente linear e o angular, obtidos a partir da curva de $A_0/ A-A_0$ em função de $1/[DNA]$.

1.4.2- Ensaio de competição com Hoechst 33258 pelo DNA

O estudo de competição com Hoechst 33258 pelo ctDNA foi realizado por meio da intensidade da fluorescência. As leituras foram registradas no BioTek Synergy HTX Multimode Reader - Agilent com excitação em 350 nm e emissão de 440 a 460 nm, na temperatura de 25 ° C. Inicialmente em tampão salino Tris-HCl, foram preparados 7,00 mL de uma solução de 100,00 μ M de ctDNA com 3,00 μ M de Hoechst 33258, obtendo a razão molar do aduto Hoechst—ctDNA igual a 1:33. A solução foi igualmente distribuída nos poços da microplaca de leitura com adições crescentes do complexo, partindo de soluções recém-preparadas em DMSO (6,00 mM). Dessa forma, foram obtidas concentrações na faixa entre 0 e 75,00 μ M de modo que o percentual de DMSO não excedesse 5% (v/v). Após 5 min de repouso, realizou-se leituras das intensidades da fluorescência e absorbâncias na temperatura de 25 °C. Em seguida, os resultados foram tratados com a seguinte fórmula – mostrada na seção 2.3 – a fim de minimizar o efeito de filtro:

$$F_{\text{corr}} = F_{\text{obs}} e^{(A_{\text{em}} + A_{\text{ex}})/2}$$

Sendo:

F_{obs} = intensidade da fluorescência medida experimentalmente.

A_{em} = absorbância no comprimento de onda do máximo da fluorescência.

A_{ex} = absorbância para o comprimento de onda de excitação.

2- Caracterização dos compostos

2.1- Análise elementar (C,H,N,S)

A composição elementar dos compostos foi determinada com um analisador Elementar Vario MICRO cube CHN. A adição de V_2O_5 foi eventualmente necessária a fim de obter resultados adequados.

As medidas foram feitas no laboratório de análise elementar da Uni-Würzburg na Alemanha.

2.2- Espectrometria de massas (ESI)

Os espectros de massa (ESI) foram obtidos em um espectrômetro Thermo Scientific Exactive Plus, em solvente metanol em uma taxa de fluxo do solvente de 20 $\mu\text{L}/\text{min}$.

As medidas foram feitas pelo Prof. Dr. Ulrich Schatzschneider da Uni-Würzburg na Alemanha.

2.3- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

As análises de RMN foram feitas nos espectrômetros Bruker Avance 200, 400 e 500 (^1H a 200,13, 400,47 e 500,13 MHz, respectivamente; ^{13}C a 100,70 e 125,76 MHz; ^{31}P a 400 MHz). As análises com variação de temperatura foram realizadas na faixa de $-40 - 50$ $^{\circ}\text{C}$. Quando não especificado, a medida foi feita a 25 $^{\circ}\text{C}$. Os experimentos para avaliar o comportamento dos complexos em solução foram feitos em solvente $\text{DMSO-}d_6$ e CDCl_3 , a cada 0, 24 e 48 h. Os deslocamentos químicos (δ) em ppm foram referenciados segundo o sinal do solvente.

2.4- Difração de raios X em monocristal

Os dados de difração para ambos os compostos foram coletados a 100 (2) K em um difratômetro Rigaku Synergy-S equipado com um sistema detector HyPix-6000HE, usando radiação $\text{MoK}\alpha$ ($0,71073\text{Å}$) da fonte de microfoco de jato de fótons. A determinação dos parâmetros celulares foi obtida em todas as reflexões usando o software CrysAlisPro⁷⁷. A integração e dimensionamento de dados foram realizados usando o software CrysAlisPro⁷⁷. As estruturas foram resolvidas e refinadas com SHELXT⁷⁸ e refinadas com Softwares SHELXL⁷⁹, respectivamente, inclusive dentro do sistema Olex2⁸⁰. Em todos os casos, os átomos não hidrogênio foram claramente resolvidos e o refinamento de mínimos quadrados de matriz completa com Crystals 2023, parâmetros térmicos anisotrópicos foi realizado. Além disso, os átomos de

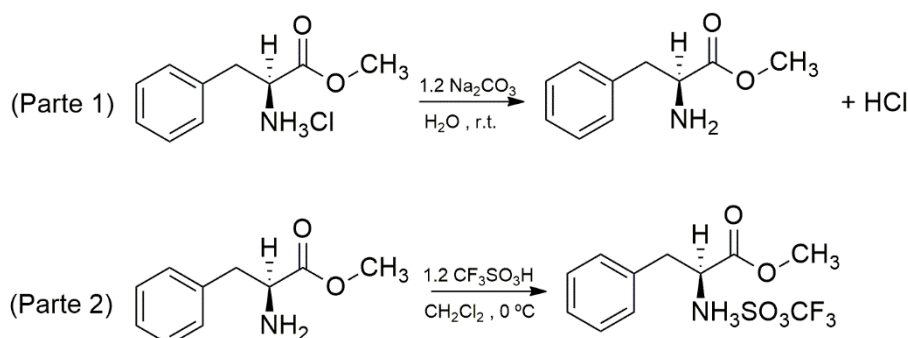
hidrogênio foram posicionados estereoquimicamente e refinados usando o modelo de equitação⁸¹. Diagramas de elipsoides térmicos e representação de poliedros foram preparados com Diamond⁸². O programa Mercury foi usado para a preparação da arte⁸³.

As medidas foram feitas no Instituto de Física da USP-São Carlos pelo Prof. Dr. Javier Alcides Ellena.

3. Sínteses

3.1- Síntese do derivado de L-fenilalanina metil-éster com triflato

O derivado de aminoácido *L*-fenilalanina-metil-éster, obtido comercialmente na forma de cloridrato, é transformado em um sal de triflato (esquema 1), aqui designado como LFME-OTf, a fim de possibilitar a formação de intermediários que facilitam a reação de ciclometalação, como também para que maiores rendimentos reacionais sejam alcançados.



Esquema 1: Esquema da reação de obtenção do derivado de L-fenilalanina metil-éster com triflato.

A primeira parte da reação é realizada em meio aquoso, onde 2,0000 g (9,27 mmol) do cloridrato de *L*-fenilalanina-metil-éster foi solubilizada em 30 mL de H₂O destilada e adicionado 1,1800 g (11,13 mmol) de Na₂CO₃ a fim de neutralizar o cloridrato, resultando em uma solução incolor que foi agitada por 15 minutos. Em seguida, foi feita a extração da parte orgânica com CH₂Cl₂ (3 x 30 mL), e as fases orgânicas combinadas e secas com Na₂SO₄. A suspensão foi filtrada, concentrada a um volume próximo a 15 mL. A solução foi então mantida em agitação e resfriada a 0 °C num banho de gelo. Ao atingir a temperatura indicada, 1,04 mL (11,51 mmol) de uma solução 11,07 mmol/mL de ácido triflórico foi lentamente gotejada a esta solução, formando um precipitado branco que foi agitado vigorosamente por 10 minutos. A

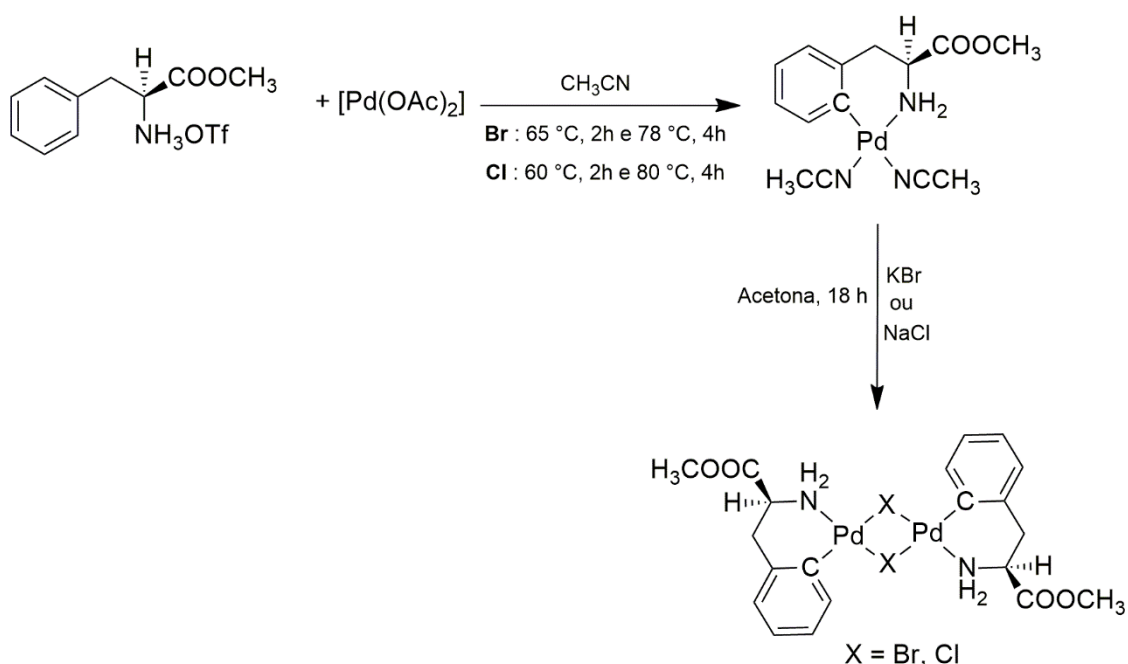
suspensão foi filtrada, o sólido lavado com éter etílico e seco em contato com o ar. Rendimento em massa = 78%.

3.2- Síntese dos dímeros precursores de fórmula geral $[Pd(C^2,N-LFME)(\mu-X)]_2$, onde $X = Br, Cl, I$ e N_3

Os dímeros ciclopaladados foram obtidos através de duas das principais técnicas de síntese para essa classe de compostos, a saber, a ciclometalação e a troca de haletos por reação de metátese⁸⁴.

3.2.1- Síntese dos dímeros de bromo e de cloro

Os dímeros com brometo e cloreto foram obtidos por ciclometalação, a partir de uma metodologia da literatura, como mostrado no esquema 2 a seguir⁸⁵⁻⁸⁶.



Esquema 2: Esquema reacional da reação de ciclometalação para obtenção dos dímeros de bromo e de cloro.

A ciclometalação do derivado aminoácido *L*-fenilalanina-metil-éster pelo $Pd(OAc)_2$ acontece em duas etapas principais, como mostrado no esquema 2, e que são comuns para ambos os halogênios. A ligeira diferença na faixa de temperatura utilizada para cada halogênio apenas por razão experimental.

O principal desafio de ortometalar derivados de amina primária é – como já mencionado – a diminuição do caráter eletrofílico do paládio como consequência da

formação da ligação Pd–N(H₂) na primeira etapa do mecanismo, como também a formação de subprodutos devido a substituição das moléculas de solvente (CH₃CN) por ânions como o cloreto – caso seja utilizado o cloridrato de *L*-fenilalanina-metil-éster como precursor – ou o próprio acetato do meio reacional. Essas limitações podem ser superadas ao utilizar um ligante doador fraco como o ânion triflato que atua como contraíon do precursor LFME-OTf (esquema 1) e aumenta a eletrofilicidade do Pd(II).

Para a obtenção do dímero [Pd(C²,*N*-LFME)(μ-Br)]₂, 0,5900 g (1,78 mmol) de LFME-OTf foi parcialmente solubilizado em CH₃CN (20 mL) e a esta suspensão foi adicionado 0,4000 g (1,78 mmol) de Pd(OAc)₂, que, ao ser aquecida, gerou uma solução de cor laranja pálido que foi refluxada a 65 °C por 2 horas e então a 78 °C por 4 horas.

Após o tempo reacional, notou-se a formação de paládio metálico que se depositou no fundo do balão como uma película espelhada. Assim, o conteúdo reacional foi filtrado por um *glass frit* com celite e Na₂CO₃ a fim de neutralizar o ácido acético que é formado durante a ciclometalação, como também os resíduos de triflato. O solvente CH₃CN foi removido, e o conteúdo foi solubilizado em acetona (20 mL) e passado por um *glass frit* com celite. À solução remanescente foi adicionado 2,0000 g de KBr (16,8 mmol), formando uma suspensão que foi agitada por 12 horas à temperatura ambiente. Em seguida, o solvente foi removido e 20 mL de CH₂Cl₂ foi adicionado, a suspensão foi filtrada. O CH₂Cl₂ teve seu volume reduzido até próximo de 5 mL, e realizada a precipitação do produto com *n*-pentano. O sólido de cor laranja foi isolado por filtração, lavado com *n*-pentano e seco a vácuo. Rendimento em massa = 30%.

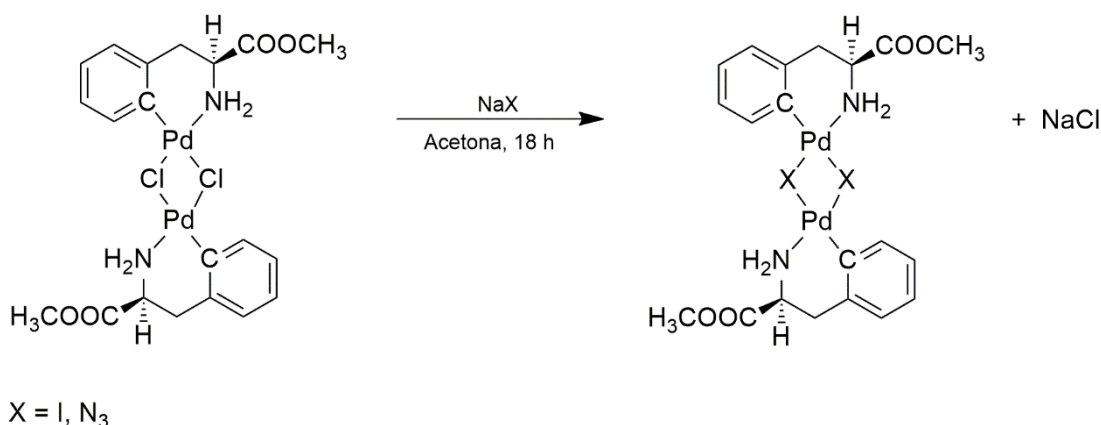
A síntese do dímero de cloro [Pd(C²,*N*-LFME)(μ-Cl)]₂ foi feita de forma análoga ao de bromo, como mostrado no esquema 2. Para esta reação, 0,4500 g (1,37 mmol) de LFME-OTf foi parcialmente solubilizado em CH₃CN (20 mL) e a esta suspensão foi adicionado 0,3100 g (1,37 mmol) de Pd(OAc)₂, que, ao ser aquecida, gerou uma solução de cor laranja pálido que foi refluxada a 60 °C por 2 horas e então a 80 °C por 4 horas.

Após o tempo reacional, notou-se a formação de paládio metálico que se depositou no fundo do balão como uma película espelhada. Assim, o conteúdo reacional foi filtrado por um *glass frit* com celite e Na₂CO₃. O solvente CH₃CN foi

removido, e ao conteúdo resultante foi adicionado acetona (20 mL) e 1,0400 g de NaCl (17,8 mmol), formando uma suspensão que foi agitada por 12 horas à temperatura ambiente. Em seguida, o solvente foi removido e 20 mL de CH₂Cl₂ foi adicionado, formando uma suspensão que foi filtrada. A água-mãe teve seu volume reduzido até próximo de 5 mL, e o produto foi precipitado com *n*-hexano, obtendo um sólido de cor amarelo que foi isolado por filtração, lavado com *n*-hexano e seco a vácuo. Rendimento em massa = 30%.

3.2.2- Síntese dos dímeros de iodo e de azida

Os dímeros de iodeto e de azida foram obtidos por reação de metátese entre o dímero de cloro e os respectivos sais de iodeto e de azida, como mostrado no esquema 3 a seguir.

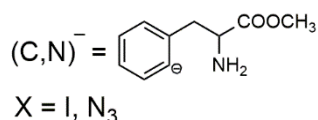
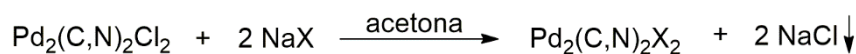


Esquema 3: Esquema reacional da reação metátese para obtenção dos dímeros de iodo e de azida.

A estratégia de síntese dos dímeros através da reação de metátese é semelhante àquela observada entre sais inorgânicos. Neste tipo de reação, a força motriz que induz a formação do produto é a precipitação de um dos sais formados:



Na síntese do produto dimérico, a precipitação do cloreto de sódio no meio reacional promove a formação do dímero:



Para que a reação seja bem-sucedida é necessário que o dímero precursor possua um haleto que seja facilmente substituído. Esta facilidade de saída do haleto está relacionada com o efeito *trans* exercido pelo átomo que está *trans* ao haleto, neste caso particular, o carbono do anel ciclometalado. Como mostrado no esquema 3, o dímero de cloro é o precursor mais conveniente para este tipo de reação, pois dentre os três ânions (Cl^- , I^- , N_3^-), o Cl^- é o que possui menor efeito *trans* e por isso o mais lábil. Os demais ânions, quando coordenados, sofrerão menos o efeito *trans* do carbono, gerando complexos mais estáveis. Entre o cloreto e o brometo não existe uma diferença muito significativa no efeito *trans* desses ânions. Por essa razão, é mais adequado que o dímero de bromo seja sintetizado por ciclometalação, a fim de evitar a formação de mistura de produtos.

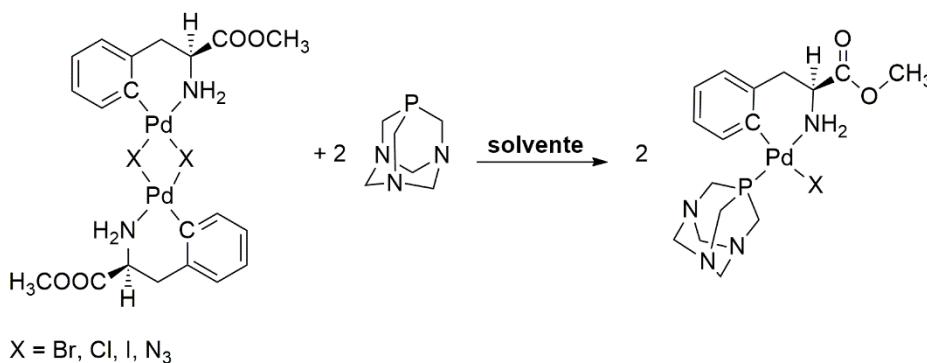
Para a síntese do dímero de iodo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-I})]_2$, 0,1000 g (0,16 mmol) do dímero de cloro foi solubilizado em cerca de 20 mL de acetona, gerando uma solução de cor amarelo alaranjado. A esta solução foi adicionado 0,2300 g de NaI (1,60 mmol), onde imediatamente houve uma mudança na cor da reação que se tornou marrom escuro. A suspensão foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente por aproximadamente 18 horas. Ao final do tempo reacional, a suspensão foi rotaevaporada, e o sólido marrom do balão foi solubilizado em CH_2Cl_2 . Em seguida a solução foi passada por um *glass frit* com celite, seu volume foi reduzido e adicionado *n*-pentano para precipitação de um sólido de cor marrom que foi filtrado e seco a vácuo. Rendimento em massa = 77%.

Para a reação de obtenção do dímero de azida $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, 0,2500 g (0,39 mmol) do dímero de cloro foi solubilizado em cerca de 20 mL de acetona, gerando uma solução de cor amarelo alaranjado. A esta solução foi adicionado 0,1000 g (1,56 mmol) de NaN_3 , formando uma suspensão que foi agitada à temperatura ambiente por aproximadamente 18 horas. Após o tempo reacional, a suspensão foi passada por um *glass frit* com celite e o solvente da solução foi removido no rotaevaporador. Em seguida, o sólido amarelo do balão foi solubilizado em CH_2Cl_2 e a solução foi passada novamente por um *glass frit* com celite. O processo de passar pelo *glass frit* com celite é importante pois remove possíveis resíduos de Pd(0) que pode ter sido gerado por eliminação redutiva durante a reação⁸⁷, como também para remover algum composto inorgânico remanescente da reação, tal como o NaCl ou NaN_3 . Finalmente, o conteúdo em CH_2Cl_2 teve seu

volume reduzido, e foi realizada a precipitação do produto com *n*-pentano que foi isolado por filtração, lavado com *n*-pentano e seco a vácuo. Rendimento em massa = 36%.

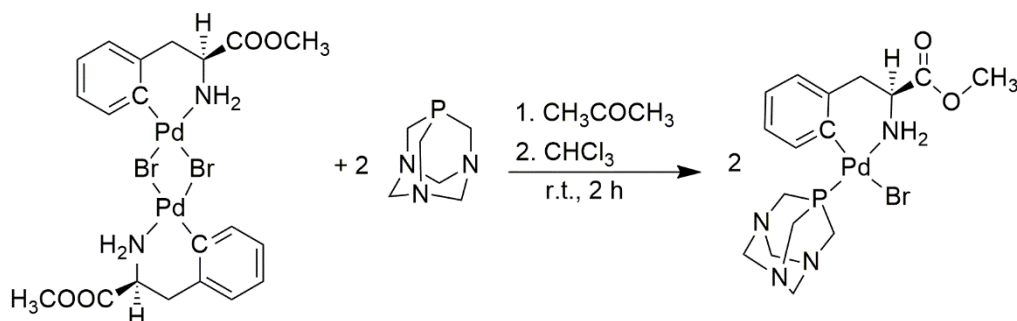
3.3- Síntese dos complexos mononucleares resultantes da clivagem dos dímeros com a fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano

Os dímeros $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-X})_2]$ ($\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$) sintetizados, sendo o dímero de N_3 nunca antes reportado na literatura, foram clivados com a fosfina 1,3,5-triazo-7-fosfoadamantano (PTA), obtendo os compostos inéditos de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$ ($\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$). O esquema geral da reação de obtenção dos novos complexos é mostrado a seguir.



Esquema 4: Esquema geral da reação de obtenção dos complexos resultantes da clivagem dos dímeros com a fosfina PTA.

3.3.1- Síntese do complexo $[\text{PdBr}(\eta^2\text{-C}^2, \text{N-LFME})(\kappa^1\text{-PTA})]$ (Pd-Br-PTA)



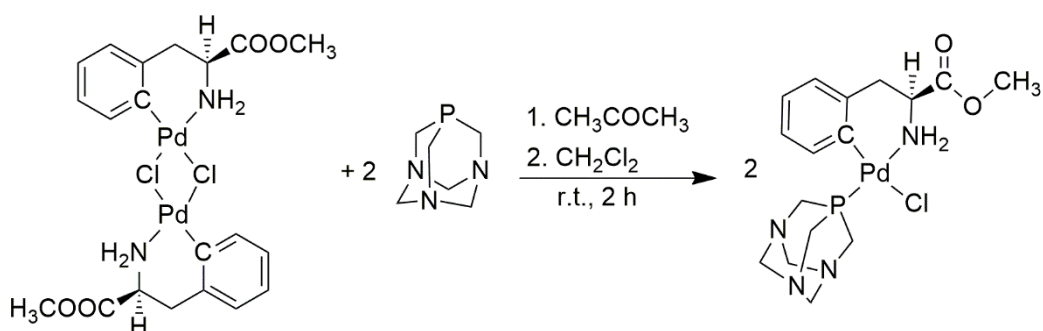
Esquema 5: Reação de obtenção do complexo $[\text{PdBr}(\eta^2\text{-C}^2, \text{N-LFME})(\kappa^1\text{-PTA})]$.

Para síntese do complexo de bromo Pd-Br-PTA, partiu-se de 0,1000 g (0,14 mmol) do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-Br})_2]$ que foi solubilizado em cerca de 20 mL de

acetona, gerando uma solução de cor amarelo avermelhado. Em seguida, uma suspensão de 0,0400 g (0,28 mmol) de PTA em cerca de 10 mL acetona foi lentamente gotejada à solução com o dímero. À medida que o volume da suspensão era adicionado, esperava-se até que todo o sólido de PTA fosse consumido do meio reacional antes de adicionar o próximo volume. A adição lenta é de suma importância pois foi observado que uma adição rápida do PTA promove a formação de um precipitado branco e insolúvel na maioria dos solventes.

Após a adição de todo o PTA, o meio reacional tornou-se homogêneo e adquiriu cor amarelo dourado. O volume final da reação era de cerca de 40 mL. A reação foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente por 2 horas. Ao término do tempo reacional, o solvente da reação foi removido por rotaevaporação, e o sólido amarelo dourado resultante foi solubilizado em CHCl_3 . O volume de CHCl_3 foi reduzido e adicionado éter gelado, precipitando assim o produto como um sólido de cor amarelo alaranjado, que foi filtrado, lavado com éter gelado e seco a vácuo. Rendimento em massa = 60%.

3.3.2- Síntese do complexo $[\text{PdCl}(\eta^2\text{-C}^2, \text{N-LFME})(\kappa^1\text{-PTA})]$ (Pd-Cl-PTA)

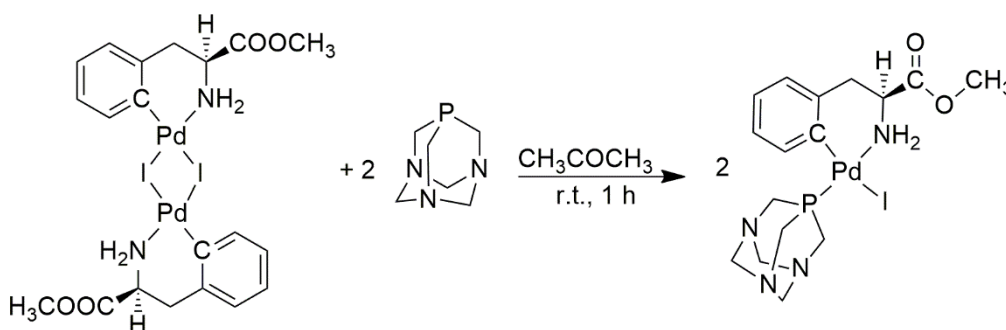


Esquema 6: Reação de obtenção do complexo $[\text{PdCl}(\eta^2\text{-C}^2, \text{N-LFME})(\kappa^1\text{-PTA})]$.

Para a síntese do complexo de cloro Pd-Cl-PTA, 0,0600 g (0,10 mmol) do dímero $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-Cl})]_2$ foi solubilizado em cerca de 20 mL de acetona, formando uma solução de cor laranja. À esta solução, uma suspensão de 0,0300 g (0,20 mmol) de PTA em cerca de 10 mL de acetona foi lentamente adicionada à solução do dímero, de modo semelhante ao feito para o complexo de bromo. À medida que o PTA era adicionado, a cor da reação adquiria uma tonalidade esverdeada. A reação foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente

por 2 horas. Após o tempo reacional, o conteúdo homogêneo da reação foi passado por um *glass frit* com celite e o solvente removido no rotaevaporador. Em seguida, o conteúdo restante do balão foi solubilizado em cerca de 20 mL de CH₂Cl₂, passado novamente por um *glass frit* com celite e o solvente teve seu volume reduzido até próximo de 2 mL. O produto da reação foi precipitado com éter gelado, obtendo um sólido amarelo esverdeado que foi seco a vácuo. Rendimento em massa = 47%.

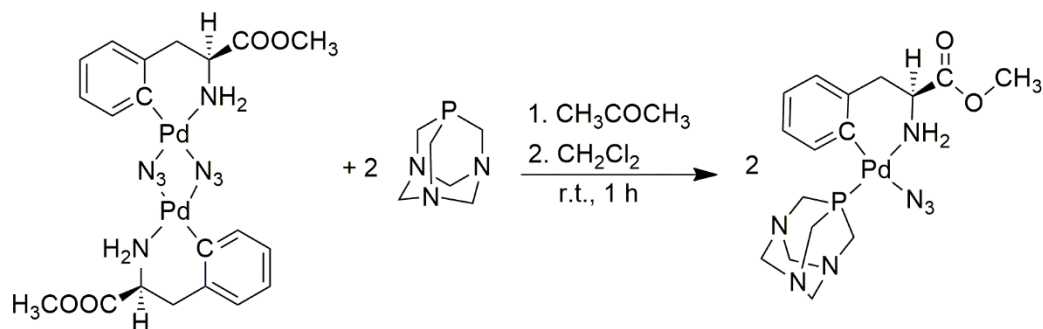
3.3.3- Síntese do complexo [PdI(η²-C²,N-LFME)(κ¹-PTA)] (Pd-I-PTA)



Esquema 7: Reação de obtenção do complexo [PdI(η²-C²,N-LFME)(κ¹-PTA)].

O complexo de iodo Pd-I-PTA foi sintetizado a partir de 0,0500 g (0,06 mmol) do dímero [Pd(C²,N-LFME)(μ-I)]₂ que foi solubilizado em cerca de 25 mL de acetona, formando uma solução de cor marrom escuro. À esta solução foi gotejada lentamente uma suspensão de 0,0100g (0,125 mmol) da fosfina PTA. Notou-se uma gradual mudança da cor da reação, tornando-se amarelo alaranjado. A reação foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente por 1 hora. Após o tempo reacional, a reação foi passada por um *glass frit* com celite e o solvente teve seu volume reduzido até próximo de 2 mL. O produto da reação foi precipitado com éter gelado, obtendo um sólido amarelo pálido que foi seco a vácuo. Rendimento em massa = 61%.

3.3.4- Síntese do complexo [PdN₃(η²-C²,N-LFME)(κ¹-PTA)] (Pd-N₃-PTA)



Esquema 8: Reação de obtenção do complexo [PdN₃(η²-C²,N-LFME)(κ¹-PTA)].

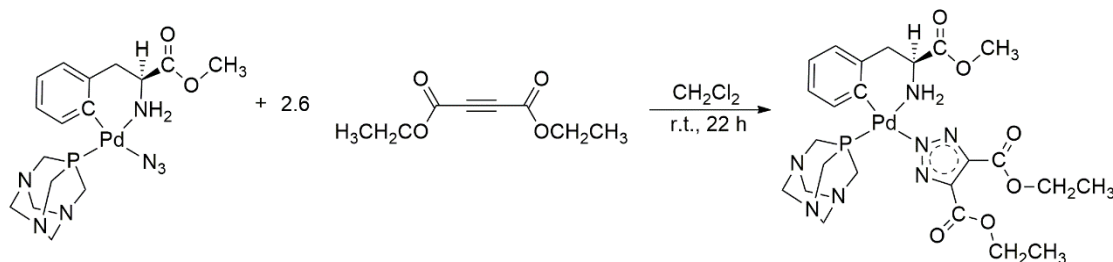
Para a síntese do complexo de cloro Pd-N₃-PTA, 0,0500 g (0,10 mmol) do dímero [Pd(C²,N-LFME)(μ-N₃)]₂ foi solubilizado em cerca de 5 mL de acetona, formando uma solução de cor amarelo. À esta solução, uma suspensão de 0,0240 g (0,20 mmol) de PTA em cerca de 10 mL de acetona foi lentamente adicionada à solução do dímero, de modo semelhante ao feito para os complexos anteriores. À medida que o PTA era adicionado, a cor da reação se tornava um verde pálido. A reação foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente por 1 hora. Após o tempo reacional, o conteúdo homogêneo da reação foi passado por um *glass frit* com celite. Foi notado o surgimento de um sólido de cor rosa que ficou aderido na celite. É muito provável que esse sólido se trate de um outro produto. Por fim, o solvente foi removido no rotaevaporador. Em seguida, o conteúdo restante do balão foi solubilizado em cerca de 20 mL de CH₂Cl₂, passado novamente por um *glass frit* com celite, ficando este se qualquer resíduo. O solvente teve seu volume reduzido até próximo de 2 mL. O produto da reação foi precipitado com *n*-pentano, obtendo um sólido verde pálido quase branco que foi seco a vácuo. Rendimento em massa = 64%.

Dentre todos os complexos sintetizados, a obtenção de Pd-N₃-PTA foi a mais laboriosa, sendo essa metodologia descrita acima a mais bem sucedida. O sólido cor de rosa formado é um subproduto de algum tipo de reação paralela que acontece. Caso a adição do PTA não seja feita de forma lenta, uma maior quantidade desse sólido rosa é formada. Assemelha-se ao sólido de cor branca formado pela adição rápida do PTA na reação de síntese do Pd-Br-PTA. No entanto, enquanto o sólido branco é insolúvel na maioria dos solventes, o sólido rosa obtido na reação de síntese do Pd-N₃-PTA é parcialmente solúvel em água, formando uma

suspensão de cor vermelha com microcristais. Infelizmente nem a análise elementar nem as medidas de RMN deram qualquer evidência da natureza do produto formado, sendo que o RMN de ^{31}P indicou a presença de 5 picos.

3.4- Síntese do produto de cicloadição [Pd(C²,N-LFME)(Tria)(PTA)] (Pd-Tria-PTA)

Ciclometalados contendo pseudohaletos como ligantes do tipo X podem ser utilizados como precursores bastante adequados para a obtenção de novos compostos com grupos funcionais interessantes. Particularmente, o ânion N_3^- possui uma reatividade característica podendo, por exemplo, eliminar N_2 ou tomar parte em reações de cicloadição 1,3-dipolar quando na presença de espécies insaturadas, denominadas de dipolarófilos. Esses dipolarófilos podem ser nitrilas, isonitrilas, alcenos, alcinos, heteroalenos, dentre outros. Tendo como referência um trabalho do grupo onde um ortopaladado de dmba de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-dmba})(\text{N}_3)]_2$ reagiu com o dipolarófilo heteroaleno CS_2 gerando um produto de cicloadição⁸⁸; a obtenção do ortopaladado $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{N}_3)(\text{PTA})]$, mostrada no tópico anterior, permitiu explorar a química das reações de 1,3-cicloadição envolvendo o pseudohaletos N_3^- e o alcino DEAD (figura 9).



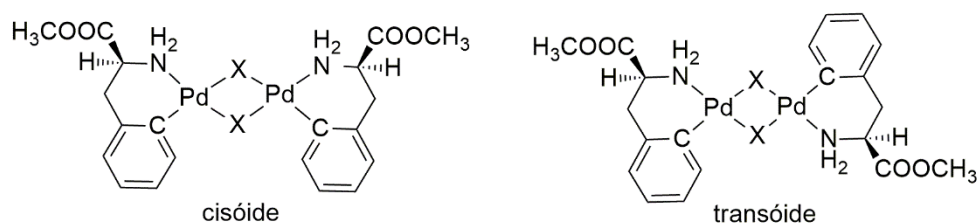
Esquema 9: Reação de obtenção do complexo $[\text{PdN}_3(\eta^2\text{-C}^2, \text{N-LFME})(\kappa^1\text{-PTA})]$.

Para a síntese do complexo Pd-Tria-PTA, 0,0400 g (0,08 mmol) do complexo $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{N}_3)(\text{PTA})]$ foi solubilizado em cerca de 20 mL de CH_2Cl_2 , formando uma solução de cor verde pálido. À esta solução, um volume de 36,8 μL (0,22 mmol) de DEAB foi lentamente adicionado. Não foi observada uma mudança aparente na cor da solução, apenas uma intensificação da cor. A solução foi mantida em agitação magnética à temperatura ambiente por 22h hora. Após o tempo reacional, o conteúdo homogêneo da reação foi passado por um *glass frit* com celite e o volume reduzido no rotaevaporador até cerca de 3 mL. O produto da reação foi precipitado

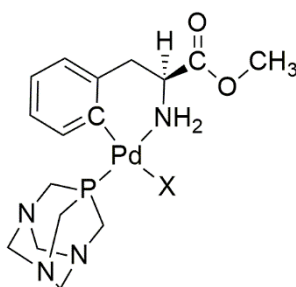
com *n*-pentano, lavado com o mesmo solvente, sendo obtido um sólido verde pálido quase branco que foi seco a vácuo. Rendimento em massa = 58%.

4. Resultados e discussão: caracterização dos compostos

Os complexos ciclometalados de paládio(II) de fórmula geral $[Pd(C^2,N-LFME)(X)(PTA)]$, obtidos no presente trabalho, tiveram como precursores espécies diméricas $[Pd(C^2,N-LFME)(\mu-X)]_2$ que podem existir nas formas isoméricas *cisóide* e *transóide*:



No entanto, ao utilizar a fosfina PTA para a clivagem desses dímeros, espera-se que essa reação aconteça de forma regioseletiva, ou seja, com formação unicamente do produto no qual o átomo de fósforo esteja *cis* ao carbono do anel ciclometalado, como esperado para complexos de paládio(II) que possuem dois ligantes de forte efeito *trans*. Assim, considerando a tendência que dois ligantes de forte efeito *trans* apresentam de evitar ficarem *trans* entre si, o produto da clivagem dos dímeros terá a seguinte estrutura:



4.1- Análise elementar (C,H,N,S)

Foram realizadas medidas de análise elementar (C,H,N,S) para todos os compostos sintetizados. Os resultados dos complexos inéditos estão resumidos no quadro 7 a seguir.

Quadro 7: Resultados da análise elementar (C,H,N,S) dos complexos inéditos sintetizados.

Teórico / Experimental (%)			
Composto	C	H	N
[Pd(C ² ,N-LFME)(Br)(PTA)] C ₁₆ H ₂₄ BrN ₄ O ₂ PPd	36,84 / 36,91	4,64 / 4,52	10,74 / 10,61
[Pd(C ² ,N-LFME)(Cl)(PTA)] C ₁₆ H ₂₄ ClN ₄ O ₂ PPd	40,27 / 40,23	5,07 / 5,06	11,74 / 11,37
[Pd(C ² ,N-LFME)(I)(PTA)] C ₁₆ H ₂₄ IN ₄ O ₂ PPd	33,79 / 33,50	4,25 / 4,25	9,85 / 9,78
[Pd(C ² ,N-LFME)(μ-N ₃) ₂] C ₂₀ H ₂₄ N ₈ O ₄ Pd ₂	36,77 / 36,68	3,70 / 3,77	17,15 / 16,83
[Pd(C ² ,N-LFME)(N ₃)(PTA)] C ₁₆ H ₂₄ N ₇ O ₂ PPd	39,72 / 39,09	5,00 / 5,12	20,27 / 19,58
[Pd(C ² ,N-LFME)(Tria)(PTA)] C ₂₄ H ₃₄ N ₇ O ₆ PPd	44,08 / 43,64	5,24 / 5,27	14,99 / 13,85

Os valores teóricos foram calculados de acordo com a equação:

$$\% E = \frac{MM_E}{MM_T} \times 100$$

Onde MM_E é a massa molar do elemento a ser determinado e MM_T é a massa molar do complexo.

Os dados da análise elementar (C,H,N) confirmam as fórmulas propostas para cada complexo sintetizado.

Para os complexos [Pd(C²,N-LFME)(N₃)(PTA)], [Pd(C²,N-LFME)(Tria)(PTA)] e o dímero precursor [Pd(C²,N-LFME)(μ-N₃)₂], os valores experimentais ficaram fora do limite comumente aceito para publicação (±0,4%), embora atualmente esse parâmetro esteja sendo questionado⁸⁹. No entanto, as medidas de espectrometria de massas feitas com a mesma amostra da que foi utilizada na análise elementar, confirmam a obtenção dos respectivos compostos na forma pura.

4.2- Espectrometria de massas (ESI)

A espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS) é uma importante e poderosa técnica para a determinação da composição atômica e molecular de novos compostos. Em geral, a espectrometria de massas permite que a massa molecular do composto estudado seja determinada através de um processo de ionização da amostra com posterior detecção da razão massa/carga (m/z), tanto da molécula inteira – também chamado de íon molecular – como de seus fragmentos. O método de ionização por electrospray, se comparado com os demais métodos de ionização existentes, traz a enorme vantagem de ionizar tanto pequenas como grandes moléculas, tais como biomoléculas e polímeros. Sendo essas grandes moléculas, no processo de ionização, propensas a se fragmentarem antes que seus respectivos íons moleculares sejam detectados, a ionização por electrospray impede que isso aconteça, pois a geração de um fino spray com gotas contendo o analito garante que a ionização aconteça de forma mais branda, mantendo a integridade da molécula, refletida no seu íon molecular (figura 35)⁹⁰⁻⁹¹. Embora possa acontecer também, em alguns casos, de não ser possível detectar o íon molecular.

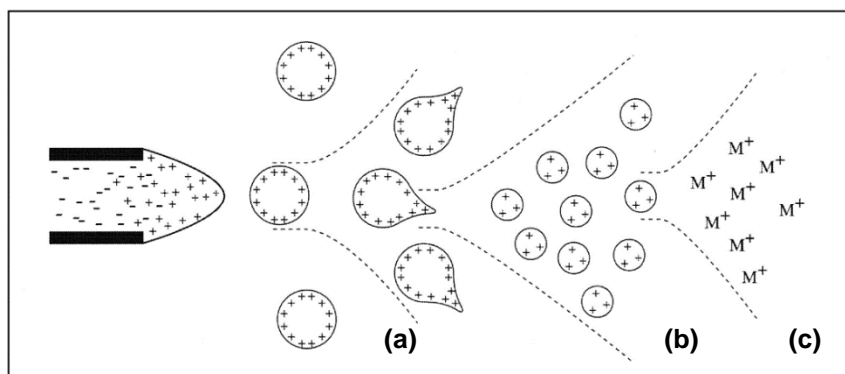


Figura 35: Mecanismo simplificado da ionização por electrospray. (a): uma alta voltagem desintegra o líquido com o analito, gerando um fino spray com gotas carregadas. (b): evaporação do solvente com produção de gotículas cada vez menores. (c): ionização das moléculas polares M⁺. Fonte: Ho *et al.*, 2003.

Foram feitas medidas de espectrometria de massas (ESI) para os compostos: LFME-OTf, Pd-Cl-PTA, Pd-I-PTA, Pd-N₃, Pd-N₃-PTA e Pd-Tria-PTA. Para cada valor de m/z mencionado no decorrer do texto, será mostrado também o correspondente valor simulado, na cor vermelha. Infelizmente não foi possível fazer a medida para o complexo Pd-Br-PTA, pois o mesmo não apresentou solubilidade suficiente nas

seguintes condições: 0,5 mg de amostra em 1,5 mL de CH₃OH. Mas, como manifestação da generosidade da natureza, o complexo Pd-Br-PTA foi o único capaz de produzir cristais adequados para a elucidação estrutural por DRX em monocristal, confirmando assim, dentre outras coisas, sua composição atômica e molecular.

5.2.1 – ESI-MS do ligante precursor LFME-OTf

O espectro de massas do sal de triflato do ligante precursor *L*-fenilalanina-metil-éster é mostrado na figura 36 a seguir.

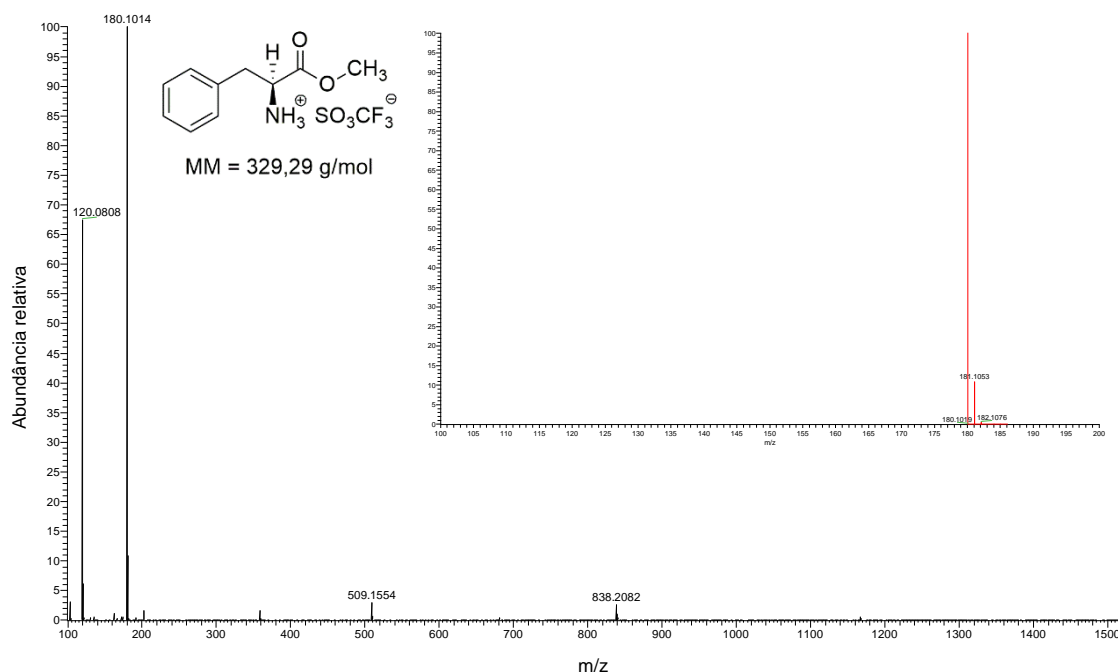


Figura 36: Espectro de massas do LFME-OTf. O espectro de massas de cor vermelha, minimizado no canto superior direito, é o espectro teórico ou simulado.

Como pode ser visto do espectro de massas, existe um pico de alta intensidade relativo ao íon molecular em *m/z* 180,1014 (*m/z* 180,1019). Embora o sal de triflato tenha massa molar de 329,29 g/mol, apenas a parte catiônica será detectada no espectro de massas, ou seja, o cátion do ligante protonado LFME (*m/z* 180,1014). O segundo pico de maior intensidade em *m/z* 120,0808 é resultado da fragmentação da porção éster da molécula com formação do íon [M-59]⁺, fragmentação comum a ésteres metílicos (figura 37).

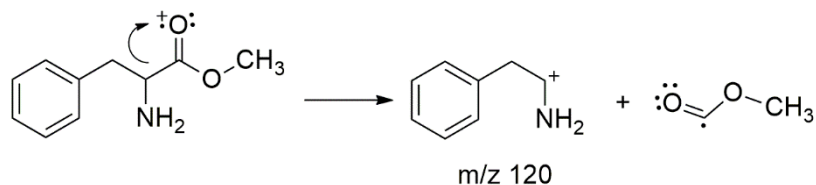


Figura 37: Esquema da fragmentação do ligante LFME com formação da espécie correspondente ao pico m/z 120,0808.

Os picos do massas com um alto valor de m/z – quando comparados ao íon molecular –, são adutos formados entre os cátions ou ânions e as moléculas neutras. Esse é um comportamento muito comum para essa técnica de MS-ESI e que poderá ser observado também nos massas dos demais compostos.

5.2.2 – ESI-MS do complexo Pd-CI-PTA

O espectro de massas do Pd-CI-PTA é mostrado na figura 38 a seguir.

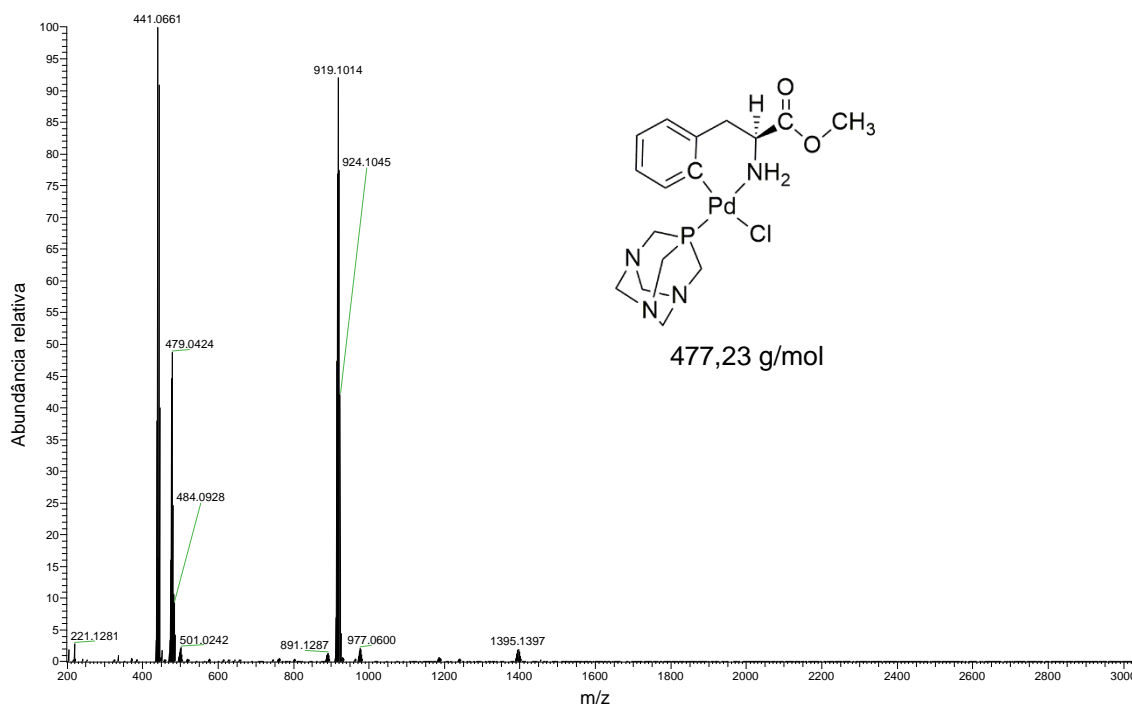


Figura 38: Espectro de massas do Pd-CI-PTA.

De acordo com o espectro simulado, é na porção do espectro entre m/z 400 e m/z 500 que se dão as principais fragmentações do Pd-CI-PTA. Assim, convém analisar mais detalhadamente essa porção do espectro (figura 39).

