



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE QUÍMICA – ARARAQUARA



Thales Reggiani de Moura

**Compostos de Pd(II) contendo ligantes
N,S-doadores: síntese, caracterização e estudo
da atividade citotóxica**



Araraquara

2016

Thales Reggiani de Moura

**Compostos de Pd(II) contendo ligantes
N,S-doadores: síntese, caracterização e
estudo da atividade citotóxica**

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

Prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Neto (*Orientador*)

Prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha (*Coorientador*)

Araraquara

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

M929c Moura, Thales Reggiani de
Compostos de Pd(II) contendo ligantes N,S-doadores:
síntese, caracterização e estudo da atividade citotóxica /
Thales Reggiani de Moura – Araraquara : [s.n], 2016
88 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto

Coorientador: Fillipe Vieira Rocha

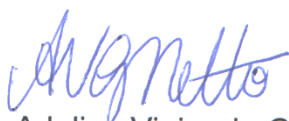
1. Paládio. 2. Compostos de fósforo. 3. Quelatos.
4. Adenocarcinoma. 5. Compostos de coordenação. I. Título.

THALES REGGIANI DE MOURA

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

Araraquara, 09 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA



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



Dr.ª. Carolina Valério Barra
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon
Instituto de Química – USP, São Carlos

DADOS CURRICULARES

DADOS PESSOAIS

Nome: Thales Reggiani de Moura

Data de Nascimento: 29 de Outubro de 1989

Naturalidade: São José do Rio Preto – SP

Nacionalidade: Brasileira

Filiação

Pai – Antonio Carlos de Moura

Mãe – Elaine Aparecida Reggiani de Moura

Endereço para Correspondência:

Av. Mario Ybarra de Almeida, 1812

Bairro: Vila Bela Vista – CEP: 14800-436

Araraquara – SP

e-mail: thales4014@gmail.com

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2009-2013 Bacharelado em Química.
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara.
Título: Compostos de paládio (II) contendo tiocarbamoilpirazolinas: síntese, caracterização e investigação da atividade biológica..
Orientador: Adelino Vieira de Godoy Netto.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.

PUBLICAÇÕES

1. BARRA, C. V.; TREU FILHO, O.; ROCHA, F. V.; MOURA, R. T.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; PINHEIRO, J. C.; KONDO, R. T. Experimental and DFT study on the compounds $[PdCl_2L_2]$ (L = 4-methylpyrazole, 4-iodopyrazole). **Acta Chim. Slov.**, v. 62, 2015.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

1. MOURA, T. R.; ROCHA, F. V.; BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G.; MAURO, A. E.; FREM, R. C. G.; MANENTE, F. A.; CARLOS, I. Z. "Structure, cytotoxic activity and DNA binding of novel thiocarbamoylpyrazoles Pd(II) complexes: the structure activity relationship between pyrazoles compounds". **International Conference on Medicinal Chemistry – RICT 2015**, Avignon – França, de 1º a 3 de julho de 2015.
2. MOURA, T. R.; ROCHA, F. V.; BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G.; MANENTE, F. A.; CARLOS, I. Z. "Novos complexos de Pd(II) contendo trifenilfosfina e derivado de tiocarbamoilpirazol: síntese, caracterização e atividade biológica". **38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia - SP, 25 a 28 de maio de 2015.

3. MOURA, T. R.; ROCHA, F. V.; BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. “Síntese de novos complexos de paládio(II) contendo tiocarbamoil pirazolinas”. **XXV CIC - Congresso de Iniciação Científica da UNESP**, Barra Bonita – SP, 10 a 12 de novembro de 2013.

BOLSAS

Bolsa de Mestrado (MS) concedida pelo CNPq de março de 2014 à fevereiro de 2016

Bolsa de iniciação científica sob o tema “Complexos de paládio(II) contendo tiocarbamoilpirazóis: síntese, caracterização e investigação da atividade biológica”, concedida pela FAPESP entre fevereiro de 2013 à Julho de 2013.

Bolsa de iniciação científica sob o tema “Compostos de paládio(II) contendo ligantes sulfurados: síntese, caracterização e investigação da atividade biológica” concedida pelo CNPq entre agosto de 2012 à dezembro de 2012.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR:

Minicurso intitulado "Química Medicinal", realizado na 43ª Semana da Química do IQ-UNESP/Araraquara, 2013. Duração: 12h

Minicurso intitulado "Compostos polifenólicos naturais e sintéticos: Da indústria alimentar à farmacêutica", realizado na 38ª RASBQ, Águas de Lindóia, SP, 2015. Duração: 6h

Minicurso intitulado "Química na elucidação de crimes", realizado na 41ª Semana da Química do IQ-UNESP/Araraquara, 2011. Duração: 28h

Minicurso intitulado "Química Verde", realizado na 40ª Semana da Química do IQ-UNESP/Araraquara, 2010. Duração: 20h

Minicurso intitulado "Química Farmacêutica: Pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos orgânicos e inorgânicos", realizado na 39ª Semana da Química do IQ-UNESP/Araraquara, 2009. Duração: 20h

Agradecimentos

À Karine, pelos cafés, cervejas, carinho, sinceridade, paciência e personalidade única.

Ao prof. Dr. Adelino Vieira de Godoy Netto e prof. Dr. pai Fillipe Vieira Rocha pela orientação e apoio prestado para o desenvolvimento da pesquisa e pela amizade.

Aos amigos de laboratório, principalmente ao Rafael, Jéssica e Rodrigo, pelos momentos de descontração, infravermelhos, “bagunça” seguida de botar ordem no lab, sinceridade e sínteses, sínteses e sínteses. “Obrigado, vcs”.

À professora Regina Célia Galvão Frem pelas aulas, conversas, dicas, momentos culinários e confraternizações.

Ao Grupo de Química de Coordenação e Organometálicos, Carol, Gabi, Nathália, Gibbs, Jader, Elaine, Marcelo, Ronan, Gis, Renata, além da “velha guarda”, Daniel, Rodrigo, Caio, Sahra entre outros.

Ao Dr.s Nivaldo Boralle e Lucinéia, ajudas e dicas na obtenção de espectros de RMN, além das sugestões do Nivaldo no Exame de Qualificação.

Ao prof. Dr. Sergio Leite pela ótima convivência e sugestões no Exame de Qualificação.

Ao prof. Dr. Victor Deflon pela resolução das estruturas moleculares por difração de raios X de monocristal

Aos funcionários do Departamento de Química Geral e Inorgânica,

À prof. Dr. Iracilda Zeppone Carlos e doutoranda Francine Alessandra Manente pela ajuda nos ensaios de citotoxicidade.

À Dr. Bianca Ferreira pela ajuda nos experimentos de espectrometria de massas.

Às funcionárias da biblioteca pela

Aos amigos de infância de SJRP, Lucas, Rodrigo, Cesar, Bigols, Saboga, Faria, Bolacha...

Aos amigos da Pepperstation, Alex, Vini, Seiti, Xinto, Matheuzão e Guisnow pelos momentos de “Standing in line to see the show tonight, and there's a light on...” entre outras do setlist.

À família Sathiko-Seiti, pelo apoio, carinho e amizade.

Aos integrantes da rep, Ovídio, Irã e Teddy, pelo apoio e ótima convivência... o último apenas pela convivência.

Aos professores e funcionarios do DQGI, sobretudo aos professores Mauro, Vânia e Clayston pela conversa e ótima convivência. E ao Marisco pelos momentos de descontração.

A minha família pelo apoio dado, incluindo Whisky e a Sara.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado (...e aos que estou esquecendo!!!)

*"We sail
Through endless skies
Stars shine like eyes
The black night sighs*

*The moon
In silver trees
Falls down in tears
Light of the night*

*The earth
A purple blaze
Of sapphire haze
In orbit always*

*While down
Below the trees
Bathed in a coll breeze
Silver starlight, breaks down the night*

*And so
We pass on by
The crimson eye
Of great God Mars*

*As we travel
The universe"*

**"Planet Caravan"
Black Sabbath, 1970**

*"E para que serve a utopia?
Eu dou um passo, o teatro dá dois passos.
Eu dou dois passos, o teatro dá quatro passos.
A utopia serve para isso: continuar caminhando"*

Antônio Abujamra (*in memoriam*)

RESUMO

Nos últimos anos, o interesse na obtenção de novos fármacos à base de metais visando o tratamento de cânceres vem aumentando consideravelmente. A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina e seu subsequente sucesso como fármaco no tratamento do câncer inspirou o estudo de inúmeros complexos análogos, que apresentaram, em geral, padrões similares de atividade antitumoral e susceptibilidade à resistência. Por apresentarem mesmas configuração eletrônica e geometria em relação à compostos de Pt(II), compostos de coordenação contendo o íon Pd(II) foram amplamente estudados, sendo reconhecido para os compostos de Pd(II) contendo ligantes N,S-doadores, modos de ação distintos em relação ao compostos de Pt(II).

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados 4 novos complexos de paládio(II) do tipo $[PdX(tedmPz')(PPh_3)]$ {tedmPz' = N-etil-1-iminotiolato-3,5-dimetilpirazol; X = Cl⁻, Br⁻, I⁻, SCN⁻; PPh₃ = trifenilfosfina}. Os complexos foram caracterizados pelas técnicas de espectroscopia vibracional na região do IV e RMN de ¹H e ¹³C, análise elementar, espectrometria de massas ESI/MS e difração de raios X de monocristal, indicando um ambiente quadrático plano ao redor do metal, com seus sítios de coordenação ocupados pela trifenilfosfina, e pelo ligante tedmPz coordenado de maneira N,S-aniónica e ligante tiocianato ligado de modo N-terminal. Também é descrita a síntese e caracterização espectroscópica na região do IV e RMN de ¹H e ¹³C do ligante tedmPz.

A citotoxicidade *in vitro* do ligante e de todos os complexos foi avaliada pelo método do MTT, frente as culturas celulares de tumores murinos MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano). Todos os compostos tiveram sua capacidade de interação com um nucleosídeo (guanosina) investigada com o objetivo de avaliar sua possível interação covalente com o DNA. Os resultados obtidos indicaram que a variação dos ligantes haletos não interferiu na citotoxicidade dos complexos, bem como os compostos sintetizados não apresentaram capacidade de interagir com a guanosina, sendo esta uma evidência preliminar de que a interação covalente entre os compostos sintetizados e a guanina presente no DNA não é o mecanismo de citotoxicidade destes. Vale destacar que todos os compostos foram mais citotóxicos que a cisplatina, obtendo-se em média valores de IC₅₀ de até 2,4 vezes menor que o fármaco de comparação.

Palavras-chave: paládio(II), atividade antitumoral, tiocarbamoilpirazóis, trifenilfosfina.

ABSTRACT

In the last years, the interest of new drugs based on metals in order to treat cancers has been increasing considerably. The discovery of cisplatin antitumor activity and its subsequent success as a cancer treatment drug has inspired the study of several analogous compounds, which presented, in general, similar patterns of antitumor activity and susceptibility to resistance. By presenting the same electronic configuration and geometry of Pt(II) complexes, coordination complex containing Pd (II) ion have been extensively studied, and recognized different activity patterns for these compounds containing ligands N,S-donor in relation to compounds of Pt (II).

In this work, were synthesized and characterized four novel complexes of palladium(II) type $[PdX(tedmPz')(PPh_3)]$ {tedmPz' = N-ethyl-1-iminothiolate-3,5-dimethylpyrazole; X = Cl⁻, Br⁻, I⁻, SCN⁻; PPh₃ = triphenylphosphine}. The complexes were characterized by vibrational spectroscopy techniques in the IV region and ¹H NMR and ¹³C NMR, elemental analysis, mass spectrometry ESI / MS and X-ray diffraction of single crystal, indicating a square planar environment around the metal with its sites coordination occupied by triphenylphosphine, the N,S-anionic coordination of tedmPz ligand, the N-terminal coordination mode of thiocyanate. It is also described the synthesis and spectroscopic characterization in the IV region and ¹H NMR and ¹³C for the tedmPz compound.

The *in vitro* cytotoxicity of the ligand and all of the complexes were evaluated by the MTT method, against the cell cultures of murine tumors MCF-7 (human breast adenocarcinoma). All compounds had their ability to interact with a nucleoside (guanosine) investigated with the objective of evaluating their possible covalent interaction with DNA. The results indicated that the variation of halide ligands did not affect the cytotoxicity of the complexes and the synthesized compounds showed no ability to interact with guanosine, which is a preliminary evidence that covalent interaction between the synthesized compounds and the DNA is not the main source of cytotoxicity of these. It is noteworthy that all the compounds were more cytotoxic than cisplatin, obtaining an average of IC₅₀ values of up to 2.4 times lower than the comparison drug.

Keywords: palladium(II), antitumoral activity, thiocarbamoylpyrazoles, triphenylphosphine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Dados globais referente ao cancer, no ano de 2012. Verifica-se nele a taxa de incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) referente a diversos tipos de cancer a cada 100.000	16
Figura 2 – Dados globais referente ao cancer, no ano de 2012. Verifica-se nele a taxa de incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) separado por regiões globais por 100.000 Pessoas	17
Figura 3 – Estágios de formação de um câncer: transformação de uma célula normal (acima) em cancerosa e estágios de progressão	19
Figura 4 – Algumas estruturas dos fármacos e possível fármaco (BBR 3464) de platina(II)	20
Figura 5 – Coordenação da(s) guanina(s) a platina(II) via N ⁷ e formação de ligação hidrogênio entre os grupos NH ₃ da cisplatina	22
Figura 6 – Formação de aduto entre a cisplatina e o DNA de modo 1,2-intrafito, indicando a posição N ⁷ da guanina mais desimpedida que outros nitrogênios	22
Figura 7 – Etapas de dissociação de um ligante quelante em uma reação de aquação	25
Figura 8 – Estrutura de um dos complexos contendo ligantes N,S-doadores estudado por Das e Livingstone	26
Figura 9 – Fórmula estrutural geral das tiossemicarbazonas e tiocarbamoilpirazóis	28
Figura 10 – Modos de coordenação de ligantes 1-(N-substituído)tiocarbamoilpirazóis	28
Figura 11 – Compostos [CoL ₃] e [NiL ₂], sendo L = 3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol	29
Figura 12 – Fórmula estrutural geral dos compostos de Pd(II) contendo o ligante 1-N-substituído tiocarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolina	30
Figura 13 – Fórmulas estruturais dos complexos [Pd(L ¹) ₂] (L ¹ = 5-fenil-3-oxo-2-tiocarbamoil-pirazonato); [Pd(L ²) ₂] (L ² = 4-etil-5-metil-3-oxo-2-tiocarbamoilpirazonato)	30
Figura 14 – Síntese dos complexos [PdX ₂ (tmdmPz)] {X = Cl (1), Br (2); I (3); SCN (4); tmdmPz = N-metil-3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol}	31
Figura 15 – Ação dos complexos 1-4 no DNA plasmídeo pNFkB-Luc	32
Figura 16 – Índices de citotoxicidade (IC ₅₀) de complexos de fórmula [PdX ₂ (tdmPz)], [PdX ₂ (tmdmPz)] e [PdX ₂ (tfdmOH)], sintetizados pelo grupo, frente a linhagem de adenocarcinoma mamário murino LM3	33
Figura 17 – Representação da retrodoação do metal para o átomo de fósforo	34
Figura 18 – Mecanismo associativo para substituição de ligantes em complexos d8	34
Figura 19 – Design de uma nova família de complexos [PdX(T)(PPh ₃)]X {X = Cl ⁻ (1), Br ⁻ (2); I ⁻ (3); SCN ⁻ (4); T = tiossemicarbazidas} a partir dos protótipos [PdX ₂ (tmdmPz)]	35

Figura 20 – Síntese dos complexos $[\text{PdX}(4\text{-PhT})(\text{PPh}_3)]\text{X}$ {X = Cl^- (1), Br^- (2); I^- (3); SCN^- (4); 4-PhT = N-fenil-tiossemicarbazida}	35
Figura 21 – Estrutura do complexo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-PhT})]\text{I}$ (3)	36
Figura 22 – Reação entre os complexos 1-4 e a guanosina	37
Figura 23 – Incubação do plasmídeo com os complexos 1-4 e cisplatina por 24 h. Linha 1: plasmídeo em água. Linha 2: plasmídeo em água/dmf (2.5%)	38
Figura 24 – Incubação do plasmídeo com os complexos 1 e 2 e a topo II por 40 min em diferentes concentrações, C-, controle negativo e C+, controle positivo	39
Figura 25 – Estratégia relacionando-se estrutura-atividade para os tiocarbamoil pirazóis monoquelatos	39
Figura 26 – A estrutura, a priori pretendida, dos quelatos de Pd(II) sintetizados e estudados neste trabalho	40
Figura 27 – Mecanismo de reação entre acetilacetona e hidrazinas	48
Figura 28 – Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para o reagente (4-etil-3-tiossemicarbazida) e composto orgânico tedmPz	49
Figura 29 – Espectro de RMN- ^1H do composto tedmPz realizado em clorofórmio- d_1	50
Figura 30 – Formas possíveis para o ligante tedmPz	51
Figura 31 – Espectro de RMN- ^{13}C do composto tedmPz realizado em clorofórmio- d_1	51
Figura 32 – Ampliação do espectro de RMN- ^1H do composto tedmPz realizado em clorofórmio- d_1 , destacando os sinais referentes aos hidrogênios H7 e H8	52
Figura 33 – Espectro vibracional da trifenilfosfina na região do infravermelho	53
Figura 34 – Estruturas de ressonância da tioamida	54
Figura 35 – Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os compostos trifenilfosfina, tedmPz e os complexos sintetizados na região de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$	56
Figura 36 – Espectros de RMN- ^1H para os complexos sintetizados em clorofórmio- d_1	58
Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')]$ (1). Solvente: CDCl_3	60
Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')]$ (2). Solvente: CDCl_3	60
Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')]$ (3). Solvente: CDCl_3	61
Figura 40 – Espectro de RMN - ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{NCS})(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')]$ (4). Solvente: CDCl_3	61

Figura 41 – Espectro de massas obtido para o composto 1	64
Figura 42 – Espectro de massas calculado para íon molecular do composto 1	65
Figura 43 – Expansão do pico molecular ($m/z = 588$) do espectro de massas obtido para o composto 1	65
Figura 44 – Espectro de massas obtido para o composto 2	66
Figura 45 – Expansão do pico molecular ($m/z = 632$) do espectro de massas obtido para o composto 2	66
Figura 46 – Espectro de massas obtido para o composto 3	67
Figura 47 – Expansão do pico molecular ($m/z = 678$) do espectro de massas obtido para o composto 3	67
Figura 48 – Espectro de massas obtido para o composto 4	68
Figura 49 – Expansão do pico molecular ($m/z = 609$) do espectro de massas obtido para o composto 4	68
Figura 50 – Esquema do método de difusão de vapor visando a obtenção de monocristais	69
Figura 51 – Representação ORTEP da estrutura do complexo 2	71
Figura 52 – Representação ORTEP de N,S-complexos de paládio(II) contendo trifenilfosfina	74
Figura 53 – Proposta estrutural aos quelatos de Pd(II) sintetizados e estudados nesta etapa do trabalho, sendo X = Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ ou NCS ⁻	75
Figura 54 – Valores de IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) e seus respectivos desvios padrão para os complexos sintetizados em comparação com a cisplatina, utilizando-se da linhagem MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano	76
Figura 55 – Estrutura da guanosina, destacando-se os átomos capazes de se coordenar ao paládio(II)	77
Figura 56 – Espectros de RMN- ¹ H para os sólidos obtidos da reação entre complexos e guanosina, em dmsó-d ₆ .	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Concentração inibitória (IC ₅₀) obtida para os complexos [MCl ₂ (NS)] {M = Pd(II), Pt(II), NS = fenilacetaldéido tiossemicarbazona}, cisplatina, adriamicina e etopósido	27
Tabela 2	– Valores de IC ₅₀ (μmolL ⁻¹) para compostos 1-4 frente as linhagens LM3 e LP07	31
Tabela 3	– Valores de IC ₅₀ dos compostos [PdX(4-PhT)(PPh ₃)]X {X = Cl ⁻ (1), Br ⁻ (2); I ⁻ (3); SCN ⁻ (4)} e da cisplatina contra as células tumorais murinas LM3 e LP07 após 24 h de exposição	36
Tabela 4	– Procedência de solventes e reagentes	42
Tabela 5	– Proporção de hidrogênios obtida pelo espectro de RMN do ligante	50
Tabela 6	– Dados obtidos por espectroscopia vibracional no IV para trifenilfosfina e suas atribuições	53
Tabela 7	– Dados obtidos por espectroscopia no IV referente ao ligante tedmPz, seus complexos [PdX(PPh ₃)(tedmPz')] (X = Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ e SCN ⁻) e suas atribuições	57
Tabela 8	– Dados referentes aos espectros de RMN- ¹ H para o ligante livre e complexos sintetizados	59
Tabela 9	– Dados de RMN de ¹³ C para os complexos 1-4	63
Tabela 10	– Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar, dados de temperatura obtidos nos experimentos de ponto de fusão utilizando-se taxa de aquecimento de 3,0 °C/min e condutividade molar em dmf	64
Tabela 11	– Principais dados da coleta de intensidade e de refinamento das estruturas cristalinas e molecular do complexo 2	70
Tabela 12	– Distâncias de ligação (Å) para o composto 2	71
Tabela 13	– Ligações de hidrogênio e distâncias interatômicas (Å) e seus ângulos (°) para o composto 2	72
Tabela 14	– Ângulos de ligação (°) para o composto 2	72
Tabela 15	– Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) de alguns N,S-complexos de paládio(II) contendo trifenilfosfina	73
Tabela 16	– Valores de IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) e seus respectivos desvios padrão para 1-4 e cisplatina, utilizando-se da linhagem MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2780	–	Linhagem tumoral de adenocarcinoma de ovário humano
DMEM	–	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> , mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular da linhagem MCF-7
dmf	–	N,N-dimetilformamida
dmsO	–	dimetilsulfóxido
EGFR	–	Receptor do fator de crescimento epidérmico
IC ₅₀	–	Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular
IV	–	infravermelho
LM3	–	Linhagem tumoral de adenocarcionoma mamário murino
LP07	–	Linhagem tumoral de adenocarcionoma pulmonar murino
MCF-7	–	linhagem tumoral humana de carcinoma mamário
MeCN	–	acetonitrila
MTT	–	Sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
OC	–	“opencircular”, DNA em sua forma relaxada
ORTEP	–	<i>Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot</i> , uma representação da estrutura molecular determinada por difração de raios-X
Pam 212	–	Linhagem celular de tecido epitelial
Pam-ras	–	Células de queratinócitos murinos transformados e resistentes ao cisplatina
PPh ₃	–	Trifenilfosfina
RMN	–	Ressonância Magnética Nuclear
SC	–	“supercoiled”, DNA em sua forma supertorcida
tedmPz	–	3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol
tedmPz'	–	N-etil-1-iminotiolato-3,5-dimetilpirazol
tmdmPz	–	3,5-dimetil-1-(N-metil)tiocarbamoilpirazol
tfdmOH	–	N-fenil-3,5-dimetil-5-hidróxi-1-tiocarbamoilpirazolina
ⁿ J	–	Acoplamento entre dois núcleos a “n” distâncias de ligação
v	–	Estiramento
v _{as}	–	Estiramento assimétrico
γ e δ	–	Deformações angulares

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
1.1	O câncer: a doença e a quimioterapia	16
1.2	Compostos quelatos de Pd(II): uma alternativa promissora no design de novos agentes citotóxicos a células tumorais	23
1.3	Compostos quelatos contendo ligantes N,S-doadores	26
1.4	Ligantes tiocarbamoilpirazóis	27
1.5	Ligantes fosfínicos	33
1.6	Princípios norteadores usados no planejamento de novos compostos de coordenação	39
2.	OBJETIVOS	41
3.	PARTE EXPERIMENTAL	42
3.1	Procedência de solventes e reagentes	42
3.2	Metodologia de síntese	42
3.3	Síntese dos compostos	43
3.4	Métodos instrumentais	45
3.5	Testes biológicos com células tumorais	46
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1	Caracterização espectroscópica do composto tedmPz (3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol)	48
4.2	Caracterização dos complexos do tipo [PdX(PPh ₃)(tedmPz’)] {X = Cl; Br; I; SCN}	52
4.2.1	Espectroscopia vibracional na região do IV para os complexos	55
4.2.2	Espectroscopia de RMN- ¹ H e ¹³ C para os complexos	57
4.3	Resultados de análise elementar, ponto de fusão de condutividade molar	63
4.4	Espectrometria de Massas	64
4.5	Difração de raios X de monocristal	69
4.5.1	Tentativa de obtenção de monocristais	69
4.5.2	Determinação estrutural via difração de raios X de monocristal	69
4.6	Proposição estrutural	75
4.7	Ensaio biológicos	75

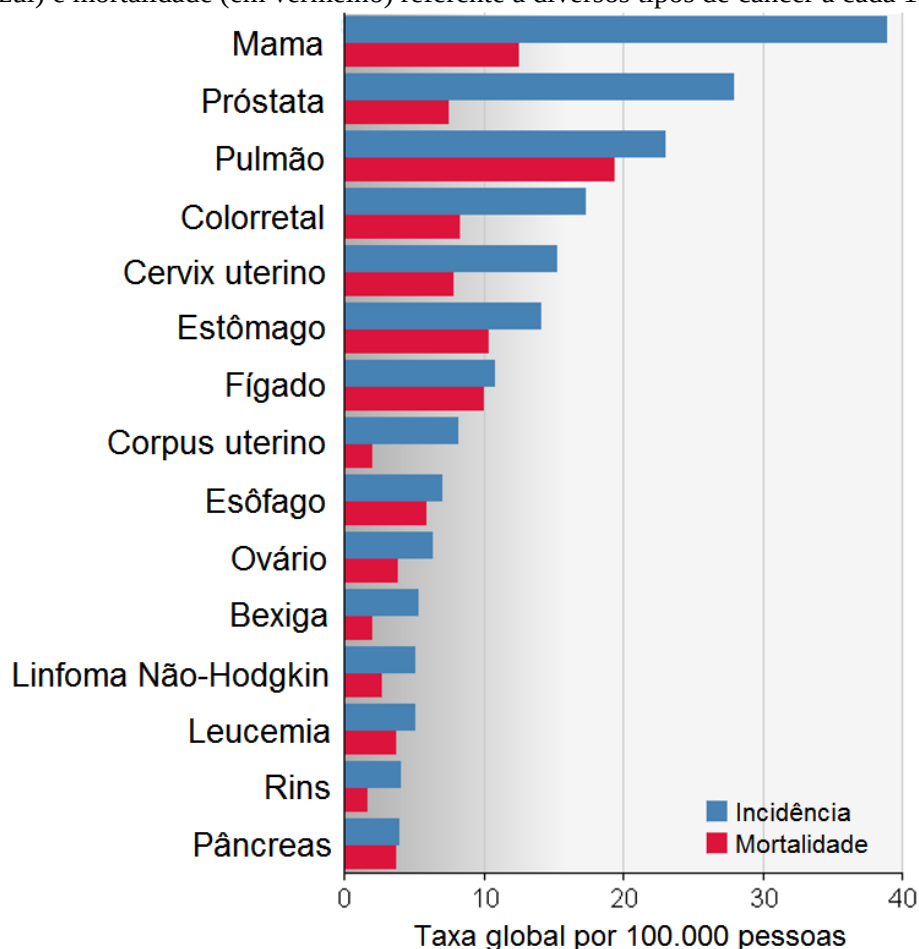
4.8	Reação com o nucleosídeo guanosina	76
5.	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	79
	Referências	81

1. INTRODUÇÃO

1.1 O câncer: a doença e a quimioterapia

O câncer é a principal causa de morte nos países desenvolvidos. Com mais de 12% de todas as causas de óbito no mundo, estima-se que a doença alcançará quase 20 milhões de pessoas em 2020, segundo a União Internacional Contra o Câncer¹. Assim como a maioria dos países em desenvolvimento, o câncer no Brasil representa a segunda causa de óbito na população adulta, segundo dados do INCA (Instituto Nacional do Câncer), totalizando 190 mil óbitos por ano, atrás apenas de doenças cardiovasculares². A última estimativa de câncer no Brasil, lançada em novembro de 2015, prevê 596 mil novos casos da doença no país para o ano de 2016². Destacam-se os tipos de mama, próstata e pulmão por suas altas taxas de incidência.

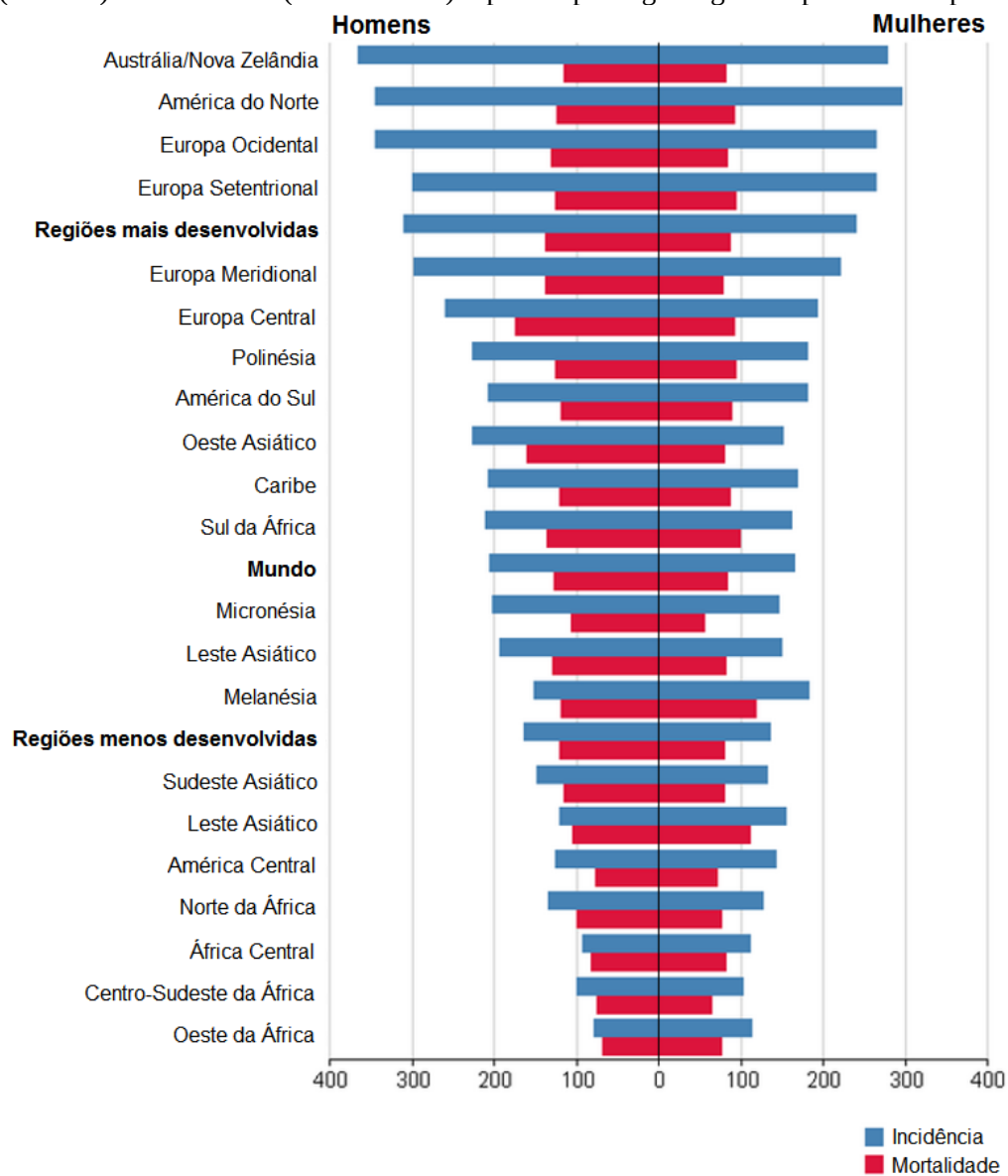
Figura 1 – Dados globais referente ao cancer, no ano de 2012. Verifica-se nele a taxa de incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) referente a diversos tipos de cancer a cada 100.000



Fonte: Adaptado de Globocan³

Apesar da maior taxa incidência da doença em regiões desenvolvidas, a taxa de mortalidade é similar em todas as regiões no mundo (Figura 3). Um relatório da Globocan 2012, o mais completo sobre o ônus global do câncer no mundo, divulgado pela Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC), da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que aproximadamente 70% dos 12,7 milhões de novos casos de câncer e 7,6 milhões de mortes pela doença em todo o mundo ocorreu em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento³. Dessa forma, a necessidade urgente de desenvolver terapias mais eficazes no combate ao câncer é justificada pelos enormes esforços e investimentos multibilionários destinados a pesquisas realizadas por multinacionais farmacêuticas e institutos de pesquisa.

Figura 2 – Dados globais referente ao cancer, no ano de 2012. Verifica-se nele a taxa de incidência (em azul) e mortalidade (em vermelho) separado por regiões globais por 100.000 pessoas



Fonte: Adaptado de Globocan³

Caracterizada por uma população de células que cresce e se divide sem respeitar os limites normais dos órgãos, o câncer invade e destrói tecidos adjacentes e pode se espalhar para lugares distantes no corpo, sendo este último processo chamado metástase⁴. A posteriori o processo pode ser concatenado com a formação de uma nova lesão tumoral, mas sem continuidade entre as duas, resultando com que as células neoplásicas desprendidas do tumor inicial sejam levadas para um local distante, formando nesse local uma nova colônia. Este processo é inerente aos tumores malignos e não ocorre em tumores benignos, sendo o último auto-limitado em seu crescimento e não invasivos a tecidos adjacentes. O câncer pode afetar pessoas de todas as idades, sendo a incidência maior na população idosa⁵.

Existem cerca de 200 tipos de câncer, sendo estes gerados por anomalias no material genético com a formação de células transformadas. Estas anomalias podem ser resultado dos efeitos de carcinógenos – ou fatores externos – como o tabagismo, radiação, substâncias químicas e agentes infecciosos⁵. Outros tipos de anormalidades genéticas podem ser adquiridos através de erros na replicação do DNA, ou são herdadas e por consequência estão presentes em todas as células do nascimento, estes são chamados de fatores internos.

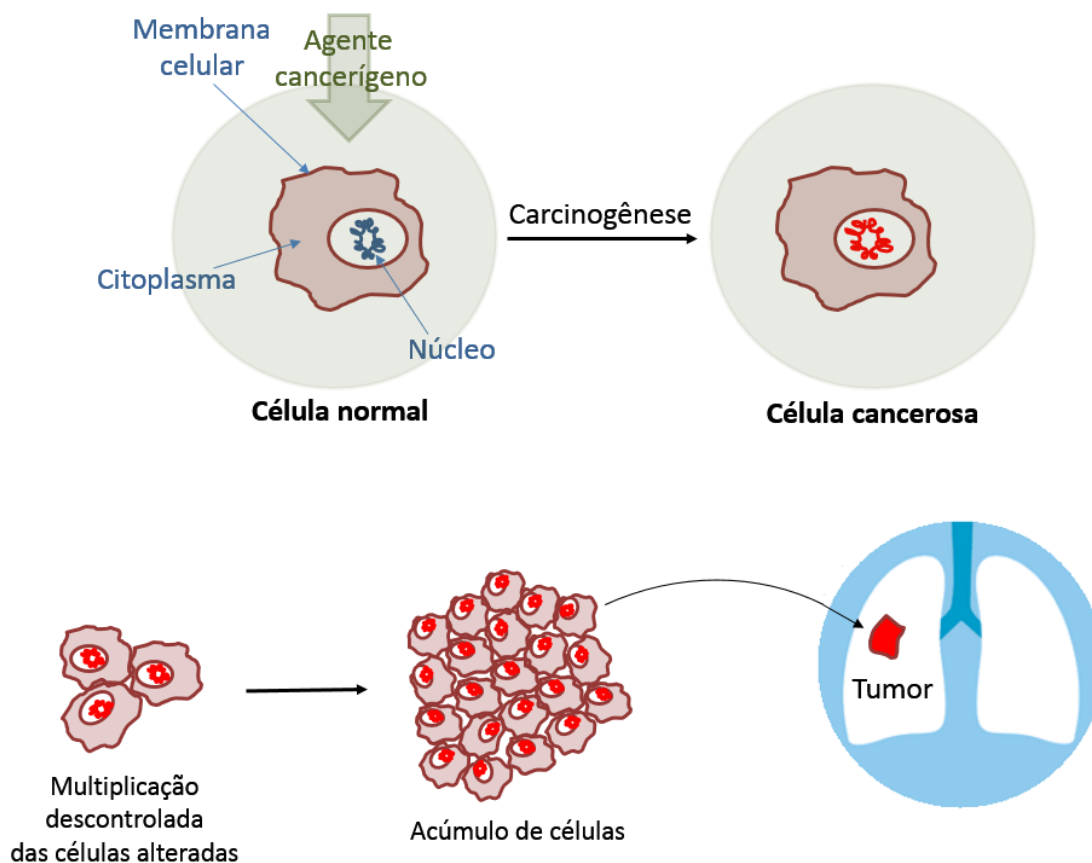
A classificação do câncer também é dada de acordo com o tecido originado ou tipo de célula em que se assemelham. Se o câncer tem seu início em tecidos epiteliais, como pele ou mucosas, este é denominado carcinoma. São chamados de sarcoma os cânceres que têm origem em tecidos conjuntivos (osso, músculo e cartilagem) e adenocarcinoma aqueles que iniciaram de tecidos glandulares (mama, pâncreas, tireóide entre outros). Além destas características, são usadas para classificar o tipo de câncer outras variáveis, como velocidade de multiplicação das células e capacidade de invadir tecidos e órgãos distantes⁴.

O processo de formação do câncer (Figura 2) se dá a partir de três etapas principais: I) Estágio de iniciação, em que células normais sofrem uma ação de agentes cancerígenos, causando-lhes modificações em seu material genético; II) Estágio de promoção, onde as células alteradas são transformadas lentamente em células malignas e III) Estágio de progressão, etapa em que células malignas se multiplicam e se acumulam nos tecidos, dando origem ao tumor^{6,7}.

Os principais tratamentos são: I) Cirurgia, onde envolve a remoção total do tumor caso este não esteja espalhado em órgãos vitais; II) Radioterapia, utilizando-se radiações para destruir um tumor ou impossibilitar que seu volume aumente e III) quimioterapia, baseado no uso de medicamentos que atuem no DNA ou outros alvos farmacológicos de células tumorais. Também são realizados a hormonioterapia e imunoterapia em casos específicos. Cada uma dessas modalidades apresenta vantagens e desvantagens, sendo que os resultados mais efetivos são alcançados a partir da combinação desses tratamentos. Apesar dos recentes avanços em

cirurgia e radioterapia, as mudanças mais revolucionárias que ocorreram nos últimos 40 anos no tratamento do câncer foram na área de quimioterapia.

Figura 3 – Estágios de formação de um câncer: transformação de uma célula normal (acima) em cancerosa e estágios de progressão (abaixo)



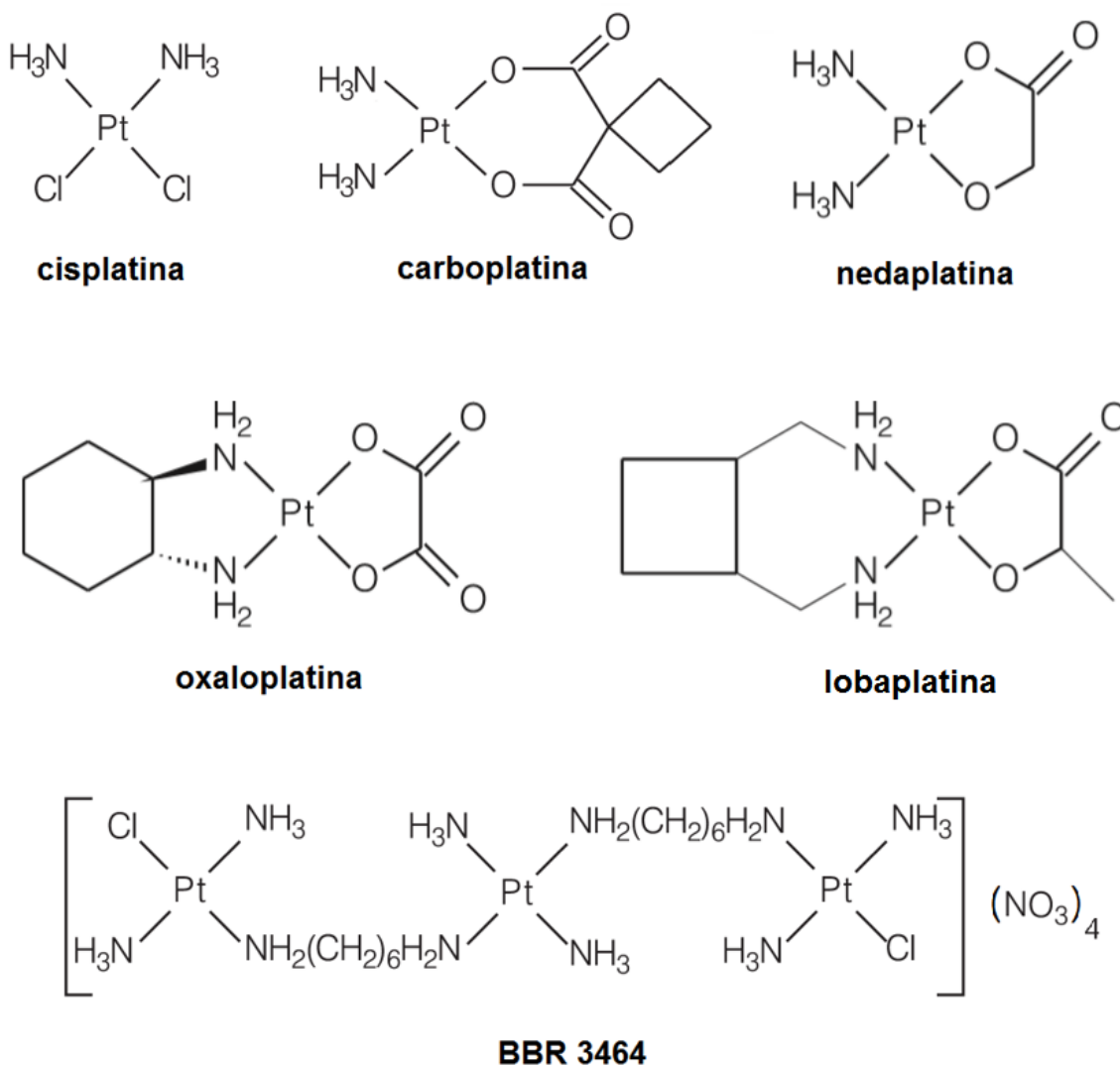
Fonte: Autor

A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina, o complexo $cis\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, nos anos 60 por Rosenberg⁸ e seu subsequente sucesso como fármaco no tratamento do câncer⁹ tornou a cisplatina um dos agentes quimioterápicos mais utilizados atualmente, sobretudo no tratamento de câncer de pulmão, cabeça, esôfago, estômago, mama, cervix, bem como linfomas, melanomas e osteossarcomas¹⁰⁻¹², atuando na maioria das vezes com bons percentuais de cura. A utilização deste fármaco foi protagonista de uma revolução no tratamento de câncer de testículo, com sucesso também contra alguns tumores de ovários e de colón⁸. Este composto de coordenação se tornou o quimioterápico mais utilizado no tratamento do câncer, sendo atualmente utilizado em conjunto com outros fármacos.

Após a descoberta da cisplatina, um número significativo de complexos de platina foi sintetizado buscando investigar a atividade antitumoral dessas novas espécies, sendo alguns dos

análogos estudados aprovados para comercialização. A carboplatina (Figura 4), ou cis-[diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)platina(II)] possui importância no tratamento de câncer de ovário devido a sua menor nefrotoxicidade que a cisplatina^{13,14}. A oxaloplatina (ou cis-[1,2-diamino(ciclohexanooxalato) platina(II)], é utilizada no tratamento no câncer colorretal, em que a cisplatina não apresenta-se ativa¹⁵⁻¹⁷. Ainda há no mercado a cis-diaminoglicolatoplatina(II) (nedaplatina), que recebeu aprovação para uso clínico no Japão¹⁸, a lobaplatina, aprovada na China para o tratamento de alguns tipos de câncer em estágio avançado, e o BBR 3463, um complexo contendo três unidades de platina, o qual obteve-se resultados promissores em testes clínicos de fase I, porém foi inativo em testes de fase II¹⁹.

Figura 4 – Algumas estruturas dos fármacos e possível fármaco (BBR 3464) de platina(II)



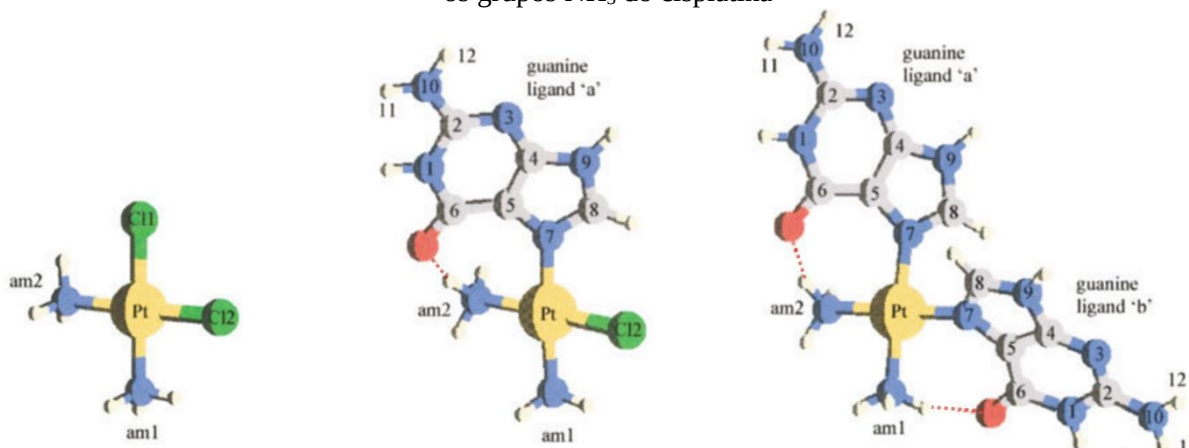
Fonte: Adaptado de FONTES et al.¹⁸

Os esforços intensos direcionados em pesquisa na área da quimioterapia do câncer mediada por compostos de platina permitiu evidenciar que a cisplatina e seus análogos apresentam, em geral, padrões similares de atividade antitumoral e susceptibilidade à resistência, o que sugere que a maioria desses compostos possuem o mesmo mecanismo de ação. Apesar de uma vasta literatura sobre interações entre complexos metálicos e o DNA, a natureza destas ligações, bem como suas geometrias e mecanismos de ação associados a estes compostos é assunto de debate²⁰. Por apresentarem um centro metálico catiônico, estes foram associados à capacidade de se ligar a biomoléculas negativamente carregadas, tornando proteínas e ácidos nucleicos alvos evidentes para estes compostos²¹.

Dentre os diversos mecanismos discutidos referente a ação da cisplatina^{22,23}, o mais compreendido é o de sua interação com as bases nitrogenadas do DNA. A priori, a cisplatina entra na célula por difusão passiva ou transporte ativo²⁴, uma vez no interior da célula, o complexo tem um ou dois cloretos substituídos por moléculas de água (hidrólise), dando origem a moléculas positivamente carregadas, cis-diaminoaquocloroplatina(II) e cis-diaminodiaquoplatina(II) respectivamente. Este processo de hidrólise gera complexos mais reativos capazes de interagir covalentemente com o DNA. A formação de adutos platina-DNA é reconhecida por algumas proteínas, que poderão atuar reparando o DNA distorcido ou provocando a morte dessa célula em um processo chamado apoptose.

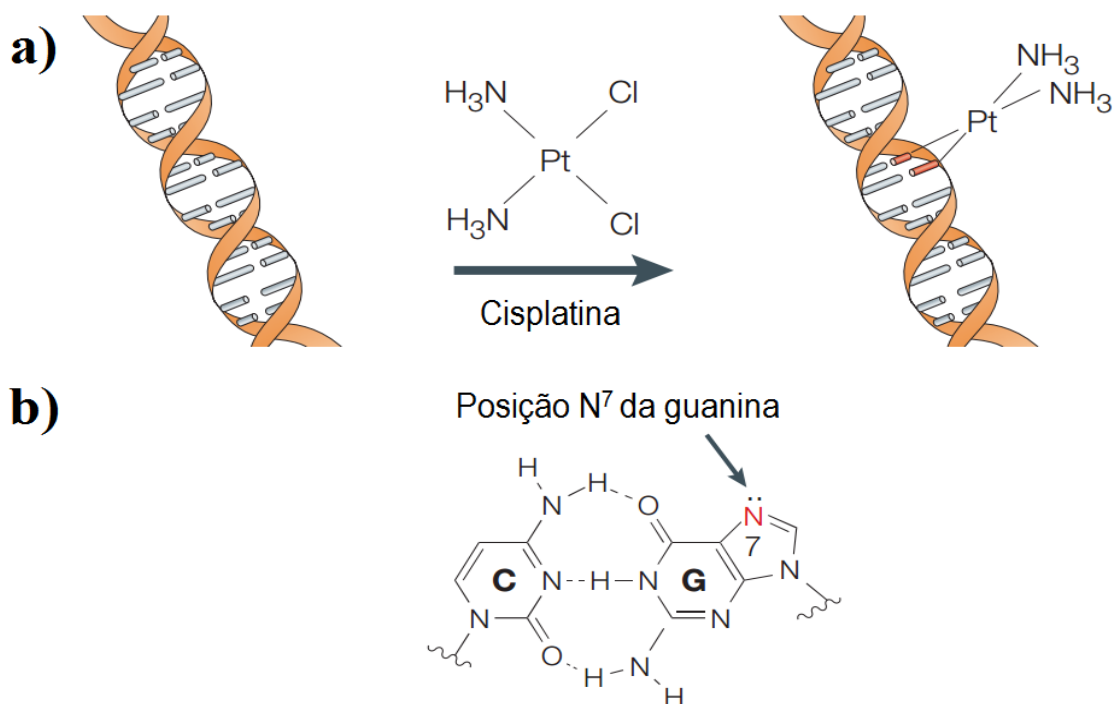
Dentre as bases nitrogenadas do DNA, a principal neste processo da formação do complexo Pt-DNA são guanina e adenina, tanto por estarem mais disponíveis para a coordenação na estrutura do DNA quanto pela formação de ligação hidrogênio entre os grupos NH_3 da cisplatina e os átomos de nitrogênio (amina primária) e oxigênio (amida, Figura 5) da adenina e guanosina, respectivamente²⁵⁻²⁷. As pesquisas realizadas referente à formação destes adutos permitem afirmar que o principal aduto formado entre cisplatina e DNA é do tipo 1,2-intrafito, formado pela ligação do metal e duas guaninas adjacentes^{26-29,23}, conforme é indicado na Figura 6.

Figura 5 – Coordenação da(s) guanina(s) à platina(II) via N⁷ e formação de ligação hidrogênio entre os grupos NH₃ do cisplatina



Fonte: Adaptado de GIESE B. et al.²⁷

Figura 6 – Formação de aduto entre a cisplatina e o DNA de modo 1,2-intrafito, indicando a posição N⁷ da guanina mais desimpedida que outros nitrogênios



Fonte: Adaptado de WANG, D. et al.²³

Um dos problemas encontrados no tratamento com a cisplatina é a vulnerabilidade ao ataque de substâncias encontradas no plasma sanguíneo, especialmente as que possuem grupos tiois, como albumina e cisteína. Isto ocorre devido a preferência de coordenação à platina, um ácido polarizável, ao enxofre, uma base polarizável³⁰. Este processo faz com que após um dia de ser administrada, 65-98% do cisplatina se ligue a estes compostos, resultando na diminuição da concentração do fármaco ativo *in vivo*³¹.

Além do surgimento de resistência celular e espectro de atividade insuficiente no tratamento da doença, há também graves efeitos colaterais, como neurotoxicidade, nefrotoxicidade e toxicidade ao trato intestinal manifestada através de náuseas e vômitos intensos. Estes efeitos surgem também através da reatividade da cisplatina, tornando possível a platina se coordenar com diversas proteínas e peptídeos, resultando em atividade citotóxica considerável às células saudáveis.

Assim, existe a possibilidade de que os futuros agentes antitumorais à base de metais de transição possam apresentar estruturas bem diferentes daquelas observadas em complexos tradicionais de platina. De acordo com a literatura, existe um número cada vez maior de evidências que o mecanismo de ação dos complexos não-convencionais – que violam as relações estrutura-atividade da cisplatina, como complexos catiônicos, quelatos entre outros – seja diferente daquele observado para a cisplatina e seus derivados. Além disso, o padrão de atividade antitumoral desses complexos também costuma ser diferente relacionado ao cisplatina. Assim, é possível criar estratégias para a projeção de complexos metálicos com diferentes espectros de citotoxicidade frente às linhagens tumorais sensíveis e resistentes ao cisplatina^{32,33}.

1.2 Compostos quelatos de Pd(II): uma alternativa promissora no design de novos agentes citotóxicos às células tumorais

O interesse crescente nas potencialidades farmacológicas de derivados de Pd(II) está associado ao fato desse íon ser isoeletrônico ao Pt(II), seus complexos também apresentarem a geometria de coordenação quadrática-planar e ambas as espécies possuem praticamente o mesmo raio iônico ($\text{Pt(II)} = 0,74 \text{ \AA}$ e $\text{Pd(II)} = 0,78 \text{ \AA}$)³⁴.

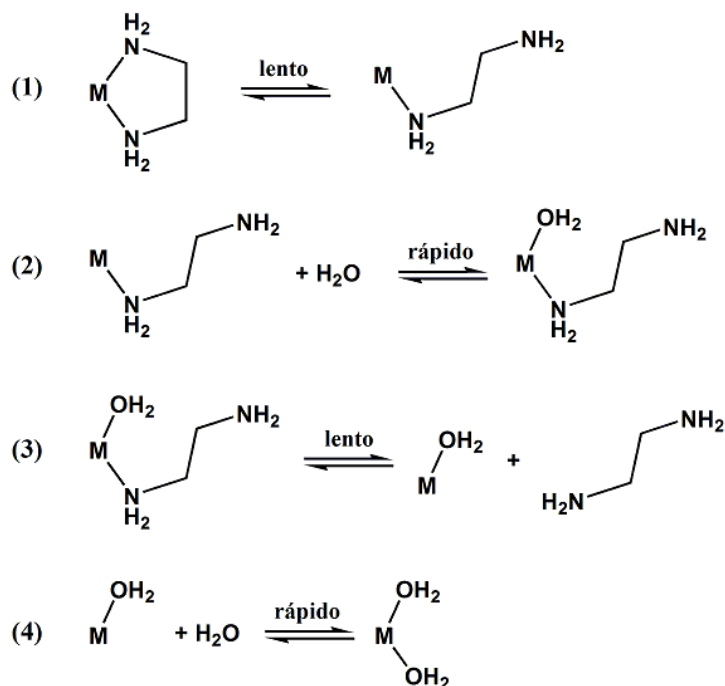
Os primeiros ensaios citotóxicos não foram muito promissores, pois mostraram que os compostos de Pd(II) eram bem menos ativos em relação aos compostos de Pt(II). Muitos autores sugeriram que os avanços nesta área seriam limitados provavelmente em função de parâmetros cinéticos, uma vez que complexos de Pd(II) reagem $\approx 10^5$ vezes mais rapidamente que seus análogos de Pt(II). Assim, a baixa atividade antitumoral de parte dos complexos de Pd(II) foi atribuída aos rápidos processos de hidrólise que conduziam à dissociação dos grupos abandonadores em solução e, conseqüentemente, à formação de espécies muito reativas incapazes de atingir seus alvos farmacológicos³⁵.

Utilizando-se argumentos da Química de Coordenação, uma alternativa para minimizar esse efeitos cinéticos consiste no planejamento de compostos quelatos de paládio(II).

Para se obter compostos quelatos, é necessário a utilização de ligantes que sejam capazes de se coordenar ao centro metálico através de 2 ou mais átomos. O efeito quelato termodinâmico torna os complexos quelatos mais estáveis termodinamicamente que os seus análogos constituídos por ligantes monodentados devido, em parte, a fatores entrópicos que acompanham a liberação dos ligantes da esfera de coordenação³⁶.

O efeito quelato também influencia os parâmetros cinéticos de complexos metálicos. A reação de substituição de um ligante quelato é geralmente mais lenta quando comparada a de um ligante monodentado. As explicações para esse efeito baseiam-se em dois fatores: a energia necessária para retirar o primeiro átomo coordenado e a probabilidade da reversão dessa primeira etapa³⁷ (Figura 7). A variação de entalpia associada à remoção do primeiro átomo coordenado é maior do que para um ligante monodentado relacionado. Se esse átomo realmente se descoordenar, sua barreira cinética para religação subsequente é menor do que para um ligante monodentado análogo, pois o átomo descoordenado do ligante bidentado permanece muito próximo do centro metálico.

Por exemplo, a reação de aquação envolvendo o ligante bidentado etilenodiamina (Figura 7) deve ter duas etapas de dissociação, uma para cada átomo coordenado (a adição de água nas etapas 2 e 4 deve ser provavelmente rápida, devido a sua alta concentração):

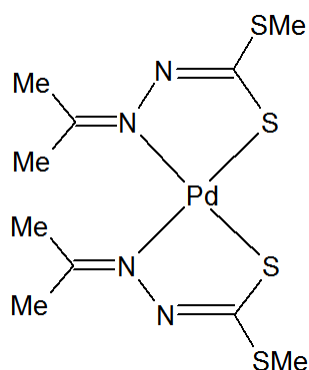
Figura 7 – Etapas de dissociação de um ligante quelante em uma reação de aquação

Fonte: Adaptado de MIESSLER et al.³⁷

A primeira etapa de dissociação (1) da etilenodiamina é esperada ser mais lenta que a dissociação similar da amônia, pois o ligante deve se dobrar e girar para afastar do metal o grupo amino livre. A segunda etapa de dissociação (3) também deve ser lenta uma vez que a concentração desse intermediário é baixa e porque também a primeira etapa de dissociação (1) pode ocorrer facilmente no sentido inverso. O nitrogênio descoordenado é mantido próximo ao metal pelo resto do ligante, fazendo com que a sua religação seja muito provável³⁷. No geral, esse efeito quelato cinético reduz as velocidades de reações de aquação por fatores de 20 a 10^5 .

Uma estratégia empregada com sucesso no planejamento de compostos de Pd(II) com atividade citotóxica promissora frente as células tumorais e microorganismos patógenos foi inspirada no trabalho clássico de Das e Livingstone³⁸. Após investigarem a atividade antitumoral de um grande número de quelatos metálicos contendo bases de Schiff derivados de *S*-alquilcarbazatos (exemplo na Figura 8), os autores concluíram que dentre os quelatos em que o ligante bidentado apresenta, no mínimo, um átomo de enxofre, os de Pd(II) são mais citotóxicos que os de outros metais. Segundo os autores, os *N,S*-quelatos de Pd(II) possuem uma cinética de substituição ideal para manter a integridade estrutural do complexo metálico tempo suficiente em solução, até alcançar e, posteriormente, interagir com o DNA das células cancerosas³⁹.

Figura 8 – Estrutura de um dos complexos contendo ligantes N,S-doadores estudado por Das e Livingstone



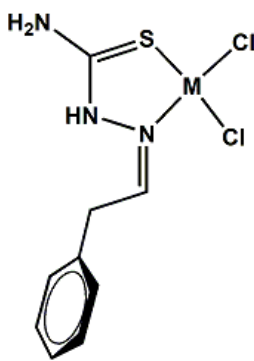
Fonte: Adaptado de DAS e LIVINGSTONE³⁸

Dentre os ligantes N,S-doadores mais usados para sintetizar complexos de Pd(II) bioativos, destacam-se as tiossemicarbazonas e os ditiocarbazatos por apresentarem atividade frente a microorganismos patogênicos e células tumorais⁴⁰. Muitos autores têm demonstrado que a citotoxicidade dos complexos de Pd(II) contendo tiossemicarbazonas é resultado, pelo menos em parte, da sua interação frente ao DNA.