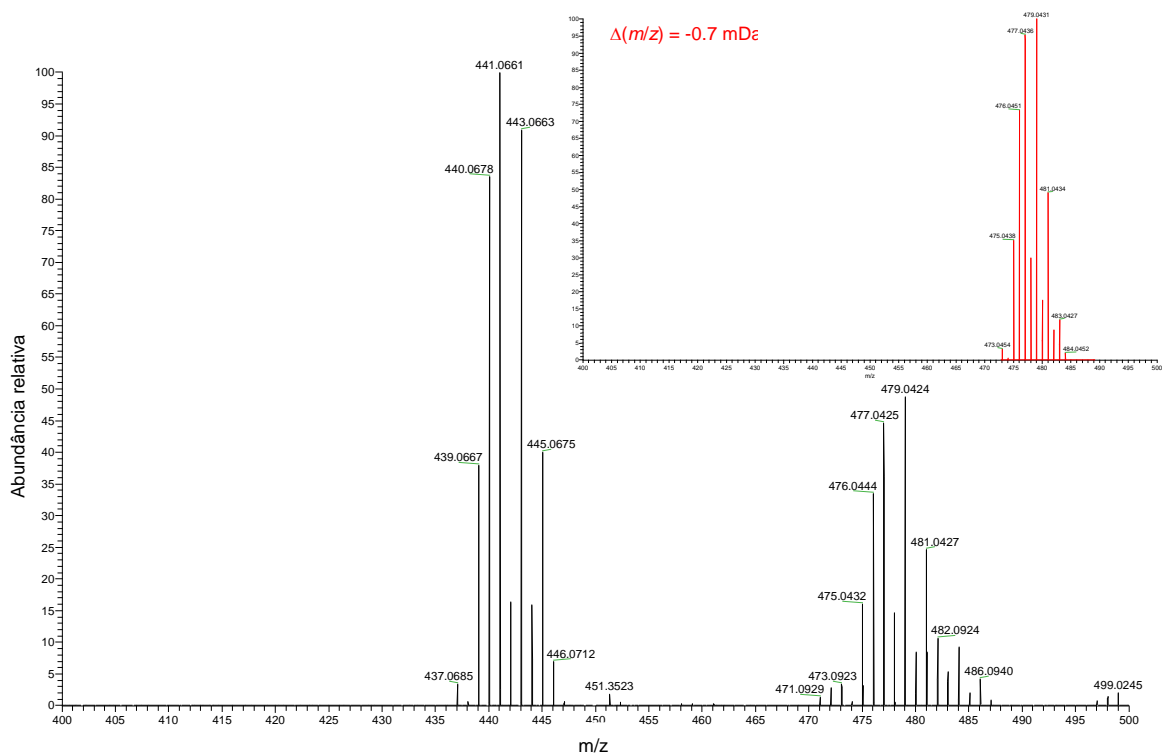


Figura 39: Porção do espectro de massas do Pd-CI-PTA entre m/z 400 e m/z 500 mostrando o pico referente ao íon molecular $[M+H]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

O pico do íon molecular $[M+H]^+$ aparece em m/z 479,0424 (m/z 479,0431) e m/z 477,0425 (m/z 477,0436), constatando a presença do halogênio Cl que possui abundância natural M e M+2. A perda do cloro $[M-Cl]^+$ é verificada em m/z 441,0661 (m/z 441,0673) e m/z 443,0663 (m/z 443,0672) (figura 40).

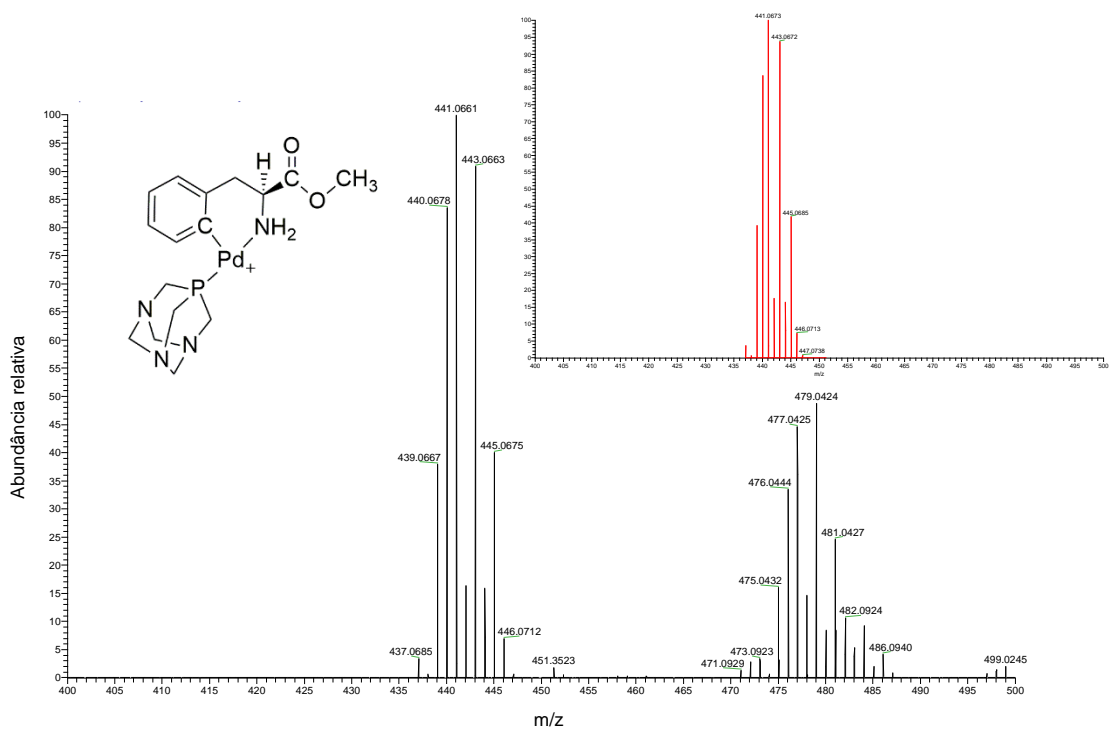


Figura 40: Porção do espectro de massas do Pd-Cl-PTA entre m/z 400 e m/z 500 mostrando o pico referente a perda $[M-Cl]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

Os outros picos intensos com alto valor de m/z , mostrados no espectro total (figura 38), são decorrentes da formação de adutos. Em m/z 919,1014 (m/z 919,1039) é mostrado o aduto $[2M-Cl]^+$ (figura 41).

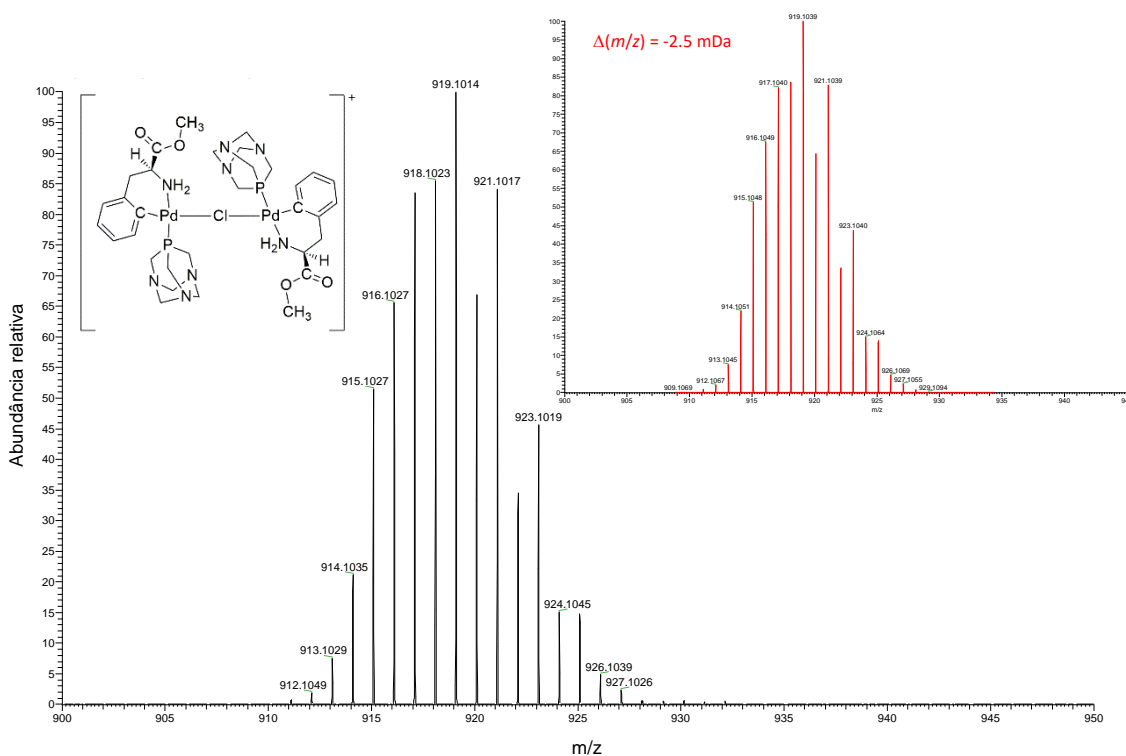


Figura 41: Formação do aduto $[2M-Cl]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

Um segundo aduto $[3M-Cl]^+$ (figura 42) é formado em m/z 1395,1397 (m/z 1395,1408) (figura 43).

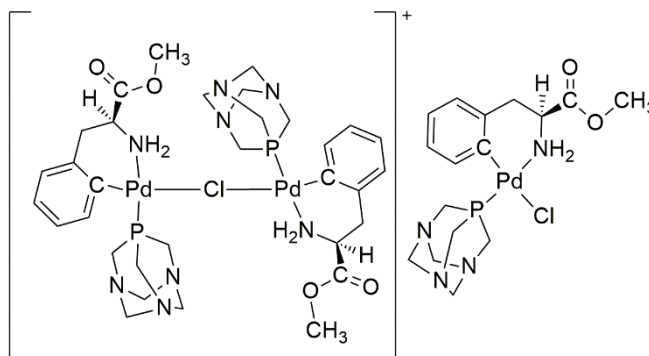


Figura 42: Proposta de estrutura para o aduto $[3M-Cl]^+$.

É sabido que a espectrometria de massas ESI pode facilmente gerar adutos entre moléculas neutras e cátions (EE^+) ou entre moléculas neutras e ânions (EE^-). Assim, a formação do aduto $[3M-Cl]^+$ é uma associação do tipo EE^+ (figura 43)⁹².

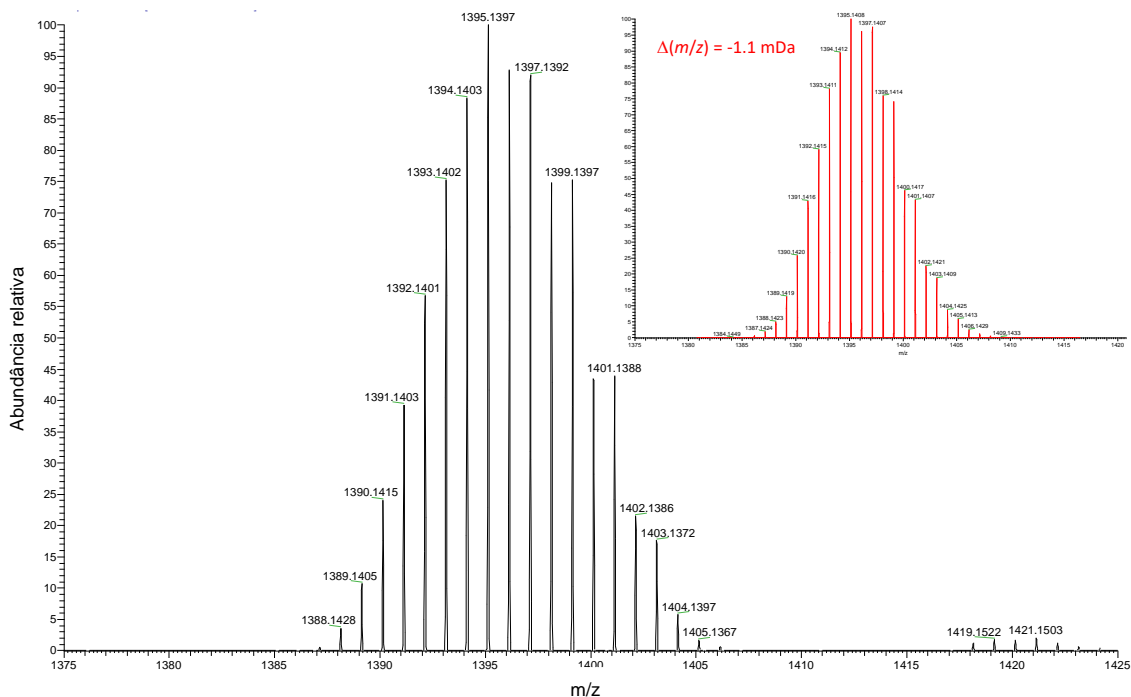


Figura 43: Formação do aduto $[3M-CI]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

5.2.3 – ESI-MS do complexo Pd-I-PTA

O espectro de massas do Pd-I-PTA é mostrado na figura 44 a seguir.

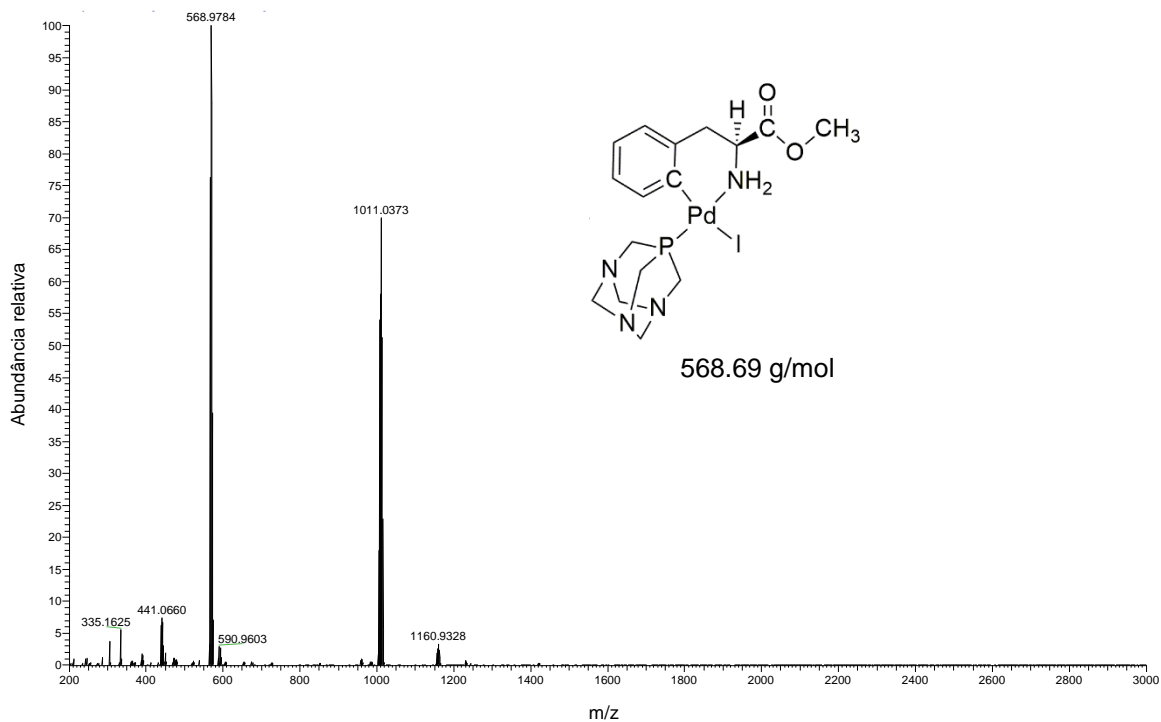


Figura 44: Espectro de massas do Pd-I-PTA.

O pico do íon molecular $[M+H]^+$ aparece em m/z 568,9784 (m/z 568,9796), não existindo outras fragmentações (figura 45).

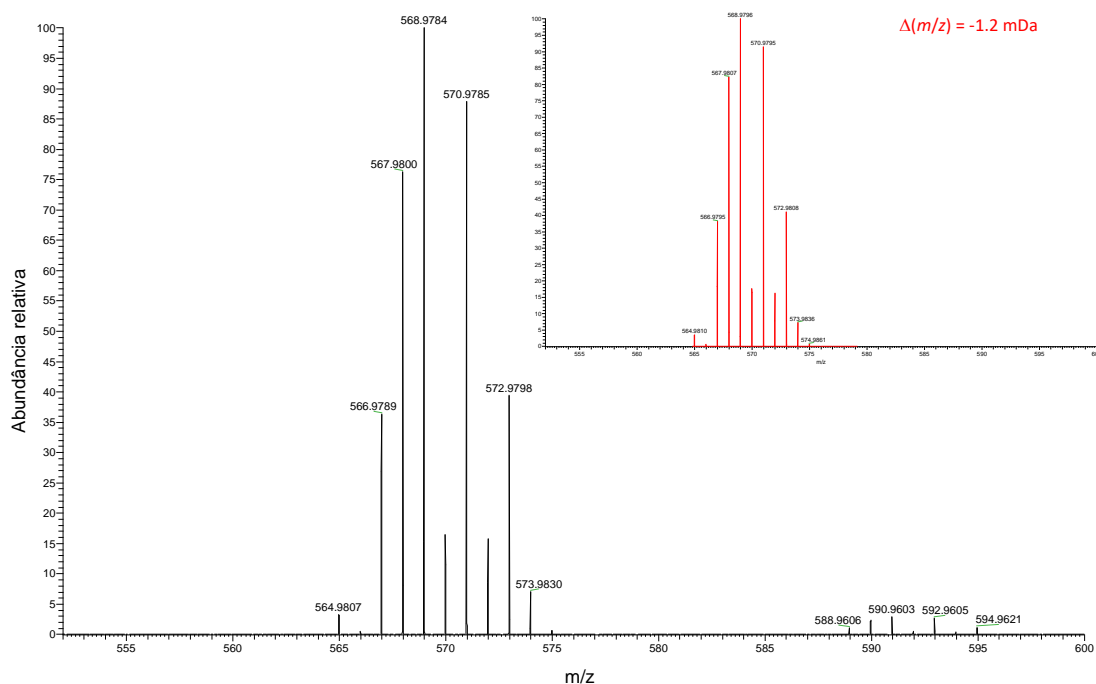


Figura 45: Porção do espectro de massas do Pd-I-PTA entre m/z 500 e m/z 600 mostrando o pico referente ao íon molecular $[M+H]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

A técnica de espectrometria de massas com ionização por electrospray, sendo um método de ionização banda, não é capaz de causar muitas fragmentações na molécula, a menos que o espectrômetro estivesse acoplado a uma outra fonte de ionização para induzir subseqüentes fragmentações⁹². Por esse motivo, não se observa fragmentações no espectro de massas do Pd-I-PTA. À semelhança do complexo Pd-Cl-PTA, é observado também a formação do aduto $[2M-I]^+$ (figura 46).

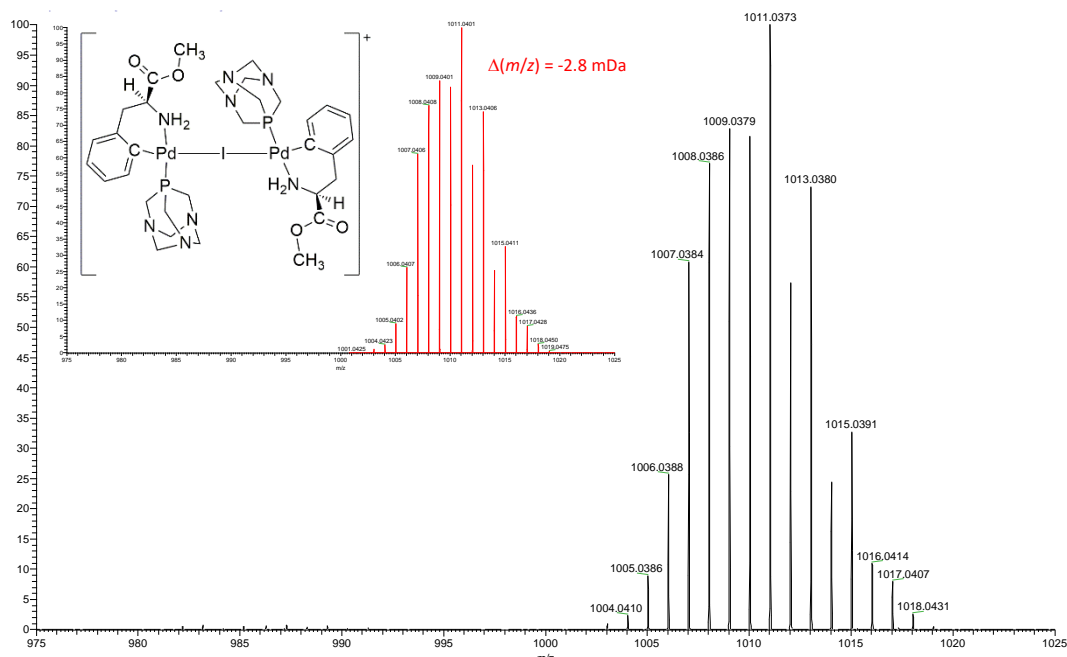


Figura 46: Formação do aduto $[2M-I]^+$ em m/z 1011,0373 (m/z 1011,0401) e o seu simulado em vermelho no canto superior esquerdo.

5.2.4 – ESI-MS do dímero Pd-N₃

Uma característica experimental da técnica de espectrometria de massas com ionização por electrospray é a formação de adutos entre o analito e moléculas de solvente, sendo essas moléculas de solvente tanto provenientes do próprio solvente no qual a amostra foi solubilizada, como também de contaminantes. Esses adutos formam um íon molecular do tipo $[M+\text{solvente}+H]^+$, resultando na massa do composto quando subtraído o valor de m/z do solvente do $[M+\text{solvente}+H]^+$.

A natureza dimérica do complexo Pd-N₃ possibilita que a interação com o solvente aconteça de modo que haja a substituição das moléculas de N₃, especialmente se o solvente tiver uma natureza coordenante. Esse comportamento é observado nos espectros de massas do dímero Pd-N₃.

O espectro de massas do dímero Pd-N₃ é mostrado na figura 47 a seguir.

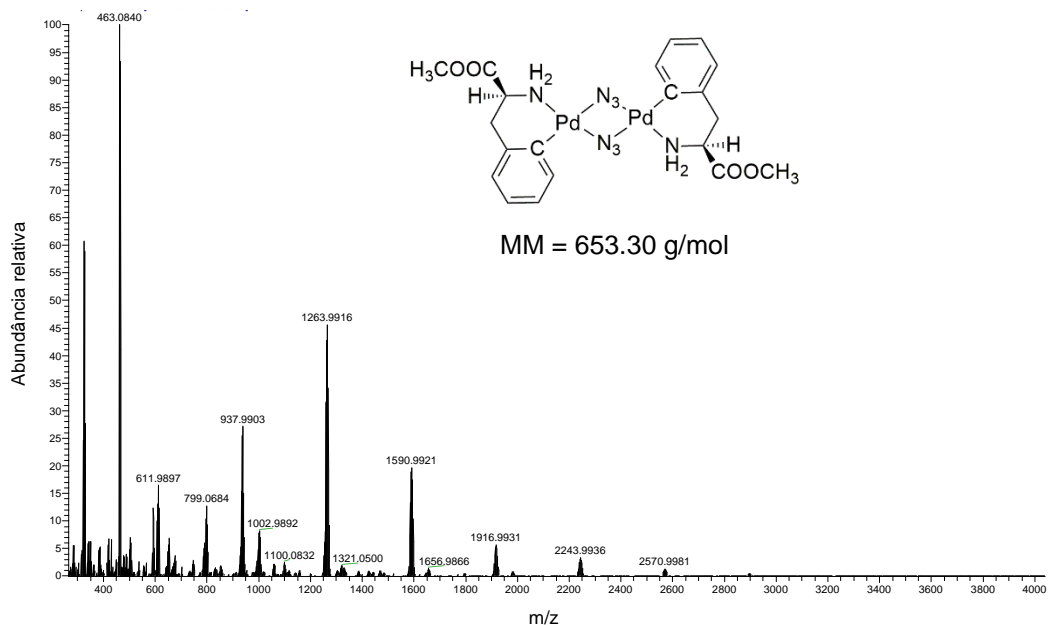


Figura 47: Espectro de massas do dímoro Pd-N₃.

Os picos do dímoro Pd-N₃ são resultado da formação de adutos entre uma molécula de CH₃CN e uma molécula do complexo menos um ligante azida. Assim, não é observado a formação de um íon molecular [M+CH₃CN+H]⁺, mas sim [Pd₂(LFME)₂(μ₂-N₃)(CH₃CN)]⁺, pois este último já possui uma natureza catiônica sem que seja necessária uma protonação prévia. Na figura 48 a seguir é mostrado o pico do cátion [Pd₂(LFME)₂(μ₂-N₃)(CH₃CN)]⁺ com *m/z* 653,0165 (*m/z* 653,0173).

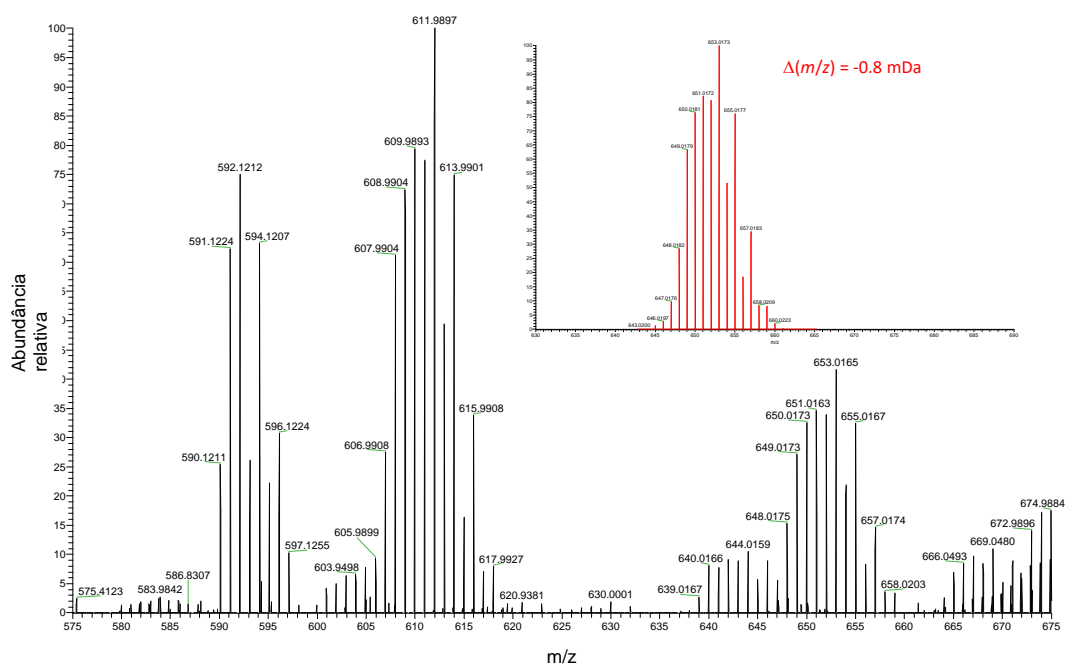


Figura 48: Porção do espectro de massas do Pd-N₃ entre *m/z* 575 e *m/z* 675 mostrando o pico do cátion [Pd₂(LFME)₂(μ₂-N₃)(CH₃CN)]⁺ em *m/z* 653,0165. O massa simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

A perda da molécula de CH₃CN forma um outro cátion detectável de fórmula [Pd₂(LFME)₂(μ₂-N₃)]⁺ em *m/z* 611,9897 (*m/z* 611,9907). Pela intensidade desse pico seria razoável supor que o mesmo seja o íon molecular, com uma fórmula do tipo [M-N₃]⁺ (figura 49).

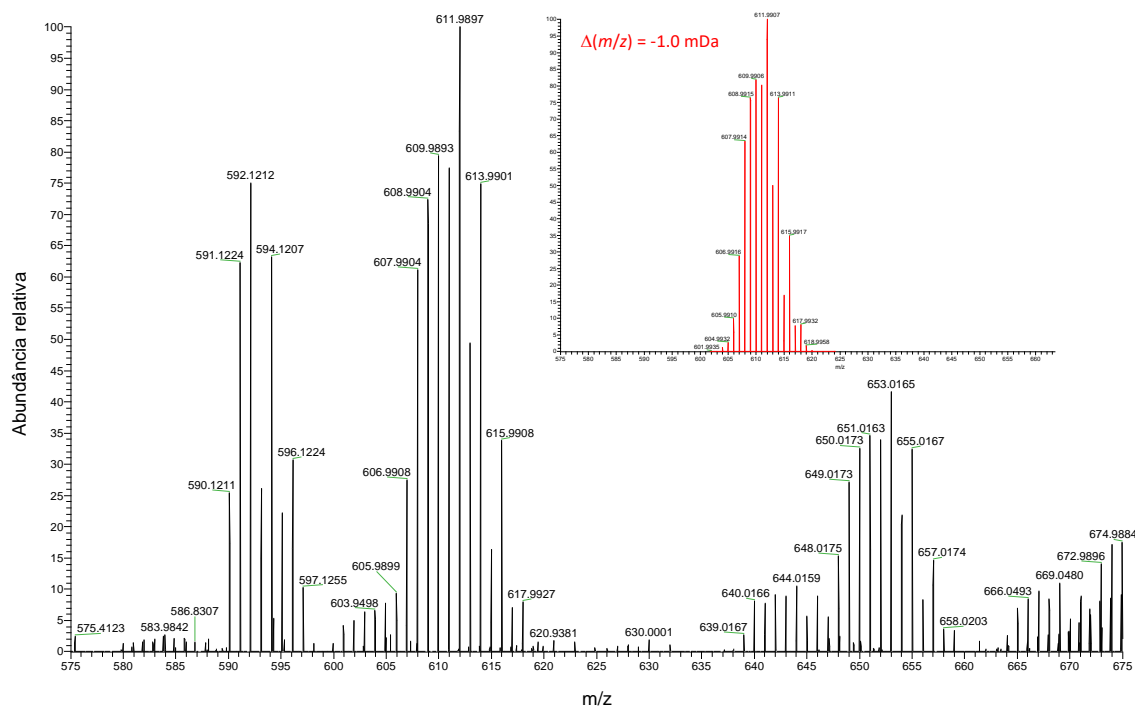


Figura 49: Porção do espectro de massas do Pd-N₃ entre *m/z* 575 e *m/z* 675 mostrando o pico do cátion [Pd₂(LFME)₂(μ₂-N₃)]⁺ em *m/z* 611,9897. O massa simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

A separação ou fragmentação do dímero é constatada com o pico em *m/z* 325,0153 (*m/z* 325,0168) atribuído à formação do cátion [Pd(LFME)(CH₃CN)]⁺ (figura 50).

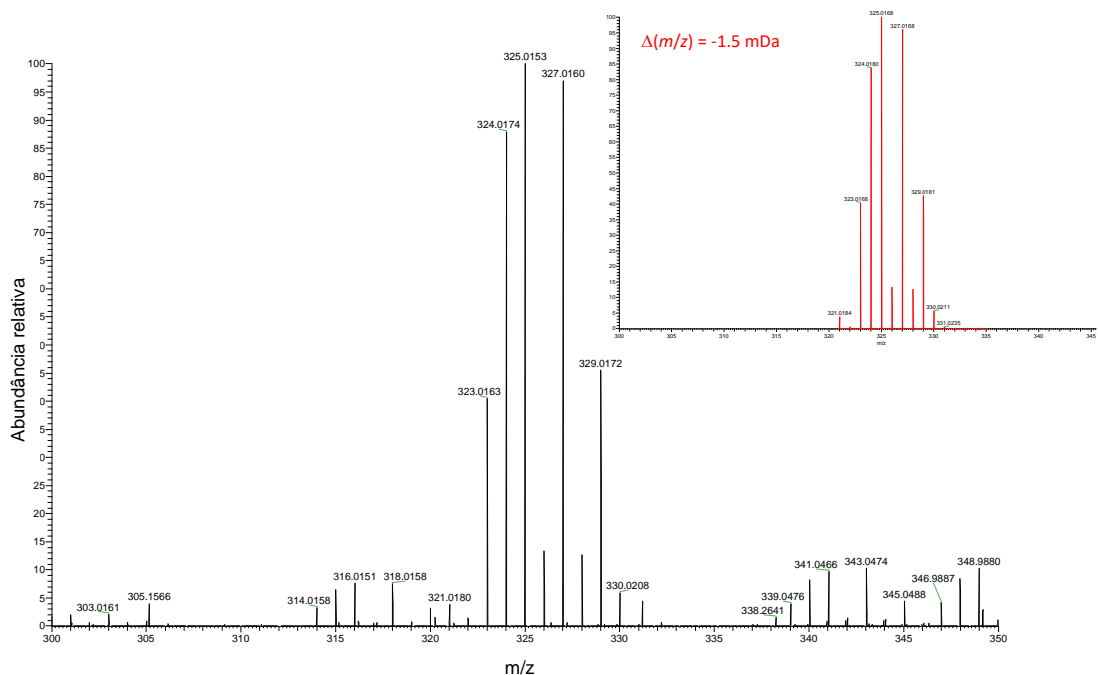


Figura 50: Porção do espectro de massas do Pd-N₃ entre m/z 300 e m/z 350 mostrando o pico do cátion [Pd(LFME)(CH₃CN)]⁺ em m/z 325,0153. O massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

5.2.5 – ESI-MS do complexo Pd-N₃-PTA

O espectro de massas do complexo Pd-N₃-PTA é mostrado na figura 51 a seguir.

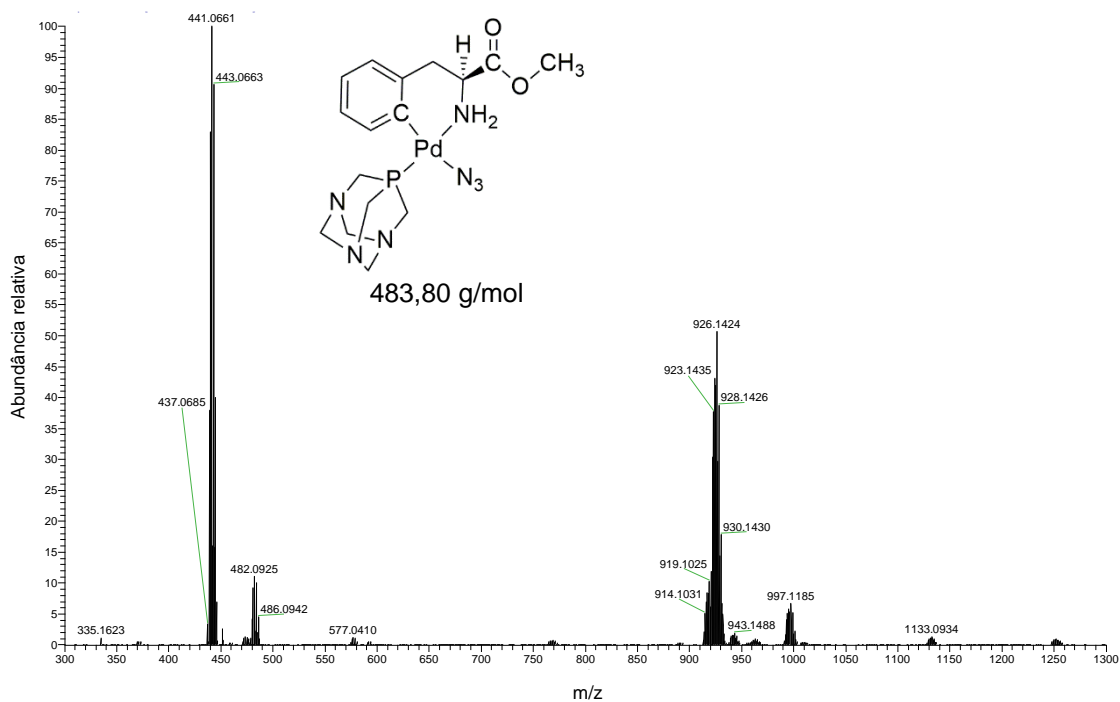


Figura 51: Espectro de massas do Pd-N₃-PTA.

Como pode ser visto a partir do massas, para o complexo Pd-N₃-PTA é possível observar um pico do íon molecular de fórmula [M-N₃]⁺ em *m/z* 441,0661 (*m/z* 441,0673), além de um pico de menor intensidade atribuído à formação de um aduto do tipo [M-N₃+CH₃CN]⁺ em *m/z* 482,0925 (*m/z* 482,0939) (figura 52).

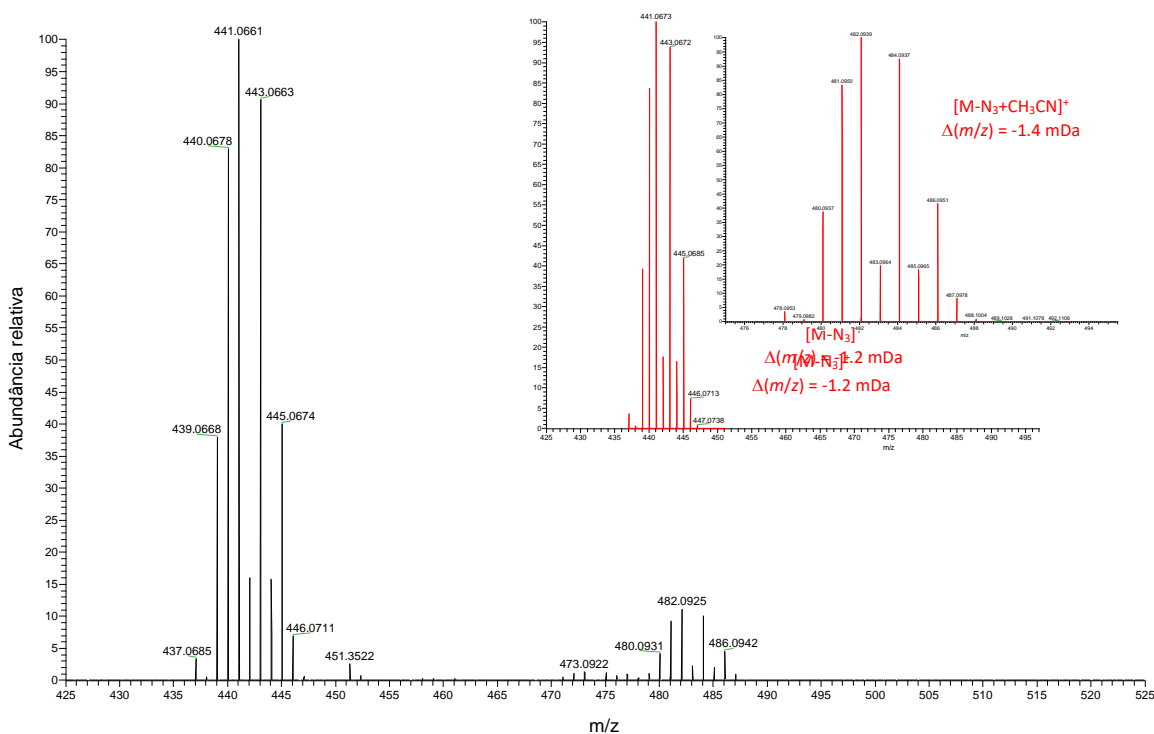


Figura 52: Porção do espectro de massas do Pd-N₃-PTA entre *m/z* 425 e *m/z* 525 mostrando os picos dos cátions [M-N₃]⁺ em *m/z* 441,0661 e [M-N₃+CH₃CN]⁺ em *m/z* 482,0925. Os respectivos massas simulados são mostrados em vermelho no canto superior direito.

Na figura 53 a seguir é mostrada a formação de um aduto [2M-N₃]⁺ em *m/z* 926,1424 (*m/z* 926,1448), sendo esse pico o segundo de maior intensidade do espectro de massas.

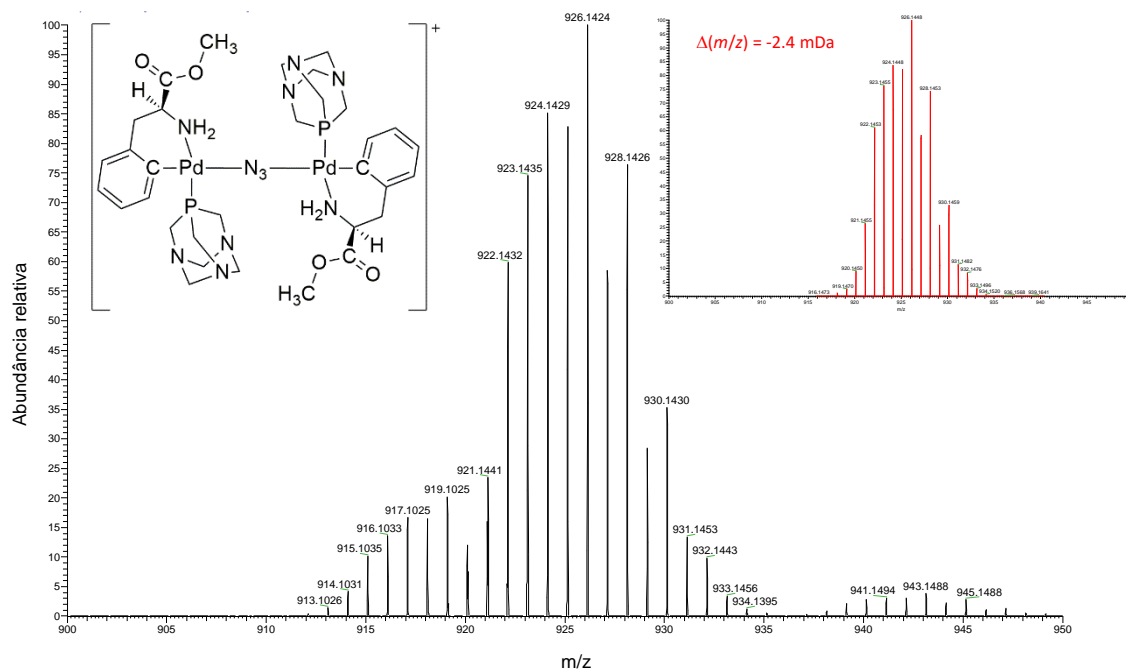


Figura 53: Formação do aduto $[2M-N_3]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior direito.

5.2.6 – ESI-MS do complexo Pd-Tria-PTA

O espectro de massas do complexo Pd-Tria-PTA, produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o complexo Pd- N_3 -PTA e o alcino DEAD, é mostrado na figura 54 a seguir.

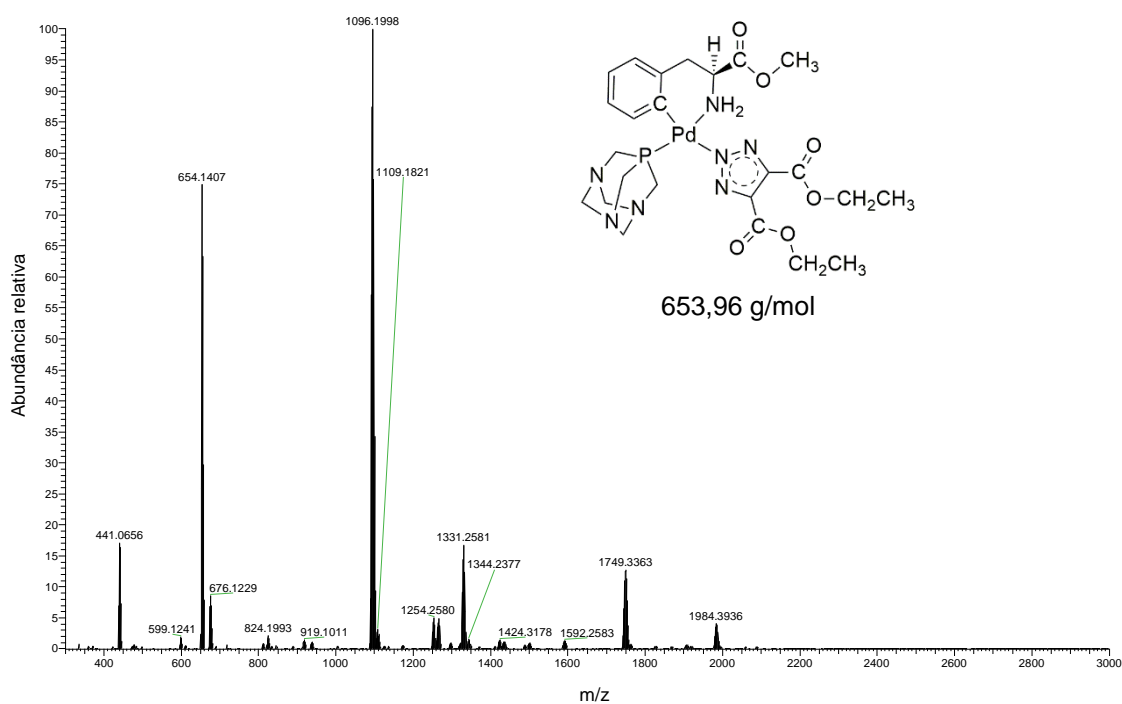


Figura 54: Espectro de massas do Pd-Tria-PTA.

No espectro de massas do Pd-Tria-PTA, além da formação do íon molecular $[M+H]^+$, observa-se também a formação de alguns adutos. O pico do íon molecular em m/z 654 é mostrado na figura 55 a seguir. É importante destacar que, no espectro de massas do precursor Pd-N₃-PTA, o íon molecular está ausente. Isso pode indicar uma maior estabilidade da ligação química Pd – Tria se comparado com a ligação Pd – N₃.

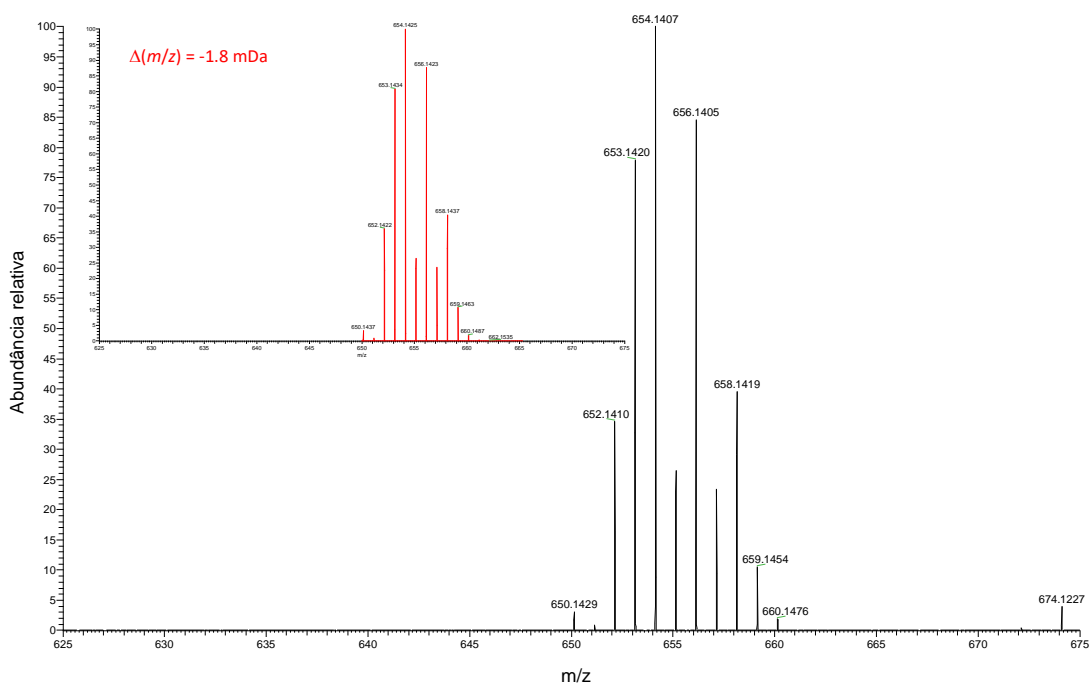


Figura 55: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA mostrando o pico do íon molecular $[M+H]^+$ e o seu simulado em vermelho no canto superior esquerdo.

Mas a perda do ligante triazolato também é observada no massas do Pd-Tria-PTA (figura 56).