1.3 Compostos quelatos contendo ligantes N,S-doadores

A literatura recente também tem mostrado que complexos de paládio(II) de fórmula geral $[PdCl_2(NS)]$ (NS = tiossemicarbazonas) são ativos em células tumorais resistentes ao cisplatina^{39,41}. Um exemplo ilustrativo é observado no trabalho de Quiroga *et al.*³⁹, no qual foi descrito que complexos de fenilacetaldeído tiossemicarbazona do tipo $[MCl_2(NS)]$, M = Pd(II), Pt(II), foram citotóxicos frente a uma variedade de linhagens tumorais, com um bom índice terapêutico, isto é, valores de concentrações inibitórias (IC_{50}) muito menores para células resistentes ao cisplatina (Pam-ras) do que para células normais (Pam 212) (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentração inibitória (IC_{50}) obtida para os complexos $[MCl_2(NS)]$ {M = Pd(II), Pt(II), NS = fenilacetaldéido tiossemicarbazona}, cisplatina, adriamicina e etopósido³⁹

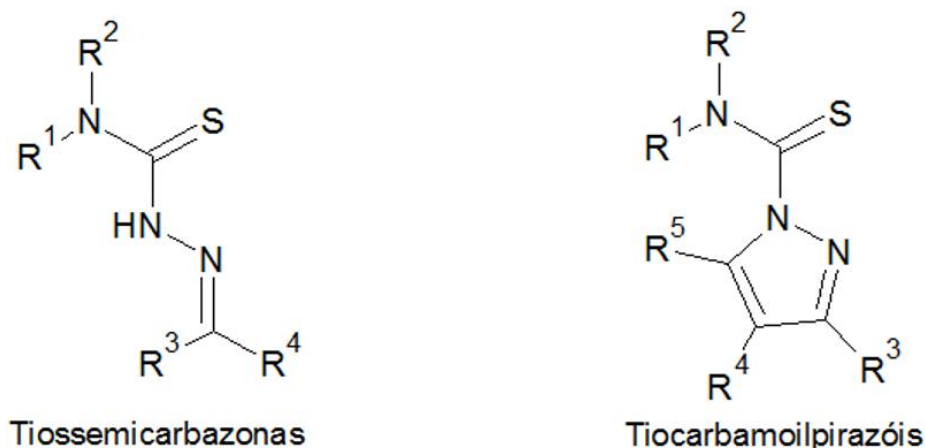
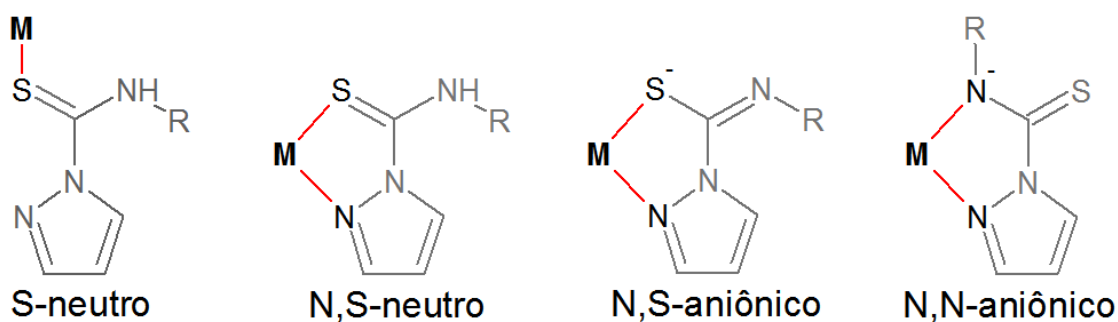
	IC ₅₀ (μM) ± sd			
		Pam-ras	HL 60	Pam 212
	M=Pd	23 ± 0,1	9 ± 0,2	124 ± 3
	M = Pt	65 ± 1	28 ± 0,7	200 ± 9
	Cisplatina	157 ± 6	7 ± 0,2	164 ± 6
	Adriamicina	156 ± 5		150 ± 3
	Etoposideo	136 ± 10		180 ± 12

Fonte: Adaptado de QUIROGA, A. G. *et al*

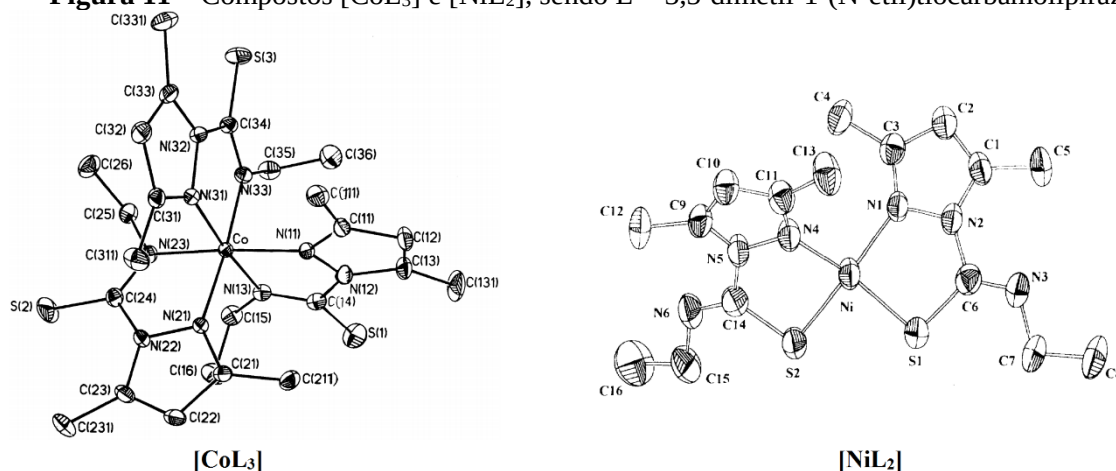
Além de ser mais ativo que o seu análogo de Pt(II), o complexo $[PdCl_2(NS)]$ apresentou maior citotoxicidade do que os fármacos etoposídeo e adriamicina^{35,39}. Estudos de mecanismo de ação, através da análise da interação dos complexos com o DNA, indicaram que os complexos de Pd(II) e Pt(II) formam principalmente ligações interfitas, diferente do cisplatina, que realiza preferencialmente ligações intrafitas^{25,28}. O complexo de paládio(II) exibe maior atividade citotóxica sobre as células resistentes e forma mais ligações interfitas do que o análogo de platina(II), provavelmente em razão da sua maior reatividade.

1.4 Ligantes tiocarbamoilpirazóis

Nos últimos anos, os 1-tiocarbamoilpirazóis vêm atraindo cada vez mais interesse devido a sua analogia estrutural com relação às tiossemicarbazonas (Figura 9). Os 1-tiocarbamoilpirazóis possuem variados modos de coordenação, como mostra a Figura 10, sendo o mais comum em complexos de paládio(II), ou outros íons metálicos polarizáveis, pelo átomo de enxofre e pelo átomo de nitrogênio piridínico do anel pirazólico, formando um anel metalociclo estável de 5 membros. A capacidade dessa classe de ligantes em formar produtos *N,S*-quelatos de Pd(II) vem sendo explorada por muitos grupos de pesquisa objetivando sintetizar novos complexos com potencial farmacológico.

Figura 9 – Fórmula estrutural geral das tiossemicarbonas e tiocarbamoilpirazóis**Fonte:** autor**Figura 10** – Modos de coordenação de ligantes 1-(N-substituído)tiocarbamoilpirazóis**Fonte:** autor

Barik et al.^{42,43} mostraram a síntese e estrutura de dois compostos de Co(III) contendo ligantes 3,5-dimetil-1-(N-metil/etil)tiocarbamoilpirazol de fórmula [CoL₃]. A coordenação ao metal se deu de maneira N,N-aniônica (Figura 11, lado esquerdo), via nitrogênio do grupo tiocarbamoil e nitrogênio piridínico. Além deste, foi relatada a síntese e estrutura de o modo de coordenação N,S-aniônico (Figura 11, lado direito) de um complexo de Ni(II) do tipo [NiL₂], evidenciando a capacidade de coordenação do grupo dependente da polarizabilidade do íon metálico utilizado⁴³.

Figura 11 – Compostos $[\text{CoL}_3]$ e $[\text{NiL}_2]$, sendo L = 3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol

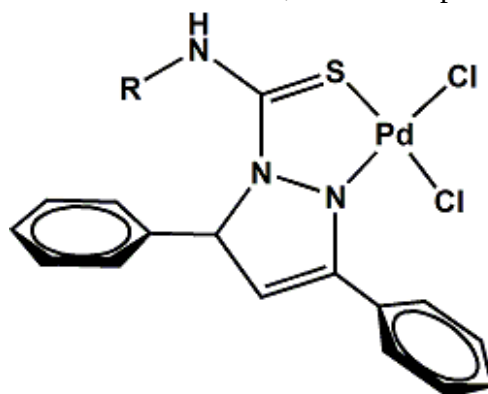
Fonte: Adaptado de BARIK, A. K. *et al.*^{42,43}

Além disso, a incorporação do núcleo pirazólico na estrutura molecular desses ligantes N,S-doadores representa uma estratégia interessante no design de novos candidatos a fármacos, uma vez que os pirazóis são conhecidos por apresentarem atividade antipirética⁴⁴, anti-inflamatória⁴⁵, antiviral^{46,47} e antitumoral⁴⁷, enquanto que as pirazolinas (4,5-diidropirazóis) conhecidos por suas atividades antitumorais⁴⁸, anti-inflamatória⁴⁹, antimicrobiana⁵⁰ e analgésicas⁴⁸.

Os pesquisadores Lv *et al.*⁵¹ relataram que o composto 3-(3,4-dimetilfenil)-5-(4-metóxfenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carbotioamida apresentou uma atividade inibitória potente frente ao receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) em uma concentração de $\text{IC}_{50} = 0,07 \mu\text{M}$, comparável ao controle positivo erlotinibe. As EGFR quinases desempenham uma função importante em cânceres uma vez que receptores proteína tirosina quinases tem um papel vital na sinalização que regulam a divisão celular e a diferenciação⁵¹. O composto pirazólico mencionado também foi citotóxico frente a células de tumor MCF-7 ($\text{IC}_{50} = 0,08 \mu\text{M}$).

Nesse contexto, Budakoti *et al.*⁵² relatam a síntese, caracterização e a investigação *in vitro* da atividade anti-amoebica de complexos de paládio(II) com ligantes 1-N-substituído-tiocarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolina (Figura 12). Os complexos apresentaram valores de concentrações inibitórias de 50 % bem promissores frente ao protozoário *Entamoeba histolytica*, causador da amebíase, superando em muitos casos o valor encontrado para o fármaco padrão metronidazol ($\text{IC}_{50} = 1,82 \mu\text{M}$).

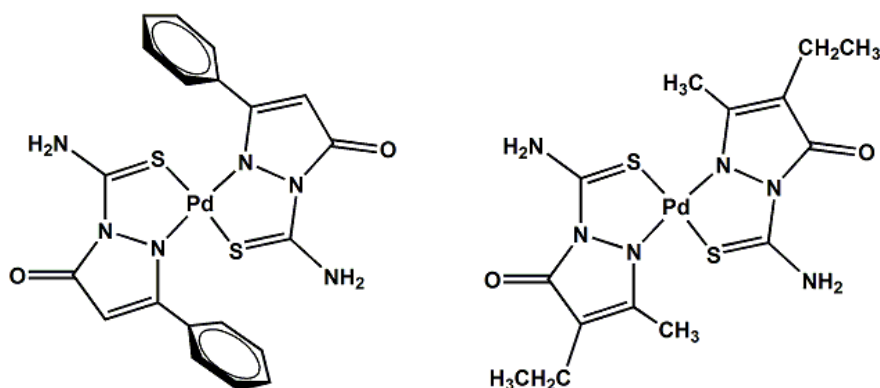
Figura 12 – Fórmula estrutural geral dos compostos de Pd(II) contendo o ligante 1-N-substituído tiocarbamoil-3,5-difenil-2-pirazolina



Fonte: Adaptado de BUDAKOTI et al.⁵²

Casas *et al.*⁵³ descreveram a síntese, caracterização e a avaliação da atividade antitumoral de novos complexos bis-quelatos de Pd(II) e Pt(II) com ligantes pirazólicos N,S-quelantes (Figura 13). Estes compostos foram testados em linhagens de células cancerígenas humana de ovário A2780, sensível ao cisplatina e A2780cisR, resistente ao cisplatina. Os complexos de paládio(II) se mostraram mais citotóxicos frente a estas células do que seus análogos de platina(II). Em relação à citotoxicidade frente a linhagem A2780, o composto $[Pd(L^1)_2]$ demonstrou resultado similar à cisplatina. Já em relação à linhagem resistente A2780cisR, ambos os compostos demonstraram ser consideravelmente mais ativos que o cisplatina, com valores de $IC_{50} < 1,3 \mu M$.

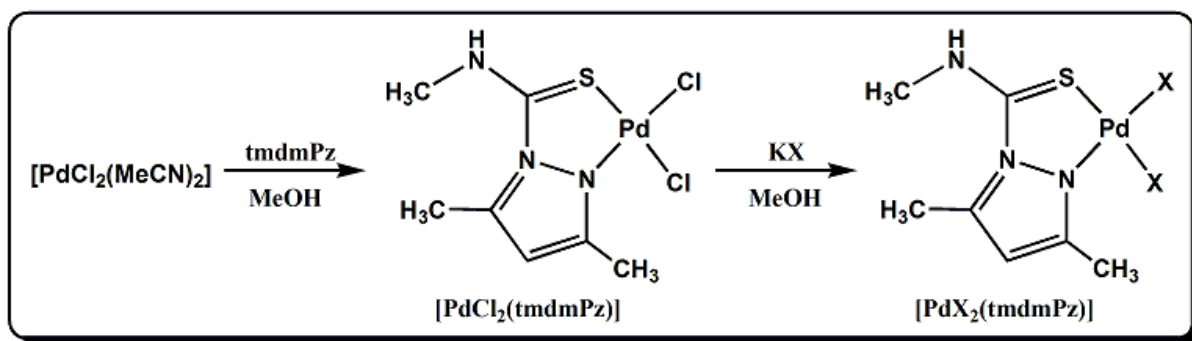
Figura 13 – Fórmulas estruturais dos complexos $[Pd(L^1)_2]$ (L^1 = 5-fenil-3-oxo-2-tiocarbamoil-pirazolonato); $[Pd(L^2)_2]$ (L^2 = 4-etil-5-metil-3-oxo-2-tiocarbamoilpirazolonato)



Fonte: Adaptado de CASAS, J. S. et al.⁵³

Quatro complexos mononucleares do tipo $[\text{PdX}_2(\text{tmdmPz})]$ $\{\text{X} = \text{Cl}^-$ (**1a**), Br (**2a**); I (**3a**); SCN (**4a**); $\text{tmdmPz} = \text{N-metil-3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol}\}$ foram sintetizados e caracterizados espectroscopicamente⁵⁴ por nosso grupo de pesquisa. O composto **1a** foi formado a partir da substituição da acetonitrila do complexo $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$ pelo 3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol. Os demais compostos foram obtidos através da substituição dos íons cloro por brometo (**2a**), iodeto (**3a**) e tiocianato (**4a**), conforme é ilustrado na Figura 14.

Figura 14 – Síntese dos complexos $[\text{PdX}_2(\text{tmdmPz})]$ $\{\text{X} = \text{Cl}$ (**1a**), Br (**2a**); I (**3a**); SCN (**4a**); $\text{tmdmPz} = \text{N-metil-3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol}\}$ ⁵⁴



Fonte: Adaptado de BARRA, C. V. et al.⁵⁴

Os compostos **1a-4a** e o ligante tmdmPz tiveram sua atividade antitumoral testada frente a células de tumores de mama (LM3) e pulmão (LP07), ambas murinas. A cisplatina foi usada nos testes como fármaco de referência. Os valores de IC_{50} encontrados estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de IC_{50} (μmolL^{-1}) para compostos **1a-4a** frente LM3 e LP07

Composto	LM3	LP07
1a	$3,29 \pm 0,20$	$2,56 \pm 0,14$
2a	$3,40 \pm 0,44$	$1,84 \pm 0,14$
3a	$2,53 \pm 0,06$	$1,65 \pm 0,44$
4a	$3,17 \pm 0,48$	$1,66 \pm 0,10$
tmdmPz	>140	>140
CISPLATINA	$30,26 \pm 3,72$	$4,3 \pm 0,4$

Fonte: Adaptado de BARRA, C. V. et al.⁵⁴

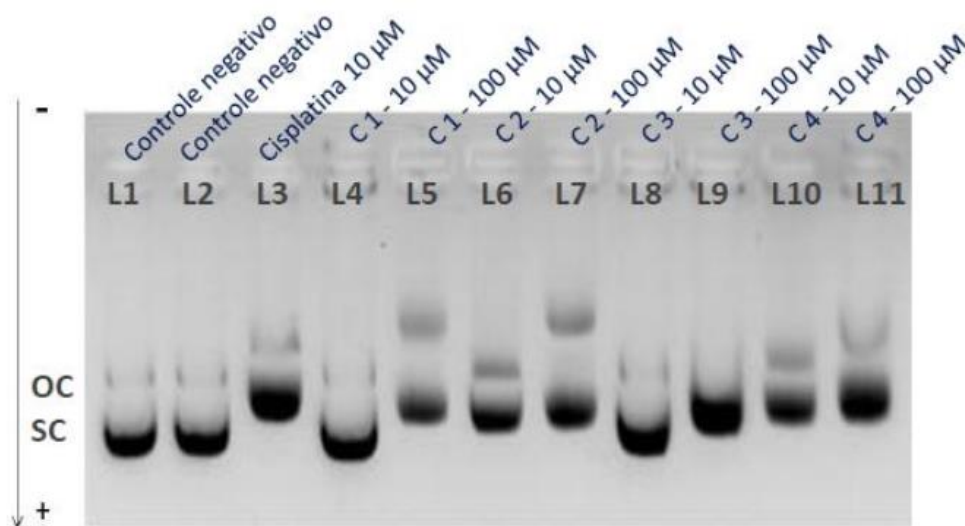
De acordo com os testes realizados, o ligante tmdmPz apresentou $\text{IC}_{50} > 140 \mu\text{M}$ frente as duas linhagens testadas, sendo considerado, portanto, inativo. No entanto, os complexos apresentaram excelentes resultados de atividade citotóxica, indicando que nesse caso, a coordenação ao centro metálico potencializa o efeito biológico. Os resultados obtidos com os ensaios frente as linhagem LM3 e LP07 mostraram que todos os compostos foram mais ativos

que a cisplatina. Considerando-se que o DNA mostrou-se ser o alvo celular de alguns complexos de Pd(II) contendo tiossemicarbazonas, estudos de interação com a guanosina e o plasmídeo pNFkB-luc foram realizados para verificar se a citotoxicidade observada pode estar relacionada à interação dos complexos **1a-4a** com o DNA.

Em função da baixa solubilidade dos complexos em água e da dificuldade em se obter os aqua-complexos, as reações foram realizadas em dmf. Os complexos **1a** e **2a** reagiram diretamente com a guanosina, entretanto o mesmo não foi observado para os complexos **3a** e **4a**, provavelmente em função da menor labilidade dos ligantes iodeto e tiocianato. Por essa razão, os grupos I e SCN dos compostos **3a** e **4a** foram removidos com AgNO₃ em dmf para produzir solvento/nitrato-complexos *in situ* os quais reagiram prontamente com a guanosina, indicando que a ligação Pd-haleto/pseudo-haleto influencia na reatividade do complexo.

O DNA incubado com os complexos **1a-4a** (nas concentrações 10 µM e 100 µM) é representado nas linhas 4-11 (Figura 15). Verifica-se a influência da concentração dos compostos na interação com o DNA, sendo os compostos **2a** e **4a** capazes de clivar o DNA a 10 µM, porém, quando considerada a concentração de 100 µM, todos eles apresentaram essa capacidade.

Figura 15 – Ação dos complexos **1a-4a** no DNA plasmideal pNFkB–Luc

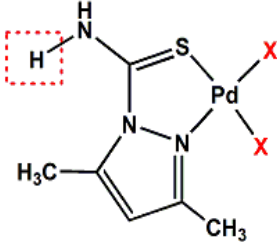
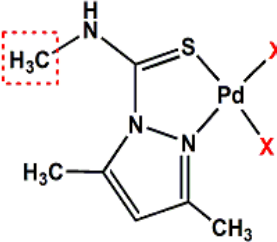
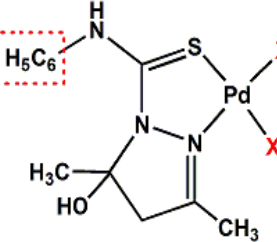


Fonte: Adaptado de BARRA, C. V. et al. ⁵⁴

A partir dos resultados obtidos, ainda não foi possível fazer uma relação direta entre os dados obtidos nesse ensaio e no ensaio de citotoxicidade. O experimento de eletroforese indicou que apenas os compostos **2a** e **4a** são capazes de interagir com o DNA a baixas concentrações (10 µM). Portanto, seria de se esperar que estes fossem os compostos mais ativos. No entanto, os resultados de citotoxicidade de **1a-4a** frente as linhagens LM3 e LP07 (IC₅₀ = 1,6-3,4 µM)

indicaram que todos os compostos são ativos em baixas concentrações. Neste ponto, cabe lembrar que a célula é uma entidade muito mais complexa que o DNA plasmideal e, portanto, fatores como mecanismos de influxo e efluxo não podem ser descartados. Além disso, outros alvos biológicos, além do DNA, podem estar envolvidos nos mecanismos citotóxicos destes complexos. Vale destacar que outros complexos de Pd(II) contendo pirazóis/pirazolinas como ligantes N,S-quelantes foram sintetizados e estudados por nosso grupo de pesquisa, sobretudo variando-se o substituinte ligado ao nitrogênio (Figura 16). Dentre estes complexos sintetizados nota-se um incremento da atividade citotóxica frente à linhagem LM3 em que há a presença de grupos lipofílicos - compostos contendo ligantes tmdmPz e tfdmOH, substituídos por metil e fenil, respectivamente - ao grupo tioamida destes ligantes se comparado aos compostos do tipo [PdX₂(tdmPz)]. Destaca-se os complexos [PdX₂(tmdmPz)] (X = Cl⁻, Br⁻, I⁻, SCN⁻, **1a-4a**) por possuir valores de IC₅₀ de até 10 vezes menor que a cisplatina para a linhagem LM3.

Figura 16 – Índices de citotoxicidade (IC₅₀) de complexos de fórmula [PdX₂(tdmPz)], [PdX₂(tmdmPz)] e [PdX₂(tfdmOH)], sintetizados pelo grupo, frente a linhagem de adenocarcinoma mamário murino LM3⁵⁴⁻⁵⁶

 [PdX₂(tdmPz)]		 [PdX₂(tmdmPz)]		 [PdX₂(tfdmOH)]	
IC ₅₀ (μmolL ⁻¹)		IC ₅₀ (μmolL ⁻¹)		IC ₅₀ (μmolL ⁻¹)	
X = Cl	90,2	X = Cl	3,29	X = Cl	8,82
X = Br	101	X = Br	3,40	X = Br	6,79
X = I	24,5	X = I	2,53	X = I	6,81
X = SCN	41,7	X = SCN	3,17	X = SCN	3,64
cisplatina	30,3	cisplatina	30,3	cisplatina	30,3

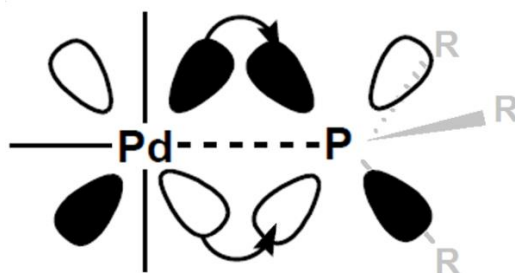
Fonte: autor

1.5 Ligantes fosfínicos

As fosfinas são ligantes neutros e volumosos que se caracterizam por estabilizar diferentes classes de complexos metálicos⁵⁷, tanto metais de altos quanto baixos estados de oxidação. A ligação das fosfinas com um metal envolve uma componente σ-doadora de um par de elétrons do átomo de fósforo para o metal e uma π-receptora via transferência de um par de elétrons do orbital **d** preenchidos do metal para os orbitais **d** vazios do átomo de fósforo, como

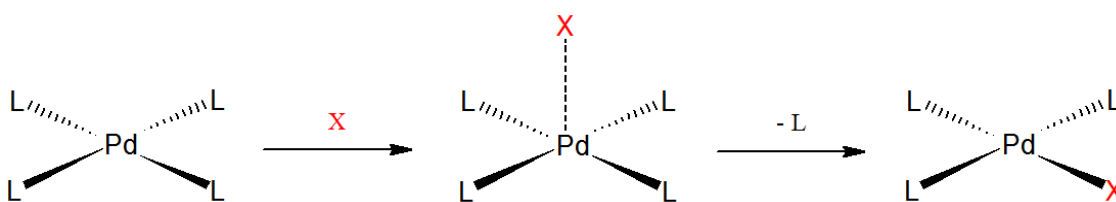
representado na Figura 17. No contexto do planejamento de novos candidatos a metalofármacos de Pd(II), a utilização de ligantes fosfínicos volumosos em complexos de paládio consiste em uma estratégia muito interessante para a obtenção de complexos cineticamente mais estáveis. Considerando que o mecanismo de substituição de ligantes que predomina em complexos de Pd(II) é o associativo (Figura 18)⁵⁸, é bem estabelecido que a presença de ligantes volumosos no poliedro de coordenação dificulta a formação do intermediário pentacoordenado e, conseqüentemente, retarda a substituição de ligantes através deste mecanismo. A inserção de trifenilfosfina entre outras fosfinas terciárias na estrutura molecular do complexo também promove um aumento da lipofilicidade, podendo auxiliar a sua permeabilidade através da membrana celular⁵⁷, além de possuir citotoxicidade frente a alguns tumores⁵⁹.

Figura 17 – Representação da retrodoação do metal para o átomo de fósforo



Fonte: Autor

Figura 18 – Mecanismo associativo para substituição de ligantes em complexos d8.

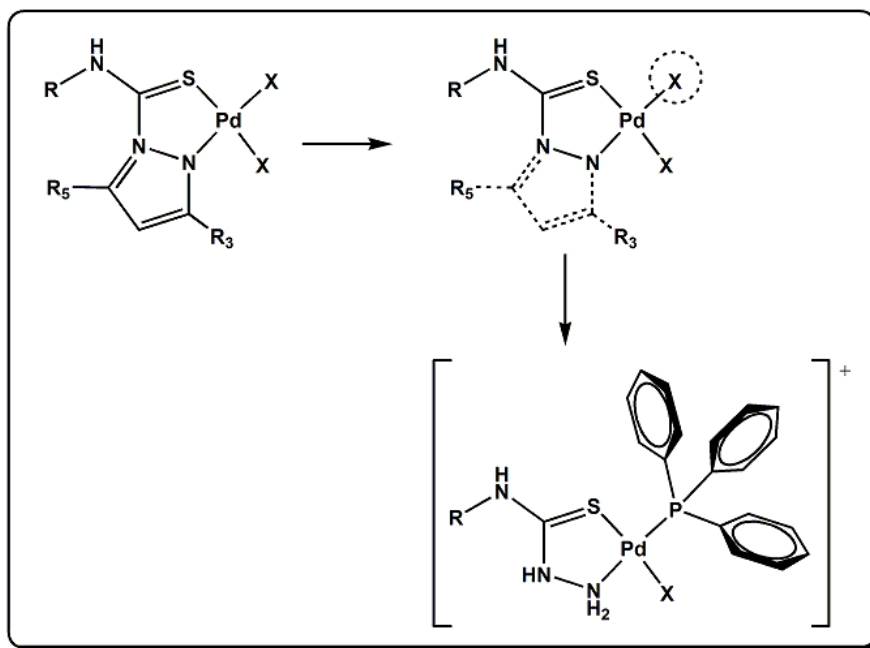


Fonte: Autor

Apesar de apresentarem uma atividade citotóxica promissora frente a duas linhagens de tumores murinos, a baixa solubilidade dos complexos de Pd(II) contendo tiocarbamoilpirazóis/pirazolinas (Figura 16, página 33) em solventes hidrofílicos nos impulsionou a realizar algumas mudanças nos seus respectivos arcabouços moleculares. Além disso, a trifenilfosfina tem um volume molecular adequado para ocupar bolsões hidrofóbicos nos sítios de várias enzimas, o que favorece a estabilização do complexo composto de paládio-

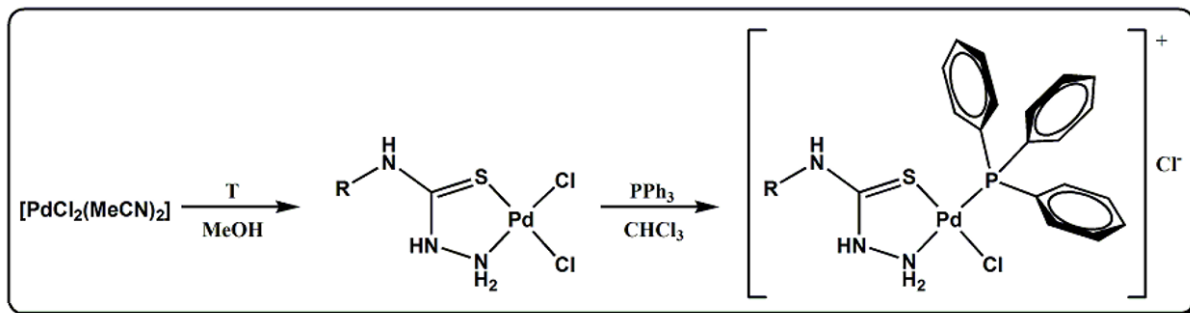
enzima. Dentre estes fatores, foram sintetizados e estudados complexos de Pd(II) contendo N,S-doadores e trifenilfosfina em sua esfera de coordenação (Figura 19 e 20). Vale destacar que a substituição do grupo X^- pela trifenilfosfina pode conduzir à formação de um complexo catiônico, como foi verificado para o complexo **3b** por difratometria de raios X de monocristal (Figura 21)^{60,61}, acarretando possivelmente em uma maior solubilidade em solventes hidrofílicos que se comparado a complexos neutros análogos.

Figura 19 – Design de uma nova família de complexos $[PdX(T)(PPh_3)]X$ $\{X = Cl^-$ (**1b**), Br^- (**2b**); I^- (**3b**); SCN^- (**4b**); $T =$ tiossemicarbazidas} a partir dos protótipos $[PdX_2(tmdmPz)]$

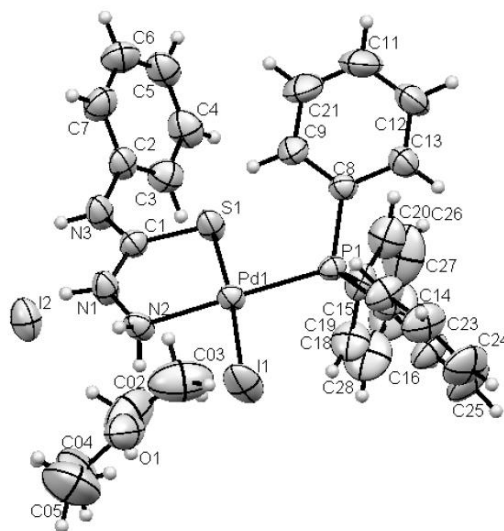


Fonte: Autor

Figura 20 – Síntese do complexo **1b**, $[PdCl(4-PhT)(PPh_3)]Cl$ $\{4-PhT = N$ -fenil-tiossemicarbazida}



Fonte: Autor

Figura 21 – Estrutura do complexo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(4\text{-PhT})]\text{I}$ (**3b**)**Fonte:** ROCHA, F. V.^{60,61}

A substituição de um ligante tiocarbamoilpirazol por uma tiosemicarbazida objetiva manter a presença de um ligante *N,S*-quelante. Além disso, a substituição do anel aromático pirazólico por grupos polares ($-\text{NH}-$ e $-\text{NH}_2$) visa intensificar as ligações de hidrogênio entre o complexo e o receptor, maximizando assim a estabilização da supramolécula receptor-complexo de Pd(II). Ensaio de citotoxicidade (método do MTT) envolvendo os complexos **1b-4b** e a cisplatina foram realizados *in vitro* frente às linhagens tumorais murinas, adenocarcinoma mamário (LM3) e adenocarcinoma pulmonar (LP07)^{60,61}. Os valores de IC_{50} estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de IC_{50} dos compostos $[\text{PdX}(4\text{-PhT})(\text{PPh}_3)]\text{X}$ {X = Cl^- (**1b**), Br^- (**2b**); I^- (**3b**); SCN^- (**4b**)} e da cisplatina contra as células tumorais murinas LM3 e LP07 após 24 h de exposição

Complexo	Linhagens Celulares	
	LM3	LP07
Cisplatina	30,3 ($\pm 3,7$)	4,3 ($\pm 0,4$)
1b	8,57 ($\pm 1,21$)	7,11 ($\pm 0,64$)
2b	8,84 ($\pm 2,8$)	3,58 ($\pm 0,16$)
3b	2,79 ($\pm 0,58$)	3,72 ($\pm 0,71$)
4b	4,61 ($\pm 1,69$)	3,56 ($\pm 0,31$)

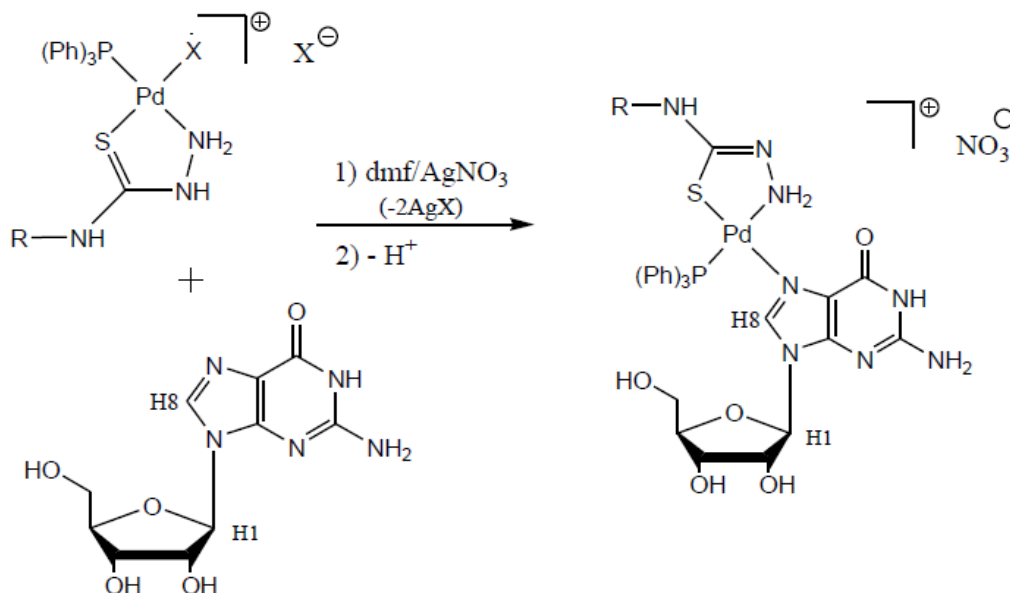
Fonte: ROCHA, F. V.^{60,61}

Para a linhagem LP07, todos os complexos apresentaram uma boa citotoxicidade, especialmente **2b-4b**, os quais possuem atividade similar ao cisplatina. Observando os resultados para a linhagem LM3, a atividade de todos os complexos foi consideravelmente maior do que a do cisplatina. Valendo a pena destacar os compostos **3b** e **4b**, com valores de

citotoxicidades 11 e 6,5 vezes maior do que o medicamento de referência, respectivamente. Estes resultados sugerem que a presença de diferentes contra íons afetam significativamente a citotoxicidade dos complexos, indicando que a força da ligação Pd-X possui um papel importante na atividade dos compostos. A substituição do cloro por bromo, iodo ou tiocianato, átomos ou grupos, mais volumosos e macios, diminuiu o valor de IC₅₀, mostrando que, neste caso, uma ligação mais forte entre o metal e o haleto ou pseudo-haleto confere em uma maior atividade.