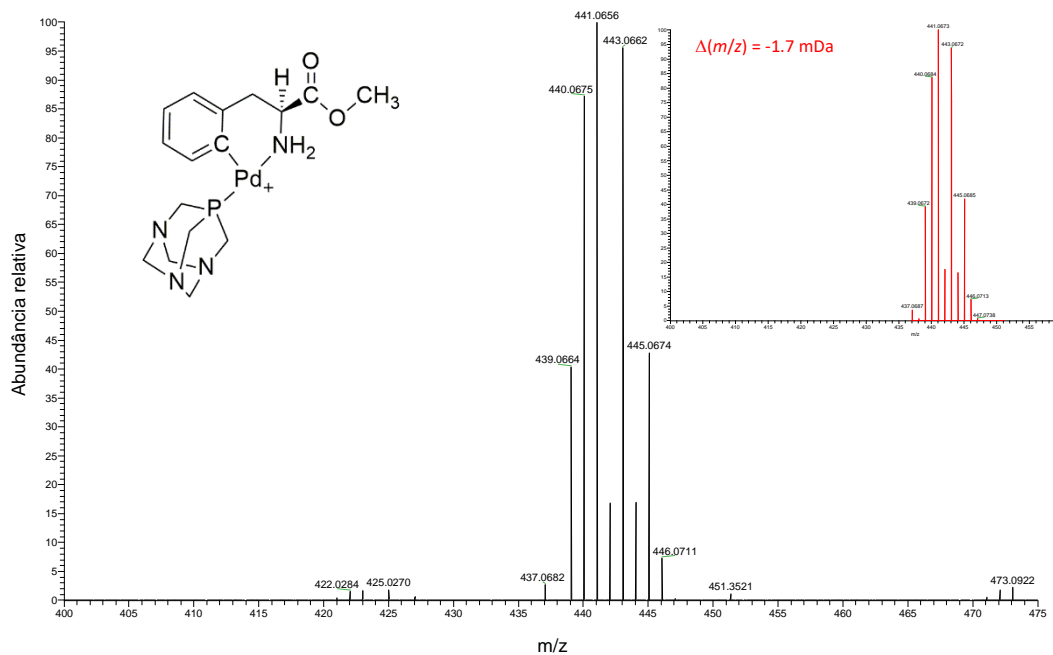


Figura 56: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA entre m/z 400 e m/z 475 mostrando o pico do cátion $[M\text{-triazolato}]^+$ em m/z 441. O respectivo massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

A intensidade desse pico m/z 441 é muito pequena se comparada a do íon molecular em m/z 654 ou mesmo ao pico em m/z 1096 referente à formação do aduto catiônico $[2M\text{-triazolato}]^+$ (figura 57).

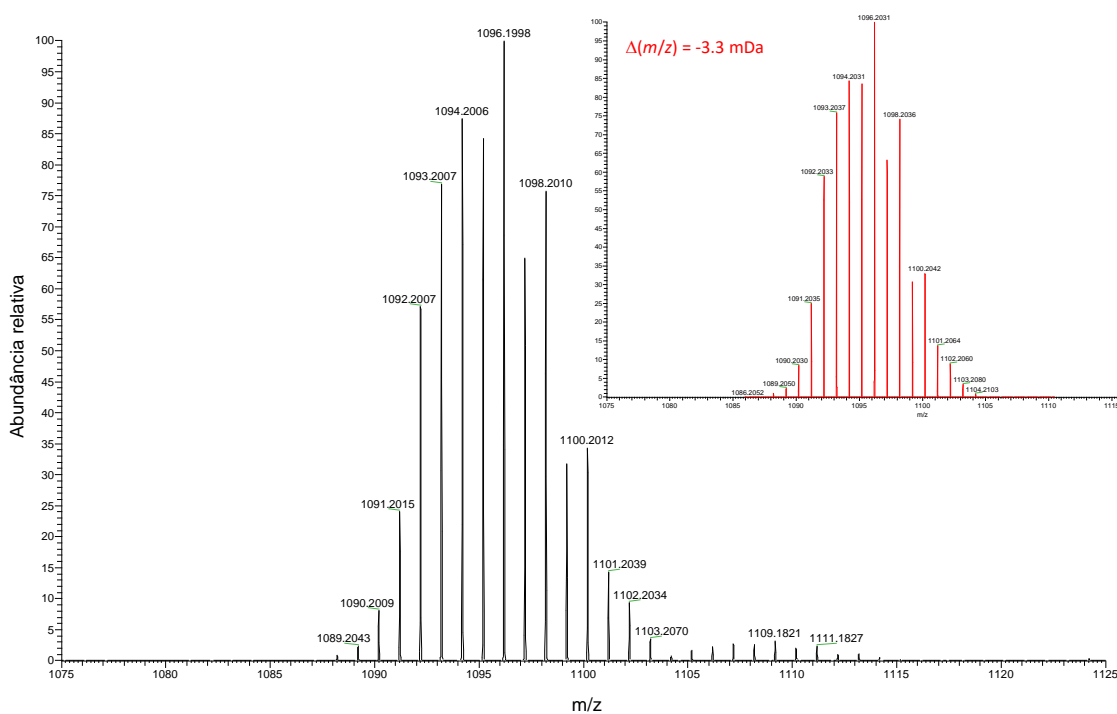


Figura 57: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA entre m/z 1075 e m/z 1125 mostrando o pico do aduto catiônico $[2M\text{-triazolato}]^+$ em m/z 1096. O respectivo massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

A formação de um aduto com sódio do tipo $[2M+Na]^+$ é observada em m/z 1331 (figura 58). Este pico tem, aproximadamente, a mesma intensidade daquele referente a perda do grupo triazolato.

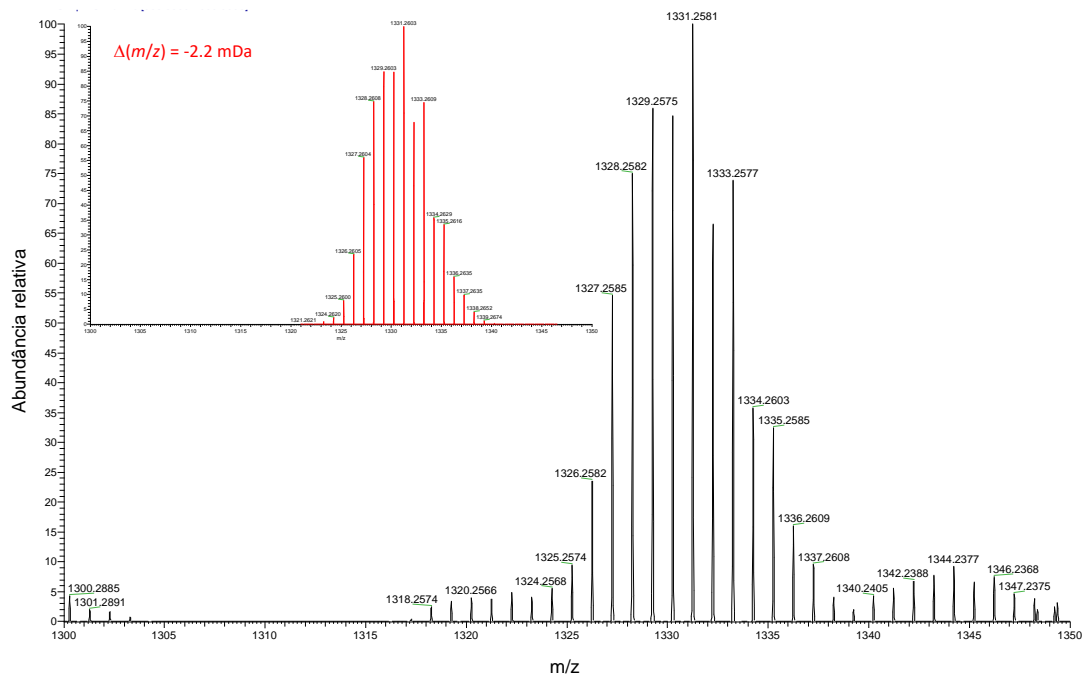


Figura 58: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA entre m/z 1300 e m/z 1350 mostrando o pico do aduto catiônico $[2M+Na]^+$ em m/z 1331. O respectivo massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior esquerdo.

Um aduto do tipo $[3M\text{-triazolato}]^+$ aparece em m/z 1749 (figura 59).

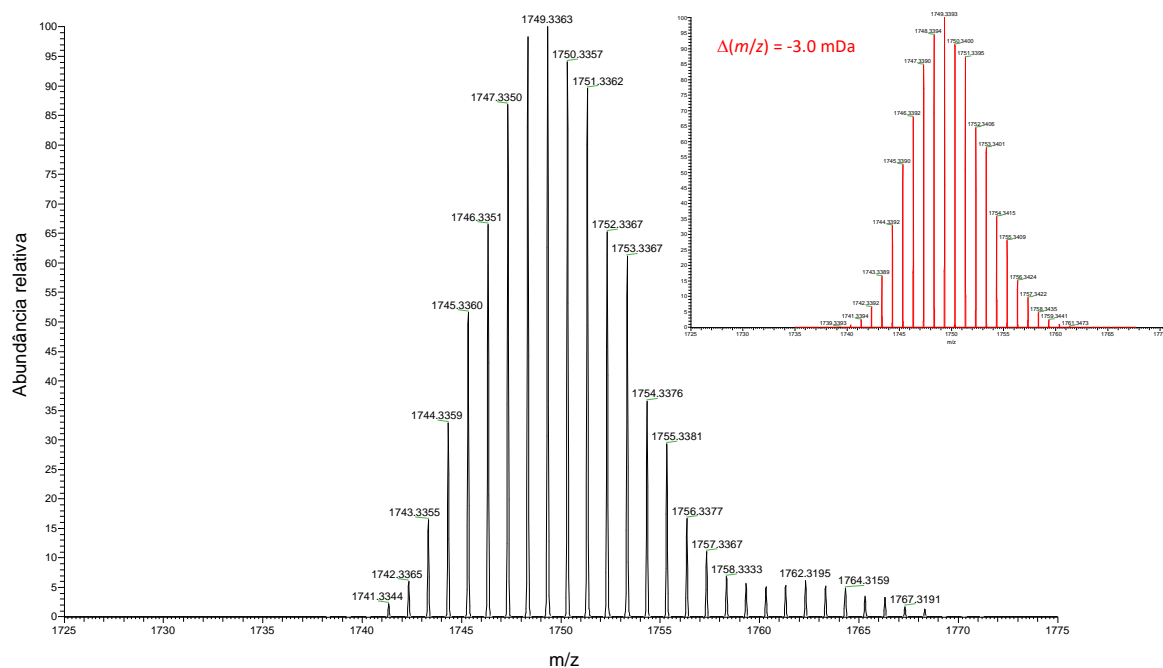


Figura 59: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA entre m/z 1725 e m/z 1775 mostrando o pico do aduto catiônico $[3M\text{-triazolato}]^+$ em m/z 1749. O respectivo massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

De modo semelhante ao 2M, o 3M também forma aduto $[3M+Na]^+$ em m/z 1964 (figura 60).

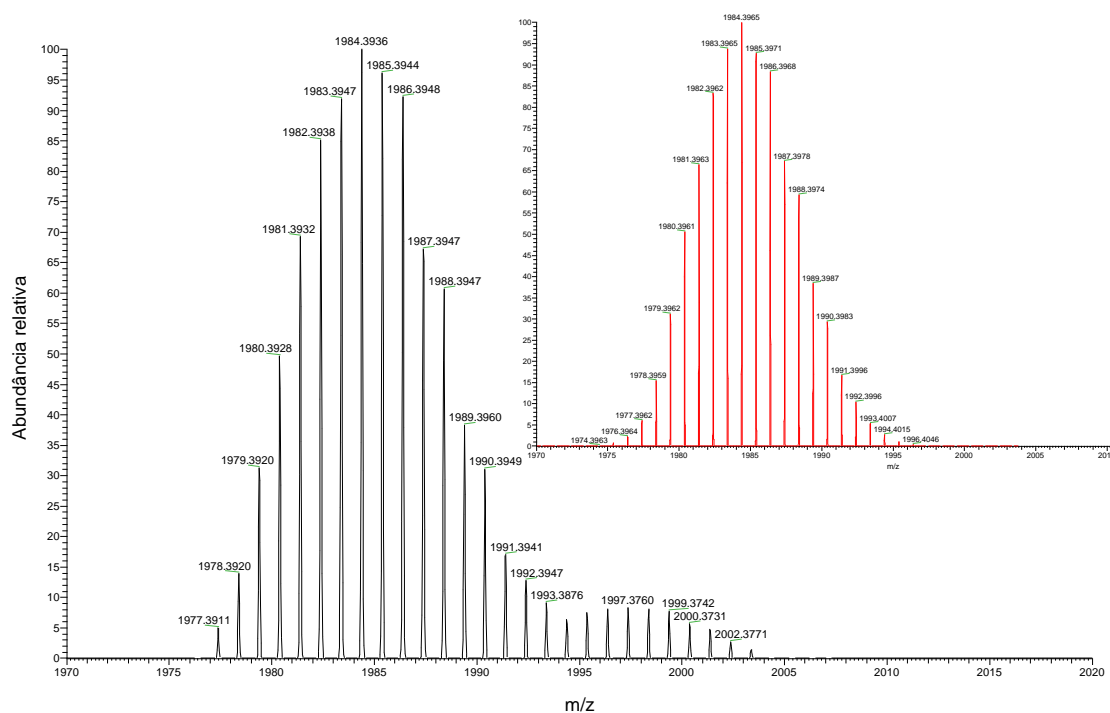


Figura 60: Porção do espectro de massas do Pd-Tria-PTA entre m/z 1970 e m/z 2020 mostrando o pico do aduto catiônico $[3M+Na]^+$ em m/z 1964. O respectivo massas simulado é mostrado em vermelho no canto superior direito.

A partir dos espectros de massa de todos os complexos sintetizados, mais o do ligante precursor LFME-OTf, é possível afirmar que os compostos foram obtidos com sucesso e com um grau de pureza considerável.

4.3- Elucidação da estrutura cristalina/molecular por difração de raios X em monocristal do [PdBr(C²,N-LFME)(PTA)] (Pd-Br-PTA)

Os monocristais do complexo Pd-Br-PTA foram obtidos em CH₃COCH₃, diretamente do meio reacional, por lenta evaporação do solvente. Embora a cor da solução da reação fosse amarelo dourado, os cristais eram praticamente incolores. A unidade assimétrica do Pd-Br-PTA é mostrada na figura 62 a seguir.

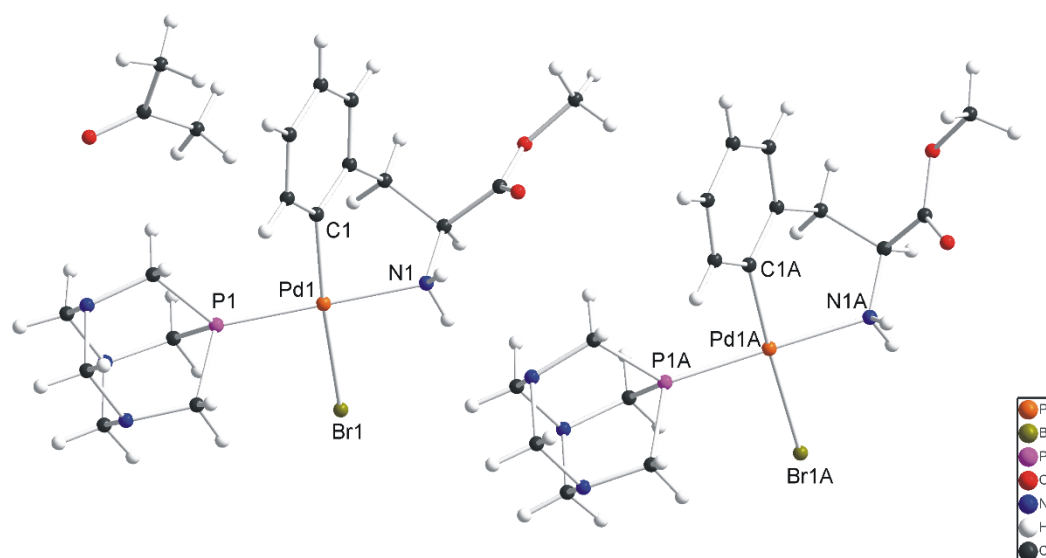


Figura 61: Unidade assimétrica do complexo Pd-Br-PTA composta por duas moléculas de complexo e uma de solvato CH₃COCH₃. As elipsóides térmicas estão representadas com probabilidade de 50%.

A unidade assimétrica do Pd-Br-PTA é composta por duas moléculas de complexo cristalograficamente independentes, além de uma molécula de solvato CH₃COCH₃. Na primeira molécula de complexo, o átomo de paládio encontra-se em um ambiente quadrado planar ligeiramente distorcido. Os ângulos que mais se distanciam de 90° são aqueles formados pelos átomos P1/Pd1/C1 = 94,51° e N1/Pd1/C1 = 84,58°, sendo este último referente ao anel ciclometalado. É provável que a coordenação do nitrogênio, ligado a dois átomos de hidrogênio não volumosos, promova uma menor abertura do ângulo do anel ciclometalado; ao contrário do que se observa no ângulo formado por P1/Pd1/C1, no qual a fosfina volumosa induz a abertura do ângulo. Os ângulos das diagonais do quadrado são: P1/Pd1/N1 = 177,97° e C1/Pd1/Br1 = 172,85°. A esfera de coordenação da segunda molécula é praticamente idêntica à primeira. Os ângulos que mais se distanciam de 90° são aqueles formados pelos átomos P1A/Pd1A/C1A = 93,07° e N1A/Pd1A/C1A

= 87,33°, sendo este último referente ao anel ciclometalado. Os ângulos das diagonais do quadrado são: P1/Pd1/N1 = 179,11° e C1/Pd1/Br1 = 177,36°. A formação do anel ciclometalado de 6 membros gera uma distorção significativa na molécula da LFME. Essa distorção é refletida na conformação em barco assumida pelo anel ciclometalado (figura 62), tendência essa já observada na literatura⁵⁸.

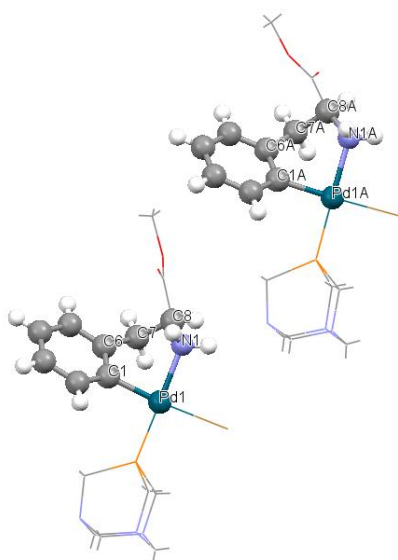


Figura 62: Conformação em barco do anel ciclometalado para ambas as moléculas de complexo. O restante da molécula está representado no modo *wireframe* para maior clareza na visualização.

O ligante PTA se coordena ao Pd(II) através do átomo de fósforo, confirmando o caráter de ácido mole do metal⁹³⁻⁹⁴. Em ambas as moléculas de complexo, ao observar na perspectiva da ligação Pd – P, nota-se arranjos geométricos equivalentes dos ligantes PTA, que mantém a estrutura do tipo gaiola, típica dessa classe de composto (figura 63, a)⁹⁵. Para fins de comparação, foi escolhido um complexo da literatura de fórmula *trans*-[Pd(Br)₂(PTA)₂]. Neste complexo é observado o mesmo arranjo geométrico dos ligantes PTA, semelhante ao complexo Pd-Br-PTA, quando observado através da ligação Pd – P (figura 73, b)⁹⁶.

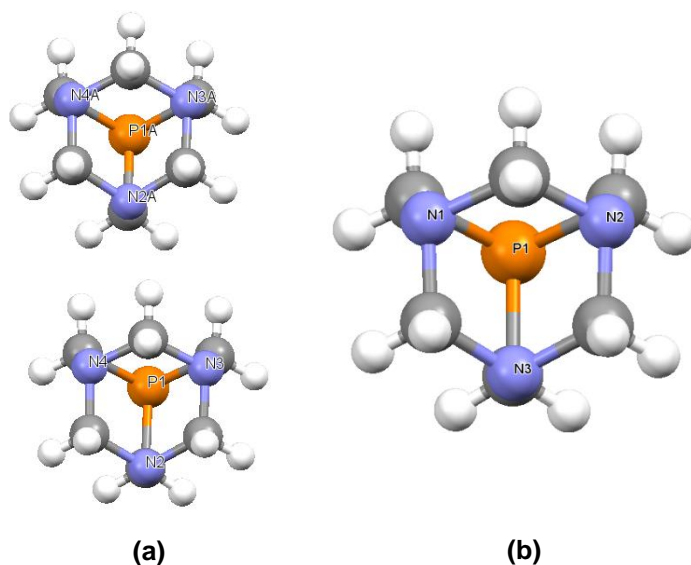


Figura 63: Arranjos geométricos dos ligantes PTA na unidade assimétrica do complexo Pd-Br-PTA em (a) e do complexo da literatura *trans*-[Pd(Br)₂(PTA)₂] em (b). O restante das moléculas foi apagado para maior clareza.

Na unidade do Pd-Br-PTA duas interações de hidrogênio intermoleculares conectam as duas moléculas de complexo (figura 64), sendo uma não clássica e outra clássica:

C10 – H10D ••• C4A = 2,651 Å (não clássica)

N1 – H1B ••• N2A = 2,186 Å (clássica)

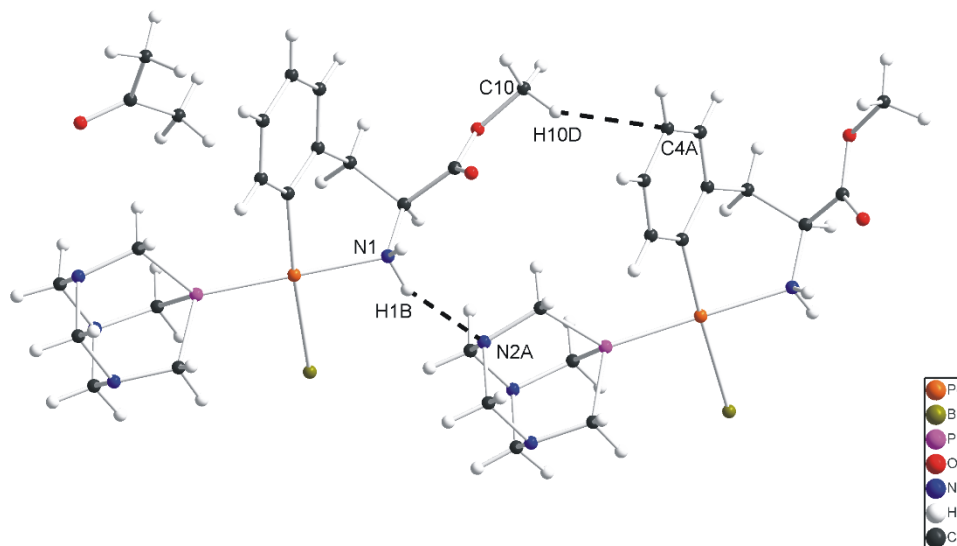


Figura 64: Interações de hidrogênio entre as duas moléculas de complexo na unidade assimétrica.

No cristal, essas duas moléculas da unidade assimétrica formam como que uma unidade que se propaga como um polímero de ligações de hidrogênio do tipo não clássica $C14 - H14C \cdots Br1A = 2,905 \text{ \AA}$ (figura 65).

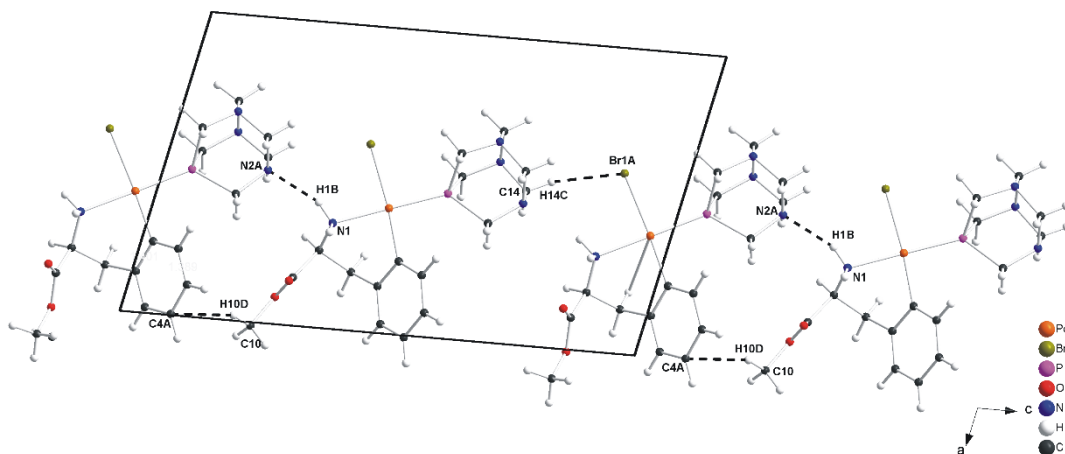


Figura 65: Seção da estrutura cristalina do complexo Pd-Br-PTA mostrando o polímero de interações $C - H \cdots Br$, $C - H \cdots C$ e $N - H \cdots N$, vistas pela perspectiva do eixo cristalográfico *b*.

Essas cadeias poliméricas são conectadas pelas moléculas de solvato CH_3COCH_3 por interações de hidrogênio não clássicas (figura 66), sendo:

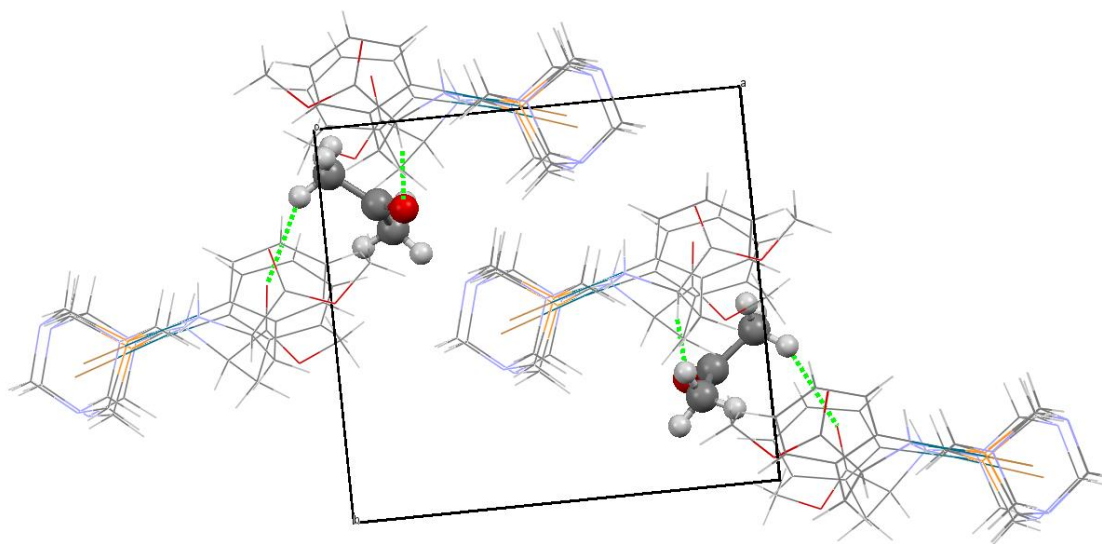
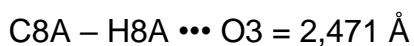


Figura 66: Representação das interações (em verde) das moléculas de solvato CH_3COCH_3 (*ball and stick*) interagindo com diferentes cadeias poliméricas do complexo Pd-Br-PTA (*wireframe*), vistas pela perspectiva do eixo cristalográfico *a*.

Os valores de comprimento de ligação encontrados para o Pd-Br-PTA estão de acordo com a literatura.

Os dados cristalográficos básicos para são mostrados no quadro 9 a seguir.

Quadro 9: Dados cristalográficos básicos do complexo Pd-Br-PTA.

$2(\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{PPd}), \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	$Z = 2, Z' = 1$
$M_r = 1101,42$	$F(000) = 1104,0$
Monoclinic, $P2_1$	$D_x = 1,712 \text{ g cm}^{-3}$
$a = 11,3540 (3) \text{ \AA}$	Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$
$b = 10,2488 (2) \text{ \AA}$	$\mu = 2,836 \text{ mm}^{-1}$
$c = 18,7851 (5) \text{ \AA}$	$T = 100 (2) \text{ K}$
$\beta = 102,165 (3)^\circ$	$0,26 \times 0,13 \times 0,04 \text{ mm}^3$
$V = 2136,84 (10) \text{ \AA}^3$	$R_1 = 3,31 \%$

Os demais dados cristalográficos do Pd-Br-PTA estão em anexo.

4.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Para o estudo do comportamento em solução dos novos compostos sintetizados foram utilizadas técnicas de RMN unidimensionais: ^1H , ^{13}C e ^{31}P ; e bidimensionais heteronucleares: ^{13}C - ^1H -HSQC, ^{13}C - ^1H -HMBC e ^{15}N - ^1H -HMBC (alguns compostos). Para todos os compostos não será mostrado o RMN de ^{13}C , sendo os carbonos, portanto, identificados através do ^{13}C - ^1H -HSQC. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{19}F do ligante precursor LFME-OTf e de ^1H e de ^{31}P do PTA estão em anexo.

O comportamento dos complexos em solução foi estudado através de experimentos de RMN de ^1H e de ^{31}P nos solventes DMSO- d_6 e CDCl_3 , nos tempos 0, 24 e 48 h. Experimentos de RMN de ^1H e de ^{31}P com variação de temperatura foram realizados a fim de auxiliar na elucidação estrutural e para se obter mais informações acerca da estabilidade dos compostos.

Os compostos $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{PTA})(\text{X})]$, $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$, apresentaram um comportamento magnético bastante semelhante. Para não tornar a descrição do RMN dos compostos repetitiva, a interpretação será feita em duas partes:

- Na seção 4.4.1 será feita uma descrição do complexo Pd-Br-PTA. Os espectros do complexos Pd-Cl-PTA e Pd-I-PTA, com suas atribuições, serão colocados em anexo;

- Na seção 4.4.2 será feito um estudo comparativo com os complexos derivados da azida: Pd-N₃, Pd-N₃-PTA e Pd-Tria-PTA.

4.4.1- RMN do complexo Pd-Br-PTA

Foram obtidos espectros de RMN de ¹H, ³¹P{¹H}, ¹³C-¹H-HSQC e ¹³C-¹H-HMBC. A discussão dos espectros será feita considerando a padronização dos núcleos como mostrado na figura 67 a seguir. Essa padronização será seguida para os demais complexos.

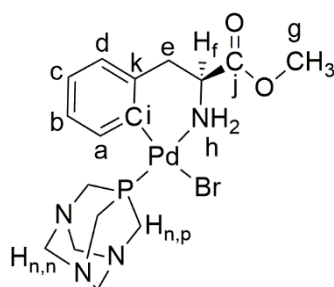


Figura 67: Padronização dos núcleos da molécula de complexo Pd-Br-PTA. A letra corresponde tanto ao carbono como ao seu respectivo hidrogênio.

O espectro de RMN de ¹H do Pd-Br-PTA, feito em CDCl₃, com a região aromática ampliada, é mostrado na figura 68 a seguir.

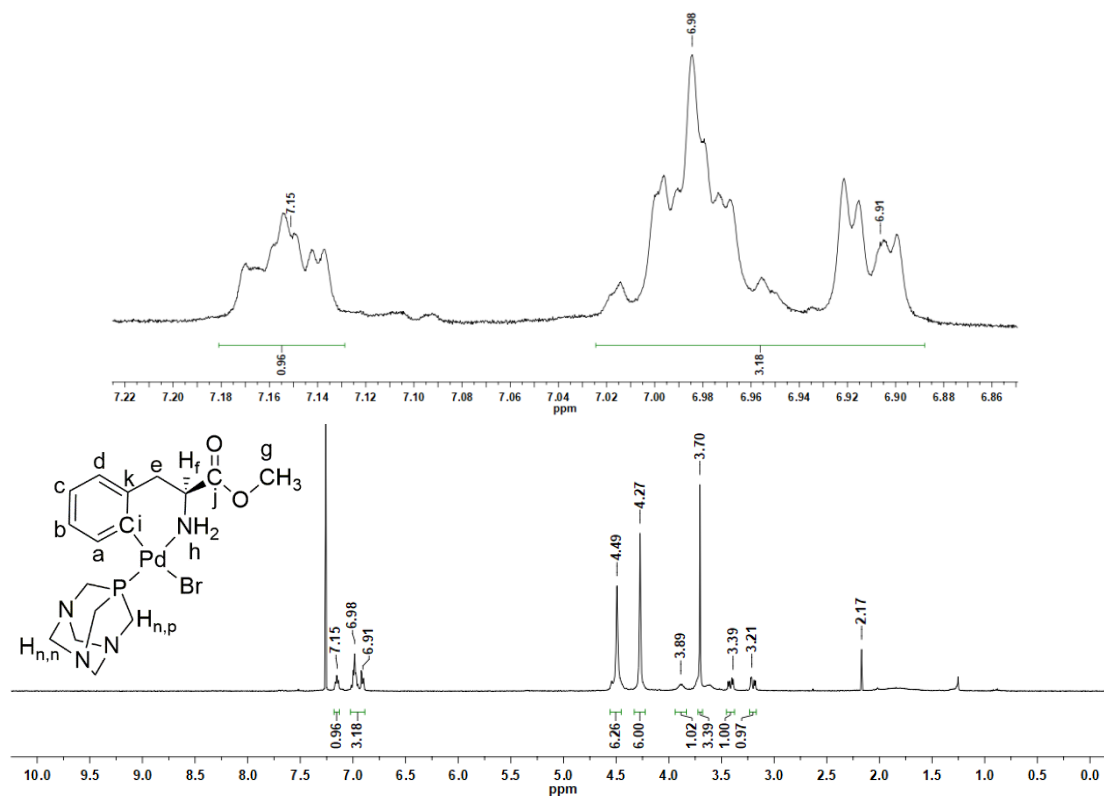


Figura 68: Espectro de RMN de ¹H do Pd-Br-PTA feito em CDCl₃.

Como pode ser visto a partir do espectro de ^1H , todos os núcleos de hidrogênio, com exceção daqueles ligados ao nitrogênio, foram identificados. Devido à natureza diastereotópica dos hidrogênios metilênicos do ligante LFME ($\text{H}_e, \text{H}_{e'}$), é observado uma separação dos seus sinais em 3,21 e 3,39 ppm. No espectro do ligante livre (figura A1), o sinal referente aos hidrogênios metilênicos aparece com uma multiplicidade próxima de um septeto, ou seja, mesmo esses prótons ($\text{H}_e, \text{H}_{e'}$) sendo diastereotópicos não se observa uma clara separação dos seus sinais. Isso é compreensível se se considerar o fato de que o carbono C_e , sendo hibridizado sp^3 , proporciona uma liberdade de movimentação aos seus hidrogênios ($\text{H}_e, \text{H}_{e'}$), de modo que não seja possível, na faixa de tempo de detecção do experimento de RMN, observar uma distinção entre H_e e $\text{H}_{e'}$. No entanto, com a coordenação do ligante LFME ao Pd(II) e formação do anel ciclometalado, as ligações químicas de todo o anel ciclometalado adquirem uma certa rigidez que permite aos hidrogênios H_e e $\text{H}_{e'}$ experimentarem diferentes ambientes magnéticos, detectáveis no experimento e manifestado na separação dos sinais.

Os hidrogênios H_g do grupo metila aparecem como um singleto em 3,70 ppm. O sinal do hidrogênio H_f , ligado ao carbono quiral, aparece como um singleto de baixa intensidade, ao contrário do que se observa no ligante livre onde o mesmo hidrogênio aparece como um tripleto bem definido, resultante do acoplamento com os hidrogênios metilênicos. Infelizmente, uma boa resolução dos sinais não é uma característica forte do sistema $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{PTA})(\text{X})]$, mesmo em experimentos feitos com variação de temperatura, como será mostrado posteriormente. Assim, na região aromática do espectro de ^1H , ampliada na parte superior da figura 68, não é possível fazer uma atribuição quanto à multiplicidade dos sinais e nem calcular constantes de acoplamento. A partir do valor de cada integral conclui-se que os 4 hidrogênios do anel aromático estão presentes, e que possuem um padrão típico de um sistema aromático 1,2-dissubstituído, confirmando assim a ciclometalação.

Os hidrogênios $\text{H}_{n,p}$ do ligante PTA aparecem em 4,27 ppm, enquanto aqueles ligados a dois nitrogênios $\text{H}_{n,n}$ em 4,49 ppm. Essa distinção leva em consideração o maior efeito de desblindagem experimentado pelos prótons quando ligados aos dois átomos de nitrogênio ($\text{H}_{n,n}$) do que quando ligados a um nitrogênio e a um fósforo ($\text{H}_{n,p}$). Quando não coordenado, os respectivos hidrogênios do ligante PTA aparecem em 4,07 ($\text{H}_{n,p}$) e 4,61 ($\text{H}_{n,n}$) ppm. Não é observada uma mudança

significativa no valor dos deslocamentos químicos dos prótons do PTA após sua coordenação ao centro metálico, diferentemente do que acontece com o núcleo de fósforo após sua coordenação ao Pd(II) (figura 69).

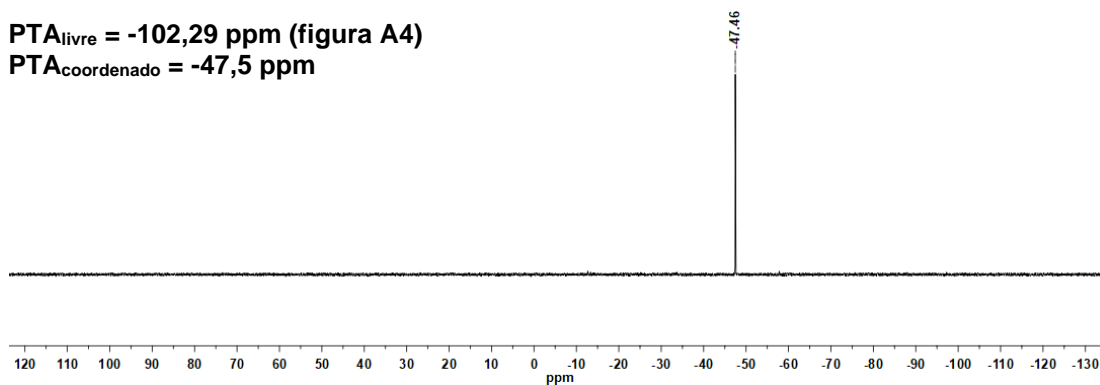


Figura 69: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Br-PTA feito em CDCl_3 .

Essa grande variação no valor do deslocamento químico do núcleo de ^{31}P , além da existência de um único sinal, confirmam a coordenação do ligante PTA unicamente através do átomo de fósforo com formação de um único produto. O valor de -102,3 ppm para o PTA não coordenado e de -47,5 ppm para o complexo Pd-Br-PTA estão de acordo com a literatura⁹⁷⁻⁹⁸.

A partir do ^{13}C - ^1H -HSQC mostrado na figura 70 a seguir é possível correlacionar cada hidrogênio ao seu respectivo carbono.

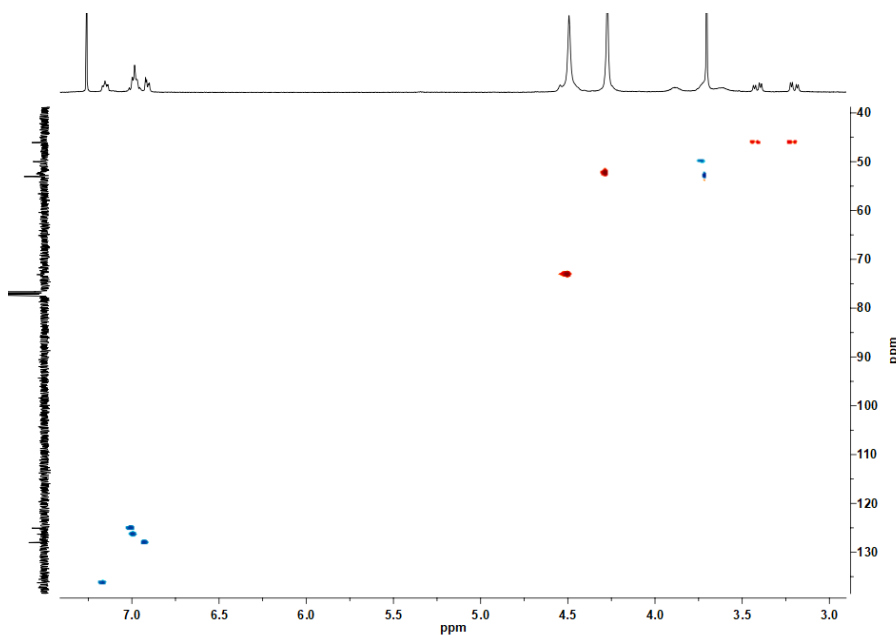


Figura 70: Mapa de contorno de ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Br-PTA.

Na figura 71 a seguir é mostrada uma ampliação da região alifática da molécula de complexo de Pd-Br-PTA.

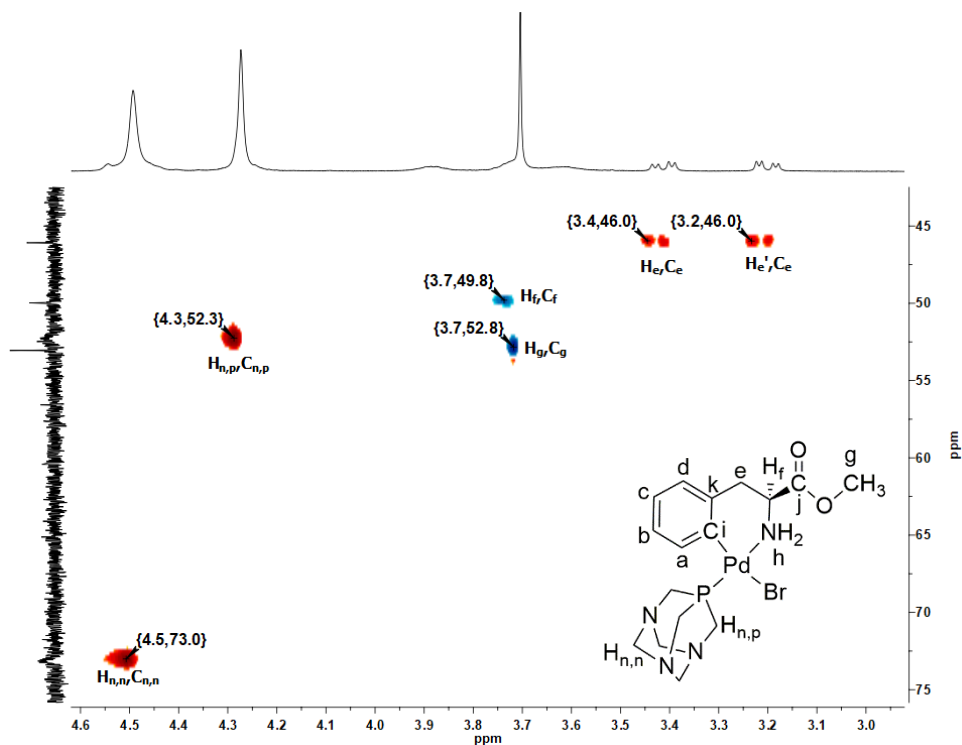


Figura 71: Mapa de contorno de ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Br-PTA mostrando a ampliação da região alifática.

É interessante destacar a diferença considerável que existe entre os carbonos $\text{C}_{n,n}$ (73 ppm) e $\text{C}_{n,p}$ (52,3 ppm). Isso confirma o maior efeito de desblindagem que o núcleo de nitrogênio causa nos demais núcleos quando comparado ao fósforo. Como mostrado na região aromática do espectro (figura 72), todos os núcleos de carbono e hidrogênio da região aromática da molécula puderam ser identificados. No entanto, para auxiliar na correta atribuição dos núcleos aromáticos, é necessário utilizar a técnica de ^{13}C - ^1H -HMBC.

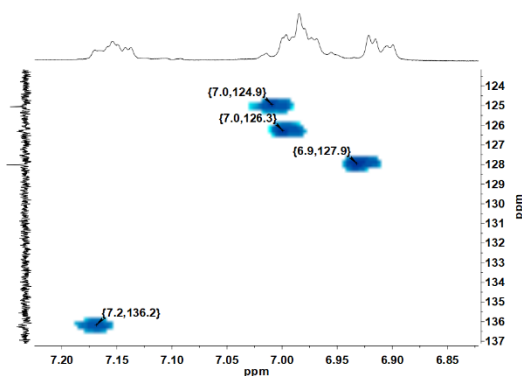


Figura 72: Região aromática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Br-PTA.

O ^{13}C - ^1H -HMBC do complexo Pd-Br-PTA com suas atribuições é mostrado na figura 73 a seguir.

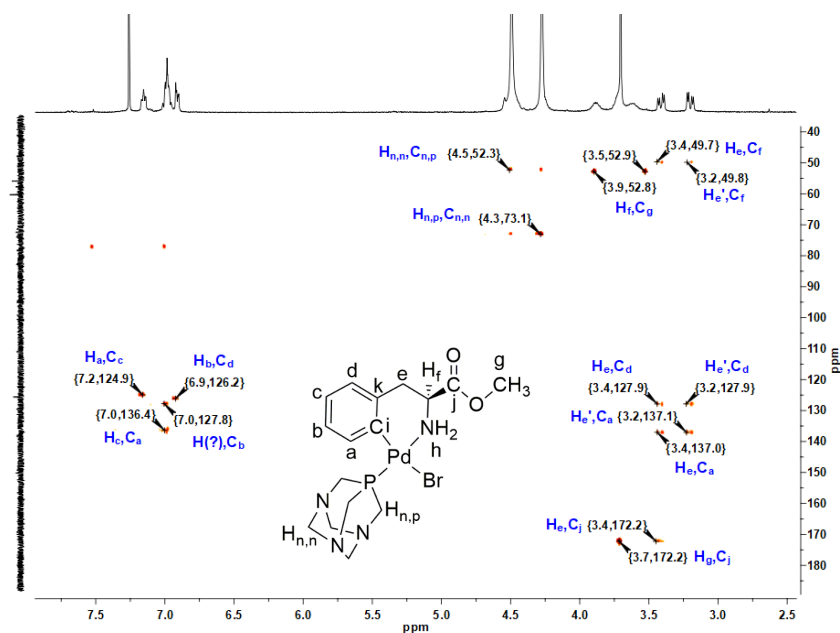


Figura 73: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Br-PTA.

A partir do ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Br-PTA nota-se que não foi possível atribuir com precisão todos os núcleos de hidrogênio da porção aromática. O hidrogênio do par de sinais (7,0,127,8) ppm poderia ser atribuído tanto como H_c ou como H_d , pois ambos têm o mesmo valor de 7,0 ppm e estão dentro da distância adequada para correlação (2, 3 ou 4 ligações). Para atribuir com precisão seria necessário utilizar outro tipo de experimento de RMN.

O primeiro par de sinais da porção aromática a ser fixado com precisão foi (H_a, C_a) como sendo (7,2,136,4) ppm, diretamente ligado ao carbânion C_i , sendo, portanto, o mais desblindado. Considerando a correlação a 4 ligações de H_e com algum dos carbonos C_a ou C_c , é mais provável que esta seja com C_a pois esse é o mais desblindado devido a vizinhança com o carbânion C_i . H_b e H_d estão equidistantes do carbânion C_i , mas H_d está diretamente ligado a um carbono que tem por vizinho um carbono quaternário (C_k) que por sua vez está ligado a um grupo alquila doador de densidade eletrônico por indução, logo é mais provável que H_d (7,0 ppm) corresponda ao carbono 126,3 ppm e H_b (6,9 ppm) ao carbono 127,9 ppm. O par restante (H_c, C_c) é, portanto, atribuído como (7,0,124,9) ppm.

C_j foi o único carbono quaternário da molécula identificado por razão das correlações com o hidrogênio metilênico H_e e metílicos H_g . Na porção alifática da

molécula o par de sinais (3.5,52.9) ppm não apresenta nenhuma correlação possível entre os núcleos já identificados. No entanto, considerando que o carbono quiral C_f possui um deslocamento químico de 53,5 ppm no ligante não coordenado, é provável que a correlação (3.5,52.9) ppm seja entre o carbono quiral C_f e o hidrogênio H_h, diretamente ligado ao nitrogênio.

Na molécula do ligante PTA observa-se uma correlação mútua entre os carbonos C_{n,p} e os hidrogênios H_{n,n} e dos carbonos C_{n,n} com os hidrogênios H_{n,p}.

O quadro 10 resume todos os sinais importantes do Pd-Br-PTA.

Quadro 10: Dados de RMN de ¹H, ¹³C e ³¹P{¹H} obtidos em CDCl₃.

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,2 ---	1
H _b	6,9 ---	1
H _c	7,0 ---	1
H _d	7,0 ---	1
H _e	3,4 <i>d</i>	1
H _{e'}	3,2 <i>d</i>	1
H _f	3,9 <i>s</i>	1
H _g	3,7 <i>s</i>	3
H _h	3,5 ---	---
H _{n,p}	4,3 <i>s</i>	6
H _{n,n}	4,5 <i>s</i>	6
C _a	136,4	
C _b	127,9	
C _c	124,9	
C _d	126,3	
C _e	46,0	
C _f	49,8	
C _g	52,8	
C _i	---	
C _j	172,2	
C _k	---	
C _{n,p}	52,3	
C _{n,n}	73,0	
P	-47,5 <i>s</i>	

s = singleto, *d* = dubleto, --- = não determinado

A seguir serão mostrados espectros de RMN de ¹H e de ³¹P resultantes de experimentos feitos com variação temperatura e de estabilidade. A fosfina PTA, utilizada na maior parte das sínteses, apresentou um pequeno pico em -12,8 ppm (figura A4) no RMN de ³¹P já no primeiro espectro feito logo após a abertura do lacre da embalagem. De acordo com a literatura, esse pico -12,8 ppm é referente ao óxido da fosfina⁹⁸. Assim, esse pico poderá ser observado na maior parte dos

experimentos de ^{31}P com variação de temperatura. No entanto, como o Pd-Br-PTA foi o complexo escolhido para dar prosseguimento com os estudos biológicos, então uma nova embalagem da fosfina PTA foi adquirida a fim de obter uma nova quantidade de complexo para os testes biológicos. Essa nova embalagem de PTA estava sem a presença do óxido, sendo possível obter o complexo Pd-Br-PTA sem óxido de fosfina, como mostrado no experimento de RMN de ^{31}P (figura 69) e nos experimentos do comportamento do Pd-Br-PTA em solução, mostrados a seguir (figura 74). Infelizmente não foi possível repetir os experimentos com variação de temperatura com a mesma amostra utilizada no estudo do comportamento em solução.

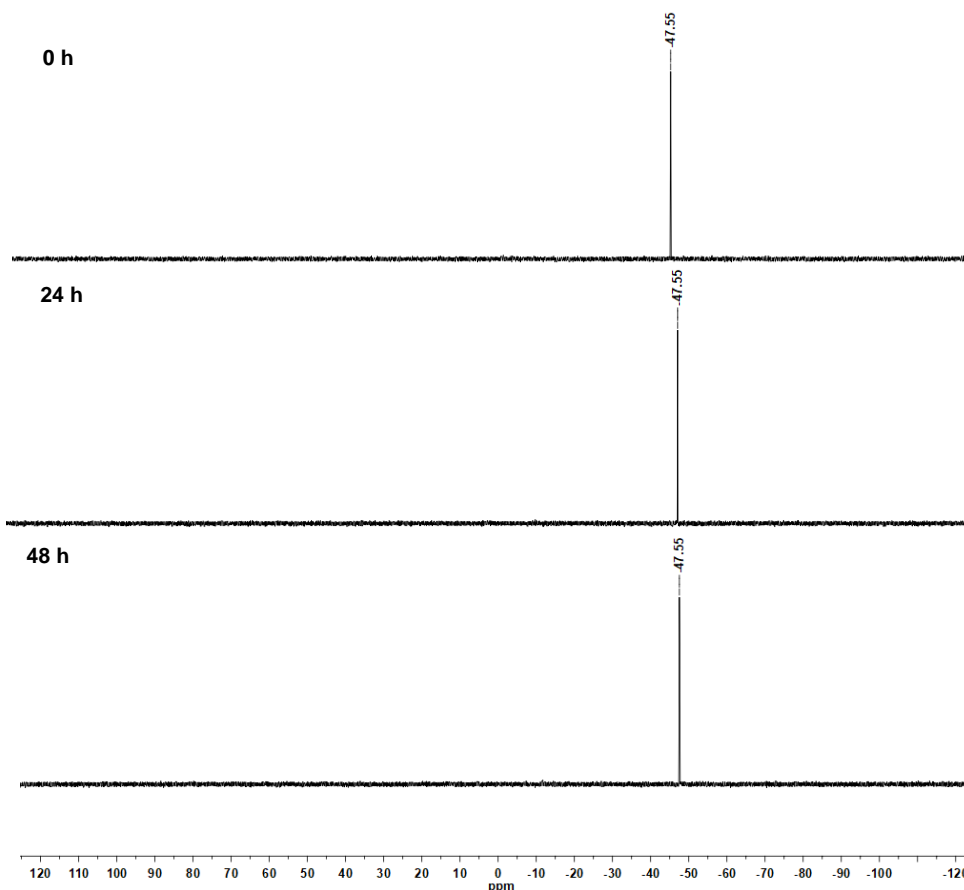


Figura 74: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ feitos em DMSO- d_6 do Pd-Br-PTA nos tempos 0, 24 e 48 h a fim de avaliar a estabilidade do complexo em solução.

Os experimentos de RMN de ^{31}P do complexo Pd-Br-PTA (figura 74) confirmaram que a estrutura do complexo se manteve íntegra em solução, permitindo assim dar sequência aos testes biológicos.

Os estudos em solução do complexo Pd-Br-PTA com variação de temperatura revelaram certas características interessantes. Os experimentos de RMN de ^{31}P nas temperaturas -30, -10 e 0 °C indicam o surgimento de um segundo pico de ^{31}P (-49,2 ppm), de baixa intensidade, ao lado do pico principal (figura 75).

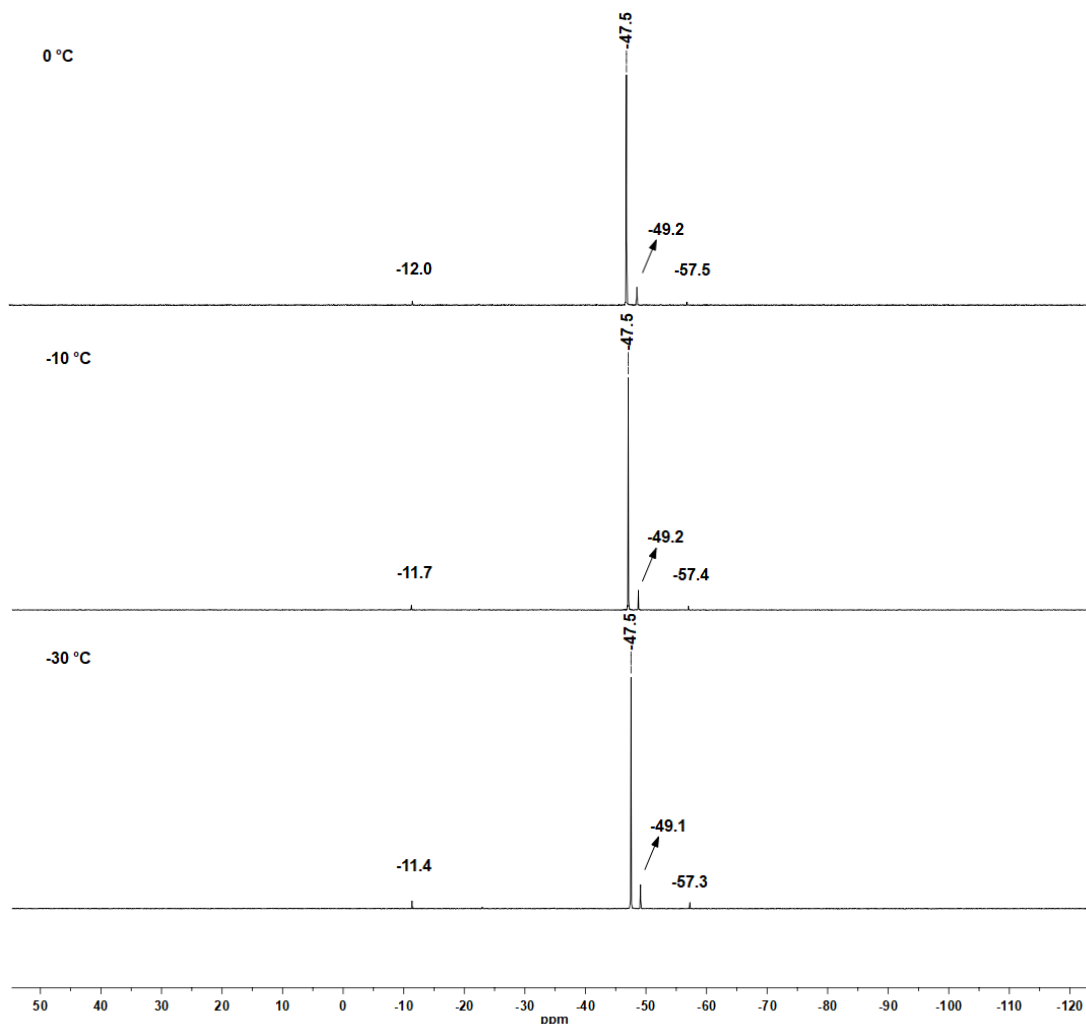


Figura 75: Experimentos de RMN de ^{31}P nas temperaturas -30, -10 e 0 °C feitos em CDCl_3 .

Além do pico -49,2 ppm existe também um segundo pico em torno de -57,0 ppm. Esses dois novos picos existem apenas nos experimentos feitos abaixo da temperatura ambiente, diminuindo de intensidade ou mesmo desaparecendo nos experimentos feitos acima da temperatura ambiente. Muito provavelmente trata-se de fortes interações de hidrogênio com os nitrogênios da fosfina, pois geralmente a formação de interações desse tipo influenciam no deslocamento químico do núcleo

de fósforo⁹⁸. Os experimentos nas temperaturas 10, 25, 40 e 50 °C são mostrados na figura 76 a seguir.

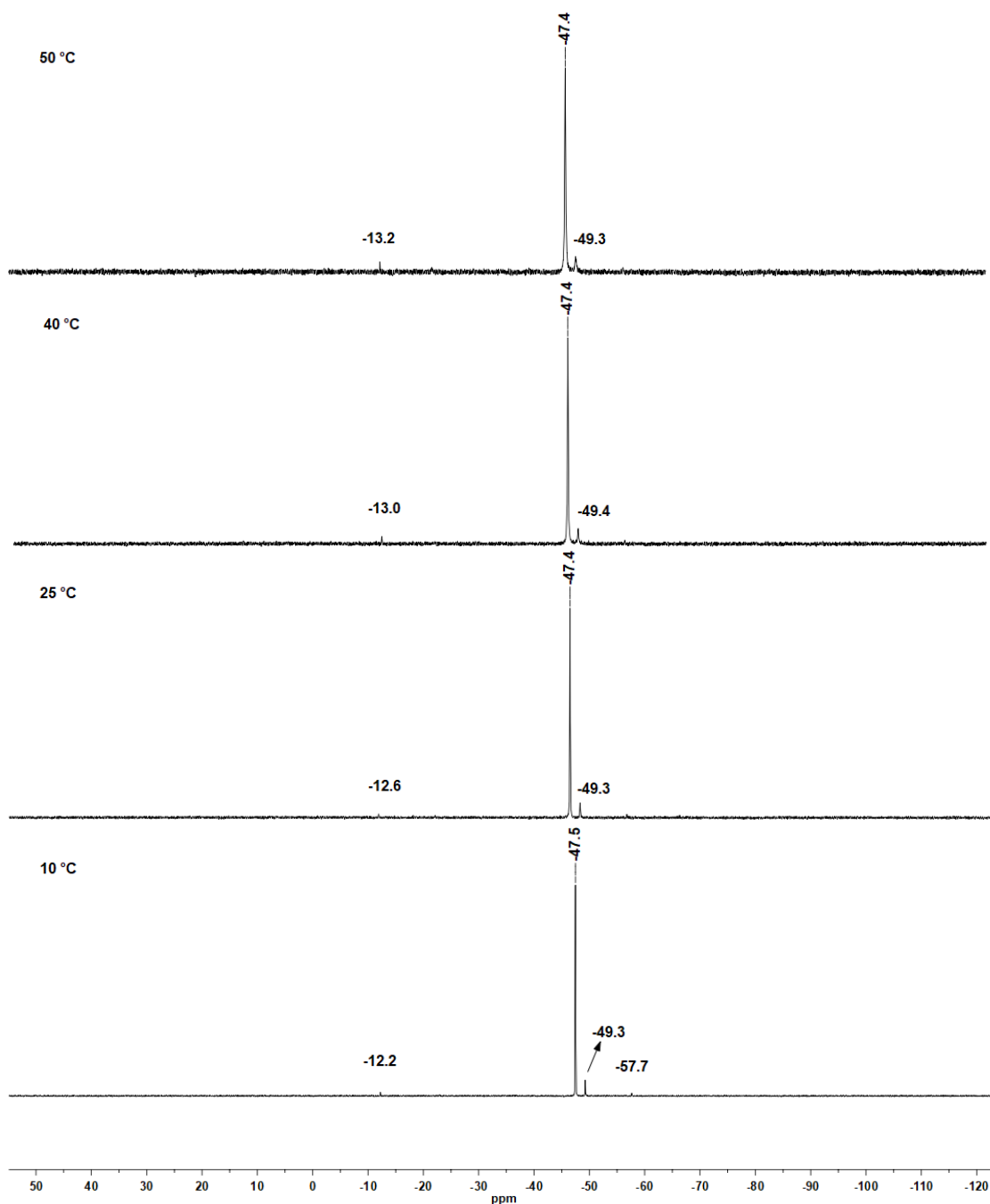


Figura 76: Experimentos de RMN de ^{31}P nas temperaturas 10, 25, 40 e 50 °C feitos em CDCl_3 .

Como já mencionado, o pico em torno de -12 e -13 ppm é atribuído à presença do óxido da fosfina e que poderá ser encontrado também nos espectros de ^{31}P dos demais complexos. A seguir serão mostrados experimentos de RMN de ^1H do complexo Pd-Br-PTA nas temperaturas -30, -20, 40 e 50 °C.

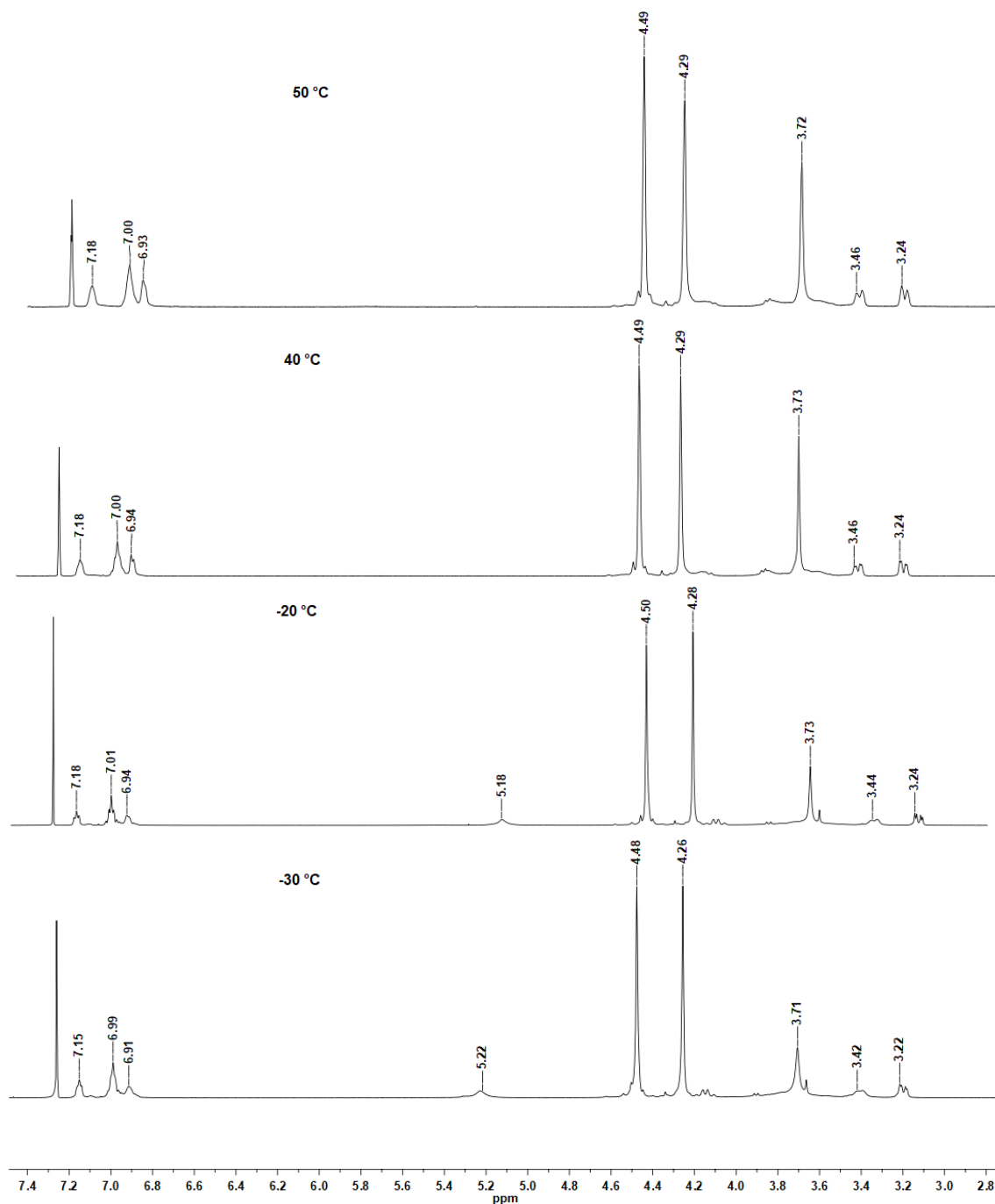


Figura 77: Experimentos de RMN de ^1H nas temperaturas -30, -20, 40 e 50 °C feitos em CDCl_3 .

A partir dos espectros de RMN de ^1H mostrados na figura 77, nota-se um aumento na perda da resolução dos sinais à medida que se aumenta a temperatura. Infelizmente, mesmo em temperaturas negativas, não é possível verificar uma melhora na qualidade da resolução dos sinais, especialmente naqueles referentes aos núcleos aromáticos. De modo semelhante aos espectros de fósforo, os espectros de hidrogênio mostram o surgimento de um pico em torno de 5,0 ppm e

que desaparece à medida que a temperatura aumenta. Isso também pode ser um indicativo da formação de interações de hidrogênio a baixas temperaturas e que tendem a se desfazerem com o aumento da temperatura.

4.4.2- RMN dos complexos Pd-N₃, Pd-N₃-PTA e Pd-Tria-PTA

O RMN de ¹H do dímero Pd-N₃ é mostrado na figura 78 a seguir.

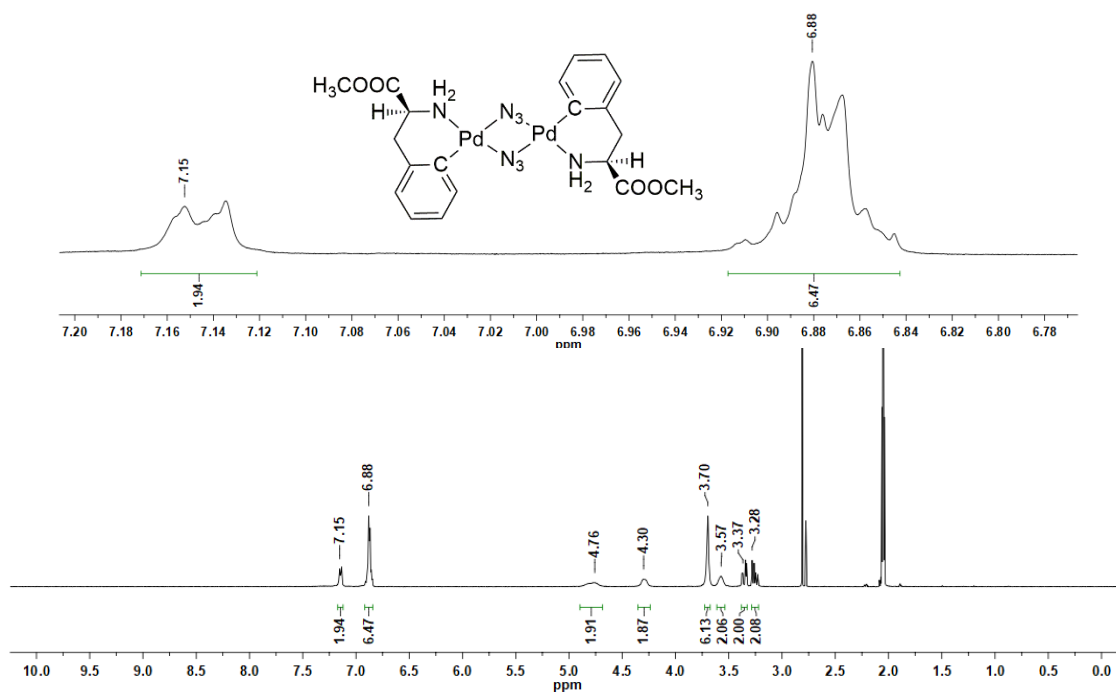


Figura 78: Espectro de RMN de ¹H do dímero Pd-N₃ feito em acetona com suas principais atribuições. A porção aromática do espectro foi ampliada na parte superior da figura.

Dois características diferem o espectro do Pd-N₃ dos demais compostos apresentados até então: a presença dos sinais relativos aos hidrogênios do nitrogênio em 4,76 e 4,30 ppm e a existência de apenas dois sinais na região aromática, embora o valor da integração esteja de acordo com a proposta de estrutura. A diferenciação magnética entre os hidrogênios do grupo -NH₂ possa estar relacionada com a coexistência dos isômeros cisóide e transóide (figura 79).

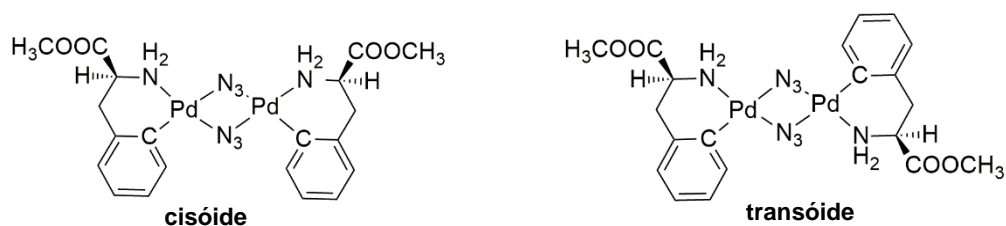


Figura 79: Isômeros cisóide e transóide do dímero Pd-N₃.

No dímero cisóide ambos os grupos azida possuem os mesmos átomos *trans* a si, influenciando os hidrogênios do grupo -NH₂ de forma distinta do que quando possuem diferentes átomos em *trans*, como acontece no transóide, ou seja, a influência magnética que um grupo -NH₂ sofre de um grupo azida que tem *trans* a si o carbânion do anel ciclometalado é diferente da influência magnética de um grupo azida que tem *trans* a si outro grupo -NH₂. Essas diferentes influências magnéticas podem então causar a separação dos sinais dos hidrogênios dos grupos -NH₂ como observado no espectro de ¹H.

Apesar de todos os hidrogênios terem sido identificados no espectro de ¹H, nem todos os respectivos carbonos puderam ser identificados no ¹³C-¹H-HSQC (figura 80).

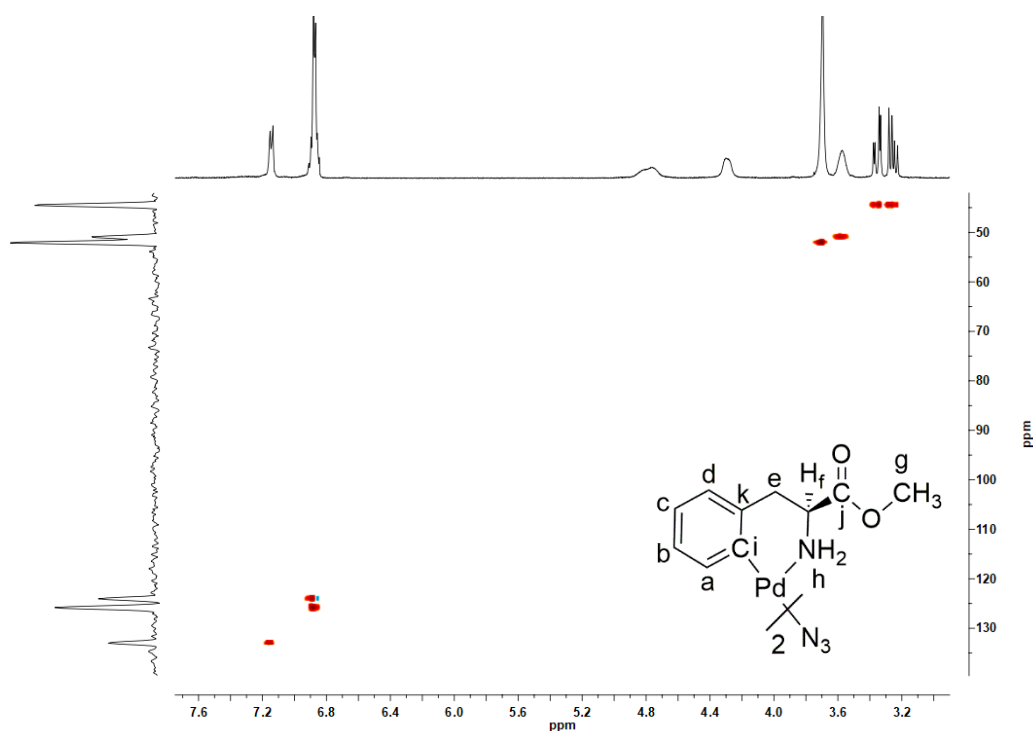


Figura 80: Mapa de contorno de ¹³C-¹H-HSQC do dímero Pd-N₃.

Como pode ser visto através do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-N₃, todos os núcleos de carbono e seu respectivo hidrogênio, com exceção de um pertencente ao sistema aromático, foram identificados. A atribuição de cada par de sinal da região alifática da molécula do dímero é mostrada na figura 81 a seguir.

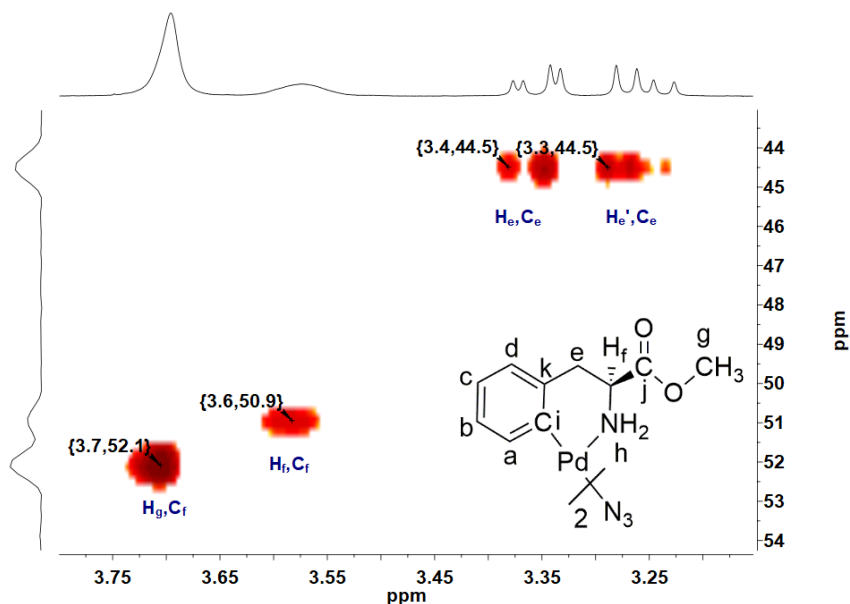


Figura 81: Ampliação da região alifática do ^{13}C - ^1H -HSQC do dímero Pd-N₃.

Os valores de deslocamento químico da região alifática do dímero são praticamente idênticos aos observados para os demais complexos mostrados anteriormente. A ausência de correlação entre os sinais na região 4,76 e 4,30 ppm confirma que os mesmos são relativos a hidrogênios não ligados a carbono, ou seja, aos hidrogênios H_h. Na região aromática todos os pares de sinais foram identificados, com exceção do par (H_b, C_d) (figura 82).

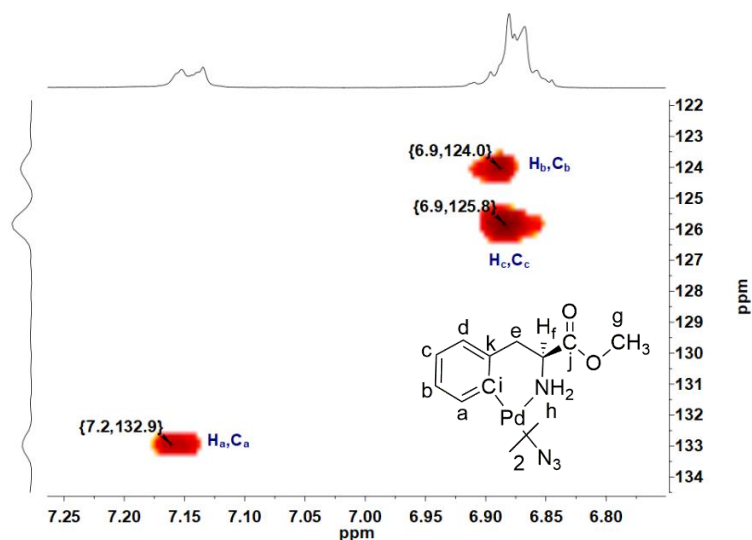


Figura 82: Ampliação da região aromática do ^{13}C - ^1H -HSQC do dímero Pd-N₃.

No entanto, com o experimento de ^{13}C - ^1H -HMBC foi possível identificar o carbono C_d devido a sua relação com os hidrogênios (H_e,H_{e'}). Pela primeira vez observa-se a existência de um carbono mais desblindado do que o comumente atribuído como C_a. Essa atribuição tem como base a correlação a 3 ligações entre o par (H_e,H_{e'}) e o carbono C_d, correlação esta que seria menos provável com o carbono C_a (figura 83).

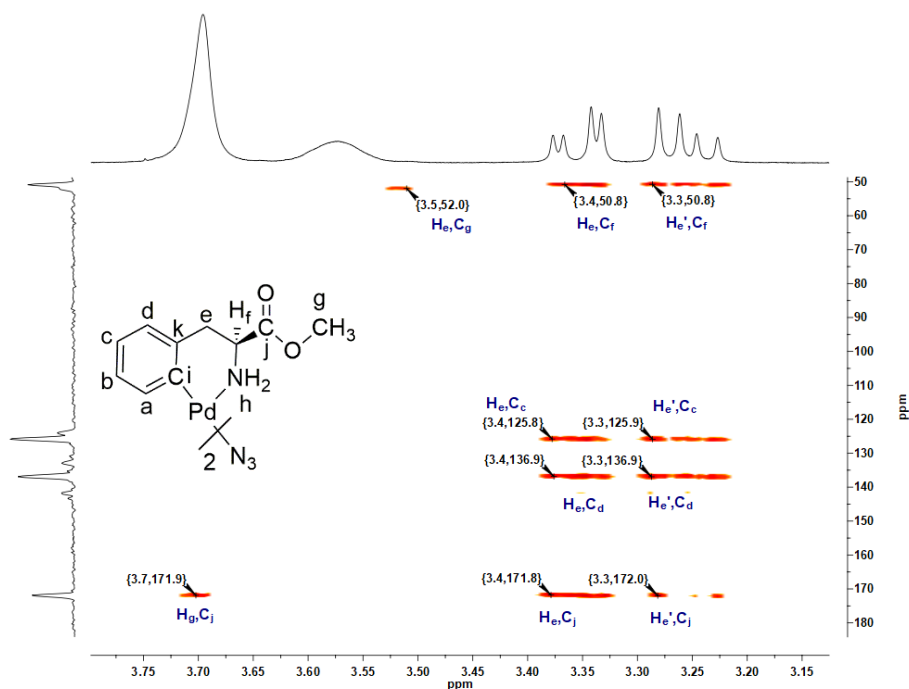


Figura 83: Ampliação da região alifática do ^{13}C - ^1H -HMBC do dímero Pd-N₃.

As correlações existentes na região aromática são mostradas na figura 84 a seguir.

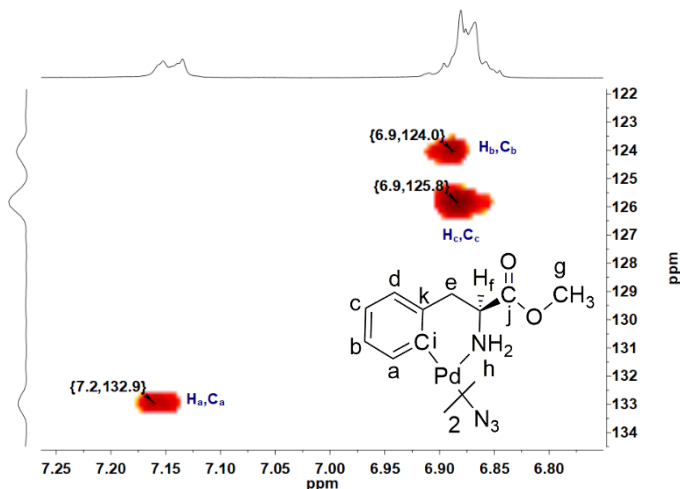


Figura 84: Ampliação da região aromática do ^{13}C - ^1H -HMBC do dímero Pd-N₃.

O experimento de ^{15}N - ^1H -HMBC permitiu identificar o nitrogênio N_h. Infelizmente não foi possível identificar o nitrogênio do grupo azida (figura 85).

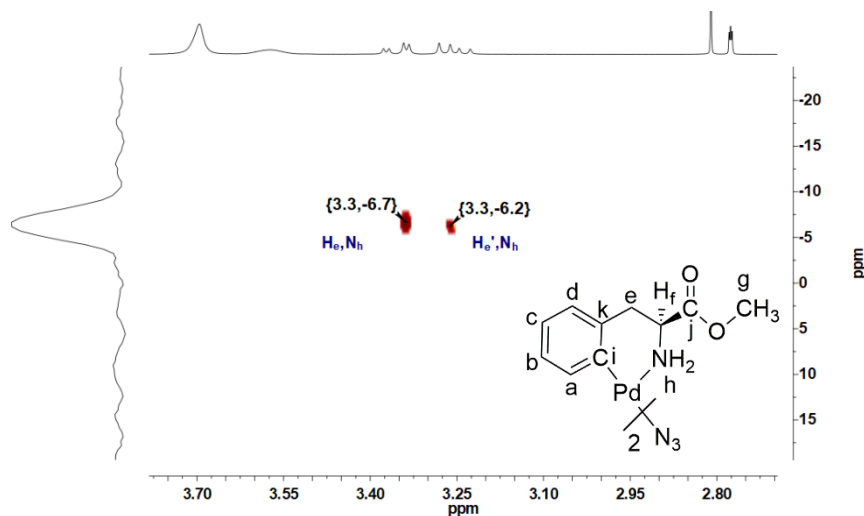


Figura 85: ^{15}N - ^1H -HMBC do dímero Pd-N₃.

É interessante ressaltar a ligeira diferença entre os valores dos nitrogênios N_h, indicando também uma possível existência de isômeros cisóide e transóide.

No quadro 11 a seguir estão resumidas todas as atribuições para dímero Pd-N₃.

Quadro 11: Dados de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{15}N obtidos em CDCl_3 .

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,2 ---	2
H _b	6,9 ---	2
H _c	6,9 ---	2
H _d	---	2
H _e	3,4 <i>d</i>	2
H _{e'}	3,3 <i>d</i>	2
H _f	3,7 <i>s</i>	2
H _g	3,7 <i>s</i>	6
H _h	4,3 <i>s</i>	4
H _{h'}	4,8 <i>s</i>	
C _a	132,9	
C _b	124,0	
C _c	125,8	
C _d	136,9	
C _e	44,5	
C _f	50,9	
C _g	52,1	
C _i	---	
C _j	172,0	
C _k	---	
N _h	-6,2 e -6,7	

s = singleto, d = dubleto, --- = não identificado

O produto da clivagem do dímero Pd-N₃ com a fosfina PTA gerou o composto monomérico Pd-N₃-PTA. O espectro de RMN de ¹H é mostrado na figura 86 a seguir.

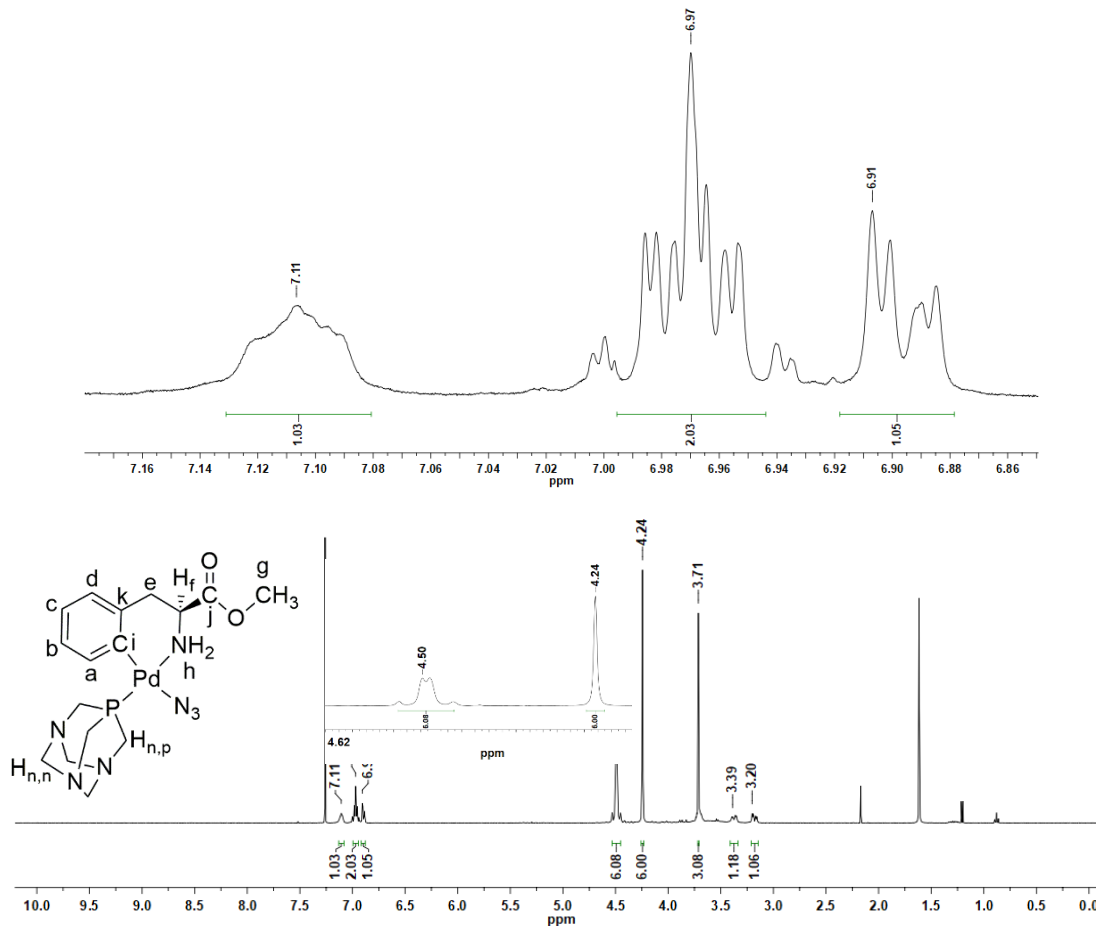


Figura 86: Espectro de RMN de ¹H do Pd-N₃-PTA com suas principais atribuições, feito em CDCl₃, com a região aromática e dos hidrogênios da PTA ampliadas.

Para o complexo Pd-N₃-PTA é possível notar uma ligeira melhora na resolução dos sinais da região aromática, se comparado com os complexos até então mostrados, especialmente com seu dímero precursor. A presença do ligante PTA é evidenciada com os sinais característicos em 4,24 e 4,50 ppm. O sinal em 4,50 ppm, atribuído ao hidrogênio H_{n,n}, perde a multiplicidade de singlete, normalmente observada nos demais compostos, e passa a exibir um desdobramento com padrão de multiplete, como mostrado na ampliação dos sinais. Esse fenômeno, embora não seja possível explicar apenas com o espectro em questão, possa estar relacionado com a influência magnética do ligante azida nos átomos de nitrogênio da PTA que estão a apenas 4 ligações do nitrogênio coordenante do ligante azida. Os

hidrogênios H_e em 3,20 e 3,39 ppm mostram uma maior separação dos sinais se comparados com os mesmos hidrogênios do dímero precursor em 3,30 e 3,40 ppm, respectivamente, indicando que a coordenação do ligante PTA promove um fortalecimento do anel ciclometalado que, ao se tornar mais rígido, aumenta a diferenciação entre os hidrogênios metilênicos H_e. De fato, ao considerar a maior influência *trans* de um ligante fosfínico, comparado com um ligante azida coordenado na forma $\mu\text{-N}_3$, espera-se um maior alongamento da ligação Pd-N e, conseqüentemente, um maior compartilhamento da densidade eletrônica do nitrogênio com o anel ciclometalado, fortalecendo-o.

Com a clivagem do dímero, os hidrogênios H_h não puderam ser identificados no $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}\text{-HSQC}$ (figura 87).

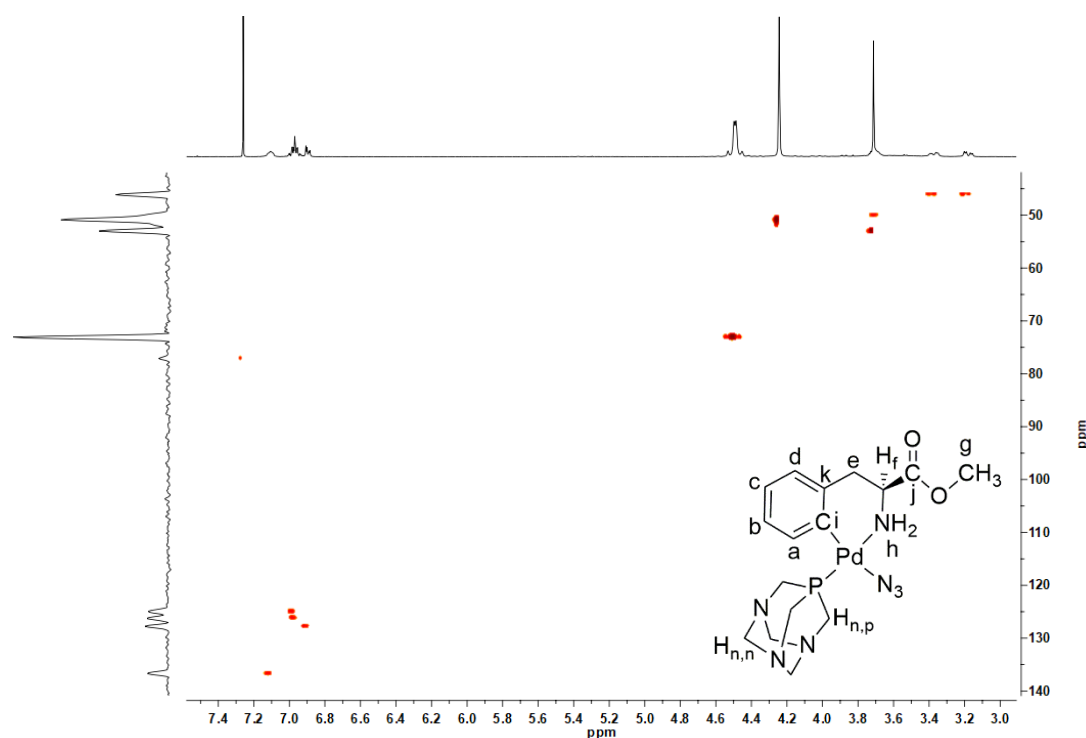


Figura 87: Mapa de contorno $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}\text{-HSQC}$ do Pd-N₃-PTA.

A ausência do hidrogênio H_f, observada no espectro de ^1H , é suprida pelo $^{13}\text{C}\text{-}^1\text{H}\text{-HSQC}$ que confirma a presença de H_f como tendo o mesmo deslocamento químico de H_g (3,7 ppm), sendo possível diferenciá-los pelos valores distintos dos seus núcleos de carbono (figura 88).

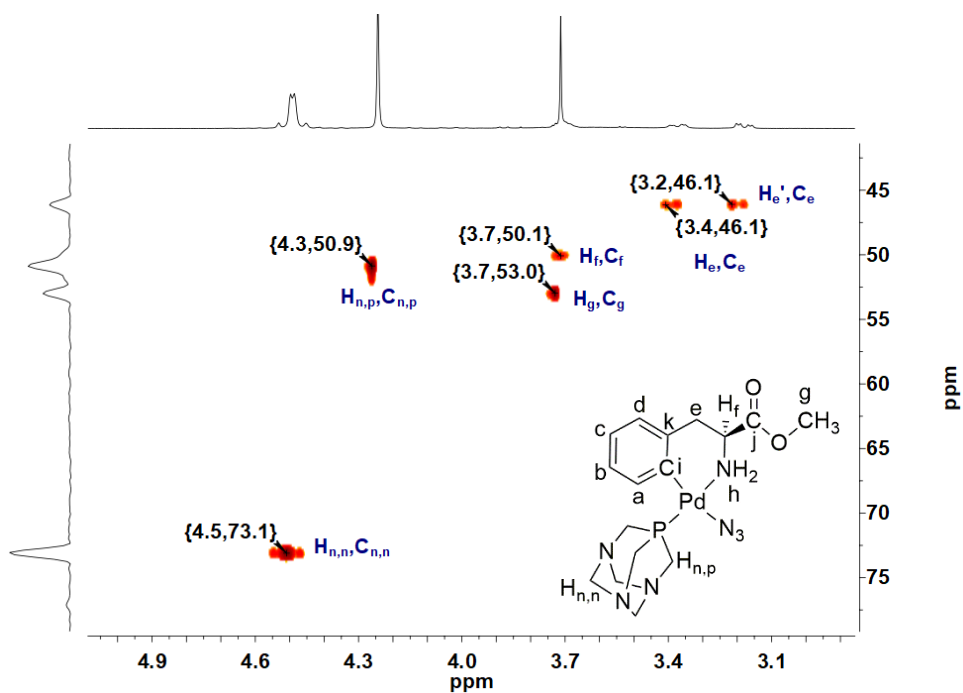


Figura 88: Ampliação da região alifática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd- N_3 -PTA.

Todos os pares de sinais (H,C) da região aromática também foram identificados (figura 89).

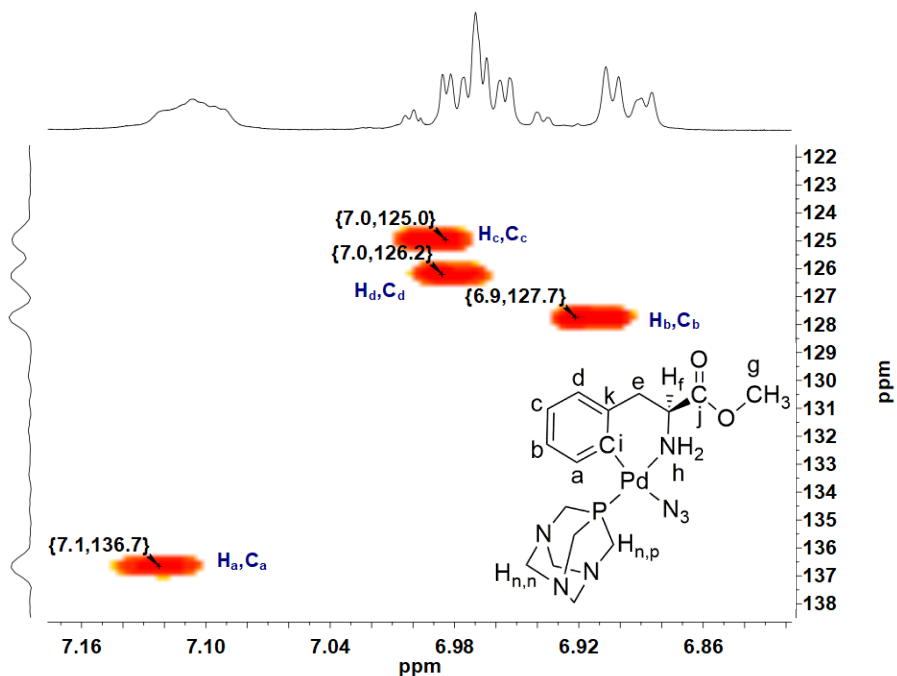


Figura 89: Ampliação da região aromática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd- N_3 -PTA.

É interessante destacar que o modo de coordenação do ligante azida no complexo Pd-N₃-PTA afeta no valor do deslocamento químico do carbono C_a, diretamente ligado ao carbânion. No dímero, o carbono C_a sofre uma diminuição no seu valor de ppm (C_a = 133 ppm), quando comparado ao mesmo carbono nos complexos monoméricos (C_a = 137 ppm). A coordenação do ligante azida na forma μ-N₃, ou seja, com apenas um de seus elétrons, tem uma menor influência *trans* na ligação Pd-C, o que por sua vez aumenta a densidade eletrônica dessa ligação química, causando assim uma maior desblindagem do núcleo C_a como consequência da polarização da densidade eletrônica do carbono C_i em direção ao centro metálico.

O único carbono quaternário a ser identificado foi o C_j, através de sua correlação com os hidrogênios metílicos H_g, como mostrado na ampliação da região alifática do ¹³C-¹H-HMBC (figura 90).