Estudos de interação entre os complexos **1b-4b** e a guanosina mostraram que os compostos reagem com a nucleobase somente após a remoção do grupo X⁻ mediante precipitação com AgNO₃ em dmf (Figura 22).

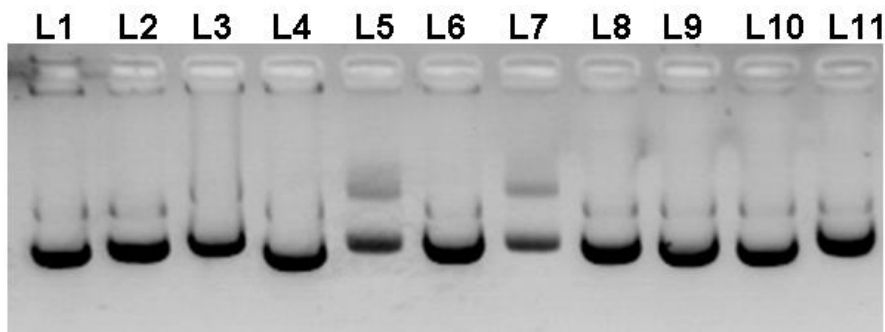
Figura 22 – Reação entre os complexos **1b-4b** e a guanosina



Fonte: ROCHA, F. V.^{60,61}

Medidas de eletroforese em gel dos complexos **1b-4b** (Figura 23) mostram que somente os complexos **1b**, **2b** e **4b** interagiram com o DNA em altas concentrações (100 μM). Já o complexo [PdI(PPh₃)(4-PhT)]I (**3b**) se mostrou incapaz de reduzir a mobilidade eletroforética do DNA, bem como em danificar a sua estrutura.

Figura 23 – Incubação do plasmídeo com os complexos **1b-4b** e cisplatina por 24 h. Linha 1: plasmídeo em água. Linha 2: plasmídeo em água/dmf (2.5%). Linha 3: cisplatina (20 μ M). Linha 4: **1b** (10 μ M). Linha 5: **1b** (100 μ M). Linha 6: **2b** (10 μ M). Linha 7: **2b** (100 μ M). Linha 8: **3b** (10 μ M). Linha 9: **3b** (100 μ M)/ Linha 10: **4b** (10 μ M). Linha 11: **4b** (100 μ M)



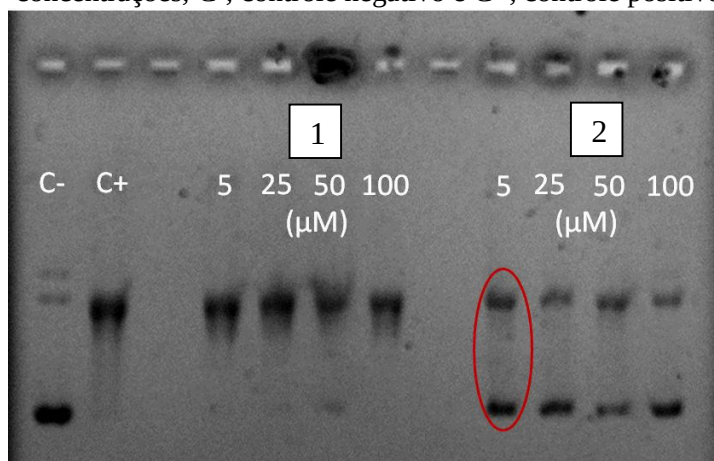
Fonte: ROCHA, F. V.^{60,61}

Diante destes dados pode-se concluir que a maioria dos compostos interage diretamente com o DNA, mas apenas em concentrações altas, o que vai de encontro com os resultados obtidos na avaliação da citotoxicidade destas moléculas, uma vez que o IC₅₀ varia entre 2,79-8,84 μ M e 7,11-3,56 μ M frente as células tumorais LM3 e LP07, respectivamente. Desta maneira, a atividade citotóxica deve ser originada a partir da interação desses complexos de Pd(II) frente a outros alvos farmacológicos diferentes do DNA. É bem estabelecido na literatura que células tumorais de uma maneira geral, principalmente de mama e pulmão, possuem uma elevada expressão das enzimas DNA-topoisomerases, sendo o alvo de alguns fármacos no tratamento de diversos tipos de câncer⁶². Uma vez que os complexos de Pd(II) apresentaram alta citotoxicidade frente a linhagens tumorais de mama e de pulmão, decidimos investigar a capacidade desses complexos em inibir enzimas DNA-topoisomerases.

Os complexos de **1b-4b** tiveram sua habilidade de inibição contra a topo I humana avaliada na concentração de 50 μ M. Os complexos foram incubados por 40 minutos juntamente com o DNA superenovelado e a enzima. Controle positivo (DNA + topo I), e controle negativo (DNA), foram feitos para fins comparativos. Os resultados obtidos mostraram que os complexos não foram capazes de inibir a ação da topoisomerase I na concentração testada.

Por outro lado, os ensaios de inibição da enzima topo II α mostraram que, com exceção do composto **1**, todos os outros complexos foram capazes de interromper a ação da enzima topoisomerase II sobre a estrutura superenovelada do DNA em concentrações entre 5-25 μ M (Figura 24).

Figura 24 – Incubação do plasmídeo com os complexos **1b** e **2b** e a topo II por 40 min em diferentes concentrações, C-, controle negativo e C+, controle positivo

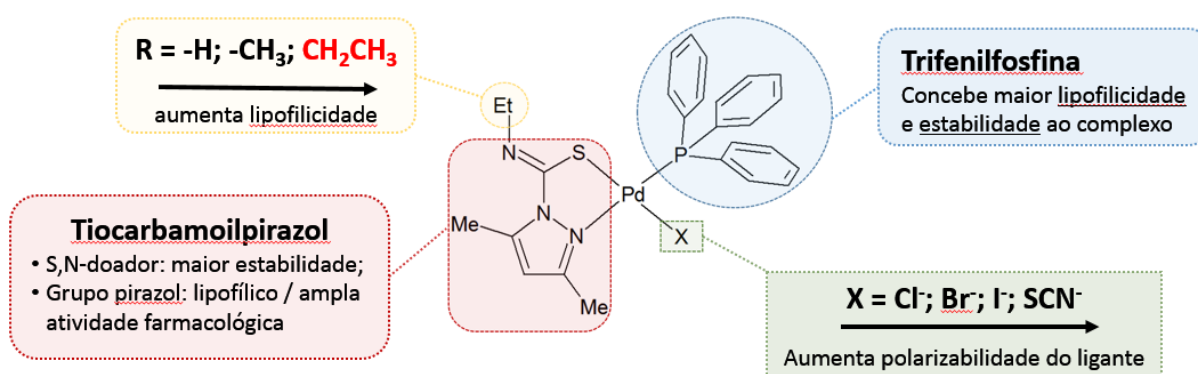


Fonte: ROCHA, F. V.^{60,61}

1.6 Princípios norteadores usados no planejamento de novos compostos de coordenação

Motivado pelos resultados obtidos^{54-56,61}, foram discutidos nesta dissertação a síntese e caracterização de compostos de coordenação contendo um tiocarbamoilpirazol como ligante N,S-doador, utilizando-se o etil como grupo lipofílico no átomo de nitrogênio da tioamida; avaliação da atividade com introdução de bases mais polarizáveis que o cloreto (ex. Br, I, SCN⁻); introdução do ligante trifenilfosfina a fim de proporcionar maior estabilidade ao complexo.

Figura 25 – Estratégia relacionando-se estrutura-atividade para os tiocarbamoil pirazóis monoquelatos

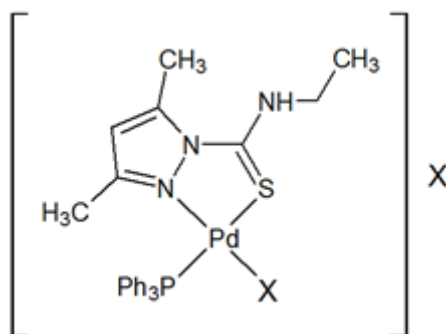


Fonte: Autor

Os compostos quelatos de Pd(II) contendo ligantes 1-tiocarbamoilpirazólicos e trifenilfosfina (Figura 26) representam portanto uma alternativa promissora no design de novos agentes antitumorais, visto o número significativo de relatos na literatura sobre suas citotoxicidades frente as células tumorais e microorganismos patógenos. Neste contexto, os

resultados provenientes da pesquisa que propomos sobre complexos quelatos de Pd(II) podem resultar no desenvolvimento de novos compostos de potencial farmacológico que sejam mais seletivos, menos tóxico e mais ativos que os fármacos tradicionais utilizados no tratamento do câncer (ex. cisplatina).

Figura 26 – A estrutura, a priori pretendida, dos quelatos de Pd(II) sintetizados e estudados neste trabalho



Fonte: Autor

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Planejamento de novos complexos de Pd(II) contendo ligante bidentado N,S-doador com a presença do ligante fosfínico terciário e investigação de sua atividade citotóxica frente as células tumorais.

2.2 Objetivos Específicos:

- I. Síntese e caracterização do composto orgânico N-etil-3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol via metodologia empregada pelo grupo;
- II. Síntese e caracterização dos compostos monoquelatos de Pd(II), utilizando os ligantes: cloreto; brometo; iodeto; tiocianato; N-etil-3,5-dimetil-1-tiocarbamoilpirazol e trifenilfosfina;
- III. A investigação do índice de citotoxicidade (IC_{50}) dos complexos preparados frente à linhagem de adenocarcinoma mamário humano MCF-7;
- IV. Ensaios envolvendo a reação dos complexos sintetizados com a guanosina.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Procedência de solventes e reagentes

Foram utilizados solventes e reagentes de padrão analítico, sem purificação prévia e armazenados em frascos de vidro escuro, sendo o pentano e clorofórmio- d_1 mantidos em geladeira. A Tabela 4 apresenta a procedência dos solventes e reagentes empregados neste trabalho.

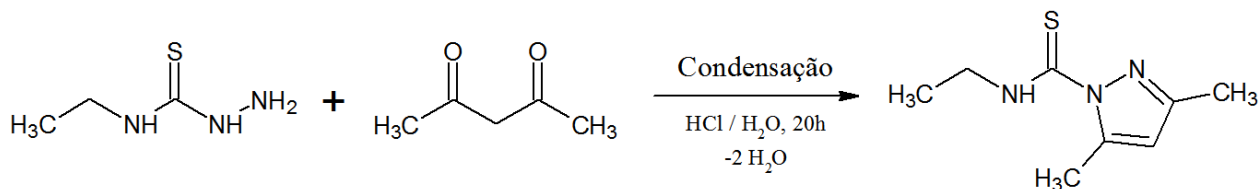
Tabela 4. Procedência de solventes e reagentes.

Reagentes	Procedência	Função	Solventes	Procedência	Função
Ácido Clorídrico	Merck	SL	Álcool metílico	Merck	SC
Álcool etílico	Merck	SL	Brometo de Potássio	Carlos Erba	SC
Éter etílico	Synth	SL	Cloreto de paládio	Vetec	SC
4-Etil-3-tiossemicarbazida	Sigma-Aldrich	SL	Iodeto de Potássio	Merck	SC
2,4-Pentadiona	Merck	SL	Tiocianato de Potássio	Merck	SC
Pentano	Synth	SL/SC	Clorofórmio- d_1	Sigma-Aldrich	RMN
Acetonitrila	Mall.Chem.	SC	dmf	Synth	E
Guanosina	Sigma-Aldrich	E	dms- d_6	Deutero	RMN
dms- d_6	Synth	E	Clorofórmio	Merck	SC

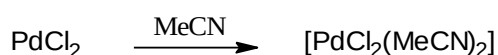
“SL”: utilizado na etapa de síntese do ligante; “SC”: utilizado na etapa de síntese do complexo; “RMN”: utilizado como solvente na técnica de ressonância magnética nuclear; “E”: utilizado para ensaios e/ou dados de solubilidade dos produtos.

3.2 Metodologia de síntese

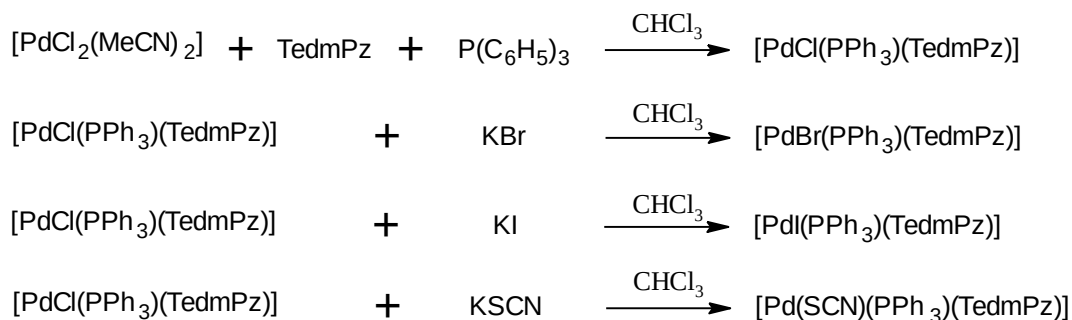
A metodologia utilizada para a síntese do composto orgânico consiste na reação entre os compostos 2,4-pentadiona e 4-etil-3-tiossemicarbazida em meio aquoso levemente ácido (pH entre 2 e 3)⁵⁴.



O precursor de paládio foi obtido a partir da adição de cloreto de paládio ao solvente acetonitrila a quente:



Os complexos contendo trifenilfosfina foram obtidos a partir da substituição dos ligantes MeCN e um dos cloretos da esfera de coordenação pela adição do ligante quelante tedmPz e trifenilfosfina, sendo substituído o cloreto por outros haletos e pseudo-haletos pela adição de sais de potássio:



3.3 Síntese dos compostos

[PdCl₂(MeCN)₂]: Em um erlenmeyer de 125 mL de capacidade contendo 40 mL de acetonitrila a 60° C foram adicionados lentamente 1,00 g (5,64 mmols) de cloreto de paládio anidro (PdCl₂). A suspensão foi mantida sob intensa agitação magnética por 3 horas. Após este período o sistema fora resfriado lentamente, obtendo-se um precipitado amarelo cristalino. O sólido foi isolado a partir de uma filtração em funil de buchner. Massa do produto: 1,02 g. Rendimento(%): 71.

Ligante tedmPz: Em um erlenmeyer de 125 mL de capacidade contendo 340,6mg (2,858 mmol) de 4-etil-3-tiossemicarbazida (C₃N₃H₉S) dissolvido em uma mistura de 40,0 mL de água destilada e aproximadamente 0,02 mL de HCl concentrado foi adicionado um volume de 3,00 mL (2,906 mmol) de solução de volume 1:9 de 2,4-pentadiona e álcool etílico (9,688 mmol/mL). A adição do reagente conduziu à formação de uma solução leitosa, que desapareceu em poucos minutos dando lugar a uma fase oleosa. A agitação magnética foi mantida por 20 horas, obtendo-se uma fase oleosa amarelo esverdeada pouco viscosa, sendo esta purificada via extração fracionada em uma solução de pentano e água seguida de sucessivas lavagens. O produto foi seco em dessecador por 4 horas sob vácuo. Massa do produto: 362,0 mg. Rendimento(%): 76,5.

[PdCl(tedmPz')(PPh₃)],⁽¹⁾ (composto 1): Em um erlenmeyer de 25 mL de capacidade contendo 100,0 mg do precursor [PdCl₂(MeCN)₂] (0,3854 mmol) solubilizado em volume de 7,0 mL de clorofórmio, foram adicionados 70,6 mg de tedmPz (0,3852 mmol) e 101,1 mg de PPh₃ (0,3854 mmol) solubilizados em solução de clorofórmio e metanol (1:2), obtendo-se após 1 hora de agitação solução amarelo alaranjada contendo pouca quantidade de precipitado. A solução foi filtrada, lavada com água e seu solvente quase totalmente evaporado em capela, obtendo-se um sólido amorfo após adição de pentano ao sistema. O sólido foi filtrado em funil de buchner e seco em dessecador por 4 horas. Massa do produto: 186,4. Rendimento(%): 82,5.

[PdBr(tedmPz')(PPh₃)] (composto 2): Fez-se a mesma metodologia de adição de reagentes para a síntese do composto 1 (partindo-se de 60,6 mg, ou 0,2330 mmol, de [PdCl₂(MeCN)₂]), adicionando *in situ*, após 30 minutos do início da reação, 44,8 mg de KBr (0,376 mmol, aproximadamente 1,6:1 composto 1) sob agitação intensa, sendo o sistema mantido por 12 horas, obtendo-se uma solução alaranjada com pouco precipitado, sendo esta lavada, precipitada e seca sob mesma metodologia descrita para o composto 1. Massa do produto: 118,6 mg. Rendimento(%): 80,6.

[PdI(tedmPz')(PPh₃)] (composto 3): Fez-se a mesma metodologia de adição de reagentes para a síntese do composto 1 (partindo-se de 51,5 mg, ou 0,1981 mmol, de [PdCl₂(MeCN)₂]), adicionando *in situ*, após 1h do início da reação, 39,3 mg de KI (0,2367 mmol, aproximadamente 1,2:1 Pd) sob agitação intensa, sendo o sistema mantido por 2 horas, obtendo-se uma solução avermelhada com presença de precipitado. Verificou-se que sólido não possuía o ligante quelato, sendo este descartado. O sobrenadante lavado com água e evaporado até volume aproximado de 1 mL, obtendo-se precipitado após a adição de 10 mL de etanol. O precipitado (3) foi filtrado em funil de buchner e seco em dessecador. Aspecto do sólido: cristalino, cor vermelha. Massa do produto: 46,5 mg. Rendimento(%): 34,6.

[Pd(SCN)(tedmPz')(PPh₃)] (composto 4): Fez-se a mesma metodologia de adição de reagentes para a síntese do composto 1 (partindo-se de 46,9 mg de [PdCl₂(MeCN)₂], 0,1801 mmol), adicionando *in situ*, após 1 h do início da reação, 35,0 mg de KSCN (0,360 mmol, aproximadamente 2:1 TePd(PPh)₃Cl) sob agitação intensa, obtendo-se uma solução alaranjada com pouco precipitado, sendo esta lavada, precipitada e seca sob mesma metodologia descrita

⁽¹⁾ Diferencia-se tedmPz' de tedmPz pela desprotonação do ligante no complexo, formando-se um iminotiolato.

para o composto TePd(PPh)Cl, obtendo-se sólido amorfo amarelo. Massa do produto: 91,7 mg. Rendimento(%): 83,6.

3.4 Métodos instrumentais

Análise Elementar

As análises quantitativas dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio foram efetuadas no analisador automático da Perkin-Elmer, modelo 240, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da USP - São Paulo.

Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Nicolet IS5 Thermo Scientific, atuando na região de 4000-400 cm^{-1} , utilizando-se de pastilhas de KBr.

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram registrados nos Espectrômetros multinuclear Bruker, modelos Fourier 300 (7.0 T, Sonda: Easy Probe Dul 300MHz S1 5mm z Gradient) e Avance III 600 HD (14,1 T, Sonda: Triple Inverse TCI Cryo-probehead), localizados no IQ-UNESP de Araraquara. Utilizou-se clorofórmio- d_1 e dmsO-d_6 para dissolução das amostras. Os deslocamentos químicos obtidos foram referenciados pelos solventes. Software para aquisição: TopSpin v.3.2.

Medidas de Condutividade

As medidas de condutividade foram realizadas pelo condutivímetro DM 31 Digimed. Utilizou-se soluções de dmf em concentração do composto de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$.

Medidas de Ponto de Fusão

As medidas de ponto de fusão foram realizadas no aparelho MQAPF-302, de temperatura máxima de 350°C. Utilizou-se o valor de taxa de aquecimento de 3,0 °C/min.

Espectrometria de Massas

Para espectrometria de massas foi utilizado o espectrômetro modelo 3200 QTRAP LC/MS/MS contendo analisador híbrido triplo quadrupolo/armadilha de íons linear (LIT),

localizado no IQ-UNESP de Araraquara. A análise foi realizada por infusão direta MS/MS utilizando-se metanol padrão LC-MS como solvente no modo positivo de ionização por electrospray. Parâmetros: IonSpray (IS): 5000 V, DP: 20V, EP: 10V. Experimentos: varredura de íons (200 – 1000) e enhanced resolution (ER). As amostras foram preparadas dissolvendo-se 1mg de analito em metanol padrão HPLC-MS e posteriormente diluído a concentrações adequadas para o experimento.

Difração de raios X de monocristais

A determinação estrutural por difração de raios X de monocristal foram realizadas em um difratômetro BRUKER APEX II Duo, equipado com duas micro fontes, de cobre e molibdênio, e sistema OXFORD de baixa temperatura. As estruturas foram determinadas em colaboração com o Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon.

3.5 Testes biológicos com células tumorais

Medidas de Atividade Biológica

Os experimentos biológicos foram realizados no Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, em colaboração com a Prof^a. Dr^a. Iracilda Z. Carlos e a doutoranda Francine A. Manente. Foi avaliado o índice de citotoxicidade dos complexos **1-4** e do composto orgânico tedmPz frente as células tumorais MFC-7.

Determinação da viabilidade celular

Foram adicionados 200 µL das células tumorais ajustadas a uma concentração de 5×10^5 células mL⁻¹ em cada poço de placas 96 poços. Após 24 h de incubação, período necessário para as células aderirem à placa, foram colocados 200 µL de soluções de concentrações conhecidas dos compostos sintetizados em cada poço. Após incubação por mais 24 h, as células foram expostas ao MTT por 3 h. O conteúdo da placa foi então vertido e adicionadas a cada poço 100 µL de álcool isopropílico visando solubilizar os cristais de formazana formados. A leitura da absorbância foi realizada em fotolorímetro UV/Visível (Multiskan Ascent, Labsystems), em comprimento de onda de 540 nm e filtro de referência 620 nm. Foram realizados dois experimentos independentes em triplicada para cada concentração. Os valores correspondentes à concentração que reduz em 50% a viabilidade celular (IC₅₀) dos compostos foram quantificados através da regressão não linear de uma curva dose-resposta de cada gráfico obtido por Concentração x Viabilidade Celular, obtidos utilizando-se o programa OriginPro 8.

Preparo das soluções

As soluções-mãe dos compostos foram preparadas dissolvendo-se 5,0 μmol de cada composto em 1,0 mL de dmso (5,0 mmol L^{-1}) e posterior diluição com meio de cultura DMEM momentos antes da aplicação das amostras nos testes de citotoxicidade, atingindo concentração máxima de dmso de 2,0% v/v. As concentrações obtidas para o ensaio foram 100; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Reação com o nucleosídeo guanosina

Foram solubilizados em 5 mL de metanol 6,00 mg de guanosina (21,2 mmol) e adicionadas quantidades estequiométricas dos complexos **1-4** sob agitação, deixando o sistema deste modo por 24 h. O solvente foi removido via evaporação em capela, seco em dessecador a vácuo por 4 horas e finalmente realizado o experimento em dmso- d_6 . A ocorrência da reação fora verificada via espectroscopia de RMN dos complexos e a guanosina livre.

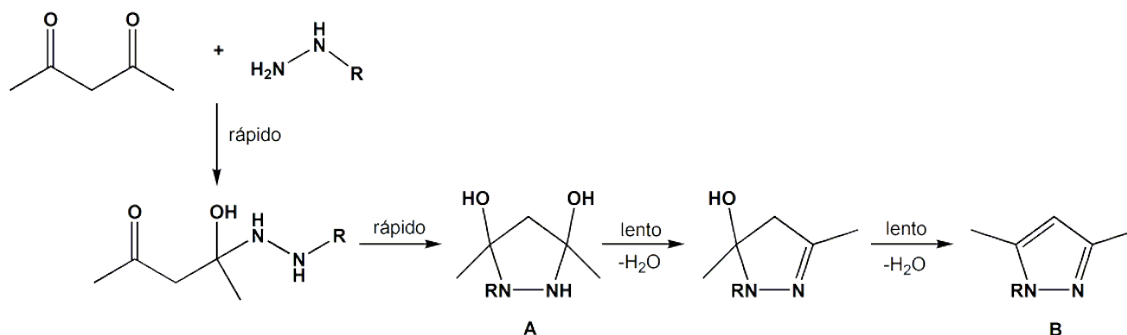
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização espectroscópica do composto tedmPz (3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol):

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho e de RMN é de grande importância na elucidação de estruturas de diversas classes de compostos orgânicos ou de coordenação, sobretudo na identificação de grupos funcionais envolvidos e o modo de coordenação dos ligantes. Os principais modos vibracionais discutidos serão os que indicam a ocorrência da síntese do ligante (perda dos grupos C=O e formação do anel pirazólico) e referentes à formação do complexo, observados pelas variações nos modos vibracionais dos grupos funcionais pirazol, tioamida, fosfina e tiocianato, além da variação dos sinais dos núcleos de ^1H e ^{13}C para regiões de maior ou menor blindagem no espectro, importantes na identificação do modo de coordenação no quelato.

O mecanismo de reação envolvido na síntese de pirazóis a partir da acetilacetona (Hacac) é bem estabelecido na literatura, sendo no intervalo de pH de 1,5-3,0 constatada a condensação catalisada por ácido⁶³. A reação em questão envolve a formação de intermediários diidróxipirazolidínicos (A) (Figura 27)⁶³. Não há evidências de formação de hidrazonas como intermediários, de modo que o produto da adição da hidrazina com uma das carbonilas do acac é seguido de uma ciclização imediata. O intermediário diol (A) então sofre duas eliminações sucessivas para gerar o produto (B).

Figura 27 – Mecanismo de reação entre acetilacetona e hidrazinas

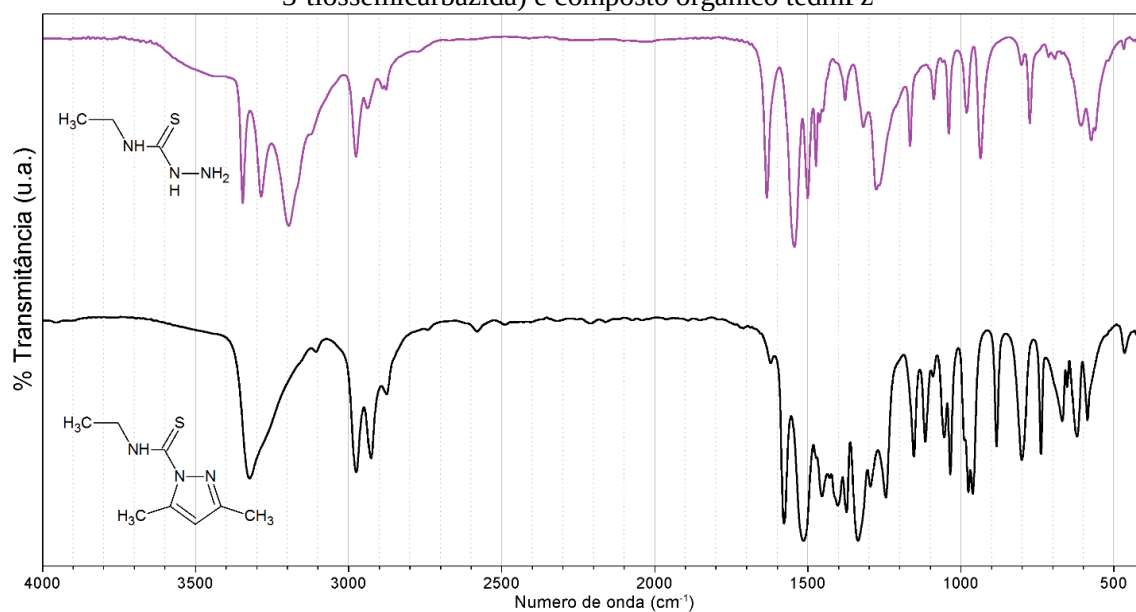


Fonte: Adaptado de KATRITZKY, A. R.⁶³

A síntese do composto orgânico 3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol foi obtida através da metodologia utilizada pelo grupo para o composto 3,5-dimetil-1-(N-metil)-tiocarbamoilpirazol⁵⁴, e sua caracterização foi realizada acompanhando os espectros no IV e

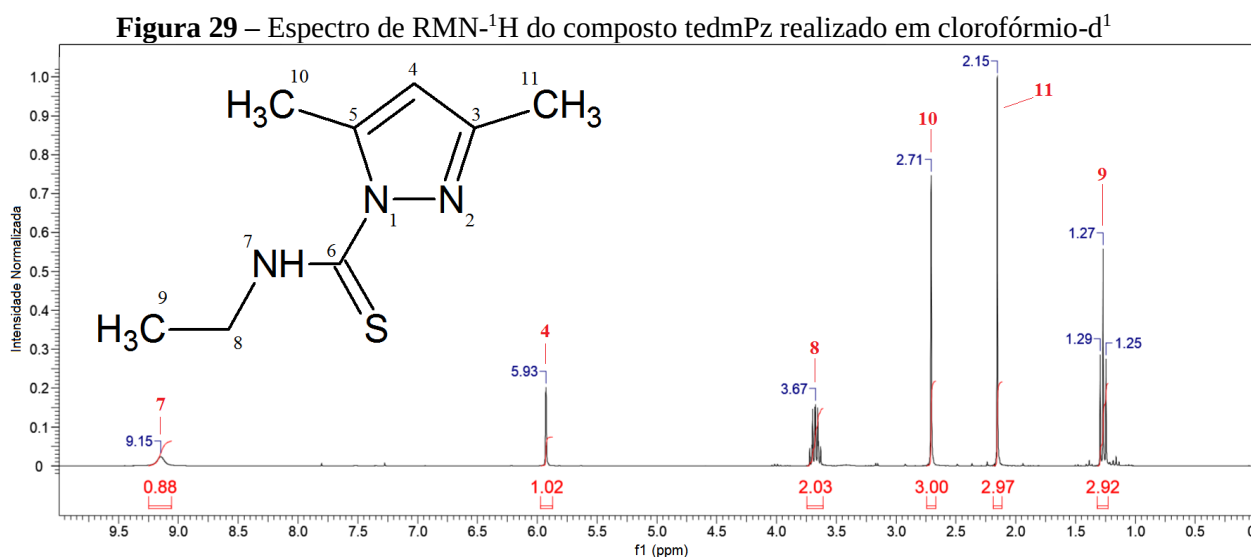
RMN do composto análogo⁶⁴. No espectro vibracional no IV do produto (Figura 28) nota-se a formação do anel pirazólico pelo desaparecimento de duas das bandas νNH (entre 3100 e 3400 cm^{-1}) e ausência de bandas intensas referentes ao $\text{C}=\text{O}$ (aproximadamente 1700 cm^{-1}), além da formação da banda de $\nu\text{C}=\text{N}$ (1577 cm^{-1}) referente ao anel pirazólico. O espectro em questão será fundamental a posteriori para compreensão da coordenação dos complexos sintetizados.

Figura 28 – Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para o reagente (4-etil-3-tiossemicarbazida) e composto orgânico tedmPz



Fonte: autor

A espectroscopia de RMN- ^1H e ^{13}C foi de grande auxílio na identificação do produto gerado. Analisando o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H do produto (Figura 29), nota-se um conjunto de seis sinais referentes aos hidrogênios da molécula. Observa-se um sinal alargado em 9,15 ppm atribuído a ressonância de núcleos de H ligados a átomos de nitrogênio⁶⁵, um simpleto em 5,93 ppm característico ao hidrogênio ligado a carbono sp^2 e um par de quardrupletos em 3,68 ppm ($^3J_{\text{NH}} = 5,5 \text{ Hz}$; $^3J_{\text{CH}_3} = 7,2 \text{ Hz}$) Em região de campo alto, verificam-se os sinais característicos dos grupos metílicos em 2,71, 2,15 e 1,27 ppm referentes às metilas do pirazol e do grupo etil respectivamente.



Fonte: autor

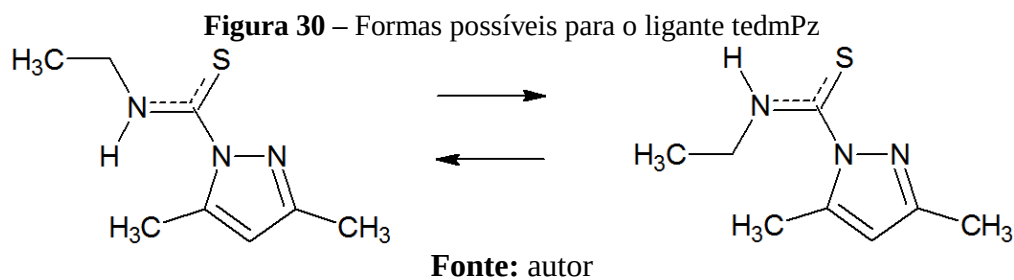
Os hidrogênios da metila da posição 5 encontram-se mais desprotegidos quando comparados aos hidrogênios da metila 3 devido a sua proximidade ao grupo tiocarbamoi⁶⁴. A integração dos sinais revelou a seguinte proporção dos átomos de H na molécula (Tabela 5):

Tabela 5. Proporção de hidrogênios obtida pelo espectro de RMN do ligante

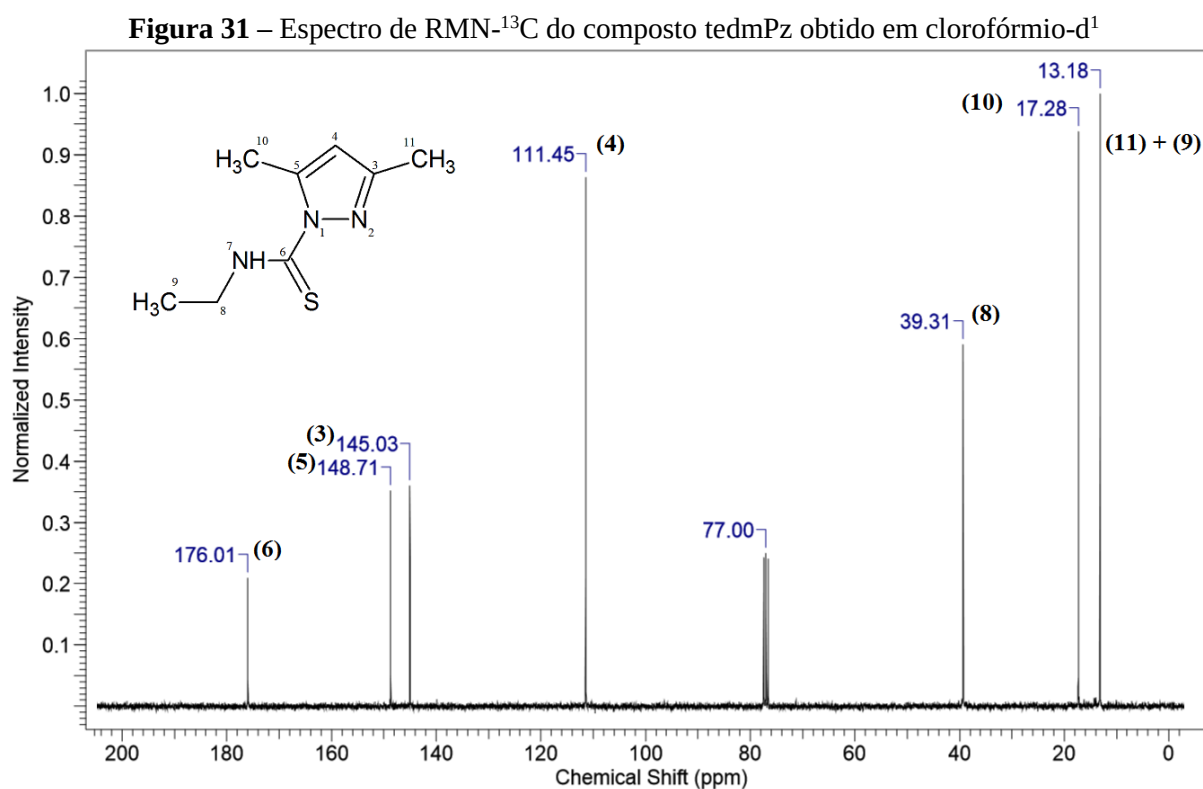
δ	9,15 s	5,93 s	3,68 dq	2,71 s	2,16 s	1,27 t (J = 7,2 Hz)
			(7,2 e 5,5 Hz)			
integração	[1H]	[1H]	[2H]	[3H]	[3H]	[3H]

Fonte: autor

O sinal referente aos hidrogênios ligados a carbonos α -tioamídicos encontra-se duplicado, possivelmente por dois fenômenos: I) efeitos de ressonância, uma vez que a ligação π encontra-se delocalizada, gerando isômeros conformacionais (Figura 30) capazes de serem distinguidos via experimento de RMN⁶⁶, uma vez que os hidrogênios se encontram em diferentes ambientes químicos em cada uma dos isômeros; II) o acoplamento com o hidrogênio ligado ao nitrogênio, subdividindo os sinais referentes aos hidrogênios dos carbonos α . Esse tipo de acoplamento é incomum para a maioria das aminas, porem pode acontecer para alguns tipos de amidas primárias e secundárias⁶⁵.



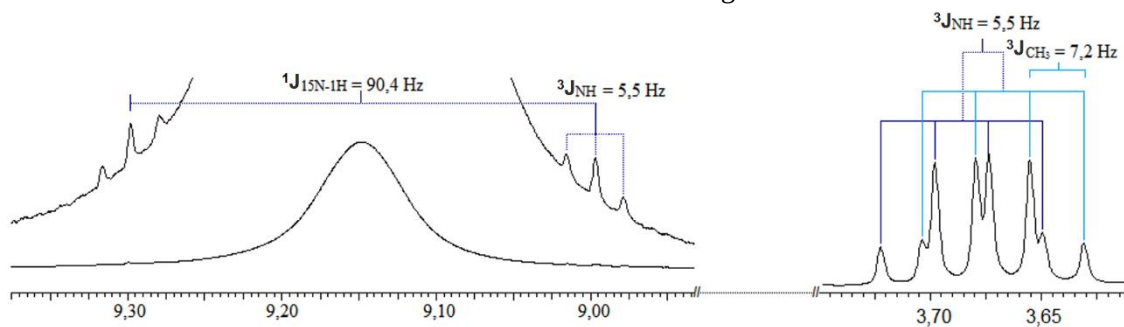
A segunda hipótese é coerente ao espectro de RMN- ^{13}C (Figura 31), uma vez que é verificado somente um sinal referente ao carbono tiocarbonílico (176,01 ppm) onde seriam esperados um conjunto de picos referente a este carbono⁶⁶.



Outro indicativo é encontrado na absorção em 9,15 no RMN de ^1H para o desdobramento pelo ^{15}N em ^1J (Figura 32). O isótopo ^{14}N possui abundância natural muito superior aos outros isótopos de nitrogênio, spin nuclear igual a 1 (e portanto momento elétrico de quadrupolo), resultando na absorção devida ao acoplamento de ^1H ao núcleo ^{14}N intensa e larga⁶⁷. Contudo, para espectros em boa resolução de amostras muito concentradas contendo pouca água é possível verificar os desdobramentos (dublete) pelos hidrogênios de carbonos α -amídicos referente ao isotopômero contendo ^{15}N (em N7), isótopo de baixa abundância e spin nuclear igual a 1/2. Estes desdobramentos variam dependendo da hibridização do nitrogênio na

molécula, variando de 89-96 Hz para pirróis e imidazóis⁶⁸. Verifica-se no espectro de RMN-¹H do ligante um dublete ($J = 90$ Hz) referente ao acoplamento ¹H-¹⁵N a uma ligação, sendo possível observar através deste os desdobramentos pelos hidrogênios do carbono α , cuja constante de acoplamento condiz com a absorção referente ao C8 ($J = 5,5$ Hz)⁶⁵.

Figura 32 – Ampliação do espectro de RMN-¹H do composto tedmPz realizado em clorofórmio-d1, destacando os sinais referentes aos hidrogênios H7 e H8



Fonte: autor

Nota-se no espectro de RMN - ¹³C a incongruência entre número de picos e carbonos presentes na molécula, o que consiste na presença de equivalência de deslocamento químico para dois dos carbonos. A equivalência é verificada nos carbonos das metilas (C9, C10 e C11), uma vez que estes possuem deslocamentos químicos semelhantes - são carbonos primários ligados a outro carbono secundário ou quaternário, sendo as absorções em 13,18 e 17,28 ppm os possíveis sinais em que há a equivalência de deslocamento químico, sendo necessários experimentos de RMN que correlacionem os espectros de RMN-¹H e ¹³C. Foram atribuídos também o deslocamento químico para C8 (39,31 ppm), C4 (111,45 ppm) e aos sinais menos intensos aos carbonos quaternários C5 (148,71 ppm), deslocado para campo mais baixo em relação ao C3 (145,03 ppm), uma vez que este se encontra próximo ao grupo tiocarbamoi⁶⁴.

4.2 Caracterização dos complexos do tipo [PdX(PPh₃)(tedmPz')] {X = Cl; Br; I; SCN}

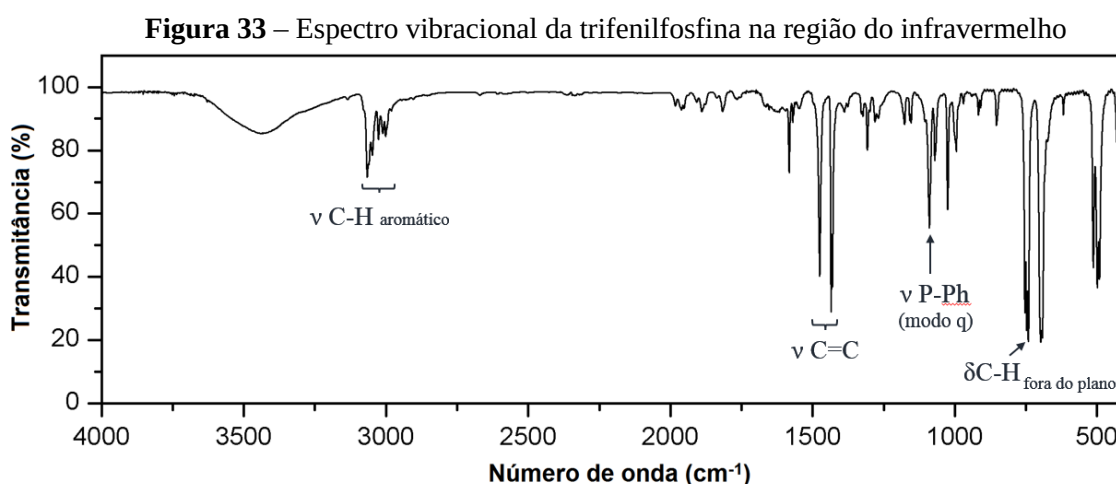
Considerações iniciais

O complexo **1** foi preparado a partir da reação entre o [PdCl₂(MeCN)₂] e os ligantes tedmPz e trifenilfosfina, na proporção molar de 1:1:1 em clorofórmio a temperatura ambiente, sendo os complexos restantes obtidos a partir do término da síntese do complexo de cloro pela adição *in situ* de seus respectivos haletos e pseudohaletos de potássio, em razões que variam dependendo do caráter polarizante do ânion.

Os compostos inéditos $[\text{PdX}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')] (X = \text{Cl}^-, \text{Br}^-, \text{I}^- \text{ e } \text{SCN}^-)$ são neutros, sólidos, de coloração entre amarelo (**4**) amarelo alaranjado (**1** e **2**) e laranja avermelhado (**3**), estáveis a condições ambientes, solúveis em clorofórmio, éter etílico, acetonitrila e acetona, pouco solúveis em metanol, etanol, dmf e dmsol e insolúvel em água.

Trifenilfosfina:

Moléculas polifenílicas do tipo $\text{X}(\text{Ph}_3)\text{n}$, como a trifenilfosfina, apresentam 30 modos vibracionais, dos quais 24 envolvem somente átomos de hidrogênio e carbono, enquanto que os modos q e t são vibrações que contêm também contribuições significativas de estiramento da ligação P-fenil. O espectro no IV do composto trifenilfosfina (PPh_3) está ilustrado na Figura 33 e seus principais modos vibracionais estão inseridos na Tabela 6⁶⁹.



Fonte: autor

Tabela 6. Dados obtidos por espectroscopia vibracional no IV para trifenilfosfina e suas atribuições

Bandas (cm⁻¹)	Atribuição
3057 (f)	$\nu_{\text{C-H}}$
1959-1813 (f)	Harmônicos
1473(F), 1429(F), 1308(f)	ν_{anel}
1178 (f)	$\beta_{\text{C-H}}$
1088 (F)	Q
995 (m)	ν_{anel}
744 (F)	$\gamma_{\text{C-H}}$
692 (F)	γ_{anel}
496 (F)	Y
427 (F)	T

Intensidades: F = forte; m = média; f = fraca.

Fonte: Adaptado de FREM, R. C. G.⁶⁹

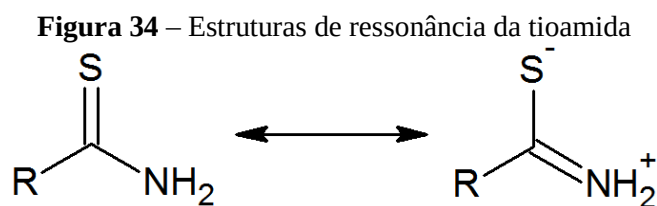
Tiocianato:

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma técnica interessante na investigação de complexos contendo pseudo-haletos em sua esfera de coordenação, principalmente pela presença de bandas características destes, sobretudo em seus diferentes modos de coordenação. Entre as bandas de absorção no IV destes compostos, a de maior importância é referente aos modos vibracionais de estiramento assimétrico, situando-se em uma região bastante limpa do espectro ($2200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$).

O íon tiocianato SCN^- apresenta dois modos vibracionais ativos importantes no infravermelho, sendo estes o próprio ν_{asCN} , intenso em 2053 cm^{-1} , e ν_{CS} pouco intenso em 748 cm^{-1} . Ele pode coordenar-se a um único metal (coordenação terminal) ou a dois ou mais centros metálicos (coordenação em ponte). A formação da ligação Pd-NCS é caracterizada pelas presenças das bandas ν_{asCN} e ν_{CS} na região de $2090\text{-}2060\text{ cm}^{-1}$ e $854\text{-}830\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Quando coordenado pelo átomo de enxofre, a banda ν_{asCN} localiza-se em torno de $2100\text{-}2150\text{ cm}^{-1}$, enquanto a banda ν_{CS} encontra-se no intervalo de $696\text{-}711\text{ cm}^{-1}$. Atuando em ponte, a banda ν_{asCN} é encontrada em regiões do espectro acima de 2130 cm^{-1} ⁷⁰. De modo semelhante, utiliza-se também para o estudo do modo de coordenação do tiocianato a espectroscopia de RMN de ^{13}C , onde são obtidos diferentes valores de deslocamento químico do carbono presente no íon tiocianato iônico, complexado via nitrogênio e via enxofre. De modo geral, verifica-se a ordem de deslocamento químico em referência ao TMS do carbono tiocianato como sendo $\text{S-ligante} < \text{iônico} < \text{N-ligante}$ ⁷¹.

Ligante tedmPz:

Sugere-se que a estrutura das tioamidas e seus análogos seja um híbrido de ressonância, com contribuição de estruturas altamente polares⁷² do tipo $^+\text{H}_2\text{N}(\text{CS}^-)\text{R}$ (Figura 34).



Fonte: autor

Compostos orgânicos portadores do grupo tioamida (HNCS) dão origem a quatro bandas características no espectro no IV⁷³. A banda **Tioamida I** é localizada em

aproximadamente 1500 cm^{-1} e possui contribuições dos modos vibracionais δNH e $\nu\text{C}=\text{N}$. A banda **Tioamida II** aparece na região de $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ e apresenta contribuições dos modos vibracionais $\nu\text{C}=\text{N} + \delta\text{NH} + \delta\text{CH}$. Espera-se em 1000 cm^{-1} a presença da banda **Tioamida III** com significativa contribuição dos modos vibracionais $\nu\text{C}=\text{N} + \nu\text{C}=\text{S}$. A banda **Tioamida IV**, com forte contribuição do modo $\nu\text{C}=\text{S}$, é encontrada no intervalo espectral de $850\text{-}700\text{ cm}^{-1}$.

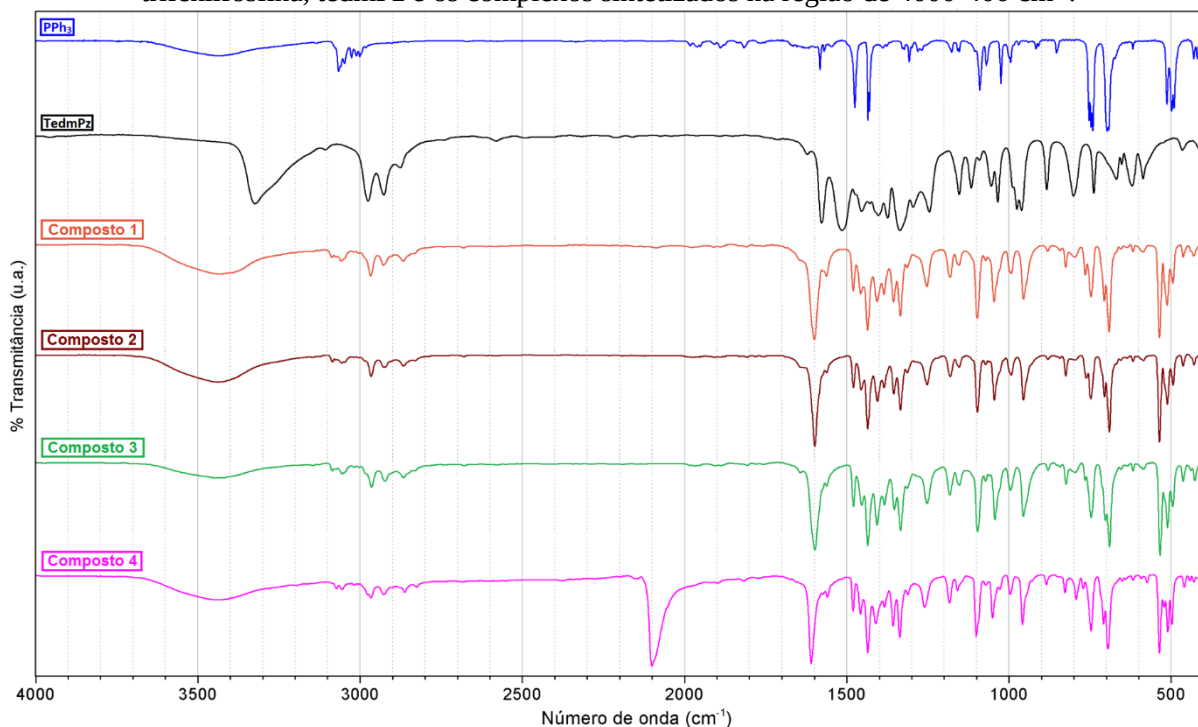
Se a coordenação ocorre via átomo de enxofre, as contribuições das estruturas altamente polares aumentam, devido à doação de um par de elétrons do enxofre ao metal, provocando um enfraquecimento da ligação $\text{C}=\text{S}$ e produzindo um caráter parcial de ligação $\text{C}=\text{N}$ ao nitrogênio da tioamida⁷⁴. Verificou-se em trabalhos anteriores a desprotonação do grupo tioamida de complexos tetracoordenados catiônicos contendo tiocarbamoilpirazóis, resultando em ligante do tipo N,S-aniônico e carga do complexo neutra⁵⁶.

Espera-se que o átomo de enxofre esteja cis-direcionado ao ligante trifenilfosfina, uma vez que a situação inversa geraria uma competição entre os átomos de enxofre pela retroligação proveniente dos elétrons disponíveis na subcamada d do metal, enfraquecendo as duas ligações Pd-S e Pd-P^{75} . Tal condição facilita a troca do íon cloreto restante por brometo, iodeto, e tiocianato. Esta substituição é facilitada também devido a outros fatores, como maior nucleofilicidade apresentada por estes ligantes em relação ao cloreto⁷⁶ e os ligantes de entrada serem bases de Pearson mais moles que o Cl^- , uma vez que o íon de Pd(II) é um ácido mole, possuindo portanto maior tendência em se ligar a bases moles⁷⁷.

4.2.1 Espectroscopia vibracional na região do IV para os complexos

A Figura 35 representa os espectros no IV dos complexos **1-4** em comparação aos ligantes PPh_3 e tedmPz . As principais frequências vibracionais presentes nos espectros no IV dos compostos foram atribuídas e encontram-se listadas na Tabela 7.

Figura 35 – Espectros vibracionais no comprimento de onda do infravermelho para os compostos trifenilfosfina, tedmPz e os complexos sintetizados na região de 4000-400 cm^{-1} .



Fonte: autor

Verifica-se o deslocamento das bandas de tioamidas características I (1516 cm^{-1}), III (976 cm^{-1}) e IV (801 cm^{-1}) para os espectros dos complexos sintetizados provocada pela desprotonação, além perda da banda atribuída ao νNH (3322 cm^{-1}), νSH (2584 cm^{-1}) e deslocamento da banda Tioamida II (1245 (**tedmPz**), 1253 (**1**), 1252 (**2**), 1253 (**3**) e 1260 cm^{-1} (**4**)) no espectro dos complexos. Todas as mudanças supracitadas indicam a desprotonação e mudança estrutural provocada pelo fluxo de elétrons no grupo tioamida, sendo o deslocamento da banda Tioamida IV para menores valores de número de onda (801 cm^{-1} para tedmPz, 705 - 702 cm^{-1} para os complexos), proveniente da dupla ligação em C-S, um forte indicativo da coordenação via átomo de enxofre. Também corroboram à estrutura pretendida os deslocamentos das bandas referentes aos complexos $\nu\text{CN}_{\text{anel}}$ (1577 (**tedmPz**), 1562 (**1**), 1561 (**2**), 1562 (**3**) e 1560 cm^{-1} (**4**)) indicando coordenação pelo $\text{N}(\text{sp}^2)$ do pirazol, em vista que a ligação $\text{Pd-N}_{\text{pirazol}}$ retira densidade eletrônica do nitrogênio.

É possível evidenciar a coordenação do ligante trifenilfosfina devido à presença de suas bandas características na região de 1481 (δCC), 1095 (q) e 747 cm^{-1} (δCH)⁶². No espectro do complexo contendo tiocianato observa-se a banda de absorção de $\nu_{\text{as}}(\text{SCN})$ em 2101 cm^{-1} , sendo este valor ambíguo para a coordenação do tiocianato via átomo de enxofre (2150 - 2100 cm^{-1}) e nitrogênio (2100 - 2080 cm^{-1}) encontrados em complexos de coordenação na literatura⁷⁰. As

frequências vibracionais presentes nos espectros no IV dos compostos foram atribuídas e encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Dados obtidos por espectroscopia no IV referente ao ligante tedmPz, seus complexos [PdX(PPh₃)(tedmPz')] (X = Cl⁻, Br⁻, I⁻ e SCN⁻) e suas atribuições

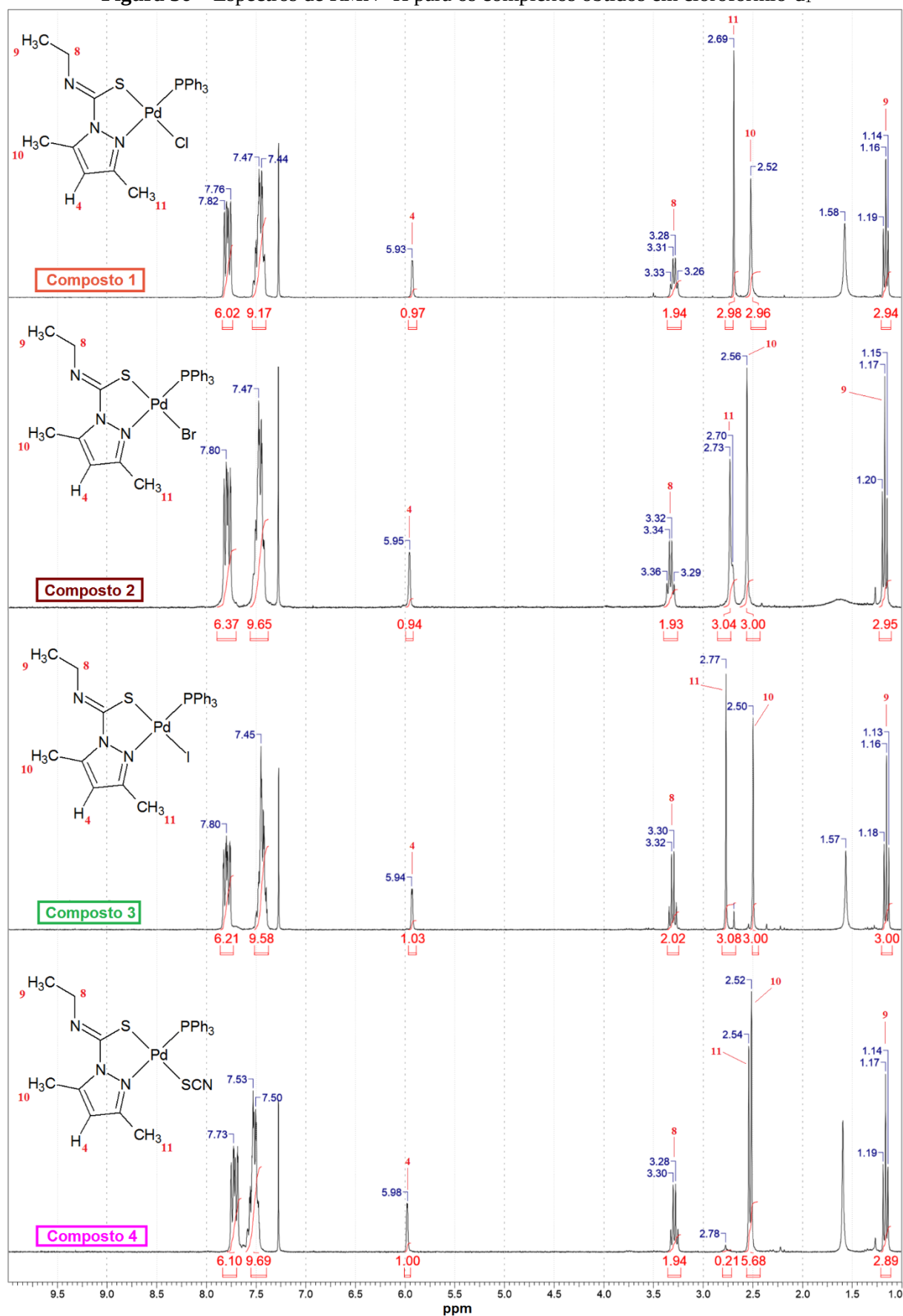
Número de onda (cm ⁻¹)					Atribuições
tedmPz	1	2	3	4	
3325	-	-	-	-	ν N-H
-	3086	3086	3086	3073	ν C-H _{fenil}
-	3057	3056	3055	3056	ν C-H _{fenil}
2975	2967	2966	2964	2966	ν C-H _{pirazol}
2927	2928	2927	2923	2927	ν C-H _{metila}
2876	2867	2866	2866	2862	ν C-H _{metila}
2584	-	-	-	-	ν S-H
-	-	-	-	2101	$\nu_{as}(\text{SCN})$
-	1600	1599	1598	1610	ν C=N _{tioamida}
1577	1562	1561	1562	1560	ν C=N _{anel}
1516	-	-	-	-	Tioamida I
-	1480	1480	1480	1481	ν C-C _{PPh3}
1454	1457	1456	1454	1458	$\delta_{as}\text{CH}_3$
1335	1335	1335	1334	1337	ν C-C _{pirazol}
1245	1253	1252	1253	1260	Tioamida II
-	1098	1098	1097	1101	ρ_{PPh_3}
1035	1046	1046	1043	1051	$\nu\text{NN}_{\text{anel}} + \delta r\text{CH}_3$
976	-	-	-	-	Tioamida III
961	955	956	956	958	$\delta r\text{CH}_3$
801	705	704	702	705	Tioamida IV
-	748	748	747	747	$\delta\text{CH}_{\text{PPh}_3}$

Fonte: autor

4.2.2 Espectroscopia de RMN-¹H e ¹³C para os complexos:

O espectro de RMN de ¹H dos complexos estão representados pela Figura 36, sendo os valores de deslocamento químico, multiplicitades, constantes de acoplamento e valores de integral contidos na Tabela 8.