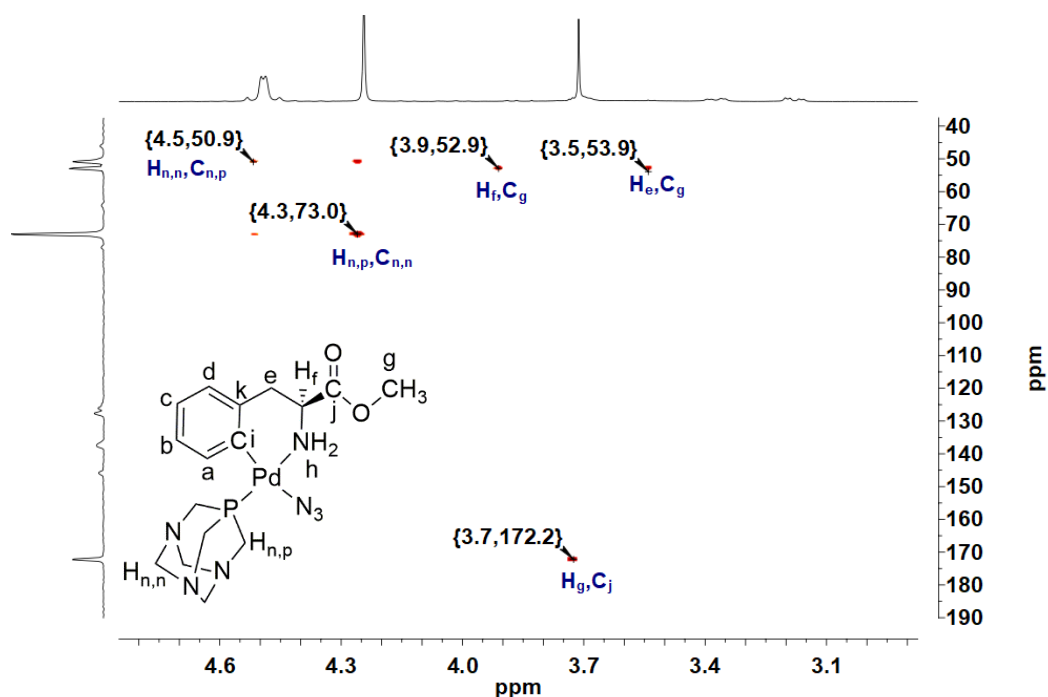


Figura 90: Ampliação da região alifática do ¹³C-¹H-HMBC do Pd-N₃-PTA.

A região aromática do ¹³C-¹H-HSQC do Pd-N₃-PTA não apresentou correlação. Sendo, portanto, os núcleos aromáticos fixados em comparação com os demais complexos. O espectro completo é mostrado na figura A21.

No espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo Pd-N₃-PTA observa-se a presença de um sinal adicional de ^{31}P associado, provavelmente, a outra espécie em solução (figura 91).

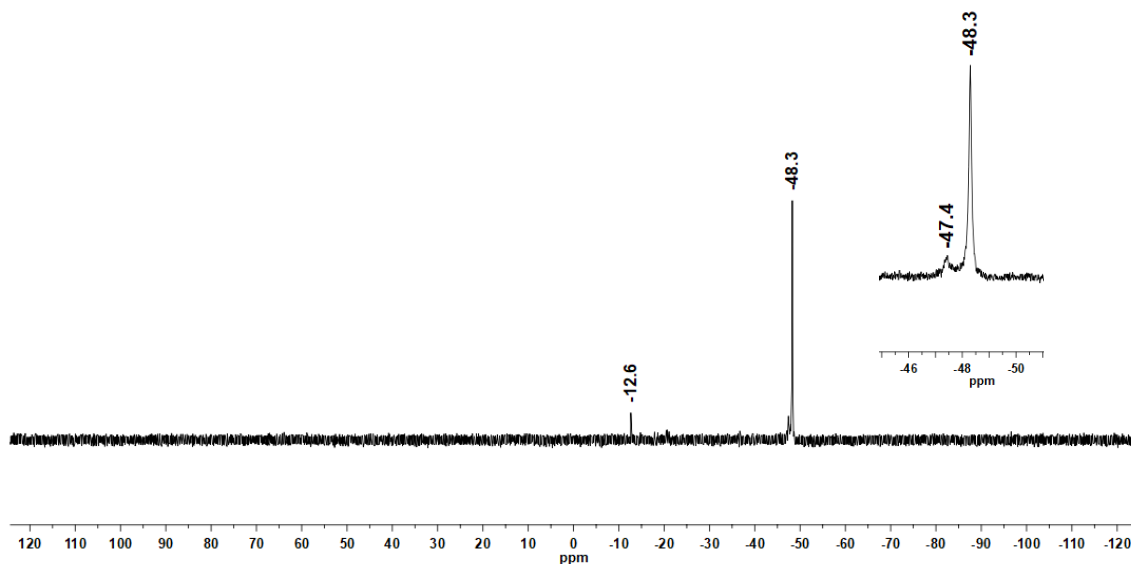


Figura 91: Espectro de RMN de ^{31}P do complexo Pd-N₃-PTA, feito em CDCl_3 , mostrando a ampliação do sinal do fósforo.

Não é possível afirmar com precisão a origem do surgimento deste sinal. Ele tem as mesmas características daquele mostrado no espectro de ^{31}P do complexo Pd-Br-PTA, isto é, observa-se uma progressiva diminuição até a extinção completa do sinal em temperaturas positivas (figura 92).

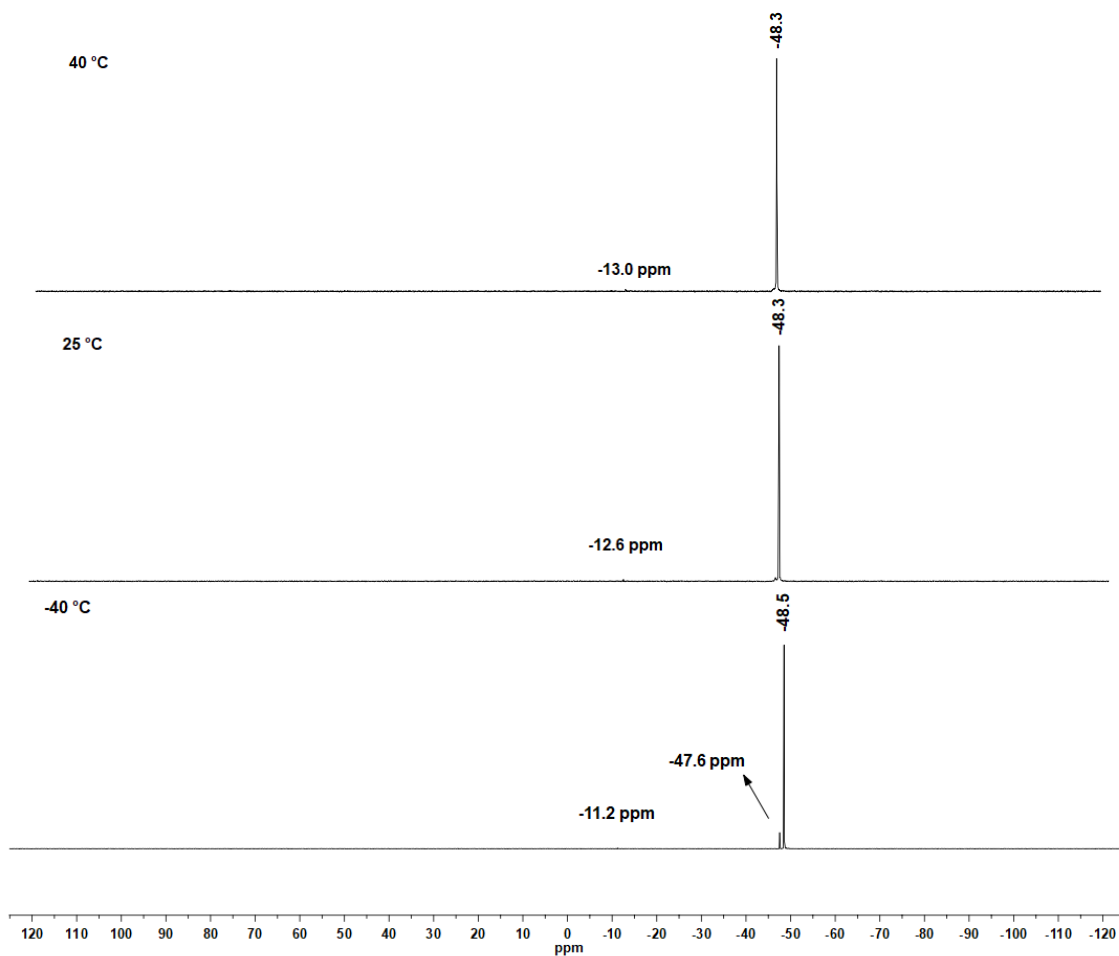


Figura 92: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nas temperaturas -40, 25, 40 °C feitos em CDCl_3 .

Ao contrário do se observa no complexo Pd-Br-PTA, no complexo Pd- N_3 -PTA, a diminuição da temperatura ocasiona a perda da resolução dos sinais referentes aos aromáticos, como mostrado na figura 93.

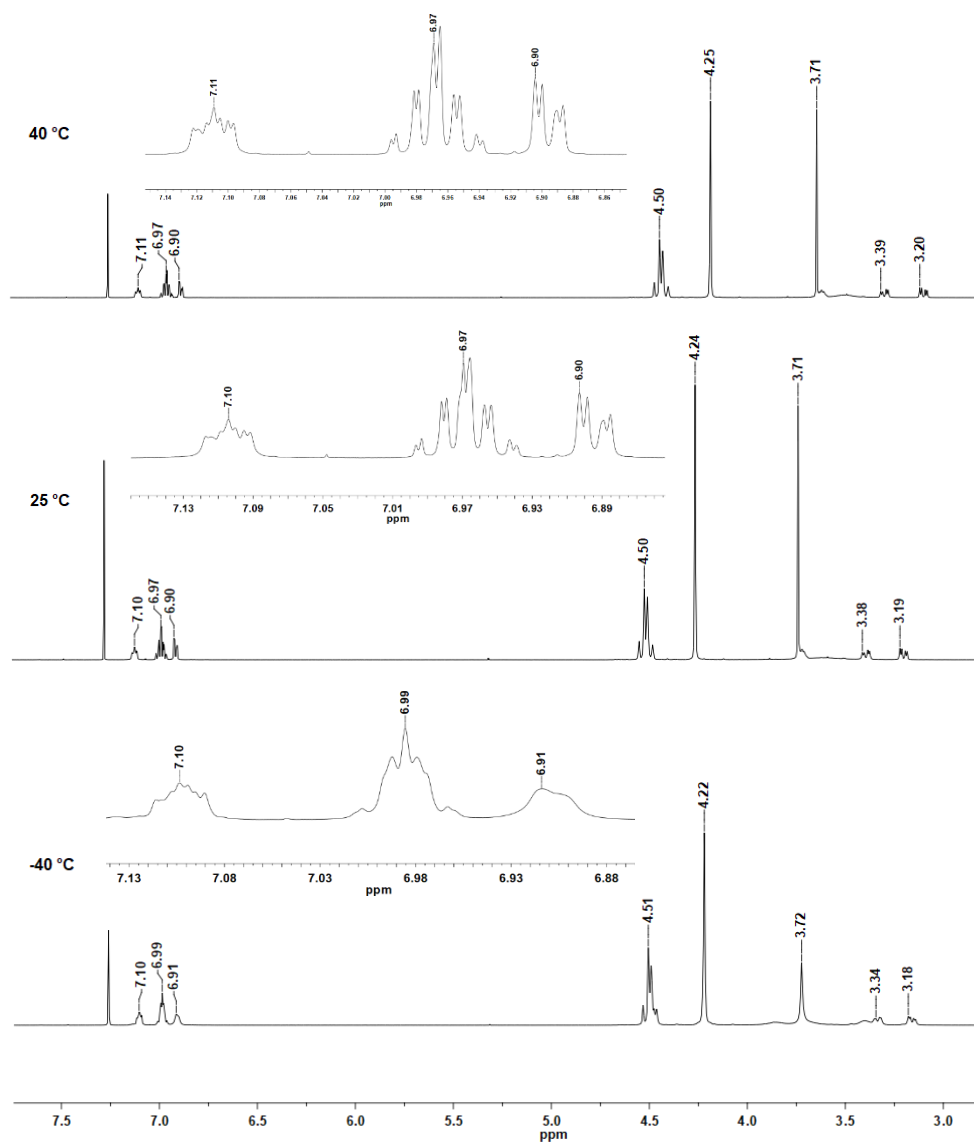


Figura 93: Experimentos de RMN de ^1H nas temperaturas -40 , 25 , 40 °C mostrando a melhora progressiva na resolução dos sinais da região aromática.

De modo semelhante ao dímero precursor, o ^{15}N - ^1H -HMBC do Pd- N_3 -PTA também não deu indício da presença do ligante azida, confirmando apenas a presença do ligante PTA (figura 94). No quadro 12 mostrado a seguir estão resumidas todas as atribuições para o Pd- N_3 -PTA.

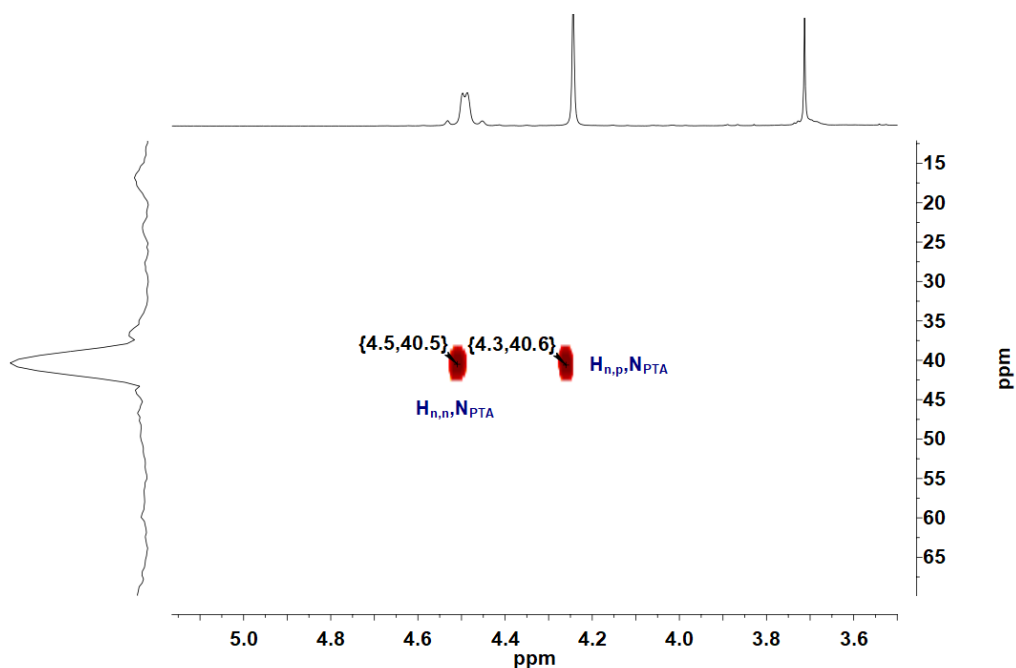


Figura 94: ^{15}N - ^1H -HMBC do Pd-N3-PTA mostrando a correlação entre os núcleos de hidrogênio e nitrogênio da fosfina PTA.

Quadro 12: Dados de RMN de ^1H , ^{13}C , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^{15}N obtidos em CDCl_3 .

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,1 ---	1
H _b	6,9 ---	1
H _c	7,0 ---	1
H _d	7,0 ---	1
H _e	3,4 <i>d</i>	1
H _{e'}	3,2 <i>d</i>	1
H _f	3,7 <i>s</i>	1
H _g	3,7 <i>s</i>	3
H _h	---	---
H _{n,p}	4,3 <i>s</i>	6
H _{n,n}	4,5 <i>s</i>	6
C _a	136,7	
C _b	127,7	
C _c	125,0	
C _d	126,2	
C _e	46,1	
C _f	50,1	
C _g	53,0	
C _i	---	
C _j	172,2	
C _k	---	
C _{n,p}	50,9	
N _{PTA}	40,6	
C _{n,n}	73,1	
P	-48,3 <i>s</i>	

s = singlete, *d* = dubleto, --- = não determinado

A confirmação da presença do ligante azida no complexo Pd-N₃-PTA é feita a partir da formação do Pd-Tria-PTA, produto da reação de cicloadição entre o Pd-N₃-PTA e o alcino DEAD. O espectro de RMN de ¹H do Pd-Tria-PTA, mais o do alcino DEAD, são mostrados na figura 95 a seguir.

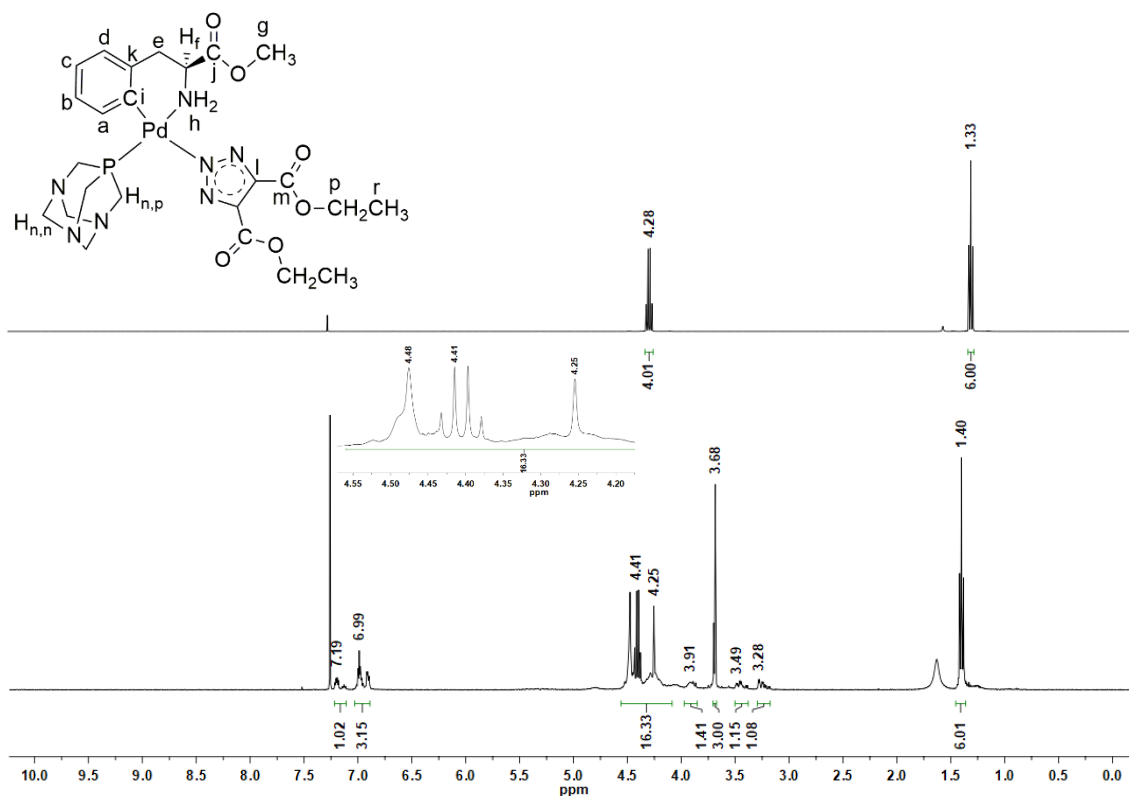


Figura 95: Espectros de RMN de ¹H do Pd-Tria-PTA (base da figura) com a ampliação da região que contém os hidrogênios metilênicos H_p da porção do DEAD. No topo da figura é mostrado o espectro do alcino DEAD. Ambos os espectros foram feitos em CDCl₃.

Como pode ser visto através do espectro de ¹H do Pd-Tria-PTA, os hidrogênios metílicos H_r (1,40 ppm) e metilênicos H_p (4,41 ppm) são identificados dentro da faixa característica do precursor DEAD, com um ligeiro deslocamento dos respectivos valores para regiões mais desblindadas do espectro. O quarteto em 4,41 ppm é atribuído aos hidrogênios H_p resultante do acoplamento com os hidrogênios metílicos H_r. O aglomerado de sinais na faixa do espectro ampliada se dá principalmente devido aos hidrogênios da fosfina PTA que também aparecem nessa região. Mas o valor da integração desses hidrogênios está de acordo com o esperado (16 H).

Na figura 96 a seguir é mostrada uma ampliação da região aromática do espectro de ^1H do Pd-Tria-PTA. Novamente, não foi possível obter uma boa resolução dos sinais desses hidrogênios, porém, o surgimento do quarto sinal, até então ausente nos demais complexos, torna mais evidente a existência do sistema aromático 1,2-dissubstituído, característico desses compostos.

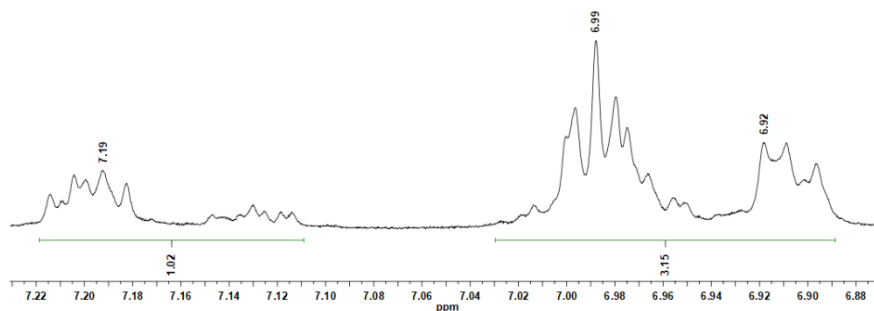


Figura 96: Região aromática do espectro de RMN de ^1H do Pd-Tria-PTA.

Os demais núcleos de hidrogênios e seus carbonos correspondentes são identificados no experimento de ^{13}C - ^1H -HSQC (figura 97).

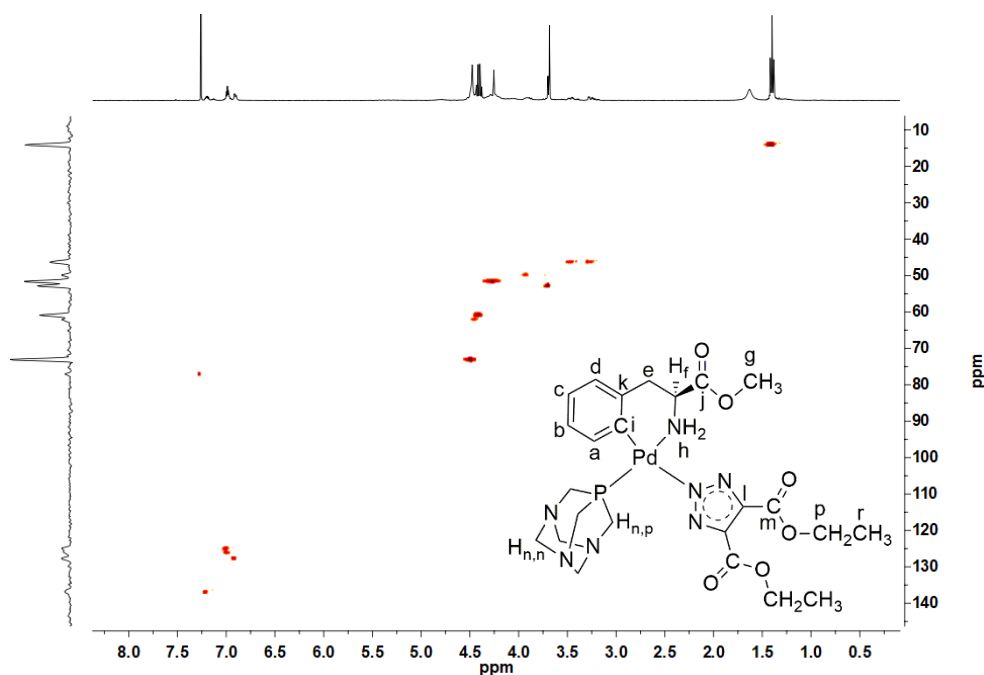


Figura 97: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Tria-PTA.

Através do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Tria-PTA foi possível identificar todos os pares de sinais (H,C) da molécula. A região alifática com suas atribuições pode ser vista na figura 98 a seguir.

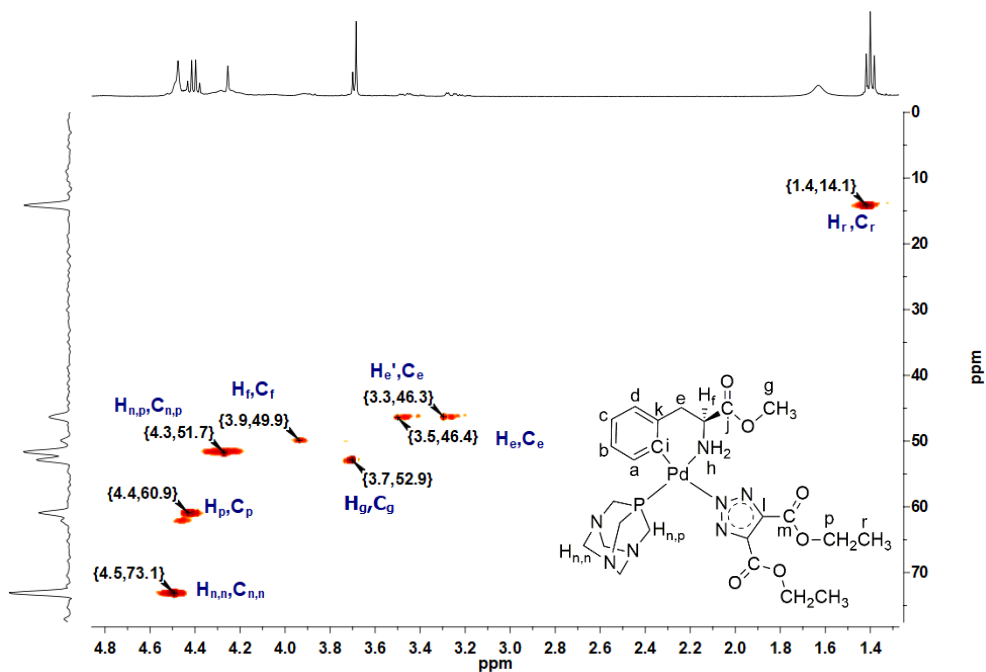


Figura 98: Região alifática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Tria-PTA.

Com o auxílio do ^{13}C - ^1H -HMBC é possível fixar os núcleos da região aromática (figura 99).

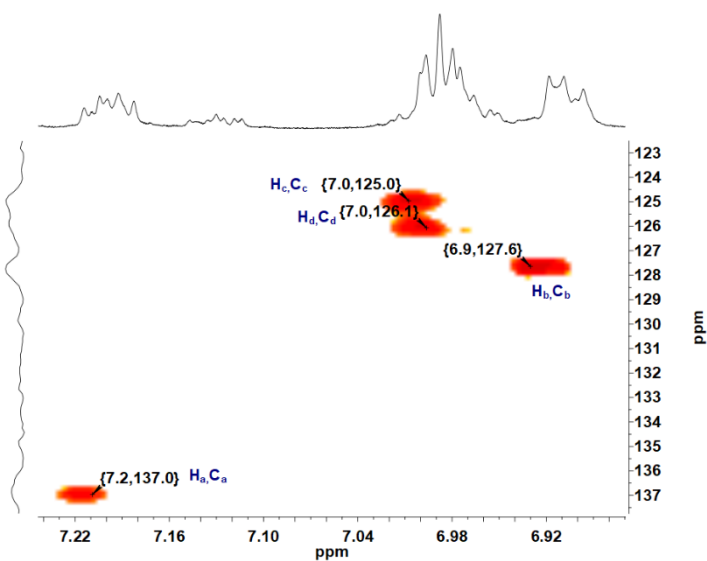


Figura 99: Região aromática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Tria-PTA.

É notável, portanto, a imensa similaridade entre os valores dos núcleos aromáticos do Pd-Tria-PTA com os dos demais complexos, dispensando assim qualquer comentário adicional.

O ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA identificou, pela primeira vez, o núcleo C_k (figura 100). O ^{13}C - ^1H -HMBC completo está em anexo (figura A22).

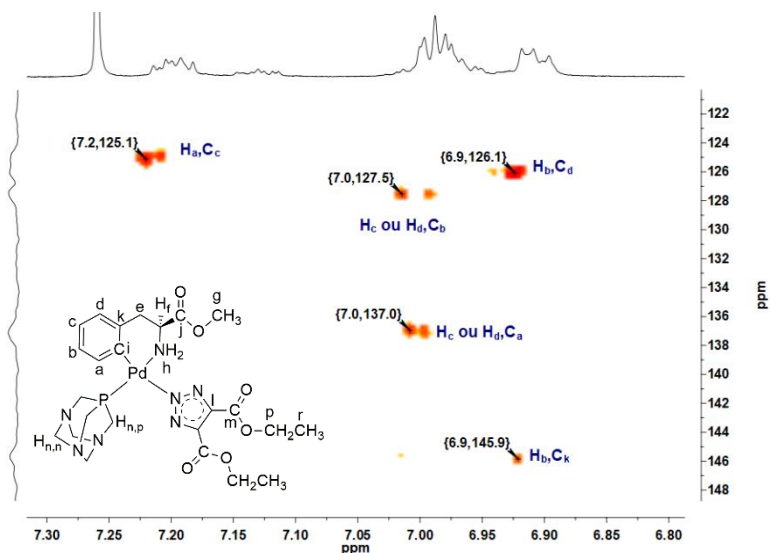


Figura 100: Região aromática do ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA.

Na porção do ligante DEAD foi possível identificar a correlação entre os núcleos (H_p, C_m). (figura 101).

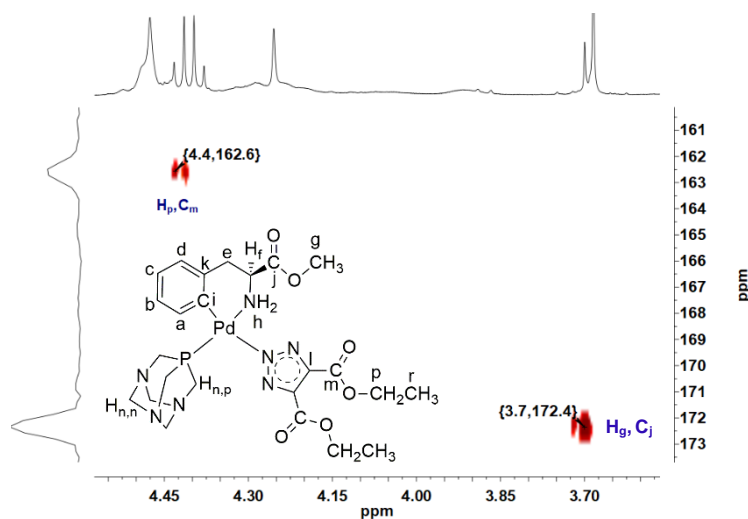


Figura 101: Região alifática do ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA.

O experimento de ^{15}N - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA identificou os nitrogênios do PTA mais o nitrogênio coordenante do ligante triazolato.

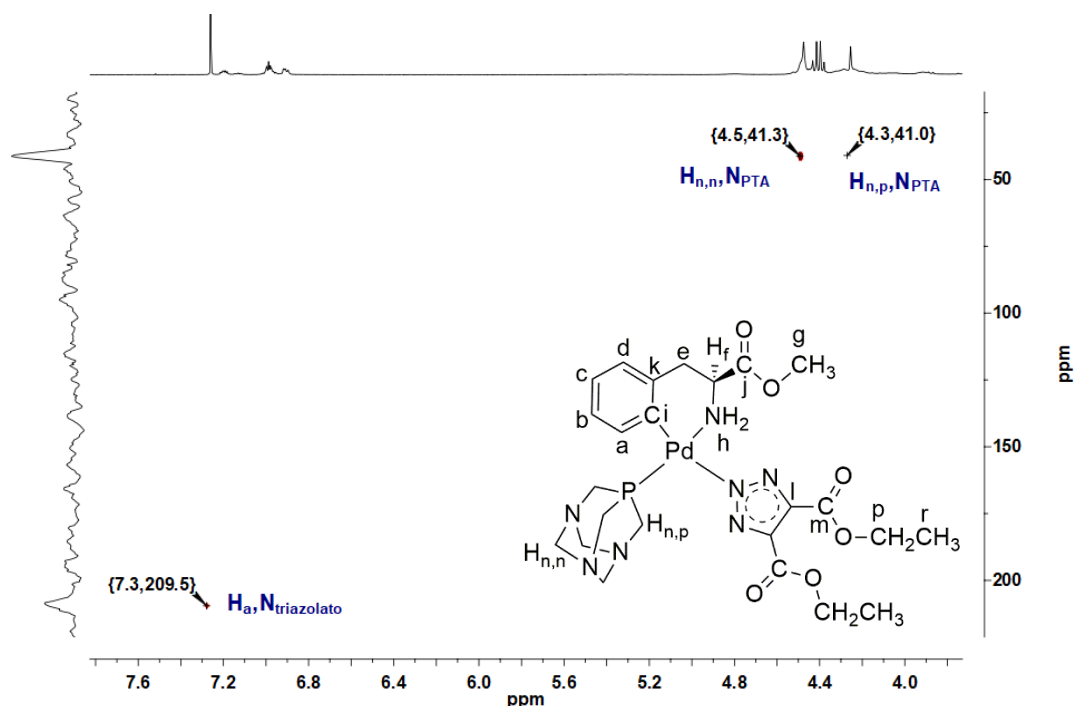


Figura 102: ^{15}N - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA com suas principais atribuições.

A formação do anel de cinco membros triazolato (Tria) ocorre através da reação de cicloadição 1,3-dipolar por um mecanismo no qual a azida ou dipolo “abc” é adicionado ao alcino DEAD ou dipolarófilo “de” (figura 103)⁹⁹⁻¹⁰⁰.

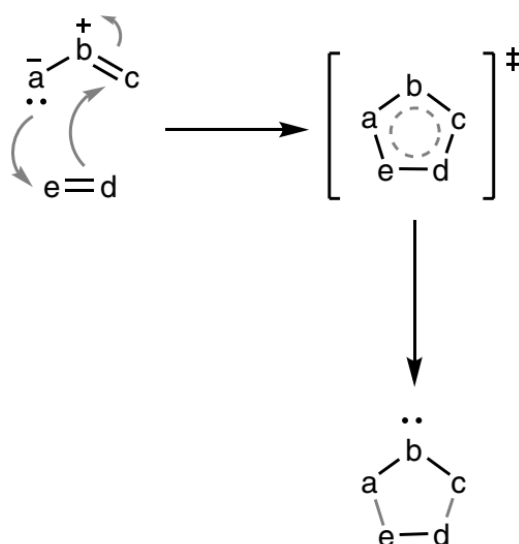


Figura 103: Mecanismo geral de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar. Fonte: Adaptado de Aggarwal *et al.* 2023.

Essa reação acontece tanto com alcenos, como representado por e=d, como também por um alcino. Quando o dipolarófilo é um alcino, tal como o DEAD, obtém-se um anel triazolato aromático. A cinética da reação de cicloadição é fortemente influenciada pela natureza do dipolarófilo, de modo que quanto maior a tendência que o substituinte ligado ao carbono da tripla ligação tiver de retirar densidade eletrônica, mais rápida será a cinética da reação. Assim, dipolarófilos como os mostrados na figura 104 a seguir estão entre os mais utilizados nessa classe de reação¹⁰¹.

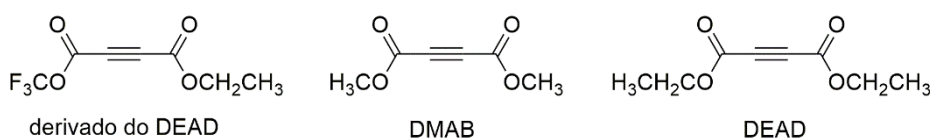


Figura 104: Alcinos comumente utilizados nas reações de cicloadição 1,3-dipolar. Fonte: Autor.

O produto formado da reação de cicloadição 1,3-dipolar, envolvendo azidas coordenadas a um centro metálico, pode se apresentar tanto isomericamente puro como também com dois ou três isômeros em solução. Anéis triazóis derivados de alcinos simétricos, como o DEAD, poderá gerar até dois isômeros em solução, sendo um coordenado ao centro metálico pelo nitrogênio central N2 e o outro coordenado pelo nitrogênio N1 ou N3 (figura 105). De modo semelhante, um produto que teve como alcino precursor aquele do derivado do DEAD (figura 104) poderá se apresentar com até três isômeros em solução, pois o anel triazolato formado será assimétrico (substituintes diferentes).

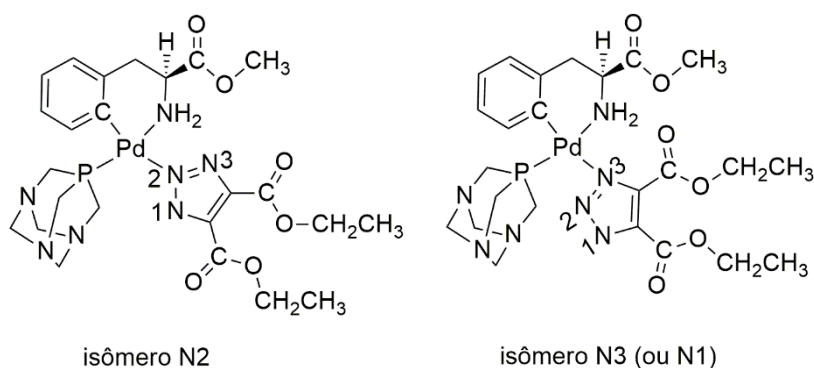


Figura 105: Isomerismo de ligação no complexo Pd-Tria-PTA que possui anel 1,2,3-triazolato-4,5-dissubstituído com substituinte simétrico.

O isomerismo de ligação observado no complexo Pd-Tria-PTA (figura 105), e em muitos outros exemplos reportados na literatura, pode ser compreendido como um processo dinâmico em solução em que há uma permutação entre os nitrogênios N2 e N3 (ou N1) (figura 106)¹⁰¹.

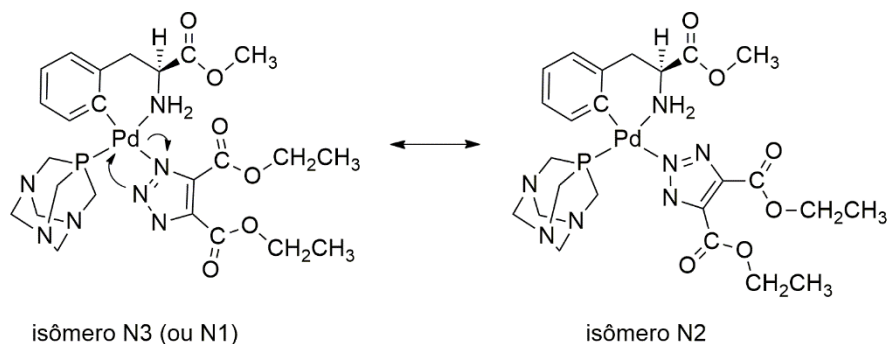


Figura 106: Interconversão entre os isômeros de ligação no complexo Pd-Tria-PTA.

É possível constatar a presença dessas duas espécies em solução no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Tria-PTA mostrado na figura 107 a seguir.

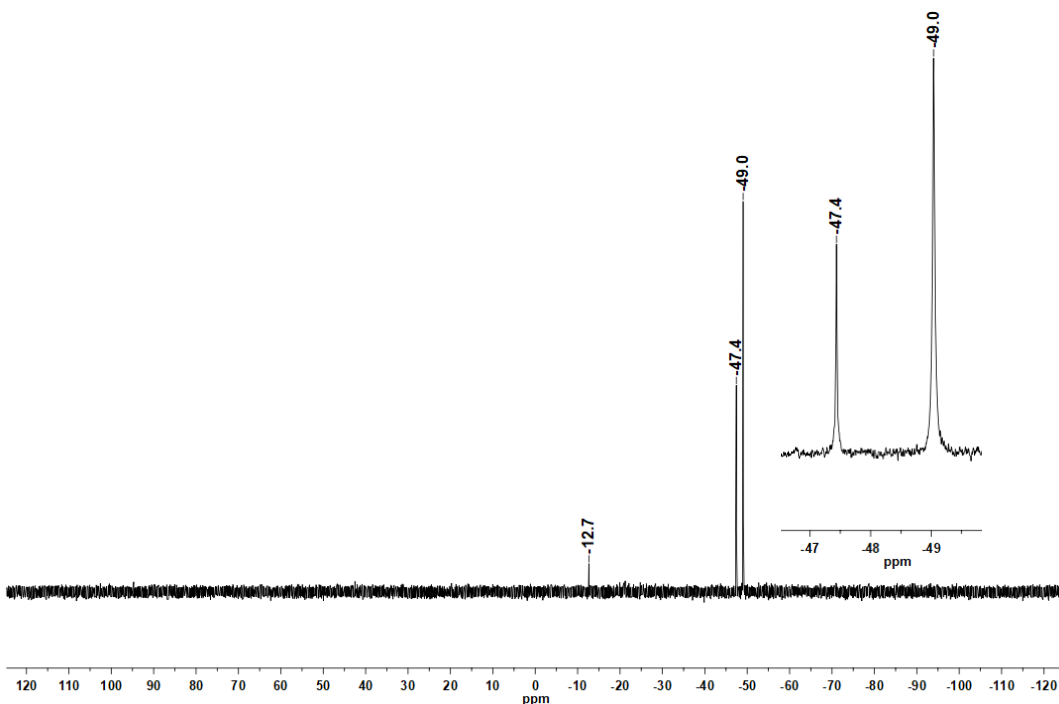


Figura 107: Espectro de ^{31}P do Pd-Tria-PTA, feito em CDCl_3 , mostrando a ampliação da região referente aos dois sinais dos isômeros de ligação. O sinal em -12,7 ppm é relativo ao óxido da fosfina.

Observando atentamente ao mecanismo de formação do anel triazolato na figura 98, é possível notar que necessariamente, ao menos nos primeiros instantes de formação do anel triazolato, será um dos nitrogênios (N1 ou N3) da extremidade do dipolo que estará coordenado ao centro metálico¹⁰². Isso é uma característica inerente às estruturas canônicas do ligante azida quando coordenado (figura 108)¹⁰³. E, após a formação do anel triazolato, o isomerismo de ligação poderá acontecer.



Figura 108: Estruturas canônicas do ligante azida quando coordenado. M representa um elemento metálico. Fonte: Dori *et al.* 1973.

Assim, é razoável supor que no experimento de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Tria-PTA possa ser observado mais que um sinal de fósforo. Além disso, os experimentos com variação de temperatura, mostrados na figura 109 a seguir, indicaram que o sinal em -47,4 ppm sofre apenas uma ligeira variação na intensidade com o aumento da temperatura. Considerando que a barreira energética de permutação entre os nitrogênios durante o isomerismo é relativamente pequena, um aumento da energia do sistema, como o ocasionado pelo aumento da temperatura, poderá induzir o sistema à uma configuração na qual o isômero mais estável seja predominante, e este é provavelmente aquele no qual o nitrogênio coordenado é o nitrogênio central ou N2, já que resulta em uma conformação de maior simetria.

Levando em consideração o que foi exposto anteriormente, numa tentativa de atribuição dos sinais no espectro de fósforo do Pd-Tria-PTA, é provável que o sinal de menor intensidade em -47,4 ppm seja atribuído ao isômero N3 (ou N1) enquanto o sinal em -49,0 ppm seja atribuído ao isômero N2 (figura 105).

Os espectros de ^{31}P do Pd-Tria-PTA em temperaturas negativas são mostrados na figura 109 a seguir.

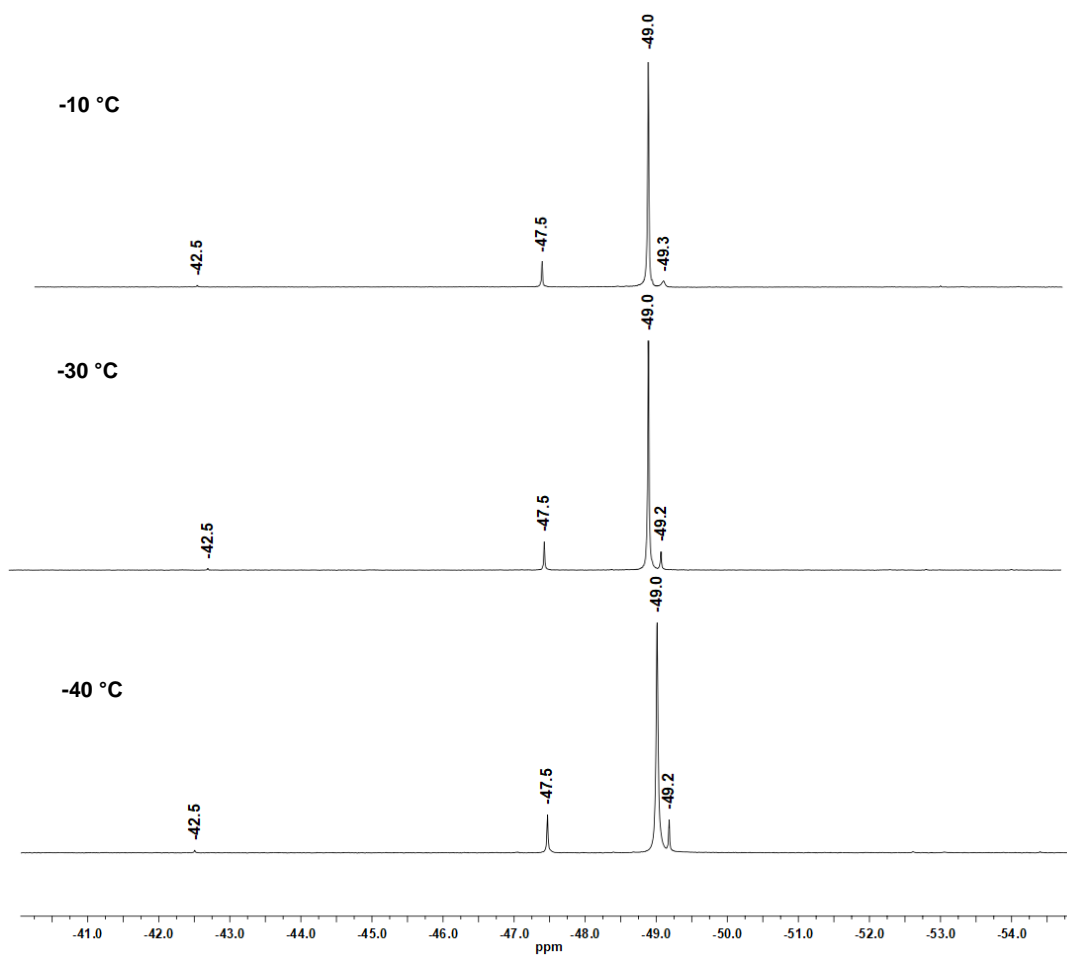


Figura 109: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Tria-PTA nas temperaturas -40, -30, -10 e 0 °C, feitos em CDCl_3 .

De forma semelhante aos complexos mostrados até então, é observado o surgimento de um sinal adicional em 49,2 ppm e que se extingue com o aumento da temperatura, podendo ser atribuído à possíveis interações de hidrogênio.



Figura 110: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Tria-PTA nas temperaturas 0, 10, 30 e 40 °C, feitos em CDCl_3 .

O quadro 13 a seguir resume todas as atribuições do Pd-Tria-PTA.

Quadro 13: Dados de RMN de ^1H , ^{13}C , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^{15}N obtidos em CDCl_3 .

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,2 ---	1
H _b	6,9 ---	1
H _c	7,0 ---	1
H _d	7,0 ---	1
H _e	3,5 <i>d</i>	1
H _{e'}	3,3 <i>d</i>	1
H _f	3,9 <i>s</i>	1
H _g	3,7 <i>s</i>	3
H _p	4,4 <i>q</i>	4
H _r	1,4 <i>t</i>	6
H _h	---	---
H _{n,p}	4,3 <i>s</i>	6
H _{n,n}	4,5 <i>s</i>	6
C _a	137,0	
C _b	127,6	
C _c	125,0	
C _d	126,1	
C _e	46,5	
C _f	49,9	
C _g	52,9	
C _p	60,9	
C _m	162,6	
C _r	14,1	
C _i	---	
C _j	172,4	
C _k	145,9	
C _{n,p}	51,7	
C _{n,n}	73,1	
P(N2)	-49,0 <i>s</i>	
P(N1/N3)	-47,5 <i>s</i>	
N _{PTA}	41,3	
N _{triaz.}	209,5	

s = singlete, *d* = dubleto, *t* = tripleto, *q* = quarteto, --- = não determinado

5.0- Resultados e discussão: estudos biológicos

A síntese e caracterização de uma substância candidata a metalofármaco é um dos primeiros passos no longo e laborioso itinerário que tem por meta o lançamento nas prateleiras das farmácias de um novo metalofármaco com características únicas, ou que ao menos superem as limitações dos fármacos/metalofármacos já existentes. Os próximos passos, e que na verdade são os primeiros voos em direção a meta desejada pois adentram na dimensão biológica dos estudos, consistem nos ensaios *in vitro* e no estudo de interação com biomoléculas que compõem o arsenal dos principais alvos dos fármacos/metalofármacos quando em meio biológico.

A partir da caracterização dos complexos sintetizados na presente tese de doutorado, foi escolhido para os testes biológicos aquele que apresentou os melhores resultados experimentais: [Pd(C²,N-LFME)(Br)(PTA)].

5.1- Ensaio de viabilidade celular com MTT

A viabilidade celular é o número de células vivas e saudáveis presentes em uma determinada amostra. Esse é o parâmetro utilizado para avaliar a quantidade de células vivas remanescentes após o contato com alguma substância potencialmente citotóxica, causando assim a morte celular. Existe uma grande variedade de métodos para determinar o número de células viáveis de uma amostra, sendo o ensaio colorimétrico com o corante brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio, ou simplesmente MTT, um dos mais bem estabelecidos¹⁰⁴. No ensaio de viabilidade celular com MTT, a substância estudada é introduzida no meio celular, devendo causar a morte das células. Ao adicionar o MTT (corante amarelo) no meio celular com a substância estudada, as células que permaneceram vivas converterão o MTT em sua forma reduzida, o formazan (corante roxo azulado) (figura 111).