Figura 36 – Espectros de RMN-¹H para os complexos obtidos em clorofórmio-d₁



Fonte: autor

Os espectros de RMN de ^1H dos complexos são semelhantes ao do ligante livre, sendo o desaparecimento do pico referente ao hidrogênio do grupo tioamida (9,15 ppm) e deslocamento das metilas do anel pirazólico as principais mudanças. Verifica-se o deslocamento do sinal referente ao H11 para campo mais baixo após a complexação (2,16 ppm para o ligante e 2,69, 2,73, 2,77 e 2,54 ppm para os complexos contendo Cl^- , Br^- , I^- e SCN^- respectivamente), visto que com a formação da coordenação do Pd(II) ao nitrogênio do pirazol torna a metila próxima mais desprotegida⁶⁴, enquanto que o H10 desloca-se para campo mais alto (2,71 ppm para o ligante e 2,52, 2,55, 2,50 e 2,52 ppm para os complexos contendo Cl^- , Br^- , I^- e SCN^- respectivamente), resultado da mudança dos grupos tioamida (desprotonação) próximos à metila. Verificam-se os sinais referentes aos hidrogênios do grupo trifenilfosfina deslocados para campo de maior desblindagem se comparado ao ligante livre (7,3 ppm), proveniente da formação da ligação de coordenação. Além disso, verifica-se efeito de anisotropia para os hidrogênios H11, sobretudo ao composto contendo tiocianato, uma vez que a proximidade das duplas ligações do ligante tiocianato é capaz de promover efeito proteção aos hidrogênios da metila do pirazol.

Tabela 8 – Dados referentes aos espectros de RMN- ^1H para o ligante livre e complexos sintetizados

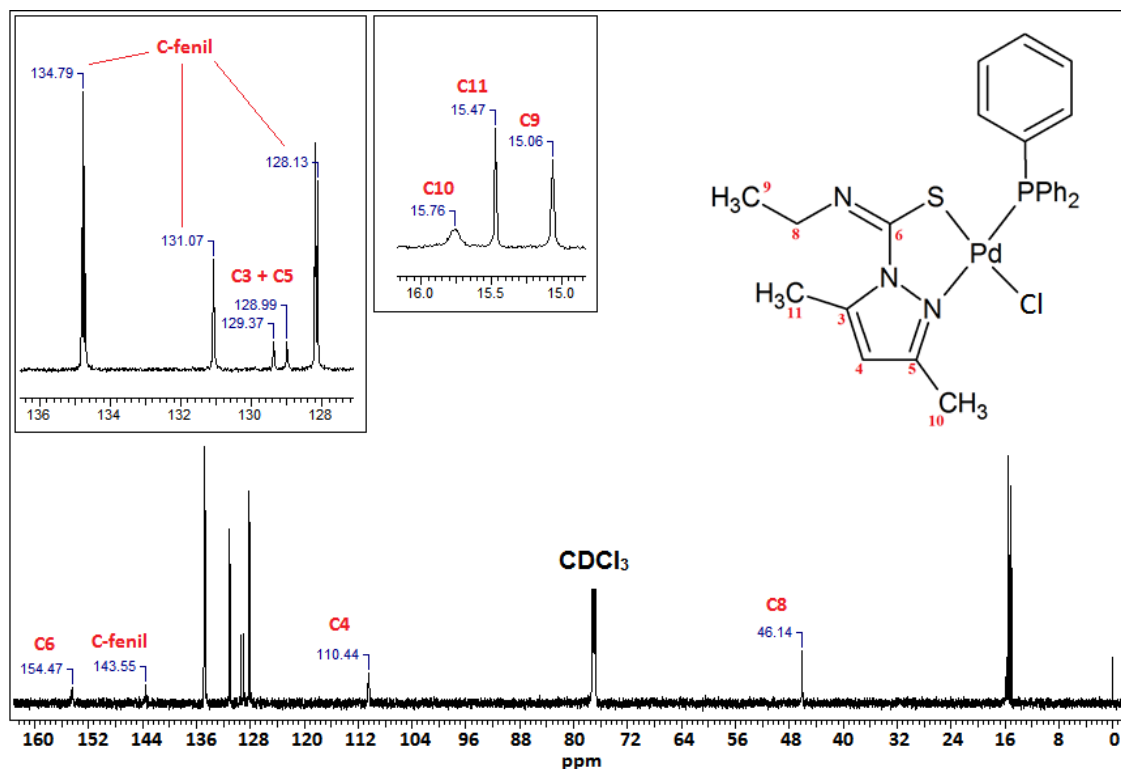
Referência	NH	PPh3	PPh3	H4	H8	H10	H11	H9
δ_{tedmPz}	9,15 (s)	-	-	5,93 (s)	3,68 (dq)*	2,71 (s)	2,16 (s)	1,27 (t)*
δ_1	-	7,78 (m)	7,47 (m)	5,93 (s)	3,29 (q)*	2,52 (s)	2,69 (s)	1,16 (t)*
δ_2	-	7,79 (m)	7,46 (m)	5,95 (s)	3,33 (q)*	2,55 (s)	2,73 (s)	1,17 (t)*
δ_3	-	7,79 (m)	7,45 (m)	5,93 (s)	3,30 (q)*	2,50 (s)	2,77 (s)	1,15 (t)*
δ_4	-	7,72 (m)	7,51 (m)	5,98 (s)	3,29 (q)*	2,52 (s)	2,54 (s)	1,17 (t)*
$\int$	[1H]	[6H]	[9H]	[1H]	[2H]	[3H]	[3H]	[3H]

* $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7,2\text{Hz}$; $J_{\text{NHCH}_2} = 5,5\text{Hz}$

Fonte: autor

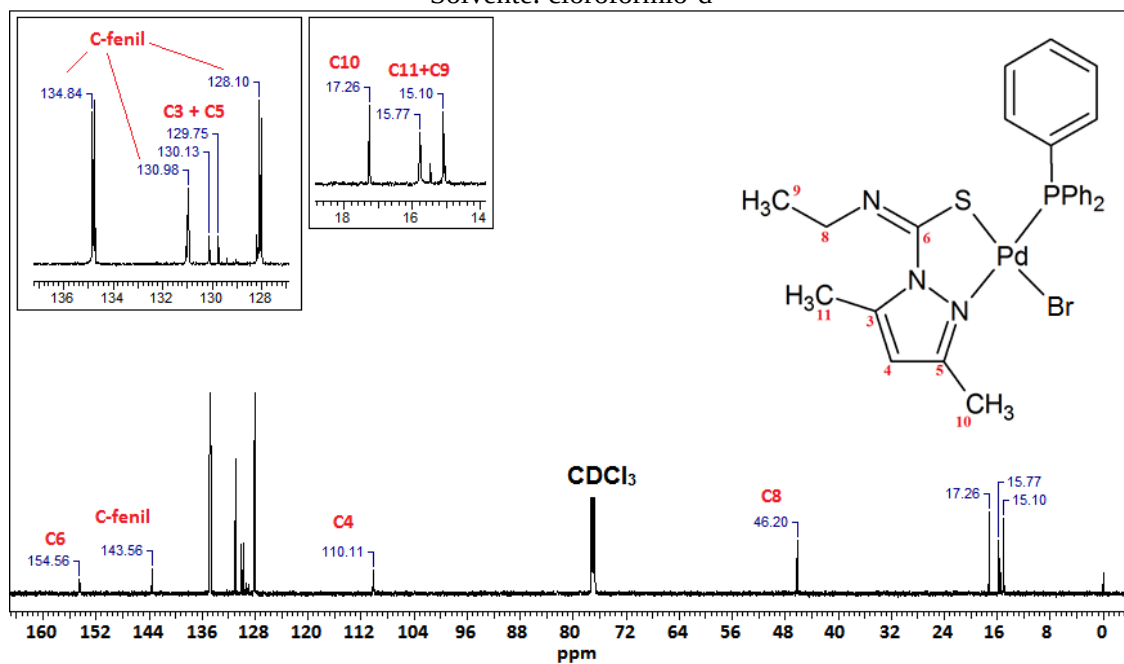
As figuras a seguir (Figura 37-40) mostram os espectros de RMN de ^{13}C dos complexos 1-4 obtidos em CDCl_3 . As atribuições dos sinais encontram-se na Tabela 9.

Figura 37 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdCl}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')] (1)$.
Solvente: clorofórmio- d^1



Fonte: autor

Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdBr}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')] (2)$.
Solvente: clorofórmio- d^1



Fonte: autor

Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{PdI}(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')] (3)$.
Solvente: clorofórmio- d^1

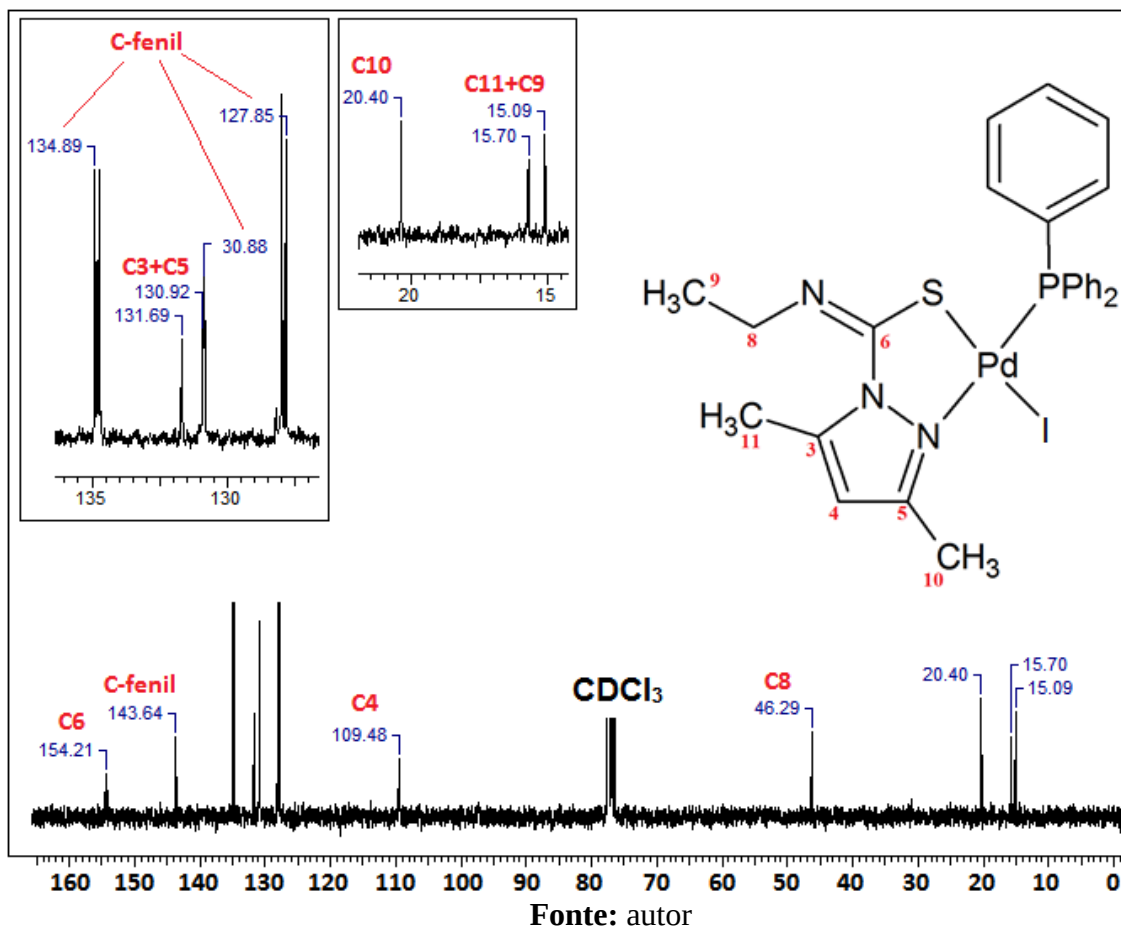
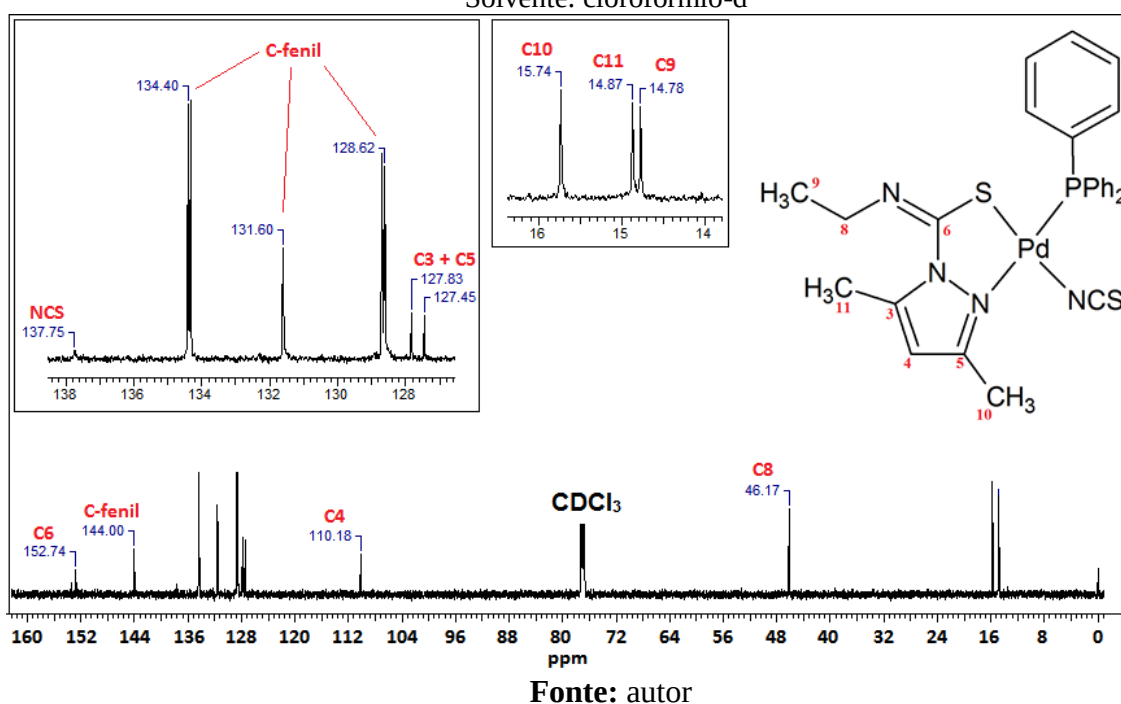


Figura 40 – Espectro de RMN - ^{13}C do complexo $[\text{Pd}(\text{NCS})(\text{PPh}_3)(\text{tedmPz}')] (4)$.
Solvente: clorofórmio- d^1



Os espectros de RMN de ^{13}C estão de acordo com as estruturas propostas. Neles são observados 6 sinais referentes ao grupo fenil presentes na trifenilfosfina e 8 sinais atribuídos ao ligante tiocarbamoilpirazol. Verifica-se o deslocamento mais pronunciado dentre os sinais da trifenilfosfina referente ao carbono ligado diretamente ao fósforo para campo mais desblindado (143,55-144 ppm) se comparado a valores da PPh_3 livre (137,18 ppm)⁷⁸, proveniente da coordenação do ligante ao Pd(II).

A atribuição e interpretação dos sinais referentes ao ligante tedmPz nos complexos **1-4** fora realizada em comparação ao ligante livre, visto que não há na literatura o estudo deste ligante via espectroscopia de RMN – ^{13}C seja do ligante livre ou em sua forma coordenada. Espera-se a variação dos deslocamentos químicos dos carbonos ligados diretamente ao grupo tiocarbamoil e de carbonos próximos ao N1 do grupo pirazol, levando-se em conta a formação do quelato de forma N,S-aniônica. No espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 37-40) foram observadas grandes variações de deslocamento químico, na faixa de 22 a 24 ppm para regiões de maior blindagem, referente ao carbono C6 de todos os complexos sintetizados se comparado ao ligante livre (tiocarbonílico, sinais entre 154,56-152,72 ppm para os complexos **1-4** e 176,01 ppm para o tedmPz livre), justificando a mudança estrutural provocada pela desprotonação do N3 e consequente mudança estrutural do grupo tiocarbamoil, neutro, para iminotiolato, aniônico. A formação do nitrogênio imínico é verificada também pelo deslocamento do carbono C8 para campo de menor blindagem no complexo (46,14-46,29 ppm para os complexos e 39,31 ppm no ligante livre), coerente aos valores de deslocamento químico de iminas encontrados na literatura, em 48,2 ppm⁷⁹. Para o ligante pirazólico, são verificadas variações para os carbonos C3 e C5, para região de maior blindagem (127,45-130,92 ppm para C3 e 127,83-131,69 para C5), proveniente da capacidade π -acceptora da base de schiff.

Tabela 9 – Dados de RMN de ^{13}C para os complexos **1-4**

^{13}C	Composto			
	1	2	3	4
C9	15,06	15,10	15,09	14,78
C11	15,47	15,77	15,70	14,87
C10	15,76	17,26	20,40	15,74
C8	46,14	46,20	46,29	46,17
C4	110,44	110,11	109,48	110,18
C3	128,99	129,75	130,92	127,45
C5	129,37	130,13	131,69	127,83
C6	154,47	154,56	154,21	152,72
C NCS	-	-	-	137,75
	128,20	128,10	127,85	128,62
Cfenil	131,07	130,98	130,88	131,6
	134,79	134,84	134,89	134,4
	143,55	143,56	143,64	144,00

Fonte: autor

Verifica-se a partir do espectro obtido para o composto **4** um pico pouco intenso em 137,80 ppm, um forte indicativo para coordenação do ligante tiocianato via átomo de nitrogênio, uma vez que se verifica a coordenação do tipo M-SCN^- (tiocianato, coordenado pelo enxofre) na faixa de 116-130 ppm e M-NCS^- (isotiocianato, coordenado pelo nitrogênio) em 130-146 ppm⁷¹. O modo de coordenação Pd-NCS é favorecido por solventes de baixa constante dielétrica, como é o caso para a síntese dos compostos **4**, em que se utilizou de clorofórmio. Esta relação com a polaridade do solvente provem da intensificação de interações de natureza covalente em solventes de alta constante dielétrica e intensificação de interações de natureza iônica para solventes de baixa constante dielétrica⁸⁰.

4.3 Análise elementar, ponto de fusão de condutividade molar

A condutividade molar dos complexos **1-4** foram obtidas em soluções de dmf e são apresentadas na Tabela 10, juntamente com os dados de análise elementar. Os resultados encontrados estão entre 2,52 e 5,86 $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$. De acordo com os estudos de condutividade de complexos na literatura^{81,82}, os valores encontrados são típicos de compostos não-eletrólitos. Verifica-se a partir dos resultados de análise elementar das composições dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas experimentalmente estão de acordo com as fórmulas propostas (Tabela 10). O valor de faixas de fusão estreitas para os compostos **1-3** indica ótima pureza para estes compostos.

Tabela 10 – Composição dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio, em porcentagem (m/m), calculados e obtidos via análise elementar, dados de temperatura obtidos nos experimentos de ponto de fusão utilizando-se taxa de aquecimento de 3,0 °C/min e condutividade molar em dmf

Composto	Obtido/Calculado			P.F. (°C)	C (Scm ² mol ⁻¹)
	%C	%H	%N		
1	52,35/53,25	4,64/4,64	7,42/7,17	185,3-186,5	4,50
2	49,53/49,50	4,40/4,31	6,78/6,66	180,1-182,0	2,52
3	46,46/46,07	4,13/4,01	6,30/6,20	146,3-148,0	3,37
4	52,40/53,24	4,34/4,47	9,05/9,20	156,4*	5,86

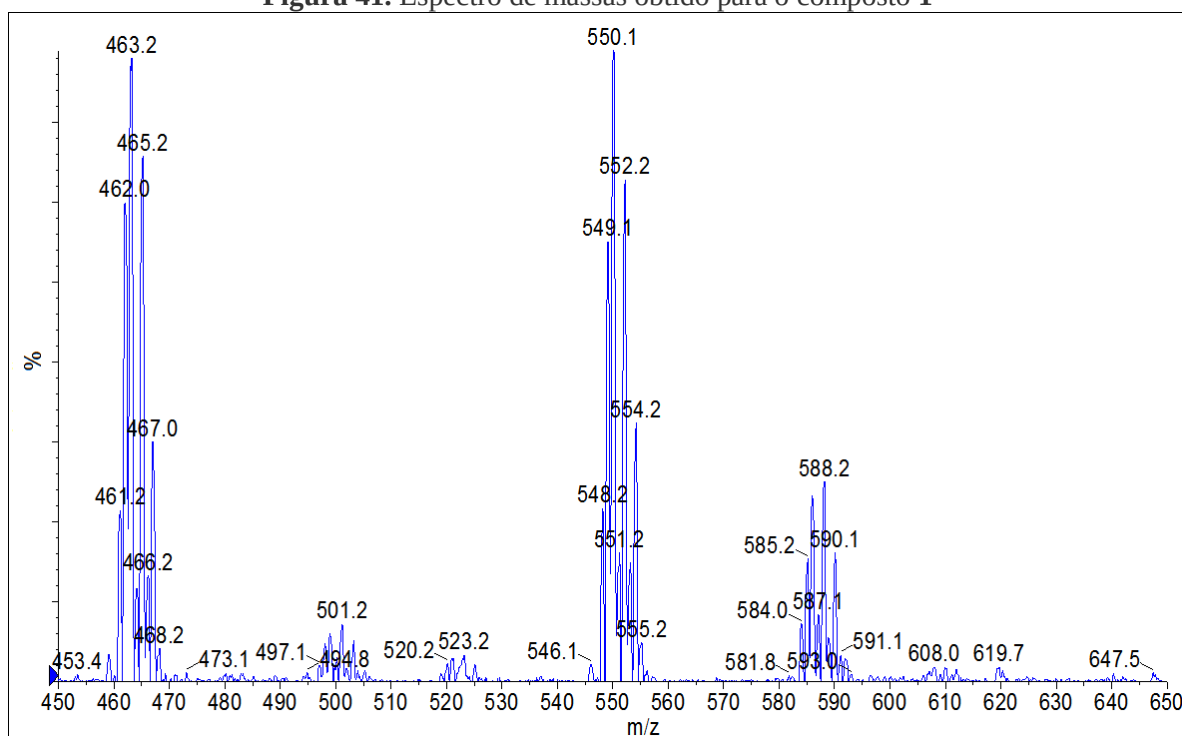
*Temperatura de decomposição

Fonte: autor

4.4 Espectrometria de Massas

A formação de um complexo de paládio contendo cloreto, trifenilfosfina e o ligante tedmPz foi confirmada via espectrometria de massas para o composto 1 (Figura 41). Evidencia-se os picos em $m/z = 588$, contendo a distribuição isotópica prevista referente ao espectro de massas calculado para o íon molecular (M^+) utilizando como fórmula molecular $C_{26}H_{28}N_3SPdPcl$ (Figura 42)⁸³, e $m/z = 550$, proveniente da perda do ligante cloreto e formação da espécie $[Pd(tedmPz)(PPh_3)]^+$, e/ou subsequente migração do grupo fenil do ligante trifenilfosfina para o centro de paládio através da clivagem da ligação P-C, gerando a espécie $[Pd(tedmPz)(PPh_2)Ph]^+$ ⁸⁴.

Figura 41. Espectro de massas obtido para o composto 1



Fonte: autor

A formação dos demais complexos (2-4) é observada através dos íons moleculares para os conjuntos de picos em m/z de aproximadamente 632 (2), 678 (3) e 611 (4), além das espécies formadas em decorrência da perda do halogênio brometo (2), iodeto (3) e tiocianato (4), referente aos picos em $m/z = 550$. Outros conjuntos de picos podem ser atribuídos à formação de adutos com sódio entre os complexos, como é o caso dos picos em $m/z = 654$ (2) e 631 (4), ou adutos de potássio, referente aos conjuntos de picos em 590 (2 e 3) e 648 (4). Os espectros de massas obtidos são mostrados nas Figuras 43-49.

Figura 42 – Espectro de massas calculado para íon molecular do composto 1

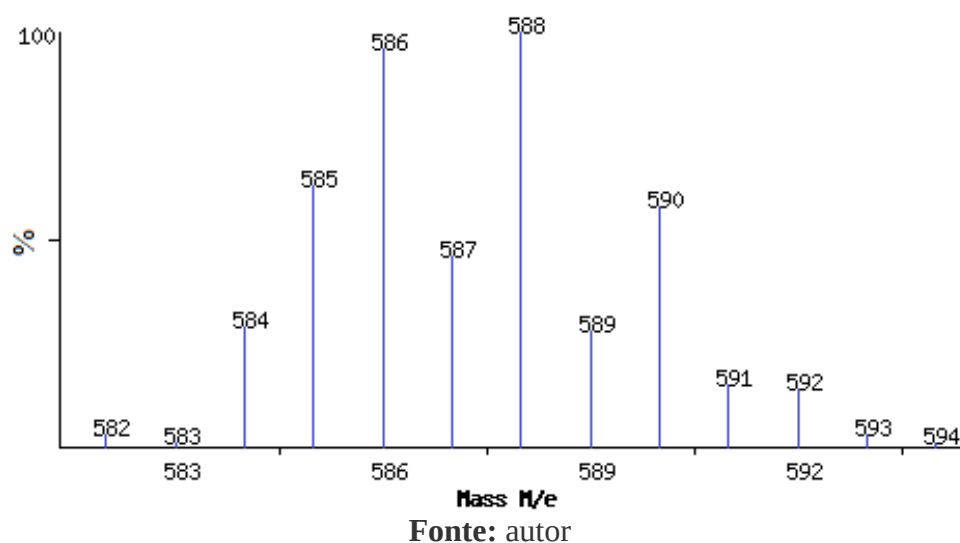


Figura 43 – Expansão do pico molecular ($m/z = 588$) do espectro de massas obtido para o composto 1

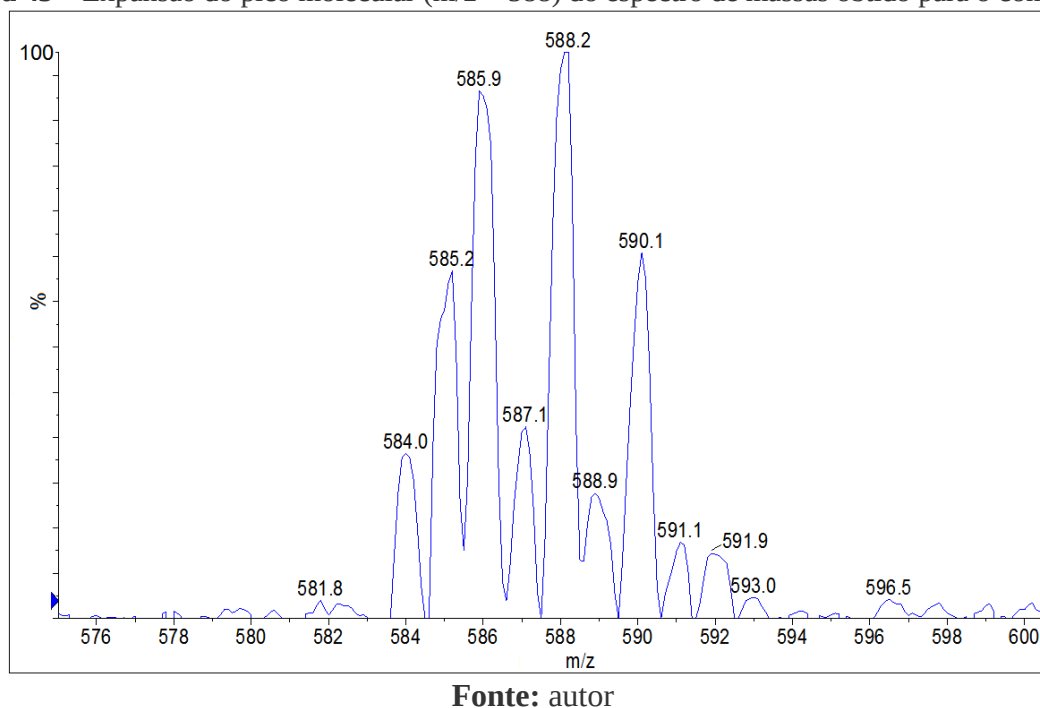
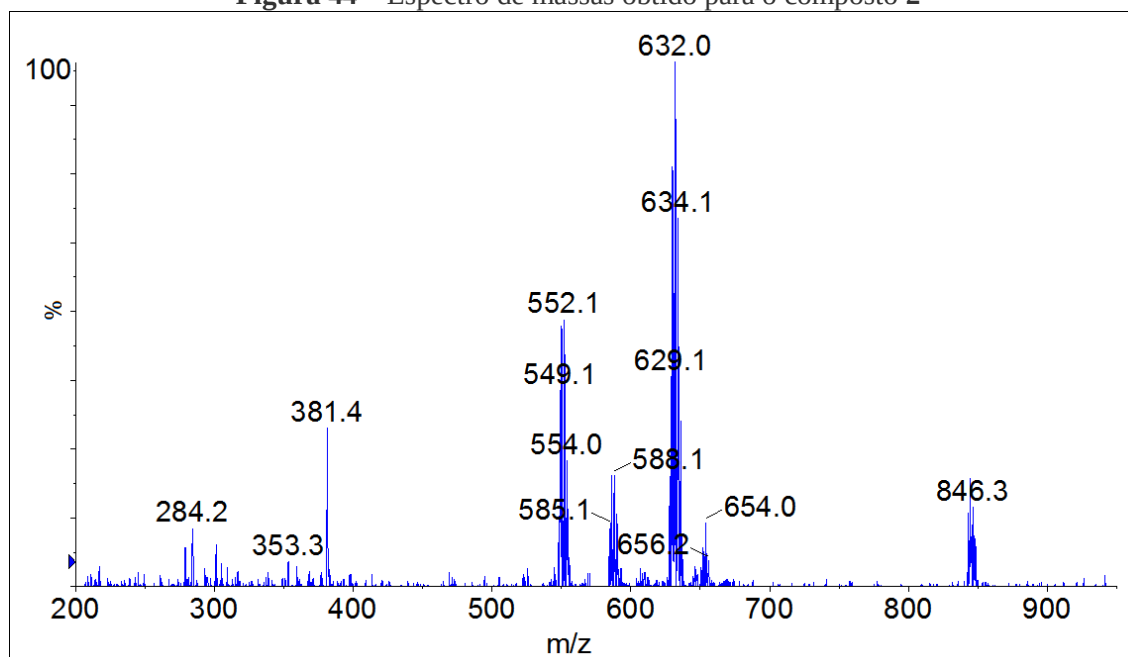
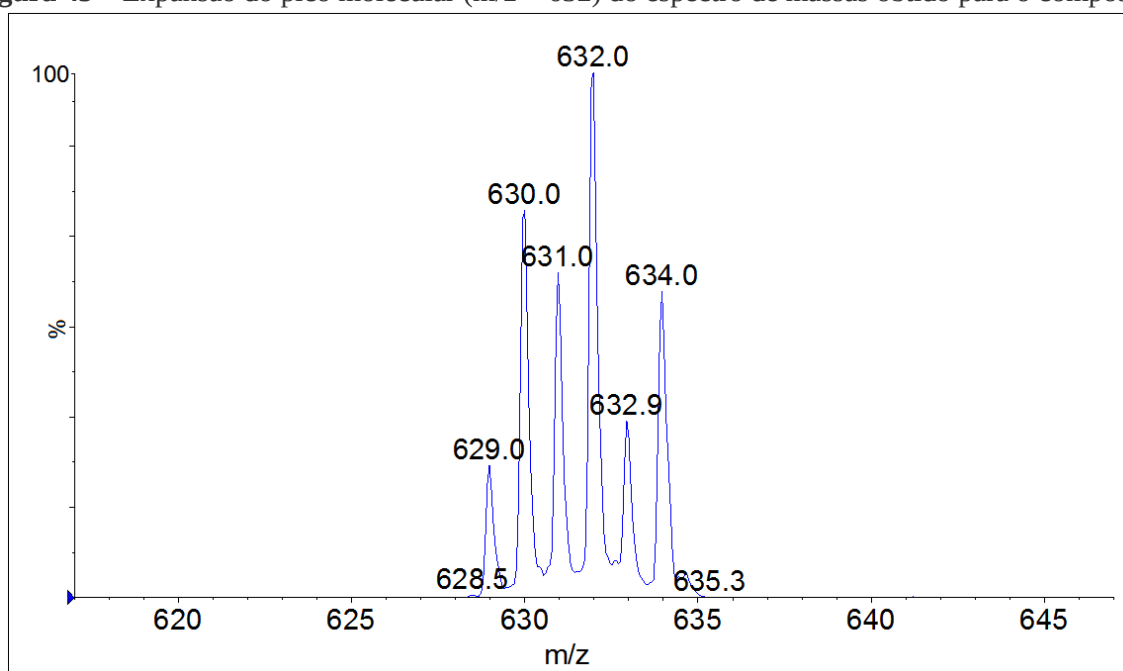


Figura 44 – Espectro de massas obtido para o composto 2

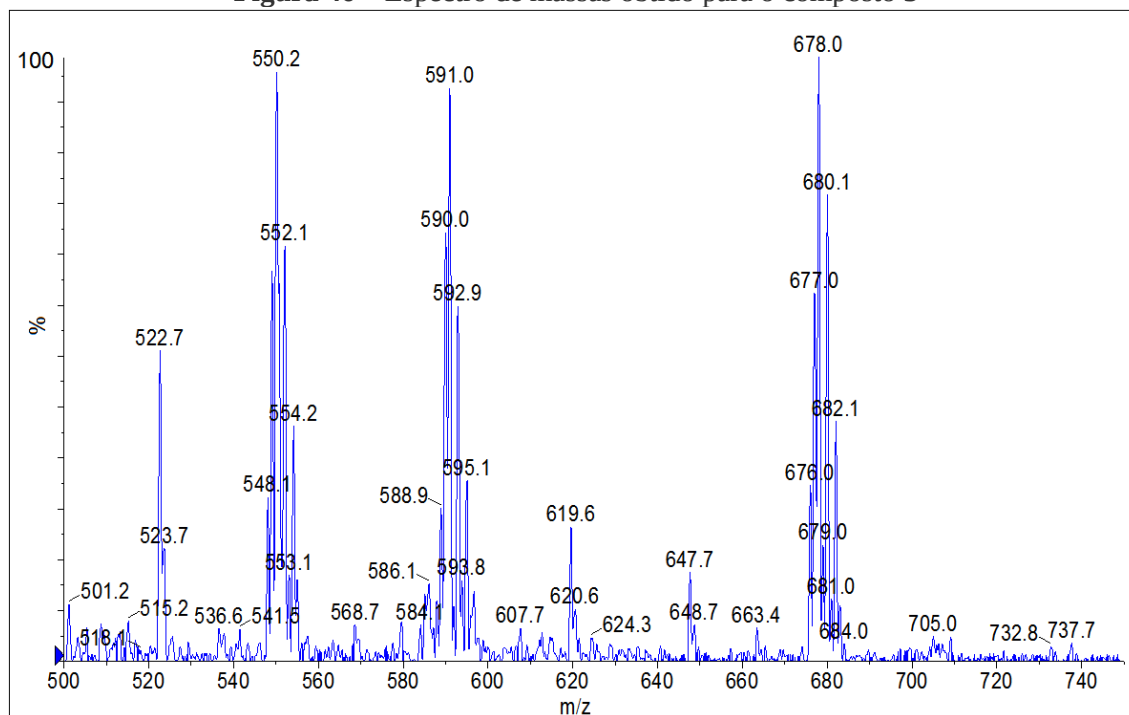


Fonte: autor

Figura 45 – Expansão do pico molecular ($m/z = 632$) do espectro de massas obtido para o composto 2

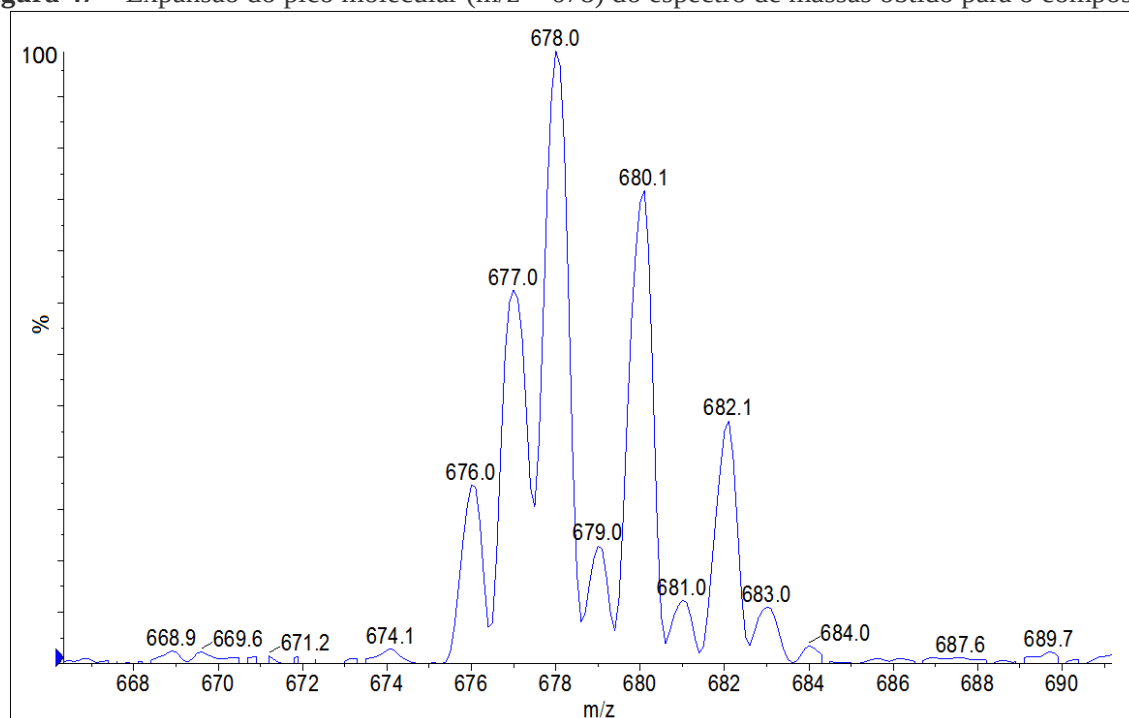
Fonte: autor

Figura 46 – Espectro de massas obtido para o composto 3

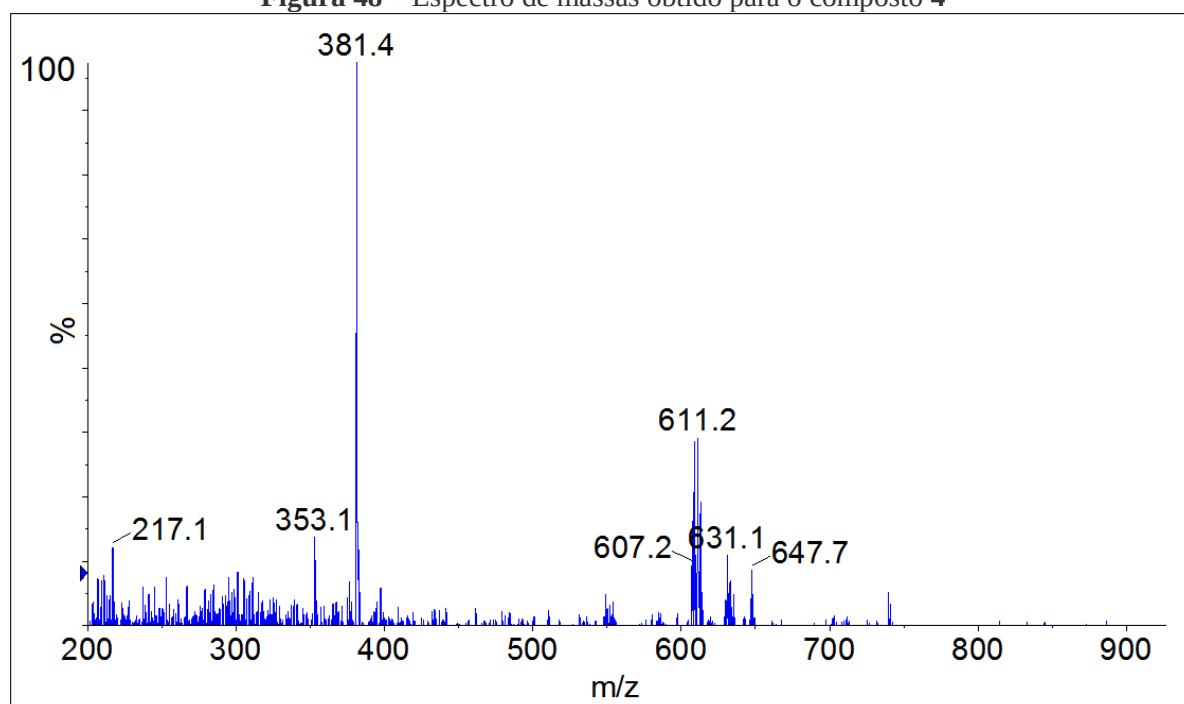


Fonte: autor

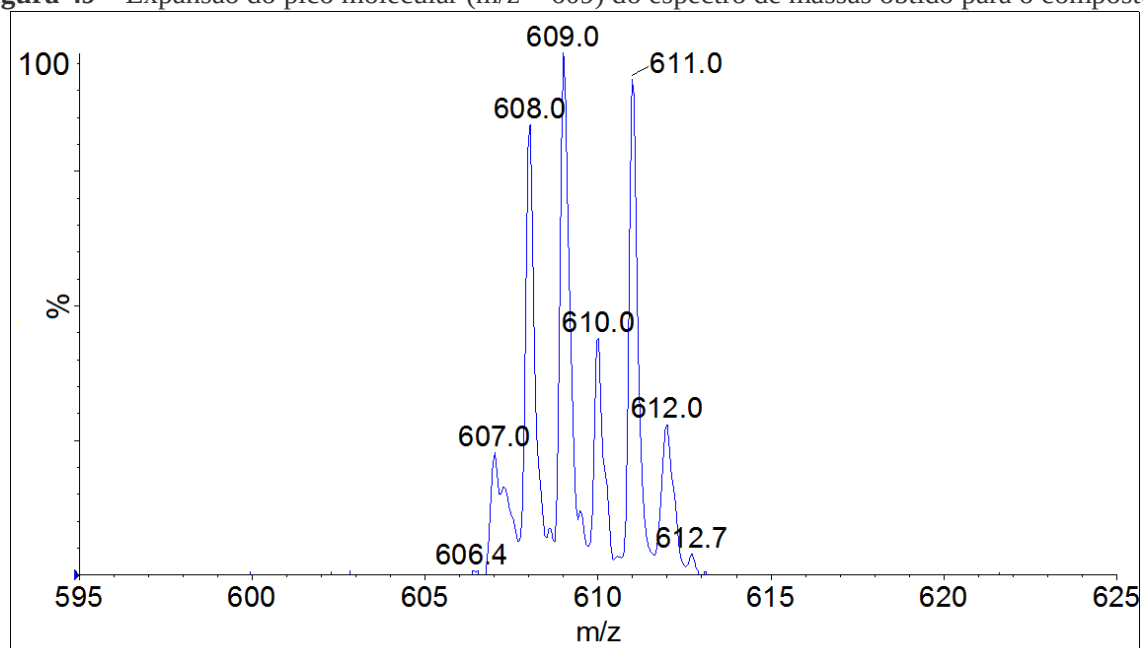
Figura 47 – Expansão do pico molecular (m/z = 678) do espectro de massas obtido para o composto 3



Fonte: autor

Figura 48 – Espectro de massas obtido para o composto **4**

Fonte: autor

Figura 49 – Expansão do pico molecular ($m/z = 609$) do espectro de massas obtido para o composto **4**

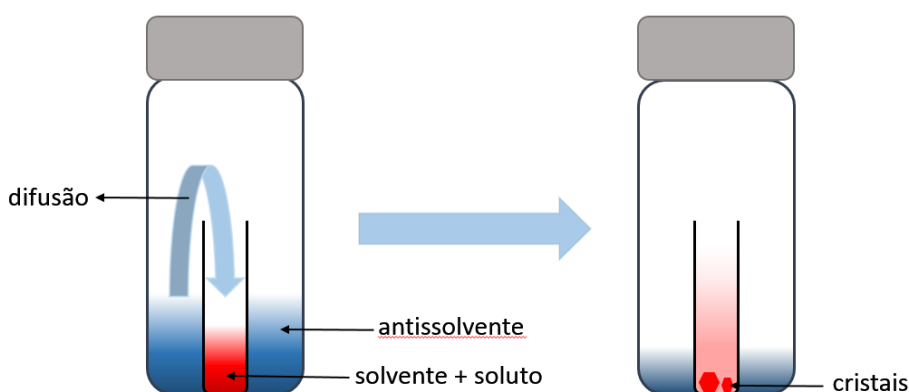
Fonte: autor

4.5 Difração de raios X de monocristal

4.5.1 Tentativa de obtenção de monocristais

Foram realizadas diversas tentativas de crescimento de monocristais dos compostos **1-4**, porém, até o momento, apenas foram obtidos cristais propícios para análise de difração de raios-X para o composto **2**, [PdBr(PPh₃)tedmPz]. A metodologia empregada com sucesso na obtenção de monocristais foi a partir do método de difusão de vapor⁸⁵, no qual foi realizada a dissolução de aproximadamente 5 mg do composto em 0,5 mL de clorofórmio em um tubo pequeno, sendo este posicionado dentro de um tubo maior, contendo 3 mL de pentano como antissolvente. O tubo maior é então fechado, o sistema (Figura 50) é deixado em repouso em local adequado e os cristais obtidos após 7 dias.

Figura 50 – Esquema do método de difusão de vapor visando a obtenção de monocristais



Fonte: autor

4.5.2 Determinação estrutural via difração de raios X de monocristal

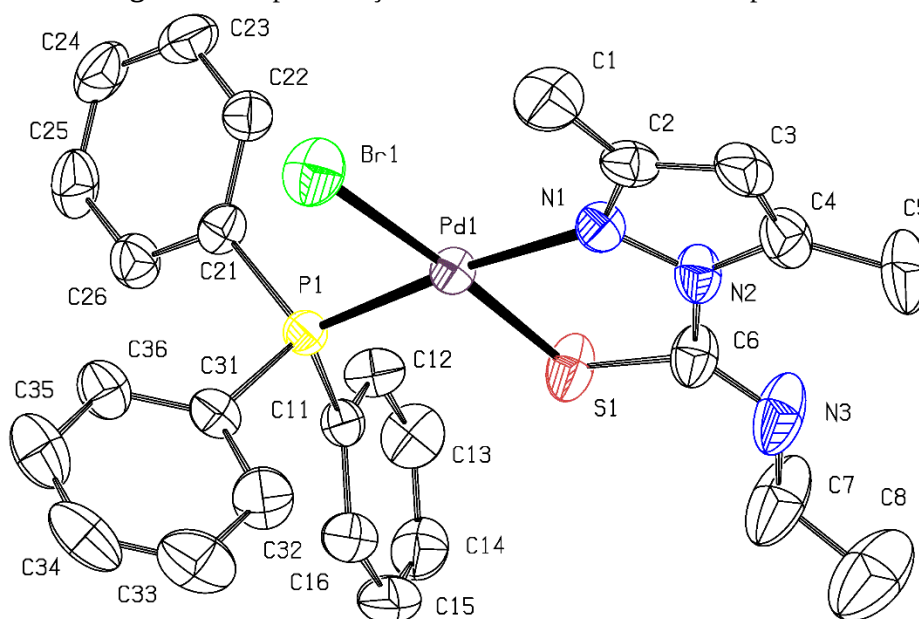
Buscando a confirmação estrutural do complexo **2** no estado sólido, foram obtidos monocristais adequados deste composto para determinação por difração de raios-X. Os principais dados cristalográficos da estrutura obtida, condições empregadas e refinamentos estão na Tabela 11. A representação ORTEP do composto **2** é exibida na Figura 50.

Tabela 11. Principais dados da coleta de intensidade e de refinamento das estruturas cristalinas e molecular do complexo **2**

Fórmula empírica	C ₂₆ H ₂₈ Br N ₃ P Pd S
Massa molecular	631,85
Sistema Cristalino	Ortorrômico
Grupo espacial	Pbca
Dimensões / Ângulos da célula unitária	a = 9,11880(10) Å (α = 90°) b = 14,7494(3) Å (β = 90°) c = 38,8738(6) Å (γ = 90°)
Z (moléculas/células unitárias)	8
Densidade (calculada)	1,605 g/cm ³
Temperatura	296(2) K
Radiação (comprimento de onda)	0,71073 Å
Volume	5228,40(15) Å ³
Coeficiente de absorção	2,399 mm ⁻¹
F(000)	2536
Tamanho do cristal	0,260 x 0,120 x 0,040 mm ³
θ utilizado na medição	2,467 até 26,421°.
Reflexões observadas	43049
Reflexões únicas	5378 [R(int) = 0.0441]
Data / restraints / parameters	5378 / 0 / 301
Densidade eletrônica (máxima e mínima)	0,407 / -1,125 e/Å ⁻³
Índices R finais [I>2σ(I)]	R1 = 0.0406, wR2 = 0.0921
Índices R (todos os dados)	R1 = 0.0538, wR2 = 0.0981

Fonte: autor

Observa-se pelo diagrama de ORTEP de [PdBr(tedmPz')(PPh₃)] (composto **2**, Figura 51) que a esfera de coordenação do átomo de paládio é constituída por uma molécula de N-etil-1-iminotiolato-3,5-dimetilpirazol coordenada de maneira aniônica bidentada pelos átomos de enxofre e nitrogênio (N1), o ligante trifenilfosfina ligado *trans* ao nitrogênio e o brometo coordenado *trans* ao enxofre, indicando a natureza π-receptora do enxofre e fosforo em suas estruturas. Dados referentes a distâncias e ângulos de ligações estão contidos nas Tabelas 12-14. Também há forte evidência referente à coordenação N,S-aniônica do ligante 3,5-dimetil-1-(N-etil)tiocarbamoilpirazol em sua forma desprotonada (iminotiolato) a partir da ausência de contraíons na estrutura do complexo, bem como o ângulo de ligação C6-N3-C7 (119.6(4)°, Tabela 14) ser tipicamente de uma estrutura trigonal planar envolvendo hibridização sp². Outros

Figura 51. Representação ORTEP da estrutura do complexo 2**Fonte:** Fornecido pelo Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon**Tabela 12.** Distâncias de ligação (Å) para o composto 2

C1	C2	1.500(7)	C21	C22	1.395(6)
C2	N1	1.330(5)	C21	P1	1.804(4)
C2	C3	1.388(6)	C22	C23	1.375(6)
C3	C4	1.349(7)	C23	C24	1.373(7)
C4	N2	1.366(5)	C24	C25	1.382(7)
C4	C5	1.503(7)	C25	C26	1.370(6)
C6	N3	1.252(6)	C31	C36	1.375(6)
C6	N2	1.424(6)	C31	C32	1.393(6)
C6	S1	1.735(4)	C31	P1	1.817(4)
C7	C8	1.432(9)	C32	C33	1.397(7)
C7	N3	1.468(7)	C33	C34	1.376(9)
C11	C16	1.385(6)	C34	C35	1.358(8)
C11	C12	1.389(6)	C35	C36	1.386(7)
C11	P1	1.826(4)	N1	N2	1.380(5)
C12	C13	1.378(6)	N1	Pd1	2.125(3)
C13	C14	1.362(7)	P1	Pd1	2.2489(10)
C14	C15	1.365(7)	S1	Pd1	2.2557(11)
C15	C16	1.385(7)	Br1	Pd1	2.4518(6)
C21	C26	1.394(6)	-	-	-

Fonte: autor

Os ângulos de ligação ao redor do átomo de paládio(II) em 2 são compatíveis com uma geometria de coordenação quadrática-plana distorcida, esta distorção é proveniente tanto por

tensões causadas pela formação do anel de cinco membros como também consequência de ligações de hidrogênio (Tabela 13) formadas por C26–H $\cdots$ Br (H26 $\cdots$ Br 3.05 Å) e C22–H $\cdots$ Br (C22 $\cdots$ Br = 2.88 Å), resultando em ângulos menores de 90° para N1–Pd–S e P–Pd–Br (83.68(9)° e 84.63(3)° respectivamente) e proximidade entre o ligante brometo e C1 no plano da coordenação (C1–H $\cdots$ Br, com distância de ligação prevista de 2,85 Å).

Tabela 13. Ligações de hidrogênio e distâncias interatômicas (Å) e seus ângulos (°) para o composto 2

D-H $\cdots$ A	d(D-H)	d(H $\cdots$ A)	d(D $\cdots$ A)	<(DHA)
C1-H1 $\cdots$ Br1	0.96	2.85	3.345(5)	113.3
C22-H22 $\cdots$ Br1	0.93	2.88	3.425(4)	118.8
C26-H26 $\cdots$ Br1	0.93	3.05	3.776(5)	136.0

Fonte: autor

Tabela 14. Ângulos de ligação (°) para o composto 2

N1-C2-C3	110.0(4)	C36-C31-P1	122.7(3)
N1-C2-C1	123.9(4)	C32-C31-P1	118.0(3)
C3-C2-C1	126.0(4)	C31-C32-C33	119.6(5)
C4-C3-C2	107.7(4)	C34-C33-C32	120.0(5)
C3-C4-N2	106.4(4)	C35-C34-C33	120.0(5)
C3-C4-C5	127.9(4)	C34-C35-C36	120.7(6)
N2-C4-C5	125.6(5)	C31-C36-C35	120.4(5)
N3-C6-N2	118.0(4)	C2-N1-N2	105.5(3)
N3-C6-S1	125.6(4)	C2-N1-Pd1	137.9(3)
N2-C6-S1	116.4(3)	N2-N1-Pd1	116.5(2)
C8-C7-N3	113.4(5)	C4-N2-N1	110.3(4)
C16-C11-C12	118.5(4)	C4-N2-C6	129.6(4)
C16-C11-P1	123.5(3)	N1-N2-C6	119.8(3)
C12-C11-P1	117.8(3)	C6-N3-C7	119.6(4)
C13-C12-C11	120.4(4)	C21-P1-C31	108.23(19)
C14-C13-C12	120.8(5)	C21-P1-C11	101.33(18)
C13-C14-C15	119.5(5)	C31-P1-C11	106.71(19)
C14-C15-C16	120.8(5)	C21-P1-Pd1	116.65(14)
C15-C16-C11	120.0(5)	C31-P1-Pd1	109.81(13)
C26-C21-C22	118.0(4)	C11-P1-Pd1	113.40(13)
C26-C21-P1	120.1(3)	C6-S1-Pd1	101.72(15)
C22-C21-P1	121.6(3)	N1-Pd1-P1	174.31(10)
C23-C22-C21	120.7(4)	N1-Pd1-S1	83.68(9)
C24-C23-C22	120.3(4)	P1-Pd1-S1	91.22(4)
C23-C24-C25	119.9(4)	N1-Pd1-Br1	100.45(9)
C26-C25-C24	120.0(4)	P1-Pd1-Br1	84.63(3)
C25-C26-C21	121.0(4)	S1-Pd1-Br1	175.84(3)
C36-C31-C32	119.1(4)	-	-

Fonte: autor

As principais distâncias de ligação e ângulos do complexo obtido foram comparados a valores obtidos na literatura via complexos semelhantes (Tabela 15 e Figura 52)^{61,86-89}. Os valores de distâncias de ligação referentes a Pd–S e Pd–P, de 2,2557(11) e 2,2489(10) Å, estão de acordo com valores de complexos mononucleares N,S-doadores contendo trifenilfosfina encontrados na literatura, entre 2,2303-2,292 Å e 2,249-2,2707 Å respectivamente, enquanto que a distância Pd–N1, de 2,125(3) Å, é um pouco maior se comparado a outros complexos contendo o ligante PPh₃ *trans* ao nitrogênio (2,076-2,111 Å)^{61,86-89}. A distância de ligação Pd–Br é próxima àquelas de outros N,S-quelatos de Pd(II) em que o brometo encontra-se sob influência *trans* do enxofre (2,4275 Å para o composto [PdBr(AMTTO)(PPh₃)]Br·MeOH⁸⁶).

Tabela 15. Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) de alguns N,S-complexos de paládio(II) contendo trifenilfosfina

Compostos	N1-Pd-S (°)	S-Pd-P (°)	Pd-S (Å)	Pd-N1 (Å)	Pd-P (Å)	Ref.
(2)	83,68(9)	91,22(4)	2,2557(11)	2,125(3)	2,2489(10)	---
[PdBr(AMTTO)(PPh ₃)]Br·MeOH	84,8(1)	93,97(5)	2,275(2)	2,110(5)	2,250(1)	86
[PdI(AMTTO)(PPh ₃)]·2MeOH	85,3(2)	92,73(9)	2,266(2)	2,095(7)	2,250(3)	86
[PdCl(MTPTSC)(PPh ₃)]	83,01(7)	93,57(3)	2,2584(8)	2,076(2)	2,2526(8)	87
[PdCl(PY4MeTSC')(PPh ₃)]	82,61(5)	91,863(19)	2,2584(6)	2,0983(16)	2,2703(5)	88
[PdCl(4MeBTSC)(PPh ₃)]	82,94(6)	---	2,2303(8)	2,111(2)	2,2707(7)	89
[PdI(PPh ₃)(4-MeT)]I	84,3	95,6	2,292	2,097	2,263	61
[Pd(SCN)(PPh ₃)(4-MeT)]SCN	84,7	91,1	2,29	2,094	2,249	61

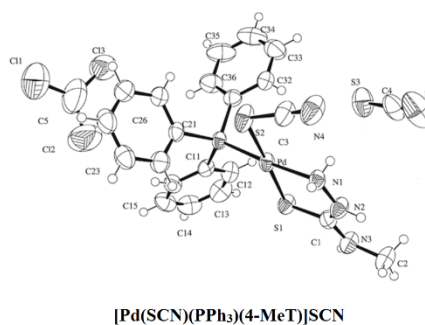
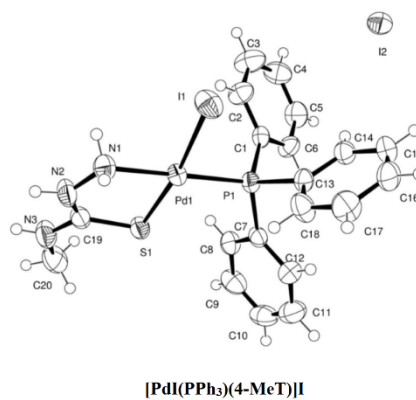
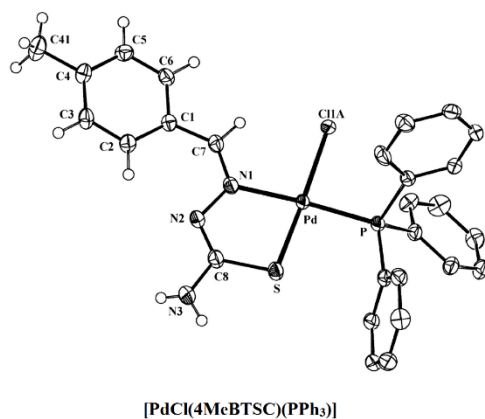
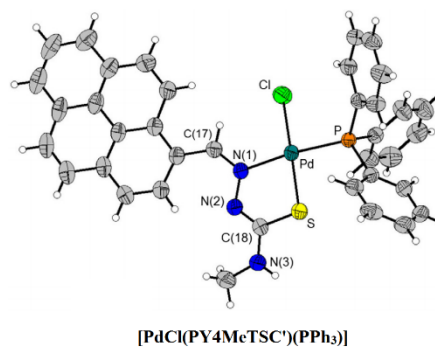
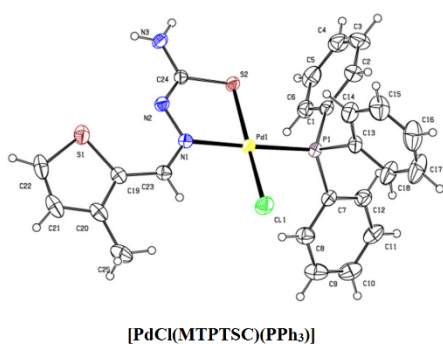
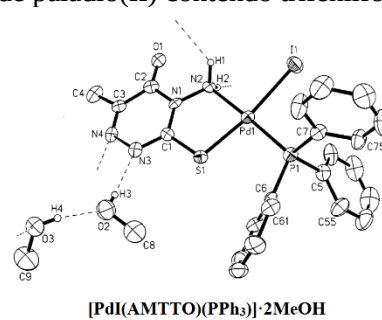
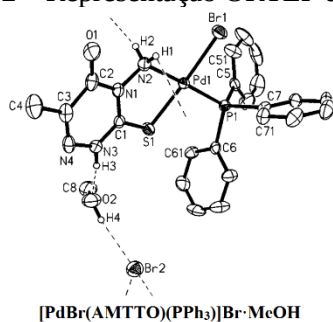
AMTTO = 4-amino-6-metil-1,2,4-triazin-5-ona; MTPTSC = 3-metil-tiofeno-2-aldeído tiossemicarbazona;

PY4MeTSC = 1-pirenaldeído-4-metil-3-tiossemicarbazonato;

4MeBTSC = 4-metil-benzaldeído tiossemicarbazona; 4-MeT = 4-metil-3-tiossemicarbazida

Fonte: autor

Figura 52 – Representação ORTEP de N,S-complexos de paládio(II) contendo trifenilfosfina^{61,86-89}

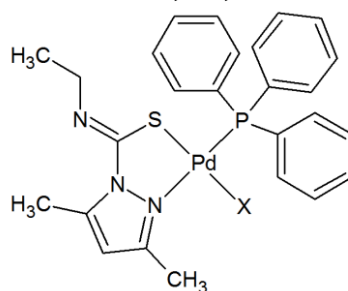


Fonte: autor

4.6 Proposição estrutural

Com base nos resultados obtidos a partir das espectroscopias no infravermelho e de RMN, espectrometria de massas, difração de raios-X de monocristal e em concordância com os resultados de análise elementar e condutividade molar, sugere-se a seguinte estrutura para os compostos **1-4**:

Figura 53 – Proposta estrutural aos quelatos de Pd(II) sintetizados e estudados nesta etapa do trabalho, sendo X = Cl⁻, Br⁻, I⁻ ou NCS⁻



Fonte: autor

4.7 Ensaios biológicos

Para investigação da atividade citotóxica do ligante e seus complexos foram feitos ensaios utilizando-se a linhagem tumoral MCF-7, de adenocarcinoma mamário humano, para as concentrações de composto de 100; 50,0; 25,0; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$ partindo-se de duas triplicadas realizadas entre um intervalo de uma semana. Feitos os gráficos de concentração por porcentagem de inibição, foram retirados destes suas funções exponenciais e obtido graficamente o valor referente a 50% de inibição. Os valores encontrados de IC₅₀ encontram-se na Tabela 16 para comparação:

Tabela 16 – Valores de IC₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e seus respectivos desvios padrão para **1-4** e cisplatina⁹⁰, utilizando-se da linhagem MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano

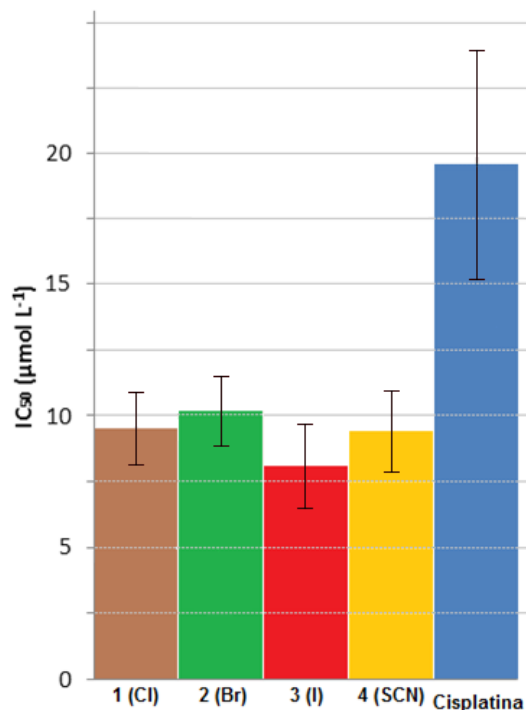
COMPOSTOS	Média ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Desvio padrão ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
tedmPz	>100	-
1	9,45	±1,40
2	10,12	±1,33
3	8,07	±1,58
4	9,34	±1,54
Cisplatina	19,6	±4,3

Fonte: autor

De acordo com os testes realizados, o ligante tedmPz apresentou IC₅₀ > 100 μM frente a linhagem tumoral testada, sendo considerado, portanto, não-citotóxico. No entanto, os

complexos apresentaram excelentes resultados de atividade citotóxica, indicando que a coordenação ao centro metálico foi essencial para a atividade apresentada. Verifica-se através dos valores de IC_{50} tabelados pouca importância dos ligantes lábeis em relação à atividade, uma vez que se encontram em seus intervalos de desvio padrão.