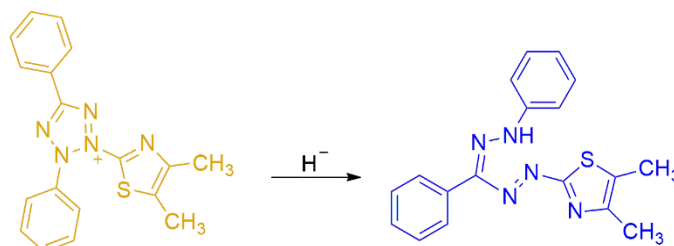


Figura 111: Redução do MTT em formazan. Fonte: Autor.

O surgimento do formazan no meio celular é caracterizado pela formação de cristais insolúveis que podem ser visualizados e identificados através de um microscópio (figura 112, B).

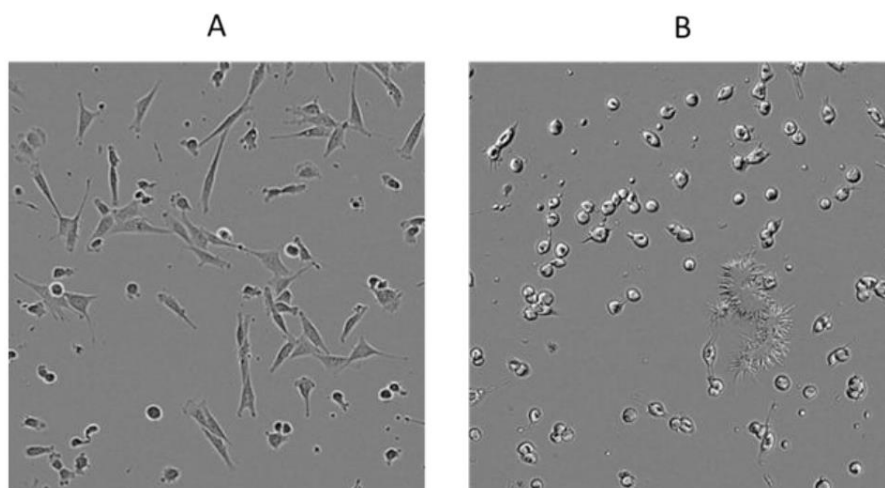


Figura 112: Mudança na morfologia celular após a adição de MTT. Em A é mostrada uma região do cultivo celular fotografada logo após a adição do MTT. Em B é mostrada a mesma região após 4 horas de exposição ao MTT, onde é evidente a mudança na morfologia celular e o surgimento dos cristais de formazan. Fonte: Riss *et al*, 2004.

Assim, os cristais de formazan são solubilizados em um solvente adequado e a densidade óptica da solução, ou absorvância, é quantificada pelo espectrofotômetro, sendo o grau de absorção da luz dependente do grau da concentração de formazan acumulado dentro e na superfície da célula.

A nível celular, as células com o metabolismo respiratório normal são capazes de reduzir o MTT a formazan com o auxílio, por exemplo, da coenzima NAD. Isso implica diretamente na aquisição dos dados experimentais e interpretação dos resultados, pois a redução do corante MTT está condicionada à atividade metabólica da célula e esta, por sua vez, é dependente da atividade normal da coenzima NAD. Com isso, é necessário garantir que as condições experimentais não alterem a

atividade metabólica da célula e causem uma redução “paralela” do MTT, a fim de não refletir numa viabilidade celular imprecisa¹⁰⁵.

Na figura 113 a seguir é mostrado uma proposta de mecanismo no qual o MTT é reduzido a formazan através da coenzima NAD.

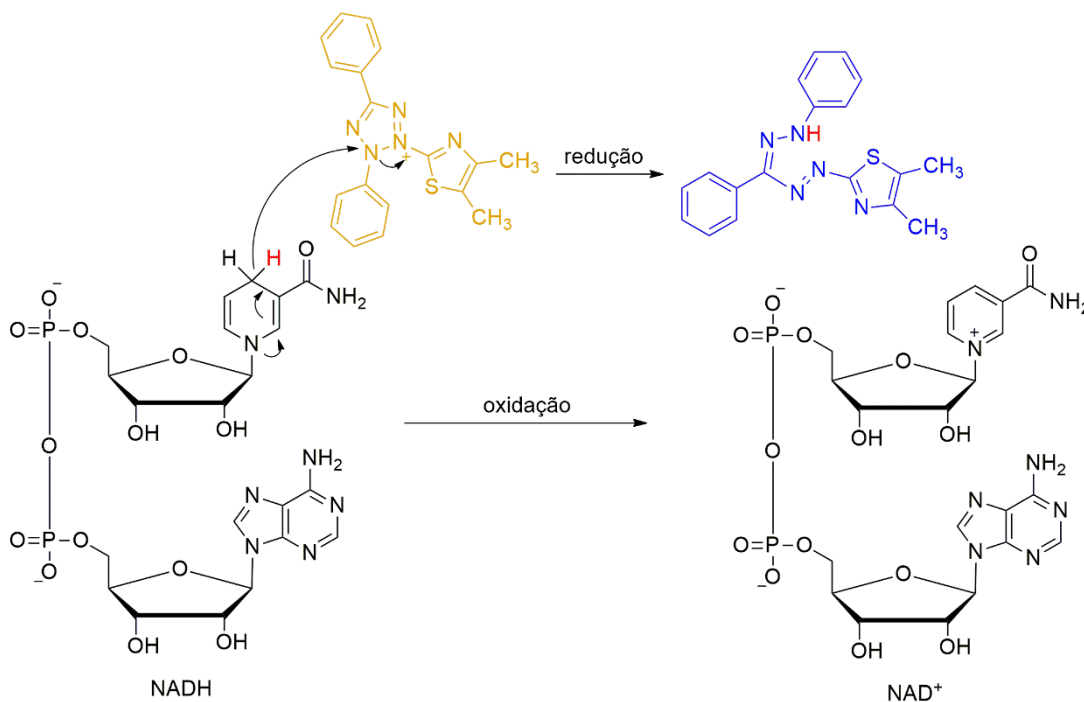


Figura 113: Proposta de mecanismo de redução do MTT a formazan com o auxílio da coenzima NAD. Fonte: Autor.

Para os ensaios de viabilidade celular do presente trabalho, foram utilizadas as seguintes linhagens celulares: MRC-5 (não tumoral), A549, MDA-MB-231 e A2780. As linhagens tumorais testadas representam, respectivamente, alguns dos cânceres de maior incidência e morte atualmente: pulmão, mama e ovário (figura 4). Os resultados na forma de IC₅₀ dos ensaios de viabilidade celular com MTT para o complexo Pd-Br-PTA estão resumidos no quadro 14 a seguir.

Quadro 14: Valores de IC₅₀ para o complexo Pd-Br-PTA.

IC ₅₀ (μM)				
Composto	MRC-5	A549	MDA-MB-231	A2780
Pd-Br-PTA	>50	>50	30,26 ± 0,87	9,37 ± 1,07
cisplatina	29,09 ± 0,78	14,40 ± 1,40	2,40 ± 0,20	11,17 ± 0,15

Como pode ser visto a partir dos dados do quadro 14, a comparação entre os valores de IC₅₀ obtidos para o complexo Pd-Br-PTA com aqueles obtidos para o metalofármaco cisplatina é um parâmetro que permite avaliar a eficácia da atividade antitumoral do Pd-Br-PTA. Além disso, é possível extrair a importante informação acerca da toxicidade do Pd-Br-PTA frente às células normais MRC-5, sendo, portanto, menos tóxico do que a cisplatina. A atividade antitumoral do Pd-Br-PTA se mostrou promissora frente a linhagem tumoral de ovário A2780.

No contexto da atividade antitumoral de complexos ortopaladados sintetizados pelo grupo, o sistema resultante da ortopaladação de uma amina primária com formação de um anel ciclometalado de 6 membros tem, de fato, apresentado resultados satisfatórios. É digno de nota a tendência que os compostos desse sistema possuem de serem menos tóxico do que aqueles do sistema derivado da ortopaladação de benzilaminas secundárias ou terciárias, com formação de anéis ciclometalados de 5 membros. No quadro 15 a seguir estão resumidos valores de IC₅₀ de compostos sintetizados pelo grupo para a constatação do que acima foi observado.

Quadro 14: Valores de IC₅₀ para alguns complexos sintetizados pelo grupo.

IC ₅₀ (μM)				
Composto	MRC-5	A549	MDA-MB-231	A2780
Pd-Br-PTA	>50	>50	30,26 ± 0,87	9,37 ± 1,07
Sistema 1 ^a 106	>50	>50	6,04 ± 0,40	---
Sistema 2 ^b 75	28,92 ± 0,17	49,35 ± 0,75	---	---
[PdCl(DMPA)(lut) ^{b,c}	3,52 ± 0,27	9,86 ± 0,33	2,91 ± 0,15	---
[PdCl(DMPA)(lut) ^{b,c}	4,54 ± 0,41	13,14 ± 0,44	3,607 ± 0,25	---

a: Ortopaladado de amina primária com anel ciclometalado de 6 membros.

b: Ortopaladado de amina terciária com anel ciclometalado de 5 membros.

c: Compostos sintetizados pelo grupo.

--- : Não determinado.

A baixa toxicidade dos complexos de aminas primárias, se comparado com os de aminas terciárias, pode ser uma consequência da utilização do derivado *L*-fenilalanina-metil-éster como ciclometalado. Embora os estudos do comportamento do Pd-Br-PTA em DMSO demonstraram que ele se manteve íntegro até 48 horas após a diluição no solvente (figura 74), caso o Pd-Br-PTA fosse ionizado ou dissociado no meio celular, é provável que a presença do derivado de bioligante *L*-fenilalanina-metil-éster contribuiria para uma menor toxicidade.

Sabendo do potencial antitumoral do Pd-Br-PTA, os ensaios de interação com as biomoléculas alvo HSA e DNA investigarão a capacidade do Pd-Br-PTA de ser transportado em meio biológico através da corrente sanguínea e se a atividade tumoral observada poderá ser do tipo genotóxica.

5.2- Ensaio da supressão de fluorescência da HSA na presença do complexo Pd-Br-PTA

A albumina sérica humana ou HSA, acrônimo de *Human Serum Albumin*, é a proteína mais abundante encontrada no plasma sanguíneo, podendo existir numa concentração sanguínea que varia de 3,5 a 5 g/100 mL. As principais funções fisiológicas da HSA consistem na modulação da pressão oncótica plasmática e no auxílio da distribuição dos fluidos entre os compartimentos do corpo. Do ponto de vista estrutural, a HSA é uma proteína monomérica com 585 resíduos de aminoácidos e que possui três domínios α -helicoidais homólogos, denominados: domínio I, domínio II e domínio III (figura 114)¹⁰⁷⁻¹⁰⁸.

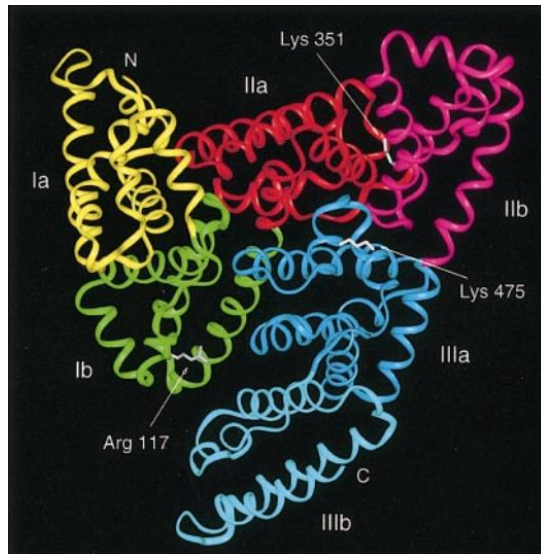


Figura 114: Estrutura da HSA obtida por DRX em monocristal mostrando os domínios com seus respectivos subdomínios em diferentes cores: subdomínio Ia (amarelo), subdomínio Ib (verde), subdomínio IIa (vermelho), subdomínio IIb (magenta), subdomínio IIIa (azul) e subdomínio IIIb (ciano). Fonte: Sugio *et al.*, 1999.

A excepcional capacidade da HSA de formar adutos com outras espécies químicas, confere a essa proteína a importante função de transportar tanto substâncias endógenas como exógenas, sendo as exógenas comumente referidas como fármacos. Essa propriedade tem sido profundamente explorada no contexto da química medicinal e da farmácia pois é capaz, por exemplo, de afetar a farmacocinética de muitos fármacos. Embora o mecanismo de ação mais bem estabelecido para o medicamento cisplatina considere a interação desse metalofármaco com a HSA como um dos meios de desativação do fármaco (figura 6), nas últimas décadas muitos estudos controversos têm demonstrado que a HSA pode desempenhar algum papel importante na farmacocinética da cisplatina. Certamente uma das observações mais impressionantes seja a de que pacientes hipoalbumêmicos respondem mal ao tratamento com a cisplatina. Uma clara compreensão do real papel do aduto formado entre a HSA e a cisplatina (figura 115) na atividade antitumoral ainda está distante de ser completamente atingida. Assim, na busca por novos metalofármacos antitumorais, é crucial um estudo detalhado dos possíveis modos de interação do potencial metalofármaco com a HSA¹⁰⁹.

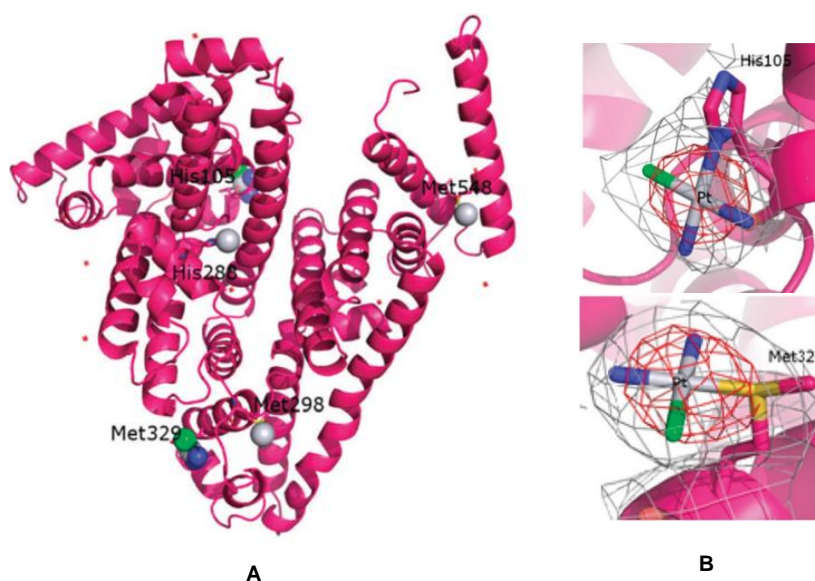


Figura 115: Em A: estrutura do aduto HSA/cisplatina obtida por DRX em monocristal. Os aminoácidos em destaque são os que se coordenam à platina. Em B é mostrada uma ampliação das regiões da HSA onde ocorre a coordenação com a platina. Fonte: Adaptado de Ferraro *et al.*, 2015.

Estudos espectroscópicos com HSA mostraram que, quando excitada a $\lambda_{\max} = 280$ nm, resíduos de tirosina e de triptofano serão os responsáveis pela fluorescência intrínseca observada¹¹⁰. Além disso, estudos da interação entre complexos de Pd(II) e de Ru(II) com HSA sugerem que a interação desses complexos acontece preferencialmente na região da proteína onde está situado o resíduo de triptofano (Trp214)¹¹¹⁻¹¹². Com isso, é possível avaliar uma possível supressão da fluorescência da HSA em decorrência da interação com o complexo Pd-Br-PTA. Para esse estudo, soluções de concentrações variadas na faixa de 0 a 75 μM foram excitadas a $\lambda_{\text{ex}} = 280$ nm nas temperaturas 27, 31 e 37 °C. Os gráficos intensidade da fluorescência vs [Pd-Br-PTA], para cada temperatura, são mostrados na figura 116 a seguir.

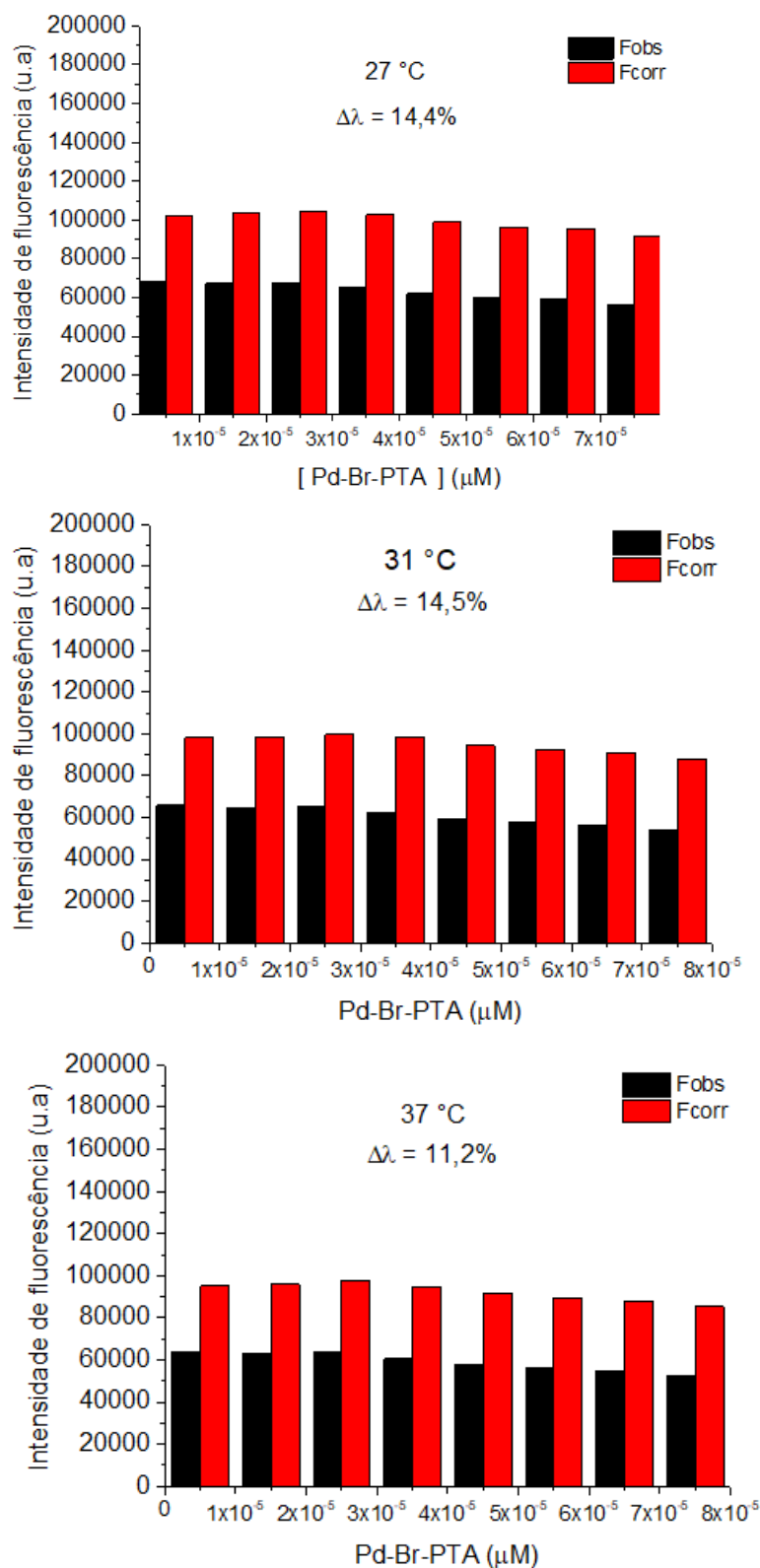


Figura 116: Gráficos da supressão da luminescência da HSA (tampão Tris-HCl, pH = 7,2 e [HSA] = 40 μM) à medida que aumenta a concentração de Pd-Br-PTA, nas temperaturas 27, 31 e 37 °C. $\Delta\lambda$ é a variação do valor da supressão da luminescência final (quantidade máxima do supressor) e inicial (sem o supressor), expresso em porcentagem.

Como pode ser visto através dos gráficos da supressão da fluorescência da HSA pelo Pd-Br-PTA, foi constatada uma supressão inferior a 15% em todos os experimentos realizados. É possível, através da análise das constantes de extinção K_{sv} , obtidas em cada temperatura, avaliar se existe uma correlação entre a supressão e a temperatura, permitindo inferir acerca do mecanismo de supressão. No quadro 15 a seguir são mostrados os valores de K_{sv} obtidos utilizando a equação de Stern-Volmer (1).

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (1)$$

Onde $[Q]$ é a concentração do supressor Pd-Br-PTA. Os valores de F_0 (fluorescência da HSA na ausência de Pd-Br-PTA) e F (fluorescência resultante da adição de Pd-Br-PTA) podem ser acessados a partir dos dados experimentais (figura 111). Os gráficos Stern-Volmer F_0/F vs $[Pd-Br-PTA]$ nas temperaturas 27, 31 e 37 °C são mostrados na figura 117 a seguir. As respectivas constantes K_{sv} estão resumidas no quadro 14.

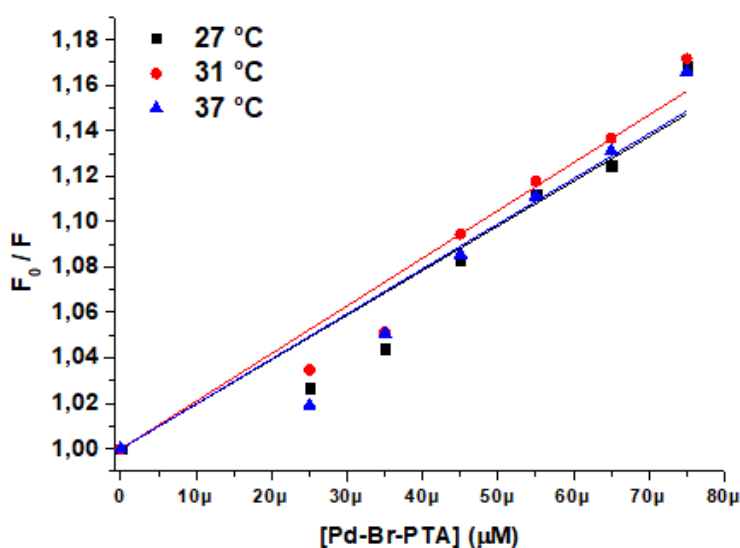


Figura 117: Gráficos Stern-Volmer F_0/F vs $[Pd-Br-PTA]$ nas temperaturas 27, 31 e 37 °C.

Quadro 14: Valores das constantes de extinção K_{sv} nas diferentes temperaturas.

T (°C)	$K_{sv} \times 10^3$ (L/mol)	R ^a
27	1,88	0,8990
31	2,11	0,8995
37	1,93	0,8993

^aCoefficiente de correlação

Os valores de K_{sv} são da ordem de 10^3 , indicando uma real possibilidade do Pd-Br-PTA de estar interagindo com algum sítio da HSA, pois esta é uma ordem de grandeza comumente observada quando há interação de substâncias exógenas com a HSA¹¹³. Entretanto, os valores de K_{sv} se mantiveram praticamente constantes, não indicando qualquer relação dos valores de K_{sv} com a temperatura que permita inferir acerca da natureza do mecanismo de interação da HSA com o Pd-Br-PTA¹¹⁴.

Os valores de K_{sv} sugerem que o Pd-Br-PTA possa estar interagindo com algum sítio da HSA. Essa constatação pode ser feita a partir dos parâmetros n e K_b , obtidos utilizando uma versão modificada da equação de Stern-Volmer (2).

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

Onde n é o número de sítios de ligação na HSA e K_b é a constante de ligação. A regressão linear utilizando a equação (2) foi feita com os dados experimentais obtidos nas temperaturas 27, 31 e 37 °C (figuras A23, A24 e A25), porém foi observado um melhor valor do coeficiente de correlação para os experimentos na temperatura de 31 e 37 °C. Dessa forma, serão utilizados os dados relativos às temperaturas 31 e 37 °C para a determinação dos valores termodinâmicos de ΔH° , ΔG° e ΔS° . As equações termodinâmicas que permitem calcular os parâmetros acima mencionados e seus respectivos valores calculados são mostrados a seguir.

$$\ln \frac{K_1}{K_2} = \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right] \frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (1)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b \quad (2)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (3)$$

Onde K_1 e K_2 são os valores de K_b nas temperaturas T_1 e T_2 ; $R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$.

Quadro 15: Valores das constantes de ligação K_b , dos números de sítios de ligação n e dos parâmetros termodinâmicos resultantes da interação do Pd-Br-PTA com a HSA.

T (K)	K_b (mol/L)	n	R^a	ΔG° (KJ/mol)	ΔH° (KJ/mol)	ΔS° (J/mol K)
304	$1,02 \times 10^4$	1,16	0,9973	-23,3	-93,6	-213,3
310	$2,09 \times 10^4$	1,24	0,9947	-25,6		

^aCoeficiente de correlação

De acordo com a literatura, valores de $\Delta H^\circ < 0$ e $\Delta S^\circ < 0$ indicam a predominância de interações do tipo ligações de hidrogênio, podendo ou não existir também interações do tipo van der Waals^{98,113,115}.

Os valores de $\Delta G^\circ < 0$ em ambas as temperaturas confirmam que o processo, além de ser espontâneo, é também favorável ($\Delta H^\circ < 0$).

Tendo em vista os resultados espectroscópicos obtidos com os ensaios de interação da HSA com o complexo Pd-Br-PTA, é possível deduzir que a HSA pode ser considerada como uma potencial biomolécula carreadora do Pd-Br-PTA no meio biológico. No entanto, esses resultados obtidos são de caráter preliminar pois necessitam ser repetidos fazendo alguns ajustes na metodologia experimental e utilizando um espectrofluorímetro.

5.3- Ensaios de interação com o DNA

5.3.1- Titulação espectrofotométrica do Pd-Br-PTA com ctDNA

Após a elucidação do mecanismo de ação responsável pela atividade antitumoral da cisplatina e sua íntima dependência com o DNA (figura 6), essa biomolécula tem sido um dos principais alvos nas investigações preliminares da atividade antitumoral de potenciais metalofármacos. A fim de avaliar a interação do Pd-Br-PTA com o DNA, foi realizada uma titulação espectrofotométrica do Pd-Br-PTA com quantidades crescentes do ctDNA. O espectro eletrônico é mostrado na figura 118 a seguir.

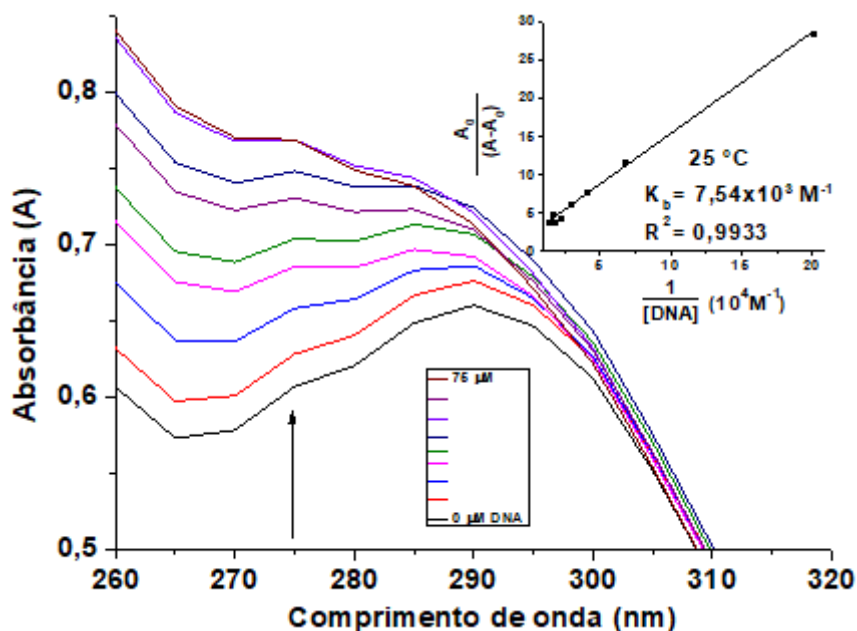


Figura 118: Espectro de absorção na região do UV-Vis resultante da titulação do Pd-Br-PTA na presença de quantidades crescentes de ctDNA a 25 °C. A seta indica o aumento na absorção com a adição do ctDNA. Na parte superior direita: gráfico de $A_0/(A-A_0)$ vs $[DNA]^{-1}$. A_0 absorvância do complexo na ausência de DNA. A = absorvância na presença de quantidades crescentes de ctDNA.

Segundo a literatura, o perfil espectral obtido quando se observa interações de natureza forte, tais como as intercalações, é de um hipocromismo (>35%) seguido de batocromismo (>15 nm)¹¹⁶. No entanto, ao analisar o comportamento do Pd-Br-PTA na presença do ctDNA, não se pode afirmar que possa estar ocorrendo interações de natureza forte. Para avaliar a existência de ligações de natureza fraca, também denominadas de interações por sulco, o experimento de competição com o Hoechst se mostra bastante adequado, tendo em vista que compostos com afinidade pelo sulco menor do DNA são capazes de deslocar o Hoechst que, em baixas concentrações, se liga preferencialmente no sulco menor do DNA¹¹⁷.

5.3.2- Ensaio de competição com Hoechst 33258 pelo DNA

Nos ensaios de competição pelo DNA, complexos com tendência de se ligarem ao DNA poderão causar o deslocamento ou substituição de outras moléculas que previamente tenham formado um aduto com o DNA. Geralmente essas moléculas são corantes de comportamento espectral conhecido, de modo que variações no perfil espectral do sistema DNA-corante, decorrentes da adição do complexo, são capazes de indicar qual a natureza da interação DNA-complexo¹¹⁸.

O Hoechst 33258 é um corante pertencente à família dos corantes bis-benzamidas (figura 119)¹¹⁹.

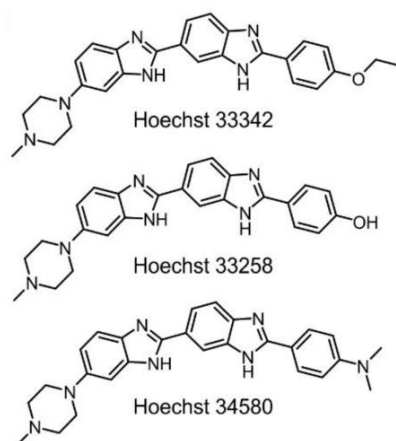


Figura 119: Família dos corantes das bis-benzamidas a qual pertence o Hoechst 33258. Fonte: Adaptado de Bucevičius et al., 2018.

Sendo um corante, o Hoechst 33258 também é um fluoróforo extrínseco. Embora seja um fluoróforo fraco, sua interação com o DNA promove um aumento significativo na emissão observada. Na presença de alguma molécula que também se ligue na mesma região do DNA que o Hoechst 33258, será observada uma supressão da fluorescência do sistema DNA-Hoechst, indicando, portanto, a existência de interações do composto em estudo com o DNA. Assim, o complexo Pd-Br-PTA foi progressivamente adicionado a uma solução de ctDNA-Hoechst e a supressão da fluorescência do sistema DNA-Hoechst apresentou o perfil mostrado na figura 120 a seguir.

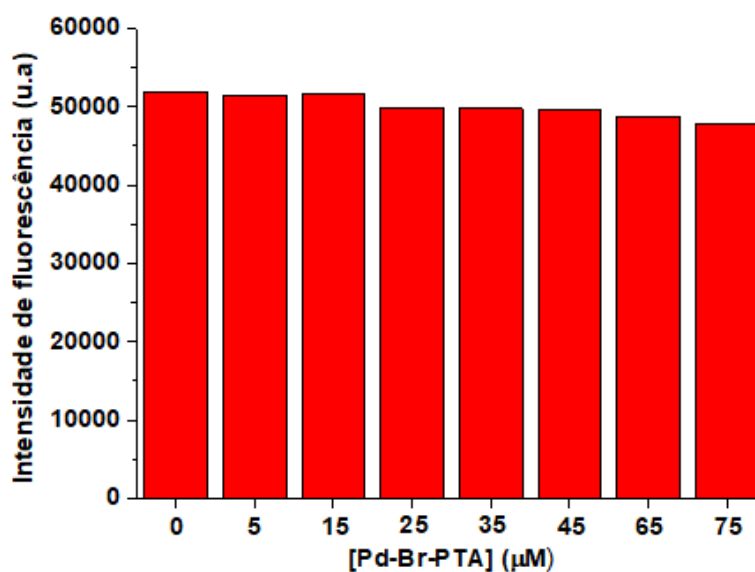


Figura 120: Gráfico da variação da intensidade de fluorescência do sistema DNA-Hoechst com o aumento da concentração do complexo Pd-Br-PTA, em tampão Tris-HCl (pH 7,4) e $\lambda_{ex} = 350$ nm.

Como pode ser visto a partir do perfil espectroscópico mostrado, o complexo Pd-Br-PTA suprimiu cerca de 8% na fluorescência do sistema DNA-Hoechst, não sendo capaz causar um total deslocamento do Hoechst 33258, sugerindo que o aduto DNA-Hoechst é mais estável que o aduto DNA-Pd-Br-PTA. Dessa forma, é provável que um mecanismo antitumoral para o complexo Pd-Br-PTA não teria o DNA como alvo principal, o que contribui para o desenvolvimento de novos metalofármacos antitumorais que não sejam genotóxicos.

De modo análogo aos experimentos com HSA, esses resultados obtidos da interação do Pd-Br-PTA com o sistema DNA-Hochst são de caráter preliminar e necessitam ser repetidos, fazendo alguns ajustes na metodologia experimental e utilizando um espectrofluorímetro.

6. Considerações finais

A busca por novas substâncias candidatas a metalofármaco é um dos campos de pesquisa mais importantes e mais complexos dentro da química sintética, pois envolve a conexão com diversas áreas do conhecimento, caracterizando assim a multidisciplinaridade tão necessária atualmente para a superação tanto de questões problemáticas emergentes como também de questões que têm perdurado por séculos. Tendo em vista as limitações decorrentes do uso dos metalofármacos antitumorais derivados da cisplatina, o presente trabalho de doutorado teve por finalidade contribuir com a síntese, caracterização e estudos biológicos de substâncias com potencial de se tornarem metalofármacos antitumorais.

A família dos compostos obtidos, derivados da ortopaladação do metil-éster do aminoácido *L*-fenilalanina – e que gera ortopaladados com anel ciclometalado de 6 membros –, engloba o dímero de azida inédito de fórmula $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\mu\text{-N}_3)]_2$, os produtos da clivagem dos respectivos dímeros com a fosfina PTA, de fórmula geral $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{X})(\text{PTA})]$, onde $\text{X} = \text{Br}, \text{Cl}, \text{I}, \text{N}_3$, mais o produto da reação de cicloadição 1,3-dipolar $[\text{Pd}(\text{C}^2, \text{N-LFME})(\text{Tria})(\text{PTA})]$. Foram caracterizados no estado sólido através da técnica de análise elementar e DRX em monocristal (complexo Pd-Br-PTA); e em solução com diversas técnicas de RMN, demonstrando um comportamento regular em solução. Além disso, a técnica de Espectrometria de

Massas (ESI) confirmou a pureza de todos os compostos obtidos, excetuando apenas o Pd-Br-PTA que não teve solubilidade suficiente no solvente utilizado nessa técnica, porém foi perfeitamente caracterizado no estado sólido pela técnica de DRX em monocristal.

O composto Pd-Br-PTA selecionado para os estudos biológicos apresentou atividade antitumoral frente às células de câncer de ovário A2780, sendo mais ativo do que o medicamento cisplatina, além de uma baixa toxicidade frente à linhagem não tumoral MRC-5. A ortopaladação do derivado amina primária *L*-fenilalanina-metil-éster com formação de anel ciclometalado de 6 membros, sugere uma menor toxicidade para esse sistema quando comparado aos demais compostos já sintetizados pelo grupo e que pertencem ao sistema oriundo da ortopaladação de um derivado de amina terciária com formação de anel ciclometalado de 5 membros. Os ensaios de interação com a biomolécula HSA indicaram que o Pd-Br-PTA tem a potencialidade de ser transportado na corrente sanguínea pela HSA, embora não tenha sido possível elucidar ou propor qualquer mecanismo de interação do Pd-Br-PTA com a HSA. Por outro lado, o Pd-Br-PTA mostrou pouca afinidade pela biomolécula DNA, sugerindo que seu mecanismo de ação antitumoral não tenha o DNA como o principal alvo. Contudo, esse resultado pode permitir classificar o Pd-Br-PTA como uma substância antitumoral não genotóxica.

Como perspectiva futura, estudos biológicos mais aprofundados e envolvendo outros alvos de interesse poderão ser realizados e estendidos aos demais compostos obtidos.

REFERÊNCIAS

- ¹ABE, O. Observability of the size of the universe. **Physics Letters B**, [s. l.], v. 229, n. 3, p. 202–204, 1989.
- ²JEANS, J. The Size and Age of the Universe. **Nature**, [s. l.], v. 137, n. 3453, p. 17–24, 1936.
- ³DOUGLAS, G.; BAJAJ, N. S. The Final Size of the Universe Based on the Elasticity of the Fabric of Spacetime. **Journal of High Energy Physics, Gravitation and Cosmology**, [s. l.], v. 06, n. 03, p. 450–461, 2020.
- ⁴NORMAL CONTROLS ON CELL DIVISION ARE LOST DURING CANCER. *Em: ESSENTIALS OF CELL BIOLOGY*. [S. l.]: Nature Education, 2014.
- ⁵CANCER STEM CELLS. *Em: STEM CELLS*. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 315–341.
- ⁶ELDRIDGE, L. Cancer Cells vs. Normal Cells: How Are They Different? **verywellhealth**, 2023. Disponível em: <<https://www.verywellhealth.com/cancer-cells-vs-normal-cells-2248794>>. Acesso em: 27 de jun. de 2023.
- ⁷CARTER, Y.; SIPPEL, R. S.; CHEN, H. Hypothyroidism After a Cancer Diagnosis: Etiology, Diagnosis, Complications, and Management. **The Oncologist**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 34–43, 2014.
- ⁸CHANDRAN, R.; HAKKI, M.; SPURGEO, S. Infections in Leukemia. *Em: SEPSIS - AN ONGOING AND SIGNIFICANT CHALLENGE*. [S. l.]: InTech, 2012.
- ⁹VANNEMAN, M.; DRANOFF, G. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 237–251, 2012.
- ¹⁰MERCADANTE, A. A.; KASI, A. **Genetics, Cancer Cell Cycle Phases**. [S. l.: s. n.], 2023.
- ¹¹DIAMANTOPOULOU, Z.; CASTRO-GINER, F.; SCHWAB, F. D.; FOERSTER, C.; SAINI, M.; BUDINJAS, S.; STRITTMATTER, K.; KROL, I.; SEIFERT, B.; HEINZELMANN-SCHWARZ, V.; KURZEDER, C.; ROCHLITZ, C.; VETTER, M.; WEBER, W. P.; ACETO, N. The metastatic spread of breast cancer accelerates during sleep. **Nature**, [s. l.], v. 607, n. 7917, p. 156–162, 2022.
- ¹²GLOBAL CANCER OBSERVATORY. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Data visualization tools for exploring the global cancer burden in 2020, 2023. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/home>>. Acesso em: 29 de jun. de 2023.
- ¹³THE PAST, PRESENT, AND FUTURE OF TARGETED THERAPEUTIC APPROACHES IN PATIENTS WITH DIFFUSE PLEURAL MESOTHELIOMAS. **Journal of Cancer Metastasis and Treatment**, [s. l.], 2023.
- ¹⁴WAKASUGI, T. Treatment strategy after the discontinuation of immunotherapy for head and neck cancer: a review. **Journal of Cancer Metastasis and Treatment**, [s. l.], 2023.
- ¹⁵YOO, G. S.; RIM, C. H.; CHO, W. K.; JEONG, J.-U.; CHIE, E. K.; CHO, H.-M.; UM, J. W.; AHN, Y. C.; LEE, J. H. Metastasis-Directed Local Therapy of Hepatic Oligometastasis from

Colorectal Cancer and Future Perspective in Radiation Therapy. **Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 55, n. 3, p. 707–719, 2023.

¹⁶SCHIZAS, D.; CHARALAMPAKIS, N.; KOLE, C.; ECONOMOPOULOU, P.; KOUSTAS, E.; GKOTSIS, E.; ZIOGAS, D.; PSYRRI, A.; KARAMOUZIS, M. V. Immunotherapy for pancreatic cancer: A 2020 update. **Cancer Treatment Reviews**, [s. l.], v. 86, p. 102016, 2020.

¹⁷CHABNER, B. A. Barnett Rosenberg: In Memoriam (1924–2009). **Cancer Research**, [s. l.], v. 70, n. 1, p. 428–429, 2010.

¹⁸ROSENBERG, B.; VANCAMP, L. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer research**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 1799–802, 1970.

¹⁹QI, L.; LUO, Q.; ZHANG, Y.; JIA, F.; ZHAO, Y.; WANG, F. Advances in Toxicological Research of the Anticancer Drug Cisplatin. **Chemical Research in Toxicology**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1469–1486, 2019.

²⁰AVENDAÑO, C.; MENÉNDEZ, J. C. **Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs**. [S. l.]: Elsevier, 2015.

²¹JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. Direct Cellular Responses to Platinum-Induced DNA Damage. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 107, n. 5, p. 1387–1407, 2007.

²²MEZENECV, R. Interactions of Cisplatin with non-DNA Targets and their Influence on Anticancer Activity and Drug Toxicity: The Complex World of the Platinum Complex. **Current Cancer Drug Targets**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 794–816, 2015.

²³AKABOSHI, M.; KAWAI, K.; MAKI, H.; AKUTA, K.; UJENO, Y.; MIYAHARA, T. The Number of Platinum Atoms Binding to DNA, RNA and Protein Molecules of HeLa Cells Treated with Cisplatin at Its Mean Lethal Concentration. **Japanese Journal of Cancer Research**, [s. l.], v. 83, n. 5, p. 522–526, 1992.

²⁴MISSET, J. L.; BLEIBERG, H.; SUTHERLAND, W.; BEKRADDA, M.; CVITKOVIC, E. Oxaliplatin clinical activity: a review. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 75–93, 2000.

²⁵CVITKOVIC, E.; SPAULDING, J.; BETHUNE, V.; MARTIN, J.; WHITMORE, W. F. Improvement of Cis-dichlorodiammineplatinum (NSC 119875): Therapeutic index in an animal model. **Cancer**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 1357–1361, 1977.

²⁶MATHÉ, G.; KIDANI, Y.; TRIANA, K.; BRIENZA, S.; RIBAUD, P.; GOLDSCHMIDT, E.; ECSTEIN, E.; DESPAX, R.; MUSSET, M.; MISSET, J. L. A phase I trial of trans-1-diaminocyclohexane oxalato-platinum (I-OHP). **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, [s. l.], v. 40, n. 10, p. 372–6, 1986.

²⁷TASHIRO, T.; KAWADA, Y.; SAKURAI, Y.; KIDANI, Y. Antitumor activity of a new platinum complex, oxalato (trans-1,2-diaminocyclohexane)platinum (II): new experimental data. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 251–260, 1989.

²⁸OBRESHKOVA, D.; IVANOVA, S.; YORDANOVA-LALEVA, P. Influence of chemical structure and mechanism of hydrolysis on pharmacological activity and toxicological profile of approved platinum drugs. **Pharmacia**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 645–653, 2022.

- ²⁹WHEATE, N. J.; WALKER, S.; CRAIG, G. E.; OUN, R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 39, n. 35, p. 8113, 2010.
- ³⁰KOEPF-MAIER, Petra.; KOEPF, Hartmut. Non-platinum group metal antitumor agents. History, current status, and perspectives. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 87, n. 5, p. 1137–1152, 1987.
- ³¹MAITLIS, P. **The Organic Chemistry of Palladium, Volume I: Metal Complexes**. [S. l.]: Academic Press, 2012.
- ³²MARCINIEC, B.; PIETRASZUK, C.; PAWLUĆ, P.; MACIEJEWSKI, H. Inorganometallics (Transition Metal–Metalloid Complexes) and Catalysis. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 122, n. 3, p. 3996–4090, 2022.
- ³³WEISS, E. **Comprehensive Organometallic Chemistry. The Synthesis, Reactions and Structures of Organometallic Compounds**. Oxford: Pergamon Press, 1982.
- ³⁴MIESSLER, G.; FISCHER, P.; TARR, D. **Inorganic Chemistry**. 5. ed. [S. l.]: Pearson, 2013.
- ³⁵LOVE, R. A.; KOETZLE, T. F.; WILLIAMS, G. J. B.; ANDREWS, L. C.; BAU, R. Neutron diffraction study of the structure of Zeise's salt, $KPtCl_3(C_2H_4) \cdot H_2O$. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 14, n. 11, p. 2653–2657, 1975.
- ³⁶WENINGER, A.; SAGASSER, J.; OBERMOSER, V.; EGGER, J.; WISBOECK, S.; QIU, Q.; LADSTAETTER, M.; CUCCHIARO, A.; WURST, K.; BAECKER, D.; GUST, R. Development of Zeise's Salt Derivatives Bearing Substituted Acetylsalicylic Acid Substructures as Cytotoxic COX Inhibitors. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1573, 2023.
- ³⁷MEIERANZ, S.; STEFANOPOULOU, M.; RUBNER, G.; BENS DORF, K.; KUBUTAT, D.; SHELDRICK, W. S.; GUST, R. The Biological Activity of Zeise's Salt and its Derivatives. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 54, n. 9, p. 2834–2837, 2015.
- ³⁸ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. **Nature**, [s. l.], v. 222, n. 5191, p. 385–386, 1969.
- ³⁹KLEIMAN, J. P.; DUBECK, Michael. **The Preparation of Cyclopentadienyl [*o*-(Phenylazo)Phenyl]Nickel**. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 85, n. 10, p. 1544–1545, 1963.
- ⁴⁰COPE, A. C.; SIEKMAN, R. W. Formation of Covalent Bonds from Platinum or Palladium to Carbon by Direct Substitution. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 87, n. 14, p. 3272–3273, 1965.
- ⁴¹DUPONT, J.; PFEFFER, M. **Palladacycles: Synthesis, Characterization and Applications**. [S. l.]: Wiley-VCH, 2008.
- ⁴²DEHAND, J.; PFEFFER, M. Cyclometallated compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 327–352, 1976.

- ⁴³ALBRECHT, M. Cyclometalation Using d-Block Transition Metals: Fundamental Aspects and Recent Trends. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 576–623, 2010.
- ⁴⁴BOSQUE, R.; MASERAS, F. A Theoretical Assessment of the Thermodynamic Preferences in the Cyclopalladation of Amines. **European Journal of Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 2005, n. 20, p. 4040–4047, 2005.
- ⁴⁵OMAE, I. Applications of cyclometalation reaction five-membered ring products. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 869, p. 88–105, 2018.
- ⁴⁶FEITOZA, B. R. S. **Ciclometalados de Paládio(II) contendo ligantes N- e P- doadores bidentados: Síntese, Caracterização e Estudos Biológicos**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 99. 2019.
- ⁴⁷ WOLLASTON, W. H. XXII. On the discovery of palladium; with observations on other substances found with plantina. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 95, p. 316–330, 1805.
- ⁴⁸WOLLASTON, W. H. XVII. On a new metal, found in crude platina. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, [s. l.], v. 94, p. 419–430, 1804.
- ⁴⁹INTERNATIONAL PLATINUM GROUP METALS ASSOCIATION. International Platinum Group Metals Association:Physical and Chemical Properties of Platinum Group Metals. Disponível em: <https://ipa-news.com/assets/sustainability/IPA_Guidance/Chapter%202_PGM_Guide.pdf>. Acesso em: 09 de jun. de 2023.
- ⁵⁰DELLA CA', N. Palladium-Catalyzed Reactions. **Catalysts**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 588, 2021.
- ⁵¹DIVINS, Núria. J.; BRAGA, A.; VENDRELL, X.; SERRANO, I.; GARCIA, X.; SOLER, L.; LUCENTINI, I.; DANIELIS, M.; MUSSIO, A.; COLUSSI, S.; VILLAR-GARCIA, I. J.; ESCUDERO, C.; TROVARELLI, A.; LLORCA, J. Investigation of the evolution of Pd-Pt supported on ceria for dry and wet methane oxidation. **Nature Communications**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 5080, 2022.
- ⁵²CROSS, R. J.; TENNENT, N. H. 2-(aryloxy)aryl derivatives of mercury, palladium, platinum, nickel and manganese. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 21–33, 1974.
- ⁵³BOCHMANN, M. **Organometallics and Catalysis: An introduction**. [S. l.]: Oxford University Press, 2015.
- ⁵⁴PARSHALL, G. W. Intramolecular aromatic substitution in transition metal complexes. **Accounts of Chemical Research**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 139–144, 1970.
- ⁵⁵OMAE, I. Agostic bonds in cyclometalation. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 696, n. 6, p. 1128–1145, 2011.
- ⁵⁶WEAVER, D. L. Crystal and molecular structure of trans-chloro-2-(phenylazo)phenylbis(triethylphosphine)palladium(II). **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 2250–2258, 1970.