Figura 54 – Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e seus respectivos desvios padrão para os complexos sintetizados em comparação com a cisplatina⁹⁰, utilizando-se da linhagem MCF-7 de adenocarcinoma mamário humano



Fonte: autor

Os resultados obtidos com os ensaios frente a linhagem MCF-7 mostraram que todos os compostos foram mais tóxicos que a cisplatina⁹⁰, obtendo-se em média valores de IC_{50} de até 2,4 vezes menor que o fármaco de comparação.

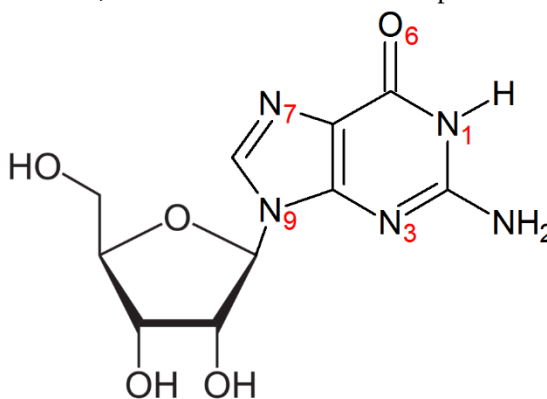
4.8 Reação com o nucleosídeo guanosina

O mecanismo de ação de diversos complexos de platina baseia-se em sua ligação covalente ao DNA. Um método preliminar para estudo da capacidade dos complexos em interagir covalentemente com o DNA é a reação entre a guanosina e os compostos de coordenação. Metabólitos carregados proveniente da hidrólise de grupos abandonadores (no caso, haletos e pseudo-haletos) possuem grande afinidade por moléculas contendo nitrogênio e enxofre, podendo reagir deste modo com o DNA, RNA e proteínas. O principal tipo de interação destes aquo-complexos ocorre via N-7 de adenina e guanina do DNA – como é o caso da

cisplatina, carboxiplatina entre outros – induzindo a morte celular pela inibição da transcrição e replicação do DNA^{91,92}.

A utilização de ensaios entre as bases purinas guanina e adenina ou seus respectivos nucleosídeos (guanosina, Figura 55) e nucleotídeos é amplamente empregada no estudo da interação entre complexos de Pd(II) e constituintes do DNA^{54,93,94}. Diversos modos de coordenação foram encontrados para a ligação Pd-guanosina, como os tipos monocoordenado através dos nitrogênios N1, N3 ou N7, quelatos envolvendo N7 e O6, compostos polinucleares conectados por N1 e N7 entre outros. A maneira como ocorre a coordenação é dependente do pH da solução e da presença de outras bases, sendo o modo mais comum através da ligação do paládio ao N7 da guanina. A formação de alguns compostos desse tipo foi evidenciada através de dados de difração de raios X⁹⁴.

Figura 55. Estrutura da guanosina, destacando-se os átomos capazes de se coordenar ao paládio(II)

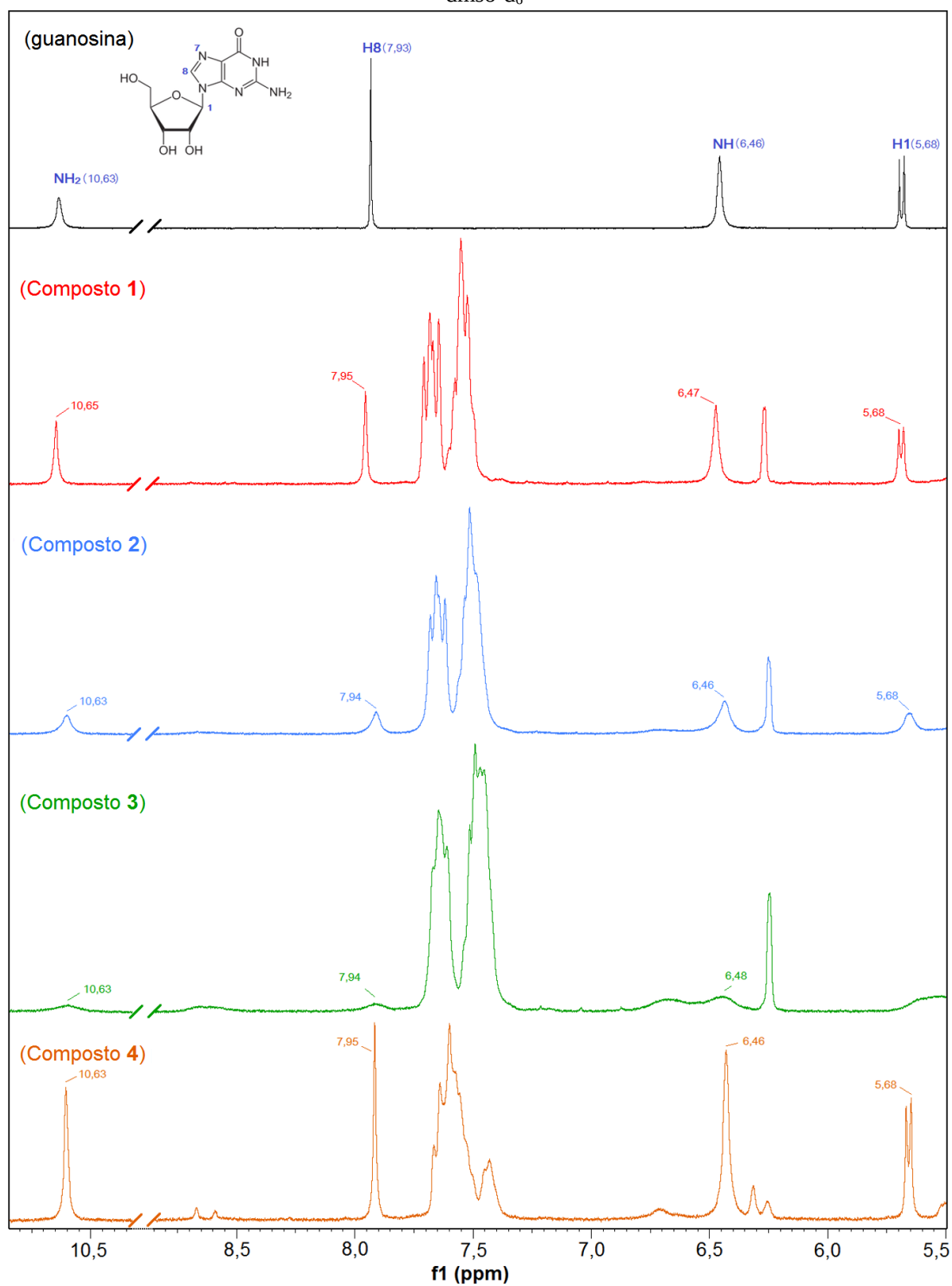


Fonte: autor

Devido à baixa solubilidade dos complexos em água foi escolhido como solvente da reação o metanol, uma vez que os complexos e guanosina possuem boa solubilidade neste, além de seu baixo ponto de ebulição ser interessante no processo de secagem do solvente. A reação foi deixada sob agitação e temperatura ambiente por 24 horas. Após o processo, evaporou-se o metanol em capela, sendo o sólido obtido seco em dessecador e solubilizado em dmso-d^6 para a análise de RMN- ^1H . São esperados para os complexos de Pd(II) ligados à guanosina via N7 um deslocamento para campo baixo referente ao sinal do hidrogênio H8 e deslocamento para campo alto para o hidrogênio H1⁶². Verifica-se via espectros de RMN- ^1H (Figura 56) a existência dos sinais referentes à guanosina livre para todos os produtos de reação, evidenciando portanto que não houve reação entre os complexos e o nucleosídeo. Este resultado é um indicativo de que os compostos não são capazes de interagir covalente ao DNA, sendo

necessários ensaios de avaliação da capacidade inibitória frente a outros possíveis alvos farmacológicos.

Figura 56. Espectros de RMN- ^1H para os sólidos obtidos da reação entre complexos e guanosina, em $\text{dms}\text{-d}_6$



Fonte: autor

5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

De acordo com os dados obtidos e analisados, utilizando as técnicas de espectroscopia vibracional na região do infravermelho, de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , análise elementar, espectrometria de massas e difração de raios X de monocristal foi possível inferir as estruturas dos compostos do tipo $[\text{PdX}(\text{tedmPz}')(\text{PPh}_3)]$ {tedmPz' = N-etil-1-iminotiolato-3,5-dimetilpirazol; PPh_3 = trifenilfosfina; $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- , I^- , SCN^- }. A metodologia de síntese do ligante tedmPz a partir dos reagentes 2,4-pentadiona e 4-metil-3-tiossemicarbazida em meio aquoso ácido (pH = 2) foi empregada com sucesso, bem como a adição simultânea dos ligantes trifenilfosfina e tedmPz ao precursor $[\text{PdCl}_2(\text{MeCN})_2]$ em clorofórmio, seguida de lavagem da fase orgânica com água, se mostrou uma ótima metodologia de síntese para a obtenção do complexo **1**.

As técnicas espectroscópicas contribuíram para identificar o modo de coordenação dos ligantes PPh_3 e tedmPz, corroborando com resultados de condutividade molar para os compostos e indicando a desprotonação do ligante na formação dos complexos **1-4** neutros. Destacam-se a importância das bandas no IV referentes ao grupo tioamida e o sinal referente ao carbono C6 no RMN de ^{13}C na caracterização dos compostos. As análises via espectrometria de massas e análise elementar foram úteis na identificação dos ligantes presentes na esfera de coordenação. A difratometria de raios X de monocristal para o composto **2** elucidou a distribuição espacial dos átomos na esfera de coordenação do metal, sendo este complexo mononuclear, contendo a trifenilfosfina coordenada de modo *trans* ao nitrogênio do ligante quelante.

Os resultados de citotoxicidade *in vitro* dos complexos obtidos via método MTT frente as culturas celulares de tumores murinos MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano) indicaram que a variação do ligante haleto/pseudo-haleto não interferiu na citotoxicidade dos complexos, o que difere entre os resultados para complexos do tipo $[\text{PdX}_2(\text{tdmpz})]$ {tdmPz = tiocarbamoilpirazóis; $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- , I^- , SCN^- }, bem como os compostos sintetizados não apresentaram capacidade de interagir com a guanosina, sendo esta uma evidência de que a interação covalente entre os compostos sintetizados e o DNA não é a principal fonte da citotoxicidade destes, sendo a inserção da trifenilfosfina no arcabouço molecular dos complexos essencial na diferenciação do principal mecanismo de atividade destes. De acordo com os testes realizados, o ligante tedmPz apresentou $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ frente a linhagem tumoral testada, sendo considerado, portanto, não-citotóxico, demonstrando a importância do complexo como um todo na atividade citotóxica. Destaca-se a ótima atividade dos compostos sintetizados,

na faixa de concentração de IC_{50} entre 6,49-11,45 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a linhagem MCF-7, sendo estes valores de concentração até 2,4 vezes menor que o fármaco de comparação (cisplatina).

As relações estrutura-atividade bem como o alvo farmacológico principal para os compostos não puderam ser propostos, uma vez que o ensaio de atividade citotóxica foi observado apenas para uma linhagem tumoral e a reação entre os compostos e a guanosina possui caráter preliminar e não aponta outras interações não-covalentes possíveis com o DNA. São necessários ensaios utilizando-se outros possíveis alvos farmacológicos, como a avaliação da capacidade inibitória frente as enzimas DNA-topoisomerase tipo I e II, ensaio de interação com DNA superenovelado entre outros, bem como a síntese de compostos que possuam pequenas variações estruturais visando o estudo da relação estrutura atividade para esta classe de compostos.

Referências

- 1 BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos. Integração de informações dos registros de câncer brasileiros. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 5, p. 865-868, 2007.
- 2 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estimativa 2016**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/>>. Acesso em: 05 dez. 2015.
- 3 INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **GLOBOCAN 2012**: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. Lyon, 2012. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr>>. Acesso em: 4 ago. 2015.
- 4 ALMEIDA, V. L. de et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, p. 118-129, 2005.
- 5 CANCER RESEARCH UK. **UK cancer incidence statistics by age**. Disponível em: <<http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/incidence/age/>>. Acesso em: 23 out. 2014.
6. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é o câncer?** Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 05 nov. 2015.
- 7 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Como é o processo de carcinogênese?** Rio de Janeiro. Disponível em <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=319>. Acesso em: 05 nov. 2015.
- 8 ROSEMBERG, B. et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, p. 385-386, 1969.
- 9 ROSEMBERG, B. et al. The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. **Cancer Research**, v. 30, p. 1799-1802, 1970.
- 10 HAMBLEY, T. W. The influence of structure on activity and toxicity of Pt anti-cancer drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 166, p. 181-223, 1997.
- 11 WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2451-2466, 1999.
- 12 FIORENTINO, M. V.; GHIOTTO, C. Exploitation of platinum for human solid tumors. **Inorganica Chimica Acta**, v. 137, p. 59-61, 1987.
- 13 DE LENA, M. et al. Therapeutic efficacy of various dosages and modalities of administration. **Inorganica Chimica Acta**, v. 137, p. 91-97, 1987.
- 14 CVITKOVIC, E. et al. Improvement of cis-dichlorodiammineplatinum (NCS 119875): therapeutic index in an animal model. **Cancer**, v. 39, p. 1357-1361, 1977.

- 15 FUERTES, M. A.; ALONSO, C.; PÉREZ, J. M. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. **Chemical Reviews**, v. 103, p. 645-662, 2003.
- 16 KIDANI, Y. et al. Antitumor activity of 1,2-diaminocyclohexane-platinum complexes against sarcoma-180 ascites form. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 1315-1318, 1978.
- 17 RAYMOND, E. et al. Cellular and molecular pharmacology of oxaliplatin. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 1, p. 227-235, 2002.
- 18 FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p. 13-18, 2005.
- 19 WHEATE, N. J. et al. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 35, p. 8113-8127, 2010.
- 20 KASHANIAN, S. et al. DNA binding studies of $\text{PdCl}_2(\text{LL})$ (LL = chelating diamine ligand: N,N-dimethyltrimethylenediamine) complex. **Biochemistry (Moscow)**, v. 73, n. 8, p. 929-936, 2008.
- 21 KETER, F. K. et al. In vitro evaluation of dichloro-bis(pyrazole)palladium(II) and dichloro-bis(pyrazole)platinum(II) complexes as anticancer agents. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 63, p. 127-138, 2008.
- 22 GALLUZZI, L. et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. **Oncogene**, v. 31, p. 1869-1883, 2012.
- 23 WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, p. 307-320, 2005.
- 24 MAIA, E. P.; SUILLEROT A. G. Impaired hydrolysis of cisplatin derivatives to aquated species prevents energy-dependent uptake in GLC4 cells resistant to cisplatin. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 8, p. 626-634, 2003.
- 25 BANERJEE, P. Interaction of nitrogen bases with some platinum(II) and palladium(II) complexes - usual and unusual features. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 190/192, p. 19-28, 1999.
- 26 REEDIJK, J. Why does cisplatin reach guanine-N7 with competing S-donor ligands available in the cell? **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2499-2510, 1999.
- 27 GIESE, B.; McNAUGHTON, D. Interaction of anticancer drug cisplatin with guanine: density functional theory and surface-enhanced Raman spectroscopy study. **Biopolymers**, v. 72, n. 6, p. 472-489, 2003.
- 28 CHANEY, S. G. et al. Protein interactions with platinum–DNA adducts: from structure to function. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, p. 1551-1559, 2004.

- 29 TAKAHARA, P. M. et al. Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. **Nature**, v. 377, p. 649-652, 1995.
- 30 JONES, C. J. **A química dos elementos dos blocos d e f**. Porto Alegre: Bookman, 2002. 184 p.
- 31 IVANOV, A. I. et al. Cisplatin binding sites on human albumin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, p. 14721-14730, 1998.
- 32 RIJT, S. H. V.; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. **Drug Discovery Today**, v. 14, p. 1089-1097, 2009.
- 33 FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Transactions**, v. 43, p. 4903-4917, 2007.
- 34 RUIZ, J. et al. New palladium(II) and platinum(II) complexes with the model nucleobase 1-methylcytosine: antitumour activity and interactions with DNA. **Inorganic Chemistry**, v. 44, p. 7365-7376, 2005.
- 35 QUIROGA, A. G. et al. Palladated and platinated complexes derived from phenylacetaldehyde thiosemicarbazone with cytotoxic activity in cis-DDP resistant tumor cells. Formation of DNA interstrand cross-links by these complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 70, p. 117-123, 1998.
- 36 BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2062-2067, 2007.
- 37 MIESSLER, G. L.; TARR, D. A. **Inorganic chemistry**. 3rd ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2004. 706 p.
- 38 DAS, M.; LIVINGSTONE, S. E. Cytotoxic action of some transition metal chelates of Schiff bases derived from S-methyldithiocarbazate. **British Journal of Cancer**, v. 37, p. 466-469, 1978.
- 39 QUIROGA, A. G.; RANNINGER, C. N. Contribution to the SAR field of metallated and coordination complexes studies of the palladium and platinum derivatives with selected thiosemicarbazones as antitumoral drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 248, p. 119-133, 2004.
- 40 GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.
- 41 BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.

- 42 BARIK, A. K. et al. Synthesis and characterization of two trischelate complexes of cobalt(III) with 3,5-dimethyl-1-(N-methyl/ethyl)thiocarbamyl-pyrazole (HL₁, HL₂) - biologically important bidentate ligands with one ambidentate donor site. **Polyhedron**, v. 19, p. 2651-2655, 2000.
- 43 BARIK, A. K.; BANDYOPADHYAY, P.; KAR, S. K. Copper(II) and nickel(II) complexes of pyrazole derived ligands: synthesis, characterization and coordinating properties of two substituted thiocarbamyl pyrazoles, 3,5-dimethyl-1-N-methyl/ethyl thiocarbamyl pyrazole (HL₁, HL₂), potential ligands for biological interest. X-ray crystallographic studies of Ni(L₂)₂. **Polyhedron**, v. 18, p. 1-6, 1999.
- 44 SOUZA, F. R. et al. Hypothermic and antipyretic effects of 3-methyl- and 3-phenyl-5-hydroxy-5-trichloromethyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxyamides in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 451, p. 141-147, 2002.
- 45 BEKHIT, A. A.; ASHOUR, H. M. A.; GUEMEI, A. A. Novel pyrazole derivatives as potential promising anti-inflammatory antimicrobial agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 338, p. 167-174, 2005.
- 46 GENIN, M. J. et al. 1,5-Diphenylpyrazole nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors with enhanced activity versus the delavirdine-resistant P236L mutant: lead identification and SAR of 3- and 4-substituted derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1034-1040, 2000.
- 47 RIYADH, S. M. et al. Incorporating pyrazolylpyrazole moiety: synthesis, anti-HCV and antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1042-1050, 2010.
- 48 BASHIR, R. et al. Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 4301-4305, 2011.
- 49 CHANDRA, T. et al. Synthesis of substituted acridinyl pyrazoline derivatives and their evaluation for anti-inflammatory activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1772-1776 2010.
- 50 SAHU, S. K. et al. Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities of some novel pyrazoline derivatives. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, p. 961-968, 2008.
- 51 LV, P. C. et al. Synthesis and biological evaluation of pyrazole derivatives containing thiourea skeleton as anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 4606-4614, 2010.
- 52 BUDAKOTI, A.; ABID, M.; AZAM, A. Syntheses, characterization and in vitro antiamoebic activity of new Pd(II) complexes with 1-N-substituted thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 544-551, 2007.

- 53 CASAS, J. S. et al. New Pd(II) and Pt(II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminary study of their in vitro antitumoral activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 33-45, 2008.
- 54 BARRA, C. V. et al. Synthesis, cytotoxic activity and DNA interaction of Pd(II) complexes bearing N'-methyl-3,5-dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole. **Polyhedron**, v. 65, p. 214-220, 2013.
- 55 ROCHA, F. V. et al. 3,5-Dimethyl-1-thiocarbamoylpyrazole and its Pd(II) complexes: synthesis, spectral studies and antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1698-1702, 2010.
- 56 MOURA, T. R. **Compostos de paládio(II) contendo tiocarbamoil pirazolinas: síntese, caracterização e investigação da atividade biológica**. 2013. 50 f. Monografia (Bacharelado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.
- 57 HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. Coordination chemistry: reactions, kinetics and mechanisms. In: _____. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4th ed. New York: HarperCollins College Publishers, 1993. Chap. 13, p. 537-576.
- 58 QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina. **Química Nova**, v. 19, n. 6, p. 651-659, 1996.
- 59 MESSERE, A. et al. Antiproliferative activity of Pt(II) and Pd(II) phosphine complexes with thymine and thymidine. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 254-260, 2007.
- 60 FORTUNE, J. M.; OSHEROFF, N. Topoisomerase II as a target for anticancer drugs: when enzymes stop being nice. **Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology**, v. 64, p. 221-253, 2000.
- 61 ROCHA, F. V. et al. Synthesis, characterization, X-ray structure, DNA cleavage, and cytotoxic activities of palladium(ii) complexes of 4-phenyl-3-thiosemicarbazide and triphenylphosphane. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 19, p. 4499-4505, 2013.
- 62 ROCHA, F. V. **Síntese, caracterização e estudo da atividade antitumoral de complexos de paládio(II) com ligantes sulfurados e trifenilfosfina**. 2013. 142 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.
- 63 KATRITZKY, A. R.; OSTERCAMP, D. L.; YOUSAF, T. I. The mechanisms of heterocyclic ring closures. **Tetrahedron**, v. 43, p. 5171-5186, 1987.
- 64 BARRA, C. V. **Novos complexos de Pd(II): síntese, caracterização e efeito dos ligantes na citotoxicidade e interação com DNA**. 2014. 165 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.
- 65 SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 506 p.

- 66 MOLOTO, M. J. et al. Synthesis and characterization of some N-alkyl/aryl and N,N?-dialkyl/aryl thiourea cadmium(II) complexes: the single crystal X-ray structures of $\text{CdCl}_2(\text{CS}(\text{NH}_2)\text{NHCH}_3)_2$ and $[\text{CdCl}_2(\text{CS}(\text{NH}_2)\text{NHCH}_2\text{CH}_3)_2]$. **Polyhedron**, v. 22, p. 595-603, 2003.
- 67 MACOMBER, R. S. **A complete introduction to modern NMR spectroscopy**. New York: John Wiley and Sons, 1997. 378 p.
- 68 MAREK, R.; SKLENÁR, V. NMR studies of purines. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, v. 54, p. 201-242, 2005.
- 69 FREM, R. C. G. **Complexos de níquel(0): síntese, reatividade e fotoluminescência**. 1992. 252 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1992.
- 70 NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 484 p.
- 71 KARGOL, J. A.; CRECELY, R. W.; THAKUR, J. L. B. Carbon- 13 nuclear magnetic resonance study of coordinated thiocyanate, selenocyanate, and cyanate. **Inorganic Chemistry**, v. 18, n. 9, p. 2532-2535, 1979.
- 72 KUMLER, W. D.; FOHLEN, G. M. The dipole moment and structure of urea and thiourea. **Journal of the American Chemical Society**, v. 64, p. 1944-1948, 1942.
- 73 SINGH, B.; THAKUR, K. P. Thioamide bands and nature of bonding-II. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 36, p. 1735-1737, 1974.
- 74 AINSCOUGH, E. W. et al. The interaction of 1-methylimidazoline-2(3H)-thione with copper(II) salts. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 1, p. 39-42, 1989.
- 75 MEEK, D. W.; NICPON, P. E.; MEEK, V. I. Mixed thiocyanate bonding in palladium (II) complexes of bidentate ligands. **Journal of the American Chemical Society**, v. 92, p. 5351-5359, 1970.
- 76 ATKINS, P. et al. Coordination chemistry: reactions of complexes. In: _____. **Shriver & Atkins inorganic chemistry**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2010. Chap. 21, p. 507-533.
- 77 PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: fundamental principles. **Journal of Chemical Education**, v. 45, p. 581-587, 1968.
- 78 CHOU, W. N.; POMERANTZ, M. N-phenyl-P,P,P-triarylphospha- λ .5-azenes, triarylphosphines, and triarylphosphine oxides. Substituent effects on nitrogen-15, phosphorus-31, and carbon-13 NMR spectra. **Journal of Organic Chemistry**, v. 56, p. 2762-2769, 1991.

- 79 OLAH, G. A.; DONOVAN, J. D. Carcinogen chemistry. 2. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopic study of the ambident carbocationic nature of iminium ions and its relevance to the aminoalkylating ability of related chemical carcinogens. **Journal of Organic Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 860-865, 1978.
- 80 KLOPMAN, G. J. Chemical reactivity and the concept of charge-and-frontier-controlled reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 2, p. 223-234, 1968.
- 81 VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. 170 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- 82 GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, p. 81-122, 1971.
- 83 SCIENTIFIC INSTRUMENT SERVICES. **isotope distribution calculator and mass spec plotter**. Ringoes, 2014. Disponível em: <<http://www.sisweb.com/mstools/isotope.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2015.
- 84 QIAN, R. et al. ESI-FTICR-MS studies on gas phase fragmentation reactions of $\text{ArPd}(\text{PPh}_3)_2\text{I}$ complexes. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 17, p. 1582-1589, 2006.
- 85 SPINGLER, B. et al. Some thoughts about the single crystal growth of small molecules. **CrystEngComm**, v. 14, p. 751-757, 2012.
- 86 GHASSEMZADEH, M. et al. Syntheses of new sulfur–nitrogen palladacycles – crystal structures of $[(\text{AMTTO})\text{PdBr}_2]_2 \cdot 3.5\text{THF}$, $[(\text{AMTTO})\text{PdI}_2]_2 \cdot 3\text{MeOH}$, $[(\text{AMTTO})\text{Pd}(\text{PPh}_3)\text{Br}]\text{Br} \cdot \text{MeOH}$, and $[(\text{AMTTO})\text{Pd}(\text{PPh}_3)\text{I}] \cdot 2\text{MeOH}$ (AMTTO = 4-Amino-6-methyl-1,2,4-triazine-3-thione-5-one). **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2000, p. 1877-1882, 2000.
- 87 SUGANTHY, P. K.; PRABHU, R. N.; SRIDEVI, V. S. Palladium(II) thiosemicarbazone complex: synthesis, structure and application to carbon–oxygen cross-coupling reaction. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 44, p. 67-69, 2014.
- 88 PRABHU, R. N.; PAL, S. Copper-free Sonogashira reactions catalyzed by a palladium(II) complex bearing pyrenealdehyde thiosemicarbazone under ambient conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 56, p. 5252-5256, 2015.
- 89 PAUL, P. et al. Syntheses, structures and efficient catalysis for C–C coupling of some benzaldehyde thiosemicarbazone complexes of palladium. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 344, p. 62-73, 2011.
- 90 ŠTARHA, P.; TRÁVNÍČEK, Z. Platinum(II) oxalato complexes with adenine-based carrier ligands showing significant in vitro antitumor activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 104, p. 639-647, 2010.

- 91 KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews**, v. 7, p. 573-584, 2007.
- 92 HOHMANN, H.; HELLQUIST, B.; van ELDIK, R. Kinetic study of the interaction of aquated palladium(II) complexes with purine 5'-nucleoside monophosphates and ribose 5'-monophosphate in aqueous solution. Effects of steric hindrance and phosphate-induced reactivity. **Inorganic Chemistry**, v. 31, p. 1090-1095, 1992.
- 93 RUIZ, J. et al. Palladium(II) and platinum(II) organometallic complexes with the model nucleobase anions of thymine, uracil, and cytosine: antitumor activity and interactions with DNA of the platinum compounds. **Inorganic Chemistry**, v. 45, p. 6347-6360, 2006.
- 94 BARNHAM, K. J. et al. Outer-sphere macrochelation in $[\text{Pd}(\text{en})(5'\text{-GMP-N7})_2]\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ and $[\text{Pt}(\text{en})(5'\text{-GMP-N7})_2]\cdot 9\text{H}_2\text{O}$: X-ray crystallography and NMR spectroscopy in solution. **Inorganic Chemistry**, v. 34, p. 2826-2832, 1995.