- ⁵⁷COPE, A. C.; FRIEDRICH, E. C. Electrophilic aromatic substitution reactions by platinum(II) and palladium(II) chlorides on N,N-dimethylbenzylamines. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 90, n. 4, p. 909–913, 1968.
- ⁵⁸VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; CUADRADO, J.; RAMÍREZ DE ARELLANO, M. C. Ortho-Metalated Primary Amines. 6. ¹ The First Synthesis of Six-Membered Palladacycles from Primary Amines Containing Electron-Withdrawing Substituents: End of the Limiting Rules of Cope and Friedrich on Cyclopalladation of Benzyl- and Phenethylamines. **Organometallics**, [s. l.], v. 22, n. 26, p. 5513–5517, 2003.
- ⁵⁹VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I. ORTHO -PALLADATION OF PRIMARY AMINES: THE MYTH DISPELLED. **Comments on Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 28, n. 1–2, p. 39–72, 2007.
- ⁶⁰BABA, S.; KAWAGUCHI, S. Intramolecular substitution reactions on some palladium(II) complexes of aromatic primary amines. **Inorganic and Nuclear Chemistry Letters**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 415–420, 1975.
- ⁶¹FUCHITA, Y.; TSUCHIYA, H. First ortho-palladation of unsubstituted benzylamine by palladium(II) acetate. **Polyhedron**, [s. l.], v. 12, n. 16, p. 2079–2080, 1993.
- ⁶²KURZEEV, S. A.; KAZANKOV, G. M.; RYABOV, A. D. Second- and inverse order pathways in the mechanism of orthopalladation of primary amines. **Inorganica Chimica Acta**, [s. l.], v. 340, p. 192–196, 2002.
- ⁶³FISH, R. H.; JAOUEN, G. Bioorganometallic Chemistry: Structural Diversity of Organometallic Complexes with Bioligands and Molecular Recognition Studies of Several Supramolecular Hosts with Biomolecules, Alkali-Metal Ions, and Organometallic Pharmaceuticals. **Organometallics**, [s. l.], v. 22, n. 11, p. 2166–2177, 2003.
- ⁶⁴ABDEL-MOTTALEB, M. S. A.; ISMAIL, E. H. Transition Metal Complexes of Mixed Bioligands: Synthesis, Characterization, DFT Modeling, and Applications. **Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 2019, p. 1–18, 2019.
- ⁶⁵KONDRATSKYI, A.; KONDRATSKA, K.; VANDEN ABEELE, F.; GORDIENKO, D.; DUBOIS, C.; TOILLON, R.-A.; SLOMIANNY, C.; LEMIÈRE, S.; DELCOURT, P.; DEWAILLY, E.; SKRYMA, R.; BIOT, C.; PREVARSKAYA, N. Ferroquine, the next generation antimalarial drug, has antitumor activity. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 15896, 2017.
- ⁶⁶SCATTOLIN, T.; VOLOSHKIN, V. A.; VISENTIN, F.; NOLAN, S. P. A critical review of palladium organometallic anticancer agents. **Cell Reports Physical Science**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 100446, 2021.
- ⁶⁷REIGOSA-CHAMORRO, F.; RAPOSO, L. R.; MUNÍN-CRUZ, P.; PEREIRA, M. T.; ROMA-RODRIGUES, C.; BAPTISTA, P. V.; FERNANDES, A. R.; VILA, J. M. In Vitro and In Vivo Effect of Palladacycles: Targeting A2780 Ovarian Carcinoma Cells and Modulation of Angiogenesis. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 6, p. 3939–3951, 2021.
- ⁶⁸LIGHVAN, Z. M.; KHONAKDAR, H. A.; HEYDARI, A.; RAFIEE, M.; JAHROMI, M. D.; DERAKHSHANI, A.; MOMTAZI-BOROJENI, A. A. Spectral and molecular docking studies of nucleic acids/protein binding interactions of a novel organometallic palladium (II) complex containing bioactive PTA ligands: Its synthesis, anticancer effects and encapsulation in albumin nanoparticles. **Applied Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 34, n. 10, 2020.

⁶⁹RAY CHAUDHURI, A.; NUSSENZWEIG, A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 610–621, 2017.

⁷⁰MORO, A. C.; DA CUNHA, G. A.; DE SOUZA, R. F. F.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. de G.; CARLOS, I. Z.; RESENDE, F. A.; VARANDA, E. A.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. C 2 ,N-dimethylbenzylamine cyclopalladated compounds: evaluation of cytotoxic, mutagenic and antitubercular activities. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 2879–2888, 2015.

⁷¹MORO, A. C.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G.; ANANIAS, S. R.; QUILLES, M. B.; CARLOS, I. Z.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; HÖRNER, M. Antitumor and antimycobacterial activities of cyclopalladated complexes: X-ray structure of [Pd(C2,N-dmba)(Br)(tu)] (dmba =N,N-dimethylbenzylamine, tu = thiourea). **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 44, n. 11, p. 4611–4615, 2009.

⁷²ZANETTI, R. D.; DA CUNHA, G. A.; MOREIRA, M. B.; FARIAS, R. L.; DE SOUZA, R. F. F.; DE GODOY, P. R. D. V.; BRASSESCO, M. S.; ROCHA, F. V.; LIMA, M. A.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated N,N-dimethyl-1-phenethylamine compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, DNA binding studies and cytotoxicity evaluation. **Polyhedron**, [s. l.], v. 229, p. 116185, 2023.

⁷³THOMAZELLA, N.; LEMOS, S.; SOUZA, Ronan; SOUZA, Rodrigo; MAURO, A.; CARLOS, I.; NETTO, A. V. G. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPOSTOS CICLOPALADADOS CONTENDO COMO LIGANTES BENZALDEIDOXIMA ORTOMETALADA E ETILENOTIOURÉIA. **Química Nova**, [s. l.], 2018.

⁷⁴DE SOUZA, R. F. F.; DA CUNHA, G. A.; PEREIRA, J. C. M.; GARCIA, D. M.; BINCOLETTO, C.; GOTO, R. N.; LEOPOLDINO, A. M.; DA SILVA, I. C.; PAVAN, F. R.; DEFLON, V. M.; DE ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated acetophenone oxime compounds bearing thioamides as ligands: Synthesis, structure and cytotoxic evaluation. **Inorganica Chimica Acta**, [s. l.], v. 486, p. 617–624, 2019.

⁷⁵VELASQUES, J. M.; DE SOUZA, R. F. F.; SILVA, D. E. S.; FARIAS, R. L.; ZANETTI, R. D.; MOREIRA, M. B.; ELLENA, J.; PEREIRA, J. C. M.; MAURO, A. E.; OLIVEIRA, A. B.; NETTO, A. V. G. Orthopalladated tetralone oxime compounds bearing tertiary phosphines: Synthesis, structure, biological and in silico studies. **Journal of Organometallic Chemistry**, [s. l.], v. 958, p. 122184, 2022.

⁷⁶MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, [s. l.], v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

⁷⁷“CrysAlisPRO.” Oxford Diffraction /Agilent Technologies UK Ltd, Yarnton.

⁷⁸SHELDRICK, G. M. *SHELXT* – Integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015.

⁷⁹SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with *SHELXL*. **Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015a.

- ⁸⁰DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; PUSCHMANN, H. *OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. Journal of Applied Crystallography*, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 339–341, 2009.
- ⁸¹SHELDRICK, G. M. A short history of *SHELX*. *Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography*, [s. l.], v. 64, n. 1, p. 112–122, 2008.
- ⁸²PUTZ, H.; BRANDENBURG, K. **Diamond - Crystal and Molecular Structure Visualization**. Bonn: Crystal Impact, 2006. Disponível em: <<https://www.crystalimpact.de/diamond>>. Acesso em 06 agosto 2023.
- ⁸³MACRAE, C. F.; BRUNO, I. J.; CHISHOLM, J. A.; EDINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; RODRIGUEZ-MONGE, L.; TAYLOR, R.; VAN DE STREEK, J.; WOOD, P. A. *Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures. Journal of Applied Crystallography*, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 466–470, 2008.
- ⁸⁴ALBERT, J.; BOSQUE, R.; CRESPO, M.; GARCÍA, G.; GRANELL, J.; LÓPEZ, C.; LOVELLE, M. V.; QADIR, R.; GONZÁLEZ, A.; JAYARAMAN, A.; MILA, E.; CORTÉS, R.; QUIRANTE, J.; CALVIS, C.; MESSEGUER, R.; BADÍA, J.; BALDOMÀ, L.; CASCANTE, M. Cyclopalladated primary amines: A preliminary study of antiproliferative activity through apoptosis induction. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s. l.], v. 84, p. 530–536, 2014.
- ⁸⁵VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; OLIVA-MADRID, M.-J.; GARCÍA-LÓPEZ, J.-A.; BAUTISTA, D. A New Method for High-Yield Cyclopalladation of Primary and Secondary Amines. Atom-Efficient Open-to-Air Inexpensive Synthesis of Buchwald-Type Precatalysts. *Organometallics*, [s. l.], v. 30, n. 17, p. 4624–4631, 2011.
- ⁸⁶VICENTE, J.; SAURA-LLAMAS, I.; GARCÍA-LÓPEZ, J.-A.; CALMUSCHI-CULA, B.; BAUTISTA, D. Ortho palladation and functionalization of L-phenylalanine methyl ester. *Organometallics*, [s. l.], v. 26, n. 10, p. 2768–2776, 2007.
- ⁸⁷GARCÍA-LÓPEZ, J.; SAURA-LLAMAS, I. Chasing C, C-Palladacycles. *European Journal of Inorganic Chemistry*, [s. l.], v. 2021, n. 36, p. 3655–3683, 2021.
- ⁸⁸MAURO, A. E.; CAIRES, A. C. F.; SANTOS, R. H. D. A.; GAMBARDELLA, M. T. D. P. CYCLOADDITION REACTION OF THE AZIDO-BRIDGED CYCLOMETALLATED COMPLEX [Pd(dmba)N₃]₂ WITH CS₂. CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF DI(μ, N,S-1,2,3,4-THIATRIAZOLE-5-THIOLATE)BIS[(N,N-DIMETHYLBENZYL-AMINE-C²,N)PALLADIUM(II)]. *Journal of Coordination Chemistry*, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 521–528, 1999.
- ⁸⁹KUVEKE, R. E. H.; BARWISE, L.; VAN INGEN, Y.; VASHISTH, K.; ROBERTS, N.; CHITNIS, S. S.; DUTTON, J. L.; MARTIN, C. D.; MELEN, R. L. An International Study Evaluating Elemental Analysis. *ACS Central Science*, [s. l.], v. 8, n. 7, p. 855–863, 2022.
- ⁹⁰HO, C. S.; LAM, C. W. K.; CHAN, M. H. M.; CHEUNG, R. C. K.; LAW, L. K.; LIT, L. C. W.; NG, K. F.; SUEN, M. W. M.; TAI, H. L. Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *The Clinical biochemist. Reviews*, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 3–12, 2003.
- ⁹¹PRABHU, G. R. D.; WILLIAMS, E. R.; WILM, M.; URBAN, P. L. Mass spectrometry using electrospray ionization. *Nature Reviews Methods Primers*, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 23, 2023.

- ⁹²DEMARQUE, D. P.; CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 432–455, 2016.
- ⁹³PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 45, n. 9, p. 581, 1968.
- ⁹⁴PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part II: Underlying theories. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 45, n. 10, p. 643, 1968b.
- ⁹⁵JAREMKO, Ł.; KIRILLOV, A. M.; SMOLEŃSKI, P.; LIS, T.; POMBEIRO, A. J. L. Extending the Coordination Chemistry of 1,3,5-Triaza-7-phosphaadamantane (PTA) to Cobalt Centers: First Examples of Co-PTA Complexes and of a Metal Complex with the PTA Oxide Ligand. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 47, n. 8, p. 2922–2924, 2008.
- ⁹⁶MEIJ, A. M. M.; OTTO, S.; ROODT, A. *trans*-Dibromobis(1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane-κ P)palladium(II). **Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online**, [s. l.], v. 58, n. 11, p. m644–m646, 2002.
- ⁹⁷MEEUWISSEN, H. J.; VAN DER KNAAP, T. H. A.; BICKELHAUPT, F. Synthesis of 1-phosphaadamantane. **Tetrahedron**, [s. l.], v. 39, n. 24, p. 4225–4228, 1983.
- ⁹⁸SHENDEROVICH, I. G. 1,3,5-Triaza-7-Phosphaadamantane (PTA) as a ³¹P NMR Probe for Organometallic Transition Metal Complexes in Solution. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 1390, 2021.
- ⁹⁹BREUGST, M.; REISSIG, H. The Huisgen Reaction: Milestones of the 1,3-Dipolar Cycloaddition. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 59, n. 30, p. 12293–12307, 2020.
- ¹⁰⁰AGGARWAL, S.; VU, A.; EREMIN, D. B.; PERSAUD, R.; FOKIN, V. V. Arenes participate in 1,3-dipolar cycloaddition with in situ-generated diazoalkenes. **Nature Chemistry**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 764–772, 2023.
- ¹⁰¹PENG, K.; MAWAMBA, V.; SCHULZ, E.; LÖHR, M.; HAGEMANN, C.; SCHATZSCHNEIDER, U. iClick Reactions of Square-Planar Palladium(II) and Platinum(II) Azido Complexes with Electron-Poor Alkynes: Metal-Dependent Preference for N1 vs N2 Triazolate Coordination and Kinetic Studies with ¹H and ¹⁹F NMR Spectroscopy. **Inorganic Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 17, p. 11508–11521, 2019.
- ¹⁰²POWERS, A. R.; GHIVIRIGA, I.; ABBOUD, K. A.; VEIGE, A. S. Au-iClick mirrors the mechanism of copper catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC). **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 44, n. 33, p. 14747–14752, 2015.
- ¹⁰³DORI, Z.; ZIOLO, R. F. Chemistry of coordinated azides. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 247–254, 1973.
- ¹⁰⁴RISS, T. L. et al. **The Assay Guidance Manual [internet]**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>>.
- ¹⁰⁵GHASEMI, M.; TURNBULL, T.; SEBASTIAN, S.; KEMPSON, I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 23, p. 12827, 2021.

- ¹⁰⁶BADARÓ, W. P. D. **Síntese, caracterização e atividade biológica de ciclopaladados contendo o metil-éster da L-fenilalanina.** Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara, p. 112. 2022.
- ¹⁰⁷MOMAN, R. N.; GUPTA, N.; VARACALLO, M. **Physiology, Albumin.** [S. l.: s. n.], 2023. 2023.
- ¹⁰⁸SUGIO, S.; KASHIMA, A.; MOCHIZUKI, S.; NODA, M.; KOBAYASHI, K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. **Protein Engineering, Design and Selection**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 439–446, 1999.
- ¹⁰⁹FERRARO, G.; MASSAI, L.; MESSORI, L.; MERLINO, A. Cisplatin binding to human serum albumin: a structural study. **Chemical Communications**, [s. l.], v. 51, n. 46, p. 9436–9439, 2015.
- ¹¹⁰ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A. Spectroscopic and computational evaluation on the binding of safranal with human serum albumin: Role of inner filter effect in fluorescence spectral correction. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 203, p. 434–442, 2018.
- ¹¹¹DA CUNHA, G. A.; DE SOUZA, R. F. F.; DE FARIAS, R. L.; MOREIRA, M. B.; SILVA, D. E. S.; ZANETTI, R. D.; GARCIA, D. M.; SPINDOLA, D. G.; MICHELIN, L. F. G.; BINCOLETTI, C.; DE SOUZA, A. A.; ANTUNES, A. A.; JUDICE, W. A. de S.; LEITAO, R. C. F.; DEFLON, V. M.; MAURO, A. E.; NETTO, A. V. G. Cyclopalladated compounds containing 2,6-lutidine: Synthesis, spectral and biological studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 203, p. 110944, 2020.
- ¹¹²DOS SANTOS, E. R.; GRAMINHA, A. E.; SCHULTZ, M. S.; CORREIA, I.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; CORRÊA, R. S.; ELLENA, J.; LACERDA, E. de P. S.; PESSOA, J. C.; BATISTA, A. A. Cytotoxic activity and structural features of Ru(II)/phosphine/amino acid complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, [s. l.], v. 182, p. 48–60, 2018.
- ¹¹³VARSHNEY, A.; SEN, P.; AHMAD, E.; REHAN, Mohd.; SUBBARAO, N.; KHAN, R. H. Ligand binding strategies of human serum albumin: How can the cargo be utilized?. **Chirality**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 77–87, 2010.
- ¹¹⁴MOREIRA, M. B.; FRANCISCATO, D. S.; TOLEDO, K. C. F.; SOUZA, J. R. B. de; NAKATANI, H. S.; SOUZA, V. R. de. INVESTIGATION OF THE FLUORESCENCE QUENCHING OF BOVINE AND HUMAN SERUM ALBUMIN BY RUTHENIUM COMPLEX. **Química Nova**, [s. l.], 2014.
- ¹¹⁵DE OLIVEIRA, R. S.; BOFFO, E. F.; REIS, F. C. C.; NIKOLAOU, S.; ANDRIANI, K. F.; CARAMORI, G. F.; DORO, F. G. A ruthenium polypyridyl complex with the antihypertensive drug valsartan: Synthesis, theoretical calculations and interaction studies with human serum albumin. **Polyhedron**, [s. l.], v. 114, p. 232–241, 2016.
- ¹¹⁶REHMAN, S. U.; SARWAR, T.; HUSAIN, M. A.; ISHQI, H. M.; TABISH, M. Studying non-covalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 576, p. 49–60, 2015.
- ¹¹⁷GONZLEZ-RUIZ, V.; I., A.; ANTONIA, M.; RIBELLES, P.; TERESA, M.; CARLOS, J. An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug-DNA Interactions.

Applications to the Design of Genosensors. *Em: BIOMEDICAL ENGINEERING, TRENDS, RESEARCH AND TECHNOLOGIES*. [S. l.]: InTech, 2011.

¹¹⁸KUMAR, S.; NAIR, M. S. Deciphering the interaction of flavones with calf thymus DNA and octamer DNA sequence (CCAATTGG) ². **RSC Advances**, [s. l.], v. 11, n. 47, p. 29354–29371, 2021.

¹¹⁹BUCEVIČIUS, J.; LUKINAVIČIUS, G.; GERASIMAITĖ, R. The Use of Hoechst Dyes for DNA Staining and beyond. **Chemosensors**, [s. l.], v. 6, n. 2, p. 18, 2018.

ANEXO

❖ Experimentos de RMN do ligante precursor LFME-OTf

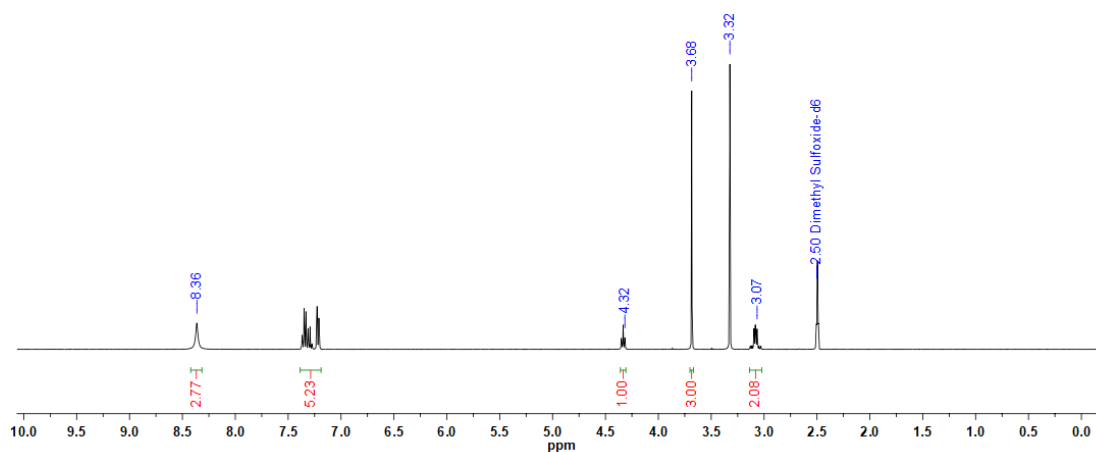


Figura A1: Espectro de RMN de ¹H do ligante LFME-OTf feito em DMSO-d₆.

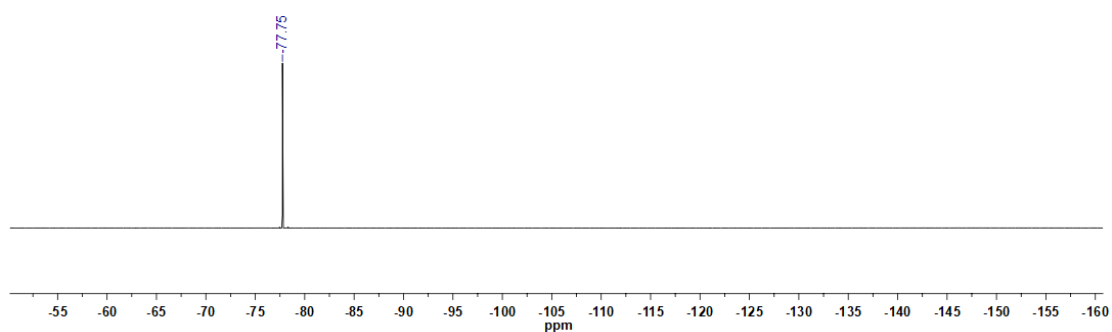


Figura A2: Espectro de RMN de ¹⁹F do ligante LFME-OTf feito em DMSO-d₆.

❖ Experimentos de RMN do ligante PTA

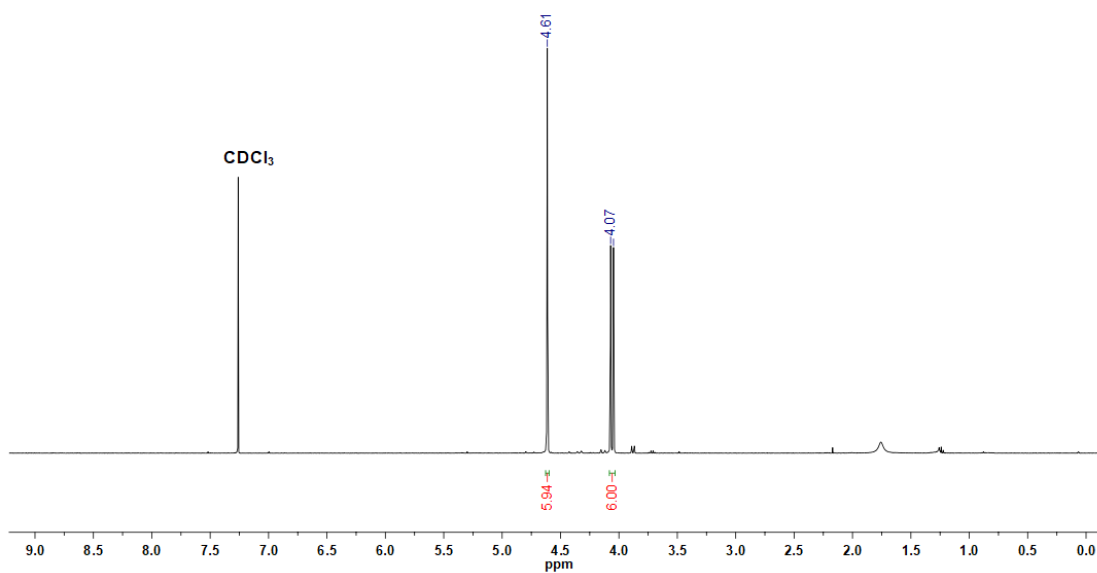


Figura A3: Espectro de RMN de ^1H do ligante PTA feito em CDCl_3 .

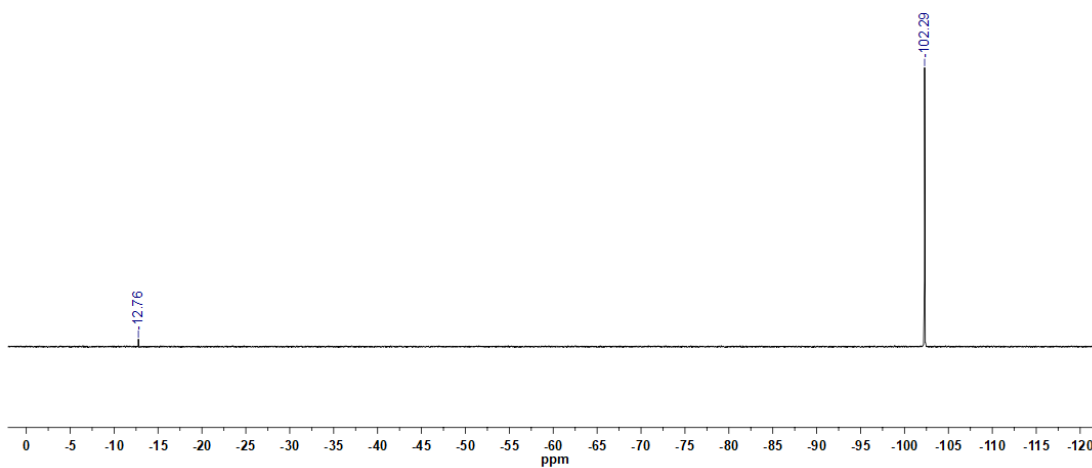


Figura A4: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do ligante PTA feito em CDCl_3 . O pico em 12.76 ppm é atribuído à presença do óxido da fosfina.

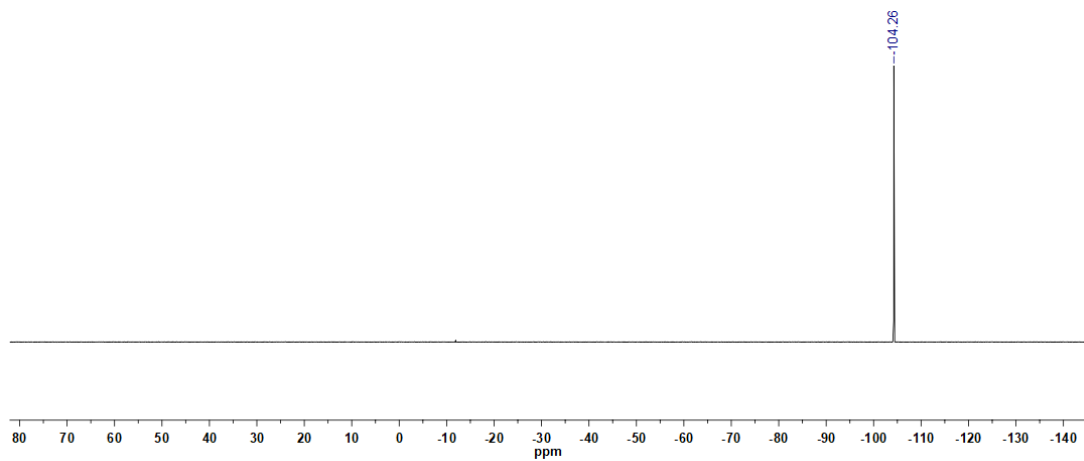


Figura A5: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do ligante PTA feito em DMSO-d_6 .

❖ Experimentos de RMN do Pd-I-PTA

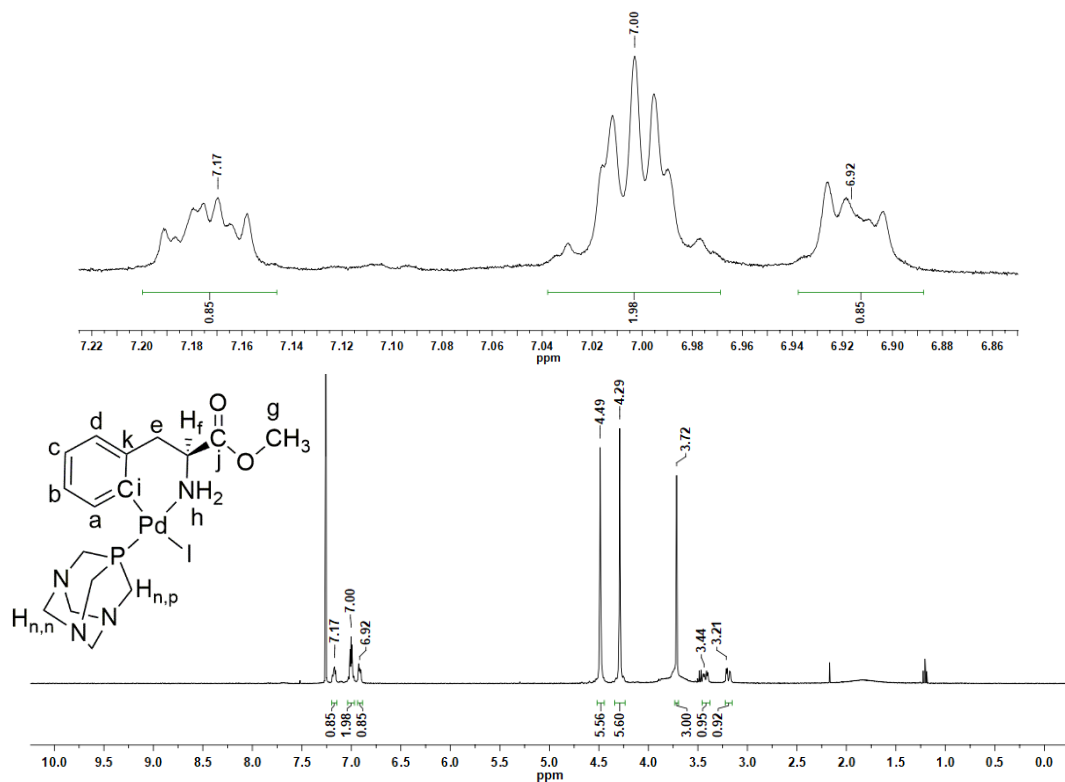


Figura A6: Espectro de RMN de ^1H do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 .

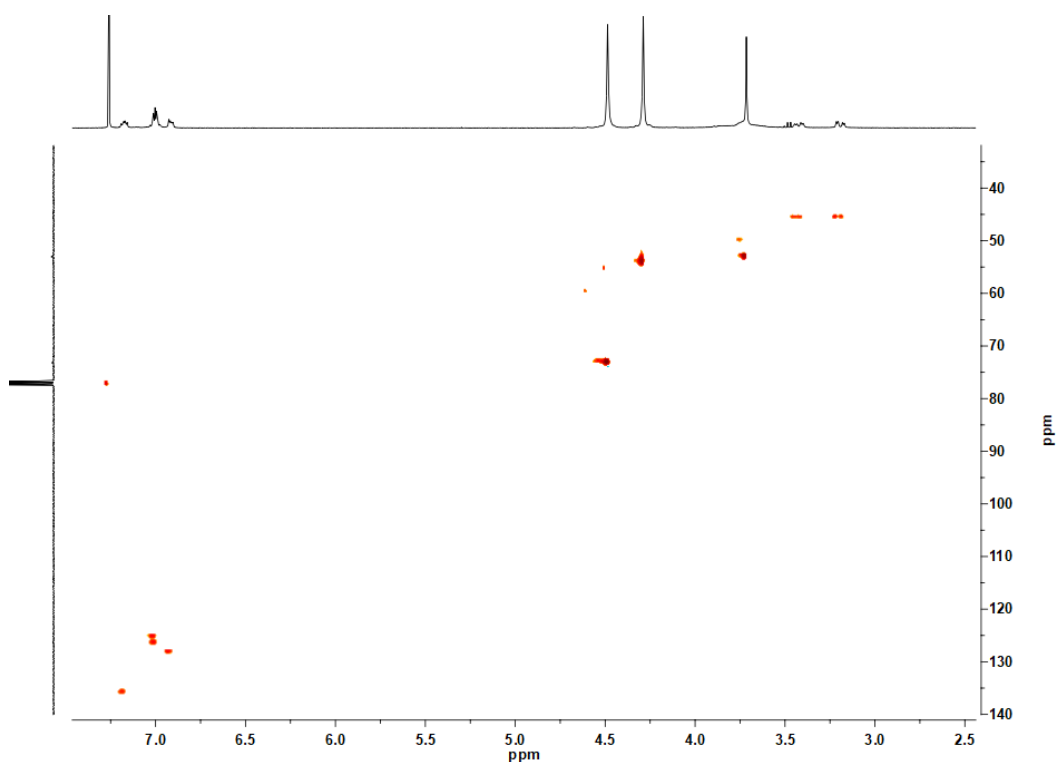


Figura A7: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 .

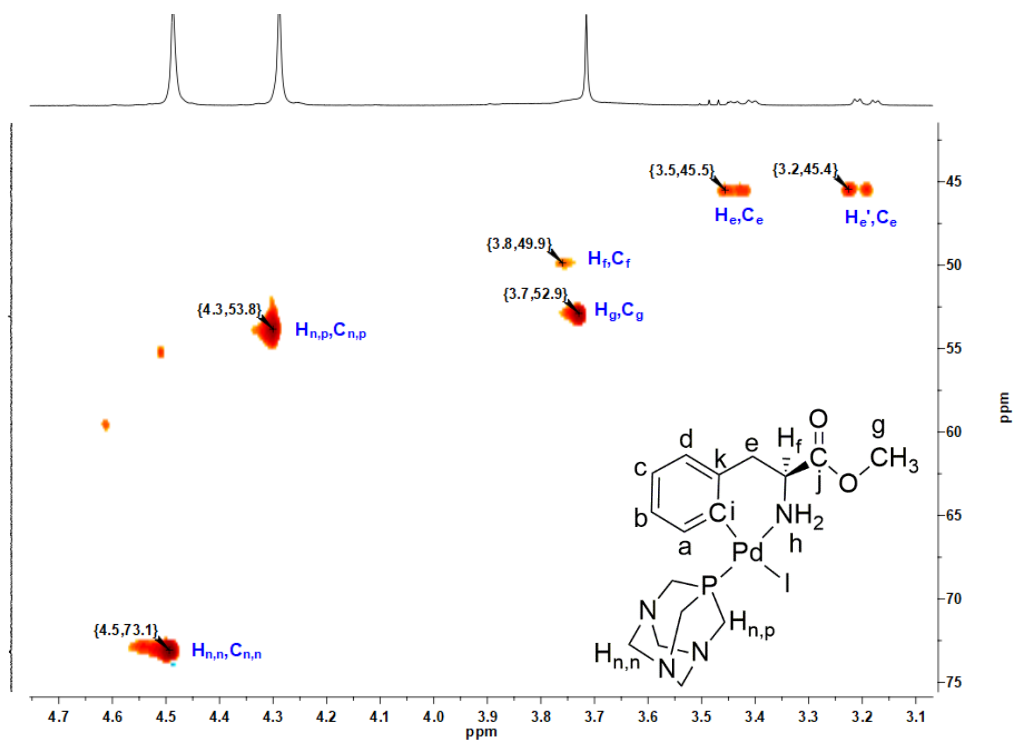


Figura A8: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 mostrando a região alifática ampliada.

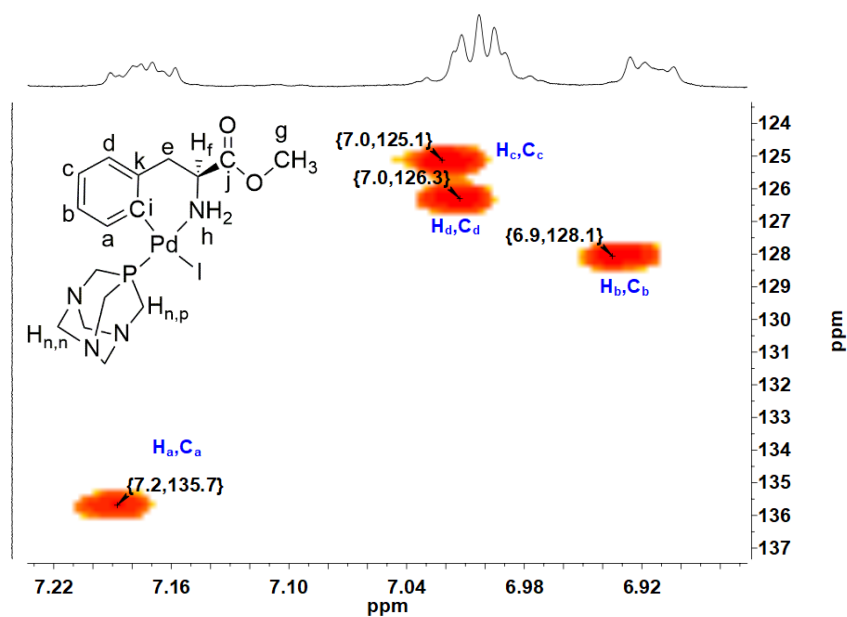


Figura A9: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 mostrando a região aromática ampliada.

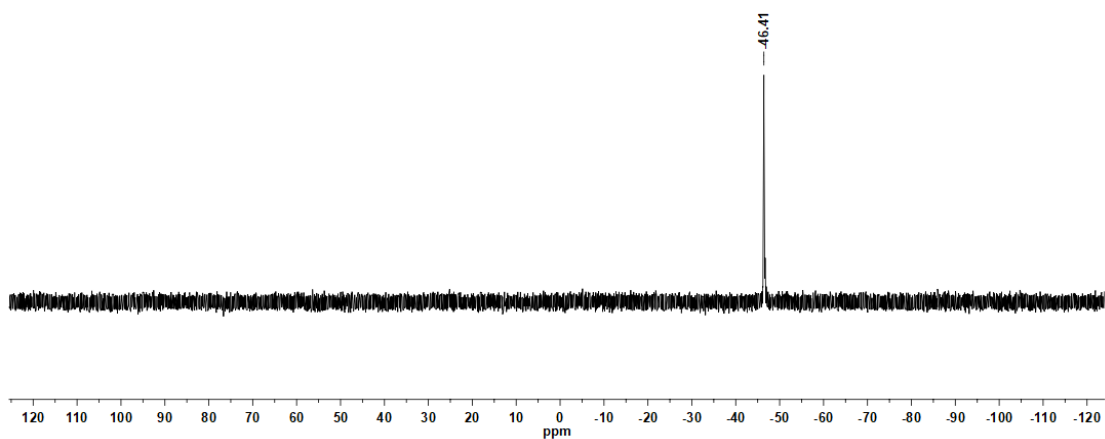
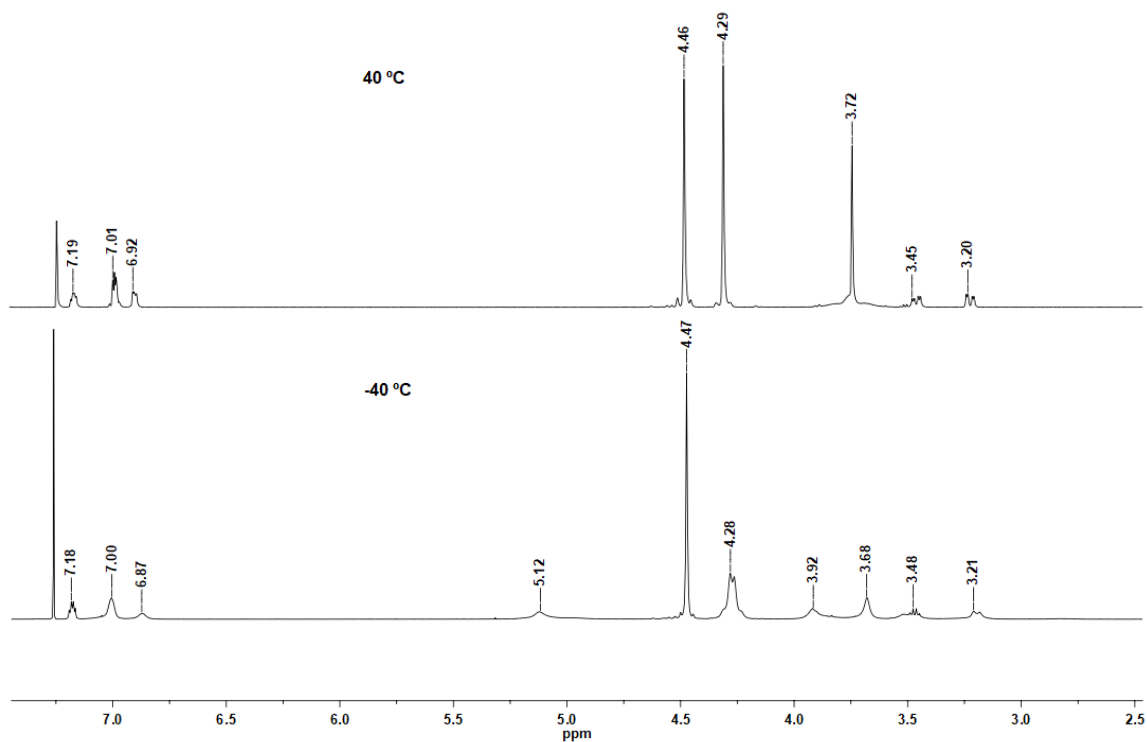


Figura A10: Espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 .



A11: Experimentos de RMN de ^1H nas temperaturas -40 e 40 °C feitos em CDCl_3 .

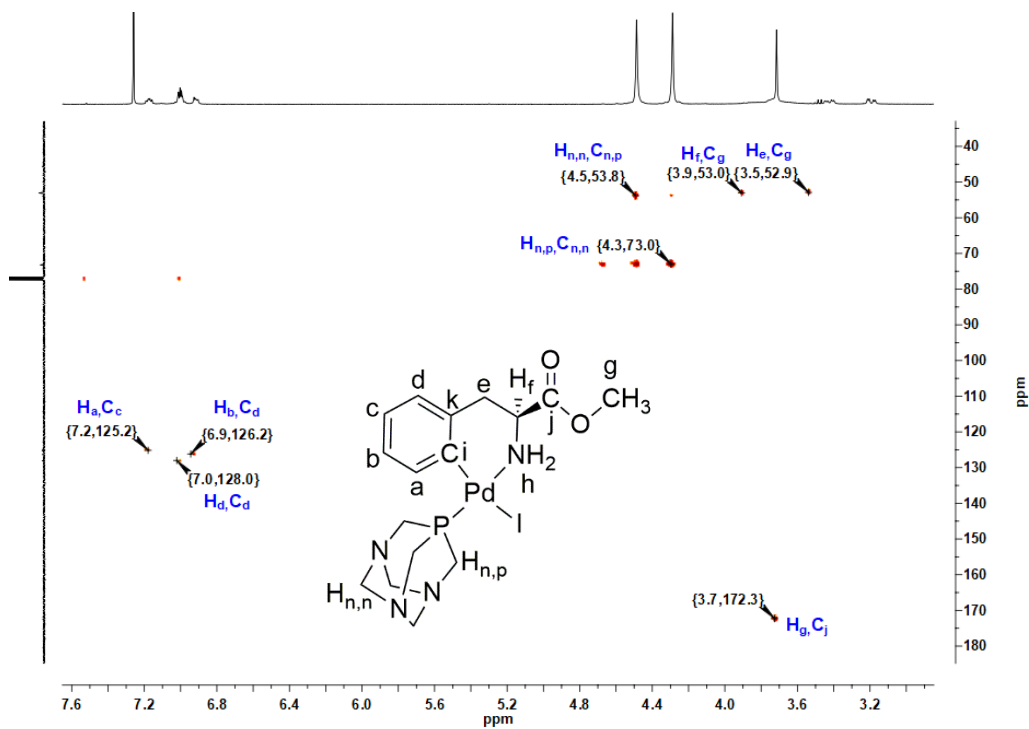
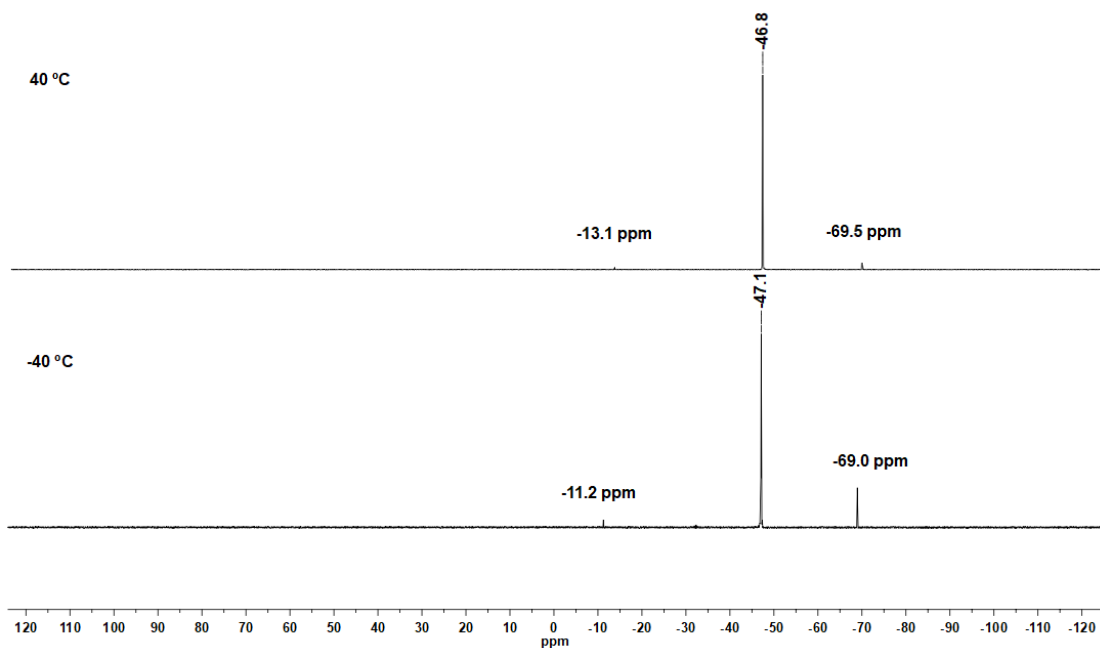
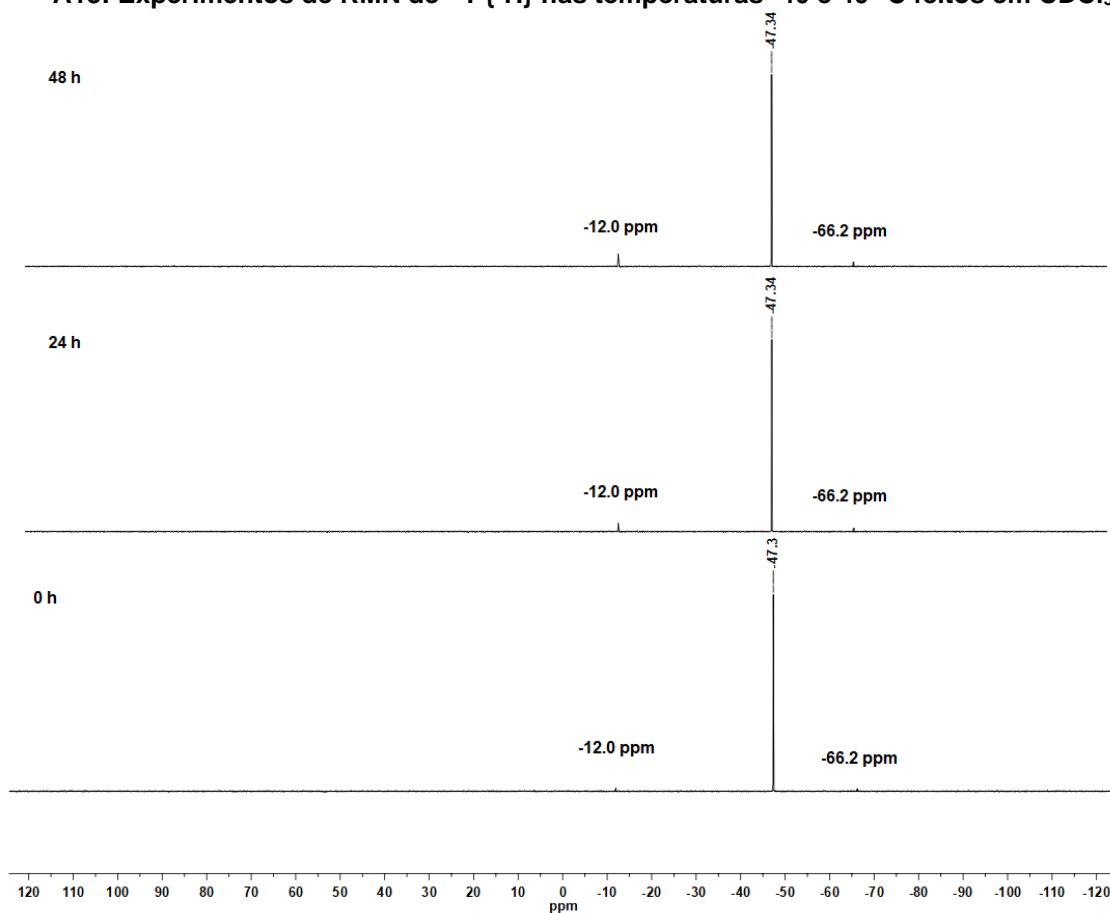


Figura A12: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-I-PTA feito em CDCl_3 com suas principais atribuições.



A13: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nas temperaturas -40 e 40 °C feitos em CDCl_3 .



A14: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ feitos em DMSO-d_6 do Pd-I-PTA nos tempos 0, 24 e 48 h a fim de avaliar a estabilidade do complexo em solução.

Quadro A1: Dados de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{31}P do Pd-I-PTA obtidos em CDCl_3 .

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,2 ---	1
H _b	6,9 ---	1
H _c	7,0 ---	1
H _d	7,0 ---	1
H _e	3,5 <i>d</i>	1
H _{e'}	3,2 <i>d</i>	1
H _f	3,8 <i>s</i>	1
H _g	3,7 <i>s</i>	3
H _h	---	---
H _{n,p}	4,3 <i>s</i>	6
H _{n,n}	4,5 <i>s</i>	6
C _a	135,7	
C _b	128,1	
C _c	125,1	
C _d	126,3	
C _e	45,5	
C _f	49,9	
C _g	52,9	
C _i	---	
C _j	---	
C _k	---	
C _{n,p}	52,8	
C _{n,n}	73,1	
P	-46,4 <i>s</i>	

s = singlete, *d* = dubleto, --- = não determinado

❖ Experimentos RMN do Pd-CI-PTA

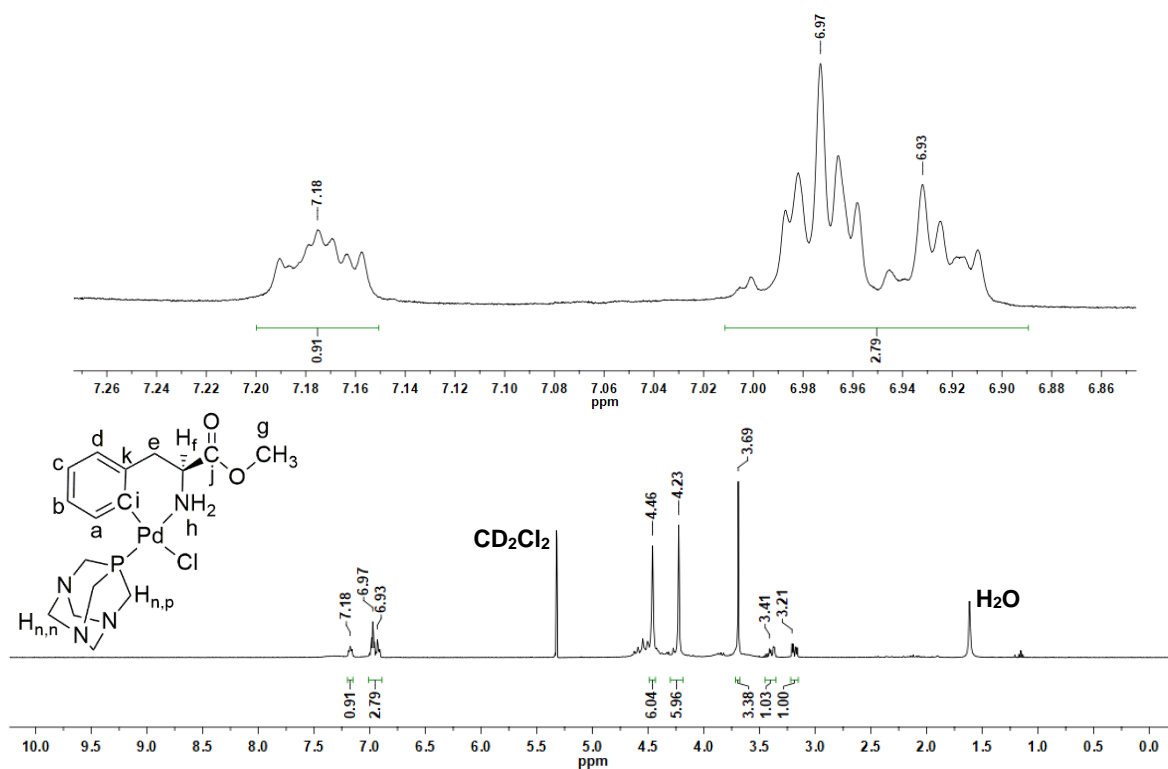


Figura A15: Espectro de RMN de ^1H do Pd-CI-PTA feito em CD_2Cl_2 .

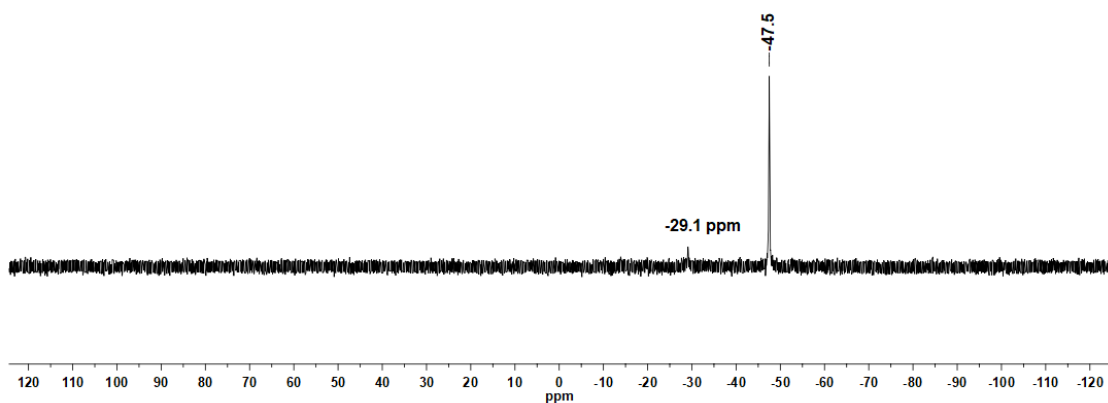


Figura A16: Espectro de RMN de ^{31}P do Pd-CI-PTA feito em CD_2Cl_2 .

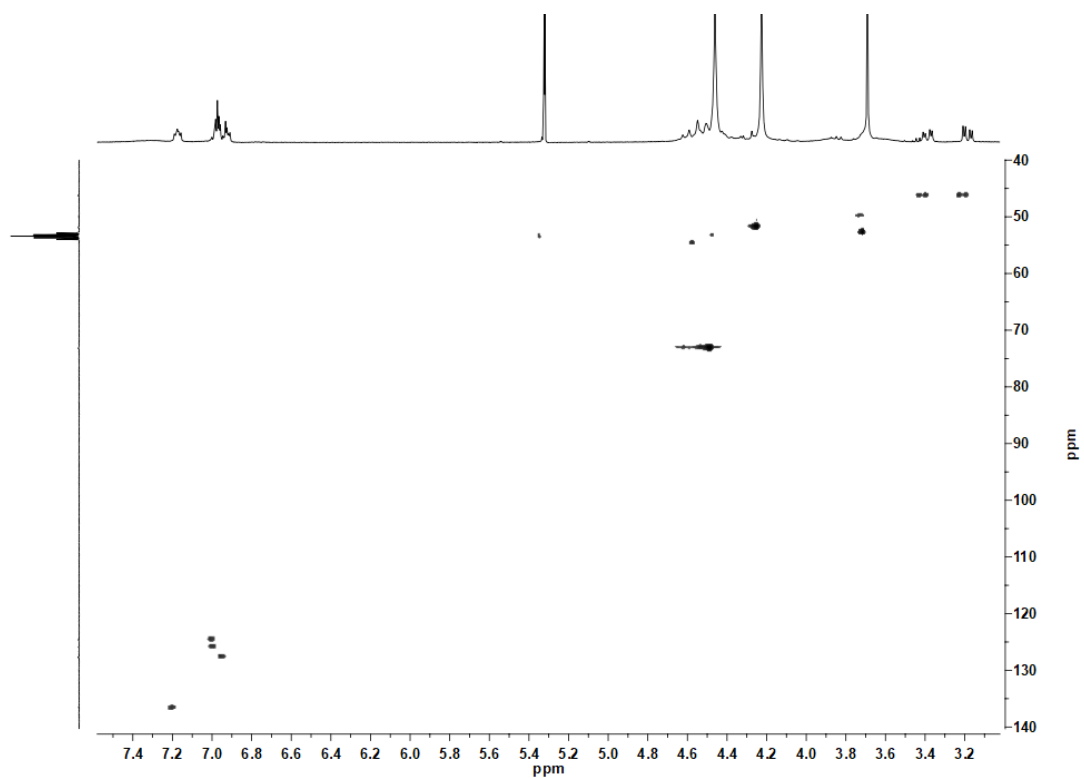


Figura A17: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Cl-PTA feito em CD_2Cl_2 .

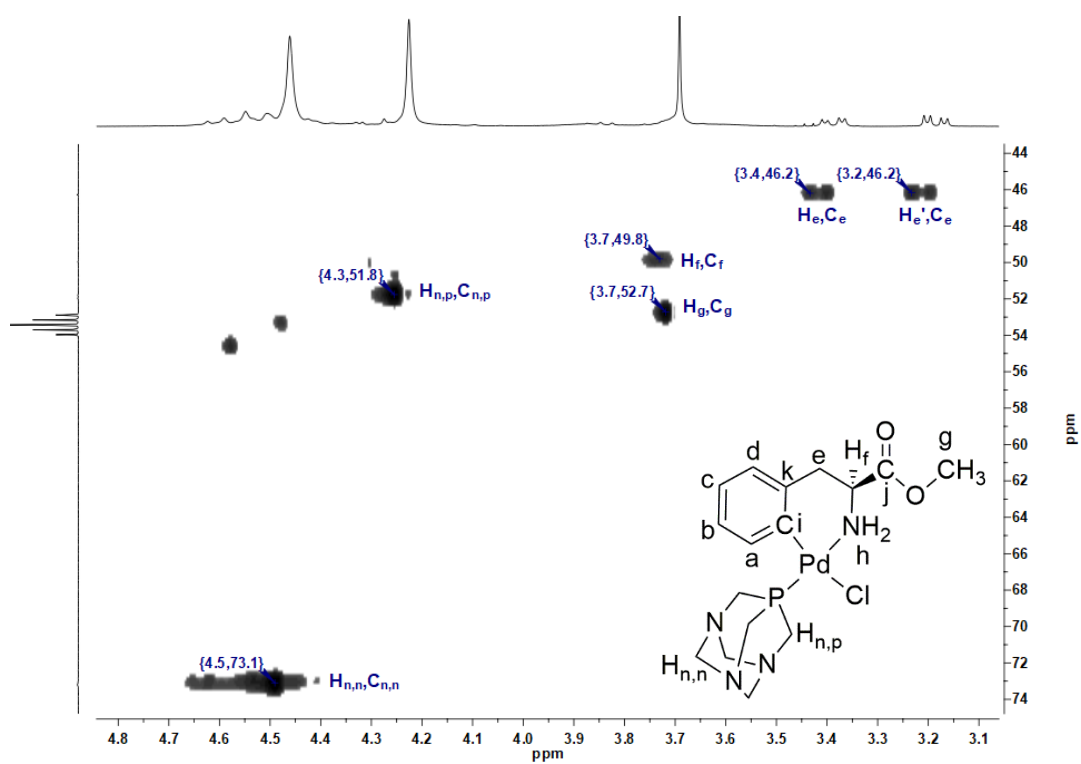


Figura A18: Ampliação da região alifática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Cl-PTA.

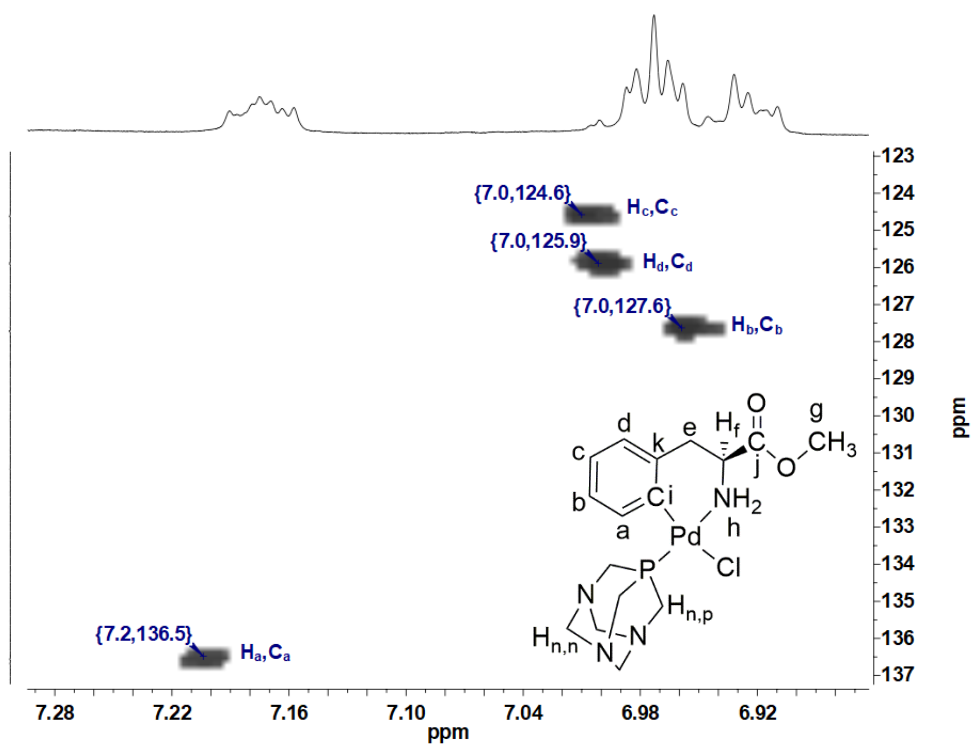
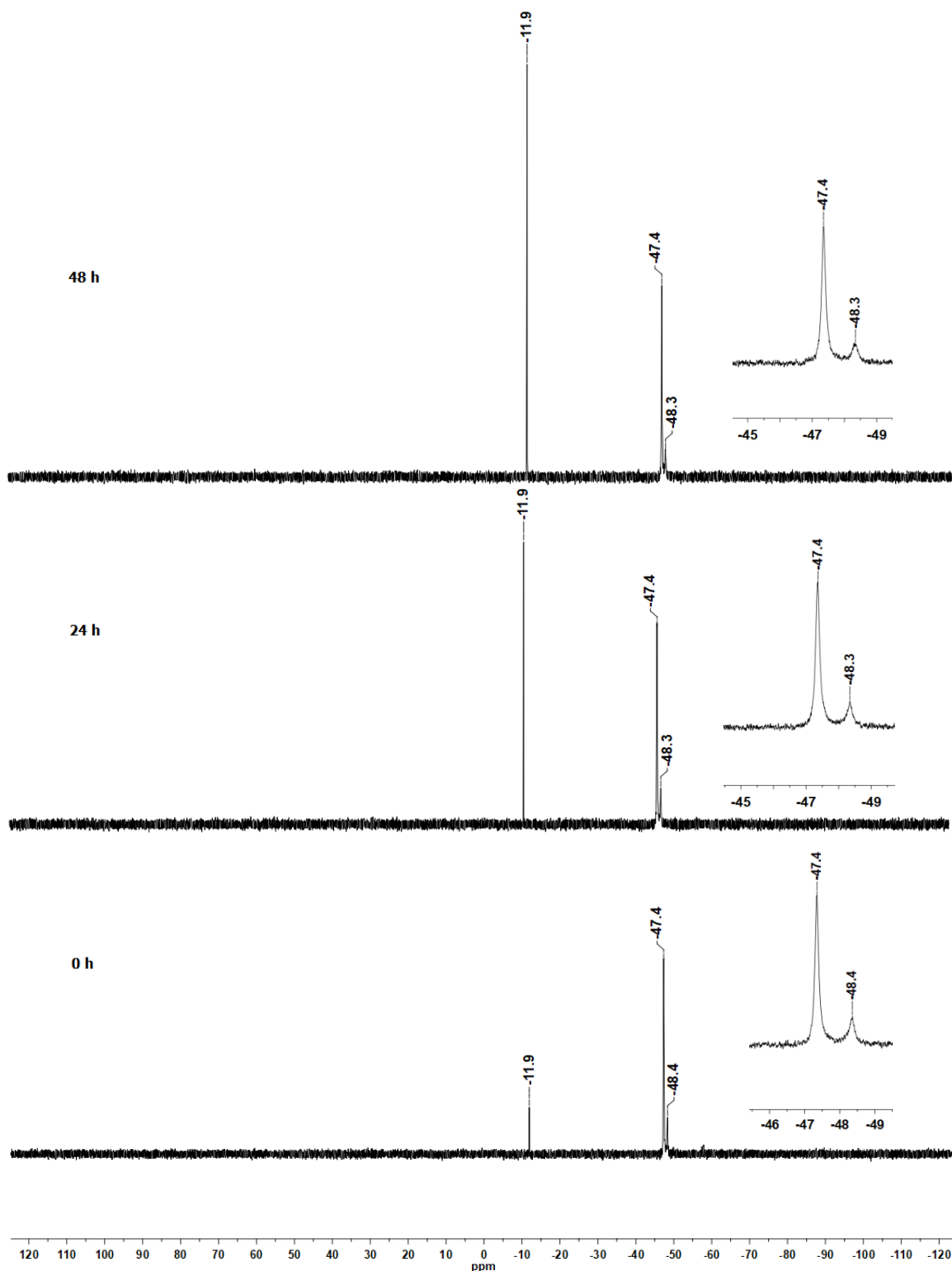


Figura A19: Ampliação da região aromática do ^{13}C - ^1H -HSQC do Pd-Cl-PTA.

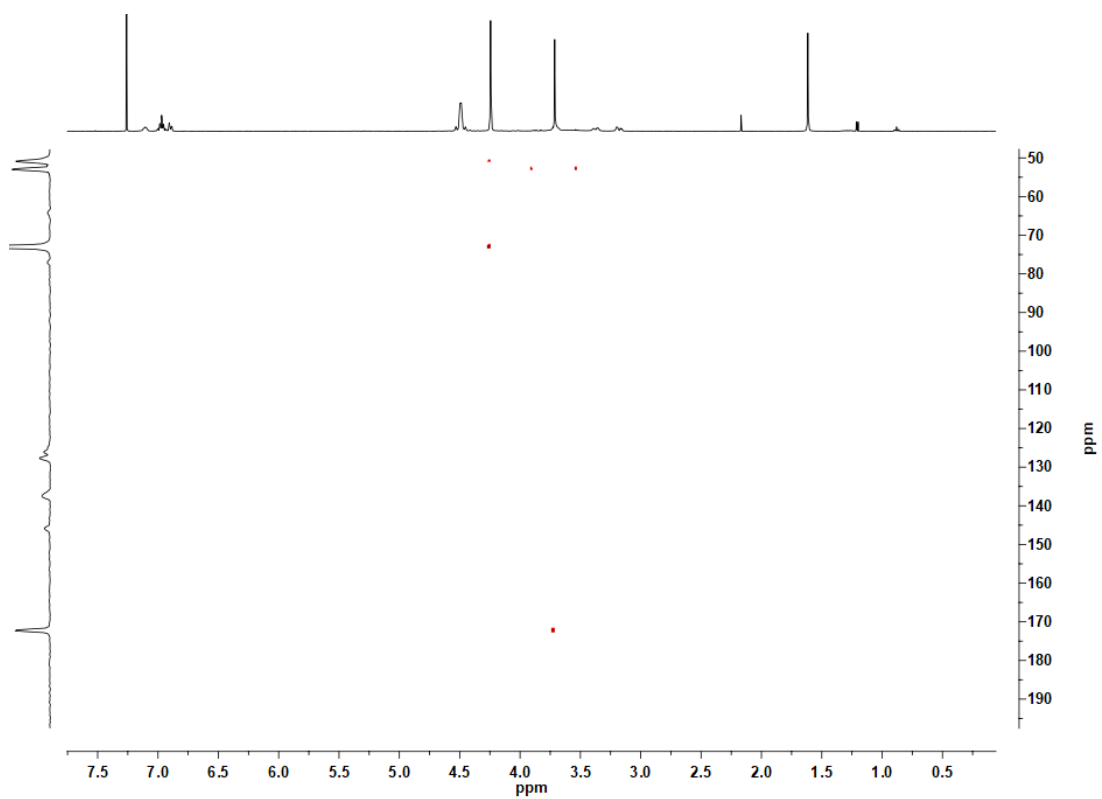
Quadro A2: Dados de RMN de ^1H , ^{13}C e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do Pd-Cl-PTA obtidos em CD_2Cl_2 .

Núcleo	δ e multiplicidade	Integração
H _a	7,2 ---	1
H _b	7,0 ---	1
H _c	7,0 ---	1
H _d	7,0 ---	1
H _e	3,4 <i>d</i>	1
H _{e'}	3,2 <i>d</i>	1
H _f	3,7 <i>s</i>	1
H _g	3,7 <i>s</i>	3
H _h	---	---
H _{n,p}	4,3 <i>s</i>	6
H _{n,n}	4,5 <i>s</i>	6
C _a	136,5	
C _b	127,6	
C _c	124,6	
C _d	125,9	
C _e	46,2	
C _f	49,8	
C _g	52,7	
C _i	---	
C _j	---	
C _k	---	
C _{n,p}	51,8	
C _{n,n}	73,1	
P	-47,5 <i>s</i>	

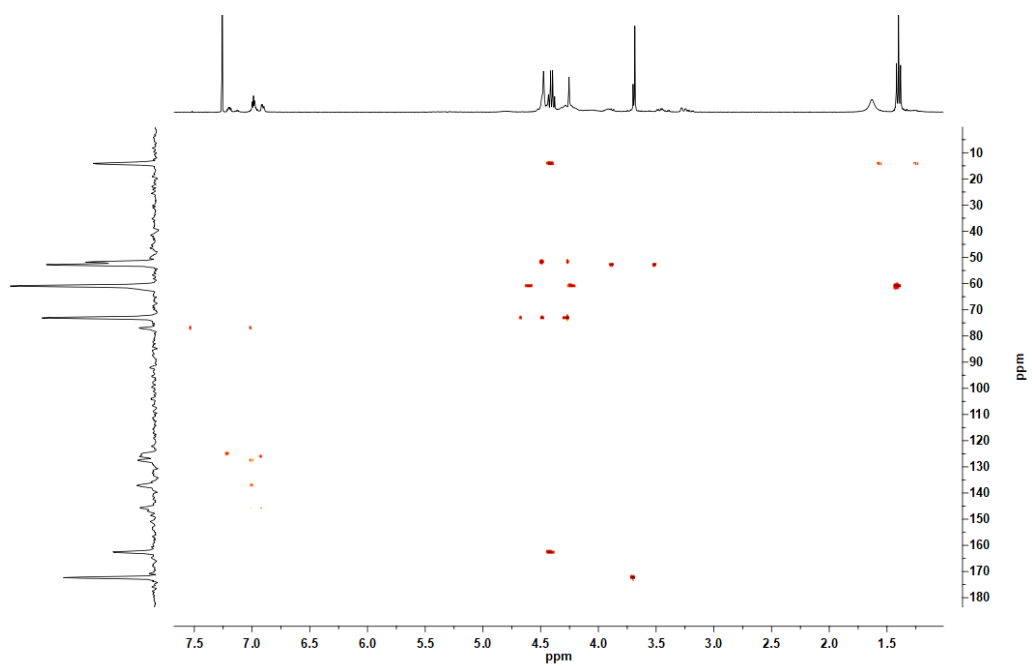
s = singleto, *d* = dubleto, --- = não determinado



A20: Experimentos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ feitos em DMSO- d_6 do Pd-Cl-PTA nos tempos 0, 24 e 48 h a fim de avaliar a estabilidade do complexo em solução. O pico da fosfina em -47,4 ppm se apresenta com um perfil próximo de um dubleto, como mostrado na ampliação. Por alguma razão desconhecida, é observado o aumento da intensidade do sinal referente ao óxido da fosfina em -11,9 ppm.



A21: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-N₃-PTA feito em CDCl_3 .



A22: Mapa de contorno ^{13}C - ^1H -HMBC do Pd-Tria-PTA feito em CDCl_3 .

❖ Dados cristalográficos do Pd-Br-PTA

Compound	Pd-Br-PTA
Formula	C ₃₅ H ₅₄ Br ₂ N ₈ O ₅ P ₂ Pd ₂
<i>D</i> _{calc.} / g cm ⁻³	1.712
<i>m</i> /mm ⁻¹	2.836
Formula Weight	1101.42
Colour	None None None
Shape	?
Size/mm ³	0.26×0.13×0.04
<i>T</i> /K	100(2)
Crystal System	monoclinic
Flack Parameter	-0.012(7)
Hoof Parameter	0.016(3)
Space Group	<i>P</i> 2 ₁
<i>a</i> /Å	11.3540(3)
<i>b</i> /Å	10.2488(2)
<i>c</i> /Å	18.7851(5)
<i>a</i> [°]	90
<i>b</i> [°]	102.165(3)
<i>g</i> [°]	90
<i>V</i> /Å ³	2136.84(10)
<i>Z</i>	2
<i>Z</i> '	1
Wavelength/Å	0.71073
Radiation type	MoK _α
<i>Q</i> _{min} [°]	2.564
<i>Q</i> _{max} [°]	28.698
Measured Refl.	31540
Independent	10937
Refl.	
Reflections with <i>I</i> > 2(<i>I</i>)	9922
<i>R</i> _{int}	0.0365
Parameters	491
Restraints	1
Largest Peak	0.845
Deepest Hole	-0.410
Goof	1.003
<i>wR</i> ₂ (all data)	0.0737
<i>wR</i> ₂	0.0716
<i>R</i> ₁ (all data)	0.0397
<i>R</i> ₁	0.0331

Table A1: Fractional Atomic Coordinates ($\times 10^4$) and Equivalent Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **Pd-Br-PTA**. U_{eq} is defined as 1/3 of the trace of the orthogonalised U_{ij} .

Atom	x	y	z	U_{eq}
Pd1A	-3942.8(3)	-5364.2(3)	-10400.8(2)	15.58(9)
Pd1	-4100.3(3)	-5132.8(3)	-5503.9(2)	13.96(9)
Br1A	-5905.9(5)	-4705.9(5)	-11245.7(3)	23.99(13)
Br1	-6137.7(5)	-4383.9(5)	-6219.0(3)	21.17(12)
P1A	-4819.5(11)	-5159.6(13)	-9455.4(6)	15.2(2)
P1	-4749.5(11)	-4957.9(11)	-4472.1(6)	14.0(2)
C1	-2401(4)	-5561(4)	-5011(3)	17.9(10)
N1	-3465(4)	-5371(4)	-6483(2)	17.1(8)
O2A	75(4)	-5574(4)	-11318(3)	38.6(10)
N3A	-6165(4)	-3483(4)	-8796(2)	18.0(9)
N1A	-3119(4)	-5585(4)	-11316(2)	21.5(9)
N4A	-6830(4)	-5771(4)	-8921(3)	24.4(10)
C4	64(5)	-6012(5)	-4473(3)	25.8(11)
O1	-1458(4)	-6212(4)	-6975(3)	35.1(10)
C1A	-2361(5)	-5888(5)	-9775(3)	20.7(10)
C6	-1529(4)	-4831(4)	-5266(3)	18.4(10)
C12A	-5438(5)	-3528(4)	-9362(3)	18.3(10)
C5	-303(4)	-5066(5)	-4991(3)	22.7(10)
N2	-4639(4)	-5096(4)	-2996(2)	19.5(8)
N2A	-5005(4)	-5166(5)	-8014(2)	23.2(9)
O2	-888(4)	-4159(4)	-7144(2)	29.5(9)
C6A	-1338(5)	-5275(5)	-9926(3)	24.6(10)
C11	-3896(5)	-5331(6)	-3543(3)	21.8(10)
O1A	-1333(4)	-7117(4)	-11627(3)	43.0(12)
C16A	-7174(5)	-4394(5)	-8962(3)	21.7(11)
C8A	-1920(5)	-4991(5)	-11277(3)	26.5(11)
C7	-1914(5)	-3811(5)	-5848(3)	20.2(10)
C16	-6937(5)	-4281(5)	-3773(3)	21.7(11)
C2	-2011(5)	-6527(5)	-4498(3)	18.9(10)
C13A	-6210(5)	-6132(5)	-9502(3)	23.6(11)
C5A	-193(5)	-5635(6)	-9547(3)	35.7(15)
C3A	-1044(5)	-7227(6)	-8882(3)	31.4(13)
C2A	-2190(5)	-6875(5)	-9254(3)	22.6(11)
C9	-1577(5)	-5078(5)	-6919(3)	23.7(11)
N4	-6585(4)	-5659(4)	-3794(2)	20.2(9)
C9A	-1055(5)	-6025(6)	-11431(3)	28.9(12)
C11A	-4142(5)	-5452(6)	-8484(3)	26.7(12)
C8	-2534(4)	-4417(5)	-6579(3)	19.8(10)
N3	-5926(4)	-3365(4)	-3661(2)	19.4(9)
C3	-801(5)	-6758(5)	-4232(3)	24.8(11)
C12	-5341(5)	-3343(4)	-4294(3)	18.7(10)
C10A	984(6)	-6508(8)	-11439(5)	54(2)
C13	-6106(5)	-5938(5)	-4447(3)	18.6(10)
C7A	-1460(5)	-4310(5)	-10543(3)	30.0(13)
C14	-5052(5)	-3736(5)	-3004(3)	21.2(11)
C10	116(6)	-4632(7)	-7439(4)	46.4(18)
C14A	-5425(5)	-3810(5)	-8081(3)	22.7(11)
C15	-5702(5)	-5966(5)	-3132(3)	22.2(11)
C15A	-6082(5)	-6032(5)	-8210(3)	26.5(12)
C4A	-43(6)	-6588(7)	-9018(4)	39.9(16)
O3	-1907(4)	-2782(4)	-2670(3)	43.7(11)
C18	-1296(6)	-2956(5)	-3125(3)	31.6(13)
C17	-1605(7)	-2300(7)	-3852(3)	40.6(16)
C19	-244(7)	-3846(6)	-2989(4)	42.6(16)

Table A2: Anisotropic Displacement Parameters ($\times 10^4$) **Pd-Br-PTA**. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2p^2[h^2a^{*2} \times U_{11} + \dots + 2hka^* \times b^* \times U_{12}$

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
Pd1A	18.37(19)	17.3(2)	12.24(17)	-0.18(14)	5.91(14)	-0.18(14)
Pd1	16.04(17)	15.7(2)	10.72(16)	-0.18(13)	4.07(13)	-0.14(14)
Br1A	24.6(3)	36.1(3)	11.7(2)	1.7(2)	4.5(2)	6.0(2)
Br1	20.7(3)	29.4(3)	13.6(2)	2.5(2)	3.73(19)	3.7(2)
P1A	18.2(6)	17.7(6)	10.1(5)	0.8(5)	4.2(4)	0.6(5)
P1	17.0(6)	14.5(6)	11.2(5)	-0.1(4)	4.2(4)	-1.0(4)
C1	17(2)	21(2)	15(2)	-7.5(18)	4.9(19)	0.3(18)
N1	20(2)	19(2)	12.4(18)	-3.1(17)	3.2(15)	-0.3(17)
O2A	26(2)	45(3)	49(3)	-7(2)	17(2)	-6.5(18)
N3A	20(2)	19.5(19)	15(2)	-1.8(16)	7.0(18)	2.5(16)
N1A	24(2)	23(2)	19(2)	0.3(17)	9.4(18)	1.1(17)
N4A	28(3)	25(2)	23(2)	-0.1(18)	13(2)	-5.2(19)
C4	19(3)	28(3)	29(3)	-2(2)	2(2)	4(2)
O1	41(3)	27(2)	44(3)	-3.9(18)	25(2)	2.2(18)
C1A	21(3)	20(2)	21(3)	-9(2)	4(2)	-4(2)
C6	21(2)	17(2)	17(2)	-3.5(18)	3.8(19)	0.6(18)
C12A	24(3)	15(2)	18(2)	0.8(17)	7(2)	0.6(19)
C5	20(2)	24(2)	25(2)	-1(2)	8(2)	0(2)
N2	21(2)	24(2)	13.6(18)	-1.3(17)	4.6(16)	-1.7(18)
N2A	26(2)	32(2)	11.8(18)	0.8(19)	4.7(16)	7(2)
O2	32(2)	29.1(19)	33(2)	0.0(17)	20.5(19)	-0.1(17)
C6A	21(2)	28(3)	27(3)	-8(2)	8(2)	-4(2)
C11	26(3)	27(2)	13(2)	-2(2)	4.1(19)	0(2)
O1A	30(3)	39(2)	67(3)	-13(2)	25(2)	-3.9(19)
C16A	16(3)	30(3)	20(3)	-2(2)	4(2)	0(2)
C8A	31(3)	27(3)	25(3)	1(2)	14(2)	-5(2)
C7	24(3)	18(2)	19(3)	-2.0(19)	7(2)	-1.9(19)
C16	21(3)	26(3)	20(3)	1(2)	6(2)	3(2)
C2	21(3)	18(2)	18(3)	-1.8(18)	3(2)	2.1(19)
C13A	32(3)	22(2)	20(3)	-1(2)	10(2)	-6(2)
C5A	21(3)	52(4)	34(3)	-16(3)	6(3)	-6(3)
C3A	32(3)	33(3)	25(3)	-7(2)	-3(3)	11(2)
C2A	29(3)	21(2)	18(3)	-5.1(19)	4(2)	3(2)
C9	28(3)	29(3)	16(2)	-1(2)	11(2)	-2(2)
N4	22(2)	25(2)	16(2)	-2.6(16)	9.3(18)	-6.7(17)
C9A	22(3)	36(3)	32(3)	-2(2)	14(2)	-5(2)
C11A	26(3)	40(3)	14(2)	4(2)	3(2)	11(2)
C8	21(3)	19(2)	21(2)	-0.9(19)	8(2)	3(2)
N3	28(3)	16.4(19)	17(2)	-1.3(16)	11.2(19)	-1.2(17)
C3	28(3)	23(2)	24(3)	1(2)	6(2)	4(2)
C12	25(3)	15(2)	19(2)	4.3(18)	10(2)	3.0(19)
C10A	29(4)	60(4)	81(6)	-9(4)	30(4)	-4(3)
C13	23(3)	20(2)	15(2)	-2.1(19)	8(2)	-5(2)
C7A	31(3)	27(3)	37(3)	-8(2)	18(3)	-12(2)
C14	30(3)	20(2)	15(2)	-4.7(19)	8(2)	-4(2)
C10	52(4)	46(4)	55(4)	-4(3)	41(4)	1(3)
C14A	26(3)	31(3)	12(2)	-3(2)	6(2)	0(2)
C15	33(3)	21(2)	15(2)	6(2)	10(2)	-3(2)
C15A	39(3)	22(2)	21(3)	6(2)	14(3)	1(2)
C4A	23(3)	55(4)	38(4)	-19(3)	-1(3)	9(3)
O3	52(3)	49(3)	35(3)	-3(2)	20(2)	-8(2)
C18	40(4)	29(3)	28(3)	-8(2)	11(3)	-13(2)
C17	53(4)	45(4)	26(3)	-3(3)	11(3)	1(3)
C19	58(5)	33(3)	37(4)	-4(3)	10(3)	-6(3)

Table A3: Bond Lengths in Å for Pd-Br-PTA.

Atom	Atom	Length/Å	Atom	Atom	Length/Å
Pd1A	C1A	2.001(6)	C6	C5	1.400(7)
Pd1A	N1A	2.135(4)	C6	C7	1.509(7)
Pd1A	P1A	2.2212(11)	N2	C14	1.470(7)
Pd1A	Br1A	2.5399(7)	N2	C15	1.479(7)
Pd1	C1	2.005(5)	N2	C11	1.479(6)
Pd1	N1	2.127(4)	N2A	C14A	1.466(7)
Pd1	P1	2.2213(11)	N2A	C11A	1.480(6)
Pd1	Br1	2.5367(6)	N2A	C15A	1.493(7)
P1A	C12A	1.837(5)	O2	C9	1.347(6)
P1A	C11A	1.849(5)	O2	C10	1.452(6)
P1A	C13A	1.854(5)	C6A	C5A	1.394(8)
P1	C12	1.843(5)	C6A	C7A	1.508(8)
P1	C13	1.848(5)	O1A	C9A	1.200(7)
P1	C11	1.849(5)	C8A	C9A	1.514(8)
C1	C2	1.387(7)	C8A	C7A	1.536(8)
C1	C6	1.403(7)	C7	C8	1.537(7)
N1	C8	1.479(6)	C16	N3	1.462(7)
O2A	C9A	1.338(7)	C16	N4	1.471(7)
O2A	C10A	1.460(8)	C2	C3	1.381(8)
N3A	C16A	1.460(7)	C5A	C4A	1.378(10)
N3A	C14A	1.465(7)	C3A	C4A	1.381(9)
N3A	C12A	1.478(6)	C3A	C2A	1.389(8)
N1A	C8A	1.479(7)	C9	C8	1.530(6)
N4A	C15A	1.447(7)	N4	C15	1.457(7)
N4A	C16A	1.462(7)	N4	C13	1.471(6)
N4A	C13A	1.466(6)	N3	C14	1.462(7)
C4	C5	1.375(7)	N3	C12	1.481(6)
C4	C3	1.393(8)	O3	C18	1.222(6)
O1	C9	1.178(7)	C18	C19	1.482(9)
C1A	C2A	1.393(7)	C18	C17	1.497(9)
C1A	C6A	1.400(7)			

Table A4: Bond Angles in ° for Pd-Br-PTA.

Atom	Atom	Atom	Angle/°
C1A	Pd1A	N1A	87.29(19)
C1A	Pd1A	P1A	93.08(14)
N1A	Pd1A	P1A	179.11(13)
C1A	Pd1A	Br1A	177.35(14)
N1A	Pd1A	Br1A	90.06(13)
P1A	Pd1A	Br1A	89.57(4)
C1	Pd1	N1	84.60(17)
C1	Pd1	P1	94.49(13)
N1	Pd1	P1	177.97(12)
C1	Pd1	Br1	172.85(14)
N1	Pd1	Br1	90.83(11)
P1	Pd1	Br1	90.25(4)
C12A	P1A	C11A	98.1(2)
C12A	P1A	C13A	98.9(2)
C11A	P1A	C13A	97.6(3)
C12A	P1A	Pd1A	114.01(16)
C11A	P1A	Pd1A	127.61(17)
C13A	P1A	Pd1A	115.59(17)
C12	P1	C13	98.4(2)
C12	P1	C11	98.8(2)
C13	P1	C11	97.9(2)
C12	P1	Pd1	115.53(15)
C13	P1	Pd1	114.19(16)
C11	P1	Pd1	127.07(16)
C2	C1	C6	118.2(5)
C2	C1	Pd1	127.7(4)
C6	C1	Pd1	113.9(4)
C8	N1	Pd1	114.3(3)
C9A	O2A	C10A	115.7(5)
C16A	N3A	C14A	108.8(4)
C16A	N3A	C12A	111.0(4)
C14A	N3A	C12A	110.7(4)
C8A	N1A	Pd1A	118.2(3)
C15A	N4A	C16A	109.0(4)
C15A	N4A	C13A	111.1(4)
C16A	N4A	C13A	111.6(4)
C5	C4	C3	119.2(5)
C2A	C1A	C6A	117.9(5)
C2A	C1A	Pd1A	125.6(4)
C6A	C1A	Pd1A	116.2(4)
C5	C6	C1	120.0(5)
C5	C6	C7	120.0(4)
C1	C6	C7	119.9(5)
N3A	C12A	P1A	112.3(3)
C4	C5	C6	120.8(5)
C14	N2	C15	108.8(4)
C14	N2	C11	112.0(4)
C15	N2	C11	110.2(4)
C14A	N2A	C11A	112.4(4)
C14A	N2A	C15A	107.9(4)
C11A	N2A	C15A	110.2(4)
C9	O2	C10	116.2(4)
C5A	C6A	C1A	120.2(5)
C5A	C6A	C7A	119.4(5)
C1A	C6A	C7A	120.2(5)
N2	C11	P1	111.1(3)
N3A	C16A	N4A	114.7(4)
N1A	C8A	C9A	109.3(4)

Atom	Atom	Atom	Angle/°
N1A	C8A	C7A	111.5(4)
C9A	C8A	C7A	112.2(5)
C6	C7	C8	112.1(4)
N3	C16	N4	114.3(4)
C3	C2	C1	121.4(5)
N4A	C13A	P1A	111.5(4)
C4A	C5A	C6A	121.1(6)
C4A	C3A	C2A	120.3(6)
C3A	C2A	C1A	121.3(5)
O1	C9	O2	125.2(5)
O1	C9	C8	125.4(5)
O2	C9	C8	109.4(4)
C15	N4	C16	109.0(4)
C15	N4	C13	111.1(4)
C16	N4	C13	111.0(4)
O1A	C9A	O2A	123.5(5)
O1A	C9A	C8A	124.9(5)
O2A	C9A	C8A	111.6(5)
N2A	C11A	P1A	111.5(3)
N1	C8	C9	110.3(4)
N1	C8	C7	111.2(4)
C9	C8	C7	108.7(4)
C14	N3	C16	109.2(4)
C14	N3	C12	110.0(4)
C16	N3	C12	111.4(4)
C2	C3	C4	120.3(5)
N3	C12	P1	112.0(3)
N4	C13	P1	111.9(3)
C6A	C7A	C8A	110.6(4)
N3	C14	N2	114.4(4)
N3A	C14A	N2A	114.1(4)
N4	C15	N2	114.0(4)
N4A	C15A	N2A	114.1(4)
C5A	C4A	C3A	119.2(6)
O3	C18	C19	121.7(6)
O3	C18	C17	121.0(6)
C19	C18	C17	117.3(5)

Table A5: Hydrogen Fractional Atomic Coordinates ($\times 10^4$) and Equivalent Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **Pd-Br-PTA**. U_{eq} is defined as 1/3 of the trace of the orthogonalised U_{ij} .

Atom	x	y	z	U_{eq}
H1A	-3156.41	-6189.44	-6490.23	21
H1B	-4101.09	-5303.19	-6867.52	21
H1AA	-3053.97	-6454.64	-11397.7	26
H1AB	-3630.05	-5247.29	-11711.47	26
H4	897.16	-6155.13	-4281.08	31
H12A	-4766.87	-2895.38	-9237.37	22
H12B	-5946.86	-3261.54	-9834.79	22
H5	282.64	-4565.47	-5164.37	27
H11C	-3635.33	-6254.35	-3518.67	26
H11D	-3165.4	-4777.22	-3429.79	26
H16A	-7640.33	-4209.56	-9459.44	26
H16B	-7711.87	-4235.02	-8619.36	26
H8A	-2002.07	-4315.56	-11668.81	32
H7A	-1198.48	-3313.01	-5914.42	24
H7B	-2475.66	-3193.47	-5686.65	24
H16C	-7495.25	-4062.92	-4237.81	26
H16D	-7379.65	-4163.19	-3377	26
H2	-2590.21	-7040.01	-4326.4	23
H13A	-6758.56	-5990.9	-9980.69	28
H13B	-6001	-7070.89	-9460.71	28
H5A	494.7	-5215.66	-9654.61	43
H3A	-947.62	-7910.32	-8532.81	38
H2A	-2870.9	-7315.21	-9150.28	27
H11A	-3882.18	-6374.22	-8417.59	32
H11B	-3420.15	-4894.38	-8336.53	32
H8	-2925.13	-3706	-6911.32	24
H3	-556.29	-7429.58	-3883.73	30
H12C	-4671.62	-2704.23	-4203.09	22
H12D	-5932.88	-3052.68	-4730.95	22
H10A	783.51	-6815.26	-11944.21	81
H10B	1002.52	-7251.82	-11108.67	81
H10C	1775.71	-6085.43	-11345.03	81
H13C	-6734.25	-5747.78	-4886.86	22
H13D	-5903.16	-6876.51	-4455.29	22
H7AA	-667.88	-3903.92	-10539.24	36
H7AB	-2029.11	-3611.3	-10476.76	36
H14C	-5417.5	-3592.76	-2576.24	25
H14D	-4343.09	-3153.31	-2952.18	25
H10D	-175.34	-5273.56	-7822.04	70
H10E	712.77	-5041.83	-7049.81	70
H10F	489.72	-3898.83	-7643.47	70
H14A	-5899.96	-3640.61	-7705.07	27
H14B	-4715.92	-3224.33	-7981.74	27
H15C	-5426.23	-6875.95	-3164.14	27
H15D	-6099.37	-5912.42	-2711.99	27
H15A	-5806.7	-6949.77	-8195.75	32
H15B	-6577.01	-5930.5	-7838.48	32
H4A	739.19	-6802.99	-8749.91	48
H17A	-1941.94	-2942.67	-4225.95	61
H17B	-876.51	-1915.49	-3966.02	61
H17C	-2200.3	-1611.52	-3840.51	61
H19A	489.59	-3348.05	-2999.13	64
H19B	-354.81	-4520.11	-3367.35	64
H19C	-169.73	-4258.54	-2511.05	64

Table A6: Hydrogen Bond information for **Pd-Br-PTA**.

D	H	A	d(D-H)/Å	d(H-A)/Å	d(D-A)/Å	D-H-A/deg
N1	H1B	N2A	0.91	2.19	3.042(6)	156.3
N1	H1A	N3 ¹	0.91	2.50	3.169(6)	130.4
N1A	H1AA	N3A ²	0.91	2.32	3.098(6)	143.5
N1A	H1AB	N2 ³	0.91	2.45	3.302(6)	156.2

¹-1-x,-1/2+y,-1-z; ²-1-x,-1/2+y,-2-z; ³+x,+y,-1+z

❖ Gráficos obtidos a partir da equação modificada de Stern-Volmer

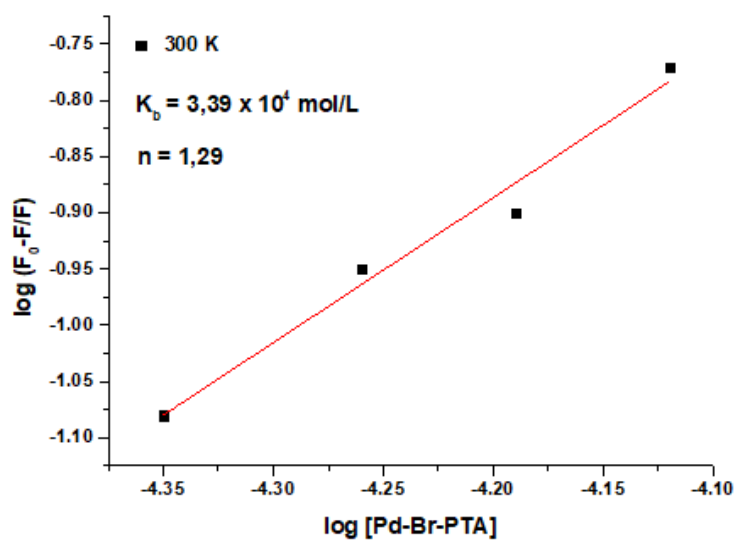


Figura A23: Gráfico obtido a partir da equação de Stern-Volmer modificada, na temperatura de 27°C (300 K).

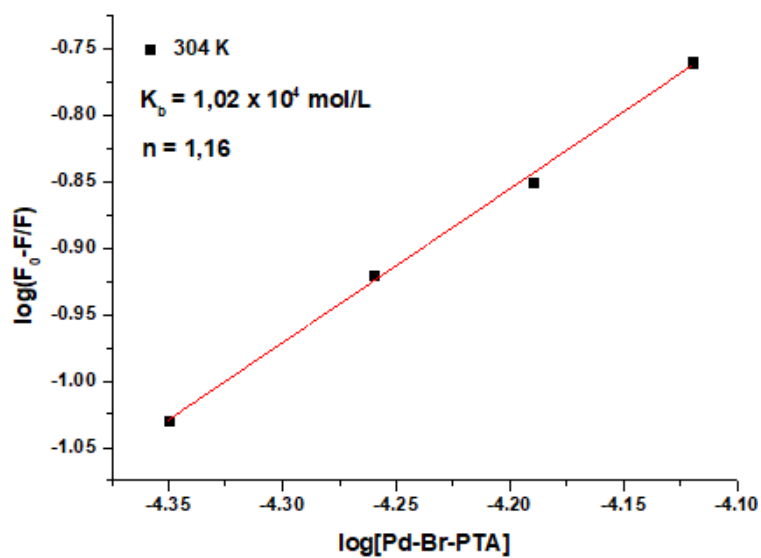


Figura A24: Gráfico obtido a partir da equação de Stern-Volmer modificada, na temperatura de 31°C (304 K).

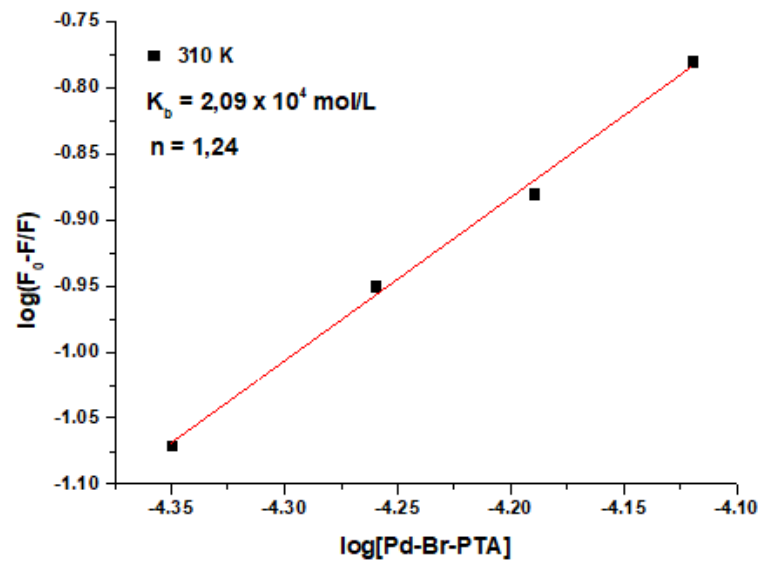


Figura A25: Gráfico obtido a partir da equação de Stern-Volmer modificada, na temperatura de 37°C (310 K).